

تشخیص جابه‌جایی ژن *Bcl-2* در سرطان پانکراس در بیماران ایرانیسوزان گرده<sup>1\*</sup>، رضا شیخ‌نژاد<sup>2</sup>، سید عبدالحمید انگجی<sup>3</sup>، محمود خانیکی<sup>4</sup>، وحید مرندي<sup>5</sup>

1. کارشناس ارشد رشته ژنتیک، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران
2. دکترای بیوشیمی، مدیر بخش تحقیقات بیولوژی، شرکت مهندسی تحقیقاتی توفیق دارو، تهران، ایران
3. استادیار، دکترای زیست‌شناسی گرایش ژنتیک، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران
4. دانشیار، دکترای آسیب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
5. 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 14 بر اثر جابه‌جایی، سبب افزایش بیان بیش از حد این ژن می‌شود.

**مواد و روش‌ها** این مطالعه روی 49 نمونه پارافینه‌شده (حاصل از بررسی 1537 لام مربوط به 105 بیمار موجود در یکی از مهم‌ترین مراکز تحقیقاتی سرطان کشور (انستیتو کانسر دانشگاه علوم پزشکی تهران و در بازه زمانی 8 ساله)) با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) انجام شد.

**یافته‌ها** تعداد 23 بیمار (46/9 درصد) از افراد مورد بررسی، جابه‌جایی ژن *Bcl-2* را در سه نقطه شکست کروموزومی با نرخ 43 درصد (10 نفر) در ناحیه *mbr*، 48 درصد (11 نفر) در ناحیه *mcr* و 9 درصد (2 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

سوماتیکی است. مرگ سلول‌ها پایه ژنتیکی دارد و در صورت اختلال در این سیستم ژنتیکی، این پدیده اتفاق نمی‌افتد [1].

علت اکثر سرطان‌ها، انباشت جهش در سلول‌های

\* نویسنده مسئول: سوزان گرده

نشانی: کیلومتر 18 جاده مخصوص تهران کرج، خیابان داروپخش، شرکت مهندسی تحقیقاتی توفیق دارو

تلفن: 02144987362، دورنگار:

رایانه: s.gordehie@yahoo.com

شناسه ORCID: ???

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره 25، شماره 1، فروردین و اردیبهشت 1397، ص 61-68.

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: [journal@medsab.ac.ir](mailto:journal@medsab.ac.ir)

شاپای چاپی: 1606-7487

افزایش می‌دهد. جهش در ژن‌های K-ras، P16 و Dpc4 در اکثر سرطان‌های پانکراس گزارش شده است. فاکتور Epidermal Growth Factor- Receptor در 65 درصد از بیماران مبتلا به سرطان پانکراس فعالیت بالایی نشان می‌دهد [6]. فقدان ژن SMAD4 که سبب رشد بی‌رویه سلول می‌شود، در 55 درصد از این بیماران مشاهده شده است. جهش در P53 (غیرفعال شدن آن) در 75 درصد از بیماران مشاهده می‌شود [7]. آنکوژن K-ras از عوامل مهم ژنتیکی است که در بروز سرطان پانکراس، نقش به‌سزایی ایفا می‌کند و در 95 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 [8، 9].

پروتوآنکوژن Bcl-2 روی کروموزوم 18 واقع شده است. قرارگرفتن این ژن در مجاورت پروموتور قوی رشته سنگین ایمونوگلوبین IgH روی کروموزوم 14 بر اثر جابه‌جایی، سبب افزایش بیان بیش از حد این ژن می‌شود [10]. با استفاده از روش‌های فلوسایتومتری و ایمونوهیستوشیمی، ارتباطی قوی بین ژن Bcl-2 و رشته سنگین ایمونوگلوبین IgH پیدا شده است [10]. اعضای خانواده Bcl-2 در بیشتر سرطان‌های پانکراس بیان بالایی دارد [9]. ناحیه شکست Major break (mbr (point region)، در ناحیه‌ای به طول 150 bp از سمت 3Untranslated (Minor cluster و Bcl-2 ژن) mcr (region) تقریباً در ناحیه 30 kb پایین دست ژن Bcl-2 به طول 500 bp با استفاده از روش PCR مشخص می‌شود. icr (Intermediate cluster region) و mcr روی اگزون 3 ژن Bcl-2، 2 شناسایی شده است [11]. 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 [12]. قابل توجه است که نامگذاری این ژن به دلیل تشخیص اولیه جابه‌جایی آن در انواع سرطان‌های Lymphoma B-cell بوده است. در بیشتر سلول‌های فولیکولار لنفوما، ترانس لوکیشن ژن (q21، q32) (14:18) t تشخیص داده شده است [13].

