مقاله پژوهشی

ارتباط بیان ژن کاتپسین D در معده با سن، جنسیت و وضعیت یائسگی

رضا عابدی[۱]، محمد مهدی مغنی باشی منصوریه[۲*]، پریسا محمدی نژاد[۱]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲- گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون، کازرون، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۵/۱۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۹/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: میزان ابتلای مردان به سرطان معده ۲ تا ۴ برابر زنان می‌باشد. هورمون‌های جنسی یکی از دلایل بروز دو شکلی جنسیتی در سرطان معده محسوب می‌شوند. هدف از این مطالعه مقایسه بیان ژن‌های کاتپسین D و کاسپاز ۷ در معده زنان و مردان سالم می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی تحلیلی، از ناحیه آنتروم معده ۲۱ زن و ۲۱ مرد در سه گروه سنی زیر ۳۵ سال، ۵۰-۳۵ سال و بالای ۵۰ سال نمونه بافتی جمع آوری شد. پس از استخراج RNA تام و سنتز cDNA، با تکنیک نیمه کمی Reverse Transcription- PCR بیان ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت و با آزمون آماری T-Test و ANOVA آنالیز شد.

نتایج: آنالیزهای آماری نشان داد که بیان ژن کاتپسین D در مردان زیر ۳۵ سال نسبت به مردان ۵۰-۳۵ سال به طور معنی داری بیشتر می‌باشد (p=۰/۰۴). علاوه بر این، بیان ژن کاتپسین D در زنان غیر یائسه ۱۰ برابر زنان یائسه و مردان (زنان یائسه و مردان در یک گروه قرار گرفتند) می‌باشد که از نظر آماری نیز معنی دار می‌باشد (p=۰/۰۰۸). همچنین بیان ژن کاتپسین D در زنان نسبت به مردان ۸ برابر بوده و به صورت مرزی معنی دار می‌باشد (p=۰/۰۵۶).

نتیجه‌گیری: بیان ژن کاتپسین D در زنان غیر یائسه بیشتر از مردان و زنان یائسه و در مردان زیر ۳۵ سال بیشتر از مردان ۵۰-۳۵ سال می‌باشد.

کلمات کلیدی: سرطان معده، ژن کاتپسین D، ژن کاسپاز ۷، هورمون‌های جنسی.

مقدمه

سرطان معده چهارمین سرطان شایع دنیا محسوب می‌شود و از نظر مرگ و میر ناشی از سرطان، در جایگاه دوم قرار دارد (۱). سالانه در حدود یک میلیون مورد جدید سرطان معده شناسایی شده و مرگ و میر ناشی از این بیماری نیز سالیانه ۷۰۰۰۰۰ نفر تخمین زده می‌شود (۲ و ۳). در ایران ۵۰ درصد سرطان‌های شایع کشور مربوط به دستگاه گوارش است و از میان سرطان‌های دستگاه گوارش، سرطان معده از همه شایع‌تر است. برخلاف کشورهای اروپایی و آمریکای شمالی، شیوع سرطان معده طی ۳۰ سال گذشته در ایران رو به افزایش می‌باشد (۴).

مطالعات متعدد نشان داده است که میزان ابتلای مردان به سرطان معده ۲ تا ۴ برابر زنان می‌باشد (۵). طبق آمار سازمان جهانی بهداشت (WHO) در سال ۲۰۰۸ از بین ۱۰۱۵۰۰۰ نفر مبتلا به سرطان معده، ۳۸۰۰۰۰ نفر زن و ۶۳۵۰۰۰ نفر مرد بودند (۶). اگر چه در مورد اپیدمیولوژی سرطان معده اطلاعات زیادی وجود دارد، هنوز به طور واضح مشخص نیست که چرا مردان نسبت به زنان، بیشتر در معرض خطر ابتلا قرار دارند.

قسمت عمده ژنوم بین مردان و زنان مشترک می‌باشد به همین دلیل تفاوت بین دو جنس نمی‌تواند ناشی از تفاوت توالی ژن‌ها باشد بلکه یا به دلیل تفاوت در میزان بیان ژن‌ها یا ناشی از پیرایش متفاوت ژن‌ها بین دو جنس می‌باشد (۷). در سال‌های اخیر مطالعات ژنومی نشان داده است که تعداد زیادی از ژن‌ها بین

* نویسنده مسئول: محمد مهدی مغنی باشی منصوریه، استادیار ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.
Email: mehdimoghani@yahoo.com

دو جنس بیان متفاوتی دارند که به آن دو شکلی جنسیتی در بیان ژن می‌گویند که در تمامی ارگانیسم‌ها از جمله سلسله حیوانات و پستان‌داران شایع می‌باشد (۸) و در انسان نیز گزارش شده است (۹ و ۱۰).

