**عبدالحسين مويت الفيصل**

Sunday, December 19, 2010
8:39 PM

مجلة أم سلمة للعلوم — مجلد 5(2)2008

# الاضرار الكروموسومية العددية و التركيبية و دور مورث السرطان N-ras في خط خلايا سرطان الحنجرة Hep-2 .

*عبدالحسين مويت الفيصل* وأمال محمد علي** وناهي يوسف ياسين****

تاريخ قبول النشر 2008/5/27


## الخلاصة:

في البحث الحالي تم استخدام طرق وراثية خلوية و طرق جزيئية لتحديد التشوهات الكروموسومية في خط خلايا سرطان الحنجرة Hep-2 و معرفة دور مورث السرطان الابتدائي N-ras في نشوء و تطور هذا النوع من السرطان. بينت نتائج البحث وجود تشوهات كروموسومية عددية و تركيبية متنوعة في خط خلايا السرطان المستعمل في هذا البحث. حيث احتوت خلايا سرطانية على ثلاثية مجاميع كروموسومية في التمريرة 187 و زاد عن ذلك في التمريرة 207 و كانت اكثر الكروموسومات تكرارا في الزيادة هي كروموسومات 1 و7 و16 و 17 و18 . أما التغيرات التركيبية فقد اشتملت على حذف في الذراع القصير لكروموسوم 1 ( del 1p) و الذراع الطويل لكروموسومي 6 (del 6q) و كروموسوم 1 (del 1q) . كما سجل وجود زيادة في الذراع القصير لكروموسومي 3 و12 .

أما على المستوى الجزيئي فقد تبين من خلال استخدام تقنية تفاعل سلسلة البوليمريز PCR و بادئات لموقعين وراثيين للمورث N-ras وجود حذف وراثي دقيق في موقع 61 للمورث السرطاني N-ras و ذلك في التمريرة 187 و حذف كامل للموقعين 61 و 13/12 في التمريرة 207 . أكدت هذه النتائج وجود عدم استقرارية وراثية عالية في هذا النوع من السرطان و أن هذه النتائج تدعم نظرية نشوء السرطان بمراحل متعددة.


## المقدمة :

يتميز السرطان بعدم قدرتة على الاحتفاظ على محتواه الوراثي سليما مؤديا الى ظهور و تجمع الاضرار الكروموسومية في خلاياه بعد كل انقسام خلوي( 1 ,2) . يعتقد بأن هذه الاضرار تلعب دورا في نشوء السرطان و تطوره حيث تزيد من معدل التشوهات الكروموسومية التي تتضمن الحذوف و التضخمات في المورثات التي لها علاقة بتكاثر الخلايا ( 3 ) .

يختلف نمط التشوهات الكروموسومية في السرطان بشكل كبير حيث يتراوح بين تراكب كروموسومي متوازن الى تشوهات معقدة تؤثر على تركيب الكروموسومات و على عددها في الخلايا ( 4 ). بعض انواع السرطان يمتلك عددا قليلا من التشوهات الكروموسومية بينما تمتلك انواعا اخرى دزينة من هذه التشوهات ( 5). و يعتبر وجود 3-5 انواع من التشوهات الكروموسومية في الخلية كاف لاعتبار التشوهات معقدة بينما لا يمكن التكهن بعدد الاحداث الوراثية التي تؤدي الى تعقد هذه التشوهات ( 6 ). كذلك فأن طيف التشوهات الكروموسومية يختلف اعتمادا على الطبيعة النسيجية و التشريحية لموقع نشوء السرطان. أن التغيرات التي تحصل في كروموسومات الخلايا السرطانية تعكس وجود اليات متنوعة لحصولها في السرطان. فزيادة او نقصان اعداد الكروموسومات قد ينشأ نتيجة فقدان بعض الكروموسومات في الطور الاستوائي او الانفصالي او حصول انقسام متعدد الاقطاب مرتبط بتشوهات في سنترومير الكروموسومات ( 7) .

يمكن مشاهدة عدم استقرارية المحتوى الوراثي هذا في عددا من انواع السرطان مثل سرطان البنكرياس و المبيض و الرأس و العنق و الحنجرة هذا أضافة لسرطان العظام و سرطانات الانسجة الرخوة أذا يمكن مشاهدة نوعي التشوهات الكروموسومية العددية و التركيبية فيها( 8) .

أما التشوهات الكروموسومية التركيبية فأنها ترتبط مباشرة بتشوهات المادة الوراثية DNA التي يؤدي انكسارها الى ظهور انواعا مختلفة من هذه التشوهات تبدو واضحة في مراحل الانقسام الخلوي (9). و على أي حال فأن الكثير من هذه التشوهات يرتبط ارتباطا و ثيقا مع تنشيط او تثبيط مورثات سرطانية ابتدائية C-Oncogenes او مورثات كابتة للاورام Suppressor genes (12,11,10).