### 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 1385-1393 به این مرکز مراجعه کرده بودند شناسایی شد. با

مرگ سلولی قسمتی از برنامه رشدونمو در سلول‌های بدن جانوران است. مرگ برنامه‌ریزی شده برای اجتناب از سرطان اهمیت دارد. تمام خانواده پروتئین‌هایی که در B-cell لنفوما 2 به‌عنوان عضو مشترک یافت می‌شود، ناحیه همسان مشترکی به نام 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 dATP/ATP، Factor-1 (Apaf-1) و پروکاسپاز-9، کمپلکس پیچیده شناخته‌شده‌ای از آپوپتوزوم است [2].

تنظیم‌کننده‌های مثبت (Bid, Bic, Bak, Bax) آپوپتوزیس را پیش می‌برد و تنظیم‌کننده‌های منفی (Bcl-XL, Bcl-2) 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 [3].

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 سرطان آدنوکارسینوما پانکراس چهارمین بیماری کشنده محسوب می‌شود [4]. بیشترین بیماران مبتلا به سرطان پانکراس در سال اول تشخیص، از بین می‌روند و فقط 6 درصد آن‌ها به مدت پنج سال بعد از تشخیص به زندگی خود ادامه می‌دهند [5]. 60 درصد بیماران مبتلا به سرطان آدنوکارسینوما پانکراس زمانی تشخیص داده می‌شوند که عمل جراحی روی آن‌ها انجام‌پذیر نیست و از آن پس فقط 3 تا 6 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 دیرهنگام در این بیماری، به شناسایی و هدایت این سرطان قبل از متاستاز و تهاجم نیازمندیم [4]. در سرطان آدنوکارسینوما پانکراس سه نوع متفاوت از آسیب سلولی از نظر اندازه و محل مشاهده می‌شود [5].

جهش ژنتیکی و ناهنجاری‌های اپی‌ژنتیکی از عوامل کارسینوژن پانکراس است. عوامل ارثی 5-10 درصد در بروز این سرطان نقش دارد [6]. بیش از 130 نوع میکرو RNA با طول 20-22 نوکلئوتید دارای نقش در ایجاد سرطان پانکراس شناسایی شده است. در 89-92 درصد از سرطان‌های پانکراس، هایپرمتیلشن ژن p16 گزارش شده است [6]. جهش در ژن BRCA2 به میزان 3-10 برابر خطر ابتلا به این سرطان را

علامت‌گذاری شده برداشت و در داخل میکروتیوب‌های 2ml منتقل شد که قبلاً با اتوکلاو در درجه حرارت 121 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 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 [14]. مراحل عملیات استخراج DNA در این بررسی عبارت بود از: (1) جداسازی پارافین، (2) آب‌دهی به بافت، (3) هضم بافت، (4) DNA Clean up، (5) رسوب‌دهی DNA، (6) ارزیابی کمیت و کیفیت DNA به روش اسپکتروفتومتری.

انتخاب پرایمر. در این بررسی، توالی پرایمرها برای سه نقطه شکست *mbr*، *mcr* و *icr* از مقالات استخراج شد [10]. در نهایت، اختصاصی بودن محل اتصال آن در وبسایت NCBI در قسمت Primer Blast تأیید شد. مشخصات پرایمرها در جدول 1 آمده است.

