

## بررسی ارتباط سیستم ترمیم نوترکیبی هومولوگ توسط مطالعه پلی مورفیسم در ژن *Xrcc3* با شروع و فعالیت متاستازی سرطان کولورکتال

دکتر مجید متولی باشی<sup>1\*</sup>، جعفر ملکی<sup>2</sup>، دکتر سیمین همی<sup>3</sup>، دکتر حسن کربکندي<sup>4</sup>

\* آدرس نویسنده مسئول: دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی،

بخش ژنتیک - تلفن همراه: 09133289133

Email:

[mbashi@sci.ui.ac.ir](mailto:mbashi@sci.ui.ac.ir)

<sup>1</sup> استادیار، بخش ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، ایران.

<sup>2</sup> کارشناسی ارشد ژنتیک مولکولی، ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، ایران.

<sup>3</sup> استادیار، گروه رادیوتراپی و انکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران.

<sup>4</sup> استادیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران.

### خلاصه:

**مقدمه:** سرطان کولورکتال، سومین سرطان منجر به مرگ در کشورهای غربی است. سن بالا، رژیم غذایی نامناسب، چاقی و بی تحرکی، تغییرات ژنتیکی از جمله فاکتورهای خطر این سرطان می باشد. بررسی ارتباط تغییرات ژنتیکی در سیستم

هاي ترميمي DNA با سرطان زمينه بسياري از تحقيقات اخير مي باشد و از جمله موارد پلي مورفيسم T241 M در ژن *Xrcc3* است .

**روش ها:** در اين مطالعه پس از جمع آوري نمونه هاي خون و استخراج DNA از آن ها، توزيع ژنوتيپي در محل پلي مورفيسم با روش مطالعه اي بيمار-کنترل و با استفاده از تکنیک RFLP-PCR مورد بررسي قرار گرفت. ارتباط پلي مورفيسم با شروع و متاستاز سرطان کولورکتال محاسبه گرديد.

**يافته ها:** نتيجه تحقيق حاضر نشان دهنده ارتباط پلي مورفيسم T241 M با سرطان کولورکتال مي باشد. همچنين سن بالا و سابقه فاميلي سرطان با ايجاد سرطان مرتبط بودند. مصرف سيگار هر چند ارتباطي با سرطان کولون نشان نداد ولي با سرطان رکتوم مرتبط بوده و از طرفي درصد بيشتري از متاستاز هاي رخ داده مربوط به رکتوم بودند.

**نتيجه گيري:** طبق يافته هاي مطالعه حاضر پلي مورفيسم T241 M در ژن *Xrcc3* از سيستم ترميم نوترکيبي هومولوگ مي تواند فاکتور مناسبي جهت تشخيص زود هنگام سرطان کولورکتال بالاخص رکتوم و ارتباط آن با استعمال دخانيات باشد.

**واژگان کلیدی:** سرطان کولورکتال، سيستم ترميم نوترکيبي هومولوگ، ژن *Xrcc3* ، RFLP-PCR

**Corelation of homologous recombination repair system by studying a SNP in *Xrcc3* gene with initiation and progression of colorectal cancer**

**Majid Motovali-Bashi<sup>1\*</sup>, Jafar Maleki<sup>2</sup>, Simin Hemmati<sup>3</sup>, Hasan Korbekandi<sup>4</sup>**

**\*Corresponding Author: Majid Motovali-Bashi, Email: [mbashi@sci.ui.ac.ir](mailto:mbashi@sci.ui.ac.ir)**

## **Abstract**

**Background:** Colorectal cancer is the third cancer which resulting death in western countries. Some of the risk factors recording to cancer are age, inadequate diet, obesity, inactivity, genetic changes. Corelation of genetic diversity in homologous recombination repair system with cancer is the recent subject of studies and one of them has been focused on T241M polymorphism in *Xrcc3* gene.

**Methods:** In this case-control study after collecting blood samples and extraction genomic DNA from them, genotype distribution of the polymorphism wase determined using RFLP-PCR method.

**Finding:** This study shows the corelation between T241M polymorphism with colorectal cancer. Age and family history of cancer were also corelated with this cancer. Although, there was no statistically relationship between smoking status and colon cancer, but it showed correlation with rectum cancer and it has been also observed that the most occurance of metastatic activity is in the rectum.

