مقاله پژوهشی

تعیین فراوانی پلی‌مورفیسم (rs1799796) ژن XRCC3 در بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد سالم و مقایسه آن‌ها با یکدیگر در یک جمعیت از زنان ایرانی

میلاد پزشکی[1]، جمشید انصاری[2]، مهدی نخعی[3]

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۰۱/۰۷ تاریخ پذیرش ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در زنان در سراسر جهان است. تحقیقات بیولوژیک نشان می‌دهند که آسیب‌های ناشی از عوامل ژنتیکی و محیطی به ساختار DNA آسیب رسانده و این آسیب‌ها با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط هستند. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ژن‌های ترمیم DNA می‌توانند با تفاوت‌هایی در کارایی‌ترمیم آسیب DNA مرتبط باشند و ممکن است بر سرطان پستان تأثیر بگذارند. پروتئین XRCC3 در شکستگی دو رشته‌ای DNA و ترمیم نوترکیبی شرکت می‌کند، به‌عبارت‌دیگر محصول ژن XRCC3، نقش کلیدی در ترمیم نوترکیبی همولوگ شکستگی‌های دو رشته‌ای DNA دارد. پلی‌مورفیسم (rs1799796) ژن مذکور نقش مهمی در توسعه سرطان پستان ایفا می‌کند. هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط بین خطر سرطان پستان و پلی‌مورفیسم (rs1799796) ژن XRCC3 بود.

مواد و روش کار: در مطالعه مورد-شاهدی حاضر، پلی‌مورفیسم (rs1799796) ژن XRCC3 و خطر ابتلا به سرطان پستان در یک جمعیت شامل ۱۰۰ بیمار و ۱۰۰ فرد سالم از زنان ساکن استان مرکزی مورد ارزیابی قرار گرفت. ژنوتایپ نمونه‌ها با فن PCR-RFLP تعیین شد. درنهایت از نرم‌افزارSPSS نسخه ۲۰ جهت بررسی آماری استفاده و نتایج نهایی استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از$P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: میانگین سنی (رده سنی) در گروه بیماران و افراد سالم به ترتیب (۹۰-۲۷) ۱۲ ± ۵۲/۲۷ و (۷۵-۲۸) ۱۰ ± ۴۸/۰۸ است. مقایسه رده‌های سنی در دو گروه بیمار و سالم اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P= 0/429, \chi^2= 0/625$). فراوانی آلل A در گروه کنترل ۶۳.۵درصد و در گروه بیمار ۷۰درصد و فراوانی آلل Gدر گروه کنترل ۳۶.۵درصد و در گروه بیمار ۳۰درصد بود. تحلیل‌های آماری ارتباط معناداری بین فراوانی آلل‌ها و خطر ابتلا به سرطان پستان نشان نداد .(P=0/168)ژنوتایپ‌ها در دو گروه به ترتیب فراوانی داشتند: ژنوتایپ AA در گروه کنترل ۳۸درصد و در گروه بیمار ۴۸درصد، ژنوتایپ AG در هر دو گروه ۵۰درصد و ۴۴درصد، و ژنوتایپ GG در گروه کنترل ۱۲درصد و در گروه بیمار ۸درصد مشاهده شد. اختلاف معناداری بین دو گروه بیمار و کنترل برای سه ژنوتیپ جایگاه rs1799796 مشاهده نشد ($P>0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: ارتباط معنی‌داری پلی‌مورفیسم (rs1799796) ژن XRCC3 و خطر ابتلا به سرطان پستان پیدا نشد. درنتیجه پیشنهاد می‌شود که پلی‌مورفیسم rs1799796 ژن XRCC3 را نمی‌توان به‌عنوان نشانگر زیستی در مطالعات پیش‌گویی بالینی در رابطه با خطر سرطان پستان استفاده کرد. مطالعات بیشتر در جمعیت‌های مختلف با جامعه آماری بالاتر موردنیاز است.

کلیدواژه‌ها: پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی، rs1799796، سرطان پستان، XRCC3، PCR-RFLP.

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و پنجم، شماره اول، ص ۷۰-۶۰، فروردین ۱۴۰۳

آدرس مکاتبه: اراک، خیابان دانشگاه، بیمارستان آیت الله خوانساری، بخش رادیوتراپی، تلفن: ۳۳۶۷۵۰۰۱ -۰۸۶

Email: Jamshidsa@yahoo.com

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان زنان سرتاسر جهان محسوب می‌گردد (۱). در ایران شیوع سرطان پستان و مرگ و میر ناشی از آن روز به روز در حال افزایش بوده که این موضوع به یکی از نگرانی‌های حوزه سلامت تبدیل شده است (۳، ۲). از این رو شناسایی مارکرهای ژنتیکی به منظور پیشگویی بالینی تشخیص

[1] کارشناسی ارشد ژنتیک، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

[2] استادیار رادیوتراپی و انکولوژی، بیمارستان آیت الله خوانساری، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران (نویسنده مسئول)

[3] کارشناسی علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد تهران، تهران، ایران