توجه به کد پاتولوژی هر بیمار، لام‌های تهیه‌شده از بیماران از آرشیو نگهداری لام‌های بیماران مرکز استخراج شد. تمامی لام‌های استخراج‌شده را متخصص پاتولوژی بخش با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی و نمونه‌های سرطان آدنوکارسینوما 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 مژیک 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 14 Needle از ناحیه

جدول 1. مشخصات پرایمرهای به‌کاررفته

اندازه محصول PCR(bp)	درجه حرارت $TM^{\circ}C$	محتوای GC%	طول پرایمر (Me r)	توالی پرایمر
200-300	63/5	45/83	20	F:5 -GAGAGTTGCTTTACGTGGCC-3
	61/7	63/16	19	R:5 -ACCTGAGGAGACGGTGACC-3
580-630	60/5	55	20	F:5 -CGCTTGACTCCTTTACGTGC-3
	61/7	63/16	19	R:5 -ACCTGAGGAGACGGTGACC-3
75-135	62/9	47/83	23	F:5 -TCGTTCTCAGTAAGTGAGAGTGC-3
	61/7	63/16	19	R:5 -ACCTGAGGAGACGGTGACC-3

### روش انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) Polymerase Chain Reaction

در این بررسی از مسترمیکس (1.5 mM  $MgCl_2$ - Final Concentration) استفاده شد. اجزای تشکیل‌دهنده آن عبارت است از  $0.4mMs$  dNTP،  $3mM$   $MgCl_2$ ،  $0.2$  unit/ $\mu l$  Ampelion Taq DNA Polymerase و واکنش PCR مطابق با مقادیر به‌کاررفته در جدول 2 و طبق برنامه PCR جدول 3 انجام شد.

جدول 2. مقادیر به‌کاررفته در واکنش PCR

نام ماده	مقدار به‌کاررفته
Master Mix	12.5 $\mu l$
DNA Template	X $\mu l$ =500ng
Primer F	3 $\mu l$ = 3pmol
Primer R	3 $\mu l$ =3pmol
Water	X $\mu l$
جمع کل	25 $\mu l$

جدول 3. برنامه PCR برای سه جفت پرایمر *mcr*، *mbr* و *icr*

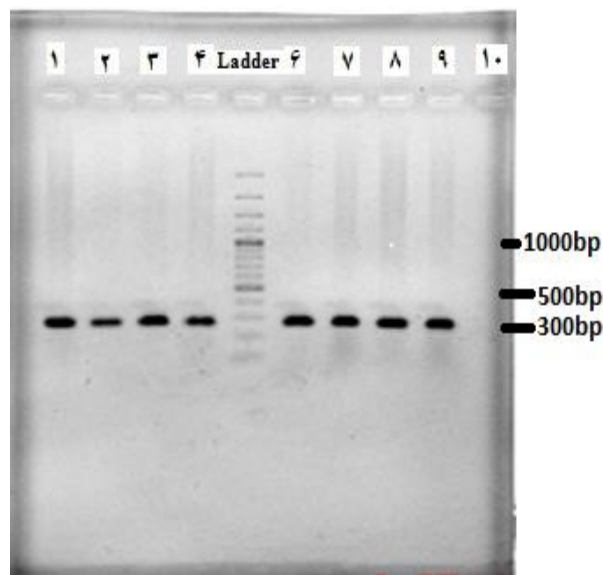
PCR Step	Temperature (°C)	Time (min)	Cycle
Initial Denaturation	95	5	1
Denaturation	95	1	35
Annealing	58		
Extension	72		
Final Extension	72	5	1

### الکتروفورز محصولات PCR

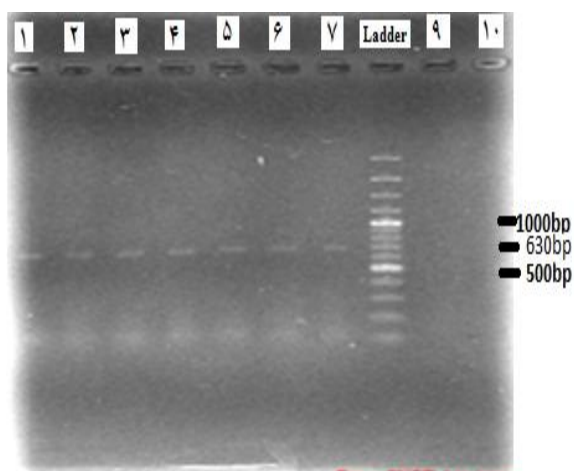
محصولات PCR با استفاده از ژل آگاروز 1 درصد در دستگاه الکتروفورز با ولتاژ 100 v الکتروفورز شده، با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و در دستگاه Gel Documentation مقابل نور UV (طول موج 254 nm) مشاهده و عکسبرداری شد.