**Conclusion:** According to our study T241M polymorphism in *Xrcc3* gene from homologous recombination repair systm could be a suitable factor for early diagnosis of colorectal cancer especially rectum and its co-operation with smoking status.

**Key words:** Colorectal cancer, homologous recombination repair system, *Xrcc3* gene, RFLP-PCR

<sup>1</sup> Assitant professor, Genetics division, Biology department, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

<sup>2</sup> MSc of molecular genetics, Genetics division, Biology department, Faculty of Science, University of Isfahan, Iran.

<sup>3</sup> Assistant professor, Oncology and radiotherapy Department, Medicine school, Isfahan University of medical Sciences, Isfahan, Iran.

<sup>4</sup> Assistant professor, Department of genetics and molecular biology, Medicine school, Isfahan University of medical Sciences, Isfahan, Iran.

سرطان کولورکتال<sup>1</sup>، ایجاد سرطان در ناحیه کولون، رکتوم و زائده آپاندیس است. با مرگ و میر بالغ بر 65500 نفر در سال، این سرطان از نظر فراوانی چهارمین سرطان در ایالات متحده و سومین سرطان منجر به مرگ در کشورهای غربی است (1). سرطان کولورکتال سومین سرطان شایع در مردان و چهارمین سرطان شایع در زنان ایرانی می باشد. بر طبق تحقیقات صورت گرفته، شمار تقریبی افراد جدید مبتلا به سرطان کولورکتال در ایران در هر سال حدود 3641 نفر می باشد که سالیانه در حدود 2262 نفر از آن ها در اثر ابتلا به این سرطان جان خود را از دست می دهند که در برگیرنده 6/3 درصد کل مرگ و میر ناشی از سرطان در ایران می باشد (2). سن بالا، رژیم غذایی غنی از چربی و دارای کمبود در فیبر، مصرف بالای الکل، چاقی و بی تحرکی، قرار گیری در معرض پرتوها و مصرف سیگار از جمله فاکتور های خطر<sup>2</sup> ایجاد سرطان کولورکتال است (3). در مقابل مصرف زیاد فیبر و سبزیجات در رژیم غذایی خصوصاً زمانی که همراه با انجام دادن فعالیت های بدنی و ورزش باشد به نظر می رسد که خطر بیماری را کاهش می دهد (4، 5 و 6). شیوع بالای این سرطان در مجموع بیشتر در کشورهای مشاهد شده است که دارای رژیم غذایی مشابه کشورهای غربی هستند که شامل غذاهای پرکالری غنی از چربی های جانوری، گوشت قرمز زیاد به همراه فعالیت بدنی کم و مصرف کم سبزیجات است (7). رژیم غذایی غنی از چربی و دارای میزان کم فیبرهای غذایی به همراه میزان کم فعالیت بدنی سبب طولانی شدن زمان انتقال مواد در روده می شود و این مورد خودش باعث می شود که مدت زمانی که سلول های اپیتلیال کولون و رکتوم در معرض اثر ترکیبات جهش زا قرار گیرند افزایش پیدا کند (8). نشانه های اصلی وجود بیماری سرطان کولورکتال، ایجاد تغییراتی در عادت ها و رفتارهای گوارشی، اختلال در عملکرد گوارشی و مشاهده خونریزی در مدفوع می باشد. اگر تومور در بخش رکتوم از لوله گوارش وجود داشته باشد، به دلیل وجود رنگ قرمز خون تازه در مدفوع، مانند حالتی که در بیماری بواسیر مدفوع بسیار تیره رنگ وجود دارد، در رنگ مدفوع تغییر رنگ ایجاد می شود. تغییرات ایجاد شده در رفتارهای لوله گوارش می تواند شامل انواعی از تغییرات از جمله تعداد دفعات مدفوع کردن و یا تغییر در زمان و طولانی تر شدن عمل دفع مدفوع باشد. اسهال، یبوست، افزایش میزان نفخ و باد شکم از دیگر نشانه های این بیماری می تواند باشد. سایر نشانه ها از جمله درد در ناحیه شکم، کم خونی و کاهش وزن می تواند نشانگر گسترش بیماری و فرم پیشرفته تومور باشد (9). بیماری ابتدا به صورت پولیپ های آدنومای<sup>3</sup> خوش خیم<sup>4</sup> شروع می شود که می تواند به یک آدنومای پیشرفته با درجه دیسپلازی<sup>5</sup> بالا، و سپس به شکل تهاجمی سرطان تکامل یابد (10). این سرطان می تواند به گره های لنفی، کبد، ریه، پرده صفاق، تخمدان ها و مغز گسترش و متاستاز<sup>6</sup> داشته باشد (9). سرطان های تهاجمی که محدود به درون دیواره کولون هستند (گره های متاستازی تومور، stage I و stage II)، قابل درمان هستند، اما اگر درمان نشوند، همان طور که در شکل 1 مشاهده می شود، آنها به