زودرس اهمیت بسزایی پیدا می‌کند (۴). در مقاله‌ای که به بررسی تأثیر سن بر بقای بیماران مبتلا به سرطان پستان پرداخته، مشاهده شده که بقای بیماران زیر ۴۰ سال به طور معناداری بیشتر از بیماران بالای ۴۰ سال است. این یافته‌ها نشان می‌دهند که تشخیص زودهنگام سرطان پستان، به‌ویژه در سنین جوان‌تر، می‌تواند بر شانس بقا و پیش‌آگهی بهبود یافته بیمار تأثیر گذار باشد (۵). وجود تغییرات ژنتیکی نظیر پلی‌مورفیسم های تک نوکلئوتیدی بر روی ژن‌های کلیدی نظیر پروتوانکوژن ها، سرکوبگرهای توموری و تعمیری می‌تواند نقش مهمی در تغییر عملکرد ژن‌های مذکور داشته و سلول را از وضعیت نرمال تقسیم خارج کرده و منجر به بروز سرطان گردد (۶-۸). تغییرات ژنتیکی در سیستم‌های ترمیمی DNA و خطر بروز بسیاری از سرطان‌ها بخصوص سرطان پستان ارتباط وجود دارد (۹). ژن XRCC3 در انسان در جایگاه سیتوژنتیکی 14q32.3 قرارگرفته است که با تولید پروتئینی به همین نام نقش مهمی در فرایند تعمیر نوترکیبی همولوگی ایفا می‌نماید. وجود پلی‌مورفیسم‌های متعدد بر روی این ژن نقش مهمی را در رشد و توسعه سرطان پستان دارند (۱). وجود پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی در ژن تعمیری XRCC3 موجب تولید پروتئین ناکارآمدی از XRCC3 می‌گردد که می‌تواند با خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط باشد (۱۰، ۱۱). پلی‌مورفیسم‌های کاندید ژن XRCC3 که در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند، پلی‌مورفیسم های معروف rs861539، rs1799794 و rs1799796 می‌باشند که در جمعیت‌های مختلف ارتباطشان با خطر ابتلا به سرطان پستان و دیگر سرطان‌ها بررسی و گزارش شده است (۱۴-۱۲). در مطالعات پیشین ما دو پلی‌مورفیسم rs1799794 و rs861539 ژن XRCC3 مورد بررسی قرار گرفتند که در نتیجه آن ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم rs861539 و خطر بروز سرطان پستان مشاهده گردید و در مقابل پلی‌مورفیسم rs1799794 ارتباط معنی‌داری با خطر بروز سرطان پستان نداشت (۱۰، ۱۱). دیگر پلی‌مورفیسم مهم این ژن پلی‌مورفیسم rs1799796 می‌باشد که هیچ گونه مطالعه‌ای در مورد این پلی‌مورفیسم و خطر بروز سرطان پستان در جمعیت کشورمان صورت نگرفته است. این پلی‌مورفیسم از آنجایی حائز اهمیت است که ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان پستان در مطالعات متعدد توسط Alaa Mohammed Ali در جمعیت زنان عربستان سعودی و همچنین توسط Chen-Hsien Su در جمعیت زنان تایوانی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۱۲، ۱۳). در متاآنالیز صورت گرفته توسط Xiao-Feng He ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم rs1799796 و سرطان پستان گزارش گردید (۱۵). بعلاوه گزارشات متعددی در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم rs1799796 با سرطان‌های دیگر ارائه شده است. در مطالعه صورت گرفته توسط Zawisza و همکاران در سال ۲۰۱۹ در لهستان مشخص شد که ارتباط معنی‌داری میان آلل G و ژنوتیپ GG پلی‌مورفیسم rs1799796 و خطر ابتلا به سرطان پروستات وجود دارد (۱۶). بعلاوه در متاآنالیز صورت گرفته توسط Yuan و همکاران ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم rs1799796 با خطر ابتلا به سرطان تخمدان مشاهده شد (۱۷). همچنین در مطالعه صورت گرفته توسط Sarwar و همکاران ارتباط محسوسی میان پلی‌مورفیسم rs1799796 با خطر ابتلا به سرطان تیروئید گزارش گردید (۱۸). وجود گزارشات متعدد در مورد وجود ارتباط معنی دار میان پلی‌مورفیسم rs1799796 با سرطان پستان و دیگر سرطان‌ها از یک سو و مطالعه این پلی‌مورفیسم در جمعیت‌های مختلف به همراه نبود مطالعه صورت گرفته در مورد پلی‌مورفیسم مذکور در جمعیت زنان ایرانی ما را مجاب به بررسی ارتباط این پلی‌مورفیسم در کنار دو پلی‌مورفیسم از پیش مطالعه شده (rs861539 و rs1799794) نمود. هدف از پژوهش حاضر تعیین فراوانی پلی‌مورفیسم های rs1799796 ژن XRCC3در بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد سالم و مقایسه آن‌ها با یکدیگر در یک جمعیت از زنان ایرانی می‌باشد.

مواد و روش کار

این مطالعه موردی- شاهدی پس از دریافت کد اخلاق (IR.ARAKMU.REC.1397.335) از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک در فاصله زمانی مهر ۱۳۹۸ تا اسفند ۱۴۰۱ بر روی زنان مبتلا به سرطان پستان و زنان سالم در استان مرکزی انجام شد. حجم نمونه با توجه به مطالعات صورت گرفته و بر اساس آلفای ۵ درصد، پاور ۸۰ درصد، نسبت برابر دو گروه و برابر درصد وجود پلی‌مورفیسم در دو گروه به ترتیب ۶۰ و ۴۰ در افراد بیمار و سالم با استفاده از فرمول مقایسه نسبت‌ها حدود ۱۰۰ نفر در هر گروه محاسبه گردید. معیار پذیرش بیماران در این مطالعه، بر اساس داشتن جنسیت زنانه و تشخیص سرطان پستان تعیین شد. معیار انتخاب بیماران به صورت تصادفی در دسترس بود. معیار ورود افراد سالم به این مطالعه، عدم وجود هرگونه سرطان یا بیماری بدخیم بود. بر این اساس ۱۰۰ نمونه خون از جامعه بیماران مبتلا به سرطان پستان بیمارستان آیت الله خوانساری اراک به همراه ۱۰۰ نمونه خون از افراد سالم بطور تصادفی اخذ گردید. معیار خروج بیماران و افراد سالم کافی نبودن نمونه خون جمع‌آوری شده، کافی نبودن میزان DNA استخراج شده و عدم موفقیت در هضم آنزیمی و PCR در نظر گرفته شد.