مهم ترین فرضیه در بروز دو شکلی جنسیتی در سرطان معده به نقش هورمون‌های جنسی به ویژه اثر محافظتی استروژن نسبت داده شده است (۱۱). بیان گیرنده‌های هورمون‌های استروژن و آندروژن در سلول‌های مخاط معده نرمال و تغییر بیان آن‌ها در سرطان معده (۱۲) فرضیه ارتباط سرطان معده با هورمون‌های جنسی را تقویت کرده است (۱۳).

استروژن و آندروژن با مکانیسم‌های مختلف، بر بیان طیف گسترده‌ای از ژن‌ها تاثیر گذار می‌باشند (۱۰ و ۱۴). مهم ترین مکانیسم، مسیر کلاسیک است که این دو هورمون به طور مستقیم به گیرنده‌هایشان متصل شده و سپس کمپلکس گیرنده- هورمون به توالی پاسخ دهنده به استروژن و آندروژن که به ترتیب ERE[1] و ARE[2] نامیده می‌شود، در ژن هدف متصل می‌شوند و از این طریق بر بیان ژن مربوطه تاثیر می‌گذارند (۱۵).

کاسپازها از خانواده پروتئازهای سیستئین- آسپارتیک اسید می‌باشند که در تنظیم چرخه سلولی و آپوپتوز نقش دارند (۱۶). یکی از انواع آن‌ها، کاسپاز ۷ می‌باشد که در مسیرهای داخلی و خارجی آپوپتوز دخیل است. این ژن بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۰ قرار گرفته (۱۷) و در ناحیه تنظیمی خود دارای ERE و ARE می‌باشد (۱۸) و بیان آن در انواع سرطان‌ها از جمله سرطان معده کاهش می‌یابد (۱۹).

یکی دیگر از ژن‌های دخیل در انواع سرطان‌ها *CTSD*[3] است که کد کننده کاتپسین D می‌باشد و بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۱ قرار گرفته و شامل ۹ اگزون می‌باشد (۲۰) و توالی ERE در فاصله ۹ kbp در بالا دست پروموتر این ژن قرار دارد (۲۱). کاتپسین D یک آسپارتیک اسید پپتیداز می‌باشد و عملکردهای مختلفی در سلول دارد که از آن جمله می‌توان به تخریب پروتئین‌های داخل سلولی، فعال شدن هورمون‌های پلی پپتیدی و فاکتورهای رشد، فعال سازی پیش سازهای آنزیمی و تنظیم آپوپتوز اشاره کرد (۲۲).

با توجه به فراوانی بیشتر سرطان معده در مردان نسبت به زنان و نقش هورمون‌های جنسی در سرطان معده و مطالعات اخیر مبنی بر تفاوت بیان بعضی از ژن‌ها در دو جنس، در این مطالعه بیان ژن‌های *CTSD* و *CASP7*[4] که در ناحیه پروموتری خود دارای ERE و ARE می‌باشند، در معده زنان و مردان سالم مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی تحلیلی پس از کسب رضایت نامه کتبی از افراد مراجعه کننده به بیمارستان محمد رسول الله شهرستان مبارکه اصفهان در سال ۱۳۹۲ از ناحیه آنتروم معده از ۲۱ زن و ۲۱ مرد در سه گروه سنی زیر ۳۵ سال، ۵۰-۳۵ سال (در زنان ۳۵ سال تا قبل از یائسگی) و بالای ۵۰ سال (در زنان بعد از یائسگی) توسط پزشک متخصص از طریق آندوسکوپی نمونه بافتی جمع آوری شد و از نتایج پاتولوژی اطمینان حاصل شد که افراد از نظر زخم معده، سرطان معده و التهاب سالم می‌باشند. به منظور جلوگیری از تخریب RNA، نمونه بافتی آندوسکوپی شده بلافاصله در محلول RNA Later (Qiagene، آمریکا) که موجب پایداری RNA می‌شود قرار داده شد و تا زمان استخراج RNA، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. استخراج RNA با استفاده از محلول ترایزول (invitrogen، آمریکا) و سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (فرمنتاز، آلمان) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. جهت بررسی صحت سنتز cDNA برای ژن خانه داری بتا اکتین RT-PCR گذاشته شد که شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ °C به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل با شرایط دناتوراسیون در دمای ۹۴ °C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال پرایمر°C ۵۵ به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۷۲ °C به مدت ۴۵ ثانیه و در نهایت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ °C می‌باشد و همان طور که انتظار می‌رفت باند ۳۷۵ bp به دست آمد (شکل ۱).

