بسم الله الرحمن الرحيم

پردیس بین الملل

زیست شناسی (ژنتیک)

بررسی تغییرات بیان ژن HDAC11 در بیماران مبتلا به سرطان مثانه

از:

روزبه طبیب صوفی

استاد راهنما:

دکتر فرزام عجمیان

استادان مشاور:

دکتر محمد مهدی سوهانی

دکتر علی حمیدی مدنی

خرداد ۱۳۹۲

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم که با ایثار خود من را در سفر زندگی پشتیبانی کردند

تقدیم به اساتید ارجمندم که من را با علم خود یاری نمودند

و

تقدیم با عشق به او که دست مهربانش را همیشه حس کردم.

تقدیر و تشکر

اکنون که به لطف و عنایت خداوند بخشاینده و همکاری اساتید گرامی، حاصل کار در قالب این پایان نامه به اتمام رسیده است مراتب سپاسگزاری خود را از استاد ارجمند راهنما جناب آقای دکتر فرزام عجمیان که با راهنمایی های ارزنده ایشان این مهم به انجام رسید ابراز می نمایم.

از استادان محترم مشاور جناب آقای دکتر محمد مهدی سوهانی و جناب آقای دکتر علی حمیدی مدنی که با همکاری ارزشمند خویش در تکمیل این پایان نامه یاری ام نمودند صمیمانه قدردانی می نمایم.

از اساتید گرامی؛ سرکار خانم دکتر زیور صالحی و جناب آقای دکتر حمید رضا وزیری که زحمت داوری پایان نامه ام را بر عهده گرفتند و از جناب آقای دکتر محمد جواد مهدی پور نماینده ی محترم تحصیلات تکمیلی بی نهایت سپاسگذارم.

از دوست و همکار گرامی ام آقای مجتبی علیوند و همچنین از سرکار خانم نسیم عباسی کمال تشکر را دارم و دست تمامی دوستان در آزمایشگاه های ژنتیک و تکوین و نیز تمامی کسانی که به هر نحوی اینجانب را در انجام این پژوهش یاری نمودند به گرمی می فشارم و توفیق روز افزونشان را از خداوند متعال خواهانم.

روزبه طیب صوفی- خرداد ۱۳۹۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی.....ط
چکیده انگلیسی.....ی

فصل اول: مقدمه

۱- مقدمه.....۱
۱-۱- سرطان مثانه.....۱
۱-۲- فاکتورهای خطرزا.....۱
۱-۳- وراثت.....۴
۱-۴- تشخیص کلینیکی.....۴
۱-۴-۱- سیستوسکوپی و سیتولوژی.....۴
۱-۴-۲- هماچوری.....۶
۱-۵- هیستوپاتولوژی.....۶
۱-۶-گرید و استیج موارد تازه تشخیص داده شدهٔ سرطان مثانه در یک جمعیت غربال نشده.....۷
۱-۷-شیمی درمانی و سرطان مثانه.....۹
۱-۸-بازگشت سرطان مثانه.....۱۲
۱-۹-سرطان مثانه در ایران.....۱۳
۱-۹-۱-ریسک فاکتورهای سرطان مثانه در ایران.....۱۳
۱-۱۰-اپی‌ژنتیک و سرطان.....۱۴
۱-۱۱- طبقه بندی اعضای خانوادهٔHDACs.....۱۹
۱-۱۲- بیان هیستون داستیلازها در بافت های طبیعی.....۲۱
۱-۱۳- اعمال سلولی اعضای خانوادهٔ هیستون داستیلازهای کلاسیک.....۲۱
۱-۱۴- مطالعات موش های ناک اوت.....۲۴
۱-۱۵- سرطان و HDACs.....۲۵
۱-۱۶- هیستون داستیلاز ۱۱.....۲۸
۱-۱۶-۱- بررسی ساختار جایگاه فعال در آنزیم HDAC11.....۳۱
۱-۱۶-۲- بیان HDAC11 در بافت های انسانی و رده های سرطانی.....۳۲
۱-۱۶-۳- عملکرد های HDAC11.....۳۳
۱-۱۶-۴- ارتباطات فیلوژنتیک HDAC11.....۳۴
۱-۱۷- بازدارنده های هیستون داستیلازها.....۳۵
۱-۱۷-۱- اولین بازدارندهٔ هیستون داستیلازی تائید شده.....۳۶
۱-۱۷-۲- ریسک های استفاده کلینیکی و مشکلات بازدارنده های HDACs.....۳۷
۱- ۱۷-۳- نحوهٔ عملکرد بازدارنده های HDACs.....۳۹
۱-۱۷-۴- تاثیر بازدارندهٔ هیستون داستیلازی والپروئیک اسید بر روی رده‌های سرطانی مثانه.....۳۹
۱-۱۷-۵- بازدارنده‌های اختصاصی HDACs.....۴۱