- 
- 1 . Colorectal cancer
  - 2 . Risk factor
  - 3 . Adenomatous polyp
  - 4 . Benign
  - 5 . Dysplasia
  - 6 . Metastasis

گره های لنفی انتشار می یابند ( stageIII ) و سپس به محل های دورتر متاستاز می یابند ( 11 و 12 ). تومورهای stageI و stageII توسط برداشتن آن با عمل جراحی قابل درمان هستند، و بالغ بر 73% از موارد stageIII بیماری توسط عمل جراحی همراه با مصرف داروهای کمکی شیمی درمانی قابل درمان هستند ( 11 ، 13 و 14 ). پیشرفت های اخیر در شیمی درمانی سبب بهبود شانس بقای بیماران گشته است، اما بیماری در مرحله stageIV معمولاً غیر قابل درمان است ( 11 و 14 ). تشخیص افراد بیمار مبتلا به کارسینوما<sup>1</sup> کولورکتال، وابسته به Stage بیماری در هنگام تشخیص بیماری است. عمق تهاجم سلول های سرطانی به دیواره لوله گوارش، و حضور آن ها در گره های لنفی و متاستاز آن ها به فواصل دورتر، فاکتورهای مهمی در تشخیص بیماری هستند. تشخیص بیماری، قبل از گسترش و متاستاز سلول های بدخیم به خارج لوله گوارش و قبل از متاستاز آن ها به گره های لنفی، یک تشخیص مناسب به شمار می رود و وسعت منطقه جراحی شونده را محدود تر می کند ( 15 و 16 ). در حدود 50 درصد از بیماران که سرطان کولون به تازگی در آن ها تشخیص داده شده اغلب بیماران هستند که بیماری آن ها در StageI و StageII می باشد، مراقبت از آن ها تنها شامل انجام عمل جراحی است و شامل حذف قطعه ای از لوله گوارش است که تومور در آن واقع شده است (17). سرطان کولورکتال در نتیجه تجمع پیشرونده تغییرات ژنتیک و اپی ژنتیک می باشد که منجر به تغییر اپیتلیوم طبیعی کولون به آدنوما و سرانجام از آدنوما به کارسینوما می شود ( 18 و 19 ). حداقل دو مسیر عمده وجود دارد که می تواند رخداد های مولکولی منجر به سرطان کولورکتال را سبب شود. در حدود 85% از نمونه های سرطان کولورکتال به خاطر رخداد هایی که نتیجه در ایجاد ناپایداری کروموزومی و در نتیجه آنیوپلوئیدی و غیر فعال شدن زود هنگام ژن APC<sup>2</sup> به همان شکلی که در FAP<sup>3</sup> رخ می دهد می باشد و حدود 15% باقیمانده در اثر رویداد هایی است که سبب ایجاد ناپایداری میکروساتلایت ها می گردد و سبب نقص در عملکرد ژن های ترمیم عدم تطابق<sup>4</sup> می شود، همان گونه که در HNPCC<sup>5</sup> دیده می شود ( 19 ، 20 و 21 ). بر طبق بعضی از تحقیقات، برخی از ژن های با نفوذ پایین به صورت ترکیب با گروهی از فاکتورهای رژیم غذایی و یا سبک زندگی در بوجود آوردن سرطان کولورکتال مشارکت دارند ( 22 و 23 ). ارتباط برخی از پلی مورفیسم ها در ژن های با نفوذ پایین با سرطان از جمله با سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از این ژن ها، ژن Xrcc3<sup>6</sup>، ژن شرکت کننده در مسیر ترمیم نوترکیبی هومولوگ است (24). XRCC3 یک پروتئین ضروری برای پایداری کروموزومی و ایجاد مقاومت سلولی در برابر پرتوها و برخی از عوامل شیمیایی است. به جز اهمیت احتمالی آن در ترمیم شکست های دو رشته ای DNA از طریق مسیر ترمیم نوترکیبی هومولوگ، دانسته های کمی درباره خصوصیات بیوشیمیایی و نیز عملکرد ویژه آن وجود دارد ( 25 و 26 ). اصلی ترین پلی مورفیسم در این ژن، جایابی باز آلی تیمین ( T ) به جای سیتوزین ( C )، شامل تغییر اسید آمینه

