بسم الله الرحمن الرحيم

**مدیریت تحصیلات تکمیلی**

**دانشکده علوم پایه**

**گروه زیست شناسی**

پایان نامه جهت اخذ کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی–ژنتیک

# بررسی بیان ژن *سایکلین D1* در بیماران مبتلا به سرطان مری

**اساتید راهنما :**

دکتر غلامرضا مطلب

**اساتید مشاور :**

دکتر محسن نجیمی

دکتر شهلا نجفی

**نگارش :**

نصرت کشته گر

**آبان ماه ۹۳**

با درود فراوان به روح پر فتوح

پدر عزیزم، پر بهاترین گنج های عالم

عزیزی که محبت را به من آموخت و نهال وفاداری، اخلاص و گذشت را در دلم کاشت. با وجودش چون خورشیدی پر مهر همواره به قلبم روشنایی و گرمی بخشید و راهنما، تکیه گاه و مشوق اصلی من در راه تحصیل بوده است.

**و تقدیم به:**

**مادر بزرگوارم:**

که از کلامش علم و دانش آموختم، و از نگاهش عشق را احساس کردم و در گام هایش صلابت و استواری را معنا کردم و از وجودش انسانیت را یافتم.

و تقدیم به همه کسانی که دوستشان دارم. بخصوص عزیزانم محمد، مهسا و مهیا.

## سپاسگذاری:

سپاس خداوند یکتا را که به من توفیق تحصیل علم را عطا فرمود و کسانی را راهنمایم قرار داد تا قدری قدرت تمیز حقایق علمی واجتماعی را بیابم.

تقدیر و تشکر مخصوص من از استاد گرامی **جناب آقای دکتر مطلب** در تمام مراحل کار این پروژه با وجود مشقات زیاد و شلوغی کار خودشان از هیچ کمکی در این زمینه در حق من کوتاهی و دریغ نکردند و به صراحت باید گفت بدون همکاری و هم دلی ایشان امکان پذیر نبود. همچنین لازم می دانم از زحمات بی شائبه اساتید ارجمندم در طول دوران تحصیل تشکر نمایم که ما را به تحصیل علم و دانش ترغیب و تشویق کردند، صمیمانه تقدیر و تشکر می نمایم.

در پایان از دوستان عزیزم که طی این مدت با شکیبایی تام از ابراز محبت و همکاری دریغ ننموده اند و به عناوین مختلف یار و یاورم بودند سپاسگذارم.

## چکیده

سرطان مری ششمین سرطان مرگ آور و هشتمین سرطان شایع دنیا محسوب می شود. سالانه ۳۸۶۰۰۰ نفردر سراسر جهان در اثر ابتلا به این سرطان جان خود را از دست می دهند (۱). در ایران سالیانه حدود ۵۱۰۰۰ مورد جدید سرطان رخ می دهد که بیشترین عضو درگیر از هر دو جنس دستگاه گوارش می باشد (۳۸٪) که حدود ۶۵۰۰ مورد آن سرطان مری است (۲). طی مطالعات مختلف اعتیاد به تنباکو و الکل و همچنین مصرف کم میوه و سبزیجات از مهمترین ریسک فاکتورهای محیطی ابتلا به این سرطان معرفی شده اند (۳-۱۱). سرطان مری در مناطق جغرافیایی مختلفی از جمله نواحی شمالی ایران شیوع زیادی دارد (۱۲). شیوع بالای ESCC در این مناطق جغرافیایی، وجود یک ریسک فاکتور محیطی مشترک و یا حضور الل های مستعد کننده ی مشترک میان این جمعیت ها را نشان می دهد. علاوه بر وجود این مناطق با شیوع بالا، مشاهده ی خانواده هایی که به صورت فامیلی مبتلا به سرطان مری شده اند نیز تاکید کننده ی دخالت عوامل ژنتیکی در ایجاد استعداد ابتلا به سرطان مری می باشد. مسلم است که سرطان مری نیز همانند سایر سرطان ها اتیولوژی بسیار پیچیده ای داشته و همواره می بایست علاوه بر توجه به نقش عوامل ژنتیکی مختلف و تاثیر ژن ها و جهش ها بر روی هم، به بر همکنش این عوامل ژنتیکی با فاکتورهای محیطی توجه نمود. سرطان مری با حدود۳۸۶۰۰۰ مرگ و میر در سال ششمین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان است این سرطان به انواع گوناگونی تقسیم می‌شودکه دو نوع کارسینوم سلول سنگفرشی و آدنوکارسینوم مری آن بسیار رایج است. ناهنجاریهای ژنتیکی مانند بیان بیش از حد ژنهای خاصی مثل سایکلین D۱ در افزایش خطرسرطان مری نقش دارد. دراین تحقیق به بررسی بیان ژن سایکلین D۱ در میزان بروز سرطان مری خواهیم پرداخت. آزمایشات بر روی ۱۵ نمونه پارافینه شده که از بیماران مبتلا از مراکز مختلف درمانی کشور جمع آوری شده انجام خواهد گرفت این بررسی با استفاده از روش qPCR ارزیابی می‌شود. نتایج حاصل از آزمون های آماری نشان داد که افزایش بیان سایکلین D۱ در مبتلایان به سرطان مری تاثیر دارد.



