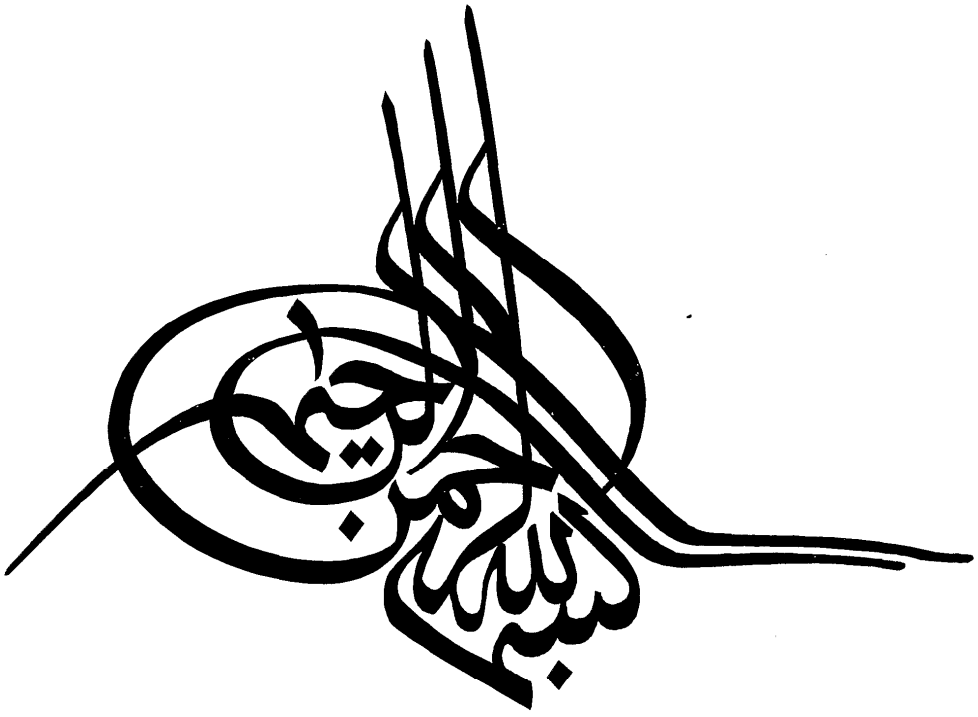


دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی

مرکز تحقیقات ژنتیک

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

موضوع

بررسی SNP های شناخته شده فانکشنال در ناحیه کد کننده ژن RAP1A یافتن واریاسیون های منطقه پروموتر این ژن در جمعیت زنان ایرانی مبتلا به سرطان اسپورادیک پستان و مقایسه آن با گروه شاهد

Finding the new variations and analysis in RAP1A coding and promoter regions in the samples of sporadic breast cancer in Iranian females and the comparison with control group

استاد راهنما:

سرکار خانم دکتر مینا اوحدی

استاد مشاور:

جناب آقای دکتر حمید رضا خرم خورشید

استاد مشاور آمار:

جناب آقای دکتر مسعود کریملو

نگارش:

حسن ابراهیمی

اسفند ۱۳۸۵

هدیه ای نه در خور تقدیم به:

آنانکه با گفتار، رفتار و نوشته هایشان زیستن در آرامش عشق و توکل به او را برایم معنا کردند.

پس از حمد و سپاس خداوند بزرگ که در این راه نیز همچون همیشه نور هدایتش روشنی بخش راه بود، بر خود فرض می دانم ازآنان که بی گمان راهنمایی ها و همکاری های صمیمانه شان باعث به انجام رسیدن این تحقیق شد، تشکر نمایم:

با تشکر از استاد گرامی، سرکار خانم دکتر مینا اوحدی که زحمت راهنمایی این پایان نامه را به عهده داشتند و در طی این مدت از همراهی صمیمانه و مساعدت بی دریغ ایشان بهره مند شدم.

با تشکر از استاد ارجمند، جناب آقای دکتر حمید رضا خرم خورشید که مشاوره پایان نامه این جانب را بر عهده داشتند و با ارائه نظرات ارزنده، مرا در پیشبرد اهداف این پایان نامه یاری نمودند.

با تشکر از استاد محترم، جناب آقای دکتر مسعود کریملوکه مشاوره آماری پایان نامه این جانب را بر عهده داشتند و مرا از پشتوانه علمی خویش بهره مند ساختند.

و با تشکر از سایر دوستانی که به نوعی مرا در انجام این مطالعه یاری رساندند.

چکیده:

سرطان پستان شایع ترین نئوپلاسم و علت اصلی مرگ های مرتبط با سرطان در میان زنان اکثر کشورهای توسعه یافته و نیز در بسیاری از کشورهای در حال توسعه است.

بیش از نیم قرن است که میزان شیوع سرطان پستان به طور ثابت در حال افزایش است. با توجه به صعود روز افزون میزان شیوع سرطان پستان در نقاط مختلف جهان، که کشور ما ایران را نیز در بر می گیرد، نیاز مبرمی به انجام تحقیقات مولکولی احساس می شود. سرطان های انسانی توسط فعالیت غیر طبیعی پروتوانکوژن ها و یا غیر فعال شدن ژن های سرکوبگر تومور(TSG) ایجاد می شوند.