1 . Carcinoma

2 . Adenomatous polyposis coli

3 . Familial adenomatous polyposis

4 . Mismatch repair

5 . Hereditary non polyposis colorectal cancer

6 . X – ray repair complementing defective repair in chinese hamster cells 3

ترئونین به اسید آمینه متیونین در کدون 241 در اگزون 7 می باشد (27 و 28). در سالیان اخیر، تحقیقاتی در مورد ارتباط این پلی مورفیسم با سرطان های مختلف از جمله سرطان کولورکتال صورت گرفته است. در تحقیق حاضر نیز در یک مطالعه بیمار-کنترل، ارتباط این پلی مورفیسم با ایجاد، متاستاز سرطان کولورکتال و میانکنش آن با سایر عوامل، نظیر: سن، جنسیت و مصرف سیگار در بیماران مبتلا به کولورکتال در بیمارستان سیدالشهداء اصفهان، مورد بررسی قرار گرفته است.

## روش ها :

نمونه های خون 90 نفر بیمار، از بخش مردان و زنان سرطانی بیمارستان سید الشهداء اصفهان و افراد مبتلا به سرطان کولورکتال جمع آوری گردید. 83 نفر فرد سالم نیز به نحوی انتخاب شدند که توزیع سن آن ها تا حدودی با افراد مبتلا به سرطان کولورکتال مطابقت داشته باشد. جهت استخراج DNA از خون تام حاوی مواد ضد انعقاد خون، از روش نمکی میلر با مقداری دستکاری و تغییرات استفاده گردید (29). برای بررسی و تکثیر قطعه حاوی پلی مورفیسم T 241 M در ژن *Xrcc3*، یک جفت پرایمر با استفاده از سایت NCBI و موتورهای جستجوگر بنحوی طراحی شد که قطعه ای از DNA به طول 503 جفت باز در اطراف محل پلی مورفیسم، در فرآیند PCR<sup>1</sup> تکثیر گردد. تصویر باند تکثیر شده و مورد الکتروفورز قرار گرفته در شکل 2 نشان داده شده است. جهت تعیین ژنوتیپ افراد کنترل و بیمار، از تکنیک RFLP-PCR<sup>2</sup> استفاده شد و محصولات PCR تحت تاثیر هضم آنزیمی، با آنزیم محدود کننده *NlaIII*<sup>3</sup> قرار گرفتند. جایگاه شناسایی و برش این آنزیم یک توالی 4 نوکلئوتیدی (5'-CATG-3') است که در محل پلی مورفیسم مورد بررسی در این تحقیق، افرادی که دارای ال T هستند، این جایگاه شناسایی و برش انجام می گیرد. در حالی که در افراد واجد ال C جایگاه شناسایی وجود نداشته و بنابراین برش انجام نمی پذیرد. بنا براین با توجه به انجام برش آنزیمی در تنها یکی از ال های پلی مورفیسم می توان به راحتی ژنوتیپ فرد مورد مطالعه را مشخص نمود. همچنین برای بررسی فاکتورهای دیگر و میانکنش آن ها با این پلی مورفیسم، اطلاعات مربوطه از طریق پرسش نامه ارائه شده به بیماران و نیز با استفاده از پرونده پزشکی آن ها گردآوری شد. افراد مبتلا به سرطان کولورکتال و افراد گروه کنترل در این تحقیق در یک محدوده سنی نزدیک به هم انتخاب شدند که میانگین سنی گروه شاهد 53/32 سال و میانگین سنی افراد بیمار 53/16 سال بود که بیان گر سن بالا به عنوان یکی از مهمترین فاکتور های خطر برای همه سرطان ها، از جمله سرطان کولورکتال می باشد. برای انجام آنالیز آماری نتایج به دست آمده در این تحقیق از آزمون  $\chi^2$ ، برای بررسی کردن تفاوت موجود بین گروه های بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و افراد سالم از نظر توزیع ژنوتیپی استفاده شد. در تمامی این محاسبات سطح احتمال  $P < 0/05$ ، از نظر آماری معنی دار فرض شده است.