أن افضل الوسائل و الانظمة المناسبة لتحقيق هذا الهدف هو استخدام الخطوط خلوية Cell lines المشتقة من سرطان الحنجرة و سرطان الدماغ و ذلك لسهولة التعامل معها و توفرها بصورة مستمرة وسهولة متابعة المتغيرات الخلوية و الوراثية داخلها.تمثل الخطوط الخلوية للسرطان من اهم الانظمة التي استخدمت خلال فترة طويلة في ابحاث السرطان(15,14,13) . تتميز خلايا خط السرطان بكونها سريعة النمو و لها القدرة على النمو على اوساط غذائية زرعية متنوعة مثل الاوساط RPMI-1640 ,MEM ,DMEM و في محيط يتراوح الاس الهيدروجيني

*دكتوراه في الوراثة الطبية الجزيئية /معهد الهندسة الوراثية و التقنيات الاحيائية للدراسات العليا/جامعة بغداد
**ماجستير في الوراثة الخلوية/المركز العراقي لبحوث السرطان و الوراثة الطبية/ الجامعة المستنصرية
**دكتوراه في الوراثة الخلوية/المركز العراقي لبحوث السرطان و الوراثة الطبية-الجامعة المستنصرية

لـه بـين 6.8-7.4 ( 16). أسـتعملت هـذه الخطوط الخلوية في العديد من الابحاث التجريبية مثل انتاج الاورام في حيوانات المختبر ( 17) و تجريب انـواع مختلفـة مـن المستخلصـات النباتيـة و السـموم البكتيرية ( 18) و دراسات التغيرات الكروموسومية و الوراثيـة (21,20,19). أن الهدف من هذا البحث هو دراسة الاضرار الكروموسومية المرافقة لسرطان الحنجرة و كذلك دراسة دور مورث السرطان الاولي N-ras في هذا النوع من السرطان.

## المواد و طرق العمل:

### أ - تهيئة الخلايا السرطانية:

هيئت الخلايـا السـرطانية أسـتنادا الـى الطريقـة التـي وردت فـي المصـدر ( 16). أسـتخرجت التمريـرات رقم 187, 207 الخاصة بخط خلايا سرطان الحنجرة البشـري (Hep-2) مـن خـزان النتـروجين السـائل ووضـعت بدرجـة حـرارة المختبـر لمـدة 20 دقيقـة ثـم حضـنت انابيب التمريرات بدرجـة حرارة 37 م لمـدة 5 دقائق. نقلت محتويات كل انبوبـة الـى قنينـة زراعـة بحجـم 25 سـم تحتـوي علـى 5مـل مـن الوسـط الغذائي RPMI-1640 المقـوى ب 10%مـن مصـل العجل البقري. حضـنت القنـاني بدرجـة حـرارة 37م داخل حاضـنة مزودة ب 5% ثـاني اوكسيد الكـاربون حتـى وصـول الخلايـا الـى مرحلـة تكـوين طبقـة خلويـة conflent مـع مراعـاة تغييـر الوسـط الغذائـي يوميا.

أزيل بعدها الوسط الغذائي ثم حولت طبقة الخلايا الى معلـق خلايـا مفـردة بعـد اضـافة ملليليتـر مـن مـزيج الانزيمــات( 0.045 مــايكروغرام/مــل تربســين-0.1مـايكروغرام/مـل فرسـين) لمـدة 30-20 ثانيـة. وبأستخدام 2-3 مل من الوسط الغذائي تم شفط الخلايا و نقلهـا الـى انابيب نبذ مركزي معقمـة حيث رسبت الخلايـا بقـوة نبـذ ( 2000 دورة فـي الدقيقـة) لمـدة 5 دقـائق ليـتم الـتخلص مـن الرائـق ثـم علقـت الخلايـا بأضـافة 1مل من الوسط الغذائي و استخدمت بعدها لتحضــير تجمعــات الكروموســومات و اســتخلاص المادة الوراثية من كل تمريرة.

### ب-تحضير الشـــرائح الزجاجيـــة الخاصـــة بالكروموسومات:

حضرت تجمعات الكروموسومات استنادا الى ما ورد فـي المصـدر( 22). زرع 1 مـل مـن محلـول خلايـا تمريـرات سـرطان الحنجـرة فـي قنـاني زراعـة تحـت نفس الظـروف السـابقة و بـنفس الخطـوات السـابقة و تركـت المـزارع لتنمـو حتـى وصـولها مرحلـة طبقـة الخلايـا ثـم اضــيفت مــادة الكولجسـين بتركيـز 12 مايكروجرام/مل و لكل قنينة زراعة ثم تركت الخلايا مع هذه المادة لمدة 30-20دقيقة.

