شیوع جهش ژرم‌لاین در کدون ۱۳۰۹ ژن پولیپوز آدنوماتوز کُلی و ارتباط آن با تظاهرات خارج روده‌ای در سندرم پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی

فائقه بهبودی فرح بخش[۱]
حسین مقصودی[۱]
حمید اسدزاده عقدایی[۲]
احسان ناظم الحسینی مجرد[۳*]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
۲- مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری‌های دستگاه گوارش، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۳- گروه سرطان، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، بزرگراه شهید چمران، خیابان یمن، خیابان شهید اعرابی، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد.
تلفن: ۲۲۴۳۲۵۱۸ -۰۲۱
E-mail: ehsanmojarad@gmail.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲٦ ویرایش: ۱۳۹٦/۰٤/۲۰ پذیرش: ۱۳۹٦/۰٤/۳۰ آنلاین: ۱۳۹٦/۰٤/۳۱

زمینه و هدف: پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی جزو شایعترین سندرم‌های پولیپوزیس است. دلیل آن جهش ژرم‌لاین در ژن (Adenomatous polyposis coli, APC) می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی شیوع جهش ژرم‌لاین در کدون ۱۳۰۹ ژن APC و ارتباط آن با تظاهرات خارج روده‌ای در بیماران ایرانی مبتلا به پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی بود.

روش بررسی: این مطالعه به روش توصیفی- مقطعی از تیر ۱۳۹۱ تا اسفند ۱۳۹٤ در مرکز پیشگیری و تشخیص زودرس پژوهشکده گوارش و کبد دانشگاه شهید بهشتی، بیمارستان طالقانی تهران انجام پذیرفت. در این مطالعه ۳۳ بیمار مبتلا به پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های خون محیطی بیماران جهت بررسی موتاسیون شایع ژن APC جمع‌آوری شد و پس از استخراج DNA ژنومی، تعیین توالی دوطرفه صورت گرفت.

یافته‌ها: با بررسی موتاسیون‌ها در ناحیه خوشه‌ای ژن APC، از میان ۳۳ بیمار در پنج بیمار جهش ژرم‌لاین با حذف پنج نوکلئوتیدی در کدون ۱۳۰۹ (c.3927_3931delAAAGA)، معادل ۱۵/۲٪ شناسایی شد. جهش در کدون ۱۳۰۹ با مشخصات کلینیکی و پاتولوژی از جمله تعداد پولیپ‌ها (P=۰/۰۰۱)، درگیری دئودنوم (P=۰/۰۰۸)، پولیپ غده فوندوس (P=۰/۰۰۲) و هیپرتروفی مادرزادی اپیتلیوم رنگی شبکیه (P=۰/۰۲۱) ارتباط معناداری داشت.

نتیجه‌گیری: بررسی یافته‌های مطالعه این احتمال را نشان می دهد که جهش در کدون ۱۳۰۹ ژن APC با پولیپوز شدید و تظاهرات خارج روده‌ای در ارتباط است. در نتیجه ممکن است ارتباطی بین جهش ژرم‌لاین خاص و تظاهرات خارج روده‌ای وجود داشته باشد.

کلمات کلیدی: مطالعه توصیفی-مقطعی، پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی، کدون ۱۳۰۹، ژن Adenomatous polyposis coli.

مقدمه

شایعترین و مهمترین سندرم‌های ژنتیکی سرطان کولورکتال (روده بزرگ و راست روده) در دو گروه جای گرفته‌اند: سندرم پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی (Familial adenomatous polyposis, FAP) و سرطان کولون ارثی غیرپولیپوزیس (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC) یا سندرم لینچ (Lynch Syndrome).[۱و۲] پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی یک سندرم ارثی است با الگوی توارثی اتوزومال غالب که در ۸۰ تا ۹۰٪ از موارد جهش در دودمان زایشی ژن سرکوب‌کننده‌ی تومور (Adenomatous polyposis coli, APC) فرد مبتلا گزارش می‌شود و مسئول کمتر از ۱٪ تمامی سرطان‌های کولورکتال است.[۳و٤] ژن APC بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۵ (۲۲-۵q۲۱) قرار گرفته است که با ۱۵ اگزون و ۸۵۳۸ نوکلئوتید، پروتیینی با ۲۸٤۳ اسیدآمینه را کد می‌کند. حدود ۱۵ تا ۲۰٪ موارد بدون هیچ‌گونه سابقه‌ی خانوادگی از بیماری به‌عنوان "de novo" در نظر گرفته می‌شوند.[۵] شاخصه‌ی فنوتیپی این بیماری

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-12]

