

بررسی میکرونوکلئوی در لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران مبتلا به سرطان دستگاه گوارش

چکیده

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۸ ویرایش: ۱۳۹۶/۰۲/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۳۰ آنلاین: ۱۳۹۶/۰۲/۳۱

زمینه و هدف: میکرونوکلئوی به‌عنوان یکی از شاخص‌های آسیب کروموزومی در رادیوتراپی مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات میکرونوکلئوی لنفوسیت‌های خون محیطی در بیماران مبتلا به سرطان دستگاه گوارش پیش و پس از کمورادیوتراپی انجام گردید.

روش بررسی: مطالعه از نوع مقطعی بود که در مبتلایان به سرطان دستگاه گوارش مراجعه‌کننده به بخش انکولوژی بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) تهران از دی ماه تا اسفند ماه ۱۳۹۴ انجام شد. از تمامی بیماران نمونه خون محیطی به میزان ۳ ml جهت ارزیابی‌های سیتوژنتیکی طی دو مرحله پیش و چهار هفته پس از شروع درمان گرفته شد. در مراحل نمونه‌گیری، فراوانی بروز میکرونوکلئوی به ازای ۱۰۰۰ سلول لنفوسیتی دو هفته‌ای مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** ۶۱ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند که در نهایت ۱۱ بیمار از مطالعه خارج شدند. ۵۰ بیمار (۳۴ مرد، ۱۶ زن) با میانگین سنی $59/74 \pm 13/34$ سال بررسی شدند. ۲۴ نفر (۴۸٪) در گروه سنی کمتر از ۶۰ سال و ۲۶ نفر (۵۲٪) در گروه سنی ۶۰ سال و بالاتر قرار داشتند. ۳۷ نفر (۷۴٪) سرطان معده و ۱۳ نفر (۲۶٪) سرطان مری داشتند. اختلاف آماری معناداری در میانگین میکرونوکلئوی پیش و پس از درمان وجود داشت (۴۴/۸۸ در مقابل ۳۶۴/۴۰ در ۱۰۰۰ سلول) ($P=0/005$). اختلاف آماری معناداری میان میانگین تعداد میکرونوکلئوی پیش و پس از درمان بر حسب نوع سرطان، جنسیت و گروه‌های سنی وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: در بیماران دارای سرطان دستگاه گوارش که تحت رژیم‌های کمورادیوتراپی قرار گرفته بودند، تعداد میکرونوکلئوی‌های خون محیطی به میزان معناداری افزایش یافت. البته به‌نظر می‌رسد که این افزایش با سن، جنس و نوع سرطان ارتباطی نداشت.

کلمات کلیدی: سرطان دستگاه گوارش، میکرونوکلئوی، کموتراپی، رادیوتراپی.

بهاره عباسی^۱

نقیسه انصاری‌نژاد^۲

فرشید فرداد^۳

طیب رمیم^{۳*}

۱- گروه ژنتیک پزشکی، پژوهشکده زیست فناوری پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران.
۲- گروه هماتولوژی، انکولوژی بالغین، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
۳- هسته تحقیقاتی فارماکوزنتیک سرطان، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، بیمارستان رسول اکرم (ص).

تلفن: ۶۳۵۳۳۹۰-۰۲۱-

E-mail: tayebmim@yahoo.com

مقدمه

خزر در ایران، آفریقای شرقی و جنوبی، شمال فرانسه و انگلستان دیده می‌شود.^۱

جهت درمان سرطان دستگاه گوارش از روش‌های مختلفی مانند جراحی، رادیوتراپی، شیمی‌درمانی و انواع مختلف درمان‌های ترکیبی استفاده می‌کنند. در رادیوتراپی و شیمی‌درمانی هدف از درمان نابود کردن سلول‌های بدخیم با حفظ سلول‌های نرمال می‌باشد. مولکول هدف برای رخداد آثار بیولوژیکی پرتو و داروهای ضد سرطان،

سرطان‌های دستگاه گوارش به دلیل جایگاه آن و نزدیکی آن به ارگان‌های حیاتی، یکی از کشنده‌ترین سرطان‌ها است. این سرطان‌ها هشتمین سرطان رایج در جهان بوده در عین حال ششمین رتبه در مرگ و میر ناشی از سرطان را به خود اختصاص داده است.^۱ سرطان دستگاه گوارش بیشتر در آسیای مرکزی، شمال چین، حواشی دریای

دستگاه گوارش انجام شده است.^{۲۴-۲۱} مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات میکرونوکلئولی لنفوسیت‌های خون محیطی در بیماران مبتلا به سرطان دستگاه گوارش پیش و پس از کمورادیوتراپی انجام گردید.