جهت بررسی بیان ژن‌های *CTSD* و *CASP7* قسمتی از cDNA ژن‌های مورد نظر با استفاده از تکنیک RT-PCR تکثیر

[1]. Estrogen Response Element
[2]. Androgen Response Element
[3]. Cathepsin D
[4]. Caspase-7

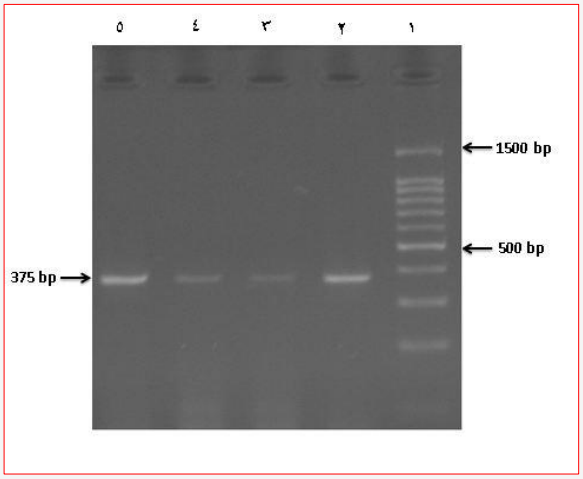
جدول ۱. پرایمرهای طراحی شده برای Beta-actin، *CASP7*و *CTSD*

ژن	توالی	پرایمر	طول قطعه تکثیر شده
CTSD	5'-TCTGTGGAGGACCTGATTG-3'	F	۳۷۴ bp
	5'-GCTGACGACGCTGACTGG-3'	R	
CASP7	5'-AGCTGACTTCCTCTTCGCC-3'	F	۲۸۹ bp
	5'-AGCTAGAATGTACCCCTGA-3'	R	
Beta-actin	5'-CGTGACATTAAGGAGAAGCTGTGC-3'	F	۳۷۵ bp

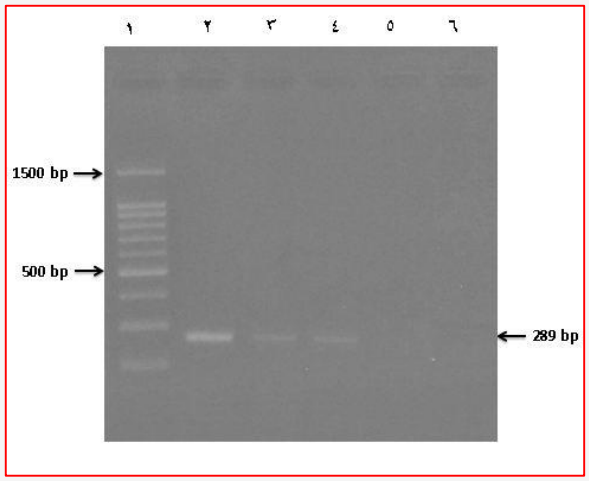
شد. قابل ذکر است که با استفاده از توالی ژن‌های مورد نظر در پایگاه اطلاعاتی NCBI و نرم افزار Oligo، برای هر کدام از ژن‌های *B-actin*، *CTSD* و *CASP7* یک جفت پرایمر طراحی گردید و در سایت NCBI برای بررسی اختصاصیت آن‌ها BLAST شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

در این مطالعه برای بهبود دقت تکنیک RT-PCR که یک روش نیمه کمی است، از گرادیانت سیکلی استفاده شد. بدین منظور، cDNA یک نمونه در شرایط یکسان اما در تعداد سیکل‌های متفاوت (۳۷-۳۴-۳۱-۲۸-۲۵) برای هر ژن به صورت جداگانه RT-PCR گذاشته شد و اولین سیکلی که شدت باند در حد تشخیص بود به عنوان تعداد سیکل RT-PCR در نظر گرفته شد. بر اساس شدت باند مشاهده شده، به ترتیب ۳۱ و ۳۷ سیکل برای RT-PCR ژن‌های *CASP7* و *CTSD* انتخاب شد (شکل ۲ و ۳).

