

Caspase 9 Promoter Polymorphisms in Gastric Cancer, Mazandaran Province

Mohammad shokrzadeh¹,
Saeid Abediankenari²,
Hamed haghi aminjan³,
Maryam Ghasemi⁴,
Vahid Hoseini⁵,
Fereshteh Jeivad⁶,
Ahad Alizadeh⁷,
Faramarz Farzad⁸

¹ Pharmaceutical Research Center, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Diabetes Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ MSc Student in Toxicology and Pharmacology, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Immunogenetic Research Centre, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁶ PhD Student in Toxicology and Pharmacology, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁷ MSc Student in Biostatistics, Student Research Committee, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁸ MSc Student in Immunology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 5, 2012 ; Accepted March 5, 2012)

Abstract

Background and purpose: Gastric cancer is one of the most prevalent cancers with a low-five year survival rate. Some factors such as molecular pathway are associated with the development of disease and metastasis is the most important factor for death. Caspase 9 is initiator CASP of internal apoptosis pathway and have important role in cancer development. Polymorphism of CASP 9 gene promoter could influence the gene activity and cause sensitivity to cancer.

Materials and methods: In this case-control study, 100 patients with gastric cancer and 100 normal subjects were considered for caspase 9 promoter gene polymorphism. DNA extraction was performed from white blood cells according to manufacturer protocol. PCR-RFLP was carried out to detect -712 C>T gene polymorphism. Data was analyzed using SPSS V.18 and P<0.05 was considered significant.

Results: In the present study 200 subjects including 143 men and 57 women were studied. All subject were well matched for geographic area and race. The results showed a relationship between increase in allele T and gastric cancer (P= 0.095 r=0.0224).

Conclusion: Screening of -712C>T caspase 9 polymorphism could be a marker in personal sensitivity to gastric cancer and useful in cancer treatment and prevention process.

Keywords: Caspase 9 promoter, gastric cancer, genetic polymorphism, PCR, Restriction fragment length polymorphism, RFLP-PCR

بررسی وجود چند شکلی ژن پروموتور کاسپاز ۹ در سرطان معده در استان مازندران، شمال ایران

محمد شکرزاده^۱

سعید عابدیان کناری^۲

حامد حق امین جان^۳

مریم قاسمی^۴

وحید حسینی^۵

فرشته جیواد^۶

احد علیزاده^۷

فرامرز فرزاد^۸

چکیده

سابقه و هدف: سرطان معده از شایع ترین سرطان‌ها با بقای پنج ساله پایین می‌باشد که عوامل مختلفی از قبیل تغییر مسیر مولکولی، بد تنظیمی سلولی در پیشرفت بیماری دخالت دارد و متاستاز به عنوان مهم ترین عامل مرگ محسوب می‌شود. کاسپاز ۹، کاسپاز آغازگر مربوط به مسیر داخلی آپوپتوزیس می‌باشد و نقش مهمی در گسترش و پیشرفت سرطان دارد. پلی مورفیسم در ناحیه پروموتور ژن کاسپاز ۹ می‌تواند بر فعالیت این ژن و در نتیجه استعداد ابتلاء به سرطان معده اثر گذار باشد.

مواد و روش‌ها: بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان معده و ۱۰۰ فرد سالم از نظر پلی مورفیسم در ناحیه $T > 712C$ - پروموتور ژن کاسپاز ۹ مورد ارزیابی قرار گرفتند. DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA بر اساس پروتوکل کیت از سلول‌های سفید خون محیطی افراد بیمار و شاهد استخراج شده و با استفاده از روش RFLP-PCR به بررسی ژنوتیپی ناحیه $T > 712C$ - پروموتور ژن کاسپاز ۹ در دو گروه پرداخته شد.

یافته‌ها: در این مطالعه ۲۰۰ (۱۴۳ مرد و ۵۷ زن) نفر بررسی شدند که همگی از ناحیه جغرافیایی و نژاد یکسان انتخاب شدند. نتایج این مطالعه بیانگر این بوده که افزایش تعداد آلل T در ژنوتیپ منجر به افزایش بروز بیماری سرطان معده شده است ($r=0/224$, $p=0/095$).