ژن مهار کننده تومور، ***RAP1A***، در گیر در القاء اتصالات بین سلولی در بافت های اپی تلیال در این لوکوس قراردارد. در این مطالعه ۵۰ نمونه سرطان غیر ارثی پستان مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از تجزیه و تحلیل ***PCR-SSCP*** و سپس ***Sequencing*** برای تمام اگزون های سنتز کننده پروتئین ژن ***RAP1A*** تعیین جهش شد و سپس با یک گروه ۵۰ نفری کنترل مقایسه گردید. مشاهدات این تحقیق عبارتند از: واریاسیون، ($T>A$)، در نوکلئوتید ۲۹+ اینترون ۳، که به صورت هموزیگوت بود و در نمونه ای بدخیم شناسایی شد و واریاسیونی دیگر، ($G>T$)، به صورت هتروزیگوت در همین اینترون در نوکلئوتید۴۴+، در نمونه ای خوش خیم. هیچ کدام از این تغییرات در نمونه های کنترل مشاهده نشد. ضمنا هیچ تغییری در پروموتر (۵۰۰ جفت باز قبل از نقطه شروع رونویسی)، و اگزون های کدکننده ژن شامل اگزون ۳، ٤، ٥، ٦، ٧ و ٨ مشاهده نشد. این مطلب موید این موضوع است که جهش در ژن ***RAP1A*** در بروز سرطان پستان نادر می باشد و عوامل دیگری مثل متیلاسیون پروموتر باید در این نوع سرطان بررسی گردد. همچنین موتاسیون واقع در ناحیه ۲۹+ اینترون ۳ که به صورت هموزیگوت در یک نمونه سرطان دیده شده است حائز اهمیت تحقیق بیشتر جهت مطالعه اثر این موتاسیون در بیان و عملکرد ژن می باشد.

کلید واژه ها: ***RAP1A***، اسپورادیک، PCR-SSCP

فهرست

عنوان **صفحه**

فصل اول: کلیات تحقیق.....۱
۱-۱ بیان مسئله.....۲
۱-۲ هدف از اجرای تحقیق.....۵
۱-۲-۱ اهداف کلی ۵
۱-۲-۲ اهداف فرعی.....۵
۱-۲-۳ اهداف کاربردی.....۵
۱-۳-۱ فرضیه.....۵
۱-۳-۲ سئوال.....۵
۱-۴ تعریف عملیاتی متغیر ها و مقیاس اندازه گیری.....۶
۱-۵ نوع مطالعه.....۶
۱-۶ روش اجرای پژوهش.....۶
فصل دوم: مروری بر تحقیقات گذشته.....۷
بخش اول: کلیاتی در مورد سرطان.....۸
۲-۱ تعریف سرطان.....۸
۲-۱-۱ درجه هیستولوژیک بدخیمی ۹
۲-۲ سرطان پستان.....۹
۲-۲-۱ غدد پستانی.....۱۰
۲-۲-۲ نمو رویانی پستان.....۱۰
۲-۲-۳ نمو پستان طی بلوغ.....۱۱
۲-۲-۴ ساختمان پستان در زنان بالغ.....۱۱
۲-۲-۵ پاتولوژی سرطان پستان.....۱۳
۲-۲-۶ درجه بندی و مرحله بندی سرطان پستان ۱۵
۲-۲-۷ اپیدمیولوژی سرطان پستان.....۱۶
۲-۲-۸ اتیولوژی سرطان پستان ۱۷
۲-۲-۹ تغییرات ژنتیکی در سرطان پستان انسان ۱۸
۲-۲-۱۰ انکوژن های دخیل در سرطان پستان.....۱۹

۲-۲-۱۰-۱ ژن *erbB-2 (HER-2 , neu)* ۱۹
۲-۲-۱۰-۲ ژن *C-myc* ۱۹
۲-۲-۱۰-۳ ژن *C-met* ۱۹
۲-۲-۱۰-۴ ژن *mdm2* ۲۰
۲-۲-۱۰-۵ ژن *EGFr* ۲۰
۲-۲-۱۰-۶ *IGF-R* ۲۰
۲-۲-۱۰-۷ ژن *Waf1/Cip1* ۲۰
۲-۲-۱۰-۸ ژن *Kip1* ۲۰
۲-۲-۱۰-۹ ژن *VEGF* ۲۱
۲-۲-۱۰-۱۰ سیکلین ها ۲۱
۲-۲-۱۰-۱۱ گیرنده های لامینین ۲۱
۲-۲-۱۰-۱۲ *Tenascin* ۲۱
۲-۲-۱۰-۱۳ *CD44* ۲۱
۲-۲-۱۰-۱۴ *int-2* ۲۱
۲-۲-۱۰-۱۵ *bcl-2* ۲۱
۲-۲-۱۰-۱۶ ژن‌های *BCAS3* و *BCAS4* ۲۲
۲-۲-۱۱ ژن های سرکوبگر تومور ۲۳
۲-۲-۱۱-۱ *Car* ۲۳
۲-۲-۱۱-۲ *nm23* ۲۳
۲-۲-۱۱-۳ *Rb* ۲۳
۲-۲-۱۱-۴ *P53* ۲۳
۲-۲-۱۱-۵ *DCC* ۲۴
۲-۲-۱۱-۶ *Prohibitin* ۲۴
۲-۲-۱۱-۷ *BRCA1* ۲۴
۲-۲-۱۱-۷ *BRCA2* ۲۴
۲-۲-۱۱-۸ ژن *APC* ۲۴
۲-۲-۱۱-۹ *E-cadherin* ۲۵
۲-۲-۱۱-۱۰ *DOCK4* ۲۵
۲-۲-۱۱-۱۱ *RAP1A* ۲۶
فصل سوم: مواد و روش تحقیق ۳۰
بخش اول: ۳۱