وجود صدها تا هزاران پولیپ آدنوماتوز در کولون و رکتوم فرد مبتلا است. در فرم کلاسیک پولیپوز آدنوماتوز، چندین پولیپ آدنوم در زمان کودکی به وجود می‌آید و در دوران بلوغ علایم آن نمایان می‌شود. در ۹۰٪ از افرادی که درمان نشده‌اند تا ٤٥-٤٠ سالگی سرطان کولورکتال مشاهده می‌شود. در نوع شدید آن، موتاسیون ها در ناحیه خوشه‌ای (Mutation cluster region, MCR) بین کدون‌های ۱۲۵۰ تا ۱٤٥۰ اتفاق می‌افتند.[٦]

جهش در نقاط داغ ناحیه‌ی خوشه‌ای (کدون ۱۳۰۰- ۱۳۱۵) منجر به پولیپوز شدید می‌شود.[۷] یکی از مهمترین و متداول‌ترین جایگاه‌های جهش در ژن APC، حذف پنج نوکلئوتیدی (C.3927-3931delAAAGA) در کدون ۱۳۰۹ است. دو ویژگی مهم بیماران با جهش در کدون مربوطه، پولیپوز شدید و شروع زودرس سرطان کولورکتال است.[۸و۹] افزون بر پولیپوز که در بیماران مبتلا رایج است، تظاهرات دستگاه فوقانی در ۳۰ تا ۱۰۰٪ از موارد تشخیص داده می‌شود. این سندرم زمینه را برای سرطان‌های دئودنوم، پانکراس، تیرویید، معده، هپاتوبلاستوما، تومورهای سیتم عصبی مرکزی (اغلب تومور مغزی) و تومور غده‌ی فوق کلیوی (Adrenal tumor) نیز فراهم ساخته و در بیشتر مواقع با عوارض خارج از دستگاه گوارش منجمله تومور دسموید (Desmoids)، هیپرتروفی مادرزادی اپیتلیوم رنگی شبکیه (Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium, CHRPE) و پولیپ‌های غده فوندوس (Fundic gland polyp, FGP) همراه است.[۱۰-۱۲]

نتیجه‌ی بسیاری از جهش‌های ژن APC، تولید پروتیین ناقص و فاقد عملکرد است که در اثر ایجاد کدون‌های اختتام زودرس ایجاد می‌شود و دلیل آن جهش‌های بی‌معنی (Nonsense) یا تغییر قاب (Frameshift) است. جهش در کدون ۱۳۰۹ نوعی جهش تغییر قاب از نوع حذف کوچک است.[۱۳] بیمارانی با جهش در کدون مربوطه، تظاهرات خارج روده‌ای در آن‌ها بیشتر رایج است.[۱٤] مطالعه حاضر، اولین مطالعه در مورد اهمیت بررسی جهش در کدون ۱۳۰۹ ژن APC با تظاهرات خارج روده‌ای (ارتباط ژنوتیپ-فنوتیپ) در بیماران ایرانی مبتلا به سندرم پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی است. هدف از این مطالعه، بررسی شیوع جهش ژرم‌لاین در کدون ۱۳۰۹ ژن APC و ارتباط آن با تظاهرات خارج روده‌ای در بیماران مبتلا به پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی بود.

روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی- مقطعی بود. در این طرح ۳۳ بیمار مبتلا به پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی که جهت درمان یا تشخیص از تیر ۱۳۹۱ تا اسفند ۱۳۹٤ به مرکز پیشگیری و تشخیص زودرس پژوهشکده گوارش و کبد دانشگاه شهید بهشتی، بیمارستان طالقانی تهران مراجعه کرده بودند و پس از انجام کولونوسکوپی توسط پزشک و تایید نتایج حاصل توسط پاتولوژیست به منظور بررسی‌های ژنتیکی مورد مطالعه قرار گرفتند. بیماران از نظر پاتولوژی و علایم بالینی (مانند وجود خون در رکتوم، تغییر اجابت مزاج، دردهای شکمی و غیره) مبتلا به پولیپوز آدنوماتوز بودند. از تمامی بیماران رضایت‌نامه کتبی دریافت شد. این مطالعه از نظر اخلاقی مورد تایید کمیته اخلاق پژوهشکده قرار گرفت.

