بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

گرایش ژنتیک

عنوان:

آنالیز ژن‌های *TP53*، *MDM2* و آلودگی به اپشتاین بار ویروس (EBV) در سرطان معده

از:

محمد طاهر مرادی

استاد راهنما:

دکتر زیور صالحی

اساتید مشاور:

دکتر کیوان امینیان

دکتر صبا فخریه اصل

تقدیم به تمام عزیزانم

تشکر

خدای بزرگ را شاکرم که یاریم نمود تا این پایان نامه را با موفقیت به اتمام برسانم. از خانواده گرانقدرم بویژه پدر و مادر مهربان و عزیزم که در تمام مراحل زندگی یار یکر و پشتیبانم بودند، از خواهران و برادر مهربانم که همواره در کنارم بودند نهایت سپاس و تشکر را دارم. از استاد راهنمای گرامی، سرکار خانم دکتر زیور صالحی که مرا از راهنمایی های ارزشمندشان بهره مند نمودند، سپاسگزارم. از اساتید مشاور بزرگوارم جناب آقای دکتر کیوان امینیان و سرکار خانم دکتر صبا فخریه اصل و نیز جناب آقای دکتر یزدانبد بخاطر فراهم کردن نمونه ها کمال تشکر را دارم. از اساتید ارجمندم آقایان دکتر فرزام عجمیان و دکتر فرهاد مشایخی که زحمت داوری پایان نامه اینجانب را پذیرفتند، همچنین از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی سرکار خانم پروفسور ریحانه سرپری، کمال تشکر را دارم. از کارشناسان محترم آزمایشگاه خانم ها هادوی، شایگان، امیدی، فرجی و موسوی به دلیل همکاری های بی دریغشان ممنون و سپاسگزارم. از دوستان مهربانم در آزمایشگاه ژنتیک بویژه خانم **آنا رفیعی**، که همواره امید بخشم بودند و مرا یاری نمودند، بسیار سپاسگذارم. در نهایت برای تمام عزیزانی که مرا در اجرای این پایان نامه یاری نمودند، بویژه بیماران عزیز از خداوند متعال سلامت، موفقیت و سربلندی را آرزومندم.

محمد طاهر مرادی

مرداد ماه سال ۱۳۹۱

فهرست مطالب

عنوان.....صفحه

چکیده فارسی.....ح

چکیده انگلیسی.....ط

فصل اول:مقدمه

۱ مقدمه.....۱

۱-۱ انواع سرطان معده.....۲

۱-۲ مراحل ایجاد سرطان معده.....۳

۱-۳ فاکتورهای خطر.....۴

۱-۳-۱ سن.....۴

۱-۳-۲ رژیم غذایی.....۴

۱-۳-۳ استعال دخانیات.....۵

۱-۳-۴ گروه خونی.....۵

۱-۳-۵ Hypertrophic gastropathy (Menterier disease) ۶

۱-۳-۶ سابقه ی جراحی معده (Previous stomach surgery) ۶

۱-۳-۷ چاقی مرضی (Obesity) ۶

۱-۳-۸ ناحیه ی جغرافیایی(Geography) ۶

۱-۳-۹ زمینه ی ژنتیکی.....۷

۱-۳-۹-۱ *P53*.....۷

۱-۳-۹-۱-۱ ساختار ژن *P53*.....۷

۱-۳-۹-۱-۲ فعالیت *P53*..... ۹
۱-۳-۹-۲ ژن *MDM2*..... ۱۱
۱-۳-۹-۲-۱ عملکرد *MDM2*..... ۱۲
۱-۳-۹-۲-۲ فرآیند یوبی کویئیتینه شدن *P53* توسط *MDM2*..... ۱۲
۱-۳-۹-۲-۳ تنظیم *P53* توسط *MDM2*..... ۱۴
۱-۴ پلی‌مورفیسم یا چند شکلی ژنتیکی..... ۱۵
۱-۴-۱ پلی مورفیسم های ژن *P53*..... ۱۶
۱-۴-۱-۱ SNP P47S..... ۱۶
۱-۴-۱-۲ *P53* Arg72Pro..... ۱۶
۱-۴-۱-۲-۱ تاثیر *P53* Arg72Pro بر ریسک سرطان..... ۱۷
۱-۴-۲ پلی‌مورفیسم در ژن*MDM2*..... ۱۸
۱-۴-۲-۱ *MDM2* SNP309 T/G..... ۱۸
۱-۴-۲-۲ *MDM2* SNP285 G/C..... ۲۰
۱-۵ عوامل عفونی..... ۲۱
۱-۵-۱ اپشتاین بار ویروس..... ۲۱
۱-۵-۱-۱ ژنوم EBV..... ۲۲
۱-۵-۱-۲ آلودگی ابتدایی اپشتاین بار ویروس..... ۲۴
۱-۵-۱-۳ بیماری های مرتبط با اپشتاین بار ویروس..... ۲۷
۱-۵-۱-۴ EBV و سرطان معده..... ۲۸
۱-۵-۱-۵ اپیدمیولوژی: سویه‌های ویروسی/ واکنش میزبان..... ۲۹
۱-۵-۱-۶ ناهنجاریهای ژنتیکی..... ۲۹
۱-۵-۱-۶-۱ سیتوژنتیک..... ۲۹

