Archive of SID
تابستان ۱۳۸۹، شماره ۷۷، صفحه ۷۱ تا ۸۸

طب و تزکیه
تابستان ۱۳۸۹ - شماره ۷۷

کاربرد ژنتیک در سرطان

دکتر رضا شیرکوهی[۱]، دکتر حسین مبارکی[۲]، دکتر علی یزدی‌نژاد[۳]

مقاله بازآموزی

چکیده

بیماری سرطان بر پایه و اساس اختلالات ژنتیکی بنا نهاده شده است. به همین دلیل امروزه نقشی بسیار مهم در این دسته از بیماریها را برای آن در نظر می گیرند. این اختلالات می تواند بزرگ (در مقیاس مولکولی) در حد کروموزوم و یا بسیار کوچک در حد نوکلئوتید باشد که نهایتا منجر به تغییرات غیر قابل بازگشت در سلول می گردد. روش های تکنیکی مرسوم در ژنتیک سرطانی عمدتا بر پایه بررسی های مولکولی و یا سیتوژنتیکی می باشد. بر این اساس قادر خواهیم بود سرطان های فامیلیال را در خانواده غربال کرده و در برخی موارد خواهیم توانست به تشخیص بیماری و یا بررسی احتمال عود، میزان پاسخگویی به درمان و پیش بینی پیش آگهی سرطان کمک کنیم. در بعد درمانی، روش های ژن درمانی عمدتا به عنوان درمان مکمل و نه قطعی به کار می روند. در این مقاله سعی بر این خواهد بود تا کلیاتی از کاربرد این علم در سرطان مورد بحث قرار گیرد.

واژه گان کلیدی: *سرطان، ژنتیک مولکولی، سیتوژنتیک، ژن درمانی*

مقدمه:

اتیولولوژی بیماری سرطان معمولا بر پایه اختلالات ژنتیکی می باشد. برای رسیدن یک سلول به نقطه بدون بازگشت و ایجاد یک نئوپلازی نواقص متعددی در نقشه ژنتیکی سلول ایجاد می گردد و نهایتا منجر به ایجاد سلول هایی نامیرا با رفتارهای پاتوفیزیولوژیک جدید می گردد. در این بیماری علم ژنتیک از مناظر متعددی می تواند کمک کننده باشد. تغییرات ژنتیکی در این بیماری که در سلول‌های زاینده اتفاق می افتد معمولا منجر به مستعد ساختن فرد به سرطان می گردد. چنین تغییراتی معمولا به صورت صفات اتوزومال غالب به نسل های بعد منتقل می گردد. تغییراتی که در سلول های سوماتیک اتفاق می افتد مختص به خود تومور بوده و در نتیجه با بررسی ناحیه درگیر قابل تشخیص می باشد. در این زمینه بر اساس نوع سرطان و همچنین نوع نواقص ژنتیکی، کاربرد متفاوتی از این علم را شاهد هستیم که در این مقاله سعی براین است که به صورت جمع بندی شده این کاربرد را بیان کنیم.

انواع تغییرات ژنتیکی در ارتباط با سرطان

در ارتباط با پیدایش سرطان تغییرات متفاوتی در سلول‌ها رخ می‌دهد که منجر به ایجاد سرطان در آنها می گردد. امروزه حتی این تغییرات را در محیط میکروسکپی اطراف سلول ها بررسی می کنند. بسیاری از این تغییرات در تنظیم بیان ژن های کلیدی در سلول ها رخ می دهد و

۱- متخصص ژنتیک، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران
مجتمع بیمارستانی امام خمینی، انستیتو کانسر، مرکز تحقیقات سرطان، دپارتمان ژنتیک، بخش ژنتیک مولکولی
۲- عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳- پزشک عمومی، سازمان بهداشت و درمان صنعت نفت

www.SID.ir

Archive of SID

بسیاری از آنها منجر به تغییرات رفتاری سلول و در نتیجه بروز رفتارهای تهاجمی از آن می گردد. عمده ترین آسیب هایی که در تومور ها از نقطه نظر ژنتیکی اتفاق می افتد دو دسته می باشد. شامل تغییرات کروموزومی (مانند تغییر در تعداد و یا ساختار کروموزومی مثل ترانسلوکاسیون‌ها و یا حذف قطعه‌ای) و همچنین تغییر در توالی DNA می‌باشد که منجر به ناپایداری ژنتیکی در سلول‌ها می‌گردد. فعال شدن یک یا چند انکوژن یا غیر فعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور این روند نئوپلاستیک را در سلول‌های آسیب دیده تسریع خواهد کرد. از آنجا که در این مقاله بیشتر به نقش کاربردی ژنتیک در سرطان و به صورت بالینی خواهیم پرداخت، سعی بر این خواهد بود که این تغییرات در غالب مثالهایی در انواع سرطان‌ها مطرح گردد. همانگونه که ذکر گردید مجموعه ای از تغییرات جهت ایجاد نئوپلاسم اتفاق می افتد.

روش‌های متداول در ژنتیک سرطان

می توان این روش ها را به دو دسته مولکولی و سیتوژنتیک تقسیم بندی نمود:

الف) روش مولکولی:

بر اساس نوع بیماری و بررسی مورد نیاز از انواع روش‌های مولکولی برای بررسی بیان ژن و یا تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در بیماری استفاده می شود:

- واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) Polymerase Chain Reaction

شاید بتوان گفت این روش متداول‌ترین روش موجود می‌باشد و پایه و اساس بسیاری از تست های ژنتیکی را در بر می گیرد. تکنیک فوق بر اساس آنچه در سلول برای کپی سازی DNA اتفاق می افتد بازسازی گردیده است(۳-۱) و در سال ۱۹۹۳ منجر به دریافت جایزه نوبل شیمی برای ابداع کننده آن یعنی کری مولیس(Kary Mullis) گردید(٤). در این فرآیند از یک یا چند کپی DNA هزاران تا میلیون‌ها کپی می‌گردد که توالی مشابهی دارند. روش این فرآیند بر اساس چرخه حرارتی بوده که شامل چرخه‌های متوالی از حرارت و خنک کردن جهت باز شدن مولکول DNA و رونوشت آنزیمی DNA می‌باشد. بطور کلی ترکیبات این فرآیند متشکل است از جفت پرایمرهای مکمل رشته‌های DNA (پیشرو یا Forward و معکوس یا Reverse)، بافر مخصوص، کاتیون های دو ظرفیتی مانند منیزیم و منگنز، مولکول های اسید نوکلئیک ۳ فسفاته (dNTP) و آنزیم Taq polymerase جهت رونویسی بکار می رود. این آنزیم از باکتری به نام Thermus Aqualiticus مشتق گردیده است که می تواند از آجرهای نوکلئوتیدی ساختمانی از DNA بسازد(۳-۱). این فرآیند خود روش های متنوعی را دارد که عمده ترین آنها عبارتند از:

۱) PCR اختصاصی برای آلل (Allele-specific PCR) که در مواردی که بین دو آلل از نقطه نظر توالی تفاوت وجود داشته باشد به کار می رود.

۲) PCR اختصاصی برای متیلاسیون (Methylation-specific PCR)، در بسیاری از موارد جهت بررسی متیلاسیون برخی از قسمت های DNA مخصوصا در ناحیه پروموتور که نقش مهمی را در بیان ژن دارد بکار می رود(٥).

۳) PCR آشیانه‌ای (Nested PCR) که جهت بالا بردن حساسیت در کپی کردن قطعه مورد نظر بکار می رود. در این روش ابتدا قطعه ای بزرگتر از آنچه مورد نظر است کپی می گردد و سپس قطعه کوچکتر از میان همان محصول PCR کپی می گردد(٦).

