مقایسه شیوع جهش‌های ژنتیکی در ژن‌های APC و P53 در پولیپ‌های آدنومایی کولون از نوع دیسپلازی خفیف با نوع شدید

دکتر عیسی نورمحمدی I

دکتر مهشید هورمزدی II

*دکتر اکبر حسن پور III

دکتر علی زارع‌میرزایی IV

فلورا بخشایش V

چکیده

زمینه و هدف: پولیپ‌های کولورکتال از شایع‌ترین ضایعاتی است که آسیب‌شناسان با آن مواجه می‌شوند. در آمریکا، کولونوسکوپی و سیگموئیدوسکوپی برای همه بیماران بالای ۴۰ سال پیشنهاد می‌شود. پیشرفت ضایعات آدنوماتوس به سرطان بدخیم معروف به توالی آدنوم ـ کارسینوم(Adenoma-Carcinoma Sequence) است. معمولاً همه بدخیمی‌های کولورکتال تغییرات ژنتیکی را از خود نشان می‌دهند. در بین این تغییرات ژنتیکی، موتاسیون ژن‌های سرکوب کننده تومور APC و P53 مهم‌ترین آن‌ها می باشند. هدف از این تحقیق بررسی مقایسه‌ای شیوع موتاسیون‌های جهش‌های ژنتیکی در ژن‌های APC و P53 در پولیپ‌های آدنومایی کولون از نوع دیسپلازی خفیف با نوع شدید بوده است.

روش بررسی: مطالعه انجام شده از نوع مقطعی (cross sectional) بود. ۶۰ مورد پولیپ‌های آدنوماتوس کولون که ۳۰ مورد آن‌ها از نوع درجه پایین و ۳۰ مورد دیگر از نوع درجه بالا بودند، در این تحقیق بررسی شدند. این مطالعه با مراجعه به فایل‌های آسیب‌شناسی موجود در بیمارستان‌های مهر، حضرت رسول و شهدای هفتم تیر و بررسی بلوک‌های پارافینه و بررسی از نظر بروز موتاسیون‌های APC و P53 بین آن‌ها با روش PCR انجام شد. سپس نتایج با آزمون‌های آماری کای دو(Chi-square) و T-test مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: بروز موتاسیون APC در پولیپ‌های درجه پایین و درجه بالا به ترتیب در ۳۶/۷ و ۶۳ درصد دیده شد($p<0/05$). بروز موتاسیون در p53 در پولیپ‌های درجه پایین و بالا به ترتیب در ۱۰ درصد. ۴۳ درصد موارد دیده شد($p<0/05$). در هر دو مورد، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. متوسط سنی ۶۲/۲ سال و متوسط اندازه پولیپ‌ها ۱۵/۶ میلی‌متر بود. رابطه‌ای مستقیم بین اندازه پولیپ‌ها و جهش‌های APC وجود داشت($p<0/05$) ولی این رابطه با جهش‌های p53 دیده نشد.

نتیجه‌گیری: تشخیص زود هنگام پولیپ‌های آدنوماتوس کولون و برداشتن به وسیله کولونوسکوپی، می‌تواند از ایجاد تومورهای بدخیم جلوگیری کند و سبب کاهش گرفتاری و مرگ و میر شود.

کلیدواژه‌ها: ۱ – روده بزرگ ۲ – پی.۵۳ ۳ – ای.پی.سی ۴ – پولیپ‌های آدنوماتوس ۵ – واکنش زنجیره پلیمراز

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۲/۱۸، تاریخ پذیرش: ۸۴/۳/۷

I) دانشیار و Ph.D. بیوشیمی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران.

II) استادیار و متخصص آسیب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران.

III) متخصص آسیب‌شناسی، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران.(*مولف مسؤول)

IV) استادیار و متخصص آسیب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران.

