پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال بیستم، شماره ۳، پی در پی ۱۰۵، صفحات ۱۵۴ تا ۱۶۲
مرداد و شهریور ۱۳۹۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۷/۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۶/۲۸

بررسی بیان ژن *P53* در بیماران مبتلا به سرطان مری با استفاده از روش Reverse transcriptase real time polymerase chain reaction

*سمیه سنچولی[۱]، دکتر غلامرضا مطلب[*۲]، دکتر احمد یگانه مقدم[۳]، دکتر رضوان طلایی[۴]*

۱. کارشناس ارشد ژنتیک مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. دانشیار و دکترای تخصصی بیولوژی ملکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳. متخصص گوش، حلق و بینی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۴. متخصص پوست، استادیار دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: سرطان مری، ششمین عامل مرگ ناشی از سرطان در جهان است. شیوع سرطان مری در ایران بسیار بالاست. *P53* یکی از شناخته‌شده‌ترین ژن‌های بازدارنده‌ی تومور است که در برابر آسیب‌های وارده به DNA فعال می‌شود و هدف مهمی برای تحقیقات شناخته می‌شود. به دلیل اینکه تاکنون هیچ تحقیق و پژوهشی در مورد ژن *P53* در بیماران مبتلا به سرطان مری با تکنیک Real-time PCR در ایران انجام نگرفته است، ضرورت انجام این تحقیق با روش ذکر شده به شدت احساس می‌گردد. این تحقیق به روش Historical cohort study انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این تحقیق از مهرماه سال ۱۳۹۲ تا خرداد ۱۳۹۳در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل انجام گردید. در این پژوهش، بیان ژن *P53* که یکی از فاکتورهای مهم ایجاد سرطان مری است، در بیماران مبتلا به سرطان مری در ایران مورد مطالعه قرار گرفت. ۱۵ نمونه بافت پارافینه سرطان مری و ۱۵ نمونه پارافینه سالم جمع‌آوری شده از مراکز مختلف پزشکی درمانی (زابل، زاهدان، کاشان) جهت اندازه‌گیری بیان ژن *P53* توسط روش Reverse transcriptase real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR) آنالیز گردید. تمامی واکنش‌های PCR با سه تکرار برای ژن *P53* و کنترل داخلی (*β-actin*) توسط متد (Livac) $2^{-\Delta\Delta CT}$ انجام شد. بیان ژن *P53* در دو گروه بیمار و سالم با آزمون t-test مورد قضاوت قرار گرفت.

یافته‌ها: تحقیق در دو گروه ۱۵ نفره انجام گرفت. اختلاف نسبتاً زیادی بین افراد بیمار و سالم در بیان ژن *P53* وجود داشت. به‌طوری‌که بیان ژن *P53* در افراد بیمار، ۱۲ برابر بیشتر از افراد سالم بود (P<۰/۰۵). به نظر می‌رسد که افزایش بیان ژن *P53* احتمالاً می‌تواند به عنوان بیومارکر در سرطان مری باشد.

نتیجه‌گیری: بیان ژن P53 در مبتلایان به سرطان مری به مراتب بیشتر از افراد سالم بود.

واژگان کلیدی: *P53*، RT-qPCR، سرطان مری

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:
Sancholi S, Motalleb G, Yegane Moghadam A, Talaee R. *P53* gene expression evaluation in patients with esophageal cancer using Reverse transcriptase real time polymerase chain reaction. Pejouhandeh 2015;20(3):154-162.

مقدمه

در سال، ۳۰ هزار ایرانی به علت سرطان، جان خود را از دست می‌دهند (۱). سرطان مری سومین سرطان شایع گوارش و با ۳۸۶ هزار مرگ و میر، ششمین عامل مرگ ناشی از سرطان در جهان است (۲). به دلیل همراهی علایم و اتیولوژی سرطان مری درمان آن مشکل می‌باشد. *P53* یک تومور ساپرسور ژنی است که به طور جداگانه توسط David Lane و Arnold Levine و همکارانش در سال ۱۹۷۹ زمانی که روی پروتئین‌ها در سلول‌های ترنسفورم شده توسط ویروس DNA دار SV40 کار می‌کردند کشف شد. عوامل متعددی منجر به تبدیل پروتوانکوژن به انکوژن می‌شود. از جمله‌ی این عوامل، تغییرات تک نوکلئوتیدی، تکثیر یا ازدیاد ژنی، ترکیب ژنی و سایر بازآرایی‌های کروموزومی است که فعالیت پروتئین‌های ساخته شده توسط پروتوانکوژن‌ها را افزایش می‌دهد (۳). بیان موتاسیون‌یافته‌ی ژن *P53* یکی از

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر غلامرضا مطّلب؛ دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، دانشگاه زابل؛ تلفن: ۳۲۲۳۱۱۹۳ (۰۵۴)؛ پست الکترونیک: rezamotalleb@gmail.com

