



پرديس دانشگاهي

گروه زيست شناسي

گرايش ژنتيک

## پلي مورفيسم ژن RAD51 در بيماران مبتلا به سرطان کولورکتال

از

مريم قنبري راد

استاد راهنما

دکتر فرهاد مشايخي

استاد مشاور

دکتر حميد سعیدی ساعدي

شهریور ۹۳

تقدیم به پدر و مادر مهربانم که آرامش جانم هستند و دعای پرمهرشان همواره بدرقه راهم بوده است.

## تشکر و قدردانی

سپاس خداوند یکتا را که همواره الطاف بیکرانیش در تمام مراحل زندگی شامل حالم بوده است.

از استاد ارجمندم، جناب پروفیسور فرهاد مشایخی که در تمام مراحل انجام پایان نامه، اینجانب را از راهنمایی‌های گرانقدرشان بهره‌مند ساختند، کمال تشکر را دارم.

همچنین از جناب دکتر حمید سعیدی ساعدی که با مشاوره‌های گرانقدرشان در انجام هرچه بهتر این پایان نامه، اینجانب را همراهی کردند، سپاسگزاری می‌کنم.

از زحمات پدر و مادر بزرگوایم، خواهر عزیزم و همچنین دوستان مهربانم، خانم‌ها دکتر مینا نمکچیان، سحر بلخی، هانیه افروغ و آقای دکتر رضا رجبیه فرد که در انجام این پایان نامه از هیچ کمکی دریغ ننمودند، خالصانه تشکر می‌نمایم.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۲	..... (۱) مقدمه
۲	..... (۱-۱) آناتومی روده ی بزرگ
۲	..... (۱-۱-۱) روده کور (cecum)
۳	..... (۲-۱-۱) آپاندیس (appendix vermiformis)
۳	..... (۳-۱-۱) کولون صعودی (ascending colon)
۳	..... (۴-۱-۱) کولون عرضی (transverse colon)
۳	..... (۵-۱-۱) کولون نزولی (descending colon)
۴	..... (۶-۱-۱) کولون سیگموئید (sigmoid colon)
۴	..... (۷-۱-۱) رکتوم (rectum)
۴	..... (۸-۱-۱) کانال مخرج (anal canal)
۵	..... (۲-۱-۱) بافت شناسی کولون
۵	..... (۱-۲-۱-۱) مخاط
۶	..... (۲-۲-۱-۱) زیر مخاط
۷	..... (۳-۲-۱-۱) لایه ی عضلانی
۷	..... (۴-۲-۱-۱) صفاق (سروز)
۸	..... (۲-۱) سرطان روده ی بزرگ
۹	..... (۱-۲-۱) مرحله بندی
۹	..... (۱-۱-۲-۱) سیستم مرحله بندی TNM
۱۴	..... (۲-۱-۲-۱) سیستم مرحله بندی داک
۱۴	..... (۲-۲-۱) فاکتور های خطر برای سرطان کولون
۱۴	..... (۱-۲-۲-۱) سن

صفحه	عنوان
۱۴	..... ۱-۲-۲) استعمال سیگار
۱۵	..... ۱-۲-۳) چاقی مفرط
۱۵	..... ۱-۲-۴) رژیم غذایی
۱۵	..... ۱-۲-۵) جنسیت
۱۵	..... ۱-۲-۶) سرطان کولون در بیماری التهاب شکمی
۱۶	..... ۱-۲-۷) تاریخچه خانوادگی
۱۹	..... ۱-۳) مسیر های ژنتیکی سرطان کولون
۲۲	..... ۱-۴) سیستم های ترمیم DNA
۲۳	..... ۱-۴-۱) ترمیم شکست های دو رشته ای در DNA توسط سیستم نو ترکیبی همولوگ
۲۳	..... ۱-۴-۱-۱) ترمیم آسیب های DNA توسط ریکامیناز RAD51
۲۴	..... ۱-۴-۱-۲) ژن RAD51
۲۵	..... ۱-۴-۱-۳) نحوه عملکرد RAD51 و فاکتور های مرتبط در سیستم نو ترکیبی همولوگ
۲۹	..... ۱-۴-۵) ارتباط RAD51 و سرطان
۳۰	..... ۱-۴-۵-۱) RAD51 و سرطان کولون
۳۱	..... ۱-۶) هدف

## فصل دوم

۳۳	..... ۲) مواد و روش ها
۳۳	..... ۲-۱) وسایل و تجهیزات مورد نیاز
۳۴	..... ۲-۲) نمونه برداری
۳۴	..... ۲-۲-۱) وسایل مصرفی
۳۴	..... ۲-۳) استخراج DNA ژنومی از خون
۳۴	..... ۲-۳-۱) مواد و وسایل مصرفی
۳۵	..... ۲-۳-۲) روش کار
۳۵	..... ۲-۳-۱-۱) رعایت نکاتی قبل از شروع مراحل استخراج
۳۵	..... ۲-۳-۲-۲) مراحل انجام عمل استخراج
۳۶	..... ۲-۴) ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز ۱٪