٤) PCR مرکب (Multiplex-PCR) جهت کپی کردن همزمان چند قسمت متفاوت از DNA از آن استفاده می‌گردد. نکته مهم این است که پرایمرها باید به صورتی طراحی گردند که اندازه محصولات متفاوت باشند و در بررسی و آنالیز قابل افتراق باشند(۷).

٥) PCR کمی (Real Time PCR)، بیشتر در زمانی بکار می رود که بخواهیم تعداد کپی های محصولات PCR را بررسی کنیم(۸).

٦) PCR همراه با رونویسی معکوس (Reverse Transcription PCR) که جهت کپی برداری مولکول DNA از RNA می‌باشد. در واقع با رونویسی معکوس از مولکول RNA مولکول

www.SID.ir

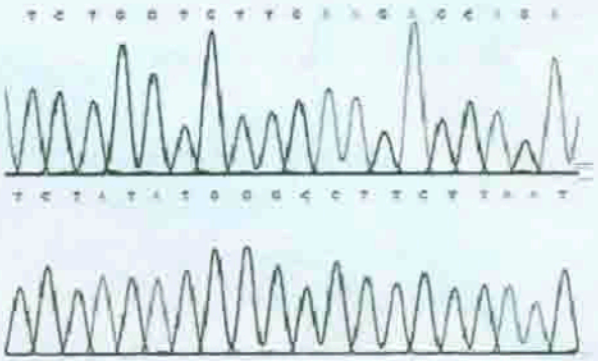
Archive of SID

DNA مکمل که cDNA (complementary DNA) نامیده می شود بوجود می آید(۹).

۷) تکنیک MLPA در جایی دیگر بحث خواهد شد.

- روش بررسی توالی ژن (DNA Sequencing)

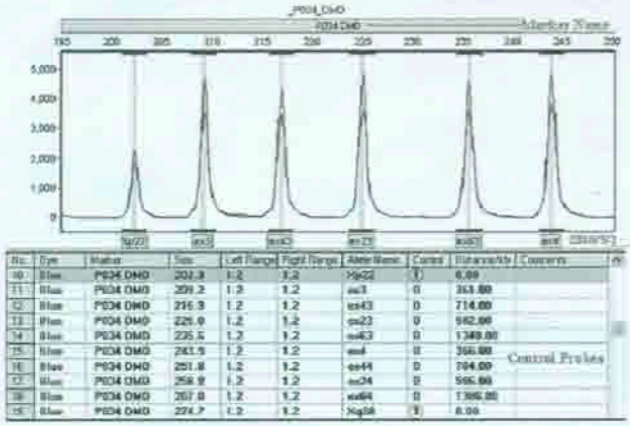
این روش بر اساس تعیین توالی مولکول‌های DNA با استفاده از نوکلئوتید های نشاندار و کپی برداری با استفاده از این نوکلئوتیدها می باشد. خاصیت این نوکلئوتید ها این است که پس از اتصال به زنجیره DNA اجازه اتصال مولکول بعدی را نمی دهد. بنابر این محصولات شامل اندازه‌های مختلفی از مولکول DNA خواهد بود که انتهای آن نوکلئوتید نشاندار می باشد. با قرار دادن این محصولات در دستگاه آنالیز کننده، به ترتیب اندازه منظم گردیده و خوانده می شود. برای جلوگیری از روی هم افتادن توالی دو رشته DNA در این روش فقط از یک پرایمر استفاده می شود(۱۱-۱۰).



شکل ۱- تفسیر بررسی یک توالی

- روش MLPA (Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification)

یک نوع متفاوتی از PCR می باشد که منجر به کپی برداری از چندین هدف تنها با استفاده از یک جفت پرایمر می گردد. هر پروب حاوی دو الیگونوکلئوتید است که سایت های هدف مجاور را شناسایی می کند. یک پروب الیگونوکلئوتیدی شامل توالی است که توسط پرایمر پیشرو شناسایی می گردد، در حالیکه دیگری توسط پرایمر معکوس شناسایی می گردد. تنها پروب الیگونوکلئوتیدهایی که با توالی های هدفشان هیبریده می شوند، می توانندبه صورت یک پروب کامل به هم متصل گردند. این امر منجر به این می شود که تنها پروب های متصل شده قابل کپی شدن خواهند بود(۱۲).



شکل ۲- تفسیر MLPA

- روش ریز آرایه Microarray

روشی مرکب می باشد که شامل صف آرایی هزاران نقطه میکروسکپی از الیگونوکلئوتید DNA (توالی‌های اختصاصی از DNA) می‌باشد و به نام پروب Probe (یا گزارشگر) نامیده می شود. این توالی ها قطعاتی از ژن هدف می باشند که در صورت مجاورت با cDNA و یا RNA بیمار هیبریده شده و در نتیجه تعداد کپی ها توسط فلئورسنت یا دیگر نشانگر ها اندازه گیری شده و از این طریق بیان ژن مشخص می گردد(۱۳).

ب) روش سیتوژنتیکی:

در واقع در این روش تغییرات کروموزومی مورد بررسی قرار می گیرند:

- روش هیبریداسیون فلئورسانس در جا Fluorescence in situ hybridization (FISH)

از این روش برای مشخص نمودن و لوکالیزه کردن، وجود ویا عدم وجود توالی خاصی از DNA بر روی کروموزوم استفاده می گردد. در این روش از پروب های فلئورسنت استفاده می گردد که در واقع

www.SID.ir

Archive of SID

با قسمتهای مشابه در کروموزوم هیبرید شده و با میکروسکپ فلئورسنت شناسایی می‌گردد(۱٤). این روش Gold Standard برای بررسی HER2 ویا Human Epidermal growth factor Receptor 2 می‌باشد. یافتن بیان بالای این رسپتور بر روی بافت تومور پستان نشاندهنده موثر بودن آنتی بادی مونوکلونال trastuzumab با نام تجاری Herceptin بر روی این سلول ها می باشد.

- روش هیبریداسیون درجای کروموژنیک chromogenic in situ hybridization (CISH) با استفاده از رنگ آمیزی های قراردادی، کمک به تعیین میزان ازدیاد فعالیت ژن، ترانسلوکاسیون های کروموزومی و تعداد کروموزوم ها می کند(۱۵). در مقایسه با FISH سه برتری مهم دارد:

۱) جزئیات بافتی برش پارافینی معمولا با زمینه درخشانتری ظاهر می گردد.

۲) جزئیات مورفولوژیک به آسانی با استفاده از بزرگنمایی های پائین تر قابل مشاهده است.

۳) سیگنال پروب به سرعت کمرنگ نمی گردد.

- روش کاریوتایپ

روش بسیار متداول و همچنین قدیمی در بررسی کروموزوم ها می باشد. برای این امر ابتدا سلول ها کشت داده شده و سپس بوسیله ترکیباتی مانند کلشی سین در مرحله میتوز متوقف می گردند. پس از آن، کروموزوم ها بر روی لام پهن شده، رنگ آمیزی گردیده و در زیر میکروسکپ شکل و تعداد کروموزوم ها بررسی و از آنها عکس گرفته می شود. عکس کروموزوم ها چیده شده و به ترتیب در کنار هم قرار می گیرد (کاریوگرام). بر اساس نوع رنگ آمیزی شکل ظاهری تفاوت دارد(۲۰-۱٦).

