نشریه پزشکی شخصی

فصلنامه پزشکی / سال سوم/ شماره نهم / قیمت ۱۰۰/۰۰۰ ریال/ بهار ۱۳۹۷/ ISSN:۲۴۷۶-۵۵۳۸

آینده علم پزشکی، شخصی محور است

AmitisGen®
Med TECH Group

AmitisGen®
Med TECH Group

www.AmitisGen.com

نشریه پزشکی شخصی

شناسنامه

صاحب امتیاز:

شرکت دانش بنیان گروه توسعه فناوری پزشکی آمیتیس ژن

مدیر مسئول:

دکتر سید مسعود هوشمند

سردبیر:

مهندس سیده نیره مصلحی

انتشار :

بهار ۱۳۹۷

طراح و صفحه آرا:

شهاب رزاق

اعضای هیئت تحریریه در کارگروه ها به ترتیب حروف الفبا :

دکتر ناهید آریائیان، دکتر محمد رضا اکبری، دکتر مهدی الله بخشیان، دکتر الهه امینی، دکتر فاطمه بندریان، دکتر ناصر پارسا، دکتر مهدی توتونچی، دکتر عباس حاج فتحعلی ، دکتر نازنین حسین خان، دکتر پرهام جبارزاده، دکتر مریم جلالی ، دکتر سلام حیدری نژاد، دکتر عادل حیدری نژاد، دکتر راحله حلبیان، دکتر فاطمه خاتمی، دکتر شیما رحمتی، دکتر علی اصغر رحیمی، دکتر جعفر رضایی، دکتر رضا رفوگران، دکتر محبوبه رمضان زاده، دکتر ندا سرای گرد افشاری، دکتر حسن سعادت، دکتر مهدیه سلیمی، دکتر زهرا سهیلا سهیلی، دکتر سید مطهر شجاعی، دکتر رضا شیرکوهی، دکتر بهنام صادقی، دکتر لیلا صادقی، دکتر علی صادقی تبار، دکتر بهمن عابدی کیاسری، دکترعلی محمد علی زاده، دکتر کامران غفارزادگان، دکتر معصومه فخر طه، دکتر فلورا فروزش، دکتر مژگان قاری پور، دکتر سعید قربیان، دکتر زهره مقسومی، دکتر فاطمه منصوری، دکتر محمد امین موسوی، دکتر جمشید مولایی، دکتر عظیم نجاتی زاده ، دکتر بهار نقوی، دکتر رضا نکوئیان، دکتر حسین نوروزی، دکتر مجید نیک پی، دکتر فاطمه هدی فلاح، دکتر سید مسعود هوشمند، دکتر محمود یعقوبی

ناظر فنی چاپ:

وحید رضا اصفهانی

لیتوگرافی، چاپ، صحافی:

چاپ آوا نوین - تهران، خیابان دماوند، بعد از وحیدیه، نبش ارمغانی، پلاک ۸۳۳ - شماره تماس: ۷۷۵۷۴۵۲۸ (۰۲۱)

شماره تماس: ۸۸۹۸۵۲۹۳ (۰۲۱)

آدرس: تهران، ابتدای خیابان ایتالیا، پلاک ۲، طبقه ۲، واحد ۳

ایمیل: info@PersonalizedMedicineJournal.com

فهرست

سخن مدیر مسئول ۲
سخن سردبیر ۳
بررسی چندشکلی rs861539 ژن XRCC3 به عنوان یک بیومارکر در پزشکی شخصی شده جهت پیش گویی بالینی در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان پستان..... ۴
بررسی نقش ژن RIOX2 به عنوان یک هدف درمانی در سلول های بنیادی سرطانی مدولوبلاستوما..... ۱۰
نقش micro RNA درسرطان..... ۱۴
ترکیبات گلیکوزیله نهایی پیشرفته و نقش آنها در سلامتی..... ۱۷
فارما کوژنومیك و پزشکی شخصی در روانپزشکی..... ۲۰
داروهای شخصی شده در دیابت: نقش «اومیکس » و بیومارکرها..... ۲۵
بررسی نقش شخصیت در پزشکی فردی ۳۲
MiRNA potential as Biomarkers for personalized medicine of CRC: a review of recent advances and future challenges..... 41
An Overview of the epidemiology of Type 1 diabetes mellitus 45
The Potential of Circulating Tumor Cells in Personalized Management of Breast Cancer: A Systematic Review 55
Significance of AGT haplotypes and genotypes-combinations versus single nucleotide polymorphisms in hyprtension: togetherness does matter 67

دکتر سید مسعود هوشمند

سخن مدیر مسئول

به نام پروردگار یکتا
با سلام و احترام حضور همکاران و دوستان گرامی

در شماره نهم نشریه پزشکی شخصی به فواید فارماکوژنتیک می پردازیم. پیشرفت روش های علم ژنتیک و ابداع روش پی . سی. آر، رشد چشمگیر علوم بین رشته ای در شاخه های مختلف پزشکی را باعث شده، و از جمله این رشته ها فارموکوژنتیک و نیتروژنومیک را می توان نام برد.
یکی از نقاط مشترک این دو رشته بررسی ژن هایی است که به بیان آنزیم های خانواده سیتوکروم P450 منجر می شود. مطالعه بر روی آنزیم های سیتوکروم P450 که نقش مهمی در حوزه داروشناسی، تغذیه و سم شناسی دارند، از جمله شاخه های مورد بحث در این حوزه هستند.
فارماکوژنتیک و فارماکوژنومیک رشته های نوین و در حال توسعه از شاخه داروسازی و پزشکی هستند. از دیرباز و به خصوص طی پنجاه سال اخیر حساسیت های دارویی و پیامدهای ناخواسته از تجویز داروها کنجکاوی پزشکان را در برداشته است .
واضح است که این اطلاعات می تواند در حوزه های مرتبط پزشکی در زمینه شناسایی، پیشگیری، درمان و پایش بیماران موثر واقع شود و همچنین جامعه را در ابعاد زیست محیطی، سم شناسی و تغذیه راهگشا و راهنما باشد. استفاده از فارماکوژنتیک و فواید آن را می توان در تهیه و توسعه داروها با اثربخشی بیشتر به دور از صدمات بالینی، جلوگیری از آزمون و خطا در تجویز دارو و همچنین کاهش هزینه های تحقیقاتی در تولید دارو با اثربخشی بیشتر برشمرد.
از فواید فارماکوژنتیک می توان به موارد زیر اشاره کرد:

- شناسایی ژن های کاندید مناسب که بیان آنها ممکن است بر واکنش دارویی یا بیماری زایی یک بیماری اثر گذارد
- شناسایی همه پلی مورفیسم های شناسایی شده با توالی کامل
- انجام مطالعات کنترل- بیمار در جمعیت های مختلف به منظور شناسایی ارتباط بین واریانت ژنتیکی با بیماری و یا پاسخ به دارو
- بررسی اثر واریانت ژنتیکی بر تاریخچه بیان ژن

سیده نیره مصلحی

سخن سردبیر

به نام خدایی که آدمی را به زیور عقل و خرد آراست

بدون شک مجلات علمی تخصصی یکی از این منابع مفید هستند، زیرا ارتباط بین محققان، صاحب نظران و علاقمندان به یک رشته یا حرفه را میسر ساخته و موجبات ارتقای علمی آن رشته را فراهم می کند و از سوی دیگر گسترش و توسعه روزافزون تحصیلات تکمیلی دانشگاه ها در چند سال گذشته، بستر مناسبی را برای افزایش کمی و بهبود کیفیت تحقیقات بوجود آورده است و مجلات علمی به عنوان ابزاری قدرتمند در ارائه نتایج این پژوهش ها نقش اساسی را در دستیابی به اهداف فوق دارند.

هدف ما از انتشار مجله پزشکی شخصی که به صورت فصلنامه منتشر می شود، معرفی دستاوردهای جدید پژوهشی و ایجاد زمینه تبادل اندیشه و طرح مسائل علمی تازه در حوزه پزشکی شخصی(پزشکی فرد محور) ، پزشکی فرادقیق است.

از اهداف مهم مجله جمع آوری دستاوردهای جدید حوزه پزشکی شخصی در یک مجموعه جهت بهره بردای مفید تر این تحقیقات برای پژوهشگران، اساتید و دانشجویان می باشد.

مفاهیم پزشکی فرد محور به روش های مختلف در پزشکی جدید و به منظور مراقبت های بهداشتی استفاده می شود. این مراقبت ها به خصوص در حیطه پیشگیری، پیش بینی آینده بیماری، درمان دقیق و مناسب کاربرد دارد.

با توجه به اهمیت پزشکی شخصی در جهان لازم است پژوهشگران تحقیقات و نتایج خود را از طریق منابع خاص معتبر علمی به اطلاع رسانند تا علاوه بر جلوگیری از تکرار تحقیق، بتوانند از یافته های جدید در پیشبرد اهداف علمی بشریت گام بردارند. امید است نشریه پزشکی شخصی با همکاری اساتید و محققین کشور اسلامی ایران بتواند در این امر، موثر و تاثیر گذار باشد. این مجله برای شماره دهم (تابستان ۹۷) پذیرای مقالات علمی پژوهشگران محترم در زمینه های مختلف می باشد.

در ضمن از کلیه دانشگاهها و مراکز علمی که نسبت به شمارگان مجله ابراز لطف داشته اند و از دریافت مجله ابراز قدردانی کرده اند، کمال تشکر داریم

از کلیه صاحب نظران محترم دعوت به عمل می آوریم که با این مجله همکاری بفرمایند و با پیشنهادات سازنده خود ما را در هرچه بهتر شدن کیفیت مجله یاری دهند.

بررسی چندشکلی rs861539 ژن XRCC3 به عنوان یک بیومارکر در پزشکی شخصی شده جهت پیش گویی بالینی در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان پستان

میلاد پزشکی [1]، جمشید انصاری [2*]، عباس اردلان [1]

۱- کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
۲*- استادیار، بخش انکولوژي، بیمارستان آیت الله خوانساری، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

ایمیل نویسنده مسئول : j.ansari@arakmu.ac.ir

میلاد پزشکی

کلمات کلیدی

چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی، سرطان پستان، XRCC3، PCR-RFLP.

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات نشان می‌دهد که آسیب‌های القاء شده توسط فاکتورهایی با منشاء درونی و بیرونی بر روی پایداری و بی‌نقص ماندن DNA تاثیر گذاشته و با استعداد ابتلا به سرطان پستان در ارتباط می باشند. چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) موجود در ژن‌های ترمیمی DNA موجب ایجاد تفاوت در کارآیی ترمیم آسیب‌های وارده بر DNA، در نتیجه در بروز سرطان پستان موثر می باشند. پروتئین XRCC3 در شکست‌های دو رشته ای DNA و ترمیم به روش نوترکیبی شرکت می‌کند. به عبارت دیگر محصول ژن XRCC3 نقش کلیدی در ترمیم نوترکیبی همولوگی مربوط به شکست‌های دو رشته ای DNA بازی می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی چندشکلی rs861539 ژن XRCC3 به عنوان یک بیومارکر در پزشکی شخصی شده جهت پیش گویی بالینی درارتباط با خطر ابتلا به سرطان پستان می‌باشد.

مواد و روش: در مطالعه حاضر اثرات چندشکلی T241M ژن XRCC3 و خطر ابتلا به سرطان پستان در یک جمعیت بزرگ مبتنی بر مطالعه مورد- شاهدی شامل ۸۰ بیمار و ۸۰ فرد سالم از زنان ساکن استان مرکزی مورد ارزیابی قرار گرفت. استخراج DNA از نمونه های خونی با استفاده از کیت انجام شد. ژنوتایپ نمونه‌ها با تکنیک PCR-RFLP و سپس الکتروفورز ژل آگارز تعیین شد. در نهایت از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ جهت بررسی آماری استفاده و نتایج نهایی مشخص شد.

یافته ها: از نظر آماری اختلاف معناداری بین دو گروه بیمار و کنترل برای سه ژنوتیپ جایگاه (P=0.000) rs861539 مشاهده شد. ژنوتیپ های (P = 0.000, OR=2.352, CI= 95%; 2.431 - 39.948) CT و (P = 0.003, OR= 2.352, CI=95%; 0.611 - 9.049) TT ارتباط معنی داری با خطر ابتلا به سرطان پستان از خود نشان دادند. در عوض ژنوتیپ (P=0.000) CC یک نقش حفاظتی از خود در مقابل ابتلا به سرطان پستان نشان داد.

نتیجه گیری: در این تحقیق ارتباط معنی داری را میان چند شکلی Thr241Met در ژن XRCC3 و خطر ابتلا به سرطان پستان به دست آمد، به گونه‌ای که می‌توان از این چند شکلی به عنوان یک بیومارکر در پزشکی شخصی شده جهت پیشگویی بالینی در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان پستان استفاده نمود.

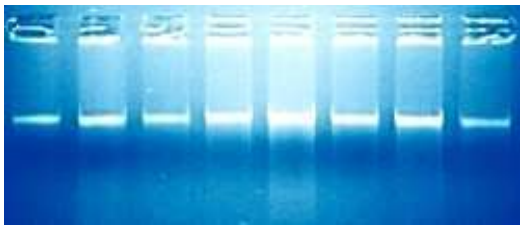
مقدمه

سرطان پستان یکی از متداول ترین و شایع ترین نوع سرطان های تشخیصی و بدخیم در زنان سراسر دنیا است(۱). بیشترین میزان وقوع آن در آمریکای شمالی مشاهده می‌شود این درحالی است که کم‌ترین میزان وقوع سرطان پستان در آسیا و آفریقا است این سرطان در میان زنان اروپایی نیز از شایع‌ترین سرطان‌ها محسوب می‌گردد (۲). سرطان پستان اغلب از بافت‌های پستانی، سلول‌های پوشاننده، مجاری شیری و لوبول های اطراف مجاری (لوبولار) منشاء می‌گیرد(۳). شیوع سرطان ها در استان مرکزی در سال‌هاي۱۳۸۰تا ۱۳۸۵ مورد بررسی قرار گرفته است که در این میان سرطان پوست و سرطان پستان پرفرکانس‌ترین سرطان به ترتیب در جمعیت کل استان مرکزی و جمعیت زنان استان مرکزی گزارش شد(٤). سرطان پستان به عنوان سومین بدخیمی شایع در جهان تشخیص داده شده است که سالیانه بیش از ۱/۳میلیون زن دچار آن می‌شوند. فاکتورهای خطر گوناگونی در رابطه با توسعه سرطان پستان در ارتباط می‌باشند که در غالب فاکتورهای ژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرند به طوری که این دو فاکتور در نهایت می‌توانند منجر به بروز سرطان گردند(۱). تحقیقات نشان داده است، که میان تغییرات ژنتیکی در سیستم‌های ترمیمی DNA و خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط وجود دارد(۵). روش‌های مختلف تعمیر DNA نقش مهمی در حفاظت پایداری ژنوم ایفا می‌کنند که این پایداری ژنوم می‌تواند بر روی خطر ابتلا به سرطان نقش موثری داشته باشد(۲). به طور کلی سرطان می‌تواند توسط آسیب‌های وارد شده به DNA (که در حین سنتز DNA و در صورت عدم تعمیر آن‌ها) به وجود آید(٦). ژنهای تعمیر کننده DNA نقش مهمی را در تعمیر آسیبهای وارد شده به DNA ایفا میکنند و ممکن است مانع از فعال شدن انکوژنها یا غیر فعال شدن ژنهای بازدارنده تومور شوند(۷). ظرفیت تعمیری DNA (در حالت طبیعی) در حفظ عملکرد سلولی و برقراری هومئوستاز ضروری میباشد(۸). بیشتر ژنهای شناخته شده در سرطان پستان نقش مهمی در تعمیر DNA دارند(۹). دو مکانیسم تعمیری برای شکستگی های دو رشتهای ایجاد شده در DNA وجود دارد مکانیسم اول، اتصال پایانه های غیر همولوگ و دوم تعمیر نوترکیبی همولوگی میباشد(۱۰). ژن XRCC3 از ژنهای مربوط به مسیر تعمیر نوترکیبی همولوگی میباشد که مطالعات بسیاری در مورد این ژن و ارتباط آن با خطر ابتلا به انواع مختلفی از سرطانها صورت گرفته است(۲). ژن XRCC3 در بدون نقص ماندن DNA نقش دارد که این نقش خود را از طریق تعمیر نوترکیبی شکست دو رشتهای ایفا میکند(۹). ژن XRCC3 در انسان در جایگاه سیتوژنتیکی 14q32.3 قرار گرفته است(۱۱). XRCC3 به همراه Rad51C نقش مهمی در تعمیر نوترکیبی همولوگی دارند به گونه ای که تغییرات تک نوکلئوتیدی در ژن کد کننده XRCC3 با خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط می باشد(۱۲). در حین فرایند ترمیم نوترکیبی همولوگی پروتئین XRCC3 که یکی از پارالوگ‌های Rad51 محسوب می‌شود(١٤) از طریق میانکنش با پروتئین Rad51C منجر به گردهم‌آیی سایر زیرواحدهای Rad51 به محل تخریب می‌گردد(١٥). فسفوریلاسیون XRCC3 برای بارگیری پروتئین RAD51 توسط کروماتین و تعمیر به واسطه نوترکیبی همولوگی ناشی از شکست‌های دو رشته ای مورد نیاز است(١٦). چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی‌ای(SNPs)، در ژن‌های دخیل درمسیرنوترکیبی همولوگی از جمله XRCC3 شناسایی شده‌اند که بر روی استعداد ژنتیکی افراد در ارتباط با ابتلا به سرطان پستان را تا حد زیادی تحت تاثیر قرار می‌دهد(۱۷). پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs861539 موجب جایگزینی باز سیتوزین به جای تیمین می‌شود که در بسیاری از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است در نتیجه این تغییر اسیدآمینه ترئونین به اسید آمینه متیونین تغییر پیدا می‌کند که این تغییر در کدون ۲٤۱ و در اگزون ۷ اتفاق می‌افتد و می‌تواند بر جایگاه فسفریلاسیون در نتیجه میانکنش پروتئین‌های درگیر در تعمیر DNA و به دنبال آن بر روی عملکرد تعمیری XRCC3 تاثیر بگذارد(۱). پلی‌مورفیسم rs861539 دارای جایگاه برش برای آنزیم‌های NlaIII می‌باشد که درنتیجه برش و ایجاد باندهای متناظر می‌توان ژنوتیپ نمونه‌ها را مورد آنالیز قرارداد(۱۳). در سلول‌های پستانداران ایجاد موتاسیون در ژن XRCC3 موجب کاهش نوترکیبی همولوگی می‌گردد(۱۸). آسیب و تعمیر DNA شامل چندین مسیر کلیدی‌اند که به منظور برطرف کردن کاستی‌های ژنوم و حفظ پایداری و صحت ژنوم عمل می‌کنند. اجزای معیوب در سیستم تعمیر و آسیب DNA یک علت اساسی برای توسعه و پیشرفت بسیاری از سرطان‌ها می‌باشند و سرطان پستان از این قاعده مستثنی نیست(۱۷). تحقیقات مختلفی در ارتباط با بررسی همبستگی بین چند شکلی-هاي مختلف ژن XRCC3 با سرطان پستان در جمعیت هاي انسانی انجام شده است. نتایج بدست آمده از این تحقیقات بسته به نوع جمعیت مورد مطالعه و نیز نوع جایگاه هاي پلی مورفیسم بررسی شده متفاوت بوده، به طوري که برخی به وجود همبستگی و بعضی دیگر به عدم وجود همبستگی اشاره کرده اند. در برخی مطالعات نتایج ضد و نقیض درباره ی چندشکلی های XRCC3 و سرطان پستان مخصوصاً چندشکلی آن در جایگاه ژنی Thr241Met گزارش شده است. در مطالعه صورت‌گرفته توسط Jane و همکاران در کشور کانادا ارتباط معنی‌داری میان اسنیپ rs861539 و خطر ابتلا به سرطان پستان گزارش گردید(۱۹). چندشکلی rs861539 در مطالعه صورت گرفته توسط Chen-Hsien su و همکاران در کشور تایوان توسط تکنیک PCR-RFLP، مورد مطالعه قرارگرفت که درنتیجه این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی rs861539 با خطر ابتلا به سرطان پستان گزارش گردید(۱۱). از آنجاییکه بسیاری از مطالعات نتایج مهم و معنا داری در ارتباط با معنی داری ارتباط این چندشکلی ژن و خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داده اند، به نظر می رسد تحقیق در این رابطه ضروری و سودمند باشد زیرا شناسایی جایگاه های

چندشکلی مختلف در بیماران و افراد سالم می‌تواند به عنوان نشانگر مولکولی مفیدی جهت تشخیص بهتر بیماری به عبارت دیگر پیش‌گویی بالینی و ارائه ی خدمات درمانی باشد. هدف از پژوهش حاضر بررسی ارتباط چندشکلی Thr241Met ژن XRCC3 با خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان ساکن استان مرکزی با استفاده از روش PCR-RFLP می باشد.

مواد و روش ها

در تحقیق حاضر، ۸۰ نمونه خون از جامعه بیماران مبتلا به سرطان پستان بیمارستان آیت الله خوانساری واقع در شهرستان اراک بطور تصادفی اخذ گردید. همچنین ۸۰ نمونه خون نیز از افراد سالم (زنان داوطلب) این شهرستان گرفته شد. اطلاعات دموگرافیک و فاکتور هاي هورمونی افراد شامل سن،تأهل، شغل، تعداد فرزندان، رژیم غذایی، فعالیت بدنی، عوارض بارداري(سقط و مرده زایی)، سن اولین زایمان، سابقه خانوادگی سرطان پستان، سن اولین قاعدگی، وضعیت سیکل ماهانه و یائسگی و... در قالب یک پرسش نامه جمع آوري شد، سپس با رضایت کتبی افراد و طبق اصول اخلاقی پژوهش، ۲ میلی لیتر خون محیطی در لوله هاي حاوي EDTA جمع آوری شد. سپس نمونه های خون به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم پایه دانشگاه اراک منتقل شده و تا زمان استخراج DNA در دمای ۴۰ - سانتی گراد نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت DNG plus خریداری شده از شرکت سیناکلون انجام شد. سپس کیفیت و کمیت DNA استخراج شده و مقدار خلوص آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و ران بر روی ژل آگارز مشخص گردید. در شکل زیر کیفیت نمونه های DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز۱٪ نشان داده شده است.



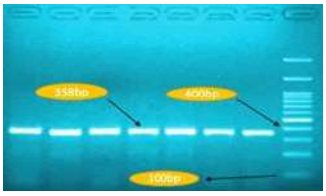
شکل ۱- استخراج DNA با استفاده از کیت DNG plus.

نمونه ها پس از استخراج و بررسی کمیت و کیفیت آن با بکارگیری روش PCR-RFLP در جایگاه چندشکلی Thr241Met ژن XRCC3 توسط آنزیم محدودگر NlaIII تعیین ژنوتیپ شدند. جهت انجام واکنش PCR و تکثیر قطعه مورد نظر که محتوی چندشکلی Thr241Met ژن XRCC3 است، از پرایمرهایی که توسط شرکت تکاپوزیست ساخته شد، استفاده گردید. توالی این پرایمرها به صورت زیر می‌باشد:

طول قطعه تکثیری	توالی آغازگر ((3 - (5)	محل	چندشکلی
۳۵۸ جفت باز	(F:5)-GACACCTTGTTGGAGTGTGT-3 (R :5)-GTCTTCTCGATGGTTAGGCA -3	اگزون 7	Thr241Met

جدول I- توالی پرایمرهای استفاده شده جهت تکثیر چندشکلی Thr241Met.

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۱/۵ میکرولیتر پرایمر فوروارد و ۱/۵ میکرولیتر پرایمر ریورز (شرکت تکاپوزیست)، ۷ میکرولیتر آب دو بار تقطیر و۵ میکرولیتر DNA استخراج شده انجام گرفت. تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته سازی در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل واسرشته سازی در دمای ۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال آغازگر ها ۶۳°C به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه و یک دمای تکثیر نهایی ۷۲°C به مدت ۷ دقیقه استفاده شد. محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی DNA Green Viewer با استفاده از دستگاه ژل داکت (Gel Documentation System ژن فلش-انگلستان) مشاهده و عکس برداری گردیدند. برای تشخیص قطعات تکثیر شده از نشانگر مولکولی bp۱۰۰ (شرکت سیناکلون) استفاده شد.



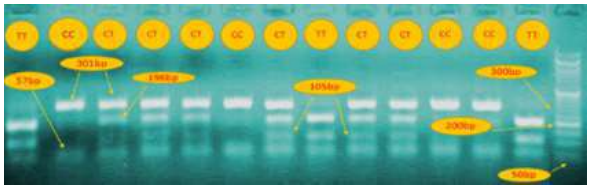
شکل ۲- توالی bp358 تکثیر شده با استفاده از پرایمر های اختصاصی.

بعد از تأیید صحت اندازه باند تکثیری، محصولات حاصل از PCR تحت عمل هضم آنزیمی آنزیم محدوگر NlaIII قرار گرفتند. واکنش برش آنزیمی در حجم ۱۵ میکرولیتر حاوی ۰/۸ میکرولیتر آنزیم NlaIII، ۱/۵ میکرولیتر بافر مخصوص این آنزیم، ۴/۷ میکرولیتر آب استریل و ۸ میکرولیتر محصول PCR آماده گردید و در دمای ۳۷°C به مدت ۱۶ ساعت مورد برش آنزیمی قرار گرفت. در حضور آلل موتانت T برش آنزیمی دو قطعه ۱۰۵ و ۱۹۶ و در حضور آلل وحشی C جایگاه برش وجود نخواهد داشت و باند ۳۰۱ جفت بازی حاصل خواهد شد و در صورت هتروزیگوت بودن هر سه قطعه مذکور حاصل خواهد شد. این در حالی است که وجود جایگاه برش دیگر در محصول تکثیری همواره یک باند ۵۷ جفت بازی ایجاد می‌کند که هیچ نقشی در تعیین ژنوتیپ نخواهد داشت. در جدول زیر اندازه و تعداد باندهای مربوط به هر ژنوتیپ آورده شده است.

اندازه وتعداد قطعات	نوع ژنوتیپ
۵۷-۳۰۱	CC
۵۷-۱۰۵-۱۹۶	TT
۵۷-۱۰۵-۱۹۶-۳۰۱	CT

جدول II- قطعات حاصل از هضم محصول PCR پلی مورفیسم rs861539 توسط آنزیم NlaIII.

بعد از برش آنزیمی، محصولات برش داده شده با استفاده از ژل آگارز ۳ درصد حاوی DNA Green Viewer ، الکتروفورز گردیدند.



شکل ۳- تصویر ژل محصول PCR بعد از هضم آنزیمی NlaIII.در این جا از نشانگر مولکولی 50bp استفاده شده است و ژنوتیپ هر نمونه در قسمت بالای آن آورده شده است.

تست آماري χ^2 براي ارزیابی اثر پلی مورفیسم بر ویژگی هاي سرطان پستان مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز رگرسیون لجستیک با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد .براي محاسبه شانس نسبی (Odd Ratio) با فاصله اطمینان ۹۵ درصد و بررسی اثر پیش بینی کننده هر فاکتور روي سرطان پستان، سطح معنی داري کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

چندشکلی rs861539 در دو جمعیت بیمار مبتلا به سرطان پستان و کنترل مورد بررسی قرار گرفت به گونه‌ای که انجام تست آماری مربع کای-اسکوار حدود اطمینان P=0.000 را نشان داد و مشخص شد رابطه آماری معنی-داری بین ژنوتیپ های حاصل و بیماری وجود دارد (جدول III و IV). فراوانی پلی-مورفیسم C/T (rs861539) برای الل C در گروه بیمار 135/ 53 و در گروه کنترل ۷۵ درصد محاسبه شد. درمورد الل T در بیماران 46/ 875 و در گروه کنترل ۲۵ درصد محاسبه شد. بر اساس محاسبات آماری انجام شده ارتباط معناداری بین فراوانی اللی و بیماری وجود داشت. فراوانی ژنوتیپی آن نیز به ترتیب در گروه بیمار و کنترل برای ژنوتیپ CC 20 و 53/ 75 درصد، ژنوتیپ CT 25/66 و 42/ 5 درصد و برای ژنوتیپ TT75/13 و 3/ 75 درصد بدست آمد. براساس محاسبات آماری انجام شده ارتباط معناداری بین ژنوتیپ‌ها و بیماری دیده می‌شود. نتایج حاصل بیانگر این است که ژنوتیپ CT (OR=9.854, CI=95%, 2.431-39.948) ارتباط معناداری بین تنوع ژنتیکی و سرطان پستان را نشان می دهد. همچنین ژنوتیپ TT (OR=2.352, CI=95%, 0.611-9.049) نیز افزایش ریسک را نشان می‌دهد و از طرفی چون فراوانی ژنوتیپ CC در گروه کنترل بیشتر بوده آلل C احتمالاً نقش حفاظتی را در ابتلا به این بیماری دارد. همچنین ارتباط معنی داری میان ژنوتیپ‌های این چندشکلی و گیرنده‌های هورمونی استروژن (ER)، پروژسترون (PR) و فاکتور رشد اپیدرمی (HER2) بدست آمد.

ژنوتیپ * بیمار					
	بیمار(تعداد-فراوانی)				
ژنوتیپ	داشتن سرطان		نداشتن سرطان		Total
CC	۱۶ (۲۰٪)		۴۳ (۵۳٪/۷۵)		
CT	۵۳ (۶۶٪/۲۵)	C=۸۵ (۵۳٪/۱۳۵)	۳۴ (۴۲٪/۵)	C=۱۲۰ (۷۵٪)	
TT	۱۱ (۱۳٪/۷۵)	T= ۷۵ (۴۶٪/۸۷۵)	۳ (۳٪/۷۵)	T=۴۰ (۲۵٪)	
Total	۸۰	۱۶۰	۸۰	۱۶۰	۱۶۰
	تست کای- اسکوآر				
		χ^2	Df	P	
	ژنوتیپ	۲۱/۰۷۷[a]	۲	۰/۰۰۰	
	تعداد افراد	۱۶۰			

* سطح معنی داری کمتر از P<0.05

جدول III- فراوانی ژنوتیپ‌های TT و CT و CC در گروه بیمار و گروه کنترل.

				95% C.I.for EXP(B)	
				Lower	Upper
	Df	Sig.	Exp(B)		
ژنوتیپ CC	۲	۰/۰۰۰			
ژنوتیپ CT	۱	۰/۰۰۰	۹/۸۵۴	۲/۴۳۱	۳۹/۹۴۸
ژنوتیپ TT	۱	۰/۰۰۳	۲/۳۵۲	۰/۶۱۱	۹/۰۴۹

جدول IV- محاسبه OR پلی مورفیسم rs861539 .

طبق نتایج حاصل، بیشتر بیماران در محدوده سنی ٤١ تا ٥٠ سال هستند و میانگین سنی بیماران٤٩ سال به دست آمد که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی دارآماري را نشان داد (P=0.002 . 77/18) درصد از بیماران حداقل در یکی از بستگان درجه اول یا دوم خود ابتلا به سرطان پستان را ذکر نمودند که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنا داری نشان می‌داد (P=0.008). بین وضعیت یائسگی افراد مبتلا به سرطان پستان و گروه کنترل ارتباط معناداری دیده نشد(P=0.189). همچنین ارتباط معناداری میان مصرف قرص‌هاي ضد بارداري درگروه افراد مبتلا به سرطان پستان و کنترل مشاهده نشد(P=0.932).

بحث

به طور کلی در پژوهش حاضر ارتباط معناداری بین چندشکلی تک نوکلئوتیدي مورد مطالعه و سرطان پستان وجود داشت (P=0.000). در مقایسه نتایج باید گفت در مطالعه صورت‌گرفته توسط Janeو همکاران(سال٢٠٠٤) بر روی چندشکلی rs861539 ژن XRCC3 در کشور کانادا، ٤٠٢ زن مبتلا به سرطان پستان به همراه ٤٠٢ فرد سالم به عنوان کنترل توسط تکنیک - PCR RFLP مورد مطالعه قرار دادند. در نتیجه این مطالعه ارتباط معنی‌داری میان ژنوتیپ TT چندشکلی rs861539 و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده شد(١٩). همچنین در مطالعه‌ای که توسط Hanna Romanowicz و همکاران (سال ٢٠١٢) در کشور لهستان صورت گرفت، نتایج حاصل نشان داد که ژنوتیپ هتروزیگوس (p=0.0001 ، OR=2.61) Tht/Met(CT) یک نشانه آماری با خطر ابتلا به سرطان پستان دارد(٢). این درحالی است که در مطالعه‌ای که توسط Raquel Santos و همکاران(سال ٢٠١٠) در کشور برزیل صورت گرفت، نتایج حاصل هیچ گونه ارتباط معنی داری میان چندشکلی rs861539 و خطر ابتلا به سرطان پستان نشان نداد(٢٠). در مطالعه صورت گرفته توسط Chen-Hsien su و همکاران (سال ٢٠١٥) در کشور تایوان چندشکلی rs861539 در جمعیتی به تعداد ١٢٣٢زن مبتلا به سرطان پستان به همراه ١٢٣٢ زن سالم به عنوان کنترل، به وسیله تکنیک PCR-RFLP، مورد مطالعه قرارگرفت. در نتیجه این مطالعه ژنوتیپ(OR=2.99 ، p=0.0002) TT و (p=0.0001 CT ، OR=1.74) چندشکلی rs٨٦١٥٣٩ ارتباط معنی‌داری با خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داد(١١). این درحالی است که در مطالعه‌ای دیگر که در کشور عربستان سعودی توسط Alaa Mohammed Ali و همکاران (سال ٢٠١٦) بر روی چندشکلی rs٨٦١٥٣٩ صورت گرفت، ژنوتیپ‌های چندشکلی rs861539 هیچ گونه ارتباط معناداری با خطر ابتلا به سرطان پستان از خود نشان ندادند(١٣).

بر طبق محاسبات آماری انجام شده بین وجود سرطان در بستگان و ابتلا به بیماری ارتباط معنی داری وجود دارد (P=0.008). به این معنا که داشتن بستگان مبتلا خطر ابتلا به سرطان در افراد دارای نسبت فامیلی بالاتر می برد و می تواند نشانه ای برای پیشگیری کردن این افراد باشد. در مطالعه‌ای که توسط Colditz و همکاران صورت گرفت ارتباط معنی داری بین وجود سرطان در بستگان و ابتلا به بیماری وجود داشت به گونه‌ای که با نتایج بدست آمده در این پژوهش همخوانی دارد(٢١). همچنین نتایج ما با داده‌های بدست آمده در ارتباط با بررسی سابقه فامیلی سرطان پستان با بستگان درجه دو (P=0.003) توسط بهجت مرزبانی و همکاران(سال ٢٠١٦) در استان کرمانشاه همخوانی دارد(٢٢). میانگین سنی افراد بیمار ٤٩ سال بود که کم سن ترین آنها ٢٦ سال و مسن ترین ٨٧ سال سن داشت؛ از بین این افراد ٩ نفر داراي سن زیر ٤٠ سال بودند و ٧١ نفر بالاي ٤٠ سال سن داشتند. میانگین سنی افراد تشخیص بیماری ٤٩ بود. بیشترین موارد ثبت شده به گروه سنی ٤١-٥٠ سال تعلق داشت که با مطالعه فاضلی و همکاران در استان مرکزی (سال ٢٠١٤) همخوانی داشت(٢٣). بر اساس تست آماری کای-اسکوار بین سطح تحصیلات و ابتلا به بیماری تفاوت معنی داری وجود دارد(P=0.000) . نتایج ما با داده‌های بدست آمده در ارتباط با بررسی سطح تحصیلات در مقطع زیر دیپلم و خطر ابتلا به سرطان پستان (P=0.005) توسط بهجت مرزبانی و همکاران (سال ٢٠١٦) در استان کرمانشاه همخوانی دارد این درحالی است که در دیگر مقاطع تحصیلی ارتباط معناداری میان سطح تحصیلات و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده نشد(٢٢) که می تواند به دلیل تفاوت سطح فرهنگ و آگاهی در جامعه باشد در نتیجه افزایش میزان تحصیلات سبب افزایش اطلاعات افراد نسبت وضعیت سلامت خود و چگونگی پیشگیری از ابتلا به بیماری مانند چکاپ ماهیانه، استفاده از تغذیه سالم و غیره می شود. براساس محاسبات انجام شده مشخص شد ارتباط معناداری بین وضعیت تاهل و ابتلا به بیماری وجود ندارد.(P=0.286) که با مطالعه‌ی صورت گرفته توسط بهجت مرزبانی و همکاران (سال ٢٠١٦) همخوانی دارد(P=0.55)(٢٢). در مطالعه حاضر ارتباط معناداری بین وضعیت سن قاعدگی و ابتلا به بیماری مشاهده گردید (P=0.000) که با مطالعه‌ی صورت گرفته توسط خدیجه عنصری و همکاران (سال ٢٠١١) همخوانی داشته (P<0.01) (٢٤) و با مطالعه صورت گرفته توسط بهجت مرزبانی و همکاران(سال ٢٠١٦) همخوانی ندارد (P>0.05) (٢٢). براساس بررسی آماری انجام شده، مشخص شد ارتباط معناداری بین وضعیت داشتن سقط جنین و ابتلا به بیماری وجود دارد. (P=0.000) که تایید کننده مطالعه‌ی صورت گرفته توسط Tang و همکاران می‌باشد(٢٥). براساس محاسبه آماری انجام شده مشخص شد، ارتباط معناداری میان سن اولین زایمان و ابتلا به بیماری وجود ندارد(P=0.097) که با مطالعه‌ی صورت گرفته توسط سیما بشارت و همکاران در استان گلستان (٢٠١١) همخوانی داشته (P=0.77) (٢٦) و با مطالعه صورت گرفته توسط بهجت مرزبانی و همکاران (سال ٢٠١٦) همخوانی ندارد (P=0.004) (٢٢).

نتیجه گیری

سرطان یک بیماری ژنتیکی و پیچیده است عوامل مختلفی نظیر جنس، سن، سابقه قرار گرفتن در برابر اشعه، چاقی، رژیم غذایی، سابقه خانوادگی و سایرعوامل محیطی در این بیماری نقش دارند. سرطان پستان نیز در میان سرطان ها از این قاعده مستثنی نمی‌باشد. به گونه‌ای که مطالعه مزبور بر پایه مطالعات موردی شاهد بر روی ۸۰ فرد بیمار و ۸۰ فرد سالم بر روی زنان ساکن استان مرکزی انجام گرفت. با توجه به نتایج بدست آمده ارتباط معنی داری میان ژنوتیپ های پلی مورفیسم rs861539 و سرطان پستان مشاهده شد. همچنین از بررسی برخی ویژگی های بالینی و دموگرافیکی بیماران نتایج قابل ملاحظه ایی حاصل شد. در سرطان و نیز سرطان پستان پیش گویی بالینی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است با توجه به نتایج حاصل و وجود فرکانس بالایی از ارتباط میان چندشکلی rs861539 و خطر ابتلا به سرطان پستان، این چندشکلی می‌تواند به عنوان یک بیومارکر نقش بسزایی در پیش گویی بالینی در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان پستان داشته باشد، به گونه‌ای که می‌توان از این چند شکلی به عنوان یک بیومارکر در پزشکی شخصی شده جهت پیشگویی بالینی در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان پستان استفاده نمود.

تشکر و قدردانی:

در اینجا از پرسنل بیمارستان آیت الله خوانساري اراك (بخش انکولوژی، آزمایشگاه و اوژانس) و تمام بیماران و افراد سالم شرکت کننده در مطالعه و تمام افرادی که در این مطالعه همکاری کرده اند، تشکر و سپاسگزاري می‌گردد.

منابع

1. Gohari-Lasaki S, Gharesouran J, Ghojazadeh M, Montazeri V, Saadatian H, Ardebili SM. DNA repair gene XRCC3 241Met variant and breast cancer susceptibility of Azeri population in Iranian. Genetika. 2015;47(2):733-9.
2. Romanowicz-Makowska H, Bryś M, Forma E, Maciejczyk R, Połać I, Samulak D, Michalska M, Smolarz B. Single nucleotide polymorphism (SNP) Thr241Met in the XRCC3 gene and breast cancer risk in Polish women. Polish Journal of Pathology. 2012 Jun 1;63(2):121-5 .
3. Shahbazi S, Alavi S, Majidzadeh-a K, GhaffarPour M, Soleimani A, Mahdian R. BsmI but not FokI polymorphism of VDR gene is contributed in breast cancer. Medical Oncology. 2013 Mar1;30(1):393.
4. Mohaghegh Γ, Hamta A. The study of cancer incidence and cancer registration in Markazi province between 2001-2006 and comparison with national statistics, Iran. Arak Medical University Journal. 2008;11(2):84-93.
5. Motovali-Bashi M , Hemati S , Korbekandi H.Corelation of Homologus Recombination Repair System by studying a Single nucleotide Polymorphisms in XRCC3 Gene with Initiation and Progression of Colorectal Cancer.Isfahan Medical School.2011:29.
6. Guo S, Li X, Gao M, Li Y, Song B, Niu W. The relationship between XRCC1 and XRCC3 gene polymorphisms and lung cancer risk in northeastern Chinese. PloS one. 2013 Feb 8;8(2):e56213.
7. Huang JY, Yang JF, Qu Q, Qu J, Liu F, Liu FE, Xiong T, Lu SH. DNA repair gene XRCC3 variants are associated with susceptibility to glioma in a Chinese population. Genet Mol Res. 2015 Jan 1;14(3):10569-75.
8. Zhang E-J ,Cui Z-G , Xu Z-F , Duan W-Y ,Huang S-H ,Tan X ,Yin Z-H , Sun C-F ,Lu L. Lack of In Auence of an XRCC3 Gene Polymorphism on Oral Cancer Susceptibility : Meta-analysis .Cancer Prevention, 2014. 15: p. 10329.
9. Osawa K, Nakarai C, Uchino K, Yoshimura M, Tsubota N, Takahashi J, Kido Y. XRCC3 gene polymorphism is associated with survival in Japanese lung cancer patients. International journal of molecular sciences. 2012 Dec 5;13(12):16658-67.
10. Jang MY, Kim JS, Kim SG. XRCC3, a Target Gene for Termination Technology in Plants. Electronic Journal of Biology. 2005;1(4):56-60.
11. Su CH, Chang WS, Hu PS, Hsiao CL, Ji HX, Liao CH, Yueh TC, Chuang CL, Tsai CW, Hsu CM, Lane HY. Contribution of DNA double-strand break repair gene XRCC3 genotypes to triple-negative breast cancer risk. Cancer Genomics-Proteomics. 2015 Nov 1;12(6):359-67.
12. Mohseni A.R ,Toogeh G.H ,Farnuosh M. Polymorphism in the DNA Repair Gene XRCC3 and Therapeutic Outcomes in Patients with AML.Genetics in 3 millennum .2015:13.
13. Ali AM, AbdulKareem H, Al Anazi M, Reddy Parine N, Shaik JP, Alamri A, Ali Khan Pathan A, Warsy A. Polymorphisms in DNA repair gene XRCC3 and susceptibility to breast cancer in Saudi females. BioMed research international. 2016:6.
14. Masson JY, Stasiak AZ, Stasiak A, Benson FE, West SC. Complex formation by the human RAD51C and XRCC3 recombination repair proteins. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2001 Jul 17;98(15):8440-6.
15. Duarte MC, Colombo J, Rossit AR, Silva AE. Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 in a Brazilian population. Genetics and Molecular Biology. 2005 Sep;28(3):397-401.
16. Somyajit K, Basavaraju S, Scully R, Nagaraju G. ATM-and ATR-mediated phosphorylation of XRCC3 regulates DNA double-strand break-induced checkpoint activation and repair. Molecular and cellular biology. 2013 May 1;33(9):1830-44.
17. Majidinia M, Yousefi B. DNA repair and damage pathways in breast cancer development and therapy. DNA repair. 2017 Jun 30;54:22-9.
18. Brenneman MA, Wagener BM, Miller CA, Allen C, Nickoloff JA. XRCC3 controls the fidelity of homologous recombination: roles for XRCC3 in late stages of recombination. Molecular cell. 2002 Aug 31;10(2):387-95.
19. Figueiredo JC, Knight JA, Briollais L, Andrulis IL, Ozcelik H. Polymorphisms XRCC1-R399Q and XRCC3-T241M and the risk of breast cancer at the Ontario site of the Breast Cancer Family Registry. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers. 2004 Apr 1;13(4):583-91 .
20. Santos RA, Teixeira AC, Mayorano MB, Carrara HH, Andrade JM, Takahashi CS. DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 polymorphisms and their relationship with the level of micronuclei in breast cancer patients. Genetics and molecular biology. 2010;33(4):637-40.
21. Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Risk factors for breast cancer according to family history of breast cancer. JNCI: Journal of the National Cancer Institute. 1996 Mar 20;88(6):365-71.
22. Marzbani B, Taymoori P, Nouri B. Assessment of Risk Factors for Breast Cancer Among Women Under 50 Years Old. Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research. 2017 Jun 15;15(1):47-60.
23. Fazeli Z, Najafian Zade M, Eshtati B, Almasi Hashiani A. Five-Year Evaluation of Epidemiological, Geographical Distribution and Survival Analysis of Breast Cancer in Markazi Province, 2007-2011. Arak Medical University Journal. 2014;16(11):73-80.
24. Onsory K, Ranapoor S. Breast cancer and the effect of environmental factors involved. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2011 Oct 15;1(4):59-70.
25. Tang MT, Weiss NS, Malone KE. Induced abortion in relation to breast cancer among parous women: a birth certificate registry study. Epidemiology. 2000 Mar 1;11(2):177-80.
26. Besharat S, Motie MR, Besharat M, Roshandel G. Breast cancer risk factors in women of Golestan Province in Iran: A case-control study. The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility. 2011;13(6):46-51.

