



بسمه تعالی
جمهوری اسلامی ایران
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان گلستان
معاونت تحقیقات و فناوری

پیشنهاد طرح پژوهشی
(Research Proposal)

عنوان طرح:

ارتباط جهش ژن P53 با خصوصیات پاتولوژیک و بقای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال مراجعه کنندگان به مرکز آموزشی درمانی ۵ آذر گرگان طی سالهای ۱۳۸۵-۱۳۹۰

نام و نام خانوادگی طرح دهندگان^۱: دکتر رامین آذرهوش - دکتر هوشنگ پورخانی
دانشکده / مرکز تحقیقاتی

واحد توسعه تحقیقات بالینی / EDC / هسته پژوهشی معاونت
هسته پژوهشی شهرستان:

کمیته تحقیقات دانشجویی:استاد راهنما.....
طرح بصورت مشترک بااست.....

طرح پایان نامه^۲ مقطع رشته با راهنمایی استاد..... می باشد.

تاریخ پیشنهاد:..... کد طرح (تکمیل توسط کارشناس معاونت):.....

^۱ فرد یا افرادی هستند که پیش نویس طرح را تهیه نموده و در اجرای تحقیق مشارکت دارند. بر این اساس و در این نوشتار عبارات مجریان یا مجریان اصلی و طرح دهندگان معادل یکدیگر هستند.

^۲ اگر طرح پایان نامه دانشجویی از سایر دانشگاهها است لازم است نام اساتید راهنما و دانشگاه محل تحصیل ذکر گردد.



قسمت اول - توضیح نکات لازم و ضروری

۱. دستورالعمل اجرایی فرآیند تصویب طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی گلستان و اصلاحیه آن از وبگاه معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه قابل دسترسی است (www.goums.ac.ir).
۲. کلیه طرح‌هایی که به تصویب شورای پژوهشی دانشگاه و کمیته منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های پزشکی می‌رسد، بر اساس قراردادی که بین معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه و مجری طرح منعقد می‌شود قابل اجرا خواهد بود. بنابراین دانشگاه هیچگونه مسئولیتی در برابر فعالیت‌های قبل از تصویب طرح و آنچه که خارج از محدوده قرارداد منعقد انجام پذیرفته ندارد.
۳. طرح‌دهندگان ملزم به رعایت کلیه ضوابط و قوانین مندرج در دستورالعمل اجرایی فرآیند تصویب طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی گلستان و اصلاحیه آن می‌باشند. لذا پیشنهاد می‌گردد تا مجریان و طرح‌دهندگان محترم جهت آگاهی از مفاد آیین نامه مذکور به وبگاه فوق، معاونین پژوهشی دانشکده‌ها - مراکز تحقیقاتی و یا واحدهای مرتبط مراجعه نمایند.
۴. چنانچه انجام طرح پژوهشی در مرحله‌ای از پیشرفت آن اعم از اینکه به نتیجه نهایی رسیده یا نرسیده باشد، منجر به کشف یا اختراع و یا تحصیل حقوقی شود، مجری طرف قرارداد موظف است مراتب را کتباً به معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه اطلاع دهد. تمامی حقوق مادی و معنوی که در اثر اجرای طرح تحقیقاتی ایجاد گردیده است متعلق به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گلستان است.
۵. طرح‌دهندگان ملزم به ذکر حمایت مالی دانشگاه در اجرای طرح در کلیه انتشارات نتایج حاصل از طرح می‌باشند.
۶. کلیه تجهیزات و لوازم غیرمصرفی که از محل اعتبار طرح تهیه شده است، پس از اتمام اجرای طرح متعلق به معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه بوده و هرگونه دخل و تصرفی در آنها منوط به کسب مجوزهای قانونی است.
۷. این فرم باید به زبان فارسی تایپ شده و فاقد هرگونه ابهامی باشد. کلیه قسمتهای فرم باید به نحو مناسب تکمیل شده و طرح‌دهنده باید به کلیه نکات و تذکرات متن فرم توجه کامل داشته باشند تا هیچ موردی بی‌جواب و بدون علامت و توضیح نباشد.
۸. هنگام ارائه این فرم تکمیل صفحه خلاصه مشخصات طرح الزامی است.
۹. هنگام ارائه این فرم جدول همکاران اصلی طرح (بند ۱۲) باید تکمیل شده و به امضا و تایید فرد مورد اشاره رسیده باشد.
۱۰. در صورتیکه ملاحظات اخلاقی برای اجرای طرح وجود دارد لازم است طرح‌دهنده توضیح کاملی در باره این نکات ارائه نموده و نمونه‌ای از رضایت‌نامه مورد استفاده برای طرح را ضمیمه نماید.
۱۱. در صورتیکه محدودیتهایی برای اجرای طرح تصور میشود لازم است طرح‌دهنده به این محدودیتها اشاره نموده و توضیح کاملی برای مقابله با این محدودیتها ارائه نماید.
۱۲. زمان شروع طرح، بعد از تصویب آن در شورای پژوهشی و کمیته منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های پزشکی و عقد قرارداد توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه می‌باشد (برای کارآزمایی‌های بالینی ثبت در IRCT قبل از عقد قرارداد الزامی است). بدیهی است آغاز طرح قبل از عقد قرارداد هیچگونه وجهات قانونی ندارد.
۱۳. دریافت گزارش‌های علمی و اجرایی پیشرفت طرح با توجه به جدول گانت طرح مصوب صورت می‌پذیرد. براین اساس لازم است طرح‌دهنده در جدول مذکور زمان ارائه گزارش‌های پیشرفت طرح و محتوای پیش‌بینی شده گزارش خود را مشخص نماید.
۱۴. هزینه‌های کارمندی (پرسنلی) با توجه به حجم فعالیت (در نظر گرفتن ساعات کار برای افراد شاغل در طرح) و جدول زمان بندی اجرای طرح و پیوست شماره یک (که فعلاً مد نظر دانشگاه قرار دارد) تکمیل میشود.
۱۵. هرگونه نقص یا اشتباهی در محاسبه هزینه‌های پیشنهاد طرح پژوهشی که در تصمیمات متخذه دخالت داشته باشد به عهده مجری است و دانشگاه تعهدی در خصوص تامین کسری موارد اشتباه شده ندارد.
۱۶. مسئولیت تهیه وسایل و تجهیزات ایمنی و یا اقدام برای بیمه مورد نیاز در طول اجرای طرح بر عهده مجری بوده و معاونت فاقد هرگونه مسئولیت و پاسخگویی به شخصیت‌های حقیقی و حقوقی می‌باشد. در صورت نیاز به بیمه مسئولیت، حوادث و ... مبالغ موردنیاز در جدول "هزینه‌های دیگر" گنجانده شود.
۱۷. در صورتیکه تمام یا بخشی از طرح پیشنهادی بصورت همزمان بعنوان پایان نامه تحصیلی دانشگاه‌های غیردولتی و یا دانشگاه آزاد اسلامی باشد، مجری یا موسسه ذیربط موظف به تامین ۴۰ درصد از اعتبار مورد نیاز اجرای طرح می‌باشد. اجرای این طرح پس از عقد تفاهم‌نامه با موسسه ذیربط قابلیت اجرا دارد. مسئولیت اعلام این موضوع به عهده مجری/مجریان می‌باشد.
۱۸. نکات ارائه شده در بخشهای مختلف فرم پیشنهاد طرح پژوهشی راهنمای مناسبی برای تکمیل هرچه بهتر این فرم می‌باشد.