V) کارشناس ارشد انگل‌شناسی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-02-17]

مقدمه

آدنوماها شایع‌ترین و مهم‌ترین نوع پاتولوژیک پولیپ‌های کولون هستند زیرا زمینه‌ساز تومورهای کولون می‌باشند. شیوع آن‌ها با افزایش سن بالا می‌رود و در کشورهایی با شیوع بالا از قبیل آمریکا، در سن بالای ٦٥ سال بین ٥٠ تا ٦٥درصد افراد در کالبد شکافی دارای پولیپ شناخته شده‌اند.[١] خطر ایجاد آدنوما با مصرف غذاهای غنی از چربی حیوانی و فقیر از نظر فیبر و افزایش مصرف الکل و سیگار افزایش می‌یابد.[٢]

تبدیل پولیپ‌های آدنوماتو به ضایعات بدخیم به عنوان توالی آدنوم ـ کارسینوم نام برده می‌شود و اثبات این نظریه با مشاهده موارد زیر می‌باشد[٣]: ١) جمعیت‌هایی که دارای میزان شیوع بالای آدنوم هستند، سرطان کولورکتال نیز در آن‌ها زیاد دیده می‌شود. ٢) توزیع آدنوم‌ها در روده بزرگ و رکتوم با نحوه توزیع سرطان کولورکتال مطابقت دارد. از نظر زمانی آدنوم‌ها چند سال قبل از حداکثر وقوع سرطان کولورکتال دیده می‌شوند. ٣) وقتی سرطان مهاجم در مراحل ابتدایی تشخیص داده می‌شود، در اغلب موارد در اطراف خود دارای بافت آدنوم است. ٤) خطر سرطان با تعداد آدنوم‌ها ارتباط مستقیم دارد، بنابراین می‌توان از وقوع سرطان در بیماران مبتلا به سندروم‌های پولیپوز خانوادگی اطمینان داشت. ٥) برداشتن آدنوم‌ها و ضایعات مشکوک، میزان وقوع سرطان کولورکتال را کاهش داده است. تقریباً تمام کارسینوم‌های کولورکتال، تغییرات ژنتیکی را به نمایش می‌گذارند که مطالعه آن‌ها یافته‌های مهمی در مورد مکانیسم‌های عمده کارسینوژنز فراهم می‌نماید. این تغییرات وقایع کلیدی مربوط به ژن‌های APC(Adenomatous polyposis coli)، HNPCC، اختلال متیلاسیون، K-ras، DCC و p53 می‌باشد.[٣]

روش بررسی

مطالعه انجام شده از نوع مقطعی(Cross-sectional) و جامعه پژوهش شامل تعداد ٣٠ مورد پولیپ آدنومایی کولون با دیسپلازی درجه خفیف و ٣٠ مورد پولیپ آدنومایی کولون با دیسپلازی شدید از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های مهر، حضرت رسول اکرم، فیروزگر و شهدای هفتم‌تیر و ارجاع شده به بخش آسیب‌شناسی بود. با توجه به میزان آتیپی و اختلال ساختمانی در غدد، چهار نوع دیسپلازی(Dysplasia) تعریف شده است:

١) Mild Dysplasia(دیسپلازی خفیف): همه آدنوماها حداقل باید دارای این درجه از دیسپلازی باشند (Overlaping) که در قاعده قرار گرفته‌اند(Basally). غشا هسته‌ها منظم و الگوی کروماتین ظریف می‌باشد و هستک وجود ندارد.

٢) Moderate dysplasia(دیسپلازی متوسط): غدد فاقد پلاریزاسیون قاعده هسته بوده، غشای هسته بیشتر نامنظم و الگوی کروماتین نامنظم(un even) می‌باشد. هستک‌ها بیشتر برجسته هستند.

٣) Sever dysplasia(دیسپلازی شدید): استرومای بین غددی به طور واضحی کاهش دارد و نامنظمی پیچیده‌ای در غدد و چین‌خوردگی‌های پاپیلاری نامنظم و شدید دیده می‌شود. تغییرات سلولی در نوع شدید شامل نامنظمی واضح در غشای هسته، واضح شدن کروماتین، شکل وزیکولار و کلامپینگ(clumping) نامنظم(مچاله شدن) یا شدیداً پررنگ (Hyper chrom) می‌باشد و دارای هستک بزرگ است.

٤) کارسینوم درجا(In situ): تغییرات شدید ساختمانی غدد مثل نمای غربالی(Cribriform)، پشت به پشت یا صفحات جامد(Solid) دیده می‌شود که همراه با تغییرات سلولی دیسپلازی است.

