

الله
البر الرحيم
بمن



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجهٔ دکترای تخصصی جراحی عمومی

عنوان:

بررسی میزان RNA سرمی ژن Stanniocalcin2 در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل در مراجعین به بیمارستان‌های فاطمی و امام خمینی (ره) اردبیل

اساتید راهنما:

دکتر امیراحمد عرب زاده

دکتر سید سعید حسینی اصل

اساتید مشاور:

دکتر ایرج فیضی

دکتر سعید صادقیه اهری

نگارش:

دکتر هوشنگ تیموری

بهار ۱۳۹۸

شماره پایان نامه: ۰۱۲۸

تقدیم به بی کران مهر و عطوفت مهدی موعود (عج) که یگانه شاهراه
عشق و عرفان جز امتداد نگاه او نیست.

مرا هزار امیدست و هر هزار تویی....

و تقدیم به ساحت مقدس شهدای مدافع حرم اهل بیت (ع)، که جلوه
عاشقی و مردانگی را به تصویر کشیدند...

و به شهید امین تیموری عزیز که عاشقانه ترین باده ارادت را در محضر
مولایش حسین (ع) سرمستانه سر کشید و با آمدنش کوچه پس
کوچه‌های شهرمان بوی عشق و شهادت گرفت ...

و تقدیم به روح پرفتوح پدر عزیزم...

سپاس و قدردانی

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و خوشه چینی از بوستان علم و معرفت را روزیمان نمود.

سپاسگزار کسانی هستیم که وجودشان برایم ترنم بهاری جاودانه است و مقدس ترین واژه‌ها در قاموس قلب و روحم هستند. مادر و همسر عزیزم که با قلبی آکنده از مهر، محیطی سرشار از امنیت و آرامش برایم فراهم نمودند و فرزندانم آروین و آرتین که زیباترین شکوفه‌های اهدایی خدا در بوستان زندگی هستند. بدون شک مقام و منزلت استاد اجل از آنست که در مقام قدردانی از زحمات بی شائبه ی او با زبان قاصر و دست ناتوان بتوانم چیزی بنگارم. اما بر خود وظیفه می‌دانم به رسم ادب از استاد راهنمای فرهیخته و فرزانه جناب آقای دکتر سعید حسینی اصل که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی روشنگر مسیرم بودند و ظلمت اندیشه ام را با راهنماییهای ارزشمندشان نوربخشیدند و همچنین اساتید بزرگوار جناب آقای دکتر امیراحمد عرب زاده ، جناب آقای دکتر ایرج فیضی و جناب آقای دکتر سعید صادقیه اهری که از هیچ کمکی بر من دریغ نکردند و ناهمواریهای راه را برایم هموار کردند تشکر و قدردانی نمایم.

چکیده

بررسی میزان RNA سرمی ژن Stanniocalcin2 در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل در مراجعین به بیمارستان‌های فاطمی و امام خمینی (ره) اردبیل سابقه و هدف: سرطان به ترتیب در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه اولین و دومین عامل مرگ می‌باشد. روش‌های تهاجمی میکروسکوپی و اندوسکوپی بطور روتین برای غربالگری سرطان معده مناسب نمی‌باشد، فلذا نیاز به بیومارکرهایی با توانایی تشخیص سریع، ساده و با حساسیت بالا در مراحل اولیه سرطان، به شدت احساس می‌شود. این پژوهش با هدف بررسی میزان RNA سرمی ژن Stanniocalcin2 در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل در مراجعین به بیمارستان‌های فاطمی و امام خمینی (ره) اردبیل انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد شاهدهی در طی سال‌های ۹۵ و ۹۶ در دانشگاه علوم پزشکی اردبیل انجام شد. نمونه‌های این مطالعه مربوط به ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان معده (مورد) و ۵۰ فرد سالم (شاهد) بودند. نمونه خون محیطی از بیماران مبتلا به سرطان معده و نیز افراد داوطلب به عنوان گروه شاهد در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری و بلافاصله تحت جداسازی سرم قرار گرفتند. پس از طی مراحل سانتریفوژ RNA سرمی استخراج و بعد از سنتز cDNA، با روش Taq Man و Real-time PCR و با استفاده از پرایمرها و پروب‌های اختصاصی، سطح RNA سرمی ژن STC2 اندازه‌گیری گردید. سپس نتایج ارزیابی‌های سرمی و اطلاعات کلینیکوپاتولوژیکی بیماران و گروه کنترل به‌مراه اطلاعات حاصل از بررسی پرونده‌های بیماران و یافته‌های دموگرافیک و جداول تنظیمی و نمودارهای مربوطه جمع‌آوری شد. برای آنالیز اطلاعات توصیفی از شاخص‌های مرکزی (میانگین، میانه) و شاخص‌های پراکندگی (انحراف معیار، واریانس) و نرم افزار SPSS 22 استفاده شد. بدلیل عدم توزیع نرمال داده‌ها از ضریب همبستگی اسپیرمن و از آزمون‌های u mann-whitay و kruskal wallis جهت تجزیه و تحلیل استفاده شد.

یافته‌ها: تحلیل داده‌ها نشان داد که شایع‌ترین محل آناتومیک کانسر، تنه معده بود. افزایش بیان STC2 در ۲۶ مورد از بیماران مبتلا به موارد سرطان معده و در ۸ مورد گروه شاهد مشاهده شد که ارتباط معنی‌داری بین بیان بالای ژن STC2 و ابتلا به کانسر گاستریک وجود داشت.