أزيـل الوسـط الغـذائي مـن القنـاني ثـم حولـت طبقـات الخلايا الى معالق خلوية كما سبق ثم نقلت الخلايا الى قنـاني نبـذ مركـزي و رسـبت الخلايـا بعـدها بالنبـذ المركزي بنفس الظروف السابقة. علق راسب الخلايا بما تبقى من وسط غذائي ثم أضيف 3 مل من محلول ملـح البوتاسـيوم KCL بتركيـز 0.075 و حفظـت الانابيب بدرجـة حـرارة 37 م لمدة 30 دقيقة. رسبت الخلايـا بعـدها بالنبـذ المركـزي ليـزال الرائـق ثـم اضيف5 مل من المثبت (3أجزاء من كحول الايثانول + جزء واحد مـن حـامض الخليك الثلجـي ) . حضـنت الانابيـب لمـدة 5 دقـائق بدرجـة حـرارة المختبـر ثـم رسـبت الخلايـا بالنبـذ المركـزي. أزيـل الرائـق و تـم تكرار معاملـة الخلايـا بالمثبـت لعـدة مـرات حتـى الحصـول علـى رائـق ابيض اللون ثـم أزيل الرائـق و رسبت الخلايا و علقت الخلايا بما تبقى من رائق في الانابيب.

حضـرت تجمعـات الكروموسـومات باسـقاط الخلايـا على هيئة قطرات متتالية علـى شرائح زجاجية نظيفة تمامـا. تركـت الشـرائح الزجاجيـة لتجـف ثـم عوملـت بأنزيم التربسين بتركيز 0.045مـايكروجرام / مـل لعدة ثواني ليتم التخلص من الانزيم بترك الشرائح الزجاجية علـى هيئـة مائلـة لعدة ثواني. أضيف بعدها محلـول ملـون جمزا Geimsa stain لجميع الشرائح الزجاجية و تركت الشرائح مع الملون لمدة 3-2دقيقة غسـلت بعـدها بمحلـول سورنسـن الـدافئ ثـم تركـت لتجف.

حضـرت ثلاثـة شـرائح زجاجيـة لكـل تمريـرة مـن تمريـرات الخلايـا السـرطانية و فحصـت التجمعـات الكروموسومية لكل تمريرة بالمجهر الضوئي .

### ج- أستخلاص المادة الوراثية( DNA ) :

أستخلص الدنا استنادا الى ماورد في المصدر ( 23 ). استخلصـت المـادة الوراثيـة مـن خلايـا التمريـرات التي جمعت في نهاية زراعة الخلايا ( الخطوة الاولى من طرق العمل ) و كذلك من محلول خلايا طبيعية لمفاوية كعينة سيطرة.

أسـتخدم فـي هـذا العمـل عـدة أسـتخلاص DNA مستوردة من شركة بروجما الامريكية Progma .

خلط 900 مـايكروليتر مـن محلـول الخلايـا مـع 900 مايكروليتر من محلول تحلل الخلايا في انابيب نظيفة و معقمة. حضنت انابيب الاستخلاص بدرجة حرارة 20 م لمدة ساعة واحدة. رسبت نـوى الخلايا بعدها بالنبذ المركزي بسرعة 3000 دورة في الدقيقة. أزيل الرائق ثم علق الراسب بأضـافة 300 مـايكروليتر من محلـول تحليـل النـوى مـع الخلـط بشـكل هـادئ لعـدة دقـائق. أضـيف بعـدها 300 مـايكروليتر مـن محلـول تحليل البروتينات مع استمرار الخلط للمحلول.نبذت انابيـب الاسـتخلاص بالنبـذ المركـزي بسـرعة 3000 دورة فـي الدقيقـة لمدة 10 دقائق ثم نقل الرائق الذي يمثل المـادة الوراثيـة(DNA) الـى انابيب استخلاص جديـدة نظيفـة و معقمـة و رسـبت المـادة الوراثيـة بأضـافة حجـم مسـاوي مـن كحـول الايزوبروبـانول البارد الى انابيب الاستخلاص. مزجت محاليل المادة الوراثية مع الكحول بالتقليب حيث يظهر الدنا كخيوط بيضاء رقيقة. رسب الدنا بالنبذ المركزي كما سبق و تم الـتخلص مـن الرائـق ليـتم غسـل الراسـب بكحـول الايثـانول 70%. جففت عينـات الدنا بحفظهـا بدرجـة حـرارة 37م لمـدة سـاعة ثـم اذيبـت بأضـافة 100 مايكروليتر من الماء المقطر.

حسـب تركيـز الـدنا و نقاوتـه بأسـتخدام المطيـاف الضـوئي عند طـول مـوجي 260 و 280 انكستروم.

كما تم التأكد من خلوه من الشوائب و البروتينات عن طريق معاملة عينات منه مع عدد من الانزيمات القاطعة . حفظت بعدها عينات الدنا بدرجة حرارة -20م حتى استخدامها في تفاعلات سلسلة البوليميريز Polymerase chain reaction-PCR.

**د- تفاعل سلسلة البوليميريز (PCR) :**

أستخدمت لهذا الغرض عدة تفاعل مستوردة من شركة سيناجين Cinagen الايرانية فيما استوردت البادئات الخاصة بالمورث السرطاني الاولي N-ras من شركة الفا الكندية Alpha و الموضحة ترادتها في الجدول -1 .

