مقاله بازآموزی

بر اساس تصویب دفتر بازآموزی جامعهٔ پزشکی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به پاسخ دهندگان پرسشهای مطرح شده در این مقاله امتیاز بازآموزی تعلق می گیرد.

ژنتیک مولکولی، ژن درمانی و چشم اندازهای آن دربیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

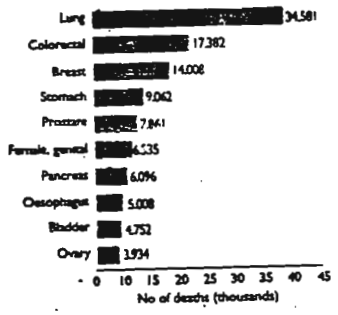
دکتر محمد رضا نوری دلوئی[1]، مونا حسینی[2]

مقدمه:

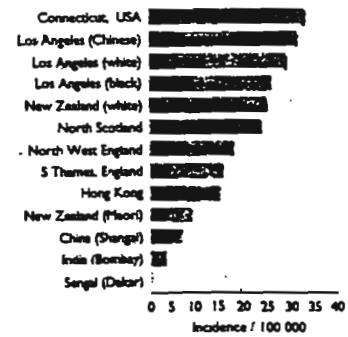
۱-همه گیرشناسی:

سرطان کولورکتال، یکی ازبزرگترین کلات سلامت عمومی درکشورهای پیشرفته ، به نحوی که پس ازسرطان ریه، دومین لان شایع محسوب می شود وازحیث مرگ رهای ناشی ازسرطان نیز دومین رتبه را به اختصاص داده است(شکل شماره۱) (۵) . رین میزان شیوع این سرطان در ایالات عده آمریکا، انگلستان، کانادا و سوئد رش شده است. با این وجود دارای انتشار نی است و درآسیا وآفریقا نیزهمه ساله موارد دی از آن گزارش می شود (شکل شماره۱). ه براین مطالعات انجام شده روی جمعیت مهاجر، تغییرات قابل ملاحظه ای را زان شیوع سرطان کولون نشان داده است. مثال در ژاپنیها شیوع سرطان کولورکتال ر از آمریکائیهاست، ولی در خانواده های که به آمریکا مهاجرت کرده اند، پس از ثبت یک نسل، ریسک ابتلا به سرطان، ه جمعیت آمریکائی می شود (۴۱).

ر ایران، پیش از به اجراء درآمدن طرح ثبت موارد سرطانی، برابر آمار موجود در بخش آسیب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی تهران، بین



Deaths from cancers in England and Wales, 1989.



Global variation in colorectal cancer.

شکل شماره ۱- آمار مرگ و میر و شیوع سرطان کولورکتال

سالهای ۱۳۲۰تا۱۳۵۲، سرطان کولورکتال ۲/۰۲٪ سرطان های کشور را تشکیل می داد (جدول شماره۱) (۴۲و۴۳). همچنین بر اساس آمار آسیب شناسی که به مدت ۲۴ سال بین سالهای ۱۳۳۵تا۱۳۵۹ در بخش آسیب شناسی بیمارستان امام خمینی(مؤسسه سرطان) به دست آمده است، شیوع سرطان کولون ۲/۸٪ وسرطان رکتوم ۷/۳٪ گزارش شده است (جدول شماره۲) (۴۱).

برابراین گزارش دراین محدوده زمانی شیوع سرطان رکتوم در ایران تقریباً بیش از دو برابرسرطان کولون می باشد. به علاوه براساس بررسی های به عمل آمده، شانس ابتلاء مردان دو برابر زنان بوده است (۵۵). در سال ۱۳۶۳، قانون ثبت وگزارش اجباری بیماریهای سرطانی درمجلس شورای اسلامی به تصویب رسید وبه استناد این قانون درسال ۱۳۶۵، بیش از ۱۹۸۹۰ مورد سرطان از سراسرکشورتوسط سازمان مبارزه با سرطان ثبت گردید، که ازاین مقدار۴۴۷مورد (۲/۲۵٪) مربوط به سرطان کولورکتال بود که رتبه یازدهم را در بین مجموع سرطانها به خود اختصاص داد(۴۱و۴۳). با

نشیار ژنتیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی تهران
ارشناس ارشد ژنتیک

وجود این، متاسفانه هنوز آمار منسجم، هماهنگ ودقیقی از میزان شیوع این سرطان در ایران

سرطان	مرد	درصد	زن	درصد	هردوجنس	درصد
کولون و رکتوم	۴۹۴	۲/۱	۳۳۰	۱/۸	۸۲۴	۲/۰۲
کل	۲۲۹۴۰	۱۰۰	۱۷۷۵۰	۱۰۰	۴۰۶۹۰	۱۰۰

جدول شماره ۱ موارد سرطان بر حسب موضع و جنس از ۱۳۲۰ تا ۱۳۵۲؛ موارد تشخیص داده شده در آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی تهران

دردست نیست واطلاعات موجود به صورت پراکنده و به طور عمده ثمره پژوهش های غیر متمرکز پژوهشگران ایرانی است.این موضوع ضرورت تأسیس اصولی دفاتر ثبت آمار سرطان را، دست کم در مراکز استانهای کشور که آمارهای سالانه خودرا به دفتر مرکزی ثبت آمارسرطان در تهران ارسال دارند، بیش از پیش به اثبات می رساند.

سرطان کولورکتال به طور عمده بیماری افراد مسن است، اگرچه احتمال وقوع آن در هر سنی می رود. بیش از ۵۰ درصد بیماران بالای ۶۰ سال سن دارند وحداکثروقوع آن در بین ۸۰-۷۰ ساله ها دیده می شود(۴). هنگامی که سرطان کولون پیش از سن ۴۰ سالگی اتفاق می‌افتد، به طور معمول زمینه ارثی وجود داشته است وبه علاوه، شانس ابتلاء به این سرطان در مردان وزنان نسبتاً یکسان است(۳).

۲- علت شناسی:

به طور کلی دو دسته عامل، در پیدایش سرطانهای کولورکتال نقش عمده دارند: عوامل محیطی و عوامل ارثی. که بر این اساس سرطانهای کولورکتال نیزبه دوگروه قابل تقسیم اند (دراین خصوص درصفحات بعد مطالب تفضیلی ارائه شده است).

عوامل محیطی:

پژوهشگران عوامل محیطی را هم درمرحله آغاز(initiation) وهم درمرحله پیشرفت (promotion) سرطان کولون دخیل می دانند. شماری از آنها ویروسهایی چون ویروس سیتومگال را دربافت های سرطانی کولون یافته اند و برخی دیگرقرارگرفتن در معرض اشعه های رادیواکتیورا مقدمه ابتلاءبه سرطان کولون می دانند (۳). درهرحال همگی اتفاق نظر دارند که عوامل غذایی سهم عمده ای در پیدایش سرطان کولون دارند، که مهم ترین آنها به شرح زیر است:

۱- فیبرهای غذایی : فیبرهای غذایی به عبورمواد دفعی از داخل روده سرعت می بخشد و موجب افزایش حجم مواد دفعی نیز می شود.افزایش سرعت عبور، مدت زمانی را که سرطان‌زاها یا پیش سازهای آنها درتماس بامخاط کولون قرارمی گیرند، کاهش می دهد وحجم زیاد مدفوع موجب کاهش غلظت این مواد می شود. کمبود فیبرهای سبزی ومیوه دررژیم غذایی، یکی ازعلل عمده بروز سرطان کولون تشخیص داده شده است (۳).

۲- چربی ها: مصرف زیاد چربی ها سبب افزایش سنتز اسیدهای صفراوی وکلسترول توسط کبد می گردد که توسط مدفوع دفع می گردد و می توانند به وسیله باکتریهای فلور طبیعی روده به سرطان زاهای قوی تبدیل شوند (۳).

۳- قندها: مصرف زیاد شکرتصفیه شده نیزیکی از علل احتمالی ابتلاء به سرطان کولون گزارش شده است (۵).

۴- ویتامین ها: ویتامین های E,C,A که درسبزیها ومیوه ها وجود دارند همه به عنوان عوامل اکسیدان عمل می کنند و می توانند سلولها را ازاثرات سمی رادیکال آزاد اکسیژن، که درخلال فرآیندهای داخل سلولی تولید می شود وبا خاصیت اکسیدکنندگی خود به مولکول DNA آسیب می رساند، محافظت نمایند. کمبود این ویتامین هادررژیم غذایی، زمینه ابتلاء به سرطان کولون را فراهم می آورد (۵).

۵-کلسیم: کلسیم توسط فرایند صابونی کردن، نمکهای صفراوی و چربیها را در مجرای روده به هم متصل می کند و در نتیجه مانع از اثرات مضر این مواد در تکثیر بیش ازحد سلولی می گردد. همچنین این ماده میزان آنزیم های اورنی تین دکربوکسیلاز و پروتئین کیناز را که درتکثیر سلولی دخالت دارند کاهش می دهد وکاهش جهش های ژن ras دراثرآن به اثبات رسیده است (۵).

۶-الکل وتوتون: مصرف الکل سبب تولید متابولیت های سرطان زا به وسیله کبد می‌شود. ثابت شده است که مصرف سیگار نیزعامل

سرطان	تعداد	درصد
کولون	۳۳۹	۲/۸
رکتوم	۸۶۶	۷/۳
کل	۱۱۸۴۳	۱۰۰

جدول ۲: توزیع سرطان های کولورکتال برحسب محل، بدون توجه به جنس بیماران در ۱۱۸۴۳ مورد (بین سال‌های ۱۳۳۵ تا ۱۳۵۹)

مستعدکننده ای برای ابتلاء به سرطان کولورکتال است.

۷-خطرات شغلی: گذشته ازعوامل غذائی، عوامل خطرسازصنعتی وشغلی نیزدرپیدایش سرطان کولون دخیل هستند. خطرابتلاء به سرطان کولون هستند. خطرابتلاء به سرطان کولون در کارگرانی که با آسیستوز، پلی پروپیلن، اکریلونیتریل، اتیل اکریلات، الیاف مصنوعی، هالوژنها، موادرنگ کننده، روغن ها، ذرات وبخارات فلزی و برخی محلول های آلی سروکاردارند، بیش از سایرافراد گزارش شده است (۵).

۸-بیماریهای زمینه ساز: بیماریهایی غیرارثی وجود دارند که زمینه ابتلاء به سرطان کولون را فراهم می آورند. ازاین دسته می توان به بیماریهایی چون کولیت اولسراتیو(التهاب زخم دارکولون) وکولیت گرانولومایی (بیماری کرون) وسنگ کیسه صفرا اشاره کرد (۵). علاوه براین، سندرومها وبیماریهای ارثی نیزشناخته شده اند، که با انواع ارثی سرطان کولورکتال ارتباط تنگاتنگ دارند که درزیرشرح آنها داده شده است.

عوامل ارثی:

سندرومهای ارثی وجود دارند که با سرطانهای ارثی کولون ورکتوم درارتباط هستند. این سرطانها برمبنای شکل آسیب های بافتی که ایجاد می کنند، به دودسته قابل تقسیم می باشند (جدول شماره۳) (۲۹):

۱-سندرومهای پولیپ دار (Polyposis Syndrome): از مهمترین این سندرومها، نشانگان پولیپوز آدنومایی ارثی (Familial Adenomatous Polyposis) یا به اختصار FAPاست. اصطلاح پولیپ به توده تومووری شکلی گفته می شود که به سمت لومن روده بیرون زده است. پولیپ ها به طور معمول خوش خیم هستند، اما گاهی تغییراتی درآنها رخ می دهد وبه شکل آدنوم در می آیند که پیش سازهای سرطان به حساب آمده ومی توانند به تومورهای بدخیم تبدیل شوند (۱). سندروم های FAP واجد پولیپ های آدنومایی بی شماری است که سطح مخاطی کولون را مفروش کرده است. به همین خاطربه آن پولیپ های متعدد آدنومایی کولون (Adenomatous Polyposis Coli) یا به اختصار APC نیزگفته می شود. الگوی توارثی این سندروم به صورت غالب آتوزومی می باشد. ازدیگرویژگیهای مهم FAP، این است که اکثریت پولیپ های آن در قسمتهای انتهایی کولون (طرف چپ کولون) ایجاد می شوند. سن متوسط شروع ایجاد پولیپ، دهه دوم یاسوم زندگی است که در عرض ۱۰-۱۵ سال بعد منجربه بروز سرطان کولون می شود. ازدیگر سندرومهای پولیپ دارکولون می توان به سندروم گاردنروسندروم تورکوت اشاره کرد که خصوصیات اصلی آنها مشابه سندروم FAP می باشد (۱و۲).

۲-سندرومهای بدون پولیپ کولون (Nonpolyposis Syndrome): دسته دیگری از سندرومهای ارثی کولون که براساس الگوی توارثی غالب آتوزومی به ارث می رسند، پولیپ عای مشخصی ظاهر نمی سازند. این سندروم را به طور کلی به نام کاشف آنها، سندروم لینچ (Lynch Syndrome) می خوانند وبرحسب انواع سرطانهایی که ایجاد می کنند به دونوع تقسیم می شوند:

الف) سندروم لینچ I : در خانواده های مبتلا به این سندروم، سرطان ارثی موضعی کولون (Heriditary - site specific colon cancer) به وجود می آید (جدول شماره۳)، که تظاهرات فنوتیپی آن شامل تومورهای قسمت ابتدائی کولون است. این سرطان به اختصارHNPCC نامیده می شود ودرصفحات پیش رو توضیحات بیشتری ارائه شده است.

ب) سندروم لینچ II: وجه تمایز این سندروم ازنوع I، وقوع بدخیمی هایی درخارج از کولون، همزمان باهم یا به طورغیرهمزمان، می باشد. افراد مبتلا به این نوع سندروم خانوادگی درمرحله ای اززندگی، دچارتومورهایی دراندامهایی ازبدن مانند رحم، تخمدان، کلیه، معده ودوازدهه می شوند که سرطانهای تخمدان وآندومتر رحم شایعترین آنها هستند (۶و۱۷و۱۹). زنان مبتلا به این سرطانها، سرطان کولورکتال را به فرزندان خود انتقال می دهند، بدون اینکه خود مبتلا به آن بوده باشند. ازاین رو سندروم لینچ II را سندروم خانوادگی سرطان (Cancer family syndrome) نیز می نامند (جدول شماره۳) (۲۹).

The Inherited Colorectal Cancer syndromes
Polyposis forms
Adematous polyposis coli
The Turcot syndrome
Nompolyposis forms
Hereditary site - specific colon cancer
(Lynch syndrome I)
The Cancer family syndrome (Lynch synfrome II)

جدول شماره۳ سندروم سرطان های موروثی کولورکتال

۳- انواع سرطانهای کولورکتال (CRC):

سرطانهای کولورکتال به دو گروه قابل تقسیم می باشند:

الف) انواع پراکنده: هنگامی که هیچ استعداد خانوادگی وزمینه ارثی وجود نداشته است.

ب) انواع ارثی: هنگامی که براساس قوانین وضوابط مشخص، بررسی های شجره نامه ای نشان دهنده الگوی ثابت وراثتی این صفت ازنسلی به نسلی دیگرباشد.