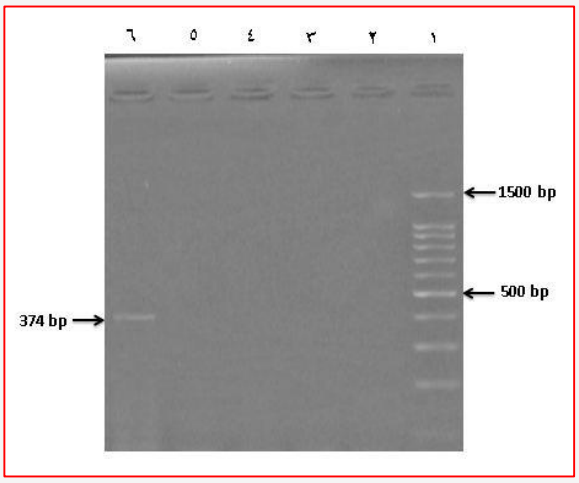
شرایط RT-PCR برای ژن‌های *CASP7* و *CTSD* همانند ژن بتا اکتین بود به استثنای این که برای ژن *CASP7*، تعداد ۳۱ سیکل با دمای اتصال پرایمر ۵۷/۷ °C و برای ژن *CTSD* تعداد



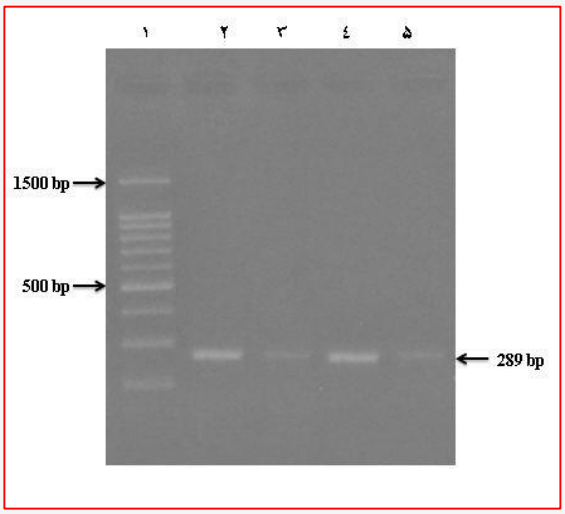
شکل ۱. بررسی صحت سنتز cDNA با استفاده از RT-PCR و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵٪. چاهک شماره ۱ bp DNA ladder ۱۰۰ و چاهک شماره ۲ تا ۵ نشان دهنده باند bp ۳۷۵ بتا اکتین در نمونه‌های مختلف می‌باشد.



شکل ۲. گرادیانت سیکلی برای ژن *CASP7* برای یک نمونه یکسان ولی با تعداد سیکل متفاوت و الکتروفورز بر روی ژل آگارز % ۱/۵. باند bp ۲۸۹ نشان دهنده صحت RT-PCR ژن *CASP7* می‌باشد. چاهک‌های ۱) DNA bp ladder ۱۰۰ ۲) RT- PCR با ۳۷ سیکل ۳) RT-PCR با ۳۴ سیکل ۴) RT-PCR با ۳۱ سیکل ۵) RT-PCR با ۲۸ سیکل ۶) RT-PCR با ۲۵ سیکل. با توجه به شدت باندهای مشاهده ۳۱ تعداد سیکل برای RT-PCR انتخاب شد.

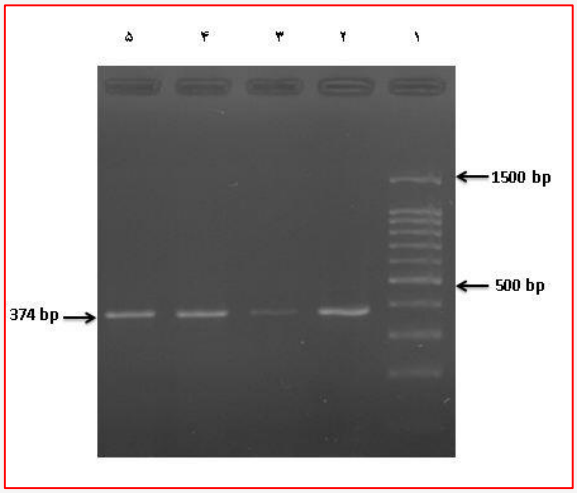


شکل ۳. گرادیانت سیکلی برای ژن *CTSD* برای یک نمونه یکسان ولی با تعداد سیکل متفاوت و الکتروفورز بر روی ژل آگارز % ۱/۵. باند bp ۳۷۴ نشان دهنده صحت RT-PCR ژن *CTSD* می‌باشد. چاهک‌های ۱) DNA ladder bp ۱۰۰ ۲) RT-PCR با ۲۵ سیکل ۳) RT-PCR با ۲۸ سیکل ۴) RT-PCR با ۳۱ سیکل ۵) RT-PCR با ۳۴ سیکل ۶) RT-PCR با ۳۷ سیکل. با توجه به شدت باندهای مشاهده شده، تعداد ۳۷ سیکل برای RT-PCR ژن *CTSD* انتخاب شد.



شکل ۴. RT-PCR برای ژن *CASP7* و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵٪، چاهک شماره ۱ DNA ladder bp ۱۰۰ و چاهک‌های ۲ تا ۵ نشان دهنده باند bp ۲۸۹ در افراد مختلف می‌باشد.

