جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و یکم ویژه نامه ۱ اسفند سال ۱۳۹۰ (۳۱۰-۳۱۷)

بررسی ارتباط پلی مرفیسم ژن Fas/CD95 و آدنوکارسینوم معده

بهمن فضلی[۱]
وحید حسینی[۲]
زهرا حسینی خواه[۳]
ابولقاسم عجمی[۱]
علیرضا رفیعی[۱]
قاسم جان بابایی[۳]
امید عمادیان[۵]

چکیده

سابقه و هدف: آپوپتوز یک مکانیسم فیزیولوژی مرگ برنامه‌ریزی شده می‌باشد و اختلال در تنظیم آن می‌تواند به فرایند کارسینوژنز یا سرطان منجر شود. بروز پلی مرفیسم‌های عملکردی در ژن Fas می تواند منجر به تغییر فعالیت عوامل نسخه‌برداری شده و باعث تغییر خطر بروز سرطان گردد. جانشینی A→G در موقعیت ۶۷۰- باعث از بین رفتن جایگاه اتصال عامل نسخه‌برداری STAT1 می‌شود .این مطالعه با هدف بررسی ارتباط واریانت‌های ژنتیکی حاصل از پلی مرفیسم Fas-A670G با استعداد ابتلاء به سرطان معده انجام گردید.

مواد و روش‌ها: DNA ژنومی از ۱۵۹ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم معده و ۱۷۰ نفر شاهد سالم که از نظر سنی، جنس و نژاد با بیماران مطابقت داشتند، استخراج شد. تشخیص آدنوکارسینوم معده بر اساس معیارهای بالینی، آندوسکوپی و تأیید پاتولوژی انجام گرفت. تعیین ژنوتیپ حاصل از پلی‌مرفیسم A670G– در جمعیت مورد مطالعه با روش RFLP-PCR انجام گردید. ارتباط بین ژنوتیپها و یا آلل‌ها با بیماری با استفاده از آزمون رگرسیون لوجستیک بررسی شد و میزان نسبت شانس(Odd ratio) با سطح اطمینان کمتر از ۰/۰۵ به‌دست آمد.

یافته‌ها: یافته‌های این‌تحقیق نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین سنی بیماران و افراد شاهد می‌باشد (۱۲ ± ۶۲/۱۴ و ۱۴/۲ ± ۵۸/۹۳، p=۰/۹). فراوانی آلل A در بیماران سرطان معده ۵۸/۶ درصد و درگروه سالم ۶۱/۸ درصد بود و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه از این نظر دیده نشد (p= ۰/۴۷). حال آن‌که اختلاف معنی‌داری بین بیماران و افراد شاهد از نظر فراوانی ژنوتیپی دیده شد. به‌طوری‌که ژنوتیپ هتروزیگوت AG در گروه بیماران ۴۲/۴ درصد در مقابل ۵۱/۸ درصد در افراد کنترل بود که تفاوت معنی‌داری نشان داد (p=۰/۰۴۱). به عبارت دیگر، وجود هتروزیگوتی در A670G باعث کاهش خطر بروز سرطان معده افراد بیمار حامل آن می‌شود (R=۰/۵) و دامنه اطمینان، ۰/۹۴-۰/۲۶).

استنتاج: این تحقیق نشان داد که پلی‌مرفیسم A670G– در پروموتور ژن Fas با خطر سرطان معده مرتبط می‌باشد و نشان می‌دهد بروز تغییرات ژنتیکی در سیستم Fas/FasL می‌تواند با اختلال در فرآیند آپوپتوز در اتیولوژی سرطان مؤثر واقع شود.

واژه های کلیدی: سرطان معده، پلی مرفیسم، آپوتوز– RFLP- PCR

مقدمه

سرطان یکی از معضلات اساسی نظام سلامت در سراسر جهان محسوب می‌شود به طوری‌که سرطان به عنوان سومین علت مرگ و میر در جهان در تمام سنین و به همراه بیماری‌های قلبی عامل اصلی مرگ در سنین

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۵۱۲- ۸۸ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مولف مسئول: علیرضا رفیعی– ساری: ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E mail: rafiei1710@gmail.com
۱. گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۲. گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۳. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۴. گروه داخلی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۵. گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت : ۹۰/۶/۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۰/۷/۱۳ تاریخ تصویب : ۹۰/۱۲/۸

