

تشخیص جابه‌جایی ژن *Bcl-2* در سرطان پانکراس در بیماران ایرانیسوزان گرده*^۱، رضا شیخ‌نژاد^۲، سید عبدالحمید انگجی^۳، محمود خانیکی^۴، وحید مرنندی^۵

۱. کارشناس ارشد رشته ژنتیک، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران
۲. دکترای بیوشیمی، مدیر بخش تحقیقات بیولوژی، شرکت مهندسی تحقیقاتی توفیق دارو، تهران، ایران
۳. استادیار، دکترای زیست‌شناسی گرایش ژنتیک، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران
۴. دانشیار، دکترای آسیب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۵. متخصص کارآمدسازی، مجتمع تولیدی تحقیقاتی-انستیتو پاستور ایران، کرج، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: 96/03/18
تاریخ پذیرش: 96/06/10

اهداف سرطان پانکراس، یکی از کشنده‌ترین سرطان‌ها در دنیاست که در ایران نیز شایع است. پژوهش حاضر با توجه به نقش خانواده ژن *Bcl-2* در تنظیم مرگ سلولی (آپوپتوزیس) در بدن و پیشرفت سرطان به دلیل بیان بالای این ژن، در گروهی از بیماران ایرانی مبتلا به سرطان پانکراس به انجام رسید. قرارگرفتن این ژن در مجاورت پروموتور قوی رشته سنگین ایمونوگلوبین IgH روی کروموزوم ۱۴ بر اثر جابه‌جایی، سبب افزایش بیان بیش از حد این ژن می‌شود.

مواد و روش‌ها این مطالعه روی ۴۹ نمونه پارافینه‌شده (حاصل از بررسی ۱۵۳۷ لام مربوط به ۱۰۵ بیمار موجود در یکی از مهم‌ترین مراکز تحقیقاتی سرطان کشور (انستیتو کانسر دانشگاه علوم پزشکی تهران و در بازه زمانی ۸ ساله)) با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) انجام شد.

یافته‌ها تعداد ۲۳ بیمار (۴۶/۹ درصد) از افراد مورد بررسی، جابه‌جایی ژن *Bcl-2* را در سه نقطه شکست کروموزومی با نرخ ۴۳ درصد (۱۰ نفر) در ناحیه *mbr*، ۴۸ درصد (۱۱ نفر) در ناحیه *mcr* و ۹ درصد (۲ نفر) در ناحیه *icr* نشان دادند. یافته‌های پژوهش نشان می‌دهد که بررسی جابه‌جایی ژن *Bcl-2* در نمونه سرطانی بیماران درمان را از طریق مهار این ژن سرطانی، پیشنهاد می‌کند.

نتیجه‌گیری مهار ژن سرطانی *Bcl-2* باعث فعال شدن فرایند آپوپتوزیس در سلول‌های سرطانی بیماران می‌شود. در نتیجه، سرطان را به‌طور هدفمند و اختصاصی درمان می‌کند. نتایج این تحقیق با نتایج حاصل از پژوهش‌ها درباره سایر سرطان‌ها همسوست.

کلیدواژه‌ها:

آپوپتوزیس، بافت پارافینه‌شده، جابه‌جایی ژن *Bcl-2*، درمان هدفمند، سرطان پانکراس، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز.

مقدمه

اختلال در این سیستم ژنتیکی، این پدیده اتفاق نمی‌افتد [۱]. مرگ سلولی قسمتی از برنامه رشدونمو در سلول‌های بدن جانوران است. مرگ برنامه‌ریزی‌شده برای اجتناب از سرطان

علت اکثر سرطان‌ها، انباشت جهش در سلول‌های سوماتیکی است. مرگ سلول‌ها پایه ژنتیکی دارد و در صورت

* نویسنده مسئول: سوزان گرده

نشانی: کیلومتر ۱۸ جاده مخصوص تهران کرج، خیابان داروپخش، شرکت مهندسی تحقیقاتی توفیق دارو
تلفن: ۰۲۱۴۴۹۸۷۳۶۲، دورنگار:

رایانه: s.gordehie@yahoo.com

شناسه ORCID: 0000-0002-4571-6171

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۵، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۷، ص 61-68.