**واژگان کلیدی**: سرطان، عوامل ژنتیکی، بیان ژن، سایکلین D۱

## فـــــــهـــــــرست مـــــــطالـــــــب

**عـنوان** **صفحه**

### فصل اول: مقدمه و کلیات


۱-۱- مقدمه: ۲

**۲-۱- کلیات: ۳**

۱-۲-۱- سایکلین D1 ۳

۲-۲-۱- نقش انکوژن ها در سرطان: ۴

۳-۲-۱- فعال شدن انکوژن ها: ۵

۴-۲-۱- اپیدمیولوژی ۶

۵-۲-۱- اتیولوژی ۶

۶-۲-۱- انواع سرطان مری: ۷

۷-۲-۱- کمربند سرطان مری ۸

۸-۲-۱- درمان ۹

۹-۲-۱- ژنتیک سرطان مری ۱۰

۱۰-۲-۱- مسیر نوترکیبی هموLوگ ترمیم DNA ۱۳


### فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده


۱-۲- مطالعات انجام گرفته روی *سایکلین*D1 ۱۵


### فصل سوم: روش تحقیق


۱-۳ مکان و زمان آزمایش : ۲۲

۲-۳ تهیه نمونه ها : ۲۲

۳-۳ مقطع گیری از نمونه ها : ۲۲

۴-۳ استخراج RNA : ۲۲

۱-۴-۳ پارافین زدایی : ۲۴

۲-۴-۳ حذف گزیلن : ۲۴

۳-۴-۳ استخراج RNA از بافت پارافین توسط کیت RNeasy ® FFPE شرکت کیاژن : ۲۵

۵-۳ تعیین کمیت و کیفیت RNA : ۲۷

۱-۵-۳ تعیین غلظت و کیفیت RNA توسط طیف سنجی نوری : ۲۸

**عنوان** **صفحه**


۲-۵-۳ طرز تهیه EDTA یک میلی مولار جهت شست و شوی کووت : ۲۹

۳-۶ الکتروفورز با ژل آگارز : ۲۹

۱-۶-۳ بافر الکتروفورز TAE10× ۳۱

۲-۶-۳ طرز تهیه Loading buffer: ۳۲

۳-۷ cDNA: ۳۳

۳-۸- انجام RT - PCR: ۳۴

۱-۸-۳ مشخصات توالی ژن *سایکلین* D1: ۳۵

۳-۸-۳ رقیق کردن آغازگرها: ۴۰

۱-۱۰-۳ رسم منحنی استاندارد: ۴۵

۲-۱۰-۳ انجام واکنش Real – Time PCR: ۴۵

۳-۱۰-۳ Threshold و مقدار CT: ۴۶

۳-۱۱- تعیین توالی محصولات PCR (Direct sequencing) ۴۷

۳-۱۲- پردازش اطلاعات و آنالیزهای آماری: ۴۷

۳-۱۳- تجزیه وتحلیل داده ها ۴۸


## فصل چهارم: نتایج و بحث


۴-۱- نمونه گیری و اطلاعات بیماران: ۵۰

۴-۲- نتایج استخراج RNA: ۵۱

۴-۲-۱- نتایج تعیین غلظت و کیفیت RNA توسط اسپکتروفتومتری: ۵۲

۴-۳- نتایج مربوط به PCR شیب دمایی: ۵۲

۴-۴- نتایج تایید سنتز (CDNA): ۵۴

۴-۵- نتایج منحنی استاندارد: ۵۶

۴-۵-۱- منحنی استاندارد ژن B-actin: ۵۶

۴-۵-۲- منحنی استاندارد ژن Cyclin D1 : ۵۶

۴-۶- نتایج واکنش Real-time PCR: ۵۸

۴-۶-۱- تکثیر ژن B-actin: ۵۸

۴-۶-۲- تکثیر ژن Cyclin D1: ۵۸

**عنوان** **صفحه**

۴-۷- نتایج آنالیز منحنی ذوب:..... ۵۹
۴-۷-۱- منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن B-actin :..... ۵۹
۴-۷-۲- آنالیز منحنی ذوب ژن B-actin :..... ۶۰
۴-۷-۳- منحنی تغییرات ذوب برحسب دمای ژن :..... ۶۰
۴-۸- بررسی منحصر به فرد بودن محصولات Real-time PCR..... ۶۲
۴-۹- نتایج آماری بدست آمده:..... ۶۲
۴-۱۰- بحث:..... ۶۳
پیشنهادات..... ۶۶
منابع..... ۶۷

