

NGS و سرطان



چکیده

ناپایداری ژنومیک و اختلالات کروموزومی مسئول بخشی از ناهنجاری‌های ژنتیکی بوده و از جمله اختلالات رایج در سرطان هستند.

متدهای قدیمی سیتوژنتیکی مانند FISH و کاریوتایپ که برای ارزیابی اختلالات کروموزومی مورد استفاده قرار می‌گرفتند، تصویری از ژنوم ارائه می‌دهند که کلی بوده و دقت بالایی ندارد. DNA microarray روش ساده‌تر و قابل اطمینان‌تری است که دقت بیشتری در ارزیابی اختلالات کروموزومی دارد.

NGS می‌تواند تمامی انواع اختلالات از جمله جابجایی‌های متعادل، واژگونی‌ها و تغییرات در سطح متوالی را با دقتی ۱۰۰ برابر بیشتر تا سطح نوکلئوتید را نشان دهد. وجود حجم بالای اطلاعات نیاز به پیشرفت ابزارهای محاسباتی برای فهم این اطلاعات و تیم‌هایی از دانشمندان برای تدوین متدهای درمان سرطان و داروهای منحصر به فرد برای درمان سرطان را ایجاد کرده است.

کلید واژگان: سرطان، توالی‌یابی، Sequencing، molecular techniques.

پیشگفتار

ناپایداری ژنومیک و اختلالات کروموزومی مسئول ایجاد تعدادی از بیماری‌های ژنتیکی بوده و یکی از ویژگی‌های رایج در سرطان هستند.

آنالیزهای سیتوژنتیکی اختلالات تعدادی و ساختاری را در کروموزوم‌ها نشان دهند. سیتوژنتیک به نظر یک تکنیک ساده است اما در عمل می‌تواند چالش برانگیز باشد. سیتوژنتیک عمدتاً روی تغییرات ساختاری کروموزوم‌ها تمرکز دارد. فهم تغییرات کروموزومی که در آنالیزهای سیتوژنتیکی بخش جدایی‌ناپذیر ژنومیک دارویی بوده و در اختلالات ساختاری و سرطان نقش دارد.

متدهای قدیمی سیتوژنتیک که برای ارزیابی اختلالات کروموزومی به کار می‌رود، شامل تکنیک‌های کاریوتایپ و FISH بوده و تصویری از ژنوم ارائه می‌دهد اما این تصاویر دقت بالایی ندارد. اطلاعات حاصل از آنالیز سیتوژنتیکی گاهی تناقض داشته و به شدت به مهارت شخص در این عمل بستگی دارند. از طرف دیگر، برای مدت‌ها محققان محدود به ابزارهای نسبتاً ابتدایی مانند رنگ آمیزی گمیس و FISH بوده‌اند.

DNA microarray متدی ساده‌تر و قابل اطمینان‌تر است که دقت بالاتری برای ارزیابی اختلالات کروموزومی ارائه می‌دهد. اما تکنیک‌های تعیین توالی دقت بررسی را به شدت بالا برده و فاصله بین سیتوژنتیک مولکولی را از بین برده‌اند. تصمیم‌گیری در تعیین نحوه درمان در سرطان شناسی به میزان بالایی متأثر از نتایج آزمایش‌های ژنتیک مولکولی هستند.

■ **دکتر سیدهاشم میرمظلومی**
آزمایشگاه ژنتیک پزشکی خاتم قم

■ **دکتر عمیرا تبسم**
بیمارستان اونکولوژی کیدوای
بنگلور - هندوستان

سیتوژنتیک

A. سیتوژنتیک عمومی و رایج

آنالیز و مقایسه نتایج تومور و ژنوم نرمال یک بیمار است. با هزینه‌ای بسیار کاهش یافته و حجم اطلاعات بسیار افزایش یافته، اکنون می‌توان نمونه‌های یک نوع سرطان را در چند بیمار توالی‌یابی کرد.

آزمایشات چند ژنی همچنین می‌توانند تشخیص جهش‌های قابل ردیابی در انواع سرطان‌ها را علاوه بر جهش‌های آزمایش شده راحت‌تر کنند. چنین دستاوردی می‌تواند گزینه‌ای درمانی ارائه دهد، زمانی که سایر گزینه‌های درمانی کارآمد نبوده‌اند. حتی در مواردی که هیچ‌گونه جهشی مشاهده نمی‌شود نیز به تصمیم‌گیری در انتخاب روش درمان کمک می‌کند. انکولوژیست‌ها ممکن است با دردست داشتن این اطلاعات، روش‌های درمانی خاصی را حذف کنند. که این عمل بیماران را از خطرات احتمالی و هدر دادن وقت با امتحان کردن تیمارهای بی‌تأثیر حفظ می‌کند.