۱-۵-۱-۷-۲ هایپرمتیلاسیون DNA در ژنوم EBV و میزبان..... ۳۰
۱-۵-۲ هلیکوباکترپیلوری (Helicobacter pylori) ۳۱
۱-۵-۲-۱ هلیکوباکترپیلوری و سرطان معده..... ۳۱
۱-۵-۲-۲ CagA بعنوان یک فاکتور بیماریزای مهم..... ۳۲.
۱-۵-۲-۳ مکانیسم‌های دخیل در القای سرطان معده توسط هلیکوباکترپیلوری..... ۳۳
۱-۵-۲-۳-۱ آپوپتوز ۳۳
۱-۵-۲-۳-۲ التهاب..... ۳۵
۱-۵-۲-۳-۳ ناپایداری ژنتیکی در کارسینومای معدی..... ۳۵
۱-۶ هدف از تحقیق..... ۳۶

فصل دوم: مواد و روش ها

عنوان..... صفحه
۲-۱ مواد و لوازم مورد نیاز..... ۳۷
۲-۱-۱ مواد و وسایل مصرفی جهت استخراج DNA از بافت..... ۳۷
۲-۱-۲ مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده..... ۳۸
۲-۱-۳ مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) ۳۸
۲-۱-۴ مواد و لوازم مورد نیاز درالکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل آگارز..... ۳۹
۲-۱-۵ مواد ولوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل پلی آکریل آمید..... ۳۹
۲-۱-۶ آماده سازی بافرها و محلول‌ها..... ۴۰
۲-۲ وسایل و تجهیزاتی که به وفور درآزمایشگاه مورد استفاده قرار می گیرند..... ۴۱
۲-۳ روش کار ۴۲

۲-۳-۱ نمونه گیری..... ۴۲

۲-۳-۲ استخراجDNA ژنومی از نمونه های بافتی..... ۴۲

۲-۳-۳ ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده به کمک ژل آگارز (الکتروفورز افقی) ۴۳

۲-۳-۴ انجام واکنش زنجیره ای پلی مراز Polymerase Chain Reaction (PCR) ۴۵

۲-۳-۴-۱ Allele Specific- PCR جهت بررسی ژنوتیپ کدون۷۲ ژن *p53* ۴۵

۲-۳-۴-۱-۱ چرخه ی حرارتی تکثیر ژن *p53*..... ۴۶

۲-۳-۴-۲ بررسی SNP306 ژن *MDM2*..... ۴۷

۲-۳-۴-۲-۳ چرخه حرارتی PCR ژن *MDM2*..... ۴۸

۲-۳-۴-۲-۴ هضم آنزیمی (RFLP) محصولات حاصل از PCR ژن *MDM2*..... ۴۸

۲-۳-۴-۴ بررسی آلودگی بافت های سالم و سرطانی به اپشتاین بار ویروس با واکنش PCR..... ۴۹

۲-۳-۴-۴-۱پرایمرهای اختصاصی برای ژن *EBER-2* بعنوان مارکر تشخیص اپشتاین ویروس..... ۴۹

۲-۳-۴-۴-۲ چرخه‌ی حرارتی جهت تکثیر ژن *EBER-2*..... ۵۰

۲-۳-۴-۳ بررسی وجود هلیکوباکتر پیلوری در نمونه های بافتی به کمک واکنش PCR..... ۵۰

۲-۳-۴-۳-۳ چرخه حرارتی PCR ژن های *glmM* و *cagA*..... ۵۲

۲-۵ آنالیز آماری..... ۵۳

فصل سوم: نتایج

عنوان.....صفحه

۳ نتایج..... ۵۴

۳-۱خصوصیات نمونه ها..... ۵۴

۳-۲ نتایج بررسی های مولکولی..... ۵۴

۳-۲-۱ نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۰/۸٪ ۵۴

۳-۲-۲ ژنوتایپینگ *p53* ۵۵

۳-۲-۳ ژنوتایپینگ *MDM2* ۵۸

۳-۲-۳-۱ نتایج حاصل از بررسی فراوانی ژنوتیپی جایگاه برش *MspA1* واقع در ژن MDM2 در افراد کنترل و بیمار..... ۶۱