جدول – 1: ترددات البادئات المستخدمة في تفاعل سلسلة البوليميريز PCR.

| المورث السرطاني | البادئة العاكسة | البادئة الامامية | الموقع |
|---|---|---|---|
| N-ras | 5- AATATGATCCCACCATAGAG -3 | 5- ATGACTGAGTACAAACTGGT -3 | 12/13 |
| N-ras | 5- AGGACAGGCGAAGGCTTCCTC -3 | 5- CAAGTGGTTATAGATGGTGA -3 | 61 |

اجري تفاعل سلسلة البوليميريز PCR اعتمادا على طريقة سيكاي و جماعته عام 1989 (24)و ذلك بأستخدام جهاز دورات تفاعل PCR من شركة تكنوجين البريطانية Technogen .

مزج 100 نانوجرام من DNA كل تمريرة من تمريرات كل نوع من السرطان مع 35 مايكروليتر من محلول تفاعل سلسلة البوليميريز Master Mixture و 40 بيكامول من كل بادئة من بادئات كل موقع و لكل مورث سرطاني ابتدائي. علما بأنه تم تحضير تفاعل مستقل لكل زوج بادئات تعود لموقع واحد و لمورث واحد. أكمل حجم التفاعل الى 50 مايكروليتر بأضافة ماء مقطر معقم ثم اضيف 2 مايكروليتر من الزيت المعدني لكل انبوبة تفاعل لمنع تبخر محتويات التفاعل. وضعت الانابيب في جهاز دورات تفاعل PCR وفق البرنامج المناسب للتفاعل ((95 درجة مئوية لمدة دقيقتين ثم 58 درجة مئوية لمدة 20 ثانية و72 درجة مئوية لمدة 30 ثانية و لغاية 20 دورة تفاعلية ) .

أستخدم 10 مايكروليتر من كل تفاعل لاغراض الهجرة الكهربائية عبر هلام الاجاروز بتركيز1% و لمدة 20 دقيقة و بفولتية 100 فولت . لون الهلام بعدها بملون بروميد الاثيديوم و فحصت الحزم الناتجة من التفاعل بجهاز الاشعة فوق البنفسجية ثم صورت بكاميرا رقمية .

**النتائج:**

أ-التغيرات الكروموسومية العددية و التركيبية في خلايا الخطوط السرطانية:

تضمن العمل دراسة هذه التغيرات في التمريرتان 187 و 207 من خط خلايا سرطان الحنجرة حيث فحص ما معدله 50 خلية في الطور الاستوائي لكل تمريرة.بينت نتائج فحص خلايا كل تمريرة وجود تغيرات كروموسومية تختلف من خلية الى اخرى. أذ تراوح العدد الكلي للكروموسومات في خط خلايا سرطان الحنجرة مابين اقل من ثلاثية المجموعةالكروموسومية في التمريرة 187 و اكثر من ثلاثية المجموعة في التمريرة207.كما تبين من خلال فحص الكروموسومات بأن عدد نسخ الكروموسومات متغير في خلايا التمريرة الواحدة الا أن أكثر الكروموسومات تغيرا في عدد نسخها كانت كروموسومات رقم 1و7و16و17 و 18( جدول- 2 )

جدول-2 : التغيرات العددية المسجلة في تمريرات خط خلايا سرطان الحنجرة Hep-2 .

| رقم التمريرة | عدد الخلايا | المدى | المعدن الكروموسومي |
|---|---|---|---|
| 187 | 35 | 65 | 50-72 |
| 207 | 21 | 76 | 63-83 |

أما التغيرات التركيبية فقد شملت فقدان جزئي او كلي في الذراع القصير لكروموسوم 1 في بعض الخلايا ( 1p ) او فقدان جزئي او كلي في الذراع الطويل لنفس الكروموسوم ( 1q ) في خلايا اخرى.

كما شملت التغيرات زيادة جزئية او كلية في الذراع القصير لكروموسوم 3 ( 3q ) وكروموسوم 12 ( 12p ) أو فقدان الذراع الطويل لكروموسوم 6 (6p ) ( جدول- 3 ).

ويجدر الذكر بأن التغيرات التركيبية الانفة الذكر سجلت في كلا التمريرتين 187 و 207 لخط خلايا سرطان الحنجرة الا انها كانت اكثر استقرارا في التمريرة 207 .

جدول 3:التغيرات التركيبية التي سجلت في خط خلايا سرطان الحنجرة Hep-2.

| التغير الكروموسومي | التكرار في التمريرة 187 | التكرار في التمريرة 207 |
|---|---|---|
| 1p- | 3 | 4 |
| 1q+ | 3 | 1 |
| 3p+ | 2 | 2 |
| 6q- | 4 | 2 |
| 12p+ | 1 | 2 |

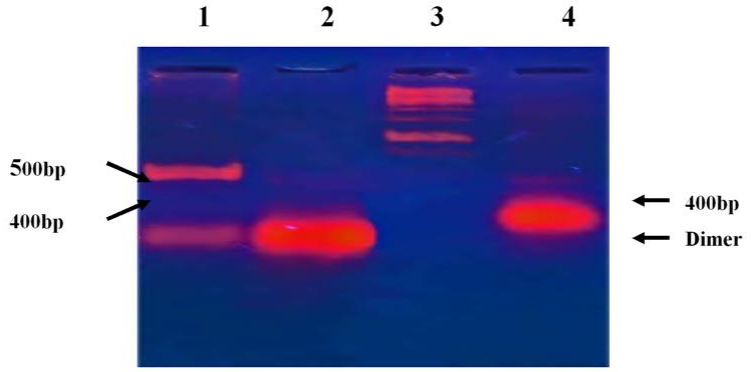
ب- دور مورث السرطان N-ras في سرطان الحنجرة:

يوضح شكل -1 نتائج تحليل الدنا المستخلص من تمريرات مختلفة لسرطان الحنجرة و بأستخدام تفاعل PCR مع بادئات لموقعي12/13 و 61.