ج) Low grade dysplasia (دیسپلازی درجه خفیف): طبق تعریف نوعی دیسپلازی است که شامل مجموع دیسپلازی خفیف(Mild) و متوسط (Moderate) می‌باشد.

د) High grad dysplasia (دیسپلازی شدید): طبق تعریف شامل هر دو نوع شدید(Sever) و کارسینوم درجا(Insitu) می‌باشد.

نمونه‌های درجه بالا از بلوک‌هایی انتخاب شدند که قسمت عمده بافت، دارای دیسپلازی شدید بود. نمونه‌گیری به روش غیراحتمالی مستمر سهم‌دار انجام شد(لازه به ذکر است،

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-02-17]

نمونه‌گیری با مشورت با مشاور آمار و با توجه به محدودیت‌های هزینه‌ای طرح و تعداد نمونه‌های موجود انجام گرفته است). آزمون آماری به کار رفته آزمون کای دو می‌باشد.

روش تجزیه و تحلیل توصیفی شامل جدول توزیع فراوانی شاخص‌های مرکزی، پراکندگی و نمودارها جهت نیل به اهداف پژوهش استفاده شده است.

پس از مراجعه به فایل‌های پاتولوژی موجود در بیمارستان‌های ذکر شده و پیدا نمودن موارد مورد نظر، از بلوک‌های مناسب برش‌هایی به قطر ۵ تا ۱۰ میکرون(بسته به حجم بافت منظر) تهیه شد. در این مطالعه باید مراقبت بود تا آلودگی با نمونه‌های دیگر ایجاد نشود زیرا نتایج متناقضی ایجاد خواهد شد.

پس از تکمیل نمونه‌های لازم، مرحله اول استخراج (DNA Extraction) بود که در این رابطه از آنجایی که اصولاً استخراج(Extraction)DNA در این نمونه‌ها بسیار مشکل و با مسایل زیادی همراه بوده و در مطالعات مختلف روش‌های متفاوتی بیان شده است، روش‌های مختلف بررسی گردید. به طور مثال روش B و A طبق روش Yuichi[٤] و روش C، A، B طبق روش Sepp[٥] انجام شد و در نهایت پروتکل برگرفته از کاتالوگ کیت Aquapure Genomic DNA که مربوط به شرکت بایوراد بود، انتخاب گردید. مرحله بعد، PCR در دستگاه ترموسایکلر بود که جهت این مرحله ابتدا آغازگر(Primer) نیاز می‌باشد.

قبل از این مراحل،توالی(Sequence) پرایمرهای لازم با توجه به مراجعه به مقالات مختلف انتخاب گردید.[٦،٧] پس از استخراج(extraction)، نمونه‌ها با ژل آگارز از نظر وجود DNA بررسی شدند که بهترین نتایج را کیت فوق با موفقیت حدود ٦٠درصد نسبت به روش‌های قبل که نتایج خوبی نداشتیم(متوسط ٢٠٪) کسب نمود. سپس درجه خلوص(OD ratio) و غلظت(Concentration)، با استفاده از دستگاه Genequante اندازه گرفته شد که متوسط میزان درجه خلوص عدد ١/٤(١/٨-١/١١) که عدد قابل قبولی است و متوسط غلظت ٥٢٠ng در هر میکرولیتر(٧٥٠٠-٢٠٠)، به دست آمد. جهت انجام مرحله PCR، دماهای مختلف، زمان‌ها و سیکل‌های مختلف آزمایش شدند.

دماهای سیکل‌های PCR به شرح زیر تنظیم شد و تقریباً برای هر دو نوع ژن شرایط یکسانی انتخاب گردید: Denaturation(دمای دناتوریشن): ٩٤ و دمای گسترش (extention) ٧٢ و دمای اتصال(annealing) ٥٢ انتخاب شد. ژل پلی‌اکریل‌آمید با اندازه ١/٥mm×١٦٠×١٦٠(سایز بزرگ) استفاده شد.

