

The identification of inherited mutant alleles of MutYH gene in colorectal adenoma and carcinomas under 50 years referred to hospitals in Mashhad

Hamzehloei T.* *PhD*, Sarli A.¹ *MSc*, Hoseini SA.² *MSc*

* PhD, Human molecular genetics, Department of medical Genetics, Medical school, Mashhad University of Medical Science, Mashhad, Iran

¹MSc, human genetics, Department of medical Genetics, Medical school, Mashhad University of Medical Science, Mashhad, Iran

²MSc, human genetics, Department of medical Genetics, Medical school, Mashhad University of Medical Science, Mashhad, Iran

Abstract

Aims: it has been shown mutations in a gene of base excision repair called MutY homologue may be associated with an inherited autosomal recessive polyposis with multiple colorectal adenomas and high-risk for CRC. The most common pathogenic variants of MutYH gene are homozygous or compound heterozygous mutations Y165C and G382D that approximately 80% of all variants are reported, especially in Europe. also the special population pathogenic variants in Pakistan (Y90X) and Indian (E466X) has been reported. In this study, it became to consider pathogenic mutations in the gene MutYH that have a high prevalence in Europe, India and Pakistan in Iranian patients with hereditary multiple colorectal adenoma or colorectal carcinoma.

Methods: 30 patients referred to hospitals in Mashhad with multiple colorectal adenoma or colorectal carcinoma were under 50 years of age and their family pedigree showed autosomal recessive inheritance pattern, was selected. DNA was extracted from blood samples. The PCR reaction was optimized for the desired exons. Common mutations have been reported in Europe and the Indian and Pakistani populations, by PCR-RFLP and sequencing techniques were investigated and the results were compared with the control group.

Results: In this study, in selected Iranian patients with hereditary multiple colorectal adenoma or colorectal carcinoma who were referred to hospitals in Mashhad, Mutations investigated were not.

Conclusion: Conclusions: It can be probably infer that in the Iranian population, there are especially population mutations that requires investigation full-length gene.

Keywords: colorectal cancer MutY homologue, Allele, PCR

بررسی ال‌های موتانت ارثی ژن MutYH در بیماران مبتلا به کولورکتال آدنوما و کارسینومای زیر ۵۰ سال مراجعه کننده به بیمارستان های مشهد

دکتر طبیه حمزه لویی* PhD

استادیار گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

عبدالعظیم سارلی MSc

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه

علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

سید امیر حسینی MSc

کارشناسی ارشد گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی

مشهد

چکیده

اهداف: مشخص شده است که وقوع جهش در یک ژن تعمیر خارج سازی باز به نام MutY homologue ممکن است با یک فرم ارثی اتوزوم مغلوب پولیپوزیس با وجود آدنوماهای کولورکتال چندانگانه و خطر بالای ابتلا به CRC همراه باشد. شایع ترین واریانت های پاتوژنیک ژن MutYH جهش های هموزیگوت یا هتروزیگوت مرکب Y165C و G382D است که تقریباً حدود ۸۰ درصد همه ی واریانت های گزارش شده خصوصاً در اروپا را تشکیل می دهند. همچنین واریانت های پاتوژنیک ویژه جمعیت نیز در پاکستان (Y90X) و در هند (E466X) گزارش شده است. در این تحقیق بر آن شدیم تا جهش های بیماری زای ژن MutYH که در جوامع اروپا، هند و پاکستان شیوع بالایی داشته اند را در بیماران ایرانی مبتلا به آدنومای چندانگانه کولورکتال ویا کارسینوم کولورکتال ارثی، مورد بررسی قرار دهیم.

روش ها: ۳۰ بیمار مراجعه کننده به بیمارستان های مشهد که دارای آدنومای چندانگانه کولورکتال ویا کارسینوم کولورکتال بوده و سن زیر ۵۰ سال داشتند و همچنین شجره نامه خانوادگی آنها الگوی توارثی اتوزوم مغلوب نشان می داد، انتخاب شدند. DNA از نمونه خون آنها استخراج شد. سپس واکنش PCR برای اگزون های مورد نظر بهینه سازی شد و جهش های شایع در اروپا، هند و پاکستان، توسط تکنیک PCR-RFLP و توالی یابی، بررسی شد.

یافته ها: در این مطالعه در بیماران ایرانی انتخاب شده مبتلا آدنومای چندانگانه کولورکتال ویا کارسینوم کولورکتال ارثی (CRC) مراجعه کننده به بیمارستان های مشهد، جهش های مورد بررسی مشاهده نشد. **نتیجه گیری:** می توان استنباط کرد که احتمالاً در جمعیت ایرانی تحت بررسی در این تحقیق جهش یا جهش های ویژه جمعیت در این ژن وجود داشته باشد که در دیگر نقاط ژن حضور دارند که یافتن آن ها نیازمند بررسی تمام طول ژن MutYH می باشد.

