بررسی مقایسه‌ای بروز انکوپروتئین P53 در افراد مبتلا به کانسر مری در ناحیه ترکمن صحرا و سایر نواحی ایران

نویسندگان: دکتر پرویز صالحیان* ، دکتر بابک بهنام** ، دکتر محمد حیدری*** ، دکتر بهمن حضرتی**** ، و دکتر کیارش عطار*****

Abstract:

In this archival analysis of genetic & protein alterations in the P53 tumor suppressor gene , we used immunohistochemical methods for detection of these alterations. The tumor series includes: 61 paraffin embedded esophageal squamous cell carcinoma from a high incidence (ethnic) & a non-high incidence regions in IRAN.

37 samples from Turkman Sahra (Ethnic) and 24 samples from Tehran (Non-ethnic) regions selected sequentially (surgically or endoscopically) which were detected by a specific monoclonal antibody (DO-7) and antialkaline phosphatase immunohistochemical method. In this report we conclude that detectable levels of P53 protein correlate closely with the histologic differentiation of the tumor in the ethnic than non-ethnic regions in Iran. Immunohistochemical screening for elevated protein levels represents an efficient strategy for the evaluation of the P53 mutational spectrum.

چکیده:

بررسی علل پیدایش کانسر مری سال‌هاست که مورد توجه قرار دارد. بررسی ومطالعه حاضر مقایسه تغییرات ژنتیکی موتاسیون ژن P53[I] است که یکی از مهمترین ژن‌های کنترل‌کننده و سرکوبگر سلول‌های سرطانی است که در دهه گذشته شناخته‌شده است. در این مطالعه دو گروه یکی بومی (مقیم دشت گرگان و ترکمن صحرا) که مبتلا به سرطان مری بوده‌اند و دیگری گروه غیرمقیم و غیرترکمن از سایر نواحی ایران به طور گذشته نگر (Reterospective) مورد بررسی، به صورت میزان بروز ژن جهش‌یافته P53 به روش ایمونوهیستو شیمی برروی‌برش‌های بلوک پارافینی، قرار گرفتند. تومورهای مورد بررسی شامل ۶۱ نمونه‌پارافینی سرطان سلول سنگفرشی مری بود. ۳۷ نمونه از منطقه ترکمن صحرا (بومی) و ۲۴ نمونه از مناطق دیگر تدریجاً انتخاب شد. این نمونه‌ها با آنتی‌بادی‌منوکلونال اختصاصی DO-7 و روش ایمونوهیستوشیمیایی رنگ‌آمیزی شد و مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که اولاً بروز موتاسیون رابطه مستقیمی با درجه‌تمایز بافتی (Differentiation) دارد و با کاهش تمایز سلول‌های سرطانی (کاهش دیفرانسیون)، پروتئین‌حاصل از ژن موتاسیون یافته P53 بیشتر تجمع می‌یابد و ثانیاً و مهمتر از آن این که تفاوت آشکار و معنی‌داری بین بروز موتاسیون در این ژن در مناطق بومی نسبت به مناطق غیربومی دیده می‌شود ($p<0.05$) که می‌تواند راه‌گشای مطالعات اپیدمیولوژیک باشد.

[I] - این ژن را بدین دلیل P53 نامیده‌اند که محصول پروتئینی آن ۵۳ کیلو دالتون وزن دارد. این ژن، ژنی محافظ است و به نظر می‌آید، موتاسیون آن و یا ممانعت از عمل آن در بیش از نیمی از سرطان‌ها نقش داشته باشد.همان طور که در متن آمده است این ژن در روی بازوی کروموزوم ۱۷ قرار دارد. این ژن با برانگیختن نسخه‌برداری (Transcription) ژن‌هائی که مانع از همانندسازی (ریپلیکاسیون) DNAی آسیب‌یافته می‌شوند، (تا زمانی که ترمیم صورت گیرد) عمل می‌کند. به عبارتی این ژن می‌تواند در مواقع ضروری یک برانگیزاننده ژن‌های ممانعت‌کننده از رشد (Growth inhibitory genes) باشد. اما نکته جالب آن است که اگر آسیب‌های DNA در حدی وسیع باشد که این ترفند مؤثر واقع نشود، آنوقت این ژن با برانگیختن آپوپتوزیس (که در دو شماره قبل مجله مورد بحث قرار گرفته) در سلول‌های دارای آسیب، سبب مرگ این سلول‌ها می‌شود و آنها را از رده خارج می‌کند. در واقع ژن P53 عمل دوگانه دارد. از اینروست که این ژن را ژن محافظ ژنومی (Gauradian of the genome) و یا ژن محافظ بافتی (Gauaridian of the tissues) می‌نامندزیرا این ژن، سلول‌ها را از گزند DNAی آسیب یافته و بافت‌ها را از گزند این سلول‌ها مصون نگهمیدارد.

