بررسی انحراف‌های کروموزومی در کارسینوم داکتال مهاجم پستان به روش هیبریدیزاسیون ژنومی مقایسه‌ای

پیمان نوشیروان‌پور[1*]
فرخ تیرگری[1]
سعید رضا غفاری[2]
افشین عبدی راد[1]

۱. گروه پاتولوژی
۲. گروه ژنتیک

انستیتو کانسر مجتمع بیمارستان امام خمینی (ره) تهران

[*] نویسنده مسئول: قائمشهر، خیابان کارگر (ساری)، بیمارستان ولیعصر (عج)، ،بخش پاتولوژی.
تلفن: ۳۲۳۲۰۳۵-۰۱۲۳
email: dr_n_payman@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: نئوپلاسم‌ها حاصل تجمع انحراف‌های ژنی ناشی از آسیب‌های ژنی غیر کشنده می‌باشند. شناسایی انحراف کروموزومی، جایگاه ژن‌های کارسینوژن را در کروموزوم مشخص می‌کند. روش هیبریدیزاسیون ژنومی مقایسه‌ای (CGH) امکان غربالگری تمام کروموزوم‌های منفرد را از جهت شناسایی و محل قرارگیری تغییرات DNA Copy Number فراهم می‌کند. ***روش بررسی:*** ۲۰ نمونه کارسینوم مهاجم داکتال پستان که جهت frozen section ارسال شده بود با روش هیبریداسیون ژنومی بررسی شد و انحراف کروموزومی با یافته‌های ایمونو هیستوشیمی و پاتولوژی مقایسه شد. ***یافته‌ها:*** در چهار نمونه به‌علت فقدان کیفیت مطلوب هیبریدیزاسیون امکان ارزیابی وجود نداشت و از مطالعه حذف شدند. در چهار نمونه طرح CGH نرمال و در ۱۲ نمونه دیگر در مجموع ۲۱ مورد انحراف کروموزومی یافت شد که شامل 1q+، 17q+، 8q+، 20q+، 13q−، 11q−، 22q−، 1p−، 16q− و 8p− بود. شایع‌ترین انحراف یافت‌شده 1q+، 17q+، 8q+ و 13q− بود که با مطالعات قبلی مطابقت داشت. ***نتیجه‌گیری:*** انحراف‌های کروموزومی 22q− و 1p− در مطالعات قبلی بر روی کانسر پستان گزارش نشده بود. در این مطالعه انحراف 13q− در سه تومور یافت شد که هر سه با متاستاز به غدد لنفاوی زیر بغل همراه بودند. تعداد انحراف کروموزومی در تومورهای همراه با متاستاز به غدد لنفاوی ۱/۵ انحراف و در تومورهای بدون متاستاز یک انحراف به ازاء هر تومور بود.

کلمات کلیدی: کارسینوم داکتال مهاجم پستان، هیبریدیزاسیون ژنومی مقایسه‌ای (CGH).

مقدمه

نئوپلاسم‌ها حاصل تجمع انحراف‌های ژنی متنوع هستند. آسیب‌های ژنتیکی غیر کشنده می‌تواند در اثر عوامل مختلف مانند پرتوهای یونیزان، مواد شیمیایی، ویروس‌ها و غیره ایجاد شود و یا در یک رده سلول زا یا به ارث برسد. ژن‌هایی که به‌طور عمده در فرایند کارسینوژنز هدف این آسیب‌ها قرار می‌گیرند پروتوانکوژن‌های پیش‌برنده رشد، ژن‌های سرکوب کننده، سرطان ژن‌های تنظیم‌کننده مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و ژن‌های تنظیم‌کننده ترمیم DNA می‌باشد.[1و2] کانسر پستان از شایع‌ترین بدخیمی‌های زنان در سراسر دنیا است که تقریباً از هر ۹ زن یک نفر در طول عمر خود به آن مبتلا می‌شود.[2و3] اگر چه همراهی تومور با برخی عوامل ژنتیکی، جغرافیایی محیطی، خانوادگی، پرتوهای یونیزان و بیماری‌های پرولیفراتیو پستان مشاهده شده اما همچون سایر نئوپلاسمها اتیولوژی و پاتوژنز اصلی ناشناخته است. احتمالاً عوامل مختلف با از بین بردن تنظیم چرخه سلولی و ایجاد ناپایداری ژنتیکی منجر به تغییراتی در سلول از جمله افزایش بروز انکوژن‌ها، کاهش بروز یا عملکرد ژن‌های سرکوب‌کننده تومور و افزایش پروتئین‌های چرخه سلول می‌شوند که زمینه را برای ایجاد تومور بدخیم فراهم می‌کند.[1] آسیب‌های ژنتیکی می‌توانند جزئی بوده و یا با تغییرات ساختاری کروموزومی همراه باشند. شناسایی انحراف‌های کروموزومی، محل‌هایی از کروموزوم را که می‌توانند جایگاه ژن‌های دخیل در کارسینوژنز باشند، مشخص می‌کند. برخی از انحراف‌های کروموزومی می‌توانند برای نوعی از تومور و یا نحوه خاصی از رفتار و سیر بالینی آن اختصاصی باشند.[2-5] روش‌های شناسایی انحراف‌های کروموزومی عبارتند از کاریوتایپ، Fluorescence Insitu Hybridization (FISH)، Comparative Genomic Hybridization (CGH)، Allelo typing و غیره.[2] CGH ارزیابی مقایسه‌ای بین دو منبع متفاوت DNA برای یک منبع سوم می‌باشد و امکان غربالگری تمام کروموزومهای منفرد را از