يظهر من خلال الشكل بأن هناك فقدان في الموقع 61 لمورث السرطان الابتدائي N-ras في التمريرة 187 لخط سرطان الحنجرة Hep-2 حيث اظهر تفاعل PCR وجود حزمة واحدة بحجم(400 pb)تمثل الموقع 13/12 فيما اختفت كلا الحزمتين في التمريرة 207 مقارنة مع العينة الطبيعية.



Unfiled Notes Page 3




شكل - 1 : تفاعل PCR لل DNA المستخلص من تمريرات 178 و 207 لخط خلايا سرطان الحنجرة Hep-2 و عينة DNA مستخلصة من شخص طبيعي مع بادئات للموقعين 12/13 و 61 للمورث السرطاني N-ras .
- الخط رقم 1 يمثل PCR لعينة ال DNA المستخلص من دم شخص طبيعي غير مصاب .
- الخط رقم 2 يمثل PCR لعينة ال DNA المستخلصة من التمريرة 207/ سرطان الحنجرة .
- الخط رقم 3 يمثل حزم DNA قياسية.
- الخط رقم 4 يمثل PCR لعينة ال DNA المستخلصة من التمريرة 187 / سرطان الحنجرة.

## المناقشة :

بينت نتائج الفحوصات الكروموسومية التي اجريت على خلايا تمريرات الخط الخلوي لسرطان الحنجرة وجود هيئة كروموسومية معقدة . أذ اختلف عدد الكروموسومات من خلية الى خلية ضمن التمريرة الواحدة و تراوح هذا العدد بين 46 –83 كروموسوما و هو ما يعكس التباين في التغيرات الكروموسومية العددية في السرطان.و يلاحظ من النتائج ان اعداد الكروموسومات زادت في التمريرة 207 مقارنة مع اعدادها في التمريرة 187 و هو مايعكس استمرار و تزايد حصول التغيرات الوراثية في الخلايا السرطانية مع تقدمها بالعمر..

أختلف أعداد نسخ الكروموسومات في خلايا كلتا التمريرتين و لكنها كانت عشوائية لمعظم الكروموسومات أذ لا يمكن الجزم بوجود اولوية لبعضها على بعض .الا ان تكرار كروموسوم 7 في دراسات مماثلة اوضح تغيرا غير عشوائي (16).وقد سجل مثل هذا التغير غير العشوائي في كروموسوم 7 في دراسات اخرى تناولت انواعا اخرى من السرطان ( 26,25).فقد سجلت انواع من التغيرات في كروموسوم 1 تترافق مع حالات عديدة من سرطان المجاري البولية- التناسلية تراوحت ما بين حذوف صغيرة و فقدان في اذرع الكروموسوم و فقدان كلي لكروموسوم مفرد (27 ) . كما سجلت مثل هذه التغيرات في كروموسوم 1 في سرطان الغدد الصماء ( 28 ) و سرطان المعدة (29) و سرطان النيروبلاستوما ( 30 ) .

كما سجلت انواع مختلفة من التغيرات الكروموسومية و الجينية في حالات من انواع مختلفة من سرطان الدماغ مثل فقدان الذراع القصير لكروموسومات 9 و 12 و 15 و 16 و17 (35,34,33,32,31 ) و فقدان الذراع الطويل لكروموسومات 6 و 13 و 16 و19 و 22 (37,36 ) و فقدان كامل لكروموسومات 10 و 22 (40,39,38 ). توضح نتائج الشكل-1 بأن هناك حذف كامل لمورث N-ras في الموقعين 12/13و 61 في التمريرة 207 لخط سرطان الحنجرة Hep-2 حيث فشل تفاعل PCR في انتاج تردد DNA نظير للمحورين المحذوفين مقارنة مع انتاج حزمتين DNA بطول 500،400 pb في عينة السيطرة الطبيعية.فيما اظهر تفاعل PCR وجود حذف في الموقع 61 في DNA التمريرة 187 لخط سرطان الحنجرة Hep-2 .

أن نتائج تفاعل PCR الموضحة بالشكل 1 تؤكد بشكل قاطع أن سرطان الحنجرة ينشأ من حدوث عدة تغيرات وراثية متتابعة يمثل الحذف في الموقع 61 من المورث السرطاني الابتدائي N-ras في التمريرة 187 حدثا وراثيا . فيما يمثل فقدان الموقعين 12/13 و 61 لنفس المورث في التمريرة 207 حدثا وراثيا اخرهذا اضافة للتشوهات الكروموسومية المسجلة. أن نتائج هذا البحث توضح مدى عمق فقدان الاستقرار الوراثي في الخلايا السرطانية و تدعم نظرية نشوء السرطان نتيجة حصول احداث وراثية عديدة متعاقبة.