## فـــــــهـرست جـــــــداول

**عنوان** **صفحه**


جدول ۱-۳- لیست اجزای کیت استخراج RNA ..... ۲۵

جدول ۲-۳- مواد و مقادیر لازم برای تهیه بافر الکتروفورزTAE10× ..... ۳۲

جدول ۳-۳- موادومقدار آنها برای درست کردن 10cc بافربارگذاری(Loading buffer) ..... ۳۲

جدول ۴-۳- مخلوط اول جهت ساخت cDNA ..... ۳۳

جدول ۵-۳- مخلوط دوم جهت ساخت cDNA ..... ۳۳

جدول ۷-۳ : میزان بهینه اجزای واکنش PCR ..... ۴۳

جدول ۶-۳:مواد لازم برای PCR ..... ۴۴

جدول۷-۳: برنامه PCR شیب دمایی برای تکثیر قطعه حاصل از پرایمر ..... ۴۴

جدول ۸-۳- مقدار مواد لازم جهت واکنشReal – Time PCRبرای پرایمر ***سایکلین D1*** ..... ۴۵

جدول ۹-۳- مقدار مواد لازم جهت واکنش Real – Time PCRبرای پرایمر بتا اکتین ..... ۴۶

جدول ۱۰-۳- شرایط دمایی و زمانی واکنش Real – Time PCR ..... ۴۶

## فـــــــــهـرست اشکال

**عنوان** **صفحه**


تصویر ۱–۱: کمربند سرطان مری از بخش های شمالی و مرکزی چین تا منطقه ی آسیای مرکزی و شمال ایران گسترش یافته است(KAMANGAR *ET AL*., 2007)..... ۹
شکل ۱-۳- دستگاه اسپکتروفتومتری(SCANDROP – ANALYTIC JENA)..... ۲۸
شکل ۲-۳ دستگاه الکتروفورز..... ۳۰
شکل ۳-۳- عکس ژل و بافر..... ۳۱
شکل ۱-۴- فراوانی (درصد) مردان و زنان شرکت کننده در مطالعه در دو گروه بیمار و کنترل..... ۵۰
شکل ۲-۴- نتایج استخراج RNA روی ژل آگارز ۱ درصد..... ۵۱
شکل ۳-۴- PCR شیب دمایی ژن *CYCLIN D1* (طول قطعه 130 BP)..... ۵۳
شکل ۴-۴- PCR شیب دمایی ژن *B-ACTIN* (طول قطعه ۱۷۰BP)..... ۵۴
شکل ۵-۴- تکثیر قطعه ۱۳۰BP مربوط به ژن *CYCLIN D1*..... ۵۵
شکل ۶-۴- تکثیر قطعه ۱۷۵ BP مربوط به ژن *B-ACTIN*..... ۵۵
شکل ۷-۴- منحنی استاندارد ژن *B-ACTIN*..... ۵۶
شکل ۸-۴- منحنی استاندارد ژن *CYCLIN D1*:..... ۵۷
شکل ۹-۴- منحنی تکثیر ژن *B-ACTIN* در این منحنی شماره سیکل در محور افقی و شدت نور فلورسانت در محور عمودی قرار می گیرد..... ۵۸
شکل ۱۰-۴- منحنی تکثیر ژن *CYCLIN D1*..... ۵۹
شکل ۱۲-۴- منحنی ذوب ژن *CYCLIN D1* هر پیک نمایانگر یک محصول PCR است..... ۶۰
شکل ۱۲-۴- منحنی ذوب ژن *B-ACTIN* هر پیک نمایانگر یک محصول PCR است..... ۶۰
شکل ۱۳-۴- تغییرات فلورسانس برحسب دما برای ژن *B-ACTIN* در این منحنی دما در محور افقی و شدت نور در محور عمودی قرار دارد..... ۶۱
شکل ۱۳-۴- تغییرات فلورسانس برحسب دما برای ژن *CYCLIN D1* در این منحنی دما در محور افقی و شدت نور در محور عمودی قرار دارد..... ۶۱
شکل۱۴-۴ مقایسه میانگین ΔCT در دو جهت سالم و بیمار..... ۶۲