ژل پلی‌اکریل‌آمید در جدا کردن قطعات کوچک DNA(٥٠٠bp-٥) بسیار موثرتر است. به این دلیل از این ژل استفاده شد که قابل ساختن در غلظت‌های مختلف و برای سایزهای متفاوت می‌باشد. گر چه این روش سرعت و قدرت بالایی دارد ولی معایبی نیز مثل آماده‌سازی مشکل و اشکال در حمل آن نسبت به ژل آگارز، نیز run کردن آن به صورت عمودی دیده می‌شود. ژل مورد استفاده در روش پلی‌آکریل‌آمید ١٠درصد بود[٨] پس از اتمام کار، ژل پلی‌آکریل آمید با روش نقره(Silver) رنگ‌آمیزی گردید و سپس داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

تعداد ٦٠ پولیپ آدنوماتوس که ٣٠ مورد آن‌ها از نوع درجه پایین و ٣٠ مورد از درجه بالا بودند، از نظر بروز جهش در ژن‌های APC و P53 مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. نتایج به دست آمده در سیستم SPSS آنالیز و pvalue محاسبه گردید و مقایسه آماری با آزمون Chi-square انجام شد. میانگین سنی جمعیت مورد مطالعه ٦٢/٢ سال، میانه ٦٥، نما ٧٥ سال و انحراف معیار ١٣/٣٧ به دست آمد. حداقل سن در این جمعیت ٢٩ سال و حداکثر آن ٨٧ سال بود(جدول شماره ١).

از تعداد کل ٦٠ نمونه مورد مطالعه، ٤٠ مورد آن‌ها مرد(٦٦/٧٪) و ٢٠ مورد زن(٣٣/٣٪) بودند. میانگین اندازه پولیپ‌ها ١٥/٦ میلی متر، میانه ١٢ میلی‌متر، نما ١٢ میلی‌متر و انحراف معیار ٨/٣٠ به دست آمد. کوچک‌ترین پولیپ، ٦

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-02-17]

میلی‌متر و بزرگ‌ترین پولیپ ٦٥ میلی‌متر بود. موارد مثبت جهش‌های p53 در پولیپ‌های درجه پایین و بالا به ترتیب برابر با ۳ از ۳۰ مورد(۱۰٪) و ۱۳ مورد از ۳۰ مورد(۳۳/۳٪) به دست آمد(جدول شماره ۱)(Fisher exact=۰/۰۰۷ و Pearson Chi-square=۰/۰۰٤).

نتایج بروز جهش‌های APC در پولیپ‌های درجه پایین و بالا به ترتیب برابر ۱۱ مورد از ۳۰ نمونه(۳٦/۷٪) و ۱۹ مورد از ۳۰ نمونه(٦۳٪) به دست آمد(جدول شماره ۲) (Fisher exact=۰/۰۷۰ و Pearson Chi-square=۰/۰۳۹).

در هر دو مورد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. یک رابطه مستقیم بین اندازه پولیپ‌ها و جهش‌های APC($p<۰/۰۵$) به دست آمد ولی این رابطه با جهش‌های p53 دیده نشد.

جدول شماره ۱- مقایسه جهش P53 در پولیپ‌هایی با دیسپلازی درجه پایین و بالا

	منفی	مثبت	جمع
درجه پایین	۲۷(۹۰)	۳(۱۰)	۳۰
درجه بالا	۱۷(٦٦/۷)	۱۳(۳۳/۳)	۳۰
جمع	۳۰	۳۰	٦۰

جدول شماره ۲- مقایسه جهش APC در پولیپ‌هایی با دیسپلازی درجه پایین و بالا

	منفی	مثبت	جمع
درجه پایین	۱۹(٦۳/۳)	۱۱(۳٦/۷)	۳۰
درجه بالا	۱۱(۳٦/۷)	۱۹(٦۳/۳)	۳۰
جمع	۳۰	۳۰	٦۰

بحث

در یک مطالعه بر روی تومورهای کولورکتال که توسط Yasuo Miyoshi و همکاران وی بر روی جهش‌های ژن APC انجام شد، از تعداد ٦۳ تومور(۱٦ آدنوم و ٤۷ کارسینوم)، در ۳۰ تومور عدم وجود هتروزیگوزیتی و در ٤۳ نوع دیگر، جهش‌های پیکری دیده شد. همچنین در ۲۱ مورد از آن‌ها، جهش نقطه‌ای، در ۱٦ مورد، جهش بی‌اثر (non sense)، در ۲ مورد Missens و در ۳ مورد در ناحیه Intorn در محل برش و اتصال وجود داشت.

