دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده علوم

گروه ژنتیک

پایان نامه کارشناسی ارشد

عنوان :

بررسی الگوی متیلاسیون پروموتور ژن P16 در بیماران ایرانی مبتلا به هپاتوسلولار کارسینوما

پژوهش و نگارش:

اورانوس باشتی شیراز

اساتید راهنما :

دکتر حمید گله داری- دکتر مجید یاوریان

استاد مشاور :

دکتر بیتا گرامی زاده

شهریور ماه ۱۳۸۹

بسم الله الرحمن الرحیم

تقدیم به:

او که هستی ام داد.

پدر و مادر مهربانم که همواره دلسوز و با محبت بودند

و

همسرم که پیوسته مشوق و یاری بخش من بوده اند

و

تقدیم به خواهر و برادرانم

سپاسگزاری

سپاس می دارم خدای بزرگ را که به من توفیق داد تا در راه علم و دانش گام بردارم.
اکنون که به لطف و یاری ایزد متعال این پروژه به پایان رسیده است، بر خود لازم می دانم از کلیه بزرگوارانی که مرا یاری رسانده اند به خصوص **جناب آقای دکتر گله داری** و **جناب آقای دکتر یاوریان** که همواره مشوق و امید بخش اینجانب بوده اند قدردانی نمایم. راهنمائی ها و برخوردهای حکیمانه و صبورانه شان در حل مشکلات چراغ راه بنده بوده است. برای آنان آرزوی سلامتی و طول عمر با عزت از خداوند متعال مسئلت دارم.
همچنین از استاد محترم **سرکار خانم دکتر گرامی زاده** که با بذل وقت و انرژی، راهنمائی های ارزنده ای را در جهت پیشبرد هرچه بهتر این پروژه ارائه دادند، صمیمانه قدردانی می نمایم.
با سپاس از پرسنل محترم آزمایشگاه هماتولوژی بیمارستان نمازی شیراز

چکیده

نام خانوادگی : باشتی شیراز **نام** : ارانوس

عنوان : بررسی الگوی متیلاسیون پروموتور ژن P16 در بیماران ایرانی مبتلا به هپاتوسلولار کارسینوما

اساتید راهنما : دکتر حمید گله داری – دکتر مجید یاوریان

استاد مشاور : دکتر بیتا گرامی زاده

درجه تحصیلی : کارشناسی ارشد **رشته** : ژنتیک **دانشکده** : علوم

محل تحصیل : دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ فارغ التحصیلی : ۸۹/۶/۳۰ **تعداد صفحات** : ۱۴۱

کلید واژه ها : هپاتوسلولار کارسینوما، هیپر متیلاسیون، P16، سدیم بی سولفیت ، تکثیر مختص متیلاسیون، توالی یابی

چکیده :

هپاتوسلولار کارسینوما (HCC) یکی از شایع ترین بدخیمی های کشنده در انسان است وتظاهر دیر هنگام، پیشرفت سریع و پاسخ محدود به درمان از مشخصه های آن می باشد. HCC معمولا با بیماری مزمن کبدی که بواسطه ی عفونت با ویروس های هپاتیت B و C (یا هر دو) بوجود می آید، آفلا توکسین، مصرف بی رویه ی الکل و بعضی بیماری های متابولیکی خاص وابسته است.

فعال شدن آنکوژن ها وغیر فعال شدن ژن های سرکوبگر تومور، بواسطه ی تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی نقش مهمی در کارسینوژنز ایفا می نماید. هیپرمتیلاسیون جزایر CpG که درمناطق پروموتوری قرار دارند، منجر به کاهش بیان ژن های سرکوبگر تومور می شود. P16 یکی از تنظیم کننده های منفی سیکل سلولی، بواسطه ی مهار کیناز وابسته به سیکلین۴ (CDK4) می باشد که هیپرمتیلاسیون منطقه ی پروموتوری یکی از شایع ترین دلایل غیر فعال سازی این ژن می باشد. در این مطالعه بعد از تعیین درجه تومور، نحوه ی متیلاسیون پروموتور ژن P16 در ۴۳ نمونه ی پارافینی HCC و ۱۰ نمونه ی نرمال بررسی شد. بعد از استخراج DNA و تیمار با بی سولفیت، الگوی متیلاسیون پروموتور ژن P16 بواسطه ی روش های PCRمختص متیلاسیون (Methylation Specific PCR) وترادف یابی بعد از بی سولفیته شدن (Bisulfite Direct Sequencing) تعیین شد. در این مطالعات شاهد یک فرکانس پایین در هیپرمتیلاسیون پروموتوربودیم(۱۳/۹٪)، ولی متیلاسیون درGCboxIV، در۵۸/۱٪ بیماران مشاهده شد. همچنین این مطالعات نشان دهنده ی مطمئن تر بودن روش توالی یابی بعد از بی سولفیته شدن نسبت به روش تکثیر مختص متیلاسیون می باشد.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: کلیات و مروری بر مطالعات دیگران

۱-۱-مقدمه ۱

۱-۲-ساختار و عملکرد کبد ۲

۱-۳-انواع سرطان کبد ۳

۱-۳-۱-تومورهای خوش خیم ۳

۱-۳-۲-تومورهای بدخیم ۴

۱-۴-اپیدمیولوژی HCC ۵

۱-۵-احتمال بقا ۶

۱-۶-اثر سن ۷

۱-۷-اثر جنس ۷

۱-۸-اتیولوژی بیماری ۷

۱-۸-۱-عوامل بیولوژیکی ۷

۱-۸-۱-۱-ویروس های هپاتیت ۷

۱-۸-۲-عوامل شیمیایی ۱۳

۱-۸-۲-۱-آفلاتوکسین ۱۳

۱-۸-۲-۲-الکل ۱۵

۱-۸-۳-نقش سایر عوامل در بروز HCC ۱۶

۱-۸-۳-۱-تیروزینمی ارثی و هموکروماتوز ارثی ۱۶

۱-۸-۳-۲-آلودگی به انواع انگل های کبدی ۱۶

۱-۹-تشخیص هپاتوسلولار کارسینوما ۱۶

۱-۹-۱-تشخیص اولیه بیماری ۱۶

۱-۹-۲-تشخیص ثانویه بیماری ۱۷

۱-۹-۲-۱-تست خون ۱۷

۱-۹-۲-۲-تست های رادیولوژی ۱۸

۱-۹-۳-تشخیص نهایی ۱۸
۱-۱۰-سیتولوژی ۱۸
۱-۱۱-پاتولوژی هپاتوسلولار کارسینوما ۱۹
۱-۱۲-متیلاسیون DNA ۲۱
۱-۱۳-عوامل موثر بر تغییر الگوی متیلاسیون ۲۶
۱-۱۳-۲-الکل و تغییر الگوی متیلاسیون ۲۶
۲-۱۳-۳-رابطه ی متیلاسیون با سن ۲۷
۱-۱۴-مکانیسم مولکولی هپاتوسلولار کارسینوما ۲۹
۱-۱۴-۱-میتوژن های کبدی در HCC ۳۱
۱-۱۴-۲-مسیر PI3K-AKT/PKB در HCC ۳۲
۱-۱۴-۳-مسیر WNT/β -catenin در HCC ۳۳
۱-۱۴-۴-نقش پروتئین های RAS در HCC ۳۴
۱-۱۴-۵-نقش C-MYC در HCC ۳۴
۱-۱۴-۶-تنظیم کننده های سیکل سلولی در HCC ۳۵
۱-۱۴-۶-۱-پروتئین P53 ..... ۳۶
۱-۱۴-۶-۲-پروتئین RB ۳۶
۱-۱۴-۶-۳-پروتئین P21waf1/cip1 ..... ۳۸
۱-۱۴-۶-۴-پروتئین P27kip1 ..... ۳۸
۱-۱۴-۶-۵-پروتئین cyclin D1 ..... ۳۹
۱-۱۴-۷-نقش مهار کننده های رشد و عوامل اپوپتوتیکی در HCC ۳۹
۱-۱۴-۷-۱-TGF-β ۴۰
۱-۱۴-۷-۲-Fas ۴۰
۱-۱۴-۷-۳-نقش سایر تنظیم کننده ها آپوپتوزیس ۴۱
۱-۱۵-نقش لوکوس CDKN2A ۴۱
۱-۱۶-پروتئین P16 ..... ۴۴
۱-۱۷-جهش ها و سایر عوامل غیر فعال کننده P16 ..... ۴۵
۱-۱۸-عملکرد ژن P16 ..... ۴۷
۱-۱۹-هدف های مولکولی در درمان HCC ۴۹

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱-بررسی نمونه های بیماران ۵۲
۲-۲-مراحل استخراج DNA از بافت ها ۵۵
۲-۲-۱-تهیه ی برش و پارافین زدایی ۵۵
۲-۲-۲-استخراج DNA با استفاده از کیت (QIA amp DNA mini kit) ۵۶
۲-۳-بررسی غلظت و کیفیت DNA تخلیص شده ۵۹
۲-۴-تیمار DNA توسط سدیم بی سولفیت ۶۰
۲-۴-۱-انجام واکنش سدیم بی سولفات با استفاده از کی(Epitect Bisulfit (Qiagene ... ۶۱
۲-۴-۱-۱-طرز تهیه ی مواد اولیه ۶۱
۲-۴-۱-۲-مراحل انجام واکنش تیمار DNA با بی سولفیت ۶۲
۲-۵-شرایط و چگونگی انجام واکنش PCR ۶۴
۲-۵-۱-Nested PCR ۶۶
۲-۶-Direct Bisulfit sequencing ۶۶
۲-۶-۱-مواد لازم جهت انجام واکنش Nested Bisulfit Swquencing ۶۷
۲-۶-۲-روش عملی واکنش Nested Bisulfit Sequencing PCR67 ..... ۶۸
۲-۷-چگونگی انتخاب پرایمرها ۷۰
۲-۸-Methylation specific PCR ۷۱
۲-۸-۱-Nested Methy lation Specific PCR ۷۲
۲-۸-۲-مواد لازم جهت انجام واکنش Metylation Specific PCR ۷۲
۲-۸-۳-روش عملی واکنش MSP ۷۳
۲-۹-الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۷۶
۲-۹-۱-محلول های مورد نیاز در ژل الکتروفورز ۷۷
۲-۹-۲-ساخت ژل الکتروفورز ۷۷
۲-۱۰-تعیین توالی ۷۹

فصل سوم: نتایج

۳-۱-بررسی خصوصیات نمونه های بیماران ۸۱
۳-۲-نتایج آسیب شناسی ۸۱

۳-۳-خصوصیات سلول ها بر طبق درجه تومور ۸۱
۳-۴-نتایج استخراجDNA ۸۶
۳-۵-نتایج مراحل مختلف آماده سازی بافت ها ۸۶
۳-۶-ارزیابی نتایج حاصل از استخراج DNA ۸۷
۳-۷-نتایج اسپکتروفتومتری ۸۸
۳-۷-۱-نتایج تعیین غلظت نمونه ها بعد از تیمار با بی سولفیت با استفاده از کیت ۸۹
۳-۸-تجزیه و تحلیل نتایج Nested Bisulfite sequencing pcr ۸۹
۳-۹-تجزیه و تحلیل نتایج توالی یابی ۹۱
۳-۱۰-تجزیه و تحلیل نتایج MSP ۱۰۸

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴-۱-مقدمه ۹۷
۴-۲-تجزیه و تحلیل ویژگی های نمونه ها ۹۷
۴-۳-تجزیه و تحلیل متیلاسیون پروموتور ژن P16 ..... ۹۹
۴-۴-تجزیه و تحلیل نتایج Bisulfite Sequencing ۱۰۲
۴-۵-تجزیه و تحلیل نتایج MSP و مقایسه آن با Bisulfite Sequencing ۱۰۳
نتیجه گیری کلی ۱۰۴
پیشنهادات ۱۰۶
منابع ۱۰۷

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱-موتاسیون Germ Line مربوط به P16 در بیماران مبتلا به ملانوما ۴۷
جدول ۲-۱-مشخصات بیماران مورد بررسی ۵۲
جدول ۲-۲-برنامه ی گرمایی برای انجام واکنش بی سولفیت.....۶۲
جدول ۲-۳-ترکیبات لازم جهت انجام مرحله ی اول واکنش Bisulfite Sequencing PCR.....۶۸
جدول ۲-۴-برنامه ی حرارتی برای انجام مرحله ی اول واکنش Bisulfite Sequencing PCR.....۶۹
جدول ۲-۵-مواد لازم برای انجام مرحله ی دوم Bisulfite Sequencing PCR.....۶۹
جدول ۲-۶-برنامه ی حرارتی مرحله ی دوم Bisulfite Sequencing PCR.....۷۰
جدول ۲-۷-ترکیبات لازم جهت انجام مرحله ی اول واکنش MSP.....۷۳
جدول ۲-۸-برنامه ی حرارتی مرحله ی اول MSP.....۷۴
جدول ۲-۹-ترکیبات لازم جهت انجام مرحله ی دوم واکنش MSP.....۷۴
جدول ۲-۱۰-برنامه ی حرارتی مرحله ی دوم MSP برای واکنش متیله ۷۵
جدول ۲-۱۱-برنامه ی حرارتی مرحله ی دوم MSP برای واکنش غیر متیله.....۷۵
جدول ۳-۱-میانگین نتایج اسپکتوفوتومتری قبل از تیمار با بی سولفیت ۸۸
جدول ۳-۲-میانگین نتایج اسپکتوفوتومتری پس از تیمار با بی سولفیت ۸۹
جدول۳-۳-میانگین نتایج اسپکتوفوتومتری ۱۰ نمونه نرمال قبل و بعد از تیمار با بی سولفیت.....۸۹
جدول ۳-۴-مشخصات افرادی که دارای هیپرمتیلاسیون بوده اند.....۹۲

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱-مقایسه ی شیوع HCC مناطق مختلف ۶
شکل ۱-۲-ساختار ژنوم ویروس هپاتیت B ۱۲
شکل ۱-۳-محصول ژن HBX و مشتقات آن ۱۲
شکل ۱-۴-نحوه ی عملکرد آفلاتوکسین B1 ..... ۱۵
شکل ۱-۵-متیلاسیون سیتوزین بواسطه ی DNA متیل ترانسفراز ۲۵
شکل ۱-۶-هیپرمتیلاسیون و هیپومتیلاسیون در منطقه ی پروموتوری ژن های سرکوبگر تومور .. ۲۶
شکل ۱-۷-ایزوفرم های تولیدی از لوکوس CDKN2A ۴۴
شکل ۱-۸-نحوه ی عملکرد ژن CDKN2A ۴۸
شکل ۲-۱-نحوه ی تغییر سیتوزین غیر متیله به اوراسیل توسط سدیم بی سولفیت ۶۱
شکل ۳-۱-الف- تومور درجه ۱ HCC ۸۲
شکل ۳-۱-ب- تومور درجه ۲ HCC ۸۳
شکل ۳-۱-ج- تومور درجه ۳ HCC ۸۴
شکل ۳-۱-د- تومور درجه ۴ HCC ۸۵
شکل ۳-۲-نمونه ایی از نتایج الکتروفوز مربوط به استخراج DNA توسط کیت ۸۷
شکل ۳-۳-نمونه ی محصولات PCR با پرایمرهای Nested در روش Bisulfite Sequencing PCR ۹۱
شکل ۳-۴-نمونه ای که بصورت هتروزیگوت دارای متیلاسیون بوده است. ۹۳
شکل ۳-۵-نمونه ایی که فاقد متیلاسیون می باشد ۹۳
شکل ۳-۶-نمونه ای از سکانس بیمارانی که در نزدیکی موقعیت ۶۲-دارای متیلاسیون هستند.. ۹۴
شکل ۳-۷-نمونه ای از سکانس افرادی که فاقد متیلاسیون در نزدیکی موقعیت ۶۲-هستند ۹۴
شکل ۳-۸-نمونه ی محصولات PCR با پرایمرهای MSP ۹۶
شکل ۴-۱- شکل شماتیک از نحوه ی قرارگیری جعبه های GC در منطقه ی پروموتوری ژن P16 ..... ۱۰

فصل اول:

کلیات و مروری بر مطالعات دیگران

۱-۱-مقدمه

سرطان کبد از نوع هپاتوسلولار کاسینوما(HCC)[I] یک بیماری بدخیم و پیش رونده با قابلیت تشخیص پایین اســت و عوامل مختلفی مانند ویروس هپاتیت B، ویروس هپاتیتC ، آفلاتوکسین و بعضی از بیماری های متابولیکی کبد مانند همو- کروماتوزیس، تیروزینمی و سیترولینمی در بروز بیماری مؤثر میباشند.[۱،۲،۳] HCC در بین سرطان ها به لحاظ امکان وقوع در رده ۵ و به لحاظ مرگ و میر در رده ۳ قرار دارد.[۴] اپیدمیولوژی HCC بواسطه ی جمعیت شناسی (بر اساس سن، جنس ونژاد) و تنوع های جغرافیایی تعیین می شود.[۵] به طورکلی سالانه ۰/۵ تا ۱ میلیون نفربه HCC مبتلا می شوند و بیشترین شیوع در آسیا و جنوب آفریقا مشاهده می شود که تعداد افراد بیمار در این مناطق بین ۲۵ تا ۱۰۰ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر متغیر است و ۳۰ تا۴۰ درصد مرگ به علت سرطان را به خود اختصاص می دهد.[۶] براساس آمار سالیانه ی اداره بیماری های غیر واگیر وزارت بهداشت ایران شیوع HCC در سال ۱۳۸٦ در کشور ۲ تا۳ در ده هزار نفر می باشد. تاکنون ژن های زیادی در ارتباط با هپاتوسلولار کارسینوما شناسایی شده اند. ژن P16 از جمله ژن های درگیر درپروسه ی این سرطان می باشد و بعنوان یک ژن سرکوبگر تومور عمل می کند. در بسیاری از نقاط جهان، هیپرمتیلاسیون منطقه ی پروموتور بعنوان یک پدیده ی شایع در از دست رفتن عملکرد این ژن در نظر گرفته می شود. این پژوهش به منظور تایید این موضوع در بیماران مبتلا به HCC برای اولین بار در ایران انجام گردید.

[I] Hepatocellular carcinoma

۱-۲-ساختاروعملکرد کبد

کبد بزرگترین عضو داخلی بدن انسان به شمار میرود و انسان قادر است تنها ۲۴ ساعت بدون آن از نظر آناتومی ظاهری زنده بماند. این ارگان در زیر دیافراگم، در ناحیه ی سینه ای شکم قرار دارد و به ۴ لوب(بخش) تقسیم می شود . رباط (لیگامان) داسی شکلی که در قسمت جلو (قدامی) آن دیده میشود، کبد را به دو لوب آناتومیک چپ و راست تقسیم می کند. چنانچه کبد از پشت مشاهده شود دارای دو لوب دیگر است که بین لوب های راست و چپ قرار دارد و عبارتند از : لوب دم دار[I] که بالاتر قرار گرفته و لوب مربع[II] که در زیر واقع است. هر لوب از لوبول هایی تشکیل می شود و از می کند. مرکز هر لوبول، سیاهرگی عبور می کند و با اتصال به سیاهرگ کبدی، خون را از کبد جدا هپاتوسیت ها (سلول های کبدی)، اعمال مختلف کبد که شامل موارد زیر است را انجام می دهند[۷] :

۱)گلوکونئوژنز: ساختن گلوکز از بعضی اسید آمینه ها، لاکتات یا گلیسرول

۲)گلیکوژنولیز: تجزیه گلیکوژن به گلوکز

۳)گلیکوژنز: ساختن گلیکوژن از گلوکز

۴)سنتز کلسترول

۵)لیپوژنز: تولید تری گلیسرید ها

۶)تجزیه ی هموگلوبین و ایجاد متابولیت هایی که به عنوان رنگدانه به صفرا اضافه می شود.(بیلی روبین و بیلی وردین)

۷)تجزیه ی مواد سمی

۸)ساخت فاکتور های انعقادی خون

[I] Caudate lobe
[II] Quadrate lobe

۹)تولید و ترشح صفرا

۱۰)تبدیل آمونیاک به اوره

۱۱)تولید آلبومین که بخش اسمولار اصلی سرم خون است.

۱-۳- انواع سرطان کبد

سرطان کبد از نوع هپاتوسلولار کارسینوما (HCC)[I] یکی از شایعترین ترین بدخیمی‌ها در سطح جهان است که شیوع آن در آسیا و آفریقا بالا می‌باشد. شیوع HCC در اروپای غربی و آمریکا نسبتاً پایین است اما به خاطر افزایش میزان آلودگی با ویروس هپاتیتC در این مناطق، شیوع این بیماری در حال افزایش است.[۸] انواع نادر دیگری از سرطان کبد وجود دارد که در ادامه تشریح خواهند شد.

۱-۳-۱- تومورهای خوش خیم

❖ Hemangioma : بصورت تومورهای خوش خیم سلول های اندوتلیال تعریف می شود و معمولا در هفته ی اول زندگی بروز می کند و در طول زمان ناپدید می شود.[۹] گفته می شود که هیپوکسی بافت های نرم و بدنبال آن افزایش گردش استروژن در بدن، بعد از تولد میتواند محرک بروز همانژیوما باشد.[۱۰]

❖ Hepatocellular adenoma : آدنومای کبدی نادر است و بیشتر در جنس مونث مشاهده می شود و مفروض است که قرص های ضد بارداری که حاوی مقدار زیادی استروژن است در بروز بیماری نقش دارد.[۱۱] آدنومای کبدی می تواند به خونریزی داخلی و حتی مرگ بیانجامد.[۱۲]

[I] Hepatocellular carcinoma

❖ Focal nodular hyperplasia : این نوع تومور بعد ازهمانژیومای کبدی شایع ترین تومور در کبد در نظر گرفته می شود و در هر گروه سنی و حتی در بچه ها دیده می شود ولی با این حال بیشتر در دهه ی سوم تا پنجم زندگی مشاهده می شود و وقوع آن در جنس مونث بیشتر گزارش شده است.[۱۳]

۱-۳-۲- تومورهای بدخیم[۱۴]

❖ Hepatoblastom : نوعی از سرطان کبد نادر است و ازسلول های پیش ساز کبدی نابالغ[I] منشا می گیرد که بیشتردر بچه ها دیده می شود و بالا رفتن آلفا فتوپروتئین یکی از علایم آن است.[۱۵]

❖ Angiosarcoma کبدی : سرطان رگ های خونی کبد است.

❖ Epithelioid hemangioendothelioma : سرطان رده سلول‌های پوششی رگهای خونی در کبد است که تنها۰/۰۱% از سرطان ها را تشکیل می دهد و از نظر هیستولوژیکی و کلینیکی مابین آنژیوسارکوما و همانژیوما قرار دارد.

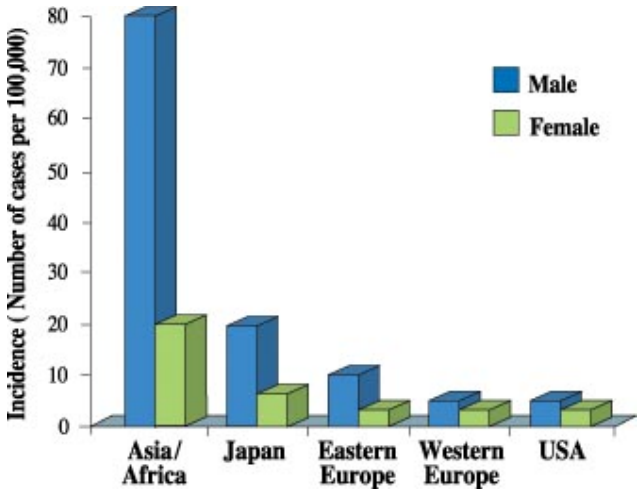
❖ Cholangiocarcoma : سرطان سلول های پیوندی مجاری صفراوی است.

❖ Liver metastase : سرطان ثانویه نیز نامیده می شود تومورهای کبدی از قسمتهای دیگربدن مانند کولون یا سینه منشاء گرفته است.

[I] Precoursor cells

۱-۴- اپیدمیولوژیHCC

هپاتو سلولار کارسینوما(HCC) در بین سرطان ها به لحاظ امکان وقوع در رده ۵ و به لحاظ مرگ و میر در رده ۳ قرار دارد.[۱۶] اپیدمیولوژی HCC بواسطه ی جمعیت شناسی (بر اساس سن ،جنس ونژاد) و تنوع های جغرافیایی تعیین می شود.[۱۷] به طورکلی سالانه ۰/۵تا ۱ میلیون نفربه HCC مبتلا می شوند و بیشترین شیوع در آسیا و جنوب آفریقا مشاهده می شود که تعداد افراد بیمار در این مناطق بین ۲۵ تا ۱۰۰ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر متغیر است و ۳۰ تا ۴۰٪ مرگ به علت سرطان را به خود اختصاص می دهد.[۱۸] عفونت باویروس هپاتیت B، مسئول بسیاری از موارد بروز این بیماری در این مناطق است وکنترل این ریسک فاکتور در کشور هایی مثل تایوان و چین موجب کاهش سریع در بروز بیماری فوق شده است.[۱۹] شکل(۱-۱) میزان شیوع HCC را در مناطق مختلف مقایسه می کند که دارای بیشترین شیوع در آسیا و آفریقا و کمترین شیوع در امریکا می باشد.[۲۰] با این حال افزایش سریعی در وقوع بیماری در بسیاری از کشور های توسعه یافته ی اروپا و امریکا مشاهده می شود. این روند جدید به ریسک فاکتور های جدید مثل ویروس هپاتیت C و یا شاید دیابت می تواند وابسته باشد.[۲۱] مثال هایی از تفاوت های شیوع جمعیتی HCC بر اساس خواستگاه نژادی یهودیان، چینی ها و ژاپنی های ساکن مناطق مختلف دیده شده است. نژاد یهودیان اروپایی وقتی با نژاد یهودیان آفریقایی و آسیایی که در اسراییل زندگی می کنند، مقایسه می شوند شیوع کمتری را نشان می دهند. ژاپنی های بومی در ژاپن شیوع بالاتری نسبت به ژاپنی هایی که در هاوایی زندگی می کنند نشان می دهند و ژاپنی های مقیم هاوایی نسبت به ژاپنی های مقیم کالیفرنیا شیوع بالاتری نشان می دهند. همچنین منشا نژادی نیز می تواند منجر به بروز تفاوت در بروز بیماری شود، مثلا شیوع HCC در نژاد های ژاپنی، کره ای و چینی نسبت به نژاد های اروپایی بالاتر است.[۲۲]



شکل ۱- ۱ - مقایسه ی شیوع HCC مناطق مختلف نشان می دهد که بیشترین شیوع HCC در آسیا و آفریقا و کمترین شیوع در امریکا می باشد.[۲۳]

۱-۵- احتمال بقا

مرگ و میر بواسطه ی هپاتو سلولار کارسینوما به علت خاصیت تهاجمی آن، پاسخ محدود به درمان و قابلیت تشخیص دیر هنگام، رو به افزایش است و همان طور که گفته شد سالیانه نیم تا یک میلیون نفر به علت ابتلا به این بیماری می میرند.[۲۴] ۷۰ تا ۸۰٪ از بیماران HCC، در مرحله ی متاستاز و پیشرفته ی بیماری تشخیص داده می شوند، بطوریکه امکان امید به بهبود با عمل جراحی از بین می رود و در مواردی که به موقع تشخیص داده می شوند، امکان بروز مجدد بیماری ۵۰٪ است.[۲۵] در سرطان هایی که متاستاز داده اند و توده سرطانی بیشتر از ۱۰ سانتیمتر قطر دارند، متوسط بقا ۲ تا ۴ ماه است و شانس بقا برای دو سال تقریبا صفر است.[۲۶]

۱–۶–اثر سن

در مناطقی با شیوع بالاتر بیماری متوسط سن بروز پایین تر است مثلا در آفریقا سن بروز بین ۲۰ تا ۴۰ سالگی و در آسیا ۴۵ تا ۵۵ سالگی است ولی درمناطق با شیوع پایین تر، سن بروز افزایش یافته بطوریکه در ایالات متحده و اروپا در دهه ی هفتم زندگی است.[۲۷]

۱–۷–اثر جنس

شیوع HCC در مردان ۳ تا۶ برابر زنان است و یکی از دلایل این تفاوت را اثر متفاوت هورمون های جنسی عنوان می کنند.[۲۸]

۱–۸–اتیولوژی بیماری

۱–۸–۱–عوامل بیولوژیکی

۱–۸–۱–۱–ویروس های هپاتیت

هپاتیت یا التهاب کبد نوعی آسیب کبدی است که در اکثر موارد توسط ویروس های هپاتیت بوجود می آیند. چنانچه هپاتیت کمتر از ٦ ماه طول بکشد، حاد و اگر بیش از ٦ ماه به طول بیانجامد، مزمن است. چنانچه سلول های کبدی در اثر حمله ویروس هپاتیت تخریب شوند، این سلول ها به شکل توده هایی در کبد باقی می مانند و کبد توانایی باز سازی خود را از دست داده، سفت و بزرگ می شود و خون به راحتی قادر به عبور از کبد نیست بنابراین عملکرد طبیعی کبد از بین می رود. این وضعیت سیروز[I] کبدی نامیده می شود و در بیش از ۳۰٪ افراد مبتلا به هپاتیت مزمن روی می دهد.

[I] cirrhosis

سیروز کبدی احتمال بروز سرطان کبد را افرایش می دهد بطوریکه احتمال ایجاد سرطان کبد در بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن، ۲۰۰ برابر بیش از سایرین است. تا به حال ٦ نوع ویروس هپاتیت (A/B/C/D/E/G) کشف شده است. ویروس هایE وA از طریق دهانی منتقل شده و بطور کامل قابل درمان است و ویروس های هپاتیتB/ C/ D از طریق خون و فرآورده های آن منتقل شده و می تواند به هپاتیت مزمن، سیروز و در نهایت سرطان منجر شود.[۲۹]

مکانیسم اثر ویروس ها : ویروس هپاتیتB (HBV)[I] یک هپادانا ویروس با مولکول DNA دو رشته ای۴۲ نانومتری است و۳/۲ کیلو باز طول دارد، با پروتئین سطحی HBsAg احاطه شده و دارای ٤ قالب خواندنی باز(ORF)[II] است که پروتئین HBX ، ترانس کریپتاز معکوس، پروتئین های پوششی و پروتئین نوکلئوکپسید ۸ مرکزی را کد می کند.[۳۰] (شکل۱-۲) در مرحله ی اول مزمن شدن، همانندسازی ویروس در کبد ادامه پیدا می کند و واسطه های همانند سازی ژنوم ویروسی در DNA استخراج شده از بیوپسی کبد ممکن است یافت شود. مارکر های همانند سازی ویروسی شامل DNAمربوط به HBV، پروتئین هایS1 (HBsAg)، آنتی ژن محلول و آنتی ژن e هپاتیت B (HBeAg) است که توسط سلول های کبدی آلوده ترشح می شوند. در طول دوره ی رپلیکاسیون، DNA ویروسی ممکن است وارد DNA کروموزومی بعضی از سلول های کبدی شود و این سلول ها ممکن است باقی مانده و توسعه یابند.[۳۱]

HBX برای رونویسی ژنوم ویروسی ضروری است و حدس زده می شود که در بروز HCC نقش مهمی را ایفا می کند.[۳۲] مطالعات بسیاری نشان داده که در بسیاری از HCC هایی که در نتیجه ی آلودگی با HBV بوجود آمده اند ادغام تصادفیDNA ویروسی با DNA کروموزومی مشاهده

[I] Hepatits B virus
[II] Open reading frame