بررسی نقش ژن RIOX2 به عنوان یک هدف درمانی در سلول های بنیادی سرطانی مدولوبلاستوما

فاطمه شعبان پور اقاملکی[1]، شیرین فریور[2]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین زیستی، دانشگاه شهید بهشتی
۲*-دانشیار ژنتیک گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

ایمیل نویسنده مسئول : s_farivar@sbu.ac.ir

فاطمه شعبان پور اقاملکی

کلمات کلیدی

مدولوبلاستوما، پروفایل بیان ژنی، هدف درمانی، RIOX2

چکیده

مدولوبلاستوما یکی از شایعترین تومور های مغزی در کودکان است. این تومور معمولا درجه ی بدخیمی بالایی داشته و نرخ مرگ و میر در آن زیاد می باشد. عوامل ژنتیکی، اپی ژنتیکی و برخی سندروم های خانوادگی همانند سندروم لی- فرامنی در ایجاد این نوع از تومور ها نقش مهمی دارند. امروزه نقش سلول های بنیادی در تومور زایی و مقاومت دارویی تومور ها به اثبات رسیده است. به همین دلیل شناسایی ژن های مهم در این سلول ها می تواند تاثیر بسزایی در درمان بیماران مبتلا به مدلوبلاستوما داشته باشد. در این مطالعه پروفایل بیانی بیماران مبتلا به مدولوبلاستوما بررسی شد. نتیجه ی بررسی نشان داد که ژن RIOX2 در افراد بیمار افزایش بیان داشته، همچنین ساختار RNA و پروتئین، عملکرد این ژن و مکانیسم عملکردی ان نیز شناسایی شده است. بر اساس نتایج حاصل شده می توان انتظار داشت که ژن RIOX2 به عنوان یک هدف درمانی برای مدولوبلاستوما قرار بگیرد.

مقدمه

تومورهای مدولوبلاستوما به‌عنوان تومورهایی با سرعت رشد زیاد و درجه‌ی بدخیمی بالا بوده و شایع‌ترین تومورهای مغزی در کودکان هستند (4) . تومورهای مدولوبلاستوما بیشتر در نواحی مخچه و نخاع قرار می‌گیرند (3,14). از علائم آن می‌توان به تغییرات رفتاری، تغییر در اشتها، افزایش فشار مغزی و سردرد اشاره کرد (Northcott et al., 2012). میزان شیوع این بیماری در حدود ۲ درصد از کل تومورهای اولیه مغزی و ۱۸ درصد از تومورهای مغزی کودکان را شامل شده و بیش از ۷۰ درصد از تومورهای مغزی در کودکان زیر ده سال را در برمی‌گیرد. تعداد کمی از بیماران مدولوبلاستوما زیر یک سال سن دارند. این تومورها در کودکان و بالغین متفاوت می‌باشد (11). تومورهای مدولوبلاستوما بر اساس جهش‌های ژنی و مسیرهای پیام‌رسانی فعال در آن‌ها به چهار دسته‌ی اصلی تقسیم می‌شوند. ۱. نوع کلاسیک ۲. دسموپلاستیک ۳. BEN و ٤. سلول‌های بزرگ (6,12). دلایل بیماری‌زایی این نوع از تومورها هنوز کاملاً مشخص نشده است. بااین‌حال دلایل ژنتیکی زیادی ازجمله موتاسیون‌ها و تغییر در بیان ژن‌ها در بروز این نوع از سرطان نقش دارند. به‌طور مثال جهش در ژن‌های TP53, MYC, CTNNB1, PTCH1 و SUFU، تکثیر و افزایش تعداد ژن‌های MYC و PTX2 در بسیاری از بیماران دیده‌شده است (5,8,16). علاوه بر ژن‌ها و مسیرهای پیام‌رسانی، اخیراً نقش سلول‌های بنیادی سرطانی در ایجاد تومور و گسترش آن مورد توجه همگان قرارگرفته و سعی در شناسایی مکانیسم ایجاد این سلول‌ها و رشد آن‌ها شده است. بسیاری از مسیرهای پیام‌رسانی و ژن‌های این سلول‌ها همانند سلول‌های بنیادی طبیعی بوده، به همین دلیل تصور عمومی بر این است که این سلول‌ها از سلول‌های بنیادی طبیعی منشأ می‌گیرند. سلول‌های بنیادی سرطانی و مسیرهای دخیل در آن برای ایجاد سرطان، گسترش ان و ایجاد مقاومت دارویی در برابر داروهای شیمی‌درمانی برای تومور نقش مؤثری دارند (1,7,17). به دلیل تأثیری که این سلول‌ها در ایجاد مقاومت دارویی دارند، چالش‌های درمانی در تلاش برای هدف قرار دهی این سلول‌ها به‌عنوان اهداف درمانی جدید می‌باشند.

مسیرها و ژن‌های زیادی در این سلول‌ها هستند که می‌توانند به‌عنوان اهداف درمانی باشند، ازجمله‌ی این مسیرها و ژن‌ها می‌توان به مسیرهای WNT، Sonic HedgeHog و NOTCH، ژن‌های OCT4، BMI1، SOX2 و MYC اشاره کرد (1,11,17). یکی از ژن‌های مهم در سرطان، ژن Ribosomal Oxygenase 2 (RIOX2) یا Myc-Induced Nuclear Antigen (MINA) بوده، این ژن به‌عنوان هدف ژن MYC در تکثیر و رشد سلولی نقش دارد و بیان آن مستقیماً توسط MYC القا می‌گردد. بیان اختصاصی ان در بافت‌های غیر بدخیم همانند کولون، تیموس، طحال، سلول‌های عضلانی و مخچه وجود دارد. علاوه بر این، افزایش بیان MINA به‌وسیله‌ی پروتئین MYC در بسیاری از سرطان‌ها ازجمله سرطان ریه، مری، کلیه و کولون دیده‌شده است. ژن‌های HGF, EGFR و IL6 توسط MINA تنظیم می‌شوند (6,11). در این مطالعه‌ی بیوانفورماتیکی سعی شده است تا نقش ژن RIOX2 در سلول‌های بنیادی سرطانی تومورهای مدولوبلاستوما بررسی گردد تا از آن به‌عنوان هدف درمانی برای درمان بیماران مبتلا به مدولوبلاستوما استفاده شود.

۱. روش

۱-۲ استخراج پروفایل بیان ژنی افراد مبتلا به مدولوبلاستوما

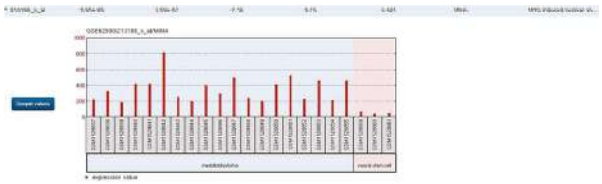
بدین منظور پروفایل بیان ژنی داده‌های microarray 19 بیمار مبتلا به تومورهای مدولوبلاستوما و ۳ نمونه‌ی سالم از سلول‌های بنیادی عصبی از پایگاه داده Geo dataset استخراج گردید. این پروفایل در آدرس اینترنتی https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE62600 در دسترس همگان قرار گرفته است (9). شماره سریال و پلتفرم این داده به ترتیب از راست برابر با GSE62600 و GPL96 است. با توجه به این ویژگی‌ها این پروفایل می‌تواند به‌عنوان پروفایل مناسبی در جهت تحقیقات بیشتر مورد استفاده قرار گیرد.

۲-۲ تجزیه‌وتحلیل پروفایل

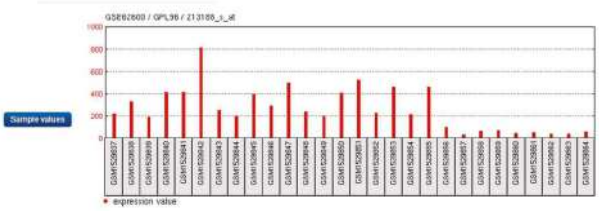
بدین منظور، پروفایل بیان ژن توسط logfc یا لگاریتم میزان تغییرات برای تعیین تغییرات بیان مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. سپس ژن‌ها به دو گروه، ژن‌هایی که در بیماران افزایش بیان و ژن‌هایی که در آن‌ها کاهش بیان داشته، تقسیم شدند. در این تقسیم‌بندی ژن‌ها به‌وسیله‌ی میزان p-value و logfc مرتب شدند تا ژنی با بیشترین تغییر بیان معنادار را دارد، در هر گروه مشخص گردد. همچنین میزان بیان این ژن‌ها در تمام نمونه‌ها در همان پایگاه Geo datasets نیز تعیین شد. در مرحله‌ی بعد برای اثبات نقش ژن‌ها در ایجاد مدولوبلاستوما، تمام مسیرهای زیستی مرتبط با این ژن‌ها و میانکنش آن‌ها با دیگر پروتئین‌ها به‌وسیله‌ی پایگاه Gene Card نیز مشخص گردید. سپس برای تعیین ساختارهای فضایی مولکول RNA ژن موردنظر از پایگاه داده‌ی genebee و برای آنالیز ساختار ثانویه و مشخص نمودن دومین‌های پروتئین ژن مورد نظر از پایگاه‌های ExPASy و Softberry استفاده‌شده است.

۲. نتایج

پس از تجزیه‌وتحلیل پروفایل بیماران مبتلا به مدولوبلاستوما مشخص شد که ژن RIOX2 یا MINA با p-value برابر با 3.5E-7 دارای افزایش بیان در بیماران مبتلا به مدلوبلاستوما نسبت به نمونه‌های سالم سلول‌های بنیادی عصبی می‌باشد (تصویر۱). علاوه بر این میزان بیان این ژن‌ها در تمام نمونه‌ها نیز بررسی شد تا از صحت این داده‌ها اطمینان حاصل شود، که نشان‌دهنده‌ی افزایش بیان این ژن بود (تصویر۲).

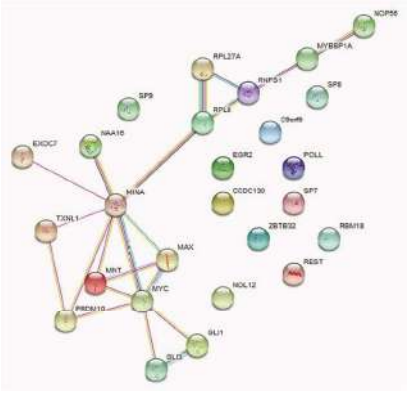


تصویر ۱. افزایش بیان ژن RIOX2 در نمونه‌ی افراد مبتلابه مدولوبلاستوما دیده می‌شود.



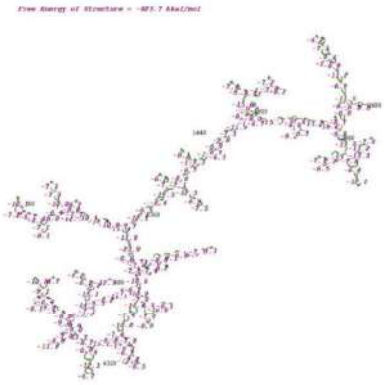
تصویر ۲. میزان بیان ژن RIOX2 یا MINA در تمامی نمونه‌های مورد مطالعه(GSM) مشخص شده که شامل نمونه‌های بیمار و سالم می‌باشد. افزایش بیان این ژن در میان نمونه‌های بیمار نسبت به نمونه‌های سالم مشاهده می‌شود.

مسیرهای پیام‌رسانی اصلی برای ژن RIOX2 که توسط پایگاه GeneCard شناسایی شدند، که مسیرهای پیام‌رسانی MYC، دمتیلاسیون هیستون ها و سازمان‌دهی کروماتینی جزو مسیرهای اصلی این ژن می‌باشند. محصول پروتئینی این ژن با پروتئین‌های MYC, GLI1, GLI3 و NOP58 میانکنش دارد (تصویر۳). پروتئین‌های GLI1 و GLI3 که به‌عنوان کامل Glioma-Associated Oncogene شناخته می‌شوند، نقش مهمی در تومور زایی سیستم عصبی مرکزی به ویژه مغز دارند. این دو پروتئین یکی از پروتئین‌های اصلی مسیر پیام‌رسانی Hedghog-GLI بوده که در سلول‌های بنیادی طبیعی و سرطانی نقش مهمی دارد. این دو پروتئین جزو خانواده پروتئین‌های انگشت روی بوده و به عنوان فاکتور رونویسی منجر به تنظیم تکثیر سلولی در سلول‌های بنیادی طبیعی و سرطانی می‌شود. نقش این پروتئین‌ها در تومور زایی مدولوبلاستوما به اثبات رسیده است (2,11,19).



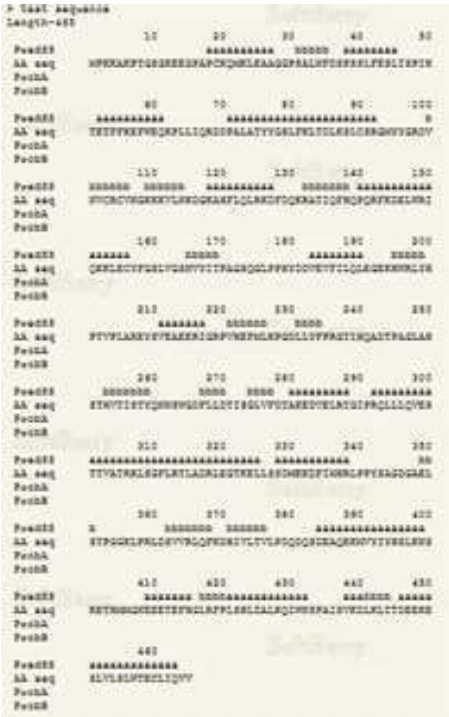
تصویر ۳. میانکنش پروتئین RIOX2 یا MINA با دیگر پروتئین‌ها دیده می‌شود. این پروتئین با پروتئین‌های MYC, GLI1 و GLI3 میانکنش داشته که تمام این پروتئین‌ها نقش اساسی در تومور زایی مدلوبلاستوما دارند.

با توجه به آنالیزهای انجام گرفته در رابطه با ساختارهای مربوط به RNA این ژن می‌توان بیان داشت که ساختارهای hairpin و Stem Loop در ان دیده می‌شود (تصویر٤).



تصویر٤. این تصویر نشان‌دهنده‌ی تمامی ساختار موجود در RNA این ژن بوده که ساختارهای Stem Loop و سنجاق سری به خصوص در دو انتهای مولکول RNA دیده می‌شوند.

علاوه بر این، نتایج حاصل از بررسی ساختارهای ثانویه‌ی پروتئین RIOX2 نشان‌دهنده‌ی ساختارهای آلفا هلیکس و B-Sheet می‌باشد (تصویر ٥).



تصویره. بر اساس توالی اسیدآمینه‌ای پروتئین ژن RIOX2 ساختارهای آلفا هلیکس و B-Sheet برای این پروتئین پیش‌بینی شد. با توجه به این تصویر حرف a نشان‌دهنده‌ی ساختار آلفا هلیکس و حرف b نمایانگر ساختار B-Sheet در ان توالی این پروتئین می‌باشد.

۳. بحث و نتیجه‌گیری

طبق آنالیزهای صورت گرفته در این تحقیق، افزایش بیان ژن RIOX2 و نقش ان در مسیر پیام‌رسانی MYC، همچنین ساختار پروتئینی و RNA این ژن تعیین گردید. علاوه بر این، بر اساس مطالعاتی که تاکنون انجام گرفته مشخص شد که ژن RIOX2 به‌طور مستقیم توسط پروتئین MYC تنظیم می‌شود. پروتئین MYC نقش مهمی در حفظ سلول‌های بنیادی سرطانی در تومورهای گلیوبلاستوما، پستان و سرطان‌های خون دارد. به این صورت که پروتئین MYC از طریق میانکنش با پروتئین EZH2 منجر به بیان ژن BMI1 شده که ژن BMI1 به‌عنوان یکی از ژن‌های کلیدی در سلول‌های بنیادی سرطانی می‌باشد. از آنجایی نقش ژن‌های MYC و BMI1 در سلول‌های بنیادی سرطانی در تومورهای مغزی به اثبات رسیده است، می‌توان انتظار داشت که ژن RIOX2 یا MINA نیز در مسیر سلول‌های بنیادی سرطانی در تومورهای مدولوبلاستوما نقش مهمی داشته باشد. بر همین اساس این ژن می‌تواند به عنوان اهداف درمانی برای درمان بیماران مدولوبلاستوما استفاده گردد. به این صورت که می‌توان با استفاده از ساختار پروتئین این ژن که در این مطالعه مشخص شد، داروهایی بر علیه این پروتئین طراحی کرده تا آن را مهار کند.

منابع

1. Abou-Antoun, T. J., Hale, J. S., Lathia, J. D., & Dombrowski, S. M. (2017). Brain cancer stem cells in adults and children: cell biology and therapeutic implications. Neurotherapeutics, 14(2), 372-384.
2. Ajani, J. A., Song, S., Hochster, H. S., & Steinberg, I. B. (2015). Cancer stem cells: the promise and the potential. Paper presented at the Seminars in oncology.
3. Bloom, H., Wallace, E., & Henk, J. (1969). The treatment and prognosis of medulloblastoma in children: a study of 82 verified cases. American Journal of Roentgenology, 105(1), 43-62.
4. Carrie, C., Alapetite, C., Mere, P., Aimard, L., Pons, A., Kolodie, H., . . . Pignon, T. (1992). Quality control of radiotherapeutic treatment of medulloblastoma in a multicentric study: the contribution of radiotherapy technique to tumour relapse. Radiotherapy and Oncology, 24(2), 77-81.
5. De Antonellis, P., Garzia, L., Verrico, A., Taylor, M. D., & Zollo, M. (2015). Molecular Biology and Genetics of Medulloblastoma Posterior Fossa Tumors in Children (pp. 265-286): Springer.
6. Ferreira, M. J., Pires-Luís, A. S., Vieira-Coimbra, M., Costa-Pinheiro, P., Antunes, L., Dias, P. C., . . . Costa, B. M. (2017). SETDB2 and RIOX2 are differentially expressed among renal cell tumor subtypes, associating with prognosis and metastization. Epigenetics(just-accepted), 00-00.
7. Gate, D., Danielpour, M., Bannykh, S., & Town, T. (2015). Characterization of cancer stem cells and primary cilia in medulloblastoma. CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders), 14(5), 600-611.
8. Holgado, B. L., Guerreiro Stucklin, A., Garzia, L., Daniels, C., & Taylor, M. D. (2017). Tailoring medulloblastoma treatment through genomics: making a change, one subgroup at a time. Annual review of genomics and human genetics, 18, 143-166.
9. Hooper, C. M., Hawes, S. M., Kees, U. R., Gottardo, N. G., & Dallas, P. B. (2014). Gene expression analyses of the spatio-temporal relationships of human medulloblastoma subgroups during early human neurogenesis. PLoS One, 9(11), e112909.
10. Luís, A. S. P. (2017). Development of new epigenetic-based biomarkers for renal cell tumors with clinical application.
11. Miele, E., Po, A., Begalli, F., Antonucci, L., Mastronuzzi, A., Marras, C. E., . . . Besharat, Z. M. (2017). β-arrestin1-mediated acetylation of Gli1 regulates Hedgehog/Gli signaling and modulates self-renewal of SHH medulloblastoma cancer stem cells. BMC cancer, 17(1), 488.
12. Northcott, P. A., Buchhalter, I., Morrissy, A. S., Hovestadt, V., Weischenfeldt, J., Ehrenberger, T., . . . Rudneva, V. A. (2017). The whole-genome landscape of medulloblastoma subtypes. Nature, 547(7663), 311.
13. Northcott, P. A., Korshunov, A., Witt, H., Hielscher, T., Eberhart, C. G., Mack, S., . . . French, P. (2010). Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. Journal of Clinical Oncology, 29(11), 1408-1414.
14. Northcott, P. A., Shih, D. J., Remke, M., Cho, Y.-J., Kool, M., Hawkins, C., . . . Cardentey, Y. (2012). Rapid, reliable, and reproducible molecular sub-grouping of clinical medulloblastoma samples. Acta neuropathologica, 123(4), 615-626.
15. Silverman, C. L., & Simpson, J. R. (1982). Cerebellar medulloblastoma: the importance of posterior fossa dose to survival and patterns of failure. International Journal of Radiation Oncology• Biology• Physics, 8(11), 1869-1876.
16. Skowron, P., Ramaswamy, V., & Taylor, M. D. (2015). Genetic and molecular alterations across medulloblastoma subgroups. Journal of Molecular Medicine, 93(10), 1075-1084.
17. Takebe, N., Miele, L., Harris, P. J., Jeong, W., Bando, H., Kahn, M., . . . Ivy, S. P. (2015). Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: clinical update. Nature reviews Clinical oncology, 12(8), 445-464.
18. Weil, A. G., Wang, A. C., Westwick, H. J., Ibrahim, G. M., Ariani, R. T., Crevier, L., . . . Fallah, A. (2017). Survival in pediatric medulloblastoma: a population-based observational study to improve prognostication. Journal of neuro-oncology, 132(1), 99-107.
19. Zabala, M., Lobo, N., Qian, D., van Weele, L., Heiser, D., & Clarke, M. (2016). Overview: cancer stem cell self-renewal Cancer Stem Cells (pp. 25-58): Academic Press.

نقش micro RNA درسرطان

وحیدرضا اصفهانی[1]، شبنم رحیمی[2]

۱*-کارشناسی ارشد سلولی-مولکولی دانشگاه آزاد واحد پزشکی تهران
۲-کارشناسی ارشد سم شناسی دانشگاه آزاد واحد پزشکی تهران

ایمیل نویسنده مسئول : vahidstar26@gmail.com

وحیدرضا اصفهانی

کلمات کلیدی

سرطان
سلول
ژن
RNA
Micro RNA

چکیده

Micro RNA ها مولکول های کوچک RNA هستند که در تنظیم بیان ژن نقش دارند. میکرو RNAها زیرگروه های بزرگی از RNA های غیرکد کننده هستند که عموما بین ۱۸-۲۵ نوکلئوتید دارند Micro RNA ها نقش مهمی را در فرایندهای زیستی شامل تعیین سرنوشت سلولی؛ تکثیر؛ مرگ سلولی ایفا می کنند. تعامل Micro RNA با ژن های هدف نقش آنها را در رشد؛ مرگ برنامه ریزی شده؛ تمایز و تکثیر سلولی مشخص کرده وعملکرد مستقیم Micro RNA را درسرطان تائید می کند.

مقدمه

میکرو RNA ها مولکول های کوچک RNA هستند که درتنظیم بیان ژن نقش دارند. میکرو RNAها زیرگروه های بزرگی از RNA های غیرکد کننده هستند که عموما بین 25-18 نوکلئوتید دارند.این مولکول ها را میتوان در مایعات بدن مانند پلاسما یا سرم یافت. این مولکول ها میتوانند به عنوان مارکر زیستی برای بیماری های گوناگون از جمله سرطان مورد استفاده قرار بگیرند.(1) سرطان در نتیجه تقسیم غیرقابل کنترل سلو لها بوجود مي آید؛که چهاردسته ازژن هاي کلیدي که در هدایت سلول هاي سرطاني نقش دارند شامل آنکوژ نها، ژن ها مهار کننده توموري، ژن هاي ترمیم و ژن هاي مرگ برنامه ریزي شده هستند . (2) میکرو RNAها از طریق مهار ترجمه یا القای تجزیه، بیان ژن را پس از رونویسی،کنترل می کنند.(4-3) میکرو RNA در سال ۱۹۹۳ توسط Rosalind Lee و Rhonda Feinbaum در حالی که روی ژن lin-14 موجود در C.elegans بود کشف شد. توجه به ساختار و عملکرد میکرو RNAها به علت تاثیر آنها در فرایندهای متنوع تکویني و فیزیولوژیکي مانندآپوپتوز، ترشح انسولین، خون سازي، ریخت زایي مغزیا تمایز بافتي،و درگیري آنها در دفاع ایمني و بیمار یهاي ویروسي است. (6-5) میکرو RNAها میتوانند به عنوان انکوژن ویا مهار کننده توموراز طریق مهاربیان ژن های هدف وابسته به سرطان عمل کنند.(7)

مکانیزم عمده تغییرات MirNome درسلول های سرطانی بیان نابه جای ژن میباشدکه توسط سطوح غیرطبیعی میکرو RNA های بالغ تشخیص داده میشود.(8) دیگر مکانیسم هاي موثر در این امرSNP؛جهش های رخ داده درتوالی Pri-MiRNA تغییرتعدادنسخه توالی های کد کننده میکرو RNAها و رونویسی غیرطبیعی میباشد(10). از این رو میتوان از میکرو RNAها به عنوان نشان گرهای زیستی برای تشخیص ودرمان استفاده کرد.(9)

عملکرد میکرو RNAها

MiRNAها نقش مهمی را درفرایندهای زیستی شامل تعیین سرنوشت سلولی؛تکثیر؛مرگ سلولی ایفا میکنند.همچنین MiRNAها درفرایندهای ضروری مانندپاسخ ایمنی؛ ترشح انسولین؛ نوروترانسمیترها؛ وریتم های شبانه روزی شرکت دارند. MiRNAها میتوانندمسیرهای انکوژنی ویا سرکوبگری توموری را کنترل کنداین درحالی است که خود MiRNAها میتوانندبه وسیله آنکوژن ها ویا سرکوبگرهای تومورتنظیم شوند.(11)

Micro RNA وسرطان

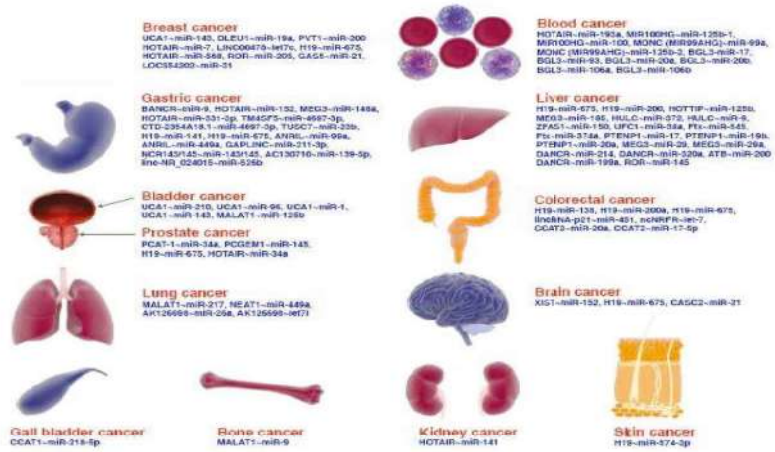
سرطان یعنی رشد ، تکثیر و گاهی انتشار غیر طبیعی سلول های بدن میباشد. سرطان نتیجه خروج سلو لها از مسیرهای

درست تنظیمی، تکثیري و تمایزاست.اهمیت Micro RNA درسرطان اولین باردرلوکمیای CLLنشان داده شده است. مطالعات سیتوژنتیکی نشان داد که ناحیه کروموزومی 13q14در nvwn 50 بیماران مبتلا به CLL دچارحذف میشود مطالعات بعدی نشان داد که این ناحیه حاوی ژن کد کننده پروتئین مهارکننده تومورنیست بلکه حاوی دوژن کد کننده (Micro RNA (Mir16-1 , Mir15a است که به صورت پلی سیسترونیک رونویسی میشود.(12)

تعامل Micro RNA با ژن های هدف نقش آنها را در رشد؛ مرگ برنامه ریزی شده؛ تمایزوتکثیرسلولی مشخص کرده وعملکرد مستقیم Micro RNA را درسرطان تائید میکند.میتوان ازبیان Micro RNAها برای طبقه بندی انواع سرطان ها استفاده کرد.ساختارمیکروRNA ها وعملکردآنها نشان میدهدبسیاری ازمیکروRNAها درنمونه های سرطانی به صورت غیرطبیعی بیان میشوند.تفاوت دربیان میکروRNAها درسرطان های مختلف میتواند به علت تفاوت های موجود بین منشا سلول سرطانی وبافت استرومایی اطراف آن باشد.تغییر در بیان میکرو RNAها ازطریق کاهش دربیان ژن های ضروری درتکثیریا بقا سلول منجربه تشکیل تومورمیشود.این بدین معنا نیست که مستقیم درتشکیل توموریا سرطان نقش دارند.

با این وجود تغییرات زیادی در سلولهای سرطانی رخ می دهد که میتوانندیک مسیرمستقیم یا غیرمستقیم بیان میکرو RNAرا تحت تاثیر قراردهند(13).ناهنجاری ژن های میکرو RNA یا پروتئین های درگیردرساخت آنها؛ اختلال درتنظیم اپی ژنتیک میکروRNA وموتاسیون های ژنی نمونه ای از این تغییرات است.عوامل اپی ژنتیکی میتوانند میکروRNA را ازطریق متیله کردن بیش ازحد یا تغییرات غیرهیستونی غیرفعال کنند وازطرف دیگر میکروRNA میتوانندبه عنوان یک تنظیم کننده ی ژنتیکی عوامل فوق مطرح شوند.

برخی از انواع میکروRNA به عنوان انکوژن یا مهارکننده تومورعمل میکنندکه Oncomir نامیده میشوند. Oncomir ها دربدخیمی های بافت های مختلف حضور دارند واغلب درمناطقی از ژنوم که دچارحذف ؛ مضاعف شدگی؛ ویا موتاسیون شده اند یافت میشوند.(14,15)



Micro RNA دردرمان سرطان

اخیرا دردرمان سرطان ها از خود Micro RNAیا AMO(An-ti-micro RNA or antisense oligodeoyribonucleotide) ها یا تنهایی یا همراه با داروها ؛شیمی درمانی ها ورادیوتراپی استفاده شده است. یک Micro RNA میتواند صدها هدف ژنی داشته باشد که دارای کارکرد مشابه با mRNAها باشد. در اکثرمایعات بدن micro RNA ها یافت میشوند وهمین امر باعث شده تا دانشمندان درصدد استفاده از آن در درمان بیماری ها باشند.(30-31) درواقع از طریق مهار micro RNA های انکوژنی ویا القای micro RNA های مهار کننده تومور وکم کردن بیان میکروRNA توسط عوامل اپی ژنتیکی متل متیلاسیون پروموتوری میتوان مانع از پیش روی سرطان شد. از اولیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس که با میکروRNAها جفت میشوندمیتوان به منظور کاهش بیان micro RNA ها استفاده کرد. Antagomir ها مثالی ازاین نوع میباشدکه به طور مصنوعی ساخته میشوند.(5)این مولکول RNAدرمانی برای مهارمیکروRNAها طراحی شده است.مکانیسم مهارآن توسط این مولکول ها مشخص نیست؛ اما اتصال برگشت ناپذیراین مولکول ها به میکروRNAها میتواند دلیلی براین امرباشد. این مولکول ها مهارپایداری ایجاد کرده ونسبت به درمان های سرطانی سمیت کمتری دارند.در micro RNA Spogen از RNA هایی استفاده میشودکه ازطریق ترانس ژن ها بدست می آیند(18).این RNAها ازطریق اتصال به مولکول هدف وصل میشوند واز مهار باز میدارند. انتقال میکروRNAهای مهارکننده تومورى به طور عمده به وسیله ناقل ویروسی صورت میگیرد. از دیگر راه های انتقال میکروRNAهای مهار کننده استفاده از پلاسمیدها؛ ترانسپوزون ها؛ ولیپوزوم های کاتیونی اشاره کرد. که درسطح آنها آنتی بادی های مونوکلونال تعبیه شده است

که میکروRNA درون خود را به ارگان هدف هدایت میکنند. (19)همچنین داروهای مهار کننده DNA Methyltransferase یا مهارکنند های هیستون داستیلاز بیان میکروRNAرا ازطریق کاهش متیلاسیون DNA وافزایش استیلاسیون هیستون زیادمیکند وازطریق برگرداندن مهارکننده های توموری میکرو RNAمانع ازتکثیرسلولی میشوند(19).

نتیجه:

میکرو RNA ها ریبونوکلئیک اسیدهای کوچک و غیر کدکننده هستند که در تنظیم بیان ژنوم میزبان در سطح پس از رونویسی نقش‌های اساسی ایفاء می‌کنند.با توجه به نقش آنها در فرآیند تکثیر وتمایزانتظار میرودمختل شدن بیان آنها به سرطان مربوط باشد.مطالعات زیادی صورت گرفته که میکرو RNA ها نقش مهمی درشروع وپیشرفت سرطان دارند وباتوجه به mRNAهایی که مهار میکنند میتوانند به عنوان انکوژن یا بازدارنده توموری عمل کنند.بنابراین micro RNA ها ابزارقدرتمندی درتشخیص ؛ پیشگیری سرطان هستند ومیتوانند درجهت کنترل آن مورد استفاده قرار گیرند.

منابع

1. Ruan K, Fang X, Ouyang G. MicroRNAs: novel regulators in the hallmarks of human cancer . Cancer Lett. 2009 Nov 28;285(2):116-26.
2. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell. 2000; 100:57-70.
3. Kanellopoulou C, Monticelli S . A role for microRNAs in the development of the immune system and in thepathogenesis of cancer. Semin Cancer Biol. 2008Apr;18(2):79-88.
4. Negrini M, Nicoloso MS, Calin G . MicroRNAs and cancer--new paradigms in molecular oncology . Curr Opin Cell Biol. 2009 Jun;21(3):470-9.
5. Cho WC. MicroRNAs: Potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. Int J
6. Biochem Cell Bioll2010.
Giovannetti E, Erozenci A, Smit J, Danesi R, PetersGJ. Molecular mechanisms underlying the role of microRNAs (miRNAs) in anticancer drug resistance and implications for clinical practice. Crit Rev Oncol Hematol. 2011.
7. Wouters MD, van Gent DC, Hoeijmakers JH, Pothof J. MicroRNAs, the DNA damage response and cancer. Mutat Res. 2011 Apr 6. [Epub ahead of print].
8. Negrini M, Nicoloso MS, Calin G . MicroRNAs and cancer--new paradigms in molecular oncology . Curr Opin Cell Biol. 2009 Jun;21(3):470-9.
9. Ruan K, Fang X, Ouyang G. MicroRNAs: novel regulators in the hallmarks of human cancer . Cancer Lett. 2009 Nov 28;285(2):116-26
10. Lim , Li J , Ding X , He M , Chang SY . microRNA and Cancer . AAPS J
11. Di Leva, G., Garofalo, M., & Croce, C. M. (2014). MicroRNAs in cancer. Annual review of pathology, 9, 287.
12. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at13q14 in chronic lymphocytic leukemia.Proc Natl AcadSci USA 2002; 99:15524–9
13. Schaefer A, Jung M, Kristiansen G, Lein M, SchraderM, Miller K, Stephan C, Jung K . MicroRNAs and cancer: current state and future perspectives in urologic oncology. Urol Oncol. 2010 Jan-Feb;28(1):4-13.
14. Babashah S, Soleimani M. The oncogenic and tumour suppressive roles of microRNAs in cancer and apoptosis. Eur J Cancer. 2011 May;47(8):1127-37
15. Wiemer EA . The role of microRNAs in cancer: no small matter. Eur J Cancer. 2007 Jul;43(10):1529-44.
16. Carlos C, James DB. Sizing up miRNAs as cancer genes. Nature 2005; 11: 712-4.
17. Meng F, Henson R, Lang M. Involvement of human micro-RNA in growth and response to chemotherapy in human cholangiocarcinoma cell lines. Gastroenterology2006; 130:2113-29.
18. Schaefer A, Jung M, Kristiansen G, Lein M, SchraderM, Miller K, Stephan C, Jung K . MicroRNAs and cancer: current state and future perspectives in urologic oncology. Urol Oncol. 2010 Jan-Feb;28(1):4-13
19. Lim , Li J , Ding X , He M , Chang SY . microRNA and Cancer . AAPS J. 2010 Sep;12(3):309-17.

ترکیبات گلیکوزیله نهایی پیشرفته و نقش آنها در سلامتی

کلمات کلیدی

ترکیبات گلیکوزیله نهایي پیشرفته، بیماریهای مزمن، پیری، سرطان

فهیمه آق[1]، دکتر ناهید آرایائیان[2]

۱- دانشجوي دکتری تغذیه دانشگاه علوم پزشکی ایران
۲- دانشیار گروه تغذیه دانشگاه علوم پزشکی ایران

ایمیل نویسنده مسئول : Aryaeian.n@iums.ac.ir

فهیمه آق

ارتباط مستقیم رژیم غذایي غربي با ایجاد و پیشرفت بیماري هاي مزمن، آلرژي هاي غذایي و سرطان در مطالعات انساني و حیواني نشان داده شده است (1). غذاهاي فرآوري شده در حرارت و همچنین غذاهاي غني از چربي و شکر از اجزاي اصلي رژیم غذایي غرب و منبع ترکیبات گلیکوزیله نهایي پیشرفته؛ AGEs مي باشند (1).

AGEs یک گروه بزرگ و ناهمگن از ترکیبات فعال زیستي مي باشند که از واکنش گلیکوزیلاسیون غیرآنزیمي قندهاي احیا کننده یا مشتقات آن ها با ترکیبات حاوي آمین مانند پروتئین، DNA و لیپیدها تشکیل مي شوند (2). از شناخته شده ترین ترکیبات AGEs مي توان به پنتوزیدین، کربوکسي متیل لیزین، آرژیپیریمیدین، کربوکسي اتیل لیزین، پیرالین و کربوکسي متیل آرژنین اشاره کرد (3، 4).

AGEs موجود در بدن دو منبع اندوژن و اگزوژن دارد (3). یکي از مهمترین منابع اگزوژن؛ رژیم غذایي مي باشد که در افزایش ذخایر AGEs بدن نقش تعیین کننده اي دارد (5). در رژیم هاي غذایي مدرن به دلیل فرایند هاي حرارتي بالا؛ مقدار این ترکیبات بالا مي باشد (6). مهمترین عوامل موثر بر مقدار AGEs غذاها؛ ترکیب مواد مغذي، دما و روش پخت، وجود یا عدم وجود رطوبت و PH غذا مي باشند (3، 5).

براساس یافته ها؛ حرارت خشک؛ تشکیل AGEs را 100-10 برابر حالت خام افزایش مي دهد (6). بیشترین مقدار AGEs در غذاهاي گروه چربي وجود دارد. از بین آیتم هاي غذایي موجود در این گروه؛ کره، پنیر خامه اي فرآیند شده، مارگارین و مایونز حاوي بیشترین مقدار این ترکیبات مي باشند. در گروه گوشت و جانشین هاي گوشت نیز مقادیر AGEs؛ بالا مي باشد (5). یافته هاي یک مطالعه نشان داد که گروه چربي و گوشت تقریبا ٪85 دریافت این ترکیبات را تشکیل مي دهند (7).

عموما غذاهاي حیواني پرچرب و پرپروتئین غني از این ترکیبات بوده و همچنین مستعد تشکیل AGEs جدید در هنگام پخت مي باشند. در مقابل؛ سبزیجات، میوه ها، غلات کامل و شیر حتي بعد از پخت؛ حاوي مقادیر نسبتا کم AGEs مي باشند (6). در گروه کربوهیدرات تقریبا؛ مقدار این ترکیبات پایین مي باشد. از بین مواد غذایي موجود در این گروه؛ بیشترین مقدار AGEs در غذاهاي فرایند شده، prepared breakfast foods commercially، نان برشته و سوخته و snacks وجود دارند (5). محتواي AGEs شیرخشک تقریبا 100 برابر شیر مادر مي باشد(5).

یکي از بهترین روش هاي محدود کردن میزان AGEs دریافتي؛ کاهش مصرف منابع غني؛ از جمله پنیر پرچرب، گوشت پرچرب، غذاهاي بسیار فراوري شده و افزایش مصرف ماهي، غلات، محصولات لبني کم چرب، میوه و سیزیجات مي باشد (5). همچنین با استفاده از تکنیک هاي ساده آشپزي و اصلاح روش هاي پخت؛ مقدار AGEs غذا به طور چشمگیري کاهش مي یابد (3). پختن غذا در حرارت مرطوب، مدت زمان کم، استفاده از ترکیبات اسیدي از جمله آب لیمو یا سرکه؛ تشکیل AGEs جدید در زمان پخت را به میزان قابل توجهي کاهش مي دهد (6). درگذشته به دلیل تصور جذب اندک AGEs رژیم

غذايي؛ نقش اين تركيبات در سلامتي و بيماري ها كمتر مورد توجه بود (6). ولي امروزه مشخص شده كه 10٪ AGEs رژيم غذايي جذب مي شود (8) و مصرف رژيم غذايي با مقادير بالاي AGEs ؛ H-AGEs) (مستقل از سنتز اندوژن؛ سطح سرمي AGEs را افزايش مي دهد (9) AGEs رژيم غذايي كه به گردش خون جذب مي شوند؛ يک منبع اصلي از توكسين هاي فعال از لحاظ شيميايي يا بيولوژيكي مي باشد كه فقط بخشي از اين گليكوتوكسين ها از طريق ادرار دفع مي گردند (30٪) و بقيه آن مي توانند واكنش هاي قابل توجهي را در بدن اعمال كنند (8). نتايج يافته هاي اخير نشان مي دهد كه منبع اگزوژن مانند رژيم غذايي نيز مي توانند علاوه بر سنتز اندوژني؛ بر مكانسيم هاي بيماري زايي اين تركيبات موثر باشند (5). در بدن AGEs؛ اثرات خود را از طريق دو مكانيسم؛ واكنش با پروتئين و تغيير ساختار و عملكرد آن ها و يا اتصال به گيرنده هاي سلول و فعال كردن مكانيسم هاي سلولي مختلف اعمال مي كنند (3). همچنين اين تركيبات مي توانند بيان ژن و متعاقب آن عملكرد سلول و بافت را نيز تحت تاثير قرار دهند (1).

AGEs رژيم غذايي از طريق فعال كردن گيرنده پيش التهابي RAGE مسيرهاي التهابي را فعال مي كنند (1). به همين دليل التهاب مزمن، تجمع سلول هاي ايمني و افزايش استرس اكسيداتيو از مهمترين پيامدهاي تجمع اين تركيبات در بافت هاي مختلف مي باشند. با در نظر گرفتن اين كه فرايندهاي مذكور از عوامل پاتولوژيک اصلي فرايند پيري، بيماري هاي مزمن و سرطان مي باشند؛ بنابراين دور از انتظار نيست كه مصرف طولاني مدت اين نوع رژيم غذايي با پاتوژنز بيماري ها و اختلالات فراوان مرتبط باشد (1).

شواهد موجود حاكي از اين مي باشند كه مصرف رژيم غذايي H-AGEs از طريق افزايش فاكتورهاي خطر بيماري هاي مزمن؛ از جمله التهاب، افزايش پروتئينوري و استرس اكسيداتيو مي تواند استعداد ابتلا به اين بيماري ها از جمله ديابت مليتوس نوع 2، بيماري هاي قلبي عروقي و بيماري مزمن كليوي را افزايش دهد (10, 11).

AGEs ها در پاتوژنز اختلالات فراوان از جمله اختلالات كليه، باروري زنان، سندروم پلي كيستيک تخمدان (PCOS)، بيماري آترواسكلروز، سندروم متابوليک، اختلالات كبد، بيماري هاي نورودژنراتيو، چشم و سرطان نقش دارند (3, 12). افزايش سطح اين توكسين ها، علاوه بر افزايش بيماري هاي مزمن؛ در بروز عوارض ديابت از جمله بيماري هاي كليوي، رتينوپاتي، نوروپاتي، بيماري هاي قلبي عروقي و حتي تاخير در بهبودي زخم هاي ديابتي نيز نقش دارد (13).

در افراد ديابتي مصرف رژيم H-AGEs از طريق افزايش فاكتورهاي التهابي منجر به آسيب بافتي بيشتر مي گردد. محدود كردن مقدار AGEs دريافتي بر بهبود زخم، مقاومت به انسولين و بيماري هاي قلبي عروقي اثرات مفيدي دارد (14). سطح AGEs در بيماران با اختلالات كليوي افزايش مي يابد و در افزايش خطر بيماري هاي قلبي عروقي اين بيماران نيز نقش دارد. در اين بيماران نيز؛ محدود كردن مقدار AGEs دريافتي اثرات مفيدي دارد (15). مطالعات مدل هاي حيواني نشان داده اند كه دريافت طولاني مدت غذاهاي غني از AGEs منجر به تشديد پيشرفت آسيب هاي كليوي مي گردد كه بخش عمده ي اين پاتولوژي با كاهش ميزان AGEs دريافتي قابل پيشگيري مي باشد. در واقع كاهش مصرف اين توكسين هاي غذايي؛ پيشرفت اختلالات كليوي و فيبروز كليوي را به تاخير انداخته است (16). كاهش پروتئينوري، كاهش فيبروز لوله هاي توبولي، گلومرولواسكلروزيس از بهبودي هاي ناشي از محدوديت دريافت اين تركيبات سمي بود (16).

در مطالعه اي كه اثرات رژيم غذايي L-AGEs و H-AGEs در زنان مبتلا به PCOS بررسي شده بود؛ مشاهده شد كه مصرف رژيم H-AGEs؛ سطح سرمي AGEs، انسولين، تستوسترون، مقاومت به انسولين و استرس اكسيداتيو را افزايش مي دهد. در مقابل مصرف رژيم غذايي L-AGEs؛ وضعيت اكسيداتيو تشديد شده توسط رژيم H-AGEs را بدون تغيير BMI؛ كاهش داده بود. اين پژوهشگران پيشنهاد كردند كه در اختلالات PCOS؛ نقش AGEs رژيم غذايي؛ مستقل از تغييرات BMI مي باشد و كاهش AGEs دريافتي مي تواند اختلالات متابوليكي و هورموني زنان مبتلا را بدون تغيير BMI تعديل كند (12).

پژوهشگران در مطالعه اي كه ارتباط AGEs دريافتي را با افزايش خطر سرطان پانكراس در مردان نشان داده اند، پيشنهاد مي كنند كه يكي از عوامل موثر در زمينه ارتباط بين مصرف گوشت قرمز و خطر سرطان پانكراس در مردان؛ مي تواند AGEs رژيم غذايي باشد (17). يافته هاي حيواني نشان داده اند كه مصرف رژيم غذايي H-AGEs؛ در اختلال يادگيري و حافظه نيز موثر مي باشند (18). در سالمندان نيز AGEs رژيم غذايي با سرعت بيشتر كاهش حافظه مرتبط مي باشد (19). در پژوهش هاي جديد اثرات كاهش دريافت AGEs بر افزايش طول عمر حيوانات (14) و مصرف رژيم غذايي H-AGE در تسريع فرايندهاي پيري استخوان مخصوصا در جنس مونث نشان داده شده اند (20).