أن هذه النتائج تتطابق مع ما وجدناه في الفحوصات الوراثية-الخلوية للتمريرات نفسها حيث يوضح الجدول3 بـأن تكرار فقدان الذراع الصغير لكروموسوم 1(-1p ) وهو الذراع الذي يقع عليه المورث السرطاني الابتدائي N-rasيزداد في التمريرة 207 مقارنة مع التمريرة 178 .

تترافق مثل تلك الحذوف و الطفرات الوراثية في المورث N-ras مع العديد من انواع السرطان.فقد سجلت طفرات المواقع12/13 و 61 لمورث N-ras في ابحاث اخرى حول سرطان الحنجرة ( 42,41 ). فيما سجلت في ابحاث اخرى طفرات وراثية و حذوف في المورث H-ras والمورث K-ras اضافة لطفرات وراثية في المورث N-ras في سرطان الحنجرة ( 44,43 ) .

كما سجلت مثل تلك التغيرات الوراثية في المورث السرطاني N-ras في سرطان ابيضاض الدم- اللوكيميا الحادة (45) و سرطان المثانة( 46)و سرطان الجلد– الميلانوما( 47 ).

المصادر


1- Al-Faisal, A.H.M., Al-Katteb,I. and Al-Katteb,F.2000.DNA Ploidy and Heterogeneity in Ovarian Cancer. Cancer Mol. Biol.7:1471 –1479.
2- Al-Faisal,A.H.M.,Al-Katteb,I.and Habashna,M.2001.Elevation of Prostatic Speeific Antigen in Prostate benign hyperplerplasia and prostatic Cancer.Cancer Mol.Biol.8:1591-1597.
3- Larson,P.L.,Schlechter,B.L.,Morenas ,A.D.,Garber,J.E.,Gupples,L.A.,and Rosenberg,C.L.2005.Allelr imbalane- or loss of heterozygosity in normal breast epitheliaum of sporadic breast cancer cases and BRCA1 gene mutaion carriers is increased compared with reduction mammoplastyssues J.Clin.ncol.34 8613-8619.
4- Yoon,S.K.,Lim,N.K.,Ha,S.A.,Park,y. G.,Choi,J.Y.Chung,K.W.,Sun,H.S.,C hoi,M.J.,Chung,J.,Wands,J.R.and kim,J.W.2004. Human cervical cancer oncogene protein is a biomaker from human hepatocellular carcnoma. Cancer Res. 64:543-544.
5- Fan,X.,Irina,M.,Ihab,E.,Xing,Z.N., Yunyue,W.,Douglas,B.,Daniel,J.B.,A -ieP.and Charles,G.E.2004.Notch1 and Notch2 Have Opposite Effects on Embryonal Brain Tumor Growth. Cancer Research 64,7787–7793.
6- Hui,A.B.,Kwok-Wai,L.,Xiao-Lu,Y., Wai-Sang,P.and Ho-Keung,N.2001 .Detection of Multiple Gene Amplifications in Glioblastoma Mutiforme Using Array-Based Compcative Genomic Hybridization. Lab Invest. 81:717–723.
7- 7.Colorado,P.C.,Torre,A.,Kamphaus, G.,et al.2000.Anti-angiogeniccues from vascular basement membrane collagen. Cance Res;60:2520–6.
8- Moll ,U.M.and Slade,N.2004.p63 and p73:Roles in Development and Tumor Formation.Mol.Cancer Res.2(7): 371-386.
9- Xiong,C.,KONG,W.,ZHANG,S.and ZHANG,D.2006.Relation between the Expression of K-ras in Hep-2 Cells and Development of Laryngeal Carcinoma.The Chinese-German Journal of Clinical Oncology5:1610-1979.
10- Sanchez-Barcelo,E.J,Cos,S.,ernanez, and Mediavilla,M.D.2003.Endorinrelated cancer.Cancer 10:153-159
11- 11.Stites,E.C.,Paul,C.T.,Zhong,M., Kodi,S.R.2007.Network Analysis of Oncogenic Ras Activation in Cancer .Science 318:463–467.
12- Myers,M.E.,Chang,M.H.,Jorgensen, C.,Whitworth,W.,Kassim,S.,Litch,J. A.,Armstrong,L.,Bernhardt,B.,Faucet t,W.A.,Irwin,D.,Mouchawar,J.and Bradley,L.A.2006.Genetic testing for susceptibility to breast and ovarian cancer;Evaluating the impact of a direct to consumer marketing campaign on physicians knowledge and practices.Genetic Med.8:361-370.
13- Pirhonen J.,Timo,S.,Masashi,K., Ilkka,J.and Sampsa M.1999.Virus Infection Activates IL-1ß and IL-18 Production in Human Macrophages by a Caspase-1-Dependent Pathway. The Journal of Immunology,162: 7322-7329
14- Beutin,L.,Olivier,M.,Karl,A.B.,Ker - stin,G.,Sonja,Z.,Herbert,S.and Eric O.2003.HEp-2Cell Adherence,Actin Aggregation,and Intimin Types of Attaching and Effacing Escherichia coli Strains Isolated from Healthy Infants in Germany and Austrialia.Infect Immun.71(7):3995–4002.
15- Li,Yinghui;Li,F.,Li-Ling,J.,Wang,X .,Xu,Z.andSun,K.2005.STK15Gene Overexpression,Centrosomal Amplification,and Chromosomal Instability in the Absence of STK15 Mutations in Laryngeal Carcinoma. Cancer Investigation,23(8):660-664.
16- Ali,A.M.2004.Cytogentic and immunological study on larynx carcinoma cell line.MSc.Thesis,Baghdad University-College of science.
17- Notter,M.F.D.and Docherty,J.J. 2005. Steroid hormone alteration of herpes simplex virus type 1 replication.Journal of Medical Virology
18- Ozawa,T.,Nishikimi,M.,Sugiyama,S .,Taki,F.,Hayakawa,M. and Shionoya,H.1988.Cytotoxic activity of leukotoxin,aneutrophil derived fatty