عنوان صفحه

۱-۱۸- هدف از تحقیق ۴۱

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- دستگاه ها و مواد شیمیایی ۴۳
۲-۱-۱- دستگاه ها ۴۳
۲-۱-۲- مواد شیمیایی ۴۴
۲-۲- نمونه گیری ۴۵
۲-۳- استخراج Total RNA از بافت مثانه ۴۵
۲-۳-۱- مواد لازم جهت استخراج RNA ۴۵
۲-۳-۲- پروسه استخراج RNA ۴۵
۲-۴- ارزیابی کیفیت RNA استخراج شده ۴۷
۲-۴-۱- ارزیابی کیفیت RNA استخراج شده توسط روش اسپکتروسکوپی ۴۷
۲-۴-۲- ارزیابی RNA استخراج شده به کمک ژل آگارز ۱٪ (الکتروفورز افقی) ۴۸
۲-۵- سنتز cDNA ۴۹
۲-۶- واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) جهت تکثیر ژن هیستون داستیلاز ۱۱ ۵۱
۲-۶-۱- پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن هیستون داستیلاز ۱۱ ۵۱
۲-۶-۲- پروفایل حرارتی PCR ۵۳
۲-۶-۳- الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز ۵۴
۲-۶-۳-۱- آماده سازی ژل آگارز ۲٪ ۵۴
۲-۷- واکنش Real-Time PCR جهت تکثیر ژن هیستون داستیلاز ۱۱ ۵۵
۲-۷-۱- اصول واکنش Real Time PCR ۵۵
۲-۷-۲ تهیه نمودار استاندارد ۵۶
۲-۷-۳- واکنش Real-Time PCR نمونه های مجهول ۵۷
۲-۷-۴- پروفایل حرارتی واکنش Real-Time PCR مربوط به هر سه ژن هیستون داستیلاز ۱۱، GAPDH و ۱۸ S ریبوزومی ۵۸
۲-۷-۵- الکتروفورز محصول Real-Time PCR روی ژل آگارز ۵۸
۲-۷-۶- بررسی منحنی ذوب محصول Real Time PCR ۵۸
۲-۷-۷- نحوهء محاسبه داده‌ها ۵۹
۲-۸- مطالعات آماری ۵۹

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج ۴۵
۳-۱- خصوصیات نمونه ها و بررسی آماری این ویژگی‌ها ۶۰
۳-۲- نتایج حاصل از بررسی های مولکولی ۶۱
۳-۲-۱- نتایج بررسی استخراج Total RNA از بافت مثانه ۶۱

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۲-۱-۱- نتایج بررسی کیفیت Total RNA به وسیله اسپکتروفتومتری..... ۶۲
۳-۲-۱-۲- نتایج بررسی کیفیت Total RNA به وسیله الکتروفورز ژل آگارز..... ۶۲
۳-۳- نتایج حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR)..... ۶۳
۳-۳-۱- نتایج الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ژن هیستون داستیلاز ۱۱ توسط ژل آگارز ۱٪ (الکتروفورز افقی)..... ۶۴
۳-۴- نتایج حاصل از Real-Time PCR..... ۶۴
۳-۴-۱- نتایج الکتروفورز محصولات Real-Time PCR مربوط به ژن 18s توسط ژل آگارز ۱٪..... ۶۵
۳-۴-۲- منحنی ذوب ژن HDAC11..... ۶۶
۳-۴-۳- اندازه گیری بیان ژن HDAC11..... ۶۷

فصل چهارم: بحث

۴- بحث..... ۶۸
۴-۱- پیشنهادات..... ۷۳

منابع..... ۷۴

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- تغییرات اپی ژنتیکی..... ۱۵
جدول ۱-۲- پژوهش های سرطان با محوریت HDACs..... ۲۸
جدول ۱-۳- ریشه های جایگاه فعال..... ۳۱
جدول ۲-۱- مواد مورد نیاز جهت سنتز cDNA..... ۵۰
جدول ۲-۲- مواد مصرفی در واکنش PCR..... ۵۱
جدول ۲-۳- مشخصات پرایمرهای ژن هیستون داستیلاز ۱۱..... ۵۳
جدول ۲-۴- مواد مصرفی در تهیه نمودار استاندارد Real-Time PCR..... ۵۶
جدول ۲-۵- مواد مصرفی در Real-Time PCR نمونه های مجهول..... ۵۷
جدول ۳-۱- خصوصیات بیماران سرطانی بررسی شده..... ۶۱

