

بررسی عملکرد پروتئین‌های ترمیم‌کننده عدم تطابق ژنی در پولیپ‌های اسپورادیک کولورکتال

دکتر مهسا مولایی^{۱*}، دکتر مهدی یحیایزاده^۲، دکتر رضا مشایقی^۳، شهره الماسی^۳، دکتر سیدرضا قاطمی^۴، دکتر مامدرضا زالی^۵

۱. استادیار، گروه پاتولوژی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۲. دستیار داخلی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳. محقق، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۴. استادیار، فوق تخصص گوارش و کبد، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۵. استاد، فوق تخصص گوارش و کبد، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: بیشتر سرطانهای کولون از پولیپ‌های خوش خیم منشاء می‌گیرند. با پیشرفت آهسته و مرحله به مرحله بافت‌شناسی پولیپ‌های آدنوماتوز و آدنوم serrated به آدنوکارسینوم و سرطان بدخیم تبدیل می‌شوند. تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیک با مراحل خاصی از پیشرفت پولیپ به آدنوکارسینوم و نیز تغییرات بافت‌شناسی در سرطان کولون ارتباط دارد. در این مطالعه، با استفاده از رنگ‌آمیزی immunohistochemistry (IHC) در پولیپ‌های اسپورادیک کولون وضعیت عملکردی پروتئین‌های MSH2، MLH1، MSH6 و PMS2 بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی کلیه بیماران مبتلا به پولیپ اسپورادیک کولورکتال که در فاصله سالهای ۱۳۸۲ تا ۱۳۸۸ در بخش بیماریهای دستگاه گوارش و کبد بیمارستان طالقانی تهران تحت پولیپکتومی قرار گرفته‌اند، بررسی شده‌اند.

یافته‌ها: IHC برای MSH2، MLH1، MSH6 و PMS2 به ترتیب در ۶/۱۸٪، ۴/۱۵٪، ۳٪ و ۴/۱۸٪ موارد غیرطبیعی بود. در تمام موارد PMS2 غیرطبیعی، MLH1 نیز غیرطبیعی و در تمام موارد MSH6 غیرطبیعی، MSH2 نیز غیرطبیعی بود ($p < 0.001$). بین نتایج IHC با جنس، درجه دیسپلازی، نوع پولیپ آدنوماتوز و تهاجم آماری معنی‌داری وجود نداشت. اما بین نتایج IHC با محل پولیپ و سن بیماران ارتباط آماری معنی‌دار وجود داشت و نیز بین پولیپ‌های آدنوماتوز و آدنوم serrated از نظر نتیجه ایمونوراکتیویتی برای MLH1 و PMS2 اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: توصیه می‌شود رنگ‌آمیزی IHC تنها در پولیپ‌های آدنوم serrated بخصوص در سمت چپ کولون صورت پذیرد و در سایر موارد بخصوص در سمت راست کولون، انجام این آزمون در مدیریت بیماران احتمالاً کمک‌کننده نخواهد بود.

واژگان کلیدی: پولیپ اسپورادیک کولورکتال، پروتئین‌های ترمیم‌کننده عدم تطابق ژنی، پولیپ آدنوم serrated.

مقدمه

هیپرپلاستیک و آدنوم serrated به آدنوکارسینوم تبدیل می‌شوند. تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیک با مراحل خاصی از پیشرفت پولیپ به آدنوکارسینوم و نیز تغییرات بافت‌شناسی در سرطان کولون ارتباط دارد (۲).

سیستم ترمیم عدم تطابق ژنی (Mismatch repair=MMR) برای شناسایی و اصلاح اشتباهات ناشی از اضافه و حذف کردن بازها و عدم تطابق آنها در DNA در هنگام رونوشت و جفت شدن DNA ضروری است. همچنین این سیستم در ترمیم برخی از صدمات وارده به DNA نیز نقش دارد (۳). موتاسیون ژرم لاین در ژن‌های MMR سبب بروز ناپایداری

