دانشکده علوم طبیعی

گروه زیست شناسی جانوری

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (MSc) در رشته ژنتیک

عنوان

بررسی بیان ژن CXCR4 در سرطان معده

اساتیدراهنما

دکتر محمد علی حسینپور فیضی

دکتر علی جلیلی

اساتید مشاور

دکتر فردین فتحی

دکتر محمد سعید هخامنشی

پژوهشگر

مهرنوش نیک زبان

شهریور ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحيم

تقدیم به پدر و مادر عزیز

و خواهر مهربانم

به پاس همراهی ها و

دلگرمی های بی پایانشان

به نام حضرت دوست که هر چه داریم همه از لطف اوست

حمد و سپاس بیکران به درگاه پروردگار قادر و متعالی که ذات لایزالش از لیست و لطف و عنایتش بی کران و جاویدان است. اینک که به لطف لایزال اقدس خداوندگاری دفتر تجربه ی این مرحله از زندگی را می بندم وظیفه ی خود می دانم از تمامی بزرگوارانی که مرا در انجام این پژوهش مساعدت و راهنمائی نمودند تشکر و قدردانی نمایم.

سپاس و تقدیر از محضر اساتید بزرگوار و گرامی **جناب آقای دکتر محمد علی حسینپور فیضی** و **جناب آقای دکتر علی جلیلی** که با سعه ی صدر و راهنمایی ها و دلگرمی هایشان به ما آموختند که همیشه امیدوارانه برای نیل به مقصود گام برداریم.

همچنین از مشاورین محترم جناب آقای دکتر فردین فتحی و جناب آقای دکتر محمد سعید هخانشی کمال تشکر و امتنان ویژه دارم.

از همکاری و زحمات جناب آقای دکتر فرشاد شیخ اسماعیلی و آقای دکتر بهرام نیکخو بسیار سپاسگزارم.

از مدیریت محترم گروه زیست شناسی جانوری، جناب آقای دکتر شیخ زاده و نیز از معاونت محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر موافقی و اساتید فرزانه آقایان دکتر خسرو شاهلی ، ولیزاده ، امین بخش ، موسوی و زرینی صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم .

همچنین از استاد داور جناب آقای دکتر خلج که با صبر و شکیبایی خود بنده را در بهتر به پایان رساندن این تحقیق یاری رساندند ، بسیار سپاسگزارم .

از همراهی اساتید و دوستان عزیزم در آزمایشگاه تحقیقات سلولی مولکولی و رادیو بیولوژی و ایمونولوژی بسیار قدردانی می نمایم .

از دوستان و همکلاسی های گرامیم خانم ها رجحان نژاد ، تقی زاده ، قنبریان، شیری، توفیق ، ساعدو آقایان بهرامی و احمدی ، بی نهایت تشکر می نمایم .

همچنین از جناب آقای اژدر دوست ، جناب آقای اکبرپور ، جناب آقای عابد، کارمندان کتابخانه و آموزش سپاسگزارم .

نام خانوادگی دانشجو : نیک زبان نام : مهرنوش

عنوان پایان نامه : بررسی بیان ژن CXCR4 در سرطان معده

استاد راهنما : دکتر محمدعلی حسینپور فیضی– دکتر علی جلیلی

استاد مشاور : دکتر فردین فتحی – دکتر محمد سعید هخامنشی

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: زیست شناسی گرایش: ژنتیک دانشگاه: تبریز

دانشکده: علوم طبیعی تاریخ فارغ التحصیلی: شهریور ۱۳۹۰ تعداد صفحه: ۱۵۰

واژه های کلیدی : سرطان معده ، CXCR4 ، آنالیز بیان ، ایمونوهیستوشیمی ، Real – time PCR

چکیده :

سرطان معده یکی از سرطان های شایع و یکی از فراوانترین علل مرگ در اثرسرطان است بطوریکه از لحاظ فراوانی در دنیا مقام چهارم را دارد ودومین عامل مرگ ناشی از سرطان پس ازسرطان ریه محسوب میشود. . طبق آمار سال۲۰۰۲ حدودا ۹۳۰۰۰۰ نفر مبتلا وجود دارد و تقریبا سالانه ۸۰۰۰۰۰ نفر در اثر ابتلا به آن می میرند. نرخ وقوع متوسط در ایران طی بررسی آماری از ۲۰۰۶– ۱۹۶۶ در مردان وزنان به ترتیب ۱۵/۲ و ۶/۷ به ازای هر صد هزار نفر است که بیش از دو سوم موارد در مرحله IV تشخیص داده شده اند.تا کنون بیان ژن های متعددی در سرطان های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است . مشخص شده که تغییر در الگوی بیان ژن ها با افزایش توان رشد سلولی ، مقاومت به آپوپتوز ، تسهیل متاستاز ، ایجاد نامیرائی و ایجاد محیط التهابی از عوامل زمینه ساز و پیش برنده ی سرطان ها می باشند .