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- سونوگرافی مثانه ۶
شکل۱-۲- تومور مثانه ۸
شکل۱-۳- تیمارهای درمان سرطان مثانه ۱۱
شکل۱-۴- تغییرات اپی ژنتیک اعمال شده بر روی هیستون ها ۱۶
شکل۱-۵- ابر خانوادهء هیستون داستیلازها ۲۰
شکل۱-۶- عملکرد مولکولی و فنونوتیپ موش های ناک اوت HDACs ۲۲
شکل۱-۷- نقش HATsو HDACs ۲۳
شکل۱-۸- سرطان زایی توسط HDACs ۲۷
شکل ۱-۹- HDAC11 ۲۹
شکل ۱-۱۰- توالی آمینو اسیدی HDAC11 ۳۰
شکل ۱-۱۱- بیان HDAC11در لاین های سلولی سالم و سرطانی ۳۳
شکل ۱-۱۲- ارتباط فیلوژنتیک هیستون داستیلازها ۳۴
شکل ۱-۱۳- پروفایل بازدارندگی بازدارنده‌های هیستون داستیلازی ۳۷
شکل ۲-۱- محل اتصال پرایمرها ۵۲
شکل ۲-۲- پروفایل حرارتی PCR ۵۳
شکل۲-۳- پروفایل حرارتی ژن های هیستون داستیلاز ۱۱، GAPDH 18S ریبوزومی در واکنش Real-Time ۵۸
شکل ۳-۱- الکتروفورز محصول استخراج RNA ۶۳
شکل۳-۲- الکتروفورز محصولات PCR ۶۴
شکل۳-۳- واکنش Real Time PCR ۶۵
شکل ۳-۴- الکتروفورز محصولات PCR ۶۶
شکل ۳-۵- منحنی ذوب ۶۶
شکل ۳-۶- نتیجهء آنالیز آماری ۶۷

چکیده

بررسی تغییرات بیان ژن HDAC11 در بیماران مبتلا به سرطان مثانه

روزبه طبیب صوفی

سرطان مثانه چهارمین بدخیمی شایع در سطح جهان است. فراوانی آن در مردان سه برابر زنان می‌باشد. با توجه به پیری جهانی جمعیت، شیوع این سرطان در حال گسترش است در حالی که مرگ و میر ناشی از آن در نتیجهٔ تشخیص بهتر بیماری، درمان مناسب تر آن و در نهایت مراقبت‌های پزشکی بهتر رو به کاهش بوده است. مصرف سیگار مهمترین ریسک فاکتور ابتلا به سرطان مثانه است و یک سوم موارد ابتلا به این بیماری را موجب می‌شود. یکی از مکانیسم‌هایی که منجر به کارسینومای مثانه می‌شود. تغییرات اپی‌ژنتیک از طریق بیان بیش از حد هیستون داستیلازها است که با تغییر عملکرد کروماتین باعث ایجاد دگرگونی‌هایی در مسیرهای سیکل سلولی می‌گردد. HDACs به عنوان یک کورپرسور در کمپلکس‌های هسته‌ای که سطح رونویسی تنظیم‌کننده های کلیدی چرخهٔ سلولی مانند P53 را کنترل می‌کنند، وارد می‌شوند. هیستون داستیلازها از طریق داستیله کردن ریشه‌های لیزین هیستون‌های مرکزی، کروماتین متراکم‌تری را پدید می‌آورند. وقتی که چنین تراکمی در بخش پروموتور ژن‌های سرکوب گر تومور رخ می‌دهد سرطان پدید می‌آید. در حالی که تاثیر افزایش بیان HDAC4 در ایجاد سرطان مثانه آشکار شده است، نقش HDAC11 در این سرطان به عنوان جدیدترین عضو خانوادهٔ هیستون داستیلازهای کلاسیک مشخص نیست. در این مطالعه مقادیر بیان ژن HDAC11 در بافت‌های سرطانی مثانه در مقایسه با بافت‌های نرمال مثانه مقایسه گردید. این مطالعه بررسی ۳۲ نمونهٔ سرطانی و ۲۹ نمونهٔ سالم را شامل می‌شد. Total RNA استخراج شد و با فرآیند رونویسی معکوس Total cDNA به دست آمد. گام بعدی Real Time PCR بود که از طریق نتایج حاصل از آن به مقایسهٔ مقادیر بیان ژن HDAC11 در بافت‌های نرمال و سرطانی پرداخته شد. آنالیز نتایج بدست آمده با آزمون T نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین سطح بیان این ژن در نمونه‌های سرطانی و نرمال وجود ندارد($P=0.41$). بنابراین داده‌های حاصل از این پژوهش وجود ارتباط بین پروتئین HDAC11 و سرطان مثانه را تائید نمی‌کند و ما نمی‌توانیم HDAC11 را به عنوان یک هدف دارویی بالقوه برای طراحی بازدارنده‌های اختصاصی هیستون داستیلازها معرفی کنیم. هر چند برای تائید این نتایج پژوهش‌های بیش‌تری مورد نیاز است.