داده‌های دموگرافیک، بالینی و شرح حال بیماران به‌همراه شجره‌نامه خانوادگی آن‌ها در فرم‌های مربوطه وارد گردید. از تمامی بیماران، جهت انجام آزمایشات ژنتیکی (PCR-Sequencing) نمونه خون محیطی به میزان ٦ ml گرفته شد. روش Polymerase chain Reaction (PCR) مطابق با پروتکل استاندارد، سبب تکثیر منطقه مورد نظر با استفاده از پرایمرها و برنامه اختصاصی توسط دستگاه ترموسایکلر می‌شود.[۱٥]

بدین منظور DNA ژنومی با استفاده از روش استاندارد رسوب‌دهی با نمک (Salting out) از خون محیطی استخراج شده[۱٦] و توالی موتاسیون (c.3927_3931delAAAGA) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی زیر که توسط نرم‌افزار GeneRunner v5.0.4 (Hastings Software, Hudson, NY; http://www.generunner.com) طراحی شده بودند، - Forward: 5′- TGAAGAAGAAGAGAGACCAAC Reverse: 3′- AAGTGAACTGACAGAAGTACATC- 5′/ 3′ تکثیر گردید.

شرایط و برنامه PCR به این ترتیب بود: نخست پنج دقیقه واسرشت اولیه در دمای ۹٤ °C انجام گرفت. سپس ۳۰ چرخه با این برنامه پیش رفت: ٤٥ ثانیه واسرشت با دمای ۹٤ °C، ٤۰ ثانیه دمای ٦۱/۷ °C به منظور اتصال پرایمرها، ٤٥ ثانیه در دمای ۷۲ °C به منظور تکثیر و در پایان پنج دقیقه دمای ۷۲ °C به‌منظور تکثیر پایانی انجام شد. جهت تایید تکثیر، محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۱٪،

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-12]

الکتروفورز گردید. پس از حصول اطمینان، توالی‌یابی با استفاده از دستگاه ABI-3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) انجام شد.

قطعات تکثیر شده از اگزون ۱۵D به منظور اطمینان بیشتر به‌صورت دو طرفی توالی‌یابی شدند. به‌منظور تحلیل آماری جهت بررسی ارتباط جهش در کدون ۱۳۰۹ با تظاهرات خارج روده‌ای از Chi-square test در سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵٪ استفاده شد، سپس نتایج به‌وسیله‌ی SPSS software, version 23 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) آنالیز گردید.

یافته‌ها

در این طرح ۳۳ نفر، شامل ۱۷ مرد (۵۱/۵٪) و ۱۶ زن (۴۸/۵٪) مورد بررسی قرار گرفتند. بیماران با توجه به رسم شجره‌نامه، نتایج پاتولوژی و علایم بالینی، در گروه سندرم ارثی پولیپوزیس قرار گرفتند. ویژگی‌های دموگرافیک و بالینی بیماران مبتلا از جمله سیگاری بودن، مصرف الکل و غیره در جدول ۱ نشان داده شده است.

