دانشکده علوم
گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی
گرایش سلولی ملکولی

در بیماران مبتلا به سرطان کولون غیر پولیپی MLH1ارزیابی موتاسیون های ژن ارثی در اصفهان

اساتید راهنما :
دکتر علی بید مشکی پور
دکتر منصور صالحی

نگارش :
سمیه شاهمرادی

تیر ۱۳۸۹

بسم الله الرحمن الرحیم
الحمد لله رب العالمین الرحمن الرحیم مالک یوم الدین
ایاک نعبد و ایاک نستعین اهدنا الصراط المستقیم
انعمت علیهم غیر المغضوب علیهم
ولا الضالین

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و
نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه رازی می باشد.

دانشکده علوم
گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی
گرایش سلولی ملکولی

ارزیابی موتاسیون های ژن MLH1 در بیماران مبتلا به سرطان کولون غیر پولیپی ارثی در اصفهان

اساتید راهنما :
دکتر علی بید مشکی پور
دکتر منصور صالحی

نگارش :
سمیه شاهمرادی

تیر ۱۳۸۹

تقدیر و تشکر :

روند انجام هر طرح و پروژه ای در زمینه های مختلف علمی مسلماً نیازمند همیاری بسیاری از عزیزان در طی انجام مراحل آن می باشد. واضح است که یک فرد محقق به تمام زمینه های علوم اشراف نخواهد داشت. از این رو بهره گرفتن از نظرات و دستان توانمند استادان و محققان دیگر در زمینه های مختلف علمی منجر به موفقیت و رسیدن به هدفی متعالی متناسب با ارزش های علمی خواهد گشت.

روند انجام این طرح نیز مستثنا نبوده و در طی روند انجام مراحل مختلف آن از راهنمایی ها و همکاری های استادان، افراد و نیز مراکز کلینیکی و تحقیقاتی بهره برده است. از این رو لازم می دانم که از استادان گرامی، اشخاص و مراکزی که بنده را در پیشبرد و رسیدن به هدف نهایی در این طرح کمک و یاری نموده اند کمال تشکر و قدردانی داشته باشم :

۱- استادان راهنمای گرامی، جناب آقای دکتر علی بیدمشکی پور و جناب آقای دکتر منصور صالحی.

۲- مدیریت و پرسنل محترم پژوهشکده پورسینای حکیم و آزمایشگاه پورسینای حکیم.

۳- مدریت محترم گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

۴- پرسنل محترم گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به ویژه خانم ها، امینی، غفاری و مرادیان.

همچنین لازم می دانم که از خانواده بزرگوارم، زحمات پدر عزیز و فداکاری های مادر مهربانم ، همراهی خانواده همسرم و به ویژه همسر مهربانم که علاوه بر راهنمایی های سازنده، در این مدت همراه سختی ها و مشکلات من بودند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم.

تقدیم به:

تمام استادان و رهپویان علم و دانش،
پدر و مادر بزرگوارم
و
همسر مهربانم.

چکیده :

سرطان کلورکتال غیر پولیپی وراثتی (HNPCC) متداولترین فرم ارثی سرطان کلورکتال با شیوه توارث آتوزومال غالب می باشد. HNPCC حدوداً ۱ تا ۵ درصد سرطان های کلورکتال را در بر می گیرد و در اثر جهش های رده زاینده در ژن های MLH1 و MSH2 در حدود ۹۰ درصد موارد و ژن های MSH6 و PMS2 به میزان کمتر ایجاد می شود. هدف این مطالعه تعیین جهش های ژن MLH1 در گروهی از بیماران مبتلا به HNPCC در اصفهان می باشد.

DNA ژنومی از خون محیطی استخراج شد، سپس جهش های ژن MLH1 توسط تکنیک PCR-SSCP و تعیین توالی مستقیم DNA مشخص شدند.