27- Elmula,I.F.2005.Chromosomal changes in uroepithelial carcinomas. Cell & Chromosome,4:1doi:102(3) :247–252.
28- Ebrahimi,S.A.,Eric,H.W.,Alan,W., Rhona,R.S.,Edward,P.,Jr. and Mark, P.S.1999.Deletion of Chromosome 1 Predicts Prognosis in Pancreatic Endocrine Tumors. Cancer Research 59, 311-315.
29- Chen,Y-J.,Alexander,V.,Zhengping ,Z.,Steve,H.and Robert,T.J.2003 Loss of Heterozygosity of Chromosome 1q in Gastrinomas.Occurrence and Prognostic Significance. Cancer Research 63, 817-823.
30- Ambros,I.M.,Andrea,Z.,Borghild, R.,Gabriele,A.,Ruth,L.,Dieter,P.,Helmut,G.and Peter,F.A.1996.Role of Ploidy,Chromosome 1p,and Schwann Cells in the Maturation of Neuroblastoma.New England J.of medicine 334:1505-1511.
31- .Jen,J.,Harper,W.,Bigner,S.H.,Bigne ,D.D.,Papadopoulos,N., Markowitz, S.,Willson,J.K.V,Kinzler,K.W,Vogelstein,B.1994.Deletion of p16 and p15 in brain tumors.Cancer Res .54:6353.
32- Reifenberger,G.,Reifenberger,J.,Ichimura,K.,Melzter,P.S.,Collins,V.P .1994.Amplification of multiple genes from chromosomal region 12q 13-14 in human malignant gliomas: preliminary mapping of the amplicons shows preferential involvement of CDK4, SAS, and MDM2. Cancer Res.54:4299.
33- Ueki, K.,Rubio,M-P.,Ramesh,V., Correa,K.M.,Rutter,J.L.,Von Deimling,A.,Buckler,A.J.,Gusella,J.F.,Louis,D.N.1994 .MTS1/ CDKN2 gene mutations are rare in primary human astrocytomas with allelic loss of chromosome 9p.Hum.Molec. Genet. 3:1841.
34- Rajagopalan,H.& Lengauer,C.2004 .Progress Aneuploidy and cancer Nature 432: 338-341.
35- Gaiano N,Fishell G.2002.The role of notch in promoting glial and neural stem cell fates.Annu. Rev.Neurosci .25:471–90.
acidepoxide on cultured human cells.Biochem.Int. 16:369-373.
19- Wittmer,K.,Klenk,U.,Gdassgen,A., Aust,D.E.,Diebold,j.,Lohrs,U.B. and Baretton,G.B.2000.FISH analysis of gene aberrations(myc,ccna1,erb-B2 ,Rb and Ar)in advanced prostatic carcinoma befor and after androgen deprivation rherapy. Lab.Invest. 80:1455-1464.
20- Sawer,J.R.,Husain,M.and Al-Mefly, O.2001.Identification of isochromosomes 1q as a recurring chromosome aberration in skull base chordomas:a new manker for aggressive tumors.Neurosurg.Focus 10:1-16.
21- Lensch,,R.,Gotz,C.,Andres,C.,Bex, A.,Lehmann,J.,Zwergel,T.,Unteregger,G.,Kamradt,J.,Stoeckle,M.and Wull ich,B.2002.Comprehensive genotypic analysis of human prostate cancer cell lines and sublines derived from metastases after orthotopic implantation in nud mice. Int.J.onc. 21:695-706.
22- König ,J.J,Wilma,T.,Jan,W.Van D., Johannes, C. R., Anne, H. and Fritz, H.S.2006.Loss and gain of chromosomes 1,18,and Y in prostate cancer.The Prostate 25(6):281– 291.
23- Maniatis,T.,Fritsch,E.F.and Sambrook,J.1982.Molecular cloning.A laboratory manual.Cold Spring harbor Laboratory.New York.
24- Saiki,R.K.(1988).The design & optimization of the PCR.In:"PCR Technology Principles and Applications for DNA amplification edt.Erlich,H.A.Stockton Press,New York.
25- Hoglund,M.,Gisselsson,D.,Hansen, G.G.,Sall,T.and Mitelman,F.2002. Multivariate analysis of chromosomal inbalances in breast cancer delineates cytogenetic pathways and reveals complex relationships among inbalances.CancerRes.62:2675-2680
26- Hoglund,M.mSall,T.,Mitelman,F.,M andahl,N.and Elmula,I.F.2001.Identification of cytogenetic subgroups and karyotypic pathways in transitional cell carcinoma. Cancer Res. 61:8246-8246.