1 . Polymerase chain reaction

2 . Restriction fragment length polymorphism

3 . Restriction enzyme

## یافته ها :

پس از تعیین ژنوتیپ افراد بیمار و گروه کنترل توزیع ژنوتیپی هر سه نوع ژنوتیپ در بیماران و گروه کنترل با هم مقایسه شد که نتایج نشان دهنده تفاوت معنی دار بین دو گروه در توزیع ژنوتیپ های مختلف بود. از 90 نفر فرد بیمار تعداد افرادی دارای ژنوتیپ های T ، CT و CC به ترتیب 10، 45 و 35 نفر بود در حالی که تعداد افراد کنترل دارای این 3 نوع ژنوتیپ به ترتیب 21، 37 و 25 نفر بود. در نگاه اجمالی مشاهده شد که تعداد افرادی که یک و یا 2 ال C داشتند، در افراد بیمار بیشتر از افراد سالم بود. سپس در بررسی دقیق تر وقتی که توزیع ژنوتیپی دو ژنوتیپ CC و TT در بیماران و گروه کنترل با هم مقایسه شد، (  $P = 0/018$  ) ، و بنابراین دارا بودن ژنوتیپ CC نسبت به TT خطر ابتلا به سرطان کولورکتال را سه برابر می کند. همچنین وقتی ژنوتیپ CT با TT در دو گروه مقایسه شد نتایج آماری (  $P = 0/009 - 1/083$  ) CI 95%  $OR = 2/554$  با  $P = 0/032$  بدست آمد که نشان دهنده این بود که دارا بودن حتی یک ال C خطر ابتلا به بیماری را بیش از 2/5 برابر می کند. تنها 6 نفر از 83 فرد کنترل سابقه ابتلا به سرطان در یکی از بستگان نزدیک خود را داشتند، در حالی که 38 نفر از 90 بیمار دارای سابقه فامیلی ابتلا به سرطان بودند که  $OR = 9/378$  ، نشان دهنده این است که داشتن سابقه فامیلی، خطر ابتلا به سرطان کولورکتال را بیش از 9 برابر می کند. از بین 83 نفر گروه کنترل، 11 نفر سابقه استعمال سیگار داشتند در حالی که در بین 90 نفر گروه بیماران 21 نفر سابقه مصرف سیگار داشتند. علیرغم بیش تر بودن فراوانی افراد سیگاری در بیماران و افزایش تقریباً 2 برابری خطر بیماری (  $OR = 1/992$  ) با مصرف سیگار، اما تفاوت بین دو گروه از نظر آماری معنی دار نبود (  $P = 0/088$  ). اما نکته جالب توجه در بررسی ارتباط مصرف سیگار با این سرطان وقتی مشاهده شد که افراد دارای سرطان در بخش کولون و افراد دارای سرطان در بخش رکتوم به طور جداگانه بررسی شدند. تنها 3 نفر از 21 فرد بیمار سیگاری مبتلا به سرطان کولون بودند و 18 نفر از آن ها سرطان رکتوم داشتند که نشان دهنده این است که علیرغم عدم ارتباط سرطان کولون با مصرف سیگار، خطر ابتلا به سرطان رکتوم در افرادی که سیگار مصرف می کنند تقریباً سه برابر افراد دیگر است (  $OR = 2/945$  ). بنابراین نتایج نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در مصرف یا عدم مصرف دخانیات و خطر ابتلا به سرطان رکتوم می باشد (  $P = 0/010$  ). 50 نفر از بیماران مرد و 40 نفر زن بودند و در گروه کنترل نیز 54 نفر مرد و 29 نفر زن بودند که از نظر جنسیتی تفاوت معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد (  $P = 0/202$  ). در بین 90 نفر بیمار در 9 نفر یعنی در 10 % از آن ها ، متاستاز تومور به بافت های دیگر رخ داده بود که 7 نفر از آن ها جزء کسانی بودند که سرطان در ناحیه رکتوم داشتند و تنها 2 نفر سرطان اولیه در کولون داشتند که بیان گر احتمال

وقوع متاستاز بیش از 2 برابر سرطان رکتوم در مقایسه با سرطان کولون می باشد. همچنین 6 نفر از 9 نفر دارای ژنوتیپ CC و 3 نفر دارای ژنوتیپ TT بودند، که با توجه به توزیع ژنوتیپی بیماران، و کمتر بودن ژنوتیپ TT در مقایسه با CC، تفاوت معنی داری بین این دو ژنوتیپ از نظر افزایش خطر بیماری مشاهده نشد ( $P = 0/835$ ).