جدول (۱): اطلاعات دموگرافی-بالینی دو گروه بیمار و سالم.

متغیر	گروه بیمار، (درصد) N= 100,	گروه سالم (درصد) N= 100,	χ^2 Chi square	P-value*
سن (سال)				
میانگین (بازه سنی)	۵۲/۲۷ ± ۱۲ (۹۰-۲۷)	۴۸/۰۸ ± ۱۰ (۷۵-۲۸)		
(۳۰-۲۰)	۲ (۲)	۳ (۳)		
(۴۰-۳۱)	۱۰ (۱۰)	۱۳ (۱۳)		
(۵۰-۴۱)	۳۸ (۳۸)	۴۰ (۴۰)	۴/۰۳۴	۰/۶۷۲
(۶۰-۵۱)	۳۰ (۳۰)	۲۸ (۲۸)		
(۷۰-۶۱)	۱۳ (۱۳)	۱۴ (۱۴)		
(۸۰-۷۱)	۵ (۵)	۲ (۲)		
(۹۰-۸۱)	۲ (۲)	۰(۰)		
سن قاعدگی (سال)				
میانگین	۱۱/۸۶ ± ۱/۲۵	۱۲/۶۵ ± ۱/۲۲		
<۱۲	۲۹ (۲۹)	۱۵ (۱۵)	۹/۲۸۶	۰/۰۱۰
۱۳-۱۲	۶۲ (۶۲)	۶۴ (۶۴)		
≥۱۴	۹ (۹)	۲۱ (۲۱)		
مصرف قرص ضد بارداری				
بله	۵۵ (۵۵)	۵۳ (۵۳)	۰/۰۸۱	۰/۷۷۷
خیر	۴۵ (۴۵)	۴۷ (۴۷)		
سابقه سقط جنین				
بله	۱۱ (۱۱)	۳ (۳)	۴/۹۱۶	۰/۰۲۷
خیر	۸۹ (۸۹)	۹۷ (۹۷)		
وضعیت شغلی				
خانه دار	۹۲ (۹۲)	۸۶ (۸۶)		
کارمند	۵ (۵)	۱۱ (۱۱)	۳/۱۱۹	۰/۳۷۴
کشاورز	۲ (۲)	۱ (۱)		
دانشجو	۱ (۱)	۲ (۲)		
سابقه خانوادگی سرطان پستان				
بله	۱۴ (۱۴)	۵ (۵)	۴/۷۱۱	۰/۰۳۰
خیر	۸۶ (۸۶)	۹۵ (۹۵)		

× سطح معنی‌داری کمتر از P<0/05

اطلاعات دموگرافیک افراد هر دو گروه (جدول شماره ۱) در قالب یک پرسشنامه جمع آوری گردید.

اطلاعات پاتولوژی به همراه وضعیت گیرنده‌های هورمونی (جدول شماره ۲) نیز با بررسی پرونده پزشکی بیماران مشخص گردید.

جدول (۲): اطلاعات پاتولوژی و وضعیت گیرنده‌های هورمونی افراد مبتلا به سرطان پستان.

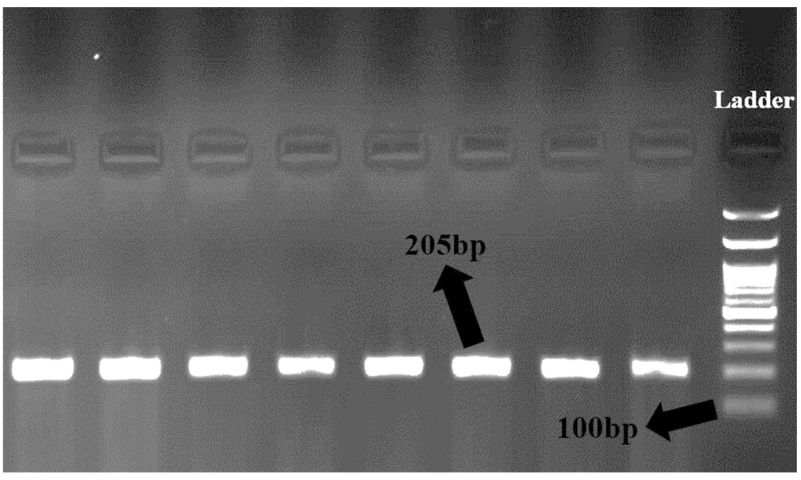
وضعیت گره لنفاوی	درجه تومور	وضعیت متاستاز	ER Status	PR Status	HER2 Status
N0 = 45	G1 = 10				
N1 = 14	G2 = 32	Positive = 10	Positive =50	Positive= 23	Positive= 18
N2 = 15	G3 = 34	Negative = 72	Negative = 32	Negative= 59	Negative= 64
N3 = 8	G4 = 6				

استخراج DNA طبق پروتکل کیت DNG plus (سیناکلون- ایران) انجام شد. نمونه‌ها پس از استخراج با بکارگیری روش PCR-RFLP در جایگاه پلی‌مورفیسم rs1799796 ژن XRCC3 توسط آنزیم محدودگر AluI (BioLab- انگلستان) تعیین ژنوتیپ شدند. جهت انجام واکنش PCR از پرایمرهای موجود در (جدول شماره ۳) استفاده گردید.

جدول (۳): توالی پرایمرهای استفاده شده جهت تکثیر پلی‌مورفیسم **AluI**.

