جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۶۶/هفته چهارم بهمن ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۱۵

ارزش تشخیصی بیان ژن FHL۱ در تشخیص افتراقی تومورهای پاپیلاری تیروئید کارسینوما از تومورهای خوش‌خیم

دکتر جواد محمدی اصل[۱]، غلامعباس دیناروند[۲]، ندا گلچین[۳]، دکتر نادر صاکی[۴]، دکتر نسترن رنجبری[۵]، دکتر ایران رشیدی[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: نمونه‌برداری سوزنی (FNA یا Fine needle aspiration) بهترین روش برای تشخیص قبل از جراحی تومورهای تیرویید است که به طور گسترده برای بیماران انجام می‌شود؛ اما برای حدود ۲۰ درصد موارد، جواب به صورت مشکوک و یا حد واسط گزارش می‌شود. هدف این تحقیق، بررسی ارزش تشخیصی بیان نسبی mRNA ژن FHL۱ به عنوان تومور مارکر جهت افتراق تومور خوش‌خیم و تومور بدخیم از نوع پاپیلاری تیرویید کارسینوما بود.

روش‌ها: ۵۰ نمونه از بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی شهر اهواز (شامل ۲۵ بیمار مبتلا به تومور بدخیم و ۲۵ بیمار مبتلا به تومور خوش‌خیم) در این تحقیق وارد شدند. برای استخراج RNA از نمونه‌های پارافینه شده و همچنین برای ساخت cDNA (Complementary DNA) از کیت استفاده شد. واکنش Real time PCR (Real time polymerase chain reaction) در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام گرفت و از مخلوط واکنش Real time PCR حاوی مادهٔ فلورسانس سایبر گرین استفاده شد.

یافته‌ها: بیان نسبی mRNA در ژن FHL۱ در گروه بدخیم برابر ۰/۵۰ درصد بود؛ در حالی که در گروه خوش‌خیم این میزان خیلی بالاتر بود (۵/۲۹ درصد) و تفاوت بین این دو گروه، معنی‌دار بود (P = ۰/۰۱۹). تجزیه و تحلیل ROC (Receiver operating characteristic) نشان داد که این ژن برای افتراق بین دو گروه تومورهای خوش‌خیم و بدخیم تیرویید کارایی خوبی دارد؛ سطح زیر منحنی (AUC یا Area under the curve) برابر ۰/۹۲ بود. حساسیت و ویژگی بیان ژن FHL۱ به عنوان یک آزمایش تشخیصی به ترتیب ۰/۸۴ و ۸۴/۰ به دست آمد.

نتیجه‌گیری: بررسی بیان ژن FHL۱ جهت افتراق تومورهای پاپیلاری تیرویید کارسینوما از خوش‌خیم، کارایی بیشتری دارد.

واژگان کلیدی: ارزش تشخیصی، بیان نسبی mRNA، ژن FHL۱، پاپیلاری تیرویید کارسینوما

ارجاع: محمدی اصل جواد، دیناروند غلامعباس، گلچین ندا، صاکی نادر، رنجبری نسترن، رشیدی ایران. **ارزش تشخیصی بیان ژن FHL۱ در تشخیص افتراقی تومورهای پاپیلاری تیروئید کارسینوما از تومورهای خوش‌خیم.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۶): ۲۱۱۳-۲۱۲۱

۱- استادیار،گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۲- کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۳- کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی، آزمایشگاه ژنتیک پزشکی نور، اهواز، ایران
۴- دانشیار، گروه گوش و حلق و بینی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۵- استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۶- دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر جواد محمدی اصل
Email: mohammadiasl@gmail.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

سرطان‌های غده‌ی تیرویید ۹۰ درصد سرطان‌های سیستم اندوکرین را شامل می‌شوند و مسؤول ۶۳ درصد مرگ‌های ناشی از وقوع سرطان در سیستم اندوکرین می‌باشند (۱). گزارش شده است که نیمی از جمعیت عمومی بالغین در سطح زیر بالینی دارای ندول تیرویید هستند (۲) و چون فقط ۱۰ درصد از این ندول‌ها در واقع بدخیم خواهند بود، به همین دلیل آزمایش‌های قبل از عمل جراحی برای افتراق خوش‌خیم و یا بدخیم بودن آن‌ها تکامل یافته است (۳).