اگر خود این ژن به علت موتاسیون نتواند کارآئی داشته باشد و یا مواد تولید شده از آن غیر فعال شود (چنانکه در پاپیلوماهای ویروسی انسانی، پروتئین‌های ویروسی باعث درهم شکستن محصولات پروتئینی این ژن می‌شوند) می‌تواند در ایجاد سرطان‌ها مؤثر واقع شود. (ویراستاری مجله)

بررسی سطوح افزایش‌یافته پروتئین ناشی از این ژن موتاسیون یافته می‌تواند روشی‌مناسب برای بررسی طیف موتاسیونی به حساب آید و از این روش می‌توان در جستجوی(Screening) ژن‌های موتاسیون یافته سود جست.

مقدمه:

سرطان مری از نظر شیوع سرطان‌ها مقام ششم را در میان مردان در تمام جهان داراست و این سرطان یکی از عوامل مهم مرگ و میر در برخی مناطق آسیا و آفریقااست.[۲۰] (Day - NE)

در سرتاسر جهان شیوع سرطان مری بطور چشم‌گیر و قابل توجهی متفاوت است. این سرطان متناوباً در منطقه‌ای که به نام «کمربند سرطان مری آسیا» خوانده می‌شود، دیده می‌شود. این منطقه از شاخه جنوبی دریای خزر در غرب، تا شمال چین در شرق، امتداد می‌یابد و شامل مناطقی از ایران، آسیای میانه، افغانستان، سیبری و مغولستان‌است. همچنین مناطق محدودی با شیوع نسبتاً بالای این بیماری مانند فنلاند، ایسلند، جنوب شرقی آفریقا و شمال غربی فرانسه وجود دارند.[۱۷]

تفاوت زیاد در شیوع این کانسر، عوامل و فاکتورهای محیطی را مطرح می‌کند که‌احتمالاً در شیوع این بیماری دخالت دارند. امروزه سرطان (بخصوص این سرطان) به عنوان روندی چند مرحله‌ای در نظر گرفته می‌شود. قابل توجه آنست که یکی از مهمترین مراحل این روند را غیرفعال شدن ژن سرکوبگر تومور P53(TSG) (Tumor Suppressos Gene) می‌توان دانست. P53 پروتئینی ۵۳ کیلو دالتونی است و بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ قرار گرفته است. TSGها برای اولین بار در سال ۱۹۷۱ و توسط Knudson شناخته شدند.[۲۰] این مطالعه بر روی ژن P53 و پروتئین‌های حاصل از آن انجام شده است. مهمترین TSGها، ژن مولد رتینوبلاستوما (Rb) و ژن P53 هستند.[۲۰] تغییر در ژن P53 شایعترین تغییر ژنی‌است که در سرطان‌های انسانی دیده می‌شود. از بین رفتن هموزیگوتی این ژن در ۷۰٪ سرطان‌های کولون، ۳۰-۵۰ درصد سرطان‌های پستان و ۵۰٪ سرطان‌های ریه دیده شده است. علاوه بر این، ژن جهش‌یافته P53 در سرطان‌های زیر دیده می‌شود: سرطان مثانه، آستروسایتوما، لوسمی، انواع سارکوما، مزوتلیوما[8B,15A] محصول این ژن (Wild type P53)[II] فسفوپروتئینی ۵۳ کیلو دالتونی است که‌پروسه‌های بازنویسی، تقسیم سلولی و مرگ سلولی را تنظیم می‌کند و غیرفعال شدن آن منجر به تأخیر مرگ سلولی و اختلال پدیدهٔ آپوپتوزیس (Apoptosis) می‌شود که به نوبه خود تأثیری سرطانزا (کارسینوژنیک) دارد. شواهد گوناگون مؤید این فرضیه‌اند که بسیاری از موتاسیون‌های ناجور باعث به وجود آمدن تغییرات ترکیبی و تطبیقی می‌شوند که خود نیمه‌عمر (عمر نیمه) پروتئین را که به طور طبیعی ۶-۳۰ دقیقه و به طور متوسط حدود ۲۰ دقیقه است را طولانی می‌کنند.[۱۸]