رده بندی بالا اساساً برملاحظات بالینی سرطان کولورکتال استواراست وتفاوتی درژنتیک مولکولی دگرگونیهای بدخیم انواع پراکنده وارثی وجود ندارد (۲۹). سرطانهای ارثی کولون نیز به نوبه خود، براساس سندروم ارثی مولد آنها، یا به عبارت دیگرعامل ژنتیکی که در پیدایش آنها نقش اصلی را ایفاء می کند، به دو گروه قابل تقسیم می باشند:

۱) سرطان ارثی پولیپ دارکولون:

این نوع سرطان که در ارتباط با سندروم FAP به وقوع می پیوندد، ۱٪ ازتمام سرطانهای کولورکتال را تشکیل می دهد (۶). از ویژگیهای آن که ممکن است شاخصی برای دسته بندی ژنتیکی سرطانهای کولون نیز باشد، محل تومورها درداخل کولون است. در سرطانهای FAP، تومورها اغلب در قسمت های انتهایی کولون دیده می شوند. الگوی توارثی آن غالب اتوزومی است. دربررسی مکانیسم تغییرات ژنتیکی، ابتدائی ترین تغییر درژنی با نام اختصاری Adenomatous Polyposis APC (Coli واقع بربازوی بلند کروموزوم ۵(5q 21) مشاهده می شود. چنین به نظر می رسد که نقص دراین ژن عامل اصلی پیدایش تمام سرطانهای FAP وسرطانهای پراکنده قسمت انتهایی کولون - که از مکانیسم ژنتیکی مشابهی پیروی می کنند می باشد. تغییرات دیگری نیز در آنکوژنها وژنهای بازدارنده تومور رخ می دهد که با انواع دیگر سرطانهای کولون مشترک است و در بحث ژنتیک مولکولی به تفضیل تشریح شده است (۶و۱۳و۲۹).

۲) سرطان ارثی بدون پولیپ کولون (HNPCC):

این نوع سرطان که درارتباط با سندروم لینچ- I به وقوع می پیوندد، ۱۰ تا ۱۵٪ ازسرطانهای کولون راتشکیل می دهد. HNPCC چنانچه ازنامش پیداست به طور معمول فاقد پولیپهای متعدد روده ای است. دراین نوع سرطان محل تومورها گرایش به قسمت ابتدائی کولون دارد و الگوی توارثی آن غالب آتوزومی است. در بررسی مکانیسم ژنتیکی HNPCC، تغییرات ژنتیکی ویژه ای درتوالیهای تکراری از DNA که ریزماهواره ای (Microsatelite) نام دارند، دیده می شود. این تغییرات که ناپایداریهای ریزماهواره ای نامیده می شوند، به طور عمده ناشی ازجهش درژن مسئول تعمیراشتباهات همانندسازی روی کروموزوم ۲ می باشند. این ژن، Familial Colorectal Cancer) FCC) خوانده می شود و شاخص اصلی سرطانهای ارثی بدون پولیپ کولون وسرطانهای پراکنده قسمت ابتدائی کولون - که توسط مکانیسم ژنتیکی مشابهی ایجاد می شوند، می باشد.

ژنتیک مولکولی

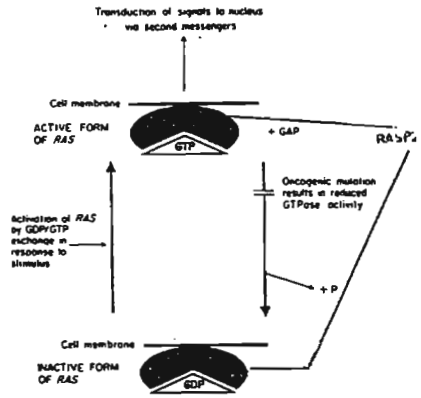
سرطان کولورکتال به دلیل دارا بودن دو ویژگی، الگویی قابل دسترس برای تجزیه وتحلیل های ژنتیکی به حساب می آید. نخستین ویژگی، چنانچه پیشتر نیز اشاره شد، شیوع بالای این سرطان است. به طور مثال تنها درایالات متحده آمریکا سالیانه ۱۵۰۰۰۰ نفررا ازپای درمی آورد. ویژگی دوم، قابلیت دسترسی به آسیب ها - مشتمل بر پولیپ ها وآدنوم ها - پیش از بدخیم شدن آنهاست. این آسیب های اولیه و نیز آسیب های سرطانی در مراحل مختلف سرطان کولون، توسط بیوپسی های کولونوسکوپی یا برشهای جراحی به آسانی قابل دستیابی هستند. از آنجا که آسیب های اولیه و پیشرفته درکنارهم یافت می شوند، این امکان نیز وجود دارد که به طور مستقیم مراحل ژنتیکی پیشرفت سرطان کولون را ارزیابی کنیم. این خصوصیات، سرطان کولورکتال را الگوی جالبی برای بررسی های ژنتیکی قرار داده است (۶). این بررسی ها نشان داده اند که در سرطان کولورکتال نیز مانند بسیاری سرطان های دیگر، عمده ترین تغییرات دردوگروه مهم ژنی - آنکوژنها، وژنهای باز دارنده تومور - رخ می دهند. درزیر ژنهایی ازاین دو دسته را که دراکثریت سرطان های کولورکتال دستخوش تغییر می شوند، مورد بررسی قرار می دهیم:

۱- فعال شدن آنکوژنها:

چنانچه می دانیم، پروتوآنکوژنها در هماهنگ ساختن وتنظیم تکثیرسلولی نقش اساسی وضروری دارند وعملکرد طبیعی آنها درجهت گسترش خزانه سلولهای نابالغ، برای ایجاد بافتها واندامهای بدن وهمچنین تقویت تقسیم مداوم سلولی در بافتهای تجدید شونده مانند بافت پوششی کولون می باشد. تغییر درفعالیت چنین ژنهایی، به واسطه جهش یا نقص درتنظیم مناسب بیان، می تواند آنها را به آنکوژنهایی تبدیل نماید که موجب تغییر سلول (Transformation) و تومورزایی (Tumorigenesis) می گردند (۵۶و۵۷و۶۴). مهمترین آنکوژنهایی که دراغلب سرطانهای کولورکتال دستخوش تغییر می شوند، عبارتند از: MYC,MYB,RAS که درزیر به شرح آنها می پردازیم:

الف) آنکوژن RAS:

در انسان سه عضو خانواده ژنی rasبه نامهای N - ras, K - ras, Ha - ras شناخته شده اند، که همگی روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱۲ قرارگرفته اند وهرکدام ازآنها یک پروتئین ۲۱ کیلودالتونی، به نام P_{21} را رمزدهی می کنند که نظرساختاری به هم شباهت دارند. این پروتئین در Ha - ras از۱۸۹ اسید آمینه ودر K-ras از ۱۹۰ اسید آمینه تشکیل شده است.



شکل شماره۲ـ مکانیسم عمل ژن RAS

پروتئین ras می تواند به نوکلئوتیدهای گوانین متصل شود و GTP را به GDP هیدرولیزنماید.

ویژگیهای اتصال به غشاء وفعالیت GTPase زپروتئین ras، مولکول مشهوری ساخته است که رانتقال علاماتی نقش دارد که ازواکنشهای گاند با گیرنده های سطح سلولی تولید ی شوند ومحرک تقسیم سلولی هستند. بنابراین نکوژن rasجزء آنکوژنهای ترارسان راهنما (Signal Transducer) به حساب می آید (۷و۸) (شکل ۲).

در۴۰٪ تا۵۰٪ سرطانهای کولورکتال، ست کم یک جهش نقطه ای فعال کننده، ریک ژن ras وجود دارد. اکثریت این جهش ها ر K - ras وبه طورعمده درکلید رمز۱۲ رخ ی دهد (۱۴). بیشترین جهش های ras درخلال راحل اولیه سرطان ـ زمان رشد آدنوم ها - جاد وانتخاب می شوند ومیزان وقوع آنها درآدنومهای بزرگ افزایش می یابد و در دگرگونی های بعدی بافت سرطانی، دوباره کاهش می یابد (۶). به عبارت دیگر، جهش های نقطه ای ras تقریباً ازنخستین مراحل پیدایش سرطان کولورکتال (به وجود آمدن ورشد آدنومها) بروزمی کنند وبتدریج به سلول هایی که متحمل این جهش ها شده اند، برتری انتخابی شدیدی می بخشند ومیزان آنها درمرحله پیشرفت (Promotion) سرطان به حداکثرمی رسد (۷).

ب) آنکوژن MYC :

خانواده ژنی MYCدرانسان دارای ۶ عضواست: L- myc, C - myc, B - myc, P - myc, R - myc, N - myc. براساس پژوهش های جاری، C - myc تنها عضوی ازاین خانواده است که درپیدایش سرطان کولورکتال درگیرمی باشد. آنکوژن C - myc، ازجمله آنکوژنهای هسته ای (Neuclear Oncogenes) می باشد (۸). ژن C - mycکه روی بازوی بلند کروموزوم ۸ ($8q_{24}$) انسانی واقع شده است، دارای سه اگزون باطول تقریبی ۶ کیلو باز می باشد. اگزون دوم، به یک پروتئین ۴۳۹ اسید آمینه ای باوزن مولکولی ۴۹ کیلودالتون ترجمه می شود. این پروتئین درهسته به شکل فسفریله شده وجوددارد ووزن مولکولی آن ۶۲ تا۶۷ کیلودالتون است. پروتئین C - myc می تواند به DNA ی تک رشته ای ودو رشته ای اتصال یابد (۱۰). این پروتئین با اتصال به محل هایی روی DNA که نقاط شروع همانندسازی هستند، نقش فعالی درسنتز DNA ایفاء می کند. بدین ترتیب سلول رابه مرحله S ازچرخه سلولی هدایت کرده وشرایط لازم رابرای تکثیرسلولی فراهم می آورد. بنابراین، افزایش فعالیت این ژن می تواند سبب تقسیم بی رویه سلولی وایجاد سلولهای بیش ازحد تکثیرشونده، یا سرطانی گردد.

فعال شدن ژن myc درتومورها، به طورمعمول درنتیجه به هم خوردن تنظیم مقداروزمان بندی بیان آنها (ونه دراثرجهش درمحصولات پروتئینی آن)، می باشد. بیان مداوم وبیش ازحد RNA وپروتئین دربسیاری ازسرطانها ازجمله سرطان کولون، به عنوان یک رویداد آغازگرایجاد تومورشناخته شده است. در۶۰ تا ۸۰٪ سرطانهای کولورکتال، میزان بیان RNA ی C-myc ، به ۵ تا ۴۰ برابرمخاط طبیعی کولون افزایش می یابد، اماخود ژن دچارتغییرچندانی نشده است. همچنین برهم خوردن تنظیم بیان C - myc دراین سلولها درسطح ترجمه نیزبه چشم می خورد. علاوه براین مشاهدات، معلوم گردیده است که اکثریت (۸۵٪) تومورهایی که C - myc را به طورمنظم بیان نمی کنند، تومورهای قسمتهای انتهایی کولون هستند. چنانچه درپیش اشاره شد، این توزیع دربیماران مبتلا به سرطانهای پولیپ دارکولون (FAP) مشاهده می شود. براین اساس، این فرضیه ازسوی پژوهشگران مطرح شد که بیان بالای C - myc ، نشانه ای برای نوعی ازسرطان است که درآن ژن FAP (APC) درگیرمی باشد. به علاوه، بیان بالای C - myc، بخش ضروری این فنوتیپ سرطانی به حساب می آید. برهم خوردن بیان ژن که به طورعمده درسطح سنتز mRNA رخ می دهد، احتمالاً ناشی ازنقص دریک ژن تنظیم کننده نسخه برداری C-myc می باشد. در ۴۷٪ تومورهایی که سطوح بالایی از C - myc رابیان می کنند، فقدان آللی (Loss Of Heterozygosity یا به اختصار LOH) روی بازوی بلند کروموزوم ۵ (5q) ، یعنی کروموزومی که ژن Apc روی آن قراردارد،دیده می شود. ازسوی دیگر، درسلولهایی که C - myc را به مقدارطبیعی بیان می کنند، هیچ نوع فقدان آللی در5qمشاهده نشده است. این نتایج به روشنی نقش ژن Apc را درتنظیم بیان C - myc

تأیید می کنند (۷).

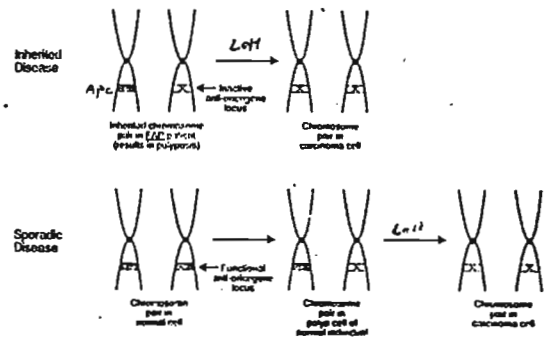
ج) آنکوژنهای MYB:

آنکوژن C - myb، ژن سلولی همتای آنکوژن ویروسی میلوبلاستوز مرغی است (Avian myeloblastosis) که نقش مهمی درتنظیم تکثیر واحتمالاً تمایزسلولی برعهده دارد. این آنکوژن نیز مانند myc جزء آنکوژنهای هسته ای است. به نظرمی رسد که بیان C - myb تا حدزیادی به سلولهای نابالغ (مانند سلولهای خونی) محدود است. اماشواهدی وجود دارند که نشان می دهند، C - myc درتومورهای بافت جامد مانند سرطان ریه، بافت عصبی وسرطان کولورکتال نیزدرگیرمی باشد. بیشتربررسی های مولکولی ژن C - myb، روی سلولهای توموری رشد یافته درمحیط آزمایشگاهی انجام گرفته است. بنابراین، این موضوع هنوزروشن نشده که ناهنجاریهای مشابه، به چه میزان دربدن موجود زنده (invivo) اتفاق می افتد. درحالیکه برخی پژوهشگران، تقویت وازدیاد ژنی (Gene Amplification) رادر ۲۵ تا ۲۷٪ از آدنوکارسینوم های کولون مشاهده کرده اند، شماری دیگر هیچگونه ازدیاد ژنی گزارش نکرده اند. البته درپژوهش هایی که درسال ۱۹۹۴ انجام گرفت، شواهدی مبنی برازدیاد ژنی C - myb نه تنها درسرطانهای کولورکتال، بلکه درتومورهای خوش خیم به ترتیب به میزان ۲۳/۸٪ و ۲۰٪ به دست آمد. گاهی نیزغیریکنواختی وناهمگنی (Heterogencity) درازدیاد ژنی C - myb، درنمونه های توموری کولون مشاهده می شود. همچنین درکمتر از ۱۰٪ آسیب های کولون (اعم ازآدنوم و آدنوکارسینوم) فرآیند بازآرایی (Rearrangement) نیزدرژن C - myb گزارش شده است. چنانچه درشکل ۶ مشاهده می شود، ازدیاد ژنی C - myb درپیشرفت آسیب های کولون ازشکل خوش خیم به بدخیم دخالت دارد (۱۱).