سرطان کولون سومین عامل ایجادکننده مرگ‌های مرتبط با سرطان در ایران است که از شیوع ۸ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر برخوردار است (۱). اکثر سرطانهای کولون از پولیپ‌های خوش خیم منشاء می‌گیرند و سپس با پیشرفت آهسته و مرحله به مرحله بافت‌شناسی پولیپ‌های آدنوماتوز

*نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر مهسا مولایی؛ تهران، اوین، بیمارستان طالقانی، طبقه هفتم، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد؛

پست الکترونیکی: m_molaei@sbmu.ac.ir

MSH2 (Calbiochen, Oncogene sciences, Clone: FE11, 1/100 dilution)
MSH6 (BD Transduction laboratories, Clone: 44, 1/1000 dilution)
PMS2 (BD Pharmingen, Clone: A 16-4, 1/500 dilution)

روی اسلایدها ریخته شد و به مدت ۹۰ دقیقه در محیط مرطوب و دمای اتاق انکوبه شدند. در بین کلیه مراحل، شستشو با بافر TBS (tris buffered saline) برای ۳ دقیقه انجام می‌گرفت و پس از پایان این مرحله نمونه‌ها با Envision (DAKO, REAL Envision) آغشته شدند. در مرحله آخر جهت نمایان کردن واکنش ایمنی از ۳ و ۲' دی‌آمینوبنزیلین (DAB) و سپس برای counterstaining از همتوکسیلین استفاده شد.

در نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده لنفوسیت‌های داخل مخاط و هسته سلول‌های استرومال به عنوان کنترل داخلی (internal control) استفاده شدند. همچنین رنگ‌پذیری هسته در تمامی سلول‌ها بعنوان رنگ‌آمیزی طبیعی در نظر گرفته شد. در صورتی که هسته سلول‌های تومورال فاقد رنگ بودند ولی سلول‌های کنترل زمینه رنگ‌پذیری مثبت نشان می‌دادند، آن نمونه غیرطبیعی و یا مثبت از نظر تست غربالگری IHC تلقی می‌شد.

اطلاعات به دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS (Version 16) تجزیه و تحلیل شد. جهت گزارش توصیفی از شاخصهای فراوانی، درصد فراوانی، میانگین و انحراف معیار و جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات، از آزمونهای t و کای دو، آزمون دقیق فیشر و ANOVA برحسب مورد استفاده شد. سطح معنی‌دار آماری برای P value کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مجموع ۴۰۰ نمونه پولیپ کولورکتال از ۴۰۰ بیمار مورد مطالعه بررسی شد. میانگین سنی (\pm انحراف معیار) بیماران ۶۰/۱۷ \pm ۱۴/۰۸ سال بود (۸۹-۱۵ سال). ۲۳۷ بیمار (۵۹/۲٪) مرد و ۱۶۳ بیمار (۴۰/۸٪) زن بودند. محل پولیپ در ۱۳۶ بیمار (۳۴/۱٪) در سمت راست کولون، ۲۰۱ مورد (۵۰/۴٪) در سمت چپ کولون و در ۶۲ مورد (۱۵/۵٪) در رکتوم بود. در ۳۸۵ مورد (۹۶/۲٪) پولیپ آدنوماتوز و در ۱۵ مورد (۳/۸٪) آدنوم serrated بود. در بین پولیپ‌های آدنوماتوز ۲۴۰ مورد (۶۲/۳٪) توبولار، ۱۱۴ مورد (۲۹/۶٪) توبولوویلوس و ۳۱ مورد (۸/۱٪) ویلوس بودند. از نظر درجه دیسپلازی در ۳۲۴ مورد (۸۱٪) پولیپ‌ها درجه پایین (low grade) و در ۷۶ مورد (۱۹٪) درجه بالا (high grade) بودند. در ۳۷۶ مورد (۹۴٪)

میکروساتلایت (MSI=microsatellite instability) می‌شود که آن هم نقش مهمی در انواع خاصی از سرطانهای کولورکتال، اندومتریوم، تخمدان، معده، روده باریک، پانکراس، دستگاه ادراری فوقانی و مغز دارد (۴-۶). ژن‌هایی که در سیستم MMR در انسان نقش اصلی را دارند شامل mutS (MSH2، MSH3 و MSH6) و mutL (MLH1، MLH3، PMS1 و PMS2) می‌باشند (۷).