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

جهت شناسایی و محل قرارگیری تغییرات DNA copy number فراهم می‌کند.[۶و۲] این روش نیاز به کشت سلولی نداشته و بر روی نمونه‌های بافتی تازه، منجمد، فیکس‌شده در فرمالین و قالب‌گیری شده در پارافین نیز قابل انجام است. از CGH در شناسایی انحراف‌های کروموزومی در تومورهای آستروسیتیک مغز، کانسرهای کولورکتال، مری و سر و گردن، آدنوکارسینوم معده، کارسینوم هپاتوسلولر و اندومتر، کوریوکارسینوما و کانسر پستان استفاده شده است.[۱۳-۷و۲] همراهی انحراف کروموزومی با زیرگروه‌های خاص هیستوپاتولوژیک و یا سیر بالینی مشاهده شده و وجود chromosomal gains در ناحیه ۸q و ۲۰q [۱۴و۴و۲] در بسیاری از تومورهای توپر و یا همراه chromosomal losses در ناحیه ۱۳q با درگیری غدد لنفاوی زیر بغل در کانسر پستان دیده می‌شود.[۴] در این مطالعه کارسینوم داکتال پستان با یا بدون درگیری غدد لنفاوی زیر بغل جهت شناسایی تغییرات DNA copy number و جایگاه‌های انحراف کروموزومی با تکنیک CGH برای اولین بار در کشور مورد بررسی قرار گرفتند.