۲- ژنهای بازدارنده تومور وفقدان آللی:

درسال ۱۹۷۳، نادسون (Knudson) این فرضیه را مطرح کرد که سرطان کولون با دورویداد ژنتیکی (جهش) درارتباط است، بدین ترتیب که یکی ازآنها ازوالدین به ارث می رسد (ازپیش درسلولهای جنسی والدین رخ داده است) وموجب هیپرپلازی وایجاد پولیپ می شود ودیگری که دریکی ازسلولهای پولیپ اتفاق می افتد، سرطان کولون را شکل می دهد. نادسون توضیح داد که انواع پراکنده سرطان کولون نیزاین دورخداد را دربردارند، با این تفاوت که هردو جهش باید به صورت سوماتیکی (جسمی) اتفاق بیافتد. نادسون الگوی ساده ای پیشنهاد کرد که درآن ، این دورویداد ژنتیکی دردوآلل یک ژن بازدارنده تومورخ می دهد (شکل شماره۳) (۷). ژنهای بازدارنده تومور (Tumor suppressor genes) چنانچه ازنامشان پیداست، مانع تکثیربیش ازحد سلول می شوند ودرصورت مختل شدن عمل آنها، فرآیند تنظیم تولید مثل سلول دستخوش تغییرمی شود (۱۲). امروزه الگوی رایج برای توضیح نحوه غیرفعال شدن ژنهای بازدارنده تومور برنظریه دوضربه ای نادسون (Knudson's two hit theory) استواراست. این الگوتوضیح می دهد که برای غیرفعال شدن یک ژن بازدارنده تومورلازم است هردوآلل آن غیرفعال شوند. یعنی عمل این ژنها بایک مکانیسم مغلوب (recessive) مختل می شود. البته حضوریکی ازآلل های فعال (طبیعی) برای بقای خاصیت تنظیمی وحفاظت ازسلول کفایت می کند. اگرچه باید اضافه کرد که دربرخی موارد، این وضعیت هتروزیگوت (ناخالص) ممکن است موجبات افزایش رشد سلول را - که نتیجه ای ازکاهش غلظت فرآورده ژن است - فراهم آورد (تأثیرمقدارژن یا Gene dosage effect) (۹). دگرگون شدن یک ژن بازدارنده تومورد رتومورهای انسانی به طورمعمول دردومرحله انجام می گیرد:

نخست ایجاد یک جهش کوچک درنسخه ای ازژن مورد نظر؛ دوم به وجود آمدن یک حذف بزرگ کروموزومی دربردارنده جایگاه ژنی مورد نظر (ژن بازدارنده تومور). درانواع ارثی سرطان کولون، جهش اولیه درسلولهای جنسی والدین رخ می دهد وبدین ترتیب به نسل بعد منتقل می شود. بنابراین، ژن بازدارنده تومور درنسل بعد به شکل هتروزیگوت وجود دارد. حال اگر دراین شخص یک حذف بزرگ کروموزومی درهمین ناحیه اتفاق بیافتد، سلول هتروزیگوتی خود را برای این ژن بازدارنده تومورازدست خواهد داد (Loss of Heterozygosity). امکان چنین رویداد ثانویه ای درسلولهایی که دچارجهش دریک ژن بازدارنده تومورمی باشند، کم هم نیست. درنتیجه سلول به خاطرفقدان عمل ژن بازدارنده تومور، سرطانی خواهد شد. درانواع



شکل شماره۳: الگوی ژن بازدارنده تومور برای سرطان کولورکتال

پراکنده سرطان کولورکتال، هردورویداد ژنتیکی باید درسلولهای سوماتیکی فرد رخ دهد (۱۲). به طورمعمول شایع ترین مناطق حذف آللی، جایگاههای ژنهای بازدارنده تومورهستند. این موضوع منجربه کشف تعداد زیادی ازاین ژنها، حین مطالعه سرطانهای انسانی، شده است. در سرطان کولورکتال نیزفقدان آللی روی کروموزومهای 18q,17p, 5p، به ترتیب منجربه شناسایی ژنهای Dcc, P53, Mcc, Apc گردیده است (۶) که خصوصیات اصلی آنها درزیرمورد بحث قرارمی گیرد:

الف) ژن P53:

P53معمول ترین ژن جهش یافته درسرطانهای انسانی است. این ژن روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ (17p) انسانی واقع شده است وفرآورده های آن یک فسفوپروتئین هسته ای است که تنظیم کننده نسخه برداری می باشد. این پروتئین واسطه توقف تقسیم سلولی درمرحله G1 (G1 arrest)، پس ازآسیب رسیدن به مولکول DNA است که به سلول اجازه تعمیر DNAرا پیش ازادامه سنتزآن می دهد. عمل بیوشیمیایی P53که به طورمستقیم درارتباط با سرکوب تومور می باشد، توانایی آن دراتصال به ردیف های بازهای ویژه ای ازDNAوتنظیم نسخه برداری ژنهاست (۹و۶۴). جهش های کوچک در ردیف های رمزدهنده ژن P53، توانایی اتصال پروتئین P53 به این نقاط DNA را به شدت کاهش می دهد.

جهش های P53، نخستین باردربافتهای سرطانی کولون انسانی مورد شناسایی قرارگرفت (۶). درسلولهای طبیعی کولون، که هنوزعمل طبیعی P53 را ازدست نداده اند، به دنبال آسیب رسیدن به DNA وبه منظورتعمیروارده، تقسیم سلولی متوقف می شود. اما درسلولهای سرطانی کولون، که دارای جهش یا حذف دراین ژن می باشند، تقسیم سلولی متوقف نمی شود. بنابراین، فقدان عمل ژن P53 می تواند موجب ابقای اشتباهات همانندسازی وبروزدگرگونیهای بدخیم گردد (۹).

میزان جهش دراین ژن درسرطانهای پراکنده کولون ۵۰٪، ودرسرطانهای ارثی FAP ۴۷٪ تخمین زده شده است (۱۳). این جهش ها به طورمعمول جایگزین های بازی هستند که ردیف های بدمفهوم (missense) را شکل می دهند (جهش های بد مفهوم) وبه طورعمده درچهارناحیه بسیارابقاء وحفاظت شده درون اگزون های ۵-۸ تجمع می یابند (۹). پژوهش ها نشان می دهند که طیف جهش های ژن P53 درسرطانهای نواحی دور ونزدیک کولون، متفاوت است. اگرچه میزان این جهش ها درتومورهای نزدیک ودورکولون یکسان است (به ترتیب ۵۰٪ و ۴۷٪)، امّا این جهش ها درنواحی متفاوتی ازژنها قرارگرفته اند به نحوی که درتومورهای دور (distal) ۷۱٪ جهش های P53 درنواحی حفاظت شده آن واقع شده اند واین میزان برای تومورهای رکتوم به ۸۱٪ می رسد. درحالیکه تنها ۴۲٪ ازجهش های ژن P53 درتومورهای نزدیک (proximal) دراین نواحی حفاظت شده قرارگرفته اند.

این تفاوت می تواند با عملکرد تهاجمی وپیآمدهای وخیم وپیش آگهی ضعیف سرطانهای کولون دور، همچنین با عوامل علت شناسی متفاوتی که سلولهای بخش های متفاوت کولون ورکتوم را تحت تأثیرقرارمی دهند در ارتباط باشد. این نتایج اهمیت ژن P53 را درپیش - آگهی این نوع سرطانها روشن ترمی سازد (۵۴).

احتمال اینکه سلولی که حامل یک آلل جهش یافته P53 است، متعاقب حمله ژنوتوکسیک زنده بماند، از سلول طبیعی بیشتراست. زیرا چنانچه می دانیم درسلولهای طبیعی، P53 درکنترل مرگ برنامه ریزی شده سلولی (Apoptosis) درپاسخ به عواملی چون پرتوهای یونیزان وجهش زاهای شیمیایی نقش دارد. بنابراین سلولی که دارای یک آلل جهش - یافته P53 باشد، تمایل طبیعی خودرا به تنظیم مرگ برنامه ریزی شده سلولی ازدست داده ودراثرعوامل ژنوتوکسیک ممکن است زنده بماند، ولی دچارنقص درآلل دیگر P53 بشود (۱۲). بررسی های مولکولی نشان داده اند که در ۷۰٪ سرطانهای کولورکتال، فقدان آللی روی 17p وجود دارد که حتی کوچکترین این حذف ها، ژن P53را دربرمی گیرد. تعیین ردیف بازی ژن باقی مانده P53 دراین افراد، وجود جهش های نقطه ای را دراین آلل ها ثابت میکند (۶).

مطالعه جهش درژن P53، با بررسی ایمونولوژیکی پروتئین آن نیزامکان پذیراست. فنون پیشرفته ELISA نشان داده اند که این جهش هاوهمچنین حذف های P53 درآسیبهای اولیه (آدنوم ها) نادرودرآسیب های پیشرفته (آدنوکارسینوم ها) فراوان است. ازاین رو به نظرمی رسد که ازدست رفتن عمل P53 وکاهش سطح پروتئینی آن درهردونوع ارثی وپراکنده سرطان کولورکتال، درتغییرازحالت خوش خیم به بدخیم نقش عمده ای داشته باشد. مهمترین یافته اخیرپژوهشگران، ارتباط بین حذف آللی 17p (P53) ومرحله D سرطان کولورکتال است. مرحله بندی برمبنای اندازه آسیب ها، دامنه گسترش آنها به گره های لنفاوی منطقه، وجود یاعدم وجود متاستازهای خونی، تعیین می گردد که اصطلاحاً روش TNM (Tumor, Node,Metastasis) نامیده می شود. بااستفاده ازاین روش، Dukes سیرپیشرفت سرطان های کولورکتال را به چهار مرحله تقسیم کرد که بعدها توسط Ansler و Coller اصلاح

شد. این روش رده بندی درجدول ۴، ارائه شده است. شکل ۴ نیزمیزان آسیب های وارده درهرمرحله را نشان می دهد. چنانچه دراین شکل مشاهده می شود، درمرحله D مربوط به سرطان کولورکتال، آسیب های سرطانی با تولید متاستاز به بافتها واندامهای دیگربدن حمله ور می شوند. بیشترین فقدان آللی 17p درمرحله D سرطان کولون دیده می شود. بنابراین نقص درژن P53به نوعی با پدیده ایجاد متاستازدرارتباط است. دراینجا منظورازمتاستاز، تنها متاستازهای خونی است نه لنفاوی (۱۳)، یعنی فقدان P53 با تهاجم عروقی سرطان مرتبط است (۱۴). این موضوع نشان می دهد که درسرطان کولورکتال، انتشارخونی (به کبد) اساس ژنتیکی متفاوتی از انتشار لنفی به گره های لنفاوی دارد. از آنجا که شانس بقاء بیماران مرحله D سرطان کولورکتال بسیاراندک است، نقص ژن P53 می تواند به عنوان شاخص مفیدی برای پیش آگهی ضعیف سرطانهای کولورکتال درنظرگرفته شود (۱۳).

ب) ژن APC:

Apc مخفف (Adenomatous polyposis coli) یا پولیپوز آدنومایی روده است. این نامگذاری به این دلیل است که این ژن اولین ژن جهش یافته درسرطانهای ارثی پولیپی روده (FAP) بوده ومسئول اصلی پیدایش این سرطانها می باشد. ژن Apc، یک ژن بازدارنده تومور است که روی کروموزوم $5q_{21}$ واقع شده است. این ژن درسلول های جنسی مبتلایان به سرطان ارثی FAP به میزان ۷۰٪ ودرسلول های سوماتیک مبتلایان به انواع پراکنده این نوع سرطان به میزان ۶۰٪ دچارجهش می شود (۶و۱۳). بیش از ۹۸٪ این جهش ها، جهش های بی مفهوم (Nonsense)، تغییرقالب (Frame shift) یا مربوط به نقاط پردازش (Splice site) هستند که منجربه کوتاه شدن پروتئین Apc می گردند. اکثراین جهش ها، روی نیمه اول ردیف بازی رمزدهنده Apc گسترده شده اند ومهمترین آنها پس ازاگزون ۹ قرارگرفته اند. بین محل جهش درژن Apc وبیان فنوتیپی FAP رابطه ای وجود دارد؛ به این شکل که انواع خفیف FAP که دارای آدنومهای کمتری هستند وخطرسرطانی شدن آنها نیزکمتراست، به جهش های نزدیک به انتهای '5ژن نسبت داده می شوند. درحالی که جهش های نواحی دورترژن با انواع وخیم تر FAP درارتباط است (۴۶). مطالعه روند سرطان زایی، دربیماران FAP نشان می دهد که ابتدا جهش دریک آلل Apc رخ داده و آدنوم کوچکی ایجاد می کند. سپس با حذف دومین آلل Apc (5q LOH)، سلولها برتری انتخابی رشدی می یابند که سرانجام آدنوکارسینوم ها را بوجود می آورد. این شواهد به روشنی نشان می دهند که برای ایجاد فنوتیپ سرطانی، هردوآلل Apc باید غیرفعال شوند واین ژن نیزازالگوی نظریه نادسون تبعیت می کند.

ساختار اول پروتئین Apc، نشانه های چندانی ازنحوه عملکرد آن را دراختیار پژوهشگران قرارنمی دهد. پروتئین Apc دارای ردیف های بازی تکراری هفت تایی اسید آمینه ای است که درالیگومریزاسیون آن نقش دارد. این ردیف ها، پروتئین Apc را ازنقطه نظر ساختاری، مشابه میوزین ودیگر فیلامانهای حد واسط می سازد. پروتئین جهش یافته Apc نیز می تواند توسط همین ردیف های هفت تایی به Apc طبیعی متصل شده وعمل آن رامختل کند. این اثرمنفی غالب (Dominant negative effect) به سلولهایی که متحمل یک جهش نقطه ای دریک نسخه از Apc هستند، اما هنوزآلل طبیعی دیگرشان دست نخورده است، اجازه رشد انتخابی می دهد. این وضعیت درمورد P53 نیزصادق است. پروتئین Apc دربافت پوششی طبیعی کولون دربخش های جانبی وپائینی (بازو لاترال) سلول ها تجمع یافته و به سلول ها شکل می دهد. همچنین Apc می تواند به پروتئین هایی به نام α ، β کاتنین متصل شود. این پروتئین ها با اتصال به بخش داخل سلولی کوهرین (یک مولکول اتصال دهنده سلولی وابسته به یون Ca^{2+}) آن را به اسکلت سلولی متصل می نمایند و به همین دلیل - و یا واسطه کوهرین - نقش مهمی در اتصالات سلولی دارند. پروتئین Apc دربرقراری اتصال بین β، α کاتنین وکوهرین نقش مهمی برعهده دارد. عمل سوم Apc، تنظیم بیان آنکوژن - C myc است که درسطورپیشین اشاره شد (۸و۹). مهمترین عمل ژن Apc به عنوان یک ژن بازدارنده تومور، توقف تقسیم سلولی است. اما برای این پرسش که چگونه این کاررا انجام داده و جهش های آن چگونه این فعالیت را مختل می سازند، هنوز پاسخی ارائه نشده وباید منتظر پژوهشهای آینده بود (۶).

ج) ژن MCC:

ژن Mcc (Mutated in colonic cancer) در خلال کلون سازی ژن APC، در جایگاه ژنی $5q_{21}$ شناسایی شد. این ژن در نزدیکی APC به فاصله ۱۵۰ kb از آن قرار گرفته است و به طور معمول در همان رویدادهایی که موجب فقدان آللی APC می شود، حذف می گردد(۶). این ژن دارای ۱۷ اگزون می باشد. جهش های نقطه ای در این اگزون ها در ۱۵٪ سرطانهای کولورکتال مورد شناسایی قرار گرفته اند. این امر نشانگر آن است که MCC مسئول اصلی سرطانهای FAP نیست، اما در پیدایش آنها نقش دارد. MCC نیز جزء ژنهای بازدارنده تومور است و از نظریه نادسون تبعیت می کند. ناهنجاریهای MCC در سرطانهای مری، معده، لوزالمعده و ریه نیز دیده

شده است.

عملکردهای پروتئین MCC مانند APC چندان مشخص نیست. پروتئین MCC نیز دارای ردیف های بازی تکراری هفت تایی مشابه APC می باشد، که در الیگومریزاسیون آن نقش دارد. این ردیف ها مارپیچ های تابیدهٔ میله ای شکلی با آلفا هلیکس های متعدد در مولکول MCC به وجود می آورند که آنرا از لحاظ ساختاری مشابه میوزین و دیگر فیلامانهای حد واسط می سازد. علاوه بر این پروتئین ۸۲۹ اسید آمینه ای MCC، دارای بخش مرکب از ۱۹ اسید آمینه است که به ردیف اتصال پروتئین G روی گیرنده استیل کولین شباهت دارد (۹،۱۳). این بخش از پروتئین MCC در حالت طبیعی، با پروتئین G در اتصال به این گیرنده رقابت می کند. در نتیجه از انتقال علایم تحریک کننده تقسیم میتوز با واسطه پروتئین G جلوگیری بعمل می آورد. این عمل پروتئین، در اثر جهش در ژن MCC دچار اختلال شده و موجب می شود تا تمام علایم تحریک کننده تقسیم میتوز بی هیچ کنترلی وارد سلول گردند، رخدادی که سرانجام منجر به تقسیم بی رویه سلول ها و تشکیل تومور می گردد (۹). جهش و LOH در ژن MCC اغلب در مرحلهٔ A سرطان کولورکتال مشاهده می شود (۱۴).