روش بررسی

مطالعه از نوع مقطعی بود که در بیماران مبتلا به سرطان دستگاه گوارش مراجعه کننده به بخش انکولوژی بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) تهران از دی ماه تا اسفند ماه ۱۳۹۴ انجام شد. پس از دریافت رضایت‌نامه آگاهانه از کلیه بیماران دو نمونه خون محیطی به میزان ۳ ml پیش از درمان و چهار هفته پس از شروع درمان گرفته شد. در هر یک از مراحل نمونه‌گیری، فراوانی بروز میکرونوکلئولی به ازای ۱۰۰۰ سلول لنفوسیتی دو هسته‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

معیارهای ورود به مطالعه شامل ابتلا بیماران به سرطان دستگاه گوارش، داشتن پروتکل درمانی کمورادیوتراپی یا رادیوتراپی و عدم انجام رادیوتراپی پیشین بود. در صورت بروز عوارض حین درمان که مانع ادامه درمان گردید، عدم مراجعه بیمار برای آزمایشات نوبت دوم و فوت بیمار پیش از انجام نمونه‌گیری دوم، بیمار از مطالعه خارج گردید. علاوه بر شمارش تعداد میکرونوکلئولی‌ها، مشخصات بالینی بیماران شامل محل تومور، سن و جنس بیماران نیز در هر مورد بررسی گردید.

انتقال نمونه‌های خون به آزمایشگاه با لوله‌های هپارین شده انجام شد. از محیط کشت PRMI-1640 که شامل گلوتامین آل و FBS ۱۵٪ بود به منظور کشت نمونه خون استفاده گردید. ۰/۵ ml خون کامل به ۴/۵ ml محلول کشت اضافه شد. ابتدا تحریک لنفوسیت‌ها با فیتوماگلوکوتینین ۱٪ (PHA) انجام گردید. سپس ترکیب آماده شده در داخل انکوباتور ۳۷ °C قرار داده شد. ۴۶-۴۴ ساعت پس از کشت، محلول سیتوکالازین B با غلظت ۵ µg/ml (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) به محیط اضافه گردید تا تقسیم سلول را در مرحله سیتوکینز متوقف نماید. پس از توقف ۲۸-۳۰ ساعتی، محلول حاصل شده به مدت ۱۰ دقیقه تحت سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰ rpm قرار گرفت. سپس سلول‌های حاصل در معرض محلول هیپوتونیک کلرید پتاسیم با غلظت ۰/۰۷۵ مولار قرار گرفتند. محلول حاصل بار دیگر سانتریفیوژ شده و در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه در محلول

DNA است.^{۲۵} پرتوهای یونیزان از طریق ایجاد پارگی‌های تک‌رشته‌ای و دو رشته‌ای در مولکول DNA سلول‌های بدخیم، باعث ایجاد آسیب‌های کروموزومی ناپایدار و در نتیجه مرگ سلول‌های تومورال و از بین رفتن تومور می‌شوند.^۴ استفاده از پرتوهای یونساز در درمان سرطان به طور اجتناب‌ناپذیری با تابش‌گیری بافت‌های نرمال همراه است و می‌تواند DNA سلول نرمال را هدف قرار داده و باعث ایجاد پارگی‌های تک رشته‌ای و دو رشته‌ای در DNA سلول نرمال شود که در صورت عدم ترمیم این آسیب‌ها، ناهنجاری‌های کروموزومی در سلول‌های نرمال ایجاد می‌شود. این امر در نهایت می‌تواند باعث بروز اثرات حاد و مزمن و سرطان‌های ثانویه در بافت نرمال شود و در نتیجه آن، بیماران ممکن است علائمی را در طی درمان و یا ماه‌ها و سال‌ها پس از آن نشان دهند.^{۷-۵}

