

Mashhad University of
Medical Sciences

Navid No

Journal homepage: <https://nnj.mums.ac.ir/>کمیته تحقیقات دانشجویی
معاونت پژوهش و فناوری
دانشگاه علوم پزشکی مشهد*Original Article***The effect of the mutation in rs1255190244 polymorphism in APC gene on the incidence of colorectal cancer by Tetra ARMS-PCR method****Aida Sharifian¹** , **Nakisa Zarrabi Ahrabi^{2*}** , **Shirin Jalili³**

1. Master of Cellular and Molecular Biology, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Assistant Professor of Cellular and Molecular Biology, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3. Assistant Professor of Biochemistry, Institute of Law Enforcement Equipment and Technologies, NAJA Institute of Law Enforcement Sciences and Social Studies, Tehran, Iran

* Corresponding author: na.zarrabi@iauctb.ac.ir

Received: 30 July 2021; Revised: 5 December 2021; Accepted: 30 December 2021

Abstract**Background and Aims:** Mutations in the Adenomatous Polyposis Coli gene can cause colon cancer. Colorectal cancer is the growth of cancer cells in the colon or rectum. The aim of this study was to analyze mutations in the rs1255190244 gene point in the APC gene in patients with colorectal cancer in Tehran province.**Materials and Methods:** From 2019 to 2020, 100 samples of 6-10 ml per patient were collected from patients with colorectal cancer who were definitively diagnosed. Then DNA of each sample was extracted and after checking the quality of the DNA by electrophoresis, the required primers were designed. In the next step, the amount of rs1255190244 polymorphism in the APC gene was investigated by Tetra ARMS PCR method. Finally, the results of the analysis and significance level ($P < 0.003$) were considered with SPSS software.**Results:** The results of this study show that the incidence of colorectal cancer at the rs1255190244 gene point in the patient group compared with the control group with $P < 0.003$ is significantly associated with the incidence of colon cancer.**Conclusion:** From the results of this study, it can be concluded that rs1255190244 polymorphism can be used as a marker to prevent colon cancer, but further research is needed to investigate several other formations.**Keywords**

Colon cancer; APC gene; Mutation; Polymorphism.

Cite this article as: Sharifian A, Zarrabi Ahrabi N, Jalili S. The effect of the mutation in rs1255190244 polymorphism in APC gene on the incidence of colorectal cancer by Tetra ARMS-PCR method. Navid No, 2022; 25(82): 50-60. <https://doi.org/10.22038/NNJ.2021.59367.1301>

E-ISSN: 2645-5927 / P-ISSN: 2645-5919

Copyright: © 2022 by the author.

Open Access: This is an open access article under the CC BY license[\(http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/\)](http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).**Publisher's Note:** Mashhad University of Medical Sciences remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Mashhad University of
Medical Sciences

نوید نو

Navid No



Journal homepage: <https://nnj.mums.ac.ir/>



کمیته تحقیقات دانشجویی
معاونت پژوهش و فناوری
دانشگاه علوم پزشکی مشهد

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر جهش در پلی مورفیسم rs1255190244 در ژن APC بر بروز سرطان کلورکتال به روش Tetra ARMS-PCR

آیدا شریفیان^۱ , نکیسا ضرابی اهرابی^۲ , شیرین جلیلی^۳

۱. کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
 ۲. استادیار زیست شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
 ۳. استادیار بیوشیمی، پژوهشکده تجهیزات و فناوری‌های انتظامی، پژوهشگاه علوم انتظامی و مطالعات اجتماعی ناجا، تهران، ایران
- پست الکترونیک نویسنده مسئول: na.zarrabi@iauctb.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۸؛ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۹/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۹

چکیده

مقدمه و هدف: جهش بر روی ژن پولیپوزیس کولی آدنوماتوز (Adenomatous Polyposis Coli) می‌تواند باعث سرطان روده بزرگ شود. سرطان روده بزرگ به رشد سلول‌های سرطانی در کولون یا رکتوم گفته می‌شود. هدف از این مطالعه تجزیه و تحلیل جهش در نقطه ژنی rs1255190244 در ژن APC در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ در استان تهران است.

مواد و روش‌ها: از سال ۱۳۹۸ تا ۱۳۹۹، تعداد ۱۰۰ نمونه به میزان ۶-۱۰ میلی لیتر به ازای هر بیمار مبتلا به سرطان روده بزرگ که به‌طور قطعی تشخیص داده شده بودند، جمع‌آوری شد. سپس DNA هر نمونه استخراج گردید و پس از بررسی کیفیت DNA به روش الکتروفورز، پرایمرهای موردنیاز طراحی شدند. در مرحله بعد با روش Tetra ARMS PCR میزان پلی مورفیسم rs1255190244 در ژن APC بررسی گردید. در نهایت نتایج با نرم‌افزار SPSS تحلیل شد. سطح معناداری ($P < 0.003$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که بروز سرطان کولورکتال در نقطه ژنی rs1255190244 در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل با $p < 0.003$ به‌طور معنی‌داری با بروز سرطان روده بزرگ ارتباط دارد.

نتیجه‌گیری: از نتایج این مطالعه نشان داد، می‌توان از پلی مورفیسم rs1255190244 به عنوان یک مارکر برای جلوگیری از سرطان روده بزرگ استفاده کرد، اما برای بررسی بیشتر بر روی شکل‌گیری‌های دیگر لازم است تحقیقات بیشتری انجام شود.

کلمات کلیدی

سرطان روده بزرگ، ژن APC، جهش، پلی مورفیسم.