در حالت عادی به علت نیمه‌عمرِ (عمر نیمه) کوتاه، پروتئین نوع وحشی (نرمال) به مقداری که از طریق روش‌های ایمونوهیستوشیمیایی قابل تعیین و اندازه‌گیری باشد در داخل هسته سلول تجمع نمی‌یابد[۶،۵].

در هر حال سطوح افزایش یافته‌ای از این نوع پروتئین در بسیاری از انواع تومورهای انسانی نشان داده شده است. هم‌اکنون ادعا می‌شود که جهش‌های نقطه‌ایِ (Point Mutation) ژن P53 منجر به تولید یک پروتئین غیر طبیعی با نیمه‌عمر طولانی می‌شود و بالطبع به مقدار کافی درون هسته تجمع می‌یابد. این پروتئین را می‌توان با روش‌های ایمونوهیستوشیمیایی نشان داد.

مثلاً میزان ثبت شدن P53 غیرطبیعی درکرپیت‌های غیرطبیعی مخاط کولون ۴۲٪ و در آدنوکارسینوم کولون ۷۵٪ است لذاجهش P53 در کرپیت‌های غیرطبیعی حادثه زودرس ژنی در فرآیند سرطانزایی‌کولون تلقی شده است.[۱۵] به نظر می‌رسد که جهش P53 در سرطان مری در مراحل اولیه سرطانی شدن و قبل از تهاجم صورت می‌گیرد، لذا به عنوان بیومارکری است که در فرآیند چند مرحله‌ای سرطان مری که شامل:

Basal cell Hyperplasia→Dysplasia→Carcinoma in Situ→ SCC

تا حدود قابل قبولی ارزش دارد بنابراین مشخص کردن آن در نمونه‌ها می‌تواند در تشخیص زودرس‌ضایعات پیش‌سرطانی کمک کند و در واقع نقش سرنوشت‌ساز داشته باشد.[۱۶،۱۴،۶]

جدیدترین تحقیق انجام شده در مورد P53 در سرطان مری مربوط به شهرLinaian چین است که پرشیوع‌ترین منطقه جهان از جهت بروز سرطان مری است.در این ناحیه بروز P53 ۸۷ درصد و خارج از این محدوده در چین ۶۴ درصدگزارش شده است و میزان بروز P53 نیز دقیقاً با عمق تومور در مری مرتبط بوده‌است.[۱۴]

بررسی سطوح افزایش یافته پروتئین ناشی از این ژن موتاسیون یافته می‌تواند روش‌مناسبی برای پژوهش طیف موتاسیونی باشد و از این روش می‌توان در جستجوی ژن‌های موتاسیون یافته شده کمک گرفت و سپس به دنبال فاکتورهای محیطی که سبب‌ساز این موتاسیون‌ها می‌شوند بود. هدف از این بررسی ابتدا تعیین میزان بروز P53 در تومورهای سرطانی مری که از نواحی بومی و غیر بومی برای تشخیص و درجه‌بندی آن جمع شده بودند است.