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

اکثر سرطان‌های پانکراس گزارش شده است. فاکتور Epidermal Growth Factor- Receptor در ۶۵ درصد از بیماران مبتلا به سرطان پانکراس فعالیت بالایی نشان می‌دهد [۶]. فقدان ژن SMAD4 که سبب رشد بی‌رویه سلول می‌شود، در ۵۵ درصد از این بیماران مشاهده شده است. جهش در P53 (غیرفعال شدن آن) در ۷۵ درصد از بیماران مشاهده می‌شود [۷]. آنکوژن K-ras از عوامل مهم ژنتیکی است که در بروز سرطان پانکراس، نقش به‌سزایی ایفا می‌کند و در ۹۵ درصد از این نوع سرطان دیده می‌شود که به‌همراه بیان بالای ژن *Bcl-2*، سبب پیشرفت سرطان می‌شود. یکی از مهم‌ترین فاکتورهایی که سبب مقاومت این سرطان نسبت به درمان می‌شود، بیان بیش از حد ژن *Bcl-2* است [۸، ۹].

پروتوآنکوژن *Bcl-2* روی کروموزوم ۱۸ واقع شده است. قرارگرفتن این ژن در مجاورت پروموتور قوی رشته سنگین ایمونوگلوبین IgH روی کروموزوم ۱۴ بر اثر جابه‌جایی، سبب افزایش بیان بیش از حد این ژن می‌شود [۱۰]. با استفاده از روش‌های فلوسایتومتری و ایمونوهیستوشیمی، ارتباطی قوی بین ژن *Bcl-2* و رشته سنگین ایمونوگلوبین IgH پیدا شده است [۱۰]. اعضای خانواده *Bcl-2* در بیشتر سرطان‌های پانکراس بیان بالایی دارد [۹]. ناحیه شکست Major break (mbr (point region)، در ناحیه‌ای به طول ۱۵۰ bp از سمت 3' Untranslated از اگزون ۳ ژن *Bcl-2* و Minor cluster (mcr (region) تقریباً در ناحیه ۳۰ kb پایین دست ژن *Bcl-2* به طول ۵۰۰ bp با استفاده از روش PCR مشخص می‌شود. icr (Intermediate cluster region) و mcr روی اگزون ۳ ژن *Bcl-2* شناسایی شده است [۱۱]. علاوه‌بر سرطان پانکراس، جابه‌جایی و بیان بیش از حد ژن *Bcl-2* در سرطان‌های دیگری از قبیل سینه، روده، ریه، پوست، پروستات، لوسمی و لنفوما نیز تأیید شده است [۱۲]. قابل توجه است که نامگذاری این ژن به‌دلیل تشخیص اولیه جابه‌جایی آن در انواع سرطان‌های Lymphoma B-cell بوده است. در بیشتر سلول‌های فولیکولار لنفوما، ترانس‌لوکیشن ژن (q21, q32) (t(14:18)) تشخیص داده شده است [۱۳].

روش شناسی

عملیات تهیه نمونه‌های سرطانی آدنوکارسینوما پانکراس با مراجعه به انستیتو کانسر (مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی تهران) آغاز شد. با مراجعه به بایگانی الکترونیکی مرکز، کد پاتولوژی بیمارانی که بین سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۸۵ به این مرکز مراجعه کرده بودند شناسایی شد. با توجه به کد پاتولوژی هر بیمار، لام‌های تهیه‌شده از بیماران از

اهمیت دارد. تمام خانواده پروتئین‌هایی که در B-cell لنفوما ۲ به‌عنوان عضو مشترک یافت می‌شود، ناحیه همسان مشترکی به‌نام دومین همسان Bcl-2 دارد. این نواحی به‌طور اختصاصی در تنظیم رهاشدن سیتوکروم C از میتوکندری دخالت دارد. رهایی سیتوکروم C رویداد مشترکی در آپوپتوز است. سیتوکروم C سیتوسولی با فاکتورهای آپوپتوزی همچون Factor-1 (Apaf-1)، dATP/ATP و پروکاسپاز-۹، کمپلکس پیچیده شناخته‌شده‌ای از آپوپتوزوم است [۲].

تنظیم‌کننده‌های مثبت (Bid, Bcl-XL, Bcl-2, Bax, Bak, Bcl-XL) آپوپتوزیس را پیش می‌برد و تنظیم‌کننده‌های منفی (Bcl-2, Bcl-XL) آپوپتوزیس را متوقف می‌کند. وظیفه *Bcl-2* مهار اتصال Bax به غشای میتوکندری است. در حقیقت، فاکتور کلیدی مشخص‌کننده وقوع آپوپتوزیس در سلول، نسبت آپوپتوتیک به آنتی‌آپوپتوتیک پروتئین‌های خانواده *Bcl-2* است [۳].