بقای ۱۰ ساله‌ی سرطان تیرویید در بالغین میانسال ۹۶-۸۰ درصد است. عود مجدد در ۲۰-۵ درصد موارد پاپیلاری تیرویید کارسینوما دیده می‌شود. عود مجدد ممکن است ناشی از درمان ناقص اولیه و یا به دلیل وجود تومور با سلول‌های خیلی مهاجم باشد (۴). متاستاز دوردست به طور معمول در ۱۵-۱۰ درصد موارد پاپیلاری تیرویید کارسینوما رخ می‌دهد و میزان بقای ۱۰ ساله بعد از کشف متاستاز دوردست حدود ۴۰ درصد است (۴).

نمونه‌برداری سوزنی (Fine needle aspiration یا FNA) بهترین روش برای تشخیص قبل از عمل تومورهای بدخیم تیرویید است که به طور گسترده برای بیماران انجام می‌شود؛ اما متأسفانه برای حدود ۲۰ درصد موارد (محدوده‌ی بین ۴۲/۰-۹/۲ درصد) جواب قطعی گزارش نمی‌شود و به صورت مشکوک و یا حد واسط گزارش می‌شود (۷-۵).

خطر بدخیمی در نمونه‌های FNA بین ۴۰-۱۰ درصد مشکوک به سرطان گزارش می‌شوند، از این رو، تمام بیماران نیازمند برداشت ندول مشکوک خواهند بود تا جواب دقیق‌تر با بررسی نمونه‌های بیوپسی پاتولوژی مشخص شود و فقط در حدود ۲۰ درصد این نمونه‌های مشکوک، دارای نئوپلاسم بدخیم خواهند بود (۶). از طرف دیگر، در ۱۰ درصد موارد FNA، جواب‌های منفی کاذب گزارش می‌شود که منجر به تشخیص دیر هنگام سرطان و در نتیجه درمان دیر هنگام می‌گردد و این امر بر روی سیر بیماری تأثیر منفی می‌گذارد (۶).

بنابراین با توجه به دلایلی مانند عدم شناسایی تمام سرطان‌های تیرویید با انجام FNA و وجود موارد منفی کاذب در گزارش‌ها، انجام آزمایش‌های مولکولی بر اساس بررسی نشانگرهای زیستی مناسب، ضروری به نظر می‌رسد تا به وسیله‌ی آن‌ها بتوان صحت آزمایش‌های تشخیص سرطان تیرویید را در قبل از عمل بهبود بخشید (۶). این میدان فعال در مطالعات سرطان‌شناسی است تا انجام جراحی‌های غیر ضروری را در این دسته از بیماران کاهش دهد (۹-۸).

تاکنون هیچ نشان زیستی منفردی که بتواند تمام تومورهای خوش‌خیم را از بدخیم افتراق دهد، شناخته نشده است و به همین دلیل، از ترکیب‌های انواع مختلف نشانگرهای زیستی استفاده می‌شود تا بهترین نتایج به دست آید (۱۰). مطالعات گسترده در بررسی میزان بیان mRNA در ژن‌های مختلف در انواع سرطان‌ها منجر به شکل‌گیری این ایده شده است که از تفاوت بیان ژن‌ها در سطح mRNA به عنوان نشان زیستی جدید مولکولی برای افتراق سلول‌های سرطانی استفاده شود.