استنتاج: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که غربالگری پلی مورفیسم کاسپاز ۹ ($T > 712C$) می‌تواند به عنوان یک نشانگر مفید در تعیین حساسیت فردی به سرطان معده و کمک به راهکارهای پیشگیری و درمانی در افراد مستعد مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: پروموتور کاسپاز ۹، سرطان معده، چند شکلی ژنی، RFLP-PCR

مقدمه

سرطان معده در حال حاضر به دلیل موارد بالای ابتلاء به آن، پیش آگهی ضعیف و روش‌های درمانی محدود، از جمله سرطان‌های کشنده در دنیا می‌باشد (۱). اکثر بیماران در مراحل پیشرفته تشخیص داده

E-mail: Abedianlab@yahoo.co.uk

مؤلف مسئول: سعید عابدیان- ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی

۱. مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. مرکز تحقیقات دیابت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی/ فارماکولوژی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. مرکز تحقیقات ایمونونوتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۶. دانشجوی دکتری سم شناسی و فارماکولوژی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۷. دانشجوی کارشناسی ارشد آمار زیستی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۸. دانشجوی کارشناسی ارشد ایمونولوژی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

© تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۱۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۱/۹/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۱۲/۱۵

می‌شوند، و علی‌رغم کاهش بروز مرگ و میر آن و پیشرفت در درمان بیماری‌ها، جراحی تنها درمان امید بخش برای درمان می‌باشد. با این حال، حتی پس از عمل جراحی، بقا ۵ ساله پایینی حدود ۳۰ درصد دارد (۲) و بیش‌تر بیماران در اثر متاستاز می‌میرند (۳). یکی از مسیرهای مهمی که باعث انهدام سلول‌های سرطانی می‌شود مسیر آپوپتوزیس می‌باشد که تغییر در پروتئین‌های این مسیر باعث حساسیت فرد به سرطان می‌شود (۴). لذا در سال‌های اخیر درمان انتخابی سلول‌های سرطانی به وسیله القاء آپوپتوزیس هدف اصلی تحقیقات سرطان می‌باشد (۵). آپوپتوز یک فرآیند شدیداً کنترل شده است که توسط سیگنال‌های مختلفی فعال می‌شود و موجب انهدام سلول هدف شده و این مسیر برای رشد و نمو اعضا، پاسخ ایمنی و سرکوب تومور ضروری می‌باشد (۶). در درون سلول‌ها، مسیرهای تنظیمی مثبت و منفی وجود دارد، و تعادل بین این دو مسیر است که تعیین کننده سرنوشت سلول است. از لحاظ مورفولوژیکی، سلول‌های آپپتوتیک با کوچک شدن سلول، تراکم کروماتین هسته تجمع و تخریب DNA مشخص می‌شود (۷). در انسان آپوپتوز دارای مسیر بیرونی یا وابسته به ریسپتور و مسیر داخلی یا وابسته به میتوکندری می‌باشد که هر کدام از این مسیرها از کاسپازهای متفاوتی استفاده می‌کنند. کاسپازها جزو خانواده سیستئین-آسپاراتات پروتئازها و واسطه مهم برای روند آپوپتوز می‌باشد (۸،۹).

مسیر بیرونی از کاسپازهای ۸ و ۱۰ به عنوان کاسپازهای آغازگر (۱۰،۱۱)، در حالی که مسیر داخلی از کاسپاز ۹ به عنوان کاسپاز آغازگر و هر دو مسیر همگرا و از کاسپازهای ۳ و ۷ استفاده نموده و منجر به ایجاد آپوپتوز و انهدام سلول می‌شود (۱۲،۱۳). کاسپاز ۹، عضو مسیر داخلی می‌باشد که در نتیجه آسیب میتوکندری و انتشار سیتوکروم C فعال می‌شود. بعد از انتشار سیتوکروم C به داخل سیتوپلاسم، با apoptosis protease activating factor-1 (APAF-1)

مجموع شده و با پروکاسپاز ۹ ایجاد آپوپتوزوم نموده و ایجاد کاسپاز ۹ فعال می‌نماید (۱۴،۱۵).