قسمت دوم - خلاصه مشخصات طرح

عنوان طرح:

ارتباط جهش ژن P53 با خصوصیات پاتولوژیک و بقای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال مراجعه کنندگان به مرکز آموزشی درمانی ۵ آذر گرگان طی سالهای ۱۳۹۰-۱۳۸۵

مجری / مجریان طرح: دکتر رامین آذرهوش - دکتر هوشنگ پورخانی

دانشکده / مرکز تحقیقاتی / هسته پژوهشی معاونت / هسته پژوهشی شهرستان:

EDC / کمیته تحقیقات دانشجویی:

واحد حمایت از توسعه تحقیقات بالینی

مدت اجرای طرح: ۹ ماه

مکان اجرای پژوهش: واحد حمایت از توسعه تحقیقات بالینی

خلاصه ضرورت اجرا و اهداف کاربردی طرح (حداکثر ۲۵۰ کلمه):

مطالعات اخیر افزایش سریع بروز CRC در ایران را نشان می دهد. پیشرفت سرطان کولورکتال بزرگ پیچیده، تدریجی و فرآیندی چند مرحله ای است؛ که در آن بسیاری از عوامل مشخص شده نقش دارند. سرطان کولورکتال تومور بدخیمی است که هر دو عامل ژنتیک و فاکتورهای محیطی نقش مهمی در ایجاد آن دارند. ارتباط بین مواد سرطان زای محیطی و جهش های ژن TP53 یا بیان زیاد آن را نشان می دهد که ژن TP53 ممکن است هدف ژنتیکی از مواد سرطان زای محیطی باشد. طیف های مختلف جهش در ژن TP53 در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ در میان جمعیت های مختلف مشاهده شده است که ممکن است به دلیل در معرض قرار گرفتن با مواد جهش زا و یا فرآیندهای بیولوژیکی باشد. هدف از این مطالعه بررسی رفتار سرطان های کولورکتال و ارتباط آن با جهش های ژن TP53 می باشد.

خلاصه روش اجرای طرح (حداکثر ۱۰۰ کلمه):

این مطالعه بصورت توصیفی تحلیلی - کوهورت (گذشته نگر) می باشد. جامعه مورد مطالعه، بافت های سرطانی کولورکتال می باشند. ۹۳ نمونه بافت پارافینه از بیمارستان ۵ آذر گرگان و آزمایشگاه گلستان در سالهای ۱۳۹۰-۱۳۸۵ جمع آوری می شوند. از متد ایمنوهیستوشیمی (IHC) برای تعیین جهش ژن P53 در بافت های سرطانی کولورکتال انجام می شود در نهایت نتایج و اطلاعات حاصل از این مشاهدات و مطالعات وارد رایانه گردیده و توسط نرم افزار آماری SPSS-16 و آزمونهای آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار خواهند گرفت.

کلمات کلیدی (۳ تا ۵ کلمه): خصوصیات سرطان کولورکتال - P53 - جهش ژن P53 - بقا

خلاصه هزینه ها:

هزینه پرسنلی	۱۱۴۷۰۰۰۰ ریال	هزینه مسافرت	۰ ریال
هزینه آزمایشها و خدمات تخصصی	۳۳۲۰۰۰۰ ریال	هزینه های دیگر	۱۰۰۰۰۰۰ ریال
هزینه مواد و وسایل مصرفی	۰ ریال	هزینه مواد و وسایل غیر مصرفی	۰ ریال
		جمع کل	۴۵۶۷۰۰۰۰ ریال



قسمت سوم - اطلاعات مربوط به عوامل اجرایی طرح

توجه: چنانچه طرح دهنده بیش از یک نفر باشد لازم است هر کدام از ایشان بطور جداگانه این قسمت (بند ۱ تا ۱۰) را تکمیل نمایند.

۱. نام و نام خانوادگی طرح دهنده: دکتر رامین آذر هوش
۲. رتبه علمی: متخصص پاتولوژی (عضو هیئت علمی)
۳. محل خدمت: مرکز آموزشی درمانی ۵ آذر گرگان
۴. نشانی محل خدمت: بیمارستان پنجم آذر - آزمایشگاه پاتولوژی
۵. تلفن محل خدمت: ۳۲۲۲۰۵۶۱
تلفن همراه: ۰۹۱۱۱۷۱۷۹۳۵
۶. نشانی پست الکترونیک: raminazarhoush@yahoo.com
۷. در صورتیکه طرح دهنده دارای سمتهای اجرایی در داخل یا خارج محیط دانشگاه است جدول زیر را تکمیل نماید.

عنوان سمت	نشانی محل کار	تاریخ شروع فعالیت در این سمت	تلفن محل کار

۸. درجات علمی و سوابق تحصیلی طرح دهنده به ترتیب از لیسانس به بعد ذکر گردد

درجه تحصیلی	رشته تحصیلی و تخصصی	دانشگاه یا محل تحصیل	کشور	سال دریافت
پزشک عمومی	پزشک عمومی	تهران	ایران	۱۳۶۹
دکترای تخصصی	پاتولوژی بالینی - جراحی	تهران	ایران	۱۳۷۳

۹. لیست پژوهش های در دست اجرا که مجری/مجریان طرح پیشنهادی در آن مشارکت دارد:

عنوان طرح	نام مجری	نوع مشارکت (مجری یا همکار)	زمان شروع	درصد پیشرفت کار	ملاحظات
بررسی میزان آلودگی باکتریال دست کارکنان و عوامل مرتبط با آن در مرکز آموزشی درمانی ۵ آذر سال ۹۳	دکتر رامین آذر هوش	مجری	مهر ۹۳	۴۰٪	
بررسی میزان تومورهای ریوی در مراجعین به مرکز آموزشی درمانی ۵ آذر گرگان سال ۸۵-۹۰	دکتر نعمیمی	همکار طرح	مهر ۹۳	۴۰٪	



۱۰. لیست مقالات چاپ شده توسط مجری/مجریان که مرتبط با موضوع طرح پژوهشی می باشد:

عنوان مقاله	نام نویسنده اول	سایر نویسندگان	مشخصات مجله (نام مجله، تاریخ چاپ و)

۱۱. مشخصات مشاورین علمی و همکاران طرح که دارای حقوق نویسندگی (authorship) می باشند:

ردیف	نام و نام خانوادگی	شغل و محل کار	درجه علمی	نوع همکاری (دقیق نوشته شود)	امضای همکار ^۱
۱	نفسه نجفی	کارشناس ارشد ژنتیک	کارشناس ارشد	طراحی و هماهنگی اجرا و جمع آوری داده ها تنظیم و تکمیل پرسشنامه بیماران	
۲	خاتون حیدری	کارشناس ارشد میکروب	کارشناس ارشد	انجام آزمایشات	
۳	سهیلا صمدزاده	کارشناس پژوهش-تحقیقات بالینی	کارشناس	ورود اطلاعات	
۴	محمد آریایی	عضو هیئت علمی	کارشناس ارشد آمار و اپیدمیولوژی	تجزیه و تحلیل آمار	

۱۲. مشخصات همکاران اجرایی طرح که دارای حقوق نویسندگی (authorship) نمی باشند:

ردیف	نام و نام خانوادگی	شغل و محل کار	درجه علمی	نوع همکاری (دقیق نوشته شود)
۱				
۲				

^۱ فرمهای فاقد امضای مشاورین علمی و همکاران طرح قابل طرح و بررسی در شورای پژوهشی نمی باشند.



قسمت چهارم - اطلاعات مربوط به طرح پژوهشی پیشنهادی

۱. عنوان طرح به فارسی:

ارتباط جهش ژن P53 با خصوصیات پاتولوژیک و بقای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال مراجعه کنندگان به مرکز آموزشی درمانی ۵ آذر گرگان طی سالهای ۱۳۸۵-۱۳۹۰

2. English Title of Proposal:

Expression of p53 gene and pathologic characteristics and survival in colorectal carcinoma in patients referred to 5th Azar Hospital in Gorgan during 2007-2012

۳. نوع طرح (بر اساس کاربرد نتایج طرح):

☐ بنیادی^۱ ☒ کاربردی^۲ ☐ بنیادی-کاربردی ☐ HSR^۳

۴. بیان مسئله و ضرورت اجرای طرح در برگیرنده بخش های زیر:

سرطان در نتیجه تقسیم غیرقابل کنترل سلول ها به وجود می آید که در اثر عوامل محیطی و اختلال های ژنتیکی به وجود می آید. چهار دسته از ژن های کلیدی که در هدایت یاخته های سرطانی نقش دارند، شامل ژن های توده زا (آنکوژن ها) ، ژن های مهار کننده توموری، ژن های ترمیم کننده و ژن های مرگ، برنامه ریزی شده هستند. چنانچه یک جهش ژنتیکی در آنها تولید شود، یاخته های طبیعی از مسیر خود خارج می شوند و تحت تاثیر جریان های جدید قرار می گیرند که به سوی یاخته های سرطانی پیشرفت می کنند.