# فصل اول

# مقدمه و کلیات

**۱-۱- مقدمه:**

سرطان مری با حدود ۳۸۶۰۰۰ مرگ و میر در سال، ششمین عامل مرگ ناشی از سرطان در جهان است. میزان مرگ و میر ناشی از سرطان مری در سال، از حدود ۳ در $10^5$ نفر در سفید پوستان ایالت متحده امریکا تا بیش از ۱۰۰ در $10^5$ نفر در سال در برخی از نواحی چین متغیر است. این سرطان به انواع گوناگونی تقسیم می شود که دو نوع کارسینوم سلول سنگفرشی مری و آدنوکارسینوم مری آن بسیار رایج است (Kamangar *et al.*, 2007). اگرچه اپیدمیولوژی Esophageal Adenocarcinoma و Esophageal Squamous Cell Carcinoma با هم متفاوتند اما پیش آگهی هر دو بسیار ضعیف است، به نحوی که بقای پنج ساله بیماران ۱۰ تا ۱۳ درصد گزارش شده است (Sampliner *et al.*, 2009). در مطالعات انجام گرفته در زمینه بروز EAC در ایالات متحده آمریکا، مشخص شده است در حالی که تا سال ۱۹۵۰ حتی از وجود EAC اطلاعی در دست نبوده است در سال ۲۰۰۰ نرخ بروز آن از سایر سرطان‌ها پیشی گرفته است. شاید بتوان این افزایش چشمگیر در EAC را توسط افزایش قابل توجه در مبتلایان به مری بارت (Barrett's esophagus)توضیح داد. آمار بدست آمده در ایالت متحده امریکا حاکی از رشد ۴۶۰ درصدی در مردان سفید پوست و ۲۳۵ درصدی در زنان سفید پوست بین سالهای ۱۹۷۵ تا ۲۰۰۴ می-باشد(Demeester, 2009). در سال ۲۰۰۹ در ایالت متحده آمریکاEAC دو سوم موارد سرطان مری را به خود اختصاص داده است(Xu, 2009).این در حالی است که در کشور های شرق آسیا و آسیای مرکزی از جمله ایران، ESCC رایج‌تر است. مطالعات انجام شده در ایران نشان دهنده میزان بالای خطر ابتلا به سرطان مری در نواحی ساحلی دریای خزر (شمال ایران) است. همچنین مطالعات سال ۲۰۰۸ که در استان کرمان انجام گرفته است بیان‌گر افزایش ۱۱ درصدی خطر ابتلا به EAC در سال است. در حالی که خطر ابتلا به ESCC کم و بیش ثابت است (حقدوست و همکاران ، ۲۰۰۸).

در بسیاری از موارد دگرگونی های ژنتیکی معینی به طور مشترک در EAC و ESCC مشاهده

شده است. اما در برخی از موارد بیان مکرر و نابه‌جای ژنها در یکی از انواع سرطان مری بیش از نوع دیگر ذکر شده است. بیان ژن های تغییر یافته اغلب با عامل های خطر سرطان مری ارتباط نزدیکی دارد (Paulson *et al*., 2008 ، نوری ۲۰۰۹)

پروتئین *سایکلین D1* نقش حیاتی در پیشرفت چرخه سلولی در مرحله G1 دارد. بیان بیش از حد ژن *سایکلین D1* در ESCC در ۲۳ تا ۷۳ درصد از نمونه ها گزارش شده است. افزایش بیان *سایکلین D1* در مری بارت با افزایش خطر EAC همراه است. افزایش بیان *سایکلین D1* درEAC به ویژه در ضایعات نوع روده‌ای رایج‌تر است (نوری ، ۲۰۰۹).

از آنجا که تاکنون هیچ تحقیق و پژوهشی در کشور در مورد ژن *سایکلین D1* در بیماران مبتلا به سرطان مری با تکنیک Reverse Transcriptase-qPCR صورت نگرفته، در این تحقیق به سوال ذیل پاسخ داده خواهد شد. آیا ژن *سایکلین D1* در بیماران مبتلا به سرطان مری افزایش بیان نشان می دهد؟

## ۲-۱- کلیات:

### ۱-۲-۱- سایکلین D1

*سایکلین D1* پروتئینی ۴۵ کیلودالتونی است و به وسیله ژن CCND1، واقع بر کروموزوم q1113 کد می‌گردد (Das *et al*., 2011). در طول مراحل مختلف چرخه سلولی ($M\rightarrow {}_2S\rightarrow G\rightarrow {}_1G$) *سایکلین D1* بخشی از سیستم مولکولی است که در تنظیم عبور چرخه سلولی از مرحله ${}_1G$ به S (نقطه بازرسی ${}_1G/S$) نقش دارد(Motta Rda *et al*., 2009; Das *et al*., 2011). به طوری که این پروتئین بعد از تولید مجموعه‌هایی را با CDK4 و CDK6 تشکیل داده، سبب فسفوریلاسیون پروتئین رتینوبلاستوما (RB) می‌شود. با فسفریله شدن RB مهار فعالیت عامل رونویسی ${}_2F$E برداشته شده و سلول وارد مرحله S می‌شود برخلاف عملکرد طبیعی *سایکلین D1* به عنوان یک