سرطان پانکراس یکی از کشنده‌ترین سرطان‌ها در دنیاست و در دهه گذشته، افراد بیشتری را درگیر کرده است. شایع‌ترین تومور پانکراس، تومورهای بدخیم بخش برون‌ریز پانکراس و از نوع آدنوکارسینوماست. شایع‌ترین محل تومور، سر پانکراس است. در کشورهای غربی بیماری سرطانی آدنوکارسینوما پانکراس چهارمین بیماری کشنده محسوب می‌شود [۴]. بیشترین بیماران مبتلا به سرطان پانکراس در سال اول تشخیص، از بین می‌روند و فقط ۶ درصد آن‌ها به‌مدت پنج سال بعد از تشخیص به زندگی خود ادامه می‌دهند [۵]. ۶۰ درصد بیماران مبتلا به سرطان آدنوکارسینوما پانکراس زمانی تشخیص داده می‌شوند که عمل جراحی روی آن‌ها انجام‌پذیر نیست و از آن پس فقط ۳ تا ۶ ماه زنده خواهند ماند که خود بستگی به شرایط بیمار، محل و اندازه تومور و محل تهاجم دارد. از این‌رو، با توجه به احتمال کم بهبودی بعد از تشخیص دیر هنگام در این بیماری، به شناسایی و هدایت این سرطان قبل از متاستاز و تهاجم نیازمندیم [۴]. در سرطان آدنوکارسینوما پانکراس سه نوع متفاوت از آسیب سلولی از نظر اندازه و محل مشاهده می‌شود [۵].

جهش ژنتیکی و ناهنجاری‌های اپی‌ژنتیکی از عوامل کارسینوژن پانکراس است. عوامل ارثی ۵-۱۰ درصد در بروز این سرطان نقش دارد [۶]. بیش از ۱۳۰ نوع میکرو RNA با طول ۲۰-۲۲ نوکلئوتید دارای نقش در ایجاد سرطان پانکراس شناسایی شده است. در ۸۹-۹۲ درصد از سرطان‌های پانکراس، هایپرمتیله شدن ژن p16 گزارش شده است [۶]. جهش در ژن BRCA2 به میزان ۳-۱۰ برابر خطر ابتلا به این سرطان را افزایش می‌دهد. جهش در ژن‌های K-ras، P16 و Dpc4 در

منتقل شد که قبلاً با اتوکلاو در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده بود. سپس، نمونه‌ها به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شد.

استخراج DNA از بافت پارافینه. از روش فنل کلروفرم به منظور استخراج DNA از بافت پارافینه استفاده شد [۱۴]. مراحل عملیات استخراج DNA در این بررسی عبارت بود از: (۱) جداسازی پارافین، (۲) آب‌دهی به بافت، (۳) هضم بافت، (۴) DNA Clean up، (۵) رسوب‌دهی DNA، (۶) ارزیابی کمیت و کیفیت DNA به روش اسپکتروفتومتری.

انتخاب پرایمر. در این بررسی، توالی پرایمرها برای سه نقطه شکست *mcr*، *mbr* و *icr* از مقالات استخراج شد [۱۰]. در نهایت، اختصاصی بودن محل اتصال آن در وبسایت NCBI در قسمت Primer Blast تأیید شد. مشخصات پرایمرها در جدول ۱ آمده است.

آرشیو نگهداری لام‌های بیماران مرکز استخراج شد. تمامی لام‌های استخراج‌شده را متخصص پاتولوژی بخش با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی و نمونه‌های سرطان آدنوکارسینومای پانکراس در این مرحله را متخصص پاتولوژی تأیید کرد. همچنین، در این بررسی متخصص پاتولوژی مناطقی از بافت پارافینه‌شده و حاوی سلول‌های سرطانی را با مایژیک روی لام‌ها مشخص کرد. بدین ترتیب، نواحی نکروز یا سلول‌های سالمی که درگیر سرطان نشده بود، خارج از محدوده علامت‌گذاری شده قرار گرفت. شماره لام‌های انتخاب‌شده یادداشت و با استفاده از شماره لام‌ها، شماره بلوک‌های حاوی بافت سرطان پانکراس مشخص شد. بلوک‌های پارافینه‌شده از آرشیو این مرکز، خارج و محل‌های علامت‌گذاری شده روی لام‌ها دقیقاً روی بلوک‌ها شناسایی و علامت‌گذاری شد. بلوک‌های این بیماران بعد از علامت‌گذاری ناحیه نمونه‌برداری به زیر هود لامینار (Laminar air flow cabinet) انتقال یافت. نمونه‌ها با استفاده از Needle 14 از ناحیه علامت‌گذاری شده برداشت و در داخل میکروتیوب‌های ۲ml