محققین مراحل تولید سرطان ها را تعیین کرده که چندین ژن موتاسیون دار در آن دخالت دارند. این تغییرات ژنتیکی باعث از هم گسیخته شدن نظم طبیعی تقسیم و تمایز سلول ها می شود. اختلالات ژنتیکی از طریق وراثتی و غیر وراثتی موجب تحولات جدیدی در کنترل رشد سلولی می شود. چهار گروه از ژن ها که به طور مکرر ناهنجاری پیدا می کنند نقش به سزایی در تولید سرطان بازی می کنند: ۱- آنکوژن ها که ازدیاد فعالیت آنها باعث رشد غیرقابل کنترل سلول ها می شود، ۲- ژن های مهار کننده تومور، ۳- ژن های ترمیم کننده DNA ، ۴- ژن های آپوپتوتیک در سلول های سوماتیک بدن انسان میلیون ها ژن وجود دارد. در حدود ۹۳ درصد سرطان ها نتیجه تاثیرات عوامل محیطی است و فقط ۷ درصد آنها جنبه وراثتی دارد. به کمک پیشرفت های تکنولوژی در بیوانفورماتیک و تکنیک های مولکولی، اطلاعات زیادی به دست آمده که در شناخت زودرس بیماری سرطان کمک خواهد کرد و همچنین غربالگری به موقع برای بعضی از سرطان ها کمک موثری در تشخیص زودرس و پیش آگهی بیماران می نماید. اثرات داروها را روی بیماری های سرطان می توان مدیریت و حتی عوارض جانبی آنها را پیش بینی کرد. در سال های اخیر مطالعات ژنتیک مولکولی اساس مکانیسم تولید سرطان ها را توجیه کرده است.

^۱ طرح بنیادی طرحی است که دارای نتایج بالقوه بوده و نتایج حاصل از انجام آن بلا فاصله پس از اتمام طرح قابل استفاده نباشد.

^۲ طرح کاربردی طرحی است که دارای نتایج بالفعل بوده و نتایج حاصل از انجام آن بلا فاصله پس از اتمام طرح قابل استفاده باشد.

^۳ Health System Research تحقیقاتی را شامل می شود که در قالب طرحهای جامعه نگر ارائه میشوند.



سرطان کولورکتال شایعترین سرطان در میان بدخیمی های دستگاه گوارش و چهارمین دلیل منجر به مرگ در جهان است. (۳) این نوع سرطان بسته به جایی که شروع می شود ، می تواند به طور جداگانه سرطان کولون یا سرطان رکتال نامیده شود. سرطان کولون و رکتوم دارای ویژگی های مشترک بسیاری هستند. (۱) پیشرفت سرطان روده بزرگ پیچیده، تدریجی و فرآیندی چند مرحله ای است؛ که در آن بسیاری از عوامل مشخص شده، نقش دارند. (۲) CRC از لایه مخاطی و از اپیتلیوم سطحی شروع می شود و می تواند در ادامه رشد خود تمام لایه های دیگر کولون را درگیر نماید. (۱) تغییرات مولکولی و بافت شناسی در مقالات شرح داده شده اند، اما به خوبی درک نشده اند. (۲) مطالعات اخیر افزایش سریع بروز CRC در ایران را نشان می دهد (آزاده و همکاران ۲۰۰۸). سرطان روده بزرگ، سومین سرطان شایع در مردان و زنان کشور است و به طور کلی، خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ در این کشور حدود ۱ در ۲۰ است. (۱) تحقیقات نشان داده که CRC چهارمین علت شایع سرطان بعد از معده، مری و ریه در مردان و پنجمین سرطان شایع بعد از پستان ، مری، خون و معده در زنان در منطقه استان گلستان است. (۴) همانند بسیاری از تومورهای بدخیم دو عامل ژنتیک و فاکتورهای محیطی نقش مهمی در ایجاد سرطان کولورکتال دارند. افزایش حساسیت جهش زایی در بیماران مبتلا به CRC گزارش شده است، قدان ژن های مهار کننده توموری باعث تقسیم غیرقابل کنترل سلول های سرطانی می شود. ژن مهار کننده P53 روی کروموزوم ۱۷ P13.1 قرار دارد. طول این ژن ۲۰۰۰۰ bps است که پروتئین به طول ۳۹۳ اسید آمینه می سازد. ژن P53 که در سال ۱۹۹۳ به نام مولکول سال و ژن نگهبان شناخته شد به طور طبیعی تقسیم و رشد سلول را تحت نظر کامل دارد. هنگامی که این ژن موتاسیون پیدا می کند باعث تولید یک پروتئین غیرمعمولی می شود که نه فقط به اعمال طبیعی خود جامه عمل نمی پوشاند بلکه همه ژن هایی که تحت فرمانده این پروتئین انجام وظیفه می کردند طغیان خواهند کرد و یک سری از روابط مولکولی و بیولوژیکی تقسیم سلولی از مسیر طبیعی خود خارج می شود و سلول به سوی سرطانی شدن پیشروی می کند. روی این اصل موتاسیون ژن P53 در بیش از ۶۰ درصد بافت های سرطانی دیده می شود. بیش از ۳۵ نوع ژن های مهار کننده تا به حال شناسایی و گزارش شده اند.

وظایف پروتئین P53 در حال طبیعی تنظیم تقسیم سلول ها - خودکشی سلول ها، مسن شدن سلول ها، عروق سازی، تمایز یافتن سلول ها و متابولیسم DNA است. بیش از ۲۶۰۰۰ موتاسیون ژنتیکی در ژن P53 گزارش شده است. بیشتر این موتاسیون ها در ناحیه DNA-binding اتفاق می افتد که باعث می شود ژن های تحت کنترل P53 نتوانند نسخه برداری نمایند. همکاری پروتئین P53 با دو پروتئین CDK1-P2 و CDC2 ، سلول های سرطانی را در مراحل G1 و G2 تقسیم سلولی نگه می دارد. پروتئین P53 هم مهار کننده و هم ارتقا دهنده سلول های سرطانی است. پروتئین P53 پس از صدمات ژن های دیگر به DNA متصل می شود و باعث تحریک ژن WAF1 می گردد. این ژن، پروتئین P21 را می سازد و به پروتئین CDK2 می چسبد و اجازه ورود P21 به مرحله بعدی تقسیم سلولی را نمی دهد. پروتئین P53 یک ترکیبی از شبکه حوادث مولکولی است که در تولید سلول های سرطانی نقش مهمی را بازی می کند. پروتئین P53 فعال از طرف ترمینال N از دو طریق فسفوریلاسیون می شود. از طریق MAPK پروتئین و از طریق ATM و ATR و LHK پروتئین. وقتی که P53 فسفوریلاسیون می شود خاصیت چسبیدن به MDM2 را از دست می دهد. پروتئین pint باعث تغییر شکل در ساختمان P53 می شود و به عدم اتصال P53 به MDM2 کمک می نماید. وقتی که ژن P53 فاقد ضربات محیطی است ، مقدار P53 پایین می رود. پروتئین MDM2 به P53 می چسبد و از عملش جلوگیری می کند و آن را به سیتوپلاسم سلول انتقال می دهد. عمل ضرر سرطان P53 از سه مسیر انجام پذیر است : ۱- پروتئین P53 باعث تحریک پروتئین های ترمیم کننده DNAr می شوند که به صدمات زده شده به ژن ها رسیدگی شود. ۲- پروتئین P53 باعث تحریک مرگ برنامه ریزی شده می شود (وقتی که سلول های صدمه دیده غیرقابل بازسازی باشند). ۳- پروتئین P53 تقسیم سلولی را در مرحله G1/s نگه می دارد تا فرصتی برای تعمیر باشد. در هر مرحله یک ژن معینی (آنکوژن یا آنتی آنکوژن یا ژن ترمیم کننده) می تواند موتاسیون پیدا کند تا این سلول ها سرطانی شوند (۳و۲). اگر سرطان ها در مراحل اول تشخیص داده شوند به طور کامل قابل معالجه هستند و اگر در مراحل دوم تشخیص داده شوند در حدود ۷۰ درصد شانس معالجه دارند و اگر در مراحل سوم تشخیص داده شوند در حدود ۳۰ درصد شانس بهبودی دارند و اگر سرطان