صفحه	عنوان
۳۶	..... (۱-۴-۲) مواد و وسایل مصرفی
۳۷	..... (۲-۴-۲) روش کار
۳۸	..... (۵-۲) انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز جهت بررسی ژنوتیپ کدون 135 ژن RAD51
۳۹	..... (۱-۵-۲) مواد و وسایل مصرفی
۳۹	..... (۲-۵-۲) روش کار
۴۰	..... (۳-۵-۲) آغازگرهای (Primer) مورد استفاده
۴۲	..... (۴-۵-۲) مشخصات چرخه حرارتی PCR
۴۴	..... (۶-۲) الکتروفورز افقی روی ژل ۱/۵٪ جهت بررسی کیفیت محصول PCR و ارزیابی نتایج
۴۴	..... (۱-۶-۲) مواد و وسایل مصرفی
۴۴	..... (۲-۶-۲) روش کار
۴۴	..... (۷-۲) آنالیز آماری

### فصل سوم

۴۷	..... (۳) نتایج
۴۷	..... (۱-۳) خصوصیات نمونه ها
۴۷	..... (۲-۳) نتایج بررسی های ملکولی
۴۷	..... (۱-۲-۳) نتایج بررسی کیفیت DNA ژنومی استخراج شده با استفاده از ژل آگارز ۱٪
۴۷	..... (۲-۲-۳) بررسی ژنوتیپ پلی مورفیسم تبدیل G به C در ژن RAD51
۴۸	..... (۱-۲-۲-۳) نتایج حاصل از واکنش زنجیره ای پلی مرز توسط پرایمر Allele Specific
۴۹	..... (۲-۲-۲-۳) بررسی آماری پلی مورفیسم $C > 135G$ در ژن RAD51

### فصل چهارم

۵۲	..... (۴) بحث
۵۲	..... (۱-۴) بحث و نتیجه گیری
۵۶	..... (۲-۴) پیشنهادات

### فصل پنجم

۵۷	..... (۵) منابع
----	-----------------

## فهرست جدول ها

صفحه	عنوان
۱۴	جدول ۱-۱) سیستم مرحله بندی داک در سرطان کولورکتال.....
۱۸	جدول ۱-۲) فاکتور های خطر برای سرطان کولون.....
۳۹	جدول ۲-۱) مواد مصرفی در PCR.....
۴۱	جدول ۲-۲) مشخصات پرایمر های مورد استفاده در واکنش PCR توسط پرایمر مربوط به آلل طبیعی G....
۴۲	جدول ۲-۳) مشخصات پرایمر های مورد استفاده در واکنش PCR توسط پرایمر مربوط به آلل موتانت C....
۴۲	جدول ۲-۴) چرخه حرارتی برای واکنش PCR قطعه ۳۲۳ و ۴۹۸ جفت بازی نمونه های شاهد و بیمار.....
۵۰	جدول ۳-۱) نتایج آزمون $\chi^2 - square$ برای پلی مورفیسم $C > G$ 135 ژن RAD51.....



## فهرست شکل ها

صفحه	عنوان
۵	شکل ۱-۱) قسمت های مختلف کولون.....
۷	شکل ۱-۲) بافت های مختلف جدار روده بزرگ.....
۸	شکل ۱-۳) نمای آندوسکوپی یک از یک پولیپ روده.....
۱۰	شکل ۱-۵) مرحله ی ۰ سیستم TNM.....
۱۰	شکل ۱-۶) مرحله ی I سیستم TNM.....
۱۱	شکل ۱-۷) مرحله ی II سیستم TNM.....
۱۲	شکل ۱-۸) مرحله ی IIIA سیستم TNM.....
۱۲	شکل ۱-۹) مرحله ی IIIB سیستم TNM.....
۱۳	شکل ۱-۱۰) مرحله ی IIIC سیستم TNM.....
۱۳	شکل ۱-۱۱) مرحله ی IV سیستم TNM.....
۲۰	شکل ۱-۱۲) شروع فرایند های ایجاد پولیپ و در نهایت متاستاز و ایجاد سرطان.....
۲۵	شکل ۱-۱۳) مکان قرار گیری ژن RAD51.....
۲۷	شکل ۱-۱۳) مکانیسم عمل RAD51 در ترمیم شکست دو رشته ای.....
۴۱	شکل ۱-۲) جایگاه اتصال جفت پرایمر Forward و Reverse آلل طبیعی در ناحیه ی 5' UTR ژن RAD51.....
۴۱	شکل ۱-۲) جایگاه اتصال جفت پرایمر Forward و Reverse آلل های موتانت در ناحیه ی 5' UTR ژن RAD51.....
۴۳	شکل ۲-۳) پروفایل حرارتی واکنش PCR.....
۴۷	شکل ۳-۱) تصویر مربوط به ژل آگارز جهت بررسی DNA ژنومی استخراج شده از لوکوسیت های خون محیطی.....
۴۸	شکل ۳-۲) محصولات PCR پلی مورفیسم RAD51 135G>C بر روی ژل آگارز ۱/۵٪.....
۴۹	شکل ۳-۳) نتایج نهایی حاصل از واکنش زنجیره ای پلی مرز.....
۵۰	شکل ۳-۴) نمودار ستونی مربوط به فراوانی درصدی ژنوتیپی RAD51 در گروه بیمار و کنترل.....

