

مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی جهش‌های شایع در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ ژن K-ras2 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال در جمعیت ایرانی

ساناز سبحانی^۱، سید مسعود غفارپور^{۲*}، زهرا مستخدمین حسینی^۳، فاطمه کمالی^۴
زهرا نور محمدی، مسعود هوشمند^{۳ و ۵*}

- ۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
- ۲- مرکز پژوهش‌های ملی و صنعتی ایران، ایران
- ۳- مرکز ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی، تهران، ایران
- ۴- بیمارستان امام خمینی، انستیتو کانسر، تهران، ایران
- ۵- مرکز پزشکی خاص تهران، ایران

چکیده

سرطان کولورکتال رایج‌ترین سرطان دستگاه گوارش شناخته شده هم در ایالات متحده و هم در اروپاست. این سرطان در مردان ایرانی سومین و در زنان ایرانی چهارمین سرطان شایع می‌باشد. کدون‌های ۱۲ و ۱۳ این ژن به عنوان نقاط داغ جهش در این ژن محسوب می‌شوند. جهش‌های سوماتیک در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ (اگزون ۱) ژن K-ras که پروتئین Ras دائماً فعال را می‌سازد، در ۲۰-۵۰ درصد از سرطان‌های کولورکتال انسان یافت شدند. در این پژوهش، ۵۹ نمونه بافت تومور و نیز بافت نرمال اطراف تومور را با استفاده از روش PCR/sequencing برای کدون‌های ۱۲ و ۱۳ ژن K-ras بررسی کردیم. ۲۰/۳٪ از بیماران، جهش‌های نقطه‌ای در کدون‌های مذکور داشتند (۱۰ جهش در کدون ۱۲ و ۲ جهش در کدون ۱۳) و ۸۰٪ این جهش‌ها در کدون ۱۲ اتفاق افتاده بود. نزدیک به ۶۰٪ جهش‌ها در رکتوم و ۴۱/۷٪ در کولون رخ داده بود. بیش از ۸۰٪ جهش‌ها در آدنوکارسینوما و مقدار کمتری در Mucinous وجود داشت. بیشترین جهش در رده‌های سنی بالاتر از ۶۰ سال مشاهده شد. تنها دو نفر (۱۶/۶٪) از بیماران دارای تاریخچه خانوادگی بودند. با توجه به کم بودن فراوانی این جهش در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ ژن K-ras در این جمعیت نسبت به برخی جمعیت‌های دیگر، باید سایر اگزون‌های این ژن نیز بررسی شود. زیرا ممکن است جهش را در نقاط دیگری از این ژن بیابیم. بنابراین الگوی جهش ژن K-ras در جمعیت ایرانی، با الگوهای جهانی جهش این ژن متفاوت است. واژه‌های کلیدی: سرطان‌های کولورکتال، ژن K-ras، موتاسیون

* مسعود هوشمند Ph.D ژنتیک پزشکی مولکولی

استادیار ژنتیک پزشکی پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری Email: housh62@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۱۹