پروتئین کلیدی و تنظیم‌کننده‌ای مثبت بر پیشرفت منظم چرخه سلولی(Das *et al*., 2011 ; Sousa *et al*., 2009; Motta Rda *et al*., 2009)، بروز بیش از حد آن سبب کوتاه شدن مرحله G۱ و وابستگی کمتر سلول به عوامل رشد می‌گردد(Das *et al*., 2011). چنین شرایطی منجر به از دست رفتن کنترل طبیعی چرخه سلولی و به تبع آن تکثیر (پرولیفراسیون) سلولی کنترل نشده می‌شود (Das *et al*., 2011; Huang *t al*., 2012; Wilkey *et al*., 2011).

با توجه به آن که تکثیر کنترل نشده سلول یکی از مهمترین مکانیسم‌های بیولوژیک کارسینوژنزیس به شمار می‌رود(Eisenberg, 2001) و تغییر در بروز پروتئین‌های مرتبط با آن از شاخصه‌های مهم تعیین پتانسیل واقعی تغییر بدخیمی ضایعات به شمار می‌رود( Huang *et al*., 2012, Kotelnikov *et al*., 1997).

**۲-۲-۱- نقش انکوژن ها در سرطان:**

انکوژن ها[1]ژنهای منحصربفردی هستند که بوسیله ی جهشهای تغییردهنده و نه حذف کننده-ی فعالیت پروتئینهای ساخته شده توسط آنها ایجاد می‌شوند. انکوژن شکل جهش یافته‌ی یک ژن طبیعی سلولی به نام پروتوانکوژن[2] است (Ahmed & Rahman , 2006).

انکوژن ها در شرایط عادی در فرستادن پیام به سلول برای تکثیر نقش دارند. اختلال و تغییر در این سلول ها منجر به تکثیر نامنظم سلول شده و سلول سرطانی به شمار می‌رود( Pappou , 2010).

انکوژن ها اولین ژنهای سرطانی بودند که کشف شدند. انکوژن ها ابتدا به عنوان اجزاء درونی ویروسهای سرطان زا شناخته شدند.

کشف انکوژن ها در سال ۱۹۱۰ توسط Peyton Rouse انجام گرفت. او نشان داد که عصاره‌ی عبور داده شده از فیلتر که فاقد سلول و باکتری می‌باشد می‌تواند باعث ایجاد فیبر و سارکوما۳ در

1- Oncogen

2- Proto oncogen

جوجه‌ها شود، او دریافت که سارکومای جوجه می‌تواند به دفعات بوسیله‌ی عصاره‌ی توموری فاقد سلول، از حیوانی به حیوان دیگر منتقل شود. عامل این بیماری در عصاره‌ی سلولی، ویروس Rouse Sarcoma Virus (RSV) بود که جزء اولین ویروسهای حیوانی بود که جدا شده بود. کشف این انکوژن های ویروسی برای اولین باعث شد که یک عامل ایجاد کننده ی سرطان از منظر ژنتیک مورد مطالعه قرار گیرد. اغلب انکوژنها که نقش برجسته ای در سرطان های انسانی دارند در ابتدا در رترو ویروس ها شناخته شده اند. انکوژن هایی که اغلب در رشد و گسترش سرطان های انسانی شرکت دارند، به وسیله ویروس ها منتقل نمی شوند بلکه در نتیجه ی جهش های سوماتیک در پروتوانکوژن ها ایجاد می گردند، با کشف ژنهای RAS، بر ارتباط انکوژن های رتروویروسی با انکوژن های ایجاد شده بوسیله ی جهش های سوماتیک در پروتوانکوژن ها تاکید شد ( Nahta & Esteva , 2007).

**۳-۲-۱- فعال شدن انکوژن ها:**

برای تبدیل پروتوانکوژن ها به انکوژن ها مکانیسم های چندگانه ای وجود دارند که این مکانیسم ها یا کمی هستند و یا کیفی تغییرات ایجاد شده در ژنوم به طرق متعددی باعث فعال شدن پروتوانکوژن ها می شوند.

بدون توجه به اینکه یک جهش در نتیجه تغییری کوچک در توالی ژن، تکثیر ژنی، جابجایی کروموزومی یا بازآرایی های پیچیده تر روی داده باشد، نقش انکوژن در توموزایی یکسان است. جهش های سوماتیک فعال کننده پروتوانکوژن ها باعث افزایش فعالیت پروتئین رمزشده توسط این انکوژن های جهش یافته می شود (Pappou, 2010).

