Archive of SID

مطالعه ایمنوهیستوشیمی بتا-کاتنین در کارسینوم تجربی کولون موش صحرائی

یوسف دوستار[1*]، داریوش مهاجری[1]، فاطمه فتحی آذر[2]، علی ناموران[3]

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۲. دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳. دانش‌آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: vetdoustar@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۸۷/۱۰/۲۸، پذیرش نهایی: ۸۸/۷/۶)

چکیده

آدنوکارسینوم کولون و رکتوم یکی از معمول‌ترین و درمان‌پذیرترین موارد بدخیمی‌های دستگاه گوارش می‌باشند. تحقیقات اخیر در مورد سرطان‌های کولون و رکتوم نشانگر موتاسیون ژن بتا-کاتنین و تجمع درون هسته‌ای آن در سلول‌های هیپرپلاستیک می‌باشد. بنابراین، احتمالاً پروتئین بتا-کاتنین می‌تواند به عنوان یک شاخص پیشگوئی و تشخیصی مهم در این بیماری مطرح باشد. هدف از این مطالعه، ارزیابی بیان پروتئین بتا-کاتنین هسته‌ای در سلول‌های هیپرپلاستیک کولون متعاقب تیمار با ۱و۲ دی‌متیل هیدرازین می‌باشد. در این مطالعه ٥٦ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با سن ۱۲ هفته و وزن ۳۰۰-۲۰۰ گرم انتخاب و به‌طور تصادفی در دو گروه مساوی تیمار و شاهد تقسیم گردیدند. در گروه تیمار جهت القاء کارسینوم کولون از ۱و۲ دی‌متیل هیدرازین به میزان ٤٠ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ٤ هفته و هر هفته دو تزریق به روش زیر جلدی استفاده گردید. به گروه شاهد مشابه گروه تیمار سالین نرمال تزریق گردید. پس از گذشت ۸ هفته از بافت کولون دیستال هر دو گروه جهت تهیه مقاطع ریزبینی و انجام ایمنوهیستوشیمی نمونه‌برداری به عمل آمد. ایمنوهیستوشیمی نمونه‌ها نشان داد که میزان پدیداری پروتئین بتا-کاتنین هسته‌ای در گروه تیمار به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد می‌باشد ($p<0/01$). مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بیان بتا-کاتنین هسته‌ای در موارد هیپرپلازی و نئوپلازی کولون می‌تواند افزایش یابد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۸، دوره ۳، شماره ۲، ٤٥٧-٤٥١.

کلمات کلیدی: کولون، کارسینوم، بتا-کاتنین، ایمنوهیستوشیمی

مقدمه

سرطان روده بزرگ دومین دلیل مرگ و میر ناشی از سرطان در دنیا است. طبق آمار ارائه شده، سالانه این سرطان مسئول مرگ ۱۹۰۰۰ نفر در انگلستان، ۸۵۰۰۰ نفر در اروپا و ٦١٠٠٠ نفر در ایالات متحده است (۱، ۲، ۳، ٤ و ٢٤). در ایران آمار قابل استنادی برای میزان وقوع سرطان وجود ندارد ولی براساس آن‌چه از منابع برمی‌آید بیشترین درصد سرطان مربوط به دستگاه گوارش و به خصوص روده بزرگ است و درصد بالایی از بدخیمی‌ها و مرگ و میر را در ایران شامل می‌شود. میزان بالای چربی و پروتئین جیره باعث افزایش وقوع سرطان روده بزرگ می‌شود (۲ و ۸)، این درحالی است که به نظر می‌رسد تغذیه با چربی پایین، فیبر بالا، کلسیم بالا و مصرف مقدار زیاد سبزیجات در غذای روزانه باعث کم شدن میزان بروز سرطان روده بزرگ می‌شود. مطالعات آزمایشگاهی حاکی از ارتباط بین فاکتورهای تغذیه و سرطان روده بزرگ دارد (١٤،