تشخیص داده شود در مرحله چهارم بوده که به طور حتم به بافت های دیگر گسترده شده است، شانس معالجه و بهبودی در حدود ۵ درصد است که ۵ سال ادامه حیات داشته باشد. از چند طریق این بیماران معالجه می شوند. جراحی، شیمی درمانی، پرتودرمانی، ایمنودرمانی و ژن درمانی که همان پیوند مغز استخوان است. همه این روش های درمانی عوارض جانبی خود را روی دیگر بافت های سالم بدن دارد. بسیاری از عوامل محیطی که تولید سرطان می کنند قابل جلوگیری هستند مانند سیگار کشیدن، مشروبات الکلی، هوای آلوده، رژیم غذایی ناسالم، عدم تحرک و بیماری های عفونی در صورتی که ازدیاد سن و ژنتیک خانوادگی قابل تغییر و جلوگیری نیست. تحقیقات در سرطان شناسی امروزه به ما کمک کرده است که نه فقط عملکرد بیماری سرطان را بهتر بفهمیم، بلکه بهترین راه حل معالجه این بیماران را فراهم سازیم

علاوه بر این، ارتباط بین مواد سرطان زای محیطی و جهش های ژن TP53 یا بیان زیاد آن در سرطان نشان می دهد که ژن TP53 ممکن است هدف ژنتیکی برای مواد سرطان زای محیطی باشد. ژن TP53 ۳۹۳ اسید آمینه را کد می کند و متشکل از ۱۱ اگزون و ۱۰ اینترون می باشد. ژن سرکوبگر تومور که در جایگاه ۱۷ P ۱۳/۱ (بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷) قرار دارد. بر اساس مطالعاتی که بر روی توالی های کدکننده انجام شده ۸۶٪ از جهش ها بین کدون ۱۲۵ تا ۳۰۰ و عمدتاً مربوط به مناطق اتصالی DNA می باشد. بیشترین جهش ها در این منطقه، بدمعنی هستند (۸۷،۹٪). در مقابل، خارج از این منطقه جهش های بدمعنی تنها ۴۰٪ گزارش شده است. در حدود ۵۰٪ از سرطان های روده بزرگ تقریباً ۸۷٪ جهش ها در منطقه ۵-۸ اگزون ها رخ می دهند. طیف های مختلف جهش ها در ژن TP53 در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ در میان جمعیت های مختلف مشاهده شده است که ممکن است به دلیل قرار گرفتن در معرض مواد جهش زا باشد (۱۱). از این رو، این مطالعه با هدف بررسی منطقه استان گلستان و وضعیت جهش ژن p53 در بیماران مبتلا به کنسر کولن در چه میزانی است و همچنین این جهش چه تاثیری بر روی پیش آگهی و بقا بیماران دارد طراحی گردیده است تا با انجام آن در جهت شناخت بیشتر این ارتباط، گام های مؤثری برداشته شود.

۵. دست آوردهای مورد انتظار از اجرای طرح پیشنهادی :

استفاده از نتایج این تحقیق می تواند در تعیین استراتژی های مناسب درمانی و پیش آگهی چگونگی جواب به درمان بسیار کمک کننده باشد .

در صورت اثبات وجود این ارتباط پزشک معالج می تواند دستورالعمل های درمانی را به نفع بیماران تغییر دهد .
در صورت اثبات این طرح می تواند به صورت مقاله در کنگره ها و مجلات علوم پزشکی به چاپ برسد .

۶. نوآوری طرح:

باتوجه به اینکه شهر ما یک منطقه شایع در سرطان کولورکتال در می باشد و با در نظر داشتن دو الگوی نژاد و قومیت این منطقه ، خواستار آن شدیم که در مورد موتاسیون ژن P53 که در ارتباط با این است بررسی به عمل آوریم .

۷. تعریف واژه ها:

سرطان کولورکتال:

سرطانی است که در روده بزرگ و راست روده شروع می شود

تعریف p53 :



ژنی است که عامل سرکوبگر تومورهای سرطانی شناخته شده است و در هسته ی سلول به صورت پروتئین P53 بیان می شود و با رنگ آمیزی IHC هسته می توان آنرا مشاهده کرد .

ایمونوهیستوشیمی :

نام یک فرایند برای مکان یابی پروتئین ها در یاخته های یک بافت است . در این روش با استفاده از پادتن های (آنتی بادی های) منوکلونال ، پادگنهای (آنتی ژنهای) یافته ها مشخص می شود

۸. دست آوردهای مورد انتظار از اجرای طرح پیشنهادی:

- ۱- استفاده از نتایج این تحقیق می تواند در تعیین استراتژی های مناسب درمانی و **بقا** چگونگی جواب به درمان بسیار کمک کننده باشد .
- ۲- در صورت اثبات وجود این ارتباط پزشک معالج می تواند دستورالعمل های درمانی را به نفع بیماران تغییر دهد .
- ۳- در صورت اثبات این طرح می تواند به صورت مقاله در کنگره ها و مجلات علوم پزشکی به چاپ برسد .

۹. سابقه طرح و بررسی متون

1. گل محمدی و همکاران در سال ۲۰۱۳ مطالعه ای با عنوان پیش آگهی جهش های اگزون ۶ و ۵ ژن TP53 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال در مرکز ایران را مورد مطالعه قرار دادند. ۶۱ نمونه بافت بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ با آدنو کارسینوما، ۴۶ نمونه مرد و ۱۵ نمونه زن از بیماران بخش جراحی بیمارستان الزهرا، اصفهان، ایران بین سال های ۲۰۰۶-۲۰۰۹ جمع آوری شدند. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط میان جهش های مختلف در ژن TP53 انجام شد. جهش ها توسط PCR-SSCP و تعیین توالی های DNA بررسی شدند. ۲۱ نوع جهش در اگزون ۶ و ۵ در نمونه سرطانی از ۱۴ بیمار دیده شد، که ۸۱٪ جهش حذف و ۹٫۵٪ جهش بی معنی بودند. جهش در اگزون ۶ و ۵ ژن TP53 تغییرات ژنتیکی شایع در آدنوکارسینوما ی کولورکتال در ایران هستند و با پیش آگهی ضعیف بیماری همراه است (۵).

2. در مطالعه Hsieh و همکاران در سال ۲۰۰۵ برای مشخص کردن بیماران با خطر افزایش یافته متاستاز این سرطان و ارزیابی ارزش پیش آگهی دهنده موتاسیون ژن های APC و K-RAS و P53 انجام شد. و وفوراین سه ژن موتاسیون یافته در تومورها و در سرم مبتلا سرطان کولورکتال موتاسیون ژن APC و K-RAS و P53 در بافت های تومور اولیه و در نمونه های سرم همان بیماران قبل از عمل جراحی در ۱۱۸ مبتلا به سرطان کولورکتال بررسی شد و با استفاده از (PCR-SSCP) آنالیز شد و متعاقباً آن سکانس های DNA به طور مستقیم در DNA ژنومیک با PCR تقویت شده بود. نتایج نشان داد که ماکرهای مولکولی P53 و APO در سرم رابطه نزدیکی با متاستاز با غده لنفاوی و مرحله TNM دارند. همچنین با غده لنفاوی متاستاز ($P<0/001$) و مرحله ی TNM ($P<0/001$) رابطه وجود دارد و به علاوه به طور واضحی به متاستاز با میزان OD پس از عمل، بیمارانی را برای همه ی ماکرهای مولکولی مثبت بودند بالاتر از بود نسبت به انهایی که برای این مارکر مولکولی پایین بود ($P<0/001$). ماکرهای مولکولی APC و K-RAS در بیمارانی دیده شده متاستاز ناحیه ای داشتند هر دو ($P<0/05$) بیشتر در حالی که ماکر و مولکولی P53 در کیس های متاستاز صفاقی دیده می شدند (۶).