۳-۲-۴ ردیابی ویروس EBV ۶۳

۳-۲-۵ ردیابی هلیکوباکترپیلوری ۶۵

۳-۲-۵-۱ بررسی کیفیت قطعات DNA تکثیر شده مربوط به ژن cagA توسط ژل آگارز ۲٪ ۶۷

۳-۲-۶ مقایسه ی الل های مختلف SNP309 ژن MDM2 و ارتباط آن با آلودگی به هلیکوباکترپیلوری..... ۶۸

فصل چهارم: بحث

۴-۱بحث ۷۰

۴-۲ نتیجه‌گیری کلی ۸۱

۴-۲ پیشنهادات ۸۱

منابع ۸۲

پیوست ۹۶

فهرست اشکال

عنوان ..... صفحه

شکل۱-۱) ارتباط میان سرطان معده، نمک و آلودگی به هلیکوباکترپیلوری ۵

شکل۱-۲) نمای شماتیک دمین‌های *P53* ۸

شکل۱-۳) فعالیت *P53*..... ۱۰

شکل۱-۴) ساختار ژن و پروتئین *MDM2*..... ۱۲

شکل۱-۵) تنظیم بیان ژن *MDM2*..... ۱۳

شکل۱-۶) SNP309 در ژن *MDM2*..... ۱۹

شکل۱-۷) DNA حلقوی و دو رشته ای ویروس EBV..... ۲۳

شکل۱-۸) مدلی برای آلودگی ابتدایی به EBV و ماندگاری آن ۲۶

شکل۱-۹) مکانیزم های تنظیم آپوپتوز سلول های اپیتلیال معده توسط هلیکوباکتر پیلوری..... ۳۳

شکل۲-۱) پروفایل حرارتی واکنش PCR ژن *P53*..... ۴۶

شکل۳-۱)DNA استخراج شده از بافت معده روی ژل آگاز ۰/۸٪..... ۵۵

شکل۳-۲) تصویر مربوط به ژل آگارز ۲٪ محصولات PCR مربوط به ژنوتایپینگ کدون ۷۲ ژن *p53*..... ۵۶

شکل۳-۳) درصد فراوانی ژنوتیپی کدون ۷۲ ژن *P53* در دو گروه سالم و بیمار..... ۵۷

شکل۳-۴) فراوانی اللی آرژنین و پرولین کدون ۷۲ ژن *P53* در افراد کنترل و بیمار..... ۵۷

شکل۳-۵) تصویر مربوط به ژل آگارز ۲٪ محصولات PCR ژن *MDM2*..... ۶۰

شکل۳-۶) تصویر مربوط به ژل پلی آکریل آمید۱۲٪..... ۶۱

شکل۳-۷) تصویر مربوط به ژل آگارز ۳٪ مربوط به نتیجه ی RFLP..... ۶۱

شکل۳-۸) توزیع ژنوتیپی SNP309 در ژن *MDM2* در بین افراد کنترل و بیمار..... ۶۱

شکل۳-۹) فراوانی اللی SNP309 در ژن *MDM2* افراد کنترل و بیمار..... ۶۲

شکل۳-۱۰)تصویر مربوط به ژل آگارز ۲٪ مربوط به PCR ژن *EBER-2*..... ۶۳

شکل۳-۱۱) نتایج حاصل از بررسی حضور ویروس EBV در مبتلایان به سرطان معده و افراد کنترل..... ۶۴

شکل۳-۱۲) تصویر مربوط به ژل آگارز ۲٪ محصولات PCR ژن *glmM*..... ۶۵

شکل۳-۱۳) بررسی حضور هلیکوباکترپیلوری با استفاده از ژن *glmM*..... ۶۶

شکل ۳-۱۴) تصویر مربوط به ژل آگارز ۲٪ محصولاتPCR ژن *cagA*..... ۶۷

شکل ۳-۱۵) نتایج حاصل از بررسی حضور ژن *cagA* در افراد $glmM^{+}$.....۶۸

شکل۳-۱۶) مقایسه الل های مختلف SNP309 ژن *MDM2* و ارتباط آن با آلودگی به هلیکوباکترپیلوری ۶۹