مقدمه

سرطان کولورکتال، سرطانی است که در کولون یا رکتوم آغاز می‌شود. گزارش شده که سرطان کولورکتال، تنوع جغرافیایی را در رخدادش حتی درون مناطقی از قوم و ملیت‌های همگن نشان می‌دهد (۱). در کشورهای کمتر توسعه یافته، به دلیل نوع رژیم غذایی، این بیماری شیوع کمتری دارد. تخمین زده می‌شود که سالانه حداقل نیم میلیون نفر در دنیا به این سرطان مبتلا می‌شوند. پروتئین KRAS که یک G-protein منومری است، بصورت یک سویچ مولکول، سیگنال‌های خارج سلولی را از طریق گیرنده‌های غشاء سلولی به سیگنال‌های داخل سلولی تبدیل می‌کند. آنکوژن‌های Ras فعال شده در اشکال متفاوتی از سرطان‌های انسان شامل کارسینوماهای اپی تلیال ریه، کولون و پانکراس شناخته شده است. کدون‌های ۱۲ و ۱۳ (اگزون ۱) ژن K-ras نقاط داغ (hot spot) جهش این ژن در این سرطان هستند، جهش‌های ژن K-ras در کولورکتال آدنوما تا گسترش کارسینوما در ۶۰-۲۲٪ از سرطان‌های کولورکتال انسانی زود هنگام اتفاق می‌افتد (۱) و ۲ و ۳-۷٪). تخمین زده می‌شود که سالانه حداقل نیم میلیون نفر در دنیا به این سرطان مبتلا می‌شوند (۹۰۸). با این حال تشخیص زود هنگام اغلب به درمان کامل منجر می‌شود (۱۰-۱۲).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی کدون‌های ۱۲ و ۱۳ ژن K-ras واقع در اگزون شماره ۱ این ژن و تعیین توالی آن در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال، نیاز به نمونه‌گیری از بافت تومور کولون و بافت نرمال اطراف تومور بود. در این مطالعه تعداد ۵۹ بافت تومور بیماران سرطان کولورکتال شامل ۲۸ بیمار مبتلا به سرطان کولون و ۳۱ بیمار مبتلا به سرطان رکتوم، توسط انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی تهران در اختیار ما قرار گرفت. همچنین بافت نرمال اطراف تومور بیمارانی که جهش در این ژن آنها مشاهده شد (۱۲ نفر) و نیز تعدادی از بیماران فاقد جهش (۲۰ نفر) از این مرکز تهیه شد. سن بیماران در این تحقیق به طور متوسط ۵۸ سال بود و نیز ۵۸/۶ درصد

از بیماران زن و ۴/۴۱ درصد آنها مرد بودند. با در دست داشتن نمونه‌های بیماران، DNA ژنومی آن‌ها به روش مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلی مرز (PCR) و سپس توالی یابی خودکار^۱ که استاندارد طلایی بررسی جهش‌ها می‌باشد، مورد مطالعه قرار گرفتند. استخراج DNA از بافت تومور تازه فریز شده توسط کیت QIAamp DNA mini و نیز از بافت تثبیت شده با پارافین توسط کیت QIAamp DNA FFPE Tissue از شرکت QIAGEN ساخت کشور آمریکا صورت گرفت. واکنش PCR بر روی اگزون ۱ ژن K-ras انجام شد. برای این منظور از پرایمرهای K-ras-R و K-ras-F طبق توالی که در جدول ۱ آمده است استفاده شد (۱۳).

قطعه تکثیر یافته توسط PCR به کمک تکنیک الکتروفورز ژل آگارز مشاهده شد. پس از اینکه کیفیت باندها و صحت PCR انجام شده تایید شد، محصولات PCR جهت توالی یابی جهت توالی یابی ارجاع شدند. توالی‌های بدست آمده از توالی یابی به روش فوق الذکر، توسط نرم افزار Finch Tv و با کمک سایت NCBI بررسی شدند. با این روش توالی مورد نظر در هر بیمار با توالی مرجع مقایسه شد و جهش‌های موجود در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ ژن K-ras واقع در اگزون شماره ۱ این ژن نشان داده شد. در این تحقیق تمامی اهداف مورد مطالعه تحت جداول فروانی نسبی و دیگرام‌های مربوطه بدست آمد و در نهایت ارتباط متغیرهای مورد نظر با استفاده از آزمون مربع کای^۲ به کمک نرم افزار SPSS-۱۵ مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

تعداد ۵۹ نمونه بافت تومور بیماران سرطان کولورکتال و همچنین بافت نرمال نمونه‌هایی (۱۲ بیمار) که در آنها جهش در منطقه مورد نظر در ژن K-ras یافت شده بود و نیز بافت نرمال ۲۰ بیماری که فاقد جهش در این منطقه بودند را جهت کنترل تهیه نموده و تمام مراحل این تحقیق (از استخراج DNA تا توالی یابی) بر روی آن‌ها انجام شد. واکنش PCR برای اگزون شماره ۱ ژن K-ras (شامل دو کدون مورد نظر ۱۲ و ۱۳) طبق