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای به‌کاررفته

توالی پرایمر	طول پرایمر (Me r)	محتوای GC%	درجه حرارت $TM^{\circ}C$	اندازه محصول PCR(bp)
F:5'-GAGAGTTGCTTTACGTGGCC-3'	۳۰	۴۵/۸۳	۶۳/۵	۲۰۰-۳۰۰
R:5'-ACCTGAGGAGACGGTGACC-3'	۱۹	۶۳/۱۶	۶۱/۷	
F:5'-CGCTTGACTCCTTTACGTGC-3'	۲۰	۵۵	۶۰/۵	۵۸۰-۶۳۰
R:5'-ACCTGAGGAGACGGTGACC-3'	۱۹	۶۳/۱۶	۶۱/۷	
F:5'-TCGTTCTCAGTAAGTGAGAGTGC-3'	۲۳	۴۷/۸۳	۶۲/۹	۷۵-۱۳۵
R:5'-ACCTGAGGAGACGGTGACC-3'	۱۹	۶۳/۱۶	۶۱/۷	

روش انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) Polymerase Chain Reaction

در این بررسی از مسترمیکس (1.5 mM MgCl₂- Final Concentration) استفاده شد. اجزای تشکیل‌دهنده آن عبارت است از 0.4mMs dNTP، 3mM MgCl₂، 0.2 unit/μl Ampeliquon Taq DNA Polymerase و واکنش PCR مطابق با مقادیر به‌کاررفته در جدول ۲ و طبق برنامه PCR جدول ۳ انجام شد.

جدول ۲. مقادیر به‌کاررفته در واکنش PCR

نام ماده	مقدار به‌کاررفته
Master Mix	۱۲,۵μl
DNA Template	X μl=۵۰۰ng
Primer F	۳μl=۳pmol
Primer R	۳μl=۳pmol
Water	X μl
جمع کل	۲۵μl

جدول ۳. برنامه PCR برای سه جفت پرایم mbr و icr

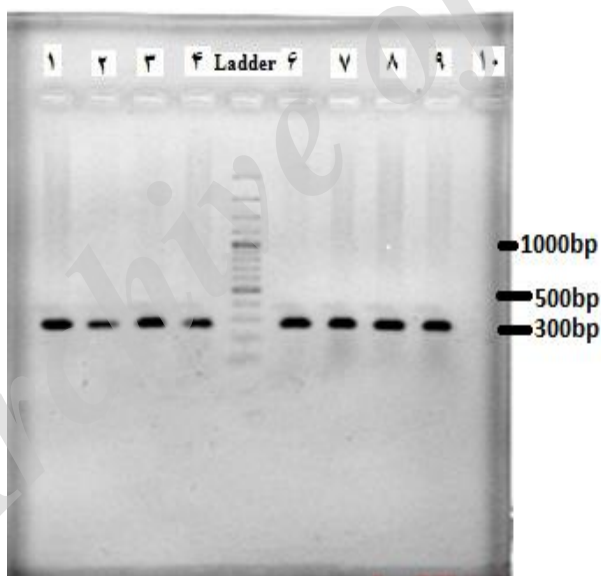
PCR Step	Temperature (°C)	Time (min)	Cycle
Initial Denaturation	۹۵	۵	۱
Denaturation	۹۵	۱	۳۵
Annealing	۵۸		
Extension	۷۲		
Final Extension	۷۲	۵	۱