www.SID.ir

Archive of SID

۱۵ و ۱۶). با این وجود مکانیسم حمایتی اجزای اشاره شده هنوز به درستی مشخص نشده است. به‌نظر می‌رسد تجمع سلول‌های دارای جهش در روده بزرگ و رکتوم باعث ایجاد تومور و بدخیمی می‌شود (۹). سرطان روده بزرگ یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در مردان و زنان در شهرهای صنعتی است (۲ و ۱۲). بتا-کاتنین یک مولکول مرکزی یا اصلی در مسیر پیام‌رسانی داخل سلولی است که پیشتر به عنوان عامل دخیل در سرطان‌زایی یا تومورزایی انواع سرطان‌های دستگاه گوارشی از جمله سرطان معده و کولون شناخته شده‌بود. مطالعات پیشین درباره سرطان کولون، ارتباط بین پیدایش بتا-کاتنین هسته‌ای، وخامت بیماری و بقاء ضعیف‌تر بیماران مبتلا به سرطان کولون را نشان داده است. براساس پژوهش‌های انجام شده، نقش بتا- کاتنین در سرطان کولون و رکتوم را به تنهایی نمی‌توان از طریق مسیر پیام‌رسان wnt تشریح کرد. این پروتئین می‌تواند یک نقش آلترناتیو داشته باشد که با تمایز سلول‌های سرطانی و پیش‌بینی بهتر برای بیماری در ارتباط است. بایستی خاطر نشان نمود که بر اساس نتایج مطالعه Wanitsuwan و همکاران وی در سال ۲۰۰۸، پدیداری بیش از حد بتا- کاتنین به‌صورت تجمع هسته‌ای آن در پیشگوئی نتایج سرطان‌های کولورکتال بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۲۲)، با توجه به این‌که بروز و تجمع شکل هسته‌ای این پروتئین می‌تواند یک شاخص تشخیصی خوبی برای موارد کارسینوم کولون باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی میزان پدیداری پروتئین بتا-کاتنین به روش ایمونوهیستوشیمی در کارسینوم تجربی کولون موش صحرائی می‌باشد.

مواد و روش‌کار

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار از دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه تبریز خریداری و در شرایط ۵ حیوان در هر قفس و نیز با سیکل ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و درجه حرارت ۲±۲۲ سانتی‌گراد و رطوبت ۱۰٪±۵۵ نگه‌داری شدند.

طراحی آزمایش:

در این مطالعه تعداد ۵۶ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با سن ۱۲ هفته و وزن ۳۰۰-۲۰۰ گرم انتخاب و به طور تصادفی در دو گروه مساوی تیمار و شاهد تقسیم گردیدند. در گروه تیمار جهت القاء کارسینوم کولون از ۱و۲ دی متیل هیدرازین به میزان ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن به‌مدت ۴ هفته و هر هفته دو تزریق به روش تزریق زیرجلدی استفاده گردید. در گروه شاهد مشابه گروه تیمار سالین نرمال تجویز گردید. پس از گذشت ۴ هفته از بافت کولون دیستال هر دو گروه جهت تهیه مقاطع ۳ میکرونی و انجام ایمنوهیستوشیمی نمونه برداری به‌عمل آمد.

روش القای کارسینوم تجربی کولون در موش صحرائی:

جهت ایجاد تجربی سرطان روده بزرگ در جوندگان از ماده 1,2-dimethylhydrazine (DMH) استفاده می‌شود که قابلیت سرطان‌زائی در روده بزرگ و کوچک را داشته و با القای کریپت‌های نابجا در روده و متعاقب آن ایجاد تومور همراه است و روش استاندارد مطالعه تجربی سرطان روده بزرگ است (۸ ،۹و ۱۷).

جهت ارزیابی اثرات DMH کریپت‌های نابجای ایجاد شده (Aberrant Crypt Foci ACF) مورد بررسی قرار می‌گیرد. کریپت‌های نابجا در روده از عوامل مستعد کننده روده برای ایجاد آدنوم و آدنوکارسینوم بوده و از طریق بررسی آنها می‌توان در شناسایی زود هنگام سرطان کمک گرفت. برای القاء کارسینوم کولون، ماده شیمیائی ۱و۲ دی متیل هیدرازین با دز ۴۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن و محلول در EDTA به روش زیر جلدی تزریق گردید. تزریق هر هفته دو بار تزریق با فاصله مساوی و به‌مدت ۸ هفته انجام شد (۶ ،۱۴ و ۱۹).