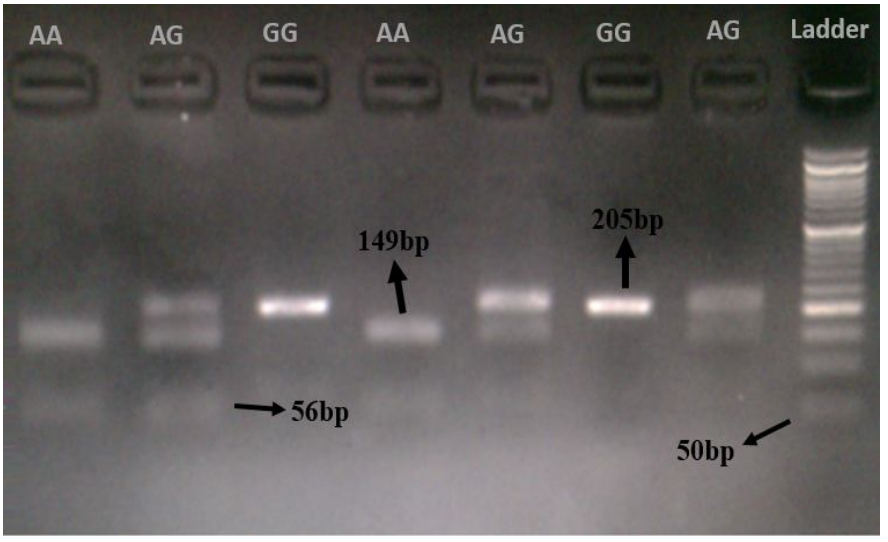
طول قطعه تکثیری	توالی آغازگر ('۳ - '۵)	جایگاه	پلی‌مورفیسم
۲۰۵ جفت باز	F: 5'-ACAGAATTGGGCTCAGAGTATGG -3' R: 5'- AGCAGTACGGGGACCTTCTTA -3'	اینترون	rs1799796

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۱ میکرولیتر مسترمیکس، ۱/۵ میکرولیتر پرایمر فوروارد و ۱/۵ میکرولیتر پرایمر ریورز (*پیشگام- ایران*)، ۱۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر و ۱ میکرولیتر DNA استخراج شده انجام گرفت. تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته‌سازی در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه و ۴۰ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها ۵۸°C به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه و یک دمای تکثیر نهایی ۷۲°C به مدت ۷ دقیقه استفاده شد. محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد که حاوی DNA Green Viewer ران شده و سپس با استفاده از دستگاه ژل داک (ژن فلش-انگلستان) مشاهده و عکس- برداری شدند (شکل ۱). برای تشخیص قطعات تکثیر شده از نشانگر مولکولی ۱۰۰bp (*کاووش ژن*- ایران) استفاده شد.



شکل (۱): توالی **۲۰۵bp** تکثیر شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی.

بعد از تأیید صحت اندازه باند تکثیری، محصولات حاصل از PCR تحت عمل هضم آنزیمی آنزیم محدوگرAluI قرار گرفتند. واکنش برش آنزیمی در حجم ۱۵ میکرولیتر حاوی ۰/۴ میکرولیتر آنزیم AluI، ۱/۵ میکرولیتر بافر مخصوص این آنزیم، ۵/۶ میکرولیتر آب استریل و ۷/۵ میکرولیتر محصول PCR آماده گردید و در دمای 37° C به مدت ۲ ساعت مورد برش آنزیمی قرار گرفت. در حضور آلل موتانت A برش آنزیمی دو قطعه ۵۶ و ۱۴۹ و در حضور آلل وحشی G جایگاه برش وجود نخواهد داشت و باند ۲۰۵ جفت بازی حاصل خواهد شد و در صورت هتروزیگوت بودن هر سه قطعه مذکور حاصل می‌گردد. بعد از برش آنزیمی، محصولات برش داده شده با استفاده از ژل آگارز ۳ درصد حاوی DNA Green Viewer (شرکت کاووش ژن- ایران)، الکتروفورز گردید. نتایج حاصل از هضم آنزیمی در شکل شماره ۲ نشان داده شده است.



شکل (۲): تصویر ژل محصول PCR بعد از هضم آنزیمی AluI.

روش رگرسیون لجستیک با بکارگیری نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ جهت آنالیز پلی‌مورفیسم مورد مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. سطح معنی‌داری کمتر از$P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین سنی (رده سنی) در گروه بیماران و افراد سالم به ترتیب (۹۰-۲۷) ۱۲ ± ۵۲/۲۷ و (۷۵-۲۸) ۱۰ ± ۴۸/۰۸ می‌باشد. مقایسه رده‌های سنی در دو گروه بیمار و سالم اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P= 0/429, \chi^2= 0/625$). نتایج حاصل از بررسی خصوصیات دموگرافی و فاکتورهای خطر بین دو گروه بیمار و سالم در جدول شماره (۱) نشان داده شده است. مطابق جدول شماره ۱ ارتباط معنی‌داری میان قاعدگی زود رس ($P= 0/010, \chi^2= 9/286$)، داشتن سقط جنین ($P= 0/027, \chi^2= 4/916$) و سابقه فامیلی سرطان پستان ($P= 0.030, \chi^2= 4/711$) با خطر ابتلا به سرطان پستان در دو گروه مشاهده گردید. در مقابل هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری میان مصرف قرص‌های ضد بارداری ($P= 0/771, \chi^2=$ 0/081) و وضعیت شغلی ($P= 0/374, \chi^2= 3/119$) با خطر ابتلا به سرطان پستان در دو گروه بیمار و سالم وجود نداشت. اطلاعات پاتولوژی (TNM) نظیر وضعیت درگیری گره لنفاوی، درجه تومور و وضعیت متاستاز به همراه وضعیت گیرنده‌های هورمونی استروژن (ER)، پروژسترون (PR) و گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (HER2) در جدول شماره (۲) آورده شده است. فراوانی ژنوتیپ و آلل‌های پلی‌مورفیسم rs1799796 در دو گروه بیمار و سالم در جدول شماره (۴) آورده شده است. فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1799796 اختلاف محسوسی بین دو گروه بیمار و کنترل از خود نشان نداد به طوری که ارتباط معناداری میان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم مذکور با خطر ابتلا به سرطان پستان وجود نداشت. فراوانی آلل A در گروه کنترل و بیمار به ترتیب ۶۳/۵ و ۷۰ درصد بوده و در مقابل فراوانی آلل G در گروه کنترل و بیمار به ترتیب ۳۶/۵ و ۳۰ درصد می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که هیچ گونه ارتباط معناداری میان فراوانی آللی پلی‌مورفیسم rs1799796 با خطر ابتلا به سرطان پستان وجود ندارد ($P= 0/168, OR= 0/987, CI=95\%; 0/612- 1/036$).

