تعیین جهش‌های ژن p53 در سرطان معده به روش PCR-SSCP

دکتر حمیدرضا جوشقانی[۱]، دکتر اسماعیل کوچکی شلمانی[۲]، دکتر رضا امینی[۲]، دکتر پوپک درخشنده[۳]
دکتر عبدالوهاب احسانی زنوز[۲]، دکتر محمد شعبانی[۲]، دکتر مریم کدیور[۴]

چکیده

مقدمه و هدف : آدنوکارسینومای معده دومین سرطان شایع پس از سرطان ریه درجهان است. سالانه حدود ۷۵۵٬۵۰۰ مورد جدید شناسایی می‌شود. تقریباً ۱۲ درصد کل مرگ و میر ناشی از سرطان در اثر سرطان معده است. یکی از مهم‌ترین ژن‌هایی که در ممانعت از بروز سرطان اهمیت دارد ژن P53 است که در تنظیم چرخهٔ سلولی نقش دارد. در برخی از سرطان‌ها تا ۵۰ درصد موارد در ژن P53 جهش دیده می‌شود که حدود ۸۷ درصد موارد جهش‌ها در اگزون‌های ۵ تا ۸ هستند. این مطالعه به منظور تعیین جهش‌های ژن P53 در سرطان معده به روش PCR-SSCP انجام گردید.

مواد و روش‌ها : طی سال ۱۳۸۱ ، ۴۴ نمونه بیوپسی از بیماران سرطان معده از سه مرکز بیمارستانی در تهران تهیه و مشخصات دموگرافیک بیماران مشخص و نمونه‌های بیماران به روش PCR-SSCP جهت تعیین جهش‌های ژن P53 مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها : در این مطالعه از ۴۴ بیمار مبتلا به سرطان معده ، ۳۱ نفر مرد و۱۳ نفر زن با میانگین سنی ۶۰/۸ سال (از ۳۴ سال تا ۸۴ سال) بودند. براساس نوع سرطان ۳۶ مورد از نوع روده‌ای (۸۱/۸ درصد) و ۵ مورد (۱۱/۴درصد) از نوع منتشر بودند . سه مورد با اطلاعات موجود در هیچ‌یک از دو گروه فوق قرار نگرفت. پس از انجام PCR-SSCP در ۹ مورد حرکت الکتروفورتیک باندهای نمونه بیماران با نمونه‌های طبیعی تفاوت داشت. یک جهش در اگزون ۵ (۱۱/۱ درصد) ، ۲ جهش در اگزون ۶ (۲۲/۲درصد) ، ۳ جهش در اگزون ۷ (۳۳/۳ درصد) و ۳ جهش در اگزون ۸ (۳۳/۳درصد) مشاهده شد. از این ۹جهش ۷ مورد مربوط به سرطان از نوع روده‌ای و ۲ مورد از نوع منتشر بود. ارتباط معنی‌داری بین سن و نوع سرطان مشاهده نگردید. همچنین ارتباط معنی‌داری بین نوع سرطان و جنس ، بین جنس و جایگاه جهش و همچنین نوع سرطان و جایگاه جهش دیده نشد. در نوع منتشر۲ جهش در اگزون‌های ۶ و ۸ مشاهده گردید و هیچ جهشی در اگزون‌های ۵ و۷ مشاهده نشد. در نوع روده‌ای در هر چهار اگزون مورد مطالعه جهش دیده شد.

نتیجه‌گیری : در این مطالعه میزان بروز جهش در ژن P53 در سرطان معده ۲۰/۵ درصد به‌دست آمد که بیانگر فراوانی متوسط جهش ژن p53 در جامعهٔ مورد مطالعه است.

واژه‌های کلیدی : سرطان معده ، ژن p53 ، ایران ، جهش ، PCR-SSCP

---

۱ - دکترای بیوشیمی بالینی ، نشانی : دانشگاه علوم پزشکی گرگان ، آموزشکده پیراپزشکی ، گروه علوم آزمایشگاهی ، تلفن : ۴۴۲۱۶۵۱-۰۱۷۱
e.mail: hr_joshaghani@yahoo.com
۲ - دکترای بیوشیمی ، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران
۳- دکترای ژنتیک ، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴ - متخصص آسیب‌شناسی ، آزمایشگاه آسیب‌شناسی مرکز آموزشی-درمانی حضرت رسول اکرم (ص)

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

ژنوم همه موجودات زنده توسط فرایندهای شیمیایی درونی بدن و به وسیله عوامل خارجی مانند مواد شیمیایی و پرتوهای یونیزه کننده همیشه در معرض آسیب قرار دارد. موجود زنده به وسیله ترمیم DNA از اثرات جهش‌زای این عوامل و بروز سرطان حفاظت می‌شود. هرگاه نقصی در ارتباط با سیستم ترمیم به ارث برسد سبب بروز و پیشرفت سرطان می‌گردد. یکی از مهم‌ترین این ژن‌ها p53 است که در تنظیم چرخهٔ سلولی نقش دارد (۱). فعال شدن p53 سبب القاء یا مهار بیش از ۱۵۰ ژن دیگر می‌گردد (۲).

اولین بار لین و کرافورد در سال ۱۹۷۹ ، p53 را یک پروتئین سلولی که به آنتی‌ژن T ویروس SV40 متصل می‌گردد ، توصیف نمودند (۳). ۱۰ سال بعد فینالی و همکاران نشان دادند که نوع وحشی p53 [۱] مهار کنندهٔ رشد و تمایز سلول است (۴). جایگاه کروموزومی ژن p53 توسط میلر در سال ۱۹۸۶ مشخص شد (۱). ژن p53 روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ قرار دارد. این ژن از ۱۱ اگزون و ۱۰ اینترون تشکیل شده است.

در برخی از سرطان‌ها مانند سرطان کولون تقریباً تا ۵۰درصد موارد در ژن p53 جهش دیده می‌شود که حدود ۸۷درصد موارد جهش‌ها در اگزون‌های ۵ تا ۸ هستند (۵). جهش‌های p53 عمدتاً به صورت حذف [۲] ، دخول [۳] جهش نقطه‌ای [۴] اتفاق می‌افتد. بیش از ۹۰ درصد جهش‌های p53 در بین کدون‌های ۳۰۷-۱۱۰ در منطقه‌ای که شامل اگزون‌های ۸-۵ است بروز می‌کنند (۶). در برخی از سرطان‌ها اغلب جهش در ناحیهٔ خاصی از ژن p53 بروز می‌کند. برای مثال در هپاتوسلولار کارسینوما جهش اغلب در کدون ۲۴۹ از اگزون ۷ ژن p53 مشاهده می‌شود. در حالی که در سرطان معده تاکنون چنین وضعی مشاهده نشده است (۶). جهش در ژن P53 یک عامل پیش‌آگهی‌دهندهٔ مهم است. سرطان‌های دارای جهش در ژن p53 پیش‌رونده بوده و بیمار دارای طول عمر کمتری نسبت به بیمارانی که در ژن p53 آنها جهش دیده نشده است ، می‌باشد (۷).

آدنوکارسینومای معده دومین سرطان شایع پس از سرطان ریه در جهان است. برآورد می‌شود که سالانه ۷۵۵٬۵۰۰ مورد جدید شناسایی شود. نیمه دوم قرن بیستم در سراسر دنیا با کاهش بروز سرطان معده و میزان مرگ و میر در اثر این نوع سرطان همراه بوده است (۸). حدود ۸۷۰٬۰۰۰ مورد مرگ در اثر بیماری سرطان معده در سال ۲۰۰۰ اتفاق افتاده است که تقریباً ۱۲ درصد کل مرگ و میر ناشی از سرطان را شامل می‌شود (۹).

بروز این بیماری در برخی ازنقاط دنیا در نتیجهٔ اصلاح رژیم غذایی و روش‌های آماده سازی غذا درحال کاهش است (۱۰). اگرچه بروز سرطان معده در اواخر قرن گذشته کاهش داشته است. اما این کاهش محدود به سرطان بخش‌های تحتانی معده می‌گردد. تعداد موارد جدید با سرطان ناحیه پروکسیمال معده وآدنوکارسینومای محل اتصال مری و معده از اواسط دههٔ ۱۹۸۰ به طور محسوسی افزایش نشان می‌دهد (۱۱).

درسال ۱۹۶۵ لورن از نظربافت‌شناسی دو نوع آدنوکارسینومای معده را شرح داد. یکی روده‌ای [۵] و نوع دوم منتشر [۶] که الگوی بهتری را برای درک اتیولوژی این بیماری ارایه می‌کند (۱۲). تقریباً ۹۰ درصد سرطان معده از نوع

[۱] *wild type*
[۲] *deletion*
[۳] *insertion*
[۴] *point mutation*
[۵] *intestinal*
[۶] *diffuse*

Archive of SID

www.SID.ir

آدنوکاسینوما است (۱۳).

میزان بروز سرطان معده با افزایش سن بالا می‌رود. شروع بیماری در بیشتر بیماران بین ۵۰ تا ۷۰ سالگی است. موارد کمتر از ۳۰ سال بسیار نادر هستند. سرطان غیرکاردیا در مردان تقریباً دو برابر زنان است (۱۴).

نواحی در معرض خطر از نظر میزان بروز سرطان معده شامل چین و بخش عمده‌ای از مرکز و جنوب آمریکا است (۱۵). بیشترین میزان بروز سرطان معده در ژاپن ، امریکای جنوبی ، شرق اروپا و نژادهایی در خاورمیانه یافت می‌شود. در شیلی و کاستاریکا میزان مرگ ومیر بر اثر سرطان معده ۴۰ در صد هزار نفر می‌باشد. درحالی که درمناطق با بروز کم مانند نیوزیلند و استرالیا میزان مرگ ومیر ۱۰ در صد هزار نفر است (۱۶). بالاترین میزان گزارش شده در ایران مربوط به اردبیل است. در این منطقه سرطان معده یک سوم کل سرطان‌های اردبیل را شامل می‌شود (۱۷).

این مطالعه به منظور تعیین جهش در ژن P53 در بیماران مبتلا به سرطان معده مراجعه کننده به سه بیمارستان در تهران انجام شد.

مواد و روش‌ها

طی سال ۱۳۸۱ ، ۴۴ نمونه بیوپسی معده از بیمارانی که سرطان معده در آنها به اثبات رسیده بود از سه بیمارستان حضرت رسول (ص) ، بیمارستان فیروزگر و بیمارستان دکترشریعتی تهران جمع‌آوری شد.

از قالب‌های پارافینی این نمونه‌ها به وسیله دستگاه میکروتوم دو برش به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه گردید. این قطعات توسط گزیلول پارافین‌زدایی شدند. سپس برش‌ها با اتانول مطلق شستشو داده شدند. به هر نمونه ۰/۵ml محلول لیزکننده حاوی ۱۰۰ میلی مولار tris-HCl ، ۴ میلی‌مولار EDTA (PH=۸) ، ۰/۱ درصد تریتون X100 و ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K با غلظت ۱۵ mg/ml اضافه شد. نمونه‌ها یک شب در ۵۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از این مدت نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد.

در میکروتیوب PCR ، ۱ µl از هر دو آغازگر[۱] جلو و معکوس[۲] با غلظت ۵۰ pmol ، ۰/۵ µl از DNA پلیمراز ۵ unit/µl[۳] ، ۰/۲ µl از دزاکسی نوکلئوتیدهای با غلظت ۱۰ mmol ، ۵ µl بافر PCR ۱۰ X حاوی $MgCl_2$ ، DNA نمونه با غلظت ۱۰۰ ng و تا حجم ۵۰ µl از آب مقطر استریل ریخته شد.

دستگاه چرخهٔ حرارتی[۴] برای ۳۵ دور به این ترتیب تنظیم شد. برای اگزون‌های ۶ و ۷ یک دقیقه در ۹۴ درجه ، یک دقیقه در ۶۰ درجه و یک دقیقه در ۷۲ درجه ، برای اگزون۸ یک دقیقه در ۹۴ درجه ، یک دقیقه در ۵۸ درجه و یک دقیقه در ۷۲ درجه و برای اگزون ۵ یک دقیقه در ۹۴ درجه ، یک دقیقه در ۵۵ درجه و یک دقیقه در ۷۲ درجه.

آغازگرهای مورد استفاده در این بررسی از شرکت Tib Molbiol آلمان تهیه شدند.

EX5A(152bp)	5´-ttcctcttcctgcagtactc-3´	
	5´-tccgtcatgtgctgtgactg-3´	
EX6(132 bp)	5´-gccatctacaagcagtcaca-3´	
	5´-gccagacctaagagcaatca-3´	
EX7(136 bp)	5´-ttgtctcctaggttggctct-3´	
	5´-caagtggctcctgacctgga-3´	
EX8(149 bp)	5´-ctgcttgcttacctcgctta-3´	

برای انجام SSCP[۵] ، ۵ µl از محصول PCR را با ۲۰ µl از محلول حاوی ۹۵ درصد فرمامید در آب ، ۲۰mmol/l

[۱] *primer*
[۲] *forward & reverse*
[۳] *Ampli Sense, Russia*
[۴] *Eppendorf Master cycler 5330*
[۵] *Singel Strand Conformation Polymorphism*

Archive of SID
www.SID.ir

Na_2EDTA ، ۰/۵ g/l بروموفنل بلو مخلوط شد و ۵ دقیقه در ۹۶ درجه قرار داده شد. پس از این مدت برای جلوگیری از اتصال مجدد دو رشتهٔ DNA ، بلافاصله در ظرف حاوی یخ قرار داده شدند .

الکتروفورز در حرارت اتاق بر روی ژل آکریلامید با غلظت ۱۲/۵ درصد به مدت ۸ ساعت با ولتاژ ۷۰ انجام شد. باندهای DNA به روش نیترات نقره به این صورت رنگ شدند. ۵ دقیقه در محلول اتانول-اسیداستیک-آب (به نسبت ۳۰-۱۰-۶۰) ، ۴۰ دقیقه در محلول نیترات نقره ۱ g/l ، ۲۰دقیقه در محلول هیدروکسید سدیم ۱۵ g/l و فرمالدئید ۱/۵ g/l در انتها برای توقف و نگهداری ژل ، در محلول ۵ درصد اسیداستیک قرار داده شد.

در این مطالعه از نرم‌افزار آماری SPSS-10 و آزمون‌های آماری تی ، کای‌اسکوئر و آزمون دقیق فیشر استفاده گردید. ضریب اطمینان مطالعه ۹۵ درصد (α=۰/۰۵) بوده است.

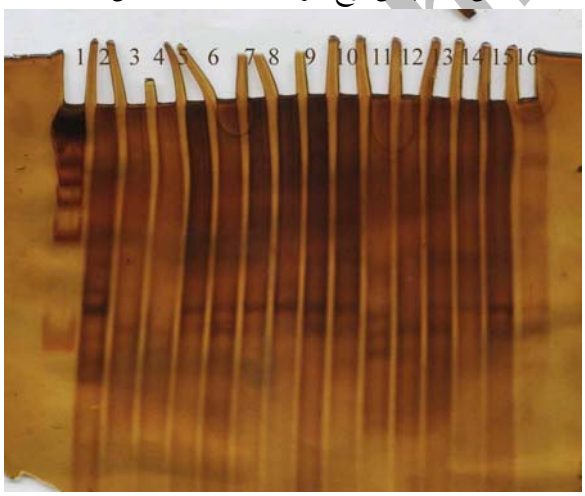
یافته‌ها

از ۴۴ بیمار مبتلا به سرطان معده ۳۱ نفر مرد (۷۰/۵درصد) و ۱۳ نفر زن (۲۹/۵درصد) بودند. سن گروه مردان از ۳۴ سال تا ۸۴ سال (میانگین ۱۴±۵۹/۶) و سن گروه زنان از ۵۰ تا ۷۶ سال (میانگین ۸/۵±۶۳/۷) بود. کم سن‌ترین بیمار ۳۴ سال و مسن‌ترین بیمار ۸۴ سال داشت. میانگین سنی کل بیماران ۱۲/۷±۶۰/۸ سال بود. براساس نوع سرطان ۳۶ مورد از نوع روده‌ای (۸۱/۸درصد) و ۵ مورد (۱۱/۴درصد) از نوع منتشر بودند. سه نمونه را با اطلاعات موجود نتوانستیم در دو گروه فوق طبقه‌بندی کنیم.

میانگین سنی بیماران نوع روده‌ای ۱۲/۷±۶۱/۷ و میانگین سنی بیماران نوع منتشر ۱۶/۰۴±۵۵/۴ بود. طی آزمون تی ارتباط معنی‌داری بین سن و نوع سرطان مشاهده نشد.

از ۲۸ مرد ۲ نفر به نوع منتشر (۷/۲درصد) و ۲۶ نفر به نوع روده‌ای (۹۲/۸درصد) مبتلا بودند. از ۱۳ نفر زن ۳ نفر نوع منتشر (۲۳/۱درصد) و ۱۰ نفر نوع روده‌ای (۷۶/۹درصد) داشتند. طبق آزمون دقیق فیشر ارتباط معنی‌داری بین نوع سرطان و جنس مشاهده نشد. ۹ نمونه پس از الکتروفورز دارای باندهای متفاوت با سایر نمونه‌ها و نمونه طبیعی بودند. PCR و SSCP برای هر ۹ مورد تکرار شد و نتایج قبلی تایید شدند. یک جهش در اگزون ۵ ، دو جهش در اگزون ۶ ، سه جهش در اگزون ۷ (تصویر ۱) و سه جهش در اگزون ۸ مشاهده شد. از این ۹جهش ۷ مورد مربوط به سرطان از نوع روده‌ای و ۲ مورد از نوع منتشر بودند. دو جهش منتشر در اگزون‌های ۶ و ۸ دیده شد و هیچ جهشی در اگزون‌های ۵ و۷ مشاهده نشد. در نوع روده‌ای در هر چهار اگزون جهش دیده شد. میانگین سنی افرادی که در چهار اگزون ۸-۵ آنها جهش مشاهده شد ، ۱۷/۶±۵۴/۲ سال بود. کم‌سن‌ترین فردی که جهش در آن مشاهده شد ۳۵ سال و مسن ترین آنها ۸۲ سال داشت.

طبق آزمون کای‌اسکوئر ارتباط معنی‌داری بین جنس و جایگاه جهش ، همچنین نوع سرطان و جایگاه جهش‌دیده‌نشد.



تصویر ۱ : الکتروفورز SSCP محصولات اگزون ۷
چاهک ۵-۶-۸-۹-۱۰-۱۱-۱۳-۱۵-۱۶ :
حرکت الکتروفورتیک طبیعی
چاهک ۱۱ :
محصول PCR اگزون ۷ که حرکت الکتروفورتیک غیرطبیعی دارد
چاهک ۱ : مارکر وزن مولکولی
چاهک ۲ : نمونه دناتوره نشده
چاهک ۳-۴-۱۴ : تکرار شدند
(آکریلامید۱۲/۵ درصد ، ۱۵درجه سانتی‌گراد ، ۸ ساعت در ۷۰ولت)

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

ایجاد سرطان یک فرایند چند مرحله‌ای است که شامل تغییرات ژنتیکی در ژن‌های بوجود آورندهٔ سرطان و ژن‌های سرکوب کنندهٔ سرطان نیز می‌شود. شایع‌ترین تغییراتی که در ارتباط با سرطان مشاهده شده است مربوط به ژن p53 به‌ویژه در سرطان معده است (۱۸).

سرطان معده یکی از شایع‌ترین انواع سرطان در ایران است. حدس زده می‌شود که همانند اغلب نقاط دنیا دومین سرطان شایع در ایران باشد. در بعضی از مناطق ایران مانند اردبیل سرطان معده شایع ترین نوع سرطان است (۱۷). .همچنین در جنوب شرقی دریای خزر (استان گلستان) سرطان مری بسیار شایع است (۱۹). این مناطق می‌توانند از نظر یافتن علل این دو نوع سرطان بسیار با اهمیت باشند. با توجه به گزارش‌های فراوان مبنی بر افزایش سرطان ناحیهٔ کاردیای معده (۲۰) ، استان گلستان از نظر مطالعات آینده‌نگر بسیار حائز اهمیت است.

در مطالعهٔ حاضر از ۴۴ نمونه ۹ مورد جهش (۲۰/۵درصد) مشاهده گردید. این میزان تقریباً مشابه نتایج منتشر شده توسط برخی از محققین مانند وانگ و همکاران که در تایوان انجام شده ، می‌باشد (۲۱). یامادا و همکاران در ۱۹ مورد سرطان معده اولیه هیچگونه جهشی در p53 مشاهده نکردند (۲۲). در یک مطالعه میزان جهش p53 در سرطان معده اولیه ۲۵ درصد و در سرطان معده پیشرفته ۴۲ درصد به‌دست آمد (۲۳). اما لوئینتی و همکاران میزان جهش p53 را حتی در سرطان پیشرفته معده ، بیش از ۲۶ درصد به‌دست نیاوردند (۲۴). یک گزارش از ایتالیا میزان بالایی از جهش در ژن p53 (۶۶/۷درصد) نشان می‌دهد (۲۵).

گزارش‌ها در مورد میزان جهش ژن p53 نه تنها در سرطان معده بلکه در سایر سرطان‌ها نیز متفاوت است. در تحقیقی که در ایران بر روی ژن p53 در سرطان مری انجام شد ۵۴ مورد جهش در ۷۴ نمونه (۶۵درصد) دیده شد (۲۶). منگ و همکاران ۶۱ درصد جهش در اگزون‌های ۸-۵ ژن p53 را در سرطان اولیهٔ پستان گزارش نموده‌اند (۲۷). جاسم و همکاران این میزان را در سرطان ریه ۲۹ درصد گزارش کردند (۲۸). از نظر فراوانی جهش به تفکیک هر اگزون در مطالعهٔ جاسم این مقادیر حاصل شدند ، ۳۳ درصد اگزون ۵ ، ۲۲ درصد اگزون۶، ۱۶ درصد اگزون ۷ و ۲۹ درصد اگزون ۸. اختلاف در میزان جهش‌های p53 در مطالعات مختلف می‌تواند به علت تفاوت‌های بافت‌شناسی ، منبع نمونه و نواحی متنوع جغرافیایی باشد. از سوی دیگر حساسیت روش SSCP فوق‌العاده وابسته به شرایط محیطی آزمایش و مهارت آزمایش کننده است. مجموعهٔ این عوامل می‌توانند سبب تفاوت در نتایج شوند.

هر چند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین سن و نوع سرطان وجود نداشت ، اما میانگین سنی بیماران نوع منتشر از نوع روده‌ای پایین‌تر است. این نکته با مطالعهٔ پارکین و همکاران (۱۴) که معتقد بودند نوع منتشر بیشتر به ژنتیک و نوع روده‌ای بیشتر به عوامل محیطی وابسته هستند تطابق دارد. زیرا به طور عمده اختلالات با منشاء وراثتی در سنین پایین‌تر بروز می‌کنند. میانگین سنی مردان (۵۹/۶) در مقایسه با زنان (۶۳/۷) پایین‌تر است. توجیه این نتیجه علاوه بر مسایل ژنتیکی شاید به این علت باشد که مردها بیشتر در معرض عوامل خطر قرار دارند. با توجه به کم بودن تعداد موارد جهش شاید بحث در مورد ارتباط جایگاه جهش و سن بسیار قابل اعتماد نباشد. اما از نظر مقایسه‌ای می‌توان گفت که میانگین سنی افرادی که در اگزون ۷ آنها جهش مشاهده شده است از سایر اگزون‌ها پایین‌تر است. این نکته جای کار بیشتری دارد. با توجه به این که اگزون ۷ دارای نقاط داغ از نظر جهش است و ارتباط جهش در کدون ۲۴۹ آن در هپاتوسلولار کارسینوما و

Archive of SID
www.SID.ir

آفلاتوکسین به اثبات رسیده است (۶) ، در صورت بررسی‌های بیشتر احتمال یافتن یکی از علل مهم بروز سرطان معده در برخی از نقاط ایران وجود دارد.

تشکر و قدردانی

این طرح به‌عنوان بخشی از پایان نامهٔ دورهٔ Ph.D رشتهٔ بیوشیمی بالینی مورد حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران قرار گرفته است. در اینجا بر خود لازم می دانیم از گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران بالاخص مدیر محترم گروه جناب آقای دکتر فیروزرای ، از مسؤولین و کارکنان محترم مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران به‌ویژه جناب آقای دکتر کرباسیان ، آزمایشگاه بیوشیمی دانشکدهٔ بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران بالاخص جناب آقای دکتر جلالی ، آزمایشگاه پاتولوژی بیمارستان فیروزگر به‌ویژه سرکار خانم دکتر هاشمی که همگی در انجام و پیشبرد این طرح همکاری داشته‌اند ، تشکر و قدردانی نماییم.

منابع

1) Miller C, Mohandas T, Wolf D, Prokocimer M, Rotter V, Koeffler HP. Human p53 gene localized to short arm of chromosome 17. Nature. 1986;319: 783-784.

2) Appella E, Anderson CW. Post-translational modification and activation of p53 by genotoxic stresses. Eur J Biochem. 2001; 268: 2764-2772.

3) Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40 transformed cells. Nature. 1979; 278: 261-263.

4) Fainally CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 proto-oncogene an act as a suppressor of transformation. Cell. 1989; 57: 1083-1093.

5) 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 Genetice Cytogenetics, 2001;129: 40-42.

6) 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; 88:1565-1573.

7) Manke-Pluymers MB, Hop WC, Mulder AH, Tilanus HW. DNA ploidy as prognostic factor for patients with an adenocarcinoma in Barrett's esophagus. Hepatogastroenterology. 1995;42: 786-788.

8) Howson CP, Hiyama T, Wynder EL. The decline of gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. Epidemiol Rev. 1986;8: 1-27.

9) Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of wordwide incidence of eighteen major cancers in 1985. Implications for prevention, and projection of future burden. Int J Cancer. 1993; 54: 594-606.

10) Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics. CA Cancer J Clin. 1999; 49: 8-31.

11) Blot WJ, Devesa SS, Kneller RW, Fraumeni JF. Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. JAMA. 1991; 265: 1287-1289.

12) Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal – type carcinoma. Acta Pathol. 1965; 64: 31-5.

13) Karpeh MS, Kelsen P, Tepper JE. Cancer of the stomach. Devita VT, Hellman S, Rosenbery SA. Cancer principles and practice of oncology. Vol2. 6th edition.Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins. 2001; 1092-1126.

14) Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymound L, Young J. Cancer incidence in five continents. vol VII. International Agency for Research on Cancer. Lyon. 1997; 922-924 textbook of pathology. Oxford University press. Oxford. 1992; 1165-1173.

15) Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymound L, Young J. Cancer incidence in five continents. vol VII. International Agency for Research on Cancer.

Archive of SID

www.SID.ir

Lyon. 1997: 822-823.
16) Mettlin C. Epidemiologic studies in gastric adenocarcinoma. In: Douglass HJ. Ed. Gastric cancer. New York. Churchill Livinstone. 1988: 1.
17) Sadjadi A, Malekzadeh R, Derakhshan MH, Sepehr A, Nouraie M, Sotoudeh M, et al. Cancer occurrence in Ardabil: results of a population-based cancer registry from Iran. Int J Cancer. 2003; 107: 113-118.
18) 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; 69: 943-946.
19) Ghadirian P, Thouez JP, Simard A. Geography of cancer of the esophagus. Soc Sci Med. 1988; 27(9): 971-85.
20) Zheng T, Mayne ST, Holford TR, Boyle P, Liu W, Chen Y, et al. The time trend and age – period-cohort effects in incidence of adenocarcinoma of the stomach in Connecticut from 1955-1989. Cancer. 1993; 72: 330-340.
21) Wang JY, Lin SR, Hsieh JS, Hsu CH, Huang YS, Huang TJ. Mutations of p53 gene in gastric carcinoma in Taiwan. Anticancer Res. 2001; 21: 513-520.
22) 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. 1988; 48: 3554-3560.
23) 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; 54(5): 759-764.
24) 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; 29 (7): 702-709.
25) Shiao YH, Rugge M, Correa P, Lehmann HP, Scheer WD. P53 alteration in gastric precancerous lesions. Am J Pathol. 1994; 144: 511-517.
26) Biramijamal F, Allameh A, Mirbod P, Groene HJ, Koomagi R, Hollstein M. Unusual profile and high prevalence of p53 mutations in esophageal squamous cell carcinomas from northern Iran. Cancer Res. 2001; 61:3119-3123.
27) Meng L, Lin L, Zhang H, Nasseri M, Morales A R, Nadji M. Multiple mutations of the p53 gene in human mammary carcinoma. Mutation Research. 1999; 435: 263-269.
28) Jassem E, Nikliński J, Rossel R, Niklińska W, Jakóbkiewicz J, Monzo M, et al. Type and localisation of p53 gene mutations a report on 332 non-small cell lung cancer patients. Lung Cancer. 2001; 34: s47-s51.

Archive of SID

www.SID.ir