## فهرست علائم اختصاری

18q LOH : Loss of the long arm of chromosome 18

AJCC : American Joint Committee On Cancer

BMI: Body mass index

CRC : Colorectal Cancer

DCC : deleted in colorectal cancer

Double strand break = DSB

EDTA : Ethylene Diamine Tetra Acetate

FAP : Familial Adenomatous Polyposis

HJ: Holiday Junction

HNPCC : Hereditary nonpolyposis colorectal cancer

HR:homologous recombination

IBD : Inflammatory bowel disease

Loss of heterozygosity = LOH

NHEJ: Non-homologous end joining

PCR : Polymerase Chain Reaction

replication error = RER

SNP: Single nucleotide polymorphism

SsDNA: Single Strand DNA

*TGF-β*: Transforming Growth Factor

TNM : Tumour . Nodes . Metastasis

## پلی مورفیسم ژن RAD51 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

مریم قنبری راد

سرطان کولون (CRC) سومین سرطان شایع و چهارمین سرطان منجر به مرگ در جهان می باشد. ایجاد تومور در روده بزرگ، یک فرایند پیچیده و چند مرحله ای بوده که تحت تاثیر فاکتور های درونی و بیرونی، از قبیل سن، جنسیت، رژیم، سایر بیماری های مرتبط و شیوه ی زندگی قرار دارد. بیماری ابتدا بصورت یک پولیپ آدنوماتوز بروز میکند و در مرحله بعد منجر به آدنومای پیشرفته، همراه با دیسپلازی شدید و در نهایت منجر به سرطان تهاجمی میشود. از دست رفتن ثبات ژنومی میتواند منجر به گسترش CRC از طریق تسهیل رخداد جهش های اکتسابی مرتبط با تومور شود. جهش در ژن های ترمیم کننده شکست در دو رشته DNA (Double Strand Break = DSB) در بیماری زایی تومور نقش دارند. DSB در DNA میتواند توسط سیستم ترمیم نوترکیبی همولوگ (Homologues Recombination Repair = HRR) و یا توسط اتصال پایانه های غیر همسان (Non-homologous End Joining = NHEJ) تصحیح گردد. در یوکاریوت ها پروتئین اصلی در HRR، ریکامیناز RAD51 است که انتقال رشته را بین توالی شکسته و همولوگ سالم آن، جهت سنتز مجدد ناحیه آسیب دیده کاتالیز میکند. پروتئین RAD51 انسانی (HsRAD51) همولوگ پروتئین RecA در باکتری اشرف کولی است. ۵ ژن مشابه RAD51 در سلول های انسانی یافت شده است. ژن RAD51 روی بازوی بلند کروموزوم ۱۵ در ناحیه ی ۱۴-۱۵ قرار دارد. دو مورد پلی مورفیسم های معمول این ژن  $135G>C$  و  $172G>T$  میباشند. در مطالعه ی حاضر، ارتباط پلی مورفیسم  $135G>C$  و CRC مورد بررسی قرار گرفت. نمونه های خون از ۷۴ بیمار مبتلا به CRC و ۱۰۰ نمونه کنترل جمع آوری شد. پس از استخراج DNA، از دو جفت پرایمر اختصاصی جهت تکثیر قطعه مورد نظر استفاده شد و سپس نتایج آن توسط ژل الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج، تفاوت معنی داری بین فراوانی آلل های G و C، در گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد (به ترتیب، فراوانی آلل های G و C در گروه بیمار ۰/۷۸ و ۰/۲۲ و در گروه کنترل ۰/۷۴ و ۰/۲۶ برآورد شد). نتایج این مطالعه نشان داد که پلی مورفیسم  $135G>C$ ، با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال در جمعیت استان گیلان ارتباطی ندارد ( $P = 0.65$ ). تحقیقات بیشتر جهت تعیین نقش ژن RAD51 در سرطان کولورکتال لازم می باشد.