به دليل اين كه AGEs رژيم غذايي يک عامل تعيين و پيش بيني كننده مستقل سطح سرمي AGEs و فاكتورهاي التهابي مي باشد (10, 21)؛ مداخلات تغذيه اي محدود كننده ميزان AGEs دريافتي ؛ از جمله مصرف غذاهاي با AGEs كم و پخت غذا در دماي پايين؛ به دليل كاهش سطح AGEs درگردش، استرس اكسيداتيو و التهاب مي تواند يک استراتژي موثر براي پيشگيري و يا كنترل بيماري هايي باشد كه استرس اكسيداتيو و التهاب در بروز آن ها نقش اصلي دارند (21). بنابراين كاهش مصرف اين اكسيدان هاي غذايي مي تواند يک سياست اقتصادي موثر براي پيشگيري از بيماري هاي مرتبط با سن مخصوصا در جمعيت سالمندان باشد (21).

منابع

1. Piperi C. Dietary Advanced Glycation End-Products: Molecular mechanisms and Preventive Tools. Current Nutrition Reports. 2017;6(1):1-8.
2. Cho S-J, Roman G, Yeboah F, Konishi Y. The road to advanced glycation end products: a mechanistic perspective. Current medicinal chemistry. 2007;14(15):1653-71.
3. Palimeri S, Palioura E, Diamanti-Kandarakis E. Current perspectives on the health risks associated with the consumption of advanced glycation end products: recommendations for dietary management. Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy. 2015;8:415.
4. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. Biomolecules. 2015;5(1):194-222.
5. Goldberg T, Cai W, Peppa M, Dardaine V, Baliga BS, Uribarri J, et al. Advanced glycoxidation cnd products in commonly consumed foods. Journal of the American Dietetic Association. 2004;104(8):1287-91.
6. Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. Journal of the American Dietetic Association. 2010;110(6):911-6. e12.
7. Ejtahed H-S, Angoorani P, Asghari G, Mirmiran P, Azizi F. Dietary advanced glycation end products and risk of chronic kidney disease. Journal of Renal Nutrition. 2016;26(5):308-14.
8. Koschinsky T, He C-J, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, et al. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1997;94(12):6474-9.
9. Palioura E, Palimeri S, Piperi C, Sakellariou S, Kandaraki E, Sergentanis T, et al. Impact of androgen and dietary advanced glycation end products on female rat liver. Cellular Physiology and Biochemistry. 2015;37(3):1134-46.
10. Clarke RE, Dordevic AL, Tan SM, Ryan L, Coughlan MT. Dietary advanced glycation end products and risk factors for chronic disease: a systematic review of randomised controlled trials. Nutrients. 2016;8(3):125.
11. Šebeková K, Faist V, Hofmann T, Schinzel R, Heidland A. Effects of a diet rich in advanced glycation end products in the rat remnant kidney model. American journal of kidney diseases. 2003;41(3):S48-S51.
12. Tantalaki E, Piperi C, Livadas S, Kollias A, Adamopoulos C, Koulouri A, et al. Impact of dietary modification of advanced glycation end products (AGEs) on the hormonal and metabolic profile of women with polycystic ovary syndrome (PCOS). Hormones (Athens). 2014;13(1):65-73.
13. Luevano-Contreras C, Garay-Sevilla ME, Chapman-Novakofski K. Role of dietary advanced glycation end products in diabetes mellitus. Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine. 2013;18(1):50-66.
14. Luevano-Contreras C, Chapman-Novakofski K. Dietary advanced glycation end products and aging. Nutrients. 2010;2(12):1247-65.
15. Uribarri J, Peppa M, Cai W, Goldberg T, Lu M, He C, et al. Restriction of dietary glycotoxins reduces excessive advanced glycation end products in renal failure patients. Journal of the American Society of Nephrology. 2003;14(3):728-31.
16. Feng J, Hou F, Liang M, Wang G, Zhang X, Li H, et al. Restricted intake of dietary advanced glycation end products retards renal progression in the remnant kidney model. Kidney international. 2007;71(9):901-11.
17. Jiao L, Stolzenberg-Solomon R, Zimmerman TP, Duan Z, Chen L, Kahle L, et al. Dietary consumption of advanced glycation end products and pancreatic cancer in the prospective NIH-AARP Diet and Health Study–. The American journal of clinical nutrition. 2014;101(1):126-34.
18. Lubitz I, Ricny J, Atrakchi Baranes D, Shemesh C, Kravitz E, Liraz Zaltsman S, et al. High dietary advanced glycation end products are associated with poorer spatial learning and accelerated Aβ deposition in an Alzheimer mouse model. Aging Cell. 2016;15(2):309-16.
19. West RK, Moshier E, Lubitz I, Schmeidler J, Godbold J, Cai W, et al. Dietary advanced glycation end products are associated with decline in memory in young elderly. Mechanisms of ageing and development. 2014;140:10-2.
20. Illien Jünger S, Palacio Mancheno P, Kindschuh WF, Chen X, Sroga GE, Vashishth D, et al. Dietary Advanced Glycation End Products Have Sex and Age Dependent Effects on Vertebral Bone Microstructure and Mechanical Function in Mice. Journal of Bone and Mineral Research. 2018;33(3):437-48.
21. Uribarri J, Cai W, Peppa M, Goodman S, Ferrucci L, Striker G, et al. Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation endproducts: two links to inflammatory response, oxidative stress, and aging. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences. 2007;62(4):427-33.

فارماکوژنومیك و پزشکی شخصی در روانپزشکی

مترجم : عباس اردلان

کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه اراك، اراک، ایران

ایمیل نویسنده مسئول : abbasardalan@rocketmail.com

عباس اردلان

کلمات کلیدی

پزشکی فرد محور، فارماکوژنومیک، تنوع ژنتیکی، اختلالات روانپزشکی

چکیده

علیرغم نیاز به درمان موثرتر برای اختلالات روانپزشکی، توسعه داروهای جدید از حرکت بازماندند. در اینجا ما وعده پزشکی فرد محور را در زمینه توسعه دارویی با کارآیی بهتر و به صورت فردی مورد بحث قرار می دهیم که نه تنها علائم بلکه تنوع ژنتیکی و گروه های هدف بیمارانی که بیولوژی را به اشتراک می گذارند، مورد توجه قرار دادند.

مقدمه: فارماکوژنومیك، زادشناسی دارویی، و "پزشکی فردی"

توسعه دارو برای اختلالات روانی طی سه دهه گذشته متوقف شده است. پس از کشف سریع داروهای ضدبیماری های روانی(آنتی سایکوتیک) و ضد افسردگی در دهه های 1950 و 1960، و توسعه ترکیبات انتخابی و با تحمل بهتر در دهه های 1970 و 1980، این زمینه به تکیه بر ترکیبات "من - نیز" و بازاریابی تهاجمی تبدیل شده است. این رویکرد به فروش بسیار زیاد داروها منجر شده است، اما شواهد کمی از اثربخشی بیشتر موجود است. یک استثناء، توسعه کلوزاپین، آنتی سایکوتیک است که به نظر می رسد مؤثرتر از سایر ترکیبات است، اما به دلیل رویدادهای نادر و ناخوشایند هماتولوژیک، کمتر شناخته شده است.

به تازگی، بسیاری از شرکت های بزرگ دارویی، همه تلاش های خود را در جهت کشف دارو برای بیماری های روانی کنار گذاشته اند. ما دیگر عصر تولید مواد دارویی برای درمان بخش بزرگی از جمعیت را پشت سر گذاشته و رها کردیم. در حال حاضر نیاز به شناسایی اهداف دارویی جدید و تمرکز برای کشف مواد دارویی داریم، همانطور که(Munos (2009 آن را عبور از یک مانع و پیشرفت غیر منتظره می داند تا یک تجربه موفق

نیاز به درمان بهتر، غیر قابل انکار است. بیماری روانی در حال حاضر عامل اصلی از بین برنده زندگی سالم در دنیای توسعه یافته است و در کشورهای در حال توسعه به سرعت رو به افزایش است. (WHO, 2006; http://www.who.int/mentalhealth/management/depression/definition/en).

وجود آنتی سایکوتیک ها(ضد بیماری روانی) باعث شکست در شناخت علائم شناختی(شناسنده) اسکیزوفرنی، مانند اختلال عملکرد اجرایی، که به طور فزاینده ای به عنوان عامل بسیار ناتوان کننده شناخته می شوند، شده است. (10)

داروهای ضد افسردگی موجود، به آرامی عمل می کنند و هنوز در بیش از نیمی از بیماران مبتلا به افسردگی، موجب بهبودی نشده اند. لیتیوم برای برخی از افراد مبتلا به اختلال دوقطبی بسیار موثر است، اما اغلب از لیتیوم یا طیف وسیعی از تثبیت کننده های رفتاری جدیدی که اخیرا توسعه یافته استفاده نمی کنند. خودکشی، که معمولا به بیماری روحی مربوط می شود، یکی از علل اصلی مرگ است و میزان آن دو برابر میزان قتل می باشد و حتی از مرگ و میر ترافیکی در ایالات متحده هم پیشی گرفته است.(مرکز کنترل بیماری ها، http://www.cdc.gov/nchs/data/nvsr/nvsr60/nvsr60_04.pdf).

درس اصلی دهه گذشته از آزمایشات بالینی، ناهمگونی تشخیص های روانپزشکی است. دسته های تشخیصی مانند اسکیزوفرنی، افسردگی و یا اوتیسم، هر چند که توسط یک مجموعه گسترده تر از نشانه های مشاهده شده تعریف می شوند، ممکن است به صورت جداگانه شامل عوامل بیولوژیکی متفاوت با پاتوفیزیولوژی متمایز

و نیاز به درمان های مختلف داشته باشند. آنچه که اکنون نیاز داریم داروهایی برای زیر گروههای هدفمند بیماران در دسته های تشخیصی است که نه تنها علایم بیولوژی، بلکه نشانه ها را به اشتراک بگذارند. این جوهره پزشکی شخصی است یا آنچه اخیرا "پزشکی دقیق" نامیده می شود (کمیته پایه برای توسعه ی طبقه بندی جدید بیماری ها، 2011). پزشکی شخصی با آنچه که به عنوان "پزشکی ژنوم" شناخته می شود، همپوشانی دارد که برای اطلاعات بیشتر از ژنوم بیمار برای تشخیص، پیش بینی و برنامه ریزی درمان استفاده می شود و تاکید بر جنبه های غیر معمول یا منحصر به فرد هر بیمار دارد.(برای مطالعه- see Feero et al., 2010). در حقیقت، تاکید بر جنبه های منحصر به فرد بیمار، چیزجدیدی برای روانپزشکی نیست. مراقبت های روانپزشکی موثر همواره دارای چالش بوده، به این دلیل که معمولا همیشه شخصی شده است. هر خانواده ناراحت ممکن است به شیوه خود ناراضی باشد. به همین دلیل است که ما نیاز به انواع مختلفی از درمانها داریم که هر کدام دارای طیف وسیعی از نشانه ها هستند.

برخی از زادشناسی های دارویی "Home Runs"

زادشناسی های دارویی سنتی و ژنومیک ها پیشگامان داروهای ژنومی هستند که از روش های ژنتیکی برای تطبیق بهتر بیماران با درمان استفاده می کنند. تمرکز بر روی نشانگرهای ژنتیکی است که با پاسخ درمان یا عوارض جانبی مرتبط است. بر خلاف آزمایش های بالینی، که بر همگنی نتایج تأکید می کنند، مطالعات زادشناسی دارویی بر ناهمگونی تأکید دارند. به همین ترتیب، هدف به حداکثر رساندن اثربخشی و در عین حال حداقل رساندن عوارض جانبی است. تنوع ژنتیکی می تواند بر چگونگی استعمال داروها از روش های مختلف تاثیر گذار باشد که از جذب مواد سمی، تحت تاثیر متغیرهای فردی مانند پذیرش درمان طبقه بندی می شوند. علیرغم این پیچیدگی، چندین گزارش زادشناسی دارویی موفق در زمینه داروسازی در سال های اخیر به گوش رسیده است. در اینجا چندین مورد برای نشان دادن اینکه چگونه ژنتیک می تواند به کاهش سمیت و عوارض جانبی- اهداف سنتی فارماژنومیک کمک کند، وجود دارد، اما کمک به شناسایی زیر گروه های بیماران مبتلا به پاتوفیزیولوژی که ممکن است تنها به داروهای خاص پاسخ دهد، متمایز است.

دوز وارفارین در پلی مورفیسم

مجموعه ای از تفاوت های ژنتیکی تا 40 درصد واریانس در انتخاب دوز مطلوب وارفارین(یکی ضد انعقاد معمولاست) نقش دارد (برای بررسی، به Carlquist و اندرسون، 2011 مراجعه کنید) این کشف توجه زیادی را به خود جلب کرده است، زیرا عوارض خونریزی وارفارین کم نیست و می تواند جدی باشد. در سال 2010، FDA مجددا از برچسب زدن بر روی وارفارین استفاده کرد که حاوی دستورالعمل های دوز بر اساس ژنوتیپ بود. با این حال، هنوز معلوم نیست که آزمایشات ژنتیکی، ویژگی های بالینی اضافی و فراتر از آنچه که می تواند با نظارت ماهرانه آزمایش های استاندارد لخته شدن خون مانند INR انجام شود، را به ما نشان دهد.

نشانگر HLA سندرم استیونز جانسون با کاربامازپین

سندرم استیونس جانسون (SJS) یک اختلال نادر اما جدی التهابی پوست است که در نواحی مختلف پوست رخ می دهد این اختلال می تواند در اثر استفاده ی طولانی مدت از ضد انعقادهایی مثل لاموتریپسین،کاربامازپین و فنیتوین ایجاد شود. در سال 2004، Chung و همکاران (2004) گزارش دادند فراوانی این سندرم در نژاد چینی که از کاربامازپین استفاده کرده اند بیشتر است، این جمعیت حامل آنتی ژن لکوسیتی HLA-ET1502 هستند و مشاهده شد که ارتباط معناداری بین این آنتی ژن و استفاده از کاربامازپین و ابتلا به SJS وجود دارد. این یافته در سایر جمعیت های آسیایی، اما نه در غیر آسیایی ها، که HLA-ET1502 آن نادر است، تایید شده است.

اخیرا اداره غذا و دارو ایالات متحده برچسب زنی برای کاربامازپین را تغییر داده است تا ارزش بالقوه تست HLA را در بیماران مبتلا به نژاد آسیایی که برای درمان کاربامازپین مورد توجه قرار گرفته است، برجسته کند. این یک نمونه از نشانگر ژنتیکی قوی برای یک رویداد نادر اما جدی، ناخوشایند است. این روش بالینی در بیماران مبتلا به نژاد آسیایی روشن است، هر چند هنوز روشن نیست که آیا آزمایش HLA-B * 1502 به طور گسترده در کارهای بالینی به کار گرفته شود.

درمان ایواکافتور(نوعی دارو) برای فرم غیر شایع فیبروز کیستیک

فیبروز کیستیک (CF) یکی از اولین بیماری هایی بود که ژن مسبب آن یعنی CFTR توسط نقشه برداری ژنتیکی انسان شناسایی شد. تحقیقات بعدی در طول دو دهه نشان داد که هر یک از جهش های بیماری در CFTR بر پروتئین تاثیر متفاوتی می گذارد، و درمان اصلاح کننده آن بسیار چالش برانگیز است. یک روش آزمایشی کوچک مولکولی، ترکیبی را شناسایی کرد که نقص ناشی از جهش G551D را تا حدی تصحیح کرد که در حدود 4٪ از بیماران مبتلا به CF وجود دارد. نسخه ای از این ترکیب، که به نام ivacaftor شناخته می شود، بعدها بهبود عملکرد سلامت و عملکرد ریه در بیماران بالای 5 سال که دارو را بیش از 48 هفته دریافت کرده بودند (16) نشان داد. Ivacaftor هنوز نشان نداده که بر رهایی از حامل G551D تاثیر می گذارد و ظاهرا برای اکثر بیماران CF که جهش های دیگری دارند، سودی ندارد. با وجود این محدودیت ها، ivacaftor یکی از اولین نمونه هایی از درمان موثر است که بیماران هدف جهش خاصی از بیماری خاص

را دارا هستند.

چگونه می توان این کار را در روانپزشکی انجام داد؟

مطالعات فارماکولوژیک چندین سال در زمینه روانپزشکی انجام شده است، اما هنوز در سطح ابتدایی خود به نظر می رسد. بسیاری از مطالعات ابتدایی از فقدان هماهنگی مطالعاتی بزرگ و تکنولوژی مولکولی با توان بالا برخوردار بودند که اخیرا در دسترس هستند. مطالعات اخیر مدارک امیدوار کننده ای را ایجاد کرد، اما اندازه اثر هنوز خیلی کم، باقی مانده است و مطالعات تکثیر در نمونه های بزرگ به طور کلی فاقد آن هستند.

سیتوکروم p450

قسمتی از اکثر داروها توسط سیستم سیتوکروم(CYP) P450 - خانواده ای از آنزیم هایی که به نظر می رسد برای کمک به مقابله با سم های محیطی، به وجود آمدند- متابولیزه می شوند. تغییرات در ژن هایی که آنزیم های سیتوکروم را کدگذاری می کنند بسیار گسترده است و مدتها تاثیرشان را در متابولیسم داروهای خاصی نشان داده اند، از جمله داروهای روانگردان مانند الآنزاپین، سرترالین و چندین بنزودیازپین. به همین علت، ژن CYP به طور گسترده در روانپزشکی مورد مطالعه قرار گرفته است و یک تراشه ژنی که شامل بسیاری از تغییرات عملکردی مرتبط است برای استفاده در این زمینه ترویج داده می شود (3). تا کنون، کاربرد بالینی چنین آزمایشاتی برای اکثر بیماران ثابت نشده است (ارزیابی برنامه های کاربردی ژنومی در عمل و پیشگیری 2007، GAPP)

مطالعه هم خوانی سراسر ژنوم و ژن در مورد نتایج ضد افسردگی

در سالهای اخیر چندین مطالعه مرتبط با ژن کاندید شده، انجام شده است و بعضی از نشانگرهای امیدبخش نتیجه های ضد افسردگی را شناسایی کرده اند. مطالعات متعدد تغییرات SLC6A4 را در نتیجه درمان با داروهای ضد افسردگی، نشان داده است؛ هرچند که فنوتیپ های نتیجه به طور قابل ملاحظه ای متفاوت بوده اند و یک متا آنالیز تازه هیچ نتجه کلی نداشت (18). دیگر عوامل امیدوار کننده عبارتند بودند از: FKBP5، که پروتئین مربوط انتقال گلوکوکورتیکوئید را رمزگذاری می کند (2)؛ HTR2A، که گیرنده سروتونین 2A را رمزگذاری می کند (14)؛ و ABCB1، که یک پروتئین p-glyco است که مغز را برای تمرکز بر برخی از داروهای ضد افسردگی تحت تاثیر قرار می دهد (19).

شکل 2: رویکردهای فارماکولوژیک داروهای روانگردان

تنوع فردی نشان دهنده عوامل ژنتیکی و غیر روحی است که در جذب، توزیع، هدف مرکزی، متابولیسم و سمی بودن داروها همگرا می شوند.

شناسایی زیرگروه های پاسخ دهنده درمان

اغلب اختلالات رایج در زمینه عصب شناسی احتمالا مجموعه ای از بیماری های رایج و حتی کمیاب هستد. ما باید به "اختلال رفتاری واکنش لیتیوم" یا "اختلال روانپریشی در واکنش با کلوزاپین" فکر کنیم. چنین زیر گروه های واکنش درمانی، ممکن است ژن های خاص یا سایر خصوصیات را به اشتراک بگذارند. هر کدام از مقادیر تشخیص داده شده فعلی ممکن است در واقع شامل چندین زیرگروه باشد که برای درمان جدید نیاز به طراحی دارد، همانطور که در مثال فوق خلاصه ای از IVA CAFORT در درمان CFTR آمده است. اوتیسم، که به احتمال زیاد اختلال پلی ژنی است، ممکن است به عنوان یک مدل خوب در ایجاد استراتژی های درمان در قلمرو گسترده ای از عصب روانشناسی باشد. تحقیقات اخیر چندین ناهنجاری ژنومی مرتبط با اوتیسم را شناسایی کرده است (13). بنابراین هر گونه تغییرات ژنتیکی ممکن است یک علت متمایز مولکولی را نشان دهد و از این رو هدف مولکولی به طور بالقوه در "دارو پذیری" متفاوت است. بسته به زیربناهای مولکولی یا عصبی که ممکن است حتی در یک طبقه بندی تشخیصی متفاوت باشند، درمان موثر ممکن است به جای دارو به درمان شناختی یا رفتاری نیاز داشته باشد. اغلب ممکن است به هر دو مورد نیاز باشد.

شناسایی بیماران در معرض خطر رخدادهای شدید نامساعد و مضر

همانطور که در مورد سندرم استیونز جانسون نشان داده شد که استفاده از کاربامازپین می تواند باعث ایجاد این سندرم شود، ما باید نشانگرهای پیش بینی کننده خوبی از عوارض جانبی شدید ناشی از درمان روان پزشکی را شناسایی کنیم. چنین نشانه هایی می توانند استفاده های بسیار گسترده از داروهایی مانند کلوزاپین را که مزایای متمایزی برای اکثر بیماران فراهم می کند، فعال کند، در حالی که از قرار گرفتن در معرض افرادی که دارای خطر بالای حوادث شدید هستند، جلوگیری می کند. داده های پیشنهادی اخیر درباره پیش بینی های ژنومیک سندرم متابولیک ممکن است یک نمونه اولیه از این رویکرد باشد (5)

چالش های اصلی

کشف، نیاز به گروه های بزرگ بیمار دارد. تعداد زیادی از فرضیه هایی که در یک آزمایش معمول در ژنوم مورد بررسی قرار می گیرند، یک مسئله چند تستی قابل توجهی را مطرح می کنند. بیماران مبتلا به عوارض جانبی نادر ممکن است در مطالعات بالینی کوچک ارائه نشوند. زیر گروه های واکنش درمان ممکن است فقط یک اقلیت از بیماران گروه بندی شده توسط گروه های تشخیصی فعلی باشند. چنین مسائلی را می توان با اندازه های بزرگ نمونه برطرف کرد، اما برای جمع آوری و مطالعه می تواند گران باشد. پروژه های

STAR * D، CATIE و STEP * BD از اولین مواردی بودند که نمونه هایی را برای تحقیقات گسترده ژنوم فراهم می کرد. هر یک از این مطالعات؛گروهی از بیماران را با یک تشخیص رایج (افسردگی عمده، اسکیزوفرنی و اختلال دوقطبی) جمع آوری کرد و نتایج را به صورت چشمگیری بعد از درمان نسبتا استاندارد شده با یک یا چند عامل روانگردان ایجاد کردند این مطالعات به عنوان مطالعات زادشناسی دارویی طراحی نشده اما DNA را بر روی بسیاری از شرکت کنندگان جمع آوری کرده اند، بنابراین مطالعات فارماکوژنتیک بعدا امکان پذیر نیستند. ما اکنون به نمونه های بزرگ دیگری نیاز داریم. یک رویکرد ممکن است به جمع آوری نمونه ها از تعداد زیادی از آزمایشات بالینی در حال انجام بیانجامد، همانطور که در زیر شرح داده شده است.

منابع بالینی و ژنتیکی ناهمگن

حتی ارزشمندترین نشانگرهای دارویی و ژنتیکی هرگز تمام موضوع را نمی گوید. نتایج درمان همیشه نتیجه ی یکپارچگی پیچیده عوامل فردی، اجتماعی و اتفاقی(برحسب اتفاق) می باشد. پیروی از روانپزشکی یک مشکل جدی است و اغلب نادیده گرفته شده است. برای اختلالات پیچیده، بهترین درمان این است که منحصرا یک نقص مولکولی خاص را تصحیح می کند. این امر برای بیماران ،گاه به گاه با بیماری های نادر، مانند دیستونی پاسخ دهنده به دوپا (1) همراه است، اما همچنان یک چالش عمده مخصوصا برای روانپزشکی است.

نشان دادن کاربرد بالینی

مراحل اولیه کشف مطالعات زادشناسی دارویی بر روی اهمیت آماری و تکرار تأثیر می گذارد. این معیارها برای ایجاد قابلیت اطمینان علمی از یک یافته ضروری است، اما ما در مورد چگونگی استفاده از اطلاعات برای تصمیم گیری بالینی، هیچ اطلاعی نداریم. Flere، یک مفهوم برای اصطلاح "تعداد مورد نیاز برای آزمایش " ارزشمند است، زیرا شامل هر دو فرکانس نشانگر و مقدار اثربخشی آن است .(17) flere قبل از دریافت که چه تعداد از بیماران نیاز به دریافت یک آزمایش برای هر بیماری که نتیجه آن تغییر یافته است، دارد. مقادیر کمتر NNS به طور کلی بهتر است، اما هیچ آستانه ای وجود ندارد. هدف اصلی جلوگیری از عوارض جانبی شدید است ،NNS بزرگتر ممکن است معقول باشد، در حالی که بهبود کمی در پاسخ ممکن است نیاز به مقادیر NNS کمتر داشته باشد تا از لحاظ بالینی محاسبه شود.

آموزش پزشکان

تفسیر اطلاعات ژنتیکی برای اکثر پزشکان یک چالش جدید است. از آنجا که کاربرد بالینی نشانگرهای زادشناسی دارویی معمولا احتمالی است، درافزایش غیر عادی یک نتیجه در مقایسه با دیگری ، همیشه مشخص نیست که چگونه بهترین استفاده را از این اطلاعات در تصمیم گیری بالینی به کار ببریم . (Khoury و همکاران، 2010) . هرچه اطلاعات ژنتیکی جامع تر می شود، شانس رقابت برای تصمیم گیری سخت تر می شود. این به نوعی تصمیم گیری قانونی نیاز دارد که برای بسیاری از پزشکان ناآشناست. برنامه درسی مدرسه پزشکی به طور ژنتیکی آگاه تر می‌شوند، اما رسیدن رزیدنت ها و پزشکان در حال تعلیم به شیوه ای است که بتواند کار بالینی آنها را تحت تاثیر بگذارد، یک اقدام چالش برانگیز است. (20)

نتیجه گیری: گامی به جلو

در نهایت داروهای بهتر، از درک بهتربیولوژی اختلالات روانپزشکی پیروی می کنند. ممکن است سال ها طول بکشد اما چندین مرحله وجود دارد که می تواند برای استفاده بهتر از آنچه ما قبلا می دانستیم ، طی شود و زمینه را برای سرعت بخشیدن به دید جدید بیولوژیکی، هر زمان که بوجود بیایند، ایجاد کنیم.

مجموعه DAM در آزمایشات بالینی

قبلا توضیح دادیم که چرا اکتشافات ژنتیکی نیاز به نمونه های بزرگ دارند، اما جمع اوری آن زمان زیادی می گیرد و هزینه بالایی دارد. داوطلبان در آزمایشات بالینی در حال انجام یک جایگزین مورد توجه هستند. گرچه آنها از نظر تحقیق، تشخیص و درمان بیانگر گروهی ناهمگون هستند ، بسیاري از آزمایش هاي بالیني مداوم مي تواند به طور جمعي نمونه اي معقول از جمعیت که مناسب براي مطالعات ژنتیکي در مقیاس بزرگ باشند.را ایجاد کند . ما نیاز به همکاری مستمردانشگاه، صنعت و دولت برای شروع جمع آوری DNA در آزمایشات بالینی و ارسال نمونه ها و داده های مرتبط - به شکل ناشناس - به یک مخزن مرکزی داریم ، جایی که در آن می توان برای تقویت مطالعات در مقیاس بزرگ در آینده استفاده کرد.

بازبینی داروهای مورد استفاده که ممکن است در گروه های خاص ایمن و موثر باشند

فارماکوپیا پر از مواد دارویی است که به نظر می رسد مفید بودن خود را از دست داده است و یا هرگز کاربرد گسترده ای پیدا نکرده : داروهایی که برای طولانی مدت استفاده می شدند،از آن رو ایمن شناخته شده اند که توسط داروهایی که سریع الاثر در نظر گرفته شدند، جایگزین شده اند؛ داروهای جدیدتر که در حالی که بسیار موثر هستند، باعث بروز برخی عوارض جانبی شدید در برخی افراد می شوند. با استفاده از روش های ژنتیکی، ممکن است برخی از این داروها را برای سایرعلائم نیز تجویز کنند. اگر نشانگرهای ژنتیکی خوبی از ایمنی و اثربخشی ایجاد شود، چنین داروهای تجویزی میتواند برای جمعیت هدف مفید باشند، در حالی که خطر قابل قبول: نسبت سود به راحتی قابل دستیابی بودن آن است. تلاش

های منظم در راستای این خطوط در مرکز ملی پیشرفت علوم انتقالی (NCATS) آغاز شده است. NCATS یک جزء جدیدی از NIH است که هدف آن تولید نسل نوآورانه روش ها و فن آوری ها برای ارتقاء در زمینه توسعه، آزمایش و اجرای آزمایش های تشخیصی و عوامل درمانی در طیف وسیعی از بیماری های انسانی است (http: //www.ncats. nih.gov)

فارموکوژنومیک برای شناسایی اهداف جدید دارویی:

خط تولید داروهای سنتی ، ناکارآمد و گران است. استراتژی های نوینی مورد نیاز است، اما نوآوری نیازمند دیدگاه های جدید است. ژنتیک برخی از این دیدگاه های جدید را ارائه می دهد. مطالعات ارتباطی ژنوم طیفی از نشانگرهای ژنتیکی مشترک را برای تعدادی از صفات، بیماری ها و نتایج درمان نشان داده است. تقریبا در همان زمان، یک طبقه کاملا جدید از تغییرات ژنتیکی کشف شد،که به عنوان نسخه کپی شناخته می شود (CNVs): حذف و قرار دادن بخش های کوچک کروموزومی، حاوی یک تا ده ها ژن. CNV نشان داده که نقش مهمی در اوتیسم، اسکیزوفرنی و اختلالات رشدی دارد و همچنین ممکن است به نتایج درمان کمک کند (13). اغلب CNVs، بصورت de novo بوجود می آید زیرا کروموزوم ها از پدر و مادر به فرزند منتقل می شوند و منبع پویایی برای تفاوت های ژنتیکی را در هر نسل ایجاد می کنند.

توالی یابی ژنوم در مقیاس وسیع، چشم انداز جدیدی را ارائه می دهد. با تشکر از این تکنولوژی جدید، اکنون می دانیم که فرد معمولی دارای حدود 10،000 جهش است که به طور مستقیم بر بیان یا ساختار پروتئین تاثیر می گذارد، که حدود200 تای آن به "نابود کردن" ژن به طور کامل می انجامد (12). ما فقط می توانیم حدس بزنیم نقش بزرگ چنین تغییرات چشمگیری در یافته های فارماکوژنومیک آینده چه خواهد بود - احتمالا بزرگ خواهد بود.

ژنتیک تمام پاسخ نیست، بلکه نقطه شروع قوی و قابل اعتمادی را ارائه می دهد. اطلاعات بیشتر در مورد فرآیندهای بیماری اولیه در سطح سلولی و مولکولی برای کشف درمان های ایده آل و درمانی برای اکثر بیماران مبتلا به اختلالات روانپزشکی مورد نیاز است ، اما می تواند با شخصی شدن فارماکوپیهای موجود به دست آید. پزشکی شخصی، بینش جدید، گزینه های درمان بیشتر و نتایج بهتر را برای آنچه روانپزشکان همیشه برای مراقبت از هر بیمار به عنوان یک فرد تلاش می کنند به ارمغان می آورد.

منابع

1-Bainbridge, M.N., Wiszniewski, W., Murdock, D.R., Friedman, J., Gonzaga-Jauregui, C., Newsham, I.,Reid, J.G., Fink, J.K., Morgan, M.B., Gingras, M.C.,et al. (2011). Sci. Transl. Med. 3, re3.

2-Binder, E.B., Salyakina, D., Lichtner, P., Wochnik, G.M., Ising, M., Pu¨ tz, B., Papiol, S., Seaman, S.,Lucae, S., Kohli, M.A., et al. (2004). Nat. Genet.36, 1319–1325.

3-Black, J.L., 3rd, O'Kane, D.J., and Mrazek, D.A. (2007). Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 3, 21–31.

4-Carlquist, J.F., and Anderson, J.L. (2011). Circulation 124, 2554–2559.

5-Chowdhury, N.I., Remington, G., and Kennedy, J.L. (2011). Curr. Psychiatry Rep. 13, 156–165.

6-Chung, W.H., Hung, S.I., Hong, H.S., Hsih, M.S.,Yang, L.C., Ho, H.C., Wu, J.Y., and Chen, Y.T. (2004). Nature 428, 486.

7-Committee on A Framework for Developing a New Taxonomy of Disease. (2011). Toward Precision Medicine: Building a Knowledge Network for Biomedical Research and a New Taxonomy of Disease (Washington, D.C.: The National AcademiesPress).

8-Evaluation of Genomic Applications in Practiceand Prevention (EGAPP) Working Group. (2007). Genet. Med. 9, 819–825.

9-Feero, W.G., Guttmacher, A.E., and Collins, F.S. (2010). N. Engl. J. Med. 362, 2001–2011.

10-Hyman, S.E., and Fenton, W.S. (2003). Science 299, 350–351.

11-Khoury, M.J., Coates, R.J., and Evans, J.P. (2010). Genet. Med. 12, 680–683.

12-MacArthur, D.G., Balasubramanian, S., Frankish,A., Huang, N., Morris, J., Walter, K., Jostins, L., Habegger, L., Pickrell, J.K., Montgomery, S.B.,et al; 1000 Genomes Project Consortium. (2012).Science 335, 823–828.

13-Malhotra, D., and Sebat, J. (2012). Cell 148, 1223–1241.

14-McMahon, F.J., Buervenich, S., Charney, D.,Lipsky, R., Rush, A.J., Wilson, A.F., Sorant, A.J.,

15-Papanicolaou, G.J., Laje, G., Fava, M., et al. (2006). Am. J. Hum. Genet. 78, 804–814.

Munos, B. (2009). Nat. Rev. Drug Discov. 8,959–968.

16-Ramsey, B.W., Davies, J., McElvaney, N.G., Tullis, E., Bell, S.C., D_revı´nek, P., Griese, M., McKone, E.F., Wainwright, C.E., Konstan, M.W., et al; VX08-770-102 Study Group. (2011). N. Engl. J.Med. 365, 1663–1672.

17-Rembold, C.M. (1998). BMJ 317, 307–312.

18-Taylor, M.J., Sen, S., and Bhagwagar, Z. (2010).Biol. Psychiatry 68, 536–543.

19-Uhr, M., Tontsch, A., Namendorf, C., Ripke, S.,Lucae, S., Ising, M., Dose, T., Ebinger, M., Rosenhagen, M., Kohli, M., et al. (2008). Neuron 57, 203–209.

20- Winner, J.G., Goebert, D., Matsu, C., and Mrazek

داروهای شخصی شده در دیابت: نقش «اُمیکس» و بیومارکرها

مترجم- دانیال سیفی

کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی مولکولی، دانشگاه خوارزمی تهران، ایران.

ایمیل نویسنده مسئول : Daniboorook7@gmail.com

دانیال سیفی

کلمات کلیدی

دارو، درمان، انسولین، گلوکاگون، فارماکوژنتیک

چکیده

داروهای شخصی شده، که داروهای طبقه بندی شده یا دقیق نیز نامیده می-شود، قصد دارد برای بهترهدف قرار دادن مداخلات برای فرد، سود را به حداکثرو آسیب را به حداقل برساند. این مقاله به بررسی اینکه چگونه دیابت، سبب شناسی (شناسایی علت)، پاتوفیزیولوژی و ژنوتیپ بیمار بر واکنش به درمان هایی که به طور معمول در بیماریه دیابت استفاده شده یا عوارض جانبی درمان هایی که به طور معمول در بیماریه دیابت تأثیر می گذارد، می پردازد. سی-پپتید (C-peptide) یک بیومارکر مفید است که برای راهنمایی انتخاب درمان ناکافی است، کمبود شدید انسولین، عدم پاسخ به گلوکاگون (glucagon) مانند آگونیست های گیرنده های پپتید ۱ را پیش بینی می کند و تیازولیدیدین ها در بیماران مقاوم به انسولین موثرتر هستند. حوزه فارماکوژنتیک اکنون نتایج مهم بالینی را به ارمغان آورده است، که با سه مثال شرح داده شده است: حساسیت سولفونیل‌اوره در بیماران جوان مبتلا به دیابت بارداری HNF۱A؛ حساسیت سولفونیل‌اوره در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ با عملکرد کاهش یافته allele در CYP۲C۹، که منجر به کاهش متابولیسم سولفونیل‌اوره ها می شود؛ و عدم تحمل شدید متفورمین مرتبط با عملکرد کاهش یافته انواع دیگر ناقل کاتدی ارگانیک (OCT۱)۱ که توسط داروهایی که OCT۱ را مهار می کنند نیز تشدید می شود. دیدگاه های سراسر ژنوم و پتانسیل های سایر «اومیکس ها»، از جمله متاژنومیک ها و بمتابولومیک ها، سپس شرح داده شده، شبکه های فعل و انفعال داخلی پیچیده را که ما باید قبل از اینکه بتوانیم واقعا درمان های دیابت را شخصی کنیم بدانیم، برجسته کرده اند.

داروهای شخصی شده: از هنر تا علم

رشته پزشکی بالینی به ما یاد داده که بیمار را ارزیابی و بر اساس علائم، نشانه ها و تحقیقات هدفمند، یک طرح مدیریتی شخصی شده را برای آن فرد ایجاد کنیم. هنگامی که بیماران مبتلا به دیابت را مدیریت می کنیم، این امر واضح است که آن ها گروه بسیار متنوعی از افراد را نشان می دهند که همه اقلیت ها را شامل می شود، از جوانان تا مسن ها، از لاغر تا چاق، از دارای کمبود انسولین تا دارای میزان قابل توجهی مقاومت در برابر انسولین. به عنوان پزشک ما سعی می کنیم این تفاوت ها را در نظر بگیریم زمانیکه یک طرح مدیریت شخصی شده را به همراه بیماران خود، ایجاد می کنیم. این روند شخصی سازی درمان در حال حاضر اغلب بیشتر به عنوان یک هنر نسبت به یک علم شناخته می شود. انجمن دیابت آمریکا / انجمن دیابت اروپا برای مطالعه وضعیت دیابت برای مدیریت هیپرگلیسمی (افزایش قند خون) در دیابت نوع 2 [1] دستورالعمل ها را از رویکرد مبتنی بر پروتکل، گام به گام استخراج کرده است و ما را تشویق می کند تا رویکرد متمرکز بر بیمار را در نظر بگیریم. در این بیانیه وضعیت، اثربخشی و عوارض

جانبی هر کلاس داروی دیابت با یک توصیه که "انتخاب مبتنی بر ترجیحات بیمار و تنوع بیمار، بیماری و ویژگی های دارویی، با هدف کاهش غلظت گلوکز در حالی که عوارض جانبی، به خصوص هیپرگلیسمی را به حداقل برساند، است"، نشان داده شده است. این رویکرد معقول و عملی است و عمدتا بر مبنای حس مشترک (عقل سلیم)است، به عنوان مثال: اجتناب از سولفونیل‌اوره ها در افرادی که نسبت به هیپرگلیسمی آسیب پذیر هستند، یا در جایی که هیپرگلیسمی ممکن است خطر قابل ملاحظه ای باشد مانند رانندگان کامیون، داربست کاران ساختمان.

هنوز، در حالی که حس مشترک (عقل سلیم) ممکن است پیشنهاد دهد که از افزایش وزن درمانی، در افرادی که چاق هستند، اجتناب کنید، تیازولیدیندیونها به نظر می رسد در افراد مقاوم در برابر انسولین موثر تر باشد. چقدر باید این بهبود در HbA1c در برابر وزن افزایش یافته، متعادل شود؟ ما نیاز به شواهدی برای هدایت این تصمیمات داریم که مستلزم آزمایشاتی است که بطور خاص قصد ارزیابی اینکه چه دارویی برای یک فرد "بهترین" است، را داشته باشد.

علاوه بر ناهمگونی فنوتیپیک بیماران مبتلا به دیابت، ما تنوع در پاسخ به درمان یا نتیجه بیماری را علی رغم تشابه در فنوتیپیک، مشاهده کردیم:

چرا یک نفر در طول 3 سال تشخیص، نیاز به درمان انسولینی دارد و فرد مشابه از لحاظ فنوتیپیک در مدت بیش از 15 سال به انسولین پیشرفت نمی کند؟ چرا یک نفر رتینوپاتی دیابتی را ایجاد می کند و دیگری نمی تواند با وجود 20 سال کنترل خوب گلیسمی ، ایجاد کند؟مطالعات وراثت در اینجا مفید است، چرا که آنها به ما می گویند که چه مقدار از تغییرات بین افراد را می توان با تفاوت های ژنتیکی توضیح دهیم.

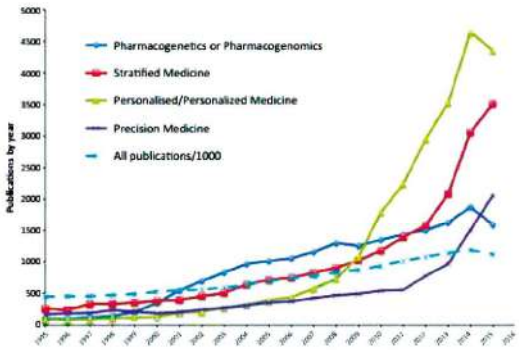
مطالعه [2 FIND-eye]، وراثت پذیری وسیع را برای رتینوپاتی دیابتی ~ ٪27گزارش کرد و اخیرا وراثت پذیری را برای پاسخ گلیسمی به متفورمین در حدود ٪34 گزارش کرد. بنابراین، درصد قابل توجهی از تغییرپذیری در پاسخ یا نتیجه بیمار برای آن فرد "ذاتی" است و این ممکن است در فنوتیپ آن ها آشکار نباشد.

برای یک رویکرد شخصی شده درست، جهت مدیریت بیماران دیابتی ما باید:- 1 بهتر بفهمیم که چگونه تغییر فتوتیپی بالینی، پاسخ یا نتیجه را تغییر می دهد؛ -2امواج مولکولی (اومیکس ها)را که توانایی ما برای پیشبینی نتایج را بهبود می بخشد، شناسایی کنیم. و -3 ایجاد دانسته های 1و2، منجر به تغییر در مدیریت بیمار و بهبود مراقبت بیمار و نتیجه خواهد شد. به این ترتیب ما باید بتوانیم دست کم برخی از "هنر پزشکی" را بکار گیریم و شواهد علمی و منطقی برای مراقبت شخصی شده ارائه دهیم.

برای شخصی سازی، طبقه بندی یا دقیق بودن؟

حوزه داروی شخصی شده، حوزه ی اصطلاحات دائما در حال تغییر است (شکل 1). سال های 1995 تا 2005، توانایی شخصی سازی درمان به طور عمده، حوزه زادشناسی دارویی یا -phar macogenomics را بررسی کرد. (اصطلاح برای بیان مطالعات در کل ژنوم استفاده شد). پس از یک موج در مطالعات فارماکوژنتیک / فارماکوژنومیک، در طول این زمان، نرخ انتشار مقالات در این حوزه به طور عمده مطابق با جمعیت سابق مقالات منتشر شده، افزایش یافته است. مفهوم داروی شخصی سازی شده در واقع در طول سال 2008/ 2007 آغاز شد و همچنان یک واژه محبوب باقی مانده است. با این حال، زمانیکه معلوم شد که این امر بعید است که درمان به درستی فردی سازی یا شخصی سازی شود، اصطلاح "داروی طبقه بندی شده" مرسوم شد، مفهوم این است که زیرگروه ها و یا اقشار افراد باید به گونه ای متفاوت از سایر اقشار درمان شوند. پیچیدگی نهایی با مفهوم "داروی دقیق" مطرح شد که استفاده از ویژگی های بالینی و "اومیکس" را برای ایجاد یک درمان دقیق تر، با خطای کمتر (یا عوارض جانبی کمتر) شرح می داد. این اصطلاح به تدریج داشت قبل از این سال ظهور می کرد، اما راه اندازی ابتکار دارویی دقیق در دولت ملل که توسط پرزیدنت اوباما در ژانویه 2015 بیان شد، آن را به یک اصطلاح بسیار روندی در ادبیات، ساخت.

هنگامی که کل این سه اصطلاح در نظر گرفته شود، واضح است که حوزه داروی شخصی سازی شده/ دقیق در حال حاضر توسط درمان های سرطان تحت سلطه قرار گرفته است، که در آن، توانایی منحصر به فردی برای بدست آوردن بافت از بافت هدف و شناسایی جهش های جسمی که درمان را قادر خواهد کرد که فقط بر روی سرطان عمل کند، وجود دارد. در 10 سال گذشته، در این حوزه، مطالعات و مقالات سرطان 12 بار بیشتر نسبت به مطالعات دیابت منتشر شده است. در بررسی حاضر، از اصطلاح "شخصی شده" استفاده خواهیم کرد و تحولات کلیدی در داروهای شخصی شده در دیابت را از 10 سال گذشته و نحوه تکامل این حوزه، را به ویژه در فضای مولکولی یا "اومیک"، برجسته خواهیم کرد. ما بر روی گلیسمی در دیابت غیر نوع 1 به جای سایر جنبه های مراقبت به ویژه روی پاسخ گلیسمی به درمانها تمرکز کرده ایم.



شکل 1: تعداد نشریات در هر سال که اصطلاح مورد جستجو

در عنوان آن قرار دارد. اصطلاح مورد جستجو " زادشناسی دارویی"، "داروی طبقه بندی شده"، "داروی شخصی شده"، "داروی دقیق". تمام نشریات توسط سال با اصطلاح مورد جستجو محدود شده است.و تعداد کل به 1000 تقسیم شده است تا قادر به استفاده از مقیاس یکسان شود.