جدول (۴): بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1799796 با خطر ابتلا به سرطان پستان.

ژنوتیپ/ آلل	گروه کنترل، فراوانی (٪)	گروه بیمار، فراوانی (٪)	Odd ratio	95% CI	P value*
AA	۳۸ (۳۸)	۴۸ (۴۸)	۱/۸۹۵	۰/۷۰۴ -۵/۱۰۳	۰/۲۰۶
AG	۵۰ (۵۰)	۴۴ (۴۴)	۱/۳۲۰	۰/۴۹۴ -۳/۵۲۴	۰/۵۸۰
GG	۱۲ (۱۲)	۸ (۸)	۱/۰۰	۱/۰۰	
Total	۱۰۰ (۱۰۰)	۱۰۰ (۱۰۰)			
A	۱۲۷ (۶۳/۵)	۱۴۰ (۷۰)	۰/۹۸۷	۰/۶۱۲ -۱/۰۳۶	۰/۱۶۸
G	۷۳ (۳۶/۵)	۶۰ (۳۰)	۱/۰۰	۱/۰۰	
Total	۲۰۰ (۱۰۰)	۲۰۰ (۱۰۰)			

× سطح معنی‌داری کمتر از$P<0/05$

مطابق جدول شماره (۵) بررسی ارتباط میان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم مورد مطالعه نشان داد که ارتباط معنی‌داری میان ژنوتیپ AG پلی‌مورفیسم rs1799796 با درگیری گره لنفاوی وجود دارد (P= 0/016, OR= 2/767, CI=95%; 1/138- 4/319).

جدول (۵): بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم های مورد مطالعه با درجه تومور، گره لنفاوی و متاستاز در گروه بیمار.

پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی	ژنوتیپ	درجه تومور		OR	95% CI	P-value*
		G3+G4, n (%)	G1+G2, n (%)			
rs1799796	AA	۱۷ (۲۱)	۲۲ (۲۶)	۱	۱	
	AG	۲۰ (۲۴)	۱۷ (۲۱)	۰/۷۶۷	۰/۱-۱۳۸/۳۱۹	۰/۷۶۹
	GG	۳ (۴)	۳ (۴)	۰/۶۷۶	۰/۱-۲۰۹/۲۹۷	۰/۸۵۴
پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی	**ژنوتیپ**	**وضعیت گره لنفاوی**		**OR**	**95% CI**	**P-value***
		N+, n (%)	**N-, n (%)**			
rs1799796	AA	۲۶ (۳۲)	۱۲ (۱۴/۳)	۱	۱	
	AG	۱۰ (۱۲)	۲۶ (۳۲)	۰/۰۶۷	۰/۰-۰۳۸/۰۹۷	۰/۰۱۶
	GG	۱ (۱/۲)	۷ (۸/۵)	۰/۳۷۱	۰/۰-۰۴۰/۶۹۷	۰/۳۸۲
پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی	**ژنوتیپ**	**وضعیت متاستاز**		**OR**	**95% CI**	**P-value***
		M+, n (%)	**M-, n (%)**			
rs1799796	AA	۳ (۳/۵)	۱۸ (۲۲)	۱	۱	
	AG	۶ (۷/۳)	۴۵ (۵۵)	۰/۸۶۳	۰/۱-۲۳۹/۶۱۹	۰/۷۳۵
	GG	۱ (۱/۲)	۹ (۱۱)	۰/۶۲۱	۰/۱-۳۲۱/۲۹۷	۰/۸۴۲

× سطح معنی‌داری کمتر از$P<0/05$

مطابق جدول شماره (۶) هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری میان ژنوتیپ‌های این پلی‌مورفیسم با وضعیت گیرنده‌های هورمونی مشاهده نشد.

جدول (۶): بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم های موردمطالعه با گیرنده‌های هورمونی در گروه بیمار.

پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی	ژنوتیپ	گیرنده استروژن (ER) Positive, n (%)	Negative, n (%)	OR	95% CI	P-value*
	AA	۸ (۹/۷۵)	۳۰ (۳۶/۵)	۱	۱	
rs1799796	AG	۲۳ (۲۸)	۱۸ (۲۲)	۳/۷۶۷	۱/۶-۵۳۸/۳۶۹	۰/۰۱۶
	GG	۱ (۱/۲۵)	۲ (۲/۵)	۰/۶۳۴	۰/۱-۳۳۳/۲۲۳	۰/۴۵۶
پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی	**ژنوتیپ**	**گیرنده پروژسترون (PR) Positive, n (%)**	**Negative, n (%)**	**OR**	**95% CI**	**P-value***
	AA	۳۷ (۱۴/۵)	۱۳ (۳۱/۸)	۱	۱	
rs1799796	AG	۲۰ (۳۳)	۷ (۱۱)	۰/۷۶۷	۰/۱-۵۷۸/۲۳۹	۰/۶۸۷
	GG	۲ (۸/۵)	۳ (۱/۲)	۰/۶۳۴	۰/۱-۲۹۸/۳۲۱	۰/۸۹۷
پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی	**ژنوتیپ**	**گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (HER2) Positive, n (%)**	**Negative, n (%)**	**OR**	**95% CI**	**P-value***
	AA	۳۳ (۴۰/۲۵)	۱۰ (۱۲/۲۵)	۱	۱	
rs1799796	AG	۲۹ (۳۵/۵)	۷ (۸/۵)	۰/۲۹۲	۰/۱-۴۷۷/۰۱۰	۰/۳۰۰
	GG	۲ (۲/۵)	۱ (۱/۲۵)	۰/۳۳۳	۰/۱-۲۷۶/۴۴۲	۰/۷۲۰