در مطالعه‌ای از نحوه‌ی بیان ۴ ژن برای ارتقای تشخیص تومورهای فولیکولار کارسینومای تیرویید استفاده شده بود و نتایج رضایت بخش بودند (۱۱).

www.mui.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

ژن FHL۱ بر روی کروموزوم X و در محل Xq۲۶ قرار دارد و شماره‌ی شناسایی (Gene identity document یا Gene ID) آن ۲۲۷۳ می‌باشد و از ۷ اگزون تشکیل شده است. محصول آن از رشد سلول‌های سرطانی از طریق مسیر پیام رسانی مشابه با TGFb (Transforming growth factor beta) جلوگیری می‌کند. این ژن، کنترل کننده‌ی پرولیفراسیون، تکامل و آپپتوز سلولی است. ۳ عضو این خانواده، پروتئین‌هایی به نام‌های FHL۱، FHL۲ و FHL۳ را کد می‌کنند که با (Mothers against decapentaplegic ۲ homolog) Smad۲، Smad۳ و Smad۴ اتصال فیزیکی و عملکردی برقرار می‌کنند. اما نقش دقیق این ژن در تکامل سرطان هنوز مشخص نشده است (۱۲). محصولات پروتئینی ژن FHL۱ و برخی ژن‌های دیگر در سرطان‌های تیروئید تغییر می‌کند (۱۳-۱۴).

با توجه به کاستی‌هایی که نمونه‌برداری سوزنی در تشخیص تومورهای بدخیم تیرویید دارد، نیاز به نشانگرهای زیستی که بتوانند تومورهای بدخیم تیرویید را از انواع خوش‌خیم افتراق دهند، احساس می‌شود. این نشانگرهای زیستی که بر اساس اختلالات ایجاد شده در ماده‌ی ژنتیکی استوار هستند، چون با مقادیر کم RNA قابل انجام هستند، به طور بالقوه کاربردهایی بالینی خواهند داشت.

بنابراین، با نشانگرهای زیستی متعدد بیان mRNA بر روی بیوپسی‌های تومورهای پاپیلاری تیرویید کارسینوما انجام شد تا کارایی آن‌ها در افتراق از تومورهای خوش‌خیم ارزیابی گردد و در صورت موفقیت‌آمیز بودن، در تحقیقات بعدی کارایی آن‌ها در نمونه‌برداری‌های سوزنی سنجیده شود و با این کار، بتوان به تشخیص دقیق‌تر نمونه‌برداری‌های سوزنی کمک کرد و از انجام عمل‌های تیروییدکتومی غیر ضروری کاست. هدف این تحقیق بررسی ارزش تشخیصی بیان نسبی mRNA ژن FHL۱ جهت افتراق تومور خوش‌خیم و تومور بدخیم از نوع پاپیلاری تیرویید کارسینوما می‌باشد.

روش‌ها

انتخاب بیماران

حجم نمونه در این تحقیق ۵۰ مورد بود و ۲۵ نمونه از بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی شهر اهواز با تومورهای بدخیم تیرویید و ۲۵ نمونه با تومورهای خوش خیم تیرویید در این تحقیق وارد شدند. مناسب‌ترین بلوک‌های پارافینی بعد از بازبینی مجدد توسط یک پاتولوژیست انتخاب شدند. همچنین پاتولوژیست‌های همکار طرح با بررسی نمونه‌ها، نوع تومور احتمالی را گزارش دادند. سه نمونه که در گزارش پاتولوژی آن‌ها هیچ ضایعه‌ی خوش‌خیم یا بدخیمی گزارش نشده بود، به عنوان بافت طبیعی انتخاب گردیدند.

مایکرودایسکشن

برای انجام مایکرودایسکشن در ابتدا به وسیله‌ی میکروتوم برش‌های ۶ میکرونی از بلوک‌های پارافینی داده شد. سپس این برش‌ها در یک محیط عاری از RNase (Ribonuclease) بر روی لام‌های مخصوص مایکرودایسکشن گذاشته شدند. این لام‌ها دارای یک لایه‌ی نازک فیلم هستند و قبل از استفاده، مقدار ۱۰ میکرولیتر محلول پلی ال لایزین روی آن‌ها گذاشته شده بود تا بافت‌ها بهتر به لایه‌ی فیلم بچسبند. از هر بلوک، دو عدد لام برای استخراج

RNA در نظر گرفته شدند و یک لام هم با رنگ هماتوکسلین ائوزین (Sigma) رنگ‌آمیزی شد تا در زمان مایکرودایسکشن به عنوان راهنما برای شناسایی محدوده‌ی سلول‌ها استفاده شود. لام‌های مخصوص برای استخراج RNA در فریزر ۸۰- °C نگهداری شدند.