پاتوفیزیولوژی دیابت

در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2، برای یک سطح معینی از گلیسمی، برخی بیماران مقاومت انسولین را با ترشح قوی، اما ناکافی انسولین نشان دادند، در حالی که سایرین ترشح انسولین بسیار پایین اما بسیار حساس داشتند، اما به اندازه کافی حساس به انسولین نبودند. با توجه به این که درمان های دیابت انجام می شود تا ترشح انسولین(سولفونیل اوره ها، مهار کننده های دي پپتیل پپتیداز- 4،گلوکاگون مانند آگونیست های گیرنده پپتید 1-) ، یا افزایش دهد یا تاثیر انسولین (تیازولیدیندیون ها) یا به طور مستقل محور ترشح / حساسیت انسولین (مهار کننده های sodium-glucose cotransporter-2، متفورمین) را افزایش دهد، منطقی به نظر می رسد که این داروها در زیرگروهای خاص بیمار خوب عمل کنند. ترشحات انسولین نیاز به عملکرد برخی از سلول های b حفاظت شده دارد. مطالعه اخیر در مورد یک گلوکاگون مانند آگونیست های گیرنده های پپتیدی 1 نشان داد که بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 با کمبود شدید انسولین (پپتید C ناشتا <0.25 نانو مول / لیتر) واکنش گلیسمی را به میزان قابل توجهی کاهش داد و تنها با کاهش HbA1c به میزان تنها 5.2 mmol / mol در این گروه در مقایسه با 15.2 mmol / mol در آنهایی با عملکرد سلول b سلول حفاظت شده ،کاهش یافته است[4]. مطالعه اخیر در مورد آگونیست های گیرنده های پپتیدی 1 مانند گلوکاگون نشان داد که بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 با کمبود انسولین شدید (پپتید C روزه <0.25 نانو مول / لیتر) واکنش گلیکوزمی را به میزان قابل توجهی کاهش دادند و تنها کاهش میزان HbA1c تنها 5.2 / mmol در این گروه در مقایسه با 15.2 mmol / mol در کسانی که با سلول b سلول حفظ شده است [4]، نشان داد که بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 با کمبود انسولین شدید (پپتید C روزه <0.25 نانو مول / لیتر) واکنش گلیکوزمی را به میزان قابل توجهی کاهش دادند و تنها کاهش میزان HbA1c تنها 5.2 mmol / mol در این گروه در مقایسه با 15.2 mmol / mol در کسانی که با سلول b سلول حفظ شده است [4]. در مقابل، تیازولیدیدین ها گزارش شده است که در بیماران چاق مقاوم در برابر انسولین در مقایسه با بیماران با وزن نرمال موثرتر عمل می کنند [5]. به طور شگفت انگیزی مطالعات کمی وجود دارد که به طور جامع پپتید C ناشتا یا سایر مقادیر ترشح انسولین و حساسیت را در ارتباط با پاسخ به درمان های دیابت، ارزیابی کرده باشد و این امر به نظر می رسد شاید حوزه ی مفیدی برای مطالعه بیشتر باشد، به طوریکه پپتید C برای اندازه گیری بیومارکر که یک مارکر مفید اصولی پاتوفیزیولوژی بیماری است، ساده است

سبب شناسی مونوژنیک

از لحاظ سبب شناسی، تمایل برای درمان همه دیابت های نوع 2 به عنوان یک موجودیت کلی وجود دارد، در حال حاضر ما می دانیم که این امر امکان پذیر است که علت بروز دیابت نوع 2 را کالبدشکافی کنیم، به خصوص، هنگامی که شکل های مونوژنیک بالقوه دیابت از قبیل مبتلایان جوان دیابت بلوغ (MODY) و لیپودیستروفی پیش‌رونده جزئی خانوادگی را بررسی کنیم. MODY ناشی از جهش در ژن HNF1Aیک نمونه خوب از اینکه چگونه سبب شناسی دیابت منجر به درمان شخصی سازی شده می شود، است. بعد از اینکه این مورد از حساسیت سولفونیل‌اوره در این گروه بیمار گزارش داد، یک آزمایش متقاطع تصادفی سولفونیل‌اوره ها و متفورمین در بیمار با HNF1A MODY صورت گرفت و بیماران با دیابت نوع 2 ثابت کردند که بیماران با این نوع MODY، به درمان سولفونیل‌اوره بسیار حساس هستند [6]. این امر به احتمال زیاد مرتبط با این حقیقت است که نقص در سلول b ناشی از جهش HNF1A در قندکافت و متابولیسم میتوکندری هستند و از این رو عمدتا توسط درمان سولفونیل‌اوره که در پایین کانال KATP عمل می کند، عبور داده می شوند. این کار منجر به گذار موفق درمان انسولین شده و مراقبت بیمار را برای این زیر گروه بیماری بهبود می دهد [7]. در حال حاضر بیش از 10 سال است که این نتیجه منتشر شده است، هنوز برخی از مناطق انگلستان، میزان مراجعه بسیار کمی برای آزمایش ژنتیک مولکولی در دیابت دارند [8]، که باید منجر به درمان نادرست بسیاری از بیماران شده است. یک رویکرد سیستماتیک برای تشخیص بیماری مونوژنیک لازم است.

وضعیت دارو

برای اینکه یک دارو موثر باشد، باید به محل تاثیرخود در یک غلظت کافی برای بدست آوردن تاثیر، برسد. زادشناسی دارویی مدت مدیدی است روی پتانسیل برای تغییر در ژن های درگیر در انتقال دارو و متابولیسم برای تغییر غلظت دارو و پس از آن برای تغییر اثر و عوارض جانبی دارو ، تمرکز کرده است. برای داروهای دیابتی، دو مورد از قویترین یافته ها در ارتباط با اثر تغییر در تاثیر (CYP2C9 cytochrome P450 2C9) و سولفونیل‌اوره و کشف اخیر است که تغییر در حامل کاتیونی آلی 1(OCT1)، تحمل را نسبت به متفورین تغییر می دهد.

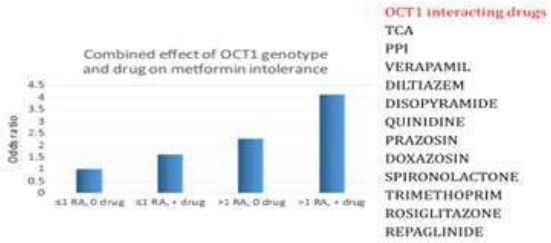
سولفونیل‌اوره ها، در ابتدا در کبد توسط آنزیم cytochrome P450 2C9 غیرفعال شده است. در حالیکه، اکثر افراد، دارای یک نسخه نرمال این آنزیم هستند، برخی دارای، عملکرد چند شکلی ها کاهش یافته در ژن کدگذار این آنزیم به نام *2 و *3 هستند.در مجموع، 6٪ جمعیت دارای دو عملکرد کاهش یافته چندریختی هستند و به همین دلیل پیش بینی می شوند

که سولفونیل‌اوره را به طور ناچیزی، غیرفعال کنند. مطالعه GoDARTS از Tayside انگلستان، اثبات کرد که این ٪6 جمعیت با کمبود عملکرد CYP2C9، 3.44 برابر بیشتر احتمال دستیابی به (ابتلا به) هدف ٪7 (HbA1c<53 mmol /mol) را دارند.[9]. با این حال، همان طور که انتظار می رود، غلظت افزایش یافته دارو به عنوان نتیجه متابولیسم ضعیف سولفونیل‌اوره، نیز با خطر افزایش یافته هیپوگلیسمی هرچند در مطالعات کوچک محدود، همراه است. به نظر می رسد، که این بیماران ممکن است از رویکرد شخصی شده برای درمان با دوز شروع پایین تر سولفونیل‌اوره ، بهره مند شود. یک آزمایش بالینی مبتنی بر ژنوتیپ برای ایجاد آن، قبل از اینکه بتوان آن را در مراقبت های بالینی پیاده سازی کرد، نیاز است.

متفورمین، یک کاتیون آلی است و از این رو، وضعیت آن عمدتا تحت تاثیر گروهی از حمل کنندگان به نام حامل های کاتیونی آلی است. بیشتر تمرکز بر نقش تنوع ژنتیکی در OCT1 بر اثر کارکرد متفورمین بوده است، زیرا OCT1 نقش مهمی در جذب متفورمین در کبد دارد [12]. با این حال، اجماع کمی در مورد تاثیر این حامل روی پاسخ متفورمین، وجود دارد. OCT1 همچنین در حمل و نقل متفورمین در دیواره روده نقش دارد و فرض شده است که ممکن است در عدم تحمل متفورمین نقش داشته باشد. اخیرا ما دریافتیم که ٪8 از اروپاییان سفید پوست که دو نوع عملکرد کاهش یافته را در OCT1 را حمل می کنند تقریبا دو برابر، احتمال ابتلا به عدم تحمل شدید متفورمین را به عنوان افرادی که دارای عملکرد طبیعی در OCT1 هستند، دارند [13].

این یافته ها پس از آن در گروه کوچک با عدم تحمل متفورمین خفیف، تکرار شده است [14]. جالب توجه است که ما همچنین نشان دادیم که داروهای مجاز تجویزشده خطر عدم تحمل را افزایش می دهند [13].

تعدادی از داروها (لیست را در شکل 2 مشاهده کنید) وجود دارد که حمل و نقل OCT1 را مهار می کنند، و در حالی که این ها به خودی خود تاثیر کمی دارند، تاثیر این داروها بر عدم تحمل متفورمین در افرادی که دو نوع عملکرد کاهش یافته OCT1 را دارند، بسیار بیشتر است و این گروه ،بیشتر از چهار برابر، خطر ابتلا به بیماریهای دستگاه گوارش عدم تحمل متفورمین (شکل 2) را دارند. این به این معنی است که بیماران با عدم تحمل متفورمین که با داروی فعل و انفعالات داخلی OCT1 درمان شده اند باید برای یک داروی جایگزین اگر ممکن باشد، آزمایش شده باشند، شایع ترین این داروها مهارکننده های پروتون پمپ هستند؛ در چنین بیمارانی باید آزمایش آنتاگونیست های گیرنده H2 انجام شده باشد. اگر این نتایج بتواند در یک آزمایش بالینی مورد تایید قرار گیرد، آنگاه ممکن است سناریویی را در نظر بگیریم که در آن دوز پایین تر از متفورمین یا یک انتشار آهسته آماده سازی استفاده شده باشد و داروهای مشترک تجویز شده در ٪8 بیمارانی که دارای خطر ژنوتیپ هستند، تغییر کند.



شکل 2: میزان احتمال برای تحمل شدید متفورمین. RA عملکرد کاهش یافته Allel در حامل کاتدی 1)، 0) OCT1 یا + اشاره به حضور یا عدم حضور داروی بالقوه OCT1 -interacting در لیست نشان داده شده، دارد.

بینش ها از مطالعات گسترده ژنوم

معرفی گسترده ی آرایه های کم هزینه ژنوم، حرکت از مطالعه ژنهای کاندیدای واحد، به مطالعه انواع متداول در سراسر ژنوم را امکان پذیر کرده است. این رویکرد زمانی مفید است که مکانیسم عمل یک دارو نامشخص باشد و بنابراین ، رویکرد ژن کاندیدا دشوار است. علیرغم استفاده گسترده از مطالعات انجمن ژنوم گسترده (GWAS) برای اکثر صفات و بیماری های رایج، کاربرد GWAS به پاسخ دارو ، محدود شده است. احتمالا بهترین نمونه GWAS به کار برده شده برای نتایج دارویی در شرایط به غیر از دیابت، این یافته بود که نوع دیگر در SLCO1B1 (کدگذاری حامل استاتین OATP1B1) خطر استاتین مرتبط با میوپاتی (ماهیچه آسیبی) را افزایش می دهد، با ٪2 جمعیتی که دو c-allele ها را در rs4140956 حمل کرد که 16 برابر بیشتر احتمال دارد تا میوپاتی با سیمواستاتین شدید ایجاد کند. اندازه تاثیر به این معنی بود که فقط 85 مورد نیاز بود که شامل 90 کنترل شوند. تنها GWAS گزارش شده برای پاسخ داروی دیابتی برای متفورمین بوده است. چنانچه مکانیسم عمل بیشتر مورد بحث باقی بماند، رویکرد فرضیه آزاد GWAS ، پتانسیل قابل ملاحظه ای را برای کسب بینش نسبت به مکانیسم مولکولار عمل متفورمین، ارائه می دهد. مطالعه GoDARTS و دیابت آینده نگر انگلستان (UK-PDS)، گروه مطالعه فارموگوژنیک متفورمین، GWAS را تقریبا در 100 بیمار درمان شده با متفورمین انجام داده است [15]. در این مطالعه یک لوکوس روی کروموزوم 11، همراه با پاسخ متفرومین با ارزش 7 L 10 *1.9= p بود. این لوکوس پس از آن در دو گروه مستقل تکرار شد، از جمله UKPDS با مجموع ترکیب شده ارزش 9-10*2.9= P. این ارتباط ژنتیکی پس از آن در گروهای اروپایی [16] و گروه های چینی [17] اضافی تکرار شده است، که باعث شد این قوی ترین نوع زادشناسی دارویی متفورمین برای اتربخشی متفورمین تا به امروز باشد. لوکوس روی کروموزم 11، توسط rs11212617 ضمیمه شده است، شامل یک بلوک LD بزرگ شامل 7 ژن می باشد. مشاهدات قابل توجهی وجود دارد که نشان می دهد ژن ATM به عنوان کاندید احتمالی در این لوکوس است. ATM یک پروتئین آسیب

دیده DNA را که در برخی از سرطان ها معیوب است، رمز گذاری می کند. جهش های انقباضی مفصلی در ATM ، باعث آتاکسی تلانژکتازیا، یک سندروم ناشی از افزایش خطر ابتلا به سرطان و دیابت می شود [18،19]. ما اخیرا تأیید کردیم که بیماران مبتلا به آتاکسی تلانژکتازیا دچار glycaemia و مقاومت به انسولین شده اند، که این فرضیه را تأیید می کند که ATM نقش کلیدی در متابولیسم انسولین دارد [20]. مکانیزم دقیق که به موجب آن تغییر در ATM یا ژن شریک مجاور آن NPAT، پاسخ متفورمین تغییر میکند، تمرکزی از کار مداوم است.

فراتر از ژنومیک

تا به امروز داروهای شخصی شده در دیابت، و در واقع در بسیاری از بیماری ها، بر روی تغییرات توالی DNA متمرکز شده است؛ با این حال، این امر تنها بخش کوچکی از پیچیدگی کلی تغییرات انسان را به تصویر می کشد. همانطور که فن آوری همچنان به جلو حرکت می کند، ما در حال حاضر به سوی یک حوزه که بسیار پیچیده تر است حرکت می کنیم که به اپی ژنتیک های خاص بافت (epigenomics) و بیان ژن (transcriptomics) می پردازد، و ادغام این داده های بیان شده با اثرات محیطی و دارویی که می تواند در بررسی های هدفمند یا غیرهدفمند متابولیت ها (متابولومیک) و پروتئین ها (پروتئومیک) در نظر گرفته شود. همچنین شناخت فزاینده ای از نقش میکروبیوم روده در متابولیسم و به ویژه متابولیسم دارو وجود دارد [21]. رویکردهای توالی ژنتیکی در حال حاضر به طور فزاینده ای برای شناسایی گونه های باکتریایی موجود در روده استفاده می شود و این را به خطر بیماری یا در معرض گذاری دارو، ربط می دهند. این رویکردها هنوز برای مطالعه نتایج دارو در دیابت به کارل برده نشده است، اما برای سایر داروها و نتایج، گزارش شده است. به عنوان مثال، در حوزه pharmacometabolomics(بررسی شده در Kaddurah-Daouk و همکاران [22])، متابوتیپ نشان داده است که پاسخ درمان را به مهارکننده هاي بازفرآوري انتخابي بازجذب سروتونيني تغییر مي دهد [23]. معلوم شد میکروبیوم روده به مدت چندین سال وضعیت دارو را تحت تاثیر قرار می دهد. به عنوان مثال، 10 درصد جمعیت، با باکتری بی هوازی روده ای Eu-bacterium lentum کلنی می شوند، که قبل از جذب آن، > 40 درصد از دیگوکسین مصرف شده، متابولیزه و غیر فعال می شود [24]. همکاری آنتی بیوتیک هایی که این غیرفعال را مختل می کنند باعث وقوع اختلال الکتروفیزیولوژی قلب می شود [25]. بطور قابل ملاحضه ای، متفورمین به عنوان ایفا گر نقش فزاینده در روده [26] شناخته شده است و اخیرا نشان داده شده است که میکروبیوم را به روشی که حداقل برخی از عدم تحمل و اثربخشی مرتبط با درمان با متفورمین را داشته باشد، تغییر می دهد [27]. بنابراین مطالعه میکروبیوم و متابولیت میزبان همراه، در ارتباط با پاسخ متفورمین، احتمالا یک حوزه مورد علاقه در حال پیشرفت می باشد. که این درمان را به صورت شخصی شده که جالب باشد، تبدیل می کنند، اما برخی مطالعات قبلا تاثیر مدولاتور میکروبیوم بر عدم تحمل متفورمین را با برخی از موفقیت ها ارزیابی کرده اند [28].

نتیجه گیری

تمام پزشکان تلاش می کنند تا بر روی داروی شخصی شده کار کنند، اما تا به امروز ما شواهد کافی برای درمان شخصی سازی شده واقعی نداریم، این امر منجر به نیاز برای یک حدس آموزشی یا یک روش آزمون و خطا شده است. دوران مدرن داروی شخصی شده به سمت شناسای امضاهای بالینی و مولکولی حرکت می کند تا نتایج درمان را پیش بینی کند، عدم اطمینان در تصمیمات درمانی را کاهش دهد، یعنی باعث درمان دقیق تری شود. با این وجود ما در ابتدای این فرایند ، با تنها چند نمونه قوی از فنوتیپ یا ژنوتیپ راهنمای انتخاب درمان، هستیم. پیشرفت های تکنولوژیکی اخیر، درک بسیار زیادی از تغییرات فردی را ایجاد می کند که نه تنها ممکن است نتایج را تغییر دهد، بلکه پیچیدگی مطالعاتی که برای شناسایی چنین بیومارکرهای پیش بینی کننده ای تلاش می کنند، را فوق العاده افزایش می دهد. به نظر می رسد که احتمالا 10 سال آینده پیشرفت های عمده ای در داروی شخصی شده در دیابت ارائه خواهد شد؛ آنچه که بسیار محتمل به نظر می رسد این است که دیگر این امر شخصی سازی شده یا حتی داروی دقیق نامیده نخواهد شد.

منابع

1. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E,Nauck M et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes,2015: a patient-centered approach: update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. Diabetes Care 2015; 38:140–149.
2. Arar NH, Freedman BI, Adler SG, Iyengar SK, Chew EY, DavisMD et al. Heritability of the severity of diabetic retinopathy:the FIND-Eye study. Invest Ophthalmol Vis Sci 2008; 49: 3839–3845.
3. Zhou K, Donnelly L, Yang J, Li M, Deshmukh H, Van Zuydam N et al. Heritability of variation in glycaemic response to metformin: a genome-wide complex trait analysis. Lancet Diabetes Endocrinol 2014; 2: 481–487.
4. Jones AG, McDonald TJ, Shields BM, Hill AV, Hyde CJ, Knight BA et al. Markers of beta-Cell Failure Predict Poor Glycemic Response to GLP-1 Receptor Agonist Therapy in Type 2 Diabetes. Diabetes Care 2016; 39: 250–257.
5. Jones TA, Sautter M, Van Gaal LF, Jones NP. Addition of rosiglitazone to metformin is most effective in obese, insulinresistant patients with type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab 2003; 5: 163–170.
6. Pearson ER, Starkey BJ, Powell RJ, Gribble FM, Clark PM, Hattersley AT. Genetic cause of hyperglycaemia and response to treatment in diabetes. Lancet 2003; 362: 1275–1281.
7. Shepherd M, Pearson ER, Houghton J, Salt G, Ellard S, Hattersley AT. No deterioration in glycemic control in HNF-1alpha maturity-onset diabetes of the young following transfer from long-term insulin to sulphonylureas. Diabetes Care 2003; 26: 3191–3192.
8. Shields BM, Hicks S, Shepherd MH, Colclough K, Hattersley AT, Ellard S. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): how many cases are we missing? Diabetologia 2010; 53: 2504–2508.
9. Zhou K, Donnelly L, Burch L, Tavendale R, Doney AS, Leese G et al. Loss-of-Function CYP2C9 Variants Improve Therapeutic Response to Sulfonylureas in Type 2 Diabetes: A Go-DARTS Study. Clin Pharmacol Ther 2010; 87: 52–56.
10. Ragia G, Petridis I, Tavridou A, Christakidis D, Manolopoulos VG. Presence of CYP2C9*3 allele increases risk for hypoglycemia in Type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. Pharmacogenomics 2009; 10: 1781–1787.
11. Holstein A, Hahn M, Patzer O, Seeringer A, Kovacs P, Stingl J. Impact of clinical factors and CYP2C9 variants for the risk of severe sulfonylurea-induced hypoglycemia. Eur J Clin Pharmacol 2011; 67: 471–476.
12. Shu Y, Sheardown SA, Brown C, Owen RP, Zhang S, Castro RA et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. J Clin Invest 2007; 117:
1422–1431.
13. Dujic T, Zhou K, Donnelly LA, Tavendale R, Palmer CN, Pearson ER. Association of Organic Cation Transporter 1 With Intolerance to Metformin in Type 2 Diabetes: A GoDARTS Study. Diabetes 2015; 64: 1786–1793.
14. Dujic T, Causevic A, Bego T, Malenica M, Velija-Asimi Z, Pearson ER et al. Organic cation transporter 1 variants and gastrointestinal side effects of metformin in patients with Type 2 diabetes. Diabet Med 2016; 33: 511–514.
15. GoDARTS and UKPDS Diabetes Pharmacogenetics Study Group; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Zhou K, Bellenguez C, Spencer CC, Bennett AJ et al. Common variants near ATM are associated with glycemic response to metformin in type 2 diabetes. Nature Genet 2011; 43: 117–120.
16. Van Leeuwen N, Nijpels G, Becker ML, Deshmukh H, Zhou K, Stricker BH et al. A gene variant near ATM is significantly associated with metformin treatment response in type 2 diabetes: a replication and meta-analysis of five cohorts. Diabetologia 2012; Zhou Y, Guo Y, Ye W, Wang Y, Li X, Tian Y et al. RS112126
17. is associated with metformin treatment response in type 2 diabetes in Shanghai local Chinese population. Int J Clin Pract 2014; 68: 1462–1466.
18. Mavrou A, Tsangaris GT, Roma E, Kolialexi A. The ATM gene and ataxia telangiectasia. Anticancer Res 2008; 28: 401–405.
19. Schalch DS, McFarlin DE, Barlow MH. An unusual form of diabetes mellitus in ataxia telangiectasia. N Engl J Med 1970; 282: 1396–1402.
20. Connelly PJ, Smith N, Chadwick R, Exley AR, Shneerson JM, Pearson ER. Recessive mutations in the cancer gene Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM), at a locus previously associated with metformin response, cause dysglycaemia and insulin resistance. Diabet Med 2016; 33: 371–375.
21. Li H, Jia W. Cometabolism of microbes and host: implications for drug metabolism and drug-induced toxicity. Clin Pharmacol Ther 2013; 94: 574–581.
22. Kaddurah-Daouk R, Weinshilboum R. Pharmacometabolomics Research Network. Metabolomic signatures for drug response phenotypes: pharmacometabolomics enables precision medicine. Clin Pharmacol Ther 2015; 98: 71–75.
23. Kaddurah-Daouk R, Boyle SH, Matson W, Sharma S, Matson S, Zhu H et al. Pretreatment metabotype as a predictor of response to sertraline or placebo in depressed outpatients: a proof of concept. Transl Psychiatry 2011; 1. pii: e26.
24. Saha JR, Butler VP Jr, Neu HC, Lindenbaum J. Digoxininactivating bacteria: identification in human gut flora. Science 1983; 220: 325–327.
25. Lindenbaum J, Rund DG, Butler VP Jr, Tse-Eng D, Saha JR. Inactivation of digoxin by the gut flora: reversal by antibiotic therapy. N Engl J Med 1981; 305: 789–794.
26. McCreight L, Bailey CJ, Pearson ER. Metformin and the gut. Diabetologia 2016; 59: 426–435.
27. Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. Nature 2015; 528: 262–266.
28. Burton JH, Johnson M, Johnson J, Hsia DS, Greenway FL, Heiman ML. Addition of a gastrointestinal microbiome modulator to metformin improves metformin tolerance and fasting glucose levels. J Diabetes Sci Technol 2015; 9: 808–814.

OncoDNA
THE CANCER THERANOSTIC COMPANY

آیا سوال هایی در مورد درمان سرطان دارید؟

OncoDNA به شما برای پیدا کردن پاسخ درمانی مناسب و صحیح کمک می کند.
OncoDNA با تجـویز آزمایش OncoDEEP و OncoTRACE ، مناسب ترین گزیـنـه درمانی را از میان داروهای موجود در بازار و حتی داروهای تحت بررسی بالینی، به منظور درمان هدفمند بیمار ارائه می نماید.

www.oncodna.com
www.oncodna.ir
Tel:+98(21)88985291-3
Fax:+98(21)88955205

بررسی نقش شخصیت در پزشکی فردی

دکتر سید حسن سعادت[1] ، دکتر شیما شهیاد[2]

۱- مرکز تحقیقات علوم رفتاری، موسسه سبك زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)،تهران، ایران
۲- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)،تهران، ایران

ایمیل نویسنده مسئول : saadat350@gmail.com

سید حسن سعادت

کلمات کلیدی

پزشکی فردی، شخصیت، سلامت

چکیده

پزشکی فردی براساس این مفهوم ساخته شده است که درمانی که برای گروهی از بیماران به خوبی عمل می کند، شاید برای همه افراد گروه عمل نکند. تحقیقات نشان دادند که صفات شخصیت سلامت و بیماری را پیش بینی می کند.شخصیت به طرق مختلفی بر سلامت افراد تأثیر می گذارد. نخست آن که تفاوت های شخصیتی منعکس کننده تفاوت های برجسته در سیستم بیولوژیکی است که به پاتوژنی بیماری ها مربوط می شود. تفاوت های شخصیتی در شیوه ای که افراد به بیماری پاسخ می دهند نیز تأثیر گذار است. و نکته سوم این که تفاوت های شخصیتی به طیف وسیعی از رفتارهای مرتبط با سلامت که در بهبود بیماری نقش دارند، منجرمی شود. از جمله بیماری هایی که با شخصیت افراد در ارتباط است می توان به بیماری ام اس، بیماری قلبی، سرطان واختلال خوردن اشاره کرد. افزودن ویژگی های شخصیت به سیستم مراقبت از بیمار می تواند راهی ارزان و قابل دسترس برای شناسایی جوانانی که نیاز به تغییر سبک زندگی برای پیشگیری از بیماری ها را دارند فراهم کند. بنابراین ورود مطالعات مربوط به شخصیت در حیطه پزشکی فردی می تواند مفید باشد.

پزشکی فردی چیست؟

پزشکی فردی بر اساس این مفهوم ساخته شده است که درمانی که برای گروهی از بیماران به خوبی عمل می کند، شاید برای همه افراد گروه عمل نکند. همچنان که گاهی دارویی که برای بیشتر افراد زیان آور باشد. برای برخی کمک کننده باشد. یا این که دارویی که برای همگان کاراست، برای یک بیمار ویژه ناکارا باشد [1]. پزشکی فردی یک رویکرد چند وجهی برای مراقبت از بیمار است، که نه تنها توانایی برای تشخیص و درمان بیماری را بهبود می بخشد، بلکه توانایی تشخیص بیماری در مراحل قبل از آن را ممکن می سازد و درمان مؤثر را آسان تر می کند [2]. پزشکی فردی زمینه ای پیشرفته و وسیع از مراقبت های بهداشتی است که بر پایه اطلاعات منحصر بفرد بالینی، ژنومیکی و محیطی افراد بناشده است و می تواند از این اطلاعات در جهت درک مولکولی بیماری استفاده کند. همچنین می تواند بهترین راهکار پیشگیری و درمان دارویی را در زمانی که علایم بیماری ظاهر نشده یا در مراحل اولیه بیماری، اتخاذ نماید. در واقع پزشکی فردی با استفاده از فاکتورهای ژنتیکی و مکانیسم های زیستی، درمان مؤثر و مناسب با آن فرد را مخصوصاً در زمینه دارو در نظر می گیرد، تا داروهایی با دوز مناسب و متناسب با زمینه ژنتیکی بیماران تجویز شود [3]. کاربرد پزشکی فردی را می توان به مراحل زیر تفکیک نمود: ارزیابی احتمال بروز بیماری، تعیین و آشکار نمودن ، تشخیص، درمان و مدیریت درمان [2]

چرا بهتر است نوع شخصیت افراد در پزشکی فردی گنجانده شود ؟

تحقیقات اولیه نشان دادند که صفات شخصیت سلامت و بیماری را پیش بینی می کند. اما این تحقیقات تعریف جامعی از شخصیت ارائه ندادند. در نتیجه روان شناسان در استفاد از ابزارهای سنجش و چگونگی کاربرد آن اتفاق نظر نداشتند. طی

دو دهه اخیر روان شناسان تفاوت های شخصیتی را در قالب پنج بعد شخصیتی برون گرایی ، روان رنجوری ، انعطاف پذیری ، با وجدان بودن و توافق پذیری در نظرگرفتند، بنابراین صفات شخصیی پنج عاملی ساختاری برای چارچوب بندی تحقیقات اولیه فراهم کرده است [4]. روان رنجوری ویژگی است که برای فرد امکان تجربه اضطراب، افسردگی، نارضایتی و عصبانیت را فراهم می نماید. برون گرایی به ویژگی های شخصیتی از قبیل فعال بودن، جدیت، جرأت و اعتماد به خود اشاره دارد، انعطاف پذیری به عملکرد هوشمندانه، خلاقیت، تخیل و تمایلات فرهنگی و اجتماعی مربوط بوده و ویژگی شخصیتی توافق پذیری، حساسیت و اهمیت قایل شدن برای دیگران و نیازهای آن ها را منعکس می نماید و در نهایت با وجدان بودن به قابلیت اعتماد در انجام کارها، انجام دقیق و منظم مسؤلیت های محوله و التزام به عملکرد اشاره می کند [5].

شخصیت به طرق مختلفی بر سلامت افراد تأثیر می گذارد. نخست آن که تفاوت های شخصیتی منعکس کننده تفاوت های برجسته در سیستم بیولوژیکی است که به پاتوژنی بیماری ها مربوط می شود. روان رنجوری که بوسیله پاسخ هیجانی زیاد به محرک های محیطی مشخص می شود، با فعالیت زیاد نرواندوکرین ها و سیستم ایمنی در ارتباط است. سطوح بالای روان رنجوری می تواند منعکس کننده بیش پاسخی به محرک های فیزیولوژی و هیجانی باشد [4]. در مطالعه ای سوتین و همکاران (2010) نشان داده شد که سطوح بالای روان رنجوری و سطوح پایین با وجدان بودن، پیش بینی کننده سطوح بالای شاخص های التهابی IL-6 وCRP است [6]. اوزارا و همکاران(2012) در مطالعه خود نشان داند که لنفوسیت B توسط پنج عامل شخصیت پیش بینی می شود [7].

تفاوت های شخصیتی در شیوه ای که افراد به بیماری پاسخ می دهند نیز تأثیر گذار است. به طور مثال فرایند های متفاوت مقابله با استرس، جستجوی خدمات پزشکی، تبعیت از درمان و از جمله این موارد می باشند. به عنوان مثال افراد با سطوح برون گرایی بالا به احتمال بیشتری حمایت اجتماعی دریافت می کنند [4] افراد با استعداد روان رنجوری هیجانات منفی را تجربه می کنند، دنیا را به صورت منفی می بینند و محرک های مختلف را به صورت منفی ارزیابی می کنند. نوروزگرایی با عادات رفتاری غلط، باورهای بیماری زا و پیش آگهی ضعیف بیماری در ارتباط است [8] .

و نکته سوم این که تفاوت های شخصیتی به طیف وسیعی از رفتارهای مرتبط با سلامت که در بهبود بیماری نقش دارند، منجرمی شود [4]. به عنوان مثال چو و همکاران (2014) در مطالعه ای که روی دانش آموزان کره جنوبی انجام دادند، دریافتند نمرات بالا در برونگرایی، توافق پذیری، باوجدان بودن و انعطاف پذیری با عادتهای غذایی سالم، ارتباط مثبت معنی داری دارد [9].

همچنین در مطالعه ای که توسط متیوس و همکاران (2012) روی جمعیت 18-84 ساله استونیایی انجام شد، مشخص گردید پیروی از الگوی غذایی سالم با ویژگیهای برونگرایی، انعطاف پذیری و باوجدان بودن، رابطه مثبت و با روان رنجوری پایین، رابطه منفی دارد. همچنین بین پیروی از الگوی غذایی سنتی با نمره پایین در انعطافپذیری، ارتباط معنی دار است [10]

نمونه هایی از ارتباط شخصیت با بیماری های جسمی و روان شناختی:

شخصیت و بیماری ام اس:

نتایج پژوهش بندیکت و همکاران (2001) نشان داد که بیماران مبتلا به ام اس در عامل های روان رنجوری، توافق پذیری و با وجدان بودن با افراد سالم تفات معنی داری نشان دادند [11]. درپژوهش مرکرباچ (2003) بیماران مبتلا به ام اس در عامل روان رنجوری نمرات بالا و در عامل برون گرایی نمرات پایین کسب کردند [12]. بروک و همکاران (2011) در پژوهش خود نشان دادند که در بیماران مبتلا به ام اس افسردگی و اضطراب نمایانگرروان رنجوری بیشتر، پائین بودن برون گرایی، با وجدان بودن و انعطاف پذیری، نسبت به جمعیت نرمال می باشند [13].

شخصیت و بیماری قلبی:

مطالعات متعددی بر روی شخصیت و ارتباط آن با بیماری قلبی صورت گرفته است. با وجدان بودن در بسیاری از مطالعات به عنوان یک فاکتور قوی مرتبط با کاهش میزان مرگ و میر کلی و مرگ و میر ناشی از بیماری های قلبی مطرح شده است. در مورد انعطاف پذیری، مطالعات کمتری انجام شده است و احتمالاً باعث کاهش مرگ و میر کلی و مرگ ناشی از بیماری های قلبی می شود. در مورد برون گرایی، در مطالعات نتایج متناقضی ارائه شده است و نقش آن در بروز بیماری های قلبی و مرگ و میر ناشی از آن، نامشخص بیان شده است. روان رنجوری نیز به عنوان یک فاکتور احتمالی افزایش دهنده بیماری های قلبی ذکر شده است [14].

شخصیت و بیماری سرطان:

پژوهشهاي مختلف نشان داده اند که بيماري سرطان با برخي از ويژگي هاي شخصيتي رابطه دارد و شخصيت ممکن است در شکل گيري بروز سرطان تأثير داشته باشد [15].

در پژوهشي که در آن بيماران سرطاني با افراد سالم مقايسه شده بودند گزارش شده است که بيماران سرطاني نمره ي روان رنجوری ودرون گرايي بالايي دارند [16].

در پژوهشي در کشور اندونزي در افرادي که تشخيص سرطان دريافت نموده و تحت شيمي درماني بودند، مشخص شد بين روان رنجوری واحتمال ابتلا به سرطان رابطه ي مثبت و بين برونگرايي وانعطاف پذيري واحتمال ابتلا به سرطان رابطه ي منفي به دست آمد [17].

از طرفي ويژگيهاي شخصيتي پيش بيني کننده ي خوبي براي مدت زنده ماندن فرد پس از عمل در اثر ابتلا به سرطان است که از ميان اين ويژگي ها برون گرايي از قدرت پيش بيني

بیـشتري برخـوردار اسـت [18].

شخصیت و اختلال خوردن:

مشاهدات بالیني و مطالعات روان سنجي ویژگي هاي شخصیتي متفاوت را براي بیماران مبتلا به انواع مختلف اختلالات خوردن تأیید مي کنند. بولن و وجسي چاوسکي (2004) نشان دادند که بیماران مبتلا به بي اشتهایي رواني نوع محدود کننده در مقایسه با نوع پرخوري دوره اي/پاکسازي در دو عامل باوجدان بودن و توافق پذیري به طور معناداري نمرات بالاتري به دست آوردند. همچنین بیماران مبتلا به بي اشتهاي رواني به طور معناداري در مقایسه با گروه بهنجار در عامل روان رنجوری نمرات بالاتري به دست آوردند [19].

نتیجه گیری:

این مقاله پیشنهاد می کند که ما باید شخصیت را نیز در حیطه پزشکی فردی بگنجانیم. تا به امروز تمرکز پزشکی فردی بر اکتشاف مارکرهای زیستی در جهت پیشگیری بیماری ها بوده است. این انتظار می رود که اطلاعات مولکولی افراد در جهت پیش بینی ابتلا افراد به بیماری ها و نحوه پاسخدهی به درمان به زودی فراهم شود. پیچیدگی های ترجمه نشانه های مولکولی به دستورالعمل های کاربری پزشکی، بدین معنی است که این هدف از آنچه انتظار می رود دیرتر به دست خواهد آمد. با این وجود افزودن ویژگی های شخصیت به سیستم مراقبت از بیمار می تواند راهی ارزان و قابل دسترس برای شناسایی جوانانی که نیاز به تغییر سبک زندگی برای پیشگیری از بیماری ها را دارند فراهم کند [4].

منابع

1. Alemi F, Erdman H, Griva I, Evans CH. Improved Statistical Methods are Needed to Advance Personalized Medicine. Open Transl Med J. 2009;1:16-20.
2. Ginsburg GS, McCarthy JJ. Personalized medicine: revolutionizing drug discovery and patient care. Trends Biotechnol. 2001;19(12):491-6.
3. McGorry P, Keshavan M, Goldstone S, Amminger P, Allott K, Berk M, et al. Biomarkers and clinical staging in psychiatry. World Psychiatry. 2014;13(3):211-23.
4. Israel S, Moffitt TE, Belsky DW, Hancox RJ, Poulton R, Roberts B, et al. Translating personality psychology to help personalize preventive medicine for young adult patients. J Pers Soc Psychol. 2014;106(3):484-98.
5. Muris P, Meesters C, Diederen R. Psychometric properties of the Big Five Questionnaire for Children (BFQ-C) in a Dutch sample of young adolescents. Personality and individual differences. 2005;38(8):1757-69.
6. Sutin AR, Terracciano A, Deiana B, Naitza S, Ferrucci L, Uda M, et al. High neuroticism and low conscientiousness are associated with interleukin-6. Psychol Med. 2010;40(9):1485-93.
7. Ozura A, Ihan A, Musek J. Can the big five factors of personality predict lymphocyte counts? Psychiatr Danub. 2012;24(1):66-72.
8. Armon G, Toker S. The role of personality in predicting repeat participation in periodic health screening. J Pers. 2013;81(5):452-64.
9. Cho MS, Kim M, Cho W. Relationships of adolescent's dietary habits with personality traits and food neophobia according to family meal frequency. Nutr Res Pract. 2014;8(4):476-81.
10. Mottus R, Realo A, Allik J, Deary IJ, Esko T, Metspalu A. Personality traits and eating habits in a large sample of Estonians. Health Psychol. 2012;31(6):806-14.
11. Benedict RH, Priore RL, Miller C, Munschauer F, Jacobs L. Personality disorder in multiple sclerosis correlates with cognitive impairment. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 2001;13(1):70-6.
12. Merkelbach S, Konig J, Sittinger H. Personality traits in multiple sclerosis (MS) patients with and without fatigue experience. Acta Neurol Scand. 2003;107(3):195-201.
13. Bruce JM, Lynch SG. Personality traits in multiple sclerosis: association with mood and anxiety disorders. J Psychosom Res. 2011;70(5):479-85.
14. Chapman BP, Roberts B, Duberstein P. Personality and longevity: knowns, unknowns, and implications for public health and personalized medicine. J Aging Res. 2011;2011:759170.
15. R D. [Health psychology]. . Tehran: Samt [Persian]; 1999.
16. Cooper C. Stress, disease and personality: stress research. New York: John Wiley and Sons; 1998.
17. Hali M, Magdalena S. Development of the revised NEO personality inventory for Indonesia: A preliminary study university of Nijmegen. The Netherlands. 2004.
18. Sharma A, Sharp DM, Walker LG, Monson JR. Patient personality predicts postoperative stay after colorectal cancer resection. Colorectal Dis. 2008;10(2):151-6.
19. Bollen E, Wojciechowski FL. Anorexia nervosa subtypes and the big five personality factors. European Eating Disorders Review. 2004;12(2):117-21.

SMARTests®

آزمایشات هوشمند "SMARTests"

اطلاعات بسیاری از قبیل سلامتی در ژن های ما پنهان می باشند که مبحث پزشکی شخصی با بهره گیری از مجموعه آزمایشات هوشمند به اطلاعات سودمندی در مورد بدنمان دسترسی پیدا می کند که به ما کمک می کند شیوه ی صحیحی از سبک زندگی مختص خود را در پیش بگیریم. خدمات آزمایش های هوشمند به صورت منحصربه هر فرد با استفاده از به روز ترین فن آوری ها و روش ها با دقت بسیار بالایی صورت می گیرد. انجام این ازمایش بسیار ساده و بدون درد تنها با چند قطره از خون و یا نمونه ای از بزاق دهانمان قابل انجام است.

مجموعه آزمایشات هوشمند به غربالگری و بررسی مارکرهای مرتبط با داشتن پوستی زیبا، تناسب اندام و سبک زندگی سالم، پیش آگاهی از بیماری هایی که زمینه ابتلاء به آنان در ما وجود دارد و تشخیص بسیاری از اختلالات چند عاملی ژنتیکی، سلامت فرزندان نسل آینده، داروهایی تاثیر گذار و حتی خطرناک برای هر فرد می باشد

همچنین تغذیه و ورزش متناسب و بسیاری اطلاعات مهم مرتبط با سلامتی ما اکنون با انجام این آزمایش در دسترس می باشد.

- آزمایش هوشمند- پوست
- آزمایش هوشمند - تغذیه و تناسب اندام
- آزمایش هوشمند- تندرستی
- آزمایش هوشمند -کودک
- آزمایش هوشمند- سرطان
- آزمایش هوشمند- واکنش دارویی
- آزمایش هوشمند- دیابت
- آزمایش هوشمند- ناباروری و نازایی
- آزمایش هوشمند- سقط مکرر
- آزمایش هوشمند- HLA

It's time to know more about your Health

برای اطلاعات بیشتر لطفا با ما تماس بگیرید

Email: info@Smartests.ir
Tel: +۹۸(۲۱)۸۸۹۸۵۲۹۱-۳
Tel: +۹۸(۲۱)۶۶۴۰۵۰۴۰
Fax: +۹۸(۲۱)۸۸۹۵۵۲۰۵

www.SMARTests.ir

trends in the oncology have led to a proliferation of studies support the concept that finding a miRNA, or a panel of miRNAs which are useful simultaneously to diagnose, predict outcome, treat, and monitor treatment response will be a great achievement (Goretti et al., 2014). Early diagnosis of patients with developing CRC, and who would mostly benefit from aggressive therapy would be a great advance. Novel test for detection of miRNA may help in the early detection of tumor progression and response to treatment. This research has thrown up many questions in need of further investigation. Recent developments in molecular diagnostic test essentially are need to early detection and personalization treatment and will be basic for improving the treatment in the next years.

References

AHMED, F. E., AMED, N. C., VOS, P. W., BONNERUP, C., ATKINS, J. N., CASEY, M., NUOVO, G. J., NAZIRI, W., WILEY, J. E. & ALLISON, R. R. 2012. Diagnostic microRNA markers to screen for sporadic human colon cancer in blood. Cancer Genomics-Proteomics, 9, 179-192.

ARROYO, J. D., CHEVILLET, J. R., KROH, E. M., RUF, I. K., PRITCHARD, C. C., GIBSON, D. F., MITCHELL, P. S., BENNETT, C. F., POGOSOVA-AGADJANYAN, E. L. & STIREWALT, D. L. 2011. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. Proceedings of the National Academy of Sciences, 108, 5003-5008.

ASANGANI, I., RASHEED, S., NIKOLOVA, D., LEUPOLD, J., COLBURN, N., POST, S. & ALLGAYER, H. 2008. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pdcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. Oncogene, 27, 2128-2136.

BAKER, M. 2010. MicroRNA profiling: separating signal from noise. Nature methods, 7, 687-692.

BARTEL, D. P. 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. cell, 116, 281-297.

BRUUN, J., EIDE, P. W., KRYEZIU, K., SVEEN, A., MURUMäGI, A., KOLBERG, M., ARJAMA, M., KALLIONIEMI, O. & LOTHE, R. A. 2017. Pharmacogenomic profiling to identify novel therapeutic strategies in colorectal cancer. AACR.

CARTER, J. V., GALBRAITH, N. J., YANG, D., BURTON, J. F., WALKER, S. P. & GALANDIUK, S. 2017. Blood based microRNAs as biomarkers for the diagnosis of colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. British Journal of Cancer.

CHANG, P. Y., CHEN, C. C., CHANG, Y. S., TSAI, W. S., YOU, J. F., LIN, G. P., CHEN, T. W., CHEN, J. S. & CHAN, E. C. 2016. MicroRNA-223 and microRNA-92a in stool and plasma samples act as complementary biomarkers to increase colorectal cancer detection. Oncotarget, 7, 10663-75.

DONG, Y., WU, W., WU, C., SUNG, J., YU, J. & NG, S. 2011. MicroRNA dysregulation in colorectal cancer: a clinical perspective. British journal of cancer, 104, 893-898.

FANG, Z., TANG, J., BAI, Y., LIN, H., YOU, H., JIN, H., LIN, L., YOU, P., LI, J. & DAI, Z. 2015. Plasma levels of microRNA-24, microRNA-320a, and microRNA-423-5p are potential biomarkers for colorectal carcinoma. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 34, 86.

GONZALEZ DE CASTRO, D., CLARKE, P., AL-LAZIKANI, B. & WORKMAN, P. 2013. Personalized cancer medicine: molecular diagnostics, predictive biomarkers, and drug resistance. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 93, 252-259.