### بحث:

نتایج تحقیق حاضر گویای ارتباط ال ترئونین (ال C) از پلی مورفیسم Met Thr 241 با ایجاد سرطان کولورکتال، و افزایش خطر ابتلا به میزان تقریبی 3 برابر برای افراد با ژنوتیپ CC و بیش از 2/5 برابر برای افراد واجد ژنوتیپ CT می باشد، هرچند بین متاستاز تومور با این پلی مورفیسم ارتباط معنی داری مشاهده نگردید. علیرغم اینکه بین مصرف سیگار و سرطان در ناحیه کولون ارتباط معنی داری وجود نداشت، در مقابل مصرف سیگار خطر ابتلا به سرطان در ناحیه رکتوم را حدوداً تا میزان 3 برابر افزایش می دهد. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که بین جنسیت بیماران با ایجاد و متاستاز سرطان کولورکتال ارتباط چندانی وجود ندارد. اما بررسی سابقه فامیلی، این عامل را به عنوان یک ریسک فاکتور اصلی برای ایجاد سرطان کولورکتال معرفی می کند به طوری که وجود فرد مبتلا به سرطان در بین بستگان نزدیک خطر ابتلا به بیماری را تا بیش از 9 برابر افزایش می دهد. بررسی و نتایج قطعی این تحقیق نیازمند ارزیابی آن در جمعیت‌های بسیار بزرگتر می باشد و در تحقیقات آینده باید ارتباط عوامل مهم دیگری نیز مانند رژیم غذایی، عادت به مواد و داروهای خاص، فاکتورهای محیطی و همچنین میانکنش بین ژن های مختلف دخیل در ایجاد این بیماری با ژن *Xrcc3* مورد توجه پژوهش گران قرارگیرد.

### تشکر و قدردانی:

از معاونت های محترم پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان و دانشکده ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بخاطر حمایت هایشان در راستای اجرای تحقیق حاضر، بیمارستان سید الشهداء اصفهان بخاطر در اختیار قرار دادن اطلاعات پزشکی و نمونه خون بیماران و همچنین سازمان انتقال خون اصفهان بابت نمونه خون افراد سالم و کنترل تشکر و قدردانی می گردد.

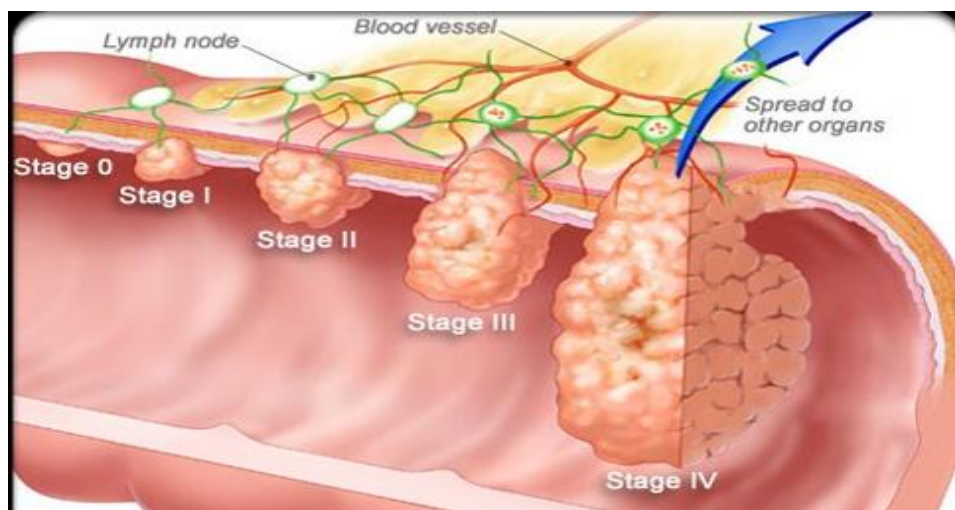
### References:

1. Markowitz, S. D., Bertagnolli, M. M. Molecular basis of colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2009. 361 (25): 2449- 60.
2. Malekzadeh, R., Bishehsari, F., Mahdavinia, M. and Ansari, R. Epidemiology and Molecular Genetics of Colorectal Cancer in Iran: A Review . *Arch Iranian Med* 2009; 12 (2): 161 – 169.
3. Kinzler, K.W. and Vogelstein, B. The genetic basis of human cancer. 2nded. New York: McGraw-Hill, 2002:583-612.