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای PCR ژن K-ras

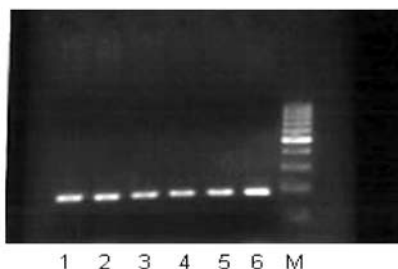
Gene and DNA region amplified	Primer	Primer sequence (5'→3')	Size (bp) of PCR product
K-ras	K-ras-F	5'-AGGCCTGCTGAAAATGACTGAATA-3'	179
	K-ras-R	5'-CTGTATCAAAGAATGGTCCTGCAC-3'	

1. Sequencing

2. Chi Square

در این مثال، جهش در کدون شماره ۱۲ نشان داده شده است. جهش در این کدون ها می تواند تغییرات متفاوتی از نوکلئوتیدها را شامل شود.

برنامه ای که در جدول ۲ ذکر شد و نیز با نسبت مواد واکنش گفته شده در جدول ۳ انجام شد (شکل ۱). در شکل ۲ و ۳ به ترتیب دو توالی نرمال و جهش یافته با هم مقایسه شده اند.



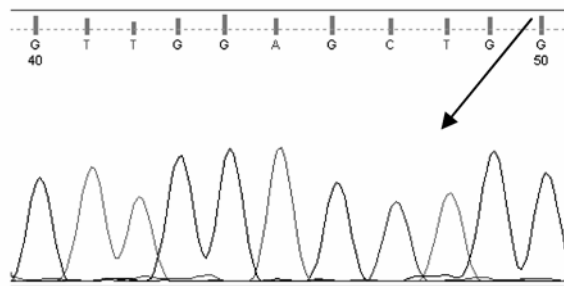
شکل ۱: ژل آگارز الکتروفورز محصول PCR بر روی ژن kras (M: Molecular marker، ۱، ۲ و ۳ و ۴ و ۵ و ۶: محصولات PCR اگزون شماره ۱ ژن K-ras)

جدول ۲: برنامه دما و زمان لازم جهت انجام PCR ژن K-ras

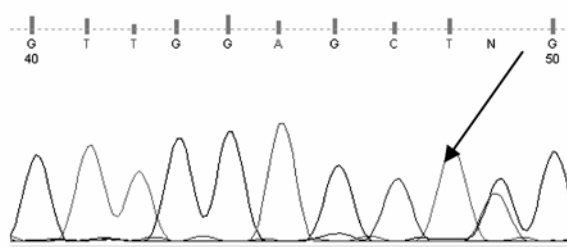
Station	Temperature (C°)	Time (min)
Hot Start	95	5
Denaturation	95	1
Annealing	59.3	1
Extension	72	1
Repeat step 2 to 4 (35 cycle)		
Final Extension	72	10

جدول ۳: مقادیر مورد استفاده برای واکنش PCR ژن K-ras

مقدار بر حسب μl	غلظت نهایی	غلظت پایه	مواد مورد نیاز
1.8	1.8 mM	50 mM	MgCl ₂
0.3	0.03 u/ μl	5 u/ μl	Taq Polymerase
1	0.2 mM	10 mM	DNTP
5	1X	10X	PCR Buffer
0.7	10 pmol/ μl	100 pmol/ μl	Forward Primer
0.7	10 pmol/ μl	100 pmol/ μl	Reverse Primer
1	700 ng/ μl	Variable	Template DNA
39.5			H ₂ O
50			Total Volume



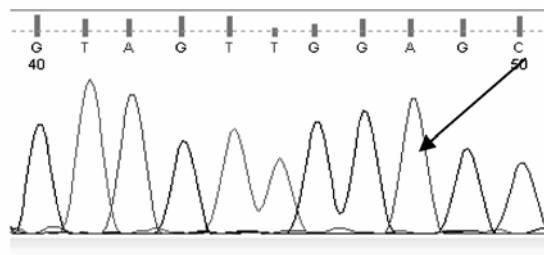
شکل ۲: توالی نرمال کدون‌های ۱۲ و ۱۳ ژن K-ras واقع در اگزون شماره ۱ (به نوکلئوتید شماره ۴۹ توجه شود)