فهرست جداول

عنوان.....صفحه

جدول۱-۱) الگوی بیان ژن های EBV در تیپ های مختلف نهتگی ویروسی.....۲۳

جدول۱-۲) الگوی فاز نهفتگی EBV در برخی از بیماری ها.....۲۸

جدول۲-۱) مواد مصرفی در تمام واکنش های زنجیره ای پلیمراز (PCR) ۴۵

جدول۲-۲) مشخصات پرایمرهای مربوط به ژن *p53*.....۴۶

جدول۲-۳) چرخه ی حرارتی PCR تکثیر ژن *p53*.....۴۶

جدول۲-۴) توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن *MDM2*.....۴۷

جدول۲-۵) چرخه حرارتی PCR ژن *MDM2*.....۴۸

جدول۲-۶) مواد واکنش گر لازم برای آنزیم *MspA1*.....۴۸

جدول۲-۷) نام و خصوصیات آنزیم مورد استفاده.....۴۹

جدول۲-۸) مشخصات پرایمرهای مربوط به ژن *EBER-2* ویروس EBV ۵۰

جدول۲-۹) سیکل حرارتی بهینه جهت تکثیر ژن *EBER-2*.....۵۰

جدول۲-۱۰) مشخصات پرایمرهای مربوط به ژن *glmM*.....۵۱

جدول۲-۱۱) مشخصات پرایمرهای مربوط به ژن *cagA* ۵۱

جدول۲-۱۲) سیکل حرارتی بهینه جهت تکثیر ژن های*glmM* و *cagA* ۵۲

جدول ۳-۱) نتایج مربوط به فراوانی ژنوتیپ های ژن *P53*، میزان χ^2 و P value در دو گروه سالم و بیمار.....۵۸

جدول۳-۲) نتایج مربوط به فراوانی ژنوتیپ های ژن *MDM2* ، میزان χ^2 و P value در دو گروه سالم و بیمار.....۶۲

جدول ۳-۳) نتایج بررسی EBV در افراد بیمار و سالم.....۶۴

جدول ۳-۴) نتایج بررسی هلیکوباکترپیلوری در افراد بیمار و سالم.....۶۶

جدول۳-۵) آنالیز اللیSNP309 *MDM2* و ارتباط آن با آلودگی به هلیکوباکترپیلوری.....۶۹