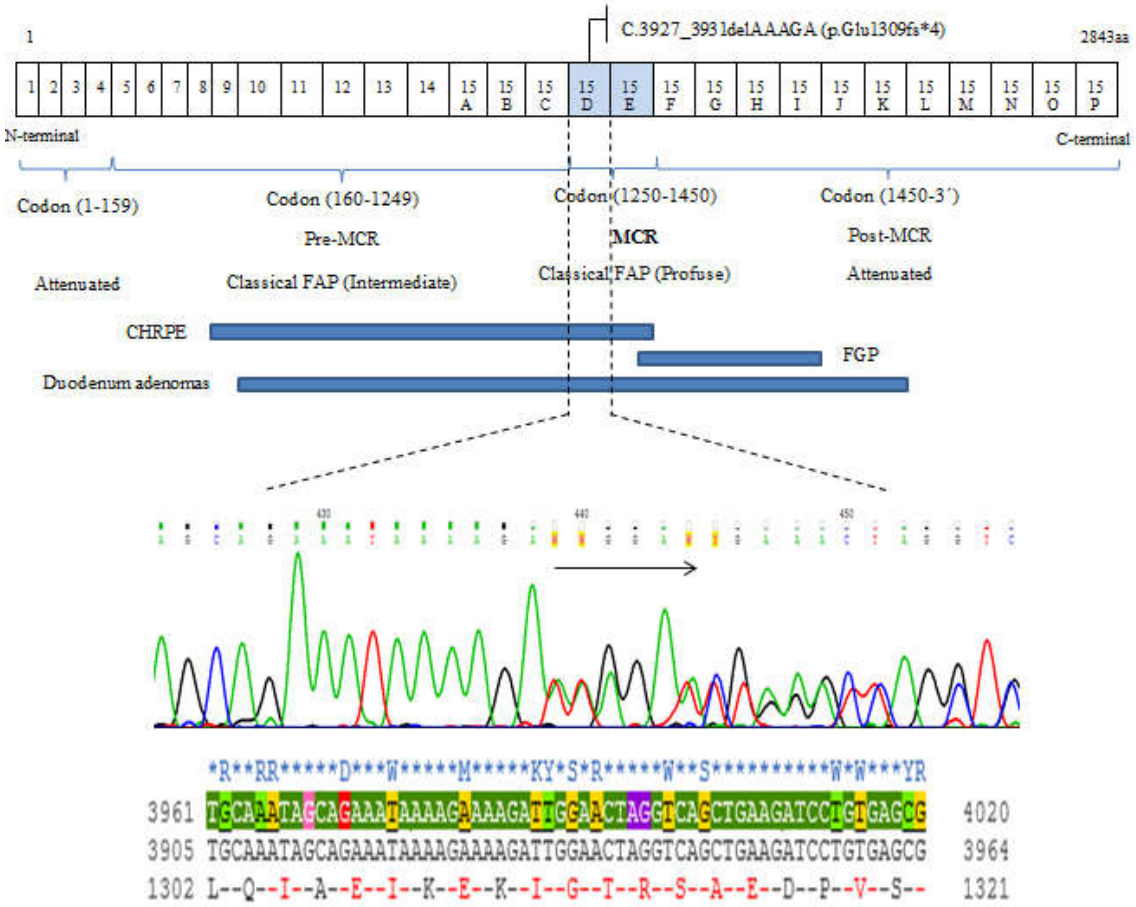
در این مطالعه، با بررسی اگزون ۱۵ ژن Adenomatous polyposis coli (APC)، نقاط داغ ناحیه خوشه‌ای (اگزون ۱۵ D)، پنج جهش ژرم‌لاین معادل ۱۵/۲٪ با حذف پنج نوکلئوتیدی در کدون ۱۳۰۹ (c.3927_3931delAAAGA) شناسایی شد. این جهش جز جهش‌های Frameshift است که به واسطه حذف در یک Open reading frame (ORF)، قاب خواندن به‌هم می‌ریزد، در نتیجه الگوی خواندن کدون‌ها تغییر می‌کند. بر اثر این جهش، پنج نوکلئوتید پورینی آدنین و گوانین (AAAGA) در موقعیت ۳۹۲۷ تا ۳۹۳۱ حذف شده است، در نتیجه تولید پروتیین گلوتامات در کدون ۱۳۰۹ در اثر ایجاد کدون اختتام زودرس (TAG) در ٤ کدون پایین دست موتاسیون ناقص می‌ماند.

در موتاسیون یاد شده توالی‌یابی دو طرفی صورت گرفت تا از وجود موتاسیون اطمینان حاصل شود (شکل ۱). در تعیین محل موتاسیون، شماره‌گذاری نوکلئوتیدها بر اساس توالی APC cDNA با شماره دستیابی ژن (NC_000005) انجام پذیرفت. متغیرهای کلینیکی و پاتولوژی منجمله تعداد پولیپ، تاریخچه خانوادگی، پولیپ‌های غده فوندوس، درگیری دئودنوم و تظاهرات هیپرتروفی مادرزادی اپیتلیوم رنگی شبکیه با حذف پنج نوکلئوتیدی در کدون ۱۳۰۹ بررسی شده است که نتایج حاصل از آن در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱: مشخصات دموگرافی و بالینی ۳۳ بیماران مورد مطالعه

متغیر		
جنس	مرد	۱۷(٪۵۱/۵)
	زن	۱۶(٪٤۸/۵)
سیگار کشیدن	بله	۳(٪۹/۱)
	خیر	۳۰(٪۹۰/۹)
مصرف الکل	بله	٤(٪۱۲/۱)
	خیر	۲۹(٪۸۷/۹)
خون در رکتوم (راست روده)	بله	۲۶(٪۷۸/۸)
	خیر	۷(٪۲۱/۲)
اسهال	بله	۱۳(٪۳۹/٤)
	خیر	۲۰(٪٦۰/٦)
یبوست	بله	۱۰(٪۳۰/۰)
	خیر	۲۳(٪٦۹/۷)
درد شکم	بله	۲۷(٪۸۱/۸)
	خیر	٦(٪۱۸/۲)
عمل جراحی	بله	۲۹(٪۸۷/۹)
	خیر	٤(٪۱۲/۱)
تعداد پولیپ	>۱۰۰	۹(٪۲۷/۳)
	۱۰۰-۱۰	۲٤(٪۷۲/۷)
تاریخچه خانوادگی	بله	۲٤(٪۷۲/۷)
	خیر	۹(٪۲۷/۳)
هلیکوباکترپیلوری	مثبت	۲(٪٦/۱)
	منفی	۳۱(٪۹۳/۹)
پولیپ غده فوندوس	بله	۱۱(٪۳۳/۳)
	خیر	۲۲(٪٦٦/۷)
درگیری دئودنوم (دوازدهه)	مثبت	۸(٪۲٤/۲)
	منفی	۲۵(٪۷۵/۸)
هیپرتروفی مادرزادی اپیتلیوم رنگی شبکیه	مثبت	۱۰(٪۳۰/۰)
	منفی	۲۳(٪٦۹/۷)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-12]