بیان ژن های کموکاینی وگیرنده های آنها در رابطه با توان آن ها در افزایش رشد ، تهاجم ، منع آپوپتوز و متاستاز سلول های سرطانی به وفور مورد بررسی قرار گرفته است . دراین بین بیان کموکاین SDF-1 و

گیرنده ی کاملا اختصاصی آن CXCR4 به دلیل ایجاد توان رشد ، مهاجرت سلولی ، فعال کردن رونویسی و حتی ترجمه برخی از ژن ها در سلول های جنینی ، بنیادی ، پیش ساز ، خونی و سرطانی مورد توجه فراوان بوده است .CXCR4 یک گیرنده ی کموکاینی متصل به G-Protein است که طی دوران جنینی در homing سلول های هماتوپوئیتیک در مغز استخوان ، تشکیل رگهای خونی بزرگ ودر مهاجرت سلول های پیش ساز عصبی نقش دارد.CXCR4 در تعدادی از بافت های بالغین نیز بیان می شود. رسپتور پروتئینی فعال در لنفوسیت های خون محیطی و Unprimed T cell ها ، مونوسیت ها ، سلول های پیش ساز B ، پلاسما سل ها ،ماست سل ها ، سلول های پیش ساز +CD 34 مغز استخوان ، سلول های ماهیچه ی صاف عروق ، سلول های اندوتلیال ، سلول های اپی تلیال رنگدانه ی رتینال ، سلول های اپی تلیال آلوئولار و Intestinal، میکروگلیا ها ، نورونها و آسترو سیت ها یافت می شود .

پس از شناسائی CXCR4 به عنوان کمک گیرنده ی اتصال ویروس ایدز این گیرنده بسیار مورد توجه قرار گرفت و به دلیل ایجاد خواص تهاجمی ، مهاجرت و افزایش رشد نقش آن در سرطان های مختلف بیشتر مدنظر قرار گرفت. CXCR4 شایع ترین گیرنده ی کموکاینی بیان شده در سلول های سرطانی است .اخیرا بیان CXCR4 در ۲۳ سرطان مختلف با منشاهای مختلف گزارش شده است . ارتباط بیان این گیرنده با خواص توموری و همچنین پیشرفت مراحل توموری و به عنوان یک فاکتور پیش آگهی در برخی بدخیمی ها مانند پانکراس ، کبد و تومورهای کلورکتال مشخص شده است . در مطالعه ی حاضر سعی شده است که بیان آن در سطوح مختلف بیانی (RNA و پروتئین) و طی مراحل مختلف توموری ارزیابی شود . در مجموع بیان CXCR4 در۲۳ نمونه‌ی توموری و ۵ نمونه‌ی نرمال مربوط به حاشیه‌ی تومور با استفاده از تکنیک Real-Time PCR به صورت کمی مورد مطالعه قرار گرفتند و ژن بتااکتین به

عنوانکنترل داخلی بکار رفت.همچنین بیان پروتئین CXCR4 در ۲۷ نمونه ی سرطانی و۱۵نمونه ی پیش سرطانی توسط ایمونوهیستوشیمی ارزیابی شد . نتایج به دست آمده نشان دادند که : ۱- بیان CXCR4 در تومورها نسبت به حاشیه تومور افزایش می یابد . ۲- بیان این ژن در Stage های توموری پیشرفته تر ، افزایش بیشتری دارد. ۳- بیان CXCR4 در مراحل پیش سرطانی از متاپلازی به دیس پلازی و نهایتا به تومور افزایش می یابد در حالیکه در نمونه های آتروفی بیان بسیار اندکی دارد .٤- بیان این ژن در سل لاین سرطانی AGS توسط تیمار با تالیدومایید کاهش می یابد.