۳ـ۱ روش های کاوشگری یافتن جهش..... ۳۱
۳ـ۱ـ۱ آنالیر هترودوپلکس (HA) ۳۲
۳ـ۱ـ۲ـ شکست RNase ۳۲
۳ـ۱ـ۳ شکست شیمیایی جفت شدگی ناجور (CCM) ۳۲
۳ـ۱ـ۴ شکست آنزیمی جفت‌شدگی ناجور..... ۳۳
۳ـ۱ـ۵ الکتروفورز ژل با شیب واسرشتی ۳۴
۳ـ۱ـ۶ آزمون پروتئین ناقص شده (PTT) ۳۴
۳ـ۱ـ۷ چند شکلی فضایی تک رشته‌ای (SSCP) ۳۵
۳ـ۱ـ۷ـ۱ مقدمه ۳۵
۳ـ۱ـ۷ـ۲ متغیرهای ژل SSCP ۳۶
۳-۱-۷-۲-۱ دمای ژل ۳۷
۳-۱-۷-۲-۲ غلظت پل های عرضی ۳۷
۳-۱-۷-۲-۳ غلظت آکریل آمید (T%) ۳۷
۳-۱-۷-۲-۴ گلیسرول ۳۷
۳-۱-۷-۲-۶ RNA-SSCP..... ۳۸
۳-۱-۷-۲-۷ طول قطعات DNA ۳۸
بخش۲ : مواد و روشها..... ۳۹
۳-۲-۱ نمونه گیری..... ۳۹
۳-۲-۱-۱جامعه آماری..... ۳۹
۳-۲-۱-۱-۱ معیار های انتخاب بیماران..... ۳۹
۳-۲-۲ مواد مورد نیاز برای استخراج DNA از خون با روش نمک اشباع..... ۴۰
۳-۲-۳ روش استخراج DNA از خون با نمک اشباع..... ۴۱
۳-۲-۴ استخراج DNA از نمونه های تومور..... ۴۲
۳-۲-۵ Polymerase Chain Reaction(PCR) ۴۳
۳-۲-۵-۱ مواد لازم برای این واکنش..... ۴۳
۳-۲-۵-۲ روش استفاده شده برای PCR در این مطالعه..... ۴۶
۳-۲-۵-۳ سیکل‌های PCR..... ۴۷
۳-۲-۶ الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید..... ۴۸
۳-۲-۶-۱ مواد لازم برای الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید..... ۴۸
۳-۲-۶-۲ وسایل مورد نیاز و روش انجام الکتروفورز..... ۵۰
۳-۲-۶-۳ روش استفاده شده در این تحقیق..... ۵۰

۳-۲-۷ رنگ آمیزی ژل آکریل آمید به روش نیترات نقره.....۵۰
۳-۲-۷-۱ مواد مورد نیاز برای رنگ آمیزی ژل پلی آکریل آمید به وسیله این تکنیک.....۵۰
۳-۲-۷-۲ وسایل مورد نیاز برای رنگ آمیزی.....۵۰
۳-۲-۷-۳ روش رنگ آمیزی.....۵۱
۳-۲-۸ Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) ۵۱
۳-۲-۸-۱ مواد مورد نیاز.....۵۱
۳-۲-۸-۲ وسایل لازم برای الکتروفورز SSCP.....۵۱
۳-۲-۸-۳ طرز تهیه ژل SSCP.....۵۲
۳-۲-۸-۴ روش انجام SSCP.....۵۲
فصل چهارم: نتایج تحقیق.....۵۴
۴-۱ نتایج مربوط به OD (Optical Density) و غلظت نمونه های تومور.....۵۵
فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری.....۶۳
منابع ۶۷
ضمیمه: عکس های مربوط به کلیه قطعات در ژل SSCP ۷۲

فصل اول:

کلیات تحقیق

۱-۱ بیان مسئله:

سرطان[1] پستان مهم ترین نئوپلاسم[2] در زنان است که سبب مرگ های مرتبط با سرطان بین زنان در اغلب کشورهای پیشرفته و خیلی از کشورهای در حال توسعه است (۱).

برای بیش از نیم قرن شیوع سرطان پستان همواره در حال افزایش بوده است و این افزایش تا اواسط ۱۹۸۰ به میزان سالانه ٤ درصد ادامه داشته است. معهذا میزان مرگ و میر تقریباً ثابت باقی مانده است و در طی یک دوره ۱۰ ساله حدود تقریباً ۲۷ نفر در هر ۱۰۰.۰۰۰ زن بوده است (۲).

در مقیاس بین المللی بالاترین میزان بروز در اروپای غربی، امریکای شمالی و استرالیا و کمترین میزان در چین، ژاپن و در بیشتر قسمت های جهان سوم می‌باشد (۳).

جدول ۱-۱ : شیوع استاندارد شده با سن و سرطان پستان (۱۹۸۹) در ۱۰۰.۰۰۰ زن (٤).