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که بین آسیب‌های کروموزومی و احتمال خطر ابتلا به سرطان ارتباط مستقیم وجود دارد.^{۱۰-۸} در حال حاضر روش‌های متعددی جهت بررسی شدت آسیب در سلول‌های نرمال وجود دارد که در بین آن‌ها آزمون‌های سیتوژنتیکی کاربردی‌ترین روش‌ها است. روش‌های سیتوژنتیک می‌توانند به‌عنوان سنجش پیشگویی سرطان و سایر عوارض ایجاد شده در طی درمان مورد استفاده قرار گیرند.^{۱۰-۱۱}

جهت بررسی شکست‌های کروموزومی در لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران از روش بررسی میکرونوکلئولی به دلیل سادگی روش، قابل اعتماد بودن نتایج آن، عدم نیاز به افراد بسیار ماهر جهت شمارش آن و به صرفه‌بودن از نظر اقتصادی استفاده می‌گردد.^{۱۸-۱۶} در این روش فراوانی میکرونوکلئولی در اولین مرحله تقسیم سلولی پس از توقف در مرحله سیتوکینز چرخه سلولی ثبت می‌شود. میکرونوکلئولی حاوی یک قطعه کروموزوم آستنریک و یا کروموزوم کامل عقب‌مانده از میتوز است بنابراین آزمون میکرونوکلئولی قادر است هر دو نوع آسیب عددی و ساختاری کروموزوم‌ها را بررسی کند.^{۱۹-۲۰} تاکنون مطالعات متعددی جهت ارزیابی میزان آسیب‌های DNA و آسیب‌های کروموزومی ایجاد شده در اثر روش‌های درمانی رادیوتراپی و شیمی‌درمانی در لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران مبتلا به سرطان‌های مختلف به‌ویژه سرطان پستان انجام شده است، اما مطالعات اندکی در مورد آسیب‌های کروموزومی ایجاد شده در لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران در اثر کمورادیوتراپی سرطان

انجام نگردید. در نهایت نمونه‌های به‌دست آمده از ۵۰ بیمار در آنالیز نهایی شرکت داده شدند. ۳۴ نفر (۶۸٪) از بیماران مرد و ۱۶ نفر (۳۲٪) زن بودند. میانگین سنی بیماران $59/74 \pm 13/34$ سال بود. همچنین بیماران بر حسب گروه‌های جنسیتی و سنی و نوع سرطان نیز مورد بررسی قرار گرفتند. یافته‌های به‌دست آمده نشان داد که ۲۴ نفر (۴۸٪) از بیماران در گروه سنی کمتر از ۶۰ سال و ۲۶ نفر (۵۲٪) در گروه سنی ۶۰ سال و بالاتر قرار داشتند. در بررسی انجام شده از بیماران بر حسب نوع سرطان بیماران به ترتیب دچار سرطان معده و مری بودند. فراوانی ابتلا به سرطان معده ۳۷ نفر (۷۴٪) و فراوانی ابتلا به سرطان مری ۱۳ نفر (۲۶٪) بود. پیش از درمان، میانگین فراوانی میکرونوکلئولی $44/82 \pm 18/84$ در ۱۰۰۰ سلول بوده در حالی که این مقدار پس از درمان $36/40 \pm 77/06$ در ۱۰۰۰ سلول بود (نمودار ۱). بر اساس آنالیز انجام شده اختلاف آماری معناداری میان این دو مقدار وجود داشت ($P=0/005$). مقایسه میانگین میکرونوکلئولی پیش و پس از درمان بر حسب نوع سرطان، جنسیت بیماران و گروه‌های سنی انجام گردید. یافته‌های به‌دست آمده در جداول ۱ بیان گردیده است. در آنالیزهای انجام شده اختلاف آماری معناداری میان میانگین تعداد میکرونوکلئولی پیش از درمان بر حسب نوع سرطان، جنسیت و گروه‌های سنی وجود نداشت. نتیجه مشابهی در مورد میانگین تعداد میکرونوکلئولی پس از درمان به‌دست آمد.

ثابت کننده متانول و اسید استیک (به نسبت شش به یک) تثبیت گردید. این مرحله سه مرتبه تکرار شده و پس از آن سلول‌ها روی لام میکروسکوپی پخش شدند. از رنگ گیمسا ۱۰٪ به مدت ۲۰ دقیقه برای رنگ‌آمیزی سلول‌های لنفوسیت استفاده گردید. لام تهیه شده توسط یک فرد آموزش دیده در زیر میکروسکوپ نوری بررسی گردیده و پس از شمارش ۱۰۰۰ سلول لنفوسیت دو هسته‌ای، تعداد موارد دارای میکرونوکلئولی مشخص شد.