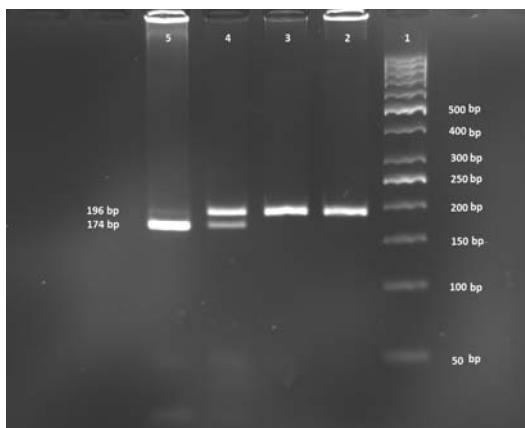
مطالعات پیشنهاد می‌کنند که پلی مورفیسم ژنتیکی می‌تواند در عملکرد پروتئین‌ها نقش داشته باشد. کاسپاز ۹ فعال شده دارای نقش کلیدی در پیش برد فرایند آپوپتوز دارد (۱۶). Single Neoclotid Polymorphisms (SNPs) رایج ترین شکل تفاوت‌های ژنتیکی انسانی هستند و آن‌ها ممکن است در حساسیت‌های فردی به سرطان نقش داشته باشند (۱۷، ۱۸). در چندین مطالعه بیان شده است که بعضی تفاوت‌ها در ژن‌های مسیر آپوپتوز با حساسیت به چندین سرطان متفاوت مرتبط می‌باشند. مطالعات نشان می‌دهند که کاسپازها از جمله کاسپاز ۹ نقش مهمی در ایجاد سرطان دارد که به نظر می‌رسد مکانیسم ایجاد آپوپتوز در سرطان‌ها از جمله سرطان ریه توسط تومور تغییر می‌کند و سبب سرطانی شدن سلول‌ها می‌گردد. به دلیل آن که نقش این کاسپاز در سرطان معده به درستی شناخته نشده است. لذا به منظور پی بردن به فرایندهای مولکولی مرتبط با سرطان معده برای اولین بار در کشور این پژوهش طراحی گردیده تا ارتباط پلی مورفیسم‌های کاسپاز ۹ را در جمعیت شمال ایران (مازندران) در بین بیماران مبتلا به سرطان معده در مقایسه با گروه شاهد بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی شامل ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان معده، شناسایی شده بر اساس نتایج آندوسکوپی و پاتولوژی مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی (ره) و کلینیک طبوبی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، از شهریور ۱۳۹۰ تا تیر ۱۳۹۱ و ۱۰۰ نفر به عنوان گروه کنترل سالم که توسط پزشک متخصص تأیید شده و هیچ گونه علائم و سابقه خانوادگی بیماری نداشته‌اند و بر اساس سن، جنس و محل زندگی (مازندران) همسان‌سازی شده بودند مورد بررسی قرار گرفتند. استخراج DNA و واکنش زنجیره ای پلی مرز

۱۰۰ در دمای اتاق انجام شد و بعد از رنگ آمیزی با سایر گرین توسط دستگاه ترانس ایلومیناتور آشکارسازی باندها صورت گرفت.

تحلیل‌های آماری به کار رفته شامل روش‌های مبتنی بر جداول پیشابندی برای بررسی وجود ارتباط در متغیرهای کیفی و آزمون‌های پارامتری test T و ANOVA جهت مقایسه شاخص‌های مرکزی در دو یا چند گروه می‌باشد. رگرسیون لجستیک برای محاسبه اثر آلل‌ها در بروز بیماری در شریطی که اثر متغیرهای مداخله گر کنترل شده است، استفاده شد. نرم‌افزار به کار رفته شامل SPSS18 می‌باشد.



تصویر شماره ۱: بررسی پلی مورفیسم C/T ۷۱۲- در پروموتور ژن کاسپاز ۹

ژنوتیپ‌های C/T ۷۱۲-، ردیف‌های شماره ۳، ۴ و ۵ به ترتیب بیانگر ژنوتیپ‌های CC، CT و TT می‌باشند. نتایج در مقابل محصول PCR فاقد اثر آنزیم (ردیف ۲) و DNA Ladder (ردیف ۱) نشان داده شده‌اند.

یافته‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی تعداد ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان معده و ۱۰۰ فرد سالم از نظر پلی مورفیسم در

۵ میلی لیتر خون محیطی از بیماران و گروه شاهد پس از کسب رضایت آگاهانه گرفته شده و DNA ژنومی از خون محیطی با استفاده از کیت استخراج DNA (Roche, Germany) بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد تعیین ژنوتیپ با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به روش هضم آنزیمی PCR-RFLP انجام شد تکثیر با استفاده از یک جفت پرایمر اختصاصی صورت گرفته و قطعه‌ای به طول ۱۹۶ جفت باز تولید شد. توالی پرایمر در جدول شماره ۱ ذکر شده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۰۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۰/۵ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای مربوطه (جدول شماره ۱) ۱/۵ میکرومول dNTPs، ۲ میلی مول MgCL2، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase Fermentase (Italy) که در نهایت با آب مقطر استریل به حجم ۲۵ میکرو لیتر رسیده و سپس تکثیر به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با برنامه دمایی واسرشته سازی اولیه در ۹۵°C به مدت ۴ دقیقه، واسرشته سازی ثانویه ۹۵°C به مدت ۴۰ ثانیه، دمای ۵۹°C برای اتصال آغازگرها به مدت ۵۰ ثانیه و دمای ۷۲°C جهت بسط آغازگرها به مدت ۴۰ ثانیه به تعداد ۳۵ سیکل جهت تکثیر و بسط نهایی به مدت ۶ دقیقه در دمای ۷۲°C انجام شد. برای بررسی صحت قطعه به دست آمده محصول PCR از ژل آگارز ۱ درصد در کنار نشانگر و رنگ آمیزی سایر گرین استفاده شد. پس از اطمینان از قطعه به دست آمده، جهت هضم آنزیمی محصول PCR جایگاه C > T ۷۱۲- مربوط به پروموتور کاسپاز ۹، با ۲ واحد آنزیم HaeII (New England BioLabs, Beverly, MA, USA) به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. سپس محصول هضم را برای مشاهده بر روی ژل آگارز ۳ درصد برده و الکتروفورز به مدت ۱ ساعت با ولتاژ

جدول شماره ۱: مشخصات پرایمر مورد استفاده و آنزیم محدودلاثر

پلی مورفیسم	شماره FS	پرایمر	Tm (°C)	آنزیم محدودلاثر	طول قطعات ایجاد شده
۷۱۲ C > T	۴۶۴۵۹۸۱	F: AGTCGCGGAGGTGCCGCCTT R: AGGGCTAGCCTCGTGCCAGC	۵۹	HaeII	۲۲+۱۷۴

بحث

با توجه به شیوع بالای سرطان معده در شمال کشور (مازندران) و بقاء پایین این بیماران حتی پس از عمل جراحی، این مطالعه به منظور بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم پروموتور کاسپاز ۹ و حساسیت به سرطان معده طراحی و اجرا گردیده است. آپوپتوز مرگ سلولی برنامه ریزی شده و به طور کامل حفاظت شده است که نقش مهمی در مراقبت ایمنی در دفاع موثر بر علیه بیماری‌ها دارد. کاسپازها از جمله کاسپاز ۹ سیستم - آسپاراتات پروتئازهایی در این مسیر می باشند، که در مسیر داخلی آپوپتوزیس به عنوان کاسپاز اجرایی مشارکت دارد (۱۹، ۲۰). نقص در مسیر آپوپتوز و مهار آن نقش مهمی را در بیماری زایی سرطان می تواند داشته باشد. زیرا حیات سلول سرطانی می تواند بوسیله غیر فعال شدن پروتئین‌های مسیر پرو آپوپتوتیک و یا فعال سازی مسیر آنتی آپوپتوتیک القاء شود. طبق مطالعات، مشخص شده است که پلی مورفیسم در ژنوم کاسپازها بسته به نوع محل قرارگیری پلی مورفیسم می تواند باعث افزایش یا کاهش بیان و یا تغییر در عملکرد کاسپاز شود (۲۱).