بازآرایی کروموزوم ها: بازآرایی های ساختاری بزرگ مانند جابجایی می توانند بروتوانکوژن هارا به عناصر ژنتیکی دور دست نزدیک کند. با توجه به محل شکستگی، جابجایی به دو روش موجب فعال شدن پروتوانکوژن ها می شود. اگزون های دو ژن مجزا در نتیجه جابجایی، تحت کنترل یک پرو موتر قرار می گیرند. این نوع ترکیب اگزونی به بیان یک پروتئین ترکیبی شامل عناصر رمز

کننده ی هر دو ژن منجر می شود.در روش دیگر، به واسطه جابجایی، یک ORF[1]کامل در مجاورت یک پروموترقوی قرار می گیرد(نخعی سیستانی وهمکاران، ۱۳۸۹).

### ۴-۲-۱- اپیدمیولوژی

سرطان مری سالانه باعث مرگ ۳۸۶۰۰۰ نفر در سراسر جهان شده و ششمین سرطان مرگ آور محسوب می شود. این سرطان هشتمین سرطان شایع دنیا می باشد (Parkin *et al*., 2002). نرخ شیوع این سرطان در مناطق مختلف جغرافیایی بین <۵ و >۱۰۰ در ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال متغیر است. سرطان مری به دو زیر گروه اصلی بافتی تقسیم می شود: کارسینومای سلول های سنگفرشی [2] که در این مطالعه مد نظر است و آدنوکارسینوما[3]. SCC نوع شایع سرطان مری در سراسر جهان است، اما طی سه دهه ی اخیر در کشور های غربی AC تدریجاً شایع تر از SCC شده است(Kubo and Corley, 2004; Lepage *et al*., 2008). اما SCC همچنان در کشورهای آسیای شرقی و جنوبی، آفریقای جنوبی و آمریکای جنوبی شایع ترین نوع می باشد(Lambert and Hainaut, 2007; Espey *et al*., 2007). طی دهه ی اخیر شیوع سرطان مری در امریکا افزایش چشمگیری در مقابل کاهش کلی در شیوع سایر سرطان ها داشته است. این موضوع بیشتر به دلیل افزایش نرخ شیوع EAC می باشد که با افزایش میزان چاقی (Kubo and Corley, 2006) و بیماری رفلاکس معده-مری(Lagergren *et al*., 1997) ارتباط دارد.

### ۵-۲-۱- اتیولوژی

دو ریسک فاکتور مهم در ESCC اعتیاد به تنباکو و الکل می باشد. ریسک ابتلا به ESCC در معتادان ۷ برابر بیشتر است (McLaughlin *et al*., 1995; Ishikawa *et al*., 2006; Freedman *et al*., 2007). دود ناشی از تنباکو حاوی تعداد زیادی مواد سرطان زا از جمله نیتروزآمین ها، پلی

3- Open reading Frame

[2] Squamous Cell Carcinoma (SCC)

[3] Adenocarcinoma (AC)

سایکلیک آروماتیک هیدروکربن ها و استالدهید ها می باشد(Hecht *et al*., 2003). گزارش شده است که نوشیدن زیاد الکل (بیشتر از ۲ بار در روز) ریسک ابتلا را تا ۵ برابر افزایش می دهد(Brown LM *et al* .,1994)؛(Boffetta *et al*., 1990). الکل به تنهایی سرطان زا نیست. سرطان زایی الکل به دلیل متابولیت استالدهید حاصل از آن می باشد (Boffetta & Hashibe 2007) .مصرف کم میوه و سبزیجات تازه یکی دیگر از ریسک فاکتورهای ابتلا به ESCC می باشد (Freedman *et al*., 2007؛ Yamaji *et al*., 2008). ریسک فاکتور های محیطی دیگری نیز گزارش شده اند که باعث افزایش ریسک ابتلا به ESCC می شوند که از جمله ی آنها می توان به مصرف نوشیدنی های داغ و ترشی ها(Islami *et al*., 2009) ، مصرف تریاک (Nasrollahzadeh et al., 2008) ، ترشی ها (Yang, 1980) و آلودگی به ویروس پاپیلومای انسانی(Yao *et al*., 2006) اشاره نمود. اگرچه مطالعات قبلی نشان دهنده ی نقش اندک این ریسک فاکتورها در افزایش ریسک ابتلا به ESCC بوده است.

**۶-۲-۱- انواع سرطان مری:**

سرطان مری انواع مختلفی دارد که دو نوع کارسینوم سلول سنگفرشی مری (ESCC) و آدنوکارسینوم مری (EAC) آن بسیار رایج است (Xu, 2009). اگرچه عامل های خطر واپیدمیولوژی ESCC و EAC با هم متفاوت اند اما پیش آگهی هر دو نوع بسیار ضعیف است، به نحوی که بقای ۵ ساله بیماران ۱۰ تا ۱۳ درصد گزارش شده است (Sampliner *et al*., 2009).