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

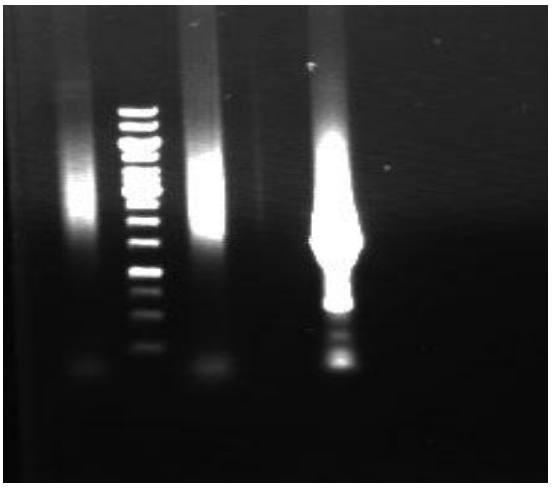
فاکتورهای مهم ایجاد سرطان مری و پیشرفت آن به سوی بدخیمی است (۴). این ژن در تولید بسیاری از پروتئین‌های خاص نقش دارد (۵). مطالعات، ارتباط بین افرایش بیان ژن *P53* و کاهش حیات را نشان داده‌اند (۶) در حالی که بعضی مطالعات دیگر، ارتباطی بین آنها نیافتند (۷). تفاوت در استعداد ژنتیکی و میزان مواجه با عوامل تغذیه‌ای و محیطی و خطاهای کروموزومی، منجر به تنوع در بروز و خصایص سرطان‌های مری بر اساس منطقه‌ی جغرافیایی و نژاد می‌گردد (۹). گزارش شده است که جهش روی ژن *P53* در سرطان مری در مناطق مختلف مؤید این حقیقت است که بروز جهش در این ژن شدیداً تحت تأثیر عوامل محیطی و شرایط جغرافیایی و قومی است (۱۰). *P53* توسط تغییرات بعد از ترجمه (Post-translational changes) پایدار و فعال شده و به شکل کمپلکس‌های تترامر به یکدیگر متصل می‌شوند. در این حالت، *P53* با میل ترکیبی بالا به DNAیی که دارای توالی اتصال مشترک (موتیف) باشد، متصل می‌شود. این موتیف غالباً در پروموترژن دیده می‌شود. بنابراین *P53* که به عناصر پروموتری متصل می‌شود، القاکننده‌ی قوی بیان ژن می‌باشد (۱۱). فعال شدن *P53* توسط شبکه‌ی پاسخ به آسیب‌دیدگی DNA، عوامل محیطی مختلف و وضعیت‌های مختلف سلولی می‌توانند منجر به تغییر ساختار DNAی کروموزومی و اشکال در همانندسازی DNA گردند. هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی بیان ژن *P53* در بیماران مبتلا به سرطان مری جهت پیش‌برد اهداف درمانی می‌باشد. از آنجایی‌که تفاوت در میزان جهش‌های گزارش شده روی ژن *P53* در مناطق مختلف مؤید این حقیقت است که بروز جهش در این ژن شدیداً تحت تأثیر عوامل محیطی، شرایط جغرافیایی و قومی است. با این وجود روش آزمایش و تکنیک شناسایی جهش نیز از اهمیت بالایی برخوردار است. به دلیل اینکه تاکنون هیچ تحقیق و پژوهشی در مورد ژن *P53* در بیماران مبتلا به سرطان مری با تکنیک Real-time PCR در ایران انجام نگرفته، ضرورت انجام این تحقیق با روش ذکر شده به شدت احساس می‌گردد. این مطالعه، یک تحقیق همگروهی تاریخی بود که از مهرماه سال ۱۳۹۲ تا خرداد ۱۳۹۳، در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل انجام گردید.

مواد و روش‌ها

گروه مورد مطالعه، نمونه‌های پارافین به تعداد ۱۵ نمونه‌ی سرطانی و ۱۵ نمونه کنترل (سالم) که از بخش پاتولوژی بیمارستان‌های زابل، کاشان و زاهدان تهیه گردید. جهت استخراج اسیدهای نوکلئیک از بافت‌های پارافین نیاز به پارافین‌زدایی بافت مورد نظر و همچنین مقدار مشخصی از بافت بود. بدین منظور، بلوک‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده تا به‌خوبی برش‌گیری انجام گیرد. سپس از هر بلوک با توجه به میزان بافت موجود در بلوک، توسط دستگاه میکروتوم مقطع‌گیری شده و مقاطع در تیوب‌های استریل شده ۱/۵ میلی‌لیتری قرار گرفته و کدگذاری شدند. بررسی کمیت RNA، جذب نوری نمونه از ۲۶۰ نانومتر تعیین و توسط فرمول زیر تعیین شد:

(میکروگرم بر میلی‌لیتر) غلظت RNA = نمونه X OD_{260} ۴۰ (۱) .

کیفیت نمونه‌های RNA روی ژل آگارز بررسی شد. از آنجا که RNA استخراج شده از بافت‌های پارافینه بوده و از کیفیت بالایی برخوردار نیست، باند RNA به صورت اسمیر روی ژل مشاهده می‌گردد (شکل ۱) (۱۳).



شکل ۱. نتایج استخراج RNA روی ژل آگارز ۱ درصد.

به منظور انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز PCR و اطمینان از بیان ژن و همچنین به دست آوردن دمای اپتیموم اتصال آغازگرها واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با شیب دمایی توسط دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. دما از ۵۶ تا ۶۰ درجه در نظر گرفته شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت 2-Steps RT-PCR kit ساخت شرکت Vivantis انجام گرفت. جهت تأیید سنتز تمامی cDNA توسط آغازگرهای *P53* و ژن مرجع واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد. واکنش Real-time PCR جهت بررسی میزان بیان ژن *P53* انجام شد. Hot Taq evagreen qPCR master Mix (n.k) ساخت شرکت

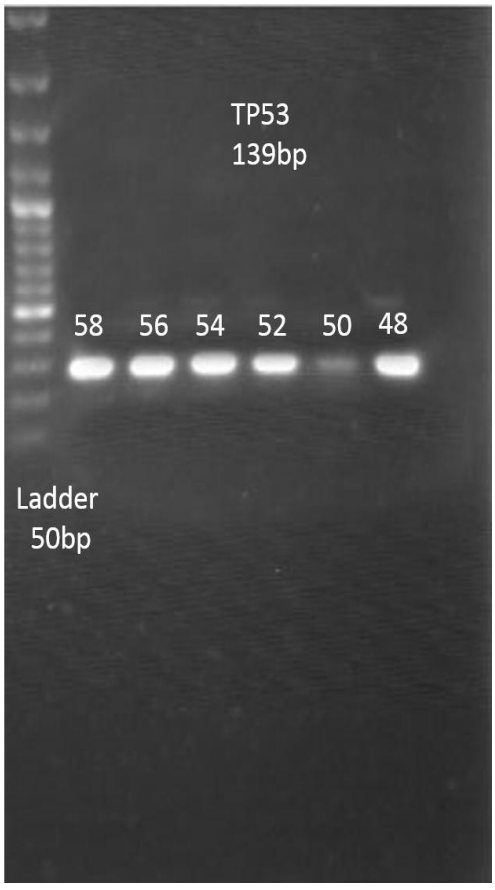
[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