ما در اینجا دو جهش جدید را در جمعیت مورد مطالعه گزارش می نماییم. هر دو جهش از نوع تغییر چارچوب می باشند. یکی از جهش ها نتیجه حذف نوکلئوتید T در کدون ۱۰۲ اگزون ۱ می باشد که باعث تولید پروتئین ناقص می گردد. جهش دیگر در اثر حذف نوکلئوتید T در کدون ۸۱۹ اگزون ۱۹ ایجاد می شود.

نوع جهش های جدید شناسایی شده در ژن MLH1 در مطالعات مختلف، متنوع می باشند. شناسایی این جهش ها در همه جمعیت ها لازم است و می تواند به مدیریت بیماری CRC از طریق بررسی، اتخاذ روش های پیشگیرانه و پیگیری خانواده های مشکوک به HNPCC، کمک نماید.

واژه های کلیدی : سرطان کلورکتال، HNPCC ، MLH1، جهش تغییر چارچوب.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول : مقدمه

۱-۱- اساس ژنتیکی سرطان ۲

۱-۲- سرطان کلورکتال ۳

۱-۲-۱- اپیدمیولوژی ۴

۱-۲-۲- مورفولوژی ۵

۱-۲-۳- عوارض بالینی ۶

۱-۲-۴- اتیولوژی و پاتوژنز ۶

۱-۲-۵- عوامل ژنتیکی ۱۱

۱-۳- تقسیم بندی سرطان کلورکتال ۱۲

۱-۳-۱- سرطان کلورکتال تک گیر ۱۲

۱-۳-۲- سرطان کلورکتال خانوادگی (FCC) ۱۳

۱-۳-۳- سرطان های کلورکتال وراثتی ۱۴

۱-۳-۳-۱- آدنوماتوس پولیپی خانوادگی (FAP) ۱۵

۱-۳-۳-۲- MAP (MYH-associated polyposis) ۱۶

۱-۳-۳-۳- سندرم های هامارتوماتوس پولیپوزیز ۱۶

۱-۴- سرطان کلورکتال غیر پولیپی ارثی (HNPCC) ۱۹

۱-۴-۱- تاریخچه ۱۹

۱-۴-۲- ویژگی های کلینیکی ۲۰

۱-۴-۳- اساس ژنتیکی ۲۲

۱-۴-۴- ناپایداری ریز ماهواره ها (MSI) در HNPCC ۲۳

۱-۵- ژن MLH1 ..... ۲۴

۱-۵-۱- جایگاه ژن MLH1 ..... ۲۴

عنوان **صفحه**

۱-۵-۲- عملکرد ژن MLH1 ..... ۲۴

۱-۵-۳- آسیب های ژن MLH1 ..... ۲۵

۱-۶- آسیب های DNA، جهش و سیستم ترمیم ۲۶

۱-۶-۱- تعریف جهش ۲۶

۱-۶-۲- آسیب های DNA و ترمیم آنها ۲۷

۱-۷- سیستم ترمیم جفت بازهای غیر مکمل DNA (MMR) ۲۸

۱-۷-۱- معرفی سیستم MMR ۲۸

۱-۷-۲- مکانیسم ترمیم در سیستم MMR یوکاریوتی ۲۸

۱-۷-۳- جهش در ژن های MMR ۳۰

۱-۸- بررسی مقالات ۳۱

۱-۹- اهداف کلی ۳۲

فصل دوم : مواد و روش ها

۲-۱- مواد و تجهیزات مورد استفاده ۳۴

۲-۲- روش تهیه محلول ها ۳۷

۲-۲-۱- محلول EDTA ۳۷

۲-۲-۲- محلول TBE (×10) ۳۷

۲-۲-۳- محلول اتیدیوم بروماید ۳۷

۲-۲-۴- محلول های مورد استفاده در روش SSCP ۳۷

۲-۳- استریل کردن ۳۸

۲-۴- روش انتخاب بیماران ۳۸