کلیدواژه: HDAC11، سرطان مثانه، بیان هیستون داستیلاز

Abstract

The evaluation of HDAC11 gene expression alterations in the patients with bladder cancer

Roozbeh Tabib Soufi

Bladder Tumor (BT) is the fourth abundant malignancy worldwide; occuring three times more in men than women. The frequency of this cancer is growing as a consequence of global aging while the numbers of deaths is decreasing because of the better diagnosis, treatments and health cares. Cigarette smoking is the most important risk factor of bladder cancer causing one of every three cases of BT. One of the mechanisms underlying bladder carcinoma is epigenetic alterations through over expression of histone deacetylases (HDACs), leading to changes in cellular pathways of cell cycle due to functional alteration of chromatin. HDACs act as a co-repressor in some nuclear complexes which control transcription status of key regulators of cell cycle like P53. Histone deacetylases make a more condensed chromatin by deacetylating the lysine residues of core histones. When HDACs condense the promotor of Tumor Suppressor genes, cancer develops. While the effect of over expressed HDAC4 in bladder cancer has been demonstrated, the role of HDAC11 as the newest member of classical HDACs, is not clear. In this study the amounts of *HDAC11* expression were measured in cancerous tissues of bladder versus normal bladder tissues. The study included 32 cancerous and 29 Normal cases. At first Total RNA extraction was proceeded, following by reverse transcription process which yielded Total cDNA. The next step was Real Time PCR. Through the results of Real Time PCR, comparison of the quantities of *HDAC11* expression in normal and cancerous tissues was done. Analyses of results with T-test showed that there is not any significant difference in the amounts of *HDAC11* expression between cancerous and normal tissues of blaader (P=0.41). So our data did not show us any relationship between HDAC11 protein and bladder cancer and we can not introduce HDAC11 as a potential drug target to design specific HDACs inhibitors. Even though more researches are needed to concede these results.

Keywords: HDAC11, Bladder cancer, Expression of HDACs

فصل اول

مقدمه

۱ـ مقدمه

۱ـ۱ـ سرطان مثانه

سرطان مثانه یکی از فراوان ترین بدخیمی‌ها است. سالانه بیش از ۳۵۰۰۰۰ مورد جدید ابتلا به سرطان مثانه و ۱۴۵۰۰۰ مرگ ناشی از این بیماری در سراسر دنیا گزارش می‌شود (Ploeg *et al.*, 2009). فراوانی سرطان مثانه در هر یک از دو جنس در نژاد سفید تقریباً دو برابر نژاد سیاه است. فراوانی این بدخیمی با افزایش سن بالا می‌رود و نظر به پیری جهانی جمعیت، شیوع این سرطان در سطح جهانی رو به گسترش می‌باشد. هر چند با توجه به تشخیص زود هنگام، بهبود روش‌های درمانی و تماس کمتر با عوامل کارسینوژن، طی دهه های گذشته از میزان مرگ و میر ناشی از این بدخیمی کاسته شده است. طبق داده‌ها از دههٔ ۱۹۵۰ تاکنون شیوع سرطان مثانه در ایالات متحده ۵۰٪ افزایش داشته است. از طرف دیگر تلفات این بیماری در همین فاصلهٔ زمانی در ایالات متحده، ۳۳٪ کاهش نشان داده است. با وجود اینکه میزان شیوع این سرطان در نژاد سفید بیش از نژاد سیاه و در مردان بیش از زنان(نسبت سه به یک) است. اما از طرف دیگر به نسبت مرگ و میر زنان و افراد سیاه پوست بیشتر از مردان سفید پوست می‌باشد (Morrison, 1984).