کشور	شیوع	مرگ
ایالات امریکا	۷۰-۹۰	۳۳/۵
سوئد	٦۰/۷	۱۸/۱
بریتانیا	۵۵/۰	۵۳/٤
استرالیا	۵۰/۲	۲۸/٤
ژاپن	۲۲/۰	۹/۲

جهش در ژن های *BRCA1* و *BRCA2*[3] باعث ۸۰% از انواع ارثی سرطان پستان می شود (۵).

تعدادی از ژن هایی که نقششان در ارتباط با نوع غیر ارثی سرطان پستان مشخص شده عبارت اند از: *PTEN*[4], *P53* و *DBC2*[5].

[1]. Cancer
[2]. Neoplasm
[3]. Breast cancer 1 and 2
[4]. Phosphatase and tensin
[5]. Deleted in breast cancer2

ژن *RAP1*[1] پروتئینی را کد می کند که جزء GTPase[2] کوچک متعلق به خانواده انکوژنی *RAS* می‌باشد و تقریباً ارتباط نزدیکی با *RAS* دارد به طوریکه حدود ۵۰% از توالی های اسید آمینه در این دو پروتئین با همدیگر شباهت دارند.

RAS در تکثیر و تمایز سلول نقش دارد. *RAP1* علاوه بر این اعمال، یک نقش مهم دیگر را در بافت اپی‌تلیال بازی می کندکه عبارت از ایجاد تماس بین سلول با سلول می‌باشد (٦).

ژن *DOCK4*[3] عضوی از خانواده ژنی *CDM*[4] به عنوان فعال کننده و تنظیم کننده پروتئین‌های خانواده GTPase کوچک که *RAP1A* نیز جزیی از این خانواده می باشد عمل می کند. لذا *DOCK4* نیز نقش سرکوبگر تومور را دارد و پروتئینی را کد می کند که اتصالات بین سلولی را به وسیله فعال کردن *RAP1* تنظیم می‌نماید که این امر در طول تومورژنز مختل می گردد (۷).

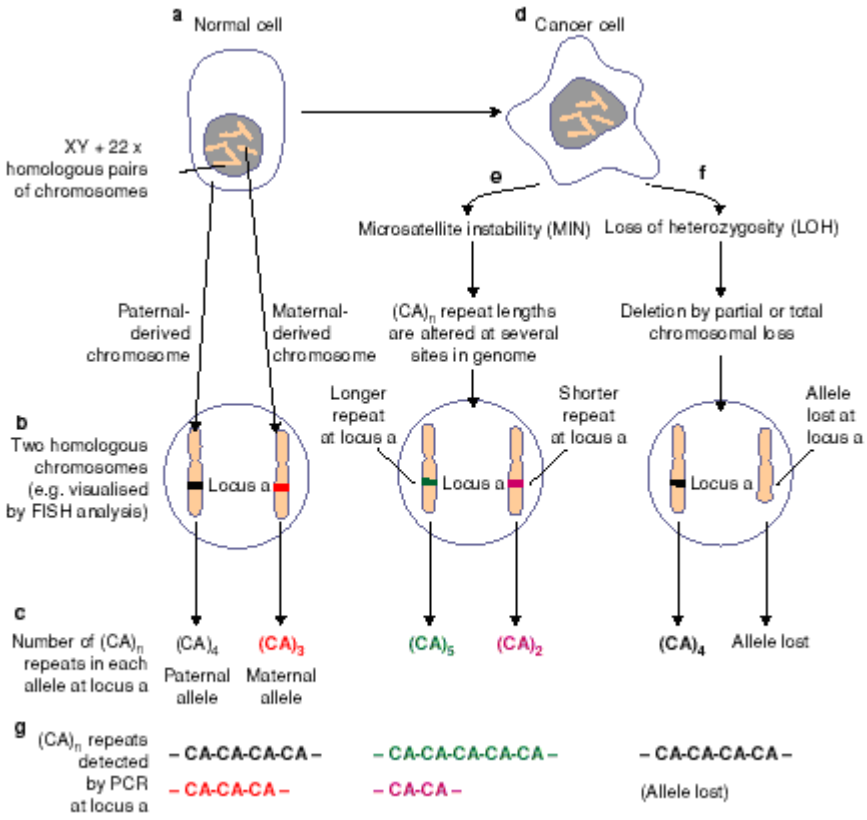
اختلالات سیتوژنتیکی بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱ (1p13) که جایگاه ژن *RAP1A* می باشد، از شایعترین آنومالی های کروموزومی در سرطان پستان می باشد (۸).

مطالعات LOH(loss of hetrozygocity) روی کروموزم ۱ نشان می دهد که سه جایگاه 1p31-32.2، 1p13و1p22 بطور فراوان دچار حذف شدگی می گردند (۵۳). میزان LOH برای لوکوس D1S457 (۳٤/۳%) وبرای D1S453 (۲۱/۸%) است که در ناحیه 1p13 قرار دارند، این یافته ها دلالت بر وجود یک یا بیشتر از یک ژن سرکوبگر در این ناحیه دارد (۵۲).

LOH[5]: به از دست رفتن قسمتی از سهم یکی از والدین از ژنوم در یک سلول گفته می شود، معمولا به طور رایج در سرطان اتفاق می افتد و اغلب مبنی بر وجود یک ژن سرکوبگر تومور در یک ناحیه حذف شده می باشد (شکل ۱-۱). همان طور که گفته شد اولین کپی حذف می شود و کپی باقی مانده بیشتر اوقات به وسیله جهش نقطه ای غیر فعال می شود. این پدیده به وسیله مکانیسم های متفاوتی شامل حذف[6]، نوترکیبی میتوزی[7]، Gene conversion و از دست رفتن کروموزومی[8] به وجود می آید(٦۰).