۳۷سیکل با دمای اتصال پرایمر °C ۵۹/۲ اعمال شد (شکل ۴ و ۵). حجم واکنش ۱۵ میکرولیتر و مواد مورد استفاده جهت



شکل ۵. RT-PCR برای ژن *CTSD* و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵٪، چاهک شماره ۱ DNA ladder bp ۱۰۰ و چاهک‌های ۲ تا ۵ نشان دهنده باند bp ۳۷۴ در افراد مختلف می‌باشد.

واکنش RT-PCR برای هر سه ژن شامل ۱/۵ میکرولیتر بافر (X ۱۰)، ۰/۴۵ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ mM)، ۰/۶ میکرولیتر dNTP (۵ mM)، ۰/۶ میکرولیتر Primer F (۵ pmol)، ۰/۶ میکرولیتر Primer R (۵ pmol)، ۰/۱ میکرولیتر آنزیم Taq (۵ unit/µl)، ۰/۶ میکرولیتر cDNA (۵۰ng/µl) و در نهایت ۱۰/۵۵ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر بود.

محصولات RT-PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز و با استفاده از محلول DNA STAIN (کیاژن، ایران) رنگ آمیزی و مشاهده گردید. شدت باندها با استفاده از نرم افزار ImageJ تعیین گردید. به منظور به حداقل رساندن متغیرهای مداخله گر، نمونه‌های مورد مقایسه هم زمان RT-PCR و الکتروفورز شدند. همچنین از ژن بتا اکتین به عنوان ژن مرجع استفاده شد و جهت نرمال کردن داده‌ها، شدت باند ژن مورد نظر بر شدت باند بتا اکتین تقسیم شده و سپس بیان ژن‌های *CTSD* و *CASP7* بین زنان و مردان و گروه‌های سنی مختلف با استفاده از نرم افزار SPSS 22 و آزمون آماری T-Test (برای مقایسه بین دو گروه) و One-Way ANOVA [برای مقایسه درون گروهی (بین سه گروه)] مورد بررسی قرار گرفت. سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

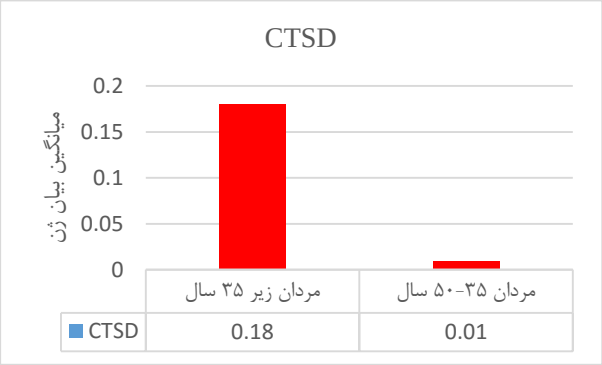
نتایج

در این مطالعه بیان ژن‌های *CTSD* و *CASP7* بین ۲۱ زن و ۲۱ مرد سالم در گروه‌های سنی مختلف مورد بررسی قرار گرفت که مشخصات این افراد در جدول ۲ آمده است.

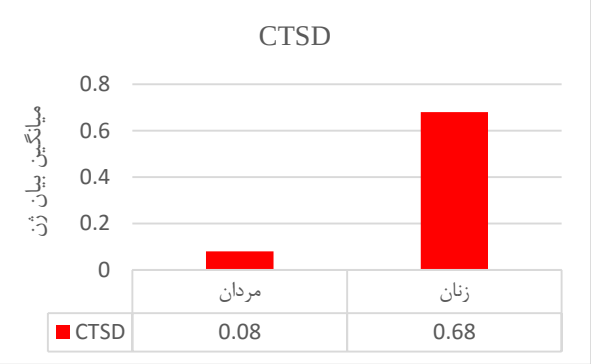
جدول ۲. مشخصات افراد مورد مطالعه

مشخصات		تعداد
تعداد نمونه		
زیر ۳۵ سال		۱۴
۳۵ تا ۵۰ سال		۱۴
بالای ۵۰ سال		۱۴
جنسیت		
مرد		۲۱
زن		۲۱
سن (سال)		
دامنه سنی		۷۹-۱۶
میانگین کل ± انحراف معیار		۱۲±۴۴/۳۳
مرد		۹±۳۹/۹۰
زن		۱۳±۴۴/۷۴
وضعیت یائسگی		
قبل از یائسگی		۱۵ (۷۱/۴۲)
بعد از یائسگی		۶ (۲۸/۵۸)