روش بررسی

این مطالعه به‌روش توصیفی جهت شناسایی و بررسی نوع و نحوه بروز انحرافهای کروموزومی در کانسر پستان طراحی و اجرا شد. معیارهای ورود به مطالعه کارسینوم داکتال مهاجم پستان، در دسترس بودن بافت تازه از تومور، مشخص بودن متاستاز به غدد لنفاوی زیر بغل، تشخیص تومور برای اولین بار و عدم سابقه رادیوتراپی و یا کموتراپی بود. ۲۰ مورد کانسر پستان که نمونه جهت frozen section به بخش پاتولوژی انستیتو کانسر بیمارستان امام ارسال شده بود در مطالعه وارد شدند نمونه‌ها به‌نحوی انتخاب شدند که شامل موارد همراه با متاستاز به غده لنفاوی زیر بغل و نیز موارد بدون متاستاز باشد. وضعیت درگیری غدد لنفاوی زیر بغل و وضعیت ER، PR، p^{53}، Her۲ مشخص شد. قطعه‌ای از بافت تازه تومورال به نحوی که در فرایند تشخیص تداخل ننماید از نمونه جدا و فوراً در دمای $-۸۰^{\circ}C$ قرار داده شد. DNA از بافت تومورال با هضم توسط Proteinase K و به‌دنبال آن phenol-chloroform extraction مطابق پروتکل استاندارد استخراج شد. DNA مرجع نیز از سلولهای خون محیطی یک مرد سالم داوطلب به‌دست آمد. DNA تومور و مرجع توسط روش nick translation با استفاده از Dig-Nick translation Mix (Roche Co., Germany) برای DNA تومور و Biotin-Nick Translation Mix (Roche) برای DNA کنترل نشانه‌گذاری شدند. بعد از ۹۰ دقیقه قرار دادن در دمای $۱۵^{\circ}C$ به هر یک، ۱ میکرولیتر EDTA نیم‌مولار (با PH برابر هشت) اضافه و به‌مدت ده دقیقه در دمای $۶۵^{\circ}C$ قرار داده شد. سپس محتویات هر دو لوله با هم مخلوط و به آن دو میکرولیتر Cot Human DNA (Roche) و دو میکرولیتر استات سدیم سه مولار اضافه و در نهایت به آن ۸۸ میکرولیتر اتانول مطلق اضافه شد. گستره‌های کروموزوم متافازی طبق دستورالعمل استاندارد از نمونه کشت سلولی خون محیطی یک مرد سالم داوطلب تهیه شد. گستره‌های مناسب با بررسی اسلایدها توسط میکروسکوپ فازکنتراست انتخاب شد. ده میکرولیتر از مخلوط DNA نشاندار شده به گستره‌ها اضافه شد و اسلایدها بعد از پوشانده شدن با cover slip به مدت سه دقیقه در حرارت $۷۵^{\circ}C$ قرار داده شد و پس از آن به‌مدت چهار روز در دمای ۳۷ درجه نگهداری شد. جهت انجام هیبریدیزاسیون، اسلایدها به‌مدت دو دقیقه در محلول 0.4XSSC با دمای $۷۲^{\circ}C$ و ۳۰ ثانیه در محلول 1XPBD قرار داده شد و ۵۰ میکرولیتر Rhodamin Anti Dig/FITC Avidin اضافه و بعد از پوشاندن سطح اسلاید به‌مدت ۳۰ دقیقه در حرارت $۳۷^{\circ}C$ و در دو نوبت به‌مدت دو دقیقه در محلول 1xPBD در دو ظرف جداگانه قرار داده شد و سپس ۱۵ میکرولیتر 4,5-diamidino-2-phenylindole (DAPI) جهت رنگ‌آمیزی اضافه شد. بعد از پوشاندن سطح لام با cover slip و قرار دادن به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای $۴^{\circ}C$ مورد آنالیز قرار گرفت. برای digital image analysis، اسلایدها توسط epifluorescence microscope (Ziss, Axiostar) مجهز شده به فیلترهای متناسب برای DAPI، FITC و Rhodamin آنالیز شد. تصاویر به‌وسیله CCD camera از ۴-۳ گستره متافازی با شدت فلورسانس بالا و هیبریدیزاسیون یکنواخت اخذ و CGH peak profile با نرم‌افزار Leica Q CGH ارزیابی شد. نسبت شدت فلورسانس قرمز به سبز برای هر کروموزوم محاسبه و موارد بالای ۱/۲ به‌عنوان gains و کمتر از ۰/۸ به‌عنوان losses در نظر گرفته شد که در نتیجه و بحث با علامت (+) و (-) بیان می‌شود.

یافته‌ها

از ۲۰ مورد نمونه کانسر پستان نتایج CGH در چهار مورد از کیفیت مطلوب برخوردار نبود که از مطالعه حذف شد. از ۱۶ مورد باقیمانده

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

طرح CGH در چهار نمونه (۲۵٪) طبیعی بود. در ۱۲ نمونه دیگر در مجموع ۲۱ انحراف کروموزومی یافت شد که شامل chromosomal gain در (۱۹/۰۵٪، ۴/۲۱) ۱q، (۱۴/۳٪، ۳/۲۱) ۱۷q، (۱۴/۳٪، ۳/۲۱) ۸q، (۴/۷۶٪، ۱/۲۱) ۲۰q و chromosomal losses در (۱۴/۳٪، ۳/۲۱) ۱۳q، (۹/۵۲٪، ۲/۲۱) ۱۱q، (۹/۵۲٪، ۲/۲۱) ۲۲q، (۴/۷۶٪، ۱/۲۱) ۱p، (۴/۷۶٪، ۱/۲۱) ۱۶q، (۴/۷۶٪، ۱/۲۱) ۸p می‌باشد. شایع‌ترین موارد انحراف‌های کروموزومی یافت شده شامل chromosomal gain در ۱q، ۱۷q، ۸q و chromosomal losses در ۱۳q می‌باشد. در چهار مورد کانسر پستان طرح CGH نرمال بود. اندازه تومور در دامنه‌ای از ۱-۶ cm قرار داشت. متاستاز به گانگلیون لنفاوی زیر بغل در دو مورد وجود داشت. از نظر یافته‌های IHC، +ER در چهار مورد +PR در دو مورد +P53 و +Her2 هر کدام در یک مورد دیده شد. در موارد همراه با انحراف کروموزومی بیشترین تعداد سه انحراف بود که در دو تومور دیده شد (جدول ۱). اندازه این تومورها در حد ۲/۵-۲ cm بود و هر دو با متاستاز به غدد لنفاوی زیر بغل همراه بودند. در تومورهای فاقد متاستاز به غدد لنفاوی زیر بغل در مجموع شش انحراف کروموزومی (میانگین یک انحراف به ازاء هر تومور) یافت شد درحالی‌که این تعداد در تومورهای همراه با متاستاز به غدد لنفاوی زیر بغل ۱۵ مورد (میانگین ۱/۵ انحراف به ازاء هر تومور) بود. انحراف‌های کروموزومی در موارد همراه با متاستاز به غدد لنفاوی زیر بغل شامل ۱۳q- (سه مورد)، ۸q+ (دو مورد)، ۲۰q+، ۱۷q+، ۱۱q-، ۱p-، ۱۶q- و ۲۲q- و در موارد بدون متاستاز ۱۷q+ (دو مورد)، ۸q+، ۱q+،۲۲q- و ۱۱q- می‌باشد. (جدول ۲).