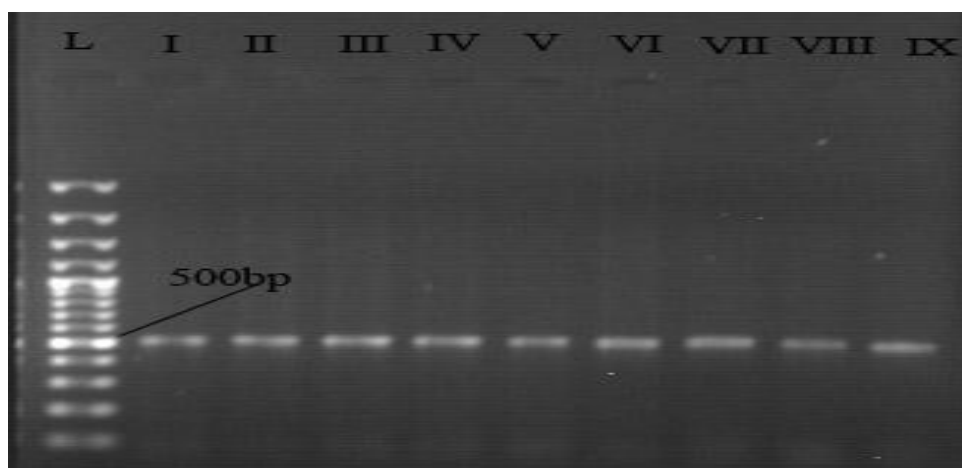


4. Steineck, G., Hagman, U., Gerhardsson, M. and Norell, S.E. Vitamin A supplements, fried foods, fat and urothelial cancer. A case-referent study in Stockholm in 1985-87. *Int J Cancer* 1990; 45(6):1006-1011.
5. Kune, G.A., Kune, S. and Watson, L.F. Body weight and physical activity as predictors of colorectal cancer risk. *Nutr Cancer* 1990; 13(1-2):9-17.
6. Klurfeld, D.M. Dietary fiber-mediated mechanisms in carcinogenesis. *Cancer. Res.* 1992; 52(7):2055-2059.
7. Thiravud, K. and Petcharin, S. Colon and Rectum Cancer in Thailand: An Overview . *J Clinical Oncol.* 2008 . 38 (4 ) , 237-243.
8. Fuchs, C.S., Giovannucci, E.L., Colditz, G.A., Hunter, D.J., Stampfer, M.J., Rosner, B., Speizer, F.E. and Willett, W.C. Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med* 1999; 340(3):169-76.
9. Blomqvist, L., Holm, T., Rubio, C. and Hindmarsh, T. Rectal tumours--MR imaging with endorectal and/or phasedarray coils, and histopathological staging on giant sections . A comparative study. *Acta Radiol* 1997; 38(3):437-44.
10. Weitz, J., Koch, M., Debus, J., Hohler, T., Galle, P.R. and Buchler, M.W. Colorectal cancer. *Lancet oncol.* 2005 . 365(9454): 153-165.
11. Libutti, S.K., Saltz, L. B. and Tepper J. E. Colon cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, eds. DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer. principles and practice of oncology. 2008 . Vol. 1. ,1232- 84.
12. Markowitz, S. D., Dawson, D. M., Willis, J. and Willson, J. K. Focus on colon cancer. *Cancer Cell* . 2002 . 1,233-6.
13. Compton, C., Hawk, E.T., Grochow, L., Lee, F., Ritter, M. and Niederhuber, J.E. Colon cancer. In: Abeloff MD, Armitage J, Niederhuber JE, Kastan MB, McKenna GW, eds. Abeloff's clinical oncology. 2008 ,1477-534.
14. Andre, T., Boni, C., Mounedji-Boudiaf, L., Navarro , M.,Tabernero, J., Hichish , T., *et al.* Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer *N Engl J Med* 2004;350:2343-51.
15. Gazelle, G.S., Gaa, J., Saini, S. and Shellito, P. Staging of colon carcinoma using water enema CT. *J Comput Assist Tomogr*; 1995. 19:87–91.
16. Balthazar, E.J., Megibow, A.J., Hulnick, D. and Naidich, D.P. Carcinoma of the colon: detection and preoperative staging by CT. *AJR Am J Roentgenol* 1988; 150:301–306.
17. Heald, R.J., Moran, B.J., Ryall, R.D., Sexton, R. and MacFarlane, J.K. Rectal cancer : the Basingstoke experience of total mesorectal excision, 1978-1997. *Arch Surg.* 1998; 133(8):894-9.