**۱-۶-۲-۱- کارسینوم سلول سنگفرشی** (ESCC):

ESCC یکی از دو نوع مهم سرطان مری است. مصرف الکل و سیگار، نقش فوق العاده مؤثری در ایجاد این نوع سرطان ایفا می کند. سلول های بافت پوششی سنگفرشی مری در این حالت سرطانی می شوند. در سرتاسر دنیا این نوع سرطان ۸۰ درصد سرطان های مری را تشکیل می دهد. سرطان کارسینوم سلول سنگفرشی مرحله طولانی تری از دوره درجا (این سیتو) را دارد.

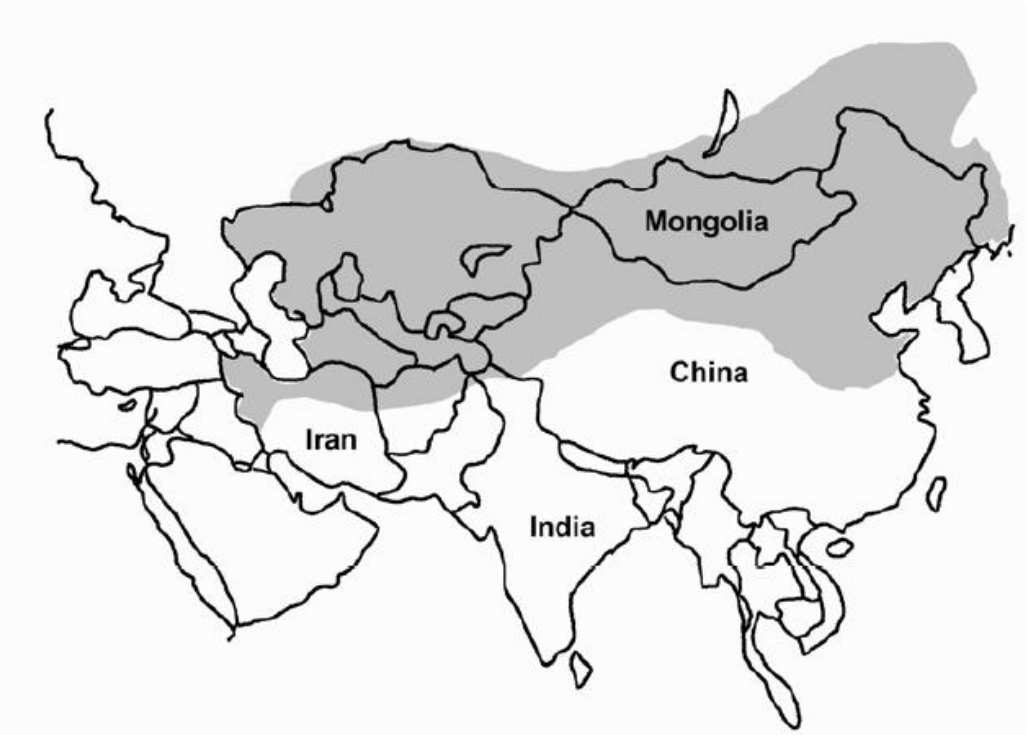
سرطان کارسینوم سلول سنگفرشی، حدود ۲۰ درصد موارد از قسمت گردنی، سینه ای فوقانی، ۵۰ درصد از یک سوم میانی و ۳۰ درصد از یک سوم تحتانی مری منشأ می گیرد ( Bosetei *et al.*,

**۲-۶-۲-۱- آدنوکارسینوم مری** (EAC):

این نوع سرطان مری (EAC) نیز در سالیان اخیر رشد زیادی در جوامع غربی داشته است، در ایالات متحده افزایش بسیار زیاد شیوع این شکل از بدخیمی (سه تا پنج برابر در ۴۰ سال اخیر)، باعث پیشی گرفتن آن از نوع اول شده است. آدنوکارسینوم بر خلاف کارسینوم سلول سنگفرشی، معمولاً در یک سوم انتهای مری واقع می شود (Bosetei *et al.*, 2000).

**۷-۲-۱- کمربند سرطان مری**

سرطان مری در مناطق مشخصی از جمله منطقه ی جغرافیایی که از شمال چین تا شمال ایران گسترده است شیوع بسیار زیادی دارد که این منطقه "کمربند آسیای مرکزی سرطان مری" نامیده می شود. میزان شیوع بالای ۱۰۰< در ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال برای سرطان مری که بیشتر از نوع ESCC می باشد از این منطقه و از شمال ایران (Saidi *et al.*, 2000) ، ترکمنستان (Saenko, 1975) ، قزاقستان (Kairakbaev, 1978) و شمال چین گزارش شده است. شیوع بالای ESCC در این مناطق همسایه، وجود یک ریسک فاکتور محیطی مشترک و یا الل های مستعد کننده ی مشترک میان این جمعیت ها را نشان می دهد. کمربند سرطان مری در طول جاده ابریشم کشیده شده است و بیشتر بازماندگان مغول را که در این منطقه سکونت داشته اند شامل می گردد. ترکمن هایی که در انتهای غربی این کمربند زندگی می کنند بازماندگان Oguz Turkic هستند که از کوهستان های Altai در مرز چین و مغولستان به شمال ایران کوچ کرده اند. اولین گزارش از شیوع بالای ESCC در شمال شرقی ایران به سال ۱۹۷۲ باز میگردد. در مقاله ای که در مجله ی Science منتشر گردید (Kmet and Mahboubi 1972) ،میزان شیوع این بیماری ۱۰۹/۱۰^۵ نفر در سال در میان مردان و ۱۷۴/۱۰^۵ نفر در سال در میان زنان اعلام شد.




تصویر ۱-۱: کمربند سرطان مری از بخش های شمالی و مرکزی چین تا منطقه ی آسیای مرکزی و شمال ایران گسترش یافته است(Kamangar *et al*., 2007).

**۸-۲-۱- درمان**

سرطان مری یکی از مرگ بار ترین سرطان های جهان است و میزان زنده ماندن ۵ ساله در این بیماری در حدود ۳ الی ۱۹٪ در کشورهای اروپایی برآورد می گردد(Sant *et al*., 2009). درمان اولیه برای سرطان مری برداشتن تومور توسط جراحی است، اما در بیشتر بیماران وجود تومورهای پیشرفته یا متاستازی انجام جراحی را غیرممکن می سازد. انجام شیمی درمانی قبل از جراحی می تواند میزان زنده ماندن را افزایش دهد (Malthaner *et al*., 2006). شیمی درمانی همچنان برای تومورهایی که غیر قابل جراحی هستند نیز انجام می گیرد (Homs *et al*., 2006). یکی از رایج ترین رژیم های شیمی درمانی ترکیب ۵- فلورو اوراسیل[۱] و سیس پلاتین[۲] می باشد (Homs *et al*.,

[۱] 5-flourouracil

[۲] Cis-platin

.2009)

### ۹-۲-۱- ژنتیک سرطان مری

سرطان با رشد کنترل نشده ی سلول ها شناخته می شود که نتیجه ی تغییر در مکانیسم های فیزیولوژیکی کنترل کننده ی رشد سلول است. این تغییرات شامل خود کفایی در سیگنال های رشد، عدم حساسیت به سیگنال های مهارکننده ی رشد، فرار از آپوپتوز[۱] و داشتن ظرفیت تکثیر بی نهایت است(Hanahan and Weinberg, 2000). سلول های توموری این ویژگی ها را به دلیل تغییرات در ژنوم خود کسب می کنند. اولین مشاهدات در مورد نقش تغییرات ژنومی در پیشرفت سرطان در اواخر قرن نوزدهم حاصل شد(Hardy and Zacharias, 2005) . اولین ژنی که با جهش سوماتیک خود باعث سرطان می شد در سال ۱۹۸۲ با کشف جهش سوماتیک فعال کننده Gly12Val در ژن HRAS[۲] و در سلول های کارسینومای مثانه انسان معرفی شد (Reddy *et al*., 1982). دو دهه ی بعد در سال ۲۰۰۵ همان جهش در ژن HRAS در DNA رده ی زاینده مشاهده شد که باعث سندروم کاستلو (زیر نویس)(Aoki *et al*., 2005 ) می گشت. این سندروم یک بیماری آنومالی مادرزادی است که باعث افزایش ریسک ابتلا به بدخیمی می شود. سلول های توموری معمولاً حاوی تعداد زیادی جهش های سوماتیک هستند اما تنها تعداد کمی (۷-۵) از این جهش ها باعث سرطان می شوند که به آنها جهش های Driver گفته می شود. بقیه ی جهش ها Passenger نامیده می شوند و در پیشرفت سرطان نقش مستقیمی ندارند(Miller, 1980) . تعداد ژن های سرطان زای انسانی در سایت (http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/) تا تاریخ آپریل ۲۰۱۰ حداقل ۳۸۰ ژن Driver و بیش از ۲۰۰۰۰ جهش سوماتیک در ژن های کد کننده ی پروتئین اعلام شد. پیشرفت های اخیر در تعیین توالی ژنوم های سرطان پیشنهاد می کند که تعداد ژن هایی که باعث سرطان می شوند ممکن است بسیار بیشتر از این تعداد باشد

[۱] Apoptosis

[۲] GTPase HRas also known as transforming protein p21