بررسی‌های آماری با استفاده از SPSS software, version 21 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) برای نشان دادن وجود اختلاف معنادار در میانگین فراوانی میکرونوکلئولی بین دو مرحله نمونه‌گیری از روش Paired samples t-test استفاده شد. برای نشان دادن ارتباط بین فراوانی میکرونوکلئولی و متغیرهای مورد نظر از Independent samples t-test استفاده گردید. مقدار $P < 0/05$ سطح معناداری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعداد ۶۱ بیمار در این مطالعه شرکت کردند. سه نمونه گرفته شده از بیماران لیز بوده و امکان نمونه‌گیری دوباره وجود نداشت. در هشت مورد نیز به علت عدم مراجعه مجدد بیماران، نمونه‌گیری دوم

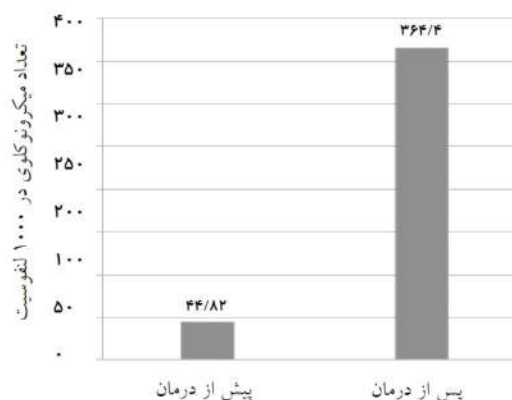
جدول ۱: توزیع میانگین تعداد میکرونوکلئولی در لنفوسیت‌های خون محیطی پیش و پس از درمان بر حسب مشخصات بیماران

مشخصات بیماران		تعداد میکرونوکلئولی در ۱۰۰۰ لنفوسیت (میانگین \pm انحراف معیار)	
پس از درمان	پیش از درمان	پس از درمان	پیش از درمان
۳۷۱/۱۵ \pm ۷۷/۴۲	۴۳/۷۴ \pm ۱۸/۳۱	مرد	جنسیت
۳۵۰/۰۶ \pm ۷۶/۷۳	۴۷/۱۳ \pm ۲۰/۳۶	زن	
۰/۳۷۲	۰/۵۵۸	آنالیز آماری ^۳	
۳۷۱/۵۸ \pm ۶۴/۱۰	۴۴/۴۲ \pm ۱۵/۹۱	کمتر از ۶۰ سال	ارزش تشخیصی
۳۵۷/۷۷ \pm ۸۸/۱۰	۴۵/۱۹ \pm ۲۱/۵۲	۶۰ سال و بیشتر	
۰/۵۳۲	۰/۸۸۶	آنالیز آماری ^۳	
۳۶۷/۳۱ \pm ۸۳/۴۱	۳۹/۲۳ \pm ۱۱/۸۸	مری	نوع سرطان
۳۶۳/۳۸ \pm ۷۵/۸۹	۴۶/۷۸ \pm ۲۰/۵۲	معده	
۰/۸۷۶	۰/۲۱۷	آنالیز آماری ^۳	

^۳ آزمون آماری: Chi-square test. $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

گروه‌ها از نظر افزایش تعداد میکرونوکلیی نبود. به نظر می‌رسد شیمی‌درمانی بیماران صرف‌نظر از سن، جنس و نوع سرطان دستگاه گوارش تاثیر بسیار مشخصی بر افزایش مقدار میکرونوکلیی در خون محیطی بیماران دارد. در فرضیه‌های مطرح شده در مورد افزایش تعداد میکرونوکلیی همواره به این نکته اشاره گردیده است که عوامل محیطی مانند پرتوها یا داروهایی که اثرات موتاژن در بدن انسان دارند ممکن است با مقدمه بروز میکرونوکلیی همراه باشد.^{۲۰-۲۳} به همین دلیل استفاده از نتایج پژوهشی که به بیان بروز یا افزایش بروز تعداد میکرونوکلیی می‌پردازد می‌تواند به منظور پیش‌بینی عوارض درمانی به‌ویژه در بیماران سرطانی مدنظر قرار گیرد. بررسی مواجهه (Exposure) اتفاقی جمعیت سالم در مقابل پرتوهای مختلف و مواد رادیواکتیو و همچنین مواد شیمیایی موتاژن همواره یکی از موارد چالش‌برانگیز پژوهشگران بوده است.