شکل ۱: ساختار ژن APC (ردیف اول)، ارتباط رخداد تظاهرات خارج روده‌ای با جایگاه کدون‌ها (ردیف دوم)، الکتروفروگرام جهش ژرم‌لاین در ژن APC (ردیف سوم)، شماره‌گذاری نوکلئوتیدها بر اساس توالی APC cDNA (ردیف چهارم)

با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه اخیر، اختلاف معناداری بین حذف پنج نوکلئوتیدی در کدون ۱۳۰۹ با تظاهرات خارج روده‌ای شامل درگیری دئودنوم، پولیپ غده فوندوس و هیپرتروفی مادرزادی اپیتلیوم رنگی شبکیه و همچنین اختلاف معناداری بین تعداد پولیپ‌های موجود در روده بزرگ و جهش در کدون ۱۳۰۹ مشاهده شده است.

پس از آنالیز آماری نتایج مشخص شد که ۱۰۰٪ بیمارانی با جهش در کدون ۱۳۰۹، بیش از ۱۰۰ پولیپ در روده بزرگ خود داشتند که این اختلاف از لحاظ آماری معنادار بود (P<۰/۰۰۱). ۱۰۰٪ بیمارانی با جهش در کدون ۱۳۰۹، مشکل پولیپ غده فوندوس داشتند که این اختلاف از لحاظ آماری معنادار بود (P<۰/۰۰۲). ۸۰٪ بیماران با جهش در کدون ۱۳۰۹، دچار درگیری دئودنوم شده بودند که این اختلاف از لحاظ آماری معنادار بود (P<۰/۰۰۸).

۸۰٪ بیماران با جهش در کدون ۱۳۰۹، مشکل هیپرتروفی مادرزادی اپیتلیوم رنگی شبکیه داشتند که این اختلاف از لحاظ آماری معنادار بود (P=۰/۰۲۱).

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-12]

جدول ۲: بررسی متغیرهای کلینیکی و پاتولوژی با حذف پنج نوکلئوتیدی در کدون ۱۳۰۹

		کدون ۱۳۰۹	سایر جهش‌ها*	۳۳(٪۱۰۰) کل جمعیت	P
تعداد پولیپ	>۱۰۰	۵(٪۵۵/۶)	٤(٪٤٤/٤)	۹(٪۱۰۰)	۰/۰۰۱
	۱۰۰-۱۰	۰(٪۰)	۲٤(٪۱۰۰)	۲٤(٪۱۰۰)	
تاریخچه خانوادگی	بله	۵(٪۲۰/۸)	۱۹(٪۷۹/۲)	۲٤(٪۱۰۰)	۰/۲۹۰
	خیر	۰(٪۰)	۹(٪۱۰۰)	۹(٪۱۰۰)	
پولیپ غده فوندوس	بله	۵(٪٤۵/۵)	٦(٪۵٤/۵)	۱۱(٪۱۰۰)	۰/۰۰۲
	خیر	۰(٪۰)	۲۲(٪۱۰۰)	۲۲(٪۱۰۰)	
درگیری دئودنوم	مثبت	٤(٪۵۰)	٤(٪۵۰)	۸(٪۱۰۰)	۰/۰۰۸
	منفی	۱(٪٤)	۲٤(٪۹٦)	۲۵(٪۱۰۰)	
هیپرتروفی مادرزادی اپیتلیوم رنگی شبکیه	مثبت	٤(٪٤۰)	٦(٪٦۰)	۱۰(٪۱۰۰)	۰/۰۲۱
	منفی	۱(٪٤/۳)	۲۲(٪۹۵/۷)	۲۳(٪۱۰۰)	

* جهش‌های Frameshift که در سایر کدون‌های اگزون ۱۵ ژن APC پیدا شده است.