۱) نوع متداول G Banding نام دارد که از گیمسا استفاده می شود. خطوط تیره یا هتروکروماتیک نشانگر نواحی پر از نوکلئوتیدهای AT و نواحی روشن یا یوکروماتیک نشانگر نواحی پر از نوکلئوتیدهای GC می‌باشد.

۲) نوع R Banding که در واقع از نظر رنگ آمیزی عکس روش G Banding می باشد.

۳) روش C Banding که گیمسا به قسمت تشکیل دهنده هتروکروماتین اتصال یافته و سبب رنگ آمیزی سانترومرها می گردد.

٤) روش Q Banding با استفاده از فلئورسانس استفاده می گردد و بسیار شبیه G Banding ظاهر می شود.

۵) روش T Banding جهت مشاهده تلومرها بکار می رود.

٦) رنگ آمیزی نقره که با استفاده از نیترات نقره و جهت رنگ آمیزی پروتئین های همراه با اجزاء تشکیل دهنده هستک مورد استفاده قرار می گیرد.

به طور معمول چه چیز هایی در یک کاریوتایپ مورد بررسی قرار می گیرد:

۱) تفاوت در اندازه کروموزوم ها

۲) تفاوت در محل سانترومر ها

۳) تفاوت در تعداد پایه کروموزوم ها

٤) تفاوت در تعداد و وضعیت ریزماهواره ها

۵) تفاوت در درجه و توزیع ناحیه هتروکروماتیک

کاربرد ژنتیک در غربالگری

بیماری سرطان در بیشتر موارد یک بیماری اسپورادیک می باشد. یعنی اینکه در بیشتر موارد در سلول های سوماتیک، تغییرات ژنتیکی اتفاق افتاده و ناپایداری ژنتیکی در این سلول ها منجر به ایجاد سلول های نئوپلاستیک می گردد. در حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد موارد بیماری سرطان در اعضاء یک خانواده ممکن است دیده شود که به آن سرطان خانوادگی یا فامیلیال می گویند. از طرفی دیگر سرطان ارثی درصد کمتری از این گروه را به خود اختصاص می دهد(۲۳-۲۱).

زمانی که شرح حال بیمار تکمیل می گردد، مشاور ژنتیک می تواند اطلاعات بیمار را مورد تجزیه و تحلیل قرار دهد که بر این اساس بتواند تعیین کند که بیمار مبتلا به سرطان ارثی است و یا اینکه سرطان خانوادگی و یا اصطلاحا فامیلیال مطرح می گردد. بروز سرطان های

www.SID.ir

Archive of SID

فامیلیال معمولا درخانواده ها به صورتی اتفاق می افتد که بیش از اینکه تصادفی بودن آن را از نظر شیوع بیان کند، ارتباط یک فاکتور مشترک را درون آنها مطرح می کند. این سرطانها معمولا در سنین پائین تر از انتظار اتفاق می افتند و یا ممکن است دلالت بر وجود یک جهش ژنی داشته باشند که در این صورت خطر ابتلا را بالا خواهند برد(۲۳-۲۱). سرطان فامیلیال بیانگر بروز دستجاتی از سرطان ها می باشد که ممکن است به صورت اتفاقی رخ دهند. به عبارتی دیگر ممکن است مجموعه ای از فاکتورهای ژنتیکی و غیر ژنتیکی (مانند محیطی) وجود داشته باشد که منجر به ایجاد سرطان در یک خانواده گردد (۲۳).

سرطان ارثی به معنای تغییر در یک ژن منفرد اصلی می باشد که قویا در بوجود آمدن و یا وضعیت های در ارتباط با سرطان خانواده دخالت داشته باشد.

نشانه هایی که دلالت بر کانسر ارثی دارند عبارتند از:

بروز سرطان های متعدد در بستگان نزدیک، مخصوصا بیش از دو نسل. این امر شامل افرادی می گردد که در آنها تشخیص همان نوع سرطان و یا سرطان های با ارتباط ژنتیکی مشابه داده می شود. مثال های سرطان های مرتبط ژنتیکی شامل موارد زیر می باشد:

- پستان و تخمدان
- کولن و آندومتر (رحم)
- ملانوم و پانکراس
- پستان و سارکوم
- پستان و تیروئید

سن زودرس بیماری: جوانتر از ۵۰-۴۰ سال برای سرطان های بزرگسالان

سرطان های اولیه متعدد در یک فرد (مانند پستان و تخمدان)

سرطان در اندام های جفت (پستان و کلیه)

تظاهرات نادر سرطان (سرطان پستان در مردان)

وجود موارد غیر طبیعی که همراهی آنها به عنوان افزاینده خطر سرطان مطرح می گردد (مانند خال های آتیپیک و خطر ابتلا به ملانوم پوستی)

سرطان پستان و یا تخمدان که در سن کمتر از ۵۰ سال اتفاق بیافتد مخصوصا در مورد نژاد های خاص مانند یهودیان اشکنازی (که بیشتر در شرق یا مرکز اروپا زندگی می کنند).

سرطان در فردی که نقص مادرزادی دارد.

شواهدی از بروز بیماری به صورت اتوزوم غالب

دو یا چند تن از بستگان نزدیک با ابتلاء به سرطان مشابه (در سمت مشابه شایع در خانواده)

دستجاتی از سرطان هایی که با یک سندرم فامیلیال شناخته شده همراه می باشند (مانند پستان و تخمدان)

وجود موارد ی از سرطان در یک خانواده به طوری که بیش از شانسی بودن آن باشد.

شایع ترین انواع سرطان های ارثی عبارتند از:

سرطان های پستان و تخمدان ، در اثر تغییرات در ژن های BRCA1 و BRCA2.

سرطان کولون، در اثر تغییرات در ژن هایی مانند hMSH1 و hMLH2 (که به عنوان سندرم لینچ Lynch Syndrome نامیده می شود)(جدول شماره ۱ برخی از ژن های شایع در سرطان کولون را نشان می دهد).

مشاورین ژنتیک در واقع به صورت روتین و گسترده و با استفاده از برنامه های محاسباتی رایانه ای و به کمک شرح حال و رسم شجره نامه از بیماران خطر بیماران را به طور فردی تعیین می کنند. موارد متعددی مشاهده شده است که در آن تاریخچه قوی از احتمال وجود یک پایه ارثی بیماری موجود باشد ولی در بررسی های ژنتیکی تغییراتی مشاهده نگردد. نتایج فوق نمی تواند احتمال وجود سرطان ارثی را رد کند. این نکته لازم به ذکر است که در مورد تعیین مستعد بودن یک فرد از اعضاء خانواده به سرطان ارثی، بهتر است که ابتدا فردی که مبتلا به بیماری است مورد بررسی قرار گیرد. در صورتی که این تغییرات ژنتیکی در فرد مبتلا یافت گردید می توان در دیگر اعضاء خانواده این نکته را جستجو نمود. این در حالی است که بررسی تغییرات در دیگر اعضاء خانواده در صورتی که موردی در فرد بیمار یافت نشود معنایی ندارد(۲۶-۲۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- برخی ژن های دخیل در سرطان روده بزرگ (۲۴)