۲-۴-۱- روش نمونه گیری از بیماران ۳۹

۲-۵- استخراج DNA ۳۹

۲-۵-۱- روش استخراج DNA با کیت DNG^{TM}-Plus محصول شرکت سیناژن ۳۹

عنوان **صفحه**

۲-۵-۲- روش تعیین خلوص DNA استخراج شده ۴۰

۲-۵-۳- روش تعیین غلظت DNA استخراج شده ۴۰

۲-۶- الکتروفورز ۴۱

۲-۶-۱- روش انجام الکتروفورز ۴۱

۲-۶-۲- ژل آگارز ۴۳

۲-۶-۳- مارکرهای اندازهٔ DNA (Molecular weight markers) ۴۴

۲-۶-۴- بارگذاری DNA استخراج شده روی ژل آگارز ۴۵

۲-۷- تکنیک PCR ۴۵

۲-۷-۱- اصول کلی واکنش زنجیره ای پلیمرازی (PCR) ۴۵

۲-۷-۲- عوامل مورد نیاز برای انجام یک واکنش PCR ۴۷

۲-۷-۳- پرایمر ها ۴۷

۲-۷-۴- روش انجام تکنیک PCR ۴۸

۲-۷-۴-۱- مواد و حجم های مورد نیاز برای انجام واکنش PCR ۴۸

۲-۷-۴-۲- برنامه تعیین شده برای واکنش PCR ۴۹

۲-۷-۴-۳- PCR اگزون های منتخب ژن MLH1 ..... ۵۰

۲-۷-۵- بهینه سازی PCR ۵۲

۲-۷-۶- استفاده از کنترل منفی در واکنش های PCR ۵۴

۲-۷-۷- آنالیز محصولات PCR (الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز) ۵۴

۲-۸- تکنیک SSCP ۵۴

۲-۸-۱- ترکیبات مورد نیاز برای تهیه ژل پلی آکریل آمید ۵۵

۲-۸-۲- روش تهیه ژل پلی آکریل آمید جهت الکتروفورز عمودی SSCP ۵۶

۲-۸-۳- انجام مرحله الکتروفورز SSCP ۵۶

۲-۸-۴- بهینه سازی شرایط SSCP ۵۷

۲-۹- رنگ آمیزی نیترات نقره ۵۸

عنوان **صفحه**

۲-۱۰- تعیین توالی DNA ۵۹

۲-۱۰-۱- خالص سازی DNA از ژل آگارز با استفاده از کیت Fermentas ۵۹

فصل سوم : نتایج

۳-۱- بررسی نتایج استخراج DNA ۶۲

۳-۲- نتایج حاصل از بهینه سازی PCR ۶۳

۳-۲-۱- بهینه سازی دمای اتصال ۶۳

۳-۲-۲- بهینه سازی غلظت آنزیم Taq polymerase ۶۴

۳-۲-۳- بهینه سازی غلظت $MgCl_2$ ۶۵

۳-۲-۴- بهینه سازی غلظت پرایمر ۶۶

۳-۳- بررسی محصول PCR بر روی ژل آگارز ۶۷

۳-۴- نتایج SSCP ۶۷

۳-۵- نتایج تعیین توالی مستقیم DNA و آنالیز بیوانفورماتیک ۷۱

۳-۵-۱- تعیین توالی مستقیم و آنالیز بیوانفورماتیک قطعه 9Z (اگزون ۱ ژن MLH1) ۷۲

۳-۵-۲- تعیین توالی مستقیم و آنالیز بیوانفورماتیک قطعه 14S (اگزون ۱۹ ژن MLH1) ۷۴

فصل چهارم : بحث ۷۸

پیوست ها

پیوست ۱ : پرسشنامه طرح تحقیقاتی ۸۴

پیوست ۲ : فرم رضایت آگاهانه شرکت در طرح تحقیقاتی ۸۵

منابع ۸۶

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱ : قسمت های مختلف روده بزرگ و کولون ۵