کلیدواژه: سرطان کولورکتال، پلی مورفیسم، RAD51

# بخش اول

## مقدمه

## (۱) مقدمه

سرطان کولورکتال یکی از سرطان های شایع در جمعیت انسانی است. طبق تخمین جامعه ی سرطان آمریکا در سال ۲۰۱۴، ۱۳۶۸۳۰ فرد در این کشور به این بیماری مبتلا خواهند شد که از این میان ۵۰۳۱۰ نفر از بین می روند. سرعت بروز این سرطان نسبت به دو دهه گذشته در حال کاهش بوده، که این امر به علت استفاده ی وسیع از تست های تشخیصی سرطان کولورکتال می باشد که امکان تشخیص سریع بیماری و برداشتن پولیپ های کولورکتال را قبل از پیشرفت سرطان در اختیار می گذارند. از سال ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۰، میزان شیوع سرطان در میان افراد بالای ۵۰ سال، ۳٫۷٪ کاهش داشته، اما در سنین کمتر از ۵۰ سال، این بیماری به میزان ۱٫۸٪ افزایش یافته است (American Cancer Society, 2014). این سرطان به صورت های تک گیر، سندرم های سرطان ارثی و یا بر پایه ی التهاب های شکمی ایجاد می شود. فرایند تبدیل آدنوما – کارسینوما پایه ی پیشرفت سرطان می باشد. میزان موفقیت درمان در ایالات متحده امریکا بیش از ۶۰٪ بوده، در حالیکه در کشور های در حال توسعه، این رقم کمتر از ۴۰٪ می باشد (Steward and Kleihues, 2003).

### ۱-۱) آناتومی روده بزرگ

روده بزرگ در دوره جنینی، از شاخه تحتانی قوس روده ای اولیه و روده انتهایی مشتق میگردد. طول آن ۱/۵ متر است. از دریچه ایلئوسکال شروع میشود و به مقعد ختم میشود (Sleisenger and Fordtran, 2010). ساختمان روده بزرگ برای ذخیره مواد دریافتی از روده کوچک، جذب مایعات و مواد محلول در آنها سازگار شده است. بافت پوششی آن از نوع جاذب (استوانه ای) بدون پرز میباشد. ترشح مواد موکوسی فراوان، توسط سلولهای ترشحی مخاطی، حرکت محتویات روده بزرگ را تسهیل میکند. وجود فولیکولهای لنفاوی پراکنده (پلاکهای پییر) در مجرای روده، حفاظت روده را در برابر باکتریها برعهده دارد (Hall and Gayton, 2011).

### ۱-۱-۱) روده کور (Cecum)

سکوم بن بستی است که بخش ابتدایی روده بزرگ را تشکیل میدهد. این قسمت از روده ی بزرگ، ۵ سانتیمتر طول و ۷/۵ سانتیمتر پهنا دارد و پهنای آن بیشتر از طول آن میباشد (Gray, 2005).

**(۲-۱-۱) آپاندیس (appendix vermiformis)**

آپاندیس، بیرون زدگی (Diverticulum) کرمی شکل است که از سمت عقبی داخلی دیواره سکوم ایجاد شده و دهانه آن ۲ تا ۳ سانتیمتر تا دریچه ایلئوسکال فاصله دارد. طول آن ۲ الی ۲۰ سانتی‌متر متغییر بوده و بطور متوسط ۹ سانتی‌متر است. در کودکان طولتر از بالغین بوده و قطری حدود ۵ میلی‌متر دارد. مجرای بسیار باریک آن از دوره میانسالی ممکن است محو شود (Gray, 2005).

**(۳-۱-۱) کولون صعودی (Ascending colon)**

کوتاهترین قسمت کولون و تقریباً ۱۵-۱۲٫۵ سانتیمتر طول دارد و از سکوم تا سطح پائین لوب راست کبد امتداد دارد. بطور عمودی و در حالیکه چسبیده به جدار خلفی شکم است به بالا صعود میکند و در انتها خم کولیک راست را می‌سازد. این خم در زیر لوب راست کبد قرار گرفته است و در عقب با کلیه راست، در جلو و داخل، در مجاور دئودنوم و انتهای کیسه صفرا قرار دارد. سطح خلفی زاویه کولیک راست فاقد پرتیونوم است از این رو در مجاورت مستقیم فاسیای کلیوی (Renal fascia) قرار دارد (Gray, 2005).

**(۴-۱-۱) کولون عرضی (Transverse colon)**

کولون عرضی متحرک است و طول آن تقریباً دو برابر عرض شکم، یعنی در حدود ۵۰ سانتی‌متر است. در حالت ایستاده قسمت میانی آن به طرف پایین آویزان است و تا حدود ناف پایین می‌آید. در این حال، قوسیایجاد می‌کند که شاخه‌ی چپ آن از پهلوی چپ بالا رفته و در زیر طحال زاویه یا خم کولیک چپ را می‌سازد. کولون عرضی توسط مزو کولون عرضی به جدار خلفی شکم اتصال دارد (Gray, 2005).