۱-۲- فاکتورهای خطرزا[1]:

مطالعهٔ عمده‌ای تاکنون در مورد ممانعت از سرطان مثانه، صورت نگرفته است. بروز این سرطان شدیداً مرتبط با قرار گرفتن افراد در معرض فاکـتورهای محیطی است. مکانیسمی کـه توسط آن تماس با فاکتورهای محیطی موجب ایـجاد سرطان مثـانه

[1]- Risk factors

می‌شود؛ ناشناخته است. به نظر می‌رسد که تماس با چنین محیط‌هایی، بافت مثانه را نسبت به کارسینوژن‌های محیطی مستعدتر می‌کند و آسیب تولید شده در DNA توسط این کارسینوژن‌ها یا متابولیت های آنها، منجر به ایجاد و پیشرفت سرطان مثانه می‌شود. کاهش تماس با ریسک فاکتورها در طبیعت و محیط کاری احتمالاً خطر بروز سرطان را کاهش می‌دهد. تفاوت‌های میزان شیوع این سرطان نسبت به سن، جنس، نژاد و پراکندگی جغرافیایی ممکن است منعکس کنندهٔ تفاوت‌ها در مورد میزان تماس با ریسک فاکتورها در محیط طبیعی و نیز در محیط کاری باشد.از جملهٔ ریسک فاکتورها می‌توان به مصرف سیگار، عفونت با برخی باکتری‌ها، قارچ‌های انگلی و ویروس‌ها و نیز درمان با برخی عوامل شیمی درمانی خاص اشاره کرد (Morrison, 1984; Xu *et al.*, 2011). تاکنون، شناخته شده‌ترین ریسک فاکتور محیطی در جوامع، استعمال تنباکو به خصوص مصرف سیگار بوده است. افراد سیگاری احتمال ابتلایشان به سرطان مثانه چهار تا هفت برابر بیش از افرادی است که هرگز سیگار مصرف نکرده‌اند. با ترک سیگار این خطر کاهش می‌یابد. اما میزان کاهش در خطر ابتلا به این سرطان در پنج تا هفت سال ابتدایی پس از ترک سیگار، نسبتاً کم است. حتی ده سال پس از ترک سیگار، خطر ایجاد سرطان مثانه هنوز دو برابر این احتمال در فردی است که هرگز سیگار مصرف نکرده است (Burch et al., 1989; Clavel et al., 1989; Morrison, 1984). از بین مواد شیمیایی موجود در سیگار که در ایجاد و پیشرفت سرطان مثانه دخالت می‌کنند می‌توان به آمینو بی فنیل[1] و ترکیبات آن اشاره کرد (Hoffman et al., 1969). به نظر می‌رسد برخی آنزیم‌ها همانند ان-استیل ترانسفراز۲[2] (Risch et al., 1995)، سیتوکروم[3] p_{450} 1A2 (Horn et al., 1995) و گلوتاتیون-اس-ترانسفراز M_1[4] در فعال سازی و سم زدایی از آمینو بی فنیل‌ها و سایر کارسینوژن‌های مشهور مثانه مهم می‌باشند (Bell *et al.*, 1993). برخی مطالعات بر این مطلب تاکید کرده‌اند که ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌های خاصی از این آنزیم‌ها و فعالیت‌های آنها، خصوصاً در کبد و اوروتلیوم در ارتباط با استعداد ابتلا به آن دسته از سرطان‌های مثانه هستند که تحت تاثیر مصرف سیگار و سایر آمین‌های

[1]- Amino biphenyl
[2]- N-Acetyl transferase2(NAT2)
[3]- Cytochrome p_{450} 1A2
[4]- glutathione s-transferase M_1