الکتروفورز محصولات PCR

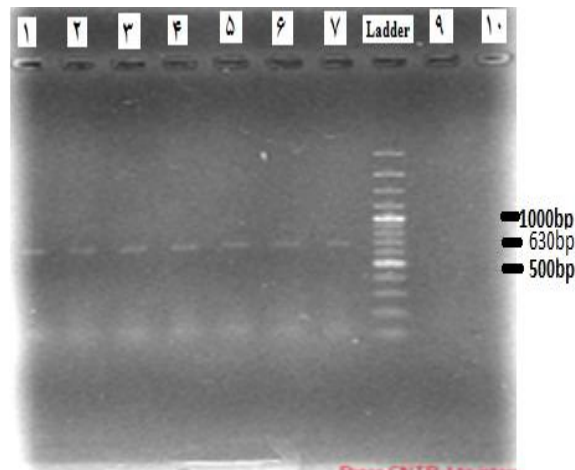
محصولات PCR با استفاده از ژل آگاروز ۱ درصد در دستگاه الکتروفورز با ولتاژ ۷۰۰ v الکتروفورز شده، با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و در دستگاه Gel Documentation مقابل نور UV (طول موج ۲۵۴ nm) مشاهده و عکسبرداری شد.

نتایج بررسی های ملکولی.

در شکل ۱ نمونه های mbr مثبت ملاحظه می شود که در ناحیه ۳۰۰ bp روی آگاروز ۱ درصد باند داده اند. در این بررسی از Ladder 100 bp (Fermentas Lot N:00037552) استفاده شده است. در شکل ۲، نمونه های mcr مثبت و در شکل ۳ نمونه های icr مثبت مشاهده می شود.



شکل ۱. نمونه های mbr مثبت که در ناحیه ۳۰۰ bp روی آگاروز ۱ درصد باند داده اند



شکل ۲. نمونه‌های *mcr* مثبت که در ناحیه ۶۳۰ bp روی آگاروز ۱ درصد باند داده‌اند



شکل ۳. نمونه‌های *icr* مثبت که در ناحیه ۱۳۵bp روی آگاروز ۱ درصد باند داده‌اند

$$\text{Sex Ratio} = \frac{\text{Female}}{\text{male}} = \frac{21}{28} = 0.75 \quad (0.75 : 1)$$

در مجموع:

$$100 = 48\%$$

نرخ جابه‌جایی در ناحیه *mcr*:

$$\text{Rate } mcr = \frac{11}{23} \times 100$$

$$100 = 43\%$$

نرخ جابه‌جایی در ناحیه *mbr*:

$$\text{Rate } mbr = \frac{10}{23} \times 100$$

$$100 = 9\%$$

نرخ جابه‌جایی در ناحیه *icr*:

$$\text{Rate } icr = \frac{2}{23} \times 100$$

به عبارتی ۴۲/۹ درصد از نمونه‌ها مربوط به بیماران زن بوده است.

$$10^2 = 57.1\% \times 10^n = \frac{28}{49} \times \text{Rate} = \frac{\text{male}}{\text{all}}$$

و تعداد ۵۷/۱ درصد از نمونه‌ها مربوط به بیماران مرد بوده

نتایج بررسی‌های اپیدمیولوژی. تعداد کل نمونه‌های تهیه‌شده از سرطان پانکراس ۴۹ نمونه (شامل ۲۸ مورد مرد و ۲۱ مورد زن) بوده است.

$$10^2 = 42.9\% \times 10^n = \frac{21}{49} \times \text{Rate} = \frac{\text{Female}}{\text{all}}$$

به عبارتی ۴۲/۹ درصد از نمونه‌ها مربوط به بیماران زن بوده است.

$$10^2 = 57.1\% \times 10^n = \frac{28}{49} \times \text{Rate} = \frac{\text{male}}{\text{all}}$$

و تعداد ۵۷/۱ درصد از نمونه‌ها مربوط به بیماران مرد بوده است.

نتایج بررسی‌های اپیدمیولوژی. تعداد کل نمونه‌های تهیه‌شده از سرطان پانکراس ۴۹ نمونه (شامل ۲۸ مورد مرد و ۲۱ مورد زن) بوده است.

$$10^2 = 42.9\% \times 10^n = \frac{21}{49} \times \text{Rate} = \frac{\text{Female}}{\text{all}}$$

$$\times \text{Morbidity rate of translocation in the Patients} = \frac{23}{49} \times 100 = 46.9\%$$

است.