مقدمه

راست‌روده به نقاط دیگر بدن و بافت‌های مختلف انجام می‌شود. در مرحله صفر، سلول‌های غیرطبیعی یافت می‌شود که داخلی‌ترین لایه روده بزرگ است. این سلول‌های غیرطبیعی ممکن است به سرطان تبدیل شده و به بافت‌های طبیعی مجاور سرایت کنند. در مرحله یک، سرطان از داخلی‌ترین لایه بافت دیواره روده بزرگ به لایه میانی شکل می‌گیرد و گسترش می‌یابد. در مرحله دوم، سرطان به بالای دیواره روده بزرگ منتقل شده است، اما غدد لنفاوی را تحت‌تأثیر قرار نداده است. مرحله دوم سرطان روده بزرگ است. در مرحله سوم، سرطان به روده بزرگ منتقل شده و غدد لنفاوی را تحت‌تأثیر قرار داده است، اما سرطان هنوز سایر اندام‌های بدن را تحت‌تأثیر قرار نداده است (۸). تومورهای سرطانی روده که تحت‌تأثیر وراثت ژنتیکی قرار می‌گیرند به دو دسته تقسیم می‌شوند: سندرم لینچ و پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی (۹). برخلاف پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی، سندرم لینچ معمولاً تعداد کمی پولیپ در روده دارد که ممکن است با گذشت زمان سرطانی شود. سندرم FAP در اثر تغییرات ارثی ژن APC ایجاد می‌شود. (۱۰). ژن APC یک ژن مهارکننده تومور است که به‌طور طبیعی به رشد سلول‌ها کمک می‌کند. در افراد با تغییرات ارثی ژن APC، رشد سلول متوقف می‌شود و حالت ترمزی دارد که باعث صدها پولیپ در روده بزرگ می‌شود (۱۱ و ۱۲). با گذشت زمان، سرطان تقریباً در یک یا چند مورد از این پولیپ‌ها ایجاد می‌شود. جهش ژن مهارکننده تومور آدنوماتوز پلی‌پولیس کولی (APC) بیشتر سرطان‌های روده بزرگ (CRC) را آغاز می‌کند. پس از جهش در ژن APC، پروتئین Importin β - به β catenin متصل شده و آن را به هسته سلول‌های سرطانی روده بزرگ همراه می‌کند (۱۲). یکی از جهش‌های ژن APC، rs1255190244 است که یک چندشکلی نوکلئوتیدی منفرد است. snp (پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی) تغییری در توالی DNA است که در یک نوکلئوتید در ژنوم بین افراد از همان گونه‌های بیولوژیکی یا بین یک جفت کروموزوم در یک فرد متفاوت است. SNP‌ها به‌عنوان یک منبع ژنتیکی عمده برای تغییر فنوتیپی در داخل یک گونه و یک نشانگر ژنتیکی مهم و خوب در نظر گرفته می‌شوند.

سرطان روده بزرگ یکی از سرطان‌های شایع در انسان است. متأسفانه، در آغاز، علائم سرطان روده قابل‌تشخیص نیستند، اما دانستن علائم این بیماری، توسط پزشک معالج و انجام آزمایش‌های لازم برای بررسی، به تشخیص این نوع سرطان کمک می‌کند. سرطان روده بزرگ در افراد مسن شیوع بیشتری دارد، اما در هر سنی ممکن است رخ دهد. براساس مطالعات انجام‌شده سالانه ۳۸۰۰ تا ۴۰۰۰ مورد جدید از سرطان کولورکتال در کشور ایران تشخیص داده می‌شود که بیانگر روند رو به رشد این بیماری در ایران است (۱). سرطان روده بزرگ معمولاً به‌صورت یک توده کوچک غیرسرطانی به نام پولیپ که در داخل روده تشکیل می‌شود، شروع می‌شود (۲). باگذشت زمان، برخی از این پولیپ‌ها سرطانی می‌شوند. طبق اطلاعات GLOBOCAN در سال ۲۰۱۸، سرطان کلون چهارمین سرطان شایع در جهان است، درحالی‌که سرطان رکتوم هشتمین است (۳). سرطان کولورکتال، سومین نوع رایج در تشخیص سرطان در سراسر جهان است که ۱۱٪ از کل تشخیص‌های سرطان را تشکیل می‌دهد. برای اطمینان از تکامل سرطان روده بزرگ باید حداقل چهار تغییر ژنتیکی متوالی رخ دهد. یک انکوژن (KRAS) و سه ژن مهارکننده تومور، پلی‌پولیس آدنوماتوز کلی (APC)، SMAD4 و TP53 اهداف اصلی این تغییرات ژنتیکی هستند (۴). بیشتر سرطان‌های روده بزرگ به دلیل عوامل سبک زندگی و پیری ایجاد می‌شوند و تعدادی از موارد به دلیل اختلالات ژنتیکی است. بیشترین عوامل خطر شامل اضافه‌وزن، رژیم غذایی، سیگارکشیدن و عدم فعالیت بدنی است. عوامل مرتبط با رژیم غذایی که خطر ابتلا به این بیماری را افزایش می‌دهند شامل گوشت قرمز و گوشت‌های فرآوری‌شده و همچنین مصرف بیش‌ازحد الکل است (۵). برخی از شرایط ارثی که باعث سرطان روده بزرگ می‌شوند شامل پولیپ آدنوماتوز خانوادگی ارثی و سرطان روده بزرگ غیر پولیپ است؛ اما این موارد کمتر از پنج درصد موارد را تشکیل می‌دهد (۷). مرحله‌بندی سرطان کولورکتال به‌منظور بیان پیشرفت یا متاستاز سلول‌های سرطانی از دیواره‌های روده بزرگ و

تیریز) و نانودراپ، سانتیریفیوژ (اپندروف)، دستگاه ریل تایم (کوست) استفاده شد.