استفاده از تغییرات مولکولی و ژنتیکی در افرادی که به‌صورت مداوم و در یک دوره زمانی در معرض پرتوها و مواد شیمیایی انکوژن بوده‌اند می‌تواند در این زمینه هدایت‌کننده باشد. البته باید توجه داشت که بیشتر مطالعات در بیماران سرطانی انجام گردیده است که این امر می‌تواند نتیجه‌گیری دقیق را با دشواری همراه نماید. در برخی از تحقیقات، نمونه خون محیطی از افراد سالم گرفته شده و در معرض پرتوی مورد استفاده در رادیوتراپی قرار داده شد که یافته‌های به‌دست آمده با نتایج بیماران سرطانی همخوانی داشت. از نظر مواجهه با مواد شیمیایی موتاژن که در اغلب رژیم‌های شیمی‌درمانی برای بیماران سرطانی استفاده می‌گردد، انجام چنین اقدامی ناممکن می‌باشد. بنابراین فرضیه تاثیر داروهای شیمی‌درمانی بر افزایش تعداد میکرونوکلیی با گرفتن نمونه خون از بیماران سرطانی قابل آزمون می‌باشد. همچنین بررسی و آزمون این فرضیه می‌تواند در پرسنل درمانی که در معرض مواجهه با بخارات دارویی به‌صورت استنشاقی می‌باشند نیز انجام گردد که به‌عنوان گامی در بررسی‌ها و مطالعات آینده پیشنهاد می‌گردد. در نهایت بر اساس یافته‌های مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که در بیماران دارای سرطان دستگاه گوارش که تحت رژیم‌های شیمی‌درمانی قرار می‌گیرند، افزایش تعداد میکرونوکلیی‌های خون محیطی به‌میزان بالایی قابل انتظار است. همچنین به‌نظر می‌رسد که این افزایش با سن، جنس و محل مبتلا به سرطان (معدده یا مری) ارتباطی ندارد.



نمودار ۱: توزیع میانگین تعداد میکرونوکلیی در لنفوسیت‌های خون محیطی پیش و پس از درمان

بحث

در مطالعه حاضر اختلاف میان تعداد میکرونوکلیی پیش و پس از شیمی‌درمانی مورد بررسی قرار گرفت که یافته‌های به‌دست آمده نشان‌دهنده افزایش معنادار تعداد میکرونوکلیی پس از درمان بود. مطالعات فراوانی به‌منظور تایید اثر درمان‌های موجود در بیماران سرطانی با اولویت رادیوتراپی بر تعداد میکرونوکلیی انجام گردیده که در بیشتر این مطالعات افزایش معناداری در تعداد میکرونوکلیی گزارش گردیده است.^{۲۰-۲۲}

در مطالعات مشابه بررسی میکرونوکلیی در بیماران سرطانی پس از انجام رادیوتراپی انجام شده بود که نشان‌دهنده افزایش ۴-۲ برابر تعداد میکرونوکلیی پس از درمان بود.^{۲۵، ۲۶} استفاده از میکرونوکلیی به منظور بررسی تاثیر شیمی‌درمانی بر ایجاد یا گسترش آن از اهداف اصلی این مطالعه بود. به همین منظور بررسی انجام شده شامل دو نوبت، پیش و پس از درمان بود که یافته‌های به‌دست آمده نشان داد به‌طور میانگین تعداد میکرونوکلیی در بیماران پس از انجام شیمی‌درمانی حدود ۸/۱ برابر افزایش نشان داده و از مقدار ۴۴/۸۲ عدد در ۱۰۰۰ سلول لنفوسیت به ۳۶۴/۴ عدد رسید. این افزایش بیشتر از مقداری بود که در مطالعات پس از انجام رادیوتراپی به‌دست آمده بود.^{۲۳، ۲۴}

بررسی‌های تکمیلی بر حسب سن و جنس بیماران و ابتلا به سرطان مری یا معدده نشان‌دهنده اختلاف آماری معناداری میان این

کموتراپی" مصوب پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری در سال ۱۳۹۴ به شماره ۹۴۰۵۱-I-۵۰۸ می باشد که با حمایت پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری اجرا شده است.