بحث

علیرغم طیف وسیع تغییرات ژنتیکی شناسایی‌شده، نمای کاریوتیپیک کانسر پستان و همراهی آن با سیر بالینی به‌خوبی مشخص نشده است. در مطالعه انجام شده در ۱۶ تومور، ۲۱ انحراف کروموزومی یافت شد که شایع‌ترین آنها شامل ۱q+، ۸q+، ۱۷q+ و ۱۳q- بود که با مطالعات قبلی مطابقت داشت.[۴و۹-۱۳] انحراف‌های کروموزومی ۲۰q+، ۸p- و ۱۶q- از انحراف‌های شایع ذکر شده در مطالعات قبلی است که در این مطالعه هر کدام تنها در یک مورد یافت شد. از موارد قابل توجه در این مطالعه شناسایی انحراف کروموزومی ۲۲q- در دو مورد از نمونه‌های مورد بررسی و نیز انحراف کروموزومی ۱p- که در مطالعات قبلی بر روی کانسر پستان گزارش نشده بود. انحراف‌های کروموزومی یافت‌شده در این مطالعه در تومور پستان در بررسی‌های انجام‌شده بر روی انواع دیگری از تومورها نیز گزارش شده از جمله ۱۷q+ در کارسینوم هپاتوسلولر (HCC)،[۱۵] ۱q+ در HCC، کارسینوم اندومتر و فیبروآدنوم پستان،[۳و۱۵و۱۶] ۸q+ در اکثر تومورهای توپر و تومورهای آستروسیتیک مغز،[۷و۱۵و۱۷-۲۱] ۲۰q+ در تومورهای آسترو-سیتیک مغز، کانسرهای کولورکتال، کارسینوم سلول سنگفرشی (SCC) مری و سر و گردن و آدنوکارسینوم معده[۷و۱۷-۲۰و۲۲و۲۳] و از موارد

جدول-۱: مشخصات هیستوپاتولوژیک تومورهای همراه با انحراف کروموزومی

شماره	سن	اندازه تومور	سمت درگیری	درجه بافتی	درجه هسته‌ای	تهاجم عروقی	تهاجم عصبی	جزء Insitu	درگیری گانگلیون لنفاوی	انحرافهای کروموزومی
۲	۵۴	۲	چپ	۱	۲	+	-	<٪۱۵	۰/۷	۱۷q+
۳	۴۲	۲/۵	چپ	۲	۲	+	-		۳/۱۶	۱۳q-، ۱q+
۵	۷۱	۳/۸	راست	۲	۲	+	-	<٪۱۵	۶/۷	۲۰q+
۸	۵۳	۳/۵	چپ	۲	۲	+	-		۰/۱۲	۸q+
۹	۳۹	۶	راست	۲	۲	+	+		۴/۱۰	۱۳q-
۱۰	۳۵	۲	راست	۲	۲	+	-		۰/۱۲	۲۲q-، ۱۷q+
۱۱	۵۲	۲/۵	راست	۲	۳	+	-		۸/۱۶	۱q+، ۸q+، ۱۱q-
۱۲	۴۹	۴/۵	راست	۲	۲	+	+	<٪۲۵	۴/۶	۱p-
۱۳	۷۰	۸	چپ	۲	۲	+	+	<٪۵	۸/۳۴	۱۳q-، ۱۷q+
۱۴	۶۵	۲	چپ	۲	۲	-	-	<٪۲۵	۶/۷	۱q+، ۱۶q-، ۸p-
۱۵	۶۳	۲/۵	چپ	۲	۲	+	-		۰/۸	۱q+، ۱۱q-
۱۶	۳۷	۴	چپ	۳	۳	-	+		۲/۲۲	۸q+، ۲۲q-