روش کار:

۱ - بیماران و بافت تومورال: ۳۷ نمونه کارسینوم سلول سنگفرشی از ترکمن صحرا و ۲۴ نمونه از نواحی مختلف ارجاع شده به تهران

[II] - wild در اینجا یعنی «معمولی»، یعنی «محصول معمول» این ژن، اگر بگوئیم wild mouse یعنی موشی که در طبیعت و به طور معمول زندگی می‌کند، نه موش آزمایشگاهی، این توضیح بدین منظور داده شد که منظور از wild که در فارسی به معنای «وحشی» ترجمه شده است، به معنای یاغی و آسیب‌رسان آن مورد نظر قرار نگیرد. (ویراستاری مجله)

جمع‌آوری شده است. جمع‌آوری آنها به طریق آندوسکوپی وجراحی بوده است که در این میان سن بیماران از ۴۷ سال تا ۷۶ سال متغیر بوده است و میانگین آن در مردان،۶۱ سال و در زنان، ۶۵ سال بوده است. میانگین سنی در گروه بومی ۶۰ سال و درگروه غیربومی ۶۶ سال بوده است. از ۳۷ نمونه بومی ۲۳ نفر مرد و ۱۴ نفر زن بوده‌اند و در ۲۴ نمونه غیر بومی ۱۳ نمونه مرد و ۱۱ نمونه زن بوده‌اند. نمونه‌جمع‌آوری شده در فرمالین ۱۰٪ فیکس شده و در پارافین قرار داده شده (Paraffin embedded) و با ضخامت ۵ میکرون بریده شده است.

۲ - تکنیک: آنالیز ایمونوهیستوشیمیایی (رنگ‌آمیزی) از طریق روش تقویتی بیوتین‌استرپتاویدین (Biotin-Streptovidin Amplified) به شرح ذیل انجام گرفت.لام‌جداگانه‌ای نیز جهت رنگ‌آمیزی H&E انجام گرفت تا درجات مختلف تمایز بافتی نمونه‌های بدخیم شامل سرطان سلول سنگفرشی با تمایز خوب (Well differentiated) و تمایز متوسط (Moderate differentiated) و تمایز اندک (Poorly diff.) مشخص گردید. برش‌های بافتی با ضخامت ۵ میکرون بود و با حداقل حرارت بر روی اسلاید لام‌ها قرار گرفت و سپس در زمان و درجه حرارت توصیه شده با آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی (DO-7) محصول شرکت DAKO (Biomedical & Laboratory Company) دانمارک (Produktionsrej 42, DK-2600 Glostrup) که برای پروتئین P53 انسان (Wild type) تهیه شده بودآنکوبه گردید و سپس با بافر اختصاصی شسته شد.

سپس آنتی بادی ثانویه حاوی بیوتین (Multi Link) اضافه شد و برای ۲۰ دقیقه در دمای اتاق آنکوبه شد و سپس با بافر اختصاصی‌شسته شد. در مرحله اضافه شدن آنتی بادی ثانویه به اسلایدها، کمپلکسور «آلکالوزفسفاتاز» استرپتاویدین نیز اضافه شده و سپس مادهٔ رنگ‌ساز(کروموژن) اضافه گردید. مجدداً برای ۵ - ۴۰ دقیقه در دمای اتاق آنکوبه شد تا زمانی‌که شدت رنگ مطلوب حاصل آمد. مادهٔ کروموژن با اضافه کردن ۱ قرص Fast Red به ۱ ویال ۵ میلی‌لیتری نفتل فسفات و پس از تکان دادن خوب آن، به نحوی که خوب حل شود، به دست می‌آید (که این روش براساس بروشور آزمایشگاه، کارخانه و کمپانی ABIOGENEA و «San Ramon, CA 94583 U.S.A» اعمال شد.

برای غیر فعال کردن آلکالن فسفاتاز داخل سلولی (اندوژن) از لوامیزول استفاده شد.نهایتاً با استفاده مناسب از کیت رنگ‌آمیزی رنگ‌های شفاف و واضح در نقاط و محل‌های آنتی‌ژن در اسلایدهای نمونه‌های موجود و نیز کنترل مثبت پدیدار شد.

شدت و الگوی رنگ‌پذیری P53 Immunostaining به صورت زیر گزارش‌گردید:

(+++) : بیش از ۷۰٪ هسته سلول‌های تومورال رنگ گرفته باشند.