**(۵-۱-۱) کولون نزولی (Descending Colon)**

کولون نزولی حدود ۳۰ سانتی‌متر طول داشته و در سمت چپ حفره‌ی شکمی قرار گرفته و تا کولون سیگموئید ادامه دارد. این قسمت از بقیه قسمت‌های کولون باریک‌تر بوده و در موقعیت خلفی تر قرار دارد (Gray, 2005).

### ۱-۱-۶) کولون سیگموئید (Sigmoid colon)

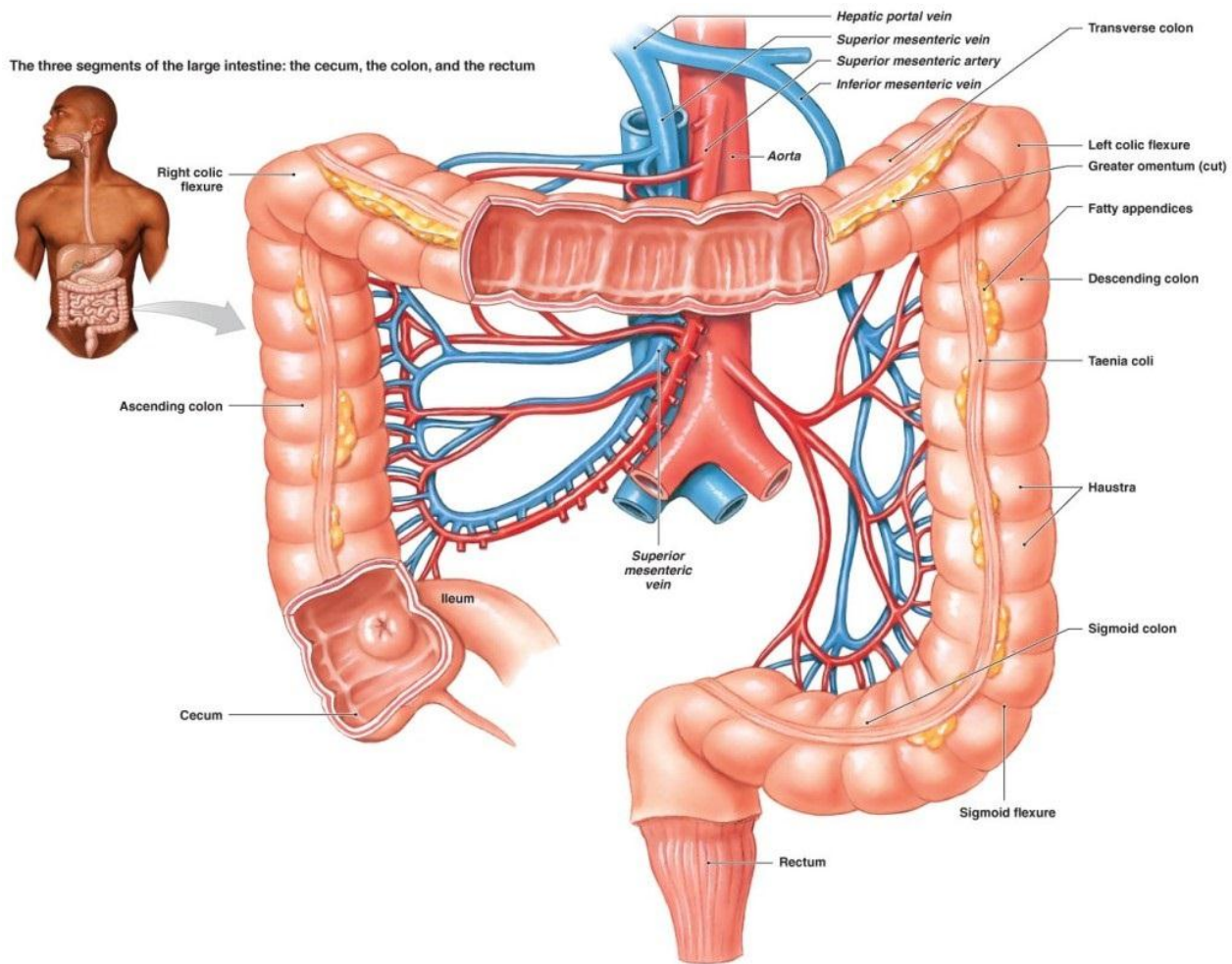
این بخش از روده به شکل S، با طول متغیر، قابلیت پیچ خوردگی و تحرک می‌باشد. طول متوسط آن ۴۰ سانتیمتر است ولی ممکن است بیشتر یا کمتر باشد. معمولاً در حفره لگنی قرار دارد. پریتونوم، کاملاً کولون سیگموئید را در بر گرفته و برای آن مزوئی بنام مزوسیگموئید می‌سازد. کولون سیگموئید بعلت آزاد بودنش، در معرض پیچ خوردن به دور خود قرار دارد و ایجاد ولولوس میکند (Gray, 2005). از آنجا که سیگموئید باریک‌ترین بخشی از روده بزرگ بوده، وجود تومور در این منطقه باعث ظهور سریع علائم بیماری و تشخیص زود هنگام آن در مراحل اولیه سرطان می‌گردد (Sleisenger and Fordtran, 2010).