3. در بررسی Pereira و همکاران در سال ۹۷ در ارتباط با مارکرهای پیش آگهی دهنده برای سرطان کولورکتال بیان ژن های P53 و BCL2، یک ژن مهار کننده تومور است انجام شد و گمان رفت این ژنها در بیماری زایی طیف گسترده ای از انواع تومورها، شامل سرطان کولورکتال دخالت داشته باشد هدف از مطالعه آنها ارزیابی اهمیت بیان پروتئین P53 و BCL2 و رابطه هایشان بالینی و پاتوژنی همانند مرحله ی پاتولوژیک بیماری (سیستم دوک)، درجه بافت شناسی و تهاجم عروقی بود. بیماران مورد مطالعه ۴۱ تا ۷۶ سال سن داشته و پیگیری آنها بین ۵ تا ۱۰ سال انجام شد در میان ۸۰ مورد گفته شده ۳۰ نفر در مرحله ی A و ۵۰ نفر در مرحله ی B بودند تهاجم عروقی در ۲۱/۲ دیده شد. بیان P53 و BCL2 تعیین گردید به طوری که به ترتیب ۳۰٪ و ۸/۸ وجود داشته. ما نتیجه گرفتیم بیان P53 و BCL2 که به وسیله ی پروسه ی ایمونوهیستوشیمی و بر روی بافت های موجود در بلوک های پارافینی انجام شد با مرحله ی پاتولوژیک بیماری درجه بافت شناسی و تهاجم عروقی رابطه ای ندارندز طرفی تعداد بیماران در مطالعه آن کم بوده و اعتقاد داریم بررسی با تعداد بیشتر بیمار ضرورت دارد. (۷)

4. Rehman و همکاران یک مطالعه دو ساله با عنوان الگویی مشخص از مناطق حفاظت شده TP53 در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ در کشمیر، ۲۰۰۹ در آزمایشگاه دانشکده پزشکی Sher-I-Kashmir واقع در سریناگار هند انجام داده اند. ۴۲ نمونه بافت پارافینه بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ و بافت سالم اطراف آن که در حین عمل جراحی جمع آوری شده بود، مورد بررسی قرار گرفت. مطالعه با هدف تعیین جهش های اگزون ۵-۸ ژن سرکوبگر تومور TP53 انجام شد. پس از استخراج DNA، جهش ها با تکنیک PCR-SSCP و Sequencing بررسی و داده ها با استفاده از SPSS Version 12 تجزیه و تحلیل شدند. در ۱۹ بیمار، ۲۸ جهش در ژن TP53 دیده شد، شامل ۲۳ جهش انتقالی و ۵ جهش از نوع اضافه شدن ۲ تا ۲۸ جهش ها قبلاً در نمونه های سرطان روده بزرگ گزارش نشده بودند. مقایسه مشخصات جهش ها با قومیت ها و مناطق دیگر منعکس کننده شباهت ها و تفاوت هایی است که نشان دهنده در معرض قرار گرفتن با عوامل خطر می باشد (۸).

5. در بررسی Samowitz و همکاران در سال ۲۰۰۲ ارتباط مابین موتاسیون های P53 یا برخی انواع موتاسیون P53 با پیش آگهی ضعیف در سرطان کلون انجام شد و موتاسیون های P53 در یک مطالعه بر اساس جمعیت و با حجم بالا در حد ۱۴۶۴ بیمار مبتلا به سرطان کلون در ایالت یوتا و کالیفرنیا ارزیابی گردید موتاسیون ها در اگزون های ۸-۵ با آنالیز SSCP آشکار شد و پس از آن سکانس های باندهای نابجا مشخص شده اند. موتاسیون P53 در سرطان کلون ۶۶۵ نفر از ۱۴۶۴ (۴۵/۴ درصد) مشخص گردید. موتاسیون های P53 بطور واضحی در تومورهای دستال دیده شد و همچنین در تومورهایی که درجه بالایی دارند و تومورهای فاقد MSL و تومورهای بدون موتاسیون KI-RAS بالاتر بود. در یک آنالیز تومورهای موتاسیون P53 با بقای زندگی ۵ ساله کمتری نسبت به آنهایی که نوع وحشی P53 را داشتند (۵۳٪ در مقابل ۵۸٪). وجود داشت (۹).

6. Reiping Tang و همکاران در سال ۲۰۰۱ به بررسی جهش های ژن TP53 در سرطان کولورکتال انسانی پرداختند. هدف، ارزیابی جهش های ژن TP53 در ۱۸۱ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال در تایوان و مقایسه آن با جهش های تغییر قالب، ۱۱۵۶ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال اولیه از ۱۱ مطالعه در جهان بین سال های ۱۹۹۲ - ۱۹۹۸ بود. نمونه ها برای تعیین جهش ها در اگزون ۵-۸ ژن TP53 که مناطق تحت تاثیر جهش های مکرر تومور انسانی هستند به روش (PCR-SSCP) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. استخراج DNA و DNA Sequencing انجام شد. در ۱۱ مطالعه منتشر شده ۴۷۵ جهش مستقل TP53



اطلاعاتی در مورد توالی های جهش ها داشتند. نتایج نشان می دهد جهش های تغییر قالب در TP53 بیماران سرطانی کولورکتال وابسته به توالی هستند (۱۷). و نقره غیرفعال مشاهده شدند. (۱۰)

۷. چالشتری و همکاران در ۱۳۸۸ مطالعه ای با موضوع شناسایی جهش های اگزون ۵-۸ ژن TP53 مهار کننده سرطان به روش PCR-SSCP در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان چهارمحال بختیاری، از نوع مطالعه توصیفی آزمایشگاهی انجام دادند. ۳۸ نمونه پارافینه سرطان معده از آرشیو آزمایشگاه مرکزی بیمارستان آیت اله کاشانی شهرکرد به روش ساده جمع آوری شدند که ۳۰ نمونه مرد با دامنه سنی ۵۱-۷۷ سال و ۸ نمونه زن با دامنه سنی ۳۸-۷۰ سال بودند. تفاوت های آشکاری در حرکت باندهای نمونه کنترل مثبت مشاهده شد در حالیکه در نمونه های مورد مطالعه بیماران هیچ تفاوتی در حرکت باندها دیده نشده و در نتیجه هیچ جهشی در مناطق HotSpot ژن TP53 در اگزون ۵-۸ مشاهده نشد. جهش های ژن TP53 بسته به موقعیت جغرافیایی و قومی در سایر سرطان ها، متفاوت گزارش شده است (۱۱).

هدف اصلی طرح

تعیین ارتباط جهش ژن P53 با خصوصیات پاتولوژیک و بقای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال مراجعه کنندگان به مرکز آموزشی درمانی ۵ آذر گرگان طی سالهای ۱۳۸۵-۱۳۹۰

۱. اهداف اختصاصی (ویژه) ^۱ طرح:

- ۱- تعیین فراوانی جهش ژن P53 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال
- ۲- تعیین خصوصیات پاتولوژیک بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال
- ۳- تعیین میزان **بقا** در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال
- ۴- تعیین فاصله زمانی ابتلا به متاستاز و ارتباط آن با جهش ژن p53
- ۵- تعیین ارتباط ابتلا به متاستاز با جهش ژن p53
- ۶- تعیین رابطه میزان **بقا** بیماران با جهش ژن p53
- ۷- تعیین رابطه جهش ژن p53 با اندازه تومور
- ۸- تعیین رابطه جهش ژن p53 با عمق تهاجم
- ۹- تعیین رابطه جهش ژن p53 با مرحله بندی سرطان (grade)
- ۱۰- تعیین رابطه جهش ژن p53 با درگیری عروقی
- ۱۱- تعیین رابطه جهش ژن p53 با درگیری غدد لنفاوی
- ۱۲- تعیین رابطه جهش ژن p53 با درگیری فضا دور عصب
- ۱۳- تعیین رابطه میزان **بقا** با اندازه تومور
- ۱۴- تعیین رابطه میزان **بقا** با عمق تهاجم
- ۱۵- تعیین رابطه میزان **بقا** با مرحله بندی سرطان (grade)

^۱ اهداف اختصاصی (ویژه) اجزای کوچکتر هدف اصلی طرح هستند که راه رسیدن به هدف کلی را گام به گام مشخص میکنند و محقق ملزم به پاسخگویی به آنها میباشد.



- ۱۶- تعیین رابطه میزان بقا با درگیری عروقی
- ۱۷- تعیین رابطه میزان بقا با درگیری غدد لنفاوی
- ۱۸- تعیین رابطه میزان بقا با درگیری فضا دور عصب

۱۱. اهداف فرعی^۱ طرح:

- ۱- تعیین فراوانی جهش ژن p53 در کانسره‌های کولورکتال بر حسب سن
- ۲- تعیین فراوانی جهش ژن p53 در کانسره‌های کولورکتال بر حسب جنس
- ۳- تعیین فراوانی جهش ژن p53 در کانسره‌های کولورکتال بر حسب توپوگرافی کولورکتال

۱۲. اهداف کاربردی طرح^۲:

استفاده از نتایج این تحقیق می‌تواند در تعیین استراتژی‌های مناسب درمانی و پیش‌آگهی چگونگی جواب به درمان ، بسیار کمک کننده باشد و نیز در صورت اثبات وجود این ارتباط ، پزشک معالج می‌تواند از ابتدا و به کمک رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی (IHC) ، درمان مناسب تری را برای بیمار در نظر بگیرد و از میزان بقای بیمار پیش بینی صحیح تری داشته باشد .