شکل ۱-۲ : جایگاه ژن MLH1 بر روی کروموزوم 3p21.3 ..... ۲۶

شکل ۱-۳ : سیستم ترمیم جفت بازهای غیر مکمل در یوکاریوت ها ۳۰

شکل ۲-۱ : قطعات موجود در مارکر اندازه DNA (100bp) ۴۴

شکل ۳-۱ : نتیجه استخراج DNA از خون محیطی ۱۰ نمونه از بیماران با استفاده ازکیت DNG^{TM}-Plus سیناژن ۶۳

شکل ۳-۲ : گرادیان دمایی اعمال شده برای اگزون ۱۵ ژن MLH1 به طول ۲۶۹ جفت باز ۶۴

شکل ۳-۳ : بهینه سازی غلظت $MgCl_2$ برای اگزون ۱۶ ژن MLH1 ..... ۶۵

شکل ۳-۴ : بهینه سازی غلظت پرایمر برای اگزون ۱۹ ژن MLH1 به طول ۲۶۰bp ۶۶

شکل ۳-۵ : محصول PCR اگزون ۱۳ ژن MLH1 پس از الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ۱/۵٪ ۶۷

شکل ۳-۶ : بررسی اثر ولتاژ و زمان الکتروفورز بر تفکیک باندها روی ژل پلی آکریلامید۱۰٪ در تکنیک SSCP ۶۹

شکل ۳-۷ : تصویر ژل SSCP اگزون ۱۹ (260bp) ژن MLH1 پس از رنگ آمیزی با نیترات نقره ۷۰

شکل ۳-۸ : تصویر ژل SSCP اگزون ۱ (193bp) ژن MLH1 پس از رنگ آمیزی با نیترات نقره ۷۱

شکل ۳-۹ : بخشی از توالی قطعه 9Z مربوط به اگزون ۱ ژن MLH1 ..... ۷۲

شکل ۳-۱۰ : تطابق قطعه تعیین توالی شده 9Z (Query) با رشته الگوی اگزون ۱ (Subject) ژن MLH1..... ۷۲

شکل ۳-۱۱ : توالی mRNA اگزون ۱ ژن MLH1 به طول ۳۱۴ جفت باز ۷۳

شکل ۳-۱۲ : بخشی ازتوالی اسید آمینه ای ابتدای پروتئین MLH1 ..... ۷۴

شکل ۳-۱۳ : بخشی از توالی قطعه 14S مربوط به اگزون ۱ ژن MLH1 ..... ۷۵

فهرست شکل ها

شکل ۳-۱۴ : تطابق قطعه تعیین توالی شده 14S (Query) با رشته الگوی اگزون ۱۹ (Subject) ژن MLH1 ..... ۷۵

شکل ۳- ۱۵ : توالی mRNA اگزون ۱۹ ژن MLH1 به طول ۳۶۱ جفت باز ۷۶

شکل ۳- ۱۶ : بخشی ازتوالی اسید آمینه ای انتهای پروتئین MLH1 ..... ۷۶

فهرست جدول ها

جدول ۱-۱ : جهش در ژن های دخیل در سرطان کولون ۱۴

جدول ۱-۲ . سندرم های پولیپی روده ای- معده ای وراثتی و ژن های دخیل در آنها ۱۸

جدول ۲-۱ : لیست تجهیزات مورد استفاده در مطالعه حاضر بر اساس حروف الفبا ۳۴

جدول ۲-۲ : لیست مواد مصرفی در مطالعه حاضر بر اساس حروف الفبا (A-Z) ۳۵

جدول ۲-۳ : غلظتهای مختلف آگارز مورد استفاده در آنالیز اندازه های مختلف DNA ۴۲

جدول ۲-۴ : مواد مورد استفاده برای واکنش PCR به حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر ۴۹