18. Fearon, E.R. and Vogelstein, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* . 1990 .61 (5), 759-67.
19. Lengauer, C., Kinzler, K.W. and Vogelstein, B. Genetic instabilities in human cancers . *Nature* . 1998 . 396 (6712): 643-9 .
20. Kinzler, K.W. and Vogelstein, B. Landscaping the cancer terrain. *Science* . 1998 . 280 (5366), 1036-7.
21. Lindblom, A. Different mechanisms in the tumorigenesis of proximal and distal colon cancers. *Curr Opin Oncol*. 2001. 13 (1): 63-9.
22. De Jong, M.M. , Nolte, I.M. , Te Meerman, G.J. , Van der , G. W. T. , De Vries , E.G. ,Sijmons , R.H. , et al . Low-penetrance genes and their involvement in colorectal cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002 ; 11 ( 11 ):1332-52 .
23. Houlston, R.S. and Tomlinson, I.P. Polymorphisms and colorectal tumor risk . *Gastroenterol*. 2001 . 121 ( 2 ), 282-301.
24. Stoecklacher, J., Park, D. J., Zhang, W., Yang, D., Groshen, S., Zahedy , S. and Lenz ,H. J., *et al* . A multivariate analysis of genomic polymorphisms: prediction of clinical outcome to 5-FU/oxaliplatin combination chemotherapy in refractory colorectal cancer. *Br. J. Cancer*. 2004. 91, 344–354.
25. Liu, N., Lamerdin, J. E., Tebbs, R. S., Schild, D., Tucker, J. D., Shen, M. R., *et al* . XRCC2 and XRCC3, new human Rad51-family members, promote chromosome stability and protect against DNA cross-links and other damages. *Mol. Cell*. 1998 . 1,783-793.
26. Takata, M., Sasaki, M. S., Tachiiri, S., Fukushima, T., Sonoda, E., Schild, D., Thompson, L. H., and Takeda, S. Chromosome instability and defectiv recombinational repair in knockout mutants of the five Rad51 paralogs . *Mol. Cell. Biol*. 2001. 21, 2858-2866 .
27. Ladiges, W., Wiley, J. and MacAuley, A. Polymorphisms in the DNA repair gene *XRCC1* and age-related disease. *Mech. Ageing Dev*. 2003 . 124, 27-32.
28. Au, W. W., Salama, S. A. and Sierra-Torres, C. H. Functional characterization of polymorphisms in DNA repair genes using cytogenetic challenge assays. *Environ Health Persp* 2003;1: 1843–50.
29. Gustincich , S ., Manfioletti , G . M ., Sal , G . D . and Claudio, S . A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood . *Biotechniques* . 1991 . 11(3) , 298-302.



شکل 1 : مراحل ایجاد و گسترش سرطان کولورکتال. همان طور که در شکل نشان داده شده است با گسترش سرطان و در Stage IV، با ورود سلول های سرطانی به خون، مهاجرت و فعالیت متاستازی، گسترش سرطان به سایر بافت ها و اندام ها رخ می دهد (10).



شکل 2 : ژل آگارز الکتروفورز از محصولات PCR. این شکل نشان دهنده 9 بانده حدود 503 bp تکثیر شده توسط پرایمر های رفت و برگشت از 9 نمونه DNA ژنومی انتخاب شده بطور تصادفی از افراد کنترل و بیماری باشد. نمونه های I تا V افراد بیمار، نمونه های VI تا IX افراد کنترل می باشند. L : DNA مارکر 100 bp. ژل آگارز 1% و شرایط الکتروفورز تحت ولتاژ ثابت 65 ولت به مدت 1 ساعت و 30 دقیقه می باشد.