(++) : بین ۱۰٪ تا ۷۰٪ هسته سلول‌های تومورال رنگ گرفته باشند.

(+) : کمتر از ۱۰٪ از هسته سلول‌های تومورال رنگ گرفته باشند و یا تعدادی از هسته‌های تومور به طور خفیف رنگ گرفته باشند.

(-) : هسته سلول‌های تومورال رنگ نگرفته باشند.[۵،۶ و ۱۴]

لازم به تذکر است که در این روش طبق شرح زیر از کنترل مثبت و منفی استفاده‌گردید:

کنترل مثبت - اسلاید کنترل مثبت از بافتی که حاوی آنتی‌ژنی که مورد مطالعه بودانتخاب گردید. اسلاید کنترل مثبت از طریق آزمایشگاه شرکت Biogenea تهیه‌گردید.

کنترل منفی - اسلاید کنترل منفی از بلوک‌های همان نمونه‌های بافتی تهیه گردید.حال آنکه به جای استفاده از آنتی‌بادی اولیه بر ضد آنتی‌ژن هدف از یک آنتی‌بادی‌محصول (محصول Biogenea) علیه یک آنتی‌ژن به نام (Vimentin) استفاده‌شد که در اکثر بافت‌ها موجود است و به Tissue processing حساس است.

رنگ‌آمیزی کنترل منفی در وحله اول مورد توجه قرار گرفت و این اطلاعات درجهت تعیین میزان رنگ‌آمیزی اختصاصی استفاده می‌شود.

نکته قابل توجه دیگر آن که کلیه نمونه‌های مزبور که P53 موتاسیون یافته آنها مورد بررسی قرار گرفته است در هر دو گروه بومی و غیربومی با هم Match شده‌اند یعنی در مقابل هم قرار داده شده و هر گروه از تمایز با گروه مربوط به خود مقایسه شده‌اند بدین ترتیب تأثیر مساله grade در پیدایش و بروز موتاسیون P53 از بین می‌رود. در مورد وضعیت Stage بیماران کلاً این قسمت نیاز به بررسی بیشتری داشته است که برخی از پرونده‌ها به دلیل عدم دسترسی به بیماران کامل نمی‌باشد و نیاز به تفحص بیشتری دارد.

نتیجه:

با استفاده از آنتی بادی DO-7 پروتئین P53 هسته در ۲۶ از ۳۷ نمونه (۷۰/۲٪) بومی و۱۱ از ۲۴ نمونه (۴۵/۸٪) غیر بومی نشان داده شد (جدول‌های ۱ و ۲). در رنگ‌آمیزیP53 تقریباً تمام هسته‌های تومورال حاوی پروتئین، به رنگ قرمز تیره نمایان شدند.

میزان رنگ‌پذیری سلول‌های بدخیم با ویژگی (Specificity) بالایی، رنگ گرفتند، حال آنکه ساختمان‌های نرمال و بافت نرمال و استروما رنگ نگرفته بودند.

همچنین در موارد سلول‌های کم تمایز یافته، میزان بالایی از ویژگی (Specificity) در رنگ‌پذیری وجود داشت. افزایش معنی‌داری نیز در موارد P53 موتاسیون یافته (که پروتئین قابل تعیین داشت) با رنگ‌آمیزی مثبت در نمونه‌های بومی نسبت به نمونه‌های غیر بومی قابل مشاهده بود (P=0.05).

در زمینهٔ ارتباط میان رنگ‌پذیری P53 و تمایز بافتی سلولی در نمونه‌های ما نتایج ذیل به دست آمد:

در نمونه‌های بومی ۸۷٪ از موارد با تمایز متوسط و کم (Poorly &

Moderate) مثبت شدند که در مقایسه با ۳۸٪ موارد با تمایز خوب (well) قابل توجه است. بنابراین ارتباط معنی‌داری بین تمایز سلولی بافتی و رنگ‌پذیری P53 در نمونه‌های گروه بومی وجود داشت (P = 0.0056).