در مجموع یافته های فوق و سایر مطالعات پیشنهاد می کنند این گیرنده می تواند کاندید مناسبی جهت تعیین پیش آگهی تومورو گزینه ی مناسبی برای درمان باشد .

فصل اول : بررسی منابع

۱-۱-مقدمه ۱

۱-۲-آناتومی معده ۲

۱-۳-ساختار دیواره معده ۳

۱-٤-اپیدمیولوژی سرطان معده ۵

۱-۵-بقاء ٦

۱-٦-شیوع ۷

۱-۷-اتیولوژی و فاکتورهای خطر ۸

۱-۷-۱-رژیم غذائی ۸

۱-۷-۲-تنباکو ۹

۱-۷-۳-هلیکوباکترپیلوری ۹

۱-۷-٤-سرطان معده خانوادگی ۱۰

۱-۸-تشخیص اولیه ۱۰

۱-۸-۱-غربالگری ۱۰

۱-۹-پاتوبیولوژی ۱۱

۱-۹-۱-هیستوژنز ۱۱

۱-۹-۲-دیسپلازی ۱۲

۱-۹-۳-انواع هیستولوژیک ۱۳

۱-۹-۳-۱-هیستوتایپ ها ۱۳

۱-۹-۳-۲-سرطان معده اولیه ۱۵

۱-۹-٤-Grading ۱٦

۱-۹-٤-۱-کاربردهای بالینی ۱٦

۱-۹-٤-۲-تومورهای نادر ۱۷

۱-۱۰-تشخیص ۱۷

۱-۱۰-۱-علایم ونشانه ها ۱۷

۱-۱۰-۲-مارکرهای بیولوژیک ۱۸

۱-۱۱-Staging ۱۹

۱-۱۱-۱-معیارهای دسته بندی مراحل سرطان ۱۹

۱-۱۱-۲-سیستمTNM ۱۹

۱-۱۱-۲-۱-گروه بندیTNM براساس AJCC UICC ۲۱

۱-۱۲- فاکتورهای پیش آگهی بیولوژیک ۲۱

۱-۱۳-کموکاین ها وگیرنده های کموکاینی ۲۲
۱-۱۳-۱- G-Protein ها ۲۳
۱-۱۳-۱-۱-فعال شدن آدنیلیل سیکلاز ۲٤
۱-۱۳-۱-۲-فعال شدن فسفولیپازC ۲٦
۱-۱۳-۱-۳-مسیرPI3K/AKT ۲۹
۱-۱۳-۱-٤-مسیرRas/MAP kinase ۳۰
۱-۱۳-۱-٥-مسیرmTOR ۳۲
۱-۱٤-CXCR4 ۳٤
۱-۱٤-۱-ژنCXCR4 ۳٥
۱-۱٤-۲-ایزوفرم های CXCR4 ۳٥
۱-۱٤-۳-ساختارCXCR4 ۳۷
۱-۱٤-٤-عملکرد CXCR4 در دوران جنینی ۳۸
۱-۱٤-٥-عملکرد CXCR4 پس از دوران جنینی ٤۰
۱-۱٤-٦-لیگاند CXCL12/SDF-1 ٤۱
۱-۱٥-تنظیم بیان CXCR4 ٤۱
۱-۱٥-۱-تنظیم بیان CXCR4 در سطح رونویسی ٤۲
۱-۱٥-۲-تنظیم بیان پروتئین CXCR4 ٤۲
۱-۱٥-۲-۱-گلیکوزیلاسیون ٤۲
۱-۱٥-۲-۲-سولفاسیون ٤۳
۱-۱٥-۳-الیگومریزاسیون ٤۳
۱-۱٦-تنظیم سیگنالینگ CXCR4 ٤٤
۱-۱٦-۱-اتصالSDF-1 ٤٤
۱-۱٦-۲-G-Protein Signaling ٤٦
۱-۱٦-۳-سیگنالینگ مستقل از G-Protein ٤۷
۱-۱٦-٤-تنظیم سیگنالینگ ٤۸
۱-۱٦-٤-۱-Desensitization ٤۸
۱-۱٦-٤-۲-اینترنالیزاسیون و تجزیه ٥۰
۱-۱۷-نقص CXCR4 در بیماری ها ٥۲
۱-۱۷-۱-سندرم WHIM ٥۲
۱-۱۷-۲-CXCR4 و سرطان ٥۳
۱-۱۷-۲-۱-CXCR4 به عنوان هدف درمانی ٥۷