نمونه گیری: این مطالعه از نوع توصیفی-تحلیلی بوده و جامعه آماری آن ایرانیان مبتلا به سرطان روده بزرگ بودند. در مجموع ۱۰۰ نفر در گروه بیمار و ۱۰۰ نفر در گروه کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند. ۱۰۰ نمونه خون از بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ در بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) شهر تهران بین سال‌های ۹۹-۱۳۹۸ جمع‌آوری شد. برای هر یک از افراد، مشخصات فردی شامل سن، جنسیت، قومیت، سابقه‌ی سرطان، سابقه‌ی جراحی، سابقه‌ی مصرف مواد مخدر یا سیگار ثبت شد. معیار ورود برای افراد گروه کنترل عدم سابقه ابتلا به سرطان چه در خود فرد و چه در خانواده‌ی وی بود. نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد نگهداری شده و DNA نمونه‌ها به غلظت ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر رقیق شده و در لوله‌های اپندروف DNase-free در فریزر ۲۰- نگهداری شد.

استخراج DNA از خون: استخراج DNA با استفاده از کیت مربوطه و بررسی کیفیت DNA ها با روش الکتروفورز انجام شد. پرایمرهای موردنظر با استفاده از نرم‌افزار Oligo 7.01 طراحی و سپس در سایت NCBI، BLAST گردید و پس از طراحی به شرکت پیشگام جهت سنتز ارسال گردید. تمامی پرایمرها در دمای annealing سنتز ارسال گردید. تقریباً یکسان طراحی شدند و برای هر پرایمر کنترل منفی داخلی (FiRo) استفاده شد و در نهایت محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵٪ منتقل شد، پس از الکتروفورز، نتایج آن‌ها در زیر UV قرائت گردید. پس از به اتمام رساندن مراحل PCR اطلاعات هر نقطه جهش آنالیز گردید (۱۶).

انجام Tetra ARMS-PCR: پس از آماده‌نمودن مواد اولیه (پرایمرها - آب دوبار تقطیر - DNA)، در مرحله‌ی اول درون ویال‌های موردنظر به مقدار ۳ μl آب اضافه شد. سپس به اندازه ۰/۵ μl پرایمرهای Fo و Ro به محلول آب افزوده شد. DNA استخراج شده از نمونه‌های گرفته‌شده به میزان ۱ μl به محلول آب و پرایمر اضافه شد (در این مرحله در ویال کنترل منفی FiRo به جای DNA

SNPها کاربردهای زیادی دارند، از جمله به‌عنوان نشانگرهای مولکولی در تحقیقات ژنتیکی و اصلاح دارو و ژنومیک، نقشه‌برداری ژنتیکی و موارد دیگر (۱۳). نوع rs1255190244 تغییر نوکلئوتید منفرد (SNV) در کروموزوم ۵ است. هدف از این مطالعه ارزیابی جهش در ژن نقطه‌ای rs1255190244 در ژن APC در جمعیت ایرانی در سنین مختلف به روش Tetra ARMS-PCR می‌باشد که می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی در درمان بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ کمک می‌کند. براساس مطالعات انجام‌شده بر روی rs12982687 از UCA1 با چندین miRNA به‌ویژه miR-873-5p در ظرفیت اتصال UCA1 دخالت داشته‌اند. علاوه‌براین، هموزیگوت TT از rs12982687 خطر CRC را در میان افراد سیگاری کاهش می‌دهد و سلول‌های CRC که rs12982687 را حمل می‌کنند هجوم شدیدی به سایر بافت‌ها را نشان می‌دهند. در مقابل، miR-873 5p که بیان UCA1 را کاهش می‌دهد، متاستاز سلول‌های CRC را به تأخیر می‌اندازد (۱۴). براساس مطالعات انجام‌شده وجود آلل T در هموزیگوت پلی-مورفیسم rs8192678 ممکن است یک عامل خطر برای توسعه سرطان کولورکتال باشد. این نتایج نقش مهم احتمالی بیوژنز میتوکندری را در ایجاد این نوع سرطان برجسته می‌کند. (۱۵) هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی جهش در ژن نقطه rs1255190244 در ژن APC در جمعیت ایران در سنین مختلف بود که به‌طور قابل‌توجهی در درمان بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ کمک می‌کند.

روش کار

مواد و وسایل مورد استفاده: در این پژوهش از کیت استخراج DNA (سیناکلون)، پودر آگاروز (زیست فناوری کوثر)، Master Mix و ladder و Safe stain و بافر TBE و Loading dye (یکتا تجهیز آزما)، سفارش و طراحی پرایمر (شرکت پیشگام) و تجهیزاتی مانند هود کلاس ۲، الکتروفورز، هیتر و شیکر (ساخت شرکت دنا ژن

استخراج شده، آب افزوده شد). در نهایت به تمامی ویال‌ها ۵µl مسترمیکس اضافه شد، سپس برای مخلوط شدن و ته‌نشین شدن در انتهای ویال، محلول‌ها سانتریفیوژ شدند و در مرحله آخر درون بلوک‌های مشخص ویال‌ها قرار داده شد و دستگاه PCR اجرا شد (جدول ۱) (۱۷).