چکیده

آنالیز ژنهای *TP53*، *MDM2* و آلودگی به ویروس اپشتاین‌بار (EBV) در سرطان معده

محمدطاهر مرادی

گسترش آدنوکارسینومای معده یک فرایند چند مرحله‌ایست که نیاز به تغییر در بیان انکوژنها و ژنهای سرکوبگر تومور دارد که طی چند دهه به رخ می‌دهد. یکی از این ژنها، کدکننده‌ی پروتئین سرکوبگر تومور p53 است که در کنترل چرخه سلولی، آپوپتوزیس و ترمیم DNA نقش دارد. یکی از تنظیم کننده‌های مهم p53، MDM2 می باشد که بعنوان تنظیم کننده منفی مسیرp53 عمل می‌کند. با توجه به نقش کلیدی p53 و MDM2 در سرکوب تومور، پلی‌مورفیسم‌هایی که موجب تغییر در عملکرد آنها می‌شوند می‌توانند احتمالا در ابتلا به سرطان موثر باشند. ویروس اپشتاین بار (EBV) ممکن است بعنوان یک کوفاکتور در گسترش بدخیمی‌های مختلف، شامل تیپ‌های مختلف کارسینوما، از جمله کارسینومای معده نقش داشته باشد. هلیکوباکترپیلوری یک فاکتور خطر اثبات شده در ایجاد سرطان معده محسوب می‌شود. یکی از ژن‌های مهم در قدرت بیماریزایی این باکتری cagA می‌باشد و فرض بر این است که گونه‌های $cagA^+$ قدرت بیماریزایی بیشتری دارند. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط سرطان معده و پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *p53*، پلی‌مورفیسم ۳۰۹ ژن *MDM2* و همچنین بررسی حضور ویروس EBV و هلیکوباکترپیلوری در افراد سالم و مبتلایان به سرطان معده می‌باشد. ۵۲ فرد مبتلا به سرطان معده و ۳۰ فرد سالم در این مطالعه شرکت کردند. جهت ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *P53* از روش Allele-Specific PCR و برای ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم کدون ۳۰۹ ژن *MDM2* از روش RFLP-PCR استفاده شد. از پرایمرهای اختصاصی جهت ردیابی ژن *EBER2* در ویروس EBV و ژن *glmM* و *cagA* در هلیکوباکترپیلوری به کمک روش PCR استفاده شد. تفاوت معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ *p53* افراد کنترل سالم و مبتلا به سرطان معده مشاهده نشد، اما در مورد *MDM2* SNP309 بین الل G در بیماران و افراد سالم تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P=0.002). میزان آلودگی به EBV در بین مبتلایان به سرطان معده حدود ۱۸٪ بود (P=0.01) و همچنین حدود ۷۰٪ مبتلایان به سرطان معده به هلیکوباکترپیلوری آلوده بودند (P=0.0006) و ۶۴٪ از این افراد $cagA^+$ بودند. از طرف دیگر، بین حاملان الل G در ژن *MDM2* و آلودگی به هلیکوباکترپیلوری ارتباط معنی‌داری مشاهده شد (P=0.002). نتیجه‌ی حاصل از این مطالعه نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین *MDM2* SNP309، آلودگی به هلیکوباکترپیلوری و EBV با سرطان معده وجود دارد. در ضمن، در بیماران مبتلا به سرطان معده الل G در *MDM2* SNP309 و با آلودگی به هلیکوباکترپیلوری ارتباط معنی داری را نشان داد. اگرچه جمعیت مورد مطالعه از لحاظ آماری کوچک بود و برای به دست آوردن نتایج قطعی نیاز به مطالعه در جمعیت بزرگتر می‌باشد.

کلمات کلیدی: آدنوکارسینومای معده، *P53*، *MDM2*، EBV، هلیکوباکترپیلوری، *cagA*، *glmM*

Analysis of TP53, MDM2 genes and Epstein Bar virus infection in gastric cancer

Mohammad Taher Moradi

Development of the gastric adenocarcinoma is a multistep process that requires alterations in the expression of oncogenes and tumor suppressor genes, lasting for several decades. The p53 tumors suppressor protein is involved in cell-cycle control, apoptosis and DNA repair. One of the most important regulators of p53 is MDM2, which acts as negative regulator in p53 pathway. Based on the key role of p53 and MDM2 in tumor suppression, the polymorphisms that cause change in their function, might affect cancer risk. Epstein-Barr virus (EBV) may be a cofactor in the development of different malignancies, including several types of carcinoma such as gastric carcinoma. Helicobacter pylori infection is an established risk factor for gastric cancer development. One of the important genes in *H.pylori* pathogenesis is *cagA*. It is presumed that *cagA*+ strains have more pathogenesis. The present study aimed to examine the associations between gastric cancer risk and a functional polymorphism of *p53* at codon 72 and *MDM2* at codon 309. We also tried to detect EBV and H. *pylori* DNA in normal and gastric cancer specimens. 52 patients with gastric cancer and 30 healthy controls participated in this study. For genotyping of the p53 polymorphism at codon 72, allele-specific PCR (AS-PCR) and PCR –RFLP were applied for genotyping of P53 and MDM2. EBV and *H.pylori* were determined by EBER2 and glmM genes respectively.

There was no significant difference between P53 gene in control and patient groups, but significant difference was seen between G allele of SNP309 *MDM2* in patients and normal controls (P=0.002). EBV infection among gastric cancer patients was 18% (P=0.002). 70% of gastric cancer patients were infected by H. *pylori* (P=0.0006) and 64% of them were cagA positive. In the other hand, correlation between *MDM2* SNP309 G allele carriers and *H. pylori* infection was significant (P=0.01). In conclusion, results suggested that, there is a significant association between *MDM2* SNP309, H. *pylori* and EBV infection with gastric cancer. Although larger population based studies are needed for clarifying the relation between gastric cancer and p53 polymorphism and also EBV and *H.pylori* infection.