این ارتباط در نمونه‌های غیر بومی به خوبی دیده نمی‌شود. (P = 0.09) در هر صورت از مقایسه میزان رنگ‌پذیری و شیوع P53 اختلاف معنی‌داری بین شیوع P53 رنگ‌آمیزی شده در نواحی بومی و غیربومی مشهود است (P = 0.056)

جدول ۱ ـ تشخیص پاتولوژیک و میزان رنگ پذیری P53 نمونه‌های بیوپسی سرطان مری در افراد بومی:

P53 Staining*	Well dif.	Moderatly dif.	Poorly dif.	جمع
-	8	1	2	11
+	4	6	2	12
++	1	7	1	9
+++	0	1	4	5
جمع	**13**	**15**	**9**	**37**

* - P53 staining versus Tumor differentiation P=0.0056

جدول ۲ ـ تشخیص پاتولوژیک و میزان رنگ‌پذیری P53 نمونه‌های بیوپسی‌سرطان مری در افراد غیر بومی:

P53 Staining*	Well dif.	Moderatly dif.	Poorly dif.	جمع
-	9	4	0	13
+	2	0	0	2
++	0	5	0	5
+++	1	2	1	4
جمع	**12**	**11**	**1**	**24**

* - P53 staining versus Cell differentiation P=0.09

بحث : (Discussion)

در زمینه اختلاف معنی‌دار بین شیوع موتاسیون P53 در نمونه‌های بومی و غیربومی به نظر می‌رسد که کلاً احتمال موتاسیون در ژن P53 (که تنظیم کنندهٔ آپوپتوزیس و سیکل تقسیم سلولی است) در مردم بومی ناشی از تغییرات محیطی و بیولوژیکی و تأثیرات سرطانزای آنها است.

سه دسته از این کارسینوژن‌های احتمالی که تأثیر مستقیم آنها روی ژن P53 به اثبات‌رسیده است عبارتند از:

۱ - ترکیبات و توکسین‌های موجود در غذاهای سوخته (نیتروزامین‌ها)

۲ - مایکوتوکسین‌های قارچی مثل آسپرژیلوس و Seotricum Candidum

۳ - ویروس پاپیلومای انسانی (HPV)

با توجه به یافته‌های مصنفین و محققین نواحی‌ای نظیر چین و فرانسه، نتایج حاصل از این مطالعه در وهله اول در تعیین In vitro ی تغییرات جهشی بر روی Codonهای مختلف ژن P53 می‌تواند راهگشای مهمی جهت یافتن اتیولوژی‌های متعددسرطان مری باشد. طبق بررسی‌های به عمل آمده هر کارسینوژن مشخص بر روی ژن P53 تغییرات جهشی خاصی در Codonهای بخصوصی ایجاد می‌کند. رفتار بیولوژیک ژن P53 در مقابل عوامل کارسینوژن دارای الگویی مشخص و ویژه است. تحقیق بر روی این الگوها بر روی کارسینوژن‌ها و کدون‌های جهش یافته ادامه‌دارد. به نظر می‌رسد چنانچه مطالعه حاضر در ایران از نظر Codonهای موجود موتاسیون (جهش) یافته ادامه یابد (بررسی PCR) قطعاً سر نخهایی از الگوی اتیولوژیک سرطان مری به دست خواهد آمد.

در وهله دوم و از طرف دیگر، با استفاده از مطالعات دیگری که در منطقه ترکمن‌صحرا در حال انجام است سر نخهای اتیولوژیک دیگری شناخته شده‌اند. این عوامل را می‌توان به صورت In vitro در مقابل سلول‌های سنگ فرشی کشت داده‌شده قرار داد و تغییرات موتاتیو مربوط را ثبت و ردیابی کرد.[III] می‌توان گفت طیفی با دو انتها وجود دارد: در یک انتها کارسینوژن‌ها و ژن P53 هستند که در In vitro با در کنار هم قرار دادن سلول‌های سنگفرشی مری وکارسینوژن‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرند و در انتهای دیگر طیف طبیعت با کارسینوژن‌هایش که در