آریلی[1] می‌باشند (Bell *et al.*, 1993; Horn *et al.*, 1995; Risch *et al.*, 1995). برخی مواد صنعتی نیز به عنوان ریسک فاکتورهایی در ارتباط با ایجاد سرطان مثانه مطرح شده‌اند. آمین‌های آروماتیک که در تولید رنگ، بنزیدین و مشتقات آن به کار می‌رود مانند آنیلین،[2]بنزیدین،[3]و تورولین،[4] در ارتباط نزدیکی با خطر وقوع سرطان مثانه می‌باشند (Marushige, 1976; Xu et al., 2011). در جایگاه بعدی نیز گازهای متصاعد شدهٔحاصل از سوخت زغال سنگ، هیدروکربن‌های آلیفاتیک ترکیب شده با کلر (Steineck et al., 1990)، و برخی آلدهیدهای خاص برای مثال آکرولئین[5]که در رنگ‌های شیمیایی در صنایع پارچه و لاستیک به کار می‌رود؛ قرار دارند (Stadler, 1993). به نظر می‌رسد برخی مشاغل با ریسک بالای ابتلا به سرطان مثانه، مرتبط باشد. مشاغلی همچون تولید کاغذ، نخ‌ریسی، صنایع پوشاک و خشک شوئی‌ها که همگی با مواد شیمیایی آلی سر و کار دارند (King and Marrett, 1996; Marushige, 1976; Steineck et al., 1990). تخمین زده می‌شود ۵٪ تا ۱۵٪ بیمارانی که در ایالات متحده نهایتاً به علت ابتلا به سرطان مثانه می‌میرند؛ سابقهٔ تماس طولانی مدت با این ریسک فاکتورهای محیطی که در بالا ذکر شد(به غیر از مصرف سیگار) را دارند. از طرف دیگر مصرف سیگار نیز خود به تنهایی عامل ۳۰٪ موارد ابتلا به سرطان مثانه است (Cole et al., 1972). آلودگی آب‌های زیر زمینی با مقادیر زیاد آرسنیک نیز با بدخیمی‌های متعددی از جمله سرطان مثانهٔ TCC در ارتباط است (Liou *et al.*, 1999; Moore *et al.*, 1997). شیوع بالای سرطان مثانه در مناطقی که غلظت بالایی از آرسنیک در آب آشامیدنی وجود دارد یافت شده است (Moore et al., 1997). از سایر ریسک فاکتورهایی که با فرم های تهاجمی‌تر سرطان مثانه در ارتباط هستند می‌توان به عفونت مثانه با SchistosomaHaematobium(Lucas, 1982) ، تماس با عامل شیمی درمانی به نام سیکلوفسفامید[6] (Durkee and Benson, 1980; O'Keane, 1988; Tuttle et al., 1988) و سایر عوامل آلکیله

[1]- Aryl Amines
[2]- aniline
[3]- benzidine
[4]- turoline
[5]- Acrolein
[6]- cyclophosphamide

کننده[1] مانند ایفوسفامید[2] اشاره کرد. پرتو درمانی حفرهٔ لگنی به علت سایر بدخیمی‌ها نیز یکی از ریسک‌فاکتورهای ابتلا به سرطان مثانه می‌باشد (Duncan *et al.*, 1977; Quilty and Kerr, 1987; Sella *et al.*, 1989). به نظر می‌رسد شیوع سرطان مثانه در افرادی که پیوند کلیه دریافت کرده‌اند، بالاتر است (Buzzeo et al., 1997).

۱-۳- وراثت:

اگرچه برخی گروه‌های فامیلی سرطان مثانه گزارش شده است (Aherne, 1974; McCullough et al., 1975). و با وجود اینکه کارسینومای سلول‌های ترانزیشنال لوله‌های ادراری بخشی از سندرم سرطان خانوادگی لینچII[3] است (Lynch *et al.*, 1990). با این حال هیچ شاهدی برای اینکه گرایش به ابتلا به سرطان مثانه قابل وراثت است یافت نشده است (Varkarakis et al., 1974).

۱-۴- تشخیص کلینیکی:

۷۰٪ بیماران مبتلا به سرطان مثانه در هنگام تشخیص، نوع سطحی این بیماری را دارند (Aherne, 1974). تشخیص زود هنگام بیماری نقش عمده‌ای در افزایش احتمال بهبود بیمار دارد. از جمله راه‌های تشخیصی عبارتند از:

۱-۴-۱- سیستوسکوپی و سیتولوژی[4]:

تشخیص سرطان و تعیین مرحلهٔ پیشرفت[5]سرطان، معمولاً با سیستوسکوپی[6] آغاز می‌شود (Khadra et al., 2000; Sultana et al., 1996; Varkarakis et al., 1974). استفاده از سیستوسکوپی و آزمایشات سیتولوژیک مجاری ادراری موفقیت کاملی را در بررسی وضعیت بیمارانی که پیش‌تر مبتلا به سرطان مثانه بوده و درمان شده‌اند نشان می‌دهد. اما این

[1]- Alkylating agents
[2]- Ifosfamide
[3]- Lynch family cancer syndrome II
[4]- Cytology
[5]- Staging
[6]- Cystoscopy