سپاسگزاری: مقاله حاصل طرح پژوهشی تحت عنوان "ارزیابی فراوانی بروز میکرونوکلئتی در لنفوسیت های خون محیطی در بیماران مبتلا به سرطان دستگاه گوارش پس از درمان رادیوتراپی و

References

- Rowley JD. Chromosomal abnormalities in cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 1980;2:175-98.
- Jianlin L, Jiliang H, Lifan J, Wei Z, Baohong W, Hongping D. Measuring the genetic damage in cancer patients during radiotherapy with three genetic end-points. *Mutagenesis* 2004;19(6):457-64.
- Joiner M, Kogel AV. Basic Clinical Radiobiology. 4th ed. London: Hodder Arnold; 2009. P. 246-58.
- Stone HB, Coleman CN, Anscher MS, McBride WH. Effects of radiation on normal tissue: consequences and mechanisms. *Lancet Oncol* 2003;4(9):529-36.
- Rigaud O, Guedeny G, Duranton I, Leroy A, Doloy MT, Magdelenat H. Genotoxic effects of radiotherapy and chemotherapy on the circulating lymphocytes of breast cancer patients. I. Chromosome aberrations induced in vivo. *Mutat Res* 1990;242(1):17-23.
- Kiltie AE, Anderson J, Swindell R, Barber J, Catharine ML, Brian M, et al. A correlation between residual radiation-induced DNA double-strand breaks in cultured fibroblasts and late radiotherapy reactions in breast cancer patients. *Radiation Oncol* 1999;51:55-65.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55(2):74-108.
- Yunis JJ. The chromosomal basis of human neoplasia. *Science* 1983;221(4607):227-36.
- Mozdarani H, Mansouri Z, Haeri SA. Cytogenetic radiosensitivity of g0-lymphocytes of breast and esophageal cancer patients as determined by micronucleus assay. *J Radiat Res* 2005;46(1):111-6.
- Bonassi S, Hagmar L, Strömberg U, Montagud AH, Tinnerberg H, Forni A, et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Cancer Res* 2000;60(6):1619-25.
- Murty VV, Mitra AB, Luthra UK. Spontaneous chromosomal aberrations in patients with precancerous and cancerous lesions of the cervix uteri. *Cancer Genet Cytogenet* 1985;17(4):347-53.
- Iannarcovai G, Ceppi M, Botta A, Orsière T, Bonassi S. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of cancer patients: a meta-analysis. *Mutat Res* 2008;659(3):274-83.
- Ochi H, Watanabe S, Furuya T, Tsugane S. Chromosome fragility of lymphocytes from breast cancer patients in relation to epidemiologic data. *Jpn J Cancer Res* 1988;79(9):1024-30.
- Lee TK, Allison RR, O'Brien KF, Naves JL, Karlsson UL, Wiley AL. Persistence of micronuclei in lymphocytes of cancer patients after radiotherapy. *Radiat Res* 2002;157(6):678-84.
- Wolff HA, Hennies S, Herrmann MK, Rave-Fränk M, Eickelmann D, Virsik P, et al. Comparison of the micronucleus and chromosome aberration techniques for the documentation of cytogenetic damage in radiochemotherapy-treated patients with rectal cancer. *Strahlenther Onkol* 2011;187(1):52-8.
- Venkatachalam P, Paul SF, Mohankumar MN, Prabhu BK, Gajendiran N, Kathiresan A, et al. Higher frequency of dicentric and micronuclei in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. *Mutat Res* 1999;425(1):1-8.
- Desmaze C, Soria JC, Freulet-Marrière MA, Mathieu N, Sabatier L. Telomere-driven genomic instability in cancer cells. *Cancer Lett* 2003;194(2):173-82.
- Fenech M. The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res* 2000;455(1-2):81-95.
- Gamulin M, Garaj-Vrhovac V, Kopjar N. Evaluation of DNA damage in radiotherapy-treated cancer patients using the alkaline comet assay. *Coll Antropol* 2007;31(3):837-45.
- Kopjar N, Garaj-Vrhovac V, Milas I. Assessment of chemotherapy-induced DNA damage in peripheral blood leukocytes of cancer patients using the alkaline comet assay. *Teratog Carcinog Mutagen* 2002;22(1):13-30.
- Distel LV, Neubauer S, Keller U, Sprung CN, Sauer R, Grabenbauer GG. Individual differences in chromosomal aberrations after in vitro irradiation of cells from healthy individuals, cancer and cancer susceptibility syndrome patients. *Radiation Oncol* 2006;81(3):257-63.
- Baciuchka-Palmaro M, Orsière T, Duffaud F, Sari-Minodier I, Pompili J, Bellon L, et al. Acentromeric micronuclei are increased in peripheral blood lymphocytes of untreated cancer patients. *Mutat Res* 2002;520(1-2):189-98.
- Jagetia GC, Jayakrishnan A, Fernandes D, Vidyasagar MS. Evaluation of micronuclei frequency in the cultured peripheral blood lymphocytes of cancer patients before and after radiation treatment. *Mutat Res* 2001;491(1-2):9-16.
- Banerjee B, Sharma S, Hegde S, Hande MP. Analysis of telomere damage by fluorescence in situ hybridisation on micronuclei in lymphocytes of breast carcinoma patients after radiotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2008;107(1):25-31.
- Acar H, Calışkan U, Demirel S, Largaespada DA. Micronucleus incidence and their chromosomal origin related to therapy in acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients: detection by micronucleus and FISH techniques. *Teratog Carcinog Mutagen* 2001;21(5):341-7.
- Hille A, Hofman-Hüther H, Kühnle E, Wilken B, Rave-Fränk M, Schmidberger H, et al. Spontaneous and radiation-induced chromosomal instability and persistence of chromosome aberrations after radiotherapy in lymphocytes from prostate cancer patients. *Radiat Environ Biophys* 2010;49(1):27-37.