د) ژن DCC:

بررسی های سیتوژنتیکی نشان می دهد که در برخی از سرطان های کولورکتال یک نسخه از کروموزوم 18q حذف می گردد. پژوهش های سولکولی نیز حذف های آللی روی همین کروموزوم را در نزدیک به ۸۰٪ سرطان های کولون اثبات می کند. این حذف ها به طور عمده در ژنی به نام DCC (Deleted in colorectoal carcinoma) در 18q21 رخ می دهد. به سه دلیل عمده، ژن DCC در ردیف ژنهای بازدارندهٔ تومور رده بندی شده است:

۱) کشف جهش های نقطه ای از آن در افراد مستعد سرطان کولورکتال که تغییر زیادی در عمل آن ایجاد نمی کند و نشان می دهد که این ژن نیز مانند سایر ژنهای بازدارنده تومور از نظریه نادسون تبعیت می کند.

۲) شناسایی حذف های هتروزیگوتی آن (LOH) که رابطه مستقیم با تغییرات بدخیم در سرطان کولورکتال دارد.

۳) کاهش بیان این ژن، در دودمان های سلولی سرطانی نسبت به سلول های مخاط طبیعی کولون.

ژن DCC، از جمله بزرگترین ژنهایی است که تاکنون کشف شده است. این ژن بیش از یک مگا باز طول دارد و نسخه های کمی از آن در سلول موجود است. این ویژگیها، مطالعهٔ تنظیم این ژن، شناسایی نحوه عملکرد آن، و آشکارسازی جهش های متعدد آن را با دشواری مواجه می سازد(۶).

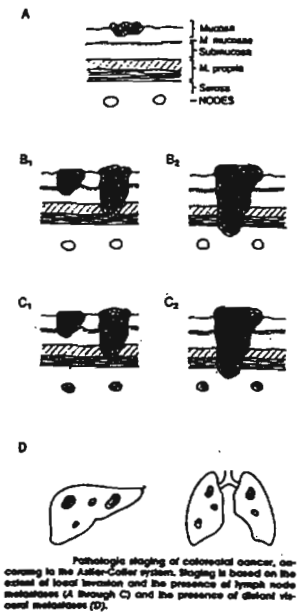
پروتئین DCC، یک پروتئین اتصالی غشاء است که از نظر ساختاری مشابه مولکول های اتصال دهندهٔ سلول های عصبی (N-CAM) می باشد. چنانچه می دانیم، سلول های توموری، به طور معمول دستخوش تغییراتی در واکنش های سلول ـ سلول و سلول ـ ماتریکس سلولی می شوند. به بیان دیگر در این سلول ها در پاسخ طبیعی به تماس های سلول به سلول، اختلالاتی پدید می آید. این وضعیت به نقص مولکوهای اتصال دهنده سلولی در بافت های سرطانی مربوط می شود. بر اساس مطالعات جاری، DCC به عنوان تنها ژن بازدارندهٔ توموری که در اتصالات سلولی نقش دارد، مسئول این تغییرات اتصالی، در سلول های توموری است(۹).

ژن DCC، اغلب در سرطان های مری، معده، لوزالمعده و روده غیرفعال می شود. حذف های آللی این ژن، در تومورهای انتهای کولون (FAP) معمول تر از تومورهای ابتدای کولون (HNPCC) است(۱۳). پدید آمدن این حذف ها نشانه پیش آگهی ضعیف سرطان کولورکتال است. چنانچه در پیش اشاره شد، 17p LOH با رخداد متاستاز و تهاجم از راه رگهای خونی در ارتباط است. بررسی های اخیر نشان داده اند که 18q LOH (که به روش RFLP یا Restriction fragment length polymorphism)، قابل

شانس بقاء (به درصد)	شکلهای بافتی نئوپلاسم	مرحله تومور
۱۰۰	محدود به مخاط	A
۶۷	گسترش به لایهٔ عضلانی و عدم نفوذ ـ بدون گرفتاری غدد لنفاوی	B1
۵۴	گسترش به لایهٔ عضلانی و نفوذ به آن ـ بدون گرفتاری غدد لنفاوی	B2
۴۳	گسترش به لایهٔ عضلانی و عدم نفوذ ـ گرفتاری غدد لنفاوی	C1
۲۳	گسترش به لایهٔ عضلانی و نفوذ به آن ـ گرفتاری غدد لنفاوی	C2
بسیار کم	گسترش تومورها، متاستازهای دور	D

جدول شماره ۴ رده‌بندی سرطان کولورکتال (روش تغییر یافته Dukes)

جستجوست) با ایجاد متاستاز و تهاجم هم از راه رگهای خونی و هم عروق لنفاوی، ارتباط دارد. از میان حذف های کروموزومی که در سرطان کولورکتال رخ می‌دهند، تنها 18q LOH است که به متاستازهای کبدی می انجامد. به علاوه، بیان این ژن در سرطان های متاستاز دار کولون به شدت کاهش می یابد، که با فن RT-PCR (Reverse transcriptase Polymerase chain Reaction) قابل مطالعه است. این یافته ها نشان می‌دهند که بررسی ژن DCC (با هر دو



شکل شماره ۴- رده بندی پاتولوژیک سرطان کولورکتال

روش نام برده در بالا) توانایی پژوهشگران را در تخمین امر پیش آگهی سرطان های کولورکتال تقویت می کند (۱۴).

۳- تغییرات ژنتیکی ویژه HNPCC:

اخیراً، دسته دیگری از سرطان های کولورکتال شناسایی شده اند که نشانویژگی آنها غیر از موارد ذکر شده در سطور پیشین می باشد. مکانیسم جدیدی که برای تومورزایی، در این دسته از سرطان ها ارائه شده است، ناپایداری جایگاههای ژنی تکراری است که در سرتاسر ژنوم پراکنده اند. چنانچه در پیش اشاره شد، لینچ دو نوع سندرم ارثی کولون را توصیف کرد که دارای الگوی توارثی غالب آتوزومی هستند، اما دچار پولیپ های متعدد نمی شوند. در بررسی ژنتیک مولکولی سرطان های ناشی از این سندرم ها، تغییراتی در ردیف های بازی ساده تکراری روی DNA ، که دو تا سه نوکلوئید طول دارند، دیده می شود(۱۸). این ردیف ها، DNAهای اقماری کوچک یا ریز ماهواره نامیده می شوند (۲۰, ۲۱).

همان طور که می دانیم، DNA در موجودات پیشرفته (Eukaryotes) واجد ردیف های بازی ساده ای به طول ۲۰ تا ۲۰۰ جفت باز می باشد که در شکل به شدت تکراری و پشت سر هم قرار گرفته اند. این ردیف های طویل DNA که به طور معمول طول آنها به ۱۰۵ تا ۱۰۷ جفت باز می رسند و ۰/۵ تا ۱٪ از کل ژنوم انسان را به خود اختصاص داده اند، DNA های اقماری (Satelite DNA) نامیده می شوند. دلیل این نامگذاری این است که در گرادیان غلظتی تهیه شده به کمک اولتراسانتریفوژ، این DNA ها، ماهواره هایی در اطراف نوار اصلی DNA تشکیل می دهند (۲۲). در انسان و سایر پستانداران علاوه بر اینها، ردیف های بازی ساده تکراری کوتاهی نیز وجود دارند که معمولاً به فاصلهٔ ۱۰۰/۰۰۰ جفت باز روی DNA قرار گرفته اند (۲۳). این ردیف ها که حداکثر از دو تا سه نوکلوتید تشکیل شده اند، ریز ماهواره (Microsatelite) نامیده می شوند. این عناصر ژنتیکی، فراوانترین نوع DNA های تکراری در انسان هستند. تقریباً ۵۰ تا ۱۰۰ هزار ردیف های بازی تکراری (CA)n در سرتاسر ژنوم انسان پراکنده شده اند (۲۳, ۲۴).

تغییر در ریز ماهواره ها، مشتمل بر افزایش یا کاهش نسخه های این ردیف های بازی، ناپایداری ریز ماهواره ای (Microsatelite instability) نامیده می شود. این ناهنجاریها، در ۹۰٪ سرطان های HNPCC (۱۷) و ۱۵٪ از انواع پراکنده آن (۱۶) مانند بسیاری سرطانهای دیگر رخ می دهد. در HNPCCتغییراتی مانند افزایش یا کاهش ردیف های بازی تکراری DNA در ریز ماهواره هایی از نوع (GT)n ، (CA)n دیده می شود. به علاوه، جهش های بسیاری نیز در این جایگاههای ژنی اتفاق می افتد که گاه تعداد آنها به ۱۰۰/۰۰۰ جهش در هر سلول تومووری می رسد. چنین ناپایداریهایی به طور عمده، در نتیجهٔ اختلال در فرآیندهای همانندسازی و تعمیر DNA به وجود می آیند. به این دلیل به آنها پدیدهٔ خطای همانند سازی یا RER (Replication Error)گفته می شود. معمول ترین این خطاها قرار گرفتن بازهای غیرمکمل در مقابل هم، یا افزوده شدن یک یا دو نوکلئوتید اضافی و در نتیجه ظاهر شدن بازهای جفت نشده در داخل مارپیچ DNA می باشد. از این رو سلول ها برای حفظ صحت، تمامیت و یکپارچگی ماده ژنتیکی خود، سیستم های تعمیری به وجود آورده اند، که آنها را قادر می سازد با تغییرات ناخواسته ای که گهگاه در این ماده حیاتی رخ می دهد، به مقابله برخیزند. از مهمترین آنها، سیستم تعمیر ناهمخوانیها (Misrmatch Repair system) می باشد که وظیفه آن شناسایی بازهای غیرمکمل و حذف آنها از DNA ی تازه ساخته شده است. در سرطان هایی که دچار ناپایداری در ریز ماهواره های DNA می باشند، ژنهای مسئول این سیستم دچار اختلال شده ند (۲۵).

۴- مروری بر مکانیسم های ژنتیکی پیشرفت سرطان های کولورکتال:

بیشتر انواع پراکنده سرطان های کولورکتال،

شبیه به FAP هستند. بنابر این در نقشه ژنتیکی که برای این دسته از سرطانها رسم شده است، نقص در هر دو آلل ژن APC، برای شروع آسیب های سرطانی کولورکتال ضروری است. احتمال این پدیده، در یک سلول معین، بسیار پایین است اما در اثر تجدید مداوم سلول های مخاط کولون در طول حیات، این جهش ها رخ می دهند، به نحوی که در حدود نیمی از جمعیت تا سن ۷۰ سالگی، پولیپ هایی پدید خواهند آمد که حدود ۱۰٪ از آنها، تغییرات ژنتیکی بیشتری که برای بدخیم شدن آنها لازم است، کسب خواهند کرد. این تغییرات شامل فعال شدن آنکوژن ras و غیرفعال شدن ژنهای بازدارندهٔ تومور DCC و P53 می شود، اما تنها به همین موارد محدود نمی گردد.

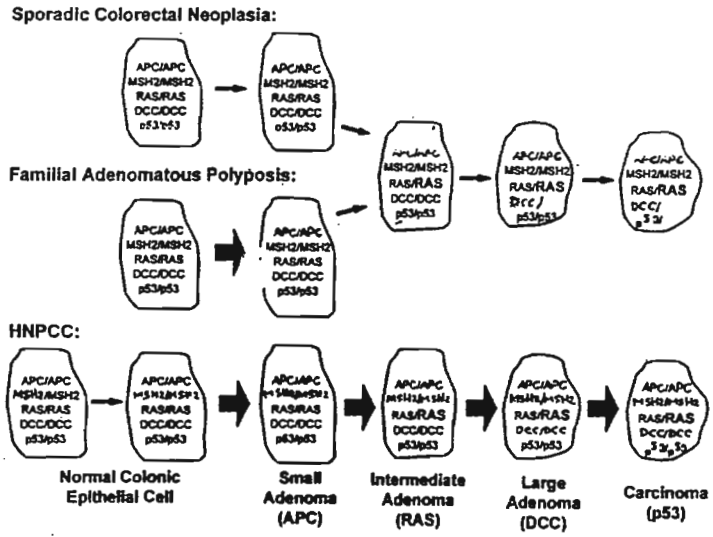
در سرطان های ناشی از سندرم FAP ، هر یک از سلول های کولون، هنگام تولد دارای یک جهش در ژن APC می باشند. در نتیجه برای شروع سرطان، تنها آلل طبیعی باقی ماندهٔ APC باید حذف گردد. از این رو بیماران FAP اغلب صدها آدنوم پدید می آورند. احتمال پیشرفت این آدنوم ها به وضعیت سرطانی (آدنوکارسینوم ها)، چندان بیش از آدنوم های معمولی نیست، اما به جهت تعداد زیادشان، دست کم برخی از آنها دچار تغییرات ژنتیکی بیشتری خواهند شد، که برای پیشرفت به شکل سرطانی لازم است.

در نقشهٔ ژنتیکی HNPCC ، سلول های طبیعی کولون، به دلیل داشتن یک آلل طبیعی باقی ماندهٔ MSH2 ، کارآیی تعمیر ناهمخوانیها را دارند. اما در تعداد کمی از آنها، نسخه باقی مانده نیز غیرفعال شده و یک فنوتیپ جهش ساز شکل می گیرد. اکنون این سلول ها آمادگی بیشتری در کسب تغییرات ژنتیکی دارند و با ایجاد در جهش های بیشتر در آنکوژن ها و ژنهای بازدارندهٔ تومور (مانند DCC, P53, ras) ، HNPCC به مراحل پیشرفته خود می رسد.

از این میان، K-ras که جهش های آن یک رخداد اولیه در پیدایش سرطان کولورکتال به حساب می آید و P53 که به دنبال آن دستخوش تغییر می شود، از اهمیت ویژه ای برخوردارند. نتایج پژوهشهای وسیع نشان می دهد که میزان جهش های K-ras (۱۷٪) و P53 (۱۳٪) در تومورهای HNPCC ، به مراتب از سرطان های پراکنده کولون کمتر است (۳۵٪ برای k-ras ، ۴۸٪ برای P53)، این مشاهدات به نوبه خود شاهدی آشکار برای ماهیت وخیم تر سرطان اخیر می باشد. (۴۹).

چنانچه پیش از این اشاره شد، فنوتیپ ـ جهش زایی که به عنوان نخستین رویداد در سرطان های HNPCC در نظر گرفته می شود، قادر است جهش را در هر ژنی ابقا کند. ژن APC نیز از این قاعده مستثنی نیست. بنابر این، اگر در اثر نقص سیستم تعمیر بازهای غیرمکمل، جهشی در ژن APC به وجود آید، ممکن است پولیپ هایی نیز به وجود آیند، اما تعداد آنها (آنچنان که در سرطان های FAP دیده می شود) زیاد نیست . این پولیپ ها به دلیل ناپایداریهای ژنتیکی به سرعت متحمل تغییرات ژنتیکی دیگری شده و به تومورهای سرطانی تبدیل می گردند (شکل شماره ۵) (۶).