کاربردهای کلینیکی NGS

از زمان ابداع NGS در سال ۲۰۰۷ تاکنون این تکنیک پیشرفت‌های گسترده‌ای در تشخیص ژن‌های ایجادکننده‌ی سرطان داشته است. تأثیر NGS در تشخیص پایه‌ای طیف تغییرات ژنتیکی موجود در سرطان که شامل واریانت‌های تک نوکلئوتیدی، تغییرات تعداد کپی و بازآرایی‌های عمده ژنومیک می‌شود، راه را برای تعیین توالی تمامی انواع سرطان‌ها گشوده است. چنانکه از زمان ابداع NGS ژنوم کامل سرطان خون میلوئید (AML) سرطان سینه و تعدادی دیگر از سرطان‌ها تشریح شده‌اند. با وجود حجم بالای اطلاعات بدست آمده از NGS تعداد روز افزونی از ژنوم‌های سرطانی، ترنسکرپتوم‌ها و متیلوم‌ها در حال اکتشاف هستند. به کارگرفتن این اطلاعات در عمل می‌تواند به تشخیص دقیق‌تر، پیش‌بینی و پایش نتایج درمان کمک کند.

مثال‌هایی از NGS در پزشکی

NGS درک عمیق‌تری از پاتولوژی ژنتیکی بیماری‌ها برای ما فراهم آورده است. این تکنیک متدی بسیار حساس برای آنانی که همزمان ژن‌های درگیر در دیابت مونوزنتیک دارند، ارائه کرده است. این آزمایش به تنهایی می‌تواند موتاسیون‌هایی را که سابقاً با توالی‌یابی سنگر مشخص شده بودند، نشان دهد. افزایش تعداد ژن‌های آزمایش شده منجر به شناخت تعداد بیشتری از جهش‌ها شده است. NGS یک تکنیک پرکار در درمان غربالگری و تشخیص پیش از تولد است. تشخیص قبل از تولد با

- رنگ آمیزی کروموزوم و کاریو تایپینگ: تکنیکی است که در آن از رنگ آمیزی گمیسا برای دیدن باندها زیر میکروسکوپ استفاده می‌شود. که برای دیدن اختلالات کروموزومی در سطح متافاز مانند آنیوپلویدی و بازآرایی‌های مشخصی که زیر میکروسکوپ قابل مشاهده هستند، عالی است.

B. سیتوژنتیک مولکولی

- FISH: یک تکنیک سیتوژنتیکی برای مشخص کردن و یافتن محل حضور یا عدم حضور توالی مشخصی از DNA روی کروموزوم است. محققان با استفاده از نتایج FISH می‌توانند تفاوت‌های ساختاری را تا حد ۱-۲ kbp مشخص کنند.

C. DNA microarrays

اری‌ها برای جستجوی تغییرات در copy number و حذف‌ها تا ۱۰-۵ kb مورد استفاده قرار می‌گیرند. اما با این وجود، اطلاعاتی درباره‌ی محل کپی‌های دوپل شده ارائه نمی‌دهند. آنها محدود به پیدا کردن توالی‌هایی هستند که بخشی از مرجع طراحی آنها بوده‌اند.

D. توالی‌یابی نسل جدید (NGS)

NGS می‌تواند تمامی انواع اختلالات از جمله جابجایی‌های متعادل، واژگونی و تغییرات در سطح توالی را حداقل ۱۰۰ برابر دقیق‌تر و تا سطح تک نوکلئوتید نشان بدهد.

در کلینیک‌ها افراد با استفاده از NGS قادر به تعیین وضعیت جهش‌های موجود در تومورها در چند ژن به صورت همزمان خواهند بود.

NGS به دلیل میزان حساسیت بالا، برای آزمایش‌های سرطان شناسی، بسیار مناسب می‌باشد. موتاسیون‌های سوماتیک مهم موجود در بخشی از سلول‌های آزمایش شده می‌توانند به طور قابل اطمینانی مشخص شوند به گونه‌ای که دقت بسیار بالاتری نسبت به متدهای توالی‌یابی سنتی دارند. از نظر کلینیکی این تکنولوژی همچنین در تولید و فراهم کردن اطلاعات حاصل از توالی‌یابی نمونه‌های آرشیو شده در فرمالین که به صورت روتین در تحقیقات استاندارد پاتولوژی در دسترس هستند نیز موفق بوده است.

مهم‌ترین اثر NGS در ژنومیک سرطان قابلیت دوباره توالی‌یابی کردن،

زیاد، مسائل اخلاقی مرتبط با اطلاعات ژنتیکی تولید شده و نیاز به نرم افزارهای آسان برای تجزیه و تحلیل توالی‌های بدست آمده مواردی هستند که باید ذکر شوند.

ویژگی‌های NGS

ظهور اطلاعات فراوان نیاز به پیشرفت ابزارهای محاسباتی برای تجزیه و تحلیل این حجم اطلاعات و همچنین تیم‌های مختلف از دانشمندان برای تدوین دیدگاه‌های درمان منحصر به فرد و داروهای منحصر به فرد برای درمان سرطان را ایجاد کرده است. امید است که فهم کامل مولکولی سرطان، ابزارهای ضروری پیشرفت مارکرهای زیستی جدید برای غربالگری و داروهای منحصر به مسیر سلولی هدف را فراهم کند.