کلیدواژه: سرطان کولورکتال، MutYH، آلل، PCR

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۱/۷

مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC) دومین سرطان شایع در سراسر جهان است و حدوداً در ۳۵ درصد از بیماران سرطان کولورکتال فاکتورهای ارثی یافت می شوند. مهمترین سرطان های ارثی کولورکتال شامل سندرم لینچ (که سرطان ارثی غیر پولیپوز کولورکتال ۱ «HNPCC» نیز نامیده می شود)، پولیپوزیس آدنوماتوز خانوادگی ۲ FAP می باشند که همگی توارث اتوزوم غالب دارند.[۱] مطالعات اخیر نشان داده اند که بخش قابل توجهی از بیماران مبتلا به آدنوم متعدد و کاسینومای کولورکتال ممکن است با نوع جدیدی از نقص در ترمیم DNA همراه باشند. نشان داده شده است که وقوع جهش در یک ژن تعمیر خارج سازی باز به نام MutY homologue ممکن است با یک فرم اتوزوم مغلوب پولیپوزیس که با وجود آدنوماهای کولورکتال چندانگانه و خطر بالای ابتلا به CRC، همراه باشد. این بیماری که MAP۳ خوانده می شود یک اختلال با توارث اتوزوم مغلوب است.[۲] ژن MUTYH که ژن مسبب این بیماری شناخته شده است بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱ قرار دارد و نقشه آن ۱P34.3_P32.1 است و حدود ۱۱/۲kb طول دارد و از ۱۶ اگزون تشکیل شده است. این ژن پروتئینی با ۵۳۵ اسید آمینه که نوعی گلیکوزیلاز است و MUTYH گلیکوزیلاز نامیده می شود را کد می کند. این پروتئین که از اجزاء درگیر در تعمیر DNA به روش خارج سازی باز ۴ (BER) است در سال ۱۹۹۵ در انسان شناسایی شد و در تعمیر آسیب های اکسیداتیو DNA نقش دارد.[۳] شایع ترین واریانت های پاتوژنیک ژن MutYH جهش های هموزیگوت یا هتروزیگوت مرکب Y165C و G382D در اگزون های ۷ و ۱۳ است که تقریباً حدود ۸۰ درصد همه واریانت های گزارش شده خصوصاً در اروپا را تشکیل می دهند.[۴] واریانت های پاتوژنیک ویژه جمعیت نیز یافت شده اند که شامل واریانت های یافت شده در پاکستان (Y90X) و هند (E466X) می باشد. این بیماری ابتدا توسط Al-Tassan و همکارانش در سال ۲۰۰۲ به عنوان یک نوع از کولورکتال آدنومای چندانگانه با توارث اتوزوم مغلوب تعریف شد، در این آدنوماها که توسط این گروه بررسی شدند تغییرات نوکلئوتیدی از نوع تبدیل «Transversion» به صورت G:C→T:A در ژن APC مشاهده شد. همچنین این گروه وجود جهش های دوآلی (Biallelic) در ژن MutYH را در

¹ -hereditary non polyposis colorectal cancer

² -familial adenomatous polyposis

³ - MUTYH-associated polyposis

⁴ -Base excision repair

جمعیت ها به جمعیت ایرانی هستند که این ژن در آنها بررسی شده است، در بیماران ایرانی انتخاب شده که مبتلا به کارسینومای کولورکتال (CRC) بودند، مشاهده نشد.

بحث

عقیده بر آن است که عدم فعالیت یا فعالیت ناقص پروتئین MUTYH رخداد تبدیل سوماتیکی G:C→T:A را افزایش می دهد. برای مثال جهش های سوماتیک در ژن APC در تومورهای MAP، تقریباً منحصرأ از نوع G:C→T:A بودند، یافته ایی که منجر به کشف سندرم MAP شد. به طور مشابه شایع ترین جهش KRAS یک انکوژن که در اغلب سرطانهای کولورکتال جهش می یابد) در تومورهای MAP تبدیل G:C→T:A در کدون 12 گزارش شده است.[۵] با توجه به اینکه این بیماری در حدود کمتر از یک دهه قبل برای اولین بار شناسایی شده است اطلاعات کمی در مورد شیوع بیماری و جهش های ژن MutYH و فنوتیپ آن در دسترس می باشدو به طور دقیق پایه گذاری نشده است، بنابراین احتمالاً به علت کم بودن شیوع و فرکانس جهش ها در این ژن و در این نوع از سرطان کولورکتال نیاز به بررسی نمونه های بیماران بیشتری برای یافتن این جهش ها در این نوع از بیماران باشد. به علاوه جهش های متفاوت مختص به جمعیت های مختلف نیز در MutYH شناسایی شده اند. برای مثال جهش های شناسایی شده برای جمعیت ایتالیایی (۳۹۵ del/ GGA)، پرتغال (insGG)، پاکستان (1186-1187)، هند (E466X) می باشند.