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کهن‌سالی می‌باشد(۱). سرطان‌های دستگاه گوارش مهم‌ترین وحتی شایع‌ترین انواع سرطان در ایران و به ویژه در استان مازندران محسوب می‌شوند. دراین میان سرطان معده دومین سرطان شایع در جهان محسوب می‌شود(۲) که سالیانه بیش از یک میلیون نفر را به کام مرگ می‌کشد. این سرطان بجهت شیوع بالا و مرگ و میر زیاد دارای اهمیت به‌سزایی در استان مازندران می‌باشد(۳). هرچند تلاش‌های زیادی در جهت تشخیص و درمان مؤثر سرطان صورت گرفته است ولی از آن‌جا که سرطان معده معمولاً در مراحل تقریباً پیشرفته تشخیص داده می‌شود و عملاً به جهت عدم پاسخ مناسب به درمان‌های موجود دارای پیش‌آگهی خوبی نیست لذا تلاش‌های وافری می‌بایست در پیشگیری از سرطان و ه‌ویژه سرطان معده انجام شود. در این راستا نیاز به وجود مارکرهای کارآمد برای غربالگری جمعیت‌های در معرض خطر زیاد یکی از اساسی‌ترین نیازهای فوری در جهت تشخیص زودهنگام سرطان و برقراری مراقبت‌های لازم می‌باشد.

بروز سرطان معده مستلزم رخداد وقایع متعدد و پشت سر هم می‌باشد که از مخاط طبیعی معده شروع و به گاستریت سطحی، گاستریت آتروفی، متاپلازی روده‌ای، دیسپلازی و در نهایت به آدنوکارسینوم نوع روده ای منتهی می‌شود(۳). گرچه ارتباط عوامل خطیر نظیر رژیم غذایی، استعمال دخانیات، مصرف الکل و عفونت‌ها به ویژه عفونت با هلیکوباکتر پیلوری با بروز سرطان معده تا حدودی شناخته شده است ولی هنوز هم اتیالوژی سرطان معده نامشخص می‌باشد(۴،۳). مشاهده این واقعیت که تنها عده معدودی از افرادی مواجهه با این عوامل خطر به سرطان معده مبتلا می‌شوند بیانگر این واقعیت می‌باشد که استعداد ابتلا به سرطان متفاوت می‌باشد.

از دیگاه مولکولی پیدایش تومور یک فرآیند چند مرحله‌ای می‌باشد که از اختلال در تنظیم و کنترل روندهای طبیعی آپوپتوز و تکثیر سلولی آغاز می‌گردد(۵،۶). آبشار آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی از دو مسیر داخلی و خارجی آغاز می‌شود. مهمترین واقعه در آغاز میسر خارج سلولی آپوپتوز تعامل مولکول‌های Fas و لیگاند آن (FasL) است. تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که ابتلاء به عفونت H. pylori می‌تواند با افزایش بیان FasL در سطح لنفوسیت‌های T واردشده به مخاط معده و همچنین افزایش بیان Fas در سطح سلول‌های اپی تلیال معده موجب فعال کردن سیستم Fas و FasL و در نتیجه آپوپتوز گردد(۷). ارتباط تنگاتنگی بین بیان نابجا و اختلال در تنظیم ژن‌های آپوپتوز در بسیاری از انواع بیماری‌های انسان از جمله سرطان دیده شده است. اخیراً کرایکو[1] و همکاران نشان دادند که بیان گیرنده Fas و لیگاند پروتئینی آن (FasL) در سطح سلول‌های مخاط معده بیماران مبتلا به سرطان معده کاهش معنی‌داری می‌یابد(۸).

یکی از نشانه‌های بارز بد خیمی توانایی مقاومت به آپوپتوز می‌باشدکه اغلب در طی موتاسیون سوماتیک در ژن مولکول‌های دخیل در فرآیند آپوپتوز رخ می‌دهد(۹). ناحیه پروموتور ژن Fas یک ناحیه پلی‌مرفیک می باشد به‌طوری که پلی مرفیسم A670G یا (rs 1800682) که در اثر جانشینی باز آلی G به A ایجاد می‌شود به‌واسطه اختلال در جایگاه اتصال عامل نسخه‌برداری STAT-1، باعث کاهش فعالیت پروموتور و در نتیجه کاهش بیان ژن Fas در سطح سلولهای اپی تلیال می‌شود(۱۰،۱۱). به‌علت این‌که اختلال در روندهای کنترلی آپوپتوز یا مرگ سلولی نقش محوری در ایجاد سرطان دارد این مطالعه با هدف بررسی ارتباط واریانت‌های ژنتیکی حاصل از پلی‌مرفیسم ژن Fas-A670G با سرطان معده انجام گردید.

مواد و روش ها

این مطالعه مورد- شاهدی با هدف تعیین ارتباط ژنوتیپ‌های Fas با آدنوکارسینوم معده در سال ۱۳۹۰-۱۳۸۷ انجام گرفت. جمعیت مورد مطالعه شامل ۱۵۹

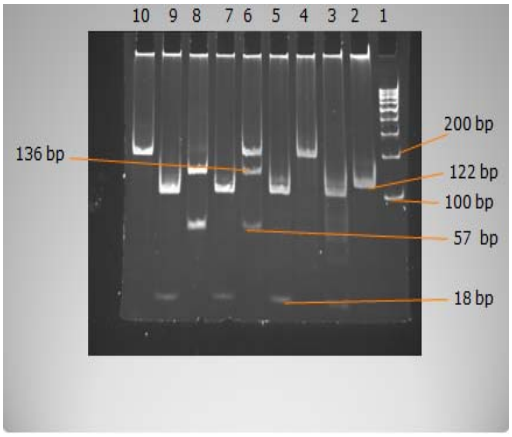
1. Gryko

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم معده بود که از تیرماه ۸۷ تا اسفند ماه ۸۹ به پلی‌کلینیک طوبی و یا بیمارستان امام‌خمینی ساری و درمانگاه شهید رجائی بابلسر مراجعه می‌کردند. تشخیص آدنوکارسینوم معده براساس برنامه بین‌المللی طبقه بندی بیماری‌ها برای سرطان شناسی[1] و معیارهای لورن[2] (۱۲) از لحاظ بالینی، آندوسکوپی و تأیید پاتولوژی انجام گرفت. گروه شاهد شامل ۱۷۰ نفر سالم می‌باشد که از نظر بالینی و یافته‌های آندوسکوپی فاقد سرطان بودند و از نظر سن، جنس، منطقه جغرافیایی و نژاد با بیماران مطابقت داشتند.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ Fas:

داده‌های جمعیت‌شناختی نمونه‌های مورد مطالعه، خصوصیات پاتولوژیک و یافته‌های بالینی بیماران توسط چک‌لیست جمع‌آوری شد. سپس با اخذ رضایت آگاهانه از افراد مورد مطالعه مقدار ۱۰-۵ سی سی خون در لوله‌های حاوی ۵۰mM ماده ضد انعقاد EDTA اخذ گردید. DNA ژنومی با استفاده از روش تغییریافته salting-out استخراج گشت و میزان DNA هر نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر UV سنجیده شد و مقدار هر نمونه در ۵۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر تنظیم گردید. برای بررسی ژنوتیپ‌های پلی مرفیسم‌های A/G -670 Fas از(۱۳) روش RFLP-PCR با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی 5′ - A TAG CTG GGG CTA TGC GATT -3′ و CAT TTG ACT GGG CTG TCC AT -3′ 5′- و بر اساس برنامه دمایی زیر استفاده شد. برای انجام PCR، ۵۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۲۵ پیکو مول از هر کدام از پرایمرهای مربوطه، ۰/۱۲ میلی‌مول dNTP، ۲۵ میلی مول MgCl2، ۱/۲۵ واحد از آنزیم پلی‌مراز (فرمنتاز، ایتالیا) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با هم مخلوط شدند. سپس تکثیر به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دستگاه ترمال سایکلر (اپندروف، آلمان) بر اساس پروفایل دمایی، دناتوراسیون اولیه ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ سیکل در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و گسترش نهایی به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد و قطعه ۱۹۳ جفت بازی تولید شد. جهت هضم آنزیمی ۱۰ میکرولیتر محصول PCR با ۰/۲ میکرو لیتر آنزیم ScrFI (۱۰U /µL) در حجم واکنش ۱۵ میکرولیتر در دمای ۶۵ درجه به مدت ۱۵ ساعت هضم گردید. سپس محصول هضم شده را برای مشاهده بر روی ژل SDS-PAGE ۱/۵ درصد برده و بعد از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید توسط دستگاه ترانس ایلومیناتور آشکارسازی باندها صورت گرفت به‌طوری که آلل G دو باند ۵۷ و ۱۳۶ جفت بازی، شکسته می‌شود در حالی‌که در آلل A این آنزیم جایگاه شکست ندارد (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: قطعات هضم شده ژن Fas -670 بر روی ژل پلی اکریلامید ۱۰ درصد، در این شکل DNA ladder در کنار قطعات هضم شده ژن Fas -670 را نمایش می دهد (ستون ۱). ستون های ۴و۱۰ ژنوتیپ AA ، ستون ۶ ژنوتیپ AG

تجزیه و تحلیل آماری

برای ارزیابی فراوانی ژنوتیپ ها و آلل‌های حاصل از پلی‌مرفیسم A670G از روش مشاهده و شمارش

1. International Classification of Diseases for Oncology IX, code 151
2. Leuren

مستقیم قطعات تکثیر یافته ژنی استفاده شد. برای ارزیابی داده‌های کمی پس از اطمینان ازطبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده ازآزمون کولموگراف- اسمیرنوف، داده‌های کمی با استفاده از آزمون T مستقل و داده‌های کیفی با استفاده از تست های آماری مربع Chi و یا تست دقیق فیشر ارزیابی شدند. ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و یا آلل‌ها پلی‌مرفیسم Fas با بیماری و مراحل مختلف آن با استفاده از آزمون رگرسیون اوجستیک بررسی شد و میزان نسبت شانس[1] با خطای کمتر از ۰/۰۵ به‌دست آمد.

یافته ها

الف-ارزیابی یافته‌های اپیدمولوژیک و جمعیت شناختی در بیماران مبتلا به کانسر معده و افراد شاهد

در این مطالعه ۱۵۹ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم معده شامل ۸۴ (۵۲/۸۳ درصد) مرد و ۷۵ (۴۷/۱۷ درصد) زن با میانگین سنی ۱۲/۶ ± ۶۲/۱۴ سال و ۱۷۰ نفر شاهد سالم شامل ۹۸ (۵۷/۶۵ درصد) مرد و ۷۹ (۴۲/۳۵ درصد) با میانگین سنی ۱۴/۲ ± ۵۸/۹۳ سال شرکت داشتند. کم‌ترین و بیشترین سن در بیماران ۲۸ و ۸۶ سال و در افراد شاهد ۲۴ و ۸۷ سال بود. همان‌طور که جدول شماره ۱ نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین میانگین سن بیماران وافراد شاهدمشاهده نشد (p=۰/۹۹). همچنین اختلاف قابل توجهی بین گروه بیماران و گروه شاهد از نظر جنسی مشاهد نشد (p=۰/۳۷). وضعیت تأهل و شغل در بین دو گروه تفاوت معنی‌داری داشت به‌طوری‌که گرچه بیشترین جمعیت در هر گروه را افراد متاهل تشکیل می‌دادند با این حال فراوانی مجردین و افراد مطلقه در مبتلایان به سرطان معده بیشتر از افراد شاهد بود.

به منظور ارزیابی تأثیر احتمالی برخی از عوامل خطرهای شناخته شده معمول در بروز سرطان معده و جهت در نظر گرفتن تاثیر احتمالی آن‌ها در هنگام بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های حاصل از پلی‌مرفیسم A-670G و سرطان معده، عواملی نظیر سابقه فامیلی، مصرف نوشیدنی‌های داغ، سیگار، مصرف غذاهای آماده[2]، مصرف مواد غذایی شور (نظیر ماهی شور شده) و مصرف ترشیجات بین بیماران مبتلا به سرطان معده و افراد شاهد مقایسه شد. همان‌طور که جدول شماره ۱ نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری در سابقه فامیلی سرطان معده (p=۰/۰۰۳۴)، استعمال دخانیات (p=۰/۰۱۵)، استفاده از نوشیدنی‌های داغ (p<۰/۰۰۰۱)، وجود دارد درحالی‌که میزان مصرف ترشیجات (p=۰/۶۲) و ماهی شور (p=۰/۰۹) بین بیماران و افراد شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد. جالب این که مصرف غذاهای آماده یا فاست فود، در افراد شاهد بیشتر بیماران مبتلا به سرطان معده بود (p=۰/۰۳۷).

جدول شماره ۱: داده های جمعیت شناختی و اپیدمولوژیک بیماران مبتلا به سرطان معده و افرادشاهد سالم

	سرطان معده	شاهد	سطح معنی داری
سن	۶۲/۱۴ ±۱۲/۶	۵۸/۹۳±۱۴/۲	۰/۹
جنس (مرد/زن)	۷۵ /۸۴	۷۲/ ۹۸	۰/۳۶۷
تاهل			
مجرد	۶ (۴/۱)	۳ (۱/۹)	
متاهل	۱۳۶ (۹۳/۸)	۱۶۴ (۹۷/۶)	۰/۰۰۲
مطلقه	۳ (۲/۱)	۱ (۱۰/۵)	
شغل			
بیکار	۴ (۲/۷)	۱ (۰/۶)	
کارمند	۲۲ (۱۵)	۳۴(۲۰/۴)	۰/۰۰۱
خانه دار	۴۳(۲۹/۲)	۷۲ (۴۳/۱)	
سایر	۷۸ (۵۳/۱)	۶۰ (۳۶)	
سیگاری	۳۳(۲۰/۸)	۲۲ (۱۳)	۰/۰۱۵
نوشیدنی داغ	۷۰(۴۷/۹)	۳۷ (۲۲/۴۲)	<۰/۰۰۰۱
ماهی شور	۱۵ (۹/۴)	۱۴ (۸/۲)	۰/۰۹
غذاهای آماده	۲۹(۱۸/۲)	۳۹(۲۲/۹)	۰/۰۳۷
مصرف ترشیجات	۸۸(۵۵/۳)	۹۸(۵۷/۱)	۰/۶۲
سابقه خانوادگی	۳۴ (۲۱/۴)	۱۸ (۱۰/۷)	۰/۰۰۳

ب) تعیین واریان‌های ژنتیکی پلی مرفیسم A 670 G ژن Fas در کانسر معده

توزیع فراوانی آلل و ژنوتیپی پلی مرفیسم A670 G در ژن *Fas* در بیماران مبتلا به سرطان معده و افراد سالم در جدول شماره ۲ آمده است. توزیع فراوانی ژنوتیپی

1. Odd ratio

2. Fast food

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مرفیسم Fas -A670G در بیماران مبتلا به سرطان معده و افراد شاهد.

Fas-A670G	سرطان معده- n(%)	شاهد- n(%)	OR	95% CI	سطح معنی داری
ژنوتیپ					
AA	۵۹ (۳۷/۳)	۶۱ (۳۵/۹)	۱		
GA	۶۷ (۴۲/۴)	۸۸ (۵۱/۸)	۰/۵	(۰/۲۶-۰/۹۴)	۰/۰۴۱
GG	۳۲ (۲۰/۳)	۲۱ (۱۲/۴)	۰/۶۳	(۰/۳۳-۱/۲۲)	۰/۱۷
آلل					
670A	۱۵۸ (۵۸/۶)	۲۱۰ (۶۱/۸)	۱		
670G	۱۳۱ (۴۱/۴)	۱۳۰ (۳۸/۲)	۱/۱۲	(۰/۸۲-۱/۵۳)	۰/۴۷

حاصل از این پلی‌مرفیسم در افراد شاهد و بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم معده از قانون هاردی وینبرگ تبعیت می کرد (سطح معنی داری برای افراد شاهد (p=۰/۲۱) و برای بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم معده (P=۰/۱۱۲). همان‌طوری‌که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های حاصل از پلی‌مرفیسم A670G در بیماران مبتلا به سرطان معده با افراد شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد. به‌طوری‌که فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت GA در بیماران مبتلا به سرطان معده به‌طور معنی‌داری از افراد کنترل کمتر بود (۴۲/۴ درصد در مقابل ۵۱/۸ درصد، p=۰/۵) که نشان‌دهنده نقش محافظت‌کننده این پلی مرفیسم در برابر سرطان معده می‌باشد. درحالی‌که گرچه فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت AA در مقابل GG با کاهش خطر سرطان همراه بود ولی این اختلاف در بین دو گروه چشمگیر نبود (P= ۰/۱۷). برای بررسی ارزش محافظت‌کننده این پلی‌مرفیسم، آنالیز رگرسیون لوجستیک چند متغیره با تثبیت نمودن اثر متغییر مداخله‌گر یا عوامل همراه نظیر سن، جنس و ابتلا به هلیکوباکتر پیلوری انجام شد و نتایج نشان داد ژنوتیپ هتروزیگوت AG توان کاهش ابتلا به سرطان را تا ۵۰ درصد دارد. به‌طوری‌که این احتمال با سطح اطمینان ۹۵ درصد در جامعه به ۰/۹۴-۰/۲۶ برابر می شود. فراوانی آلل A در بیماران مبتلا به سرطان معده ۵۸/۶ درصد و در گروه سالم ۶۱/۸ درصد بود ولی اختلاف معنی‌داری بین دو گروه از این نظر دیده نشد(p=۰/۴۷). گرچه فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت GG در بیماران مبتلا به سرطان معده بیشتر از افراد شاهد بود (۳۷/۳ درصد در مقابل ۳۵/۹ درصد) ولی این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود (P= ۰/۱۷). همچنین مقایسه فراوانی آلل 670G در دو گروه نشان داد که گرچه فراوانی آللG در بیماران مبتلا به سرطان معده (۴۱/۴ درصد) اندکی از افراد شاهد (۳۸/۲ درصد) بیشتر است ولی این تفاوت از نظر آماری فاقد ارزش بود (p=۰/۴۷). همچنین آنالیز رگرسیون لوجستیک دو متغیره نشان داد این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (OR=۱/۱۲، با ۹۵ درصد سطح اطمینان و فاصله اطمینان ۱/۵۳-۰/۸۲).

بحث

مهم‌ترین یافته این مطالعه ارتباط پلی‌مرفیسم ژن Fas با آدنوکارسینوم معده می‌باشد. مطابق نتایج ما هر چند در فراوانی آلل‌های A وG و ژنوتیپ‌های هموزیگوت ,AA و GG در دو گروه بیماران مبتلا به سرطان معده و افراد کنترل تفاوت معنی‌داری دیده نشد ولی فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت AG در گروه بیماران به‌طور معنی‌داری تفاوت داشت. این نتیجه نشان داد که پلی‌مرفیسم ژن Fas -670 A/G می‌تواند با خطر سرطان معده ارتباط داشته باشد به‌طوری‌که ژنوتیپ AG در این ژن ممکن است فرد را در برابر ایجاد و پیشرفت سرطان معده محافظت نماید شانس ابتلاء به سرطان معده را به نصف تقلیل نماید. در پاتوژنز سرطان معده مجموعه پیچیده‌ای از تغییرات مولکولی رخ می‌دهد(۴). به‌همین دلیل علی‌رغم مطالعات متعدد در این زمینه، هنوز نیز سوالات اساسی بدون جواب باقی مانده‌اند(۱۴). شناسایی این تغییرات مولکولی می‌تواند در اتخاذ تدابیر مناسب درمانی و تشخیصی کمک نماید و در هدایت روش‌های درمانی به‌سمت درمان‌های هوشمند مؤثر واقع شود(۱۵). گرچه مطالعات قبلی نشان دادند که سرطان معده با افزایش بیان مولکول FasL و کاهش بروز Fas موجب فرار تومور از اثرات کشنده سیستم ایمنی می‌شوند(۱۶). ولی مطالعاتی که به بررسی نقش تغییرات

ژنی در نحوه بروز Fas و ساختار مولکولی آنها بپردازند بسیار کم می باشد.

ژن‌ها تنظیم کننده آپوپتوز عامل تأثیرگذار مهم در ایجاد سرطان می‌باشد. واکنش Fas/FasL به عنوان مسیر عمده‌ای در تنظیم مثبت آپوپتوز در سلول‌های و بافت‌ها محسوب می‌شود. مطالعات در انواع مختلف تومورها نشان داده است که تعدیل سیستم ایمنی میزبان به‌واسطه بیان Fas و یا FasL تأثیر به‌سزایی بر بقای بیمار دارد(۱۷). ملکول Fas از ملکول‌های کلیدی در شروع اپوپتوز محسوب می‌شود. ژن Fas روی بازوی بلند کروموزوم ۱۰ واقع شده است و پروتیئنی به طول ۳۲۵ اسید آمینه از دسته پروتیئن‌های غشایی نوع یک را رمزدهی می کند(۱۸). یکی از شگردهای سلول‌های سرطانی در فرار از چنگ نظارتی سیستم ایمنی مقاومت به آپوپتوز می‌باشد(۹). بروز موتاسیون در ساختار اولیه Fas یکی از مکانیسم‌های احتمالی در اختلال فرآیند آپوپتوز ناشی از Fas در سلول‌های توموری محسوب می‌شود، به‌طوری مطالعات تجربی بیانگر وقوع موتاسیون در ژن Fas در اغلب بدخیمی‌های انسانی نظیر سرطان ریه، ملانوم بدخیم و سرطان معده می‌باشد(۱۶).

پلی‌مرفیسم A670G- در ژن Fas با تخریب جایگاه اتصال عامل نسخه‌برداری STAT1 موجب کاهش فعالیت پروموتور و کاهش بیان Fas می شود. وجود ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مرفیسم ۶۷۰- در ژن Fas با سرطان معده در این مطالعه بیانگر کاهش خطر بروز سرطان در افراد هتروزیگوت AG می‌باشد(۱۰) و با نتایج مطالعه محققین چینی متفاوت می‌باشد که نتوانستند ارتباط معنی‌داری بین این پلی مرفیسم و سرطان معده را نشان دهند(۱۹). این امر می‌تواند ناشی از تأثیر نژاد و همین‌طور مواجهه با عوامل محیطی متفاوت باشد که نقش آن‌ها در روند سرطان‌زایی به اثبات رسیده است. کاهش خطر سرطان در بیماران مبتلا به سرطان معده دارای ژنوتیپ AG با نتیجه مطلعه تامسون و همکاران هم راستا می‌باشد که نشان داد مصرف چای سبز می‌تواند منجر به کاهش خطر بروز سرطان معده در مصرف کنندگان این نوع چای گردد(۲۰).

مطالعه در مورد ارتباط پلی‌مرفیسم‌های ژنی در Fas و خطر بروز سرطان معده بسیار اندک بوده و محدود به آسیای شرقی است. این مطالعات نتایج متناقضی به همراه داشتند به‌طوری که در دو مطالعه در چین ارتباطی بین وقوع این پلی مرفیسم‌های ژنی در ژن Fas و خطر بروز سرطان معده یافت نشد(۱۹،۲۱) ولی در مطالعه دیگر در چین، وقوع پلی‌مرفیسم در ژن Fas و FasL را به‌عنوان عامل خطر برای ابتلا به سرطان معده دانستند(۱۴). همچنین Hsu و همکاران آلل ۱۳۷۷A را در ژن Fas به عنوان عامل حفاظت‌دهنده در ایجاد و پیشرفت متاستاز نوع روده‌ای در ناحیه آنتروم معده معرفی کردند(۲۲). از آن‌جا که قدرت ارتباط بستگی زیادی به جمعیت مورد مطالعه دارد انجام مطالعه با جمعیت بیشتر در نژادهای دیگر به منظور تأیید این نتایج لازم می‌باشد تا با اطمینان بیشتر به توان به نقش تغییرات ژنی در سیستم Fas/FasL در پاتوژنز سرطان معده تاکید کرد.

در مجموع، این تحقیق نشان داد که پلی‌مرفیسم A670G- در پروموتور ژن Fas با خطر سرطان معده مرتبط می‌باشد و نشان می‌دهد بروز تغییرات ژنتیکی در سیستم Fas/FasL می‌تواند با اختلال در فرآیند آپوپتوز در اتیولوژی سرطان مؤثر واقع شود.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد بهمن فضلی می‌باشد. محققین لازم می‌دانند از زحمات و همکاری‌های پرسنل محترم بخش آندوسکوپی بیمارستان امام خمینی ساری، همین‌طور بخش انکولوژی درمانگاه شهید رجائی بابلسر، پلی کلینیک طوبی و همچنین کارشناسان مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی مازندران که امکان انجام این مطالعه را فراهم آوردند تشکر نمایند.

References

1 Liu Y WQ, Yin Y, Lu XT, Pu SH, Tian HP, Lou YF, Tang YN, Jiang X, Lu GS, Zhang J,. FASLG polymorphism is associated with cancer risk. Eur J Cancer 2009; 45(14): 2574-8.

2 Parkin DM PP, Ferlay J. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 1999; 49(1): 33-64.

3 Gryko M G-UK, Pryczynicz A, Cepowicz D, Kukliński A, Czyżewska J, Kemona A, Kędra B,. Correlation between Fas and FasL proteins expression in normal gastric mucosa and gastric cancer. Folia Histochem Cytobiol. 2011; 49(1): 142-7.