علاوه بر عوامل ژنتیکی، پدیده های اپی ژنتیکی، مانند متیلاسیون DNA نیز در پیدایش تومورها و پیشرفت آنها دخالت دارند. تغییر در میزان متیلاسیون DNA، قابلیت دسترسی به برخی ژنها و در نتیجه میزان بیان آنها را تغییر می دهد. این موضوع در ژنهایی که مسئول رشد و تولیدمثل سلولی هستند، می تواند موجب بر هم خوردن الگوی تقسیم سلولی و ایجاد بافت های سرطانی شود. افزون بر این، افزایش متیلاسیون DNA می تواند قابلیت دسترسی سیستم تعمیر را به قطعات ناهمخوان بازی کاهش داده و در



Schematic diagram of three models for colorectal cancer development. The order presented here for the accumulation of mutations reflects the most common pattern, but, with the single exception of APC being strongly preferred as a very early step, the order is variable, and not all genes presented here will be altered in most neoplasms. The changes depicted also do not exclude the involvement of other genes. See the text for elaboration of the differences in the three models. *Clipped lettering* (APC) refers to truncating mutations. *Irregular text* (p53) refers to inactivating mutations known to exert a dominant negative phenotype. *Light text* (MSH2, DCC) refers to other forms of mutations that provide simple inactivation of gene function. *Absence of the gene symbol* indicates allelic deletion. *Bold letters* (RAS) refer to gene activation by point mutation. *Thin arrows* represent relatively rare events, while *bold arrows* indicate a rapid progression from one stage to the next as compared to that seen in sporadic neoplasia.

شکل شماره ۵- طرح شماتیکی از سه مدل برای ایجاد سرطان کولورکتال

نتیجه در فرآیند تعمیر اختلال ایجاد نموده و جهش های کروموزومی را ابقا کند. بنابر این، تغییرات اپی ژنتیکی نیز در پیدایش سرطان کولورکتال سهیم می باشند، هر چند که بررسی آنها با روش های کنونی دشوار است (۶, ۱۲).

شکل شماره ۶، جمع بندی ساده ای از تمام مراحل دخیل در پیدایش انواع سرطان های کولورکتال را نشان می دهد (۳۱).

چشم اندازها

بررسی های مولکولی سرطان کولورکتال، کاربردهای زیادی در زمینه بالینی دارد. با استفاده از روش های مولکولی می توان به پیشگیری، تشخیص، پیش آگهی، و درمان بهتر بیماریهای ژنتیکی، از جمله سرطان کولون دست یافت(۱۶, ۱۷, ۶۳, ۶۴). در این زمینه پژوهش های وسیعی در حال انجام است که در زیر به گوشه ای از مهمترین آنها اشاره می شود:

۱ـ پیشگیری:

پیشگیری از سرطان های ارثی کولورکتال، به کمک مشاوره ژنتیک امکان پذیر است. این کار بر اساس ضوابط و اصولی علمی و از جمله با گرفتن شرح حال خانوادگی از افراد مشکوک، یا خانواده هایی که به طور موروثی دچار این سرطان می شوند، انجام می گیرد. چنانچه گفتیم الگوی توارثی سرطان های ارثی کولورکتال غالب آتوزومی است. تنظیم دقیق و منسجم یک شجره نامه منظم در خانواده های مستعد می تواند سرطان کولورکتال را پیش از پیدایش علائم بالینی، آشکار کند و متخصص صاحب صلاحیت را در اتخاذ تدابیر پیشگیرنده یاری نماید (۳۱).

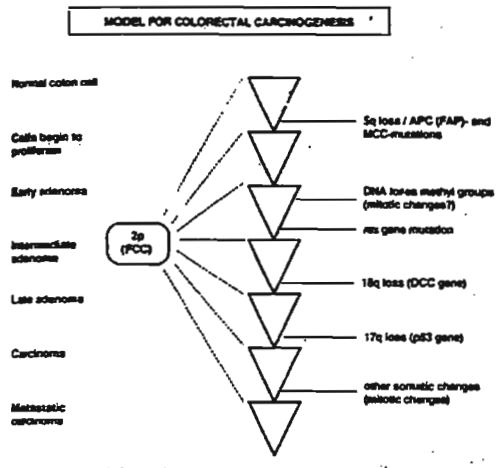
آزمون هایی که بر اساس DNA ترتیب داده شده اند نیز در تشخیص این سرطان پیش از بروز علائم، مؤثر واقع می شوند. در آزمون های غیرمستقیم، جستجوی ژن ناقص بر اساس پیوستگی ژنی (Linkage) انجام می شود. حال آنکه در آزمون های مستقیم، جستجو به طور مستقیم برای وجود یا فقدان یک آلل جهش یافته در یک جایگاه ارثی خاص انجام می گیرد. چنین تجزیه و تحلیل هایی به شناسایی افراد در معرض خطر ابتلا به سرطان های کولورکتال کمک بسیاری می کند. مشاور ژنتیک، پس از تشخیص افراد مشکوک، آنها را جهت بررسی های بالینی و احیاناً پیشگیری بیماری به وسیله برداشت پولیپ ها یا آدنوم ها با عمل جراحی پیشگیرنده (Prophylactic surgery) به پزشک متخصص معرفی می نماید (۲۳, ۳۱).

۲ـ تشخیص:

درمان موفقیت آمیز سرطان کولورکتال بستگی به تشخیص به موقع و اقدامات فوری دارد (۳۲). روش های رایج تشخیص سرطان کولورکتال معاینه سالیانه رکتوم (Anual digital rectal examination)، آزمون خون ناپیدا در مدفوع (Fecal occult blood test) سیگموئیدوسکوپی انعطاف پذیر (Flexible sigmoidoscopy) و کولونوسکوپی (Colonoscopy) می باشد. چنین آزمایشهایی متأسفانه تنها هنگامی کارآیی دارند که نشانه های بالینی آشکار شده باشد و تشخیص سرطان در مراحل اولیه و بررسی میزان پیشرفت آسیب ها، با این روش ها میسر نیست (۳, ۴, ۵, ۳۱).

روش های معمول دیگر در تشخیص سرطان کولورکتال، روش های بافت شناسی یا سلول شناسی هستند، که با استفاده از آنها میزان تغییرات تدریجی که اصطلاحاً درجه سرطان (Cancer grade) نامیده می شود، تعیین می گردد. این روش با آنکه از روش های پیش گفته دقیق تر است اما مانند آنها زمانی کارایی دارد که توده های توموری شکل گرفته باشند، زیرا بر بررسی تغییرات شکلی (مرفولوژیکی) سلول ها استوار است (۱).

شایان ذکر است، هم اکنون روش های حساس تر، دقیق تر وسیع تری در دست



Model for colorectal carcinogenesis. Adapted from Fearon & Vogelstein (1990).

شکل شماره ۶ - طرحی برای سرطانزایی کولورکتال

تحقیق اند که به زودی راه خود را به آزمایشگاههای تشخیصی خواهند گشود. این روش ها بر مبنای شناسایی تغییرات ژنتیکی عمل می کنند. برخی از این تغییرات، مثل جهش های ژن ras حتی در مراحل پیش از پیدایش سرطان، در آدنوم های کولون ظاهر می شوند. شماری دیگر مانند تغییر در ژن P53 اغلب در تومورهای پیشرفته ظاهر می گردند. نظر به اینکه این تغییرات (ژنتیکی) لازمهٔ پیدایش سرطان هستند، نشانگرهای مولکولی سودمندی جهت تشخیص، پیش آگهی و آشکارسازی آن به حساب می آیند. از این رو برای انتخاب نشانگرهای مناسب، دانستن ترتیب ظاهری تغییرات ژنتیکی در هر یک از انواع سرطان های کولورکتال و ارتباط بین این تغییرات با درجه پیشرفت تومور حائز اهمیت است. البته انباشته

شدن این تغییرات ـ و نه ترتیب آنها ـ موجب پیشرفت تومور می شود.

پس از اینکه طرح ژنتیکی یک سرطان ویژه تعیین شد، ابتدایی ترین تغییر ژنتیکی می تواند به عنوان نشانگر تشخیصی سریع آن سرطان به کار گرفته شود. اساس یکی از روش های جدید ملکولی، که از جمله برای تشخیص جهش های ژنی در مایعات بدن انسان طراحی شده است، واکنش زنجیره ای پلی مر ازی یا به اختصار PCR (Polymerase chain reaction) می باشد. برابر این روش، ابتدا مقادیر بسیار اندکی از DNA که از نمونه های بالینی (خلط، ادرار، مدفوع و مانند آن) تهیه شده است، در آزمایشگاه به کمک PCR تکثیر می شود، تا مقدار DNA موجود افزایش یابد. سپس، قطعات تکثیر شدهٔ DNA، در یک باکتریوفاژ مناسب کلون شده و به مقادیر بیشتر در E.Coli تکثیر داده می شوند.

به دنبال آن، پلاکهای ایجاد شده به غشاء نیتر و سلولز یا نایلون منتقل گشته و به روش دو رگه سازی کلونی (Colony hybridization) غربال می شوند (۴۴). برای این کار الیگومرهایی از DNA که ویژه ردیف های بازی جهش یافتهٔ مورد نظر هستند، به شکل کاوشگرهای (Probes) نشان دار شده (به طور مثال رادیواکتیو) تهیه شده و با غشاء های اشاره شده دورگه (هیبرید) می شوند (۴۴). این کاوشگرها به سمت ژنهای هدف مورد نظر ـ که البته هر دو تک رشته ای شده اند ـ رفته، با آنها هیبرید می گردند. در نهایت مولکول های نادر DNA ی جهش یافته، به روش خود پرتونگاری (اتورادیوگرافی)، به صورت نقاط مشخص (رادیواکتیو) شناسایی می شوند. این روش، که روش تکثیر ویژهٔ آلل های جهش یافته یا به اختصار MASA (Mutant Allele specific Amplification) نامیده می شود(۳۳)، توانایی کشف یک سلول جهش یافته را از میان بیش از ۱۰/۰۰۰ سلول طبیعی دارد. این توانایی با بررسی ادرار بیماران مبتلا به سرطان مثانه، خلط بیماران مبتلا به سرطان ریه و مدفوع بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال به اثبات رسیده است. تأکید می نماید هنگامی که همین نمونه ها تحت آزمایشهای سلول شناسی قرار گرفتند، نتیجه منفی کاذب شد.

با استفاده از فن MASA می توان جهش های K-ras را در اولین مراحل پیدایش سرطان معینی در آدنوم های ریز کشف نمود و با برداشت آنها از پیدایش سرطان یا پیشرفته تر شدن آن جلوگیری بعمل آورد. این سخن در مورد جهش های ژن APC که اولین ژنی است که در سرطان های FAP دچار نقص می شود، نیز صادق است.

روش دیگری به نام SSCP (Single stranded Conformational Polymorphism) شیوه ای آسان و مؤثر برای تشخیص بسیاری از جهش ها در ژن های سیستم تعمیر بازهای غیرمکمل در انسان است. حساسیت این روش، در یک بار راندن قطعات ۲۵۰ تا ۳۵۰ جفت بازی به بیش از ۸۰٪ می رسد. اندازهٔ قطعات ژنی hMsH2 و hMLH1 که اگزون به اگزون از DNA ی ژنومی تکثیر شده اند، در این محدوده می باشد. بنابر این، تجزیه و تحلیل این ژنها با این روش امکان پذیر است. به علاوه، روش SSCP با استفاده از DNA ی مواد تازه، یخ زده و بایگانی شده انجام پذیر است. این موضوع به ویژه در مواردی که گرفتن نمونهٔ خون از بستگان زنده و مبتلا به بیماری مشکل باشد، امتیازی آشکار برای بررسی های بالینی به حساب می آید.

با این وجود به کارگیری روش SSCP برای حدود ۲۰٪ از جهش های نقطه ای و تغییر قالب، راه به خطا می رود و قادر به کشف حذفهای کامل اگزونی که در برخی از خانواده های مبتلا به HNPCC رخ می دهد، نیست (۵۲).

برای ردیابی حذفهای آللی از روش دیگری به نام RFLP استفاده می شود (۱۳،۸). در این روش ابتدا DNA ی سلول های سرطانی و بافت طبیعی را استخراج کرده، و سپس با آنزیم های برش دهنده خاص و محدودگر (Restriction enzymes) مناسب برش می دهند. به دنبال آن قطعات به دست آمدهٔ DNA را الکتروفورز کرده و به غشاء نیتروسلولز انتقال می دهند. این غشاء با کاوشگرهای ویژه ای که با p-32 نشاندار شده اند، هیبرید می شود. پس از شستشوی مناسب غشاء، در مقابل فیلم پرتونگاری (رادیوگرافی) قرار داده می شود. سرانجام، با مقایسه تراکم (دانسیتهٔ) قطعات به دست آمدهٔ DNA در سلول های سرطانی، با سلول های طبیعی، حذف آللی (LOH) تشخیص داده می شود. بدیهی است نوارهایی از DNA که در نمونه سرطانی دیده نمی شود. بیانگر قطعات حذف شده است. با این روش، حذف آللی APC در مراحل اولیه سرطان های FAP قابل کشف است (۱۳،۱۴).

در مورد HNPCC و طیف سرطان های وابسته به آن، شناسایی جهش در ژنهای سیستم تعمیر بازهای غیرمکمل، به روش MASA امکان پذیر است (۶). اما برای این منظور، روش آسان تر و کم خرج تری هم وجود دارد که به جستجوی تغییرات ریزماهواره ها می پردازد. در این روش ابتدا ردیف بازی ریز ماهواره ها به کمک PCR تکثیر می شود و سپس با استفاده از الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید جداسازی صورت می گیرد و تغییرات ریزماهواره ها در DNA ی سلول های سرطانی در مقایسه با DNA ی سلول های طبیعی، به صورت ازدیاد یا کاهش ژنی مشاهده می شود. این روش نسبت به روش MASA مزایای متعددی دارد از جمله آنکه از نظر زمان و هزینه مقرون به صرفه تر می باشد. زیرا

نخست ، نیاز به مرحله اضافی کلون کردن ندارد. دوم، به ساختن تعداد زیادی کاوشگر ویژه برای جستجوی انواع مختلف جهش های آنکوژنی در تومورها (که در روش MASA لازم است)، محتاج نیست. و سوم؛ با این روش نیازی به داشتن اطلاعات دقیق دربارهٔ تغییرات خاص ژنتیکی در تومورهای اولیه نمی باشد. (۲۴). البته عیب این روش این است که حساسیت آن در مقایسه با روش MASA پایین تر است. روش اخیر (Microsatelite assay) توانایی کشف یک سلول سرطانی را از میان ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ سلول طبیعی کولون دارد، در حالی که حساسیت روش پیشین (MASA) در ۱۰/۰۰۰ می باشد. با وجود این، آزمایشهای فراوان نشان می دهند که این مقدار حساسیت برای بررسی بسیاری از نمونه های بالینی از جمله نمونه های مدفوع بیماران سرطانی کولون، کفایت می کند (۲۴).

شایان ذکر است که جهش در ژنهای ویژه ای که در این مقاله مورد بحث قرار گرفته اند، همواره و در همه تومورهای کولون وجود ندارد. این، البته بزرگترین مشکل روش های تشخیصی مولکولی است. برای نمونه جهش های ras، تنها در نیمی از سرطان های کولورکتال رخ می دهند. بنابر این، برای آشکارسازی یا تشخیص دقیق و به موقع سرطان، ضرورت دارد تا روش های مولکولی به گونه ای تعدیل و تغییر یابند که امکان تشخیص جهش هایی را که در اکثریت بافت سرطانی از یک نوع ویژه حضور دارند، فراهم آورد (۳۲).