[III] - که اتفاقاً صحبت روز محافل علمی می‌باشد و در این زمینه نیز آقای syrjanen و همکارانش[۲۳و۲۴و۲۵] ۳ مقاله را طی سال‌های ۹۸-۱۹۹۷ به چاپ رسانده‌اند و به عنوان پیشرو در این زمینهٔ علمی قدم برمی‌دارند. حاصل تلاش‌های ایشان تاکنون این است که فیبروبلاست‌ها نیز می‌توانند شاخص اهمیت باشند. این پژوهشگران فیبروبلاست‌های طبیعی را با سلول‌های سرطانی بروزدهنده P53 موتانت مجاور کردند و مشاهده کردند که در ۵۳ درصد موارد سلول‌های سرطانی به وضع طبیعی برگشتند.[۲۳] از طرف دیگر، بسته به محل بدخیمی در بدن نتایج ظاهراً غیریکسانی به دست آمده است به نحوی که: در بررسی مخاط دهانی (پس از تماس با کارسینوژن‌ها و به وجود آمدن ردهٔ سلولی اسکواموس سل) افزایش واضح و بیشتری در میزان شیوع P53 موتانت در قیاس با مخاط اسکواموس مری دیده شده است. در مطالعه دیگر آموند و سلول‌های بدخیم اپی‌تلیال را (سلول‌های بدخیم داخل اپی‌تلیالی را) با کارسینوژن‌ها مجاور کردند و دیدند که تناسب مستقیمی بین تماس کارسینوژن با بروز (Expression) ژن موتانت P53 وجود ندارد، بلکه دیدند که این تناسب یا به عبارتی مرفولژی تومور با دیگر پروتئین‌های سیکل سلولی (که بیشتر وابسته به کراتین هستند یعنی Creatin dependent هستند) دیده می‌شود.[۲۵] نهایتاً با توجه به جوان‌بودن این نوع پژوهش‌ها، مطالعه بر روی کارسینوژن‌های پیشنهاد شده از سوی مؤلفین‌و در رأس آنها «ناس» به صورت In vitro پیشنهاد می‌شود.

انسان باعث تغییر و جهش در ژن P53 می‌گردند. احتمالاً هنگامی که این دو سر طیف با هم تلاقی کردند و کارسینوژن‌ها مشخص شدند می‌توان از نظر اپیدمیولوژیک مشی و روش پیشگیرانه‌ای (Preventive) را مشخص کرد و با حذف کارسینوژن‌ها مانع ایجاد این سرطان در رقم بالایی از مردم این مرز و بوم شد.

مطالعه حاضر قدم اول در راه غربالگری تغییرات ژنتیک در سطح مناطق اپیدمیک سرطان مری است و مطالعات بسیار وسیع‌تر و گسترده‌تری در جهت حل این‌مشکل باید توسط پژوهندگان صورت گیرد.

* - دکتر پرویز صالحیان پاتولوژیست- استادیار دانشگاه علوم پزشکی ایران، مجتمع‌پزشکی رسول اکرم (ص)

** - دکتر بابک بهنام پزشک عمومی- مؤسسه پژوهشی سپند، آزمایشگاه پاتوبیولوژی کاوش

*** - دکتر محمد حیدری متخصص داخلی- فوق تخصص گوارش و آندوسکوپیست،مرکز درمانی شهید رجایی بابلسر

**** - دکتر بهمن حضرتی پاتولوژیست- آزمایشگاه پاتولوژی گرگان

***** - دکتر کیارش عطار پزشک عمومی- مرکز بهداشتی درمانی گرماب زنجان

REFERENCES

1.Silverberg E, Boring CC, Squires TS: Cancer statistics. SA-A Cancer Journal for Clinicians 1990;40:9

2.Day NE. The geographic pathology of cancer of the esophagus. Br Med Bulletine 1984; 40:329

3.Fraumeni JF Jr, Blot WJ: Geographic variation in esophageal cancer mortality in the United States. J Chronic Dis 1977; 30:759

4.Vassallo A, Correa P, De Stefani E, et al. : Esophageal cancer in Uruguay : a case- control study. JNCI 1985; 75:1005

5.Hollstein MC., Bennett WP., Metcalf RA., et al. : p53 mutation and protein accumulation during multistage human esophageal carcinogenesis. J Cancer-Res. 1992;52:6092-7