GORETTI, E., WAGNER, D. R. & DEVAUX, Y. 2014. miRNAs as biomarkers of myocardial infarction: a step forward towards personalized medicine? Trends in molecular medicine, 20, 716-725.

GRULLICH, C. & VON KALLE, C. 2012. Recent developments and future perspectives of personalized oncology. Oncology Research and Treatment, 35, 4-7.

HRAŠOVEC, S. & GLAVAČ, D. 2012. MicroRNAs as novel biomarkers in colorectal cancer. Frontiers in genetics, 3.

HUANG, Z., HUANG, D., NI, S., PENG, Z., SHENG, W. & DU, X. 2010. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. International journal of cancer, 127, 118-126.

JIANG, J.-X., ZHANG, N., LIU, Z.-M. & WANG, Y.-Y. 2014. Detection of microRNA-21 expression as a potential screening biomarker for colorectal cancer: a meta-analysis. Asian Pac J Cancer Prev, 15, 7583-7588.

JUNG, K.-W., WON, Y.-J., OH, C.-M., KONG, H.-J., LEE, D. H. & LEE, K. H. 2017. Cancer statistics in Korea: incidence, mortality, survival, and prevalence in 2014. Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association, 49, 292.

KALIA, M. 2015. Biomarkers for personalized oncology: recent advances and future challenges. Metabolism, 64, S16-S21.

KALIMUTHO, M., DEL VECCHIO BLANCO, G., DI CECILIA, S., SILERI, P., CRETELLA, M., PALLONE, F., FEDERICI, G. & BERNARDINI, S. 2011. Differential expression of miR-144* as a novel fecal-based diagnostic marker for colorectal cancer. J Gastroenterol, 46, 1391-402.

KANAAN, Z., RAI, S. N., EICHENBERGER, M. R., ROBERTS, H., KESKEY, B., PAN, J. & GALANDIUK, S. 2012. Plasma miR 21: a potential diagnostic marker of colorectal cancer. Annals of surgery, 256, 544-551.

KAWAMURA, M., TOIYAMA, Y., TANAKA, K., INOUE, Y., MOHRI, Y. & KUSUNOKI, M. 2014. Can Circulating MicroRNAs Become the Test of Choice for Colorectal Cancer? Current Colorectal Cancer Reports, 10, 403-410.

KOGA, Y., YASUNAGA, M., TAKAHASHI, A., KURODA, J., MORIYA, Y., AKASU, T., FUJITA, S., YAMAMOTO, S., BABA, H. & MATSUMURA, Y. 2010. MicroRNA expression profiling of exfoliated colonocytes isolated from feces for colorectal cancer screening. Cancer prevention research, 3, 1435-1442.

LAWRIE, C. H., GAL, S., DUNLOP, H. M., PUSHKARAN, B., LIGGINS, A. P., PULFORD, K., BANHAM, A. H., PEZZELLA, F., BOULTWOOD, J. & WAINSCOAT, J. S. 2008. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. British journal of haematology, 141, 672-675.

LEE, J. K., LEVIN, T. R. & CORLEY, D. A. 2013. The road ahead: what if gastroenterologists were accountable for preventing colorectal cancer? Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association, 11, 204.

LEIVA, A., ESTEVA, M., LLOBERA, J., MACIA, F., PITA-FERNáNDEZ, S., GONZáLEZ-LUJáN, L., SáNCHEZ-CALAVERA, M. A. & RAMOS, M. 2017. Time to diagnosis and stage of symptomatic colorectal cancer determined by three different sources of information: A population based retrospective study. Cancer Epidemiology, 47, 48-55.

LOCKER, G. Y., HAMILTON, S., HARRIS, J., JESSUP, J. M., KEMENY, N., MACDONALD, J. S., SOMERFIELD, M. R., HAYES, D. F. & BAST JR, R. C. 2006. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. Journal of Clinical Oncology, 24, 5313-5327.

LU, J., GETZ, G. & MISKA, E. 2005. varez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR. Golub TR.

MASUDA, T., HAYASHI, N., KURODA, Y., ITO, S., EGUCHI, H. & MIMORI, K. 2017. MicroRNAs as biomarkers in colorectal cancer. Cancers, 9, 124.

MICHAEL, M. Z., O'CONNOR, S. M., VAN HOLST PELLEKAAN, N. G., YOUNG, G. P. & JAMES, R. J. 2003. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. Molecular cancer research, 1, 882-891.

MITCHELL, E., MACDONALD, S., CAMPBELL, N., WELLER, D. & MACLEOD, U. 2008a. Influences on pre-hospital delay in the diagnosis of colorectal cancer: a systematic review. British journal of cancer, 98, 60.

MITCHELL, P. S., PARKIN, R. K., KROH, E. M., FRITZ, B. R., WYMAN, S. K., POGOSOVA-AGADJANYAN, E. L., PETERSON, A., NOTEBOOM, J., O'BRIANT, K. C. & ALLEN, A. 2008b. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105, 10513-10518.

NALEJSKA, E., MĄCZYNSKA, E. & LEWANDOWSKA, M. A. 2014. Prognostic and predictive biomarkers: tools in personalized oncology. Molecular diagnosis & therapy, 18, 273-284.

NG, E. K., CHONG, W. W., LAM, E. K., SHIN, V. Y., YU, J., POON, T. C., NG, S. S. & SUNG, J. J. 2009. Differential expression of microRNAs in plasma of colorectal cancer patients: a potential marker for colorectal cancer screening. Gut.

ØROM, U. A., NIELSEN, F. C. & LUND, A. H. 2008. MicroRNA-10a binds the 5′ UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation. Molecular cell, 30, 460-471.

PAN, C., YAN, X., LI, H., HUANG, L., YIN, M., YANG, Y., GAO, R., HONG, L., MA, Y. & SHI, C. 2017. Systematic literature review and clinical validation of circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for colorectal cancer. Oncotarget, 8, 68317.

PENG, Q., ZHANG, X., MIN, M., ZOU, L., SHEN, P. & ZHU, Y. 2017. The clinical role of microRNA-21 as a promising biomarker in the diagnosis and prognosis of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget, 8, 44893.

REN, A., DONG, Y., TSOI, H. & YU, J. 2015. Detection of miRNA as non-invasive biomarkers of colorectal cancer. International journal of molecular sciences, 16, 2810-2823.

SADANANDAM, A., LYSSIOTIS, C. A., HOMICSKO, K., COLLISSON, E. A., GIBB, W. J., WULLSCHLEGER, S., OSTOS, L. C. G., LANNON, W. A., GROTZINGER, C. & DEL RIO, M. 2013. A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. Nature medicine, 19, 619-625.

SAQUIB, N., SAQUIB, J. & IOANNIDIS, J. P. 2015. Does screening for disease save lives in asymptomatic adults? Systematic review of meta-analyses and randomized trials. International journal of epidemiology, 44, 264-277.

SCHETTER, A. J., LEUNG, S. Y., SOHN, J. J., ZANETTI, K. A., BOWMAN, E. D., YANAIHARA, N., YUEN, S. T., CHAN, T. L., KWONG, D. L. & AU, G. K. 2008. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. Jama, 299, 425-436.

SCHILSKY, R. L. 2010. Personalized medicine in oncology: the future is now. Nature reviews. Drug discovery, 9, 363.

SIEGEL, R., DESANTIS, C. & JEMAL, A. 2014a. Colorectal cancer statistics, 2014. CA: a cancer journal for clinicians, 64, 104-117.

SIEGEL, R., MA, J., ZOU, Z. & JEMAL, A. 2014b. Cancer statistics, 2014. CA: a cancer journal for clinicians, 64, 9-29.

TAY, Y., ZHANG, J., THOMSON, A. M., LIM, B. & RIGOUTSOS, I. 2008. MicroRNAs to Nanog, Oct4 and Sox2 coding regions modulate embryonic stem cell differentiation. Nature, 455, 1124.

THOMAS, J., OHTSUKA, M., PICHLER, M. & LING, H. 2015. MicroRNAs: clinical relevance in colorectal cancer. International journal of molecular sciences, 16, 28063-28076.

VOGELSTEIN, B., CUMMINS, J. & HE, Y. 2006. The colorectal microR-NAome. P Natl Acad Sci USA, 103, 3687-3692.

WANG, Q., HUANG, Z., NI, S., XIAO, X., XU, Q., WANG, L., HUANG, D., TAN, C., SHENG, W. & DU, X. 2012. Plasma miR-601 and miR-760 are novel biomarkers for the early detection of colorectal cancer. PloS one, 7, e44398.

WANG, S. & YUAN, L. 2016. Predictive biomarkers for targeted and cytotoxic agents in gastric cancer for personalized medicine. Bioscience trends, 10, 171-180.

WU, C. W., NG, S. C., DONG, Y., TIAN, L., NG, S. S., LEUNG, W. W., LAW, W. T., YAU, T. O., CHAN, F. K., SUNG, J. J. & YU, J. 2014a. Identification of microRNA-135b in stool as a potential noninvasive biomarker for colorectal cancer and adenoma. Clin Cancer Res, 20, 2994-3002.

WU, C. W., NG, S. C., DONG, Y., TIAN, L., NG, S. S. M., LEUNG, W. W., LAW, W. T., YAU, T. O., CHAN, F. K. L. & SUNG, J. J. Y. 2014b. Identification of microRNA-135b in stool as a potential noninvasive biomarker for colorectal cancer and adenoma. Clinical cancer research, 20, 2994-3002.

WU, C. W., NG, S. S., DONG, Y. J., NG, S. C., LEUNG, W. W., LEE, C. W., WONG, Y. N., CHAN, F. K., YU, J. & SUNG, J. J. 2012. Detection of miR-92a and miR-21 in stool samples as potential screening biomarkers for colorectal cancer and polyps. Gut, 61, 739-45.

XIA, X., YANG, B., ZHAI, X., LIU, X., SHEN, K., WU, Z. & CAI, J. 2013. Prognostic role of microRNA-21 in colorectal cancer: a meta-analysis. PloS one, 8, e80426.

YAU, T. O., WU, C. W., DONG, Y., TANG, C. M., NG, S. S., CHAN, F. K., SUNG, J. J. & YU, J. 2014. microRNA-221 and microRNA-18a identification in stool as potential biomarkers for the non-invasive diagnosis of colorectal carcinoma. Br J Cancer, 111, 1765-71.

YU, J., JIN, L., JIANG, L., GAO, L., ZHOU, J., HU, Y., LI, W., ZHI, Q. & ZHU, X. 2016a. Serum miR-372 is a diagnostic and prognostic biomarker in patients with early colorectal cancer. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents), 16, 424-431.

YU, W., WANG, Z., SHEN, L. & WEI, Q. 2016b. Circulating microRNA-21 as a potential diagnostic marker for colorectal cancer: A meta-analysis. Molecular and clinical oncology, 4, 237-244.

ZHANG, G.-J., ZHOU, T., LIU, Z.-L., TIAN, H.-P. & XIA, S.-S. 2013. Plasma miR-200c and miR-18a as potential biomarkers for the detection of colorectal carcinoma. Molecular and clinical oncology, 1, 379-384.

ZHANG, L., HUANG, J., YANG, N., GRESHOCK, J., MEGRAW, M. S., GIANNAKAKIS, A., LIANG, S., NAYLOR, T. L., BARCHETTI, A. & WARD, M. R. 2006. microRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103, 9136-9141.

ZHU, Y., XU, A., LI, J., FU, J., WANG, G., YANG, Y., CUI, L. & SUN, J. 2016. Fecal miR-29a and miR-224 as the noninvasive biomarkers for colorectal cancer. Cancer Biomark, 16, 259-64.

and the discovery of molecular biomarkers have led to a renewed interest in cancer prediction.

In recent years, a large number of studies has investigated microRNA potential as a novel biomarker for the detection of CRC due to miRNAs important role in the gene expression of cancer (Hrašovec and Glavač, 2012). Therefore it seem to be good candidates as diagnostic biomarkers. detection of miRNA based on Nucleotide sequence have been possible by costly techniques such as northern blot, in situ hybridization, microarray, and next-generation sequencing (NGS). quantitative real-time PCR (qPCR) currently is most common and Cheaper technique to detect and profile miRNAs (Baker, 2010).but currently the main problem to quantify miRNA is lack of Shared opinion on an appropriate reference gene. This has become the biggest obstacle for use of miRNA in clinical utility(Kawamura et al., 2014).but miRNA-based biomarkers because of high sensitivity and specificity then any blood-based biomarkers such as carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) for a CRC-specific screening test , It still has also received special attention (Lawrie et al., 2008, Locker et al., 2006). In samples taken from blood there are several benefits such stable against high activity of ribonuclease in blood, Low sample size approx less than 2 mL, stability for transportation blood samples in ice packs . These factors make circulatory miRNAs a promising new tool for the development of a noninvasive screening test (Ahmed et al., 2012).

To date, various stool-based miRNA screening methods have been developed and introduced to diagnosing of early stage CRC or pre-neoplastic lesions such as Faecal Occult Blood Tests (FOBTs) and the fecal immunochemical test (FIT). FIT is widely available and has been used for detection of blood in the stool as an early sign of colon cancer. Because of miRNAs packaging in exosomes they are more stable in the environment of stool than that of blood (Dong et al., 2011). Fecal matter Exposure to lumen of the colon leads to carrying cells exfoliated from malignant colonocytes. Considering all of this evidence, it speculate that earliest detectable molecular changes caused by CRC rather than blood are present in stool. The main disadvantage of FOBTs is low sensitivity and specificity but FITs suffer from low sensitivity and the major limitation of this test is detection of hidden blood only from the lower intestines.

previous research has reported that circulatory and fecal miRNAs expression level has found to dysregulated in patients with CRC .It has been shown that miR-135b to be able to differentiate various stages of tumor in CRC (Wu et al., 2014b). In recent years, the main challenge faced by many experiments is the sensitivity and specificity differentiation and Repeatability of test. Recent developments in the field of bioinformatics have led to a renewed interest in the creation of gene expression data bases for instance In Japan, the New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO;http://www.nedo.go.jp/english/index.html) Created a database of miR expression of various body fluid and tissue in CRC .

Conclusion

The purpose of this study was to determine the current state of our knowledge of miRNA-based biomarkers and their predictive test potential in colorectal cancer that lead to the choice of the most suitable therapy and early detection for individual patients with CRC. Returning to the miRNA diagnostic value posed at the beginning of this study, it is now possible to state that, although miRNAs are detectable in the stool and blood samples rapidly in early stage of CRC, but the generalizability of these results is subject to certain limitations. For instance low sensitivity and specificity of screening test, and Repeatability of test. A considerable amount of literature has been published about different miRNAs as potential biomarker for diagnosis of CRC. These studies suggested that miRNAs have the potential for use as non-invasive, inexpensive, blood-based or stool-based biomarker for detection of CRC (Carter et al., 2017). However, Future studies on the current topic are therefore needed to establishing the utility of miRNAs as prognostic biomarkers in CRC. More research needs to be undertaken before the predictive miRNA-based screening test before it is prescribed for different population and stage of Patient with CRC. Further studies, will have to systematically take the variables such Sensitivity, specificity and the impact of comorbidities of tests, and will need to be undertaken. Despite the importance of miRNAs diagnostic value, there remains a paucity of evidence on clinical application of miRNAs as CRC biomarkers yet. Despite these promising results for use of miRNAs for personalized healthcare in CRC, questions remain that will have to be answered before to be used for clinical application. Recent

However, much of the research up to now have documented 5 circulating miRNAs received significantly attention including : miR-15b, miR-17, miR-21, miR-26b, and miR-145 but Among them miR-21 and miR-26b have demonstrated that have the most diagnostic value (Pan et al., 2017).

A considerable amount of literature has been published on miR-21. These studies have reported miR-21 to induce cell proliferation and down regulate tumor-suppressor genes (Asangani et al., 2008). In an systematic review and meta-analysis conducted by Carter (2017), 33 miRNA was reported to have diagnosis value for colorectal cancer in the plasma and serum of patients with CRC. For instance, miR-18a , miR-21 , miR-92, miR-92a , miR-372 , miR-24 , miR-320a , miR-423-5p , miR-760 have reported to have the highest sensitivity and specificity as blood-serum based biomarker of colorectal cancer (Carter et al., 2017). Fang et al. identified miR-24 in plasma as novel biomarkers for early stage of CRC detection (Fang et al., 2015).

Another study conducted by Takaaki Masuda and colleagues (2017), it was shown that 10 miRNA have been reported in the stools of patients with CRC and among them miR-21 Has attracted the most attention (Masuda et al., 2017). A growing body of study has investigated and reported deregulation of miR-21 on numerous cancers and Most meta-analyses focused on the miR-21 as a potential biomarker in the diagnosis or prognosis of CRC (Yu et al., 2016b, Xia et al., 2013). Other studies indicate that miR-21 has prognosis value in serum, plasma, stool(Koga et al., 2010) ,and tissue(Peng et al., 2017) therefor have been suggested that it to be a prognostic biomarker for colorectal cancer.

However, in addition to the promise of miRNAs for detection of CRC, There is still considerable ambiguity with regard to obtaining and handling the samples. Further investigations are needed to solve these plethora of pitfalls.

miRNAs and personalized medicine

Personalized medicine a form of medicine that uses information about individual's genetic profile proteins and environment to prevention, diagnosis, and treatment of disease' (Siegel et al., 2014b, Kalia, 2015). By the Personalized medicine Boundaries of concepts and definitions in oncology has been changed because of Personalized medicine basis that related to understanding molecular carcinogenesis, pharmacogenomics, and individual genetic (Grüllich and von Kalle, 2012, Nalejska et al., 2014). Over the past decade, Impressive advances in personalized medicine have been achieved in biomedical domains, especially in oncology. In colorectal cancer, miRNA potential and application for personalized medicine has remained still in a gestation stage.

Colorectal cancer the third most common cancer worldwide with an estimated 50,310 deaths from colon cancer in 2014 ,but incidence rate of colon cancer has been declined for the past two years due to betterment in screening tests by prognostic biomarkers that allow for the early detection and removal of colorectal polyps (Kalia, 2015). According to past studies presented here, it is reasonable to believe that miRNAs can have potential clinical applications and may help in the early detection of colorectal cancer patients.

MiRNAs can be useful for personalized medicine not only in screening and treatment strategy to the individual patient, but also in improvement of treatment prognosis and mortality rate of CRC. One of the personalized medicine' goal is high-risk patients identification who would benefit most from aggressive treatment and medication .miRNAs have potential to predict patients at high risk and outcome of patient treatment therefore miRNAs may be used both as prognostic biomarkers and therapeutic agents. MiRNA expression Changes may also be indicative in the blood/serum and stool levels of miRNAs of patients who would benefit from treatments.

Development of CRC screening tests Using miRNAs

Previous study demonstrated that screening tests Such as fecal occult blood testing and flexible sigmoidoscopy, guaiac-based fecal occult blood tests (FOBT), and fecal immunochemical tests (FIT) reduces disease-specific morbidity and mortality in CRC. CRC screening tests is widely available with various programs across countries (Saquib et al., 2015). based on the currently evidence, colonoscopy is the gold standard tool of screening with a high sensitivity and specificity, but not considered cheap or easily affordable to the general Population because it has been limited by Some reasons such lack of accessibility, limitations of test performance, and full bowel preparation and sedation, and market forces may impact this Practice (Lee et al., 2013). However, more research on this topic needs to be undertaken before developing low-cost, noninvasive screening test with high sensitivity and specificity. Recent developments in the field of molecular techniques

KRAS: Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog; EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor; RAF1: Raf-1 Proto-Oncogene; TAF12: TAF12 RNA Polymerase II, TATA Box Binding Protein (TBP)-Associated Factor, 20 kDa; PTP4A1: Protein Tyrosine Phosphatase Type IVA, Member 1; CHFR: Checkpoint With Forkhead And Ring Finger Domains; ALS2CR2: STE20-Related Kinase Adaptor Beta; VEGFC: Vascular Endothelial Growth Factor C; SIRT1: Sirtuin 1; SPHK1: Sphingosine Kinase 1; VEGFA: Vascular Endothelial Growth Factor A; IGF1R: Insulin-Like Growth Factor 1 Receptor; MTOR: Mechanistic Target Of Rapamycin; IRS1: Insulin Receptor Substrate 1; NRAS: Neuroblastoma RAS Viral (V-Ras) Oncogene Homolog; AKT2: V-Akt Murine Thymoma Viral Oncogene Homolog 2; BCL2: B-Cell CLL/Lymphoma 2; CTNNB1: Catenin(Cadherin-Associated Protein), Beta 1, 88kDa; CCND1: Cyclin D1; BCLXL: BCL2-Like 1.

miRNAs as diagnostic biomarkers of CRC

invasive tests such colonoscopy are one of the most widely used screening test and have been extensively used for colorectal cancer diagnosis,but by expanding molecular techniques, extensive research has been done on diagnostic biomarkers. Unfortunately the main challenge faced by invasive tests is non-admittance of endoscopic techniques therefor in some cases with CRC are diagnosed mostly after presentation with symptoms. Following the discovery of miRNAs in the bloodstream and fecal, miRNAs expression profiling have proven that miRNA expression levels in CRC tissue have changed significantly in comparison to normal colorectal epithelium (Schetter et al., 2008).

A considerable amount of literature has been published to suggest miRNA as biomarkers for the diagnosis of colorectal cancer. Thus far, previous studies have revealed a correlation between miRNA expression change and tumor genesis in the many human cancers (Zhang et al., 2006).It has conclusively been shown that the expression of miRNAs is regulated in the CRC tissue (Thomas et al., 2015). These observations indicate that miRNAs may be early indicators of colorectal cancer.

Together these studies provide very encouraging results, suggesting that circulating miRNAs may contributed a novel class of colorectal cancer biomarkers (Pan et al., 2017). Michael and colleague list miR-145 and miR-143 expression has down-regulated at the adenomatous and cancerous tissue of colorectal cancer.

Over the past decade with a rapid development of high throughput teqniques in many trends, miRNA expression levels profiles revealed that over 50 differentially expressed miRNAs Were identified in blood and stool samples (Vogelstein et al., 2006). contrary to the blood-based biomarkers such as carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) and carcinoembryonic antigen (CEA), miRNAs are stable in blood against ribonuclease degrading with most high sensitivity and specificity (Locker et al., 2006). miRNA as an biomarker have fundamental property include:Low volume needed sample, protection against degradation in blood due to packing in exosomes or vesicles, or binding to proteins/ lipoproteins (Arroyo et al., 2011), Capability of samples to hold on ice for transportation(Ahmed et al., 2012)that make it a novel promising tool for the development of a noninvasive screening test. Thus far, large number of miRNA have been demonstrated to implicate in connection with CRC, only miRNA with the highest specificity and sensitivity are shown in (Table 1).

Table -1.Significantly miRNAs as predictive biomarker

microRNA	*Expression*	*Sensitivity*	*Specificity*	*References*
miR-18a	↑	73.1%	79.1%	*(Zhang et al., 2013)*
miR-21 %	↑	90%	90%	*(Kanaan et al., 2012)*
miR-92	↑	89%	70%	*(Ng et al., 2009)*
miR-92a	-	84%	71.2%	*(Huang et al., 2010)*
miR-372	↑	81.9%	73.3%	*(Yu et al., 2016a)*
miR-24	↓	78.38%	83.85%	*(Fang et al., 2015)*
miR-320a	↓	92.79%	73.08%	*(Fang et al., 2015)*
miR-423-5p	↓	91.89%	70.77%	*(Fang et al., 2015)*
miR-760	↓	80%	72.4%	*(Wang et al., 2012)*
miR-17-92 cluster	↑	74.1%	79.0%	*(Koga et al., 2010)*
miR-20a	↑	55%	82%	*(Yau et al., 2014)*
miR-21	↑	57%	87%	*(Jiang et al., 2014)*
miR-135	↑	78%	68 %	*(Wu et al., 2012)*
miR-144	↑	74%	87%	*(Kalimutho et al., 2011)*
miR-29a	↓	□	□	*(Zhu et al., 2016)*
miR-223	↑	96.8%	75%	*(Chang et al., 2016)*
miR-92a	↑	71.6%	73.3%	*(Wu et al., 2014a)*

present and diagnosed in advanced stage, therefore surgery , chemotherapy and radiotherapy leads to poor outcomes (Mitchell et al., 2008a). Factors such as stage, phenotype, genotype, and characteristics of the tumor founded to be influencing the treatment and prognosis of CRC have been reported in Previous studies.(Wang and Yuan, 2016). Due to differences in phenotype and genotype and stage of cancer in different patients, a therapeutic approach may lead to different responses. treatment may be suboptimal and inefficacious for Some patients (Sadanandam et al., 2013). Considerable progress has been made with regard to the field of personalized medicine in Patients with colorectal cancer in the last decade ,but There is abundant room for further progress in determining the miRNA as biomarker for early detection of CRC (Gonzalez de Castro et al., 2013).by the predictive biomarkers in personalized medicine it may be possible to remove ineffective treatments and select effective therapies that the tumor is likely to respond (Schilsky, 2010).early Detection of precancerous lesions and monitoring its recurrence by the prognostic biomarkers led to reduction of mortality or CRC-related deaths by removal of early-stage cancer(Huang et al., 2010). Much work on the potential of miRNA has been carried out ,but miRNAs have potential as biomarkers because of their stability , specificy by tissue in colorectal cancer, and there are still some critical issues(Mitchell et al., 2008b, Lu et al., 2005). There would therefore seem to be a definite need for personalized medicine according to prognostic biomarkers urgently to optimize patient selection and maximize quality of treatment. The purpose of this paper is to provide an overview of current state of our knowledge of miRNA-based biomarkers and their predictive test potential as promising tools in colorectal cancer to move personalized medicine a step forward.

MiRNAs in colorectal cancer

The first serious discussions and analyses of miRNA emerged about 20 years ago, it was found that some of the genome components that had been considered nonfunctional had gene regulatory potential. A common view amongst interviewees was that miRNAs are small noncoding RNAs 18–22 nucleotides long that are able to post-transcriptionally regulate gene expression (Bartel, 2004). MiRNAs bind the 30 untranslated region (UTR) of mRNA targets and inhibit their translation or induce their degradation. miRNAs can less frequently bind the 5`UTR instead of the 3`UTR of target mRNAs(Bartel, 2004), and also may bind to the coding region of a mRNA target (Tay et al., 2008). Until recently, more than 2500 human mature miRNAs have been identified (http://www.mirbase.org) (Ørom et al., 2008). MiRNAs plays a vital role in the regulation of gene expression in the healthy tissue of colon and rectum. Notwithstanding the fact that miRNAs may have tumor-suppressive or oncogenic role, their disregulation can lead to cancer formation .up regulation of some oncogenes and down regulation of important tumor suppressor genes Leads to benign adenoma or polyp Progression to malignant carcinoma (Michael et al., 2003). MiRNAs are associated with CRC As shown in (Figure 1).

Figure 1-miRNAs are associated with CRC

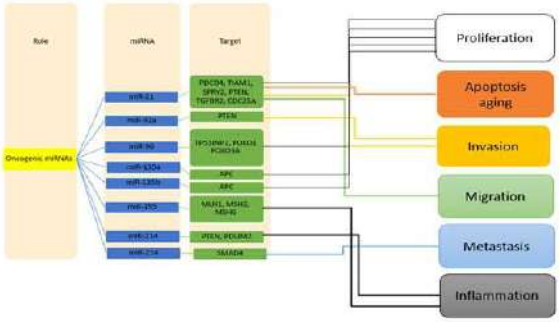
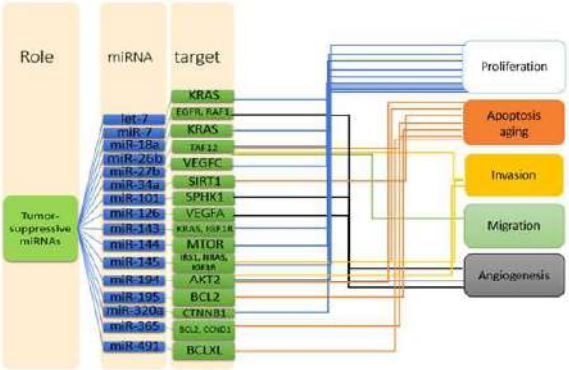


Figure 1. PDCD4: programmed Cell Death 4; TIAM1: T-Cell Lymphoma Invasion And Metastasis 1; SPRY2: Sprouty Homolog 2; PTEN: Phosphatase And Tensin Homolog; TGFBR2: Transforming Growth Factor, Beta Receptor II; CDC25A: Cell Division Cycle 25A; TP53INP1: Tumor Protein P53 Inducible Nuclear Protein 1; FOXO1: Forkhead Box O1; FOXO3A: Forkhead Box O3; APC: Adenomatous Polyposis Coli; MLH1: MutL Homolog 1; MSH2: MutS Homolog 2; MSH6: MutS Homolog 6; PDLIM2: PDZ And LIM Domain 2; SMAD4: SMAD Family Member 4



miRNA potential as Biomarkers for personalized medicine of CRC: a review of recent advances and future challenges

Hadi Bamehr

Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Corresponding author E-mail : **hbamehr@yahoo.com**

Hadi Bamehr

Key words

MiRNA, Biomarker, Colorectal cancer, personalized medicine.

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is a major health problem ranking as the third most common cause of cancer-related deaths worldwide. Despite the progress that has been made towards the Therapeutic methods such surgery ,chemotherapy ,and radiotherapy treatment outcomes is poor, and CRC is still remind as a deadly disease Due to its asymptomatic nature until the latter stages. Thus, the main challenge faced by many researchers is the early detection of CRC. The last two decades have seen a growing trend towards personalized medicine and provided important insights into the use of bio signatures to guide diagnosis and treatment, and to inform about treatment outcome. In personalized medicine, predictive biomarkers are helpful to better prognosis and treatment responses depend on phenotype, genotype, and the stage of the tumor. Therefore, according to the evidences a shift has been made in treatment strategy from a clinical-pathological profile to biomarker driven treatment algorithm. Over the past decade, most research reported miRNAs as key point in carcinogenesis which dysregulated in many cancers including CRC. In this investigation, the aim was to assess an overview of potential predictive biomarkers in CRC as well as current acknowledgment to use them for personalized medicine of CRC.

Introduction

Colorectal cancer (CRC) currently is ranking as the fourth most common cause of cancer-related deaths in the world and a major public health problem(Siegel et al., 2014a) (Bruun et al., 2017). mortality rate of colorectal cancer is over 600,000 deaths worldwide ,and more than 1.2 million new cases per year (Ren et al., 2015). Despite Considerable progress has been made in surgical methods, diagnostic techniques, and chemotherapy regimens, CRC is such a deadly disease worldwide. Because of the asymptomatic nature of CRC led to Referral to therapeutic systems at the latter stages and oftentimes in metastatic stages. the five year relative survival rates in cancer of colon and rectum are respectively 57% and 55.8% (Jung et al., 2017). Unfortunately patients with CRC are diagnosed Mostly after presentation with symptoms(Leiva et al., 2017) . Therefore considerably more work will need to be done to find a solution for early detection and treatment of patients with CRC. Surgical resection is one of the best way for curative therapy, but mostly patients

Conflicts of interest.—The authors certify that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.
Compliance with Ethical Requirements-TheThis article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors
Informed consent- For this type of study informed consent is not required

References

1. Van Belle TL, Coppieters KT, Von Herrath MG. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. Physiological reviews. 2011; 91(1): 79-118.
2. Federation. ID. IDF Diabetes Atlas. . 6th ed. ed: Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; . 2013.
3. Craig ME, Hattersley A, Donaghue KC. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. Pediatric diabetes. 2009; 10(s12): 3-12.
4. Chiang JL, Kirkman MS, Laffel LM, Peters AL. Type 1 diabetes through the life span: a position statement of the American Diabetes Association. Diabetes care. 2014; 37(7): 2034-54.
5. Lawrence JM, Imperatore G, Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Linder B, Saydah S, et al. Trends in incidence of type 1 diabetes among non-Hispanicwhite youth in the United States, 2002-2009. Diabetes. 2014: DB_131891.
6. Vermeulen I, Weets I, Asanghanwa M, Ruige J, Van Gaal L, Mathieu C, et al. Contribution of antibodies against IA-2β and zinc transporter 8 to classification of diabetes diagnosedunder 40 years of age. Diabetes Care. 2011; 34(8): 1760-5.
7. Couper J, Donaghue KC. Phases of diabetes in children and adolescents. Pediatric Diabetes. 2009; 10(s12): 13-6.
8. Wilkin T. The accelerator hypothesis: a review of the evidence for insulin resistance as the basis for type I as well as type II diabetes. International Journal of obesity. 2009, 33(7). 716-26.
9. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care. 2014; 37(Supplement 1): S81-S90.
10. Ferreira RC, GuoH, Coulson RM, Smyth DJ, Pekalski ML, Burren OS, et al. A type I interferon transcriptional signature precedes autoimmunity in children genetically at-risk of type 1 diabetes. Diabetes. 2014: DB_131777.
11. Stene LC, Oikarinen S, Hyöty H, Barriga KJ, Norris JM, Klingensmith G, et al. Enterovirus infection and progression from islet autoimmunity to type 1 diabetes. Diabetes. 2010; 59(12): 3174-80.
12. Yeung W-CG, Rawlinson WD, Craig ME. Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic reviewand meta-analysis of observational molecular studies. Bmj. 2011; 342: d35.
13. Ginsberg-Fellner F, Witt ME, Fedun B, Taub F, Dobersen MJ, McEvoy RC, et al. Diabetes mellitus and autoimmunity in patients with the congenital rubella syndrome. Review of Infectious Diseases. 1985; 7(Supplement 1): S170-S6.
14. McIntosh E, Menser M. A fifty-year follow-up of congenital rubella. The Lancet. 1992; 340(8816): 414-5.
15. Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin M-R, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. The Lancet. 2001; 358(9292): 1500-3.
16. Qu H-Q, Montpetit A, Ge B, Hudson TJ, Polychronakos C. Toward further mapping of the association between the IL2RA locus and type 1 diabetes. Diabetes. 2007; 56(4): 1174-6.
17. Knip M, Virtanen SM, Seppä K, Ilonen J, Savilahti E, Vaarala O, et al. Dietary intervention in infancy and later signs of beta-cell autoimmunity. New England Journal of Medicine. 2010; 363(20): 1900-8.
18. Forlenza GP, Rewers M. The epidemic of type 1 diabetes: what is it telling us? Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity. 2011; 18(4): 248-51.
19. Group EAS. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. The Lancet. 2000; 355(9207): 873-6.
20. Group SfDiYS. The burden of diabetes mellitus among US youth: prevalence estimates from the SEARCH for Diabetes in Youth Study. Pediatrics. 2006, 118(4): 1510-8.
21. Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, Libman I, Laporte R, Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. Diabetes care. 2000; 23(10): 1516-26.
22. Dabelea D, Bell RA, D'Agostino Jr RB, Imperatore G, Johansen JM, Linder B, et al. Incidence of diabetes in youth in the United States. Jama. 2007; 297(24): 2716-24.
23. Vandewalle CL, Coeckelberghs MI, De Leeuw IH, Du Caju MV, Schuit FC, Pipeleers DG, et al. Epidemiology, Clinical Aspects, and Biology of IDDM Patients Under Age 40 Years: Comparison of data from Antwerp with complete ascertainment with data from Belgium with 40% ascertainment. The Belgian Diabetes Registry. Diabetes care. 1997; 20(10): 1556-61.
24. Virtanen SM, Knip M. Nutritional risk predictors of β cell autoimmunity and type 1 diabetes at a young age. The American journal of clinical nutrition. 2003; 78(6): 1053-67.
25. Soltesz G, Patterson C, Dahlquist G. Worldwide childhood type 1 diabetes incidence–what can we learn from epidemiology? Pediatric diabetes. 2007; 8(s6): 6-14.
26. Mehers KL, Gillespie KM. The genetic basis for type 1 diabetes. British medical bulletin. 2008; 88(1): 115-29.
27. McKinney P. Seasonality of birth in patients with childhood Type I diabetes in 19 European regions. Diabetologia. 2001; 44: B67-B74.
28. Willis JA, Scott RS, Darlow BA, Lewy H, Ashkenazi I, Laron Z. Seasonality of birth and onset of clinical disease in children and adolescents (0-19 years) with type 1 diabetes mellitus in Canterbury, New Zealand. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 2002; 15(5): 645-8.
29. Lowe CE, Cooper JD, Brusko T, Walker NM, Smyth DJ, Bailey R, et al. Large-scale genetic fine mapping and genotype-phenotype associations implicate polymorphism in the IL2RA region in type 1 diabetes. Nature genetics. 2007; 39(9): 1074-82.
30. Smyth D, Cooper JD, Collins JE, Heward JM, Franklyn JA, Howson JM, et al. Replication of an association between the lymphoid tyrosine phosphatase locus (LYP/PTPN22) with type 1 diabetes, and evidence for its role as a general autoimmunity locus. Diabetes. 2004; 53(11): 3020-3.
31. Bottini N, Musumeci L, Alonso A, Rahmouni S, Nika K, Rostamkhani M, et al. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. Nature genetics. 2004; 36(4): 337-8.
32. Ueda H, Howson JM, Esposito L, Heward J, Chamberlain G, Rainbow DB, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. Nature. 2003; 423(6939): 506-11.
33. El-Ziny MAE-M, Salem NA-B, El-Hawary AK, Chalaby NM, Elsharkawy AA-E. Epidemiology of childhood type 1 diabetes mellitus in Nile Delta, northern Egypt-a retrospective study. Journal of clinical research in pediatric endocrinology. 2014; 6(1): 9.
34. Collado Mesa F, Diaz Diaz O, Ashkenazi I, Laron Z. Seasonality of birth and type 1 diabetes onset in children (0–14 years) in Cuba. Diabetic Medicine. 2001; 18(11): 939-40.
35. Norris JM, Beaty B, Klingensmith G, Yu L, Hoffman M, Chase HP, et al. Lack of association between early exposure to cow's milk protein and β-cell autoimmunity: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). Jama. 1996; 276(8): 609-14.
36. Atkinson MA. The pathogenesis and natural history of type 1 diabetes. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2012; 2(11): a007641.

rate of T1D in this period was 3.4% (95% CI 2.5–4.4%) (the rate of increase was noted to be higher) (25).

Risk Factors

Several risk factors such as age, sex, race, genotype, geographic location and season have been associated with T1D.

Age

More than 85% of all diabetes caseshave been reported in youth < 20 years of age worldwide. Incidence peak of T1D has increased at ages 10–14 years throughout the world. Registries in Europe suggest that recent incident rates of T1D were the highest in the youngest age-group (0–4 years). After puberty, incidence rates decline and appear to stabilize inages 15–29 years(26).

Gender

Women was affected by most common autoimmune disorders, but in young populationwith T1D, girls and boys are equally affected(24).

Genotype and genetic risk factors

Among the most important genes can be introduced in susceptibility to T1D is the human leukocyte antigen (HLA) complex on chromosome 6, especially noted for the HLA class II(27). In fact, about 90% -95% of young people who are diagnosed with T1D have both haplotypes, but about 5 %of people carry this haplotype, will develop disease(28).Detailed mapping indicates that the polymorphism and the number of variable of tandem repeat(VNTR) is located in the insulin gene promoter, plays a role in T1D susceptibility. Homozygous individuals for shorter repeats as VNTR type I have a high risk for the diseasewhile carriers for longer repeats as VNTR type III protects against T1D. As a result, following the lower induction of insulin and its precursors transcription in the thymus by VNTR type I, tolerance reduce and T1D develope. Conversely, in individuals with VNTR type III variant, insulin-reactive T cells are removed in the thymus by negative selection(1). Among the other factors considered in T1D, allelic variation in the interleukin (IL)-2 receptor gene (IL2RA) region(16, 29), PTPN22 which encodes the lymphoid protein tyrosine phosphatase (LYP)(30, 31), CTLA-4 which encodes cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4 in the IDDM12 region(32) are remarkable.

Seasonality of onset and birth

Several studies evaluated the relationship of diabetes with seasons, although the results have been controversial(33). In some studies, the prevalence of diabetes have been reported by month of birth and month of diagnosis. McKinney also reported the lowest and the highest rates of T1D in December and April, respectively, in Ukraine (34). Similar reports have been published also showed that higher and lower rates of T1D among youth people from Europe, New Zealand and Israel born in Spring and autumn, respectively(24). Such findings was not found in other studies on people from Europe, East Asia and Cuba(35).

Treatment & management

Patients with type 1 diabetes mellitus require lifelong insulin therapy. Most require 2 or more injections of insulin daily, with doses adjusted on the basis of self-monitoring of blood glucose levels. Long-term management requires a multidisciplinary approach that includes physicians, nurses, dietitians, and selected specialists. The American Diabetes Association (ADA) recommends using patient age as one consideration in the establishment of glycemic goals, with targets for preprandial, bedtime/ overnight, and hemoglobin A1c (HbA1c) levels. In 2014, the ADA released a position statement on the diagnosis and management of type 1 diabetes in all age groups. The statement includes a new pediatric glycemic control target of HbA1c of less than 7.5% across all pediatric age groups, replacing earlier guidelines that specified different glycemic control targets by age. The adult HbA1c target of less than 7% did not change. Individualized lower or higher targets may be used based on patient need(36).

Conclusion

Epidemiological studies around the world show that the incidence of T1D has been increasing by 2–5% . Furthermore, in the US it has been indicated that the prevalence of T1D is approximately 1 in 300 by 18 years of age. One of the intresting topics for researchers is study of genetic and environmental risk factors involved in T1D. Understanding these factors can play a significant role in the clinical care of patients, treatment and prevention of disease. In recent years the idea that T1D is a disease of children and adolescents has changed, so that now the age of onset of symptoms is not considered as an important factor.

Introduction:

Type 1 diabetes mellitus (T1DM) is a chronic illness characterized by the insufficient production of insulin due to autoimmune destruction of beta cells in the pancreas. However, the disease can develop in adults,onset most often occurs in childhood (1). T1DM can be considerated as one of the most frequent endocrine and metabolic conditions in children. Information on frequency of childhood onset T1DM are very restricted. As indicated by the International Diabetes Federation (IDF), the number of youth (0-14 years) diagnosedand newly diagnosed cases per year was 497100 and 78900, respectively(2). In children and teenager,T1D represents 80%-90% of diabetes (3).It was declared that 3 million Americans had T1D in the US in 2010 (4). In the US, the prevalence of T1D in youth more youthful than 20 years was 1.93 /1000 in 2009 (0.35-2.55 in different racial groups) with 2.6%-2.7% relative annual increase but the number of people affected in the world is not known(5). T1D is chiefly occur following an autoimmune demolition of the pancreatic β cells through cell mediated immunity as well as a humoral immune response. The characteristics of T1D are the autoantibodies detected in the serum of these patients weeks or months prior to the beginning of the disease, but it is not clear that what is the role of these autoantibodies in the pathogenesis of the disease. Some of these autoantibodies are against the islet cell, insulin (IAA), glutamic acid decarboxylase (GAD, GAD65), protein tyrosine phosphatase (IA2 and IA2β) and zinc transporter protein (ZnT8A) are the examples of these autoantibodies(6, 7).Several factors have been implicated in the etiology of T1D include genetic and environmental factors(8). T1D has a strong relationship with HLA/DR and HLA/DQ genes. This alleles can be either predisposing or protective(9). Recent studies showed that viral infections can be expected to result in diabetes(10) include enterovirus, rotavirus, herpes virus, cytomegalovirus, endogenous retrovirus(11, 12) and Ljungan virus. Viral factors include congenital rubella(13, 14) and other factors such as decreased levels of vitamin Dcan also be a risk factor for T1D(15, 16). It is interesting that hypothesis as the hygiene hypothesis suggests that in countries where social and economic conditions are very favorable, exposure to contaminants in the ages before the birth and to improve health and living conditions lead to autoimmune diseases is increasing. In addition childhood obesity or rapid growth leading to increased resistance to insulin, the primary feeding infants with cow's milk instead of breast feeding may be involved in causing the disease(17). However the role of environmental factors in the pathogenesis of this disease is slightly controversial(18). T1D often starts suddenly and may include symptoms such as the most important polydipsia, polyuria, polyphagia, lack of energy, excessive fatigue, sudden weight loss, slow healing of wounds, frequent infections and blurred vision(2) and diabetic ketoacidosis following severe dehydration especially in children and adolescents. The symptoms are more severe in children than adults. Other autoimmune diseases such as Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis, Addison's disease, vitiligo, celiac sprue, autoimmune hepatitis, myasthenia gravis, and pernicious anemia may be seen in patients with T1D (9).Diabetes Mondiale(DIAMOND) Project (19,20) the Epidemiology and Prevention of Diabetes (EURODIAB) (21) and the SEARCH for Diabetes in Youth (SEARCH) are the most important projects for childhood diabetes will be emphasized(22). In 1990, the World Health Organization initiated the DIAMOND project with a primary goal to report incidence of T1D in children.In 2000 was reported that 4.5% of children ≤14 years of age have diabetes in 50 countries (incidence : 19,164 per75.1 million children) during1990–1994 (20). After studing of 100 population worldwide, China and South America had lowest incidence (<1/100,000 per year) and Sardinia, Finland, Sweden, Norway, Portugal, the UK, Canada, and New Zealand) was reported as highest incidence (>20/100,000 per year).Incidence of diabetes according to the DIAMOND study in the united states including Pennsylvania, Alabama, and Illinois was 10–20/100,000 per year. Incidence between 5–10/100,000 per year was reported in half the population of Europe.In the US, the SEARCH study has been designed to estimate the incidence and prevalence of diabetes in youth less than age 20 years by age, sex, and race/ethnicit(19). According to the finding of the SEARCH effort approximately, 0.26% of all people within this age group have diabetes(23, 24).During 1989 - 1994, about 28 million children in Europe and Israel were evaluated and the results showed that about 16362 case of them have diabetes. According to DIAMOND report, the standardized annual incidence rate varied from 3.2/100,000 to 40.2/100,000 person years in Macedonia and two regions of Finland, respectively. In some central European countries, annual increase in the incidence

An Overview of the epidemiology of Type 1 diabetes mellitus

Ali Shojaeian

Ali Shojaeian, AmenehMehri-Ghahfarrokhi

Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

Corresponding author E-mail : **ali.shojaeian65@gmail.com**

Key words

epidemiology, Type 1 diabetes, childhood diabetes

Abstract

Background and aims: T1D is one of the most frequent endocrine and metabolic conditions in children, chiefly occure following an autoimmune demolition. The characteristics of T1D are the autoantibodies detected in the serum of these patients. The present study was performed to briefly explain the genetics, molecular biology and epidemiology of T1D around the world.