شکل ۳: توالی جهش یافته کدون‌های ۱۲ و ۱۳ ژن K-ras واقع در اگزون شماره ۱ (نوکلئوتید شماره ۴۹ در کدون شماره ۱۲ دارای جهش هتروزایگوتی است که نوکلئوتید گوانین به آدین تبدیل شده است)

تغییر نوکلئوتیدی در اگزون ۱ ژن K-ras بودند. از بین این ۱۲ نمونه، ۱۰ تغییر نوکلئوتیدی در کدون ۱۲ و ۲ تغییر در کدون ۱۳ این ژن مشاهده شد. تغییرات نوکلئوتیدی و آمینو اسیدی آنها به همراه برخی اطلاعات بیمار، در جدول ۴ نشان داده شده است.

نمونه‌های بافت نرمال اطراف تومور همچنین مورد مطالعه قرار گرفتند. هیچگونه جهشی در منطقه مورد مطالعه در ژن K-ras در بافت نرمال اطراف تومور تمامی بیماران مشاهده نشد. توالی نرمال در کدون ۱۲ و ۱۳ این ژن در شکل ۴ نشان داده شده است. از بین ۵۹ نمونه‌ای که توالی یابی شدند، ۴۷ نمونه نرمال و ۱۲ نمونه دارای



شکل ۴: توالی کدون ۱۲ و ۱۳ ژن K-ras در بافت نرمال بیماری که در بافت توموری در کدون ۱۳ دارای جهش GGC به GTC می باشد. همانطور که مشاهده می شود، توالی این منطقه در بافت نرمال اطراف تومور، فاقد جهش می باشد.

جدول ۴: تغییرات نوکلئوتیدی در اگزون شماره ۱ ژن K-ras. در این جدول، تغییر اسید آمینه گلیسین (GLY) به سرین (SER)، آسپارتیک اسید (ASP)، والین (VAL) در کدون ۱۲ یا ۱۳ ژن K-ras را می بینیم.

Donor Number	Age	Sex	Family History	Site of Primary	Prior Cancer	Codon12	Aminoacid Exchange	Codon13	Aminoacid Exchange
1	81	F		RECT	NO				
2	74	M		RECT	NO	GGT→AGT	GLY→SER		
3	69	M	Yes	COLN	NO				
4	88	F		COLN	NO				
5	71	M	Yes	RECT	NO				
6	62	M		RECT					
7	55	M	Yes	RECT	NO	GGT→GAT	GLY→ASP		
8	67	F	Yes	COLN	NO			GGC→GTC	GLY→VAL
9	64	F		COLN	NO				
10	70	M		COLN	NO	GGT→GAT	GLY→ASP		
11	43	F	Yes	RECT	NO				
12	72	F		RECT	NO				
13	59	M	Yes	RECT	NO				
14		F		RECT	NO				
15	56	F		RECT	NO				
16	30	M		RECT	NO				
17	35	M		RECT	NO				
18	64	F		COLN	NO				
19	53	F		COLN	NO	GGT→GTT	GLY→VAL		
20	53	F		RECT	NO				
21	55	M	Yes	COLN	NO				
22	60	F		COLN					
23	34	M	Yes	RECT	NO				
24	74	F		COLN	NO				
25	58	F		RECT	NO				
26	28	M		RECT	NO				
27	50	F		COLN	NO				
28	48	M		COLN	NO				
29	44	F		COLN	NO	GGT→GAT	GLY→ASP		
30	75	F	Yes	RECT	NO				
31	37	F		COLN	NO				
32	64	F		RECT	NO				
33	64	M		COLN	NO				
34	70	M	Yes	COLN	YES				
35				RECT					
36	81	M		RECT	NO				
37	64	F		COLN					
38	35	F		COLN	NO	GGT→GAT	GLY→ASP		
39	57	M		COLN	NO				
40	35	F		RECT	NO	GGT→GTT	GLY→VAL		