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

جدول-۲: مشخصات IHC تومورهای همراه با انحراف کروموزومی

شماره نمونه	ER	PR	P53	Her2	انحرافهای کروموزومی
۲	+	+	+	+۲	۱۷q+
۳	−	−	+	+۳	۱q+، ۱۳q-
۵					۲۰q+
۸	+	+	−	+۱	۸q+
۹	+	+	−	۰	۱۳q-
۱۰	+	+	+	۰	۱۷q+، ۲۲q-
۱۱	−	−	+	۰	۱q+ ،۸q+ ،۱۱q-
۱۲	+	+	+	۰	۱p-
۱۳					۱۷q+، ۱۳q-
۱۴	+	−	−	+۲	۱q+، ۱۶q- ،۸p-
۱۵	+	+	+	+۲	۱q+، ۱۱q-
۱۶	+	+	+	+۱	۸q+، ۲۲q-

chrosomal loss یافت‌شده ۱۳q- در تومورهای آستروسیتیک مغز، SCC مری و سر و گردن، HCC،[۲۵و۲۴و۲۲و۲۱و۱۵] ۱p- در تومورهای آستروسیتیک مغز،[۲۲و۲] ۱۶q- در HCC و فیبروآدنوم[۲۶و۲۱و۱۶و۱۵] و ۸q- در آدنوکارسینوم معده و HCC و کوریوکارسینوم[۲۷و۲۰و۱۵] و ۲۲q- در کارسینوم کولورکتال[۱۸] گزارش شده است. در چهار نمونه از تومورهای مورد بررسی طرح CGH نرمال بود که می‌تواند ناشی از تغییرات جزئی ژنتیکی بدون ایجاد تغییر در سطح کروموزومی و یا تغییرات کروموزومی بدون تغییر در DNA copy number باشد. در بررسی موارد با طرح CGH نرمال و نیز مقایسه با موارد همراه با انحرافهای کروموزومی یافته‌های هیستوپاتولوژیک و ایمونوهیستوشیمی متنوع و مشابه در هر دو گروه دیده می‌شود. از نظر تعداد انحراف‌های کروموزومی یافت شده میانگین تعداد انحرافهای کروموزومی در تومورهای با درگیری غدد لنفاوی زیر بغل ۱/۵ انحراف به ازاء هر تومور و در موارد بدون متاستاز به غدد لنفاوی زیر بغل یک انحراف به ازاء هر تومور بود. به نظر می‌رسد که تعداد انحرافهای کروموزومی در یک تومور می‌تواند با رفتار تومور ارتباط داشته باشد. از جمله در یک مطالعه وجود تعداد انحراف‌های کروموزومی بیشتر در تومورهای بدون درگیری غدد لنفاوی با موارد بیشتری از عود زودرس تومور همراه بود[۴] و در مطالعه‌ای دیگر بیان شد که تفاوت تومور و متاستازش از نظر انحراف‌های کروموزومی یافت شده بیشتر از نواحی مختلف تومور اولیه است.[۳۲] هر سه مورد ۱۳q- در این مطالعه در تومورهای همراه با متاستاز به غده لنفاوی زیر بغل دیده شد که با مطالعات قبلی مطابقت دارد.[۴] ناحیه ۲۲-۲۱ ۱۳q به‌عنوان ناحیه کاندید برای وجود چند ژن سرکوب‌کننده تومور بیان شده است.[۲۸] ۱۶q- نیز از موارد ذکرشده در همراهی با متاستاز به غده لنفاوی است[۲۹و۴] که در این مطالعه تنها مورد ۱۶q- نیز با متاستاز همراهی داشت. در مطالعه‌ای بر روی SCC مری وجود ۸q۲۴+، ۲۰q۱۲، ۲۳-۱۱q۲۲- در همراهی با متاستاز به غده لنفاوی گزارش شده بود.[۲۴] اما در مطالعه حاضر انحراف‌های کروموزومی ذکر شده در هر دو گروه موارد با و بدون متاستاز به غده لنفاوی زیر بغل دیده شد. انحراف کروموزومی ۲۰q+ از انحراف‌های شایع گزارش شده در کانسر پستان و سایر تومورهای بدخیم توپر است.[۱۲-۹] همراهی این انحراف کروموزومی با کانسرهای پستان ER+ بیشتر از موارد ER- گزارش شده است[۴] و جالب است که بدانیم ژن Amplified in breast cancer 1 (AIB1) در ناحیه ۲۰q۱۲ قرار دارد و در رابطه با گیرنده‌های هسته‌ای مانند ER و افزایش نسخه‌برداری وابسته به استروژن از ژن cyclin D1 می‌باشد.[۴] در یک مطالعه تومورهای پستان با ۸q+ و ۲۰q۱۳+ با پیش‌آگهی ضعیف‌تر و عود بیشتر همراه بودند.[۳۰] حذف در ناحیه ۱۱q۱۳ و تقویت ناحیه لکوس cyclin D_1 در تومور پستان در خانمهای زیر ۴۰ سال بیشتر دیده شده است.[۳۱] در تعدادی از مطالعات کانسرهای پستان دوطرفه مورد بررسی قرار گرفتند که انحراف کروموزومی شاخص در این رابطه یافت نشد.[۲۹] در مطالعه حاضر مقایسه‌ای از نظر سن بیمار و نوع انحراف کروموزومی انجام نشد و موردی از تومور دو طرفه وجود نداشت. علی‌رغم خوش‌خیم در نظر گرفته شدن ژینکوماستی همراهی آن با ۴۰٪ کارسینوم‌های پستان در مردان ذکر شده است[۳] این مطلب می‌تواند توجیه‌کننده گزارش برخی انحراف‌های کروموزومی از جمله ۸q+، ۱۱p+، ۴q-، ۱q- در ژینکوماستی در تعدادی از مطالعات باشد.[۳۲] در کانسر مهاجم پستان مردان ۱p+، ۸q+، ۱۷p+، ۱q+، ۲۰q+، ۱۳q-، ۶p-، ۸p- و ۹q- گزارش شده است که مشابه موارد گزارش شده در کانسر پستان خانم‌ها است.[۳۳] انحراف‌های کروموزومی ۱p- و ۲۲q- در این مطالعه در تحقیقات قبلی در کانسر پستان گزارش نشده بود. تمام موارد ۱۳q- در این مطالعه در تومورهای با متاستاز به غده لنفاوی زیر بغل دیده شد که با مطالعات قبلی مطابقت داشت. این تومورها با تعداد بیشتری از انحراف‌های کروموزومی همراه بودند. در کنار نتایج به‌دست آمده با راه‌اندازی تکنیک CGH در این مطالعه که برای اولین بار در کشور انجام شد امکان بررسی تومورهای بدخیم از جهت شناسایی انحراف‌های کروموزومی فراهم شده است.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