Micronuclei in peripheral blood lymphocytes of patients with of the gastrointestinal cancer

Bahareh Abbasi M.D.^{1,3}
Nafiseh Ansarinejad M.D.^{2,3}
Farshid Fardad M.D.^{2,3}
Tayeb Ramim M.D.^{3*}

1- Department of Medical Genetic,
Medical Biotechnology Institute,
National Institute of Genetic
Engineering and Biotechnology
(NIGEB), Tehran, Iran.

2- Department of Hematology-
Oncology, Iran University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Cancer Pharmacogenetics
Research Group (CPGRG), Iran
University of Medical Sciences,
Tehran, Iran.

* Corresponding author: Rasool Akram
Hospital, Niayesh St., Satar Khan St.,
Tehran, Iran.
Tel: +98-21- 64352390
E-mail: tayebiramim@yahoo.com

Abstract

Received: 06 Feb. 2017 Revised: 15 May 2017 Accepted: 20 May 2017 Available online: 21 May 2017

Background: The Micronuclei has been discussed as an indicator of chromosomal damage in radiotherapy. This study aimed to investigate the changes of micronuclei in peripheral blood lymphocytes of patients with of the gastrointestinal cancers pre- and post-chemo-radiation.

Methods: This cross-sectional study was conducted in patients with gastrointestinal cancers who referred to oncology ward of Rasool Akram Hospital in Tehran from January to March, 2016. After obtaining informed consent from all patients, 3 cc of peripheral blood samples was obtained for cytogenetic assessment in two stages, before treatment and 4 weeks after treatment. The frequency of micronuclei was examined per 1,000 lymphocytes with two nuclei.

Results: Sixty-one patients were evaluated and 11 patients were excluded at the end of study. Fifty patients (34 males, 16 females) with a 59.74±13.34 years old were evaluated. 24 (48%) and 26 patients (52%) were in the less than 60 years' age group and more than one, respectively. 37 cases (74%) with gastric cancer and 13 cases (26%) with esophageal cancer enrolled in the study. The significant differences were meaningful pre- and post-treatment (44.88 vs. 364.4 /1000 cells) (P=0.005). Also, there were no significant differences of the mean number of micronuclei between pre- and post-treatment according the type of cancer, sex and age groups. Further analysis according by age, sex and cancer of the esophagus or stomach showed no statistically significant differences between the groups in micronuclei number. In other words, chemotherapy and radiation in patients, regardless of age, sex and type of gastrointestinal cancer is very significant impact on the micronuclei production in peripheral blood of patients.

Conclusion: The number of micronuclei in peripheral blood increased significantly in patients with gastrointestinal tract cancer (esophagus and stomach) under the chemo-radiation therapy. It seems that this increase was not correlated with age, sex and type of cancer (stomach or esophagus).

Keywords: chemotherapy, esophageal neoplasms, micronuclei, radiotherapy, stomach neoplasms.