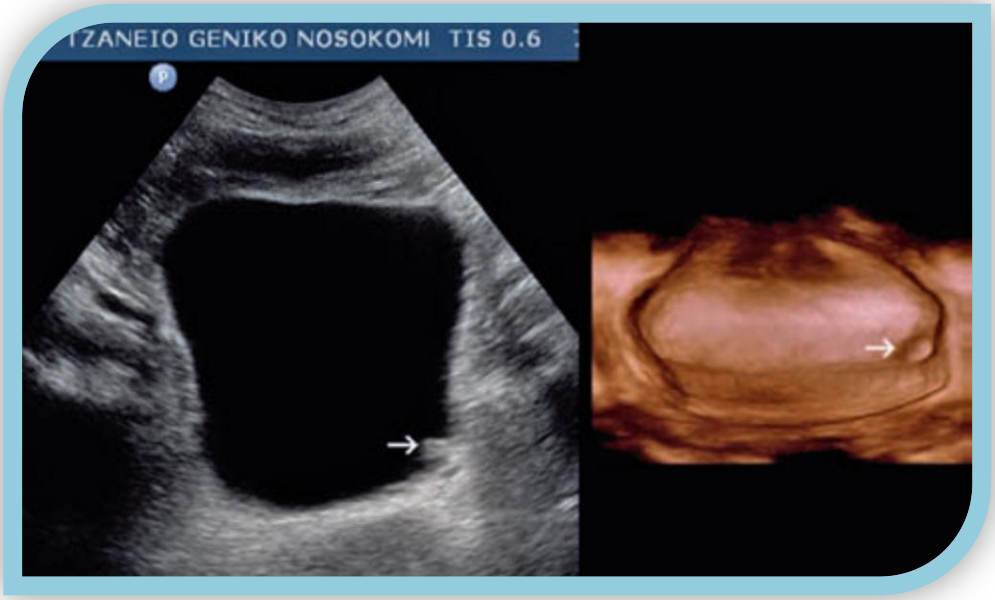
روش‌ها برای افرادی که سابقهٔ ابتلا به سرطان مثانه ندارند به علت هزینهٔ زیاد و نیز حالت ناخوشایندی که برای فرد به همراه دارند، کاربردی نیستند (Whelan *et al.*, 1993).

۱-۴-۲- هماچوری:

هماچوری[1] یا وجود خون در ادرار معمول‌ترین علامت شناسایی این بیماری است که در ۹۰٪ موارد ابتلا به سرطان مثانه یافت می‌شود. هماچوری ممکن است به صورت دوره‌ای باشد؛ بنابراین عدم تشخیص گلبول‌های قرمز خون در یک تست آنالیز ادرار به معنای تشخیص قطعی عدم ابتلا به سرطان مثانه نمی‌باشد. اگرچه هماچوری معمول‌ترین نشانه‌ای است که در افراد مبتلا به سرطان مثانه بروز می‌کند؛ اما اکثر افرادی که هماچوری دارند؛ مبتلا به سرطان مثانه نیستند. در مطالعه‌ای مشخص شد که ۱۹/۲٪ افرادی که دارای هماچوری عمده[2] بودند؛ مبتلا به سرطان مثانه نیز بودند. در حالی که همین معیار برای افرادی که میکروهماچوری[3] داشتند تنها ۴/۸٪ بود (Khadra *et al.*, 2000; Sultana *et al.*, 1996; Varkarakis *et al.*, 1974).

سونوگرافی نیز گزینه دیگری برای تشخیص تومور مثانه است(شکل۱-۱). سایر نشانه‌هایی که برای تشخیص این بدخیمی مورد استفاده قرار می‌گیرند عبارتند از: سوزش و اشکال در هنگام دفع ادرار، تکرر ادرار یا احساس شدید نیاز به دفع ادرار. احساس درد در پهلوها نیز با فراوانی کم‌تری دیده می‌شود که خود ناشی از انسداد و درد ناشی از تهاجم سرطان به بخش‌های مختلف حفرهٔ لگنی و یا متاستاز به استخوان است (Khadra *et al.*, 2000; Sultana *et al.*, 1996; Varkarakis *et al.*, 1974).

[1]- Hematuria
[2]- Gross Hematuria
[3]- Micro hematuria



شکل ۱-۱) سونوگرافی مثانه. تشخیص یک تومور کوچک مثانه با قطر ۶ میلی‌متر توسط سونوگرافی، تصویر سونوگرافی ۳ بعدی را نیز در شکل مشاهده می‌کنید. تومور با علامت فلش نشان داده شده است (Stamatiou *et al.*, 2011).