Methods: This review was prepared using the databases of Science Direct, Pub-Med, Scopus, Web of Science, reference lists check and hand searching using keywords such as "prevalence", "incidenc","eatiology", "clinical manifestation", "T1D" and "risk factors". The selected papers were fully reviewed and required information for the review was extracted and summarized.

Results: One of the intresting topics for researchers is study of genetic and environmental risk factors (such as age, sex, race, genotype, geographic location and season) involved in T1D chiefly occure following an autoimmune demolition of the pancreatic β cells through cell mediated immunity as well as a humoral immune response. Understanding these factors can play a significant role in the clinical care of patients, treatment and prevention of disease.Epidemiological studies around the world show that the incidence of T1D has been increasing. DIAMOND Project, EURODIAB and SEARCH are the most important projects for childhood diabetes. Epidemiological studies around the world demonstrated that the incidence of T1D has been increasing by 2–5%. Furthermore, in the US it has been indicated that the prevalence of T1D is approximately 1 in 300 by 18 years of age.

Conclusion: Considering the high prevalence of T1D and related risk factors, strategic planning for disease prevention and reduction is necessary.

Moelzer B(84)	CD49f-based selection of circulating tumor cells (CTCs) improves detection across breast cancer subtypes.	2012	34	Cell line	breast cancer	CTCs enumeration and characterization	qRT-PCR, Tissue microarrays (TMAs),e CellSearch Epithelial Cell kit (Veridex LLC).	(EpCAM) and selection (CK8/18/19) markers used in this method. While CD146 can detect EpCAM-negative CTCs, we here evaluated the value of various cytokeratins and CD49f to detect CK8/18/19-negative CTCs	-	The tetra-cytokeratin provided no substantial benefit, but adding CD49f to CK8/18/19 as a selection marker resulted in improved recovery of normal-like cell lines. Combined staining of CK8/18/19 and CD49f after CD146-EpCAM enrichment is likely to further improve CTC detection in breast cancer.
Muller, V.(39)	Circulating tumor cells in breast cancer: Correlation to bone marrow micrometastases, heterogeneous response to systemic therapy and low proliferative activity	2005	60	Case series	BC	Enumeration and characterization of CTCs	OncoQuick density gradient system (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany) standard ELISA (BMs CA15-3 second generation by Abbott Laboratories, Chicago, IL).	tumor marker CA15-3, epithelial cell adhesion molecule (EpCAM), Ki-67 antigen ,HER-2/neu expression, estrogen receptor, progesterone receptor	Adjuvant therapy , Chemotherapy, Endocrine treatment, Anti HER-2/neu antibody trastuzumab (Herceptin) alone or in combination with chemotherapy	Patients with cytokeratin-positive CTCs had poorer progression-free survival compared with those without CTCs or with HER2+ CTCs
Mostajeran, E.(53)	Changes of HER2 Status in Circulating Tumor Cells Compared With the Primary Tumor During Treatment for Advanced Breast Cancer	2010	74	Case series	Advanced BC	Enumeration and characterization of CTCs	immunohistochemistry (IHC), fluorescent in situ hybridization (FISH), immunomagnetic separation using ferrofluid nanoparticles binding anti-epithelial cell adhesion molecules (EpCAM) and fluorescently stained with the Epithelial Cell Kit® (Veridex, LLC)	EpCAM+, CK+, DAPI+, CD45−, and HER2/neu+.	Chemotherapy	Patients with HER2 overexpression in CTCs had poorer progression-free survival compared with those without CTCs or with HER2− CTCs
Nadal, R.(47)	Biomarkers characterization of circulating tumour cells in breast cancer patients	2012	98	Case series	metastatic breast cancer	Enumeration and characterization of CTCs	fluorescence in situ hybridization FISH, Immunomagnetic techniques using magnetic beads , immunocytochemical methods	Estrogen receptor, Progesterone receptor , Epidermal growth factor receptor (EGFR) , HER2 and TOP2A	Surgical procedure , systemic therapy with or without targeted therapy (namely, trastuzumab)	CTC biomarkers profiles might be useful as a surrogate marker for therapeutic selection and monitoring since heterogeneity of the biomarker distribution in CTCs and the lack of correlation with the primary tumor biomarker status were found. Further exploration of the association between EGFR-positive CTCs and Luminal tumors is warranted.
Perkins, M.(112)	Heterogeneity of PIK3CA mutational status at the single cell level in circulating tumor cells from metastatic breast cancer patients	2015	39	Case series	MBC	CTCs enumeration and molecular characterization(Mutational status of PIK3CA)	Combination of the CellSearch and DEPArray technologies Whole Genome Amplification (WGA) and sequencing analysis	Heterogeneity of PIK3CA mutational status within single CTCs	-	PIK3CA mutational status within single CTCs isolated from individual mBC patients demonstrates the feasibility of a non-invasive approach based on the liquid biopsy
Polzer, B.(114)	Molecular profiling of single circulating tumor cells with diagnostic intention	2014	66	Case series	CTCs positive breast cancer	comprehensive molecular characterization of CTCs	DEPArray™ technology (Silicon Biosystems,Italy) , Whole genome amplification (WGA) using the Ampli1™ WGA kit	HER2 amplifications, PIK3CA mutations and genomic copy number changes	Target therapy	The karyotype of isolated CTCs may become important including (i) gene-specific point mutation analysis (PIK3CA mutations in exon 9 and exon 20), (ii) gene-specific quantification of copy number (ERBB2 (HER2) amplification) and (iii) genome-wide array CGH (aCGH). Microheterogeneity analysis among individual CTCs uncovered pre-existing cells resistant to ERBB2-targeted therapies suggesting ongoing microevolution at late-stage disease whose exploration may provide essential information for personalized treatment decisions and shed light into mechanisms of acquired drug resistance
Rejm, E. A.(56)	An 8-gene mRNA expression profile in circulating tumor cells predicts response to aromatase inhibitors in metastatic breast cancer patients	2016	78	Case series	MBC	CTC gene expression profile identification (qRNA isolation from CTCs, qRT-PCR and quantification of gene transcripts) and Enumeration	The CellTracks Analyzer (Veridex LCC) , quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction(q-PCR)	8 genes: TWIST1 , KRT81 ,PERP ,EEF1A2, PTPRK EGFR,CXCL14 ,ERBB3	Chemotherapy, Chemotherapy combined with a type of targeted therapy such as Trastuzumab Tamoxifen therapy.	An 8-gene CTC predictor was identified which discriminates good and poor outcome to first-line aromatase inhibitors in MBC patients. Although results need to be validated, this study underscores the potential of molecular characterization of CTCs.
Reinholz, M. M.(132)	Cytokeratin-10 and Mammaglobin Gene Expression in Circulating Tumor Cells from Metastatic Breast Cancer Patients Enrolled in North Central Cancer Treatment Group Trials, N0234/336/436/457	2011	146	Case series	MBC	Enumeration and molecular characterization of CTCs	Reverse transcription/quantitative PCR by a BioRadCycler IQ	CK19, MGB1, and b2-microglobulin (B2M) mRNA levels	Lapatinib +Gemcitabine, Sorafenib , Irinotecan +cetuximab and polyglumex + capecitabine	The presence of baseline CK19+mRNA CTCs was associated with poor prognosis; a decrease in MGB1+mRNA CTCs may help predict response to therapy of MBC patients
Riethdorf, S.(21)	Detection and HER2 expression of circulating tumor cells: prospective monitoring in breast cancer patients treated in the neoadjuvantGeparQuatro trial	2010	287	Case series	Patients with either large operable or locally advanced tumors, tumors with negative hormone receptor status, or receptor-positive tumors but clinically node-positive disease	Enumeration and characterization of CTCs	Food and Drug Administration–approved CellSearch system for CTC detection and evaluation of HER2 expression and developed HER2 immunoscoring for CTC	HER2 expression on CTC	Epirubicin/cyclophosphamide (EC) to randomization to docetaxel alone, docetaxel in combination with capecitabine, docetaxel followed by capecitabine and additional trastuzumab treatment	In the context of this trial, it should be possible to examine if trastuzumab and lapatinib treatment affect the kinetics and HER2 expression on CTC.
Soltani S.,(81)	**The expression of CK-19 gene in circulating tumor cells of blood samples of metastatic breast cancer women**	2013	21/20	Case/control	MBC	CTCs characterization	SYBR green-based real-time quantitative polymerase chain reaction assays	CK-19 gene expression	Chemotherapy	A study for determining CTC biomarkers in Iranian breast cancer women that suggest that the CK-19 mRNA expression investigation may be useful for monitoring CTCs in the blood of metastatic breast cancer patients, predicting early metastatic relapse or monitoring of anti-metastatic treatments.
Spiteriski, M.(69)	Evolution of proliferation and apoptosis markers in circulating tumor cells of women with early breast cancer who are candidates for tumor dormancy	2014	122	Case series	stage I to III early breast cancer	CTCs detection and characterization, CTCs Cell culture	cell lines SKBR3 and MDA-MB231 were obtained from the American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA), Ficoll- Hypaque density gradient	Apoptotic markers, Ki67 and M30 status of CTCs	Adjuvant chemotherapy	The apoptotic index of CTCs is increased during clinical dormancy, whereas the proliferation index is increased on relapse. In addition, apoptotic CTCs are more frequently encountered during follow-up in DC patients who remain disease-free compared to those with subsequent late relapse, suggesting that monitoring proliferation and apoptosis in CTCs during clinical dormancy merits further investigation as a tool for predicting late disease recurrence.
Tewes, M.(133)	Molecular profiling and predictive value of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: an option for monitoring response to breast cancer related therapies	2009	42/88	Case series	MBC	Molecular characterization of single CTCs	AdnaTestBreastCancer. The estrogen (ER) and progesterone (PR) receptor expression was assessed by RT-PCR	HER2, MUC1 and GA733-2 transcript	As anthracycline- or taxane-based chemotherapy , trastuzumab	Molecular profiling of CTC may offer superior prognostic information with regard to risk assessment for recurrence and predictive judgement of therapeutical regimens
Wallwiener, Markus(134)	The prognostic impact of circulating tumor cells in subtypes of metastatic breast cancer	2013	468	Case series as	MBC	Enumeration and characterization of CTCs	CellSearch system (Veridex, LLC, Warren, NJ, USA), Immunohistochemical staining(IHC)	estrogen and/or progesterone (HoR) and Her2	HER2 targeting therapy, HER2 directed treatment combined with chemotherapy	
Wang, H. Y.(135)	Detection of circulating tumor cells in patients with breast cancer using the quantitative RT-PCR assay for monitoring of therapy efficacy	2014	221	Case series	Stages 0–III Breast cancer	Enumeration and characterization of CTCs	Cell culture ,quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR) and RT-qPCR TaqMan assay	EpCAM, cytokeratin (CK) 19, human epidermal growth factor (HER) 2, Ki67, human telomerase reverse transcriptase (hTERT) and vimentin	Adjuvant chemotherapy , neo-adjuvant chemotherapy	There was no statistically significant relationship between TNM stage and detection of CTC-related markers. Data from this study suggest that RT-qPCR assay for the detection of CTC markers might be useful in selecting appropriate therapeutics and for monitoring treatment efficacy in breast cancer patients
Welling, P.(102)	HER2-positive circulating tumor cells indicate poor clinical outcome in stage I to III breast cancer patients	2006	42	Case series	MBC	Enumeration and characterization of CTCs		Estrogen receptor and Her2	Surgical therapy(mastectomy), combined with postoperative ipsilateral radiotherapy, adjuvant therapy , cytotoxic chemotherapy and exclusively treated with endocrine therapy	Prognostic effect of HER2-positive CTCs in stage I to III breast cancer to determine the outcome of patients treated with HER2-targeting therapies with respect to HER2-positive CTC levels because it is not unlikely that high levels of HER2-positive CTCs reflect the activity of the tumor and may predict response to trastuzumab.
Zehentner, B. K.(136)	Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of breast cancer patients during or after therapy using a multigene real-time RT-PCR assay	2006	82/51	Case/Control	stage I to IV breast cancer	CTCs gene expression level		expression levels of mammaglobin, B3GD, gamma-aminobutyrate type A receptor pi subunit (GABA pi, GABRP) and B7/6P	Chemotherapy,Hormone therapy ,Chemotherapy + Herceptin, Chemotherapy + Herceptin, Nontreatment and Unknown	This assay could be a valuable tool for monitoring breast cancer patients during and after therapy.

Table1 : Using of CTCs molecular characteristics in personalized management of Breast Cancer.

First Author	Name of study	Year	Patients number	Type of study	Type of breast cancer	Evaluation targets	Methods	Personalized target molecules	Type of treatment	Conclusion
Agelaki, S(54)	Efficacy of Lapatinib in Therapy-Resultant HER2-Positive Circulating Tumor Cells in Metastatic Breast Cancer	2015	22	Clinical Trial (case series)	MBC	HER2 positive CTCs count	Immunofluorescent microscopy	EGFR , HER2	Lapatinib	Lapatinib is effective in decreasing HER2-positive CTCs in patients with MBC irrespectively of the HER2 status of the primary tumor
Apostolaki, S.(50)	Circulating HER2 mRNA-positive cells in the peripheral blood of patients with stage I and II breast cancer after the administration of adjuvant chemotherapy: evaluation of their clinical relevance	2007	214	Case series	BC (Stage I and II)	HER2 mRNA-positive CTCs detection	Nested RT-PCR	HER2 mRNA	Adjuvant chemotherapy	The detection of HER2 mRNA-positive CTCs after the completion of adjuvant chemotherapy may provide clinically useful information concerning the efficacy of treatment and the prognosis of patients with operable breast cancer.
Ascolani, G.(29)	Modelling Circulating Tumour Cells for Personalised Survival Prediction in Metastatic Breast Cancer	2015	N/A	Case series	The earliest stage of BC	CTCs gene expression	Branching process model	EPCAM, CD47, CD44 and MET	Bisphosphonates therapy	Design intervention scenarios that alter the patient-specific survival probability by modifying the populations of circulating tumour cells and it could be extended to other cancer metastasis dynamics.
de Albuquerque, A.(128)	Multimarker Analysis of Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood of Metastatic Breast Cancer Patients: A Step Forward in Personalized Medicine	2012	12 MBC / 42 negative controls	Case-Control	MBC	Enumeration and characterization of CTCs	Cell Culture, Immunomagnetic Enrichment Antibodies, real-time reverse transcription-polymerasechain	BM7 , VU1D9 , KRT19,SCGB2A2, MUC1, EPCAM, BIRC5 and ESRB2	-	Monitoring CTCs seems to be an important tool that might identify women who were initially ineligible for herceptin but who would later qualify for the drug.
De Luca, F.(55)	Mutational analysis of single circulating tumor cells by next generation sequencing in metastatic breast cancer	2016	4	Case series	Stage III and IV BC	Molecular characterization of single CTCs	Next Generation Sequencing (NGS)	50 cancer related genes	Chemotherapy, Endocrine therapy	CTC characteristics are more closely linked to the dynamic modifications of the disease status.
Divella, R.(71)	Circulating levels of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta) and chemokine (C-X-C motif) ligand-1 (CXCL1) as predictors of distant relapse of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer	2013	65	Case series	non-treated stage III-IV MBC	Enumeration and characterization of CTCs	ELISA,ELISA,AdnaTestBreastCancer test (AdnaGen AG, Langenhagen, Germany; method B)	CK3+ CTCs, Transforming growth factor-beta1 (TGF-beta) and Chemokine (C-X-C Motif) Ligand-1 (CXCL1)	Systemic therapy	Circulating levels of TGF-β and CXCL1 are associated with a poor prognosis, and higher detection of CTCs and propensity of these cells to seed lung metastases in patients with breast cancer.
Fehm, T(99)	HER2 status of circulating tumor cells in 15patients with metastatic breast cancer: a prospective, multicenter trial	2010	254	Cohort	MBC	Enumeration and characterization of CTCs	CellSearch assay	HER2	HER2-targeted therapies	HER2-positive CTCs can be detected in a relevant number of patients with HER2 negative primary tumors. Therefore, it will be mandatory to correlate the assay-dependent HER2 status of CTCs to the clinical response on HER2-targeted therapies
Fehm, T.(51)	Determination of HER2 status using both serum HER2 levels and circulating tumor cells in patients with recurrent breast cancer whose primary tumor was HER2 negative or of unknown HER2 status	2007	77 (44/33)	Case series	MBC	Evaluation of HER2 status of circulating tumor cells	Slide-based assay,	GA 733-2, MUC1 or HER2	HER2 targeted therapy and endocrine therapy	A subgroup of patients with initially negative or unknown HER2 status can have elevated serum HER2 levels and/or HER2-positive CTCs at the time of development of metastatic disease.
Fehm, T.(52)	Detection and characterization of circulating tumor cells in blood of primary breast cancer patients by RT-PCR and comparison to status of bone marrow disseminated cells	2000	431	Case series	primary breast cancer	correlation between CTCs and disseminated tumor cells (DTCs) in the bone marrow (BM) evaluation and CTCs Molecular characterization	AdnaTestBreastCancer™ (AdnaGen AG, Germany), RT PCR,IHC	EpCAM, MUC1 and HER2 transcripts, Expression of the ER and PR	HER2 targeted therapy and endocrine therapy	The impact on adjuvant treatment can only be answered in clinical trials randomizing patients according to the expression profile based on CTCs or DTCs
Hall C.(39)	Circulating Tumor Cells after Neoadjuvant Therapy Predict Outcome in Stage I to III Breast Cancer	2011	37	case series	stage I to III Triple-negative breast cancer (TNBC)	Enumeration and characterization of CTCs	fluorescence in situ hybridization (FISH) , CellSearch System (Janssen Diagnostics, LLC)	positive for CK and negative for CD45	Neoadjuvant chemotherapy (NACT) predicted worse outcome in nonmetastatic TNBC patients.	One or more CTCs present after NACT predicted relapse and survival in nonmetastatic TNBC patients.
Giordano, A.(44)	Circulating tumor cells in immunohistochemical subtypes of metastatic breast cancer: lack of prediction in HER2-positive disease treated with targeted therapy	2012	517	Case series	MBC	Enumeration and characterization of CTCs	immunohistochemical (IHC) ,fluorescent in situ hybridization , CellSearch	HER2	HER2-targeted therapy + chemotherapy	CTCs were strongly predictive of survival in all MBC subtypes except HER2+ patients who had been treated with targeted therapy
Gradilone, A.(129)	Circulating tumor cells (CTCs) in metastatic breast cancer (MBC): prognosis, drug resistance and phenotypic characterization	2011	42	Case series	MBC	CTCs isolation and molecular profiling	PCR	MRP1, ALDH1, Erb mRNA, HER2/neu	New systemic therapy without limits to number of previous therapies	The presence of CTCs expressing MRP1 and ALDH1 is predictive of response to chemotherapy in MBC patients
Gradilone, A.(130)	How Circulating Tumor Cells Escape From Multidrug Resistance: Translating Molecular Mechanisms in Metastatic Breast Cancer Treatment	2011	42	Case series	MBC	CTCs isolation and molecular profiling	CELLectionDynabeads coated with a monoclonal Antibodies	multidrug resistance-related proteins 1 and 2 (MRP1, MRP2)	Anthracycline-based chemotherapy, NPLD Nonpegylated liposomal doxorubicin (NPLD)	Patients with CTCs that are expressing MRP1 and MRP2 (2 drug-export pumps responsible for anthracyclines efflux), who received conventional anthracyclines (doxorubicin or epirubicin), had a significantly shorter time to progression (TTP) compared with patients sharing the same characteristics who received NPLD.
Ignatiadis, M.(48)	HER2-positive circulating tumor cells in breast cancer	2011	6 BC cell line	Case/Control	BC	CTCs enumeration and HER2 expression	CellSearch, immunofluoresence	HER2-positive CTCs	(Neo) adjuvant chemotherapy	HER2-positive CTCs were detected in DCIS/LCIS or MO BC irrespective of the primary tumor HER2 status. Monitoring of HER2 expression on CTCs might be useful in trials with anti-HER2 therapies.
Janssen, Sara(131)	Prognostic impact of circulating tumor cell apoptosis and clusters in serial blood samples from patients with metastatic breast cancer: a prospective observational cohort	2016	32	Cohort	All breast cancer subtypes	Morphologic characterization of CTCs, Enumeration and characterization of CTCs	CellSearch system (Janssen Diagnostics), visual examination of the galleries generated by the CellTracksAnalyzer fluorescent microscope (CellTracks Analyzer II)	CTCs : CK+/CD45-/DAPI+ cells fulfilling certain predefined criteria	First-line systemic therapy.Endocrine only ,Chemotherapy only HER2-directed (with chemotherapy)	Patients with a continuous presence of apoptotic or clustered CTCs in FU samples after systemic therapy initiation had worse prognosis than patients without these CTC characteristics. In patients with ≥5 CTC/7.5 ml blood at BL, morphologic characterization of persistent CTCs could be an important prognostic marker during treatment, in addition to CTC enumeration alone.
Kong, A.(82)	Determination of Interleukin-4,-5,-6,-8 and-13 in Serum of Patients with Breast Cancer Before Treatment and its Correlation to Circulating Tumor Cells	2016	200	100 CTCs+/ 100 CTCs-	Breast Cancer	Enumeration and characterization of CTCs	CellSearch System (Janssen Diagnostics, South Raritan, NJ, USA, CellTracks Analyzer II (Janssen Diagnostics)	Interleukin-4,-5,-6,-8 and-13,Th2 cytokines	Randomized adjuvant therapy and endocrine therapy	In patients who are CTC-negative and progesterone receptor-positive, IL-4 ,Th2 cytokines are significantly modified
Lightbart, S. T.(40)	Untoxed quantitative assessment of Her-2 expression of circulating tumor cells in patients with metastatic and non-metastatic breast cancer	2013	103 (M1) / 88 (M0)	Case/Control	BC	CTC enumeration and Her-2 assessment	CellSearch(®)) system ,Her-2- fluorescein isothiocyanate (FITC) fluorescence	Her-2-FITC signal intensities	Neoadjuvant chemotherapy	Her-2 expression is heterogeneous among CTCs within each patient. It has the feasibility of unbiased quantitative and reproducible assessment of treatment targets on CTCs, opening a path towards personalized treatment
Liu, Z(28)	Eradication of EGFR-positive circulating tumor cells and objective tumor response with lapatinib and capecitabine	2010	1	Case presentation	MBC	Enumeration and characterization of CTCs	CellSearch system, and FACTS analysis, IHC	EpCAM positive but CD45 negative, estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) and were strongly positive for Her2	Neoadjuvant treatment, Trastuzumab, lapatinib based treatments	Depletion of the EGFR-positive CTC pool in the blood was associated with tumor response, whereas disease progression was related to a recurrence in CTCs, which were both EGFR and Her2 negative. Expression of EGFR may predict response to lapatinib-based treatments as in the case presented
Lowe, A. C.(94)	Young investigator challenge: Application of cytologic techniques to circulating tumor cell specimens: Detecting activation of the oncogenic transcription factor STAT3	2015	52/42	Case/Control	BC	CTC enumeration and Characterization (noncancer patients was spiked with breast cancer cell lines)	Routine cytologic techniques, Immunocytochemistry:immunohistochemistry	constitutive or inducible pSTAT3 expression and Ki-67	Targeted therapy	CTC morphologic and immunophenotypic analysis can be easily integrated into the existing clinical workflow, moving the field closer to a true peripheral blood liquid biopsy for cancer patients
Liu, J.(83)	Isolation of circulating epithelial and tumor progenitor cells with an invasive phenotype from breast cancer patients	2010	54 / 55	Case-Control	Stage I-III breast cancer	Detection of invasive CTCs and Detection of CTCs , Molecular phenotyping of circulating	Collagen adhesion matrix (CAM) assay, CAM uptake assay,PCR	fibronectin-1 (FN-1), N-acetylglucosaminyltransferase (GalNac-T), and melanoma antigen gene family-A3 (MAGE-A3)	Adjuvant chemotherapy Neo-adjuvant chemotherapy	CAM-initiated CTC detection provides advantages for examining invasiveness and tumor progenitor phenotypes
Mikolova, V.(86)	Detection of circulating tumor cells during follow-up of patients with early breast cancer. Clinical utility for monitoring of therapy efficacy	2014	54	Case series	Early breast cancer patients	Enumeration and characterization of CTCs	AdnaTestBreastCancer™ (AdnaGen AG, Germany), qPCR gene expression analysis	EpCAM, HER2, MUC1,TOP1, TOP2A, CTSD, ST6, CK19	Neoadjuvant and/or adjuvant chemotherapy	CTC detection may be a promising early marker of disease progression potentially enhancing the difficult therapeutic decisions

Breast Cancer 2010;10:392-7.
54. Agelaki S, Kalykaki A, Markomanolaki H, Papadaki MA, Kallergi G, Hatzidaki D, et al. Efficacy of Lapatinib in Therapy-Resistant HER2-Positive Circulating Tumor Cells in Metastatic Breast Cancer. PLoS ONE 2015;10:e0123683.
55. De Luca F, Rotunno G, Salvianti F, Galardi F, Pestrin M, Gabellini S, et al. Mutational analysis of single circulating tumor cells by next generation sequencing in metastatic breast cancer. Oncotarget 2016;7:26107-19.
56. Reijm EA, Sieuwerts AM, Smid M, Vries JB, Mostert B, Onstenk W, et al. An 8-gene mRNA expression profile in circulating tumor cells predicts response to aromatase inhibitors in metastatic breast cancer patients. BMC Cancer 2016;16:123.
57. Pierga JY, Hajage D, Bachelot T, Delaloge S, Brain E, Campone M, et al. High independent prognostic and predictive value of circulating tumor cells compared with serum tumor markers in a large prospective trial in first-line chemotherapy for metastatic breast cancer patients. Ann Oncol 2012;23:618-24.
58. Hartkopf AD, Wagner P, Wallwiener D, Fehm T, Rothmund R. Changing levels of circulating tumor cells in monitoring chemotherapy response in patients with metastatic breast cancer. Anticancer Res 2011;31:979-84.
59. Muller V, Stahmann N, Riethdorf S, Rau T, Zabel T, Goetz A, et al. Circulating tumor cells in breast cancer: correlation to bone marrow micrometastases, heterogeneous response to systemic therapy and low proliferative activity. Clin Cancer Res 2005;11:3678-85.
60. Shao Y, Sun X, He Y, Liu C, Liu H. Elevated Levels of Serum Tumor Markers CEA and CA15-3 Are Prognostic Parameters for Different Molecular Subtypes of Breast Cancer. Plos One 2015;10:e0133830.
61. Ebeling FG, Stieber P, Untch M, Nagel D, Konecny GE, Schmitt UM, et al. Serum CEA and CA 15-3 as prognostic factors in primary breast cancer. Br J Cancer 2002;86:1217-22.
62. Konig A, Vilsmaier T, Rack B, Friese K, Janni W, Jeschke U, et al. Determination of Interleukin-4, -5, -6, -8 and -13 in Serum of Patients with Breast Cancer Before Treatment and its Correlation to Circulating Tumor Cells. Anticancer Res 2016;36:3123-30.
63. Lu J, Fan T, Zhao Q, Zeng W, Zaslavsky E, Chen JJ, et al. Isolation of circulating epithelial and tumor progenitor cells with an invasive phenotype from breast cancer patients. Int J Cancer 2010;126:669-83.
64. Nakagawa T, Martinez SR, Goto Y, Koyanagi K, Kitago M, Shingai T, et al. Detection of circulating tumor cells in early-stage breast cancer metastasis to axillary lymph nodes. Clin Cancer Res 2007;13:4105-10.
65. Mazel M, Jacot W, Pantel K, Bartkowiak K, Topart D, Cayrefourcq L, et al. Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells. Mol Oncol 2015;9:1773-82.
66. Mikulova V, Cabinakova M, Janatkova I, Mestek O, Zima T, Tesarova P. Detection of circulating tumor cells during follow-up of patients with early breast cancer: Clinical utility for monitoring of therapy efficacy. Scand J Clin Lab Invest 2014;74:132-42.
67. Serrano MJ, Rovira PS, Martinez-Zubiaurre I, Rodriguez MD, Fernandez M, Lorente JA. Dynamics of circulating tumor cells in early breast cancer under neoadjuvant therapy. Exp Ther Med 2012;4:43-8.
68. Soltani S, Mokarian F, Panjehpour M. The expression of CK-19 gene in circulating tumor cells of blood samples of metastatic breast cancer women. Res Pharm Sci 2015;10:485-96.
69. Spiliotaki M, Mavroudis D, Kapranou K, Markomanolaki H, Kallergi G, Koinis F, et al. Evaluation of proliferation and apoptosis markers in circulating tumor cells of women with early breast cancer who are candidates for tumor dormancy. Breast Cancer Res 2014;16(6):485-96.
70. Guttery DS, Page K, Hills A, Woodley L, Marchese SD, Rghebi B, et al. Noninvasive detection of activating estrogen receptor 1 (ESR1) mutations in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer. Clin Chem 2015;61:974-82.
71. Divella R, Daniele A, Savino E, Palma F, Bellizzi A, Giotta F, et al. Circulating levels of transforming growth factor-betaeta (TGF-beta) and chemokine (C-X-C motif) ligand-1 (CXCL1) as predictors of distant seeding of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer. Anticancer Res 2013;33:1491-7.
72. Stott SL, Hsu CH, Tsukrov DI, Yu M, Miyamoto DT, Waltman BA, et al. Isolation of circulating tumor cells using a microvortex-generating herringbone-chip. Proc Natl Acad Sci U S A 2010;107:18392-7.
73. Etayash H, Jiang K, Azmi S, Thundat T, Kaur K. Real-time Detection of Breast Cancer Cells Using Peptide-functionalized Microcantilever Arrays. Sci Rep 2015;5:13967.
74. Mostert B, Sleijfer S, Foekens JA, Gratama JW. Circulating tumor cells (CTCs): detection methods and their clinical relevance in breast cancer. Cancer Treat Rev 2009;35:463-74.
75. Wen CY, Wu LL, Zhang ZL, Liu YL, Wei SZ, Hu J, et al. Quick-response magnetic nanospheres for rapid, efficient capture and sensitive detection of circulating tumor cells. ACSNano 2014;8:941-9.
76. Yu M, Stott S, Toner M, Maheswaran S, Haber DA. Circulating tumor cells: approaches to isolation and characterization. J Cell Biol 2011;192:373-82.
77. Hyun KA, Lee TY, Lee SH, Jung HI. Two-stage microfluidic chip for selective isolation of circulating tumor cells (CTCs). Biosens Bioelectron 2015;67:86-92.
78. Lim YC, Wiegmans AP. Tracking metastatic breast cancer: the future of biology in biosensors. Med Oncol 2016;33:1-8.
79. Lim YC, Wiegmans AP. Tracking metastatic breast cancer: the future of biology in biosensors. Med Oncol (Northwood, London, England) 2016;33:36.
80. Litvinov SV, Velders MP, Bakker HA, Fleuren GJ, Warnaar SO. Ep-CAM: a human epithelial antigen is a homophilic cell-cell adhesion molecule. J Cell Biol 1994;125:437-46.
81. Maetzel D, Denzel S, Mack B, Canis M, Went P, Benk M, et al. Nuclear signalling by tumour-associated antigen EpCAM. Nat Cell Biol 2009;11:162-71.
82. Osta WA, Chen Y, Mikhitarian K, Mitas M, Salem M, Hannun YA, et al. EpCAM is overexpressed in breast cancer and is a potential target for breast cancer gene therapy. Cancer Res 2004;64:5818-24.
83. Schneck H, Gierke B, Uppenkamp F, Behrens B, Niederacher D, Stoecklein NH, et al. EpCAM-Independent Enrichment of Circulating Tumor Cells in Metastatic Breast Cancer. Plos One 2015;10:e0144535.
84. Mostert B, Kraan J, Sieuwerts AM, van der Spoel P, Bolt-de Vries J, Prager-van der Smissen WJ, et al. CD49f-based selection of circulating tumor cells (CTCs) improves detection across breast cancer subtypes. Cancer Lett 2012;319:49-55.
85. Lu J, Fan T, Zhao Q, Zeng W, Zaslavsky E, Chen JJ, et al. Isolation of circulating epithelial and tumor progenitor cells with an invasive phenotype from breast cancer patients. Int J Cancer 2010;126:669-83.
86. Fan T, Zhao Q, Chen JJ, Chen WT, Pearl ML. Clinical significance of circulating tumor cells detected by an invasion assay in peripheral blood of patients with ovarian cancer. Gynecol Oncol 2009;112:185-91.
87. Paris PL, Kobayashi Y, Zhao Q, Zeng W, Sridharan S, Fan T, et al. Functional phenotyping and genotyping of circulating tumor cells from patients with castration resistant prostate cancer. Cancer Lett 2009;277:164-73.
88. Bidard F-C, Peeters DJ, Fehm T, Nolé F, Gisbert-Criado R, Mavroudis D, et al. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data. Lancet Oncol 2014;15:406-14.
89. Dawood S, Broglio K, Valero V, Reuben J, Handy B, Islam R, et al. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: from prognostic stratification to modification of the staging system? Cancer 2008;113:2422-30.
90. Franken B, de Groot MR, Mastboom WJ, Vermes I, van der Palen J, Tibbe AG, et al. Circulating tumor cells, disease recurrence and survival in newly diagnosed breast cancer. Breast Cancer Res 2012;14:1-8.
91. Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Miller MC, et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. Clin Cancer Res 2006;12:4218-24.
92. Nole F, Munzone E, Zorzino L, Minchella I, Salvatici M, Botteri E, et al. Variation of circulating tumor cell levels during treatment of metastatic breast cancer: prognostic and therapeutic implications. Ann Oncol 2008;19:891-7.
93. Wallwiener M, Riethdorf S, Hartkopf AD, Modugno C, Nees J, Madhavan D, et al. Serial enumeration of circulating tumor cells predicts treatment response and prognosis in metastatic breast cancer: a prospective study in 393 patients. BMC Cancer 2014;14:1-12.
94. Lowe AC, Pignon JC, Corvo I, Druge MG, Constantine NM, Jones N, et al. Young investigator challenge: Application of cytologic techniques to circulating tumor cell specimens: Detecting activation of the oncogenic transcription factor STAT3. Cancer Cytopathol 2015;123:696-706.
95. Forte VA, Barrak DK, Elhodaky M, Tung L, Snow A, Lang JE. The potential for liquid biopsies in the precision medical treatment of breast cancer. Cancer Biol Med 2016;13:19-40.
96. Schramm A, Friedl TW, Schochter F, Scholz C, de Gregorio N, Huober J, et al. Therapeutic intervention based on circulating tumor cell phenotype in metastatic breast cancer: concept of the DETECT study program. Arch Gynecol Obstet 2016;293:271-81.
97. Sigal EK, Jeffrey SS, eds. Tumor Heterogeneity and Single-cell Analysis of CTCs. Circulating Tumor Cells: John Wiley & Sons, 2016:313-28.
98. Tewes M, Aktas B, Welt A, Mueller S, Hauch S, Kimmig R, et al. Molecular profiling and predictive value of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: an option for monitoring response to breast cancer related therapies. Breast Cancer Res Treat 2009;115:581-90.
99. Fehm T, Muller V, Aktas B, Janni W, Schneeweiss A, Stickeler E, et al. HER2 status of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: a prospective, multicenter trial. Breast Cancer Res Treat 2010;124:403-12.
100. Park YH, Shin HT, Jung HH, Choi YL, Ahn T, Park K, et al. Role of HER2 mutations in refractory metastatic breast cancers: targeted sequencing results in patients with refractory breast cancer. Oncotarget 2015;6:32027-38.
101. . Wallwiener M, Hartkopf AD, Baccelli I, Riethdorf S, Schott S, Pantel K, et al. The prognostic impact of circulating tumor cells in subtypes of metastatic breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2013;137:503-10.
102. Wulfing P, Borchard J, Buerger H, Heidl S, Zanker KS, Kiesel L, et al. HER2-positive circulating tumor cells indicate poor clinical outcome in stage I to III breast cancer patients. Clin Cancer Res 2006;12:1715-20.
103. .Giuliano M, Giordano A, Jackson S, Hess KR, De Giorgi U, Mego M, et al. Circulating tumor cells as prognostic and predictive markers in metastatic breast cancer patients receiving first-line systemic treatment. Breast Cancer Res 2011;13:67.
104. Gentile A, Trusolino L, Comoglio PM. The Met tyrosine kinase receptor in development and cancer. Cancer Mtastasis Rev 2008;27:85-94.
105. Gires O, Klein CA, Baeuerle PA. On the abundance of EpCAM on cancer stem cells. Nat Rev Cancer 2009;9:143.
106. 106. Shimada K, Nakajima A, Ikeda K, Ishibashi K, Shimizu N, Ito K. CD47 regulates the TGF-beta signaling pathway in osteoblasts and is distributed in Meckel's cartilage. J Oral Sci 2011;53:169-75.
107. . Ascolani G, Occhipinti A, Liò P. Modelling Circulating Tumour Cells for Personalised Survival Prediction in Metastatic Breast Cancer. PLoS Comput Biol 2015;11:e1004199.
108. Roy-Chowdhuri S, de Melo Gagliato D, Routbort MJ, Patel KP, Singh RR, Broaddus R, et al. Multigene Clinical Mutational Profiling of Breast Carcinoma Using Next-Generation Sequencing. American J Clin Pathol 2015;144:713-21.
109. Fuhrmann C, Schmidt-Kittler O, Stoecklein NH, Petat-Dutter K, Vay C, Bockler K, et al. High-resolution array comparative genomic hybridization of single micrometastatic tumor cells. Nucleic Acids Res 2008;36:e39-e.
110. . Stoecklein NH, Hosch SB, Bezler M, Stern F, Hartmann CH, Vay C, et al. Direct Genetic Analysis of Single Disseminated Cancer Cells for Prediction of Outcome and Therapy Selection in Esophageal Cancer. Cancer Cell 2008;13:441-53.
111. . Navin N, Kendall J, Troge J, Andrews P, Rodgers L, McIndoo J, et al. Tumour evolution inferred by single-cell sequencing. Nature. 2011;472:90-4.
112. . Heitzer E, Auer M, Gasch C, Pichler M, Ulz P, Hoffmann EM, et al. Complex tumor genomes inferred from single circulating tumor cells by array-CGH and next-generation sequencing. Cancer Res 2013;73:2965-75.
113. Pestrin M, Salvianti F, Galardi F, De Luca F, Turner N, Malorni L, et al. Heterogeneity of PIK3CA mutational status at the single cell level in circulating tumor cells from metastatic breast cancer patients. Mol Oncol 2015;9:749-57.
114. . Polzer B, Medoro G, Pasch S, Fontana F, Zorzino L, Pestka A, et al. Molecular profiling of single circulating tumor cells with diagnostic intention. EMBO Mol Med 2014;6:1371-86.
115. Yu M, Bardia A, Aceto N, Bersani F, Madden MW, Donaldson MC, et al. Ex vivo culture of circulating breast tumor cells for individualized testing of drug susceptibility. Science 2014;345:216-20.
116. . Helzer KT, Barnes HE, Day L, Harvey J, Billings PR, Forsyth A. Circulating tumor cells are transcriptionally similar to the primary tumor in a murine prostate model. Cancer Res 2009;69:7860-6.
117. Marchetti A, Del Grammastro M, Felicioni L, Malatesta S, Filice G, Centi I, et al. Assessment of <italic>EGFR</italic> Mutations in Circulating Tumor Cell Preparations from NSCLC Patients by Next Generation Sequencing: Toward a Real-Time Liquid Biopsy for Treatment. PLoS ONE 2014;9:e103883.
118. . Yu M, Bardia A, Aceto N, Bersani F, Madden MW, Donaldson MC, et al. Ex vivo culture of circulating breast tumor cells for individualized testing of drug susceptibility. Science (New York, NY) 2014;345:216-20.
119. . Cristofanilli M. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. Semin Oncol 2006;33:S9-14.
120. . Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Miller MC, et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. Clin Cancer Res 2006;12:4218-24.
121. . Liu MC, Shields PG, Warren RD, Cohen P, Wilkinson M, Ottaviano YL, et al. Circulating tumor cells: a useful predictor of treatment efficacy in metastatic breast cancer. J Clin Oncol 2009;27:5153-9.
122. . Lucci A, Hall CS, Lodhi AK, Bhattacharyya A, Anderson AE, Xiao LC, et al. Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study. Lancet Oncol 2012;13:688-95.
123. . Nakamura S, Yagata H, Ohno S, Yamaguchi H, Iwata H, Tsunoda N, et al. Multi-center study evaluating circulating tumor cells as a surrogate for response to treatment and overall survival in metastatic breast cancer. Breast Cancer 2010;17:199-204.
124. . Pachmann K, Camara O, Kavallaris A, Krauspe S, Malarski N, Gajda M, et al. Monitoring the response of circulating epithelial tumor cells to adjuvant chemotherapy in breast cancer allows detection of patients at risk of early relapse. J Clin Oncol 2008;26:1208-15.
125. . Rack B, Schindlbeck C, Jückstock J, Andergassen U, Hepp P, Zwingers T, et al. Circulating Tumor Cells Predict Survival in Early Average-to-High Risk Breast Cancer Patients. J Natl Cancer Instit 2014;106:dju066.
126. . Satelli A, Brownlee Z, Mitra A, Meng QH, Li S. Circulating tumor cell enumeration with a combination of epithelial cell adhesion molecule- and cell-surface vimentin-based methods for monitoring breast cancer therapeutic response. Clin Chem 2015;61:259-66.
127. . Serrano MJ, Sanchez-Rovira P, Delgado-Rodriguez M, Gaforio JJ. Detection of circulating tumor cells in the context of treatment: prognostic value in breast cancer. Cancer Biol Ther 2009;8:671-5.
128. . de Albuquerque A, Kaul S, Breier G, Krabisch P, Fersis N. Multimarker Analysis of Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood of Metastatic Breast Cancer Patients: A Step Forward in Personalized Medicine. Breast care (Basel, Switzerland) 2012;7:7-12.
129. . Gradilone A, Naso G, Raimondi C, Cortesi E, Gandini O, Vincenzi B, et al. Circulating tumor cells (CTCs) in metastatic breast cancer (MBC): prognosis, drug resistance and phenotypic characterization. Ann Oncol 2010;22:86-92.
130. . Gradilone A, Raimondi C, Naso G, Silvestri I, Repetto L, Palazzo A, et al. How circulating tumor cells escape from multidrug resistance: translating molecular mechanisms in metastatic breast cancer treatment. Am J Clin Oncol 2011;34:625-7.
131. Jansson S, Bendahl P-O, Larsson A-M, Aaltonen KE, Rydén L. Prognostic impact of circulating tumor cell apoptosis and clusters in serial blood samples from patients with metastatic breast cancer in a prospective observational cohort. BMC Cancer 2016;16:433.
132. . Reinholz MM, Kitzmann KA, Tenner K, Hillman D, Dueck AC, Hobday TJ, et al. Cytokeratin-19 and mammaglobin gene expression in circulating tumor cells from metastatic breast cancer patients enrolled in North Central Cancer Treatment Group trials, N0234/336/436/437. Clin Cancer Res 2011;17:7183-93.
133. . Tewes M, Aktas B, Welt A, Mueller S, Hauch S, Kimmig R, et al. Molecular profiling and predictive value of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: an option for monitoring response to breast cancer related therapies. Breast Cancer Res Treat 2009;115:581-90.
134. . Wallwiener M, Hartkopf AD, Baccelli I, Riethdorf S, Schott S, Pantel K, et al. The prognostic impact of circulating tumor cells in subtypes of metastatic breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2013;137:503-10.
135. Wang HY, Ahn S, Kim S, Park S, Han H, Sohn JH, et al. Detection of circulating tumor cells in patients with breast cancer using the quantitative RT-PCR assay for monitoring of therapy efficacy. Exp Mol Pathol 2014;97:445-52.
136. . Zehentner BK, Secrist H, Hayes DC, Zhang X, Osteason RC, Loop S, et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of breast cancer patients during or after therapy using a multigene real-time RT-PCR assay. Molecular diagnosis Ther 2006;10:41-7.

between primary tumors and CTCs (112-114) offer fundamental information for personalized treatment decisions and shed light on drug resistance and tumor heterogeneity mechanisms (114).

Especially for individualized testing of the drug some studies have been working on in vitro and in vivo CTCs culture (115,116) and assessed gene mutations in circulating tumor cell from cancer patients by next generation sequencing (NGS) (55,117). Mutation detection in PIK3CA, FGFR2, and ESR-1 through CTC-iChip in breast cancer patients and drug sensitivity testing revealed that the selective estrogen receptor modulators (SERMs) tamoxifen and raloxifene, and the selective ER degrader (SERD) fulvestrant, were ineffective inESR-1 mutant cells. Cultured CTCs were highly sensitive to the PIK3CA inhibitor BYL719 and the FGFR2 inhibitorAZD4547 (118). The enumeration of CTCs using Cell Search system and CAM assay which rely on the expression of the cell surface marker (EpCAM,CD49f, CD146/ EpCAM enrichment) during or after treatment is mostly beneficial for predicting early metastatic relapse.

In conclusion it can said that the clinical significance of CTCs molecular profiling and characteristics is more accurate than CTCs enumeration before and during treatment, especially for making the best personalized treatment decision CTCs molecular markers like Her2, EGFR, CEA, CA15-3, CK19, Ki67, PIK3CA, TGF-β, and CXCL1 are really valuable to be checked.