7.Isola-J, Visakorpi-T, Holli-K, Kallioniemi-OP : Association of over expression of tumor suppressor protein P53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node negative breast cancer patients J Natl-Cancer-Inst 1992;84: 1109-14

8.Clark-JS, George-WD, Campbell- AM : Dual colour flow cytometry of P53 and C-erb-2 expression related to DNA aneuploidy in primary and metastatic breast cancer. J Cancer-Lett. 1992;66:193-200

9.Guo W., Wang SW., Feng CH., et al. : P53 antioncogen abnormal in osteosarcoma. J Chung-Hua-Wai-Ko-Tsa-Chih. 1994;32:412-4

10.Berns-A : Cancer genetics. Is P53 the only real tumor suppressor gene? J Curr-Biol. 1994;4: 137-9

11.Sebag-M, Kremer-R, Gulliver W : Effect of 1,25 (OH)D3 and calcium on growth and differentiation and on c-fos and P53 gene expression in normal human keratinocytes. J Invest-Dermatology 1994;103:323-9

12.Oram-Y, Orengo-I,Baer-SC, et al.:P53 Protein expression in squamous cell carcinomas from sun-exposed and non-sun-exposed sites. J Am-Acad-Dermatol. 1994;31:417-22

13.Liang-YY : Multiple gene alterations in human esophageal squamous cell carcinoma. J Chung-Hua-Chung-Liu-Tsa-Chih. 1993; 15:408-11

14.Wang-DY, Xiang-YY, Tanaka-M, et al. : High prevalence of P53 Protein over expression in patients with esophageal cancer in Linxian, China and its relationship to progression and prognosis. J Cancer 1994;74:3089-96

15.Cho-KR, Vogelstein-b : Suppressor gene alterations in the colorectal adenoma - carcinoma sequence. J Cell Biochemistry Supplement. 1992; 16: 137-41

16. Gao H, Wang LD, Zhou Q, Hong JY, et al. : P53 tumor suppressor gene mutation in early esophageal precancerous lesions and carcinoma among high-risk populations in henan, China. J Cancer Research 1994;54:442-6

17.Paul N. Yakshe, David E. Fleischer : Neoplasms of the Esophagus. The Esophagus 1992; pp: 277-295

18.A.R. Moossa, Stephen C. Schimpff, Martin C. Robson : Comprehensive Textbook of Oncology, 2nd. ed. L. Austin Doyle : "Viral Carcinogenesis, Interrelationships between Growth Factors and Oncogenes" , S.H. Freind : "Familial Predispositon to Cancer". Wiliams & Wikins, 1995; 50:67-81 , 421-425

19.Leopold G. Koss : Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases, 4th ed., J.B. Lippincott Company, 1992 pp: 1020-1030

20.Stanley L Robbins, Ramzi S Cotran, Vinay Kumar : P53 and tumor suppressor genes. Pathologic Basis of Disease, 5th ed. W B Sunders, 1994; ppp:266-70

21.Jack A Roth, Allen S Lichter, Hoe B Putnam, Arlene A Forastiere : Molecular changes associated with Barrett's esophagus. Cancer Principle & Practice of Oncology, 4th ed., J. B. Lippincott, 1993; pp:794,203-4,43-4

22.Damjanov I., Linder J. : Immunohistochemistry and relative marking techniques. Andersons' Pathology, 10th ed. J.B. Lippincott company 1996; pp:268-277

23.Atula-S, Grenman - R, Syrjanen-s : Fibroblasts can modulate the phenotype of malignant epithelial cells in vitro. J Esp-Cell-Res. 1997;180-187

24.Schwartz-JL, Shlelar-G : Verification in syngeneic Hamsters of in vitro transformation of hamster oral mucosa by 7,12-dimethylbenz(a) anthracene. J Oral- Oncology 1997; 431-8

25.Hietanen-S, Syrjanen-K, Syrganen-S : Characterization of keratin and cell cycle protein expression in cell lines from squamous intraepithelial lesions progressing towards a malignant phenotype. Br-G-Cancer 1998:766-75