× سطح معنی‌داری کمتر از$P<0/05$

بحث و نتیجه گیری

سرطان پستان ۲۳درصد کل سرطان‌ها در زنان را شامل می‌شود به گونه‌ای که شایع‌ترین و کشنده‌ترین بدخیمی در زنان محسوب شده و یکی از مهم‌ترین عوامل نگران کننده سلامتی زنان در جهان می‌باشد. بروز این سرطان در زنان ایرانی روز به روز با افزایش چشمگیری همراه است (۱۹، ۱۱). ژن XRCC3 یک نقش مهم در ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای دارد که این نقش خود را از طریق نوترکیبی همولوگی انجام می‌دهد. ظرفیت هر سلول جهت تعمیر این آسیب‌ها ارتباط تنگاتنگی با سرطانی شدن آن سلول و در نتیجه سرطان دارد. به‌عبارت‌دیگر ظرفیت تعمیری DNA در حالت طبیعی در حفظ عملکرد سلولی و برقراری هومئوستاز ضروری می‌باشد. XRCC3 از اجزاء درگیر در مسیر تعمیر نوترکیبی همولوگی می‌باشد که میان کنش‌های مستقیمی با Rad51 داشته و با کمک آن در فرایند تعمیر نوترکیبی همولوگی دخالت دارد (۱۱-۹). وجود واریانت ژنتیکی rs1799796 می‌تواند موجب تغییر ظرفیت مکانیسم تعمیری DNA شده و ممکن است با فرایند تومورزایی در ارتباط باشد (۱۲-۱۴). اساس محاسبات آماری انجام شده ارتباط معناداری بین پلی‌مورفیسم rs1799796(A/G) و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده نشد ($P>0/05$). به‌عبارت‌دیگر ارتباط معنی‌داری بین این ژنوتیپ‌های این پلی‌مورفیسم و بیماری مشاهده نشد به طوری که نتایج بدست آمده در مطالعه ما با پژوهش صورت گرفته توسط Chen-Hsien su و همکاران (سال ۲۰۱۵) همخوانی دارد (۱۳)، بعلاوه در مطالعه‌ای که توسط Alaa Mohammed Ali و همکاران (سال ۲۰۱۶) صورت گرفت هیچ گونه ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1799796 وخطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده نشد که با نتایج بدست آمده در پژوهش ما سازگار است (۱۲). از سوی دیگر نتایج بدست آمده در مطالعه ما در مورد پلی‌مورفیسم rs1799796 با مطالعه صورت گرفته توسط Vral و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی زنان بلژیکی همخوانی دارد (۲۰). مطالعات متعدد دیگری در مورد ارتباط میان پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1799796 وخطر ابتلا به سایر سرطان‌ها صورت گرفته است. در مطالعه‌ای که توسط مهرزاد و همکاران در سال ۲۰۱۹ در کشور ایران صورت گرفت ارتباط پلی‌مورفیسم rs1799796 وخطر ابتلا به سرطان کلورکتال مورد بررسی گرفت که درنهایت ارتباط معنی‌داری میان ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم مذکور با خطر ابتلا به سرطان کلورکتال مشاهده نشد که با نتایج حاصل در مطالعه ما در ارتباط با سرطان پستان همخوانی دارد (۲۱). در مطالعه دیگر که توسط Zawisza و همکاران در سال ۲۰۱۹ در لهستان صورت گرفت ارتباط معنی‌داری میان آلل G و ژنوتیپ GG پلی‌مورفیسم rs1799796 و خطر ابتلا به سرطان

پروستات مشاهده گردید که با نتایج حاصل در مطالعه ما همخوانی ندارد (۱۶). از دلایل عدم همخوانی این مطالعه با نتایج حاصل در پژوهش ما می‌توان به تفاوت‌های ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف و تفاوت در محل زندگی و شرایط جغرافیایی اشاره کرد. در مطالعه‌ای که توسط He و همکاران در سال ۲۰۱۳ در جمعیت چینی بر روی بیماران مبتلا به سرطان ریه صورت گرفت، ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم rs1799796 با خطر ابتلا به سرطان ریه مشاهده نگردید به گونه‌ای که با نتایج حاصل در پژوهش ما همخوانی دارد (۲۲). در متاآنالیز صورت گرفته توسط Yuan و همکاران ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم rs1799796 با خطر ابتلا به سرطان تخمدان مشاهده شد (۱۷). بعلاوه این ارتباط در مطالعه صورت گرفته توسط Sarwar و همکاران در ارتباط با سرطان تیروئید نیز مشخص گردید (۱۸) به گونه‌ای که با نتایج حاصل در مطالعه ما در تضاد می‌باشد. مهم‌ترین دلیل اختلاف نتایج حاصل با سایر مطالعات، تفاوت‌های قومی و نژادی است که می‌تواند بر روی این ارتباطات اثر مثبتی داشته باشد. در مطالعه صورت گرفته توسط Tsai و همکاران در سال ۲۰۱۴ در جمعیت تایوانی ارتباط پلی‌مورفیسم rs1799796 با خطر ابتلا به سرطان دهان مورد بررسی قرار گرفت که در نتیجه آن ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم مذکور با خطر ابتلا به سرطان دهان مشاهده نشد (۲۳) به گونه‌ای که با نتایج حاصل در مطالعه ما سازگاری دارد. در تفسیر عدم ارتباط پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1799796 با خطر ابتلا به سرطان پستان می‌توان گفت: از آن جایی که سرطان پستان یک بیماری چند عاملی می‌باشد برای وقوع آن بایستی عوامل ژنتیکی و محیطی در کنار هم قرار گیرند و شاید وجود یک فاکتور نتواند جهت بروز این سرطان کافی باشد. بنابراین می‌توان گفت که عوامل محیطی دیگر نظیر شرایط زندگی، منطقه جغرافیایی، شرایط فیزیولوژیکی وآناتومی فرد در کنار این تنوعات ژنتیکی (پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی) می‌توانند در بروز سرطان پستان نقش داشته باشند.