فصل دوم : مواد و روش ها

۲-۱- بررسی بیان CXCR4توسط RT-PCR و Real Time PCR ٦٠

۲-۱-۱- نمونه گیری از انسان ٦٠

۲-۱-۲- استخراج RNA ی کل از بافت ٦٠

۲-۱-۳- بررسی کمی وکیفی RNA ی استخراج شده ٦٢

۲-۱-۳-۱- اسپکتروفتومتری ٦٣

۲-۱-۳-۲ الکتروفورز ژن آگارز ٦٤

۲-۱-٤- واکنش رونویسی معکوس ، RT ٦٩

۲-۱-٥- واکنش PCR ٧٠

۲-۱-٥-۱- طراحی پرایمر ٧٠

۲-۱-٥-۲- آماده سازی پرایمرهای PCR ٧٣

۲-۱-٦- واکنش Real Time ٧٣

۲-۱-٦-۱- شرایط اپتیمم (دمایی و غلظتی) در Real Time ٧٥

۲-۱-٦-۲- آنالیز کمی میزان بیان CXCR4بین دو گروه توموری و حاشیه توموری ٧٥

۲-۲- بررسی بیان ژن در سطح پروتئین در نمونه های بافت ٧٨

۲-۲-۱- نمونه های بافت انسانی مورد استفاده در ایمونوهیستوشیمی ٧٨

۲-۲-۲- تهیه لام های سیلانیزه ٧٩

۲-۲-۳- تهیه برش های بافتی ٨١

۲-۲-٤- پارافین زدایی و آبدهی ٨١

۲-۲-٥- بازیابی آنتی ژن ٨١

۲-۲-٦- مهار فعالیت پراکسیداز درون زاد ٨٢

۲-۲-۷- شستشو با بافر ٨٣

۲-۲-۸- مسدود کردن اتصالات غیراختاصی ٨٤

۲-۲-۹- انکوباسیون با آنتی بادی اولیه ٨٤

۲-۲-۱۰- تیمار با آنتی بادی ثانویه ٨٥

۲-۲-۱۱- تیمار با Streptavidin HRP ٨٦

۲-۲-۱۲- واکنش کروموژن ٨٦

۲-۲-۱۳- رنگ آمیزی هسته توسط هماتوکسیلین مایر ٨٧

۲-۲-۱٤- چسباندن لامل ٨٧

۲-۳- بررسی بیان ژن CXCR4 در سل لاین سرطان معده AGS ٨٧

۲-۳-۱- وسایل مورد نیاز کشت سلولی ٨٨

۲-۳-۲- دستگاههای مورد استفاده در کشت سلولی ٨٩

۲-۳-۳- تهیه محیط کشت RPMI ۹۱
۲-۳-٤- سل لاین AGS ۹۲
۲-۳-٥- دفریز سلول های AGS ۹۲
۲-۳-٦- پاساژ سلولی ۹۳
۲-۳-۷- شمارش سلولی ۹٤
۲-۳-۸- تیمار سلول ها با تالیدومایید ۹٤
۲-۳-۸-۱- طرز تهیه محلول تالیدومایید ۹٥
۲-۳-۹- MTT assay ۹٥
۲-۳-۱۰- بررسی اثر تالیدومایید بر بیان پروتئین CXCR4 توسط ICC ۹٦
۲-۳-۱۱- بررسی اثر تالیدومایید بر بیان ژن CXCR4 ۹۷