---

1. Ras-related protein 1 A
2. Guanine triphosphatase
3. Dedicator of cytokines 4
4. C.elegance ced-5, vertaberte Dock180 and drosophila myloblast city
5. Loss of heterozygosity
6. Deletion
7. Mitotic recombination
8. Chromosome loss



شکل (۱-۱). مکانیسم LOH در یک سلول سرطانی در مقایسه با یک سلول سالم.

با توجه به عملکرد ژن *RAP1A* و جایگاه ژنی آن روی کروموزوم که دقیقا" در جایگاه 1p13.3 قراردارد، یعنی جایگاهی که بیشترین LOH را در اغلب سرطان های پستان شامل می شود(۸)، می توان متصور شد که این ژن یکی از ژن های سرکوبگر باشد.

۱-۲ هدف از اجرای تحقیق

۱-۲-۱ اهداف کلی

بررسی SNP[1]های شناخته شده عملکردی[2] در ناحیه کد کننده ژن ***RAP1A*** و یافتن واریاسیون های[3] منطقه پروموتر[4] این ژن در جمعیت زنان ایرانی مبتلا به سرطان اسپورادیک[5] پستان در نمونه های ارجاع شده به بیمارستان مهراد از مهر ۸۳ تا آذر ۸٤.

۱-۲-۲ اهداف فرعی

تعیین ارتباط احتمالی آلل های[6] عملکردی SNP های ناحیه کدکننده یا ناحیه پروموتر ژن ***RAP1A*** با Stage و یا Grade بیماری تحت سیستم TNM

۱-۲-۳ اهداف کاربردی

عوامل ژنتیکی شناسایی شده در این تحقیق می توانند جهت تعیین پیش آگهی، تشخیص پیش آگهی و درمان بیماری به کار روند.

۱-۳-۱ فرضیه:

به دلیل نقش پر اهمیت ژن ***RAP1A*** در اتصالات بین سلولی و یافته های اخیر دال بر نقش سرکوبگری تومور این ژن، اختلالات ژن مذکور در پاتوژنز سرطان اسپورادیک پستان نقش دارد، به خصوص ناحیه ای که این ژن واقع است به کرات در سرطان پستان دچار LOH می گردد.

۱-۳-۲ سئوال:

آیا SNP ها یا موتاسیون های ژن ***RAP1A*** در بروز و پاتوژنز سرطان اسپورادیک پستان دخیل هستند یا خیر؟

---

1. Single nucleotide polymorphism
2. Functional
3. Variation
4. Promoter
5. Sporadic
6. Allele

۱-٤ تعریف عملیاتی متغییر ها و مقیاس اندازه گیری:

تعریف مفهومی متغیر	تعریف علمی متغیر (نشانگر)	مقیاس	واحد اندازه گیری
جهش[1]	تغییر توالی از یک نمونه به نمونه دیگر، که ممکن است منجر به بروز فنوتیپ بیماری شود.	ندارد	ندارد
واریاسیون	تغییر توالی از یک نمونه به نمونه دیگر.	ندارد	ندارد

1-5 **نوع مطالعه** :

مورد-شاهدی

۱-٦ روش اجرای پژوهش

نمونه بیوپسی[2] بیماران تحت جراحی در بیمارستان مهراد گرفته شده و DNA آنها استخراج گردید. سپس قطعات مورد نظر به وسیله تکنیک PCR تکثیر[3] شدند. جهت حصول اطمینان از تکثیر هر قطعه، از روش الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید[4] استفاده شد و در صورت گرفتن باند[5] مورد نظر آنرا SSCP[6] می کنیم. اگر Shift (تغییر در حرکت DNA مربوط به یک قطعه از یک نمونه، نسبت به همان قطعه در نمونه های دیگر در ژل SSCP) تشخیص داده شد برای تایید، دوباره همان قطعه تکثیر و SSCP می شود در صورت گرفتن نتیجه قبلی، این قطعه در نمونه دارای Shift، و یک نمونه دیگر در همان ژل (برای مقایسه توالی DNA) تکثیر می شوند و بوسیله تکنیک Sequencing تعیین توالی می شوند. به این صورت، میزان واریاسیون در نمونه های تومور محاسبه می شود سپس همان قطعه در ۵۰ نمونه نرمال نیز تکثیر و SSCP می شود در صورت دیدن Shift مانند نمونه های تومور، آزمایش را تکرار می کنیم. از آنجاییکه نوع واریاسیون را داریم نیازی به Sequencing مجدد نیست سپس میزان واریاسیون در نمونه های تومور با نمونه های کنترل مقایسه می شود تا مشخص شود تفاوت معنی داری وجود دارد یا خیر.

1. Mutation
2. Biopsy
3. Amplyfied
4. Polyacrilamid gele electrophoresis
5. Band
6. Single-strand conformation polymorphism

فصل دوم:

مروری بر تحقیقات گذشته

بخش اول: کلیاتی در مورد سرطان

۲-۱ تعریف سرطان

سرطان یکی از شایع ترین و حادترین مسائل پزشکی بالینی است. آمارها نشان می دهند که سرطان بیش از ۱/۳% جمعیت را درگیر کرده، علت بیش از ۲۰% مرگهاست و در کشورهای توسعه یافته بیش از ۱۰% کل هزینه های پزشکی را به خود اختصاص می‌دهد.