References

1. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Pathologic Basis of Disease. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders: 2005.
2. Oga A, Kawauchi S, Izumi H, Ping LX, Furuya T, Sasaki K. New perspectives for tumor pathology provided by comparative genomic hybridization. *Int J Clin Oncol* 2002; 7: 133-7.
3. Rosai J, Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9th ed. New York: Mosby: 2004.
4. Cingoz S, Altungoz O, Canda T, Saydam S, Aksakoglu G, Sakizli M. DNA copy number changes detected by comparative genomic hybridization and their association with clinicopathologic parameters in breast tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 2003; 145: 108-14.
5. Baba Y. Development of novel biomedicine based on genome science. *Eur J Pharm Sci* 2001; 13: 3-4.
6. Cummins RJ, Grady AO, Sabah M, et al. Comparative genomic hybridization: emphasis on use of formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Curr Diag Pathol* 2003; 9: 173-8.
7. Speicher MR, Howe C, Crotty P, du Manoir S, Costa J, Ward DC. Comparative genomic hybridization detects novel deletions and amplifications in head and neck squamous cell carcinomas. *Cancer Res* 1995; 55: 1010-3.
8. Ried T, Just KE, Holtgreve-Grez H, du Manoir S, Speicher MR, Schröck E, et al. Comparative genomic hybridization of formalin-fixed, paraffin-embedded breast tumors reveals different patterns of chromosomal gains and losses in fibroadenomas and diploid and aneuploid carcinomas. *Cancer Res* 1995; 55: 5415-23.
9. Amiel A, Kaufman Z, Goldstein E, Bruchim RB, Kidron D, Gaber E, et al. Application of comparative genomic hybridization in search for genetic aberrations in fibroadenomas of the breast. *Cancer Genet Cytogenet* 2003; 142: 145-8.
10. Micci F, Teixeira MR, Heim S. Complete cytogenetic characterization of the human breast cancer cell line MA11 combining G-banding, comparative genomic hybridization, multicolor fluorescence in situ hybridization, RxFISH, and chromosome-specific painting. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 131: 25-30.
11. Rummukainen J, Kytölä S, Karhu R, Farnebo F, Larsson C, Isola JJ. Aberrations of chromosome 8 in 16 breast cancer cell lines by comparative genomic hybridization, fluorescence in situ hybridization, and spectral karyotyping. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 126: 1-7.
12. Larramendy ML, Lushnikova T, Björkqvist AM, Wistuba II, Virmani AK, Shivapurkar N, et al. Comparative genomic hybridization reveals complex genetic changes in primary breast cancer tumors and their cell lines. *Cancer Genet Cytogenet* 2000; 119: 132-8.
13. Sinclair CS, Rowley M, Naderi A, Couch FJ. The 17q23 amplicon and breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 78: 313-22.
14. Related Articles, LinksArmes JE, Hammet F, de Silva M, Ciciulla J, Ramus SJ, Soo WK, et al. Candidate tumor-suppressor genes on chromosome arm 8p in early-onset and high-grade breast cancers. *Oncogene* 2004; 23: 5697-702.
15. Tornillo L, Carafa V, Richter J, Sauter G, Moch H, Minola E, et al. Marked genetic similarities between hepatitis B virus-positive and hepatitis C virus-positive hepatocellular carcinomas. *J Pathol* 2000; 192: 307-12.
16. Ojopi EP, Rogatto SR, Caldeira JR, Barbiéri-Neto J, Squire JA. Comparative genomic hybridization detects novel amplifications in fibroadenomas of the breast. Genes Chromosomes *Cancer* 2001; 30: 25-31.
17. Related Articles, LinksNishizaki T, Ozaki S, Harada K, Ito H, Arai H, Beppu T, et al. Investigation of genetic alterations associated with the grade of astrocytic tumor by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 1998; 21: 340-6.