جدول ۲-۵ : برنامه تعیین شده برای PCR اگزون های ژنMLH1 ..... ۵۰

جدول ۳-۱ : دو جهش یافت شده در ژن MLH1 در مطالعه حاضر ۷۷

Abbreviations

CRC : Colorectal Cancer

MMR : Mismatch Repair

FAP : Familial Adenomatos Polyposis

HNPCC: Hereditary Non-polyposis Colorectal Cancer

APC : Adenomatous Polyposis Coli

DCC : Deleted in Colorectal Carcinoma

FCC : Familial Colorectal Cancer

AFP : Attenuated Familial Polyposis

MAP : MYH-Associated Polyposis

PJS : Peutz Jeghers Syndrome

FJP : Familial Juvenile Polyposis

GI : Gastrointestinal

BMPR1A : Bone Morphogenic Protein Receptor 1A

SMAD4 : Mothers against decapentaplegic homolog 4

ENG : Endoglin

MSI : Microsatellite Instability

MLH : MutL homolog

MSH : MutS homolog

PMS : Post Meiotic Segregation

PCNA : Proliferating cell Nuclear Antigen

PCR : Polymerase Chain Reaction

SSCP : Single Strand Conformation Polymorphism

PTT : Protein Truncation Test

HA : Heteroduplex Analysis

DGGE : Denaturing Gradiant Gel Electrophoresis

DHPLC : Denaturing High-Performance Liquid Chromatography

فصل اول

مقدمه

۱-۱ اساس ژنتیکی سرطان

سرطان یک بیماری ژنتیکی است که در اثر تجمع جهش در ژن های حیاتی کنترل کننده رشد و تمایز سلول ها رخ می دهد [Olopade and Pichert.,2001]. سلول های سرطانی عموماً حاوی آسیب های بسیاری در تعداد و ساختار ژن ها و کروموزوم هایشان می باشند [Schulz.,2005]. سرطان یک بیماری واحد نیست بلکه نامی است که برای بسیاری از نئوپلازی ها[1] به کار می رود. فرایند بیماری به صورتی است که تکثیر کنترل نشده سلول ها منجر به ایجاد یک توده یا تومور (نئوپلاسم) می شود. برای اینکه یک نئوپلاسم سرطان تلقی شود، باید بدخیم[2] باشد یعنی قدرت تهاجم به بافت های مجاور و گسترش به نواحی دورتر را داشته باشد که به آن متاستاز می گویند [Schulz.,2005].

بسیاری از جهش های دخیل در سرطان ، جهش های سوماتیک هستند و تنها در سلول های بافت سرطانی شخص یافت می شود. اما در حدود یک درصد از همه سرطان ها، در افراد دارای یک سندرم سرطان وراثتی ایجاد می شود. این افراد حامل جهش رده زاینده در هر سلول بدنشان می باشند [Lynch and Lynch., 2000]. همه سلول های یک موجود دارای DNA ای هستند که دقیقاً همانند DNA موجود در سلول تخم (زیگوت) می باشد. به جهشی که در مرحله زیگوت و یا قبل از این مرحله از نمو اتفاق بیفتد، اصطلاحاً جهش رده زاینده اطلاق می شود [Calvert and Frucht.,2002]. جهش های رده زاینده از والدین به ارث می رسند و در هر سلول بدن موجود می باشند [Chen and Hunter.,2005].

ژن هایی که معمولاً در سرطان های انسانی جهش می یابند ، سه دسته اند : آنکوژن ها ، ژن های سرکوبگر تومور و ژن های ترمیم جفت بازهای غیر مکمل DNA [Chung and Rustgi.,1995]. آنکوژن ها، نوعی ژن های جهش یافته هستند که عملکرد یا بروز تغییر یافته آنها موجب تحریک غیر طبیعی تقسیم و رشد سلولی می گردد. جهش فعال کننده آنکوژن ها می تواند در خود آنکوژن، در عناصر تنظیم کننده آن و یا حتی در تعداد نسخه های ژنومی آن باشد و به عملکرد تنظیم نشده و یا بروز مفرط محصول

1 - neoplasia
2 - malignant

آنکوژنی منجر شود. آنکوژن ها در سطح سلول اثر غالب دارند بدین معنا که وقتی تنها یک آلل جهش یافته آن فعال شود و یا بیش از حد بروز کند، برای تغییر دادن فنوتیپ سلول از طبیعی به بدخیم کافی است [Sherr.,1996].