۲۲ مورد جهش Frameshift در نتیجه حذف یا اضافه‌شدن‌ها دیده شد که ۹ مورد آن‌ها حذف ۱ تا BP-۳۱ و ۳ مورد اضافه شدن در BP-۱ بود. از طرفی ۹۵درصد از ٤۳ جهش، در نتیجه نقص پروتئین APC بود. در مجموع این داده‌ها، بیش از ۸۰درصد موارد، حداقل یک ناحیه جهش در ژن APC و ٦۰درصد موارد دارای دو ناحیه جهش بودند.[۹] در مطالعه دیگر، مقایسه‌ای بین جهش‌های ژنتیکی در آدنومای معمولی و انواع Serrated در ژن‌های k-ras، 3P، P16، P53، APC انجام شد. اختلاف واضحی بین این دو نوع وجود نداشت.[۷] نتایج مشابهی توسط Iwabuchi و همکاران به دست آمده است.[۱۰] در اکثر مطالعات، توالی جهش‌های ژنتیکی از مخاط طبیعی تا کانسر به اثبات رسیده است.[۱۱]

در مطالعه‌ای که توسط Muller و همکارانش انجام شد، نشان دادند که گر چه این توالی جهش‌های ژنتیکی در اکثر مواردی که کارسینوم از آدنوم منشا می‌گیرد، وجود دارد، ولی در موارد کمی که کارسینوم بدون منشا اولیه آدنوم می‌باشد، علاوه بر همان جهش‌های ژنتیکی معمول، میزان جهش عدم وجود هتروزیگوزیتی(LOH) در ناحیه 17P و بروز بیش از حد p53 و بروز ST-3 در این موارد بالاتر بوده است.[۱۲]

در یک مطالعه که توسط Gryfer و همکاران وی انجام شد، نشان دادند که جهش در APC و نیز K-ras، تغییرات اولیه می‌باشند و برعکس جهش عدم وجود هتروزیگوزیتی (LOH) در 18q، دیرتر اتفاق می‌افتد که مسؤول غیرفعال کردن ژن DCC می باشد و موتاسیون در p53 در کروموزوم 17P یک اتفاق نهایی است که سبب ایجاد کارسینوم می‌شود.[۱۳] نهایتاً در مطالعه دیگری که توسط Akiyama و همکارانش صورت گرفت، این فرضیه که تغییرات P53، APC مسؤول بیشتر موارد توالی آدنوم به کارسینوم هستند، اثبات گردید.[٦]

همان طور که دیده شد، مقالات و پژوهش‌های انجام شده،

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-02-17]

فرضیه توالی جهش‌های ژنتیکی از آدنوم به کارسینوم را ثابت می‌کنند ولی در هیچ یک از مطالعاتی که تاکنون انجام شده است، مقایسه‌ای بین پولیپ‌های آدنوماتوس با درجه دیسپلازی خفیف و شدید انجام نشده است و این مقایسه برای اولین بار انجام می‌گیرد. با اثبات بیشتر شایع‌بودن جهش‌های ژنتیکی در P53 در انواعی با دیسپلازی شدید، نشان داده می‌شود که یک هم‌خوانی بین یافته‌های میکروسکوپیک و جهش ژنتیکی وجود دارد و از طرفی نشان داده خواهد شد که جهش در APC یک تغییر اولیه و شایع‌تر می‌باشد که در هر دو نوع آدنوم شیوع نسبتاً بالایی دارد.