استخراج RNA از نمونه‌های پارافینی و ساخت cDNA

برای استخراج RNA از نمونه‌های مایکرودایسکت شده از کیت شرکت Roche به نام High pure RNA paraffin kit استفاده شد. برای ساخت cDNA از کیت شرکت Qiagen به نام Quantitech RT بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. برای ساخت cDNA از ۱ میکروگرم RNA به عنوان الگو استفاده گردید. در مرحله‌ی اول در تیوب‌های مخصوص PCR به نمونه‌های RNA، ۲ میکرولیتر gDNA eliminator (Genomic deoxyribonucleic acid eliminator) اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه در دمای ۴۲ °C انکوبه شدند و بعد از آن، نمونه‌ها بر روی یخ گذاشته شدند. به محلول، ۴ میکرولیتر آنزیم RT (Reverse transcriptase) و ۱ میکرولیتر پرایمر و ۴ میکرولیتر بافر ۵X اضافه شد و با کمک دستگاه ترموسیکلر تیوب‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ °C و ۵ دقیقه در دمای ۹۰ °C انکوبه شدند. سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر آب به‌cDNAها اضافه شد و تا زمان استفاده، در فریزر ۸۰- °C بایگانی شدند.

آزمایش Real time PCR

واکنش (Real time polymerase chain reaction) Real time PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام گرفت. از مخلوط واکنش Real time PCR که دارای ماده‌ی فلورسانس سایبر گرین و محصول شرکت TAKARA به نام SYBR ®Premix Ex Taq ™ استفاده شد؛ چون نسبت به مخلوط واکنش رنگی EvaGreen، جواب‌های بهتری به دست آمده بود.

در هر تیوب واکنش، مواد با مقادیر زیر اضافه شد.

۱. PreMix ۲X ۱۰ µl
۲. Primer ۲ mM هر ۱ µl
۳. D.W ۷ µl
۴. cDNA ۲ µl

واکنش‌های Real time PCR هم با دستگاه مارک CORBET به نام Rotor-Gene ۶۰۰۰ انجام شد. چرخه‌ی دمایی به صورت ۱۰ ثانیه ۹۵ °C، سپس ۴۵ سیکل شامل ۵ ثانیه ۹۵ °C، ۱۵ ثانیه ۶۰ °C و ۱۰ ثانیه ۷۲ °C درجه بود. در انتهای هر سیکل در دمای ۷۲ °C، نورسنجی با نور سبز و طول موج تابش ۴۷۰ و بازتاب ۵۱۰ نانومتر انجام می‌گرفت. سپس منحنی ذوب از دمای ۹۵-۶۵ درجه محاسبه می‌شد.

بررسی بیان نسبی mRNA ژن FHL۱

برای بررسی بیان ژن FHL۱ با تکنیک Real time PCR از پرایمرهایی استفاده شد که با کمک سایت اینترنتی Primer۳ طراحی شده بودند. پرایمرها طوری طراحی شدند که هر کدام در اگزون جداگانه‌ای قرار بگیرند تا از تکثیر DNA ژنومیک جلوگیری شود. طول محصول PCR کمتر از ۸۰ جفت باز طراحی گردید تا برای تکثیر نمونه‌های پارافینی مشکلی ایجاد نگردد. از ژن GAPDH به عنوان شاهد استفاده شد. طول قطعه‌ی تکثیر شده ۷۶ (bp) و ردیف بازی پرایمری

F: GCCAACACCTGTGTGGAAT

R: GCCAGAAGCGGTTCTTATAGTG بود. بعد از انجام موفقیت‌آمیز PCRها، مقدار Ct (Cycle threshold) که نمایانگر سیکل آستانه‌ای PCR است، محاسبه شد. این کار با استفاده از منحنی‌های تکثیر PCR که توسط دستگاه Real time تهیه می‌شود و نرم‌افزار دستگاه CORBET انجام شد. برای هر ژن، میزان تعدیل شده‌ی بیان mRNA بر حسب درصد با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۵):