Gene	Syndrome	Hereditary Pattern	Predominant Cancer
Tumor suppressor genes			
APC	FAP	Dominant	Colon, intestine, etc.
AXIN2	Attenuated polyposis	Dominant	Colon
TP53 (p53)	Li-Fraumeni	Dominant	Multiple (including colon)
STK11	Peutz-Jeghers	Dominant	Multiple (including intestine)
PTEN	Cowden	Dominant	Multiple (including intestine)
BMPR1A	Juvenile polyposis	Dominant	Gastrointestinal
SMAD4 (DPC4)	Juvenile polyposis	Dominant	Gastrointestinal
Repair/Stability genes			
hMLH1 , hMSH2, hMSH6, PMS2	Lynch	Dominant	Multiple (including colon, uterus, and others)
MYH (MutYH)	Attenuated polyposis	Recessive	Colon
BLM	Bloom	Recessive	Multiple (including colon)
Oncogenes			
KIT	Familial GI stromal tumor		GI stromal tumors
PDGFRA	Familial GI stromal tumor		GI stromal tumors

بنابراین سندرم سرطان فامیلیال وضعیتی ژنتیکی است که با افزایش خطر برای انواع خاصی از سرطان ها همراه می باشد. سرطان های فامیلیال تنها حدود ۱۰-۵ درصد کل سرطان ها را شامل می گردد. بسیاری از مردم بستگانی دارند که به سرطان مبتلا شده اند ولی در بیشتر موارد این امر به دلیل عوامل محیطی و یا دیگر مسائل می باشد. در سندرم های فامیلیال توارث جهش ژنتیکی در یک فرد خطر ابتلا به سرطان و یا دیگر علائم فیزیکی را افزایش می‌دهد. سندرم های سرطان فامیلیال مختلفی وجود دارد و هرکدام از آنها مجموعه ای از علائم و

www.SID.ir

Archive of SID

خصوصیات ویژه‌ای را با خود همراه دارند. برای مثال، جهش در ژن‌های BRCA1 و BRCA2 همراه با افزیش خطر در سرطان پستان و تخمدان می باشد. مثالی از دیگر سندرم‌های فامیلیال را می توان از Von Hipple-Lindau ، Putz-Jeghers ، و Li-Fraumani نام برد(۲۵).

تشخیص

مهم ترین مرحله در تعیین اینکه در یک خانواده سندرم فامیلیال وجود دارد یا خیر جمع آوری یک تاریخچه خانوادگی صحیح می باشد. تاریخچه خانوادگی باید شامل تاریخچه فرزندان، برادر و خواهر، والدین، عمه و خاله، عمو و دایی، پدر و مادربزرگ، خواهرزاده ها و برادر زاده ها، فرزندان عموها و عمه ها و خاله ها و دایی ها می باشد. برای افراد مبتلا به سرطان نوع سرطان و سن تشخیص باید به دقت ثبت گردد. به دلیل اینکه در بسیاری از موارد، بستگان بیمار ممکن است آگاهی و اطلاعات لازم در مورد بیماری فرد مبتلا را نداشته باشند، شاید بهتر است برای اثبات نوع سرطان از مدارک پزشکی مانند گزارشات بیمار استفاده گردد. نواقص مادرزادی، یافته های غیر طبیعی پوستی، تومورهای خوش خیم و تست های غربالگری اختصاصی (مانند کولونوسکوپی برای بررسی پولیپ های کولون) باید در نظر گرفته شود. در صورتیکه اطلاعات خانوادگی در دسترس نباشد، تا جایی که امکان دارد می بایست به دنبال سرنخ در یک تن یا تعداد معدودی از اعضاء خانواده بود. متخصص ژنتیک، مشاور ژنتیک، انکولوژیست و یک مددکار جهت تعیین ریسک، حمایت، غربالگری و توصیه های پیشگیرانه به بیماران و خانواده آنها کمک می کنند و در صورت نیاز و در دسترس بودن، تست های ژنتیکی نیز انجام می دهند(۲۶-۲۵).

توارث

برخی از سندرم های فامیلیال توارث اتوزم غالب از خود نشان می دهند، که در واقع فرد مبتلا ۵۰ درصد شانس انتقال جهش ژنتیکی را به فرزندان خود خواهد داشت. دیگر سندرم سرطان فامیلیال ، توارث اتوزومال مغلوب می باشد که در واقع هر دو والدین بیمار معمولا مبتلا نیستند ولی ناقل جهش بیماری می باشند. ۲۵ درصد فرزندان اینگونه والدین احتمال ابتلا به بیماری را خواهند داشت. وقتی در یک فرد تشخیص سرطان فامیلیال داده می شود، بستگان بیمار می بایست جهت علایم و نشانه ها بررسی گردند. البته موارد نادرتر مانند انتقال توارث از نقطه نظر وابسته به جنس و یا کروموزومال نیز وجود دارد. گاهی اوقات بیمار مبتلا به سندرم سرطان فامیلیال، اولین فرد مبتلا در خانواده می باشد. فرد مبتلا توانایی این را دارد که بیماری را به فرزندان خود انتقال دهد، اما والدین و خواهر و برادر درگیر نمی باشند. بر اساس این سندرم، متخصصین ژنتیک می توانند تعیین نمایند که کدامیک از اعضاء خانواده در خطر هستند(۲۵).

ریسک بیماری

سندرم های سرطان فامیلیال مختلف دارای ریسک های متفاوت در زمینه سرطان و علائم همراه می باشند. به طور کلی، فردی که سندرم فوق را به ارث می برد ریسک ایجاد سرطان همراه با سندرم در وی بیش از جمعیت عادی می باشد، اما نمی تواند تضمینی برای این باشد که سرطان ایجاد خواهد شد و راهنمای غربالگری در جمعیت عمومی باید ادامه یابد(۲۵).

تست های ژنتیکی

اگرچه تست های ژنتیکی برای بسیاری از سندرم های فامیلیال در دسترس می باشد، هنوز ژن های زیادی هستند که باید کشف گردند. هر سندرم در رابطه با تست های ژنتیکی مربوطه تبصره های خاص خود را دارد. برای مثال، تست در چه سنی می بایست انجام گردد؟چگونه نتایج می تواند بر روی مدیریت بیماری تاثیر بگذارد؟ آیا بیمه می تواند تست را پوشش دهد؟ آیا اطلاعات می تواند روی خانواده تاثیر بگذارد؟ متخصصین معمولا با سرطان های فامیلیال آشنا هستند و مرتب با پیشرفت های ژنتیک سرطان به روز می گردند و به طور دائم در رابطه با ریسک بیماران و سود و زیان تست ها با اعضاء خانواده مبتلا بحث و گفتگو می کنند(۲۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- ارتباط برخی از ژن ها با سندرم های خاص

ژن	مشکل ایجاد شده به دنبال از دست دادن ژن مربوطه
Rb	رتینوبلاستوم، استئوسارکوم
TP۵۳	سندرم Li-Fraumeni
Wt	تومور Wilms
VHL	سندرم Von Hippel-Lindau ، کارسینوم Renal Cell
NF1	بیماری Von Recklinghausen ، نوروفیبروماتوز تیپ ۱، شوانوم و گلیوم
NF2	نوروفیبروماتوز تیپ ۲، نوروم آکوستیک و مننژیوم
APC	پولیپوز فامیلیال آدنوماتوز، تومورهای کولورکتال

کاربرد ژنتیک در تشخیص زودرس

در حال حاضر تلاش های فراوانی برای یافتن راهی در زمینه تشخیص زودرس این بیماری در حال انجام است. بررسی مارکرهای مشخصه در سرطان های خاص در راس این تلاش ها قرار دارد. روش واکنش زنجیره ای پلیمراز به صورت کمی و با روش های مدرن یکی از این راهها می باشد.در این روش با استفاده از آنتی بادی های خاص سلول های مورد نظر که حاوی آنتی ژن اختصاصی می باشند از طریق قرار دادن در میدان مغناطیسی و یا فلوسیتومتری از دیگر سلول‌ها مجزا می‌گردند. سپس با انجام واکنش معکوس زنجیره ای پلیمراز کمی mRNA کد کننده ژن مورد نظر تکثیر می گردد و سپس از نقطه نظر وجود سلول های سرطانی بررسی می گردد. این روش قادر به تشخیص سلول های سرطانی در گردش حتی در مقیاس بسیار اندک که با روش های ایمونولوژی مانند الایزا قابل تشخیص نیست می باشد. هرچند این روش کاربرد بیشتری در زمینه عود بیماری دارد، به نظر می رسد در رابطه با تشخیص زودرس در افرادی که در خطر بالایی از ابتلا به سرطان قرار دارند جایگزین روش های تهاجمی گردد. روش فوق در حال حاضر بغیر از ایالات متحده که در آن جنبه تحقیقاتی دارد، در بسیاری از کشورهای دنیا اهمیت بالینی پیدا نموده است(۲۹-۲۷).