از روشهای مورد استفاده در شناسایی وجود نقص در عملکرد پروتئین‌های MMR، رنگ‌آمیزی immunohistochemistry (IHC) است. در این مطالعه، در ۴۰۰ نمونه از پولیپ‌های اسپورادیک کولورکتال در بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان طالقانی در تهران وضعیت عملکردی پروتئین‌های MMR با استفاده از رنگ‌آمیزی IHC برای پروتئین‌های MLH1، MSH2، MSH6 و PMS2 بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی، کلیه بیماران مبتلا به پولیپ اسپورادیک کولورکتال که در فاصله سالهای ۱۳۸۲ تا ۱۳۸۸ در بخش اندوسکوپی بیمارستان طالقانی تهران تحت پولیپکتومی قرار گرفتند، بررسی شدند. اطلاعات مورد نیاز شامل سن، جنس، محل پولیپ، درجه (grade) دیسپلازی، نوع پولیپ و وجود تهاجم از بانک جمع‌آوری اطلاعات موجود در بخش پاتولوژی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهیه و تکمیل گردید. سپس نمونه‌های بلوک پارافینه شده بافتی و لام‌های مربوط به پاتولوژی بیماران از بایگانی بخش پاتولوژی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد تهیه و مورد رنگ‌آمیزی IHC و بررسی قرار گرفت. در طی این مطالعه کولون به سه ناحیه تقسیم شده است: ناحیه سمت راست کولون (شامل سکوم تا خم طحالی)، ناحیه سمت چپ کولون (شامل کولون عرضی تا سیگموئید) و ناحیه رکتوم (شامل رکتوم تا آنوس).

برای رنگ‌آمیزی IHC پس از برش، نمونه‌ها روی لام‌های آغشته به چسب پلی‌بیزین قرار گرفتند و پس از مراحل پارافین‌زدایی و آبدهی جهت احیاء آنتی‌ژن‌های بافتی (antigen retrieval) اسلایدها در داخل بافر EDTA با pH=۹ در مایکروویو به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفتند. پس از پایان این مرحله و سرد شدن اسلایدها جهت بلوک کردن پراکسیدازهای اندوژن بافتی، از آنتی‌پراکسیداز استفاده شد. در مرحله بعدی آنتی‌بادی‌های اولیه شامل:

MLH1 (BD Biosciences Pharmingen, clone: G168-15, 1/100 dilution)

جدول ۱- توزیع مبتلایان به پولیپ‌های اسپورادیک کولورکتال بر اساس شاخصهای دموگرافیک و بافت‌شناسی