سرطان بیماری واحدی نیست بلکه بیشتر نامی است برای انواع بسیاری از تومورهای بدخیم که توسط فرایند اساسی یکسانی، یعنی رشد کنترل نشده، به وجود می آیند. تکثیر سلولی منجر به تشکیل توده ای(موسوم به نئوپلاسم[1] یا تومور) می شود که به بافت های مجاور حمله می کند (از این رو سرطان، به معنی خرچنگ، نامیده می شود) و ممکن است با انتشار به محل های دورتر به متاستاز بیانجامد. این روش، خود به خودی و به طور فزاینده ای بدخیم است و اگر درمان نشود حتماً کشنده خواهد بود.

تشخیص زودرس و درمان اولیه اموری بس حیاتی اند و شناسائی افراد در خط ابتلاء به سرطان پیش از توسعه آن، هدفی مهم در پژوهش های مربوط به سرطان است، مبنای ژنتیکی بودن سرطان مفهومی نسبتاً جدید است، حدود ۸-۵% تمام سرطان ها الگوی انتقال توارثی دارند. بسیاری از سرطان ها مانند بیماری های دیگری که خصوصیت چند عاملی نشان می دهند جزء ژنتیکی مهمی دارند و در نتیجه نقائص ژنتیکی مستعد ساز سرطان، عده ای آمادگی بیشتری در پیشرفت نوع خاصی از بدخیمی دارند. به علاوه معلوم شده است که اساساً تمام انواع سرطان ها (حتی در غیاب عوامل ارثی آشکار) در نتیجه جهش سلول های بدنی[2] پدید می آیند و این پیشرفت نیز مستلزم تجلی مجموعه ای از ژن هاست.

در گذشته، ویروس ها و مواجهه با عوامل محیطی چون تابش های یون ساز را در بیشتر سرطان ها دخیل می دانستند. امروزه معلوم شده است که یکی از علت های بنیادی سرطان جهش ژنی است. هر عامل سرطان زایی با ایجاد جهش عمل می کند. جهش های منتهی به سرطان بر ژن هایی تاثیر می گذارند که مسئول تکثیر سلولی و سایر فعالیت های بنیادی سلول است. با تغییر تنظیم طبیعی، رشد کنترل نشده آغاز می شود و توموری بدخیم پدید می آید(۹).

[1] . Neoplasm
[2] . Somatic

نئوپلاسم در لغت به معنای توده رشد کننده جدید بوده و از سلول های هر بافتی می تواند به وجود آید و به همین سبب انواع مختلفی از تومورها موجودند که از لحاظ منشاء رشد و پیش آگهی بیماری با هم متفاوت هستند. برجسته ترین تفاوت زیستی بین تومورها از نظر خوش خیم و یا بد خیم بودن آن است(۱۰).

تا زمانی که سلول های نئوپلاستیک در کنار هم به صورت یک توده باقی بمانند به تومور مذکور خوش خیم و تنها زمانی به آن سرطان اطلاق می شود که بدخیم باشد، یعنی قادر به هجوم به بافت های اطراف و نیز انتشار از طریق سیستم گردش خون و لنف به اندام های دورتر یا متاستاز باشد (۱۰).

۲-۱-۱ درجه هیستولوژیک بدخیمی

درجه بندی هیستولوژیک بدخیمی برای تعیین درجه تمایز سرطان به وجود آمده است. در گذشته عموماً عقیده بر این بود که تومورهایی که کمتر تمایز یافته اند نسبت به تومورهای تمایز یافته تر خیلی مهاجم تر و متاستاتیک تر هستند. امروزه مشخص شده که این یک ساده اندیشی بیش از حد است و در حقیقت این امر راه خیلی دقیقی برای تعیین درجه بدخیمی برای همه انواع تومورها نیست. با وجود این، برای برخی تومورهای اپیتلیال نظیر کارسینوم های دهانه رحم، آندومتر رحم، کولون و تیروئید، درجه بندی هیستولوژیک یک ضریب نسبتاً آسانی برای تعیین درجه تمایز فراهم می آورد.

بر مبنای این معیار و معیارهای دیگر مشابه آن، تومورها به چهار دسته، درجه یک (۱۰۰-۷۰% تمایز)، درجه دو (۷۵-۵۰% تمایز)، درجه سه (۵۰-۲۵% تمایز) و درجه چهار (۲۵-۰% تمایز) تقسیم بندی می شوند.

ارزش اصلی درجه بندی عبارتست از این که برای برخی از سرطان ها، یک راهنمای کلی برای پیش آگهی و یک شاخص موثر بودن روشهای درمانی مختلف را فراهم می آورد (۱۱).

۲-۲ سرطان پستان

سرطان پستان مهمترین نئوپلاسم در زنان است که سبب مرگهای مرتبط با سرطان بین زنان در اغلب کشورهای پیشرفته و خیلی از کشورهای در حال توسعه است (۱).