۱۳. سوالات پژوهش (باتوجه به اهداف توصیفی طرح نگاشته شوند):

- ۱- میزان بقا در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال چقدر است؟
- ۲- فراوانی جهش ژن P53 در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال چقدر است؟
- ۳- خصوصیات پاتولوژیک بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال چگونه است؟
- ۴- تعیین رابطه میزان بقا بیماران با جهش ژن p53
- ۵- فراوانی جهش ژن p53 در کانسره‌های کولورکتال بر حسب سن چقدر است؟
- ۶- فراوانی جهش ژن p53 در کانسره‌های کولورکتال بر حسب جنس چقدر است؟
- ۷- فراوانی جهش ژن p53 در کانسره‌های کولورکتال بر حسب توپوگرافی کولورکتال چقدر است؟

۱۴. فرضیات^۳ پژوهش (باتوجه به اهداف تحلیلی طرح نگاشته شوند):

- ۱- بین جهش ژن p53 با اندازه تومور رابطه وجود دارد.
- ۲- بین جهش ژن p53 با عمق تهاجم رابطه وجود دارد.

^۱ اهداف فرعی اهداف دیگری هستند که ممکن است حتی در راستای هدف کلی طرح نبوده و محقق بهتر است در ابتدای تحقیق آنها را تعیین نماید ولی ملزم به پاسخگویی آنها نیست.

^۲ هدف کاربردی هدفی است که نتایج طرح قدمی در راستای دستیابی به آن خواهد بود.

^۳ پیش‌دآوری یا پیش‌بینی عالمانه‌ای که رابطه بین ۲ یا چند متغیر را بیان میکند و در مطالعات تحلیلی محقق به دنبال تایید یا رد آن است.



- ۳- بین جهش ژن p53 با مرحله بندی سرطان (grade) رابطه وجود دارد.
- ۴- بین جهش ژن p53 با درگیری عروقی رابطه وجود دارد.
- ۵- بین جهش ژن p53 با درگیری غدد لنفاوی رابطه وجود دارد.
- ۶- بین جهش ژن p53 با درگیری فضا دور عصب رابطه وجود دارد.
- ۷- بین میزان بقا با اندازه تومور رابطه وجود دارد.
- ۸- بین پیش آگهی با عمق تهاجم رابطه وجود دارد.
- ۹- بین میزان بقا با مرحله بندی سرطان (grade) رابطه وجود دارد.
- ۱۰- بین میزان بقا با درگیری عروقی رابطه وجود دارد.
- ۱۱- بین میزان بقا با درگیری غدد لنفاوی رابطه وجود دارد.
- ۱۲- بین میزان بقا با درگیری فضا دور عصب رابطه وجود دارد.
- ۱۳- بین فاصله زمانی ابتلا به متاستاز با جهش ژن p53 ارتباط وجود دارد.
- ۱۴- بین ابتلا به متاستاز با جهش ژن p53 ارتباط وجود دارد.

۱۵. نوع مطالعه بر حسب اهداف، فرضیات یا سوالات پژوهشی:

الف- توصیفی ☐ ب- تحلیلی ☐ ج- توصیفی-تحلیلی ☒

۱۶. نوع مطالعه بر حسب رویکرد اجرایی را با علامت ✓ مشخص فرمایید.

محل علامت	نوع مطالعه	محل علامت	نوع مطالعه
☐	بررسی بیماران (Case series)	☐	مطالعات مروری نظام مند (Systematic Review & Meta analysis)
☐	بررسی مقطعی (Cross sectional)	☐	راه اندازی یک روش یا سیستم علمی/اجرایی
☐	مطالعه مورد/شاهد (Case / control)	☐	بررسی تستها
☒	مطالعه هم گروهی (Cohort)	☐	بررسی روشها
☐	مطالعه مداخله ای (interventional) و یا کارآزمایی بالینی (clinical trial)	☐	مطالعه کیفی
☐	مطالعات علوم پایه (Experimental)	☐	مطالعه مدیریت سیستم بهداشتی
☐	مطالعه برای ساخت دارو یا وسائل	☐	طراحی نرم افزار

روش اجرا:

نمونه های بیوبسی بیمارانی که جهت درمان تومور کولورکتال به بیمارستان آموزشی درمانی ۵ آذر گرگان مراجعه کرده اند از ابتدای سال ۱۳۸۵ لغایت انتهای سال ۱۳۹۰ به مدت ۵ سال وارد مطالعه می شوند. پس از استخراج اطلاعات دموگرافیک بیماران از پرونده های درمان آنها بیمارانی که در مرحله ی stage سه بیماری بوده اند وارد مطالعه میشوند. تعداد بیماران حدود ۹۳ نفر پیش بینی می شود که تحت رژیم (کموتراپی) قرار می گیرند.



بافت های مربوط به بیوپسی های تومور کولورکتال بیماران مبتلا به کارسینوم کولورکتال (با تشخیص هیستوپاتولوژی) از آرشیو مراکز پاتولوژی دریافت می شوند. در مرحله ی بعد، از این بلوک ها توسط دستگاه میکروتوم، برش های ۵ میکرونی تهیه خواهد شد. برش های مذکور با استفاده از کیت های شرکت DAKO تحت رنگ آمیزی استاندارد IHC از نظر پروتئین p53 قرار خواهند گرفت. مرحله ی بعدی شامل مشاهده ی میکروسکوپی لام های آماده شده ی IHC از نظر رنگ آمیزی پروتئین P53 در هسته ی سلول سرطانی می باشد.

برای بررسی ایمونوهیستوشیمی (IHC) قطعات پارافین زدایی شده با استفاده از تکنیک ایمونوپراکسیداز و گرما دهی توسط مایکرو ویو، توسط آنتی بادی اولیه p53 (Dako) رنگ آمیزی می شوند. همتاکسیلین برای رنگ آمیزی زمینه هسته مورد استفاده قرار میگیرد. آنتی بادی ضد p53 یک آنتی سرم مونوکلونال موش بر ضد p53 انسانی می باشد که هر دو نوع وحشی و موتانت p53 را شناسایی می کند. در این مطالعه برای کنترل منفی از حذف آنتی بادی اولیه و برای کنترل مثبت از آدنوکارسینومای Barret با یک رنگ آمیزی ایمونولوژی مثبت استفاده می شود و در مرحله آخر، داده ها پس از مشاهده ی میکروسکوپی لام رنگ آمیزی شده جمع آوری می گردند.

خصوصیات پاتولوژیکی بافت هر کدام از بیماران و بقای عمر بیماران مورد مطالعه قرار می گیرند. خصوصیات پاتولوژیک

شامل موارد ذیل می باشد :

درجه تومور (گرید)، درگیری غدد لنفاوی، درگیری فضای دور عصب، درگیری عروقی، اندازه تومور، عمق تهاجم، متاستاز

اطلاعات مربوط به بیماران با مراجعه به پرونده ی درمانی بیماران که غالباً در آن (تاریخ تشخیص بیماری و تاریخ فوت بیمار) ثبت می شو بدست می آید. در صورتی که بیمار زنده باشد آخرین تاریخ که بیمار مراجعه نموده است برای محاسبه درنظر گرفته خواهد شد. ارتباط بقای عمر و پیش آگهی با بیان ژن p53 مورد بررسی آماری قرار می گیرد.

نوع مطالعه : این پژوهش از نوع توصیفی تحلیلی – کوهورت (گذشته نگر) می باشد

جامعه مورد مطالعه : نمونه های بیوپسی بیمارانی که جهت درمان تومور کولورکتال به مرکز آموزشی درمانی ۵ آذر گرگان مراجعه کرده اند که طبق آمار موجود در مرکز ۹۳ نمونه می باشد .

(کلیه افراد مبتلا به سرطان کولورکتال که در stage 3 می باشند (حدوداً ۹۳ نمونه) در نظر گرفته خواهد شد)

حجم نمونه و روش نمونه گیری :

حدود ۹۳ بلوک پارافینی محتوی نمونه های بیوپسی تومورهای سرطانی مربوط به بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال مراجعه کننده به مرکز آموزش درمانی ۵ آذر گرگان جمع آوری می شود.