جدول ۱. مراحل انجام PCR

تعداد چرخه	زمان	دما	مراحل
۱	دقیقه ۵	۹۵°C	Initial Denaturation
۳۰-۳۵	ثانیه ۲۰-۶۰	۹۵°C	Denaturation
	ثانیه ۲۰-۶۰	۵۹°C	Annealing
	ثانیه ۲۰-۶۰	۷۲°C	Extension
۱	دقیقه ۵	۷۲°C	Final Extension

جدول ۲. پرایمرهای مورد استفاده برای چندشکلی rs1255190244

تعداد باز CG	دما	طول	توالی (5' 3') →	پرایمر
۴۵	۶۳	۲۲	F:CTGAAATGACTTCATGTGAGGG	rs1255190244 نمونه کنترل
۴۸	۶۴	۲۳	R:CATCCCTAGTCCAAAGTAGAGTG	
۴۲	۶۵	۲۶	R:GTTGAGTGAATAGGTGAAGGAG	rs1255190244 نمونه بیمار
۲۶	۶۴	۳۲	F:GTCTAAAAATGAACCAAAAAATCATATTAGCTTC	

با طول ۵۰۳، ۳۱۱ و ۱۹۳ برای rs1255190244 مشاهده شد. به منظور ارزیابی کیفیت DNA، ۳ میکرولیتر از نمونه توسط الکتروفورز افقی بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ مورد بررسی قرار گرفت. پس از بررسی نتایج محصولات Tetra Arms PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪، نتایج حاصل از rs1255190244 نشان داد که از ۱۰۰ بیمار، ۲۴ نفر ژنوتیپ AA، ۴۲ نفر ژنوتیپ AT و ۳۴ نفر ژنوتیپ TT داشتند.

در این روش، یکی از آغازگرهای داخلی مخصوص آلل A است که ۳۱۱ جفت باز تولید می‌کند و آغازگر داخلی دیگر مخصوص آلل T است و ۱۹۳ جفت باز تولید می‌کند. یک آغازگر خارجی محصول مشترک ۵۰۳ جفت باز تولید می‌کند که در صورت وجود هر دو آلل را ایجاد می‌کند.

یافته‌ها

در این مطالعه، نمونه‌های استخراج DNA با استفاده از روش TETRA ARMS PCR تکثیر و محصولات PCR بر روی ژل آگارز قرار گرفته شد و نتیجه به صورت نوارهایی

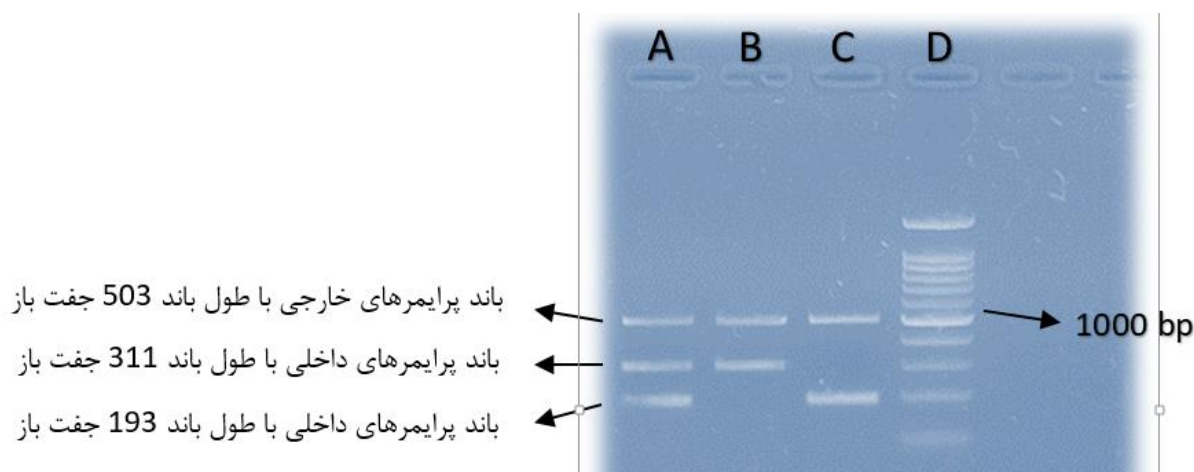
جدول ۳. آمار کلی در مورد درصد فراوانی ژنوتیپی در rs1255190244.

A>T	ژنوتیپ	افراد سالم		افراد بیمار	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد
rs1255190244	AA	۲۳	۲۳	۲۴	۲۴
	AT	۷۳	۷۳	۴۲	۴۲
	TT	۴	۴	۳۴	۳۴

جفت باز تولید می‌کند و آغازگر داخلی دیگر مخصوص آلل T است که ۱۹۳ جفت باز تولید می‌کند و یک آغازگر خارجی که ۵۰۳ جفت باز دارد که باعث ایجاد هر دو آلل می‌شود (شکل ۱).