از نظر توزیع سنی، جمعیت مورد مطالعه ما دارای متوسط سنی ۶۲/۲ سال با انحراف معیار ۱۳/۳۷ بودند. حداقل سن آن‌ها ۲۹ سال و حداکثر آن‌ها ۸۷ سال بود(نمودار شماره ۱)، که این امر نشانگر شیوع این پولیپ‌ها در سن بالا می‌باشد. در مطالعات قبلی، در یک مطالعه[۹] متوسط سنی ٦٤/٦ و در مطالعه دیگر[۸] حدود ٦٠ سال گزارش شده است که تطابق خوبی را با مطالعه ما نشان می‌دهد. در این مطالعه تعداد ۵۸ پولیپ از نظر اندازه بررسی شدند که در مجموع متوسط اندازه ١٥/٦ میلی‌متر و میانه و نمای ۱۲ میلی‌متر به دست آمد. در مطالعات قبلی[۱۳،۱٤] متوسط ۹ میلی‌متر و در مطالعه دیگر[۹] ۱۳ میلی‌متر گزارش شده است که نشانگر بیشتر بودن اندازه پولیپ‌ها در مطالعه ما می‌باشد و احتمالاً به دلیل انتخاب نوع آن‌ها در مطالعه بوده است، زیرا سعی شده بود که پولیپ‌های اندازه بزرگتر انتخاب شوند تا مراحل انجام PCR بر روی آن‌ها با نتایج بهتری همرا باشد. از طرفی میزان دیسپلازی درجه بالا در پولیپ‌های اندازه بزرگتر شایع‌تر است که خود به خود باعث افزایش متوسط اندازه پولیپ‌ها می‌شود.

از نظر توزیع جنسی جمعیت مورد مطالعه، از کل ٦٠ پولیپ، ۲۰ مورد آن‌ها در زنان(۳۳/۳٪) و ٤٠ مورد آن‌ها در مردان(٦٦/٧٪) بود. در مطالعه دیگر[۹] این نسبت حدود ٣٦درصد در زنان و ٦٤درصد در مردان بوده است که نشان دهنده تطابق نسبی با مطالعه ما می‌باشد. از نظر بروز جهش در ژن p53 در تومورهای درجه پایین، در ۳ مورد از ۳۰ نمونه(۱۰٪) و در درجه بالا در ۱۳ مورد از ۳۰ نمونه (۳۳/۳٪) دیده شده است.

در آزمون Chi-square، Pearson Chi-square=۰/۰۰٤ بود که به طور واضحی اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد و بیانگر شیوع بیشتر این جهش‌ها در پولیپ‌های درجه بالا است(جدول شماره ۱). با توجه به این که جهش p53 آخرین گام تبدیل به تومور مهاجم است، این یافته بیانگر هم‌خوانی یافته‌های بافت‌شناسی در میکروسکوپ نوری و یافته‌های بررسی‌های مولکولار است. این اختلاف در مطالعات قبلی بین پولیپ‌های معمولی و تومورهای بدخیم دیده شده است. در یک مطالعه[٦] شیوع این جهش در آدنوم‌های(درجه پایین) ٦ درصد و در موارد تومور مهاجم ٦٢/٥درصد گزارش شده است. در مطالعه دیگر[۹] حدود ٦/٥درصد برای پولیپ‌های آدنوماتوس معمولی گزارش شده است. در مطالعات متعدد دیگر نیز این اختلاف به اثبات رسیده است.[۷،۱۰-۱۳] از طرفی شیوع کل این جهش‌ها ١٦ مورد از ٦٠ نمونه(حدود ٢٦/٧٪) می‌باشد که نشانگر نئوپلاستیک بودن تمامی این پولیپ‌ها است.

رابطه معنی‌داری بین شیوع جهش P53 با اندازه تومور در آزمون T-test ثابت نشد. از نظر بروز جهش در ژن APC در تومورهای درجه پایین، از تعداد کل ۳۰ نمونه، ۱۱ مورد مثبت(٣٦/٧٪) و در تومورهای درجه بالا از کل ۳۰ نمونه ۱۹ مورد مثبت(٦٣٪)، با p=۰/۰۳۹ به دست آمد(جدول شماره ۲)، که اختلاف معنی‌دار و بروز بیشتر این جهش‌ها در پولیپ‌های درجه بالاتر را نشان می‌دهد. این میزان در یک مطالعه[۹] ۲۲درصد گزارش شده است.