روش تجزیه و تحلیل داده ها

میزان بقا بیماران با روش کاپلان میر و رگرسیون کاکس محاسبه خواهد شد. استفاده از مدل کاپلان مایر برای در نظر گرفتن موارد گمشده (censored data)، استفاده از مدل رگرسیون کاکس برای اندازه گیری میزان خطر (Hazard Ratio) متغیر های مستقل در بقاء و از تست رتبه ای لگاریتم برای مقایسه میزان های بقاء در زیرگروهها مورد استفاده قرار می گیرد. ثابت بودن خطر نسبی در طول زمان که از پیش فرضهای لازم برای انجام آزمون رگرسیون کاکس می باشد بوسیله نمودار خطر (Hazard) با روش کاپلان مایر و آزمون Log minus log survival تست خواهد شد و در نهایت نتایج و اطلاعات حاصل از



این مشاهدات و مطالعات وارد رایانه گردیده و توسط نرم افزار آماری SPSS-16 و آزمونهای آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار خواهند گرفت

۱۹-ملاحظات اخلاقی:

مجوز لازم جهت اجرای پژوهش، از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه و مسئولین محیط پژوهش گرفته خواهد شد. اطلاعات مربوط به افراد کاملاً محرمانه بوده و هویت افراد به هیچ وجه فاش نمی شود. در زمان ارائه گزارش یا انتشار نتایج به مشخصات فردی بیماران اشاره نخواهد شد.

۲۰-محدودیتهای اجرایی طرح و روش کاهش یا حل آنها:

عدم دسترسی به پرونده بیماران

۱۷. متغیرها :

ردیف	عنوان متغیر	نقش متغیر				نوع متغیر		مقیاس اندازه گیری			تعریف علمی - عملی	واحد و نحوه اندازه گیری
		وابسته	مستقل	زبیه ای	محدود کننده	کمی	کیفی	اسمی	رتبه ای	فاصله ای یا نسبی		
۱	سن	*				*				*	تعداد سالهای عمر	سال
۲	جنس	*					*	*			بر اساس فنوتیپ دسته بندی می شود	مرد- زن
۳	نوع کنسر معده	*					*	*			روده ای- منتشر	خوش خیم - بدخیم
۴	جهش ژن p53	*					*	*			رویت پروتئین P53 به شکل رنگ پذیری قهوه ای تیره در هسته سلولهای بدخیم	دارد- ندارد
۵	رژیم درمانی	*					*	*			طول مدت زندگی بیمار پس از آغاز رژیم درمانی	ماه - سال
۶	درجه تومور (گرید)	*						*	*		میزان تمایز بافت شناسی تومور	(تقسیم شده به درجات ۱و۲و۳ بر حسب تمایز)
۷	درگیری غدد لنفاوی	*					*	*			وجود سلول های تومورال در داخل بافت غدد لنفاوی	رویت سلول بدخیم در زیر میکروسکوپ
۸	درگیری فضای دور عصب						*	*			وجود سلول های تومورال در بافت دور عصب	رویت سلول بدخیم در زیر میکروسکوپ
۹	درگیری عروقی						*	*			وجود سلول های تومورال در داخل مجرای رگ	رویت سلول بدخیم در زیر میکروسکوپ
۱۰	اندازه تومور				*					*	حداکثر قطر تومور	سانتی متر
۱۱	عمق تهاجم				*					*	نفوذ سلول های تومورال از مخاط سطحی به لایه های عمیقتر جدار معده	رویت سلول بدخیم در زیر میکروسکوپ



۱۲	متاستاز	*	*	*	*	*	*	وجود سلولهای بدخیم در بافت های دوردست مانند کبد	رویت سلول بدخیم در زیر میکروسکوپ
۱۳	میزان بقا	*	*	*	*	*	*	تعداد ماه های که فرد پس از ابتلا به سرطان معده زنده مانده است	ماه

۱۸. پیش بینی کل زمان لازم برای اجرای کامل طرح به ماه: ۹ ماه

۱۹. جدول زمان بندی مراحل اجرای طرح:

درصد پیشرفت طرح	زمان اجرا												فعالیت های اجرایی	تاریخ
	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	زمان کل	
											*		مدیریت و نظارت بر تهیه پروپوزال	
											*		طراحی و هماهنگی اجرا	
										*			تنظیم و تکمیل پرسشنامه بیماران	
								*	*				برش بلوک های پارافینی رنگ آمیزی با متد IHC	
							*						جمع آوری داده ها	
						*							ورود اطلاعات به رایانه	
					*								تجزیه و تحلیل آماری	
				*									تهیه و تنظیم گزارش نهایی	

توجه :

- ۱- زمان طراحی پیش نویس طرح و تکمیل این فرم جزو زمان اجرای طرح محسوب نمی شود.
- ۲- دریافت گزارشها با توجه به جدول گانت مصوب صورت میپذیرد. بنابر این لازم است مجری طرح زمان ارائه گزارشات طرح را در این جدول مشخص نماید.
- ۳- زمان شروع طرح بعد از تصویب آن، با هماهنگی مدیر اجرایی طرح و حوزه معاونت تحقیقات و فناوری و از هنگام تامین اعتبار در نظر گرفته میشود.
- ۴- لطفاً زمان های ارائه گزارش پیشرفت کار در زمان های پیشرفت ۷۵ درصد طرح به معاونت تحقیقات و فناوری را در جدول دقیقاً مشخص فرمایید.



قسمت پنجم: اطلاعات مربوط به هزینه‌های طرح

۱. هزینه کارمندی (پرسنلی) با ذکر مشخصات کامل و میزان اشتغال هر فرد و حق الزحمه آنها:

ردیف	نوع فعالیت	نام فرد یا افراد	رتبه علمی	کل ساعات کار برای طرح	رقم حق الزحمه در ساعت (ریال)	جمع کل (ریال)
	مدیریت و نظارت بر تهیه پروپوزال	دکتر رامین آذرهوش	دانشیار	۱۰۰	۳۵۰۰۰	۳۵۰۰۰۰۰
	طراحی و هماهنگی اجرا و جمع آوری داده‌ها	نفسیه نجفی جوشاتی	کارشناس ارشد	۱۰۰	۲۲۰۰۰	۲۲۰۰۰۰۰
	تنظیم و تکمیل پرسشنامه بیماران	نفسیه نجفی جوشاتی	کارشناس ارشد	۵۰	۱۰۰۰۰	۵۰۰۰۰۰۰
	ورود اطلاعات به رایانه	سهیلا صمدزاده	کارشناس	۵۰	۱۰۰۰۰	۵۰۰۰۰۰۰
	مشاور متدولوژی، آمار و تجزیه و تحلیل داده‌ها	آریایی	کارشناس ارشد	۶۰	۲۷۰۰۰	۱۶۲۰۰۰۰
	تهیه و تنظیم گزارش نهایی	دکتر هوشنگ پورخانی	استادیار	۱۰۰	۳۱۵۰۰	۳۱۵۰۰۰۰
	جمع هزینه‌های پرسنلی (ریال)					۱۱۴۷۰۰۰۰ ریال
	جمع هزینه‌های پرسنلی (ریال)					

۲. هزینه آزمایشها و خدمات تخصصی که توسط دانشگاه و یا دیگر موسسات صورت می‌گیرد:

موضوع آزمایش یا خدمات تخصصی	مرکز سرویس دهنده	تعداد کل دفعات آزمایش	هزینه برای هر دفعه آزمایش	جمع (ریال)
انجام IHC	مرکز آموزشی درمانی بیمارستان ۵ آذر	۹۳	۴۰۰۰۰۰	۳۷۲۰۰۰۰۰
جمع هزینه‌های آزمایش‌ها و خدمات تخصصی (ریال)				



فهرست وسایل و موادی که باید از اعتبار این طرح از داخل یا خارج کشور خریداری شود:

۳. وسایل غیرمصرفی:

نام دستگاه یا وسایل	کشور سازنده	شرکت سازنده	شرکت فروشنده ایرانی	تعداد لازم	قیمت واحد	قیمت کل (ریال)
نام دستگاه یا وسایل	کشور سازنده	شرکت سازنده	شرکت فروشنده ایرانی	تعداد لازم	قیمت واحد	قیمت کل (ریال)
جمع هزینه های وسایل غیرمصرفی:						

۴. مواد (اعم از آزمایشگاهی یا سایر مواد) مصرفی:

ردیف	نام ماده	کشور سازنده	شرکت سازنده	شرکت فروشنده ایرانی	شماره کاتالوگ (کد کالا)	تعداد یا مقدار لازم	قیمت واحد (ریال)	قیمت کل (ریال)
۱								
۲								