متغیر	MLH1		MSH2		MSH6		PMS2		
	طبیعی	غیر طبیعی	طبیعی	غیر طبیعی	طبیعی	غیر طبیعی	طبیعی	غیر طبیعی	
جنس	مرد	۹۳/۷)۲۲۲ [†]	۶/۳)۱۵	۹۵/۴)۲۲۶	۴/۶)۱۱	۹۷)۲۳۰	۳)۷	۹۵/۸)۲۲۷	۴/۲)۱۰
زن	۹۲/۶)۱۵۱	۷/۴)۱۲	۹۵/۷)۱۵۶	۴/۳)۷	۹۶/۹)۱۵۸	۳/۱)۵	۹۴/۵)۱۵۴	۵/۵)۹	
p-value		۰/۶۹		۱		۱		۰/۶۳۴	
محل پولیپ	کولون راست	۸۷/۵)۱۱۹	۱۲/۵)۱۷	۹۱/۹)۱۲۵	۸/۱)۱۱	۹۴/۱)۱۲۹	۵/۹)۸	۹۱/۲)۱۲۴	۸/۸)۱۲
کولون چپ	۹۶)۱۹۳	۴)۸	۹۷/۵)۱۹۶	۲/۵)۵	۹۹)۱۹۹	۱)۲	۹۷)۱۹۵	۳)۶	
رکتوم	۹۶/۸)۶۰	۳/۲)۲	۹۶/۸)۶۰	۳/۲)۲	۹۶/۸)۶۰	۳/۲)۲	۹۸/۴)۶۱	۱/۶)۱	
p-value		۰/۰۰۵*		۰/۰۴۵*		۰/۰۳۶*		۰/۰۲۱*	
درجه دیسپلازی	low grade	۹۲/۳)۲۹۹	۷/۷)۲۵	۹۵/۴)۳۰۹	۴/۶)۱۵	۹۶/۹)۳۱۴	۳/۱)۱۰	۹۴/۸)۳۰۷	۵/۲)۱۷
high grade	۹۷/۴)۷۵	۲/۶)۲	۹۶/۱)۷۴	۳/۹)۳	۹۷/۴)۷۵	۲/۶)۲	۹۷/۴)۷۴	۲/۶)۲	
p-value		۰/۱۳۲		۱		۱		۰/۵۴۹	
نوع پولیپ	آدنوماتوز	۹۴/۳)۳۶۳	۵/۷)۲۲	۹۵/۶)۳۶۸	۴/۴)۱۷	۹۶/۹)۳۷۳	۳/۱)۱۲	۹۶/۱)۳۷۰	۳/۹)۱۵
آدنوم serrated	۶۶/۷)۱۰	۳۳/۳)۵	۹۳/۳)۱۴	۶/۷)۱	۱۰۰)۱۵	۰)۰	۷۳/۳)۱۱	۲۶/۷)۴	
p-value		۰/۰۰۲*		۰/۵۰۴		۱		۰/۰۰۴*	
نوع آدنوماتوز	توبولار	۹۳/۸)۲۲۵	۶/۲)۱۵	۹۵/۴)۲۲۹	۴/۶)۱۱	۹۶/۷)۲۳۲	۳/۳)۸	۹۶/۲)۲۳۱	۳/۸)۹
توبولوویلوس	۹۴/۷)۱۰۸	۵/۳)۶	۹۷/۴)۱۱۱	۲/۶)۳	۹۸/۲)۱۱۲	۱/۸)۲	۹۴/۷)۱۰۸	۵/۳)۶	
ویلوس	۹۶/۸)۳۰	۳/۲)۱	۹۰/۳)۲۸	۹/۷)۳	۹۳/۵)۲۹	۶/۵)۲	۱۰۰)۳۱	۰)۰	
p-value		۰/۷۶۸		۰/۲۳۳		۰/۳۹۱		۰/۳۹۹	
تهاجم	بدون تهاجم	۹۳/۱)۳۵۰	۶/۹)۲۶	۹۶)۳۶۱	۴)۱۵	۹۷/۳)۳۶۶	۲/۷)۱۰	۹۴/۹)۳۵۷	۵/۱)۱۹
با تهاجم	۹۵/۸)۲۳	۴/۲)۱	۸۷/۵)۲۱	۱۲/۵)۳	۹۱/۷)۲۲	۸/۳)۲	۱۰۰)۲۴	۰)۰	
p-value		۱		۰/۰۸۵		۰/۱۵۸		۰/۶۱۸	
سن	میانگین	۶۰/۴۸	۵۵/۹۳	۶۰/۵۱	۵۳/۱۷	۶۰/۴۴	۵۱/۵	۶۰/۴۶	۵۴/۴۷
انحراف معیار	۱۴/۲۹	۱۰/۱۶	۱۴/۱۸	۹/۷۸	۱۴/۱۳	۹/۲۷	۱۴/۲۲	۹/۴۶	
p-value		۰/۰۳۶*		۰/۰۰۶*		۰/۰۳*		۰/۰۱۶*	

* اختلاف بین دو گروه از نظر آماری معنی‌دار است. † اعداد داخل پرانتز معرف درصد هستند

جدول ۲- توزیع مبتلایان به پولیپ‌های اسپورادیک کولورکتال بر اساس شاخصهای دموگرافیک، بافت‌شناسی و محل پولیپ[†]