بررسی پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های دخیل در بروز سرطان پستان نظیر XRCC3 به عنوان بیومارکر در پیش‌گویی بالینی می‌تواند نقش مهمی در پیشگیری از ابتلا به سرطان پستان داشته باشد، لذا مطالعه حاضر بر پایه مطالعات موردی شاهد بر روی زنان ساکن استان مرکزی در ایران انجام گرفت، با توجه به نتایج بدست آمده ارتباط معنی‌داری میان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1799796 و سرطان پستان مشاهده نشد.

یکی از چالش‌های عمده‌ای که در این تحقیق با آن مواجه شدیم، عدم دسترسی آسان و هزینه بالای تهیه آنزیم‌های محدودگر بود. این موضوع، تحلیل‌های بیوشیمیایی را دشوار ساخت و بر زمان‌بندی پروژه تأثیر گذاشت. علاوه بر این، جمع‌آوری نمونه‌های خونی از بیماران مبتلا به سرطان ریه نیز با محدودیت‌هایی همراه بود که شامل مسائل اخلاقی و دسترسی به جامعه آماری کافی می‌شود.

در راستای بهبود و دقت نتایج، پیشنهاد می‌شود که بررسی‌های آینده تمرکز خود را بر تأثیر چندشکلی rs1799796 بر بیان ژن XRCC3قرار دهند. با انجام این تحقیقات می‌توان ارتباط بین وجود و عدم وجود این واریانت و تغییرات در بیان ژن را به صورت دقیق‌تری مورد مطالعه قرار داد و بدین ترتیب به درک بهتری از مکانیسم‌های بیماری‌زایی در سرطان ریه دست یافت.

تشکر و قدردانی:

از دانشگاه علوم پزشکی اراک و پرسنل بیمارستان آیت‌آلله خوانساری شهر اراک برای همکاری در این طرح تشکر و قدردانی می‌شود.

حمایت مالی تحقیق:

با حمایت مرکز تحقیقات پزشکی-مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اراک.

تضاد منافع:

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تضاد منافع مرتبط با نگارش و انتشار این مقاله ندارند.

ملاحظات اخلاقی:

این پژوهش بخشی از طرح تحقیقاتی با عنوان " بررسی هاپلوتایپ‌های دو پلی‌مورفیسم rs861539 و rs1799796 ژن XRCC3 با خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان استان مرکزی " در سال ۱۳۹۹ و کد اخلاق IR.ARAKMU.REC.1397.335 و کد طرح ۳۱۸۳ است.

References:

1 .Abdeahad H, Bahrami A, Saeedi N, Shabani M, Pezeshki M, Khazaei M, et al,. Association between genetic variants at 9p21 locus with risk of breast cancer. Pathol Res Pract 2020;216(7):152987. https://doi.org/10.1016/j.prp.2020.152987

2 .Pezeshki M, Ansari J. Evaluating the risk factors of breast Cancer. Paramed Sci Milit Health 2018;13(3):1-11.

3 .Karimi F, Entezar Mahdi R, Khalkhali HR. Estimation of breast cancer burden in West Azarbaijan province in 2013. Stud Med Sci 2017;28(8):1-7.

4 .Pezeshki M, Ansari J, Ahmadi A. Investigating the Association between rs712829 Polymorphism of EGFR Gene with Lung Cancer as a Predictive Marker in Iranian Population. Jundishapur Sci Med J 2023;22(4):458-68.

5 .Lakzaei M, Salarilak S, Khalkhali HR, Maleki D, Esnaashari O. Association between age of morbidity and prognosis of breast cancer. Stud Med Sci 2015;26(7):625-33.

6 .Pezeshki M, Esfandiari M, Tamjidi A, Ahmadi A, Kamijani D. Role of key genes in lung cancer diagnosis and treatment: A review. Paramed Sci Mil Health 2023;18(1):61-77.

7 .Pezeshki M, Hosseini SM, Ansari J, Ahmadi A. EGFR, Exo1, and LEP gene polymorphisms and lung cancer risk. Egypt J Med Hum Genet 2023;24(1):55. https://doi.org/10.1186/s43042-023-00436-8

8 .Karimian N, et al. Increased risk of breast cancer by reducing RHOB gene promoter VNTR repeats. Stud Med Sci 2016;27(8):706-12.

9 .Ansari J, Pezeshki M. XRCC3 repair role and risk of breast cancer. Paramed Sci Mil Health 2019;14(4):41-50.

10 .Pezeshki M, Ansari J. Study of the association FokI polymorphisms of the XRCC3 gene with the risk of breast cancer in women: brief report. Tehran Univ Med J 2019;76(10):703-7

11 .Hamta A, et al. Pezeshki M, Ansari J. Thr241Met polymorphisms of XRCC3 gene and breast cancer risk in Markazi Province. J Arak Univ Med Sci 2018;20(12):93-103.