بیان نسبی mRNA (درصد) = $[۲^{-(\text{Ct of gene of interest - Ct of GAPDH})} \times ٪۱۰۰]$

محاسبات آماری

برای انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. در تمامی آزمون‌های استفاده شده، P = ۰/۰۵ ملاک عمل قرار گرفت. برای محاسبه‌ی حساسیت (Sensitivity)، ویژگی (Specificity)، ارزش اخباری مثبت (Positive predictive value)، ارزش اخباری منفی (Negative predictive value) و صحت (Accuracy) جواب آزمایش، از فرمول‌های زیر استفاده شد (۸). در این محاسبات، جواب گزارش‌های پاتولوژی به عنوان آزمایش استاندارد در نظر گرفته شد که حقیقی یا کاذب بودن نتایج بیان mRNA در مقایسه با گزارش‌های پاتولوژی سنجیده شد.

$$\text{Sensitivy (\%)} = \frac{TP}{TP + FN} \times 100$$

$$\text{Specificity (\%)} = \frac{TN}{TN + FP} \times 100$$

$$\text{PPV (\%)} = \frac{TP}{TP + FP} \times 100$$

$$\text{NPV (\%)} = \frac{TN}{TN + FN} \times 100$$

$$\text{Accuracy (\%)} = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \times 100$$

TP: True-positive
TN: True-negative
FP: False-positive
FN: False-negative
PPV: Positive predictive value
NPV: Negative predictive value

از آزمون (Receiver operating characteristic) ROC برای محاسبه‌ی بهترین مقدار مرزی در بررسی‌های یافته‌های بیان نسبی mRNA استفاده شد. این آزمون بهترین مقدار مرزی برای یافته‌های هر آزمایش را با بالاترین حساسیت و ویژگی در اختیار ما قرار می‌دهد و با محاسبه‌ی سطح زیر منحنی (AUC یا Area under the curve)، کارایی آزمایش برای افتراق تومورهای خوش‌خیم از بدخیم محاسبه شد.

یافته‌ها

بیان نسبی mRNA در ژن FHL۱ در گروه بدخیم ۰/۵۰ درصد بود؛ در حالی که در گروه خوش‌خیم این میزان خیلی بالاتر (۵/۲۹ درصد) و تفاوت بین این دو گروه معنی‌دار بود (P = ۰/۰۱۹) (جدول ۱). تجزیه و تحلیل ROC نشان داد که این ژن برای افتراق بین دو گروه تومورهای خوش‌خیم و بدخیم تیرویید کارایی خوبی دارد (AUC = ۰/۹۲).

اگر بررسی بیان نسبی mRNA ژن FHL۱ به عنوان ملاک تشخیصی قرار می‌گرفت، بهترین نقطه‌ی مرزی برای افتراق دو نوع تومورهای خوش‌خیم از بدخیم، میزان کمتر از ۰/۵۷ درصد بود و با این میزان، نقطه‌ی مرزی تعداد ۲۱ مورد بدخیم و ۲۱ مورد خوش‌خیم درست تشخیص داده شدند. اما ۴ مورد بدخیم و ۴ مورد خوش‌خیم به طور کاذب تشخیص داده شدند. بنابراین، حساسیت و ویژگی این آزمایش به ترتیب ۸۴/۰ و ۸۴/۰ به دست آمد (جدول ۲).

بحث

در تحقیق حاضر مشخص شد که بیان نسبی mRNA ژن FHL۱ در تومورهای بدخیم خیلی کمتر از خوش‌خیم بود و این تفاوت در سطح P = ۰/۰۱۹ معنی‌دار بود؛ به طوری که شاید بتواند به عنوان یک نشان زیستی برای افتراق تومورهای بدخیم از خوش‌خیم تیرویید قابل استفاده شود. این نتیجه تأیید کننده‌ی گزارش Fryknas و همکاران است. در مطالعه‌ی آن‌ها برای شناسایی نشانگرهای زیستی جدید برای افتراق تومورهای بدخیم از خوش‌خیم فولیکولار تیرویید که با روش میکروآرری انجام داده بودند، چندین ژن را معرفی کرده بودند و بهترین این ژن‌ها، FHL۱ معرفی شده بود که بیان mRNA آن در تومورهای بدخیم فولیکولار تیرویید نسبت به خوش‌خیم کاهش می‌یافت (۱۵).