18. Related Articles, LinksNakao K, Shibusawa M, Tsunoda A, Yoshizawa H, Murakami M, Kusano M, et al. Genetic changes in primary colorectal cancer by comparative genomic hybridization. *Surg Today* 1998; 28: 567-9.
19. Nakao K, Mehta KR, Fridlyand J, Moore DH, Jain AN, Lafuente A, et al. High-resolution analysis of DNA copy number alterations in colorectal cancer by array-based comparative genomic hybridization. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1345-57.
20. El-Rifai W, Harper JC, Cummings OW, Hyytinen ER, Frierson HF Jr, Knuutila S, et al. Consistent genetic alterations in xenografts of proximal stomach and gastro-esophageal junction adenocarcinomas. *Cancer Res* 1998; 58: 34-7.
21. Related Articles, LinksWalch AK, Zitzelsberger HF, Bruch J, Keller G, Angermeier D, Aubele MM, et al. Chromosomal imbalances in Barrett's adenocarcinoma and the metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence. *Am J Pathol* 2000; 156: 555-66.
22. Maruno M, Yoshimine T, Muhammad AK, Ninomiya H, Kato A, Hayakawa T, et al. Chromosomal aberrations detected by comparative genomic hybridization (CGH) in human astrocytic tumors. *Cancer Lett* 1999; 135: 61-6.
23. Nishizaki T, Kubota H, Harada K, Harada K, Ito H, Suzuki M, et al. Clinical evidence of distinct subgroups of astrocytic tumors defined by comparative genomic hybridization. *Hum Pathol* 2000; 31: 608-14.
24. Tada K, Oka M, Tangoku A, Hayashi H, Oga A, Sasaki K. Gains of 8q23-qter and 20q and loss of 11q22-qter in esophageal squamous cell carcinoma associated with lymph node metastasis. *Cancer* 2000; 88: 268-73.
25. Ueno T, Tangoku A, Yoshino S, Abe T, Toshimitsu H, Furuya T, et al. Gain of 5p15 detected by comparative genomic hybridization as an independent marker of poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 526-33.
26. Ahmed MN, Kim K, Haddad B, Berchuck A, Qumsiyeh MB. Comparative genomic hybridization studies in hydatidiform moles and choriocarcinoma: amplification of 7q21-q31 and loss of 8p12-p21 in choriocarcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 2000; 116: 10-5.
27. Kusano N, Okita K, Shirahashi H, Harada T, Shiraishi K, Oga A, et al. Chromosomal imbalances detected by comparative genomic hybridization are associated with outcome of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 746-51.
28. Ojopi EP, Cavalli LR, Cavalieri LM, Squire JA, Rogatto SR. Comparative genomic hybridization analysis of benign and invasive male breast neoplasms. *Cancer Genet Cytogenet* 2002; 134: 123-6.
29. Agelopoulos K, Tidow N, Korsching E, Voss R, Hinrichs B, Brandt B. Molecular cytogenetic investigations of synchronous bilateral breast cancer. *J Clin Pathol* 2003; 56: 660-5.
30. Isola JJ, Kallioniemi OP, Chu LW, Fuqua SA, Hilsenbeck SG, Osborne CK. Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization predict outcome in node-negative breast cancer. *Am J Pathol* 1995; 147: 905-11.
31. Chunder N, Mandal S, Roy A, Roychoudhury S, Panda CK. Analysis of different deleted regions in chromosome 11 and their interrelations in early- and late-onset breast tumors: association with cyclin D1 amplification and survival. *Diagn Mol Pathol* 2004; 13: 172-82.
32. Aubele M, Mattis A, Zitzelsberger H, Walch A, Kremer M, Hutzler P, et al. Intratumoral heterogeneity in breast carcinoma revealed by laser-microdissection and comparative genomic hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 1999; 110: 94-102.
33. Tirkkonen M, Kainu T, Loman N, Jóhannsson OT, Olsson H. Somatic genetic alterations in BRCA2-associated and sporadic male breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 24: 56-61.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