۱-۵- هیستوپاتولوژی[1]:

بیش از ۹۰٪ سرطان‌های مثانه از نوع کارسینومای سلول‌های ترانزیشنال[2]هستند که سرطان اوروتلیال نیز نامیده می‌شود. سایر انواع هیستولوژیک مهم از این نوع سرطان عبارتند از کارسینومای سلول‌های اسکواموس[3] و آدنوکارسینوما[4]. سرطان اوروتلیال همچنین ندرتاً ممکن است به لگنچهٔ کلیه، میزنای، پروستات و میزراه گسترش یابد (Morrison, 1984). فراوانی ابتلا به نوع اسکواموس در زنان دو برابر مردان است. علاوه بر این، در آن دسته از افراد مبتلا به سرطان مثانه که سابقهٔ طولانی مدت عفونت‌های مکرر مثانه، ابتلا به سنگ مثانه و ابتلا به عفونت مثانه با S.haematobium را دارند؛ کارسینومای سلول‌های اسکواموس، نسبت بزرگ‌تری را از آن خود می‌کند (Kantor et al., 1984; Lane and Chabner, 2009; Locke et al., 1985).

[1]- Histo pathology
[2]- Transitional cell carcinoma(TCC)
[3]- Squamous cell carcinoma
[4]- Adeno carcinoma

گرید[1] و استیجی که TCC در آن تشخیص داده می‌شود، اهمیت درمانی فوق‌العاده مهمی دارند و علاوه بر این در پیش‌بینی شانس بهبود فرد نیز حائز اهمیت بسزایی هستند. انواع دیگر سرطان مثانه به غیر از TCC همگی رفتاری بسیار تهاجمی دارند و جز جراحی‌هایی که تمامی بافت درگیر را خارج کند به سایر انواع درمان‌ها، کمتر پاسخ می‌دهند. شانس بهبود فرد مبتلا و نیز گزینه‌هایی که برای درمان انتخاب می‌شود، به گرید تومور و میزان تهاجمی بودن آن بستگی دارد (Morrison, 1984).

۱-۶- گرید و استیج موارد تازه تشخیص داده شدهٔ سرطان مثانه در یک جمعیت غربال نشده

اهمیت حیاتی تعیین هیستولوژیک گرید و استیج بافت‌های سرطانی جهت پیش‌بینی روند بهبود بیماری، سال‌ها است که به خوبی شناسایی شده است. در مطالعه‌ای که بر روی مردان سفیدپوست بالای ۵۰ سال مبتلا به سرطان مثانه، صورت گرفته است؛ ۵۷٪ مبتلایان گرید I یا II و استیج T_1یا T_a از نوع TCC داشتند. ۱۹٪ بیماران بررسی شده نیز تهاجم سرطان به بافت ماهیچه‌ای یا بخش‌های عمیق‌تر را نشان می‌دهند($stage\ T_2^+$) . تقریباً همگی این گروه پایانی ۲۴ درصدی، گرید III و یا انواع غیر ترانزیشنال سرطان مثانه را در بر می‌گرفتند (Messing *et al.*, 1995). مطالعات گسترده‌تری از این دست مورد نیاز می‌باشد. زیرا این پژوهش اطلاعاتی دربارهٔ هیستولوژی زنان و مردان پایین ۵۰ سال مبتلا به سرطان مثانه در اختیار ما قرار نمی‌دهد.

تقریباً تمامی بدخیمی‌های مثانه از سطح اپی‌تلیالی مثانه منشا می‌گیرند. اکثر بیمارانی که به علت ابتلا به سرطان مثانه، جان خود را از دست می‌دهند دچار فرم متاستاتیک این بیماری می‌شوند. درمان برای سرطان مثانهٔ متاستاتیک، بسیار نادر است و تقریباً قابل درمان نمی‌باشد (Saxman et al., 1997).

اکثریت بیمارانی که به فرم متاستاتیک دچار می‌شوند؛ به طور همزمان شاهد تهاجم سرطان به بافت ماهیچه هستند و یا پیش‌تر از این مرحله عبور کرده‌اند($Stage\ T_2^+$) (Jewett and Strong, 1946). ۷۰٪ تا ۹۰٪ بیمارانی که هنگام تشخیص سرطان مثانه دچار تهاجم سرطان به بافت ماهیچه‌ای هستند جزو آن دسته از بیمارانی که پیش‌تر تشخیص TCC

[1]- Grade