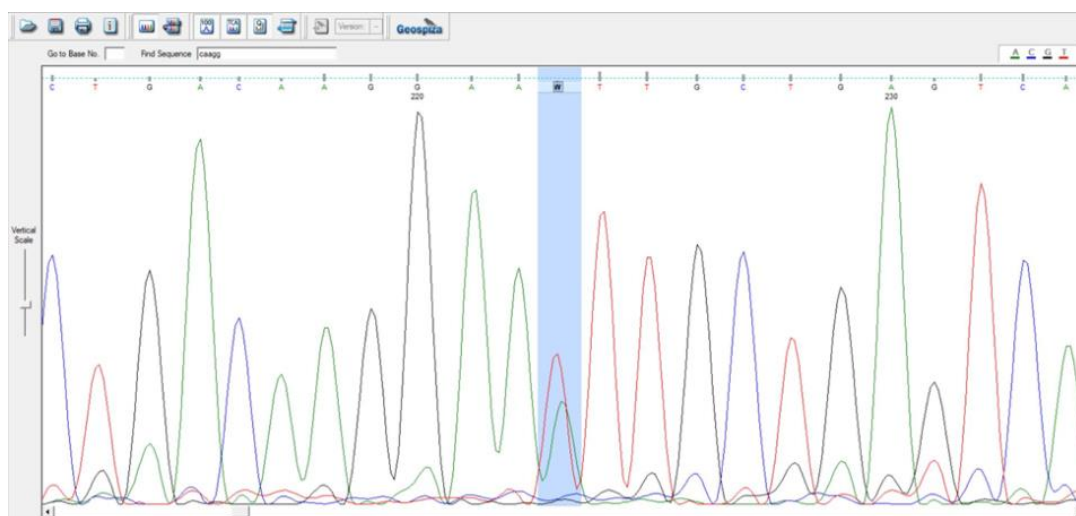
از ۲۰۰ نمونه بیمار و شاهد، ۵۲٪ مرد، ۴۸٪ زن، ۵۹٪ با داشتن سابقه جراحی، ۶۹٪ سابقه سیگارکشیدن داشتند و میانگین سنی ۶۱ سال و میانگین وزن ۷۸ کیلوگرم بود.

در روش Tetra ARMS-PCR برای rs1255190244، یکی از آغازگرهای داخلی مخصوص آلل A است که ۳۱۱



شکل ۱. الکتروفورز ژل تعدادی از نمونه‌های DNA ژنومی. نمونه‌ها به‌طور تصادفی از ۱۰۰ نمونه انتخاب شدند. مورد A دارای ژنوتیپ AT، مورد B دارای ژنوتیپ TT و مورد C دارای ژنوتیپ AA است. در شکل ۲، اولین چاهک از سمت چپ (A) نشان‌دهنده شخصی با ژنوتیپ هتروزیگوت با هر دو باند داخلی و جهش‌یافته و باندهای خارجی است. چاهک دوم (B) نشان‌دهنده شخصی با ژنوتیپ جهش‌یافته با یک باند داخلی جهش‌یافته، چاهک سوم (C) نشان‌دهنده شخصی با ژنوتیپ طبیعی با یک باند داخلی طبیعی است و در چاهک چهارم (D) نمونه کنترل ۱۰۰۰ جفت بازی لود شده است.

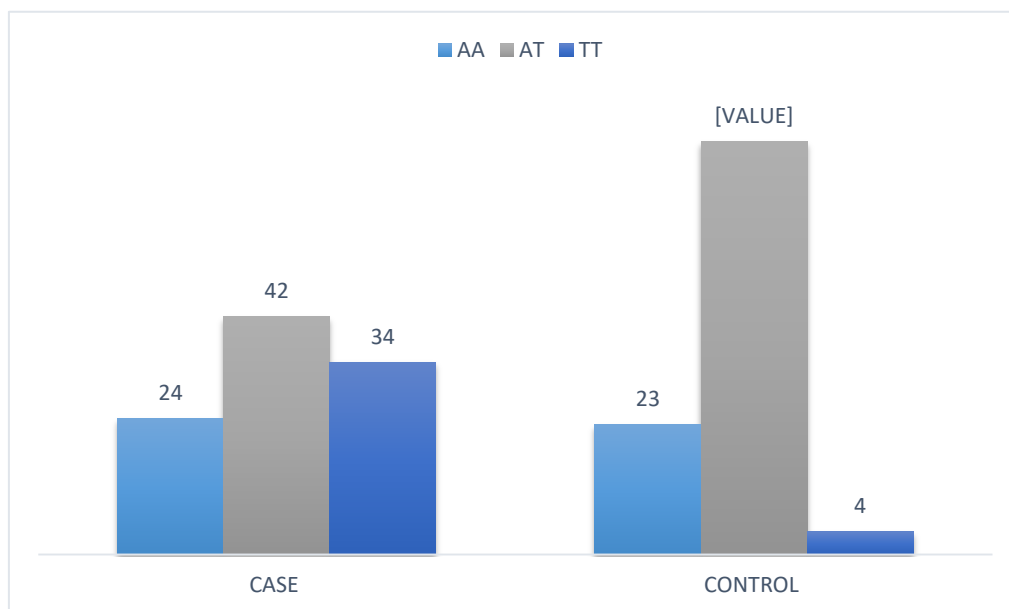
در مرحله بعدی، یک نمونه هموزیگوت برای بررسی ژنوتیپ تعیین توالی تایید شد که در شکل ۲ قابل مشاهده است.



شکل ۲. نتیجه تعیین توالی در شکل بالا ژنوتیپ هموزیگوت را نشان می‌دهد.

طبق نتایج به دست آمده از بیماران، ۴۲٪ از آنها ژنوتیپ AT و هتروزیگوت هستند. ۲۴٪ بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ ژنوتیپ AA و ۳۴٪ بیماران TT و ژنوتیپ هموزیگوت دارند (نمودار ۱).

توالی بالا نشان دهنده منطقه rs1255190244 در ژن APC است که در این توالی نقطه Y نشان دهنده آلل A یا T است. اگر آلل A باشد، ژنوتیپ طبیعی است، اما اگر آلل T باشد، ژنوتیپ در rs1255190244 جهش یافته است.