برای بیش از نیم قرن شیوع سرطان پستان همواره در حال افزایش بوده است و تا اواسط ۱۹۸۰ به میزان سالانه ۴ درصد در حال افزایش بوده است. افزایش اخیر به نظر می‌رسد که قابل تشخیص باشد. معهذا میزان مرگ و میر تقریباً ثابت باقی مانده است و در طی یک دوره ۱۰ ساله حدود تقریباً ۲۷ نفر در هر ۱۰۰،۰۰۰ زن بوده است (۲).

در مقیاس بین المللی بالاترین میزان بروز در اروپای غربی، امریکای شمالی و استرالیا و کمترین میزان در چین، ژاپن و در بیشتر قسمت های جهان سوم مشاهده می شود (۳).

قبل از پرداختن به بررسی اتیولوژی و اپیدمولوژی سرطان پستان لازم است مختصراً اشاره‌ای به ساختمان پستان، بافت شناسی، پاتولوژی و درجه‌بندی سرطان پستان داشته باشیم.

با وجود اینکه امروزه شیوع سرطان پستان و همچنین نرخ درمان و بهبودی آن در حال افزایش است ولی هنوز هم به منزلهٔ یک گرفتاری مهم انسانی مطرح می‌باشد. این بیماری قرن های متمادی بشر را گرفتار خود کرده ولی در حال حاضر درمان سرطان پستان بیشتر در دسترس می‌باشد.

۲-۲-۱ غدد پستانی

هر غده پستانی[1] شامل ۱۵ تا ۲۵ لوب نامنظم از نوع لوله‌ای- حبابی مرکب بوده و عملکرد آن ترشح شیر برای تغذیه نوزاد است. هر لوب توسط بافت همبند متراکم و مقدار زیادی بافت چربی، از سایر لوب ها جدا می‌شود و در حقیقت هر لوب به تنهایی غده‌ای با مجرای ترشحی مختص به خود است. این مجاری شیری[2] ۲-۴/۵ سانتی متر طول داشته و به طور مستقل در نوک پستان[3] باز می‌شوند. نوک پستان دارای ۱۵ تا ۲۵ منفذ است که هر یک حدود ۰/۵ میلیمتر قطر دارد (۱۲).

۲-۲-۲ نمو رویانی پستان

غدد پستان در یک رویان ۶ هفته‌ای انسان به صورت یک جفت ضخیم شدگی اپیدرم موسوم به خطوط شیری[4] ظاهر می‌شوند. این خط ها در سمت شکمی جنین از اندام های فوقانی تا اندام های تحتانی کشیده می‌شوند. قسمت های تحتانی خطوط شیری در اوایل نمو جنین تحلیل می روند. در سه ماهه دوم آبستنی، در ناحیه سینه‌ای جنین، ۱۵ تا ۲۵ فرورفتگی از اپی‌تلیوم به داخل بافت همبند زیرینش نفوذ کرده و مجاری شیری آینده را بوجود می آورند. بیشتر آنچه که از هر خط شیری باقی مانده است دژنره می‌شود.

---

[1]. Mammary gland
[2]. Lactiferous ducts
[3]. Nipple
[4]. Milk lines

در نوزادان هر دو جنس، غدد پستان قطری در حدود ۹-۳/۵ میلیمتر داشته و حاوی آلوئول های مجزایی هستند که ممکن است توسط مواد مترشحه متورم شوند. از آنجا که این آلوئول ها در زمان جنینی تحت تاثیر استروژن های جفت و مادر قرار دارند، لذا ترشح مایعی از این غدد در نوزادان چندان دور از ذهن نیست (۱۲).

۲-۲-۳ نمو پستان طی بلوغ

پیش از بلوغ، غدد پستان از سینوس های شیری و مجاری شیری منشعبی تشکیل می‌شوند که در انتهای هر یک، اجتماعات سلولی کوچکی قرار گرفته است.

نمو غدد پستان در زنان طی بلوغ، یکی از صفات ثانویه جنسی محسوب می گردد. طی این دوره غدد پستان از حیث اندازه بزرگ شده و نوک برجسته پستان را به وجود می‌آورند. در مردان، نوک پستان مسطح باقی می‌ماند.

بزرگ شدن پستان طی بلوغ در نتیجه تجمع بافت چربی و بافت همبند کلاژن‌دار صورت می گیرد. منشعب شدن بیشتر مجاری شیری نیز نقش کوچکی در این میان دارد. تزاید مجاری شیری و تجمع چربی، بر اثر افزایش میزان استروژن های تخمدانی طی بلوغ روی می‌دهد. در خلال این مرحله تشکیل ساختمان های لوله‌ای حبابی کوچکی را می‌توان در انتهای هر مجرا مشاهده نمود (۱۲).