41	32	F		COLN	NO		
42	63	F		RECT	NO	GGC→GAC	GLY→ASP
43	53	F	Yes	COLN	YES		
44	57	F		COLN	NO		
45	57	F	Yes	COLN	NO		
46	60	M		COLN	NO		
47	48	F		COLN	NO		
48	53	F		RECT	NO		
49	66	F	Yes	COLN	NO		
50	53	M	Yes	RECT	NO		
51	77	M	Yes	COLN	NO		
52	68	M		RECT	NO		
53	44	F		RECT	NO	GGT→GAT	GLY→ASP
54	60	F	Yes	COLN	NO		
55	73	M		RECT	NO	GGT→GAT	GLY→ASP
56	75	M		RECT	NO	GGT→AGT	GLY→SER
57	37	F		RECT	NO		
58	66	M	Yes	RECT	NO		
59	65	F		RECT			

بحث و نتیجه گیری

تومورهای کولورکتال در کدون‌های فوق وجود داشت (۵). در مطالعه‌ای که بر روی بیماران کولورکتال در سال ۲۰۰۲ توسط ریان^۳ صورت گرفت، در دو گروه بیماران جهش‌های ژن K-ras بررسی شدند. در گروه قبل از جراحی، جهش K-ras در ۵۳٪ (۴۱ از ۷۸) تومورها یافت شد (۶). در مطالعات اخیر که ذکر شد، نتایج حاصل، با نتایج این مطالعه همخوانی ندارد که این می‌تواند به علت تفاوت در ژنتیک جمعیتی دانست که مورد مطالعه قرار می‌گیرد. از مجموع ۱۲ بیمار دارای جهش، نزدیک به ۶۰٪ جهش‌ها در رکتوم رخ داده و ۴۱٫۷٪ معادل ۵ جهش، در کولون مشاهده شده است. از مجموع ۱۲ مورد جهش به ثبت رسیده، ۵۰٪ جهش‌ها مربوط به تغییر نوکلئوتیدی GGT به GAT (تغییر آمینواسیدی گلایسین به آسپارتیک اسید) بوده و تغییر نوکلئوتیدی GGT به AGT (گلایسین به سرین) و GGT به GTT (گلایسین به والین) در کدون ۱۲ هر یک به تعداد مساوی و برابر ۲ مورد و تغییر نوکلئوتیدی GGC به GTC (گلایسین به والین) و GGC به GAC (گلایسین به آسپارتیک اسید) در کدون ۱۳ هر یک به تعداد مساوی و برابر ۱ مورد مشاهده شده است. در مطالعه‌ای که توسط نیومن صورت گرفت، ۳۶ درصد از جهش‌های رخ داده در کدون‌های ۱۲ ژن K-ras تغییر آمینو اسیدی گلایسین به آسپارتیک اسید و ۲۱/۸ درصد گلایسین به والین است. ۱۸٫۵ درصد از جهش‌ها هم تغییر آمینواسیدی

در این بخش با کمک برنامه SPSS-۱۵ و نیز مطالعات آماری، داده‌های بدست آمده از این تحقیق مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند. سطح آزمون در این مطالعه $p < 0/05$ در نظر گرفته شد. در این پژوهش بطور کلی از مجموع ۵۹ مشاهده ثبت شده، ۲۰/۳٪ از موارد (۱۲ از ۵۹) دارای جهش بوده و در ۴۷ مورد جهشی مشاهده نشده است. نتیجه بدست آمده از این تحقیق با پژوهشی که در سال ۲۰۰۹ در کشمیر توسط ثمیر^۳ انجام شد مطابقت دارد. در تحقیق ذکر شده، ۲۲/۶۴٪ (۱۲ از ۵۳) جهش در K-ras در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ رخ داده است (۱۴). طبق پژوهشی که توسط میکامی^۴ و همکاران در ژاپن (۲۰۰۶) انجام شد، جهش‌های مذکور در ژن K-ras ۲۱/۶٪ از ۳۱۰ تومور یافت شد که مطابقت بسیار زیادی با فراوانی جهش در جمعیت ایرانی مورد مطالعه دارد (۱۵). مطالعات مشابهی که توسط مایکل^۵ (۲۰۰۰) بر روی بیماران سرطان کولورکتال انجام شد، وجود فراوانی ۲۵/۹٪ جهش در کدون ۱۲ این ژن را نشان می‌دهد که تفاوت چشمگیری با نتایج ما (۲۰/۳٪) ندارد (۱۶).