### ۱-۱-۷) رکتوم (Rectum)

رکتوم ۱۲ سانتیمتر طول دارد، بعد از کولون سیگموئید قرار گرفته است و تا کانال مخرج امتداد دارد. در پیوستگاه سیگموئید و رکتوم، زاویه ای تشکیل میشود بنام زاویه رکتوسیگموئید که بطرف چپ باز میشود. از این به بعد رکتوم بطرف پائین نزول میکند. جاییکه رکتوم تمام میشود و مجرای مخرج شروع میشود پیوستگاه آنورکتال نام دارد. مجرای مخرج تقریباً پس از طی ۳/۸ سانتی‌متر به مقعد ختم میشود (Gray, 2005).

### ۱-۱-۸) کانال مخرج (Anal canal)

از پیوستگاه آنورکتال به بعد، کانال آنال بسمت پائین و عقب امتداد دارد و به سوراخ مقعد منتهی میگردد. طول آن ۴ سانتیمتر است که دو سوم فوقانی آن از جنس آندودرم است و یک سوم تحتانی از جنس اکتودرم است (Gray, 2005). نمای کلی کولون در شکل ۱-۱ نشان داده شده است.



شکل ۱-۱) قسمت های مختلف کولون. شامل کولون بالا، کولون افقی، کولون پایین رو، کولون سیگموئید و رکتوم میباشد. (Young et al., 2011).

## ۲-۱-۱) بافت شناسی کولون

دیواره روده ی بزرگ از ۴ لایه اصلی تشکیل شده است که به ترتیب از داخل به خارج شامل: ۱) مخاط ۲) زیر مخاط ۳) لایه عضلانی و ۴) صفاق (سروز) می باشد (Siegfried, 2002) (شکل ۲-۱).

### ۱-۲-۱-۱) مخاط

مخاط داخلی ترین لایه لوله ی گوارشی می باشد. مخاط روده بزرگ، صاف و بدون کرک بوده و شامل قسمتهای مختلفی است و از تجمع بافت اپی تلیوم غده ای، لامینا پروپریا (آستر مخاط) و عضله مخاطی ایجاد می شود. سلول های اپی تلیوم غده ای، ساختارهایی استوانه ای به نام کریپت (Crypt) ایجاد می کنند. این لایه متشکل از سلول های بنیادی، سلول های کریپت تمایز نیافته، سلول



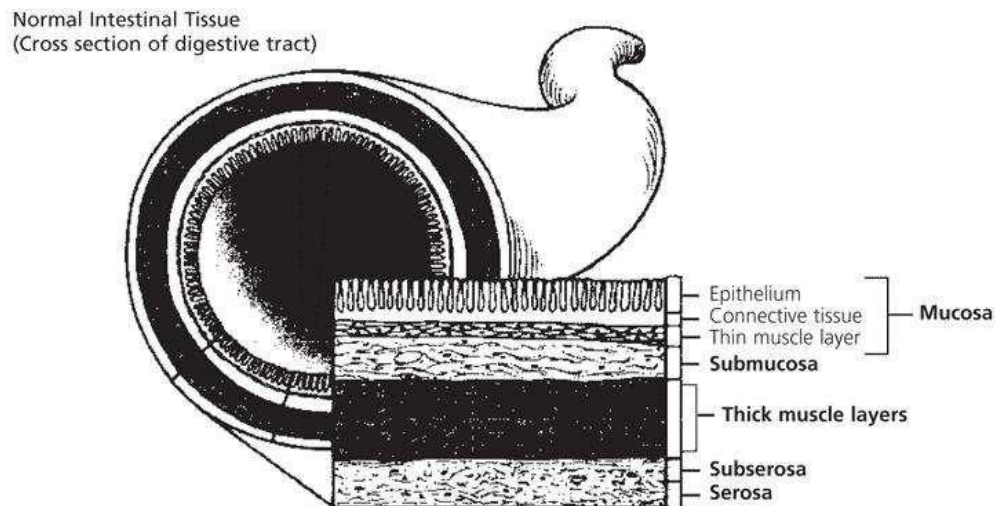
های جذب کننده (که سلول های استوانه ای نیز نامیده می شوند)، سلول های گابلت، سلول های پانت (Paneth)، سلول های انترواندوکراین (Enteroendocrine) و سلول های M (Microfold cells) می باشد. سلول های بنیادی در این ناحیه، سلول های پرتوانی هستند که در قاعده ی کریپت واقع شده اند. سلول های تمایز نیافته اندامک های درون سلولی کمتر و نیز نسبت به سلول های جذب کننده میکروویلی های کمتری دارند. سلول های جذب کننده، سلول های استوانه ای مانند دارای هسته های قاعده ای و بیضی شکل و سطح آزاد می باشند.