به منظور بررسی تأثیر عواملی همچون سن و جنس بر بروز بیماری سرطان پانکراس از فرمول‌های زیر استفاده شد.

$$\text{Age morbidity rate} = \frac{\text{مرد یا زن (تعداد کسانی که سرطان داشته‌اند در رده سنی)}}{10^n \times \text{(مرد یا زن) کل تعداد افراد سرطانی}}$$

$$\text{Sex morbidity rate} = \frac{\text{جنس مرد یا زن (تعداد افرادی که سرطان داشته‌اند)}}{10^n \times \text{کل تعداد افراد در آن جنس}}$$

$$\text{Age-Sex morbidity rate}$$

درصد افراد از یک جنس که در یک رده سنی مشخص مبتلا شده‌اند
درصد افراد از جنس مخالف که در همان رده سنی مشخص مبتلا شده‌اند

بر حسب سن و جنس آمده است .

$$\text{Sex Ratio} = \frac{\text{Female}}{\text{male}} = \frac{21}{28} = 0.75 \quad (0.75 : 1)$$

در مجموع:

$$\text{Rate mcr} = \frac{11}{23} \times 100 = 48\% \quad \text{mcr در ناحیهٔ mcr}$$

$$\text{Rate mbr} = \frac{10}{23} \times 100 = 43\% \quad \text{mbr در ناحیهٔ mbr}$$

$$\text{Rate icr} = \frac{2}{23} \times 100 = 9\% \quad \text{icr در ناحیهٔ icr}$$

اما در نرخ جابه‌جایی ژن *Bcl-2* در زنان، مردان و در مجموع، با استفاده از فرمول‌های زیر، به دست آمد.

$$\text{Female Morbidity rate of } Bcl-2 \text{ translocation} = \frac{\text{تعداد زنانی که ژن } Bcl-2 \text{ در آنها جابجا شده است}}{\text{کل تعداد زنان بیمار}} \times 100 = 42.9\%$$

$$\text{Male Morbidity rate of } Bcl-2 \text{ translocation} = \frac{\text{تعداد مردانی که ژن } Bcl-2 \text{ در آنها جابجا شده است}}{\text{کل تعداد مردان بیمار}} \times 100 = 50\%$$

در جدول ۵، بررسی وقوع جابه‌جایی ژن *Bcl2* در جامعه نمونه

جدول ۵. بررسی وقوع جابه‌جایی ژن *Bcl2* در جامعه نمونه بر حسب سن و جنس

هاویژگی	Bcl ₂ +	Bcl ₂ -
مجموع (۴۹)	۲۳ (%۴۶,۹)	۲۶ (%۵۳,۱)
جنس		
مرد (۲۸)	۲۸ (%۵۷,۱)	
	۱۴ (%۵۳,۸)	۱۴ (%۶۰,۹)
زن (۲۱)	۲۱ (%۴۲,۹)	
	۹ (%۳۹,۱)	۱۲ (%۴۶,۱)
سن		
<۵۰ (۱۴)	۱۴ (%۲۸,۶)	
	۵ (%۱۹,۲)	۹ (%۳۹,۱)
۵۰ ≥ (۳۵)	۳۵ (%۶۷,۴)	
	۱۸ (%۷۸,۳)	۱۷ (%۶۵,۴)

بحث و نتیجه گیری

پانکراس در کشور، از نظر جابه‌جایی ژن *Bcl-2*، ملاحظه شد که ۲۳ نفر (۴۶/۹ درصد) جامعه مورد بررسی، جابه‌جایی ژن *Bcl-2* را نشان دادند. جابه‌جایی ژن *Bcl-2* (t(14,18) سلول‌های سرطانی، افزایش بیان این ژن را سبب می‌شود. درصد شکست در ناحیهٔ mbr ۱۰ نفر (۴۳ درصد)، در ناحیهٔ mcr ۱۱ نفر (۴۸ درصد) و در ناحیهٔ icr ۲ نفر (۹ درصد) به دست آمد. اما، طبق بررسی‌های انجام‌شده در ژاپن روی بیماران فولیکولار لنفوما، ۵۵ درصد شکست *Bcl-2* در ناحیهٔ mbr و ۲۲ درصد شکست در ناحیهٔ mcr رخ داده است؛ به عبارتی، در ۷۲ درصد از این بیماران، ژن *Bcl-2* جابه‌جایی