کاربرد ژنتیک در کمک به تشخیص در موارد مشکوک

یکی از معضلات همیشگی در طب، تشخیص افتراقی در بیماری ها می باشد. در مورد بیماری های سرطانی نیز گاهی این مشکلات منجر به ایجاد دشواریهایی در تشخیص و اقدامات درمانی می گردد. امروزه با پیشرفت در تکنیک‌های تشخیص بافتی مانند روش‌های ایمونوهیستوشیمی و استفاد از میکروسکپ الکترونی این مشکلات کاهش یافته است ولی در برخی موارد با استفاده از روش‌های ژنتیکی چه از منظر سیتوژنتیک و چه از نقطه نظر مولکولی، این مشکلات به حداقل رسیده است. برای مثال در بیماری مایکوزیس فونگوئیدوس که در واقع لنفوم سلول های T می‌باشد، با بررسی باز ترتیبی رسپتورهای گامای سلول‌های T و بررسی وجود آن در بافت مبتلا می توان این بیماری را در مواردی که با بررسی پاتولوژی قابل افتراق نباشد با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز از موارد التهابی افتراق داد. لو کمی و لنفوم رده لنفوئید T ایجاد کلونی از سلولهای تومورال اصلی باز ترکیب یافته می نماید. این سلولها در مقایسه با سلول های طبیعی رده T cell که در واقع عملکرد مشخصی دارند، طرح های گوناگونی از آنتی ژنهای اختصاصی و باز ترکیبیDNA را از خود نشان می دهند. این مسئله برای لو سمی و لنفوم هایی که از سلولهای پیشاهنگ هماتولوژیک لنفوئیدT مشتق شده‌اند

www.SID.ir

Archive of SID

ارزش تشخیص دارد. حتی باز ترتیبی اختصاصی DNA می تواند به عنوان یک مارکر اختصاصی جهت شناسایی تومورمورد استفاده قرار گیرد(۳۰).

مثال دیگر در مورد لنفوم می باشد. شکست در نواحی کروموزومی (14q21) و (18q21) فیوژنی دو طرفه بوجود می‌آورد. فیوژنی که باعث باز ترکیبی منحصر به فرد قطعات یا پهلوی هم قرار گرفتن سکانسهای IGH و BCL_2 می گردد. در واقع مشخص کردن قطعه هیبرید (14;18) (q32;q21) افزاینده (enhancer) مشخصه ۹۰٪ موارد لنفوم فولیکولر است. ترانسلوکاسیون پهلویی ژن BCL_2 روی 18q21 با ناحیه افزاینده ژن IGH از کروموزوم 14q32 منجر به تولید بیان غیر طبیعی پروتئین BCL_2 در سلولهای B Lymphoid بالغ می‌گردد. ترانسلوکاسیون همچنین برای موارد لنفوم سلول بزرگ منتشر (diffuse large cell lymphoma) ارزش تشخیصی دارد(۳۱).

در بسیاری از موارد نیز روش هایی مانند هیبریداسیون فلئورسانس درجا به تشخیص پاتولوژی بیماری کمک می‌کند.

کاربرد ژنتیک در کمک به انتخاب درمان

استفاده از علم ژنتیک برای یافتن موارد حساس و یا مقاوم به درمان در بیماران سرطانی بسیار حائز اهمیت است. در مواردی که فرد بیماری پیشرونده ای دارد (مانند موارد متاستاتیک)، جایگزین نمودن روش های قابل اطمینان برای یافتن موارد مقاوم به درمان به جای مشاهده عدم پاسخگویی به درمان به صورت بالینی، می تواند زمان طلایی را برای درمان بیماری حفظ نماید.

لوکمی حاد (M3) پرومیلوسیتیک (APL) نوع مشخصی از لوکمی حاد میلوژنی AML می باشد که ۱۰ درصد از موارد AML را در بر می گیرد. این بیماران معمولا فرم رونویسی شده ترانسلوکاسیون کروموزومی PML/RARA که در واقع t(15;17) می باشد را بیان می کنند که در واقع اتصال ژن PML به ژن گیرنده آلفای رتینوئیک اسید می باشد. سه فرم برای اتصال آنها شناسایی شده است. تعیین نوترتیبی PML/RARA اهمیت فراوانی در PML دارد به دلیل اینکه مطابقت با میزان پاسخگویی به درمان با all-trans retinoic acid (ATRA) و یا آرسنیک خواهد داشت(۳۲).

مثال دیگر در مورد سرطان کولون می باشد. داروی 5-Fu در واقع داروی خط اول برای سرطان کلورکتال می باشد. در موارد متاستاتیک و همچنین در موارد درمان طبی سرطان Thymidylate Synthase(TS) آنزیم هدف داروی شیمی درمانی ۵ فلئو یوراسیل (5-Fu) می باشد. متابولیت فعال 5-Fu به پروتئین TYMS متصل گردیده و ایجاد یک کمپلکس پایدار و غیر فعال می کند. وقتی VNTR (variable number of tandem repeats) در قسمت ۵' ناحیه ترجمه نشده ژن TYMS انسانی مورد بررسی قرار می گیرد، ژنو تیپ های متعددی متحمل است. شایع ترین آن تکرار دوتایی یا سه تایی پشت سرهم می باشد. موارد هموزیگوت با دو تکرار و هتروزیگوت واریانس ۲/۳ همراه با افزایش سه برابر احتمال برای Down Staging تومور کلو رکتال متعاقب درمان با 5-Fu در مقایسه با موارد هموزیگوت با سه تکرار می باشد(۳۴-۳۳).

در واقع آلل با سه تکرار منجر به بیان بیشتر ژن TYMS و فعالیت بیشتر TYMS می گردد.بنابر این منجر به پاسخ ضعیف تر به 5-Fu می گردد. مطالعات بالینی این گمان را تقویت می کند که بیماران با Stage ۳ سرطان کلورکتال که دارای آلل هموزیگوت ۳ تکرار می‌باشند درمان طبی 5-Fu چندان برایشان سودمند نیست. دانستن ژنو تیپ TS می تواند به پیش گویی درمورد پاسخ به درمان 5-Fu و بقاء در سرطان کلورکتال کمک کند(۳۴).