ژن های سرکوبگر تومور نخستین بار در مطالعات Knudson در مورد اپیدمیولوژی رتینوبلاستومای دوران کودکی شرح داده شد [Knudson.,1971; Knudson.,1985]. Knudson اصطلاح آنتی آنکوژن را برای این ژن ها به کار برد و متوجه شد که آنها در حالت مغلوب ایجاد سرطان می کنند. به این معنی که اگر تنها یک آلل ژن طبیعی باشد، سلول رشد کنترل شده خواهد داشت و تنها در صورتی که هر دو کپی آلل غیر فعال باشد، ژن عملکرد خود را از دست می دهد. هنگامی که یک ژن سرکوبگر تومور دارای جهش رده زاینده به ارث برسد، سلول تنها دارای یک آلل طبیعی می باشد و از لحاظ ژنتیکی هتروزیگوت است و می تواند عملکرد طبیعی داشته باشد، اما جهش در همین یک آلل طبیعی کافی است تا ژن عملکردش را از دست بدهد [Knudson.,1971]. هنگامی که دو کپی ژن طبیعی هستند، جهش در دو آلل لازم است تا ژن فاقد عملکرد شود. این فرضیه توضیح می دهد که چرا سرطان های وراثتی نسبت به بیماری های تک گیر سن بروز پایین تری دارند [Calvert and Frucht.,2002].

آنزیم هایی که پس از همانند سازی DNA، رشته جدید را بررسی می کنند و خطاهای همانند سازی را تصحیح می نمایند، سیستم ترمیم جفت بازهای غیرمکمل DNA (MMR[1]) خوانده می شوند. نقص در ژن های MMR سبب یک فنوتیپ مستعد جهش می گردد. در سطح سلولی، بارزترین فنوتیپ سلول هایی که فاقد هر دو آلل این ژن ها می باشند، افزایش شدید جهش های نقطه ای و ناپایداری قطعات DNA حاوی توالی های ساده تکراری است که در نتیجه سبب تجمع اشتباهات در ژنوم می گردد [Chung and Rustgi ., 1995].

۱-۲ سرطان کلورکتال

سرطان کلورکتال(CRC[2]) یکی از شایع ترین سرطان ها درمردها و زن ها می باشد [Calvert and Frucht., 2002]. در کشور های در حال توسعه CRC به عنوان ششمین یا هفتمین و در کشور های توسعه

1 - mismatch repair
2 - Colorectal Cancer

یافته دومین عامل مهم مرگ های ناشی از سرطان شناخته می شود [Giraldo *et al*.,2005]. سرطان کلورکتال در مردان بعد از سرطان ریه و پروستات قرار دارد و در خانم ها بعد از سرطان پستان می باشد [Peltomaki *et al*.,1983].

حداکثر شیوع کارسینومای کلورکتال در سن ۶۰ تا ۷۰ سالگی می باشد و کمتر از ۲۰ درصد موارد آن قبل از ۵۰ سالگی به وجود می آید [Beart *et al*.,1983]. علاوه بر سن و سال ، نحوه زندگی ویا فاکتورهای محیطی نیز در ابتلا به سرطان کولون موثر می باشند. بعلاوه پیشینه خانوادگی نیز یک فاکتور خطر برای ابتلا به سرطان کلورکتال می باشد. FAP[1] و HNPCC[2] که روی هم ۵ درصد از موارد سرطان کولون را به خود اختصاص می دهند، وراثتی می باشند [Ballinger and Anggiansah.,2007; Winawer *et al*.,2003]. در بسیاری از موارد، سرطان کلورکتال از پولیپ های دیس پلازی آدنوماتوس ناشی می شوند. این یک فرایند چند مرحله ای است که در بر گیرنده غیر فعال شدن دسته از ژن های سرکوبگر تومور و ژن های ترمیم کننده DNA و فعال شدن همزمان آنکوژن ها می باشد. این امر سبب رشد سلول های اپیتلیالی شده و اپیتلیوم نرمال را به پولیپ های آدنوماتوس و نهایتاً به سرطان کلورکتال تهاجمی تبدیل می کند [Arnold *et al*.,2005].