فصل سوم : نتایج و بحث

۳-۱- نتایج ۱۰۱
۳-۱-۱- توصیف نمونه های انسانی ۱۰۱
۳-۱-۱-۱- نمونه های تازه مورد استفاده در آنالیز کمی بیان ۱۰۱
۳-۱-۱-۲- نمونه های پارافینه مورد استفاده در ایمونوهیستوشیمی ۱۰۳
۳-۱-۲- نتایج آنالیز کمی بیان با Real Time PCR ۱۰٤
۳-۱-۲-۱- تعیین کیفیت و کمیت RNA استخراج شده ۱۰٤
۳-۱-۲-۲- بهینه سازی واکنش PCR ۱۰٦
۳-۱-۲-۳- بیان ژن CXCR4 در نمونه های توموری و حاشیه توموری ۱۰۹
۳-۱-۲-٤- نتایج بدست آمده از آنالیز بیان نمونه های توموری و حاشیه توموری ۱۱۱
۳-۱-۲-٥- نتایج حاصل از محاسبات تغییر میزان بیان CXCR4 به روش Pfaffl ۱۱٥
۳-۱-۳- نتایج حاصل از ایمونوهیستوشیمی ۱۱٦
۳-۱-۳-۱- بهینه سازی لام های سیلانیزه و ایمونوهیستوشیمی ۱۱٦
۳-۱-۳-۲- بیان پروتئین CXCR4 در نمونه های توموری و پیش توموری و آتروفی ۱۱۸
۳-۱-۳-۳- نتایج بدست آمده پس از ارزیابی پاتولوژیست ۱۲۱
۳-۱-۳-٤- آنالیز داده ها ۱۲٤
۳-۱-٤- نتایج حاصل از تیمار سل لاین سرطانی معده ، AGS با تالیدومایید ۱۲٥
۳-۱-٤-۱- تاثیر تالیدومایید بر بیان ژن CXCR4 در سلول های AGS ۱۲٥
۳-۱-٤-۲- تاثیر تالیدومایید بر بیان پروتئین CXCR4 در سلول های AGS ۱۲٦
۳-۱-٤-۳- اثر سمیت تالیدومایید بر زیستایی سلول های AGS ۱۳۰
۳-۲- بحث ۱۳۱

۳-۲-۱- اهمیت مطالعه سرطان معده و انتخاب CXCR4 ۱۳۱
۳-۲-۲- تفسیر نتایج بدست آمده ۱۳۳
۳-۳- پیشنهادات ۱۳۹

فهرست منابع ۱٤۰
چکیده انگلیسی
فهرست جداول و نمودارها
جدول ۳-۱-مشخصات بیماران مبتلا به تومور که نمونه هایشان توسط Real Time PCR ارزیابی شد. ۱۰۲
جدول ۳-۲- مشخصات بیماران مبتلا به تومور که نمونه هایشان توسط ایمونوهیستوشیمی ارزیابی شد. ۱۰۳
جدول ۳-۳ پارامترهای مورد استفاده در بررسی میزان بیان CXCR4در دو گروه حاشیه تومور وتوموری و stage های مختلف ۱۱٤
جدول ۳-٤- پانل زمانی انکوباسیون لام ها با سیلان و شستشو با آب مقطر ۱۱۷
جدول ۳-۵- نتایج ارزیابی پاتولوژیست ۱۲۲
جدول ۳-٦- میزان جذب (OD) تیمار با غلظت های مختلف تالیدومایدپس از ۲٤ ساعت در آزمون MTT ۱۳۰
نمودار۳-۱- مقایسه ی الگوی نهائی بیان CXCR4 (سیتوپلاسمی و هسته ای) در ارتباط با بقا ۱۲۳

فهرست شکل ها
فصل اول: بررسی منابع
شکل ۱-۱ - اتصال G-Protein به گیرنده و نحوه ی فعال شدن آن توسط اتصال لیگاند ۲٤
شکل ۱ -۲ -نحوه ی فعال شدن رونویسی هسته ای در پاسخ به فعال شدن GPCR ۲٦
شکل ۱ -۳ - نحوه ی فعال شدن مسیر اینوزیتول فسفولیپید در پاسخ به فعال شدن GPCR ۲۷
شکل ۱ -٤- شمای کلی مسیرهای سیگنالینگ سلولی فعال شده توسط پیام های خارج سلولی ۲۸
شکل ۱-۵ - تنظیم مسیر mTOR توسط شرایط مختلف سلولی ۳٤
شکل ۱-٦- مکانیسم ایجاد دو واریانت CXCR4 ۳۷
شکل ۱-۷- ساختار CXCR4 و توالی آمینو اسیدی آن ۳۸
شکل ۱- ۸-اتصال βarrestin به دومین C ترمینال CXCR4 فعال شده و ایجاد داربست برای اجزاء مختلف آبشار سیگنالینگ ٤۸
شکل ۱-۹-مسیرهای انتقال پیام و تنظیم CXCR4 ۵۱
فصل دوم: مواد و روش‌ها
شکل۲- ۱- محل Ct ها و خط Threshold در نمودار تغیرات میزان نشر فلئورسانس متناسب با هر سیکل ۷٦
شکل۲-۲ محاسبات مرتبط با بررسی میزان بیان ۷۷