در مطالعه تره سیول^۶ و همکاران (۲۰۰۶) بر روی بیماران سرطان کولورکتال، جهش‌های K-ras در ۳۳٪ از نمونه‌های بافت تومور بیماران یافت شد (۳). پژوهشی بر روی بیماران سرطان کولورکتال توسط نیومن^۷ و همکاران (۲۰۰۹) صورت گرفت. در این پژوهش، جهش‌های K-ras در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ در ۳۹٪ از تمام CRC های بررسی شده، وجود داشت (۴). در مطالعه‌ای که توسط Gimbel (۲۰۰۴) انجام شد، جهش در ۳۷٪ از

3. Sameer
5. Michael S
7. Neuman
9. Alsop

4. Mikami
6. Trevisiol
8. Ryan
10. Anthony

گلايسين به آسپارتیک اسيد در کدون ۱۳ بوده است (۴).

با توجه به مطالعه‌ای که در بین جمعیت ایرانی بیماران سرطان کولورکتال انجام شد، بیشترین تغییر نیز گلايسين به آسپارتیک اسيد در کدون ۱۲ ژن K-ras بوده است و با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. نتایج نشان می‌دهد که از بین ۱۲ جهش مشاهده شده بیش از ۸۰ درصد موارد در کدون ۱۲ اتفاق افتاده و تنها ۲ مورد از مشاهدات مربوط به کدون ۱۳ می باشد. ثمیر در سال ۲۰۰۹ بیان کرد که ۶۱٫۵ درصد از جهش‌ها در جمعیت مورد مطالعه، در کدون ۱۲ و ۳۸٫۵ درصد در کدون ۱۳ اتفاق افتاده است (۱۴). در پژوهشی دیگر که توسط آلسوپ^۱ (۲۰۰۶) انجام شد، از ۶ جهش سوماتیک مشاهده شده ژن K-ras، ۵ جهش در کدون ۱۲ و یک جهش در کدون ۱۳ اتفاق افتاده است (۱۷). در مطالعه‌ای که توسط نیومن صورت گرفت، ۵۷٫۸ درصد از جهش‌های رخ داده در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ ژن K-ras تغییر آمینو اسیدی گلايسين به آسپارتیک اسيد و یا گلايسين به والين در کدون ۱۲ است (۴). نتایج تحقیقات فوق نشان می‌دهد که جهش در اگزون شماره ۱ ژن K-ras عموماً در کدون ۱۲ بیشتر است که با نتیجه حاصل از این پژوهش همخوانی دارد. اما در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۴ توسط آنتونی^{۱۰} و همکارانش انجام شد، این نظریه را نقض می‌کند. زیرا در پژوهش فوق، ۸۳ درصد از جهش‌ها در کدون ۱۳ این ژن و ۱۱٫۲ درصد از جهش‌ها در کدون ۱۲ اتفاق افتاده است (۱۸).

از مجموع ۱۲ بیمار دارای جهش رده‌های سنی «بین ۶۰ تا ۷۰ سال» و «بیشتر از ۷۰ سال»، هریک با ۲۵ درصد از بیشترین جهش برخوردار بوده است. بررسی‌های آماری دقیق‌تر نشان داد که ارتباط معناداری بین سنین بالای بیماران و افزایش رخداد جهش ژن K-ras وجود ندارد ($p>0.05$). در این مطالعه مشاهده شد که اختلاف بین اندازه تومورها در بیماران دارای جهش و بدون جهش، معنی‌دار نمی‌باشد ($p>0.05$). همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های بیماران و اندازه تومور آنها وجود ندارد ($p>0.05$). بررسی‌های آماری نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین اندازه تومور زنان و مردان وجود ندارد ($p>0.05$).