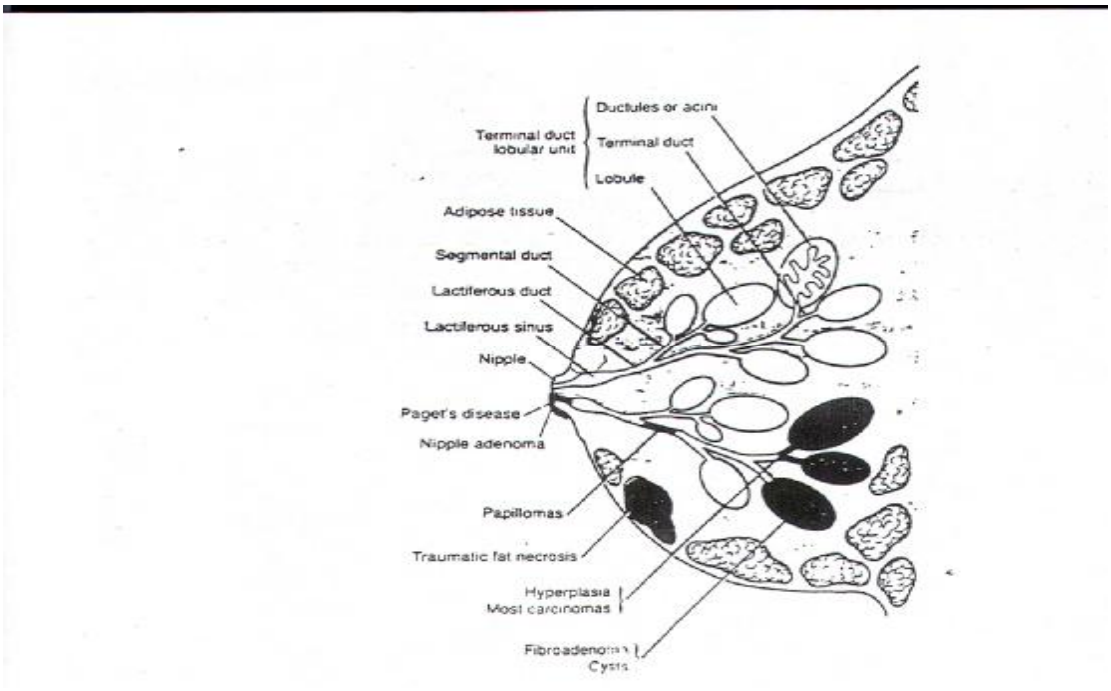
۲-۲-۴ ساختمان پستان در زنان بالغ

طی بلوغ، مجاری شیری بر رشد خود افزوده و بطور وسیعی منشعب می‌شوند. در انتهای کوچک ترین مجاری (مجاری بین لبولی انتهایی)، ساختمان اختصاصی پستان زن نابالغ، موسوم به لبول بوجود می‌آید (شکل۲-۱). یک لبول از چندین مجرای داخل لبولی تشکیل می‌شود که محتویات خود را به داخل مجرای بین لبولی انتهایی می‌ریزد. هر لبول در بافت همبند داخل لبولی پر سلول سستی قرار می گیرد. لبول ها توسط بافت همبند بین لبولی متراکم‌تر و کم سلول تر از یکدیگر مجزا می‌شوند.

مجاری شیری، نزدیک به منفذ نوک پستان متسع می‌شوند تا سینوس های شیری را بوجود آورند. سینوس های شیری در منفذ خارجی خود از اپی‌تلیوم سنگفرشی مطبق پوشیده شده‌اند. این اپی تلیوم، به سرعت به اپی‌تلیوم مکعبی یا استوانه‌ای مطبق تبدیل می‌شود. مطالعات با میکروسکوپ الکترونی آشکار ساخته که سلول های همجوار با مجرا، همان سلول های اپی‌تلیال هستند. در حالیکه سلول هایی که بر لایه بازال جای گرفته‌اند، سلول های میواپی‌تلیال فشرده در کنار یکدیگرند. سلول های اپی تلیال مجرا دارای تعداد اندکی میتوکندری، مجاری معدودی از شبکه آندوپلاسمی خشن، تعداد زیادی ریبوزوم آزاد و یک دستگاه گلژی کوچک می‌باشند

این سلول های اپی تلیال توسط اتصالات محکم و دسموزوم[1] به یکدیگر متصل می‌شوند. سلول های میو اپی تلیال دوکی شکل هستند و نحوه استقرار آنها به ترتیبی است که محور طولی این سلول ها به موازات طول مجرا قرار می گیرد. مجاری بین لبولی انتهایی از اپی تلیوم مکعبی ساده‌ای است که بر لایه بازال قرار گرفته، و لایه منقطع از سلول های میواپی تلیال تشکیل می‌شود.

در بافت همبند داخل لبولی در بر گیرنده آلوئول ها، تعدادی لنفوسیت و پلاسموسیت نیز به چشم می‌خورد. نزدیک به پایان آبستنی، این جمعیت پلاسموسیتی بطور فاحشی افزایش یافته، و مسئول ترشح ایمنوگلوبولین هایی (IgA ترشحی) است که ایمنی غیر فعال را به نوزاد می‌بخشند.



شکل ۲-۱ تصویر شماتیک پستان که غدد پستان و مجاری که در نوک پستان باز می‌شوند را نشان می‌دهد حدود لبول ها در بدن از یکدیگر قابل تشخیص نیست ولی در اینجا به منظور اهداف آموزشی، به تصویر کشیده شده‌اند. نواحی منقوط نشانگر بافت همبند سست داخل لبولی است (۱۲).

طی چرخه قاعدگی، تغییرات اندکی در ساختمان بافت شناسی این غدد مشاهده می‌شود، بدین معنی که تزاید سلول ها و مجاری در حدود زمان تخمک گذاری مشهود است. این تغییر همزمان با دوره‌ای رخ می‌دهد که طی آن استروژن گردش خون در قله خود است. آبگیری بیشتر بافت همبند در مرحله پیش از قاعدگی سبب بزرگی پستان می‌شود.

[1] . Desmosome