در مطالعات دیگر[۱،٦] ٦٠درصد در تومورهای مهاجم، جهش APC دیده شده است که قویاً نشانگر بالاتر بودن این جهش در حالت‌های مهاجم‌تر نئوپلاسم‌های کولون می‌باشد. از طرفی با افزایش اندازه پولیپ‌ها، بروز این جهش افزایش می‌یابد. در این رابطه با توجه به بررسی میزان بروز APC برحسب اندازه تومور، از تعداد ۵۸ مورد، ۲۹ جهش مشاهده شد که این موارد مثبت دارای اندازه متوسط ١٧/٨٦ میلی‌متر بودند.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-02-17]

موارد منفی آن دارای اندازه متوسط ۳۳/۳٤ میلی‌متر بودند که در آزمون T-test اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد(sig.(2tailed)=۰/۰۳۷) در مطالعات دیگر[۱٤، ۳]، رابطه بزرگتر بودن پولیپ با بالاتر بودن درجه آن نشان داده شده است که با مطالعه ما تطابق دارد.

نتیجه‌گیری

همان گونه که مشخص گردید، تفاوت معنی‌داری در بروز جهش در پولیپ‌های درجه پایین و بالا از نظر جهش‌های ژنتیکی APC و P53 دیده می‌شود که اثبات کننده نظریه توالی آدنوم کارسینوم (Adenoma-carcinoma sequence) و نشانگر مهاجم‌تر بودن پولیپ‌های درجه بالا نیز از طرفی اثبات کننده نقش جهش‌های ژنتیکی در پیشرفت ضایعات درجه پایین‌تر به سمت درجه بالاتر است.

افزایش شیوع این آدنوم‌ها، رابطه مستقیم با افزایش سن دارد که این امر لزوم مطالعات بیماریابی(Screening) از طریق کولونوسکوپی و درمان سریع‌تر ضایعات احتمالی را به اثبات می‌رساند و این امر می‌تواند، از تبدیل این پولیپ‌ها به تومورهای بدخیم پیشگیری نماید. بدین ترتیب میزان مرگ‌ومیر و گرفتاری به دلیل تومورهای کولون به حداقل می‌رسد.

در این رابطه پیشنهاد می‌شود همانند بسیاری از کشورهای دیگر، بیماریابی از طریق کولونوسکوپی برای افراد بالاتر از ٤۰ سال، جزو مطالعات ضروری بیماریابی انجام شود. هم‌چنین پیشنهاد می‌گردد مشابه این مطالعه در مورد سایر جهش‌های ژنتیکی از قبیل Kras P16، 3P که احتمالاً در توالی آدنوم ـ کارسینوم دخالت دارند نیز انجام گیرد تا نقش بیشتر این ژن‌ها در تومورزایی سرطان‌های کولون تایید گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است. به جا است که از کلیه همکاران در مرکز به خصوص سرکار خانم بخشایش که در مراحل اجرایی این طرح اینجانب را یاری نمودند تشکر و قدردانی به عمل آورم.

منابع

1- Rickert RR, Auerbach O, Garfinkel L. Adenomatous lesions of the large bowel. An autopsy survey. Cancer; 1979. 43: 1847-1857.

2- Itzkowitz SH. Gastrointestinal adenomatous polyps. Semin Gastrointes Dis; 1996. 7: 105-116.

3- Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins pathologic basis of diseases. 6th ed. W.B.Saunders company Philadelphia; 1999. 290, 291: 831-833.

4- Sato Y, Sugie R, Tsuchiya B, Kameya T, Natori M, Mukai K. Comparison of the DNA extraction methods for polymerase chain reaction amplification from formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. Diagnostic molecular pathology; 2001. 10(4): 265-271.

5- Sepp R, Szabo I, Uda H, Sakamoto H. Rapid techniques for DNA extraction from routinely processed archival tissue for use in PCR. J. of clin. Pathol; 1994. 47: 318-323.

6- Akiyama Y, Yagi KO, Ishigawa T, Nagasaki H, Saitoh K, Yuasa Y. Genetic altrations are frequent in APC but rare in the TGI beta type 2 receptor gene in cancer in adenomas of the colon. Cancer letter; 1998. 125(1-2): 89-96.

7- Fogt F, Brien T, Brown CA, Hartmann CJ, Zimerman RL, Odze RD. Genetic alterations hn serrated adenomas: comparison to conventional adenomas and hyperplastic polyps. Hum. Pathol; 2002. 33(1): 87-91.