متغیر	کولون راست		کولون چپ		رکتوم		
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
جنس	مرد	۸۰	۵۸/۸	۱۲۱	۶۰/۲	۲۶	۵۸/۱
زن	۵۶	۴۱/۲	۸۰	۳۹/۸	۲۶	۴۱/۹	
درجه دیسپلازی	low grade	۱۱۹	۸۷/۵	۱۶۱	۸۰/۱	۴۳	۶۹/۴
high grade	۱۷	۱۲/۵	۴۰	۱۹/۹	۱۹	۳۰/۶	
نوع پولیپ	آدنوماتوز	۱۲۸	۹۴/۱	۱۹۴	۹۶/۵	۶۲	۱۰۰
آدنوم serrated	۸	۵/۹	۷	۳/۵	۰	۰	
نوع آدنوماتوز	توبولار	۹۴	۷۳/۴	۱۱۱	۵۷/۲	۳۵	۵۶/۵
توبولوویلوس	۲۹	۲۲/۷	۶۲	۳۲	۲۲	۳۵/۵	
ویلوس	۵	۳/۹	۲۱	۱۰/۸	۵	۸/۱	
تهاجم	بدون تهاجم	۱۳۳	۹۷/۸	۱۸۴	۹۱/۵	۵۸	۹۳/۵
با تهاجم	۳	۲/۲	۱۷	۸/۵	۴	۶/۵	
سن	میانگین ± انحراف معیار	۵۹/۱ ± ۱۳/۶		۶۱/۳ ± ۱۳/۸		۵۹/۱ ± ۱۵/۸	

† موارد برای ۳۹۹ نمونه محاسبه شده است. * اختلاف موجود بین گروهها از نظر آماری معنی‌دار است.

پولیپ‌ها تهاجم به نواحی مجاور وجود نداشت در حالی که در ۲۴ مورد (۶٪) تهاجم وجود داشت. نتایج IHC برای MLH1، MSH2، MSH6 و PMS2 به ترتیب در ۶۸٪ (۲۷)، ۴۵٪ (۱۸)، ۳٪ (۱۲) و ۴۸٪ (۱۹) موارد غیرطبیعی بود. در بررسی تحلیلی انجام شده در تمام موارد PMS2 غیرطبیعی، MLH1 نیز غیرطبیعی بوده است (p<۰/۰۰۱). همچنین در تمام موارد MSH6 غیرطبیعی، MSH2 نیز غیرطبیعی بود (p<۰/۰۰۱). بررسی‌های تحلیلی انجام شده متغیرها برحسب نتیجه IHC و محل تومور در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

بحث

در این مطالعه ۴۰۰ نمونه پولیپ از ۴۰۰ بیمار مبتلا به پولیپ اسپورادیک کولورکتال که در بیمارستان طالقانی تحت پولیپکتومی قرار گرفته و مشکوک به FAP (Familial Adenomatous Polyposis) و سایر بیماری‌های پولیپوز نبودند، مورد بررسی قرار گرفت. میانگین سنی بیماران ۶۰/۱۷ سال با طیف سنی ۸۹-۱۵ سال بود که ۵۹/۲٪ آنها مرد بودند. در مطالعه Balbinotti و همکارانش در برزیل نیز بطور مشابه میانگین سنی برابر ۶۰/۲ سال با طیف سنی ۹۰-۲۱ سال بود که ۵۵/۸٪ آنها مرد بودند (۸).

شایعترین محل پولیپ‌ها در مطالعه حاضر در سمت چپ و سپس در سمت راست کولون و بعد در رکتوم بود در حالی که در مطالعات دیگر نتایج متفاوتی گزارش شده است (۸-۱۰). با توجه به اینکه Nusko و همکارانش گزارش کرده‌اند که پولیپ‌های آدنوم اسپورادیک سمت چپ نسبت به سمت راست کولون خطر بیشتری برای تبدیل به بدخیمی دارند (۹، ۱۱)، انتظار می‌رود شیوع دیسپلازی درجه بالا در مطالعات انجام شده به نسبت شیوع پولیپ‌های سمت چپ کولون در آنها باشد. در واقع شیوع دیسپلازی درجه بالا در هر دو مطالعه (۴۰/۴٪، ۲۵٪) (۸، ۹) از مطالعه حاضر (۱۹٪) بیشتر بود که تأییدکننده گزارش Nusko است (۹، ۱۱).