### نتایج بررسی های ملکولی.

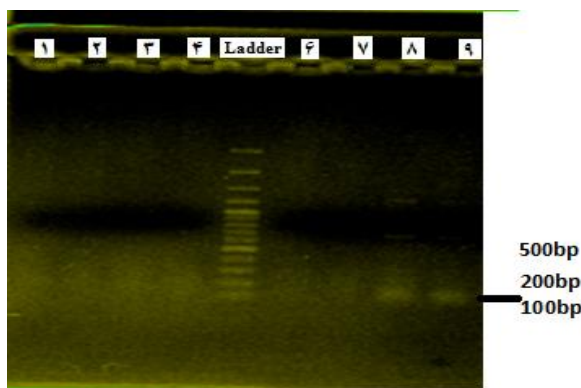
در شکل 1 نمونه های mbr مثبت ملاحظه می شود که در ناحیه 300 bp روی آگاروز 1 درصد باند داده اند. در این بررسی از Ladder 100 bp (Fermentas Lot N:00037552) استفاده شده است. در شکل 2، نمونه های mcr مثبت و در شکل 3 نمونه های icr مثبت مشاهده می شود.



شکل 1. نمونه های mbr مثبت که در ناحیه 300 bp روی آگاروز 1 درصد باند داده اند



شکل 2. نمونه‌های *mcr* مثبت که در ناحیه 630 bp روی آگاروز 1 درصد باند داده‌اند



شکل 3. نمونه‌های *icr* مثبت که در ناحیه 135bp روی آگاروز 1 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*:

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

است.

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

و تعداد 57/1 درصد از نمونه‌ها مربوط به بیماران مرد بوده

است.

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

نتایج بررسی‌های اپیدمیولوژی. تعداد کل نمونه‌های تهیه‌شده از سرطان پانکراس 49 نمونه (شامل 28 مورد مرد و 21 مورد زن) بوده است.

$$102 = 42.9\% \times 10^n = \frac{21}{49} \times \text{Rate} = \frac{\text{Female}}{\text{all}}$$

به عبارتی 42/9 درصد از نمونه‌ها مربوط به بیماران زن بوده است.

$$102 = 57.1\% \times 10^n = \frac{28}{49} \times \text{Rate} = \frac{\text{male}}{\text{all}}$$

و تعداد 57/1 درصد از نمونه‌ها مربوط به بیماران مرد بوده است.

نتایج بررسی‌های اپیدمیولوژی. تعداد کل نمونه‌های تهیه‌شده از سرطان پانکراس 49 نمونه (شامل 28 مورد مرد و 21 مورد زن) بوده است.

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

به عبارتی 42/9 درصد از نمونه‌ها مربوط به بیماران زن بوده

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، به‌دست آمد.

$$\text{Female Morbidity rate of } Bcl-2 \text{ translocation} = \frac{\text{تعداد زنانی که ژن } Bcl-2 \text{ در آنها جابجا شده است}}{\text{کل تعداد زنان بیمار}} \times 100 = \frac{9}{21} \times 100 = 42.9\%$$

$$\text{Male Morbidity rate of } Bcl-2 \text{ translocation} = \frac{\text{تعداد مردانی که ژن } Bcl-2 \text{ در آنها جابجا شده است}}{\text{کل تعداد مردان بیمار}} \times 100 = \frac{14}{28} \times 100 = 50\%$$