سلول های گابلت بیضی شکل یا گرد بوده و دارای هسته ای صاف در قاعده خود می باشند و وظیفه ی تولید مخاط را بر عهده دارند (Yeatman, 2001). سلول های پانت ساختاری فلاسک مانند داشته و حاوی روی، پپتید های ضد میکروبی، فاکتور های رشد و آنزیم های لیزوزومی می باشند. مخاط همچنین دارای سلول های تخصص یافته ای به نام انترواندوکراین یا نورواندوکراین بوده که دارای قابلیت اندوکرینی هستند. اشکال متعددی از این سلول ها وجود دارد. این سلول ها علاوه بر آزاد کردن هورمون در خون، باعث تنظیم ترشح، جذب، تحرک، تکثیر سلول های مخاطی و احتمالاً کنترل سد ایمنی بدن می شوند. سلول های M، سلول های اپی تلیومی تخصص یافته ای می باشند که فولیکول های لنفوی را در روده کوچک و کولون می پوشانند. این سلول ها به صورت انتخابی قابلیت اتصال به آنتی ژن های موجود در لومن را داشته و می توانند آن ها را مستقیماً به لنفوسیت ها، ماکروفاژ ها و یا سایر اجزای سیستم لنفوئیدی در مخاط منتقل کنند (Sleisenger and Fordtran, 2010).

آستر مخاط، یک لایه بافت پیوندی سست دارای الاستین، رتیکولین، فیبر های کلاژن، لنفوسیت ها، سلول های پلاسمایی، گرانولوسیت های ائوزینوفیل و نیز عروق لنفی و مویرگ های خونی می باشد. لایه عضله مخاطی لایه ای است نازک از عضله صاف می باشد که مخاط و زیر مخاط را از یکدیگر جدا می کند (Siegfried, 2002).

#### ۱-۲-۱-۱ زیر مخاط

زیر مخاط لایه ای از بافت پیوندی و فیبرهای الاستیک بوده و شامل شبکه ای از عروق خونی، اعصاب، عروق لنفوی، فیبروبلاست و ماست سل (Mast cells) می باشد. این لایه دارای شبکه عصبی مایسنر (Meissner) می باشد که از سلول های فاقد میلین، فیبرهای سمپاتیک و پاراسمپاتیک تشکیل شده که به طور عمده ترشحات لوله گوارش و جریان خون موضعی را کنترل می کند (Hall and Gayton, 2011).



The layers of the colon wall

شکل ۱-۲) بافت های مختلف جدار روده بزرگ. دیواره ی لوله ی گوارش از داخل به خارج شامل مخاط، زیرمخاط، لایه های عضلانی و سروزی می باشد (Sleisenger and Fordtran, 2010).

### ۱-۲-۳) لایه عضلانی

این طبقه شامل الیاف عضلانی طولی و حلقوی است. الیاف طولی در سه نقطه از دیواره روده بزرگ تجمع یافته و تیا کولی ها (Teneae Coli) را تشکیل می دهند. انقباض توام عضلات طولی همراه با عضلات حلقوی موجب حرکات روده و به پیش رانده شدن محتویات کولون می گردد. چنان چه تیا ها را از روی روده ی بزرگ برداریم، چین خوردگی ها از بین رفته و طول روده ی بزرگ تا شش برابر افزایش می یابد. لایه ماهیچه ای شامل دو لایه از عضلات صاف می باشد که در یک حرکت موجی شکل منقبض می شوند. فیبرهای طولی عضلانی در لایه ی ماهیچه ای، عروق خونی، عروق لنفاوی و اصلی ترین عصب سیستم گوارشی دیده می شود. این عصب، شبکه عصبی مزانتریک یا اورباخ (Auerbach) نامیده می شود و به طور عمده حرکات لوله گوارش را کنترل می کند و شامل دو عصب سمپاتیک و پاراسمپاتیک می باشد (Hall and Guyton, 2011).