Key words: Gastric adenocarcinoma, *p53*, *MDM2,* EBV, Helicobacter pylori, *cagA, glmM*

Key words: Gastric adenocarcinoma, *p53*, *MDM2,* EBV, Helicobacter pylori, *cagA, glmM*

۱- مقدمه

سرطان معده[۱] به عنوان سومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در بین مردان و پنجمین عامل در بین زنان در جهان معرفی شده است. به طور کلی فراوانی وقوع سرطان معده در بین مردان دو برابر زنان است. بیش از ۷۰٪ موارد جدید سرطان معده و مرگ ناشی از آن در کشورهای در حال توسعه گزارش شده است. بیشترین نرخ سرطان معده در آسیای شرقی، اروپای شرقی و آمریکای جنوبی است و کمترین میزان آن مربوط به آمریکای شمالی و نواحی از آفریقا می‌باشد (Jemal *et al*., 2010). فراوانی وقوع این بیماری از سال ۱۹۷۵ به بعد در حال کاهش است، اما در ایران هنوز یک بیماری کشنده و اپیدمیک بوده و سالانه حدود ۷۳۰۰ مورد جدید گزارش می‌شود که اولین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در ایران معرفی شده است (Mehrabian *et al*., 2010).

تنوع منطقه‌ای وقوع سرطان معده، تا اندازه‌ای تفاوتهای الگوی غذایی و نیز شیوع هلیکوباکتر پیلوری[۲] را در نقاط مختلف منعکس می‌کند. نرخ سرطان معده به طور چشمگیری در بیشتر نقاط جهان کاهش یافته است، که دلیل آن تا اندازه‌ای به دلیل فاکتورهای وابسته به استفاده‌ی روزافزون از یخچال فریزر، دسترسی به میوه و سبزیجات تازه و نیز کاهش مصرف غذاهای نمک سود و کنسرو شده است. از دیگر عوامل مهم تعیین کننده در روند کاهش فراوانی سرطان معده در برخی نقاط جهان می‌توان به کاهش آلودگی به هلیکوباکترپیلوری مزمن در بیشتر قسمتهای جهان و دیگری کاهش مصرف دخانیات در برخی کشورهای توسعه یافته اشاره نمود (Bertuccio *et al*., 2009).

[۱] Gastric cancer
[2] Heliconbacter pylori

۱-۱ انواع سرطان معده

بیشتر سرطان‌های معده (۹۵٪) از نوع آدنوکارسینوما[1] (از سلول‌های غدد معده منشأ می‌گیرند) هستند، ۵٪ باقیمانده سرطان‌های نادری هستند، مثل لیومیوسارکوما[2] (سرطان بافت ماهیچه ای صاف)، لمفوم[3] (سرطان سیستم لنفی)، کارسینوئید[4] (تومورهایی که در سلول‌های هورمون ساز معده رشد می‌کنند) این تومورها اغلب به ارگان های دیگر گسترش نمی یابند، سرطان‌های اسکواموس[5] (سرطان‌های تک لایه ی نازک شبه فلس) و Gastrointestinal stromal tumor (GIST) تومورهای هستند که بنظر می‌رسد منشأ آنها در سلول‌های درون شبکه‌ای کاخال (interstitial cells of Cajal) معده شروع به رشد می‌کنند.

معروفترین طبقه‌بندی بافتی کارسینومای معده، طبقه بندی لورن (lauren's classification) است، که بر این اساس کارسینومای معده به دو تیپ منتشر (diffuse) و روده‌ای (intestinal)، طبقه بندی می‌شود. سرطان معده‌ی تیپ منتشر، اغلب با فاکتورهای خطر موروثی در ارتباط بوده و معمولا در سنین پایین تر و با فراوانی نسبتاً بیشتری در زنان رخ می‌دهد و غالبا در نواحی بالایی معده دیده می‌شود. سرطان تیپ منتشر اغلب سلولهای منفرد یا خوشه های کوچکی از سلول‌ها را در لایه ی موکوسی درگیر می‌کند. سرطان معده ی تیپ روده‌ای بیشتر در نواحی پائینی معده رخ می‌دهد و در بین افراد مسن رایج‌تر است. همچنین این تیپ با آلودگی به هلیکوباکترپیلوری در ارتباط می‌باشد (Ushijima and Sasako, 2004).

امروزه طبقه بندی دیگری بنام طبقه بندی WHO[6] نیز وجود دارد. بطور کلی، سرطان‌های تمایز یافته‌ی متوسط در طبقه بندی WHO، برابر تیپ روده‌ای طبقه بندی لورن قرار می‌گیرند، در حالیکه کارسینوماهای تمایز یافته‌ی کم یا اصلا تمایز نیافته، به کارسینومای تیپ منتشر تعلق دارند. جامعه اندوسکوپی ژاپن از سیستم طبقه بندی دیگری بنام طبقه بندی

[1] Adenocarcinomas.
[2] Leiomyosarcomas
[3] Lymphomas
[4] Carcinoid
[5] Squamous
[6] World Health Organization

جامعه اندسکوپی ژاپن یا JES[1] استفاده می‌کند. بر این اساس تومورهای تیپ i پولیپوئید یا توده ای شکل[2] هستند. تومورهای تیپ ii صاف، یا به میزان بسیار کمی برآمده یا فشرده شده می‌باشند. تومورهای تیپ iii با یک زخم همراه هستند (Roukos, 2000).