References

1. National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology. (Accessed December 2016, 30, at http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/breast.pdf.
2. ACS Research Updates,10 Must-Know 2015 Global Cancer Facts. American Cancer Society. 2015. (Accessed December 2016, 30, at https://www.cancer.org/latest-news/10-must-know-2015-global-cancer-facts.html).
3. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature 2000;406:747-52.
4. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci U S A 2001;98:10869-74.
5. Gort M, Broekhuis M, Otter R, Klazinga NS. Improvement of best practice in early breast cancer: actionable surgeon and hospital factors. Breast Cancer Res Treat 2007;102:219-26.
6. Elston CW EI, Pinder SE. Prognostic factors in invasive carcinoma of the breast. Clin Oncol (R Coll Radiol) 1998;10:3.
7. Curtis C, Shah SP, Chin S-F, Turashvili G, Rueda OM, Dunning MJ, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. Nature 2012;486:346-52.
8. Milioli HH, Vimieiro R, Riveros C, Tishchenko I, Berretta R, Moscato P. The Discovery of Novel Biomarkers Improves Breast Cancer Intrinsic Subtype Prediction and Reconciles the Labels in the METABRIC Data Set. PLoS ONE 2015;10:e0129711.
9. Van Poznak C, Somerfield MR, Bast RC, Cristofanilli M, Goetz MP, Gonzalez-Angulo AM, et al. Use of biomarkers to guide decisions on systemic therapy for women with metastatic breast cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. J Clin Oncol 2015;20:2695-704.
10. Ross JS, Symmans WF, Pusztai L, Hortobagyi GN. Breast cancer biomarkers. Adv Clin Chem 2004;40:99-125.
11. Martelotto LG, Ng CK, Piscuoglio S, Weigelt B, Reis-Filho JS. Breast cancer intra-tumor heterogeneity. Breast Cancer Res 2014;16:1-11.
12. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. N Engl J Med 2012;366:883-92.
13. Bedard PL, Hansen AR, Ratain MJ, Siu LL. Tumour heterogeneity in the clinic. Nature 2013;501:355-64.
14. Pantel K, Alix-Panabières C. Real-time liquid biopsy in cancer patients: fact or fiction? Cancer Res 2013;73:6384-8.
15. Sun YF, Yang XR, Zhou J, Qiu SJ, Fan J, Xu Y. Circulating tumor cells: advances in detection methods, biological issues, and clinical relevance. J Cancer Res Clin Oncol 2011;137:1151-73.
16. Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. Clin Cancer Res 2004;10:6897-904.
17. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. N Engl J Med 2004;351:781-91.
18. Bidard FC, Mathiot C, Delaloge S, Brain E, Giachetti S, de Cremoux P, et al. Single circulating tumor cell detection and overall survival in nonmetastatic breast cancer. Ann Oncol 2010;21:729-33.
19. Xenidis N, Ignatiadis M, Apostolaki S, Perraki M, Kalbakis K, Agelaki S, et al. Cytokeratin-19 mRNA-positive circulating tumor cells after adjuvant chemotherapy in patients with early breast cancer. J Clin Oncol 2009;27:2177-84.
20. Cristofanilli M, Hayes DF, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Reuben JM, et al. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. J Clin Oncol 2005;23:1420-30.
21. Riethdorf S, Muller V, Zhang L, Rau T, Loibl S, Komor M, et al. Detection and HER2 expression of circulating tumor cells: prospective monitoring in breast cancer patients treated in the neoadjuvant GeparQuattro trial. Clin Cancer Res 2010;16:2634-45.
22. Gradilone A, Naso G, Raimondi C, Cortesi E, Gandini O, Vincenzi B, et al. Circulating tumor cells (CTCs) in metastatic breast cancer (MBC): prognosis, drug resistance and phenotypic characterization. Ann Oncol 2011;22:86-92.
23. Hayes DF, Smerage J. Is there a role for circulating tumor cells in the management of breast cancer? Clin Cancer Res 2008;14:3646-50.
24. Giuliano M, Herrera S, Christiny P, Shaw C, Creighton CJ, Mitchell T, et al. Circulating and disseminated tumor cells from breast cancer patient-derived xenograft-bearing mice as a novel model to study metastasis. Breast Cancer Res 2015;17:3.
25. Toss A, Mu Z, Fernandez S, Cristofanilli M. CTC enumeration and characterization: moving toward personalized medicine. Ann Trans Med 2014;2:108.
26. Smith BM, Slade MJ, English J, Graham H, Luchtenborg M, Sinnett HD, et al. Response of circulating tumor cells to systemic therapy in patients with metastatic breast cancer: comparison of quantitative polymerase chain reaction and immunocytochemical techniques. J Clin Oncol 2000;18:1432-9.
27. Liu MC, Shields PG, Warren RD, Cohen P, Wilkinson M, Ottaviano YL, et al. Circulating tumor cells: a useful predictor of treatment efficacy in metastatic breast cancer. J Clin Oncol 2009;27:5153-9.
28. Liu Z, Fusi A, Schmittel A, Tinhofer I, Schneider A, Keilholz U. Eradication of EGFR-positive circulating tumor cells and objective tumor response with lapatinib and capecitabine. Cancer Biol Ther 2010;10:860-4.
29. Ascolani G, Occhipinti A, Lio P. Modelling circulating tumour cells for personalised survival prediction in metastatic breast cancer. PLoS Comput Biol 2015;11:e1004199.
30. De Giorgi U, Valero V, Rohren E, Mego M, Doyle GV, Miller MC, et al. Circulating tumor cells and bone metastases as detected by FDG-PET/CT in patients with metastatic breast cancer. Ann Oncol 2010;21:33-9.
31. Green TL, Cruse JM, Lewis RE, Craft BS. Circulating tumor cells (CTCs) from metastatic breast cancer patients linked to decreased immune function and response to treatment. Exp Mol Pathol 2013;95:174-9.
32. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. N Engl J Med 2004;351:781-91.
33. Bidard FC, Peeters DJ, Fehm T, Nole F, Gisbert-Criado R, Mavroudis D, et al. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data. Lancet Oncol 2014;15:406-14.
34. Bidard F-C, Mathiot C, Delaloge S, Brain E, Giachetti S, de Cremoux P, et al. Single circulating tumor cell detection and overall survival in nonmetastatic breast cancer. Ann Oncol 2010;21:729-33.
35. Pierga JY, Hajage D, Bachelot T, Delaloge S, Brain E, Campone M, et al. High independent prognostic and predictive value of circulating tumor cells compared with serum tumor markers in a large prospective trial in first-line chemotherapy for metastatic breast cancer patients. Ann Oncol 2012;23:618-24.
36. Pierga JY, Bidard FC, Mathiot C, Brain E, Delaloge S, Giachetti S, et al. Circulating tumor cell detection predicts early metastatic relapse after neoadjuvant chemotherapy in large operable and locally advanced breast cancer in a phase II randomized trial. Clin Cancer Res 2008;14:618-24.
37. Contractor K, Aboagye EO, Jacob J, Challapalli A, Coombes RC, Stebbing J. Monitoring early response to taxane therapy in advanced breast cancer with circulating tumor cells and [18F] 3′-deoxy-3′-fluorothymidine PET: a pilot study. Biomark Med 2012;6:231-3.
38. De Giorgi U, Valero V, Rohren E, Dawood S, Ueno NT, Miller MC, et al. Circulating tumor cells and [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography for outcome prediction in metastatic breast cancer. J Clin Oncol 2009;27:3303-11.
39. Hall C, Karhade M, Laubacher B, Anderson A, Kuerer H, DeSynder S, et al. Circulating Tumor Cells After Neoadjuvant Chemotherapy in Stage I-III Triple-Negative Breast Cancer. Ann Surg Oncol 2015;22:S552-8.
40. Karhade M, Hall C, Mishra P, Anderson A, Kuerer H, Bedrosian I, et al. Circulating tumor cells in non-metastatic triple-negative breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2014;147:325-33.
41. Hall CS, Karhade M, Laubacher BA, Kuerer HM, Krishnamurthy S, DeSnyder S, et al. Circulating Tumor Cells and Recurrence After Primary Systemic Therapy in Stage III Inflammatory Breast Cancer. J Natl Cancer Inst 2015;107:djv250.
42. Müller V, Riethdorf S, Rack B, Janni W, Fasching PA, Solomayer E, et al. Prognostic impact of circulating tumor cells assessed with the CellSearch System™ and AdnaTest Breast™ in metastatic breast cancer patients: the DETECT study. Breast Cancer Res 2012;14:1-8.
43. Giuliano M, Giordano A, Jackson S, Hess KR, De Giorgi U, Mego M, et al. Circulating tumor cells as prognostic and predictive markers in metastatic breast cancer patients receiving first-line systemic treatment. Breast Cancer Res 2011;13:1-9.
44. Giordano A, Giuliano M, De Laurentiis M, Arpino G, Jackson S, Handy BC, et al. Circulating tumor cells in immunohistochemical subtypes of metastatic breast cancer: lack of prediction in HER2-positive disease treated with targeted therapy. Ann Oncol 2012;23:1144-50.
45. Giordano A, Giuliano M, De Laurentiis M, Ekuteri A, Iorio F, Tagliaferri R, et al. Artificial neural network analysis of circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients. Breast Cancer Res Treat 2011;129:451-8.
46. Peeters DJ, van Dam PJ, Van den Eynden GG, Rutten A, Wuyts H, Pouillon L, et al. Detection and prognostic significance of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer according to immunohistochemical subtypes. Br J Cancer 2014;110:375-83.
47. Nadal R, Fernandez A, Sanchez-Rovira P, Salido M, Rodriguez M, Garcia-Puche JL, et al. Biomarkers characterization of circulating tumour cells in breast cancer patients. Breast Cancer Res 2012;14:R71.
48. Ignatiadis M, Rothe F, Chaboteaux C, Durbecq V, Rouas G, Criscitiello C, et al. HER2-positive circulating tumor cells in breast cancer. PLoS One 2011;6:e15624.
49. Ligthart ST, Coumans FAW, Attard G, Mulick Cassidy A, de Bono JS, Terstappen LWMM. Unbiased and automated identification of a circulating tumour cell definition that associates with overall survival. Plos One 2011;6:e27419.
50. Apostolaki S, Perraki M, Pallis A, Bozionelou V, Agelaki S, Kanellou P, et al. Circulating HER2 mRNA-positive cells in the peripheral blood of patients with stage I and II breast cancer after the administration of adjuvant chemotherapy: evaluation of their clinical relevance. Ann Oncol 2007;18(5):851-8.
51. Fehm T, Becker S, Duerr-Stoerzer S, Sotlar K, Mueller V, Wallwiener D, et al. Determination of HER2 status using both serum HER2 levels and circulating tumor cells in patients with recurrent breast cancer whose primary tumor was HER2 negative or of unknown HER2 status. Breast Cancer Res 2007;9:R74.
52. Fehm T, Hoffmann O, Aktas B, Becker S, Solomayer EF, Wallwiener D, et al. Detection and characterization of circulating tumor cells in blood of primary breast cancer patients by RT-PCR and comparison to status of bone marrow disseminated cells. Breast Cancer Res 2009;11:R59.
53. Munzone E, Nole F, Goldhirsch A, Botteri E, Esposito A, Zorzino L, et al. Changes of HER2 status in circulating tumor cells compared with the primary tumor during treatment for advanced breast cancer. Clin

oncogene Her2 (21,39,50,54,89,99). The result of these studies indicates that after the accomplishment of adjuvant chemotherapy, detection of Her2 positive CTCs may provide clinically useful information related to the treatment efficacy (50). The clinical trial Gepar Quattro combined neoadjuvant (NT) attitudes (epirubicin/cyclophosphamide prior to randomization to docetaxel alone, docetaxel in combination with capecitabine, or docetaxel followed by capecitabine) plus additional trastuzumab treatment in patients who have Her2-positive tumors then shown that CTCs detection had not been connected to the primary tumor characteristics, but CTC Her2 overexpression was limited to ductal carcinomas and was completely connected to the higher tumor stage (21). CTC numbers were truncated in patients with primary breast cancer, in addition, the reduction in CTCs amount during treatment was not related to the standard clinical characteristics and primary tumor response so the evidence of the CTCs Her2 might be beneficial for Her2-directed therapies monitoring (21). Moreover several studies checked the prognostic impact of Her2 in combination with some other cellular markers like hormone receptors (ER and PR) and Her2expression (45,46,55,100-102), epidermal growth factor receptor (EGFR) and Her2 in reaction to a treatment regime comprising lapatinib (a dual EGFR and Her2 tyrosine kinase inhibitor) (28). EGFR-positive CTCs were associated with Luminal tumors in a patient who is impressed by chemorefractory metastatic Her2-positive breast cancer receiving lapatinib (47). Disease progress was completely connected to a recurrence in CTCs; representing EGFR expression could calculate a response to lapatinib-based treatments (28).

CTCs prognostic outcome was fewer evident in Her2 positive MBC patients cured by targeted therapy (45), which support this idea that the quantity of CTCs, together with the biologic characteristics, desires to be wisely taken into account in the future analysis. In non-metastatic breast cancer CTC biomarker analysis more than Her2might be useful as a replacement marker for therapeutic selection and monitoring since heterogeneity of the biomarker distribution in CTCs and the lack of correlation with the primary tumor biomarker status were found (47). By way of illustration a trial which checked the multidrug-resistance-related proteins (MRPs), aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1), estrogen receptor an (ERa) plus Her2/neu, indicated to the existence of CTCs expressing MRPs and ALDH1, is prognostic for chemotherapy response in MBC patients (43). A difference in PFS was obvious in two groups of CTCs+and CTCs-patients that were undersized in patients with a drug resistance CTCs profile and in patients who has expressed two or more MRPs on their CTCs, so the existence of CTCs expressing MRPs and ALDH1 stands prognostic for chemotherapy (22,103).

Four markers (EPCAM, CD47, CD44 and MET) which are known to be involved in tumor genesis (104, 105) and are co-regulated with the TGF-β signaling pathway (106) has been checked in the earliest stage of breast cancer to plan intervention settings that modify the patient-specific survival prospect (29). Through a branching process model, the survival times and this four markers gene expression correlation can predict personalized OS or PFS especially drugs such as bisphosphonates. The analysis of circulating tumor cells effects on the disease progression offering a quantitative measurement of the cell driver mutations which are responsible for invading the bone tissue. This model lets to plan intervention scenarios that adjust the patient-specific survival chance by altering the populations of circulating tumor cells, in addition, the situation could be extended to other cancer metastasis dynamics (107).

Thanks to several advancements in molecular genetics technology like high-throughput NGS, multi-gene mutation analysis that provides comprehensive genetic information on breast cancer molecular pathology, make it much easier to find a precision and more effective therapeutic targets (108). Two studies, evaluating genomic alterations in cancer-related genes of CTCs to provide insights into mechanisms of tumor metastases and drug resistance (55,56). It has been shown that CTC characteristics are more closely linked to the dynamic modifications of the disease status and CTCs genetic analysis is a non-invasive approach based on the liquid biopsy in metastatic breast cancer patients which, in perspective, should allow investigating the clonal evolution of the tumor for the development of new therapeutic strategies in precision medicine(55). Some researchers indicated to the fact that NGS in combination with Fluorescence-activated cell sorting (FACS) and Immunohistochemistry (IHC) is an excellent way to outline copy number in a single cell in several cancer types, as well as breast cancer (46,109-111). Also, single cell analysis has identified the clinically significant genomic difference

blockade (53,65).

• MUC1, TOP1, TOP2A, CTSD, ST6, CK19 as a promising early marker of disease progression which is useful for both on behalf of both the prediction of outcome and checking the effect of treatment (66).

• Cytokeratin 7, 8, 18 and 19 (67) to predicting early metastatic relapse or monitoring of anti-metastasis treatments (68).

• Apoptotic markers like Ki67 and M30 (69) that are enlarged during clinical dormancy, but the proliferation index is augmented on relapse or late disease recurrence (69).

• Hotspot mutations in ESR1, phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha (PIK3CA), tumor protein p53 (TP53), fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1), and fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) for termination of ineffective endocrine therapies and substituting another treatment (70).

• Circulating levels transforming growth factor-βeta (TGF-β) and Chemokine (C-X-C Motif) Ligand-1 (CXCL1) which are linked to the poor prognosis, besides lung metastases in patients with breast cancer (71).

Discussion

There has been a growing interest in exploring the clinical significance of CTCs in personalized diagnosis and treatment of breast cancer over the last decade. Here, we report the first systematic review of published studies evaluating the association of CTCs enumeration and molecular identification with clinicopathological characteristics and clinical outcome breast cancer. We identified sixty-nine studies. One of them was related to the best techniques for detection the early markers of response to chemotherapy which may ultimately lead to tailored therapies and avoid cumulative toxicity, using metabolic imaging with [18F] 3′-deoxy-3′-fluorothymidine PET (FLT-PET) in women with advanced breast cancer, before and during docetaxel therapy could provide a powerful, albeit expensive, tool to assess immediate responses to therapy (37). Another study was related to using of whole-body FDG-PET/CT in MBC patients who has relapsed/progressive MBC. It is shown that existence of widespread bone metastases identified by FDG-PET/CT is connected directly to the increased CTC numbers in MBC (30). Recently some methods have been established for constantly identifying and quantifying CTCs in blood samples (72-75). Breakthrough in the biosensor field and microfluidic chip for discriminating separation of circulating tumor cells (CTCs) recently have brought the new insight for tracking metastatic breast cancer, CTCs enrichment and isolation platforms (76-79).

Sixty-seven studies were mainly focused on CTC isolation, enumeration and characterization before and during therapy to estimate the utility in changing therapy against maintaining therapy in breast cancer patients. Most assays established for the enumeration of CTCs by means of CellSearch system which rely on the expression of the epithelial cell adhesion molecule (EpCAM). EpCAM is a transmembrane glycoprotein mediating Ca2+-independent cell adhesion molecule in epithelial which also is involved in cell signaling, migration, proliferation, and differentiation (80-82). The weak point of this method is that may not detect CTCs that express no/low levels of EpCAM like cells which are undergoing epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)(83), therefore estimated the value of several cytokeratin and CD49f to distinguish CK8/18/19- negative CTCs. For further improvement of CTC detection in breast cancer shared staining of CK8/18/19 and CD49f following CD146/EpCAM enrichment is suggested (84). Furthermore, a functional cell separation method, called collagen adhesion matrix (CAM) assay, has described recently to improve enrichment and identification steps methods (85-87). Although CTC status was prognostic and changing CTC levels during chemotherapy are useful to monitor therapy efficacy (20,30,31,34,39-41,43,58,88-93), simple enumeration has a low predictive value and cannot predict a specific course of treatment (94,95), and it needs to be added to full clinic-pathological predictive models (88). The early DETECT trials revealed that a serial CTC measurements before and after chemotherapy shown a prognostic value (42,57) but subsequent related trials evaluating targeted agents based on phenotypes of CTCs (96). Molecular characterization of CTCs is an important step forward to the way of personalizing management of breast cancer to inform the discovery of exact therapeutic predictors. Because of high circulating tumor cell (CTC) heterogeneity (97), it can easily say that there is an extreme need for molecular profiling of CTCs including protein expression, phenotypic changes and gene expression (48,98). It has been shown that treatment efficiency or recurrent of breast tumors (MBC or TNBC) could be predictable with analysis the expression of some molecules like a proto-

predictive of survival in all MBC subtypes excluding Her2 positive patients who had been received targeted therapy (44,45). Some data propose a lower prognostic implication of CTC evaluation in Her2-positive patients with MBC (46).

Additional thirty-seven researches mostly consider cellular markers and gene expression profile of CTCs and have more emphasize on personalized breast cancer diagnosis and treatment (Table 1). In twenty-one of them the most common molecular marker was a proto-oncogene Neu (Her2) alone or collectively with other molecules such as epithelial cell adhesion molecule (EPCAM), progesterone receptor (PR, also known as NR3C3 or nuclear receptor subfamily 3, group C, member 3) and estrogen receptors (ERs) (47). They indicated that checking of Her2 expression on CTCs might be beneficial in trials with anti-Her2 (48) or optimizing individually tailored therapies in Her2-positive MBC patients (49), also the finding of Her2 mRNA-positive CTCs after the adjuvant chemotherapy completion possibly will provide clinically useful data concerning the efficacy of treatment and operable breast cancer prognosis (50). Her2-positive CTCs count will be required to compare the assay-dependent Her2 status of CTCs to the clinical response to Her2-targeted therapies (48,51,52) because patients with Her2 overexpression in CTCs taken inferior progression-free survival compared with those without CTCs or with Her2-CTCs (53).

Lapatinib, which may be given with the chemotherapy drug capecitabine (Xeloda) or a biological therapy called trastuzumab (Herceptin) is an effective drug in decreasing Her2-positive CTCs in patients with MBC irrespectively of the Her2 status of the primary tumor (54) but in one reported case it is shown that expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) could predict response to lapatinib-based treatments (28). The association between EGFR-positive CTCs and Luminal tumors was justified in one study (47).

In one research whole genome amplification 3-5 single CTCs per patient were analyzed by next generation sequencing (NGS) for fifty cancer-related genes (55). They found 51 sequence variants in 25 genes including both inter- and intra-patient heterogeneity in the mutational status of CTCs. The highest number of somatic deleterious mutations was found in the gene TP53, whose mutation is associated by means of adverse prognosis in breast cancer and supports the applicability of a non-invasive approach based on the liquid biopsy in MBC patients for the development of new therapeutic strategies in precision medicine. Checking the status of eight genes mRNA expression profile in circulating tumor cells conducted by Reijm E.A., et al., identified that 75% most variable genes which are differentially expressed in two groups of good and poor responders and was significantly associated with outcome (56). This predictor recognized poor responding patients with a sensitivity of 63% and a positive predictive value of 75%, whereas good responding patients were properly predicted in 85% of the cases.

Some of other studied molecule markers are

• Carcino Embryonic Antigen (CEA) and Cancer Antigen 15-3 (CA15-3) amount combination can predict survival (OS and PFS) (33,57-60). Independent prognostic significance of elevated preoperative serum CEA and CA15-3 levels were reconfirmed in Luminal B breast cancer (60,61).

• Interleukin-4,-5,-6,-8-13, Th2 cytokines (62) In CTC-negative patients, expression of interleukin-8 (IL-8) and IL-13 had increased on the occasion of being negative for progesterone receptor. IL-5 was significantly enlarged in patients with human epidermal growth factor receptor 2 (Her2)-positive and lymph node-positive, IL-4 was increased in patients with progesterone receptor-positive and estrogen receptor-negative, in addition, IL-6 levels was escalated in patients with tumor grade G3 lacking progesterone receptor expression. Th2 cytokines are expressively changed in patients who were CTC-negative and progesterone receptor-positive consequently IL-4 plays a leading role in the poor outcome of a number of breast cancer cases (62).

• Stanniocalcin-1 (STC-1), N-acetyl galactosaminyl transferase (GalNacT), and melanoma antigen gene family-A3 (MAGE-A3) assessment by quantitative Real Time (qRT) PCR for mRNA expression showed a correlation between the total axillary LN (ALN), non- sentinel lymph node (SLN) and SLN histopathology status. So the recognition of CTCs proposes an innovative means to assess the presence of systemic disease spreading relative to SLN and ALN histopathology status (63,64).

• The immune checkpoint regulators such as PD-L1(CD279), PD-L2 (B7-DC; CD273), reported the expression of PD-L1 on CTCs and CTC/PD-L1 assay as a useful screening for liquid biopsy in future clinical trials for stratification and monitoring of cancer patients undergoing immune checkpoint

kappa (κ) coefficient, and disagreement was resolved by discussion (16).

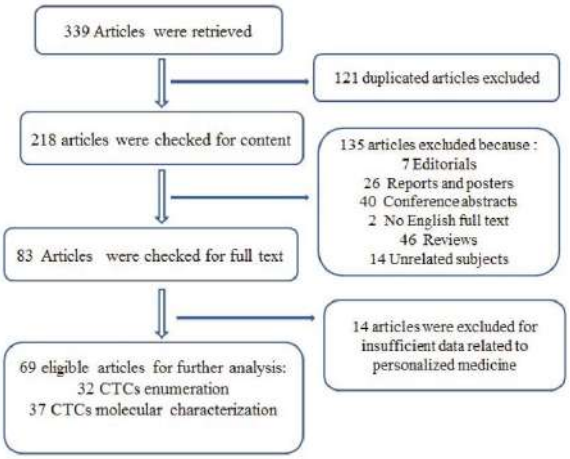


Figure 1. PRISMA flow diagram presenting the results of the literature search and study selection process

Data extraction

For eligible studies specific data elements included the following: author, year of publication, journal citation, country, inclusion and exclusion criteria, study design and methodology for CTCs isolation and characterization (including but not limited to the cell surface markers, and definition of positive thresholds distribution of pathological factors including patients' age, tumor histology, tumor grade, type of breast cancer, tumor stage, and residual disease), details related to the therapeutic strategy (type of treatment , chemotherapy agents); duration and completeness of follow-up, analytical strategy between CTCs and outcome (s) of interest.

Assessment of bias in included studies

The methodological quality of the included studies was assessed in accordance with the risk bias guidelines in the Cochrane reviewers' Handbook 5.1.0. The risk of bias of the studies was assessed according to the following criteria: (1) the design of study; (2) whether or not patients included in analyses were representative of the larger population of breast cancer patients in a similar clinical setting (external validity); and (3) whether or not bias within the study design and analysis was appropriately considered (i.e. internal validity).

Results

Characteristics of included studies: Sixty-nine studies were included in the final analysis. There was a high grade of concordance between reviewers (κ=0.9) in selecting the studies to be included in this systematic review. Most studies were case series; other study designs included: case-control and cohort studies. On studies was case presentation (28) and one another was a multi-compartment model which imitates the dynamics of tumor cells in the mammary duct, in both bones and circulatory system (29). Study size ranged from 1(case presentation) to 2026 patients. The most frequent of the patients had metastatic breast cancer (MBC). The timing for the collection of CTCs varied widely among studies.

Thirty-two studies just focused on using Cell Search system and Cell Spotter Analyzer for CTCs enrichment, isolation, and enumeration. They check CTCs number at the starting point, through the first weeks of treatment and after treatment completion as a factor for progression-free survival (PFS), overall survival (OS) and relapse in different patients. CTCs are defined mostly in place of cytokeratin (CK) positive and CD45 negative cells. Detection of five or more CTCs per 7.5 mL blood during therapeutic monitoring can accurately predict prognosis in MBC (30) and significantly decreased responses by their immune cells in comparison with those patients who had 5 CTCs or less (20,31,32) so it is a strong prognostic factor for OS during neoadjuvant chemotherapy (NACT) in MBC patients (33-36). About positron emission tomography–computed tomography (PET) it can easily say that FDG-PET/CT and FLT-PET and CTC analyses could be considered to potentially predict early response when used in combination; correlations with OS and PFS (37,38). One or more CTCs present after neoadjuvant chemotherapy predicted relapse and survival in non-metastatic triple-negative breast cancer (TNBC) patients but CTCs presence was not connected to the primary tumor size, high grade or lymph node positivity (39,40) and also CTCs after primary chemotherapy recognized inflammatory breast cancer (IBC) patients who are at risk of relapse (41). The results indicate that the CellSearchTM system is superior to the DNA Test in the way of clinical outcome in advanced breast cancer prediction (42). Finally ,prognostic information provided by CTC count may be useful in patient stratifications and therapeutic selection (particularly in the group with positive CTCs) (43), but CTCs were powerfully

Introduction

Breast cancer is the most common type of cancer amongst women in both developed and developing countries (1). According to American Cancer Society, the new breast cancer cases among women in 2012 was 1,676,600. The number of breast cancer deaths in women in 2012 was 521,900 all over the world (2). Most women undergo surgery for breast cancer and also receive other treatment such as hormone therapy, chemotherapy or radiation before or after surgery (lumpectomy, mastectomy, sentinel node biopsy, auxiliary lymph node dissection or removing both breasts). One of the problematic issues about breast cancer is drug resistance and tumor relapse which occurred in an unpredictable level in different patients that means not all patients respond equally to cancer therapeutic compounds. At the molecular level, how a person responds to a cancer therapy is running in their gene expression pattern, genetic changes and their position in the cancer genome (3-5). The reference book from the WHO clusters breast cancer into 17 different types according to their microscopic appearance (6) and The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumors discloses novel subgroups (7).

Thanks to the use of biotechnologies, impressive steps toward understanding the biology of breast cancer have been accomplished over last decade. In order to discover the genomic characteristics of breast cancer, new generation of biomarkers has become available with the discovery of the genetic alterations that are responsible for the initiation and progression of human breast cancers (8-10). Because of breast cancer intra-tumor heterogeneity (11) for real-time monitoring of the treatment, there is an essential need to repeat tumor biopsies from different anatomical areas and at different time-points. However, common tissue biopsies of a small tumor region may not provide an exact characterization of the genetic, epigenetic and/or phenotypic alterations found in the tumor as a whole (12,13). Additionally, it is quite challenging since it is costly, painful, hard to repeat and potentially risky for the patient.

For cancer research, liquid biopsies, which are a diagnostic concept, open a new perspective for real time tracking of cancer. Liquid biopsy is defined as circulating tumor cells (CTCs) and fragments of tumor DNA (ctDNA) that are released into the blood from the primary tumor and from metastatic sites (14). As we know for tumor metastasis the spread of a primary tumor to the blood stream through CTCs is a critical step (15). Circulating tumor cells (CTCs) are cancerous cells originating from a primary or metastatic tumor and shed into the peripheral blood (16). In breast cancer (BC), CTCs are detectable in patients with both early stages and late stages of disease (17-19). It has been shown that the CTCs detection may help to predict the clinical outcome in patients with different types of cancers, especially the enumeration of CTCs before starting systemic treatment in both metastatic and non-metastatic breast cancer patients (20). Furthermore, CTC count at different time points during systemic treatment could be a reliable marker of treatment response and have to decide on therapies based on molecular characteristics of CTCs (21-24). Because CTCs are found in circulation as a collectible fraction that is representative of the tumor, they may provide an ideal model to study the biology of the tumor at various intervals before and during treatment (23,24).

Take everything into consideration; precision breast cancer treatment can be possible by using CTCs enumeration or characterization (25). Interestingly, several authors have shown that monitoring CTC levels facilitate prediction of treatment efficacy (26,27). In this article, we provide a first-time systematic review about research focusing on using both CTCs enumeration and molecular characterization and personalization of therapeutic and diagnostic procedures of breast cancer.

Materials and Methods

An independent systematic review of the literature across PubMed, web of Science and Scopus was conducted in July 2016. The search strategy included keywords such as "CTCs" or "Circulating Tumor Cells" or "liquid biopsy" and "breast cancer" and "personalized medicine" or "precision therapy" or "P4 medicine" or "stratified medicine" through their title, abstract and text from October 1990 to June 2016. Only studies published in peer-reviewed journals were included, data from letters and conference abstracts or report were not included. The study selection process is shown in Figure 1 and search strategies, and results are provided in additional File 1. Two reviewers evaluated all the candidate titles and abstracts categorized by the search strategy, and all potentially relevant publications were retrieved in full. They independently evaluated the selected articles for study eligibility. After a preliminary review of articles for study inclusion, an inter-reviewer agreement was assessed with the Cohen's

The Potential of Circulating Tumor Cells in Personalized Management of Breast Cancer: A Systematic Review

Fatemeh Khatami

Fatemeh Khatami[1], Hamid Reza Aghayan[1], Maryam Sanaei[1], Ramin Heshmat[1], Seyed Mohammad Tavangar[2*], Bagher Larijani[3]**

1. Chronic Disease Research Center (CDRC), Endocrinology and Metabolism Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Iran
2. Department of Pathology, Doctor Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Iran
3. Endocrinology and Metabolism Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Iran

Corresponding Author: S. M. Tavangar* and B. Larijani**

*Department of Pathology, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Endocrinology and Metabolism Research Center and Director of Medical Ethics and History of Medicine Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding author E-mail : **Tavangar@ams.ac.ir, mehr@tums.ac.ir**

Abstract

Circulating tumor cells (CTCs) recognition and characterization in the peripheral blood of patients with breast cancer have proven practical and predictive value in different studies. However, the clinical significance of CTCs enumeration and molecular characterization in the personalization of breast cancer diagnosis and treatment remains under the debate. A literature search in PubMed, Web of Science and Scopus was performed from October 1990 to June 2016 for studies which evaluating CTCs and its association with clinical and pathological characteristics and medical outcome in the field of breast cancer personalization for both diagnosis and treatment categories. The treatment outcomes were progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) or relapse in different patients. Sixty-nine studies met the inclusion criteria. The sample size varies from 1 to 2026. Median follow-up was 15 months (range 3-27). Different molecular techniques have been applied to research, but they mostly are based on CTCs enrichment and then detection by using FDA-approved Cell SearchTM. By far the most studies define CTCs as cytokeratins (CK) positive and CD45 negative cells. Despite the differences in methodology, twenty-eight studies for breast cancer diagnosis and prognosis were mainly focused on CTCs isolation and enumeration. Forty-three researches were about CTCs count and exact molecular characterization.In the way of precision treatment, CTCs detection before starting the first-line of therapy or during therapy in breast cancer patients is extremely valuable, but in the way of precision medicine it should be supported with some molecular characteristics of CTCs like CTCs phenotypic changes, gene expression analysis of CTCs and molecular characteristics of CTCs

ژنتیک یک الزام
پیشگیری قبل از درمان

PGP
PARS GENE PAZHOH
پارس ژن پژوه ایرانیان

www.parsgenelab.com

تهران، جردن، خیابان ارمغان شرقی، پلاک ۳۹، واحد ۷
تلفن: ۵۸ ۱۴ ۲۳ ۲۶ (۰۲۱) - ۵۶ ۱۴ ۲۳ ۲۶ (۰۲۱)
Unit7, No.39, East Armaghan St., Jordan, Tehran-Iran
Tel. : +98 21 26 23 14 56 & +98 21 26 23 14 58

References

1. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. Cell 2001; 104:545–556.
2. Gupta R, Gupta S, Gupta VP, Prakash H. Prevalence and determinants of hypertension in the urban population of Jaipur in western India. J Hypertens 1995: 13;1193-200.
3. MacGregor GA, Markandu ND, Roulston JE, Jones JC, Morton JJ. Maintenance of blood pressure by the renin-angiotensin system in normal man. Nature 1981; 291:329-331.
4. Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charru A, et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. Cell 1992; 71:169-180.
5. Davisson RL, Ding Y, Stec DE, Catterall JF, Sigmund CD. Novel mechanism of hypertension revealed by cell-specific targeting of human angiotensinogen in transgenic mice. Physiol Genomics 1999; 1:3-9.
6. Kunz R, Kreutz R, Beige J, Distler A, Sharma AM. Association between the angiotensinogen 235T-variant and essential hypertension in whites: a systematic review and methodological appraisal. Hypertension 1997; 30:1331-1337.
7. Danser AH, Derkx FH, Hense HW, Jeunemaitre X, Riegger GA, and Schunkert H. Angiotensinogen (M235T) and angiotensin-converting enzyme (I/D) polymorphisms in association with plasma renin and prorenin levels. J Hypertens 1998; 16:1879–1883.
8. Kamitani A, Rakugi H, Higaki J, Yi Z, Mikami H, Miki T, Ogihara T. Association analysis of a polymorphism of the angiotensinogen gene with essential hypertension in japanese. J Hum Hypertens 1994; 8:521-524.
9. Rotimi C, Morrison L, Cooper R, Oyejide C, Effiong E, Ladipo M, et al. Angiotensinogen gene in human hypertension. Lack of an association of the 235T allele among African Americans. Hypertension 1994; 24:591-594.
10. Xu X, Niu T, Christiani DC, Weiss ST, Zhou Y, Chen C, et al. Environmental and occupational determinants of blood pressure in rural communities in China. Ann Epidemiol 1997; 7:95-106.
11. Inuoe I, Nakajima T, Williams C, Quackenbush J, Puryear R, Powers M, et al. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. J Clin Invest 1997; 99:1786–1797.
12. Jeunemaitre X, Inoue I, Williams C, Charru A, Tichet J, Powers M, et al. Haplotypes of angiotensinogen in essential hypertension. Am J Hum Genet 1997; 60:1448 –1460.
13. Hegele RA, Brunt JH, Connelly PW. A polymorphism of the angiotensinogen gene associated with variation in blood pressure in a genetic isolate. Circulation 1994; 90:2207-2212.
14. Caulfield M, Lavender P, Farrall M, Munroe P, Lawson M, Turner P, Clark AJ. Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. N Engl J Med 1994; 330:1629-1633.
15. Sethi AA, Nordestgaard BG, Agerholm-Larsen B, Frandsen E, Jensen G, Tybjærg-Hansen A. Angiotensinogen polymorphism and elevated blood pressure in the general population: the Copenhagen City Heart Study. Hypertension 2001; 37:875–881.
16. Martin ER, Lai EH, Gilbert JR, Rogala AR, Afshari AJ, Riley J, at al. SNPing away at complex disease: analysis of singe-nucleotide polymorphisms around APOE in Alzheimer disease. Am J Hum Genet 2000; 67:383–394.
17. Araujo MA, Goulart LR, Cordeiro ER, Gatti RR, Menezes BS, Lourenco C, Silva HD. Genotypic interactions of renin-angiotensin system genes in myocardial infarction. Int J Cardiol 2005; 103: 27-32.
18. Ahsan A, Mohd G, Norboo T, Baig MA, Qadar Pasha MA. Heterozygotes of NOS3 polymorphisms contribute to reduced nitrogen oxides in high-altitude pulmonary edema. Chest 2006; 130:1511-1519.
19. Lahiri DK, Nurnberger JI, Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. Nucleic Acids Res 1991; 19: 5444.
20. Stephens M, Smith NJ, Donnelly P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. Am J Hum Genet 2001; 68:978-989.
21. Bloem LJ, Manatunga AK, Tewksbury DA, Pratt HJ. The serum angiotensinogen concentration of the angiotensinogen gene in white and black children. J Clin Invest 1995; 95:948-953
22. Staessen JA, Kuznetsova T, Wang JG, Emelianov D, Vlietinck R, Fagard R. M235T angiotensinogen gene polymorphism and cardiovascular renal risk. J Hypertens 1999; 17:9–17.
23. Sethi AA, Nordestgaard BG, Tybjærg-Hansen A. Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischemic heart disease. A Meta-Analysis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23:1269-1275.
24. Yanai K, Nibu Y, Murakami K, Fukamizu A. A cis-acting DNA element located between TATA box and transcription initiation site is critical in response to regulatory sequences in human angiotensinogen gene. J Biol Chem 1996; 271:15981-15986.
25. Fardella C, Zamorano P, Mosso L, Gómez L, Pinto M, Soto J, et al. A-6G variant of angiotensinogen gene and aldosterone levels in hypertensives. Hypertension 1999; 34:779-781.
26. Tamura K, Umemura S, Ishii M, Tanimoto K, Murakami K, Fukamizu A. Molecular mechanism of transcriptional activation of angiotensinogen gene by proximal promoter. J Clin Invest 1994; 93:1370-1379
27. Cardon LR, Bell JI. Association study designs for complex diseases. Nat Rev Genet 2001; 2:91–99.
28. Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. Science 2002; 296: 2225–2229.
29. Sato N, Katsuya T, Nakagawa T, Ishikawa K, Fu Y, Asai T, et al. Nine polymorphism of angiotensinogen gene in the susceptibility of essential hypertension. Life Sci 2000; 68: 259–272.

that the 235T/–6A haplotypes of the human AGT gene associated with EHT [12], whereas, Sato et al. reported the association of M235/–6G haplotypes with a hypotensive effect [29]. We also found that the haplotypes and diplotypes holding –6G and 235M alleles were more frequent in controls.

Two important observations concerning the genotypes and haplotypes, especially, of the 3-locus, needed further emphasis. Our first observation was the strong significance of the differential distribution of the G–6A polymorphism as compared to the M235T polymorphism. However, the distribution of the G–6A was outdone during the 3-locus alignment as a group towards haplotyping. During this process, the M235T polymorphism emerged as the distinct cohabitant in healthy or diseased state; the 235M-allele prevailing in the haplotypes of controls and the 235T-allele in hypertensives. Whereas, the allelic distribution of the G–6A polymorphism was assorted, although, the distribution of –6G-allele being more frequent in controls and the –6A-allele in patients. With regard to the role of T174M locus, we even had more interesting affirmation to make. It turned up that both the alleles, 174T/M, were distributed unprejudiced in the two groups, albeit, the 174T-allele distribution was significantly conspicuous compared to the 174M. Additionally, when the combinations of the three genotypes (six alleles) were analyzed for correlations, a fair correlation was encountered between the combined genotypes and the phenotypic characteristics. Particularly, presence of 174T-allele in a combination provided linear elevation in SBP, DPB and MAP (Table 4). Surprisingly, the relationship became weaker upon withdrawal of the genotypes having the 174T allele from the combinations (now four alleles, data not shown). This points to the fact that T174M locus, although, supports both the health and disease conditions, however, it does influence the phenotype when teamed with the other two loci, thereby, contributing to hypertension susceptibility. The novelty of the present study lies, additionally, in its finding of the contribution of the 174T-allele in genotypes combination and haplotypes, which signifies that 'togetherness does matter'.

In conclusion, our persuasive findings provided substantial evidence to suggest that the 235T and –6A alleles were independently associated with the susceptibility to hypertension. The interaction of the T174M polymorphism, especially the 174T-allele, with the M235T and G–6A polymorphisms, as genotypic combination or haplotypes emerged significant. Moreover, the 3-locus haplotypes were distinct by the prevalence of the 235T-allele in patients and the 235M-allele in controls. These findings may be of help in clinical and pharmacogenetic studies. Notwithstanding the significance of the findings of the present study, we acknowledge the limitations. It would be pragmatic to establish the correlation of serum AGT levels with the genetic variants. Recruiting larger sample size and including greater number of genetic markers with comprehensive approach may strengthen the findings and even firmly identify the causative variants in the susceptibility to EHT.

Acknowledgements

The Council of Scientific and Industrial Research supported this work financially. The staff at the Departments of the two hospitals is acknowledged for their cooperation. We highly appreciate Professor Samir K. Brhamachari, Director, Institute of Genomics and Integrative Biology for his support and constant encouragement

There are no conflicts of interest.

Discussion

The genes encoding the components of the RAS have been examined widely as candidates in the etiology of EHT. Positive findings from both linkage analyses and allelic association studies revealed AGT gene one of, likely only, the major loci that has been implicated in EHT and the gene remains a major point of attraction globally for investigation. This is the first comprehensive study on the AGT gene polymorphisms, genotypes combination and haplotypes in Indians. Although in the present study, the investigated polymorphisms were few but their assigned roles seemed indispensable and moreover the sample size was relatively large. We provide further statistical evidence that the 235T and –6A alleles independently are associated with EHT. Jeunemaitre et al. found that individuals with M235T genotype (0.14) were associated more with hypertension than controls (0.09) in Utah and French population and demonstrated that the 235T-allele was associated with 10-20% increase in plasma AGT level [4]. In another study, Bloem et al. reported the 235T-allele frequency as 0.41 in Whites and 0.81 in Blacks [21]. On the other hand, a meta-analysis showed association of 235T-allele with increased risk of EHT in Whites (0.42) but not in Asians (0.78) or Blacks (0.77) [22]. In our study, higher frequency of 235T-allele in hypertensives (0.62 vs. 0.43, $P < 0.0001$) was nearer to Blacks and Asians. In accordance to the present study, Sethi et al. also reported a significant increase of 8% and 19% in white MT and TT individuals of the M235T polymorphism. They showed that Asian TT homozygotes compared to the MM homozygotes had a 60% increased risk of hypertension [23]. In another study they demonstrated that 235T homozygosity was associated with hypertension in Caucasians [15], the same which we observed in Indians. In aggregate, since the 235T-allele in many populations is associated with elevated circulating AGT and a 10−20% risk in developing hypertension [6], it could be one of the appreciable gene variants that raise sodium reabsorption and increased blood pressure, even in Indians. However, it is not yet clear whether the 235-allele directly accounts for the physiological effects or just acts as a marker for other causative mutations.

With regard to the G–6A polymorphism, we showed that both at the allelic (–6A) and genotypic level, the polymorphism associated with EHT and also there was significant LD between the G–6A and M235T polymorphisms. Yanai et al. demonstrated that the –6A-allele increased the rate of basal transcription of the AGT gene to a level 19.3% higher than that by the –6G-allele [24]. Association between the G–6A polymorphism and EHT has been, also, documented in Caucasians (G:A, 61.4%:38.6%) and Japanese (G:A, 25.7%:74.3%) [25,26]. Moreover, intriguingly, we found that under the executed recessive model, the recessive homozygotes −6AA and 235TT independently increased the risk of hypertension significantly ($P < 0.0001$, respectively;Table 3). To substantiate these associations, determination of circulating AGT levels and correlation with elevated blood pressure are warranted.

In single-locus analysis of the three polymorphisms, the two polymorphisms associated with hypertension but not the third one, i.e., the T174M. In other words, the role of AGT gene in hypertension susceptibility is more likely to be complex and the effects of single AGT polymorphisms may differ from significant to nominal to none depending on the context of analysis. We, hence, went further ahead to look for effectiveness of the three polymorphisms, if put together, the outcome was highly encouraging as was visible from the genotypes combinations and haplotype analyses. The GG174TT235MM genotypic combination reflected an OR of 0.43, whereas the remaining genotypes with minimum one to more mutant variant amplified the risk of hypertension to 2.4 times. The contribution of the polymorphisms, independent or in combination in development of EHT was further supported by haplotype/diplotype analyses, which showed greater power and to be more informative. Relatively few haplotypes may account for the majority of diversity, and variations in haplotypes may be powerful predictors of diseases [27,28]. In the present study, 2-locus haplotypes A/174T, 174T/235T, A/235T due to their abundance in hypertensives likely serve as hypertension risk-predisposing haplotypes; alternatively, the abundance of G/174T, 174T/235M, G/235M haplotypes in controls negatively associated with hypertension and thus these haplotypes could be protective. Despite of individual negative association of the T174M polymorphism with hypertension, to determine whether this variant in haplotype configuration was implicated in hypertension susceptibility, 3-locus haplotype analysis was performed (Table 5). It was observed that the A/174T/235T and G/174T/235M haplotypes were the most frequent in hypertensives and controls, respectively. Jeunemaitre et al. showed

*χ2 likelihood-ratio statistic and p values are calculated by 2x2 contingency table comparing each haplotype with all the haplotypes combined together between hypertensives and controls. †P values < 0.05/n were considered significant after correcting for the number of comparisons made (Bonferroni correction). ‡Two and three polymorphisms haplotyping conducted by PHASE ver.2.1 software.