۳- پیش آگهی:

معتبرترین شاخص پیش آگهی ضعیف سرطان، وجود متاستاز (مرحله D در سرطان کولورکتال) است. علاوه بر آن، ویژگیهای گوناگون بافتی نیز، در تعیین پیش آگهی سرطان، از اهمیت برجسته ای برخوردار است که مجموعه آنها درجهٔ تومور را معین می کند(۱۳).

جستجوی توده های متاستازی، به روش های رایج سلول شناسی، با نمونه برداری از تعداد زیادی از گره های لنفاوی در زمانهای مختلف و رنگ آمیزی برش های مختلف هر گروه با رنگهای ائوزین و هماتوکسیلن انجام می گیرد. پیشرفت‌های بیشتری نیز، با استفاده از انواع متفاوت پادتن های مونوکلونال از جمله پادتن های ضدپادگن های ویژه تومور (Tumor Specific Antigen) در سرطان های کولورکتال حاصل گردیده است (۳۳). با این وجود، این روش ها معمولاً در تشخیص متاستازها موفقیتی ندارند و به این ترتیب امکان مهاجرت سلول های سرطانی توسط خون و لنف به دیگر اندام های بدن و ایجاد کانون های توموری ثانویه فراهم می‌آید. این دلیل عود سرطان در بسیاری از بیماران پس از عمل جراحی است.

تجزیه و تحلیل های مولکولی، امکان ارزیابی دقیق تری از پیش آگهی سرطان را فراهم آورده است. برای مثال ژن بازدارندهٔ تومور P53 در اکثریت سرطان های کولورکتال تغییر یافته است و الگوی دقیق این تغییر از ارزش ویژه ای در تعیین پیش آگهی این سرطان برخوردار است. انتشار لنفاوی سرطان کولون با جهش در ژن P53 در ارتباط است (۳۳،۳). حال آنکه انتشار خونی آن در نتیجه حذف این ژن می باشد (۱۴،۱۳،۶،۳). روش MASA به عنوان یک روش نسبتاً آسان، سریع، حساس و اختصاصی، در تشخیص جهش های P53 در مدفوع بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال کارآیی دارد. با استفاده از این روش می توان، متاستازهای ریز لنفاوی را کشف نمود و با برداشتن گره های آلوده، از انتشار لنفاوی سرطان جلوگیری کرد (۳۳،۱۴،۱۳).

حذف های آللی DCC (18qLOH) نیز برخلاف حذف های P53 با انتشار لنفاوی سرطان کولورکتال در ارتباط است. برای شناسایی چنین حذف هایی از روش RFLP استفاده می شود که در صفحات پیش توضیح داده شد.

لازم به ذکر است که نمونه های بالینی جهت چنین پژوهشهایی، مدفوع واجد سلول های مخاطی کولون یا بیوپسی بافت های توموری و گره‌های لنفاوی که حین عمل جراحی تهیه شده است، می باشد (۱۴،۱۳).

چناچه در بخش های گذشته اشاره شد، حذف های آللی DCC را می توان با اندازه گیری میزان بیان آن نیز تشخیص داد. این کار با سنجش میزان mRNA مربوط به DCC در سلول به وسیله واکنش زنجیره ای پلی مرازی با تراسکریپتاز معکوس (RT - PCR) انجام می گیرد. میزان بیان DCC در سرطان های متاستازی به طور قابل توجهی کاهش می یابد (۱۴).

شایان تأکید است که استفاده های بالینی و در سطح وسیع از روشها و فنون متنوع و بسیار قدرتمند ژنتیک مولکولی، جهت اتخاذ تدابیر و راه کارهای خاص و مناسب علیه سرطان کولورکتال، هنوز در ابتدای راه است. طبیعتاً چنین کاربردهایی زمانی میسر می گردد که روش های مناسبی برای جستجوی هر ژن خاص به دقت طراحی و در نظر گرفته شود. البته آنچه به روشنی پیداست اینکه امروزه با افزایش سرعت پیشرفت دانش و فن، روش های حساس تر و دقیق تری به سرعت در حال توسعه اند و همگام با پیشرفت مطالعات ژنتیکی، آنکوژن ها و ژنهای بازدارنده تومور بیشتری شناسایی می شوند. به طور مسلم، چنین اطلاعاتی نشانگرهای جدیدی را در اختیار پژوهشگران قرار می دهد که می تواند در

روش های جدید مولکولی بررسی سرطان به کار گرفته شود (۳۲).

ژن درمانی

به دلایل متعدد، توجه و علاقه به درمان سرطان با روشهای جدید انتقال ژن روز به روز رو به افزایش است. در خلال دو دههٔ اخیر روش هایی که امکان انتقال ژنهای کارآمد را به سلول های پستانداران فراهم می آورند، توسعه یافته اند. چنانچه اشاره شد توجه به ژن درمانی، دلایل متعددی دارد که کشف آنکوژن ها و ژنهای بازدارندهٔ تومور که هدف های بالقوه ای برای ژن درمانی محسوب می شوند، از جمله مهمترین آنها است. به طور کلی استراتژی های ممکن در ژن درمانی سرطان عبارتند از:

۱- مهار ژنهای بیش از حد تکثیر شونده یا بیش از حد بیان شونده، مانند آنکوژنهای فعال شده.

۲- جایگزین کردن ژن سالم با ژن ناقص یا از دست رفته مانند ژنهای بازدارندهٔ تومور جهش یافته.

۳- وارد کردن یک ژن کارآمد به داخل سلولی که یا به طور طبیعی آن ژن را بیان نمی کند یا به میزان کمی بیان می کند و به منظور القاء پاسخ مطلوب. وارد کردن ژنهای سیتوکین ها به داخل لنفوسیت ها و یا سلول های سرطانی، به منظور افزایش پاسخ ایمنی علیه تومور مثالی برای مورد اخیر می باشد. این کار نیاز به انتقال مؤثر ژن مورد نظر به داخل تعداد قابل توجهی از سلول ها، نگهداری و ابقاء سطوح کافی بیان ژن به مدت طولانی دارد.

۱- درمان آنکوژنی:

فعال شدن آنکوژن ها دلیل اصلی بسیاری از سرطان ها است. بنابر این، جایگزین کردن آنها با ژنهای سالم مورد توجه جدی پژوهشگران قرار گرفته است. یکی از روش های رایج برای غیرفعال کردن یک آنکولوژن، وارد کردن RNA ی آنتی سس به درون سلول سرطانی، برای جلوگیری از بیان آنکوژن می باشد. روش دیگر وارد کردن ریبوزیم هایی - Ribozymes (مولکول های طراحی شده برای شکستن RNA) است که علیه mRNA آنکوژن ها عمل می کنند. به طور مثال، ریبوزیم هایی که mRNA آنکوژن های ras و myc را هدف قرار می دهند، در از بین بردن سلول های توموری کولون موفق بوده اند.

اما برای بهینه سازی درمان با آنتی سس، پژوهشگران روش تازه ای ابداع کرده اند. در این روش، RNA ی آنتی سس علیه آنکوژن فعال شده، به همراه یک آنکوژن طبیعی مقاوم به آنتی سنس، همزمان با هم به درون سلول های سرطانی وارد می شود. بدین ترتیب، RNAی آنتی سس از بیان آنکوژن داخلی بیش از حد فعال شده جلوگیری می کند، حال آنکه بیان آنکوژن سالم - در درون سلول طبیعی - می تواند سنتز DNA را به حال اول خود بازگرداند. در این روش، سلول های توموری که انتقال به آنها انجام نگرفته است، نابود نمی شوند و متأسفانه می توانند دوباره کانون های سرطانی را شکل دهند. همچنین این شیوه درمانی نمی تواند ایمنی بدن را در برابر سرطان افزایش دهد. اما پژوهشها در جهت بهبود روش های آنکوژن درمانی با قوت و سرعت ادامه دارد و چنانچه در بازگرداندن فنوتیپ بدخیم سلول های سرطانی به حال اولیه و طبیعی خود، به نتیجه برسند امکان تبدیل آنها به وسایل درمانی جدید فراهم خواهد شد (۷، ۳۸، ۵۸، ۵۹).

۲- درمان با ژنهای بازدارنده تومور:

اگرچه سرطان زایی یک فرآیند ژنتیکی چند مرحله ای است، ثابت شده که بازگرداندن عملکرد طبیعی یک ژن بازدارندهٔ تومور می تواند فنوتیپ بدخیم را مهار کند. مطالعات نشان داده اند که فاژ آلایی (Transfection) سلول های سرطانی کولون با ژن طبیعی P53 می تواند آنها را به مرحله استراحت سلولی و یا مرگ برنامه ریزی شدهٔ سلولی هدایت کند. ۵۱

وارد کردن انواع طبیعی ژنهای بازدارندهٔ تومور به درون سلول های سرطانی، می تواند فنوتیپ این سلول ها را به حال اول خود بازگرداند (۳۷). در پژوهش هایی که در سالهای ۱۹۹۰ تا ۱۹۹۲ انجام گرفت، انتقال یک ژن طبیعی P53 به درون سلول های سرطانی کولون که فاقد عمل این ژن بودند، منجر به ممانعت از تکثیر سلولی، رشد کلنی در آگار و تومورزایی؛ و همچنین القای مرگ برنامه ریزی شده سلولی در سلول های سرطانی شد (۹، ۳۹، ۶۴). در این بررسی برای انتقال ژن P53 از پلاسمید ناقلی به نام Pcmv-Bam-Neo که با روش های مهندسی ژنتیک طراحی شده بود، استفاده گردید. این ناقل دارای دو واحد نسخه برداری مستقل می باشد. اولین واحد مشتمل بر پروموتر (Promoter) و تقویت کننده (enhancer) سیتومگالوویروس (CMV) است که در بالا دست ناحیه ورود c DNA ی، ژن مورد نظر برای انتقال قرار گرفته است و همچنین نواحی پلی آدنیلاسیون و پیرایش که برای اطمینان از پردازش مناسب RNA، در این ناقل ژنی تعبیه شده است. واحد دوم نسخه برداری، شامل پروموتر و تقویت کننده ژن تیمیدین کیناز ویروس هرپس سیمپلکس (HSV) در بالا دست ژن مقاومت به نئومایسین می باشد که امکان گزینش سلول های انتقال یافته را فراهم می آورد. DNA ی ژن طبیعی P53 به کمک آنزیم $BamH_1$ بین این دو واحد نسخه برداری داده شده و سپس این مجموعه ژنی به سلول های سرطانی کولون در کشت سلولی

انتقال داده شد. مشاهده شد که این سلولها را با کارآیی ۵ تا ۱۰ برابر کمتر از سلول های واجد ژن جهش یافته P53 کلنی تشکیل می دهند. سلول های سرطانی که بتوانند یک نسخه از ژن طبیعی p53 را دریافت کرده و بیان کنند، در چرخه سلولی پیشرفت چندانی نداشته و رشد آنها متوقف خواهد شد.

چنین به نظر می رسد که این امر به دلیل ناتوانی چنین سلولهایی در وارد کردن تیمیدین به درون DNA باشد (۳۹).

در یک بررسی دیگر، ویروس نو ترکیب Ad5/CMV/P53 حامل نسخه طبیعی ژن P53 که تحت کنترل پروموتر و تقویت کننده ویروس سیتومگال قرار داشت، به دودمان های سلولی سرطانی در محیط آزمایشگاهی (in Vitro) و همچنین به الگوی تومورزیرجلدی در موش انتقال داده شد. در هر دو مورد ممانعت از تکثیر سلولی، جلوگیری از رشد تومور (به میزان ۶۰ تا ۷۰٪) و القاء مرگ برنامه ریزی شدهٔ سلولی، پس از تلقیح سلولها با این ژن مشاهده گردید. نتیجه این که این شیوهٔ درمانی می تواند در آینده به عنوان روش نوین و مؤثر برای کمک به درمان سرطان کولورکتال به کار گرفته شود (۵۱).

چنانچه در صفحات پیش اشاره شد، آنکوژن C-myc نیز در سلول های سرطانی کولون از تنظیم خارج می شود. اما زمانی که این سلول ها با سلول های طبیعی ادغام گردد، بیان این ژن به وضعیت طبیعی باز خواهد گشت. این وضعیت به روشنی نشان می دهد که ژن دیگری که برای تنظیم C-myc لازم است، در سلول های سرطانی کولون حذف شده است. این ژن همان APC است که پیشتر درباره آن توضیح داده شد. فرآورده این ژن تنظیم کننده، در سلول های طبیعی وجود دارد و در خلال دو رگه سازی به سلول های دو رگه کولون منتقل می شود. در سلول های دو رگه این فرآورده روی جایگاه ژنی C-mye تأثیر گذارده و دوباره آن را تنظیم می کند. این اثر اصطلاحاً «تکمیل ماورایی» (Complementation in trans) نامیده می شود. پس وارد کردن ژن APC به سلول های سرطانی FAP، می تواند علاوه بر ایفای نقش ضدتوموری خود، فعالیت آنکوژن هایی مانند C-myc را نیز تنظیم کند (۷).

۳- واکسن های توموری با واسطهٔ سیتوکین ها:

نوع سوم از آزمایش هایی که در ژن درمانی سرطان کولورکتال، مورد توجه قرار می گیرد انتقال ژنهایی است که تحریک کننده سیستم ایمنی علیه سلول های توموری بوده یا به بیان دیگر موجب نابودی تومور می شوند.

بسیاری از پژوهشگران در تلاش هستند تا پاسخ های ایمنی میزبان علیه تومور را توسط وارد کردن سیتوکین ها به درون سلول های توموری، یا حتی سلول های دیگری مانند فیبروبلاست ها افزایش دهند. ژنهای سیتوکین ها می توانند به دو شیوه به سلول های توموری عرضه شوند:

الف - به روش in vivo : که در آن ژن مورد نظر به نحوی، به طور مستقیم به درون تومور، یا جریان خون وارد می شود به این امید که تومور را هدف قرار دهد.

ب - به روش exvivo : که در آن با برداشت تومور، ژن مورد نظر در درون محیط کشت به داخل سلول های توموری گسیل می شود و سپس دوباره این سلول ها به بدن بازگردانده می شوند (۳۸).

نخستین آزمایشهایی که در زمینه انتقال ژنهای سیتوکین ها انجام گرفت، انتقال ژن عامل نکروزتوموری (TNF) ، به داخل لنفوسیت های ارتشاحی تومور یا به اختصار TIL (Tumor Infilterating Lymphocyte) بود. ترشح موضعی TNF به وسیله این سلول ها، که به داخل لایه های توموری هدایت می شوند، انهدام سلول های توموری را توسط سیستم ایمنی تقویت می کرد. این تجارب از این جهت اهمیت دارند که از اثرات سمی که تزریق وریدی TNF ، روی تمام سلول های بدن می گذارد جلوگیری به عمل می آورد. مقادیری از TNF که در بدن ایجاد سمیت می کند، بسیار پایین تر از مقادیری است که بر علیه سلول های سرطانی مؤثر واقع می شود. از این رو اگر بتوان TNF را با غلظت زیاد و به صورت موضعی تجویز کرد، ضمن اینکه از سمیت بدنی آن جلوگیری می شود، اثرات آن بر سلول های توموری نیز تشدید می گردد (۴۰).

تاکنون بررسی های گسترده ای در زمینه انتقال ژنهای TNF-α ، اینترلوکین - ۲ (IL-2) ، ۴ (IL-4) ، اینترفرون γ و عامل محرک کلنی گرانولوسیت (GcSF) به درون سلول های سرطانی موش انجام شده است که در هر مورد پاسخ های ایمنی تشدید گردیده است. در پژوهشی که برای بهینه سازی این روش انجام گرفت، سلول های ترشح کنندهٔ سیتوکین همراه با سلول های توموری والدینی (اولیه) در یک محل تزریق گردید.