8- Sambrook SS, Russel R. Molecular coloning. Vol 2, 3 rd ed. CSHL press, Newyork; 2001: 1-23.

9- Miyosh Y, Nagase H, Ando H, Horii A, Ichii S, Nakatsuru S, et al. Somatic mutations of the APC gene in colorectal tumor: mutation cluser region in the APC gene. Human molecular Genetics; 1992. 1(4): 229-233.

10- Iwabuchi M, Sasano H, Hiwatashi N, Masuda T, Shimosegawa T, Toyota H, et al. Serrated adenoma: a clinicopathological, DNA ploidy and immunohistochemical study, Anticancer Research; 2000. 20(2B): 1171-7.

11- Reinacher-Schick A, Schmiegel W. Pathogenesis of colorectal carcinoma Schweiz Runsch Med. Prax; 2002. 91(39): 1589-93.

12- Muller J, Mueller E, Keller G, Bethke B, Stolte M,

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-02-17]

Hofler H. Are the differences between exadenoma and de novo colorectal carcinomas? Verh Dtsch Ges Pathol; 1999. 83: 139-47.

13- Gryfe R, Sawallow C, Bapat B, Redston M, Gallinger S, Cuture J. Molecular biology of colorectal cancer, Curr probl cancer; 1997. 21(5): 233-300.

14- Obrien MJ, Winawer SJ, Zauber AG, Gottieb LS, Sternberg SS, Diaz B, et al. The national polyp study. Gastroenterology; 1990. 9-8: 371.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-02-17]

Correlation of Mutations Prevalence in P53 and APC in Low Grade and High Grade Colonic Adenomatous Polyps

I. Nourmohammadi, Ph.D.[I] **M. Ourmozdi, MD**[II] ***A. Hassanpour, MD**[III]
A. Zare Mirzaee, MD[IV] **F. Bakhshayesh, MSc**[V]

Abstract

Background & Aim: Colorectal polyps are among the commonest lesions encountered by surgical pathologist. In the United States, colonoscopy and flexible sigmoidoscopy are recommended for almost all people over the age of 40 years. The development of carcinoma from adenomatous lesions is referred to as the adenoma-carcinoma sequence. Virtually, all colorectal carcinomas exhibit genetic alterations and the study of this disorder will provide deep insights into the general mechanism of carcinogenesis. APC and P53 tumor suppressor genes are the most important among them. The aim of the present study was to find out the prevalence of P53 and APC genes mutations in low grade and high grade adenomatous polyps.

Patients & Methods: This study was performed on 60 cases of colonic adenomatous polyps, 30 of patients were with low grade dysplasia and other 30 exhibited prominantly high grade dysplasia.The paraffin enblock samples were selected from pathologic files of Mehr, Hazrat Rasoul and Shohada-e-Haftome Tir Hospitals. APC and P53 mutations in the samples were detected by PCR method. The results were evaluated by chi-square and t-test statistic methods.

Results: The prevalence of APC mutation in low grade and high grade adenomatous polyps was detected in 36.7% and 63% respectively($P<0.05$). The prevalence of P53 mutation in low and high grade polyps was seen in 10% and 43% of them($P<0.05$). Both low and high grade adenomatous polyps showed significant difference. Mean age was 62.2 years. Mean diameter of polyps was 15.6mm. A direct relation was seen between polyps diameter and APC mutations($P<0.05$) but this relation was not seen in P53 mutation.

Conclusion: Early diagnosis of colonic adenomatous polyps and colonoscopic resection of them can prevent the malignant tumors and, therefore, diminish the morbidity and mortality.

Key Words: 1) Colon 2) P53 3) APC 4) Adenomatous Polyps

5) PCR(Polymerase Chain Reaction)

***I*)** *Associate Professor of Biochemistry. Cellular Molecular Research Center. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*
***II*)** *Assistant Professor of Pathology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*
***III*)** *Pathologist. Hazrat Rasoul Hospital, Niayesh St., Sattarkhan Ave., Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.(*Corresponding Author)*
***IV*)** *Assistant Professor of Pathology. Hazrat Rasoul Hospital. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*
***V*)** *MSc of Parasitology. Cellular Molecular Research Center. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-02-17]