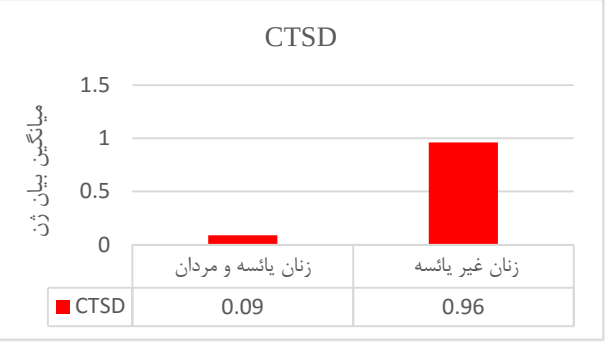
آنالیزهای آماری نشان داد در مقایسه بیان ژن *CTSD* بین سه گروه سنی مردان زیر ۳۵ سال، مردان ۵۰-۳۵ سال و مردان بالای ۵۰ سال، تفاوت معنی داری بین مردان زیر ۳۵ سال و مردان ۵۰-۳۵ سال وجود دارد (F=۲/۵۴، p=۰/۰۴) به طوری که میانگین بیان این ژن در مردان زیر ۳۵ سال (۰/۱۸) نسبت به میانگین بیان مردان ۵۰-۳۵ سال (۰/۰۱) بیشتر است (نمودار ۱). مقایسه در سایر گروه‌ها، تفاوت معنی داری نشان نداد. علاوه بر این، تفاوت بیان ژن *CTSD* در مردان و زنان به صورت مرزی معنی دار می باشد (t=۱/۹۵۶, df=۳۹, p= ۰/۰۵۶). به طوری که میانگین بیان این ژن در مردان (۰/۰۸) نسبت به میانگین بیان در زنان (۰/۶۸) کمتر است (نمودار ۲). همچنین میانگین بیان این ژن در زنان یائسه و مردان (در یک گروه) (۰/۰۹) نسبت به میانگین بیان در زنان غیر یائسه (۰/۹۶) کمتر است که به لحاظ آماری نیز معنی دار می‌باشد (t=۲/۸۰, df=۳۹, p= ۰/۰۰۸) (نمودار ۳). نتایج آنالیزهای آماری در گروه‌های سنی مختلف دیگر معنی دار نمی‌باشد.



نمودار ۱. مقایسه بیان ژن *CTSD* بین مردان زیر ۳۵ سال و مردان ۵۰-۳۵ سال



نمودار ۲. مقایسه بیان ژن *CTSD* بین مردان و زنان



نمودار ۳. مقایسه بیان ژن *CTSD* بین زنان غیر یائسه و مردان و زنان یائسه در یک گروه

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر مطالعات متعدد نشان داده‌اند که در ارگانیسم‌های مختلف از جمله انسان بیان بعضی از ژن‌ها در حالت نرمال بین دو جنس تفاوت دارد که به آن دو شکلی جنسیتی در بیان ژن می‌گویند (۲۳). به طوری که وسیع ترین مطالعه‌ای که توسط Yang و همکاران در سال ۲۰۰۶ در این ارتباط انجام گرفته است، نشان داده است که حدود ۱۴ و ۷۰ درصد ژن‌ها به ترتیب در مغز و کبد موش‌های نر و ماده در حالت نرمال تفاوت بیان دارد و همچنین در بافت‌های دیگر نیز این تفاوت بیان دیده می‌شود (۲۴).

با توجه به فراوانی بیشتر سرطان معده در مردان نسبت به زنان و ارتباط آن با هورمون‌های جنسی، در این مطالعه به مقایسه بیان ژن‌های *CASP7* و *CTSD* که حاوی ARE و ERE در ناحیه تنظیمی خود می‌باشند و در فرآیندهای مهم سلولی نقش دارند و در سرطان معده نیز تغییر بیان دارند، بین مردان و زنان در سه گروه سنی زیر ۳۵ سال، ۵۰-۳۵ سال (در زنان ۳۵ سال تا قبل از یائسگی) و بالای ۵۰ سال(در زنان بعد از یائسگی) پرداخته شد.

نتایج این مطالعه نشان داد که در مقایسه بیان ژن *CTSD* بین زنان و مردان سالم به صورت مرزی تفاوت معنی داری وجود دارد و میانگین بیان این ژن در زنان نسبت به مردان تقریباً ۸ برابر بیشتر است. در این راستا در مطالعه‌ای که توسط Wolbold و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام شد، نشان داده شد که بیان ژن *CYP3A4* در سلول‌های کبد در زنان ۲ برابر مردان می‌باشد (۱۰). همچنین در مطالعه‌ای دیگر Lopes و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که بیان ژن *PCDH11X* در مغز زنان تقریباً دو برابر مردان می‌باشد (۹).