این عمل سبب کشته شدن هر دو نوع سلول توموری - اعم از تغییر یافته (ترشح کنندهٔ سیتوکین) و تغییر نیافته (والدینی) - گردید. مفهوم این رخداد آن است که این سلول ها می توانند، علاوه بر ایجاد یک ایمنی بادوام علیه سلول های توموری، در پی آن، خود نیز از بین بروند. این ویژگی در درمان سرطان های انسانی بسیار حائز اهمیت است. چنین شیوه درمانی، حتی در مورد بیمارانی که از پیش تحت درمان های ضدتوموری دیگری قرار گرفته اند و ظاهراً سالم به نظر می آیند، مفید می باشد. در این بیماران می توان از سلول های توموری ترشح کنندهٔ سیتوکین، جهت درمانهای کمکی استفاده

کرد تا از عود بیماری جلوگیری شود. البته نیازی به تأکید ندارد که همه این مطالب هنوز در حد فرضیه اند و با توجه به نتایج گوناگونی که تاکنون این روش های درمانی در موش ها نشان داده ند، این پرسش همچنان باقی مانده است که در مورد انسان تا چه حد فراگیر می باشند؟ (۴۰).

برای پاسخ به پرسش بالا در سال ۱۹۹۱، دستورالعمل بالینی وارد کردن ژن TNF ، به وسیله یک ناقل رتروویروسی به درون سلول های تومـوری انسـان، توسط دانشـمندی به نام روزنبرگ (Rosenberg) پیشنهاد شد. از ۱۲ بیمار سرطانی که سلول های توموری تغییر یافته (ترشح کنندهٔ سیتوکین) را دریافت نمودند، ۱۱ نفر درمان شدند. اما با توجه به سمیت شناخته شدهٔ TNF ، سازمان بهداشت جهانی، افزایش دوز سلول های تغییر یافته را محتاطانه و در درازمدت مجاز دانست. علاوه بر این به تجربه ثابت شده که انتقال مؤثر TNF به TIL با استفاده از ناقلین رتروویروسی و رسیدن به سطح بیان قابل توجه این ژن، کاری فوق العاده دشوار است. این موضوع یکی از دلایل فقدان پاسخ های بالینی لازم، البته تا این زمان به این نحوهٔ درمان می باشد (۳۷).

آیندهٔ ژن درمانی و بررسی های مولکولی سرطان کولورکتال

ژن درمانی در آینده تا چه حد در حرفهٔ پزشکی تأثیر خواهد گذاشت؟ در پاسخ به این پرسش کلیدی آنچه را که واقع بینانه می توان گفت این است که این فرآیند تا هنگامی که به طور عمده به شیوه جاری (خارج کردن سلول ها از بدن بیمار، وارد کردن ژن سالم دلخواه و بازگرداندن سلول های اصلاح شده با ژن مورد نظر به بدن بیمار) انجام می شود، ظاهراً تأثیر چندانی نخواهد داشت. وابستگی این شیوه به فن آوری تخصص یافته، عمیق و تنگاتنگ است. به علاوه، هزینه زیادی در برداشته و به متخصصین پزشکی و فنی زیادی نیازمند است. که در سطح وسیع و به ویژه در مراکز بزرگ و بسیار پیشرفته پزشکی به کار گمارده شوند، بنابر این با این شیوه، حداکثر صدها نفر بیمار ـ و نه میلیونها نفر بیمار موجود ـ قابل درمان هستند.

ژن درمانی، تنها زمانی خواهد توانست تأثیر عمده ای بر قلمروهای پزشکی، بهداشتی و سلامت جامعه بر جای نهد که در کنار دیگر ملزومات، ناقلین ژنی به ویژه به نحوی تغییر یابند که بتوانند با کارآیی به مراتب بیشتر و خطرات احتمالی به مراتب کمتر از امروز ـ مانند سایر داروها از جمله انسولین ـ به طور مستقیم به بیماران تزریق شوند. در این راستا، به کمک روش های شگفت انگیز و قدرتمند مهندسی ژنتیک و ژنتیک مولکولی که به طرزی فزاینده و مستمر در حال تحول و تکامل هستند، ناقلین را باید به گونه ای تغییر داد تا نخست: تنها، انواع ویژه (و مورد نظر) از سلولها را هدف قرار دهند؛ دوم: اطلاعات ژنتیکی خود را در ناحیهٔ بی خطری از ژنوم وارد کنند و سوم: با علایم فیزیولوژیکی طبیعی سلول به راحتی تنظیم گردند. این هدف ها با چالش های جدی اگرچه در حال حاضر تا حد زیادی دور از دسترس می نمایند، اما چشم انداز آن بسیار نوید بخش است. زمانی که ناقلین کارآمدی از این نوع (اعم از رتروویروسی، ویروسی، صناعی یا آمیزه ای از هر سه آنها) طراحی و ساخته شد، ژن درمانی خواهد توانست، دگرگونی های عمیق و راهبری در حرفه پزشکی مولکولی ایجاد کند.

همزمان با پیشرفت های خیره کنندهٔ طرح بین المللی ژنوم انسان ـ به عنوان عظیم ترین طرح پژوهشی تاریخ انسان در علوم زیست، تاکنون ـ که اطلاعات بسیار ارزشمند و کاملی از کل کتابخانه ژنتیکی سلولهای بدن فراهم می آورد، استفاده از ژن درمانی نه تنها در درمان ـ اساسی ـ بیماریها، بلکه در پیشگیری از ناهنجاریهای انسانی (به طور نمونه با تأمین ژنهای نگهبان پیش از آشکار شدن فنوتیپ بیماری)، میسر خواهد شد.

روشن سازی اساس مولکولی بیماریهای ژنتیکی، مانند سرطان، از جمله اصلی ترین وظایف ژنتیک مولکولی تا به امروز بوده است. در مورد سرطان کولورکتال ـ به عنوان یکی از شاخص ترین سرطان ها ، موفقیت های چشمگیری در این زمینه، حاصل شده است.

از میان مبرم ترین اولویت های بر جا مانده، به ویژه در کشورهایی مانند ایران، آشنا کردن همه جانبه متخصصین بالینی و نیز متحول کردن برنامه های آموزشی و پژوهشی و رشته های پزشکی با دقایق و نظریه های ژنتیک مولکولی روز و روشها و فنون آن، بدون تردید از جمله رسالت های روشن دست اندرکاران و مسئولان مربوط است که البته نیازمند برداشتن گام های اساسی است و خدای ناکرده غلفت از آن، به نوبه خود زیان های جبران ناپذیری را بر سلامت جامعه وارد می سازد. نگاهی گذرا، اما درست بر پیرامون ما و آنچه که در این زمینه در جهان می گذرد، به روشنی حکایت بر آن دارد که این رشته و از جمله پزشکی مولکولی به ویژه در قلمروهای پیشگیری، تشخیص و درمان بیماریها ـ و از جمله سرطان، روز به روز اهمیت بیشتری می یابد.

سخن را با تأکید و یادآوری چند نکتهٔ بدیهی اما راهبردی به پایان می بریم. امید است مفید و مورد توجه علمی واقع شود:

چنانچه پیداست در جهان معاصر، علم و تکنولوژی از عناصر مهم فرهنگ، گذرگاه و عامل اصلی هر گونه رشد و توسعه پایدار به حساب می آید. و در اساس استقلال و

خوداتکایی کشورها نقشی انکارناپذیر دارد و به این دلیل در کشورهای پیشرفته علمی، ارابه علم و تکنولوژی با سرعتی دور از تصور به جلو می‌رود.

علوم زیستی - به ویژه ژنتیک مولکولی و روشها و فنون مهندسی ژنتیک، که در این مقاله ذره‌ای ناچیز از آن مورد بحث قرار گرفت، نیز در آستانهٔ عصر طلایی خود قرار گرفته است و با پیشرفت‌های شگرف به دست آمده در دو سه دهه اخیر، در عموم شئونات زندگی انسان نقشی برجسته و اهمیتی راهبردی پیدا کرده است.

پاسخ به این پرسش که در مسیر کاروان شتابان علم و تکنولوژی، اینک ما کجا ایستاده‌ایم؟ متأسفانه، چندان دلگرم کننده نیست از این رو تا نیم فرصتی باقی است، باید کاری کرد. چه، هر گونه بی‌اعتنایی یا کم توجهی به این عوامل پیشرفت، دستآوردی جز عمیق تر شدن شکاف علمی، فنی و اقتصادی موجود بین کشورهای پیشرفته علمی با کشورهای در حال توسعه نخواهد داشت.

چنانچه اشاره شد، از چند گام براکنده که بگذریم، متأسفانه و به دلایل فراوان (که خارج از حوصله این نوشتار است) و علی‌رغم داشتن پتانسیل بسیار بالا، در این زمینه در مجموع، پیشروی بسیار کند بوده است. با کمال تأسف، ما از منابع و استعدادهای طلایی و سرشار انسانی خود - به ویژه نسل جوان، این سرمایه‌های اصلیِ محوری که موهبتی الهی و تمام ناشدنی است - حداقل بهره را نگرفته‌ایم. چه باید کرد؟ باید که با توکل به خدا، با گام‌های استوار، منسجم و جهادی مقدس، تنگناها را مرتفع ساخت و قابلیت‌های علمی و فنی خود را متناسب با نیازهای جامعه ارتقاء بخشید. باید به مسئولیت تاریخی خطیر خود، در عرصهٔ عمل مقصودمند، پاسخی در خور داد. و با ناظر دانستن خداوند در همهٔ احوال، تنها در جهت رضایت او قدم برداشت. آری، جبران عقب‌ماندگیها، عزمی به واقع ملی را می‌طلبد و در چنان فضای زنده‌ای، پیشرفت واقعی نیز دور از دسترس نیست. از خداوند سبحان می‌خواهیم به همهٔ ما بیش از پیش توفیق شناخت صحیح وظیفه و عمل درست به آن را عنایت فرماید.

ان شاء ا...

يُنَزِّلُ الْمَلٰئِكَةَ بِالرُّوحِ مِنْ أَمْرِهِ عَلٰى مَنْ يَشَاءُ مِنْ عِبَادِهِ أَنْ أَنْذِرُوا أَنَّهُ لَا إِلٰهَ إِلَّا أَنَا فَاتَّقُونِ

خدا فرشتگان و روح را به امر خود بر هر که از بندگان خواهد می‌فرستد تا او خلق را اندرزداده و از عقوبت شرک به خدا بترساند و به بندگان بفهماند عالم را خدائی جز من نیست تا تنها از عقاب من بترسید.

سوره نحل آیه ۲

REFERENCES:

1- Cotran R., Kumar V., Robbins S.; Pathologic basis of disease; Philadelphia; WB Saunders; 1994; 241-300, 809-18.

2- Bennett J., Plum F.; CECIL Text book of medicine; Philadelphia; WB Saunders; 1996; 721-28.

3- Lavey R., Hastkell C. Ramming K. ; Colon & Rectum; Hastkell C., Berek J.; Cancer treatment; Philadelphia; WB Saunders; 1995; 469-77.

4- Irving M., Jones D.; ABC of colorectal disease; London; BMJ; 1993; 55-65.

5- Weiss A., Itzkowitz S.; Clinical aspects of colorectal Cancer; Rustgi A.; Gastro intestinal cancer; / Biology, diagnosis and therapy/; Philadelphila; Lippincott - Raven; 1995; 353-62.

6- Kern S., Kinzler K., Molecular genetics of colorectal carcinoma; Rustgi A.; Gastrointestinal cancers: Biology, diagnosis and therapy/philadelphia; Lippincott - Raven; 1995; 413-20.

7- Astrin S., Costanzi C.; The molecular genetics of colon Cancer; Semin. oncol.; 1989; 16(2); 138-47.

8- Macdonald F. Ford C.; Oncogenes and tumor suppressor genes; Oxford; BIOS Scientific Pub.; 1991; 11,27-28, 73-76.

9- Finlay G.; Genetics, molecular biology and colorectal cancer; Mut. Res.; 1993, 290; 3-12.

10- Keesee S., Men ghini M., et al.; Nuclear Matrix Proteins in human colon cancer; Proc. Natl. Acad. Sci. USA; 1994; 91; 1913-16.

11- Greco G., et al.; Detection of C- myb genetic alterations and mutant P53 serum protein in patients with benign & malignant Lesions; Anticancer Res.; 1994; 14; 1433-40.

12- Venitt S., Mechanisms of carcinogenesis and individual susceptibility to cancer; Clin. Chem.; 1994; 40(7); 1421-25.

13- Khine K., et al.; High frequency of Allelic deletion on Chromosome 17P in advanced colorectal cancer; Cancer; 1994; 73(1); 28-34.

14- Iino H, et al.; Molecular genetics for clinical management of colorectal carcinoma; Cancer; 1994; 73(5); 1324-31.

15- Rasko I., Downes C.; Genes in Medicine: Molecular biology and human genetic disorders; Oxford; Chapman & Hall; 1995; 363-65.

16- Lothe R., et al.; Genomic Instability in colorectal cancer: Relationship to clinicopathological Variables and family history; Cancer Res.; 1993; 53(15); 5849-52.

17- Chapelle A., Peltomaki P.; Genetics of hereditary colon cancer; Annu. Rev. Genet.; 1995; 29; 329-48.

18- Thibodeau S., Bren G., Schaid D.; Microsatelite instability in cancer of the proximal colon; Science; 1993; 260; 816-19.

19- Aultonne L., et al; Replication errors in benign and malignant tumors from hereditary non-polyposis colorectal cancer patients; Cancer Res; 1994; 54(1); 1645-48.

20- Bronner C., et al.; Mutation in DNA mismatch repair genes homologue $hmLH_1$ is associated with hereditary non-polyposi colon cancer; Nature; 1994; 368 (17) 258-61.

21- Suzuki H., et al.; Microsatelite Instabili in ulcerative colitis - associated colorect dysplasia and cancer; Cancer Res.; 199 54(15); 4841 - 44.

22- Lodish H., Baltimore D., et al.; Molecul cell biology; New York; Scinetific Ame ican Books; 1995; 318-21.

23- Aultonen L., et al.; Clues to pathogene of familial colorectal cancer; Scienc 1993; 260(7); 812-15.

24- MaoL., Lee D.; Microsatelite alteratio as clonal markers for the detection of h man cancer; Proc. Natl. Acad. Sci. US 1994; 91; 9871-75.

25- Modrich P.; Mismatch repair, genetic s bility and cancer; Science; 1994; 266(2 1959-60.

26- Horii A., et al.; Frequent replication rors at microsatelite loci in tumors of tients with multiple primary cancers; C cer Res.; 1994; 54(1); 3373-75.

27- Weaver R., Hedrick Ph.; Basic genet Dubuque; Wm. C- Brown Pub.; 19 285-90, 338-39.

28- Modrich P., Lahue R.; Mismatch repai replication fidelity, genetic combination, and cancer biology; Ar Rev. Biochem; 1996; 65; 101-33.

29- Bufill J.; Colorectal cancer: Evidence distinct genetic categories based proximal or distal tumor location; Int. Med; 1990; 113;779-88.

30- Bresalier R., kim Y.; Malignant neop

of the large intestine; Sleisenger M., Fordran J.; Gastro intestinal disease (Pathology/Diagnosis/Management); Philadelphia; WB Saunders; 1993; Vol 2; 1978-84.

31- Muller H j., et al.; Colorectal cancer: Lessons for genetic counselling and care for families; Clin. Genet; 1994; 46; 106-114.

32- Mao L., Sidransky D.; Cancer screening based on Genetic alterations in human tumors; Cancer Res.; 1994; 54 (Suppl); 19395-19405.