۱-۲ مراحل ایجاد سرطان معده

دو واریانت معمول کارسینومای معده وجود دارد: تیپ روده ای (intestinal type) و تیپ منتشر (diffuse type). تیپ منتشر در مقایسه با تیپ روده ای، بیماران را در سنین پائین تری تحت تاثیر قرار می‌دهد. مراحل پیشرفت کارسینومای معده تیپ روده ای شامل موارد زیر می‌باشد (Sipponen *et al*., 2000).

Normal mucosa → Chronic gastritis → Atrophic gastritis → Intestinal metaplasia → Dysplasia → Cancer

التهاب ممکن است توسط فاکتورهای مختلفی از جمله هلیکوباکترپیلوری ایجاد شود. گاستریت مزمن ممکن است با گاستریت آتروفیک دنبال شود. مرحله ی بعدی در این مسیر متاپلازی روده ایست که ضایعه‌ی پیش بدخیمی[3] است که طی آن موکوس نرمال معده با سلولهای اپیتلیال تیپ روده ای جایگزین می‌شوند. مرحله ی قبل از کارسینومای معده، دیسپلازی (حالتی که که سلول‌ها هنوز توانایی حمله و متاستاز را پیدا نکرده اند) می‌باشد (Machado *et al*., 2010).

[1]The Japanese Endoscopic Society
[2]Polypoid or masslike
[3]Premalignant lesion

۱-۳ فاکتورهای خطر

گرچه سرطان معده در هر دو جنس وجود دارد، اما در مردان دو برابر بیشتر از زنان شایع است، علت اصلی آن تا کنون مشخص نشده‌است ولی یکی از عوامل دخیل را نقش هورمونها در این زمینه ذکر کرده اند (Ushijima and Sasako, 2004).

۱-۳-۱ سن

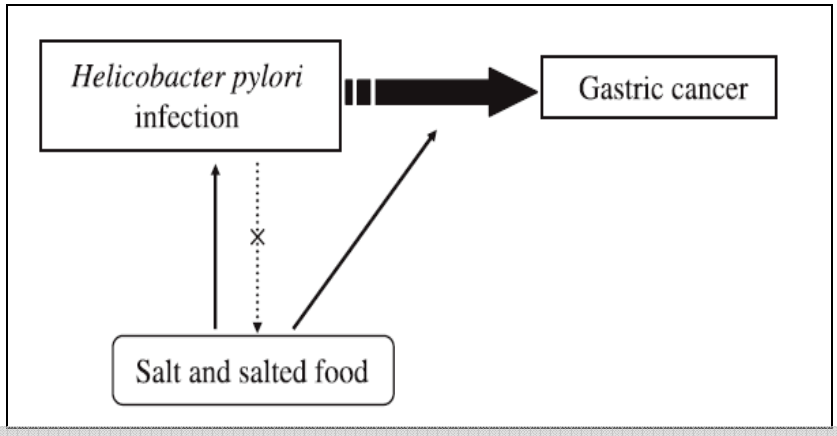
بیشتر از ۹۰٪ کسانی که دچار سرطان معده می‌شوند، بالای ۵۵ سال سن دارند و میانگین سنی آنها ۷۱ سال است (Ushijima .and Sasako, 2004) میانگین سنی سرطان معده در ایران ۱۲/۷۷ ±۶۴/۷۶ گزارش شده است (Mehrabian *et al*., 2010)