سیناژن و دستگاه Research RG 3000 Corbett برای انجام این واکنش استفاده گردید. از مهمترین مزایای Real-time PCR ترسیم منحنی ذوب است. با استفاده از این منحنی می‌توان تنوع محصولات را در فرآیند PCR مشخص کرد. برای رسم منحنی، دستگاه دمای نمونه‌ها را در فواصل زمانی مشخص به مقدار معینی تغییر می‌دهد. سرعت تغییرات در محور Y و دمای دستگاه در محور X نشان داده می‌شود. از *β-actin* به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد و توسط نرم افزار CLC Main work bench5 آغازگرهای آن طراحی و توسط نرم افزارهای آنلاین beacon designer از نظر محل اتصال و ویژگی‌های مطلوب مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت و همچنین توسط NCBI Blast از یکتا بودن محل جفت شدن آغازگرها اطمینان حاصل شد. پردازش اطلاعات در Real-time PCR بسیار اهمیت دارد. برای بررسی، دو روش وجود دارد: ۱- روش pffafl ۲- روش ΔΔCt (۱۲). برای کم کردن اشتباهات و همچنین تصحیح تغییرات در مواد آغازکننده در RT-PCR، روش مورد تأیید، تکثیر همزمان RNA است که به عنوان استاندارد داخلی به‌کار می‌رود.

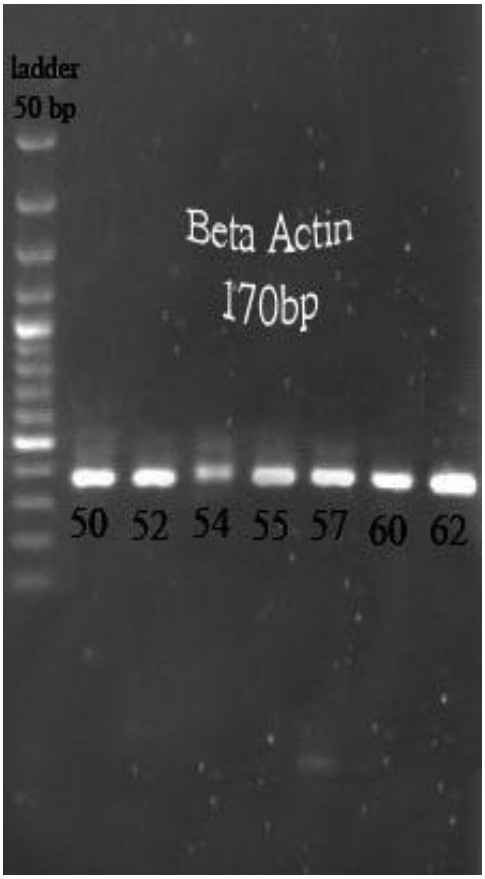
برای آنالیز داده‌ها، در صورتی که توزیع نرمال باشد، با توجه به حجم نمونه باید از آزمون‌های آماری غیرپارامتریک استفاده نمود. در این پژوهش، مقایسه‌ی هر کدام از دو گروه ۱۵ نفری بیمار و کنترل، با استفاده از آزمون t-test و نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶)، مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

تعداد بیماران مرد ۱۱ نفر (۷۳/۳۳٪) و تعداد بیماران زن ۴ نفر (۲۶/۶۶٪) بود. تعداد افراد کنترل نیز ۱۵ نفر بود که در این میان ۶ نفر مرد (۴۰٪) و ۹ نفر زن (۶۰٪) بودند. برای اطمینان از سنتز صحیح cDNA برای تمامی نمونه‌ها توسط هر دو آغازگر ژن *P53* و *β-actin* انجام گرفت. دمای اتصال ژن *P53* و *β-actin* به ترتیب در دماهای ۵۸ و ۶۲ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲. تکثیر قطعه ۱۳۹bp مربوط به ژن *P53*.