طبق مطالعه صورت گرفته توسط Park بر روی سرطان ریه، که بر روی ۴۳۲ نمونه سرطان ریه مورد بررسی قرار گرفته که آلل های CC (۶۰/۵ درصد)، CT (۳۴/۵ درصد) و TT (۵/۱ درصد) بوده، نشان می دهد که پلی مورفیسم پروموتور کاسپاز ۹ افراد با حداقل یک آلل ۷۱۲T- نسبت به الل سالم ۷۱۲CC- یک فاکتور خطر در بروز سرطان ریه بوده است (۲۱).

همچنین در مطالعه صورت گرفته دیگر توسط Yoo و همکارانش بر روی ۴۱۱ نمونه سرطان Non-Small-Cell Lung صورت گرفت آلل های CC (۶۰/۵ درصد)، CT (۳۵/۱ درصد) و TT (۴/۴ درصد) بوده است که نشان دهنده افزایش ریسک به سرطان با وجود آلل T بوده است (۲۲). در پژوهش صورت گرفته توسط Xu W نیز حاکی از افزایش ابتلا به سرطان ریه

ژن پروموتور کاسپاز ۹ در ناحیه $T > 712C$ - مورد بررسی قرار گرفتند. متغیرهای دموگرافیک دو گروه در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. آنالیز آماری اختلاف معنی داری را در نسبت سن و جنس در دو گروه بیمار و کنترل نشان نداد که این نشان دهنده همسان سازی بالا در این مطالعه می باشد ($p=0/42$).

در مجموع از ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان معده ۵۶ نفر (۵۶ درصد) دارای ژنوتیپ CC و ۳۷ نفر (۳۷ درصد) دارای ژنوتیپ CT و ۷ نفر (۷ درصد) دارای ژنوتیپ TT بوده اند و این میزان برای گروه کنترل برای ۳ ژنوتیپ CC و CT و TT به ترتیب ۶۷ و ۲۹ و ۴ درصد بوده است. توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی در دو گروه بیماران مبتلا به سرطان معده و گروه کنترل در جدول شماره ۳ خلاصه شده است.

این بررسی نشان می دهد در سطح معنی داری ۱۰ درصد، تعداد آلل T در ژنوتایب، با بروز بیماری سرطان همبستگی مستقیم دارد به عبارتی افزایش تعداد آلل T در ژنوتایب منجر به افزایش بروز بیماری سرطان می شود ($p=0/095$, $T=0/224$). همان طور که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است افزایش آلل T منجر به افزایش بیماری سرطان می شود.

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی متغیرهای مورد مطالعه در دو گروه

متغیر	مورد و شاهد	
	گروه کنترل	بیمار
سن	$70/44 \pm 10/02$	$71/59 \pm 10/28$
جنس	مرد	۷۲
	زن	۲۸

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی ژنوتیپ های مورد مطالعه در دو گروه بیماران مبتلا به سرطان معده و شاهد

پلی مورفیسم	ژنوتیپ	بیماران تعداد (درصد)	شاهد تعداد (درصد)	منطقه معنی داری	OR Adjust	(95% CI)*
712C>T	CC	۵۶ (۵۶)	۶۷ (۶۷)	۰/۰۱	۱	
	CT	۳۷ (۳۷)	۲۹ (۲۹)	۰/۰۲	۳/۸۶	(۱/۲۹-۱۱/۶۷)
	TT	۷ (۷)	۴ (۴)	۰/۰۲	۱۷/۲۴۴	(۱/۵۶-۱۹۱/۱۵)
	CT+TT	۴۴ (۴۴)	۳۳ (۳۳)	۰/۰۳	۴/۵۲	(۱/۶۹-۱۳/۹۳)
آلل	C	۱۴۹ (۷۴/۵)	۱۶۳ (۸۱/۵)			
	T	۵۱ (۲۵/۵)	۳۷ (۱۸/۵)	۰/۰۵۸	۱/۵۱	(۰/۰۹۳-۲/۴۳)

* a: Adjusted for age, gender and smoking.

بیان کاسپاز ۹ شود. بنابراین، این منطقی می‌باشد که پلی مورفیسم در ناحیه $T > 712C$ - بر بیان و در نتیجه بقاء بیماران تأثیرگذار باشد. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهند که ژن کاسپاز ۹ ممکن است در پیشرفت سرطان معده مرتبط باشد. این بررسی، یک مطالعه تکمیلی بر مطالعات پیشین منتشر شده در بررسی پلی مورفیسم ژن‌های مسیر آپوپتوز در سرطان معده به عنوان شاخصی برای حساسیت ژنتیکی به سرطان می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان بدین وسیله از تمامی افراد شرکت کننده در این تحقیق نهایت تشکر را دارند. این مطالعه با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است که محققان تشکر و قدردانی خود را از آن معاونت محترم اعلام می‌دارند. علاوه بر این از زحمات کارکنان بخش آزمایشگاه و اندوسکوپی کلینیک طوبی و بیمارستان امام خمینی (ره) ساری نهایت قدردانی را دارند. این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد سم شناسی به شماره الف-۵ آقای حامد حقی می‌باشد.

با افزایش آلال T بوده که نتایج مطالعات فوق الذکر هم راستا با مطالعات حاضر بوده است (۱۶). اهمیت وجود پلی مورفیسم در ناحیه پروموتور ژن، از عوامل ایجاد اختلال در بیان ژن‌ها می‌باشد و احتمالاً کاهش بیان آن می‌شود (۲۳، ۲۴) و از آنجایی که این پروتئین‌ها نقش اساسی در بقاء و مرگ سلولی ایفا می‌کند کاهش بیان کاسپازها می‌تواند سبب کاهش مرگ سلول‌های آسیب دیده و افزایش بقای این سلول‌ها و در نهایت پیشرفت بیماری گردند به نظر می‌رسد وجود پلی مورفیسم در پروموتور ژن کاسپاز ۹ می‌تواند یک عامل برای اختلال در عملکرد پروتئین کاسپاز ۹ و کاهش بیان ژن این پروتئین شود که به عنوان یک عامل زمینه ساز همراه با فاکتورهای محیطی، یک ریسک فاکتور ابتلا به سرطان معده محسوب می‌شود (۲۵، ۲۶). این پژوهش نشان داد که پلی مورفیسم کاسپاز ۹ ($T > 712C$) - و هاپلو تایپ‌های آن با ریسک سرطان معده در ارتباط می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه پیشنهاد می‌شود که پلی مورفیسم ژن کاسپاز ۹ ممکن است یک مارکر مفید در تعیین حساسیت ژنتیکی به سرطان معده باشد. مطالعات انجام شده در سرطان ریه نشان می‌دهد که پلی مورفیسم در ناحیه $T > 712C$ - باعث کاهش فعالیت پروموتور می‌شود، که ممکن است باعث کاهش

References

1. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma: review and considerations for future directions. *Ann Surg* 2005 Jan;241(1):27-39.
2. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma: review and considerations for future directions. *Ann Surg* 2005 Jan;241(1):27-39.
3. Dragovich T, Campen C. Anti-EGFR-Targeted Therapy for Esophageal and Gastric Cancers: An Evolving Concept. *J Oncol*. 2009;2009:804108.
4. Liu J, Zhang Y, Qu J, Xu L, Hou K, Zhang J, et al. β -Elemene-induced autophagy protects human gastric cancer cells from undergoing apoptosis. *BMC Cancer*. 2011;11: 183.
5. Liampopoulos E, Gazouli M, Aravantinos G, Tzanakis N, Theodoropoulos G, Rizos S, et al. Caspase 8 and caspase 9 gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2011;14(4):317-21.