همانند مطالعه Rijken (۹)، ۶۲/۲٪ پولیپ‌های آدنوماتوز بررسی شده در مطالعه حاضر توبولار بودند ولی در مطالعه Balbinotti (۸) شیوع پولیپ‌های توبولار بیشتر از ۸۰٪ بود. از سوی دیگر در مطالعه Percinel (۱۰) شیوع توبولار فقط ۱۹٪ بود. در این مطالعه شیوع پولیپ‌های serrated ۳/۸٪ بود که تقریباً دو برابر مقدار گزارش شده توسط Balbinotti (۸) است (۸). حال آنکه در گزارش Percinel شیوع

پولیپ‌های آدنوم serrated به مراتب بیشتر از مطالعه حاضر بود (۱۰٪) (۱۰).

نتایج غیرطبیعی IHC در مطالعه حاضر برای MSH2 و MLH1 (۶/۸٪ و ۴/۵٪) به مراتب کمتر از یافته‌های مطالعه Balbinotti بود (۲۰٪ و ۱۵/۵٪) (۸). در تمامی موارد بررسی شده هر جا PMS2 غیرطبیعی بود، MLH1 نیز غیرطبیعی و گزارش شد. این موضوع در خصوص MSH6 غیرطبیعی و MSH2 غیرطبیعی نیز صادق بود. این همبستگی به علت تشکیل هترودیمرهای mutLa و mutSa توسط این زوج پروتئین‌های MMR است (۷) که سبب شده محصولات ژنهای PMS2 و MSH6 بدون هترودیمرهایشان ناپایدار باشند (۱۲، ۱۳). از سوی دیگر وجود نقص در PMS2 و یا MSH6 به همراه بترتیب MLH1 و MSH2 می‌تواند نشانه وجود موتاسیون ارثی باشد و خانوادگی بودن بیماری را مطرح کند (۷) که در این صورت نیازمند بررسی سایر اعضا خانواده و انجام مشاوره ژنتیک و احتمالاً انجام آزمونهای غربالگری است. در مطالعه حاضر نیز همانند مطالعه Balbinotti (۸) بین نتایج IHC با جنس، درجه دیسپلازی، نوع پولیپ آدنوماتوز و تهاجم ارتباط آماری معنی‌داری وجود نداشت. اما در مطالعه حاضر برعکس مطالعه فوق (۸) بین نتایج IHC با محل پولیپ و سن بیماران ارتباط آماری معنی‌دار وجود داشت و نیز بین پولیپ‌های آدنوماتوز و آدنوم serrated از نظر نتیجه ایمونواکتیویته برای MLH1 و PMS2 اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت.

شیوع رنگ‌آمیزی غیرطبیعی IHC برای هر ۴ پروتئین MMR در پولیپ‌های سمت راست کولون به میزان قابل توجهی بیشتر از سمت چپ کولون و رکتوم بود. در مطالعات پیشین، شیوع رنگ‌آمیزی غیرطبیعی IHC و اختلال عملکرد MMR در پولیپ‌های سمت راست کولون در بیماران مبتلا به HNPCC بیشتر از سمت چپ کولون گزارش شده است و تئوری تبدیل سریع شده آدنوم به کارسینوم در بیماران مبتلا به HNPCC وابسته به محل پولیپ و محدود به سمت راست کولون است (۹)، اما در بیماران مبتلا به پولیپ‌های آدنوم اسپورادیک در سمت چپ کولون خطر بروز کارسینوم بیشتر است (۹، ۱۱) و علت این تناقض همچنان در پرده ابهام باقی مانده است (۹، ۱۴، ۱۵).