33- Hayash N., et al.; Genetic diagnosis identifies occult lymph node metastasis undetectable by the histopathological method; Cancer Res.; 1994; 54(15); 3853-56.

34- Stryer L.; Biochemistry; New York; W.H. Freeman; 1988; 615-16.

35- Katzung B.; Basic & clinical pharmacology; Norwalk; Appleton & Lang; 1992; 830-34, 872.

36- Anderson W.; Human gene therapy; Science; 1992; 256(8); 808-13.

37- Derita V., Hellman S., Rosenberg S. ; Biologic therapy of cancer; philadelphia; J.B. Lippincott; 1995; 713-26.

38- Toloza E., Economou J., Gene therapy of cancer; Hastkell C., Cancer treatment; philadelphia; WB. Saunders; 1995; 305-307.

39- Baker S., et al.; Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild type P53; Science; 1990; 249; 912-915.

40- Miller A.; Human gene therapy comes of age; Nature; 1992; 357; 455-60.

۴۱- قربانی، راهبه؛ تعیین میزان بقای مبتلایان به سرطان‌های لوله هاضمه در ارتباط با همبستگی فامیلی؛ پایان نامه جهت دریافت کارشناسی ارشد آمار حیاتی، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی؛ ۱۳۷۳ - صفحات ۱۸-۲۱.

۴۲- ندیم، ابوالحسن؛ اپیدمیولوژی و کنترل سرطانها؛ عزیزی، فریدون؛ اپیدمیولوژی بیماریهای شایع در ایران؛ تهران؛ مرکز چاپ و انتشارات دانشگاه پیام نور؛ ۱۳۷۲، صفحات ۳۳-۴۹.

۴۳- حاتمی، علیرضا، مقایسه میزان بروز و خطر نسبی ابتلا به انواع سرطان در استانهای مختلف کشور، پایان نامه جهت دریافت کارشناسی ارشد آمار حیاتی؛ دانشگاه تربیت مدرس، دانشکدهٔ علوم پزشکی؛ ۱۳۶۹؛ صفحات ۲۵-۳۹.

۴۴- استیفن جی. اولیور، جان ام. وارد، فرهنگ مهندسی ژنتیک؛ نوری دلویی، محمدرضا؛ خسروی نیا، سایه مجیدفر، فرفت؛ انتشارات مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی؛ تهران؛ پاییز ۱۳۷۳؛ صفحات۶۱-۲۱

45 -Watson J.D.; Molecular Biology of the Gene, fourth edition, W.A. Benjanin, INC. 1987.

46- Lynch, H.T., Smyrk T., Lynch, J. An update of HNPCC (Lynch syndrome),Cancer Gen. Yutoyen. 1997, 93: 84-99.

47- Herfarth, K.F., Kodner, I.J. Whelan, A.J. et al., Mutation in MLH, are more frequent than in MsH_2 in sporadic colorectal cancers with microsatellite Instability, Gen. Chrom Can., 1997, 18: 42-49.

48- Papadopoulos. N., Nicolaides, N.C., Liu B., Mutation of GTBp in Genetically unstable cells, Science, 1995, 268: 1915-1917.

49- Losi, L., Loen, M.P., Jirincy J., K - ras and P53 mutations in Hereditary non-polyposis colorectal cancers, Int.J. Can, 1997, 14: 94-96.

50- Drummond, J.T., Li, G.M., Longley, M.J., Modrich, P., Isolation of an hM_SH_2-P160 Heterodimer that restores DNA mismatch repair to tumor cells, Science, 1995, 268: 1909-1912.

51- Spitz, F.R., Nguyen, D., Skibber, J.M., Cusack, J., Roth, J.A, Cristiano, R. J., In vivo Adenovirus - mediated P53 tumor suppressor gene therapy for colorectal cancer, Anticancer Res., 1996, 16: 3415-3422.

52- Beck, N.E., Tomlinson, I.P.M., Homfray,T., Frayling I., Hodgson, S.V., Harocopos, C., Bodmer, W.F., Use of SScp analysis to identify germline mutations in HNPCC families fulfilling the Amsterdam criteria, Hum. Genet., 1997, 99: 219-224.

53- Palombo, F., Gallinari, P., laccarino. I., Lettieri, T., Hughes, M., Arrigo, A.D., Truong. O., Hsuan, J.J., Jiricny. GTBp, a 160 kilodalton protein essential for mismatch - binding activity in human cells, D Scinece, 1995, 268: 1912-1914.

54- Jernvall, P. Makinen, M., Karttunen, T., Makela, J., Vihko, P., Conserved region mutations of the P53 gene are concentrated in distal colorectal cancers. Int. J. can. 1997, 74: 97-101.

۵۵- هاشمی، ح.، سرطان های دستگاه گوارش در ایران، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۶۳، ۲۰۷-۱۹۹.

۵۶- نوری دلویی، محمدرضا؛ سرطان و ژنهای سرطانزا، مجله رشد آموزش زیست شناسی، شماره ۲۳، بهار ۱۳۷۰، صفحات ۶-۱۳.
۵۷- نوری دلویی، محمدرضا؛ سرطان و ژنهای سرطانزا، مجله رشد آموزش زیست شناسی، شماره ۲۴، تابستان ۱۳۷۰، صفحات ۶-۱۰.
۵۸- نوری دلویی، محمدرضا؛ نظری بر ژن درمانی و چشم انداز آن، مجله اورولوژی ایران، سال اول، شماره ۴، زمستان ۱۳۷۳، صفحات ۶۵-۷۵.
۵۹- نوری دلویی، محمدرضا؛ نظری بر ژن درمانی و چشم انداز آن، مجله اورولوژی ایران، سال دوم، شماره ۵، ۶، بهار و تابستان ۱۳۷۴، صفحات ۱۳-۲۱.
۶۰- نوری دلویی، محمدرضا، نظری بر حال و آینده مهندسی ژنتیک و پزشکی مولکولی، نبض، سال چهارم، شماره ۱۰، تیرماه ۱۳۷۴، صفحات ۴-۸.
۶۱- نوری دلویی، محمدرضا و نوروزی، آذین، جایگزینی ژن نشانه گیری شده، رازی، سال ششم، شماره ۹، مهر ماه ۱۳۷۴، صفحات ۲۶-۳۸.
۶۲- نوری دلویی، محمدرضا و نوروزی آذین، جایگزینی ژن نشانه گیری شده، رازی، سال ششم، شماره ۱۰، آبانماه ۱۳۷۴، صفحات ۱۴-۳۲.
۶۳- نوری دلویی، محمدرضا و نوروزی، آذین، واردسازی مولکول DNA به درون سلول، گزیده ای از تازه های پزشکی، سال دوم، شماره دوم، دیماه ۱۳۷۵، صفحات ۱۳۱-۱۳۷.
۶۴- نوری دلویی، محمدرضا، ژنهای بازدارندهٔ تومور: کلید معمای سرطان، مجله علوم پایه دانشگاه الزهرا (س)، سال سوم، شماره ۵، ۶، ۱۳۷۲، صفحات ۵۰-۵۸.

وَلِلّٰهِ الْمَشْرِقُ وَالْمَغْرِبُ فَأَيْنَمَا تُوَلُّوا فَثَمَّ وَجْهُ اللّٰهِ إِنَّ اللّٰهَ وَاسِعٌ عَلِيمٌ

مشرق و مغرب هر دو ملک خداست پس بهر طرف روی کنید بسوی خدا روی آورده اید خدا به همه جا محیط و به هر چیز داناست.

سوره بقره آیه ۱۱۵

سؤالات مقاله بازآموزی
ژنتیک مولکولی، ژن درمانی و چشم اندازهای آن در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

۱- در سرطان کولورکتال:
الف) بیماری، به طور عمده در سنین ۴۰ تا ۵۰ سالگی رخ می دهد.
ب) بیش از ۵۰٪ بیماران بالای سن ۷۰ دارند.
ج) وقوع آن پیش از سن ۴۰ سالگی، مربوط به زمینه ارثی است.
د) شانس ابتلاء مردان حدود دو برابر زنان است.

۲- سندرم APC (Ademomatous Polyposis coli) از کدام الگوی توارثی زیر پیروی می کند؟
الف) مغلوب آتوزومی
ب) غالب آتوزومی
ج) مغلوب وابسته به ایکس (X)
د) غالب وابسته به ایکس (X)

۳- وجه تمایز Lynch نوع دوم از نوع اول در چیست؟
الف) وقوع بدخیمی هایی در خارج از کولون، همزمان یا غیرهمزمان
ب) وقوع بدخیمی هایی در خارج از کولون، تنها در شکل همزمان
ج) وقوع بدخیمی هایی در خارج از کولون، تنها در شکل غیرهمزمان
د) ایجاد تومور تنها در قسمت ابتدایی کولون

۴- HNPCC:
الف) با الگوی مغلوب آتوزومی به ارث می رسد.
ب) از انواع پراکنده سرطان به حساب می آید.
ج) معمولاً واجد پولیپ های متعدد روده ای است.
د) معمولاً فاقد پولیپ های متعدد روده ای است.

۵- پروتوآنکوژنها:
الف) در تنظیم تکثیر سلولی نقش اساسی دارند.
ب) با عملکرد طبیعی خود، در ایجاد سرطان نقش دارند.
ج) تنها در اثر نقص در تنظیم مناسب بیان، به آنکوژنها تبدیل می شوند.
د) در شرایط طبیعی، در جهت کاهش خزانه سلولهای نابالغ عمل می کنند.

۶- ویژگیهای پروتئین Rasعبارت است از:
الف) اتصال به مولکول DNA و فعالیت اگزونوکلئازی
ب) اتصال به مولکول DNA و فعالیت اندونوکلئازی
ج) اتصال به غشاء و فعالیت GTPase
د) عدم اتصال به غشاء و فعالیت CTPase

۷- دلیل عمده فعال شده ژن myc در تومورها، چیست؟

الف) رخداد جهش در فرآورده های پروتئینی آن
ب) بر هم خوردن تنظیم مقدار و زمان بندی بیان آن
ج) جابجایی بین کروموزوم های ۳ ,۸
د) ایجاد جهش، تنها در تعدادی از آنکوژنها

۸- بر اساس نظریه Kundson:
الف) بین فعال شدن یک ژن بازدارنده تومور و حضور یا فقدان آنکوژن، هیچ رابطه ای نیست.
ب) برای فعال شدن یک ژن بازدارنده تومور، حضور آنکوژن در شکل طبیعی آن ضروری است.
ج) برای غیرفعال شدن یک ژن بازدارنده تومور، غیرفعال شدن یک آلل آن کافی است.
د) برای غیرفعال شدن یک ژن بازدارنده تومور، غیرفعال شدن هر دو آلل آن ضروری است.

۹- فرآورده ٔ ژن P53:
الف) یک فسفو پروتئین هسته ای است.
ب) یک فسفو پروتئین سیتوپلاسمی است.
ج) یک فسفوپروتئین هسته ای است که تقسیم سلولی را د ر مرحله G1 به جلو می برد.
د) یک فسفوپروتئین سیتوپلاسمی است که واسطه توقف تقسیم سلولی در مرحله G1است.

۱۰- در روش TNM کدامیک از معیارهای زیر در مرحله بندی سرطان کولورکتال نقشی ندارد:
الف) فقدان متاستازهای خونی
ب) حضور متاستازهای خونی
ج) اندازهٔ آسیب ها
د) حضور غیرطبیعی مولکولهای tRNA و rRNA

۱۱- ژن DCC :
الف) از آنکوژن های هسته به شمار می رود.
ب) در دودمان های سلول های سرطانی نسبت به سلول های مخاط طبیعی کولون، بیشتر بیان می شود.
ج) از نظریهٔ Knudson تبعیت می کند.
د) فرآوردهٔ پروتئین آن در هسته سلول حضور و نقش دارد.

۱۲- کدام یک از موارد زیر در خصوص عملکرد فرآورده ٔ ژن APC صحیح است:
الف) تنظیم بیان آنکوژن C-myc
ب) شکل دادن به سلولها
ج) توقف تقسیم سلولی
د) تمام موارد با لا

۱۳- تغییر در میزان میتلاسیون DNA پدیده ای ...
الف) ژنتیکی است که در پیدایش تومور و پیشرفت سرطان کولورکتال نقش دارد.
ب) اپی ژنتیکی است که در پیدایش تومور و پیشرفت سرطان کولورکتال نقش دارد.
ج) اپی ژنتیکی است که در پیدایش تومور و پیشرفت سرطان کولورکتال هیچ نقشی ندارد.
د) گاه ژنتیکی و زمانی اپی ژنتیکی است.

۱۴- در پیشگیری از سرطان های کولورکتال:

الف) آزمون های مستقیم بر جستجو برای وجود یا فقدان یک آلل جهش یافته استوار است.
ب) آزمون های غیرمستقیم بر جستجو برای وجود یا فقدان یک آلل جهش یافته استوار است.
ج) آزمون های مستقیم بر جستجوی ژن ناقص به روش پیوستگی ژنی استوار است.
د) هر سه مورد بالا صحیح است.

۱۵- در روش RFLP که برای ردیابی حذف های آللی استفاده می شود، کدام یک از موارد زیر صحیح است:
الف) حذف آللی APC در مراحل پیشرفته سرطان FAP قابل کشف است.
ب) حذف آللی APC در هیچ یک از مراحل سرطان زایی قابل کشف نیست.
ج) نوارهایی از DNA که در نمونهٔ سرطانی دیده نمی شود، بیانگر قطعات حذف شده است.
د) نوارهایی از DNA که در نمونهٔ طبیعی دیده نمی شود، بیانگر قطعات حذف شده است.

۱۶- روش جستجوی تغییرات ریزماهواره ای در مقایسه با روش MASA مزایای متعددی دارد، از جمله:
الف) نیازمند تعداد زیادی کاوشگر ویژه است.
ب) نیازمند داشتن اطلاعات دقیق پیرامون تغییرات خاص ژنتیکی در تومورهای اولیه است.
ج) حساسیت آن بسیار بالا است.
د) از نظر زمان و هزینه مقرون به صرفه تر است.

۱۷- معتبرترین شاخص پیش آگهی ضعیف سرطان کولورکتال چیست؟
الف) وجود جهش در کروموزوم های تمام تومورها
ب) وجود جهش در ژنهای تمام تومورها
ج) وجود متاستاز
د) تمام موارد بالا صحیح است.

۱۸- روش MASA:
الف) در تشخیص جهش های P53 در مدفوع مبتلایان به سرطان کولورکتال کارآیی دارد.
ب) می تواند متاستازهای ریز لنفاوی را کشف کند.
ج) می تواند با برداشتن گره های آلوده، از انتشار لنفاوی سرطان جلوگیری کند.
د) هر سه مورد بالا صحیح می باشد.

۱۹- کدام یک از موارد زیر از جمله استراتژیهای ژن درمانی سرطان به حساب می آید:
الف) وارد کردن RNA های آنتی سس به درون سلول سرطانی برای تقویت بیان آنکوژنی.
ب) وارد کردن ژنهای سیتوکین ها به داخل لنفوسیت ها و یا سلولهای سرطانی.
ج) بیان بالای ژنهای بیش از حد تکثیر شونده.
د) تقویت و فعال سازی آنکوژنها.

۲۰- ناقلین مناسب برای ژن درمانی در سرطان، باید چه ویژگیهایی داشته باشند؟
الف) با علایم فیزیولوژیکی سلول به راحتی تنظیم گردند.
ب) ژنهای بازدارندهٔ تومور را دستخوش جهش سازند.
ج) هم سلولهای طبیعی و هم سلولهای سرطانی را هدف قرار دهند.
د) اطلاعات ژنتیکی خود را در ناحیهٔ ژنهای ضروری موجود در ژنوم ـ فرد گیرنده وارد کنند.