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

در جدول 5، بررسی وقوع جابه‌جایی ژن *Bcl2* در جامعهٔ نمونه

جدول 5. بررسی وقوع جابه‌جایی ژن *Bcl2* در جامعهٔ نمونه بر حسب سن و جنس

هاویژگی	Bcl <sub>2</sub> +	Bcl <sub>2</sub> -
مجموع (49)	23 (/46.9)	26 (/53.1)
جنس		
مرد (28)	28 (/57.1)	
	14 (/53.8)	14 (/60.9)
زن (21)	21 (42.9%)	
	9 (/39.1)	12 (/46.1)
سن		
<50 (14)	14 (/28.6)	
	5 (/19.2)	9 (/39.1)
50 ≥ (35)	35 (/67.4)	
	18 (/78.3)	17 (/65.4)

## بحث و نتیجه‌گیری

امید به زندگی در ایران در حال افزایش است. از آنجا که بروز سرطان رابطهٔ مستقیمی با سن دارد، شیوع سرطان نیز با افزایش سن جمعیت، بیشتر به چشم می‌خورد. متأسفانه سن مبتلایان به سرطان در ایران، حدود 10 سال کمتر از سایر کشورهاست [آمار وزارت بهداشت، 1388]. خانوادهٔ پروتئین *Bcl-2* نقش تنظیم مرگ سلولی را در بدن عهده دارد. تغییر در بیان و عملکرد آن‌ها، پیشرفت سرطان را سبب می‌شود. به‌همین دلیل هدف (Target) مناسبی برای داروهای هدف‌مند در درمان سرطان محسوب می‌شود [15]. در تحقیق انجام‌شده روی 49 بیمار مبتلا به سرطان

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

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

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

$$\text{Age-Sex morbidity rate} = \frac{\text{درصد افراد از یک جنس که در یک رده سنی مشخص مبتلا شده‌اند}}{\text{درصد افراد از جنس مخالف که در همان رده سنی مشخص مبتلا شده‌اند}} =$$

برحسب سن و جنس آمده است.

پانکراس در کشور، از نظر جابه‌جایی ژن *Bcl-2*، ملاحظه شد که 23 نفر (46/9 درصد) جامعهٔ مورد بررسی، جابه‌جایی ژن *Bcl-2* را نشان دادند. جابه‌جایی ژن *Bcl-2* (14,18) در سلول‌های سرطانی، افزایش بیان این ژن را سبب می‌شود. درصد شکست در ناحیهٔ mbr 10 نفر (43 درصد)، در ناحیهٔ mcr 11 نفر (48 درصد) و در ناحیهٔ icr 2 نفر (9 درصد) به‌دست آمد. اما، طبق بررسی‌های انجام‌شده در ژاپن روی بیماران فولیکولار لنفوما، 55 درصد شکست *Bcl-2* در ناحیهٔ mbr و 22 درصد شکست در ناحیهٔ mcr رخ داده است؛ به‌عبارتی، در 72 درصد از این بیماران، ژن *Bcl-2* جابه‌جایی

### 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، به خصوص 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 به ترتیب برای کمک در اخذ و گردآوری نمونه‌های این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

نشان داده است [16]. همچنین، در 70 درصد از بیماران مبتلا به سرطان اثنی عشر جابه‌جایی ژن *Bcl-2* مشاهده شده است [17]. در سرطان گره‌های لنفاوی بین 60 تا 90 درصد، جابه‌جایی ژن *Bcl-2* و در بیماران مبتلا به سرطان غده تیروئید، 50 درصد اعلام شده است [18]. در بیماران مبتلا به سرطان ریه، درصد جابه‌جایی این ژن 26 درصد گزارش شده است [19]. از طرفی، در سرطان سینه، جابه‌جایی ژن *Bcl-2* 48 درصد اعلام شده است [18].

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، مهارت 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] Akl 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<sup>1\*</sup>, Reza Sheikhnejad<sup>2</sup>, Seyed Abdolhamid Angaji<sup>3</sup>, Mahmoud Khanaki<sup>4</sup>,  
Vahid Marandi<sup>5</sup>

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:** 2017/06/08

**Accepted:** 2017/09/01

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