از سوی دیگر اختلال عملکرد ژن‌های MMR در مبتلایان به HNPCC احتمالاً شروع کننده پیشرفت بدخیمی در آدنوم‌ها نیستند اما در مراحل بسیار ابتدایی روند دیسپلازی بروز می‌کنند و به نظر می‌رسد پیش‌تاز پیشرفت ضایعات به سمت

کلیه موارد همراه با غیرطبیعی بودن MSH6 در پولیپ‌های آدنوماتوز بود. بروز اختلال عملکرد در پروتئین‌های MMR در بیماران مبتلا به HNPCC می‌تواند سبب بروز ضایعات (بخصوص ضایعات بدخیم) در سنین جوانتری شود که در مطالعه حاضر نیز علیرغم این که بیماران مبتلا به پولیپ اسپورادیک بودند، در کلیه موارد IHC غیرطبیعی برای هر ۴ پروتئین MMR بررسی شده میانگین سنی به مراتب کمتر از افراد دارای IHC طبیعی بوده است ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری

پولیپ‌های اسپورادیک در سمت چپ کولون با توجه به این که شیوع دیسپلازی درجه بالا و نوع ویلوس آدنوم در آنها بیشتر است، خطر بدخیمی بیشتری دارند. شیوع IHC غیرطبیعی MLH1 و PMS2 در پولیپ‌های آدنوم serrated به مراتب بیشتر از سایر پولیپ‌های آدنوماتوز بود. احتمالاً بروز نقایص عملکردی در MMR می‌تواند سبب بروز ضایعات پولیپی اسپورادیک در سنین جوانتر گردد و نیز خطر پیشرفت دیسپلازی از پولیپ‌های درجه پایین به درجه بالا و در نهایت آدنوکارسینوم تنها در آدنوم‌های serrated ممکن است وجود داشته باشد. توصیه می‌شود رنگ‌آمیزی IHC تنها در پولیپ‌های آدنوم serrated بخصوص در نیمه چپ کولون صورت پذیرد و در سایر موارد بخصوص در نیمه راست کولون، انجام این آزمون احتمالاً کمک‌کننده نخواهد بود.

دیسپلازی درجه بالا باشند (۹). با این حال در بیماران مطالعه حاضر علاوه بر اینکه بین دو گروه پولیپ‌های با دیسپلازی درجه بالا و پایین از نظر نتایج رنگ‌آمیزی IHC برای پروتئین‌های MMR اختلافات آماری معنی‌دار نبود و نیز علیرغم این که شیوع IHC غیرطبیعی برای MMR در سمت چپ کولون کمتر بود، شیوع موارد دیسپلازی درجه بالا در سمت چپ کولون بخصوص در رکتوم بیشتر بود، که این موضوع موید خطر بیشتر تبدیل به بدخیمی در پولیپ‌های اسپورادیک سمت چپ کولون است و نشان می‌دهد اختلال عملکرد ژن‌های MMR در بیماران مبتلا به پولیپ اسپورادیک برعکس پولیپ‌های ارثی (۹) نقشی در پیشرفت پولیپ‌های با دیسپلازی درجه پایین به درجه بالا ندارد.

نتایج عملکرد ژن‌های MMR (بخصوص MLH1 و MSH2) سبب ناپایداری میکروستلایت (MSI) می‌شود که با افزایش خطر بروز سرطان در زمینه MSI در سرطانهای اسپورادیک کولورکتال نسبت به پولیپ‌های آدنوم serrated ارتباط دارد (۱۶). در مطالعه حاضر، مشابه گزارشات دیگر، میزان بروز نقص در پروتئین MLH1 و PMS2 در پولیپ‌های آدنوم serrated به مراتب بیشتر از سایر پولیپ‌های آدنوماتوز بود ($p < 0.05$) که احتمالاً درصد قابل توجهی از آنها به علت متیلاسیون جزایر سیتوزین-فسفودی استر-گوانین CpG است (۱۲، ۱۹-۱۷). اما در این مطالعه بین شیوع نتیجه IHC برای MSH2 و MSH6 در پولیپ‌های آدنوماتوز و آدنوم serrated اختلاف آماری معنی‌دار به دست نیامد هر چند که