4 Lichtenstein P HN, Verkasalo PK,. Environmental and heritable factors in the causation of cancer. N Engl J Med. 2000; 343 (2): 78-85.

5 Wu J SJ, Nihal M, Vonderheid EC, Wood GS.. Structural alterations of the FAS gene in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). Arch Biochem Biophys. 2011; 508 (2): 185-91.

6 Evan GI VK. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. Nature. 2001;411 (6835): 342-8.

7 Wang J FX, Lindholm C, Bennett M, O'Connoll J, Shanahan F, Brooks EG, Reyes VE and Ernst PB,. Helicobacter pylori modulates lymphoepithelial cell interactions leading to epithelial cell damage through Fas/Fas Ligand interactions. Infect Immun. 2000; 68(4): 4303-11.

8 Gryko M G-UK, Pryczynicz A, Cepowicz D, Kukliński A, Czyżewska J, Kemona A, Kędra B. Correlation between Fas and FasL proteins expression in normal gastric mucosa and gastric cancer. Folia Histochem Cytobiol 2011; 49(1): 142-7.

9 Shivapurkar N RJ, Chaudhary PM, Gazdar AF. Apoptosis and lung cancer: a review. . J Cell Biochem. 2003;88 (5): 885-98.

10 Sibley K RS, Allan JM,Smith AG,Law GR ,Roddam PL,et al,. Functional FAS promoter polymorphisms are associated with increased risk of acute myeloid leukemia. Cancer Res. 2003; 63(1): 4327-30.

11 Huang QR MDaMN. Identification and characterization of polymorphisms in the promoter region of the human Apo-1/Fas (CD95) gene. Mol Immunol 1997; 34(3): 577-82.

12 Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. Acta Pathol Microbiol Scand. 1965; 64(2): 31-49.

13 Sun T MX, Zhang X, Tan W, Xiong P, Lin D. Polymorphisms of death pathway genes FAS and FASL in esophageal squamous-cell carcinoma. J Natl Cancer Inst. 2004; 96 (13): 1030-6.

14 Liu L WC, Wang Y, Zhong R, Wang F, Zhang X, Duan S, et al. Association of candidate genetic variations with gastric cardia adenocarcinoma in Chinese population: a multiple interaction analysis. Carcinogenesis 2011; 32(1): 336-42.

15 Bremer E dBM, Wajant H, Helfrich W. Targeted cancer immunotherapy using ligands of the tumor necrosis factor super-family. Curr Drug Targets. 2009; 10(2): 94-103.

16 Park WS OR, Kim YS, Park JY, Lee SH, Shin MS, Kim SY, Kim PJ, Lee HK, Yoo NY, Lee JY,. Somatic mutations in the death domain of the Fas (Apo-1/CD95) gene in gastric cancer. J Pathol. 2001; 193(5): 162-8.

17 Ohno S TM, Shibakita M, Dhar DK, Yoshimura H, Kinugasa S, Kubota H, Masunaga R, Nagasue N. Prognostic significance of Fas and Fas ligand system-associated apoptosis in gastric cancer. Ann Surg Oncol. 2000; 7(1): 750-7.

18 Inazawa J IN, Abe T, et al. Assignment of the human Fas antigen gene (Fas) to 10q24.1. Genomics 1992; 14(3): 821-2.

19 Wang M WD, Tan M, Gong W, Xue H, Shen H, Zhang Z. FAS and FAS ligand polymorphisms in the promoter regions and risk of gastric cancer in Southern China. Biochem Genet 2009; 47(7-8): 559-68.

20 Thomson CA LK, Newton TR, Alberts DS, Martinez ME. Nutrition and diet in the development of gastrointestinal cancer. Curr Oncol Rep. 2003; 5(2): 192-202.

21 Zhou RM WN, Chen ZF, Duan YN, Sun DL, Li Y. Polymorphisms in promoter region of FAS and FASL gene and risk of cardia gastric adenocarcinoma. J Gastroenterol Hepatol 2010; 25(1) 5:55-61.

22 Hsu PI LP, Wang EM, Ger LP, Lo GH, Tsay FW, Chen TA, Yang HB, Chen HC, Lin WS, Lai KH. Polymorphisms of death pathway genes FAS and FASL and risk of premalignant gastric lesions. Anticancer Res. 2008; 28(3): 97-103.