علاوه بر این، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که بیان ژن *CTSD* در مردان زیر ۳۵ سال ۱۸ برابر مردان ۵۰-۳۵ سال بوده و از نظر آماری معنی دار می‌باشد ($F=۲/۵۴, p=۰/۰۴$). در این راستا Berchtold و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که با افزایش سن، بیان بعضی از ژن‌ها در مغز انسان تغییر می‌کند. به طوری که بیان بعضی از ژن‌ها افزایش و بعضی دیگر کاهش می‌یابد. آن‌ها نشان دادند که کاهش بیان ژن‌ها با افزایش سن، بیش تر در موش‌های نر مشاهده می‌شود. همچنین نشان دادند که ژن‌هایی که با افزایش سن کاهش بیان دارند، اکثراً در پردازش پروتئین‌ها و تولید انرژی نقش دارند (۲۵). نکته جالب این است که در این مطالعه نیز کاتپسین D که در پردازش پروتئین‌ها نقش دارد با افزایش سن در مردان در معده کاهش می‌یابد.

با توجه به این که میزان استروژن در زنان یائسه با میزان استروژن در مردان تقریباً یکسان می‌باشد (۲۶) در بررسی که مردان و زنان یائسه در یک گروه قرار داده شدند و با زنان غیر یائسه مقایسه شدند، نشان داده شد که بیان ژن *CTSD* در زنان غیر یائسه به طور معنی داری بیشتر بوده و ۱۰ برابر می‌باشد که با توجه به وجود عنصر پاسخ دهنده به استروژن در ناحیه تنظیمی این ژن (۲۱) به نظر می‌رسد که بیان *CTSD* در معده تحت تاثیر استروژن می‌باشد.

با توجه به نتایج مطالعه انجام شده، پیشنهاد می‌گردد بیان ژن‌های فوق با تعداد نمونه‌های بیش‌تر و با استفاده از تکنیک Real time RT-PCR انجام گیرد. همچنین بیان این ژن‌ها در ارگانیسم‌های دیگر از جمله موش و موش صحرایی و در قسمت‌های دیگر معده مثل پیلور و body نیز بررسی گردد و در صورت به دست آمدن نتایج مشابه در مطالعات وسیع تر، می‌توان از داروهای مرتبط با هورمون‌های جنسی در درمان سرطان معده استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

در پایان از تمام افراد شرکت کننده در این پژوهش، آقای دکتر خسروی نیا و آقای سلیمیان سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Brenner H, Rothenbacher D, Arndt V. Epidemiology of stomach cancer. Methods Mol Biol. 2009;5(472): 467-477.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2005; 55(2): 74-108.
3. Parkin DM, Muir CS. Cancer Incidence in Five Continents. Comparability and quality of data. IARC Sci Publ. 1992; 6(120: 45-173.
4. Mashhadi MA, Nezam K, Abdollahinejad MJ. Gastric Cancer in South East of Iran. IJHOSCR. 2009; 4(3): 38-42.
5. Sadjadi A, Nouraie M, Mohagheghi MA, Mousavi-Jarrahi A, Malekezadeh R, Parkin DM. Cancer occurrence in Iran in 2002, an international perspective. Asian Pac J Cancer Prev. 2005;6(3):359-363.
6. de Martel C, Parsonnet J. Helicobacter pylori infection and gender: a meta-analysis of population-based prevalence surveys. Dig Dis Sci. 2006;51(12):2292-2301.
7. Gruber CJ, Gruber DM, Gruber IM, Wieser F, Huber JC. Anatomy of the estrogen response element. Trends Endocrinol Metab. 2004;15(2):73-8.
8. Rinn JL, Snyder M. sexual dimorphism in mammalian gene expression. Trends genet. 2005;21(5): 298-305.
9. Lopes AM, Ross N, Close J, Dagnall A, Amorim A, Crow TJ. Inactivation status of PCDH11X: sexual dimorphisms in gene expression levels in brain. Hum Genet. 2006;119(3):267-275.
10. Wolbold R, Klein K, Burk O, Nüssler AK, Neuhaus P, Eichelbaum M, et al. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. Hepatology. 2003;38(4):978-988.
11. Camargo MC, Goto Y, Zabaleta J, Morgan DR, Correa P, Rabkin CS. Sex hormones, hormonal interventions, and gastric cancer risk: a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2012;21(1):20-38.
12. Nakamura Y, Shimada N, Suzuki T, Imatani A, Sekine H, Ohara S, et al. In situ androgen production in human gastric carcinoma—androgen synthesizing and metabolizing enzymes. Anticancer Res. 2006;26(3):1935-1939.
13. Pricci M, Linsalata M, Russo F, Messa C, Amati L, Caradonna L, et al. Effects of 17h-estradiol administration on apoptosis and polyamine content in AGS cell line. Anticancer Res. 2001;21(5): 3215-3220.
14. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and action of estrogens. NEnglJ Med. 2002;346(5): 340–352.
15. Thornton JW. Evolution of vertebrate steroid receptors from an ancestral estrogen receptor by ligand exploitation and serial genome expansions. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98(10):5671-6.
16. Bourdeau V, Deschênes J, Métivier R, Nagai Y, Nguyen D, Bretschneider N, et al. Genome-wide identification of high-affinity estrogen response elements in human and mouse. Mol Endocrinol. 2004;18(6):1411-1427.
17. Wang MY, Zhu ML, He J, Shi TY, Li QX, Wang YN, et al. Potentially Functional Polymorphisms in the CASP7Gene Contribute to Gastric Adenocarcinoma Susceptibility in an Eastern Chinese Population. PLoS One. 2013;8(9): 74041.
18. Wellington CL, Ellerby LM, Hackam AS, Margolis RL, Trifiro MA, Singaraja R, et al. Caspase cleavage of gene products associated with triplet expansion disorders generates truncated fragments containing the polyglutamine tract. J Biol Chem. 1998;273(15):9158-9167.
19. Olsson M, Zhivotovsky B. Caspases and cancer. Cell Death Differ. 2011;18(9):1441-1449.
20. Barrett AJ. Cathepsin D and other carboxyl proteinases. In Barrett AJ: Proteinases in Mammalian Cells and Tissues. Amsterdam: Elsevier/North Holland; Biomedical Press. 1977, 209–229.
21. Bretschneider N, Kangaspeska S, Seifert M, Reid G, Gannon F, Denger S. E2-mediated cathepsin D (CTSD) activation involves looping of distal enhancer elements. Mol Oncol. 2008;2(2):182-190.
22. Benes P, Vetvicka V, Fusek M. Cathepsin D--many functions of one asparticprotease. Crit Rev Oncol Hematol. 2008;68(1):12-28.
23. Isensee J, Witt H, Pregla R, Hetzer R, Zagrosek VR, Noppinger PR. Sexually dimorphic gene expression in the heart of mice and men. J Mol Med. 2008;86(1): 61–74.
24. Yang X, Schadt EE, Wang S, Wang H, Arnold AP, Ingram-Drake L, et al. Tissue-specific expression and regulation of sexually dimorphic genes in mice. Genome Res. 2006;16(8): 995-1004.
25. Berchtold NC, Cribbs DH, Coleman PD, Rogers J, Head E, Kim R, et al. Gene expression changes in the course of normal brain aging are sexually dimorphic. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105(40):15605-15610.
26. Williams L. Nursing: Deciphering diagnostic tests. Wolters Kluwer Health. 2008; 3(5):130-135.

Original Article

Cathepsin D Gene Expression in Stomach and Its Association with Age, Sex, and Menopausal Status

Abedi R[1], Moghanibashi M[2*], Mohamadynejad P[1]

1. Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Department of biology, Shahrekord, Iran.
2. Islamic Azad University, Kazerun Branch, School of Medicine, Kazerun, Shiraz, Iran

Received: 10 Aug 2015 Accepted: 16 Dec 2015

Abstract

Background & Objectives: Gastric cancer is 2-4 folds higher in men than women. Sex hormones are one of the leading causes of sexual dimorphism in incidence of gastric cancer. The aim of this study is to compare Cathepsin D and Caspase-7 gene expressions in the gastric tissue of normal men and women.

Materials & Methods: In this cross-sectional study, gastric antrum tissue samples were collected from 21 healthy females and 21 males in the three age groups including 35, 35-50, and over 50 years. Following RNA extraction and cDNA synthesis, the expressions of genes were compared between men and women via semi-quantitative Reverse Transcription-PCR method. The obtained data were analyzed, using the statistical T-Test and ANOVA.

Results: Statical analyses confirmed that the expression of Cathepsin D gene was significantly higher in men under 35 than those in the range of 35-50 years (p=0.04). In addition, the expression of Cathepsin D gene was significantly 10 folds in pre-menopause than post-menopause women and men (post-menopause women and men as one group) (p=0.008). Furthermore, the expression of Cathepsin D gene between men and women was significant at borderline (p=0.056).

Conclusion: The findings of the present research indicate that the expression of Cathepsin D is higher in pre-menopause than post-menopause women and men, and is greater in men under 35 than those in the range of 35-50 years.

Keywords: **Gastric cancer, Caspase-7 gene, Cathepsin D gene, Sex hormones**

[*]**Corresponding author: Mehdi Moghanibashi,** Department of Genetics, School of Medicine, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran.
Email: mehdimoghani@yahoo.com