نمودار ۱. نمودار درصد توالی آلل پلی مورفیسم rs1255190244 در افراد کنترل و بیمار

بررسی آماری ارتباط بین سرطان کولورکتال و فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در پلی مورفیسم rs1255190244:

بیماران و خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ در گروه بیمار، هرچه فرد مسن تر باشد، خطر سرطان روده بزرگ بیشتر می شود؛ زیرا خطر جهش در ژن rs1255190244 بیشتر است. در رابطه با وزن بیماران با خطر سرطان روده بزرگ در گروه بیمار، هرچه وزن بیمار بیشتر باشد، خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ نیز بیشتر خواهد بود؛ زیرا احتمال جهش در ژن rs1255190244 بیشتر است. در مورد وزن بیماران با خطر سرطان روده بزرگ در گروه بیمار، هرچه وزن بیمار کمتر باشد، خطر سرطان روده بزرگ کاهش می یابد؛ زیرا احتمال جهش در نقطه ژن rs1255190244 کمتر است.

تجزیه و تحلیل آماری از سابقه استعمال دخانیات و خطر سرطان روده بزرگ در گروه بیمار نشان می دهد که در مدل مغلوب با $p=0/023$ خطر سرطان در افراد سیگاری بیشتر است؛ زیرا خطر جهش در ژن rs1255190244 بیشتر است. همچنین، تجزیه و تحلیل آماری از سابقه استعمال دخانیات و خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ در گروه بیمار نشان می دهد که در مدل غالب با $p=0/087$ افراد سیگاری کمتر به سرطان مبتلا می شوند؛ زیرا احتمال جهش در نقطه ژن rs1255190244 کمتر است. افرادی که سابقه جراحی ندارند و مدل غالب هستند، کمتر شانس ابتلا به سرطان روده بزرگ با $p=0/087$ دارند؛ زیرا احتمال جهش در نقطه ژن rs1255190244 بیشتر است. باتوجه به سن

جدول ۴. بررسی آماری داشتن سابقه‌ی سیگار کشیدن، داشتن سابقه‌ی جراحی، وزن بیماران و سن بیماران با احتمال بروز سرطان کولورکتال در گروه بیمار. (Codominant: همزمانی ال‌ها)

P value	OR	ژنوتایپ	مدل	
0.047	0.00	موتانت	Codominant	سابقه‌ی سیگار کشیدن و احتمال بروز سرطان کولورکتال
	2.71 (-13.41 – 18.83)	هتروزیگوت		
	1.19 (0.72-1.98)	نرمال		
0.087	0.00	موتانت	Dominant	
	1.16 (0.74-1.83)	هتروزیگوت - نرمال		
0.023	0.00	هتروزیگوت-موتانت	Recessive	
	0.80 (0.58-1.12)	نرمال		
0.034	0.00	نرمال - موتانت	Overdominant	
	0.80 (0.58-1.12)	هتروزیگوت		
0.047	0.00	موتانت	Codominant	سابقه‌ی جراحی و احتمال بروز سرطان کولورکتال
	0.79 (0.57-1.12)	هتروزیگوت		
	1.51 (1.08-2.11)	نرمال		
0.087	0.00	موتانت	Dominant	
	1.07 (0.77-1.48)	هتروزیگوت - نرمال		
0.023	0.00	هتروزیگوت-موتانت	Recessive	
	0.72 (0.51-1.01)	نرمال		
0.034	0.00	نرمال - موتانت	Overdominant	
	1.10 (0.79-1.54)	هتروزیگوت		
0.047	0.00	موتانت	Codominant	وزن بیماران با احتمال بروز سرطان کولورکتال
	1.20 (0.84-1.71)	هتروزیگوت		
	1.09 (0.79-1.52)	نرمال		
0.087	0.00	موتانت	Dominant	
	0.83 (0.61-1.12)	هتروزیگوت - نرمال		
0.023	0.00	هتروزیگوت - موتانت	Recessive	
	1.11 (0.81-1.50)	نرمال		
0.034	0.00	نرمال - موتانت	Overdominant	
	1.25 (0.88-1.77)	هتروزیگوت		
0.047	0.00	موتانت	Codominant	سن بیماران و احتمال بروز سرطان کولورکتال
	1.02 (0.75-1.39)	هتروزیگوت		
	1.50 (1.10-2.04)	نرمال		
0.087	0.00	موتانت	Dominant	
	1.55 (1.11-2.16)	هتروزیگوت - نرمال		
0.023	0.00	هتروزیگوت-نرمال	Recessive	
	1.44 (1.06-1.94)	نرمال		
0.034	0.00	نرمال - موتانت	Overdominant	
	1.45 (1.03-2.05)	هتروزیگوت		