روش انجام ایمنوهیستوشیمی:

۱- تهیه بلوک پارافینی ۲- برش به ضخامت ۳ میکرون و قرار دادن مقاطع بر روی لام سایلین ۳- پارافین زدائی ۴- قرار دادن مقاطع در مایکروویو ۵- قرار گرفتن مقاطع در دمای اتاق

www.SID.ir

Archive of SID

به‌مدت ۱۵ دقیقه ٦- شستشوی بافت‌ها در آب جاری ۷- شستشو در بافر TBS ۸- پوشاندن لام‌ها با آب اکسیژنه ۹- شستشو با بافر TBS ۱۰- پوشاندن لام‌ها با منوکلونال‌آنتی‌بادی بتا-کاتنین موش به همراه آنتی سرم آنتی‌بتا-کاتنین خرگوش (ساخت کمپانی DAKO) ۱۱- قرار دادن مقاطع در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه ۱۲- شستو با بافر TBS ۱۳- پوشاندن سطح لام‌ها با پلیمر نشان‌دار شده با پراکسیداز ١٤- شستشو با بافر TBS ۱۵- پوشاندن سطح لام‌ها با کروموژن+سوبسترا ١٦- شستشو با بافر TBS ۱۷- رنگ آمیزی هماتوکسیلین و مونته کردن (۱۸،۲۰ و ۲۲).

روش نمونه‌برداری و آنالیز آماری داده‌ها:

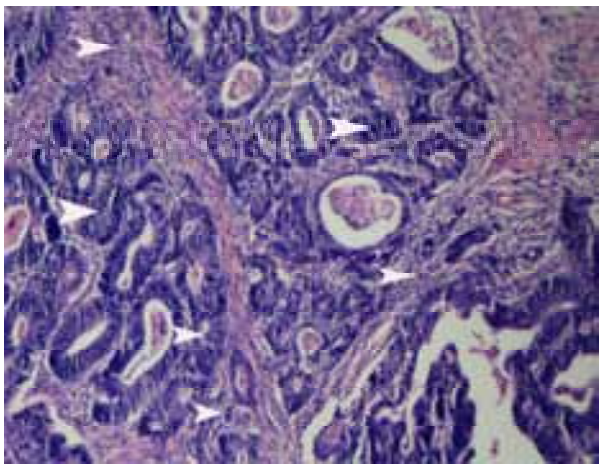
آنالیز آماری در مطالعه حاضر با آزمون t (*t*-Test) مستقل به انجام رسید. بر اساس جدول کوهن و ضریب اثر ۰/۵، توان آزمون (beta -۱) ۹۰ درصد و α=۰/۰۵ حداقل حجم نمونه ۲۸ مورد انتخاب گردید. برای بیان کمی تغییرات کیفی حاصله، از روش رتبه‌بندی تراکم پروتئین بتا-کاتنین مطابق جدول ۱ استفاده گردید.

جدول ۱- روش رتبه‌بندی تراکم پروتئین بتا-کاتنین

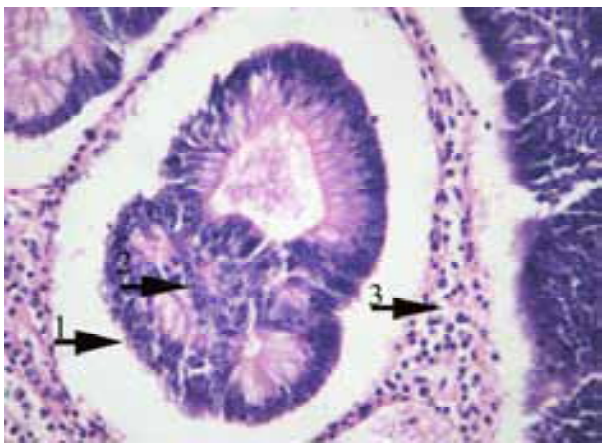
	میزان بسیار کم حضور پروتئین- بتا- کاتنین	میزان کم حضور پروتئین- بتا- کاتنین	میزان متوسط حضور پروتئین - بتا-کاتنین	میزان زیاد حضور پروتئین- بتا- کاتنین
میزان حضور پروتئین بتا- کاتنین	۰	۱	۲	۳

نتایج

مطالعات ریزبینی بافت اپی‌تلیوم کولون موش صحرائی گروه تیمار نشانگر اپی‌تلیوم هیپرپلاستیک و مناطق ACF (Aberrant crypt foci) (نگاره‌های ۱ و ۲) به همراه ارتشاح سلول‌های تک‌هسته‌ای بود. در مطالعات ایمونوهیستوشیمی، میزان پروتئین بتا-کاتنین در مقاطع بافتی کولون موش‌های صحرائی گروه تیمار پس از دریافت ۸ هفته‌ای ۱و۲ دی متیل هیدرازین نسبت به گروه شاهد تغییرات معنی-داری را نشان داد، به طوری که تراکم بتا-کاتنین در مخاط کولون گروه شاهد بسیار ملایم بود (نگاره‌های ۳ و ٤).