امید به زندگی در ایران در حال افزایش است. از آنجا که بروز سرطان رابطه مستقیمی با سن دارد، شیوع سرطان نیز با افزایش سن جمعیت، بیشتر به چشم می‌خورد. متأسفانه سن مبتلایان به سرطان در ایران، حدود ۱۰ سال کمتر از سایر کشورهاست [آمار وزارت بهداشت، ۱۳۸۸]. خانواده پروتئین *Bcl-2* نقش تنظیم مرگ سلولی را در بدن عهده دارد. تغییر در بیان و عملکرد آن‌ها، پیشرفت سرطان را سبب می‌شود. به همین دلیل هدف (Target) مناسبی برای داروهای هدف‌مند در درمان سرطان محسوب می‌شود [۱۵]. در تحقیق انجام‌شده روی ۴۹ بیمار مبتلا به سرطان

تشکر و قدردانی

از آقای دکتر حسین عطار، مدیرعامل محترم وقت شرکت مهندسی تحقیقاتی توفیق دارو (حامی مالی این پژوهش)، همچنین همکاران گرامی بخش بیولوژی شرکت، به‌خصوص سرکار خانم زهرا فرساد، تشکر می‌شود. این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد رشته ژنتیک دانشگاه خوارزمی - کرج است. نمونه‌های بیولوژیکی مورد استفاده در این تحقیق از بانک بین‌المللی بافت‌های تومورال ایران وابسته به انستیتو کانسر دانشگاه علوم پزشکی تهران با رعایت ملاحظات و کدهای اخلاقی، تهیه شده است. از آقایان دکتر علیرضا عبداللهی، مدیر محترم گروه آسیب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران، و دکتر امامی‌رضوی به‌ترتیب برای کمک در اخذ و گردآوری نمونه‌های این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

نشان داده است [۱۶]. همچنین، در ۷۰ درصد از بیماران مبتلا به سرطان اثنی‌عشر جابه‌جایی ژن *Bcl-2* مشاهده شده است [۱۷]. در سرطان گره‌های لنفاوی بین ۶۰ تا ۹۰ درصد، جابه‌جایی ژن *Bcl-2* و در بیماران مبتلا به سرطان غده تیروئید، ۵۰ درصد اعلام شده است [۱۸]. در بیماران مبتلا به سرطان ریه، درصد جابه‌جایی این ژن ۲۶ درصد گزارش شده است [۱۹]. از طرفی، در سرطان سینه، جابه‌جایی ژن *Bcl-2* ۴۸ درصد اعلام شده است [۱۸].

مقایسه نتایج حاصل از پژوهش حاضر با دیگر پژوهش‌های یادشده، نشان می‌دهد که با توجه به جابه‌جایی ژن *Bcl-2* و بیان بالای آن در انواع سرطان‌ها، مهار فعالیت این ژن روش مناسبی در درمان هدفمند این بیماری مهلك است. این تحقیق با توجه به غیرقابل‌علاج‌بودن سرطان پانکراس و میزان کشندگی این بیماری در رابطه با درمان هدفمند، ارزش‌مند است. با بررسی جابه‌جایی ژن *Bcl-2* در گروهی از بیماران مبتلا به سرطان پانکراس در ایران، می‌توان بیماران قابل‌درمان با این نوع داروها را شناسایی کرد.