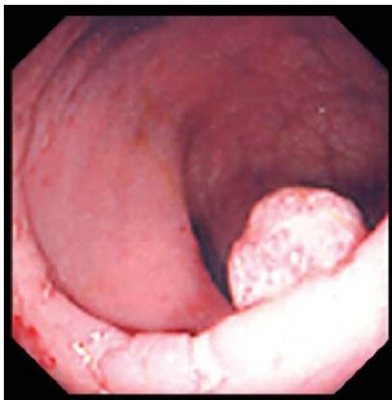
### ۱-۲-۴) صفاق (سروز)

طبقه ی سروزی همان پریتونئوم بوده که سطح خارجی روده ی بزرگ را می پوشاند و شامل بافت پیوندی غنی از رگهای خونی و لنفاوی و بافت چربی است که یک اپی تلیوم سنگفرش ساده (مزوتلیوم) آن را پوشانده است. در حفره شکمی این پرده پریتونئوم

نامیده می‌شود. صفاق بخشی از پری تونوم را تشکیل می‌دهد که بزرگترین غشای صفاقی در بدن به حساب می‌آید (Thibodeau, 2002).

## ۲-۱ سرطان روده ی بزرگ

سرطان کولون معمولاً از داخلی‌ترین لایه یعنی مخاط، به شکل پولیپ شروع می‌شود. احتمال ایجاد پولیپ در برخی افراد نسبت به سایرین، بر اساس سابقه ی خانوادگی و وجود پولیپ‌ها یا سرطان روده و افرادی که دارای زمینه وراثتی برای این سرطان می‌باشند بیشتر است (Adegboyega *et al.*, 2002). از نظر بافت‌شناسی، پولیپ‌ها به دو گروه سرطانی (آدنوما) و غیر سرطانی طبقه بندی می‌شوند. پولیپ‌های غیر سرطانی بدخیم نبوده و شامل پولیپ‌های هایپرپلاستیک، هامارتوما، تجمعات لنفوئیدی و پولیپ‌های التهابی می‌باشد. پولیپ‌های سرطانی یا آدنوما، خاصیت بدخیمی داشته و بر اساس طبقه بندی سازمان سلامت جهانی، به انواع آدنومای توبولار، توبوویلوس و ویلوس تقسیم بندی می‌شود. حدود ۷۰٪ پولیپ‌هایی که در طی کولونوسکوپی برداشته می‌شوند از نوع آدنوما می‌باشند (شکل ۱-۳) (Bond, 2000).



شکل ۱-۳) نمای آندوسکوپی یک پولیپ روده (Young *et al.*, 2011).

پولیپ‌های آدنوماتوزی معمولاً روی ساقه رشد کرده و ساختاری شبیه به قارچ ایجاد می‌کند. رشد این پولیپ‌ها بسیار آهسته بوده و ممکن است ده سال یا بیشتر طول بکشد. خطر ایجاد سرطان با توجه به افزایش اندازه ی این پولیپ در طی زمان افزایش می‌یابد. آدنومای بدخیم آدنوکارسینوما نامیده می‌شود. در مراحل اولیه با استفاده از کولونوسکوپی قابلیت جداسازی سلول‌های غیر طبیعی قبل از گسترش و ایجاد سرطان وجود دارد. در صورتی که با پیشرفت سرطان، تومور رشد کرده و به سایر بافت‌های روده وارد شده و ممکن است متاستاز داده و وارد عروق خونی شود و از این طریق سرطان را به سایر اندام‌ها

مانند ریه و کبد گسترش دهد (Balkwill *et al.*, 2005). بیش از ۹۵٪ موارد سرطان کولون از پیشرفت آدنوما ایجاد میگردند (Adegboyega *et al.*, 2002).

### ۱-۲-۱) مرحله بندی

مرحله بندی یک سیستم جهانی جهت توصیف، ارزیابی و مقایسه ی یک سرطان خاص و درمان آن می باشد. مرحله بندی در سرطان کولون به میزان گسترش و متاستاز احتمالی آن اشاره دارد.

### ۱-۲-۱-۱) سیستم مرحله بندی TNM

این روش کاربردی ترین سیستم مرحله بندی سرطان کولورکتال بوده و توسط کمیته ی مشترک سرطان آمریکا (American Joint Committee on Cancer = AJCC) طراحی شده است و به نام سیستم مرحله بندی TNM شناخته می شود. این سیستم اطلاعات کاملی درباره میزان درگیری دیواره روده و گره های لنفاوی ارائه می دهد. T (Tumor) اشاره به تومور و عمق نفوذ آن در دیواره کولون دارد. N (Node) به تعداد گره های لنفاوی درگیر مربوط می باشد. گره های لنفاوی تجمعات لوییا مانندی از سلول های سیستم ایمنی بوده که در مقابله با عفونت ها عمل می کنند. در نهایت، M (Metastasis) به متاستاز سلول های سرطانی به سایر اندام های بدن اشاره دارد (Sneha *et al.*, 2005). سرطان کولورکتال در همه اندام ها پراکنده می شود، اما معمول ترین نواحی هدف سلول های سرطانی، کبد و ریه ها می باشند. مطابق این سیستم تومورهای کولون شامل ۵ مرحله می باشند: