بررسی دو جهش شایع ژن مهار کننده سرطان (P53) در سرطان معده با استفاده از روش PCR-RFLP در استان چهارمحال و بختیاری، ۱۳۸۵

جواد صفاری چالشتری*، محمد تقی مرادی**، عفت فرخی***، محمد امین طباطبایی فر†، مریم طاهر زاده*، فاطمه شایسته††، غلامرضا مبینی†††، مهدی بنی طالبی•، سولماز خادمی••، گشتاسب مردانی•••، مهرداد شهرانی○، ندا پروین○○، نجمه شاهین فر○○○، دکتر قربانعلی رحیمیان♦، دکتر حبیب اله ناظم♦♦، دکتر مرتضی هاشم زاده چالشتری♦♦♦[1]

*دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی- دانشگاه پیام نور تهران، **کارشناس ارشد حشره شناسی پزشکی- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ***کارشناس ارشد بیوشیمی- مرکزتحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، †دانشجوی PhD ژنتیک-دانشگاه علوم پزشکی تهران، ††کارشناس ارشد فیزیولوژی-مرکزتحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، †††کارشناس ارشد ویروس شناسی-مرکزتحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، •کارشناس ارشد هماتولوژی-مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ••دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک – دانشگاه شهرکرد، •••کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط- مرکزتحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ○مربی گروه فیزیولوژی- مرکزتحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ○○کارشناسی ارشد پرستاری-مرکز تحقیقات گیاهان دارویی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ○○○کارشناس مامایی- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ♦استادیار گروه داخلی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ♦♦دانشیار گروه بیوشیمی- دانشگاه پیام نور تهران، ♦♦♦استاد گروه ژنتیک انسانی- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد.

تاریخ دریافت:۸۷/۷/۱۸ تاریخ تایید: ۸۷/۱۱/۲۱

چکیده:

زمینه و هدف: **سرطان معده شایع ترین سرطان بعد از سرطان ریه در جهان است. ژن P53 یک ژن سرکوبگر تومور است و نقش بسیار مهمی در فرآیند مرگ برنامه ریزی شده سلول ایفا می کند. این ژن مانند یک نگهبان برای سلول است و فرآیند همانند سازی را در DNA آسیب دیده سلول مهار می کند. این مطالعه با هدف بررسی دو جهش شایع ژن مهار کننده سرطان (P53) با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز-چند شکلی طول قطعه محدود (PCR-RFLP) در بیماران مبتلا به سرطان معده استان چهارمحال و بختیاری در سال ۱۳۸۵ انجام شد.**

روش بررسی: **در این مطالعه توصیفی- آزمایشگاهی جهش های ژنی درنمونه های پارافینه بیوپسی معده در ۳۸ بیمار مبتلا به سرطان معده در استان چهارمحال و بختیاری انجام شد. با استفاده از روش فنل کلروفرم DNA استخراج و آزمایشات مولکولی بر روی اگزون های شماره ۷ و ۸ ژن P53 به روش PCR- RFLP انجام و کدون های ۲۴۸ و ۲۸۲ مورد ارزیابی قرار گرفتند.**

یافته ها: **در نتایج حاصل از این بررسی، در کدون های ۲۴۸ و ۲۸۲ که از مناطق hot spot ژن P53 به شمار می روند هیچ جهشی مشاهده نشد.**

نتیجه گیری: **در استان چهارمحال و بختیاری ارتباط بین سرطان معده با جهش های ژن P53 بسیار ضعیف است هر چند این مطالعه فقط بر روی ۳۸ نمونه بیمار انجام شد. اما با این وجود لازم است مطالعات بیشتری در تمامی مناطق رمز کننده و پروموتر آن در بیماران از جمعیت ها و گروههای قومی مختلف به منظور تشخیص ارتباط واقعی ژن P53 با سرطان معده در این استان انجام شود.**

واژه های کلیدی: ژن پی ۵۳، واکنش زنجیره ای پلیمراز-چند شکلی قطعه محدود، سرطان معده.

[1] ***نویسنده مسئول:*** شهرکرد- رحمتیه- دانشکده پزشکی- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی-تلفن: ۰۳۸۱-۳۳۴۶۶۹۲، E-mail:mchalesh@yahoo.com

www.SID.ir

مقدمه:

سرطان معده دومین سرطان شایع در جهان است. شیوع سرطان معده در برخی کشورها همچون ژاپن، چین، ایتالیا و کشورهای در حال توسعه در حد بالایی قرار دارد و روبه افزایش است اما در کشورهایی مانند آمریکا و انگلیس در حال کاهش است (۱). در عین حال بروز این بیماری در برخی از نقاط دنیا در نتیجه اصلاح رژیم غذایی و روش های آماده سازی غذا در حال کاهش است (۲). طبق آمار سال ۱۳۸۲ در ایران، سرطان ها با ۳۳۴۹۰ مورد چهارمین علت مرگ و میر در کشور را به خود اختصاص داده اند. بر اساس این آمار سرطان معده با ۷۶۴۴ مورد هشتمین علت مرگ و میر را باعث شده است (۳).

عوامل سرطان زا شامل عوامل محیطی و ژنتیکی می باشند که با ایجاد آسیب و نقص در عملکرد ژنوم موجودات، موجب سرطانی شدن سلول می شوند. در این میان ژن‌های پروتوانکوژن مانند ژن Ras، یک پروتوانکوژنی است که پروتئین آن در هدایت پیام های سلول بسیار موثر است. در صورتی که ژن جهش یافته Ras انکوژنی است که انکوپروتئین رمز شده توسط آن منجر به رشد خارج از کنترل سلول می شود. همینطور ژن های مهار کننده تومور مانند P53 در صورت مهار فعالیت منجر به خارج شدن سلول از رشد طبیعی شده و تومور شکل می گیرد و در نهایت با پیشرفت این فرآیند تومور به سمت متاستاز و سرطانی شدن پیش می رود (۴). پروتئین P53 با ایجاد وقفه در مرحله G1 چرخه سلولی موجب می شود تا فاکتورهای ترمیم کننده DNA فرصت کافی برای ترمیم DNA آسیب دیده را به دست آورنـــد. در عین حال در صورتی که آسیب های DNA قابل ترمیم نباشند این پروتئین موجب تسریع فرآیند آپوپتوز و مرگ سلول می شود. این پروتئین با مهار فرآیند آنژیوژنز در سلول های تومور از رشد بی رویه آن جلوگیری می‌کند. بدیهی است در صورت بروز جهش بر روی ژن P53 و ایجاد نقص بر پروتئین آن سلول به سمت توموری شدن و در نهایت سرطان پیش می رود (۷-۵).

بیماری آدنوکارسینـــومای معده سرطانـــی است که در آن سلـــول های بافت پوششی معده را درگیر کرده و سلول های تومور در این منطقه رشد می کنند. یکی از عوامل پیش آگهی در آدنوکارسینومای معده جهش ژن P53 می باشد. در آدنوکارسینوم معده بیمارانی که تومور آن ها شواهدی از جهش این ژن را ندارند بقاء بیشتری نسبت به گروه مقابل دارند همچنین این جهش بر روی نتایج شیمی درمانی و پرتودرمانی در آدنو کارسینوم معده موثر است (۹،۸). ناهنجاری مولکول P53 (ژن مهار کننده سرطان) معمول ترین ناهنجاری مولکولی است که در سرطان های انسانی مشاهده شده است. حدود ۵۰ درصد سرطان ها مرتبط با مهار فعالیت این ژن می باشد (۹).

ژن P53 بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱۷ قرار گرفته، از ۱۱ اگزون و ۱۰ اینترون تشکیل شده است (۱۲-۱۰). اگزون شماره ۱ و قسمت اعظم اگزون شماره ۱۱ در ژن P53، در mRNA کد نمی شوند (Non coding) این در حالی است که منطقه Hotspot ژن بر روی اگزون های ۸-۵ قرار گرفته است و بیش از ۹۰ درصد جهش ها بر روی این منطقه بروز می کند این ناحیه کدون های ۳۰۷-۱۱۰ را شامل می شود (۱۴،۱۳). جهش های این ژن اغلب به صورت حذف (Deletion)، دخول (Insertion)، و یا جهش های نقطه ای (Point mutation) ظاهر شوند (۱۵). بیمارانی که دارای جهش در ژن P53 هستند در سنین قبل از ۳۰ سالگی احتمال ۵۰ درصد مبتلا شدن به سرطان را دارند این احتمال در سنین قبل از ۶۵ سالگی به ۹۵ درصد افزایش می یابد. جهش بر روی این ژن می تواند منجر به بروز بسیاری از بیماری های ژنتیکی دیگر شود (۱۶).

مطالعات متعددی در نقاط مختلف دنیا در ارتباط با اهمیت و نقش جهش های ژن P53 در ایجاد سرطان معده انجام شده است و طیف وسیعی از فراوانی این جهش ها (از حدود صفر تا ۷۰ درصد در نمونه های بیماران) مشاهده شده که نشان دهنده تنوع فراوانی و نقش جهش های این ژن در ایجاد بیماری در اقوام و جمعیت های مختلف جهان است (۲۰-۱۷). در هر حال علی رغم مطالعات بسیار گسترده ای که در جهان بر روی این ژن در ارتباط با سرطان ها انجام

Archive of SID

www.SID.ir

شده ولیکن در ارتباط با نقش این ژن در ایجاد سرطان در ایران تا کنون مطالعه دقیقی انجام نشده است.

با توجه به اهمیت ژن P53 در بروز انواع سرطان ها از جمله سرطان معده، این مطالعه بر روی بیماران مبتلا به سرطان معده در استان چهارمحال و بختیاری، به منظور بررسی و تعیین شایع ترین جهش های ژن P53 که به طور معمول بر روی کدون شماره ۲۴۸ در اگزون شماره ۷ و کدون شماره ۲۸۲ در اگزون شماره ۸ به کمک روش PCR-RFLP در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شد.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی – آزمایشگاهی، تعداد ۳۸ نمونه پارافینه ی بیوپسی معده بیماران مبتلا به سرطان معده از آرشیو آزمایشگاه مرکزی بیمارستان آیت اله کاشانی شهرکرد در طی سال ۱۳۸۵ به روش آسان جمع آوری شد..

نمونه ها پس از تایید در آزمایشگاه پاتولوژی بیمارستان آیت اله کاشانی شهرکرد، به مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انتقال و استخراج DNA و مطالعات مولکولی بر روی آنان انجام شد. به این ترتیب که حدود ۲۵ میلی گرم از هر نمونه بافت به طریقه فیزیکی خوب خرد شده و با استفاد از گزیلول و اتانول مطلق (به صورت شیب غلظت معکوس) در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد پارافین زدایی گردید. سپس DNA نمونه ها با استفاده از روش استاندارد فنل کلرفرم استخراج شد (۲۱). سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico 2100 USA) مقدار و کیفیت DNAاستخراج شده مشخص شد.

توالی های آغازگر (Primer) شامل توالی های جلو برنده F (Forward) و توالی های معکوس R (Reverse) برای اگزون های شماره ۷ و ۸ ژن P53 از پایگاه اینترنتی UCSC و با استفاده از نرم افزار Primer3 طراحی و توسط شرکت ژن فن آوران خریداری شدند.

توالی پرایمرهای استفاده شده به شرح ذیل می باشد:

(7F: 5' TTATCTCCTAGGTTGGCTCT 3')،
(7R: 5' CAAGTGGCTCCTGACCTGGA 3')،
(8F: 5' CCTTACTGCCTCTTGCTTC 3') و
(8R: 5' TGA ATCTGAGGCATAACTGC 3').

هر میکروتیوپ PCR شامل: 1µl از هر یک از دو آغازگر F و R با غلظت 50pmol، 0.1 µl آنزیم DNA پلیمراز (5unit/µl)، 0.5 µl مخلوط دزوکسی نوکلئوتیدهای تری فسفات با غلظت 10mM، 2.5 µl بافر 10x، 2.5 µl یون MgCl2 (50mM) مخصوص PCR، و 1 µl DNA (حدود 100ng) بود که حجم نهایی به 25µl رسید.

دستگاه چرخه حرارتی (PCR) (ASTEC,PC818 Japan) به منظور انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) برای این دو اگزون در مرحله واسرشته شدن ابتدایی (Pre Denaturation) در دمای ۹۶ درجه سانتی گراد برای ۳ دقیقه تنظیم شد و پس از آن برای اگزون شماره ۷ تعداد ۳۵ سیکل، ابتدا واسرشته شدن (Denaturation)، در دمای ۹۶ درجه سانتی گراد. چسبیدن (Annealing)، در دمای ۵۷ درجه سانتی گراد و طویل شدن (Extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد، هر کدام به مدت ۳۰ ثانیه، و همین طور برای اگزون شماره ۸ تعداد ۳۵ سیکل، ابتدا واسرشته شدن (Denaturation)، در دمای ۹۶ درجه سانتی گراد، چسبیدن (Annealing)، در دمای ۵۴ درجه سانتی گراد و طویل شدن (Extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد. هر کدام به مدت ۴۵ ثانیه و آخرین مرحله چرخه حرارتی برای این دو اگزون یک سیکل طویل شدن (Extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه تنظیم شد.

محصول PCR هر اگزون بر روی ژل پلی اکریل آمید (Merck Germany) ۸ درصد تحت جریان 50 mA به مدت یک ساعت الکتروفورز شده و پس از رنگ آمیزی با نیترات نقره مورد بررسی قرار گرفت. اندازه قطعات حاصل از محصولات PCR برای اگزون شماره ۷ برابر ۱۳۶ جفت باز و برای اگزون شماره ۸ برابر ۲۴۰ جفت باز است.

Archive of SID

www.SID.ir

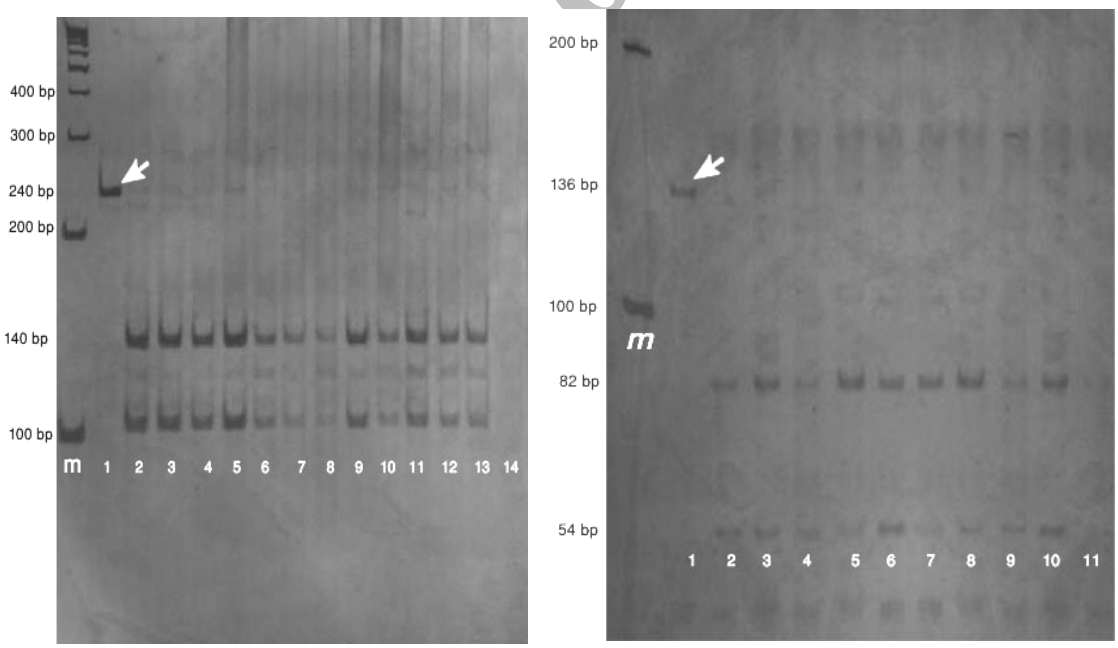
در این مطالعه از آنزیم HpaII برای ایجاد برش در محـــل های شناســـایی هر دو اگزون ۷ و ۸ ژن P53 واکنش های PCR-RFLP استفاده شد. این آنزیم که با استفاده از نرم افزار Neb cutter شناسایی و از شرکت Fermentas Canada خریداری شد، قادر است قطعات DNA را با توالی '5 CCGG 3' برش دهد. برای انجام واکنش PCR-RFLP ابتدا ۱µl آنزیم(5 unit) HpaII را با ۲ µl بافر، ۱۰ µl محصول PCR و ۷ µl آب مقطر، درون یک میکروتیوب ریخته و پس از مخلوط کردن به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از آن، محصولات PCR-RFLP جهت تعیین اندازه های قطعات هضم شدهٔ حاصله، بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد برده و به منظور الکتروفورز تحت جریان 40mA به مدت ۴۰ دقیقـــه قرار گرفتند. سپس ژل های حاصل را به روش نیترات نقره رنگ آمیزی و نتایج از نظر وجود یا عدم وجود جهش بررسی گردیدند.

یافته ها:

میانگین سنی بیماران ۱۱/۵۲±۶۴/۶۳ سال بود. در این میان تعداد ۳۰ نمونه مربوط به مردان با دامنه سنی ۵۱ تا ۷۷ سال و ۸ نمونه مربوط به زنان با دامنه سنی ۳۸ تا ۷۰ سال بود. از طرفی تعداد ۹ نمونه از نوع سرطان معده منتشر و تعداد ۲۹ نمونه از نوع سرطان معده روده ای بود.

محصولات PCR اگزون شماره ۷ ژن P53 بیماران مختلف به صورت باندهایی با اندازه ۱۳۶ جفت باز بر روی ژل پلی اکریل آمید مشاهده شد.

واکنش های RFLP منجر به هضم محصولات PCR مـــربوطه و ایجاد باندهایی با اندازه های ۸۲ و ۵۴



الف) ب)

تصویر شماره ۱: محصولات PCR-RFLP کدون های ۲۴۸ و ۲۸۲ ژن P53 بیماران مبتلا به سرطان معده بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد

الف) نمونه الکتروفورز محصول PCR-RFLP برای کدون ۲۴۸ اگزون شماره ۷: m- مارکر 100bp، 1- نمونه شاهد (محصول PCR بدون اثر آنزیم)، 2-10= نمونه بیماران (برش درتمام نمونه ها)، 11- نمونه کنترل منفی (شامل کلیه ترکیبات RFLP به جز محصول PCR). ب) نمونه الکتروفورز محصول PCR-RFLP برای کدون ۲۸۲ اگزون شماره ۸: m- مارکر 100bp، 1- نمونه شاهد (محصول PCR بدون اثر آنزیم)، 2-13 = نمونه بیماران (برش در تمام نمونه ها)، 14- نمونه کنترل منفی (شامل کلیه ترکیبات RFLP به جز محصول PCR).

www.SID.ir

جفت باز شد که دلیل بر عدم وجود جهش در محل شناسایی آنزیم محدود کننده HpaII (5' CCGG 3') می باشد. از طرفی باندهای ۲۴۰ جفت بازی محصولات PCR اگزون ۸ژن P53 نیز بر روی ژل پلی اکریل آمید رویت شده و پس از انجام واکنش های RFLP بر روی محصولات مربوطه کلیه این نمونه ها نیز توسط آنزیم فوق الذکر هضم شده و محصولاتی با اندازه ۱۴۰ و ۱۰۰ جفت باز حاصل شد که نشان دهنده عدم وجود جهش در محل شناسایی آنزیم مزبور در اگزون ۸ می باشد (تصویر شماره ۱).

بحث:

ایجـــاد ســـرطان یک فرآیند چند مرحله ای است که شامل تغییرات ژنتیکی در ژن های بوجود آورندهٔ سرطان از جمله ژن های سرکوب کنندهٔ سرطان می شود. شایع ترین تغییرات ژنتیکی که در ارتباط با سرطان مشاهده شده است به ویژه مربوط به ژن P53 در سرطان معده است (۲۲).

ایجاد جهش بر روی این ژن و توزیع توالی های جهش یافته در سرطان های مختلف متفاوت است. به طوری که در برخی سرطان ها منطقه خاصی از ژن دچار جهش می شود که احتمال رخداد جهش در همان توالی در سرطان های دیگر بسیار ضعیف است. مثلاً در هپاتوسلولار کارسینوما، جهش اغلب در کدون ۲۴۹ از اگزون شماره ۷ اتفاق می افتد در حالی که این جهش در مورد سرطان معده تا به حال گزارش نشده است. این در حالی است که کـدون ۲۴۸ یکی از شایع ترین کدون های گزارش شده از نظر وقوع جهش در سرطان معده می باشد (۲۳).

در مطالعه حاضر آنزیم HpaII بر روی همه کدون های مورد مطالعه برش ایجاد کرده است و بیانگر عدم وجود جهش در کدون های ۲۴۸ و ۲۸۲ است. مطالعات بسیار گسترده ای در ارتباط با ژن P53 و نقش آن در سرطان زایی انجام شده است و بر اساس آن میزان وقوع جهش بر روی این ژن بسته به موقعیت جغرافیایی بیماران مورد مطالعه، بسیار متفاوت گزارش شده است. مثلاً در مطالعه ای که توسط Shiao و همکاران در ایتالیا صورت گرفت میزان بالایی از جهش ژن P53 در بیماران مبتلا به سرطان معده (۶۶٪) گزارش شد (۱۷). اما Luinetti و همکارانش میزان جهش این ژن را حتی در سرطان پیشرفته معده ۲۶ درصد گزارش کردند (۱۸). در مطالعه Uchino و همکاران بر روی ژن P53 در بیماران مبتلا به سرطان معده، میزان ۲۵ درصد جهش را در سرطان اولیه معده و ۴۲ درصد جهش بر روی این ژن را در سرطان پیشرفته معده گزارش کردند (۱۹). اما بر اساس مطالعه Yamada و همکاران در ژاپن بر روی ۱۹ مورد سرطان اولیه معده، هیچ جهشی را در ژن P53 مشاهده نکردند (۲۰). در ایران مطالعات اندکی در ارتباط با اهمیت و نقش جهش های ژن P53 در ایجاد سرطان ها انجام شده که عمدتاً با استفاده از روش PCR-SSCP انجام شده و حدود ۱۵ تا ۲۴ درصد جهش ژنی گزارش نموده اند که البته هیچ کدام از این مطالعات با روش Sequencing مورد تایید قرار نگرفته اند و عملاً از نظر علمی قابل اعتماد نیستند (۲۸-۲۴). در سال ۱۹۹۷ مطالعه ای که توسط Hashemzadeh و همکاران در دانشگاه ویلز انگلستان بـر روی اگزون های ۸-۵ ژن P53 در ۲۸ نمونه سرطان دهان و مـری از شهـــر تهران به روش (Direct Sequencing) که یک روش Gold standard است انجام شد، فقط دو جهش در اگزون شماره ۷ این ژن بر روی کدون های شماره ۲۴۱ و ۲۴۶ مشاهده شد (۲۹). این در حالی است که این کدون ها از توالی های بسیار نادر در بروز سرطان های مربوطه می باشند اما همچنان کدون های ۲۴۸ و ۲۸۲ جزء مناطق Hot spot سرطان های دهان و مری معرفی شده اند با این وجود در این مطالعه جهشی در این توالی ها گزارش نشده است. تعداد محدود جهش های گزارش شده در مطالعه هاشم زاده نیز نشان دهنده تاثیر کم این ژن در بروز این سرطان ها در بیماران شهر تهران است (۲۹).

از آنجا که کدون های ۲۴۸ و ۲۸۲ از جمله مهمترین کدون های گزارش شده در وقوع جهش در بروز سرطان معده معرفی شده اند بـــا این وجود به

Archive of SID

www.SID.ir

نظر می رسد این قسمت های ژن P53 در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان چهارمحال و بختیاری، کمتر تحت تاثیر جهش هـا قرار گرفته اند و احتمالاً توالی های دیگری از این ژن بیشتـر درگیـر جهش ها شده اند و یا اینکه ژن های دیگری از قبیل انکوژن ها مانند ژن Ras و یا ژن های سرکوبگر تومور دیگری مانند APC (Adenomatosis Polyposis Coli) در فرآیند سرطانی شدن این بیماران نقش مهمتری ایفا می کنند که لازم است مطالعات کافی در این خصوص صورت گیرد.

نتیجه گیری:

نتایج این مطالعه و سایر مطالعات اندکی که در کشور انجام شده بیانگر نقش نا چیز جهش های ژن P53 در ایجاد سرطان بخصوص سرطان معده در ایران است. با توجه به اهمیت جهش های این ژن در ایجاد سرطان در ملیت های مختلف جهان و اینکه کشـور ما دارای تنـوع وسیعی از اقوام و جمعیت ها است لذا نیاز است تا مطالعات گسترده ای در ارتباط با تغییرات ژنی در سرطان ها، تعامل میان تومور و میزبان و تشخیص زودرس تومورها انجام شود. مطمئناً چنین مطالعاتی در فهم و درک مکانیسم بیماری و راه های تشخیص و درمان آن بسیار موثر خواهد بود.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از کارکنان بیمارستان آیت اله کاشانی شهرکرد و بخش پاتولوژی آن مخصوصاً جناب آقای نگهدار ریاحی به خاطر تهیه نمونه های بیوپسی معده، معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تامین بودجه و از کلیه کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

منابع:

1.Noguchi Y, Yoshikawa T, Tsuburaya A, Motohashi H, Karpeh MS, Brennan MF. Is gastric carcinoma different between Japan and the United States? Cancer. 2000 Dec; 89(11): 2237-46.

2.Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. CA Cancer J Clin. 1999 Jan-Feb; 49(1): 8-31.

3.Taghavi M, Jafari N. [Mortality feature in 23 provinces of Iran in 2004. Tehran: Ministry of Health and Medical Education. 2006; p: 172-283.]Persian

4. Lodish H,Berk A, Kaiser CA, Krieger M, Bretscher A. Molecular cell biology. 6th ed, NewYork: WH Freeman and Company; 2007. p: 1107-9.

5. He L, He X, Lim LP, de Stanchina E, Xuan Z, Liang Y, et al. A MicroRNA component of the P53 tumor suppressor network. Nature. 2007 Jun; 447(7148): 1130-4.

6. Chang, TC, Wentzel EA, Kent OA, Ramachandran K, Mullendore M, Lee KH, et al. Transactivation of miR-34a by P53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. Molec Cell. 2007 Jun; 26(5): 745-52.

7. Teodoro JG, Parker AE, Zhu X, Green MR. P53-mediated inhibition of angiogenesis through up-regulation of a collagen prolyl hydroxylase. Science. 2006; 313: 968-71.

8. Fondevila C, Metges JP, Fuster J, Grau JJ, Palacín A, Castells A, et al. P53 and VEGF expression are independent predictors of tumor recurrence and survival following curative resection of gastric cancer. Br J Cancer. 2004 Jan; 90(1): 206-15.

9. Okuyama T, Maehara Y, Kabashima A, Takahashi I, Kakeji Y, Sugimachi K. Combined evaluation of expressions of P53 and p21 proteins as prognostic factors for patients with gastric carcinoma. Oncology. 2002; 63(4): 353-61.

Archive of SID
www.SID.ir

10. Benchimol S, Lamb P, Crawford LV, Sheer D, Shows TB, Bruns GA, et al. Transformation associated P53 protein is encoded by a gene on human chromosome 17. Somat Cell Mol Genet. 1985 Sep; 11(5): 505-10.

11. Isobe M, Emanuel BS, Givol D, Oren M, Croce CM. Localization of gene for human P53 tumor antigen to band 17p13. Nature. 1986 Mar; 320(6057): 84-5.

12. Miller C, Mohandas T, Wolf D, Prokocimer M, Rotter V, Koeffler HP. Human P53 gene localized to short arm of chromosome 17. Nature. 1986 Feb-Mar; 319(6056): 783-4.

13. Tommasi S, Abatangelo M, Lacalamita R, Montemurro S, Marzullo F, Paradiso A. Mutations spanning P53 exons 5-9 detected by non-isotopic RNAse cleavage assay and protein expression in human colon cancer. Cancer Genet Cytogenet. 2001 Aug; 129(1): 40-2.

14. Katiyar S, Dash BC, Thakur V, Guptan RC, Sarin SK, Das BC. P53 tumor suppressor gene mutations in hepatocellular carcinoma patients in India. Cancer. 2000 Apr; 88(7): 1565-73.