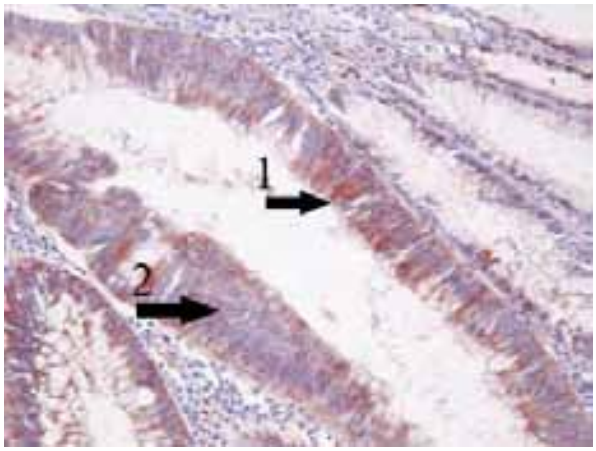
نگاره۱- نمای ریزبینی از بافت اپی‌تلیوم کولون موش صحرائی گروه تیمار که در آن مقاطع متعدد کریپت‌های هیپرپلاستیک (Aberrant crypt foci) (پیکان‌های ۱) به همراه ارتشاح سلول‌های تک‌هسته‌ای (پیکان‌های ۲) قابل مشاهده می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمائی ٤۰×).



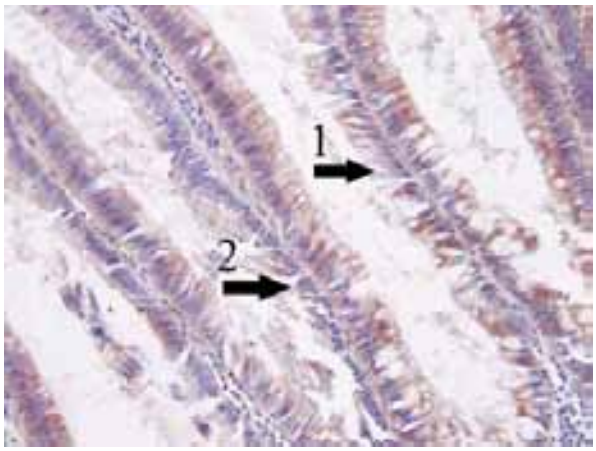
نگاره۲- نمای ریزبینی از بافت اپی‌تلیوم کولون موش صحرائی گروه تیمار که در آن مقاطع کریپت‌های هیپرپلاستیک (Aberrant crypt foci) (پیکان ۱) با رشد هیپرپلاستیک سلولی (پیکان ۲) به همراه ارتشاح سلول‌های تک‌هسته‌ای (پیکان ۳) در پیرامون آن‌ها کریپت‌ها قابل رویت می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمائی٤۰۰×).

www.SID.ir

Archive of SID



نگاره۳- نمای ریزبینی از بافت اپی‌تلیوم کولون موش صحرائی گروه تیمار که در آن پروتئین بتا-کاتنین در مخاط کولون به رنگ قهوه‌ای روشن (پیکان ۱) و پرولیفراسیون سلول‌های اپی‌تلیالی (پیکان ۲) قابل رویت می‌باشد. (ایمنوهیستوشیمی پروتئین بتا-کاتنین، بزرگنمائی۴۰۰×). پدیداری بتا- کاتنین به‌وسیله آنتی بادی مونوکلونال آنتی بتا-کاتنین موش و آنتی سرم آنتی بتا-کاتنین خرگوش.



نگاره٤- نمای ریزبینی از بافت اپی‌تلیوم کولون موش صحرائی گروه شاهد که در آن پروتئین بتا-کاتنین در مخاط کولون به رنگ قهوه‌ای روشن (پیکان‌های ۱ و ۲) قابل رویت می‌باشد. (ایمنوهیستوشیمی پروتئین بتا-کاتنین، بزرگنمائی۴۰۰×). ایمنوهیستوشیمی پروتئین بتا-کاتنین. پدیداری بتا- کاتنین به‌وسیله آنتی بادی مونوکلونال آنتی بتاکاتنین موش و آنتی سرم آنتی بتا-کاتنین خرگوش.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:

داده‌های حاصل در هر دو گروه تیمار و شاهد، توسط نرم افزار spss ویرایش ۱۳ و آزمون t-Test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. اختلاف میانگین تغییرات پروتئین بتا-کاتنین بین گروه‌های تیمار و شاهد معنی‌دار($p<0.01$) بود که در جدول ۲ آورده شده است.

جدول۲- میانگین تغییرات پروتئین بتا- کاتنین در بافت کولون موش‌های گروه تیمار و شاهد.

متغیرهای وابسته	خطای استاندارد	انحراف از معیار	میانگین
بتا-کاتنین گروه شاهد	۰/۱۲۰٤	۰/٦۳۷۲	۰/۹٦٤۳
بتا-کاتنین گروه تیمار	۰/۱٤٦۰	۰/۷۷۲٤	۲/۳۲۱*

*:$p<0.01$ در مقایسه با گروه شاهد

بحث و نتیجه‌گیری

بتا-کاتنین یک مولکول مرکزی یا اصلی در مسیر پیام‌رسانی داخل سلولی پیشتر به عنوان عامل دخیل در سرطان‌زایی یا تومورزایی انواع سرطان‌های دستگاه گوارشی از جمله سرطان معده و کولون شناخته شده بود. مطالعات پیشین درباره سرطان کولون، ارتباط و توافق مابین پیدایش بتا-کاتنین هسته‌ای، وخامت بیماری و بقاء ضعیف‌تر را نشان داده است (۲۱). براساس نتایج Wanitsuwan و همکاران وی در سال ۲۰۰۸، پدیداری بیش از حد بتا-کاتنین به‌صورت تجمع هسته‌ای آن در پیشگوئی نتایج سرطان‌های کولورکتال بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۲۲).

Yasuhiro و Hideki در سال ۲۰۰۳ بیان نمودند که آنزیم گلیکوژن سنتتاز کیناز ۳ با پروتئین آدنوماتوز پلی‌پوزیس کولی و پروتئین آگزین باعث فسفوریلاسیون بخش N-ترمینال (سرین/ترئونین) پروتئین بتا-کاتنین گردیده و پس از تداخل

www.SID.ir

Archive of SID

پروتئین F-box دگرداسیون پروتوزومی صورت گرفته و پروتئین بتا-کاتنین در هسته سلول رها و با فاکتور سلول‌های تی یا TCF باند می‌شود (۲۳). هرگونه موتاسیون در ژن‌های مسیر فوق می‌تواند باعث تجمع غیرطبیعی این پروتئین در هسته سلول گردد که در موارد تغییرات دیسپلاستیک اپی‌تلیوم کولون تجمع پروتئین بتا-کاتنین در کانون کریپیت‌های نابجا (نگاره‌های ۱ و ۲) وجود دارد که به‌نام (BCAC) Beta-catenin-accumulated crypt خوانده می‌شود.

Brabetz و همکاران در سال ۲۰۰۰ به پدیداری بیش از اندازه این پروتئین در هسته و ارتباط آن با اندازه نئوپلاسم‌ها اشاره نمودند (۳). Hideki و Yasuhiro در سال ۲۰۰۳ در مورد تراکم بتا-کاتنین در اپی‌تلیوم دیسپلاستیک کولون با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۲۳).

تحقیقات نشان داده است که ژن APC یا Adenomatous Polyposis Coli به‌عنوان یک ژن ساپرس کننده رشد تومور می‌باشد که نه تنها در اکثریت موارد کارسینوم کولون موتاسیون آن معلوم شده است، بلکه در سایر موارد سرطانی نظیر کارسینوم کبد نیز موتاسیون آن تشخیص داده شده است. محصول ژن APC، پروتئینی است به وزن ۳۱۲ کیلو دالتون که دارای دومن‌های متعددی است که از آن طریق با سایر پروتئین‌ها شامل پروتئین بتا-کاتنین، آکسین، CTBC، Asefs، IQGAP1 و میکروتوبول باند می‌باشد. نقش دیگری که برای APC بیان شده اتصال و مهاجرت سلولی، سازماندهی آکتین و شبکه میکروتوبولی سلول‌ها است (۱، ۷ و ۱۶).

Carmen و همکاران وی در سال ۲۰۰۱ و Nelson در سال ۱۹۹۷ اثرات القائی ۱و۲ دی‌متیل هیدرازین در کارسینوم کولون و پدیداری پروتئین بتا-کاتنین هسته‌ای را تفسیر نمودند (٦ و ٢٤). طبق نظر ایشان ۱و۲ دی‌متیل هیدرازین از طریق ایجاد موتاسیون در ژن مولد پروتئین بتا-کاتنین باعث القا کارسینوم کولون در روده موش صحرائی می‌گردد. آنها بر این باور بودند که کارسینوم کولون عمدتاً در اثر موتاسیون ژنی ایجاد می‌گردد، مخصوصاً ژن‌هایی که در ترمیم و رپلیکاسیون DNA موثر می‌باشند. از بین این ژن‌ها می‌توان ژن APC یا آدنوماتوز پلی‌پوزیس کولی را نام برد که ۸۵-۸۰ درصد موارد کارسینوم کولون مربوط به موتاسیون ژن فوق می‌باشد که در مطالعه حاضر احتمالاً موتاسیون ژن فوق در اثر ۱و۲ دی‌متیل هیدرازین روی داده است. با وجود این، مطالعات نشان داده است موتاسیون ژن آدنوماتوز پلی‌پوزیس کولی و ژن پروتئین بتا-کاتنین یا CTNNB1 از دلایل اصلی و موثر در بروز کارسینوم کولون می‌باشد. محصول ژن CTNNB1 پروتئین بتا-کاتنین می‌باشد که یک پروتئین اتصالی کادهرینی بوده و در اتصال بین سلولی نقش دارد. اما نقش دیگری که برای این پروتئین در نظر گرفته می‌شود، فعال کننده ترانس‌کریپتاسیون سلولی بوده و آن اغلب زمانی است که این پروتئین در هسته سلول با خانواده TCF/LEF یا فاکتور سلول‌های لنفوسیتی تی/فاکتور مشوق لنفوئیدی تشکیل کمپلکس می‌دهد. میزان بتا-کاتنین در سیتوزول سلول از طریق آبشار مسیر سیگنال‌های ترانسدوکسیون Wnt در مجموعه یا کمپلکس پروتئینی شامل APC، Axin و GSK-3β یا سرین گلیکوژن کیناز سنتتاز تری‌بتا افزایش می‌یابد. در موتاسیون ژن CTNNB1 بخش مهمی از آنزیم GSK-3β سرین/ترئونین تغییرات پیدا کرده که محل استقرار پروتئین بتا-کاتنین می‌باشد که نتیجه آن تجمع کمپلکس پروتئین بتا-کاتنین+TCF/LEF در هسته سلول‌های دیسپلاستیک می‌باشد. در مطالعه حاضر نیز در گروه تیمار با ۱و۲ دی متیل هیدرازین، میزان پدیداری پروتئین بتا-کاتنین نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر می‌باشد (٦). بنابراین، پدیداری پروتئین بتا-کاتنین هسته‌ای در سلول‌های سرطانی کولون می‌تواند به عنوان یک شاخص تشخیصی خوب مطرح باشد (۵، ٦ ،۱۰، ۱۱ و ۱۷).

Korinek و همکارانش تجمع بتا-کاتنین و Tcf-4 را که در بافت اپیتلیالی کولون پدیدار می‌شود تشریح و نشان دادند که hTcf-4 در هسته سلول‌های سرطانی کولون با بتا-کاتنین