بحث

در سال‌های اخیر مطالعات متعدد ژنتیکی و بالینی در ارتباط با جایگاه موتاسیون در ژن APC و فنوتیپ بالینی شامل، درجه شدت بیماری و وجود تظاهرات خارج روده‌ای انجام شده است. تقریباً ۱۰٪ از همه‌ی موتاسیون‌های ژرم‌لاین ژن APC در بیمارانی که حامل جهش در کدون ۱۳۰۹ هستند، مشاهده شده است. بیمارانی با جهش در کدون مربوطه، تظاهرات خارج روده‌ای در آن‌ها بیشتر رایج است.[۱۷و۱۸]

در این راستا می‌توان به مطالعه‌ی Kim و همکاران اشاره کرد که به بررسی ارتباط ژنوتیپ- فنوتیپ بر روی ۸۳ بیمار پرداخته‌اند که نتایج آن نشان از وجود ۳٤ جهش Frameshift که شش مورد آن شامل جهش در کدون ۱۳۰۹ است. همچنین تظاهرات خارج روده‌ای مانند ناهنجاری دندانی، تومورهای دسموید، هیپرتروفی مادرزادی اپیتلیوم رنگی شبکیه و سرطان پاپیلاری تیرویید مشاهده شد.[۱۹] به طور کلی بر اساس بررسی‌های Ficari، Vasen و همکارانشان، شیوع تظاهرات خارج روده‌ای برای هیپرتروفی مادرزادی اپیتلیوم رنگی شبکیه در ۷۵-۷۰٪ از موارد، استئوم‌های آرواره و ناهنجاری‌های دندانی در ۹۰-۷۰٪ از موارد، تومورهای دستگاه گوارش فوقانی مانند درگیری دئودنوم در ۹۰-۵۰٪، پولیپ غده فوندوس در ۵۰-٤۰٪، پولیپ‌های آدنوم معده در ۲۰-۵٪، کیست‌های اپیدرمی و لیپوما در ۵۰-۲۵٪، تومورهای دسموید در ۱۵-۱۰٪ و سایر بدخیمی‌ها مانند سرطان تیرویید، هپاتوبلاستوما و تومورهای مغزی در ۳٪ از موارد اتفاق می‌افتند.[۲۰و۲۱]

تومورهای دسموید بیشتر در اگزون ۱۵E ناحیه MCR و ناحیه Post-MCR (۳′-۱٤۵۰) ژن APC اتفاق می‌افتد که این بخش‌ها در مطالعه حاضر بررسی نشده‌اند، همچنین ناهنجاری‌های دندانی بیشتر در ناحیه Pre-MCR (۱۲٤۹-۱٦۰) و ناحیه MCR (۱٤۵۰-۱۲۵۰) اتفاق می‌افتد که در مطالعه حاضر موردی یافت نشد و این برخلاف مطالعه Kim و همکاران است. مطالعه Kashfi و همکاران اولین گزارش از غربالگری ژنتیکی در بیماران ایرانی مبتلا به پولیپوز آدنوماتوز می‌باشد. این مطالعه بر روی چهار بیمار انجام شد که در دو بیمار حذف پنج نوکلئوتیدی (c.3927_3931delAAAGA) در کدون ۱۳۰۹ مشاهده گردید. از آن‌جا که پولیپوز یکی از ویژگی‌های اصلی بیماران با جهش در کدون ۱۳۰۹ است، مطالعه حاضر بر خلاف مطالعات دیگر نشان داده است که یکی از بیماران با جهش مربوطه، فنوتیپ خفیف‌تری دارد همچنین تظاهرات خارج روده‌ای مانند پولیپ‌های دستگاه گوارش فوقانی (Upper gastrointestinal polyps,

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-12]

(UPG در یکی از موارد شناسایی شده است.[٦] مطالعه‌ی دیگری توسط De la Fuente و همکاران بر روی ٢١ خانواده انجام شد که سه مورد آن معادل ١٤٪، جهش در کدون ١٣٠٩ را شامل می‌شد. در مقابل شیوع جهش در جمعیت ما معادل ١٥/٢٪ است.

در این مطالعه همانند مطالعه حاضر، پولیپ‌های دئودنوم گزارش شده است ولی در مقایسه با مطالعه حاضر، هیچگونه پولیپ دستگاه گوارش فوقانی مانند درگیری دئودنوم و پولیپ غده فوندوس گزارش نشده است.[٢٢] Liao و همکاران دو شجره‌نامه از خانواده‌های چینی مبتلا به پولیپوز آدنوماتوز را با جهش جدید Frameshift در کدون ١٣٠٩ گزارش کردند که در آن افراد تحت تأثیر تغییرات فنوتیپی آشکار قرار گرفتند. بر اساس یافته‌ها، افراد موجود در یک خانواده ممکن است حتی با یک جهش یکسان در کدون ١٣٠٩، فنوتیپ متفاوتی در آن‌ها بروز کند. لازم به یادآوری است برخلاف مطالعات پیشین، تظاهرات خارج روده‌ای در هیچکدام از بیماران مشاهده نشده است.[٢٣]