بحث

قادر به سرکوب توسعه تومور نخواهد بود (۲۰). در مطالعات مرتبط با ژنوم (GWAS) تخمین زده شده است که حدود ۳۱ میلیون SNP در ژنوم انسان وجود دارد. Huang (۲۰۱۲) در مطالعه‌ای بر روی چندشکلی‌های مختلف تک - نوکلئوتیدی (SNP) در ژن APC در بیماران CRC مشاهده شده است (۲۱). در یک مطالعه مورد شاهدهی که در جمعیت هان چین انجام شد، ژنوتیپ ده پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) ارزیابی شد که نشان داد SNP rs1255190244 در استعداد نتایج بدست آمده از سرطان CRC دارد. جهش در rs1255190244 و سایر عوامل محیطی مانند سیگارکشیدن، چاقی، سن و سابقه جراحی بر سرطان روده بزرگ تأثیر دارد. نتایج ما از تجزیه و تحلیل آماری تاریخ سیگارکشیدن و خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ در گروه بیمار نشان می‌دهد که در مدل مغلوب با $p = 0.023$ خطر سرطان در افراد سیگاری بیشتر است؛ زیرا خطر جهش در ژن rs1255190244 بالاتر است. بنابراین هر سه نتیجه تحقیق یکسان است. همچنین افرادی که سابقه جراحی و مدل غالب ندارند، کمتر شانس ابتلا به سرطان روده بزرگ با $p = 0.087$ دارند زیرا احتمال جهش در نقطه ژن rs1255190244 بیشتر است. جوچم و لیتزمن (۲۰۱۶) در مورد چاقی و سرطان روده بزرگ تحقیق کردند و نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین سرطان روده بزرگ و چاقی وجود دارد. (۲۲) همچنین، نتایج تحقیقات N Shimizu در آوریل ۲۰۰۳ نشان داد که تجزیه و تحلیل آماری را با استفاده از PC-SAS انجام داده‌اند، مشابه مطالعه حاضر بود که اضافه‌وزن یکی از عوامل خطر سرطان روده بزرگ است. در رابطه با وزن بیماران با خطر سرطان روده بزرگ در گروه بیمار، هرچه وزن بیمار بیشتر باشد، خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ نیز بیشتر خواهد بود؛ زیرا احتمال جهش در نقطه ژن rs1255190244 بیشتر است. با توجه به سن بیماران و خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ در گروه بیمار، هرچه فرد مسن‌تر باشد، خطر سرطان روده بزرگ

سلول‌های بدخیم و رشد غیرطبیعی سلول‌ها در ناحیه روده بزرگ و راست‌روده باعث سرطان روده بزرگ می‌شوند. این بیماری با پولیپ آدنوم خوش‌خیم آغاز می‌شود، سپس به یک آدنوم پیشرفته با دیسپلازی با شدت بالا تبدیل می‌گردد و به یک سرطان مهاجم تبدیل می‌شود. در مطالعات مختلف گزارش شده است که سرطان‌های مهاجم تا زمانی که در دیواره روده بزرگ باشند (مرحله I و II) قابل درمان هستند، اما در صورت عدم درمان، می‌توانند به گره‌های لنفاوی محیطی (مرحله III) و سپس به بافت‌ها و اندام‌های دور (مرحله چهارم) متاستاز دهند. تومورهای مرحله I و II با جراحی قابل درمان هستند و بیش از ۷۳٪ بیماران مرحله III با جراحی با شیمی‌درمانی قابل درمان هستند. اما بیماران مرحله IV به‌طور کلی غیر قابل درمان هستند (۱۸). براساس مطالعه Randall Burt (۲۰۰۷)، مطالعات مربوط به سابقه خانوادگی در ابتلا به سرطان روده بزرگ نشان داده است که این بیماری زمینه ژنتیکی قابل‌توجهی دارد و ۱۵٪ سرطان‌های روده بزرگ نیز زمینه‌ای ارثی دارند. با این حال، سندرم‌های شناخته‌شده‌ای مانند سرطان روده بزرگ غیرپولیپویزس ارثی و آدنوماتوز پلیپوز روده‌ای که به‌طور موروثی به مندلیان منتقل می‌شود، برای کمتر از ۵ درصد از سرطان‌های روده بزرگ اختصاص داده می‌شود. در نتیجه، چندشکلی‌های تأثیرگذار کمتر ممکن است به عنوان بخشی مهم از خطر ژنتیکی این بیماری ارائه شود. تأثیر عوامل محیطی مانند سیگارکشیدن، چاقی، سابقه جراحی و وزن و همچنین عوامل ژنتیکی مانند جهش در چندشکلی در ژن APC در سرطان روده بزرگ قابل‌توجه است (۱۹). مطالعات انجام‌شده توسط گروه ژنتیک انسانی و بالینی، آزمایشگاه‌های LUMC و سیلویا هلند نشان داده است که جهش در ژن APC منجر به کاهش بیان این ژن به عنوان سرکوبگر تومور می‌شود؛ به این معنی که اگر تقسیم سلول از چرخه طبیعی خود خارج شود باعث ایجاد تومور می‌شود و ژن APC به دلیل جهش،