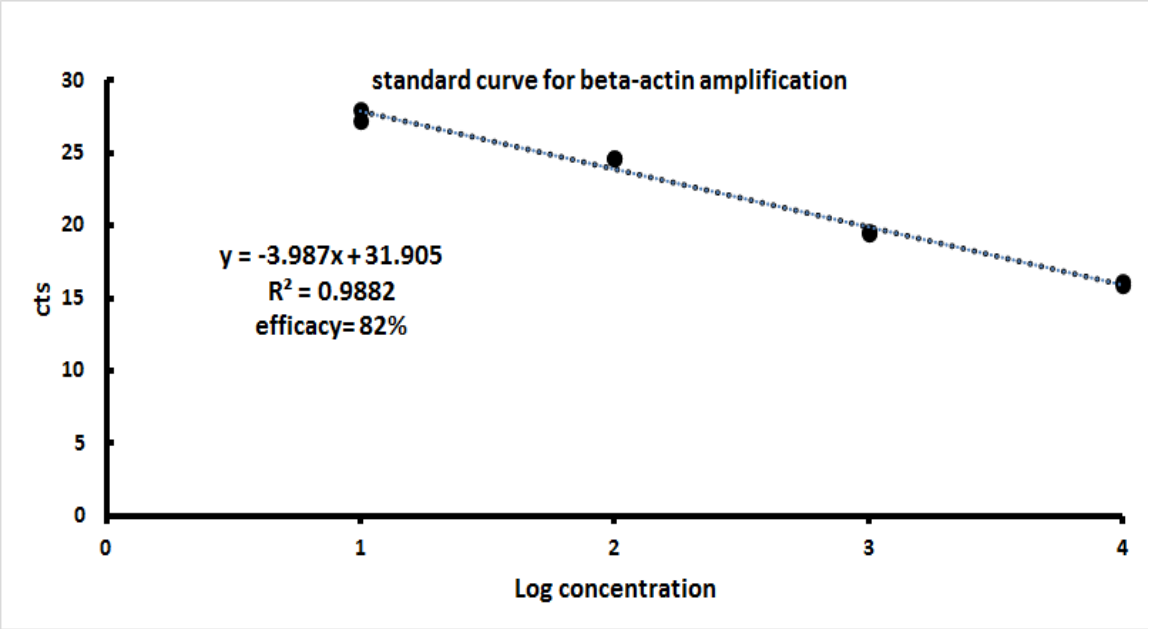


شکل ۳. تکثیر قطعه ۱۷۰bp مربوط به ژن *β-actin*.

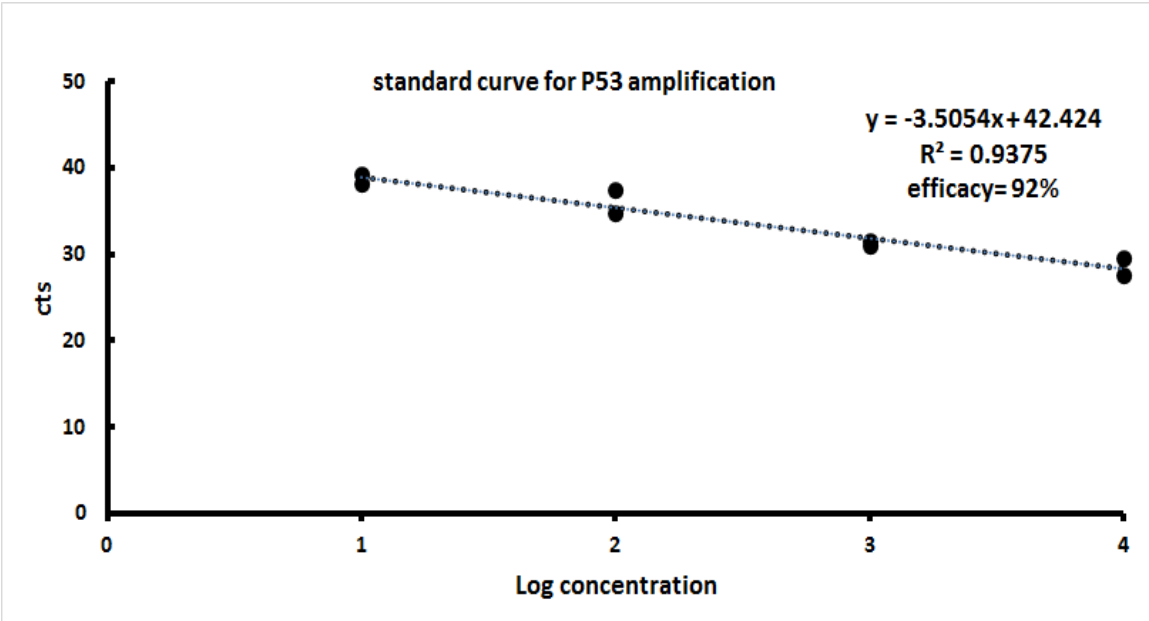
[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

منحنی استاندارد ژن *β-actin*. پس از انجام واکنش برای تمامی رقت‌های تهیه شده با استفاده از آغازگر *β-actin* از روی نمودارهای تکثیر، ct نمونه‌ها مشخص و سپس منحنی آنها رسم شد (بر اساس ct در محور Yها و log مقدار کپی در محور Xها). پس از رسم منحنی استاندارد، بازده واکنش برای ژن *β-actin* برابر با ۸۲٪ و میزان R2 برابر ۰/۹۸ محاسبه گردید (شکل ۴).

منحنی استاندارد ژن *P53*. بر اساس همان رقت‌های تهیه‌شده برای ژن *β-actin*، منحنی استاندارد ژن P53 نیز رسم شد (شکل ۵). برای ژن *P53* بازده واکنش برابر با ۹۲٪ و میزان R2 برابر ۰/۹۳ محاسبه گردید.



شکل ۴. منحنی استاندارد ژن *β-actin*



شکل ۵. منحنی استاندارد ژن *P53*

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

نتـایج واکـنش Real-time PCR. جهـت انجـام واکـنش Real-time PCR، میزان بهینـه‌ی مصـرف cDNA مشـاهده شد.

تکثیر ژن *β-actin*. در شکـل ۶، منحنـی پیشـرفت واکنـش تکثیر ژن *β-actin* در طول هر سیکل، نشان داده شده است.