نتیجه گیری: می توان استنباط کرد که احتمالاً در جمعیت ایرانی تحت بررسی در این تحقیق نیز جهش یا جهش های ویژه جمعیت در این ژن وجود داشته باشد که در دیگر نقاط ژن حضور دارند که یافتن آن ها نیازمند بررسی تمام طول ژن MutYH می باشد.

تشکر و قدر دانی

از گروه ژنتیک پزشکی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد سپاسگزاری می شود.

رده ی زایا نشان دادند. Cleary و همکاران در سال ۲۰۰۹ در تحقیقات و بررسی های خود نشان دادند که جهش مونوالی رده ی زایای ژن MutYH خطر ابتلا به CRC را تقریباً به مقدار ۱/۵ برابر افزایش می دهد و جهش های دو الی خطر ابتلا به CRC را نزدیک به ۲۰ برابر افزایش می دهد.[۶،۷] این نوع از سرطان که جزء سرطان های ارثی دسته بندی می شود در صورتی که فنوتیپ و خصوصیات آن به خوبی مشخص شود، و بتوان معیارهای بررسی ژن دخیل در آن را پایه گذاری کرد، می تواند در مشاوره ژنتیک به بستگان فرد بیمار و پیشگیری بیماری در افراد در معرض خطر ابتلا، نقش مهمی ایفا کند.

روش ها: در این مطالعه تعداد ۳۰ بیمار مبتلا کارسینوم کولورکتال با سن زیر ۵۰ سال و دارای سابقه خانوادگی با تشخیص پزشک متخصص از بیمارستانهای سطح مشهد انتخاب شدند. همچنین گروه کنترل که به بیماری مذکور مبتلا نبودند و از لحاظ سن مرتبط با گروه بیمار بودند، در نظر گرفته شد. افرادی که دارای پولیپ بین ۲۰ تا ۱۵۰ عدد بوده و یا مبتلا به کارسینوم کولورکتال بوده و دارای سابقه فامیلی بر اساس الگوی توارثی مغلوب بودند انتخاب شدند و بر اساس الگوهای تشخیصی، بیماران مبتلا به انواع سرطانهای کولورکتال دیگر مانند FAP و HNPCC و همچنین بیماران مبتلا به نوع اسپورادیک کولورکتال و سن بالای ۵۰ سال، از مطالعه خارج شدند. DNA از خون محیطی بیماران روش salting out استخراج شده و شرایط واکنش PCR برای اگزون های ۳، ۷، ۱۳ و ۱۴ بهینه سازی شد. بررسی جهش های (Y 165 C) در اگزون ۷ و (G 382 D) در اگزون ۱۳ توسط تکنیک PCR-RFLP و Bgl II و Mwo I استفاده از آنزیم محدود کننده یافت شده در پاکستان (Y90X) در اگزون ۳ و هند (E466X) در اگزون ۱۴، که نزدیکترین جمعیت ها به جمعیت ایرانی هستند که ژن MutYH در آنها بررسی شده است، توسط تکنیک توالی یابی بررسی شدند.

جهش های شایع ژن MutYH که شامل دو جهش (Y 165 C) و (G 382 D) که حدود ۸۰ درصد جهش های گزارش شده در جوامع دیگر از جمله در اروپا هستند و همچنین جهش های (Y90X) در پاکستان و (E466X) در هند که نزدیکترین

منابع

1. Croitoru ME, Cleary SP, Berk T, Di Nicola N, Kopolovic I, Bapat B, et al. Germline MYH mutations in a clinic-based series of Canadian multiple colorectal adenoma patients. J Surg Oncol. 2007;95(6):499-506.
2. Terdiman JP. MYH-associated disease: attenuated adenomatous polyposis of the colon

is only part of the story. Gastroenterology. 2009;137(6):1883-6.

3. Gismondi V, Meta M, Bonelli L, Radice P, Sala P, Bertario L, et al. Prevalence of the Y165C, G382D and 1395delGGA germline mutations of the MYH gene in Italian patients with adenomatous polyposis coli and colorectal adenomas. Int J Cancer. 2004;109(5):680-4.

4. Goto M, Shinmura K, Nakabeppu Y, Tao H, Yamada H, Tsuneyoshi T, et al. Adenine DNA glycosylase activity of 14 human MutY homolog (MUTYH) variant proteins found in patients with colorectal polyposis and cancer. *Hum Mutat.*31(11):E1861-74.
5. Nielsen M, Morreau H, Vasen HF, Hes FJ. MUTYH-associated polyposis (MAP). *Crit Rev Oncol Hematol.*2010:19.
6. Nielsen M, Joerink-van de Beld MC, Jones N, Vogt S, Tops CM, Vasen HF, et al. Analysis of MUTYH genotypes and colorectal phenotypes in patients With MUTYH-associated polyposis. *Gastroenterology.* 2009;136(2):471-6.