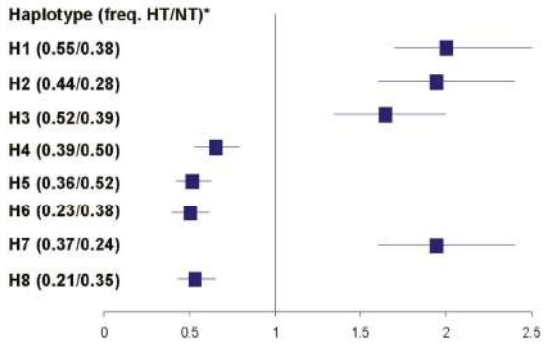


Fig. 1
Risk estimation for essential hypertension associated with major risk-predisposing and protective haplotypes. Haplotype frequencies in hypertensives and controls are shown in brackets. H1,174T/235T;H2, A/235T; H3, A/174T;H4, G/174T; H5,174T/235M;H6, G_235M; H7, A/174T/235T; H8, G/174T/235M. A global test of association between major haplotypes and hypertension susceptibility was performed by χ2 omnibus test. P values were highly significant (P < 0.0001).

Table 6
Frequencies of the observed diplotypes of the investigated polymorphisms of the AGT gene.

Diplotype	Hypertensives $n = 450$	Controls $n = 360$	P*	Odds ratio (95% CI)
G-6A/ T174M haplotypes				
GT/GT	65 (14%)	103 (29%)	< 0.0001	0.42 (0.3-0.6)
AT/AT	119 (26%)	65 (18%)	0.004	1.63(1.2-2.3)
AM/AM	4 (0.9%)	1(0.3%)	0.27	3.2 (0.36-28.9)
GM/GM	0	1(0.3%)	-	-
GT/AT	193 (43%)	122 (34%)	0.009	1.5 (1.1-1.9)
GT/AM	37 (8%)	23 (6%)	0.32	1.3 (0.76-2.2)
GT/GM	2 (0.4%)	14 (3.9%)	0.0004	0.11 (0.03-0.48)
AT/AM	27 (6%)	25 (7%)	0.58	0.85 (0.48-1.5)
T174M/ M235T haplotypes				
TM/TM	67 (15%)	89 (25%)	0.0004	0.53 (0.37-0.75)
TT/TT	142 (32%)	44 (12%)	< 0.0001	3.3 (2.3-4.8)
MT/MT	3 (0.7%)	0	-	-
TM/TT	168 (37%)	159 (44%)	0.048	0.75 (0.57-0.99)
TM/MT	26 (5.8%)	35 (9.7%)	0.03	0.57 (0.33-0.96)
TT/MT	33 (7.3%)	13 (3.6%)	0.02	2.1 (1.1-4.1)
G-6A/ M235T haplotypes				
GM/GM	27 (6%)	54 (15%)	< 0.0001	0.36 (0.22-0.59)
GT/GT	28 (6.2%)	8 (2%)	0.006	2.9 (1.3-6.5)
AM/AM	23 (5%)	19 (5.3%)	0.85	0.94 (0.5-1.7)
AT/AT	87 (19.4%)	33 (9%)	< 0.0001	2.4 (1.5-3.6)
GM/GT	13 (2.9%)	56 (15.6%)	< 0.0001	0.16 (0.08-0.3)
GM/AM	24 (5.3%)	30 (8.4%)	0.39	0.78 (0.45-1.4)
GM/AT	144 (32%)	111 (31%)	0.73	1.05 (0.78-1.42)
GT/AT	64 (14%)	16 (4.5%)	< 0.0001	3.6 (2.02-6.3)
G-6A/ T174M/M235T haplotypes				
GTM/ GTM	27 (6%)	48 (13.4%)	< 0.0001	0.41 (0.25-0.68)
GTT/ GTT	25(5.5%)	7 (1.9%)	0.008	2.96 (1.3-6.9)
ATM/ATM	19 (4.2%)	14 (3.9%)	0.81	1.1 (0.54-2.2)
ATT/ATT	67 (15%)	25 (7%)	0.0002	2.4 (1.5-3.8)
AMT/AMT	3 (0.7%)	0	-	-
GTM/ GTT	13 (2.95)	48 (13.4%)	< 0.0001	0.2 (0.1-0.4)
GTM// ATM	21 (4.7%)	26 (7.2%)	0.12	0.63 (0.35-1.1)
GTM/ ATT	122 (27%)	86 (24%)	0.29	1.2 (0.86-1.63)
GTM/ AMT	20 (4.5%)	15 (4.2%)	0.85	1.1 (0.54-2.1)
GTT/ ATT	50 (11%)	12 (3.3%)	< 0.0001	3.6 (1.9-6.9)
GTT/ AMT	14 (3.1%)	4 (1.1%)	0.05	2.85 (0.93-8.7)
ATM/ ATT	33 (7.3%)	26 (7.2%)	0.95	1.0 (0.59-1.7)
ATM/ AMT	6 (1.3%)	12 (3.3%)	0.05	0.39 (0.14-1.0)
ATT/ AMT	17 (3.85)	8 (2%)	0.19	1.73 (0.74-4.0)

*P Values are calculated by 2x2 contingency table comparing each pair of diplotypes with all the diplotypes combined together between the cases and controls. †P values < 0.05/n were considered significant after correcting for the number of comparisons made (Bonferroni correction). Number of the individuals (%).

Haplotype association analysis

Pairwise LD between the three polymorphisms estimated as Lewontin's coefficient (D') and statistical significance in hypertensives and controls are displayed in Supplementary Table 3. A significant LD between the M235T and G–6A polymorphisms was seen (D' = 0.4, P = 1.05E-15; D' = 0.4, P = 1.36E-20, respective) that favored the respective observed allele frequencies in both the groups.

Table 5 displays the results of 2- and 3-locus haplotype analyses for the AGT gene in hypertensive and control groups. With respect to 2-locus haplotype configurations, using sliding window approach a total of 12 haplotypes were observed, however, the frequency of only 8 haplotypes was >10% (preferred over 5% in this study). With a power of 95% to detect an association, the omnibus likelihood haplotype profile test was highly significant ($\chi 2$ = 35.72, P < 0.0001). The haplotypes A/174T, 174T/235T, A/235T were the most recurrent in hypertensives with the OR of 1.64 (P < 0.0001, Wald's95% CI = 1.3-2.0), 2.1 (P < 0.0001, Wald's95% CI = 1.7-2.5) and 1.94 (P < 0.0001, Wald's95% CI = 1.6-2.4), respectively; contrary to this, the haplotypes G/174T, 174T/235M, G/235M were the most recurrent in controls with respective OR of 0.65 (P < 0.0001, Wald's95% CI = 0.53-0.79), 0.51 (P < 0.0001, Wald's95% CI = 0.42-0.63), 0.5 (P < 0.0001, Wald's95% CI = 0.4-0.62).

Of the eight observed 3-locus haplotypes, four had >10% relative frequency. The A/174T/235T was the major haplotype with 37% frequency in hypertensives and OR of 1.94 (P < 0.0001, Wald's95% CI = 1.57-2.4). In contrast, the G/174T/235M with 35% frequency was the most frequent haplotype in controls having OR of 0.53 (P < 0.0001, Wald's95%CI = 0.43-0.63). Upon Bonferroni correction (P < 0.05/12 for 2-locus and P < 0.05/8 for 3-locus haplotypes) and adjustment for confounding factors, the significance was persisted. With respect to the most frequent haplotypes in hypertensives, logistic regression model after adjustment for age, sex and BMI, revealed that the A/174T (P < 0.0001, OR = 1.7, Wald's95% CI = 1.4-2.0), 174T/235T (P < 0.0001, OR = 2.1, Wald's95% CI = 1.7-2.5), A/235T (P < 0.0001, OR = 2.1, Wald's95%CI = 1.7-2.5) and A/174T/235T (P < 0.0001, OR = 2.2, Wald's95%CI = 1.8-2.6) haplotypes increased the hypertension risk about 2 times than common wild-type haplotypes, thus were significant predictors for the likelihood of hypertension susceptibility. Additionally, haplotype analysis revealed that among all the inferred 2- and 3-locus haplotypes, the most frequent hapotypes in hypertensives had consistently lesser distribution of the 235M-allele, whereas the distribution of 235T-allele was greater; this distribution was contrasted in controls. Distribution of the T174M polymorphism in the haplotypes of the two groups did not differ significantly. Figure 1 compares distinctly the risk of hypertension among the most common haplotypes in hypertensives and controls. The ORs were significant enough to show the strength of the risk association to the disease. Next, we investigated the distribution of haplotypes as diplotypes in relation to hypertension (Table 6). Of all the hypertensives, diplotype carriers of either 2- or 3-locus haplotypes such as A/174T, A/174M, 174T/235T, 174M/235T, G/235T, A/235T, A/174T/235T, A/174M/235T, G/174T/235T had two to three times higher risk of hypertension.

Table 5

The 2-, 3-locus haplotypes of the G-6A, T174M, M235T polymorphisms of the AGT gene in hypertensives and controls.

Haplotype[‡]	Overall	Hypertensives	Controls	LR χ^2	P [†]
A/174T	0.47	0.52	0.39	24.2	< 0.0001
G/174T	0.44	0.39	0.50	18.4	< 0.0001
A/174M	0.065	0.07	0.06	0.31	0.57
G/174M	0.026	0.02	0.003	15.9	< 0.0001
174T/235M	0.43	0.36	0.52	43.2	< 0.0001
174T/235T	0.48	0.55	0.38	51.0	< 0.0001
174M/235M	0.03	0.02	0.05	6.34	0.01
174M/235T	0.058	0.06	0.05	0.03	0.86
G/235M	0.30	0.23	0.38	42.3	< 0.0001
G/235T	0.17	0.18	0.15	1.86	0.17
A/235M	0.17	0.16	0.18	2.40	0.12
A/235T	0.37	0.44	0.28	41.1	< 0.0001
G/174T/235M	0.27	0.21	0.35	36.0	< 0.0001
G/174T/235T	0.17	0.18	0.15	4.06	0.04
G/174M/235M	0.013	0.006	0.02	9.32	0.002
G/174M/235T	0.011	0.009	0.013	7.81	0.005
A/174T/235M	0.16	0.15	0.16	1.40	0.19
A/174T/235T	0.31	0.37	0.24	37.25	< 0.0001
A/174M/235M	0.02	0.015	0.03	1.41	0.23
A/174M/235T	0.05	0.05	0.04	1.25	0.26

Genotypic interactions between and among the polymorphisms

Testing the genotypic interactions among the G−6A, T174M, and M235T polymorphisms revealed findings of great consequence (Table 4). The genotypes combinations having 6 wild-type and 6 plus 5 wild-type alleles versus the remaining combinations resulted in ORs of 2.4 ($P < 0.0001$, Wald's95% CI = 1.5-3.9) and 3.6 ($P < 0.0001$, Wald's95% CI = 2.5-5.1), respectively. The present sample size offered a power of 92% at the level of $\alpha = 0.05$ to detect significance in BP phenotypes of the different genotypes combinations between both the groups. The multiple linear regression model showed a significant correlation between the combinations and BP phenotypes (Table 4), as the number of mutant alleles increased by replacing wild type alleles in a genotypes combination in both hypertensives and controls, SBP ($P = 0.00007$, $P = 0.0008$, each), DBP ($P = 0.00008$, $P = 0.037$, each) and MAP ($P = 0.00001$, $P = 0.001$, each) increased significantly; whereas such correlation was not noticed with single variants. Because of the significance of the G–6A and M235T polymorphisms, the genotypic interactions between these two polymorphisms were also analyzed. In comparison to the wild-type double homozygotes GGMM, the remaining combinations showed a risk of hypertension with OR of 3.2 ($P < 0.0001$, 95% CI = 2.5-3.9) (Supplementary table 4); however, the correlation of the combinations with BP phenotypes was not consistent as was observed with the three polymorphisms genotypes combinations.

Table 4

Observed distribution of the AGT genotype combinations grouped according to the number of wild-type alleles in hypertensives and controls*

	Number of wild-type alleles in combinations between any three genotypes G−6A, T174M and M235T polymorphisms				
	6	5	4	3	2
Hypertensives $n = 450$	27 (6%)	32 (7%)	168 (37%)	112 (25%)	93 (21%)
SBP	154.63 ± 16	168 ± 21	166 ± 17	167 ± 19	173 ± 16
					$P <$
0.0001					
DBP	95 ± 5.7	99 ± 11	98 ± 7	99 ± 7.6	102 ± 8
					$P < 0.0001$
MAP	115 ± 7.5	122 ± 13	119 ± 14	121 ± 10	126 ± 9
					$P <$
			0.0001		
Controls $n = 360$	47 (13%)	80 (22%)	127 (36%)	55 (15%)	40
(11%)					
SBP	115.5 ± 9.8	115 ± 9.0	119.5 ± 10	119.5 ± 9.4	121 ±
8.9					
					$P =$
			0.0008		
DBP	74.4 ± 5	74.5 ± 5.4	76.5 ± 7.6	77 ± 5.9	77 ± 6.0
					$P =$
			0.037		
MAP	88 ± 5.2	82.3 ± 16	88 ± 17	91 ± 6.3	91.3 ±
7.0					
					$P =$
0.001					
χ^2	58.57[a]	12.33[b]	55.05[c]		
P†	< 0.0001[a]	0.0004[b]	< 0.0001[c]		
OR (95% CI)‡	2.4 (1.5-3.9)[b]	3.6 (2.5-5.1)[c]			

*The distribution of genotype combinations was compared using Fisher Exact Test with two-sided values. a$\chi2$ and P values are derived by comparing all the 5 groups. b$\chi2$, P values, ORs are derived by comparing 6 wild-type genotypes versus the remaining genotypes. c$\chi2$, P values, ORs are derived by comparing 5 and 6 wild-type genotypes versus the remaining genotypes. † P values were corrected using Bonferroni correction test for multiple comparisons. ‡Calculated ORs with 95%CI for the determination of presence of a genotype combination as a risk factor for hypertension phenotype. The continuous Variables were presented as mean±SD. P values of the BP phenotypes are calculated by linear regression model. SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; MAP, mean blood pressure. Number of the individuals (%).

Table 2
Genotype and allele distributions of the AGT gene polymorphisms in hypertensives and controls.

Genotype/Allele	Hypertensives	Controls	Crude OR	Adjusted OR	χ^2	P^*
	$n = 450$	$n = 360$	OR (CI %95)†	OR (CI %95)‡		
G−6A						
GG	67 (15%)	118 (33%)	1.0	1.0	-	-
GA	230 (51%)	150 (42%)	2.6 (1.8-3.8)	2.5 (1.6-3.6)	20.0	< 0.0001
AA	148 (33%)	91 (25%)	2.8 (1.9-4.2)	1.9 (1.2-2.9)	7.42	0.007
G	364 (41%)	386 (54%)	1.7 (1.4-2.0)	-	26.41	< 0.0001
A	526 (59%)	332 (46%)				
Recessive Model			1.4 (1.0-1.9)	1.5 (1.1-2.1)	6.82	0.001
Dominant Model			2.7 (1.9-3.8)	2.1 (1.5-3.0)	17.2	< 0.0001
Additive Model			2.9 (2.0-4.3)	2.7 (1.9-3.8)	37.2	< 0.0001
T174M						
TT	378 (84%)	291 (81%)	1.0	1.0	-	-
TM	67 (15%)	61 (17%)	0.82 (0.56-1.2)	0.67 (0.43-1.0)	3.1	0.077
MM	5 (1%)	6 (2%)	1.0 (0.41-2.9)	0.64 (0.19-2.2)	0.48	0.48
T	823 (92%)	643 (90%)	0.82 (0.58-1.1)	-	1.27	0.26
M	77 (8%)	73 (10%)				
Recessive Model			1.3 (0.36-4.4)	0.56 (0.18-1.8)	0.92	0.33
Dominant Model			0.84 (0.59-1.2)	0.67 (0.44-1.0)	3.5	0.063
Additive Model			0.39 (0.28-.55)	0.39 (0.28-.55)	30.2	< 0.0001
M235T						
MM	74 (16%)	104 (29%)	1.0	1.0	-	-
MT	197 (44%)	198 (55%)	1.3 (0.92-1.9)	1.1 (0.77-1.7)	0.46	0.51
TT	178 (40%)	57 (16%)	4.0 (2.7-6.2)	3.7 (2.3-5.8)	30.6	< 0.0001
M	345 (38%)	406 (57%)	2.1 (1.7-2.5)	-	52.7	< 0.0001
T	553 (62%)	312 (43%)				
Recessive Model			3.5 (2.5-4.9)	4.7 (3.1-6.2)	64.2	< 0.0001
Dominant Model			2.0 (1.4-2.7)	1.7 (1.2-2.5)	8.24	0.004
Additive Model			2.3 (1.7-3.2)	2.5 (1.8-3.7)	29.6	< 0.0001

† OR (CI %95), indicates crude odds ratio and 95% confidence interval. ‡ OR denotes adjusted odds ratio for age, sex and BM I. * P values are calculated by logistic regression. Number of the individuals (%) Dominant model compares a combination of heterozygous and homozygous for the least frequent allele to the homozygous for the most frequent allele. Recessive model compares a combination of heterozygous and the homozygous for the most frequent allele to the variant allele homozygous genotype. Additive model compares a combination of the two genotypes with weight 2 and 1 respectively to the homozygous for the most frequent allele.

Association of G–6A and M235T polymorphisms with hypertension

Multiple logistic regression analysis revealed (Table 2) that the risk of hypertension was significantly high for the genotypes –6AA (P = 0.007, OR = 1.9, Wald's 95% CI = 1.2-2.9), 235TT (P < 0.0001, OR = 3.7, Wald's 95% CI = 2.3-5.7) and –6GA (P < 0.0001, OR = 2.4, Wald's 95% CI = 1.6-3.6); the significance was maintained even after adjustment for age, sex and BMI. Highly significant probability values and ORs for the G–6A and the M235T polymorphisms were obtained by converting the respective three genotypes into two by means of dominant (P < 0.0001, P = 0.004), recessive (P = 0.001, P = 0.009) and additive (P < 0.0001, P < 0.0001) models of analysis (Table 2). Of the three employed genetic models, the recessive model identified that the two recessive homozygotes −6AA and 235TT independently are associated with an increased risk of hypertension (Table 3). Univariate analysis showed that serum total cholesterol, triglyceride and uric acid were not associated with BP phenotypes (P = NS, each). Additionally, multiple regression analysis adjusted for age, gender and BMI revealed that the aforementioned risk factors were not significant predictors for SBP, DBP and MAP in either group (P = NS, each; data not shown).

Table 3
The recessive homozygotes of the G−6A and M235T polymorphisms and risk of hypertension.

Genotypes*	Hypertensives	Controls	OR (95% CI)†	$P^\dagger$
	$n = 450$	$n = 360$		
AA^r_TT^r	204 (45%)	237 (66%)	1	-
AA^r_TT	90 (20%)	23 (6%)	4.5 (3.3-6.2)	<0.0001
AA_TT^r	60 (13%)	56 (15%)	2.5 (1.7-3.8)	<0.0001
AA_TT	81 (18%)	33 (9%)	1.23 (0.67-1.3)	0.75

*AAr_TTr indicates those with genotypes GG/MM, GG/MT, GA/MM and GA/MT. AAr_TT, AA_TTr, AA_TT include genotypes GG/TT and GA/TT, AA/MT and AA/MM, AA/TT, respectively. † OR (95% CI) and P value were calculated by logistic regression. Number of the individuals (%).

and three polymorphisms was performed. The combinations were looked for an association with EHT and for a correlation with SBP, DBP and MAP so as to establish functionality in hypertension.

Haplotype analysis

To study the combined effect of these variations, haplotypes and individual diplotypes for each subject were inferred by the algorithm using PHASE Version 2.1[20]. Default parameters were employed to generate these haplotypes. Individuals with phase probabilities <80% were excluded. ORs were calculated for haplotypes whose distribution was significantly different in the two groups. The wild or mutant alleles were counted in each haplotype to identify the richness of a single allele or more in the two groups. Additionally, diplotypes were also determined.

Statistical analysis

Allele and genotype frequencies between study subjects were estimated by gene counting and analyzed by means of the $\chi 2$ test and logistic regression by SPSS 10.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) and EPIINFO ver.6 soft wares. Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) for patients and controls was calculated using De-finetti program (http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl). Baseline characteristics and demographic features were compared with the unpaired t- test for continuous data and the $\chi 2$ test for categorical data from simple interactive statistical analysis (http://home.clara.net/sisa/twoby2.htm). To determine the extent of association and pairwise measure of LD of the G–6A, T174M, M235T, (|D'|) and (r2) were calculated using Haploview ver.3.2 software. Haplotype distributions were compared by simple contingency 2 × 2 table based on the frequency of each haplotype separately versus all others combined between both the groups. Individual haplotype analysis was performed and the probability values were corrected with respect to the number of tests made. The genotype-phenotype correlation and the effect of the AGT genotypes on BP were examined with GLM model with adjustment for age, gender and BMI. Simple and multiple regression analyses were carried out to test the effect of AGT genotypes and haplotypes on SBP, DBP and MAP using JMP (SAS Institute, Cary, NC, USA). Multiple logistic regression analysis was performed to determine the effect of age, sex and BMI, if any, on the association of AGT genotypes with hypertension. The association of EHT with the genotypic combinations of the three polymorphisms was calculated using Odds ratio (OR) and 95% CI through comparing respective wild-type homozygotes (GG, TT, and MM) versus all other remaining genotypic combinations (wild/mutant). Crude and adjusted odds ratios and 95% confidence intervals were calculated. The power of the sample size to detect the association at $\alpha = 0.05$ was calculated using JMP software plus the PS power and sample size calculation program by Dupont and Plummer (http://www.mc.vanderbilt.edu/prevmed/ps/index.htm). Where appropriate, P values for pairwise differences were corrected for multiple comparisons and/or haplotypes by Bonferroni-type correction test. A P value of <0.05 was considered statistically significant.

Results

Genotype analysis

The observed genotype counts for G–6A, T174M and M235T polymorphisms did not deviate significantly from those expected according to the Hardy–Weinberg's equilibrium ($P > 0.05$) in both the groups. The results for single-locus analysis are shown in Table 2. At the level of genotypes, the G–6A and M235T polymorphisms were over-represented in hypertensives ($LRT\chi 2 = 35.72$, $df = 2$, $P < 0.0001$; $LRT\chi 2 = 58.02$, $df = 2$, $P < 0.0001$, respectively). Similarly, a highly significant difference, even upon Bonferroni correction, was obtained in the allele count in hypertensives and controls ($LRT\chi 2 = 26.41$, $df = 1$, $P < 0.0001$; $LRT\chi 2 = 52.7$, $df = 1$, $P < 0.0001$), where the –6A and 235T alleles were over-represented in hypertensives (59% vs 46% and 62% vs 43%), respectively. There was no significant difference in genotype or allele frequencies of the T174M polymorphism between the two groups ($P > 0.05$).

had a previous history of coronary artery disease, peripheral vascular disease, or cerebrovascular disease, secondary hypertension, diabetes mellitus, renal diseases, receiving oral contraceptives, pregnant women. The samples were collected from one geographical area on the basis of origin and migration status so as to minimize the error of population stratification. The baseline characteristics of the study subjects are summarized in Table 1. Cells were used for DNA extraction and plasma for biochemical analysis. The latter was stored at –80°C if not used immediately.

Table 1
Baseline demographic and clinical characteristics of the study subjects.

Parameters	Hypertensive $n = 450$	Controls $n = 360$	P*
Age (year)	51.56 ± 11	50.0 ± 9.14	0.05
BMI (kg/m2)	24.3 ± 4.05	24.0 ± 4.5	0.32
SBP (mmHg)	168.5 ± 18.34	118.30 ± 10	< 0.0001
DBP (mmHg)	99.70 ± 9.75	75.70 ± 6.78	< 0.0001
MAP (mmHg)	116.4 ± 18.4	90.0 ± 9.7	< 0.0001
PP (mmHg)	66 ± 22	42.0 ± 9.4	< 0.0001
Total cholesterol (mg/dl)	110 ± 37	109 ± 43	0.822
Triglyceride (mg/dl)	87 ± 32	84 ± 56	0.546
Uric acid (mg/dl)	4.65 ± 1.4	4.64 ± 1.5	0.952
Serum glucose (mg/dl)	99 ± 19	97 ± 30	0.606
Serum Na+	136.7 ± 5.6	136 ± 5.4	0.96
Serum K+	4.6 ± 0.84	4.3 ± 0.49	0.92
Heart rate (bpm)	84 ± 7.6	73 ± 6.5	< 0.0001
Smoking	None	None	-

Data are presented as mean ± standard deviation. The continuous variables were presented as mean ± SD. BMI, body mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; MAP, mean blood pressure; PP, pulse pressure. * Statistical differences were analyzed by one-way ANOVA.

Blood pressure measurements

For a period of 30 minutes before BP measurement, no exercise, alcohol, caffeine, or smoking were allowed. BP was measured by conventional mercury sphygmomanometer.

The point at which the first of two or more Korotkoff sounds is heard is defined as SBP and the disappearance of Korotkoff sound as DBP. Measurements by two different observers were taken at the left arm with subjects in the seated position after 15 minutes of resting. This procedure was repeated three times, with SBP and DBP defined to be the mean of the three independent measurements. According to JNC VII panel, hypertension was defined as an average SBP of ≥140 mm Hg, an average DBP of ≥90 mm Hg (or both), or a diagnosis of hypertension in subjects receiving antihypertensive medication.

Biochemical analyses

Total cholesterol, triglyceride, uric acid, creatinine, glucose, sodium, calcium and potassium were estimated on a high throughput Autoanalyzer (Elecsys 2010, Roche, Germany) and SpectraMax 190 Spectrophotometer (Molecular Devices, Sunnyvale CA, USA). Urinanalysis with focus on proteinuria was determined. Estimations were performed in duplicate. The intra-assay and inter-assay coefficients of variation were less than 5% for all the measurements.

DNA isolation and genotyping

Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes by using a standard protocol [19]. The G–6A, T174M and M235T polymorphisms were investigated by modification of standard PCR-RFLP protocols . Digestion of 346bp product for −6A variant by BstNI (New England Biolabs) at 60oC for 3 hrs, yielded 129bp, 107bp and two 55bp bands. The M235T genotype was determined by digestion of 165bp amplicon by TthIII (New England Biolabs) at 65oC for 3hrs, into 141bp and 52bp fragments, the fragments were analyzed by 15% polyacrylamide gel electrophoresis. The T174M genotype was determined by digestion of the 353bp product into 198bp and 155bp bands by NCOI (New England Biolabs) at 37oC for 4 hrs followed by size fractionation on a 2.5% agarose gel containing ethidium bromide and visualized under UV lighting. An independent observer read and confirmed all the genotypes, discrepancies, if any, were resolved by repeated PCR-RFLP.

Genotype combinations

Combination analysis of the genotypes of two

Introduction

Essential hypertension (EHT) is a progressive cardiovascular syndrome arising from complex and interrelated etiologies wherein the interplay between genetic and environmental factors would determine its final phenotype. Although it affects above 30% of adult Indians as an ethnically distinct population and approximately more than one billion people worldwide with increasing incidence [1,2], yet the underlying genetic pathways remain largely elusive [1]. The well-documented effects that influence vascular tone, cardiovascular remodeling, salt and water homeostasis make the renin-angiotensin system (RAS) a logical candidate for evaluation in EHT [3]. Hence the genes encoding components of RAS are preferred candidates in EHT where a genetic variability in one of the components of this pathway may account for high blood pressure.

Angiotensinogen (AGT) is the precursor of the main effector peptide of RAS, angiotensin II, which as a potent vasoconstrictor, influences vascular tone, renal sodium reabsorption, aldosterone secretion, up-regulation of sympathetic tone. Jeunemaitre et al. demonstrated that the AGT locus at chromosome 1q4 is genetically linked to increased blood pressure (BP) and pathogenesis of EHT [4]. Systemic and local human AGT expression, particularly, in the kidney were shown to be associated with chronic hypertension [5]. Of the several AGT gene polymorphisms which initially have been identified, only few were found to have possible genetic association with EHT. The T-allele of the M235T polymorphism, proportional to its number, was associated with a rise in BP and serum AGT concentration in Caucasians and Asians [6,7], but there are interethnic conflicting results [8,9,10]. Searching for other functional polymorphisms predisposing to hypertension led to identification of a common variant, G–6A, in the critical core-promoter (AGCE1) that affectd basal transcription rate between 20% and 70% [11] and showed significant difference of occurrence [11,12]. With more attention to the AGT gene polymorphisms, a couple of affected sib-pair analyses and genetic association studies revealed that the T174M polymorphism associated conflictingly with increased risk of EHT [13,14,15]. The causes of these discrepancies may be attributed to polygenic inheritance, genetic heterogeneity, ethnicity, unknown mode of action of disease alleles, incomplete penetrance and environmental factors.

Genotyping of multiple diallelic loci and haplotype analysis seem to be more powerful than single marker as the haplotypes among a couple of polymorphisms may reveal a greater probability of cross-talk between mutant alleles in hypertension where each distinct combination in a susceptibility haplotype could be functionally relevant to the disease [16]. Additionally, data on genotypic interactions indicate that genotypic combinations are more imperative than single gene polymorphism alone, since, the effect of a single marker variation may be influenced by the simultaneous presence of other variants [17,18]. We, therefore, undertook a well-characterized association study with case-control design to investigate the G–6A (rs5051), T174M (rs4762) and M235T (rs699) polymorphisms individually, in combination and as haplotypes, and their correlations with related phenotypes for association with EHT. We made concerted effort to understand the extent of involvement of each allele in the interacting mode, if any, so as to bring forth the effectiveness of the genotypes combinations, haplotypes and the diplotypes; our findings are highly encouraging.

Methods

Study Subjects and clinical characteristics

In total, 810 consecutive ethnic-matched unrelated north Indians, comprising 360 healthy controls from general public and 450 hypertensives were enrolled through the Hypertension outpatient clinics of the Hindu Rao and GB Pant hospitals. Total number of males compared to females was more but the male to female ratio between the two groups was not significantly different. This study was approved by Human ethical committee and an approved informed consent was obtained from each participant. Neither controls nor their first-degree relatives had hypertension. Hypertensives and controls were individually matched with regard to their age (difference ≤5 years). Controls were recruited based on the following criteria: age above 25 years, systolic BP <140 mm Hg and/or diastolic BP <90 mm Hg, absence of antihypertensive medication and who had not been previously diagnosed as hypertensive. Hypertensives were selected based on JNC VII criteria, age between 25 and 60 years, newly diagnosed and uncomplicated. Hypertensives who were taking antihypertensive drugs were not included in this study.

A pre-tested questionnaire was administered to assess the socio-demographic data and family history of hypertension. Subjects were excluded if they

Significance of AGT haplotypes and genotypes-combinations versus single nucleotide polymorphisms in hyprtension: togetherness does matter

Azim Nejatizadeh

Azim Nejatizadeh[1,4], Rahul Kumar[1], Tsering Stobdan[1], AK Goel[2], Mohit Gupta[3], Saleem Javed[4], M A Qadar Pasha[1]

1.Institute of Genomics and Integrative Biology, Delhi, India;
2.Hindu Rao Hospital, Deptt of Medicine, Delhi, India;
3.GB Pant Hospital, Deptt of Cardiology, New Delhi, India;
4.Department of Biochemistry, Hamdard University, New Delhi, India

Corresponding author E-mail : **qpasha@igib.res.in**

Key words

hypertension; AGT; polymorphisms; haplotypes; genotypes combination

Abstract

Objective Renin-angiotensin system gene polymorphisms are associated with essential hypertension; angiotensinogen (AGT) gene variants are considered potential genetic risk factors. The aim of this study was to investigate the contribution of the G−6A, T174M, M235T polymorphisms, respective genotypic interactions and haplotypes towards essential hypertension.

Methods In a case-control design, 810 consecutive ethnically-matched unrelated subjects comprising 450 hypertensives and 360 controls were recruited. Genotyping by PCR-RFLP, genotypes-combination and haplotype analyses were performed.

Results The G–6A and M235T polymorphisms differed significantly ($P = 0.007$, OR =1.9, 95% CI =1.2-2.9; $P < 0.0001$, OR =3.7, 95% CI =2.3-5.7, respectively), wherein the –6A and 235T mutant alleles were over-represented in hypertensives ($P < 0.0001$, each). The genotypes combinations of the three polymorphisms having 6 wild-type alleles versus the remaining resulted in odds ratio of 2.4 ($P < 0.0001$), further as the number of mutant alleles in a combination increased, the systolic, diastolic and mean blood pressure increased. The overall likelihood of haplotypes profile difference between the two groups was highly significant ($P < 0.0001$). Overrepresentation of the haplotypes viz., A/174T, 174T/235T, A/235T, A/174T/235T in hypertensives, and G/174T, 174T/235M, G/235M, G/174T/235M in controls, was identified as risk and protective haplotypes ($P < 0.0001$, each), respectively.

Conclusion The –6A and 235T alleles and respective homozygous genotypes were independently associated with hypertension susceptibility. The interaction of 174T-allele with M235T and G–6A polymorphisms in combinations or haplotypes emerged significant. The 3-locus haplotypes were distinct by the prevalence of 235T-allele in hypertensives and 235M-allele in controls.

مرکز تخصصی آزمایشات مولکولی و ژنتیک آرامش

این مرکز تخصصی با دارا بودن تجهیزات کامل بخش مولکولی بستری مناسب جهت ارائه خدمات در پنل های عفونی ، ژنتیکی و انکوژنتیکی با بالاترین کیفیت و کوتاهترین زمان فراهم کرده است .

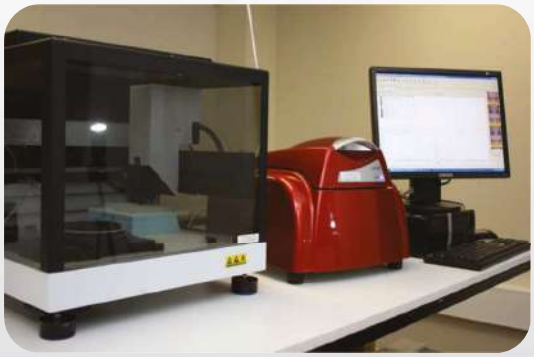
- خدمات ویژه Multiplex Real Time PCR سیستم کاملا اتوماتیک Panther که برای انجام طیف وسیعی از آزمایشات مولکولی شامل HPV,HCV,HBV,HIV,HSV و ... را در کوتاه ترین زمان ممکن و با بالاترین کیفیت فراهم می کند.

- سیستم کاملا اتوماتیک AusDiagnostics برای انجام بیش از ۶۰ پنل تشخیصی ویروسی، باکتریایی، قارچی و ژنتیکی تشخیص همزمان ۱۶ تا ۳۲ عامل بیماری زا در یک آزمایش ، با حساسیت بالا فراهم نموده و موجب کاهش هزینه تا میزان ۸۰ درصد می شود.

ARAMESH GROUP OF LABORATORIES

آزمایشگاه همکار مرکز تحقیقات پزشکی شخصی

آزمایشگاه همکار OncoDNA



آدرس: تهران، سعادت آباد، میدان کاج،
خیابان نهم، پلاک۲، آزمایشگاه پاتوبیولوژی
و ژنتیک آرامش
تلفن: ۰۲۱۲۲۱۳۹۰۱۶
فکس: ۰۲۱۲۲۱۳۹۰۱۸

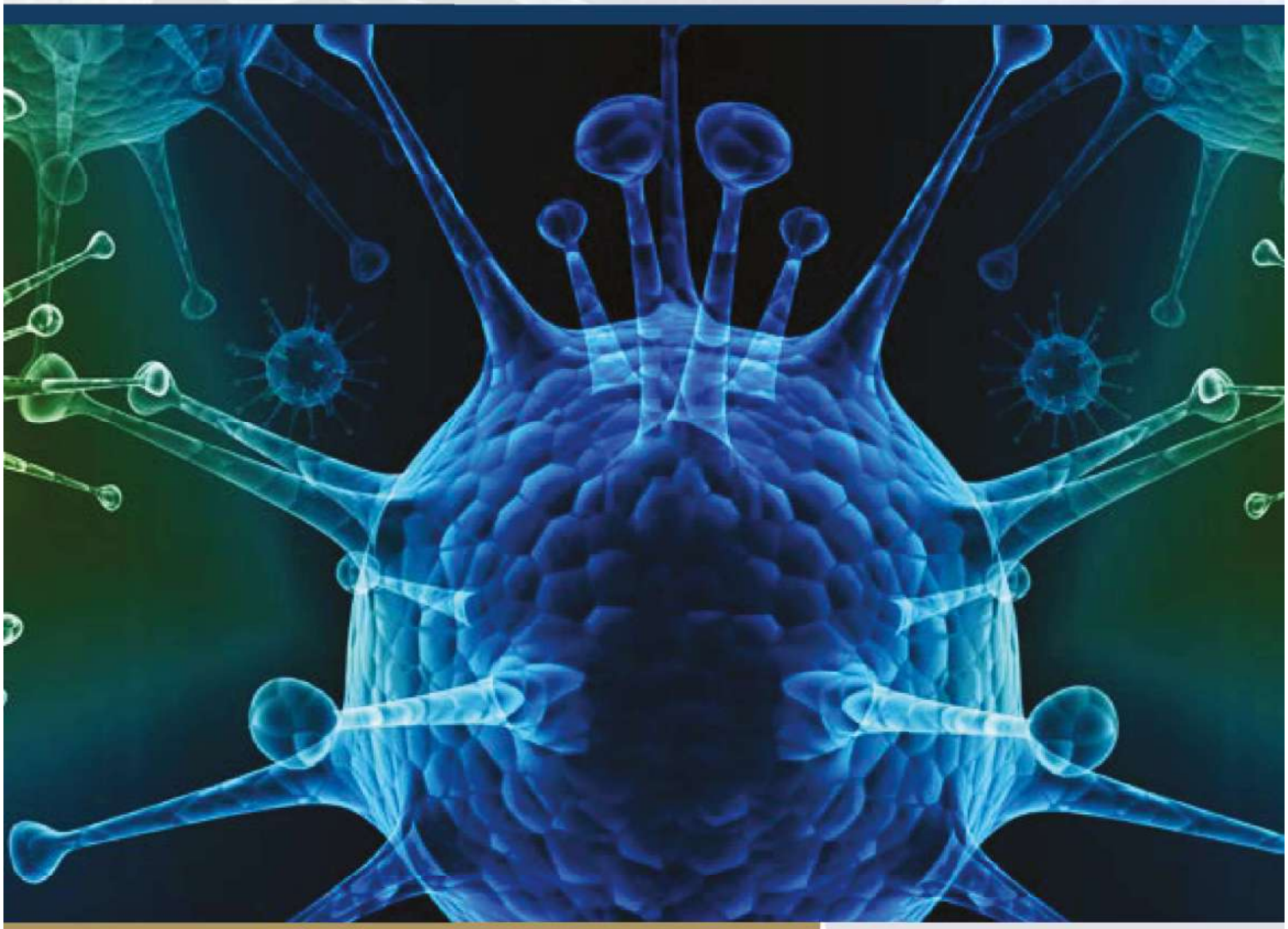
www.arameshlab.ir

AusDiagnostics

Multiplexed Diagnostics | Affordable Healthcare

کمپانی AusDiagnostics از کشور استرالیا با ارائه ی روش مولکولی Multiplex PCR برای شناسایی پاتوژن ها به ویژه برای پاتوژن هایی که بسیار آهسته و یا سخت در محیط کشت رشد می کنند ، به دلیل حساسیت زیاد و سریع و آسان بودن به عنوان یک استاندارد طلائی معرفی شده است. یکی دیگر از فوائد روش سیستمیک پی سی آر چندگانه، توانایی تشخیص چندین عامل از جمله عوامل ویروسی، باکتریایی، پروتوزئا، مخمر و قارچ ها در یک دوره آزمایش می باشد و نتایج بسیار کاربردی را برای تشخیص های مختلف به همراه دارد.

Molecular methods are becoming the gold standard for the detection of pathogens because of their superior sensitivity, rapid turnaround time, simplicity and ability to identify pathogens that are slow growing or difficult to culture.
Another advantage of Multiplex PCR is their capability to detect viruses, bacteria, protozoa and yeasts in one go, bringing great benefits for differential diagnostics.



www.AmitisGen.com
info@AmitisGen.com
+98 (21) 88985291-3
+98 (21) 88955205

AmitisGen®
Med TECH Group

فرم اشتراک فصلنامه پزشکی شخصی

همراه ارجمند.
جهت درخواست اشتراک این نشریه بهای اشتراک به ازای هر شماره مبلغ ۱۰۰,۰۰۰ریال و برای اشتراک سالیانه مبلغ ۳۰۰,۰۰۰ریال به شماره حساب ۱۶۱۸۵۰۵۰۲۸۶۳۸۱ نزد بانک اقتصاد نوین به نام گروه توسعه فناوری پزشکی آمیتیس ژن واریز نموده و اصل فیش بانکی به همراه فرم تکمیل شده زیر به نشانی تهران- ابتدای خیابان ایتالیا، پلاک ۲، طبقه۲، واحد ۳ و یا به آدرس الکترونیکی مجله (info@PersonalizedMedicineJournal.com) ارسال نمایید.

خواهشمند است کپی فیش واریزی را تا پایان مدت اشتراک نزد خود نگاهدارید. پس از ارسال فرم به هر شکل، با تماس تلفنی از دریافت آن توسط نشریه و برقراری اشتراک خود مطمئن شوید.

تلفن بخش اشتراک: ۸۸۹۸۵۲۹۱ (۰۲۱)

فرم اشتراک فصلنامه پزشکی شخصی

نام و نام خانوادگی: ..... **نام موسسه / سازمان** .....

شغل/نوع فعالیت: ..... **میزان تحصیلات:** ..... **رشته تحصیلی** .....

استان: ..... **شهر:** ..... **کدپستی۱۰ رقمی** .....

نشانی کامل پستی .....

.....

..... **صندوق پستی:** ..... **تلفن تماس** .....

☐ **مشترک جدید** ☐ **تمدید اشتراک** **شماره اشتراک قبلی:** ..... **تاریخ تکمیل فرم** .....

نوع اشتراک مورد نظر: ..... **تعداد نسخه درخواستی از هر شماره:** ..... **شروع ارسال ازشماره** .....

مبلغ واریزشده: ..... **شماره فیش بانکی:** ..... **تاریخ واریز** .....

خواهشمند است اشتراک اینجانب با مشخصات یاد شده را برقرار نمایید. **امضای متقاضی**

دعوت به همکاری

این نشریه از اعضای هیئت علمی دانشگاه ها، مراکز علمی و علاقه مندان جهت همکاری در کارگروه های مربوطه نشریه دعوت می نماید. هیئت تحریریه نشریه پزشکی شخصی به صورت کارگروه های علمی ذیل می باشد:

عناوین کارگروه های نشریه پزشکی شخصی: سرطان، ژنتیک، پزشکی مولکولی، فارماکوژنومیکس، سندرم متابولیک و بیماری های قلبی و عروقی، بیماری های آسم و آلرژی، علوم اعصاب، روان شناسی، علوم آزمایشگاهی، تغذیه و تناسب اندام، دکتری عمومی، طب سنتی.

Personalized Medicine Journal

Magazine Owner: AmitisGen Med TECH Group

Responsible Director: Dr.Seyed Massoud Houshmand

Editor In Chief: Seyedeh Nayyere Moslehi

Telephone: +98(21)88985293

Email: info@PersonalizedMedicineJournal.com

Release: 2018 Spring

Editorial Board according alphabet order:

Dr.N.Afshari, Dr.M.R.Akbari, Dr.M.Allahbakhshian, Dr.A.M.Alizadeh, Dr.E.Amini, Dr.N.Ariyayan, Dr.F.Bandarian, Dr.M.Fakhretaha, Dr.F.Foruzesh, Dr.A.Hajfatali, Dr.R.Halabian, Dr.A.Heydarinejad, Dr.S.Heydarinejad, Dr.S.M.Houshmad, Dr.M.Gharipur, Dr.S.Ghorbian, Dr.P. Jabbarzadeh, Dr.M.Jalali, Dr.N.Hosseinkhan, Dr.F.Khatami, Dr.K.Ghafarzadegan, Dr.Z.Maghsomi, Dr.F.Mansouri, Dr.M.A.Mousavi, Dr.J.Molaei, Dr.B.Naghavi, Dr.A.Nejatizadeh, Dr.R.Nekouian,Dr.H.Nowrozi, Dr.M. Nikpay, Dr.N.Parsa, Dr.A.A.Rahimi, Dr.Sh.Rahmati, Dr.M.Ramezanzadeh, Dr.J.Rezaei, Dr.R.Rofougaran,Dr.H.Saadat, Dr.B. Sadeghi, Dr.I.Sadeghi, Dr.A.SadeghiTabar, Dr.M.Salimi, Dr.M.A.Saremi, Dr.R.Shirkoohi, Dr.M.Shojae, Dr.Z.S.Soheili, Dr.M.Totonchi,Dr.M.Yaghubi

This number articles

Responsible director speech 2

Chief clerk speech 3

The analysis of rs861539 polymorfism of XRCC3 gene as a biomarker in personalized medicine to do clinical prognosis of breast cancer risk 4

The analysis of RIOX2 gene role as a threatment target in stem cell of Medoloblastoma cancer 10

The role of micro RNA in cancer 14

The Finalized advanced glycosylated components and their role in health 17

Pharmacogenomics and personalized medicine in psychiatry 20

Personalized drugs in diabetes: the role of omics and biomarkers 25

Investigating the role of personality in personalized medicine 32

MiRNA potential as Biomarkers for personalized medicine of CRC: a review of recent advances and future challenges 41

An Overview of the epidemiology of Type 1 diabetes mellitus 45

The Potential of Circulating Tumor Cells in Personalized Management of Breast Cancer: A Systematic Review 55

Significance of AGT haplotypes and genotypes-combinations versus single nucleotide polymorphisms in hyprtension: togetherness does matter 67