شکل۲-۳- : انکوباتور CO_2 ، memmert آلمان ۹۱

فصل سوم : نتایج و بحث

شکل ۳-۱- مقایسه کیفیت RNAهای استخراجی بر روی ژل آگارز ۱۰۵
شکل ۳-۲-گرادیان PCR برای CXCR4 ۱۰۶
شکل ۳-۳- Touch Down PCR برای تقویت باند های CXCR4 ۱۰۷
شکل ۳-٤- Real Time PCR برای تعیین تعداد مناسب سیکل ها ۱۰۷
شکل ۳-۵- تعیین مقدار مناسب الگو و پرایمر برای CXCR4 ۱۰۸-۱۰۹
شکل ۳-٦- صفحه کاری نرم افزار Rotor-Gene پس از رسم منحنی استاندارد برای تکثیرCXCR4 ۱۱۱
شکل ۳-۷- صفحه کاری نرم افزار Rotor-Gene پس از رسم منحنی استاندارد برای تکثیرβactin ۱۱۲
شکل ۳-۸- پنجره Quant Results ، معرف مقدار میانگین(CT(Rep Ctدر دو گروه حاشیه و توموری برای قطعه β-Actin ۱۱۳
شکل ۳-۹- نتایج تعیین پارامترهای مورد استفاده در بررسی میزان کمی بیان CXCR4 در دو گروه حاشیه و توموری ۱۱٤
شکل ۳-۱۰- رنگامیزی بافت معده با آنتی بادی ایزوتایپ (کنترل منفی) ۱۱۹
شکل ۳-۱۱- بیان بسیار ضعیفCXCR4در نمونه آتروفی ۱۱۹
شکل ۳-۱۲- بیان CXCR4 در نمونه ی متاپلازی ۱۲۰
شکل ۳-۱۳-بیان CXCR4 در متاپلازی در مقایسه با سلول های سالم ۱۲۰
شکل ۳-۱٤- بیان بسیار بالای CXCR4 در آدنوکارسینومای اینتستینال ۱۲۱
شکل ۳-۱۵- کاهش بیان CXCR4 توسط تالیدومایدد در سل لاین سرطانی معده، AGS ۱۲٦
شکل ۳-۱٦- رنگامیزی سلول های AGS با آنتی بادی کنترل منفی ۱۲۷
شکل ۳-۱۷- ایمونوسیتوشیمی سلول های AGS تیمار نشده با تالیدومایدد ۱۲۸
شکل ۳-۱۸- ایمونوسیتوشیمی سلول های AGS تیمار شده با تالیدومایدMμ ۱ ۱۲۸
شکل ۳-۱۹- ایمونوسیتوشیمی سلول های AGS تیمار شده با تالیدومایدد μM ۱۰ ۱۲۹
شکل ۳-۲۰- ایمونوسیتوشیمی سلول های AGS تیمار شده با تالیدومایدد μM ۱۰۰ ۱۲۹

فصل اول

بررسی منابع

۱-۱- مقدمه :

سرطان دومین علت مرگ ومیر پس از بیماری های قلبی در کل جهان است . تغییر در شرایط سلولی مانند تجمع تغییرات ژنومی ، تغییر در بیان ژن ها و تغییر محیط بستره ی سلول ها ، به عنوان عوامل مستعدکننده و ایجاد کننده سرطان محسوب می شوند . رشد لجام گسیخته ی سلولهای سرطانی نه تنها در محل اولیه با مکانیسم تخریب ، تهاجم و اشغال فضای موجود سبب بروز علائم گردیده بلکه با پیشرفت از طریق خون ، دستگاه لنفاوی و درگیری سایر اعضا (متاستاز) سبب ایجاد نشانه های خاص در اندام های درگیر می شود .

تا کنون بیان ژن های متعددی در سرطان های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است . مشخص شده که تغییر در الگوی بیان ژن ها با افزایش توان رشد سلولی ، مقاومت به آپوپتوز ، تسهیل متاستاز ، ایجادنامیرائی و ایجاد محیط التهابی از عوامل زمینه ساز و پیش برنده ی سرطان ها می باشند .