۱-۲-۱ اپیدمیولوژی

بر طبق آمار سازمان سلامت جهانی[3]، در سال ۱۹۹۶ میلادی ۹۰۰۰۰۰ سرطان کلورکتال در دنیا تشخیص داده شد که ۸/۵ درصد آنها جزء موارد جدید ابتلا به این سرطان بود . میزان پراکندگی سرطان کلورکتال به توجه به ناحیه جغرافیایی و سبک زندگی متفاوت می باشد و از ۵- ۰/۶ مورد در یکصدهزار نفر در سال در کشورهای سنگال و هند تا ۵۰-۷۰ مورد در کشور های توسعه یافته امریکای شمالی ، استرالیا ، نیوزیلند متفاوت است. این اختلاف ها معمولاً به علت فاکتورهای مربوط به رژیم غذایی و دیگر عوامل محیطی می باشد [Weisburger.,1991].

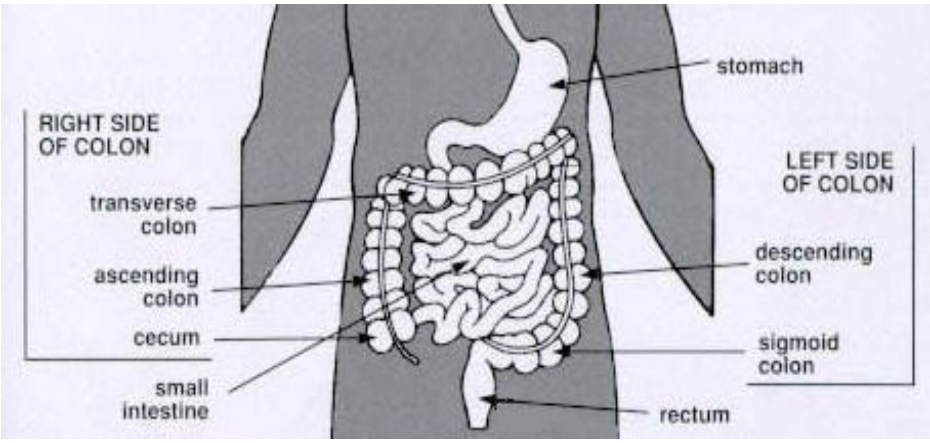
میزان شیوع سرطان کولون برای مردان ، در ژاپن و هیروشیما و برای خانم ها در نیوزلند بیشتر است . فراوانی سرطان رکتال در مردان نسبت به زنان بیشتر از دو برابر است در حالیکه تومور های کولون با

1 - Familial Adenomatos Polyposis
2 - Hereditary Non-polyposis Colorectal Cancer
3 - World Health Organization

فراوانی مساوی در دو جنس اتفاق می افتد . طول مدت زنده ماندن بیمار پس از تشخیص سرطان کلورکتال بسیار متنوع است. در امریکا و در چندین کشور اروپایی ، در حدود ۵۰-۵۵ درصد از بیماران در حدود ۵ سال زنده می مانند در حالیکه در بسیاری از کشور های اروپای شرقی، تنها ۳۰-۳۵ درصد افراد ۵ سال زنده می مانند. علت این اختلاف روشن نشده است و احتمالاً به علت تشخیص در مراحل مختلف می باشد [Ponz de Leon and Roncucci.,2000].