۱-۳-۲ رژیم غذایی

رژیم غذایی حاوی نمک زیاد، مصرف گوشت های فراوری شده[1] و غذاهای نمک سود شده[2] ممکن است ریسک ابتلا را افزایش دهند. مطالعات نشان داده است آلودگی به هلیکوباکترپیلوری مزمن که می‌تواند منجر به سرطان معده شود، با میزان مصرف نمک رابطه ی مستقیم دارد (شکل ۱-۱). اخیراً پی برده شده‌است که نمک، رشد و عملکرد هلیکوباکترپیلوری را افزایش می‌دهد، بنابراین احتمال ابتلا به سرطان را افزایش می‌دهد. همچنین نمک می‌تواند به عنوان یک عامل تحریکی / التهابی[3] آستر معده عمل کند و آن را در معرض کارسینوژن ها قرار دهد (Tsugane., 2005). برخی مطالعات نشان داده‌اند که رژیم هایی با مصرف بالای گوشت قرمز، فاکتور خطر احتمالی دیگری به شمار می رود. بنظر می رسد بطور میانگین خوردن دو بار گوشت قرمز در روز، احتمال ابتلا به سرطان معده را افزایش می‌دهد. این احتمال می‌تواند با مصرف گوشت کباب شده، افزایش یابد (Machado *et al*., 2010). انواع سبزیجات و میوه ها از جمله سبزیجات خام، هویج و گوجه

[1]Processed meats
[2]Pickled foods
[3]Irritant/inflammatory agent

فرنگی که دارای ویتامین‌های آنتی اکسیدانت، مانند ویتامین های A و E هستند، نقش حفاظتی علیه سرطان دارند (Kristia *et al*., 2003).



شکل۱-۱) ارتباط بین سرطان معده، نمک و آلودگی به هلیکوباکترپیلوری.

با توجه به شکل، مصرف نمک و غذاهای نمک سود شده عملکرد هلیکوباکترپیلوری را افزایش داده و به دنبال آن احتمال ابتلا به سرطان معده را افزایش می‌دهد (Tsugane, 2005).

۱-۳-۳ استعمال دخانیات

تحقیقات نشان می‌دهد که افراد سیگاری دو برابر بیشتر از افراد غیر سیگاری در معرض ابتلا به سرطان معده هستند (González *et al*., 2003). سیگار کشیدن همچنین یک فاکتور خطر برای گسترش زخمهای معده‌ای می باشد. مکانیسمی که بوسیله آن دود تنباکو موجب سرطان معده می‌شود، بخوبی شناخته نشده است. دود تنباکو حاوی چندین ماده شیمیایی کارسینوژن شناخته شده (مثل N-nitroso) می‌باشد که می تواند مستقیماً از طریق تماس با موکوس معده و یا بطور غیر مستقیم از طریق جریان خون عمل میکند (Kneller *et al*., 1992).

.

۱-۳-۴ گروه خونی

مطالعات نشان می‌دهد که افراد با گروه خونی A ریسک بالاتری برای ابتلا به سرطان معده دارند. در مطالعه ای روی جراحات پیش سرطانی معده در جمعیتی با ریسک بالای سرطان معده در چین، ارتباط گروه خونی A و سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان، با نقش استعداد ژنتیکی بدست آمد (You *et al*., 2000).

۱-۳-۵ Hypertrophic gastropathy (Menterier disease)

در بیماری منتریر رشد بیش از حد آستر معده باعث تشکیل چین های بزرگی در آستر معده می‌شود و منجر به کاهش سطح اسید معده می گردد. این بیماری بسیار نادر است و دقیقا معلوم نیست که چگونه افزایش چین های معده منجر به سرطان می‌شود (Ushijima and Sasako, 2004).

۱-۳-۶ سابقه ی جراحی معده (Previous stomach surgery)

این احتمال وجود دارد که سرطان معده در افرادی که قسمتی از معده ی آنها جهت درمان بیماری های غیرسرطانی از جمله زخم معده برداشته شده است، گسترش یابد. در ضمن تولید اسید بعد از جراحی زخم معده کاهش یافته و ممکن است بازگشت صفرا از روده ی کوچک به معده رخ دهد. خطر سرطان معده طی ۱۵-۲۰ سال پس از جراحی افزایش می یابد(Ushijima and Sasako, 2004) .

۱-۳-۷ چاقی مرضی (Obesity)

وزن بالا یکی از فاکتورهای خطر سرطان در کاردیا (قسمت فوقانی معده نزدیک مری) می‌باشد اما شدت این ارتباط نامشخص است (Ushijima and Sasako, 2004).

۱-۳-۸ ناحیه‌ی جغرافیایی (Geography)

مکان زندگی می‌تواند در احتمال ابتلا به سرطان معده تأثیر بگذارد. سرطان معده در ژاپن، چین، آمریکای جنوبی و مرکزی، اروپای جنوبی و شرقی متداول تر است. این بیماری در آفریقای شمالی و غربی، آسیای جنوبی و مرکزی و آمریکای