تا کنون بیش از ۳۰ جهش در مورد DPD Dihydro-Pyrimidine Dehydrogenase یافت شده است که شایع ترین آنها که منجر به نقص شدید DPD می گردد ترانزسیون G به A در سایت شناسایی splicing اینترون ۱۴ می باشد (IVS14+1G>A). آنزیمDPD آنزیم شروع کننده در کاتابولیسم 5-Fu می‌باشد. در بسیاری از گزارشات مشخص گردیده است که بیش از ۸۰

www.SID.ir

Archive of SID

درصد داروی 5-Fu توسط این آنزیم کاتابولیز می شود. بنابراین فعالیت این آنزیم به طور برجسته ای سمیت و اثربخشی دارو را تحت الشعاع قرار خواهد داد. مشخص گردیده است در بیمارانی که دچار نقص در DPD می باشند، پس از دریافت 5-Fu دچار عوارض سمیت دارویی از جمله اسهال، نوتروپنی و نوروتوکسیسیتی می گردند. نقص کامل DPD بسیار پائین بوده و حدود ۳ تا ۵ درصد جمعیت را شامل می گردد و بیشتر به صورت هتروزیگوت می باشد. در صورت درمان با 5-Fu در بیماران واجد نقص کامل با این مسمومیت بسیار شدید خواهد بود(۳۷-۳۵).

کاربرد ژنتیک در تشخیص عود (حداقل بیماری‌باقیمانده)

یکی از مشکلات کاربردی در سرطان بررسی عود بیماری می باشد. این امر بخصوص در مورد بیماریهای که بسیار تهاجمی هستند مانند لوکمی حاد اهمیت حیاتی دارد. در این بیماران، عود بالینی بیمار گاهی اوقات بسیار سریع و با علایمی مانندDIC همراه است که زندگی بیمار را به مخاطره می اندازد. در چنین مواردی با استفاده از روش‌هایی که بررسی سلول‌ها حتی در زمانی که با روش‌های متداول قابل تشخیص نیستند حائز اهمیت است. یکی از این روش های بررسی مولکولی با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز می باشد. در این روش، در بیمارانی که قبلا یک مارکر مثبت داشته اند، به طور متناوب مورد بررسی قرار می گیرند و در صورت مثبت ماندن و یا مثبت شدن مارکر خاص می توان به پاسخگویی به درمان و یا عود بیماری در مراحل ابتدایی (حداقل بیماری باقیمانده) پی برد. بیشتر مارکرهایی که جنبه تشخیصی دارند و از برخی از آنها پیشتر نام برده شد مانند؛ PML/RARA, JAK2, FLT3ITD, ABL/BCR نیز از این جنبه حائز اهمیت هستند.

ترانسلوکاسیون اگزون های BCR و ABL1 سبب بوجود آمدن محصول فیوژن پروتئینی (p210 در CML و p190 در AML) میگردد که اکثریت توالی پروتئینی آن از ABL1 تیروزین کیناز نشکیل شده است. از این فیوژن می توان در بررسی حداقل بیماری باقیمانده نیز استفاده نمود (جهت بررسی عود بیماری)(۳۸).

کاربرد ژنتیک در پیش آگهی و پیش بینی بیماری

دو نوع اختصاصی جهش در رابطه با ژن FLT3 وجود دارد که دلالت مهمی با پیش آگهی AML دارد. این تغییرات از دوپلیکاسیون بخش مجاور غشایی ژن (اگزون های ۱۱ و ۱۲) برای فعال شدن FLT3 بوجود می آید. این تغییرات در ۲۰ تا ۳۰ درصد بیماران مبتلا به AML مشاهده گردیده است. نوع دوم جهش FLT3 یک جهش missense در محل ۸۳۵ و در اسید آسپارتیک بوجود می آید که منجر به فعال شدن پروتئینFLT3 خواهد گردید. این تغییر در ۷ درصد بیماران AML مشاهده می گردد. هر دو جهش در نهایت منجر به فعال شدن پروتئین FLT3 گردیده و همراه با پروگنوز بد در بیماران مبتلا به AML می باشد که این امر شامل بقاء بیماران کاهش بقاء بدون بیماری و افزایش خطر عود می باشد(۴۰-۳۹).

ژن Janus Kinase 2 (JAK2) در واقع عضوی از خانواده Janus از Tyrosine Kinase می‌باشد که در پروسه Signaling گیرنده فاکتور رشد و سیتوکین در سلولهای هماتوپیتیک نقش دارد. مطالعات متعددی یک جهش سو ماتیک (V617F) را در سلولهای هماتوپویتیک بیماران مبتلا به بدخیمی هماتولوژیک کلونال که به عنوان اختلالات میلو پرولیفراتیو مزمن (CMPDs) شناخته می شوند و مشخص گردیده است.جهش Missense در نوکلئوتید ۱۸۴۹ باعث تغییر G به T می گردد و تولید یک جانشینی اسید آمینه فنیل آلانین بجای والین ترمال در کدون ۶۱۷ پروتئین می کند.این جهش منجر به فعال شدن سرشتی JAK2 شده و به نظر میرسد نقش کلیدی در فنوتیپ نئوپلاستیک را دارا می باشد. V617F بیشتر در بیماران با پلی سیتمی حقیقی (۵۶-۹۷٪) و ترومبوسیتمی اولیه (۲۳-۵۷٪) و میلو فیبروز مزمن با منشا ناشناخته (۳۵-۵۷٪) شناسایی شده است. جهش

www.SID.ir

Archive of SID

فوق با شیوع کمتری در موارد دیگر CMPDs ، لو سمی میلومنوسیتیک مزمن ، لو کمی و سندروم های میلو دیس پلاستیک گزارش شده است(۴۲-۴۱).

امروزه در مورد پیش آگهی بیماری ها ی سرطان مخصوصا سرطان پستان، رویکرد به بررسی های پیش بینی کننده اهمیت بسیاری پیدا نموده است. برای مثال دو روش با نام های تجاری Oncotype و mamaprint که بر پایه microarray قرار گرفته است، در بسیاری از کشورهای پیشرفته به عنوان یک تست روتین مورد استفاده قرار می گیرد.

تست oncotype بر اساس بررسی ۲۱ ژن (با استفاده از بررسی بیان) و درنتیجه تعیین پیش آگهی بیمار مبتلا به سرطان پستان و بر اساس منفی بودن غدد لنفاوی و مثبت بودن رسپتور استروژنی پایه گذاری گردید و با استفاده از بررسی این ۲۱ ژن می توان پیش آگهی بیمار را تعیین نمود(۴۶-۴۳).

در روش Mammaprint این تست بر اساس بررسی ۷۰ ژن پایه گذاری گردیده است که می بایست در بیمار جوانتر از ۶۱ سال و بدون درگیری غدد لنفاوی و همچنین اندازه تومور کمتر از ۵ سانتیمتر بررسی گردد. بر اساس بیان این ۷۰ ژن می توان پیش آگهی بیماران را تعیین نمود(۵۰-۴۷).

ژن درمانی و آینده آن در سرطان

ژن درمانی یکی از روش های جدید در مبارزه با بیماری های با منشا ژنتیکی می باشد و امروزه در برخی از بیماری هایی که بدنبال اختلالات تک ژنی ایجاد می گردد جایگاه ویژه ای را به خود اختصاص داده است. به عنوان مثال در زمینه بیماری دوشن و فیبروکیستیک، ژن درمانی اهمیت بسزایی دارد. متاسفانه به دلیل مولتی فاکتوریال بودن اتیولوژی سرطان و درگیر بودن بیش از یک ژن، این روش کاربرد درمانی چشمگیری تاکنون نداشته است. بیشتر موارد برای افزایش حساسیت سلول های تومورال به روش های درمانی از این روش استفاده می گردد. در واقع می توان گفت از این روش به عنوان درمان مکمل در برخی موارد می توان استفاده نمود. در این روش در واقع بیان ژن معیوب جایگزین و یا به عبارتی تنظیم می گردد. در ژن درمانی القا ژن به صورت استفاده از ویروس ویا غیر ویرال می باشد. ویروس های استفاده شده می بایست بازترکیب یافته باشد تا از تکثیر آن در داخل سلول و ایجاد عفونت ویروسی جلوگیری گردد. از جمله ویروس هایی که کاربرد وسیعی در این امر دارند می توان رتروویروس‌ها، آدنوویروس‌ها، لنتی ویروس‌ها و ویروس های وابسته به آدنو را نام برد. در روش های غیر ویروسی می توان از انتقال DNA برهنه و لیپوزوم نام برد. در روش های جدیدتر از DNA و RNA یا مداخله گر استفاده می شود که به ترتیب سبب اختلال در بیان ژن هدف از طریق متیلاسیون ناحیه پروموتوری ژن و اختلال در ترجمه RNA پیغامبر می گردد(۵۵-۵۱).