بیان ژن های کموکاینی وگیرنده های آنها در رابطه با توان آن ها در افزایش رشد ، تهاجم ، منع آپوپتوز و متاستاز سلول های سرطانی به وفور مورد بررسی قرار گرفته است . دراین بین بیان کموکاین SDF-1 و گیرنده ی کاملا اختصاصی آن CXCR4 به دلیل ایجاد توان رشد ، مهاجرت سلولی ، فعال کردن رونویسی و حتی ترجمه برخی از ژن ها در سلول های جنینی ، بنیادی ، پیش ساز ، خونی و سرطانی مورد توجه فراوان بوده است . در مطالعه ی حاضر سعی شده است که بیان این گیرنده با دقت بیشتری در سرطان معده و مراحل مختلف آن مورد ارزیابی قرار گیرد .

۱-۲- آناتومی معده :

معده یک اندام **J** شکل کیسه ای با حجم ۱۵۰۰-۱۲۰۰ میلی لیتر است که به صورت اتساعی در بخش بالایی لوله ی گوارش اولیه تشکیل می شود . این اندام بعد از مری و قبل از دوازدهه ی روده ی کوچک و در فضای بالایی شکم قرار دارد و تحدب آن به سمت چپ و از محل اتصال به مری به نام خم بزرگ آغاز می شود . تقعر آن در سمت راست و به نام خم کوچک است وطول آن ۱/٤ خم بزرگ است . کل معده با صفاقی پوشیده می شود که Omentum نام دارد **(۱)**.

این اندام از بالا به پایین به ۵ بخش تقسیم می شود :

۱. کاردیا[1] : بخش کوچک و نامشخصی که به فاصله ی کوتاهی از محل اتصال به مری واقع شده است .

۲. فوندوس[2] : بخش گنبدی شکل و برآمده که در سمت چپ کاردیا قرار دارد.

۳. جسم معده یا Body :این بخش ۲/۳ معده را تشکیل می دهد واز فوندوس آغاز شده و بیشتر بخش فوقانی را در برمی گیرد جایی که معده به سمت راست رفته و فرم **J** را تشکیل می دهد .

٤- آنتروم[3] : ۱/۳ انتهایی معده ، این بخش به صورت افقی قرار می گیرد و از جسم معده تا دریچه ی پیلور ادامه دارد .

۵- دریچه ی پیلور : دورترین بخش لوله ای معده که کاملا توسط لایه های ماهیچه ای ضخیم که عبور غذا را به دوازدهه کنترل می کنند احاطه شده است **(۱)**.

[1] cardia
[2] fondus
[3] antrum

۱-۳- ساختار دیواره معده :

دیواره ی معده از مخاط ، زیر مخاط ، ماهیچه و سروز تشکیل شده است . مخاط واجد سلول های اپی تلیال ، غدد و بستره ی بین آن ها به نام لامیناپروپریا [4]و ماهیچه های مخاطی می باشد . بخش زیر مخاط شامل شبکه ی عصبی مایسنر ، سرخرگ ها ، سیاهرگ ها ، فیبرهای کلاژن و مویرگ ها است . لایه ی ماهیچه ای شامل سه دسته ماهیچه به ترتیب از بخش داخلی به بیرون به نام ماهیچه های مورب ، ماهیچه های حلقوی و ماهیچه های طولی است ، همچنین در این بخش شبکه ی عصبی مینتریک وجود دارد . در بخش سروز یا همان صفاق احشایی سلول های چربی و سلول های صفاقی وجود دارند .

ظاهر بافت شناسی مخاط معده در بخش های مختلف آناتومیک آن متفاوت است . سطح ، واجد اپی تلیوم ستونی ترشح کننده ی موسین است که به درون حفره های متعددی گسترده می شود . در این حالت میلیون ها غده ی لوله ای منشعب دیده می شود . سه نوع غده در معده وجود دارد : ۱- غدد کاردیایی که در کاردیا واقع شده اند ، ۲- غدد جداری oxyntic در Body و فوندوس معده قرار دارد ، ۳- غدد پیلوریک نیزدرآنتروم و کانال پیلوری واقع شده اند .

غدد معده عناصر اصلی ترشح کننده ی این اندام هستند که به صورت متراکم درمخاط قرار گرفته و از طریق یک بخش باریک به نام گردن غده به قاعده ی حفره ها [5]وارد می شود .غدد معده حاوی ۵ نوع سلول هستند :

۱-زیموژن یا سلول های اصلی : این سلول ها در نیمه ی پایینی غدد معده قرار می گیرند و به شکل هرمی و بازوفیلی هستند که توسط گرانول های زیموژن حاوی پپسینوژن پرشده اند .