15. Menke-Pluymers MB, Hop WC, Mulder AH, Tilanus HW. DNA ploidy as a prognostic factor for patients with an adenocarcinoma in Barrett's esophagus. Hepatogastroenterology. 1995 Nov-Dec; 42(6): 786-8.

16. Davidoff AM, Humphrey PA, Iglehart JD, Marks JR. Genetic basis for P53 overexpression in human breast cancer. Proc Natl Acad Sci USA. 1991 Jun; 88(11): 5006-10.

17. Shiao YH, Rugge M, Correa P, Lehmann HP, Scheer WD. P53 alteration in gastric precancerous lesions. Am J Pathol. 1994 Mar; 144(3): 511-7.

18. Luinetti O, Fiocca R, Villani L, Alberizzi P, Ranzani GN, Solcia E. Genetic pattern, histological structure, and cellular phenotype in early and advanced gastric cancers: evidence for structure-related genetic subsets and for loss of glandular structure during progression of some tumors. Hum Pathol. 1998 Jul; 29(7): 702-9.

19. Uchino S, Noguchi M, Ochiai A, Saito T, Kobayashi M, Hirohashi S. P53 mutation in gastric cancer: a genetic model for carcinogenesis is common to gastric and colorectal cancer. Int J Cancer. 1993 Jul; 54(5): 759-64.

20. Yamada Y, Yoshida T, Hayashi K, Sekiya T, Yokota J, Hirohashi S, et al. P53 gene mutations in gastric cancer metastases and in gastric cancer cell lines derived from metastases. Cancer Res. 1991 Nov; 51(21): 5800-5.

21. Coombs NJ, Gough AC, Primrose JN. Optimization of DNA and RNA extraction from archival formalin-fixed tissue. Nucleic Acid Res. 1999; 27(16): e12.

22. Joypaul BV, Hopwood D, Newman EL, Qureshi S, Grant A, Ogston SA, et al. The prognostic significance of the accumulation of P53 tumor-suppressor gene protein in gastric adenocarcinoma. Br J Cancer. 1994 May; 69(5): 943-6.

23. Katiyar S, Dash BC, Thakur V, Guptan RC, Sarin SK, Das BC. P53 tumor suppressor gene mutations in hepatocellular carcinoma patients in India. Cancer. 2000 Apr; 88(7): 1565-73.

24. Joshaghani H, Koochaki ShE, Amini R, Derakhshandeh P, Ehsani ZA, Abani Sh, et al. [Study of P53 mutations in gastric cancer by PCR-SSCP. J Gorgan Univ Med Sci. 2003; 12(5): 36-42.]Persian

25. Etemadi K, Mehdipour P. [Molecular study of the P53 gene mutations in breast cancer patients by non-radioactive PCR-SSCP. Scientific J Hamedan Univ Med Sci. 2003; 26(9): 70-65.]Persian

26. Mirzaei MR, Mehdipour P, Atri M, Teimouri H, Asadi GH. [Detection of P53 gene mutations in exons 5 and 8 in patients of familial breast cancer with PCR-SSCP method. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2002; 2(1): 119-25.]Persian

Archive of SID

www.SID.ir

27. Kheirollahi M, Mehdi Pour P, Atri M. [Identification of mutations in exons 5 and 8 of the P53 gene in patients affected with colorectal cancer. J Isfahan Univ Med Sci. 2001; 64-63(19): 16-23.]Persian

28. Ansarizadeh H. [Identification of mutations in exons 6 and 7 of the P53 gene in patients affected with colorectal cancer. Thesis for Msc degree in Human Genetic. Tehran Univ Med Sci Iran. 2002.]Persian

29. Hashemzadeh Chaleshtori M. Application of Molecular Genetics to the Study of Human Diseases. A thesis submitted in partial full filament of the requirements for the degree of Doctor of Biology, School of Biological Sciences University of Wales Swansea, March 1997.

30. Shojaie N, Tirgari F. [Detection of Somatic mutation of codon 248 of P53 gene between Iranian women with breast cancer. Iranian J Cancer Prev. 2008; 1(1): 26-32.]Persian

Archive of SID

www.SID.ir