آینده ژنتیک در سرطان

همانگونه که پیشرفت های روزمره در علم ژنتیک رخ می دهد، نقش این علم در آینده سرطان روشن تر می گردد. پروژه ژنوم انسانی یکی از این پیشرفت های شگرف در این علم می باشد. از اواسط سال ۲۰۰۲، زمانی که اولین پیش نویس پروژه ژنوم انسانی کامل شد، پیشرفت های سریع و چشمگیری در کشف نقاط اختصاصی ژن های سرطانی به عمل آمد(۵۶). با نقشه برداری هر ژن نرمال در بدن انسان، محققین می توانند توالی غیر طبیعی DNA را که منجر به سرطان می شود مقایسه نمایند. یافته‌های ناشی از پروژه ژنوم انسانی می تواند کمک شایانی در تعیین ژن‌های سرطانی کند، باعث توسعه تست‌های ژنتیکی بهتر گردد و منجر به پیشرفت در مداخلات پیشگیرنده و درمانی شود. مطمئنا در آینده، برای هر فرد این قابلیت میسر خواهد بود که با اسکن کامل ژنوم خود احتمال ابتلا به انواع بیماری ها از جمله سرطان را بیابد.

www.SID.ir

Archive of SID

REFRENCE:

1. Bartlett JMS, Stirling D. A Short History of the Polymerase Chain Reaction. Methods Mol Biol. 2003. 226:3-6.

2. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science. 1985. 230 (4732): 1350–4.

3. Saiki, RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science. 1988. 239 (4839): 487–91.

4. Kary Mullis Nobel Lecture, December 8, 1993

5. Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. Proc Natl Acad Sci USA. 1996. 93 (13): 9821–9826.

6. Grasso YZ, Gupta MK, Levin HS, Zippe CD, Klein EA. Expand+Combined Nested RT-PCR Assay for Prostate-specific Antigen and Prostate-specific Membrane Antigen in Prostate Cancer Patients: Correlation with Pathological Stage1 Cancer Res. 1998. 58(7):1456-9.

7. Hayden MJ, Nguyen TM, Waterman A, Chalmers KJ. Multiplex-ready PCR: a new method for multiplexed SSR and SNP genotyping. BMC Genomics. 2008. 9: 80.

8. Udvardi MK, Czechowski T, Scheible WR.Eleven Golden Rules of Quantitative RT-PCR. Plant Cell. 2008. 20 (7): 1736–1737.

9. Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. Academic Press London. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.1990.

10. Olsvik O, Wahlberg J, Petterson B, Uhlen M, Popovic T, Wachsmuth IK, Fields PI. Use of automated sequencing of polymerase chain reaction-generated amplicons to identify three types of cholera toxin subunit B in Vibrio cholerae O1 strains. J. Clin. Microbiol. 1993. 31 (1): 22–5.

11. Pettersson E, Lundeberg J, Ahmadian A. Generations of sequencing technologies. Genomics. 2009. 93 (2): 105–11.

12. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. Nucleic Acids Res. 2002. 30 (12): e57.

13. Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. Science. 1995. 270 (5235): 467–470.

14. Sieben VJ, Debes Marun CS, Pilarski PM, Kaigala GV, Pilarski LM, Backhouse CJ. FISH and chips: chromosomal analysis on microfluidic platforms. IET Nanobiotechnology. 2007. 1 (3): 27–35.

15. Conlon S, Colgan A, Allen D, O'Grady A, Kay EW Comparison of dual-colour chromogenic in-situ hybridization and fluorescence in-situ hybridization in the assessment of HER2 gene amplification in breast carcinoma. Histopathology. 2011. 58 (2):319-21

16. White MJD. The chromosomes. 6th ed, Chapman & Hall, London.1973

17. Stebbins GL. Variation and evolution in plants. Chapter XII: The Karyotype. Columbia University Press NY. 1950

18. King RC, Stansfield WD, Mulligan PK. A dictionary of genetics. 7th ed, Oxford U.P Oxford & NY. 2006. p242

19. Hsu TC. Human and mammalian cytogenetics: a historical perspective. Springer-Verlag, NY. 1979

20. Gustashaw KM. Chromosome stains. In The ACT Cytogenetics Laboratory Manual 2nd ed, ed. M.J. Barch. The Association of Cytogenetic Tech-

www.SID.ir

Archive of SID

nologists, Raven Press, New York. 1991.

21 Cummings S. The Genetic Testing Process: How Much Counseling Is Needed? Journal of Clinical Oncology 18, Supplement. 2000. 60–4.

22. Elsas LJ, Trepanier A. Cancer genetics in primary care: When is genetic screening an option and when is it the standard of care? Postgraduate Medicine. 2000.107: 191–208.

23. Identifying Cancer Genes —Will it Really Lead to Better Treatment? Biotech Week. 2003: 645.

24. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. Nat Med. 2004.10 (8): 789-99.

25. Lynch H, Watson P, Shaw TG, Lynch JF, Harty AE, Franklin BA, Kapler CR, Tinley ST, Liu B.Clinical Impact of Molecular Genetic Diagnosis, Genetic Counseling, and Management of Hereditary Cancer: Part I: Studies of Cancer in Families. Cancer. 86 (1999): 2449–56.

26. Wiesner GL, Daley D, Lewis S, Ticknor C, Platzer P, Lutterbaugh J, MacMillen M, Baliner B, Willis J, Elston RC, Markowitz SD. A Subset of Familial Colorectal Neoplasia Kindreds Linked to Chromosome 9q22.2.–31.2. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States. 2003. 100(22):12961-5.

27. de Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, Doyle GV, Terstappen LW, Pienta KJ, Raghavan D. Circulating Tumor Cells (CTC) predict survival benefit from treatment in metastatic castration resistant prostate cancer (CRPC). Clin Can Res. 2008.14: 6302–9.

28. Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, Tibbe AG, Uhr JW, Terstappen LW. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with non-malignant diseases. Clin Can Res. 2004. 10: 6897–6904.

29. Riethdorf S, Fritsche H, Müller V, Rau T, Schindlbeck C, Rack B, Janni W, Coith C, Beck K, Jänicke F, Jackson S, Gornet T, Cristofanilli M, Pantel K.Detection of Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood of Patients with Metastatic Breast Cancer: A Validation Study of the CellSearch System. Clin Cancer Res. 2007.13 (3): 920–8.

30. van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PA, Hummel M, Lavender FL, Delabesse E, Davi F, Schuuring E, García-Sanz R, van Krieken JH, Droese J, González D, Bastard C, White HE, Spaargaren M, González M, Parreira A, Smith JL, Morgan GJ, Kneba M, Macintyre EA. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia. 2003.17(12):2257-317

31. Poteat HT، Sklar J. A simplified polymerase chain reaction assay for detection of chromosomal translocations in hematologic malignancies. Diag. Mol. Path. 1997. 6(1):3-9.