از مجموع ۱۲ نفر بیمار دارای جهش، بیش از ۸۰ درصد از جهش‌ها در آدنوکارسینوم غیر سینوس اتفاق افتاده است و تنها یک جهش در نوع موسینوس مشاهده شده است و دارای ارتباط معناداری می‌باشد ($p<0.05$). در پژوهشی که در کشمیر توسط ثمیر (۲۰۰۹) انجام شد، جهش‌های کدون ۱۲ ژن K-ras ($p<0.05$) با هسیتوتایپ Mucinous مرتبط بود، در حالی که در این تحقیق، تنها ۳٪ از جهش‌ها در موسینوس و ۸۳٪ در غیر موسینوس اتفاق افتاده است که بیشترین فراوانی را به خود اختصاص می‌دهد (۱۴). یافته‌های پژوهش نشان می‌دهد که همه ۱۲ بیماری که دارای جهش هستند، سرطان پیشین ندارند.

از مجموع ۱۲ بیمار دارای جهش، ۱۰ بیمار معادل ۸۳٫۳ درصد، تاریخچه پیشین خانوادگی ندارند و تنها ۲ نفر از بیماران مجموعاً معادل ۱۶٫۶ درصد، دارای تاریخچه خانوادگی برای سرطان کولورکتال هستند. در پژوهش آلسوپ (۲۰۰۶)، از ۶ بیماری که دارای جهش در کدون‌های ۱۲ و ۱۳، چهار مورد تاریخچه خانوادگی گزارش شده‌ای از سرطان کولورکتال نداشتند و دو نفر از آنها معادل ۳۳ درصد دارای تاریخچه خانوادگی سرطان کولورکتال بودند (۱۷) که بطور قابل توجهی از ۱۶٫۶ درصدی که ما بدست آوردیم بیشتر است.

جمع بندی

با توجه به فراوانی بالای سرطان کولورکتال در ایران و نقش بسیار مهم جهش های ژن K-ras در بدخیمی و پیشرفت این نوع سرطان، لازم بود تا میزان فراوانی جهش‌های این ژن را در جمعیتی از بیماران ایرانی سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار دهیم. با توجه به مشکلاتی که در تهیه نمونه‌های انسانی وجود دارد، قادر بودیم که تعداد نسبتاً محدودی نمونه تهیه نماییم. در این پژوهش بطور کلی از مجموع ۵۹ مشاهده ثبت شده، ۲۰٫۳٪ از موارد (۱۲ از ۵۹) دارای جهش بودند. برخی از پژوهش‌ها نتایجی مشابه داشتند. اما نتایج حاصل از برخی تحقیقات با نتایج این مطالعه همخوانی نداشت، که می‌تواند به علت تفاوت در ژنتیک جمعیتی دانست که مورد مطالعه قرار می‌گیرد. با توجه به تفاوت الگوهای جهش بین جمعیت ایرانی و سایر ملیت‌ها، ممکن است جهش در ژن K-ras در اگزون‌های دیگر آن وجود داشته باشد. تمامی تغییرات نوکلئوتیدی مشاهده شده در این کدون‌ها نیز قبلاً گزارش شده بودند، که بیشترین تغییر مشاهده شده در اینجا نیز تغییر آمینو اسیدی گلايسين به آسپارتیک اسيد در کدون ۱۲ ژن K-ras بوده است و اینکه از بین ۱۲ جهش مشاهده شده بیش از ۸۰ درصد موارد در کدون ۱۲ اتفاق افتاده و تنها ۲ مورد از مشاهدات مربوط به کدون ۱۳ می‌باشد. همانطور که در پژوهش مشابه مشاهده شد، رویداد این جهش در سنین بالا محتمل‌تر است و در این مطالعه نیز بیشترین جهش‌ها در سنین بالاتر از ۶۰ سال اتفاق افتادند. بیش از ۸۰ درصد جهش‌ها نیز در آدنوکارسینوماها اتفاق افتاده‌اند.