www.SID.ir

Archive of SID

ارتباط پایدار و ثابت برقرار و اساساً فعال می‌باشد. با وجود این، پروتئین APC باعث انفصال بتا–کاتنین از hTcf-4 و در نتیجه منجر به توقف فعالیت رونویسی آن می‌شود. از آنجایی که تصور بر این بود که غیر فعال شدن ژن APC به عنوان ژنی که مهار کننده تومورهاست منجر به نئوپلازی در ناحیه کولورکتال می‌شود، از یافته‌های Korinek و همکارانش در سال ۲۰۰۵ چنین برمی‌آید که بتا–کاتنین در رشد نئوپلاستیک کولون دخیل می‌باشد که در مطالعه حاضر نیز میزان تراکم آن در گروه تیمار بیشتر بوده و نشانگر تجمع زیاد این پروتئین در سلول‌های دیسپلاستیک اپی‌تلیوم کولون می‌باشد که با نتایج آنها هم‌خوانی دارد (۱۳، ۲۰ و ۲۱). Sparks و همکارانش در سال ۱۹۹۸ گزارش کردند که شاید دو مسیر برای غیر فعال شدن اثرات مهاری و بازدارندگی APC وجود داشته باشد که این امر می‌تواند با ایجاد جهش ژنی در خود پروتئین APC و یا ایجاد جهش در بتا–کاتینن اتفاق افتد. معلوم شده است که سلول‌های توموری کولورکتال جهش‌هایی دارند که منجر به تغییرات و جابجایی‌های اساسی در مواضع فسفریلاسیون بتا–کاتنین می‌شود. این یافته‌ها حاکی از آن است که APC ، بتا– کاتینن و Tcf-4 در ایجاد تومورهای کولورکتال دخیل هستند و هرچه تغییرات دیسپلاستیک در روند رشد سرطانی اپی‌تلیوم کولون کمتر باشد، به همان نسبت بیان پروتئین بتا–کاتنین کم و منظم‌تر می‌باشد، در حالی که در موارد تغییرات دیسپلاستیک تراکم آن قابل توجه می‌باشد (٤، ۹، ۱۳ و ۱۷). با مطالعه‌ای که Brembeck و Rosario در سال ۲۰۰٦ انجام دادند، بیان نمودند که پروتئین بتا–کاتنین یک پروتئین چند منظوره ۸۸ کیلودالتونی است که نه‌تنها به همراه پروتئین کادهرین در اتصال بین سلولی نقش دارد، بلکه در موارد کارسینوم کولون به عنوان یک شاخص تشخیصی و پیشرفت رشد تومور می‌تواند اهمیت داشته باشد (٤). در مطالعه حاضر که به روش استفاده از آنتی بتاکاتنین (ایمنوهیستوشیمی M3539) میزان تراکم این پروتئین سنجیده شد، اختلاف میانگین بروز این پروتئین در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد معنی‌دار و نشانگر اثر القائی ۱و۲ دی متیل هیدرازین در کارسینوم کولون و پدیداری پروتئین بتا–کاتنین بود (نگاره‌های ۳ و ٤). بنابراین باتوجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان اظهار داشت که پدیداری بتا–کاتنین هسته‌ای می‌تواند در کارسینوم کولون افزایش یابد. شاید لازم است مطالعاتی تکمیلی با فرضیات دقیق و بیان متغیرهای موثر کمی و کیفی انجام پذیرد تا راهگشای سایر فعالیت‌های پژوهشی باشد.

کلمات اختصاری:

APC: ***APC*** (adenomatous polyposis coli) gene.
Ras: ***Ras*** superfamily of small GTPases**.**
Src: ***Src*** is a protein kinase found at elevated levels in pre-malignant colorectal tissues**.**
MOLT -4: (Human acute lymphoblastic leukemia cell line) Whole Cell
MTT/Tetrazolium: The ***MTT*** (C, N-diphenyl-N'-4, 5-dimethyl thiazol 2 yl ***tetrazolium*** bromide)
Wnt: ***Wnt*** genes in human ***colon carcinoma*** tissue and normal ***colon*** mucosa.
TCF/LEF: The founding members of the ***TCF/ LEF*** family of transcription factors.
FAP: Familial Adenomatose Polyposis.
AP-1: Transcriptase Factor.
CREB: CAMP response element binding.
ETS-1: ETS transcriptions factors, such as ***ETS1*****,** regulate numerous genes.
DPC4: tumor-suppressor gene.
bMB4: Bone Morphogenic Protein-4.
E2A: immunoglobulin enhancer binding factors E12/ E47.
CIP1/WAFT: Two variants of the ***CIP1/WAFt*** gene occur together and are associated with human cancer.
CTNNB1: Beta Catenin Protein
GSK-3β: Glycogen Serine Kinase-3

تشکر و قدردانی

از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز صمیمانه قدردانی می‌گردد.

فهرست منابع

1. Aoki, K. and Taketo, M. (2007): Adenomatous polyposis coli (APC): a multi-functional tumor suppressor gene J. Cell Sci., 120: 3327-3335.