مطالعه‌ی Fryknas و همکاران تنها مطالعه‌ای بود که بر روی تیرویید انجام شده بود. اما چندین مطالعه‌ی دیگر بر روی انواع مختلف سرطان‌ها از جمله پروستات، کلیه، پستان (۱۶) و معده (۱۷) نشان دادند که در تمام این نوع سرطان‌ها بیان mRNA این ژن در تومورهای بدخیم نسبت به گروه خوش‌خیم و بافت طبیعی کاهش بیان دارد و به عنوان یک نشان زیستی خوب برای تشخیص بدخیمی‌ها معرفی شده بود.

گزارش شده است که بیان ژن FHL۱ در تعدادی از سرطان‌ها از جمله آستروسایتوما، هپاتوکارسینوما، آدنوکارسینومای ریه، سرطان پروستات و ملانوما کاهش می‌یابد (۱۸).

جدول ۱. مقدار بیان نسبی mRNA ژن FHL۱ در تومورهای خوش‌خیم و بدخیم تیرویید

نوع تومور	تعداد	درصد بیان نسبی mRNA		مقدار P
		کمینه - بیشینه	میانگین ± انحراف معیار	
بدخیم	۲۵	۰/۰۲-۲/۴۲	۰/۵۰ ± ۰/۵۳	۰/۰۱۹
خوش‌خیم	۲۵	۰/۳۷-۸/۴۰	۵/۲۹ ± ۹/۸۹	

جدول ۲. نتایج صحت تشخیص تومورهای خوش‌خیم و بدخیم بر اساس بررسی بیان نسبی mRNA ژن FHL۱

نتایج بیان نسبی mRNA تعداد/درصد	متغیر
۲۱	مثبت حقیقی (TP یا True-positive)
۲۱	منفی حقیقی (TN یا True-negative)
۴	مثبت کاذب (FP یا False-positive)
۴	منفی کاذب (FN یا False-negative)
٪۸۴/۰	حساسیت (Sensitivity)
٪۸۴/۰	ویژگی (Specificity)
٪۸۴/۰	ارزش اخباری مثبت (PPV یا Positive predictive value)
٪۸۴/۰	ارزش اخباری منفی (NPV یا Negative predictive value)
٪۸۴/۰	صحت آزمایش

در تحقیقی در کشور سوئد برای افتراق تومورهای فولیکولار خوش‌خیم از بدخیم تیرویید از روش تجزیه و تحلیل میزان بیان نسبی mRNA تعدادی از ژن‌ها استفاده شد. در ابتدا با بررسی میکروآری (Miccroarray) برای جستجوی ژن‌های مناسب برای افتراق تومورهای خوش‌خیم از بدخیم تعدادی ژن نامزد شناسایی شدند. سپس برای تأیید کارایی آن‌ها، بیان نسبی با استفاده از Real time PCR مورد بررسی مجدد قرار گرفتند. نتایج نشان داده بود که بیان mRNA ۲۲ ژن در دو گروه تومورهای خوش‌خیم و بدخیم تیرویید تفاوت آشکاری دارد. در این بررسی، مشخص شد که ژنی به نام FHL۱ بیشترین تفاوت بیان نسبی mRNA را در بین دو گروه تومورهای فولیکولار خوش‌خیم و بدخیم تیرویید دارد و با بررسی تعداد اندکی ژن مانند FHL۱ امکان افتراق تومورهای خوش‌خیم از بدخیم تیرویید وجود دارد (۱۸).