۱-۲-۲ مورفولوژی

در حدود ۲۵ درصد سرطان کلورکتال در سکوم و کولون صعودی ایجاد می شود و همین مقدار در رکتوم و بخش انتهای سیگموئید واقع شده اند. ۲۵ درصد نیز در کولون نزولی و بخش پروگزیمال سیگموئید قرار دارند و ۲۵ درصد بقیه در بخش های دیگر کولون پراکنده اند. تومور های بدخیم بخش پروگزیمال کولون عموماً به صورت Polipoid و توده Exophytic رشد می کنند که در این حالت انسداد روده نادر می باشد. در حالیکه بدخیم های دیستال به صورت حلقوی[1] رشد می کنند که منجر به تنگی مجرای روده بزرگ می شوند. هر دو فرم رشد نئوپلاسم به دیواره روده نفوذ می کنند که به صورت یک توده سفت در زیر لایه سروزی ظاهر می شوند [Beart *et al.*,1983]. در حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد سرطانهای کلورکتال در زمان تشخیص متاستاز داده اند و کبد شایعترین عضو برای متاستاز سرطان کلورکتال می باشد که از طریق ورید های رکتال فوقانی و انتقال به این عضو صورت می گیرد [Beart *et al.*,1983].



شکل ۱-۱ : قسمت های مختلف روده بزرگ و کولون. (www.macgn.org-images.hnpcc)

1 - Annular

۱-۲-۳ عوارض بالینی

سرطان کلورکتال سال ها ممکن است بدون علامت باشد. بدخیمی های سمت راست روده بزرگ که شامل سکوم ، کولون صعودی و خم راست کولون می باشند همراه با خستگی ، ضعف ، آنمی فقر آهن همراه می باشند. در حالیکه نئوپلاسم های سمت چپ کولون توام با خونریزی پنهان، تغییر در اجابت مزاج و کرامپ ربع تحتانی سمت چپ شکم می باشند [Vinary and Robbin.,2003].

۱-۲-٤ اتیولوژی و پاتوژنز

گرچه اتیولوژی و پاتوژنز سرطان روده بزرگ به طور کامل شناخته نشده است ولی مجموعه ای از عوامل محیطی و ارثی در پاتوژنز این بیماری نقش دارند [Leach *et al*.,1993; Miller *et al*.,1989]. سبک زندگی یکی از عوامل موثر در میزان شیوع سرطان کلورکتال محسوب می شود.

فاکتور های محیطی اصلی که با افزایش یا کاهش خطر ابتلا به بدخیمی های کلورکتال در ارتباط اند، عبارتند از :

الف) رژیم غذایی و ریزمغزی ها[1] :

همانند دیگر تومور های ارگان های گوارشی، فاکتورهای غذایی خاص با سرطان کلورکتال در ارتباط می باشند. اندازه گیری اختصاصی اثر یک ماده غذایی منحصر به فرد در مطالعاتی که در آن اشخاص باید نوع ، مقدار و فراوانی غذایی که به طور مرتب در سال های پیش مصرف می کرده اند را به یاد آورند، مشکل می باشد. در بین مواد غذایی مصرف گوشت قرمز و چربی های اشباع (از منابع حیوانی) به نظر می رسد که سبب افزایش خطرابتلا به سرطان کلورکتال می گردد. به طور کلی رژیم غذایی غنی از سبزی ها و میوه ها از ابتلا به سرطان کلورکتال حفاظت می نمایند و این به علت محتوای فیبری آنها و دارا بودن ریزمغزی های فراوان می باشد [Wilmink.,1997; Harshman and Aldoori., 2007]. فیبر از طریق مکانیسم های متفاوتی سبب حفاظت در مقابل سرطان کلورکتال می گردد که شامل موارد زیر است :

- کاهش در طول مدت انتقالات روده ای که سبب کاهش زمان تماس کارسینوژن های مفروض با سلول های موکوسی می شود.

- تسهیل عمل دفع.

1 - Micronutrients