[4] Lamina propria
[5] crypts

۲- سلول های جداری یا oxyntic : این سلول ها نیمه ی بالایی غدد معده را در برمی گیرند و به حالت بیضی یا هرمی ائوزینوفیلی مشاهده می شوند که اسید کلریدریک ترشح می کنند . این سلول ها حاوی تعداد زیادی میتوکندری هستند . همچنین این سلول ها برای جذب روده ای ویتامین B12 ، فاکتوری به نام فاکتور داخلی ترشح می کنند . ۳- سلول های مخاط گردنه[6] : این سلول های بازوفیلیک ترشح کننده ی مخاط بین سلول های جداری در گردن غده ی معده پخش شده اند . ٤- سلول های اندوکرین : این سلول ها در غدد معده بیشتربین سلول های زیموژن و غشای پایه قرار می گیرند این سلول ها کوچک ، گرد یا هرمی شکل اند که با گرانول های رنگ شونده توسط نمک های نقره پر شده اند . این سلول ها در بین غدد پیلوری پراکنده اند و حاوی آمین های بیوژنیک مانند سروتونین و هورمون های پلی پپتیدی همانند گاسترین و سوماتواستاتین می باشند . به طور کلی غدد پیلوری انشعاب های گردی دارند که به حفره های عمیق تر از سایر بخش های معده منتهی می شوند . سلول های اندوکرین این غده ها سلول های G می باشند که گاسترین ترشح می کنند .

غدد کاردیایی از سلول هایی که مشابه سلول های گردن مخاط و غدد پیلوری هستند تشکیل شده است به استثنای سلول های G (۱).

[6] Mucos neck cell

۱-٤- اپیدمیولوژی سرطان معده :

سرطان معده یکی از سرطان های شایع و یکی از فراوانترین علل مرگ در اثرسرطان است بطوریکه از لحاظ فراوانی در دنیا مقام چهارم را دارد ودومین عامل مرگ ناشی از سرطان پس ازسرطان ریه محسوب میشود **(۲)**.

طبق آمار سال۲۰۰۲ حدودا ۹۳۰۰۰۰ نفر مبتلا وجود دارد و تقریبا سالانه ۸۰۰۰۰۰ نفر در اثر ابتلا به آن می میرند. نرخ وقوع متوسط در ایران طی بررسی آماری از ۲۰۰٦- ۱۹٦٦ در مردان وزنان به ترتیب ۱۵/۲و ٦/۷ به ازای هر صد هزار نفر است که بیش از دو سوم موارد در مرحله IV تشخیص داده شده اند**(٤،۳)**.تنوع جغرافیایی قابل توجهی در شیوع این سرطان وجود دارد. این بیماری درکره شایعترین سرطان است و٪ ۲۰/۸ ازبدخیمی ها را تشکیل می دهد.نرخ شیوع سالانه آن در شرق و جنوب اروپا بالاتر از سایر نقاط ان است.مهمترین شاخصه اپیدمیولوژیک این سرطان کاهش شدید وقوع آن طی پنجاه سال اخیر در کشورهای ثروتمند است. بطور مثال در ایتالیا یک روند نزولی پایدارهم در وقوع وهم در مرگ ناشی از آن ، در هر دو جنس دیده میشود. قابل ذکر است که این کاهش ابتدائا در مردان رده سنی ۵۵ سال رخ داده است.کاهش کشندگی در یک نرخ نسبتا سریعتر از نرخ شیوع صورت گرفته است. روندهای مشابهی در بسیاری از کشورها مشاهده میشود **(۵)**. برخلاف روند کاهشی کلی، بروز سرطان کاردیای معده که در برخی مناطق شایع است افزایش یافته است. هم چنین برخلاف افزایش سرطانهای پروکسیمال در غرب ، تومورهای دیستال در ژاپن فراوانتر هستند. بهرحال ، حتی در ژاپن هم درصد تومورهای پروکسیمال معده در بین مردان نیز افزایش یافته است. همچنین پیش آگهی بهتری در نوع intestinal در مناطقی مانند ژاپن که نرخ وقوع کلی این بدخیمی بالاتر است وجود دارد. کاهش میزان وقوع نوع