با بررسی‌هایی که صورت گرفت، اختلاف معناداری بین میانگین اندازه تومور در بین زنان و مردان بیمار مشاهده نشد ($p>0.05$). همچنین آنالیزهای آماری نشان داد که بین میانگین اندازه تومور در بیماران دارای ۵ نوع جهش اختلاف معناداری وجود ندارد ($p>0.05$).

از بین بیماران دارای جهش، تنها ۱۶٫۶ درصد (۲ از ۱۲) دارای پیشینه خانوادگی برای سرطان کولورکتال بودند. بنابراین تاریخچه پیشین خانوادگی نقش چندانی در رخداد جهش در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ به عنوان نقاط داغ جهش، ندارد.

References

1. Rayan BM, Lefort F, Mc Manus R, et al. A prospective study of circulating mutant KRAS2 in the serum of patients with colorectal neoplasia : strong prognostic indicator in post operative follow up. *Gat* 2003;52(1):101-8.
2. Michael S. Koproski, Floyd A, et al. Somatic mutation screening: identification of individuals harboring K-ras mutations with the use of plasma DNA. *J Natl cancer Inst* 2000;92(11):918-23.
3. Trevisiol C, Fabio FDi, Nascimbeni R, et al. Prognostic value of circulating KRAS2 gene mutations in colorectal cancer with distant metastases. *Int Biol Marker* 2006; 21(4):223-8.
4. Neuman J, Zeindil Eberhart E, Kirchner T, et al. Frequency and type of KRAS mutations in routine diagnostic analysis of metastatic colorectal cancer. *Pathol Res part* 2009;205(12):858-62.
5. Gimibel MI, Nash G, Ndubuisi M, et al. B-raf mutations are associated with increased mortality in colorectal cancer. *J Am collgesalgeons* 2004;199:92.
6. Rayan BM, Lefort F, Mc Manus R, et al. A prospective study of circulating mutant KRAS2 in the serum of patients with colorectal neoplasia : strong prognostic indicator in post operative follow up. *M61 path* 2003;56:172-9.
7. Andreyev HJN, Ross PJ, Cunningham D, et al. Antisense treatment directed against mutated k-ras in human colorectal adenocarcinoma. *Gat* 2001;48(2):230-7.
8. Ridley AJ, Hall A. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesion and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992;70:389-99.
9. Sameer AS, Chowdhri NA, Abdullah S, et al. Mutation pattern of K-ras gene in colorectal cancer patients of Kashmir. *Indian J cancer* 2009; 46(3):219-25.
10. Mikami M, Noshio K, Yamamoto H, et al. Mutational analysis of β -catenin and the RAS-RAF signaling pathway in early flat-type colorectal tumors. *Eur J cancer* 2006;42:3065-72.
11. Koproski MS, Benko FA, Borys DJ, et al. Somatic mutation screening: identification of individuals harboring K-ras mutations with the use of plasma DNA. 2000, 92(11):918-23.
12. Izawa I, Amano, M, Yamamoto T, et al. Possible involvement of the inactivation of the Rho-Rho-kinase pathway in oncogenic Ras-induced transformation. *Oncogene* 1998; 17:2863-71.
13. Kalikaki A, Koutsopoulos A, Trypaki M, et al. Comparison of EGFR and K-ras gene status between primary tumors and corresponding metastases in NSCLC . *BJC* 2008; 99:923-9.
14. Agrez MV, Coory M, Cock BJ. Population screening for colorectal carcinoma with fecal occult blood testing: Are we sufficiently informed? *Cancer* 1998;82(10):1803-7.
15. Burnt RW, Coloncancerscreening. *Gastroenterology* 2009;119(3):837-53.
16. Cuzick J, Otto F, Baron JA, et al. Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: an international consensus statement. *Lancet Oncol* 2009;10(5):501-7.
17. Lieberman DA. Clinical practice. Screening for colorectal cancer. *N Engl JMed* 2009;361(12):1179-87.
18. Cappell MS. Pathophysiology, clinical presentation, and management of colon cancer. *Gastroenterol Clin North Am.* 2008;37:1-24.