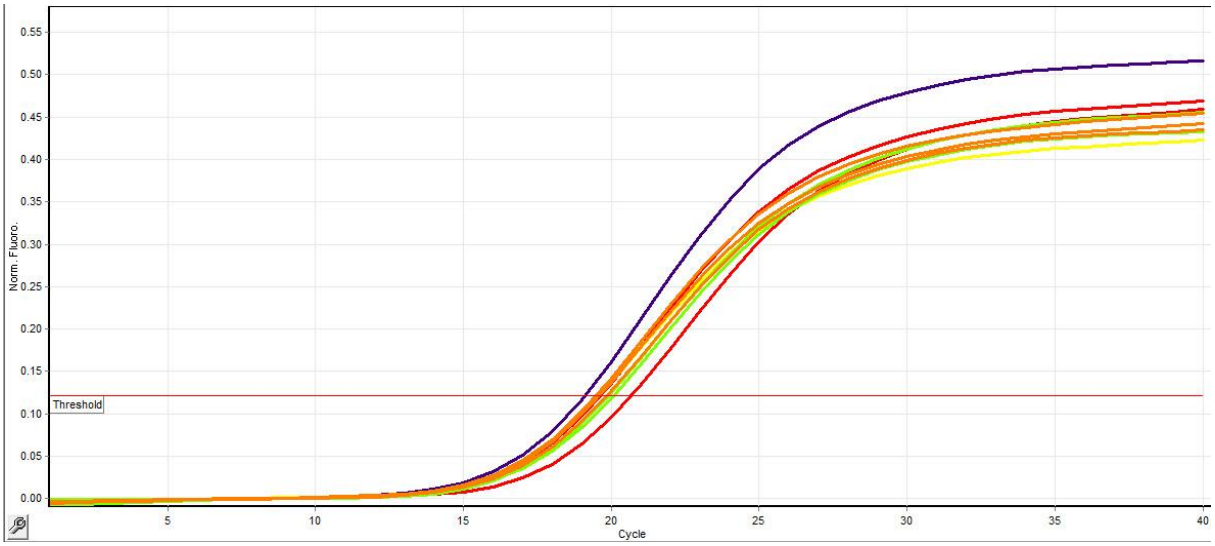
تکثیر ژن *P53*. در شکل ۷ منحنی پیشرفت واکـنش تکثیـر ژن *P53* در طول هر سیکل، نشان داده شده است.

نتایج آنالیز منحنی ذوب:

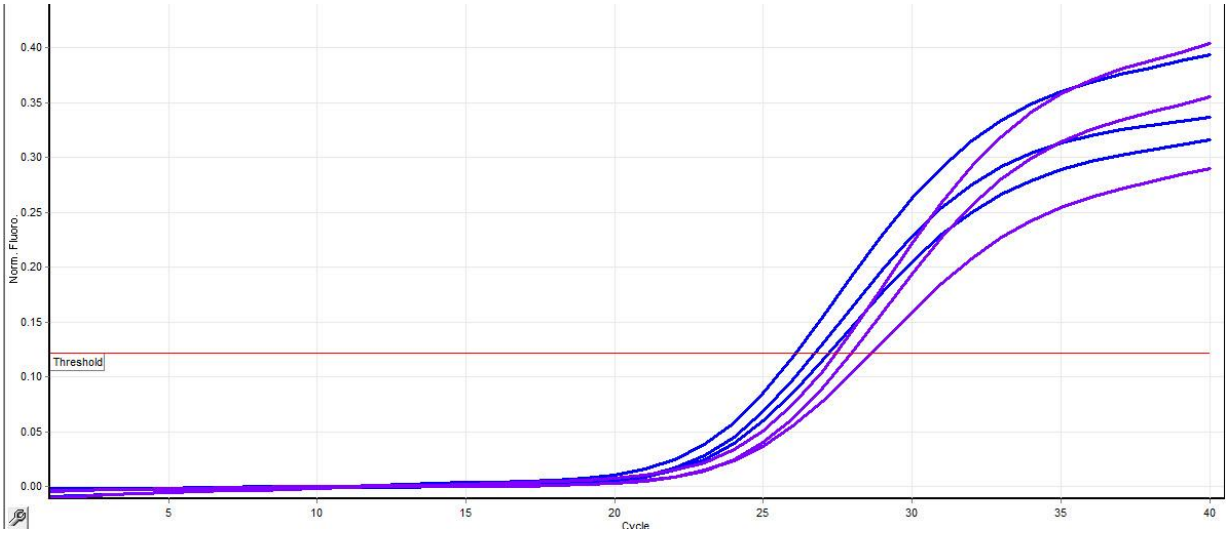
منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن *β-actin*. بـرای رسـم نمودار، دمـای نمونه‌ها افزایش پیدا کـرده و نـوری که از نمونه‌ها ساطع می‌شود اندازه‌گیری خواهد شد. در شـکل بـرای ژن *β-actin* افت ناگهانی شدت نور فلورسانت در دمایی حدود ۸۳ درجه دیده می‌شود.

آنالیز منحنی ذوب ژن *β-actin*. در این منحنـی هـر پیـک نمایانگر یک محصول است. پیک ذوب نیز شامل یک پیـک در دمای ۸۳ درجه بود که Tm محصول ژن *β-actin* می‌باشد.

منحنی تغییرات ذوب برحسب دمای ژن. شکل‌هـای ۱۰ و ۱۱، نتایج حاصل از تغییرات ذوب برحسـب دمـای ژن *P53* را نشان می‌دهد (Tm=۸۱°C).

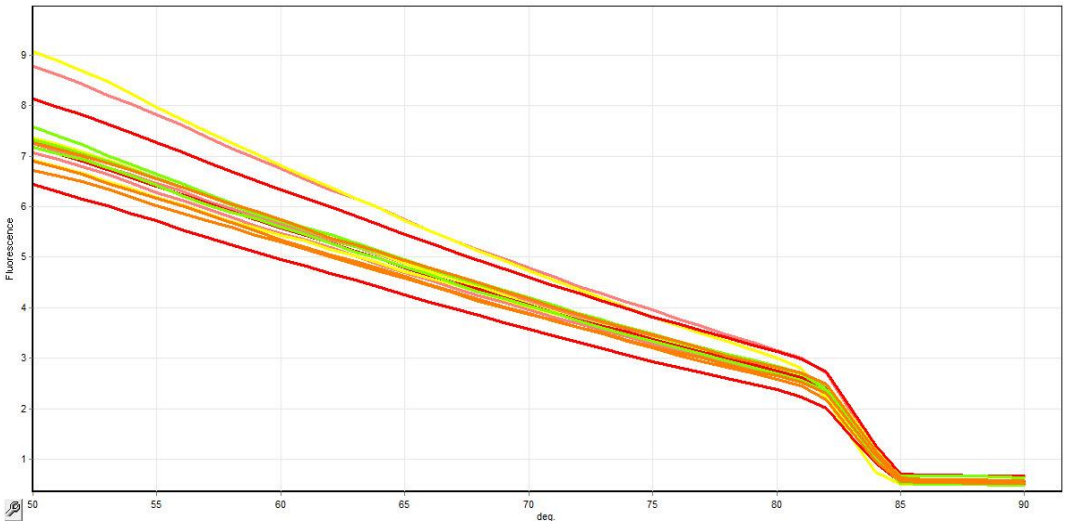


شکل ۶. منحنی تکثیر ژن *β-actin*. در این منحنی، شماره‌ی سیکل در محور افقی و شدت نور فلورسانت در محور عمودی قرار می‌گیرد.