REFERENCES

1. Mousavi S, Gouya M, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N, Seddighi Z. Cancer incidence and mortality in Iran. *Ann Oncol*. 2009;20(3):556-63.
2. Petko Z, Ghiassi M, Shuber A, Gorham J, Smalley W, Washington MK, et al. Aberrantly methylated CDKN2A, MGMT, and MLH1 in colon polyps and in fecal DNA from patients with colorectal polyps. *Clin Cancer Res*. 2005;11(3):1203-9.
3. Iyer R, Pluciennik A, Burdett V, Modrich P. DNA mismatch repair: functions and mechanisms. *Chem Rev*. 2006;106(2):302-23.
4. Brooks-Wilson A, Kaurah P, Suriano G. Germline E-cadherin mutations in hereditary diffuse gastric cancer: assessment of 42 new families and review of genetic screening criteria. *J Med Genet*. 2004;41(7):508-17.
5. Pharoah P, Guilford P, Caldas C. International Gastric Cancer Linkage Consortium. Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. *Gastroenterology*. 2001;121:1348-53.
6. Lynch H, Grady W, Suriano G, Huntsman D. Gastric cancer: New genetic developments. *J Surg Oncol*. 2005;90:114-33.

7. Gill S, Lindor NM, Burgart LJ, Smalley R, Leontovich O, French AJ, et al. Isolated loss of PMS2 expression in colorectal cancers: frequency, patient age, and familial aggregation. *Clin Cancer Res.* 2005;11(18):6466-71.
8. Balbinotti RA, Ribeiro U, Sakai P, Safatle-Ribeiro AV, Balbinotti SS, Scapulatempo C, et al. hMLH1, hMSH2 and cyclooxygenase-2 (cox-2) in sporadic colorectal polyps. *Anticancer Res.* 2007;27:4465-71.
9. Rijcken FE, Hollema H, Kleibeuker JH. Proximal adenomas in hereditary non-polyposis colorectal cancer are prone to rapid malignant transformation. *Gut.* 2002;50(3):382-6.
10. Percinel S, Savas B, Ensari A, Kuzu I, Kuzu MA, Bektas M, et al. Mucins in the colorectal neoplastic spectrum with reference to conventional and serrated adenomas. *Turk J Gastroenterol.* 2007;18(4):230-8.
11. Nusko G, Mansmann U, Altendorf H. Risk of invasive carcinoma in colorectal adenomas assessed by size and site. *Int J Colorectal Dis.* 1997;12:267-71.
12. Sheridan TB, Fenton H, Lewin MR, Burkart AL, Iacobuzio-Donahue CA, Frankel WL, et al. Sessile serrated adenomas with low- and high-grade dysplasia and early carcinomas: an immunohistochemical study of serrated lesions "caught in the act". *Am J Clin Pathol.* 2006;126(4):564-71.
13. Young J, Barker M, Fraser L, Walsh M, Spring K, Biden K, et al. Mutation searching in colorectal cancer studies: experience with a denaturing high-pressure liquid chromatography system for exon-by-exon scanning of tumour suppressor genes. *Pathology.* 2002;34(6):529-33.
14. Chaves P, Cruz C, Lage P. Immunohistochemical detection of mismatch repair gene proteins as a useful tool for the identification of colorectal carcinoma with the mutator phenotype. *J Pathol.* 2000;191:355-60.
15. Marcus V, Madlensky L, Gryfe R. Immunohistochemistry for hMLH1 and hMSH2: a practical test for DNA mismatch repair-deficient tumors. *Am J Surg Pathol.* 1999;23:1248-55.
16. Ruschoff J, Aust D, Hartmann A. Colorectal serrated adenoma: diagnostic criteria and clinical implications. *Verh Dtsch Ges Pathol.* 2007;91:119-25.
17. Wynter C, Walsh M, Higuchi T. Methylation patterns define two types of hyperplastic polyp associated with colorectal cancer. *Gut.* 2004;53:573-80.
18. Torlakovic E, Skovlund E, Snover D. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:65-81.
19. Oh K, Redston M, RD RO. Support for hMLH1 and MGMT silencing as a mechanism of tumorigenesis in the hyperplastic adenoma- carcinoma (serrated) carcinogenic pathway in the colon. *Hum Pathol.* 2005;36:101-11.