References

- [1] Horvitz HR. Why does programmed cell death, or apoptosis, occur? *Scientific American*. 1999 Oct. 21, 1.
- [2] Azmi AS, Mohammad RM. Non-peptidic small molecule inhibitors against Bcl-2 for cancer therapy. *J. Cell Physiol*. 2009; 218: 13-21.
- [3] Abraham DJ. *Burger's medicinal chemistry and drug discovery*. Wiley Online Library. 2003.
- [4] Westphal S, Kalthoff H. Apoptosis: targets in pancreatic cancer. *Molecular Cancer*. 2003; 2(1): 6.
- [5] Hamilton SR, Aaltonen LA. *Cancer, International Agency for Research on, & Organization, World Health. Pathology and genetics of tumours of the digestive system*. IARC press Lyon. 2000; 48.
- [6] Delpu YH, Naïma L, Hubert S, Flavie S, Janick BL, Cordelier P. Genetic and epigenetic alterations in pancreatic carcinogenesis. *Current Genomics*. 2011; 12(1): 15.
- [7] Kelekar A, Thompson CB. Bcl-2-family proteins: the role of the BH3 domain. *Apoptosis Trends in Cell Biology*. 1998; 8(8): 324-330
- [8] Azmi AS, Mohammad RM. Non-peptidic small molecule inhibitors against Bcl-2 for cancer therapy. *J. Cell Physiol*. 2009; 218: 13-21.
- [9] Masood A, Azmi AS, Mohammad RM. Small molecule inhibitors of Bcl-2 family proteins for pancreatic cancer therapy. *Cancers*. 2011; 3(2): 1527-1549.
- [10] Albinger-Hegy A, Hochreutener B, Abdou MTh, Hegyi I, Dours-Zimmermann MT, Kurrer, Michael O Zimmermann DR. High frequency of t (14; 18)-translocation breakpoints outside of major breakpoint and minor cluster regions in follicular lymphomas: improved polymerase chain reaction protocols for their detection. *The American Journal of Pathology*. 2002; 160(3): 823-832.
- [11] Chan WC, Hawley RC. Practical detection of t(14; 18) (IgH/ BCL-2) in follicular lymphoma. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2008; 132(8): 1355
- [12] Jalali N, MR Davati A, Tavakoli A. Expression of Bcl-2 gene in primary breast cancer and its correlation with some prognostic factors. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2007; 17(58): 30-36.
- [13] Aki H, Vervloessem T, Kiviluoto S, Bittremieux M, Parys JB, De Smedt H, Bultynck G. A dual role for the anti-apoptotic Bcl-2 protein in cancer: Mitochondria versus endoplasmic reticulum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2014; 1843(10): 2240-2252.
- [14] Pikor LA, Enfield KS, Cameron H, Lam WL. DNA extraction from paraffin embedded material for genetic and epigenetic analyses. *J Vis Exp*. 2011; 49.
- [15] Yip KW, Reed JC. Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene*. 2008; 27(50): 6398-6406.
- [16] Wallace DJ, Shen D, Reed GF, Miyayaga M, Mochizuki M, Sen HN, Chan Ch. Detection of the bcl-2 t(14; 18) translocation and proto-oncogene expression in primary intraocular lymphoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2006; 47(7): 2750.
- [17] Yanai S, Nakamura S, Takeshita M, Fujita K, Hirahashi M, Kawasaki K, Matsumoto T. Translocation t (14; 18)/IGH-BCL2 in gastrointestinal follicular lymphoma. *Cancer*. 2011; 117(11): 2467-2477.
- [18] Kirkin V, Joos S, Zörnig M. The role of Bcl-2 family members in tumorigenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2004; 1644(2): 229-249.
- [19] Ilievska PB, Smickova S, Jovanovska Crvenkovska S, Zafirovska Ivanovska B, Stefanovski T, Petrusevska G. Bcl-2 as a prognostic factor for survival in small-cell lung cancer. *Contributions, Sec. Biol. Med. Sci., MASA*, 2008; XXIX(2): 281-293.

Detection of *Bcl-2* translocation in pancreatic cancer in Iranian patients**Susan Gordehie^{1*}, Reza Sheikhnejad², Seyed Abdolhamid Angaji³, Mahmoud Khanaki⁴,
Vahid Marandi⁵**

1. MSc. in Genetics, Kharazmi University, Karaj, Iran
2. Ph.D. in Biochemistry, Biology Dept. Manager, Tofigh Daru Engineering-Research Co., Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Cell and Molecular biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran
4. Associate Professor, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5. Validation Specialist, Production-Research Complex, Pasteur Institute of Iran, Karaj, Iran

Abstract

Background: Pancreatic cancer is one of the most leading causes of cancer-related deaths. Considering the role of *Bcl-2* family gene in apoptosis that are known to be over-expressed in most cancers, this study focused on the detection of *Bcl-2* translocation t(14;18) to the immunoglobulin heavy chain (IgH) that may contribute to the pathogenesis of pancreatic cancer.

Materials and Methods: Forty-nine samples of paraffin embedded tissues (extracted from 1537 slides of 105 patients in one of the major local cancer centers) were investigated for detection of *Bcl-2* translocation t(14;18) by standard PCR.

Results: The *Bcl-2* t(14;18) translocation was detected in 23 of all 49 patients (46.9%), including 10 of 23 translocated patients (43%) with break points within the mbr cluster, 11 with involvement of the mcr locus (48%), and 2 in the icr locus (9%).

Conclusion: Detection of *Bcl2* translocation in pancreatic cancer is in agreement with results from other studies, and shows this rearrangement could be considered as a new treatment strategy based on apoptosis or personalized treatment.

Received: 2014/06/08**Accepted:** 2014/09/01

Keywords: apoptosis, *Bcl-2* translocation, pancreatic cancer, paraffin embedded tissue, personalized treatment, polymerase chain reaction.