در سال ۲۰۱۴ جامعه بین‌المللی سرطان شناسی سلولی (ISCO) و کارگاه اروپایی سیتوژنتیک و ژنتیک مولکولی سرطان‌های بافتی (EWCMS) در یک گردهمایی درباره‌ی دسترسی روز افزون به تکنولوژی‌های توالی‌یابی جدید که امکان آنالیز دقیق‌تر ژنوم سرطانی را فراهم می‌آورد بحث کردند. اکنون مسأله‌ای چالش برانگیز موجود، نحوه ارتباط پیدا کردن تغییرات ساختاری در ژنوم سرطانی به مکانیسم ایجاد کننده بیماری و همچنین کشف فرصت‌هایی برای طراحی متدهای درمانی جدید است.

- برگردان مقاله چاپ شده در:

HSOA Journal of Cancer Biology and Treatment

استفاده از DNA جنینی موجود در سرم مادر، نمایانگر کاربرد NGS در تشخیص ناهنجاری‌های تعدادی (آنیوپلوئیدی) با استفاده از یک روش غیرتهاجمی می‌باشد. تکنولوژی NGS در بیماری‌های مختلف انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از جمله:

۱- اختلالات تک ژنی مانند ناشنوایی و عقب ماندگی ذهنی.

۲- بیماری‌های رایج و پیچیده مانند بیماری‌های قلبی و عروقی، فشار خون بالا و چاقی مفرط.

۳- سرطان‌ها.

هدف از این دست مطالعات فراهم کردن اطلاعات ژنتیکی کافی و موثر برای درمان بهتر، دقیق‌تر و سریع‌تر و همچنین تشخیص کم هزینه‌تر بیماران است که این مسأله یکی از دغدغه‌های اصلی دنیای ژنومیک امروزه است.

مزایا و محدودیت‌های NGS

توالی‌یابی DNA برای فهم و رمزگشایی اطلاعات ژنتیکی در هر سیستم زیستی ضروری است. NGS که یک تکنیک ارزان و پیشرفته است، پیشرفت‌های تکنیکی جدیدی را در عرصه‌های مختلف زیست سرطان و درمان شکل داده است. همچنین پلتفرم‌های توالی‌یابی گسترده از تکنیک‌های دیگر توالی‌یابی پرکاربردتر هستند. محدودیت‌های اندک NGS شامل کنترل کیفی، نگهداری و مدیریت اطلاعات، گزارش نتایج پیچیده و حق ثبت تجاری می‌باشد که ممکن است آزمایشگاه‌های در حال استفاده از این تکنیک را متاثر سازد.

ظهور NGS سلامت انسانی را افزایش داده است، اگر چه هزینه‌های

References:

1. Kuleshov V, Xie D, Chen R, Pushkarev D, Ma Z, et al. (2014) Whole genome haplotyping using long reads and statistical methods. *Nat Biotechnol* 32: 261-266.
2. Meldrum C, Doyle MA, Tohill RT (2011) Next generation sequencing for cancer Diagnostics: a practice perspective. *Clin Biochem Rev* 32: 177-195.
3. Daber R, Sukhadia S, Morrisette JJ (2013) Understanding the limitation of next generation sequencing informatics, an approach to clinical pipeline validation using artificial data sets. *Cancer Genet* 206: 441-448.
4. Sheun A, Foulkes WD (2010) Clinical implications of next generation sequencing for cancer medicine. *17: 39-42.*
5. Hui P (2012) Next generation sequencing: Chemistry, technology and applications. *Top Curr Chem* 10: 329-337.
6. Rabbani B, Tekin M, Mahdieh N (2014) The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. *J Hum Genet* 59: 5-12.
7. Ellard S, Lango Allen H, De Franco E, Flanagan SE, Hysenaj G, et al. (2013) Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next generation sequencing. *Diabetologia* 56: 1958-1963.
8. Hert DG, Fredlake CP, Barron AE (2008) Advantages and limitations of next generation sequencing technologies: a comparison of electrophoresis and non-electrophoresis methods. *Electrophoresis* 29: 4618-4626.
9. Hurd PJ, Nelson CJ (2009) Advantages of next generation sequencing versus the microarray in epigenetic research. *Brief Funct Genomic Proteomic.*
10. Pavlopoulos GA, Oulas A, Lacucci E, Sifrim A, Moreau Y, et al. (2013) Unraveling genomic variation from next generation sequencing data. *BioData Min* 6: 13.
11. Gullapalli RR, Desai KV, Santana-Santos LK, Kant JA, Becich MJ (2014) Next generation sequencing in clinical medicine: Challenges and lessons for pathology and biomedical informatics. *J Pathol Inform* 3: 40.
12. Geurts van Kessel A (2014) The cancer genome: from structure to function. *Cell Oncol* 37: 155-165.