6. Liemarkopoulos E, Gazouli M, Aravantinos G, Tzanakis N, Theodoropoulos G, Rizos S, et al. Caspase 8 and caspase 9 gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2011;14(4):317-21.
7. Liemarkopoulos E, Gazouli M, Aravantinos G, Tzanakis N, Theodoropoulos G, Rizos S, et al. Caspase 8 and caspase 9 gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2011;14(4):317-21.
8. Kischkel FC, Lawrence DA, Tinel A, LeBlanc H, Virmani A, Schow P, et al. Death receptor recruitment of endogenous caspase-10 and apoptosis initiation in the absence of caspase-8. *J Biol Chem* 2001 Dec 7;276(49):46639-46 Epub 2001 Oct 2.
9. Kischkel FC, Lawrence DA, Tinel A, LeBlanc H, Virmani A, Schow P, et al. Death receptor recruitment of endogenous caspase-10 and apoptosis initiation in the absence of caspase-8. *J Biol Chem* 2001 Dec 7;276(49):46639-46 Epub 2001 Oct 2.
10. Kischkel FC, Lawrence DA, Tinel A, LeBlanc H, Virmani A, Schow P, et al. Death receptor recruitment of endogenous caspase-10 and apoptosis initiation in the absence of caspase-8. *J Biol Chem* 2001 Dec 7;276(49):46639-46 Epub 2001 Oct 2.
11. Hajra KM, Liu JR. Apoptosome dysfunction in human cancer. *Apoptosis* 2004 Nov;9(6):691-704.
12. Srinivasula SM, Ahmad M, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES. Autoactivation of procaspase-9 by Apaf-1-mediated oligomerization. *Mol Cell* 1998 Jun;1(7):949-57.
13. Srinivasula SM, Ahmad M, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES. Autoactivation of procaspase-9 by Apaf-1-mediated oligomerization. *Mol Cell* 1998 Jun;1(7):949-57.
14. Degterev A, Boyce M, Yuan J. A decade of caspases. *Oncogene* 2003 Nov 24;22(53):8543-67.
15. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 1997 Nov 14;91(4):479-89.
16. Xu W, Jiang S, Xu Y, Bo Chen YL, Zong F, Zhao W, et al. A Meta-Analysis of Caspase 9 Polymorphisms in Promoter and Exon Sequence on Cancer Susceptibility. *PLoS One*. 2012;7(5):e37443.
17. Ho T, Wei Q, Sturgis EM. Epidemiology of carcinogen metabolism genes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 2007 Jul;29(7):682-99.
18. Gattas GJ, de Carvalho MB, Siraque MS, Curioni OA, Kohler P, Eluf-Neto J, et al. Genetic polymorphisms of CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, and GSTT1 associated with head and neck cancer. *Head Neck* 2006 Sep;28(9):819-26.
19. Freedman ML, Penney KL, Stram DO, Le Marchand L, Hirschhorn JN, Kolonel LN, et al. Common variation in BRCA2 and breast cancer risk: a haplotype-based analysis in the Multiethnic Cohort. *Hum Mol Genet* 2004 Oct 15;13(20):2431-41 Epub 2004 Aug 18.
20. Soung YH, Lee JW, Kim SY, Jang J, Park YG, Park WS, et al. CASPASE-8 gene is inactivated by somatic mutations in gastric carcinomas. *Cancer Res* 2005 Feb 1;65(3):815-21.
21. Park JY, Park JM, Jang JS, Choi JE, Kim KM, Cha SI, et al. Caspase 9 promoter polymorphisms and risk of primary lung

- cancer. Hum Mol Genet 2006 Jun 15;15(12):1963-71 Epub 2006 May 10.
22. Yoo SS, Choi JE, Lee WK, Choi YY, Kam S, Kim MJ, et al. Polymorphisms in the CASPASE genes and survival in patients with early-stage non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2009 Dec 1;27(34):5823-9 doi: 10.1200/JCO2009231738 Epub 2009 Oct 13.
 23. Yoo SS, Choi JE, Lee WK, Choi YY, Kam S, Kim MJ, et al. Polymorphisms in the CASPASE genes and survival in patients with early-stage non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2009 Dec 1;27(34):5823-9 doi: 10.1200/JCO2009231738 Epub 2009 Oct 13.
 24. Jeivad F, Abediankenari S, Shokrzadeh M, Ghasemi M, Taghvaei T, Ansari Z, Najafi Fard M, Hasannia H, Sayiari Mazandarani M, Beiranvand E. Tyrosin Kinase domain gene polymorphism of epidermal growth factor receptor in gastric cancer in northern iran. Tehran University Medical Journal. vol.69, No.10, January 2012: 619-623
 25. Ghasemi M, Vahedi Larijani L, Abediankenari S. Investigation of Relationship between Hepatitis B Virus and Gastric Adenocarcinoma. Iran Red Crescent Med J. 2012 Jul;14(7):453-4. Epub 2012 Jul 30. No abstract available.
 26. Zhang J, Dou C, Song Y, Ji C, Gu S, Xie Y, et al. Polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha are associated with increased susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis. J Hum Genet. 2008;53:479-89.