نتیجه گیری: بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر بین سن، جنس، تمایز تومور، محل آناتومیک سرطان معده، ساب تایپ‌های سرطان و افزایش بیان STC2 ارتباطی وجود نداشت اما ارتباط معنی داری بین فراوانی موارد با افزایش بیان STC2 و سن بالای ۶۵ سال و تقسیم بندی TNM کانسر وجود داشت.

واژگان کلیدی: سرطان معده؛ ژن Stanniocalcin؛ میکروRNA

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول طرح تحقیق

- ۱-۱ مقدمه و بیان مسئله ۲
- ۱-۲ تعریف واژه‌ها ۴
- ۱-۳ اهداف و فرضیات ۵
- ۱-۳-۱ هدف کلی ۵
- ۱-۳-۲ اهداف اختصاصی ۵
- ۱-۳-۳ فرضیات ۵
- ۱-۳-۴ هدف کاربردی ۵

فصل دوم پیشینه تحقیق

- ۲-۱ بیولوژی سرطان ۷
- ۲-۲ پروتوانکوژن‌ها ۸
- ۲-۳ مرگ برنامه ریزی شده سلول ۹
- ۲-۴ سلولهای بنیادی سرطان ۹
- ۲-۵ آدنوکارسینوم معده ۱۰
- ۲-۵-۱ میزان بروز و اپیدمیولوژی: ۱۰
- ۲-۵-۲ پاتولوژی: ۱۱
- ۲-۵-۳ اتیولوژی: ۱۲
- ۲-۵-۴ مورفولوژی: ۱۴
- ۲-۵-۵ تظاهرات بالینی ۱۵

۱۶ تشخیص ۲-۵-۶
۱۷ درمان ۲-۵-۷
۱۸Stanniocalcin ۲-۶
۱۹ ساختار ژنومی و لوکالیزاسیون کروموزومی STC1 و STC 2
۲۰ بیان mRNA و پروتئین ژن STC2
۲۰ نقش بیولوژیکی
۲۰ نقش STC 2 و STC1 در سرطان
۲۱ مطالعات انجام شده در جهان

فصل سوم شیوه اجرای تحقیق

۲۵ نوع مطالعه ۳-۱
۲۵ محیط پژوهش ۳-۲
۲۵ جمعیت مورد مطالعه و حجم نمونه ۳-۳
۲۵ روش گردآوری اطلاعات ۳-۴
۲۵ مواد لازم برای انجام تحقیق ۳-۵
۲۷ وسایل مورد نیاز: ۳-۶
۲۸ دستگاههای مورد استفاده برای انجام Quantitative RT-PCR ۳-۷
۲۸ روش کار تهیه آب فاقد RNase (DEPC – treated) ۳-۸
۲۸ مواردی که در کار با RNA در استخراج RNA رعایت گردیدند: ۳-۹
۳۰ واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) ۳-۱۰
۳۰ RT-PCR ۳-۱۱
۳۰ الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۳-۱۲

۳۱-۱۴ روش مورد استفاده برای تعیین کمیت:..... ۳۱

۳۲-۱۵ روش تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی آماری ۳۲

۳۲-۱۶ معیار ورود ۳۲

۳۳-۱۷ معیار خروج ۳۳

۳۳-۱۸ ملاحظات اخلاقی ۳۳

۳۴-۱۹ متغیرهای مطالعه ۳۴

فصل چهارم نتایج

۳۶-۱ نتایج ۳۶

فصل پنجم بحث و نتیجه گیری

۴۴-۱ بحث ۴۴

۴۷-۲ نتیجه گیری ۴۷

۴۸-۳ محدودیت‌ها ۴۸

۴۹-۳-۶- پیشنهادات ۴۹

۵۰- فهرست منابع ۵۰

۵۱- منابع ۵۱

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲ فاکتورهای خطر ساز کارسینوم معده (۱).....	۱۳
جدول ۲-۲ سیستم طبقه بندی برای کارسینوم معده (۲).....	۱۷
جدول ۴-۱: فراوانی جنسیت افراد مورد مطالعه.....	۳۶
جدول ۴-۲: توزیع فراوانی واحدهای مورد مطالعه بر حسب سن.....	۳۷
جدول ۴-۳: ارتباط جنسیت با بیان بالای STC2.....	۳۸
جدول ۴-۴: ارتباط سن با بیان بالای STC2.....	۳۸
جدول ۴-۵: توزیع فراوانی محل آناتومیک کانسر.....	۳۹
جدول ۴-۶: ارتباط فراوانی محل آناتومیک کانسر با بیان بالای STC2.....	۳۹
جدول ۴-۷: توزیع فراوانی ساب تایپ‌های کانسر.....	۴۰
جدول ۴-۸: ارتباط فراوانی ساب تایپ‌های کانسر با بیان بالای STC2.....	۴۰
جدول ۴-۹: توزیع فراوانی تمایز یافتن کانسر.....	۴۱
جدول ۴-۱۰: ارتباط فراوانی تمایز یافتن کانسر با بیان بالای STC2.....	۴۱
جدول ۴-۱۱: توزیع فراوانی درجه تمایز یافتن کانسر.....	۴۲
جدول ۴-۱۲: ارتباط فراوانی درجه تمایز کانسر با بیان بالای STC2.....	۴۲

فهرست نمودار

صفحه

عنوان

نمودار ۱-۴: توزیع فراوانی میزان بیان ژن **STC2**..... ۳۷

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۲ مکانیزم شیمیایی پروب TaqMan ۷۳

شکل ۲-۲ مراحل مختلف انجام Q-RT-PPCR ۷۴