www.SID.ir

Archive of SID

2. Bird, R.P. (1995): Role of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. Cancer Letters, 93: 55-71.
3. Brabetz, T., Jung, H., Faller, G. and Kichner, T. (2000): Expression of nuclear β-catenin and c-myc is correlated with tumor size but not with proliferative activity colorectal adenoma. Am. J. Pathol., 156: 865-870.
4. Brembeck, F.H. and Rosario, M. (2006): Birchmeier W. Balancing cell adhesion and wnt signaling, the key role of β-catenin. Curr. Opin. Gen. Dev., 16: 51-59.
5. Chithra, V. and Leelamma, S. (2000): Coriandrum sati6um — effect on lipid metabolism in 1, 2-dimethyl hydrazine induced colon cancer. Journal of Ethnopharmacology, 71: 457-463.
6. Carmen, A., Meirong, Xu., Gayle, A. and Roderick, H. (2001): Dashwood. ß-Catenin mutation in rat colon tumors initiated by 1, 2-dimethylhydrazine and 2-amino-methylimidazo [4, 5-f] quinoline, and the effect of post-initiation treatment with chlorophyllin and indole-3-carbinol carcinogenesis. food and chemical toxicology, 2: 315-320.
7. Dias, M.C., Spinardi-Barbian, A.L.T., Rodrigues, M.A.M., Camargo, J.L.V., Teran, E. and Barbisan, L.F. (2006): Lack of chamopreventive effect of ginger on colon carcinogenesis induced by 1, 2-dimethylhydrazine in rats.food and chemical toxicology, 44: 877-884.
8. Fearon, E.R. and Vogelstein, B. (1990): A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell, 61: 759-767.
9. Goss, K.H. and Groden, J. (2000): Biology of the adenomatous polyposis coli tumor suppressor. J. Clin. Oncol., 18: 1967-1979.
10. Hecht, A. and Kemler, R. (2000): Curbing the nuclear activities of ß-catenin: control over Wnt target gene expression. EMBO Rep., 1: 24-28.
11. Honmat, M. and Suzuki, Y. (2000): Nuclear translocation of beta-catenin in colorectal cancer. British Journal of Cancer, 82: 1689-1693.
12. Kamaleeswari, M., Deeptha, K., Sengottuvelan, M. and Nalini, N. (2006): Effect of dietary caraway (Carum carvi L.) on aberrant crypt foci development, fecal steroids, and intestinal alkaline phosphatase activities in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis. Toxicology and Applied Pharmacology, 214: 290-296.
13. Korinek, V., Barker, N., Morin, P.J., Van Wichen, D., De Weger, R., Kinzler, K.W., Vogelstein, B. and Clevers, H. (2005): Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC-/- colon carcinoma. Science, 21: 1784-1787.
14. Manju, V. and Nalini, N. (2005): Chemopreventive efficacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post-initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine-induced colon cancer. Clinica Chimica Acta., 358: 60-67.
15. Rodrigues, M.A.M., Silva, L.A.G., Salvadori, D.M.F., Camargo, J.L.V. and Montenegro, M.R. (2002): Aberrant crypt foci and colon cancer: comparison between a short and medium term bioassay for colon medium-term bioassay for colon carcinogenesis using dimethylhydrazine in Wistar rats. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 35: 351-355.
16. Roberts, J.D., Berndt, S., Marine, J. and Anastas, N. (2008): New regulators of Wnt/ {beta}-catenin signaling revealed by integrative molecular screening. Science Signaling, 1: 12-18.
17. Shibata, H.H., Takano, H. and Ito, M. (2007): β-Catenin is essential in intestinal adenoma formation. PNAS, 104: 18199-18204.
18. Sparks, A.B., Morin, P.J., Vogelstein, B. and Kinzler, K.W. (1998): Mutational analysis of the APC/ß-Catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. Cancer Res., 58: 1130-1134.
19. Thurnherr, N., Deschner, E.E., Stonehill, E.H. and Lipkin, M. (1973): Induction of adenocarcinomas in the colon in mice by weekly injection of 1,2-dimethylhydrazine. Cancer Research, 33: 940-945.
20. Oyama, T., Yamada, K. and Hata, K. (2008): Further upregulation of beta-catenin/Tcf transcription is involved in the development of macroscopic tumors in the colon of ApcMin/+ mice. Carcinogenesis, 29: 666-672.
21. Polakis, P. (2000): Wnt signaling and cancer. Genes Dev., 14: 1837-1851.
22. Wanitsuwan, W., Kanngurn, S., Boonpipattanapong, T., Sangthong, R. and Sangkhathat, S. (2008): Overall expression of beta-catenin outperforms its nuclear accumulation in predicting outcomes of colorectal cancers. World J. Gastroenterol., 14(39): 6052-6059.
23. Yasuhiro, Y. and Hideki, M. (2003): Pre-cancerous lesions for colorectal cancer in rodent a new concept. Carcinogenesis, 24: 1015-1019.
24. Nelson, R.L. Dietary minerals and colorectal cancer. In: Rowland, I.R. (1991): Nutrition, Toxicity and Cancer. CRC Press, London, pp: 491-515.

www.SID.ir