جهش در کدون ١٣٠٩ که نوعی جهش Frameshift است، تأثیر فنوتیپی شدیدی بر روی بیماران مبتلا به پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی دارد، در نتیجه ممکن است ارتباطی بین جهش ژرم‌لاین خاص و تظاهرات خارج روده‌ای وجود داشته باشد. با توجه به الگوی وراثت این بیماری، نسل‌های متمادی در معرض خطر ابتلا قرار دارند. بنابراین بررسی جهش‌های شایع همانند جهش در کدون ١٣٠٩ می‌تواند به‌عنوان یک مارکر تشخیصی اولیه جهت غربالگری خانواده ها و افراد مبتلا به کار گرفته شود.

پیشنهاد می‌گردد جهت بررسی بیشتر ارتباط ژنوتیپ-فنوتیپ، حجم نمونه افزایش یابد، همچنین توصیه می‌شود با توجه به گوناگونی فنوتیپی در بیماران مربوطه، افراد در معرض خطر با سابقه خانوادگی و یا اشخاصی با چندین پولیپ کولورکتال تحت غربالگری ژنتیکی قرار گیرند.

سپاسگزاری: این مقاله بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی موتاسیون‌های ژن APC در بیماران ایرانی مبتلا به آدنوماتوزپولیپوزیس خانوادگی"، مصوب پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در سال ١٣٩٣ با کد ٧٠٧ می‌باشد که با حمایت پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی اجرا شده است.

References

1. Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, et al. Colorectal cancer. *Lancet* 2010;375(9719):1030-47.
2. Bogaert J, Prenen H. Molecular genetics of colorectal cancer. *Ann Gastroenterol* 2014;27(1):9-14.
3. Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, et al. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell* 1991;66(3):589-600.
4. Kinzler KW, Nilbert MC, Su LK, Vogelstein B, Bryan TM, Levy DB, et al. Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science* 1991;253(5020):661-5.
5. Aretz S, Uhlhaas S, Caspari R, Mangold E, Pagenstecher C, Propping P, et al. Frequency and parental origin of de novo APC mutations in familial adenomatous polyposis. *Eur J Hum Genet* 2004;12(1):52-8.
6. Kashfi SM, Behboudi Farahbakhsh F, Golmohammadi M, Nazemalhosseini Mojarad E, Azimzadeh P, Asadzadeh Aghdaie H. Frameshift mutations (Deletion at codon 1309 and codon 849) in the APC gene in Iranian FAP patients: a case series and review of the literature. *Int J Mol Cell Med* 2014;3(3):196-202.
7. Rivera B, González S, Sánchez-Tomé E, Blanco I, Mercadillo F, Letón R, et al. Clinical and genetic characterization of classical forms of familial adenomatous polyposis: a Spanish population study. *Ann Oncol* 2011;22(4):903-9.
8. Caspari R, Friedl W, Mandl M, Möslein G, Kadmon M, Knapp M, et al. Familial adenomatous polyposis: mutation at codon 1309 and early onset of colon cancer. *Lance* 1994;343(8898):629-32.
9. Bertario L, Russo A, Sala P, Varesco L, Giarola M, Mondini P, et al. Multiple approach to the exploration of genotype-phenotype correlations in familial adenomatous polyposis. *J Clin Oncol* 2003;21(9):1698-707.
10. Septer S, Slowik V, Morgan R, Dai H, Attard T. Thyroid cancer complicating familial adenomatous polyposis: mutation spectrum of at-risk individuals. *Hered Cancer Clin Pract* 2013;11(1):13.
11. Schiessling.S, Kihm.M, Ganschow P, Kadmon G, Büchler MW, Kadmon M. Desmoid tumour biology in patients with familial adenomatous polyposis coli. *British J Surg* 2013;100(5):694-703.
12. Groen EJ, Roos A, Muntinghe FL, Enting RH, de Vries J, Kleibeuker JH, et al. Extra-intestinal manifestations of familial adenomatous polyposis. *Ann Surg Oncol* 2008;15(9):2439-50.
13. Aretz S, Vasen H, Olschwang S. Clinical utility gene card for: Familial adenomatous polyposis (FAP) and attenuated FAP (AFAP). *Eur J Hum Genet* 2015;23(6):890.
14. Nugent KP, Phillips RKS, Hodgson SV, Cottrell S, Smith-Ravin J, Pack K, et al. Phenotypic expression in familial adenomatous polyposis: partial prediction by mutation analysis. *Gut* 1994;35(11):1622-3.
15. Green M, Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor: Laboratory Press; 2012.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-12]

16. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16(3):1215.
17. Kanter-Smoler G, Fritzell K, Rohlin A, Engwall Y, Hallberg B, Bergman A, et al. Clinical characterization and the mutation spectrum in Swedish adenomatous polyposis families. *BMC Med* 2008;6:10.
18. Plawski A, Slomski R. APC gene mutations causing familial adenomatous polyposis in Polish patients. *J Appl Genet* 2008;49(4):407-14.
19. Kim DW, Kim IJ, Kang HC, Park HW, Shin Y, Park JH, et al. Mutation spectrum of the APC gene in 83 Korean FAP families. *Hum Mutat* 2005;26(3):281.
20. Ficari F, Cama A, Valanzano R, Curia MC, Palmirotta R, Aceto G, et al. APC gene mutations and colorectal adenomatosis in familial adenomatous polyposis. *Br J Cancer* 2000;82(2):348-53.
21. Vasen HF. Clinical diagnosis and management of hereditary colorectal cancer syndromes. *J Clin Oncol* 2000;18(21 Suppl):81S-92S.
22. De la Fuente MK, Alvarez KP, Letelier AJ, Bellolio F, Acuña ML, León FS, et al. Mutational screening of the APC gene in Chilean families with familial adenomatous polyposis: nine novel truncating mutations. *Dis Colon Rectum* 2007;50(12):2142-8.
23. Liao DX, Li B, Du XM, Yu JH, Chang H, Wu ZQ, et al. Two Chinese pedigrees for adenomatous polyposis coli: new mutations at codon 1309 and predisposition to phenotypic variations. *Fam Cancer* 2014;13(3):361-8.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-12]

TUMJ Tehran University Medical Journal, July 2017; Vol. 75, No. 4: 259-266 Original Article

Germline mutation at codon 1309 of the adenomatous polyposis coli gene and exteracolonic manifestations in familial adenomatous polyposis

Faegheh Behboudi Farahbakhsh M.Sc.[1]
Hossein Maghsoudi Ph.D.[1]
Hamid Asadzadeh Aghdaei M.D., Ph.D.[2]
Ehsan Nazemalhosseini-Mojarad Ph.D.[3*]

1- Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.
2- Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Cancer, Gastroenterology and Liver Disease Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*]Corresponding author: Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid A'arabi St., Yaman St., Chamran Highway, Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 22432518
E-mail: ehsanmojarad@gmail.com

Abstract

Received: 13 Feb. 2017 Revised: 11 Jul. 2017 Accepted: 21 Jul. 2017 Available online: 22 Jul. 2017

Background: Familial adenomatous polyposis (FAP) is the most common components polyposis syndromes. It incidence is for less than 1 percent of colorectal cancer cases. FAP is characterized by germline mutations in the adenomatous polyposis coli (APC) gene. Generally, there are hundreds to thousands of adenomatous polyps in colon and rectum of patients. The aim of the current study was to evaluate the germline mutation at codon 1309 of the APC gene and its association with extracolonic manifestations in Iranian patients with FAP.

Methods: This Cross-sectional study was conducted at the Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Taleghani Hospital, Tehran, Iran from July 2012 to February 2015. In this study, thirty-three patient with FAP was examined. Demographic and clinical data were gathered from patients. In addition, peripheral blood samples were collected to study the most common mutations of the APC gene and bidirectional sequencing was carried out after genomic DNA extraction by salting out method. Primers were designed by GeneRunner version 5.0.4 (http://www.generunner.com). The samples were run on an applied biosystems 3130XL genetic analyzer. The results were analyzed by SPSS software, version 23 (IBM, Armonk, NY, USA).

Results: After analyzing the mutation cluster region (MCR), we have identified five germline mutations with 5bp deletion at codon 1309 of the APC gene (c.3927_3931delAAAGA), that it is equivalent to 15.2% (5.33). This mutation has been known as a small deletion, that it is a variant of frameshift mutation. Mutation at codon 1309 has significant association with clinical and pathological features including the number of polyps (P=0.001), duodenum demonstration (P=0.008), fundic gland polyp (P=0.002) and congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium (P=0.021).

Conclusion: The analysis of the findings has shown that mutation in Codon 1309 of adenomatous polyposis coli gene may be associated with severe polyposis and extracolonic manifestations. In conclusion, there may be a correlation between a specific germline mutation and the extracolonic manifestations.

Keywords: adenomatous polyposis coli gene, codon 1309, cross-sectional studies, familial adenomatous polyposis.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-12]