32. Miller WH Jr, Kakizuka A, Frankel SR, Warrell RP Jr, DeBlasio A, Levine K, Evans RM, Dmitrovsky E. RT-PCR for the rearranged RAR clarifies diagnosis and detects minimal residual disease in APL. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.1992. 89(7): 2694-8.

33. Peters GJ, Backus HH, Freemantle S, van Triest B, Codacci-Pisanelli G, van der Wilt CL, Smid K, Lunec J, Calvert AH, Marsh S, McLeod HL, Bloemena E, Meijer S, Jansen G, van Groeningen CJ, Pinedo HM. Induction of thymidylate synthase as a 5-fluorouracil resistance mechanism. Biochimica et Biophysica Acta. 2002. 1587:194-205.

34. Pullarkat ST, Stoehlmacher J, Ghaderi V, Xiong YP, Ingles SA, Sherrod A, Warren R, Tsao-Wei D, Groshen S, Lenz HJ. Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and

www.SID.ir

Archive of SID

toxicity of 5-FU chemotherapy. The Pharmacogenomics Journal. 2001. 1(1): 65-70.

35. Wei X, McLeod HL, McMurrough J, Gonzalez FJ, Fernandez-Salguero P. Molecular basis of the human dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and 5-fluorouracil toxicity. J Clin Invest. 1996. 98: 610-615.

36. Vreken P, van Kuilenburg ABP, Meinsma R, Smit GP, Bakker HD, De Abreu RA, van Gennip AH. A point mutation in an invariant splice donor site leads to exon skipping in two unrelated Dutch patients with dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. J Inherit Metab Dis. 1996. 19: 645-654.

37. van Kuilenburg ABP, De Abreu RA, van Gennip AH. Pharmacogenetic and clinical aspects of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Ann Clin Biochem. 2003. 40: 41-45.

38. van Dongen JJ, Macintyre EA, Gabert JA, Delabesse E, Rossi V, Saglio G, Gottardi E, Rambaldi A, Dotti G, Griesinger F, Parreira A, Gameiro P, Diáz MG, Malec M, Langerak AW, San Miguel JF, Biondi A. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. Leukemia. 1999. 13(12):1901-28.

39. Murphy KM, Levis M, Hafez MJ, Geiger T, Cooper LC, Smith BD, Small D, Berg KD. Detetion of FLT3 Internal Tandem duplication and D835 Mutations by a Multiplex Polymerase Chain Reaction and Capillary Electrophoresis Assay. Journal of Molecular Diagnostics. 2003. 5(2):96-102.

40. Rombouts WJ, Blokland I, Löwenberg B, Ploemacher RE. Biological characteristics and prognosis of adult acute myeloid leukemia with internal tandem duplications in the FLT3 gene. Leukemia 2000.14(4):675-683.

41. Levine RL, Belisle C, Wadleigh M, Zahrieh D, Lee S, Chagnon P, Gilliland DG, Busque L. X-inactivation-based clonality analysis and quantitative JAK2V617 assessment reveal a strong association between clonality and JAK2V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2V617F-negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesi Blood. 2006.107 (10), 4139-4141.

42. McClure r, Mai M, Lasho T. Validation of two clinically useful assays for evaluation of JAK2 V617 F mutation in chronic myeloproliferative disorders. Leukemia. 2006. 20:168-171.

43. Hornberger J, Cosler LE, Lyman GH. Economic analysis of targeting chemotherapy using a 21-gene RT-PCR assay in lymph-node-negative, estrogen-receptor-positive, early-stage breast cancer. Am J Manag Care. 2005.11(5):313-24.

44. Tsoi DT, Inoue M, Kelly CM, Verma S, Pritchard KI. Cost-Effectiveness Analysis of Recurrence Score-Guided Treatment Using a 21-Gene Assay in Early Breast Cancer. Oncologist. 2010.15(5):457-65.

45. Kondo M, Hoshi SL, Ishiguro H, Yoshibayashi H, Toi M. Economic evaluation of 21-gene reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay in lymph-node-negative, estrogen-receptor-positive, early-stage breast cancer in Japan. Breast Cancer Res Treat. 2008.112(1):175-87.

46. Lyman GH, Cosler LE, Kuderer NM, Hornberger J. Impact of a 21-gene RT-PCR assay on treatment decisions in early-stage breast cancer: an economic analysis based on prognostic and predictive validation studies. Cancer. 2007. 109(6):1011-8.

47. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, Schreiber GJ, Kerkhoven RM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. Nature. 2002. 415

www.SID.ir

Archive of SID

(6871): 530–6.

48. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, Schreiber GJ, Peterse JL, Roberts C, Marton MJ, Parrish M, Atsma D, Witteveen A, Glas A, Delahaye L, van der Velde T, Bartelink H, Rodenhuis S, Rutgers ET, Friend SH, Bernards R. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. N. Engl. J. Med. 2002. 347(25): 1999–2009

49. Glas AM, Floore A, Delahaye LJ, Witteveen AT, Pover RC, Bakx N, Lahti-Domenici JS, Bruinsma TJ, Warmoes MO, Bernards R, Wessels LF, Van't Veer LJ. Converting a breast cancer microarray signature into a high-throughput diagnostic test. BMC Genomics. 2006.7: 278.

50. Buyse M, Loi S, van't Veer L, Viale G, Delorenzi M, Glas AM, d'Assignies MS, Bergh J, Lidereau R, Ellis P, Harris A, Bogaerts J, Therasse P, Floore A, Amakrane M, Piette F, Rutgers E, Sotiriou C, Cardoso F, Piccart MJ; TRANSBIG Consortium. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. J. Natl. Cancer Inst. 2006. 98 (17): 1183–92.

51. Friedmann T, Roblin R. Gene Therapy for Human Genetic Disease? Science. 1972. 175 (25): 949.

52. Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, Hughes MS, Yang JC, Sherry RM, Royal RE, Topalian SL, Kammula US, Restifo NP, Zheng Z, Nahvi A, de Vries CR, Rogers-Freezer LJ, Mavroukakis SA, Rosenberg SA.Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. Science. 2006. 314 (5796): 126–9.

53. Ott MG, Schmidt M, Schwarzwaelder K, Stein S, Siler U, Koehl U, Glimm H, Kühlcke K, Schilz A, Kunkel H, Naundorf S, Brinkmann A, Deichmann A, Fischer M, Ball C, Pilz I, Dunbar C, Du Y, Jenkins NA, Copeland NG, Lüthi U, Hassan M, Thrasher AJ, Hoelzer D, von Kalle C, Seger R, Grez M.Correction of X-linked chronic granulomatous disease by gene therapy, augmented by insertional activation of MDS1-EVI1, PRDM16 or SETBP1. Nat Med. 2006. 12 (4): 401–9.

54. Brown BD, Venneri MA, Zingale A, Sergi Sergi L, Naldini L. Endogenous microRNA regulation suppresses transgene expression in hematopoietic lineages and enables stable gene transfer. Nat Med. 2006. 12 (5): 585–91.

55. Levine BL, Humeau LM, Boyer J, MacGregor RR, Rebello T, Lu X, Binder GK, Slepushkin V, Lemiale F, Mascola JR, Bushman FD, Dropulic B, June CH. Gene transfer in humans using a conditionally replicating lentiviral vector. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006. 103 (46): 17372–7.

56. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature. 2001. 409 (6822): 860–921.

www.SID.ir