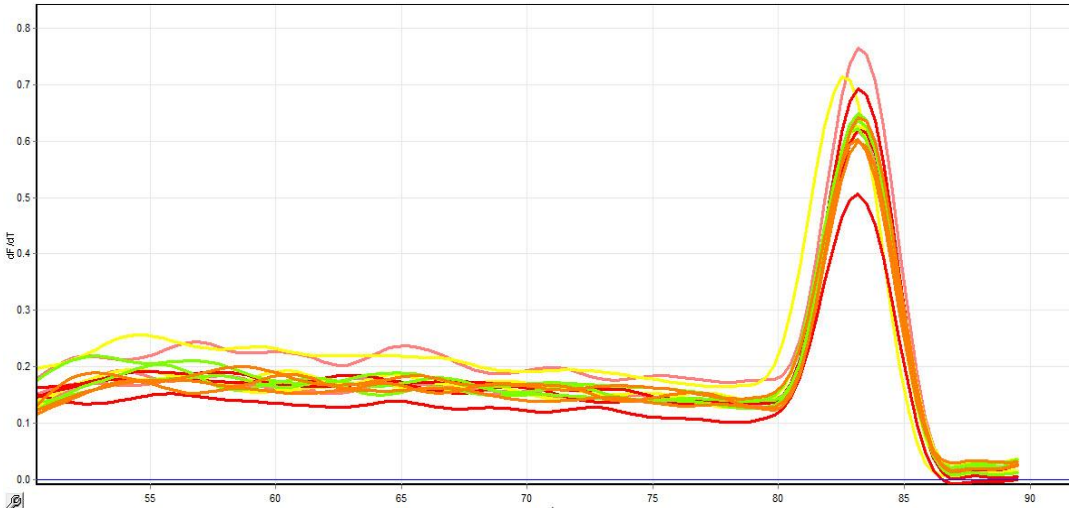


شکل ۷. منحنی تکثیر ژن *P53*.

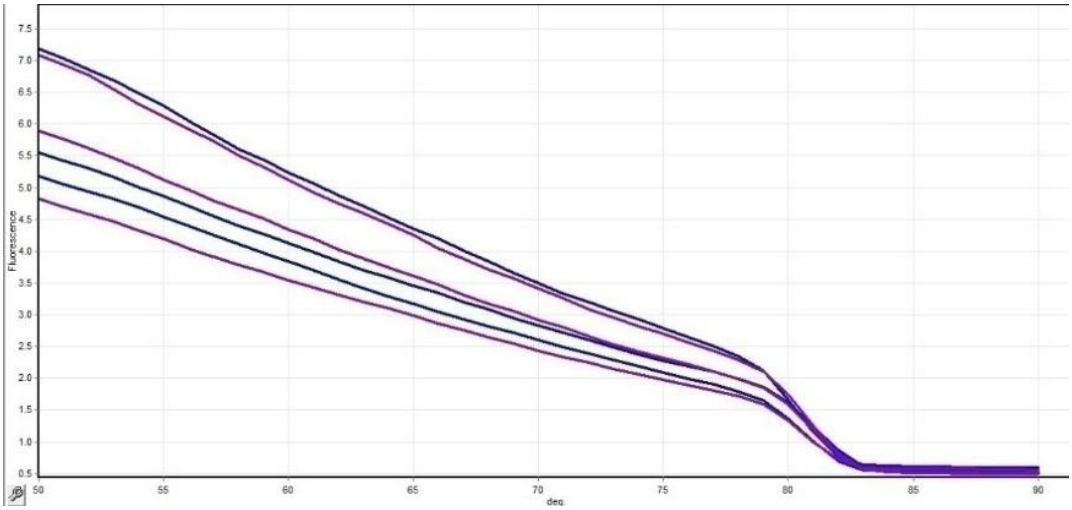
[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]



شکل ۸. تغییرات فلورسانس بر حسب دما برای ژن *β-actin*. دما در این منحنی در محور افقی و شدت نورفلورسانت در محور عمودی قرار دارد.

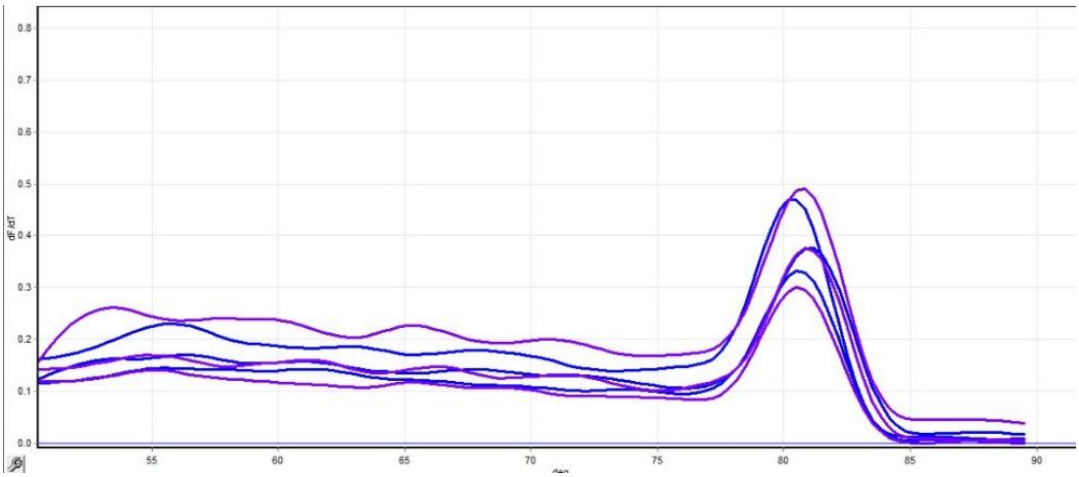


شکل ۹. منحنی ذوب ژن *β-actin*. هر پیک نمایانگر یک محصول PCR است.



شکل ۱۰. تغییرات فلورسانس برحسب دما برای ژن *P53*. در این منحنی دما در محور افقی و شدت نور در محور عمودی قرار دارد.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]



شکل ۱۱. منحنی ذوب ژن *P53*، دمای حدود ۸۱ درجه سانتی‌گراد، Tm محصول ژن *P53* می‌باشد.

تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن *P53* در افراد بیمار و سالم گروه‌های مورد مطالعه وجود داشت. اختلاف نسبتاً زیادی بین افراد بیمار و سالم در بیان ژن *P53* وجود دارد، به‌طوری‌که بیان ژن *P53* در افراد بیمار، ۱۲ برابر بیشتر از افراد سالم بود (P<۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین ΔCT ژن *P53* در دو گروه بیمار و سرطان مری.

گروه	ΔCT
کنترل	۴/۴۷±۰/۲۲
سرطان	۰/۳۷±۰/۴۱
نتیجه آزمون	P<۰/۰۵

بحث

تحقیق نشان داد که میزان بیان ژن در افراد بیمار، ۱۲ برابر بیشتر از افراد سالم می‌باشد. در این مطالعه، بیان ژن *P53* با استفاده از روش RT-qPCR روی ۱۵ نمونه تومور و ۱۵ نمونه سالم بررسی گردید. نتایج این تحقیق مشابه، نتایج Davidoff و همکارانش می‌باشد که نشان دادند بیان ژن *P53* در بیماران مبتلا به سرطان پستان، افزایش بیان نشان می‌دهد (۱۴). مطالعات نشان می‌دهد چندین انکوژن و ژن سرکوب‌کننده‌ی تومور به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم، در توسعه و پیشرفت سرطان شرکت می‌کنند. اختلاف‌های ژنتیکی این ژن‌ها همچنان به درک صحیحی از سرطان کمک می‌کند (۱). *P53* از نمونه‌های مرسوم ژن‌های سرکوب‌گر تومور می‌باشد که مطالعات نقش جهش این ژن را در مراحل آغازین سرطان نشان داده است. ناهنجارهای *P53* در ۴۰ تا ۶۰ درصد بیماران سرطانی و حتی در ضایعات پیش سرطانی ژن مشاهده شده است. در واقع، تغییرات ژنتیکی *P53*، پیشگوی مناسبی برای پاسخ درمانی و بقا می‌باشد (۲). Tagwa در ژاپن نشان داد که وقتی سلول‌های سرطانی دارای جهش در *P53* باشند، نسبت به شیمی درمانی، بسیار آسیب‌پذیر خواهند شد (۱۵). کلید نهایی فعال شدن *P53* تغییر در ساختمان کروموزوم است. در هنگام فعال شدن پروتوانکوژن‌ها با تکثیر یک قطعه کروموزومی تعداد نسخه‌های یک ژن افزایش می‌یابد که موجب افزایش بیان ژن می‌شود و در پیشرفت تومور و ایجاد بدخیمی نقش دارد (۳). بنابراین نمی‌توان با قاطعیت در مورد ارتباط افزایش بیان و میزان پیشرفت بیماری نظری را اعلام کرد. بروز ناگهانی سرطان نیازمند تجمع جهش‌های متعددی در سطح ژنوم یک سلول است که به سلول اجازه‌ی شکستن شبکه تنظیمی سلول‌های آن ارگانیسم است (۱۶). شاید بیان بیش از حد *P53* در نتیجه‌ی رونویسی بالای این ژن باشد. افزایش رونویسی این ژن می‌تواند ناشی از جهش‌های فعال‌کننده در ژن‌های کنترل‌کننده‌ی بیان ژن *P53* باشد. همچنین بازآرایی‌های کروموزومی از جمله تکثیر ناحیه‌ی کروموزومی ژن *P53* در بازوی کوچک کروموزم ۱۷ است. با تکثیر یک قطعه‌ی کروموزومی، تعداد نسخه‌های یک ژن افزایش می‌یابد که موجب افزایش بیان ژن می‌شود. همچنین ما در این مطالعه جهت تأیید صحت عمل Real-time PCR، محصول تکثیر شده برای هر دو ژن توسط این روش را جهت توالی‌یابی ارسال داشتیم. معمولی‌ترین روش‌هایی که امروزه به منظور بررسی بیان ژن و تکثیر ژن استفاده می‌شوند، تکنیک‌های ایمیونوهیستوشیمی (IHC) و Fluorescence in situ hybridization (FISH) می‌باشند. تکنیک IHC دقت

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

پایینی داشته و نتایج مثبت کاذب بسیاری در بیماران ارایه می‌دهد. آنالیز بیان ژن می‌تواند در فراهم کردن اطلاعاتی در زمینه‌ی عوامل مؤثر در پیش‌آگهی بیماری مفید واقع شود. در پژوهش حاضر، از بتا-اکتین به عنوان ژن مرجع استفاده شد زیرا این ژن نسبت به 18S rRNA و GAPDH از نظر بیان در بافت مری، ثبات بیشتری نشان می‌دهد و قابل اطمینان‌تر برای نرمال‌سازی محسوب می‌شود (۱۶). اندازه‌گیری تعیین سطح بیان ژن و نیز مقدار و بازآرایی ژن در تحقیق و در یک محیط تشخیصی و کلینیکال اونکولوژی، بسیار حایز اهمیت است. از سوی دیگر اندازه‌گیری کمی و کیفی بیان اونکوژن‌ها، پروتواونکوژن‌ها و تومورساپرسور ژن‌ها در هر مرحله از تومورزایی بسیار حایز اهمیت است. تکنیک qPCR امروزه یک روش تثبیت شده و بسیار قدرتمند جهت نیل به اهداف یادشده می‌باشد که عدم اجرای آن در پژوهش‌ها، نتایج بیان ژن و بررسی‌های بیولوژی ملکولی و پزشکی ملکولی، ناقص خواهد بود. qPCR دارای مزیت‌های ذیل نسبت به Southern blotting، FISH و LOH می‌باشد: ۱) آمپلیفیکاسیون و حذف ژنی، هر دو توسط آن قابل اندازه‌گیری می‌باشد. ۲) تنها مقدار کمی از DNA برای این روش مورد نیاز است. ۳) لذا مقدار کمی از DNA استخراج شده که می‌تواند از منابعی مانند سرم و رسوب ادرار باشد برای این روش کافی است. ۴) تنها DNA برای تجزیه و تحلیل مورد نیاز است، در نتیجه اجازه‌ی تجزیه و تحلیل مایعات بدون سلول، مانند سرم، که هنوز هم می‌تواند شامل DNA از منابع سلولی دیگر باشد را فراهم می‌نماید. ۵) توانایی روش qPCR برای شناسایی تغییرات کمی بیان ژن‌ها در سلول‌های سرطانی که در سلول‌های طبیعی دیده نمی‌شود (۱۶). نتایج حاصل از این پژوهش و استفاده از qPCR، افزایش بیان ژن *P53* را در بیماران مبتلا به سرطان مری مورد مطالعه نشان داد که مشابه نتایج Scian و همکارانش می‌باشد (۱۷). از طرفی آنها نشان دادند که افزایش بیان ژن جهش یافته *P53* در H1299 (lung carcinoma) cells و القای عدم حساسیت به دارو می‌تواند از طریق مسیر NF-kB2 باشد.

نتیجه‌گیری

بیان ژن *P53* در مبتلایان به سرطان مری به مراتب بیشتر از افراد سالم می‌باشد. از آنجایی که تاکنون هیچ تحقیق و پژوهشی در مورد ژن *P53* در بیماران مبتلا به سرطان مری با تکنیک RT-qPCR در ایران انجام نگرفته و این اولین گزارش می‌باشد و با توجه به تعداد محدود نمونه‌ها (Qualitative Research) لذا پیشنهاد می‌گردد این پژوهش روی تعداد بیشتری از بیماران (Quantitative Research) صورت گیرد.

REFERENCES

1. Motalleb G, Gholipour N, Samaei NM. Association of the human astrocyte elevated gene-1 promotor variants with susceptibility to hepatocelhila carcinom. Med Oncol 2014; 31: 916.

2. Kamangar F, Malekzadeh R, Dawsey SM, Saidi F. Esophageal cancer in northeastern Iran: a review. Arch Iran Med 2007; 10 (1): 70-82.

3. Pappou E, Ahuja N. The role of oncogenes in gastrointestinal cancer. Gastrointest Cancer Res 2010; 1: S2-S15.

4. Xu Xc. Risk factors and gene expression in esophageal cancer. Methods Mol Biol 2009; 471: 335-60.

5. Hollstein M, Hergenhahn M, Yang Q, Bartsch H, Wang ZQ, Hainaut P. New approaches to understanding p53 gene tumor mutation spectra. Mutat Res 1999; 431(2): 199-209.

6. 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;1997.

7. 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; 51(21): 5800-5.

8. Demester SR. Epiderniology and biology of esophageal cancer. Gastrointest Cancer Res 2009; 3(2suppl): S2-S5.

9. Jobe B, Hunt J, Thomac C. Esophageal tumors: principles and practice. New York: Demos Medical Publishing; 2009. p. 27-33.

10. Saffari Chaleshtori J, Moradi MT, Farrokhi E, Tabatabaiefar MA, Taherzadeh Farrokhshahri M, Shayesteh F. Study of two common P53 gene mutations in gastric cancer using PCR-RFLP in Chaharmahal va Bakhtiari province, Iran, 2003. Shahrekord Univ of Med Sci J 2009; 10(4): 43-50. (Full Text in Persian)

11. Giacinti C, Kastan MB. The complexity of P53 modulation: Emerging patterns from divergent signals. Genes 1998; 12: 2973-83.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

12. Pavelik K, Krizanac S, Cacev T, Popovichadzija M, Radosevic S, Crnic I, *et al*. Aberration of FHIT gene is associaied with inereased tumor proliferation and decreased apoptosis clinical evidence in lung and head and neck carcinomas . Mol Med 2001; 7: 442-53.

13. Zhang F, Wang Z, Liu H, Wei S, Li Y, Wang N, *et al*. Application of RT-PCR in formalin fixed and paraffin embedded lung cancer tissues. Acta Pharmacol Simica 2010; 31: 111-7.

14. Davidoff AM, Humphery PM, Iglehart J, Marks JR. Genetic basis for p53 overexpression in human breast cancer. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 5006-10.

15. Noori Daloii MR, Alvandi E. Micro RNA: Little but a mysterious method. Tehran Univ Med 1385; 64(6): 5-19.

16. Loeb KR, Loeb LA. Significance of multiple mutations in cancer. Carcinogenesis 2000; 21: 379-85.

17. Chiang PW, Beer DG, Wei WL, Orringer MB, Kurnit DM. Detection of erbB-2 amplifications in tumors and sera from esophageal carcinoma patients. Clin Cancer Res 1999; 5: 1381-6.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]