محصول ژن FHL۱ از رشد سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند. بنابراین با کاهش بیان، باعث افزایش رشد سلولها می‌شود. اگر چه نقش دقیق آن در تکامل سلول‌های سرطانی هنوز مشخص نشده است (۱۵)، اما به دلیل درگیری آن در انواع مختلفی از سرطان‌ها، دارای توانایی بالقوه‌ای است تا به عنوان یک نشان زیستی خوب برای افتراق سلول‌های سرطانی معرفی گردد. انجام تحقیقات جدید در راستای روشن شدن مکانیسم دقیق آن در روند تومورزایی می‌تواند به دانش مولکولی روند تشکیل سرطان و یا درمان احتمالی آن از طریق این ژن کمک کند.

نتیجه‌گیری

در دنیای تشخیص بدخیمی و خوش‌خیمی در تومورهای تیرویید، معرفی نشان زیستی از اهمیت خاصی برخوردار است؛ چون با کاربرد آن‌ها در قبل از عمل جراحی و در کنار FNA، می‌توان به افتراق بهتر تومورهای بدخیم از خوش‌خیم تیرویید کمک کرد و از فراوانی عمل‌های جراحی غیر ضروری کاست. نشانگرهای زیستی که به عنوان نامزد معرفی شده‌اند، زیاد هستند؛ اما کارایی آن‌ها هنوز به اثبات نرسیده است. بررسی بیان نسبی mRNA ژن FHL۱ نسبت به سایر ژن‌های مورد بررسی جهت افتراق تومورهای پاپیلاری تیرویید کارسینوما از خوش‌خیم کارایی بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از بیمارانی که اجازه دادند نمونه‌های پاتولوژیکی آن‌ها مورد بررسی مولکولی قرار بگیرد کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. McCabe CJ. Novel molecular markers in thyroid cancer. Endocrine Abstracts 2005; 10: S7.
2. Schagdarsurengin U, Gimm O, Dralle H, Hoang-Vu C, Dammann R. CpG island methylation of tumor-related promoters occurs preferentially in undifferentiated carcinoma. Thyroid 2006; 16(7): 633-42.
3. Weber F, Shen L, Aldred MA, Morrison CD, Frilling A, Saji M, et al. Genetic classification of benign and malignant thyroid follicular neoplasia based on a three-gene combination. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90(5): 2512-21.
4. Lee JH, Lee ES, Kim YS. Clinicopathologic significance of BRAF V600E mutation in papillary carcinomas of the thyroid: a meta-analysis. Cancer 2007; 110(1): 38-46.
5. Shibru D, Hwang J, Khanafshar E, Duh QY, Clark OH, Kebebew E. Does the 3-gene

diagnostic assay accurately distinguish benign from malignant thyroid neoplasms? Cancer 2008; 113(5): 930-5.

6. Kebebew E, Peng M, Reiff E, Duh QY, Clark OH, McMillan A. Diagnostic and prognostic value of angiogenesis-modulating genes in malignant thyroid neoplasms. Surgery 2005; 138(6): 1102-9.
7. Hoque MO, Rosenbaum E, Westra WH, Xing M, Ladenson P, Zeiger MA, et al. Quantitative assessment of promoter methylation profiles in thyroid neoplasms. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90(7): 4011-8.
8. Chung KW, Yang SK, Lee GK, Kim EY, Kwon S, Lee SH, et al. Detection of BRAFV600E mutation on fine needle aspiration specimens of thyroid nodule refines cyto-pathology diagnosis, especially in BRAF600E mutation-prevalent area. Clin Endocrinol (Oxf) 2006; 65(5): 660-6.
9. Rowe LR, Bentz BG, Bentz JS. Utility of BRAF V600E mutation detection in cytologically indeterminate thyroid nodules. Cytojournal 2006; 3: 10.
10. Asa SL. The role of immunohistochemical markers in the diagnosis of follicular-patterned lesions of the thyroid. Endocr Pathol 2005; 16(4): 295-309.
11. Cerutti JM, Delcelo R, Amadei MJ, Nakabashi C, Maciel RM, Peterson B, et al. A preoperative diagnostic test that distinguishes benign from malignant thyroid carcinoma based on gene expression. J Clin Invest 2004; 113(8): 1234-42.
12. Ding L, Wang Z, Yan J, Yang X, Liu A, Qiu W, et al. Human four-and-a-half LIM family members suppress tumor cell growth through a TGF-beta-like signaling pathway. J Clin Invest 2009; 119(2): 349-61.
13. Song Q, Wang D, Lou Y, Li C, Fang C, He X, et al. Diagnostic significance of CK19, TG, Ki67 and galectin-3 expression for papillary thyroid carcinoma in the northeastern region of China. Diagn Pathol 2011; 6: 126.
14. Nikiforov YE: Molecular analysis of thyroid tumors. Mod Pathol Suppl 2011; 2: 34-43.
15. Fryknas M, Wickenberg-Bolin U, Goransson H, Gustafsson MG, Foukakis T, Lee JJ, et al. Molecular markers for discrimination of benign and malignant follicular thyroid tumors. Tumour Biol 2006; 27(4): 211-20.
16. Li X, Jia Z, Shen Y, Ichikawa H, Jarvik J, Nagele RG, et al. Coordinate suppression of Sdpr and Fhl1 expression in tumors of the breast, kidney, and prostate. Cancer Sci 2008; 99(7): 1326-33.
17. Sakashita K, Mimori K, Tanaka F, Kamohara Y, Inoue H, Sawada T, et al. Clinical significance of loss of Fhl1 expression in human gastric cancer. Ann Surg Oncol 2008; 15(8): 2293-300.
18. Shen Y, Jia Z, Nagele RG, Ichikawa H, Goldberg GS. SRC uses Cas to suppress Fhl1 in order to promote nonanchored growth and migration of tumor cells. Cancer Res 2006; 66(3): 1543-52.