۵. هزینه مسافرت:

مقصد	تعداد مسافرت در مدت اجرای طرح و منظور آن	نوع وسیله نقلیه	تعداد افراد	هزینه به ریال
			جمع هزینه های مسافرت (ریال)	ریال

۶. هزینه های دیگر:

هزینه های تکثیر اوراق	۵۰۰۰۰۰	ریال
هزینه بیمه (در صورت نیاز)		ریال
سایر موارد	۵۰۰۰۰۰	ریال
جمع هزینه های دیگر	۱۰۰۰۰۰۰	ریال

۷. جمع هزینه های طرح:

هزینه پرسنلی	۱۱۴۷۰۰۰۰	ریال	هزینه مسافرت	۰	ریال
هزینه آزمایشها و خدمات تخصصی	۳۷۲۰۰۰۰۰	ریال	هزینه های دیگر	۱۰۰۰۰۰۰	ریال
هزینه مواد و وسایل مصرفی	۰	ریال	هزینه مواد و وسایل غیر مصرفی	۰	ریال
			جمع کل	۴۹۶۷۰۰۰۰	ریال



۱. فهرست منابع :References

1. Ankathil R, Jyothish B, Madhavan J, Nair M. Deficient DNA repair capacity: a predisposing factor and high risk predictive marker in familial colorectal cancer. *Journal of experimental & clinical cancer research* :CR.1999;18(1);33-7.
2. Aryaie M, Rosshandel G, Semnani S, Asadi-Lari M, Vakili MA, et al. Predictors of colorectal cancer survival in Golestan, Iran: a population-based study. *Epidemiology and health*. 2013;35-37
3. Calvert PM, Frucht H. The genetics of colorectal cancer. *Annals of internal medicine*. 2002;137(7):603-12.
4. Gallo O, Bianchi S, Giovannucci-Uzzielli M, Santoro R, Lenzi S, Salimbeni C, et al. P53 oncoprotein overexpression correlates with mutagen-induced chromosome fragility in head and neck cancer patients with multiple malignancies. *British journal of cancer*. 1995;71(5):1008-12.
5. Golmohammadi R, Namazi MJ, Nikbakht M, Salehi M, Derakhshan MH. Characterization and prognostic value of mutations in exons 5 and 6 of the P53 gene in patients with colorectal cancers in central Iran. *Gut and liver*. 2013;7(3):295-302.
6. Hsieh JS, Lin SR, Chang MY, Chen FM, Lu CY, Huang TJ, Huang YS, Huang CJ, Wang JY. APC, K-ras, and p53 gene mutations in colorectal cancer patients: correlation to clinicopathologic features and postoperative surveillance. *Am Surg*. 2005;71(4):336.
7. Pereira H, Silva S, Julião R, Garcia P, Perpétua F. Prognostic markers for colorectal cancer: expression of P53 and BCL2. *World J Surg*. 1997;21(2):210-3.
8. Rehman S, Sameer A, Zahoor L, Abdullah S, Shah Z, Afroze D, et al. Distinct pattern of mutations of conserved regions of TP53 in colorectal cancer patients in the Kashmir population: an emerging high-risk area. *Ecancermedicalscience*. 2009;3.
9. Samowitz WS, Curtin K, Ma KN, Edwards S, Schaffer D, Leppert MF, Slattery ML. Prognostic significance of p53 mutations in colon cancer at the population level. *Int J Cancer*. 2002. 1;99(4):597-602.
10. Tang R, Wang PF, Wang HC, Wang JY, Hsieh LL. Mutations of p53 gene in human colorectal cancer: distinct frameshifts among populations. *International journal of cancer*. 2001;91(6):863-868

۱۱. صفاری چالشری^۱ جواد. شناسایی اگزون های ۵-۸ ژن مهار کننده سرطان (p53) به روش PCR-SSCP در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان چهارمحال بختیاری ۸۶-۱۳۸۵. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. دوره ۱۱: ۳ (پاییز ۱۳۸۸)



۲. داوران پیشنهادی :

۳. تایید مندرجات پیشنهاد طرح پژوهشی (Declaration) :

اینجانب مشاور علمی طرح^۱، صحت مطالب مندرج در پیشنهاد طرح پژوهشی را تایید می نمایم.
تاریخ و امضاء

اینجانب مشاور علمی متدولوژی و آمار طرح، صحت مطالب متدولوژیک و آماری مندرج در
پیشنهاد طرح پژوهشی را تایید می نمایم.
تاریخ و امضاء

با مطالعه قسمت اول این فرم و رعایت مفاد آن بدینوسیله صحت مطالب مندرج در طرح پیشنهادی پژوهشی را تأیید
می نمایم و اعلام می دارم که این تحقیق صرفاً به صورت:

♦ یک طرح تحقیقاتی در دانشگاه علوم پزشکی گلستان است و بصورت همزمان در دانشگاه یا موسسه تحقیقاتی
دیگری ارائه نشده و در حال بررسی نمی باشد.

♦ بصورت یک طرح تحقیقاتی مشترک با می باشد که:

○ در تاریخ در آن مرکز با اعتبار ریال به تصویب رسیده و مستندات مربوطه
پیوست است.

○ در آن مرکز با درخواست اعتبار ریال در دست بررسی است.

نام و نام خانوادگی معاون تحقیقات و فناوری	نام و نام خانوادگی امضای مجری یا مجریان طرح
--	--

^{۱۱} تنها در صورت هماهنگی با مدیر تحقیقات و فناوری دانشگاه نیازی به امضای مشاور علمی قابل حذف است.

پیوست شماره چهار

تاریخ تصویب:

معاونت تحقیقات و فناوری

فرم ویژه طرح های تحقیقاتی
کمیته منطقه ای اخلاق در پژوهش دانشگاه

- عنوان طرح :
- مشخصات مجری و همکاران ونوع تخصص آنان: (صفحه مربوطه از پروپوزال کپی و ضمیمه فرم گردد)
- ارسالی از:
- تاریخ تصویب طرح در شورای پژوهشی:
- خلاصه روش انجام پژوهش، ملاحظات اخلاقی، جدول هزینه ها، تعداد حجم نمونه ونوع مطالعه (طرح): (صفحات مربوطه از پروپوزال کپی و ضمیمه فرم گردد)
- در طرحها با نمونه گیری انسانی کپی نمونه برگه فرم رضایت آگاهانه ودر طرحهای پرسشنامه ای کپی پرسشنامه ضمیمه فرم گردد.

ردیف	سؤال	نظر مجری			نظر کارشناس پژوهشی طرح			نظر کارشناس کمیته اخلاق		
		بلی	خیر	موضوعیت ندارد	بلی	خیر	موضوعیت ندارد	بلی	خیر	موضوعیت ندارد
۱	آیا رضایت آگاهانه از شرکت کننده یا ولی قانونی آن گرفته می شود؟	*								
۲	آیا آزمودنی از حق خود برای "خروج بدون شرط در هر مرحله از مطالعه" بطور کامل آگاه می شود؟	*								
۳	آیا هیچ زبانی (جسمی، روحی، اجتماعی، قانونی و اقتصادی) در این طرح پژوهشی برای آزمودنی ها وجود دارد؟	*								
۴	آیا امکانات و روش هایی برای رویارویی با زیان های احتمالی در نظر گرفته شده است؟ توضیح دهید.	*								
۵	آیا در مرحله جمع آوری، انتقال و نگهداری اطلاعات یا نمونه ها به حفظ اسرار آزمودنی توجه می شود؟	*								
۶	در صورت استفاده از نمونه ها برای مطالعات بعدی، آیا در رضایت نامه به این موضوع اشاره شده است؟	*								
۷	آیا در این پژوهش منافع خاصی برای آزمودنی محتمل است؟	*								
۸	در صورتی که مطالعه بر روی گره خاصی از افراد (زندانیان، افراد معتاد،...) انجام می شود، آیا دلیل منطقی و توجیه اخلاقی برای مطالعه روی این گروه وجود دارد؟	*								
۹	آیا نتایج مؤثر در روند سلامتی یا بیماری آزمودنی ها و راهنمایی های لازم برای اقدامات بعدی در اختیار آنها قرار خواهد گرفت؟	*								

کارشناس کمیته اخلاق

کارشناس پژوهشی طرح

امضاء مجری طرح