- [2] Khazaei Z, Sohrabivafa M, Momenabadi V, Moayed L, Goodarzi E. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide prostate cancers and their relationship with the human development index. *Advances in Human Biology*. 2019 Sep 1;9(3):245.
- [3] ecio-Boiles A, Waheed A, Cagir B. Cancer, colon. InStatPearls [Internet] 2019 Jun 3. StatPearls Publishing.
- [4] Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RG, Barzi A, Jemal A. Colorectal cancer statistics, ۲۰۱۷. *CA: a cancer journal for clinicians*. ۲۰۱۷ May ۶;۶۷(۳):۹۳-۱۷۷
- [5] Medema JP, Vermeulen L. Microenvironmental regulation of stem cells in intestinal homeostasis and cancer. *Nature*. 2011 Jun;474(7351):318-26.
- [6] Al-Sukhni W, Aronson M, Gallinger S. Hereditary colorectal cancer syndromes: familial adenomatous polyposis and lynch syndrome. *Surgical Clinics of North America*. 2008 Aug 1;88(4):819-44.
- [7] Fodde R. The APC gene in colorectal cancer. *European journal of cancer*. 2002 May 1;38(7):867-71.
- [8] Boland PM, Yurgelun MB, Boland CR. Recent progress in Lynch syndrome and other familial colorectal cancer syndromes. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018 May;68(3):217-31.
- [9] Selvaraj J, Ponnulakshmi R, Abilasha S, Nalini D, Vijayalakshmi P, Vishnupriya V, Mohan SK. Docking analysis of importin-11 homology model with the phyto compounds towards colorectal cancer treatment. *Bioinformation*. 2020;16(2):153.
- [10] Wright JB, Brown SJ, Cole MD. Upregulation of c-MYC in cis through a large chromatin loop linked to a cancer risk-associated single-nucleotide polymorphism in colorectal cancer cells. *Molecular and cellular biology*. 2010 Mar 15;30(6):1411-20.
- [11] Jeon J, Du M, Schoen RE, Hoffmeister M, Newcomb PA, Berndt SI, Caan B, Campbell PT, Chan AT, Chang-Claude J, Giles GG. Determining risk of colorectal cancer and starting age of screening based on lifestyle, environmental, and genetic factors. *Gastroenterology*. ۲۰۱۸ Jun ۱;۱۵۴(۸):۶۴-۲۱۵۲.
- [12] Amersi F, Agustin M, Ko CY. Colorectal cancer: epidemiology, risk factors, and health services. *Clinics in colon and rectal surgery*. 2005 Aug;18(3):133.
- [13] Fodde R, Kuipers J, Rosenberg C, Smits R, Kielman M, Gaspar C, van Es JH, Breukel C, Wiegant J, Giles RH, Clevers H. Mutations in the APC tumour suppressor gene cause chromosomal instability. *Nature cell biology*. 2001 Apr;3(4):433-8.

بیشتر است؛ زیرا خطر جهش در ژن rs1255190244 بیشتر است.

نتیجه گیری

از نتایج این مطالعه نشان داد که پلی مورفیسیم rs1255190244 می تواند به عنوان یک مارکر برای جلوگیری از سرطان روده بزرگ مورد استفاده قرار گیرد، اما برای بررسی بیشتر پلی مورفیسیم های دیگر لازم است تحقیقات بیشتری انجام شود. با افزایش تعداد نمونه ها در گروه کنترل و بیمار، بررسی دقیق چندشکل گیری ژن APC، بررسی SNP های دیگر در ژن APC و در نهایت بررسی بیان بین بیان ژن APC و ژنوتیپ، می توان یک مطالعه جامع تر را به دست آورد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی افرادی که در راستای انجام این پژوهش با نویسندگان همکاری نمودند، تقدیر و تشکر می گردد.

حمایت مالی

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد آیدا شریفیان به کد ۱۰۱۲۹۰۰۶۸۷۹۵۵۱۳۱۳۹۹۱۶۲۲۷۶۴۶۳، که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز انجام شده است، می باشد.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می نمایند که هیچ گونه تعارض منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

مراجع

- [1] Mustafa M, Menon J, Muniandy RK, Illzam EL, Shah MJ, Sharifa AM. Colorectal cancer: pathogenesis, management and prevention. *IOSR J Dent Med Sci*. 2016 May;15:94-100.

- [14] Le Marchand L. Genome-wide association studies and colorectal cancer. *Surgical Oncology Clinics*. 2009 Oct 1;18(4):663-8.
- [15] Tsoi KK, Pau CY, Wu WK, Chan FK, Griffiths S, Sung JJ. Cigarette smoking and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2009 Jun 1;7(6):682-8.
- [16] Tang R, Yang H, Choi JR, Gong Y, Hu J, Wen T, Li X, Xu B, Mei Q, Xu F. based device with on-chip reagent storage for rapid extraction of DNA from biological samples. *Microchimica Acta*. 2017 Jul;184(7):2141-50.
- [17] Bardou M, Barkun AN, Martel M. Obesity and colorectal cancer. *Gut*. 2013 Jun 1;62(6):933-47.
- [18] Johnson BA, Waddimba AC, Ogola GO, Fleshman Jr JW, Preskitt JT. A systematic review and meta-analysis of surgery delays and survival in breast, lung and colon cancers: Implication for surgical triage during the COVID-19 pandemic. *The American Journal of Surgery*. 2021 Aug 1;222(2):311-8.
- [19] Lanza E, Yu B, Murphy G, Albert PS, Caan B, Marshall JR, Lance P, Paskett ED, Weissfeld J, Slattery M, Burt R. The Polyp Prevention Trial–Continued Follow-up Study: no effect of a low-fat, high-fiber, high-fruit, and-vegetable diet on adenoma recurrence eight years after randomization. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2007 Sep 1;16(9):1745-52.
- [20] Stiggelbout AM, Kunneman M, Baas-Thijssen MC, Neijenhuis PA, Loo AK, Jägers S, Vree R, Marijnen CA, Pieterse AH. The EORTC QLQ-CR29 quality of life questionnaire for colorectal cancer: validation of the Dutch version. *Quality of Life Research*. 2016 Jul;25(7):1853-8.
- [21] Peters U, Hutter CM, Hsu L, Schumacher FR, Conti DV, Carlson CS, Edlund CK, Haile RW, Gallinger S, Zanke BW, Lemire M. Meta-analysis of new genome-wide association studies of colorectal cancer risk. *Human genetics*. 2012 Feb 1;131(2):217-34.
- [22] Jochem C, Leitzmann M. Obesity and colorectal cancer. *Obesity and Cancer*. 2016:17-41.