Journal of Isfahan Medical School Received: 28.09.2013

Vol. 31, No. 266, 4th Week, February 2014 Accepted: 05.01.2014

The Diagnostic Value of Gene Expression of FHL1 in the Differential Diagnosis of Papillary Thyroid Carcinoma and Benign Tumors

Javad Mohammadi-Asl PhD[1], Gholamabbas Dinarvand MSc[2], Neda Golchin MSc[3], Nader Saki MD[4], Nastran Ranjberi MD[5], Iran Rashidi MD[6]

Original Article

Abstract

Background: Fine needle aspiration (FNA) is the best method for diagnosis of thyroid tumors before surgery and is performed widely for patients; but in about 20% of cases, the test answer is reported as suspicious or intermediate. The aim of this study was to evaluate the mRNA expression of gene FHL1 as a tumor marker in differentiating benign and malignant tumors of papillary thyroid carcinoma.

Methods: 50 patients from Ahvaz hospitals (Iran) with malignant (25 cases) and benign (25 cases) thyroid tumors were enrolled in this study. RNA was extracted from paraffin samples with specific kit and the kit was used for cDNA synthesis. Real time polymerase chain reaction (PCR) were consisted of 20 micro liters of the reaction mixture containing the fluorescent Cyber Green.

Findings: The relative mRNA expression of FHL1 gene in the malignant group (0.05%) was significantly lower than that in the benign group (5.29%) (P = 0.019). Receiver operating characteristic (ROC) analysis showed that the gene has a good performance for differentiation between benign and malignant thyroid tumors, with area under the curve (AUC) of 0.92. Sensitivity and specificity of FHL1 gene expression as a diagnostic test were 84% and 84%, respectively,

Conclusion: Gene expression of FHL1 is more efficient to differentiate papillary thyroid carcinoma from benign tumors.

Keywords: Biomarkers, Relative expression of mRNA, Papillary thyroid carcinoma

Citation: Mohammadi-Asl J, Dinarvand GhA, Golchin N, Saki N, Ranjberi N, Rashidi I **The Diagnostic Value of Gene Expression of FHL1 in the Differential Diagnosis of Papillary Thyroid Carcinoma and Benign Tumors.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(266): 2113-21

1- Assistant professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
2- Department of Clinical Biochemistry, Cancer Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
3- Department of Biochemistry, Noor Medical Genetics Laboratory, Ahvaz, Iran
4- Associate Professor, Department of Ear, Nose and Throat, School of Medicine, Ahvaz jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
5- Assistant Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
6- Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Javad Mohammadi-Asl PhD, Email: mohammadiasl@gmail.com