Tehran University Medical Journal; Vol. 65, No. 9, Dec 2007: 7-12

Chromosomal aberrations detected by comparative genomic hybridization technique (CGH) in invasive ductal carcinoma of breast

Nooshiravanpour P. [*1]
Tirgari F.[1]
Ghaffari S R.[2]
Abdirad A.[1]

1- Department of Pathology
2- Department of Genetics

Cancer Institute

Tehran University of Medical Sciences

Abstract

***Background*:** Nonlethal genetic damage is the basis for carcinogenesis. As various gene aberrations accumulate, malignant tumors are formed, regardless of whether the genetic damage is subtle or large enough to be distinguished in a karyotype. The study of chromosomal changes in tumor cells is important in the identification of oncogenes and tumor suppressor genes by molecular cloning of genes in the vicinity of chromosomal aberrations. Furthermore, some specific aberrations can be of great diagnostic and prognostic value. Comparative genomic hybridization (CGH) is used to screen the entire genome for the detection and/or location chromosomal copy number changes.

***Methods*:** In this study, frozen sections of 20 primary breast tumors diagnosed as invasive ductal carcinoma from the Cancer Institute of Imam Khomeini Hospital, Tehran, Iran, were studied by CGH to detect chromosomal aberrations. We compared histopathological and immunohistochemical findings.

***Results*:** Hybridization in four of the cases was not optimal for CGH analysis and they were excluded from the study. DNA copy number changes were detected in 12 (75%) of the remaining 16 cases. Twenty-one instances of chromosomal aberrations were detected in total, including: +1q, +17q, +8q, +20q, -13q, -11q, -22q, -1p, -16q, -8p. The most frequent were +1q, +17q, +8q, -13q, similar to other studies. In three cases, we detected -13q, which is associated with axillary lymph node metastasis and was reported in one previous study. The mean numbers of chromosomal aberrations per tumor in metastatic and nonmetastatic tumors was 1.5 and 1, respectively. No other association between detected chromosomal aberrations and histopathological and immunohistochemical findings were seen.

***Conclusion*:** Since intermediately to widely invasive carcinomas are more likely to have chromosomal aberrations, CGH can be a valuable prognostic tool. Furthermore, CGH can be used to detect targeting molecules within novel amplifications which holds the potential for a new therapeutic approach for intractable cancer.

Keywords: Breast cancer, comparative genomic hybridization (CGH), breast cancer, comparative genomic hybridization technique.

* Corresponding author: Vali-e-asr Hospital, Kareger (Sari) Ave., Dept of Pathology, Ghaemshahr, Iran.
Tel: +98-123-3232035
email: dr_n_payman@yahoo.com

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]