42- .Pellman,D.2007. Cell biology:Aneuploidy and cancer.Nature 446:38-39.
43- Ruíz-Godoy,L.M.R.,Garcia-Cuellar, C.M.,ález,N.E.,Suchil,B.L.,érez-Cárdenas,E.,ácnchez-Pérez,Y.,árez-Roa,M.L.and Meneses.A.2006.Mutational analysis of K-ras and Ras protein expression in larynx squamous cell carcinoma.Exp.Clin.Cancer Res. 25:73-8.
44- Shchors,K.and Evan,G. 2007.Tumor Angiogenesis: Cause or Consequence of Cancer?Cancer Res:67:7059-7061 .6.Nelson,N.J.1999.Viruses and cancer Journal of the National cancer Institute,91, No.20,1709.
45- Shu,X.O.,Perentesis,J.P,Wen,W,Buckley,J.D., Boyle ,E., Ross ,J.A., and Robison,L.L.2004.Parental Exposure to Medications and Hydrocarbons and ras Mutations in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia:A Report from the Children's Oncology Group .Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. 13 (7): 1230-1235.
46- Przybojewska,B.,Jagiellob,A.and Jalmuznac,P.2000.H-RAS,K-RAS,& N-RAS Gene Activation in Human Bladder Cancers.Cancer genetic and cytogenetics.121:73-77.
47- Tsao,H.,Xue,Z.,Kianna,F.and Frank, G.H.,2000.Relative Reciprocity of NRAS and PTEN/MMAC1 Alterations in Cutaneous Melanoma Cell Lines.Cancer Research 60,1800-1804.
36- Thomas,G.A.,Raffel,C.1991.Loss of heterozygosity on 6q,16q,and 17p in human central nervous system primitive neuroectodermal tumors .Cancer Res. 51:639.
37- VonDeimling,A.,Bende,B.,Jahnke,R., Waha,A.,Kraus,J.,Albrecht,S.,Wellenreuther,R.,Fassbender,F.,Nagel,J.,Menon,A.G.,Louis,D.N.,Lenartz,D.,Schramm ,J.,Wiestler,O.D.1994.Lociassociated with malignant progression in astrocytomas:a candidate on chromosome 19q. Cancer Res.54:1397.
38- Von Deimling, A.,Louis,D.N.,von Ammon,K.,Petersen,I.,Hoell,T.,Chung ,R.Y.,Martuza,R.,Schoenfeld,D.,Yasargil,M.G.,Wiestler,O.D.,Seizinger,B.R. 1992.Association of epidermal growth factor receptor gene amplification with loss of chromosome 10 in human glioblastoma multiforme.J. Neurosurg. 77:295.
39- Fults,D.,Pedone,C.1993.Deletion mapping of the long arm of chromosome 10in glioblastoma multiforme.Genes .Chrom osom. Cancer 7:173.
40- Ruttledge,M.H.,Xie,Y.G.,Han,F.Y, Peyrard,M.,Collins,V.P,Nordenskjold, M., Dumanski,J.P.1994.Deletions on chromosome 22 in sporadic meningioma.Genes Chromosom Cancer 10:122.
41- Anwar,K.,Nakakuki,K.,Naiki,H. and Inuzuka,M.1993.ras gene mutations and HPV infection are common in human laryngeal carcinoma.Int J.Cancer.2:53(1):22-8.

## Chromosomal aberrations and N-ras activation in human larynx carcinoma cell line Hep-2.

*Abdul Hussain M. Al-Faisal, Amal M.Ali, and Nahi Y.Yassen*

**Abstract**

In the present study, cytogenetic and molecular techniques were conducted to detect the chromosomal aneuploidy and the involvement of N and H genes in squamous larynx carcinoma cell line Hep-2.Our results showed that numerical and structural abnormalities were involved in larynx cancer Hep-2.The total number of chromosomes ranging from tripolyploidy in passage187to more than that in passage207.The more frequent chromosomes involved in numerical aberrations were chromosomes1,7,16,17 and 18. Structural chromosomal aberrations were also detected.Deletion of short arm was detected in chromosome 1(del 1p) and the long arm of chromosome 1(del 1q)and 6(del 6q).Gaining on short arms were also recorded in chromosomes 3(3p+) and 12(12p+).At the molecular level,one allele of N-ras proto-oncogene was found deleted in the location 61 in passage 187 and complete deletion of both locations in passage 207.These findings reflex a great genomic instability in the the tumor model used in this study. Also the results confirmed the multistages theory in cancer arising.