12 .Ali AM, AbdulKareem H, Al Anazi M, Reddy Parine N, Shaik JP, Alamri A, et al. XRCC3 gene polymorphisms and breast cancer susceptibility in Saudi females. BioMed Res Int 2016;2016. https://doi.org/10.1155/2016/8721052

13 .Su CH, Chang WS, Hu PS, Hsiao CL, Ji HX, Liao CH, et al. XRCC3 genotypes and triple-negative breast cancer risk. Cancer Genom Proteom 2015;12(6):359-67.

14 .Han S, Zhang HT, Wang Z, Xie Y, Tang R, Mao Y, Li Y. XRCC3 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis. Eur J Hum Genet 2006;14(10):1136-44. https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201681

15 .He XF, Wei W, Su J, Yang ZX, Liu Y, Zhang Y, et al. Association between the XRCC3 polymorphisms and breast cancer risk: meta-analysis based on case-control studies. Mol Biol Rep 2012;39(5):5125-34. https://doi.org/10.1007/s11033-011-1308-y

16 .Nowacka-Zawisza M, Raszkiewicz A, Kwasiborski T, Forma E, Bryś M, Różański W, et al. RAD51 and XRCC3 polymorphisms and prostate cancer risk. J Oncol 2019;2019. https://doi.org/10.1155/2019/2976373

17 .Yuan C, Liu X, Yan S, Wang C, Kong B. XRCC3 gene polymorphism and ovarian cancer risk. BioMed Res Int 2014;2014. https://doi.org/10.1155/2014/648137

18 .Sarwar R, Mahjabeen I, Bashir K, Saeed S, Kayani MA. XRCC3 gene polymorphisms and thyroid cancer risk. Cell Physiol Biochem 2017;42(1):22-33. https://doi.org/10.1159/000477109

19 .Banegas MP, Bird Y, Moraros J, King S, Prapsiri S, Thompson B. Breast cancer knowledge and early detection in US-Mexico border Latinas. J Women's Health 2012;21(1):101-7. https://doi.org/10.1089/jwh.2010.2638

20 .Vral A, Willems P, Claes K, Poppe B, Baeyens A, Perletti G, et al. Polymorphisms in Rad51 and Xrcc3, breast cancer risk, and radiosensitivity. Mol Med Rep 2011;4(5):901-12.

21 .Mehrzad J, Dayyani M, Khorasani ME. XRCC3 and XRCC7 polymorphisms and colorectal cancer risk in Khorasan Razavi, Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2019;20(7):2153. https://doi.org/10.31557/APJCP.2019.20.7.2153

22 .He F, Chang SC, Wallar GM, Zhang ZF, Cai L. XRCC3 and XRCC4 polymorphisms, family history, and lung cancer risk in Chinese population. J Hum Genet 2013;58(10):679-85. https://doi.org/10.1038/jhg.2013.78

23. Tsai CW, Chang WS, Liu JC, Tsai MH, Lin CC, Bau DT. Contribution of DNA double-strand break repair gene XRCC3 genotypes to oral cancer susceptibility in Taiwan. Anticancer Res 2014;34(6):2951-6.

Original Article

DETERMINATION OF THE FREQUENCY OF POLYMORPHISM (RS1799796) IN THE XRCC3 GENE IN BREAST CANCER PATIENTS AND HEALTHY INDIVIDUALS, AND COMPARING THEM WITH EACH OTHER IN A POPULATION OF IRANIAN WOMEN

Milad Pezeshki[1], *Jamshid Ansari*[2], *Mahdi Nakhaee*[3]

Received: 26 March, 2024; Accepted: 07 May, 2024

Abstract

Background & Aims: Breast cancer is the most prevalent type of cancer in women worldwide. Biological research indicates that damages caused by genetic and environmental factors to the DNA structure are linked to an increased risk of developing breast cancer. Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes can be associated with differences in the repair efficiency of DNA damage and may affect breast cancer. The XRCC3 protein participates in DNA double-strand breaks and recombination repair, in other words, the product of the XRCC3 gene, plays a key role in homologous recombination repair of DNA double-strand breaks. The polymorphism of AluI plays critical roles in breast cancer development. The aim of the present study was to evaluate associations between the risk of breast cancer and AluI polymorphism in the XRCC3 gene.

Materials & Methods: In the present case-control study, the polymorphism (rs1799796) of the XRCC3 gene and the risk of breast cancer were evaluated in a population consisting of 100 patients and 100 healthy women residing in the Central Province. The genotypes of the samples were determined using the PCR-RFLP technique. Ultimately, SPSS software version 20 was used for statistical analysis, and the final results were utilized. A significance level of less than $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: The average age (age range) in the patient group and the healthy individuals was respectively 52.27 ± 12 (27-90) and 48.08 ± 10 (28-75). Comparison of the age categories between the two groups did not show any significant difference ($P = 0.429$, $\chi 2 = 0.625$). The frequency of allele A was 63.5% in the control group and **70%** in the patient group, and the frequency of allele G was 36.5% in the control group and **30%** in the patient group. Statistical analyses did not show a significant association between allele frequencies and the risk of breast cancer ($P = 0.168$). The genotypes had the following frequencies in the two groups: genotype AA was observed in 38% of the control group and 48% of the patient group, genotype AG was 50% and 44% respectively, and genotype GG was 12% in the control group and 8% in the patient group. No significant differences were observed between the patient and control groups for the three genotypes at the rs1799796 locus ($P > 0.05$).

Conclusion: No significant association was found between polymorphism (rs1799796) in the XRCC3 gene and the risk of breast cancer. Consequently, it is suggested that the rs1799796 polymorphism of the XRCC3 gene cannot be used as a biological marker in predictive clinical studies related to breast cancer risk. Further studies in different populations with a larger statistical sample are required.

Keywords: Single Nucleotide Polymorphism, rs1799796, Breast Cancer, XRCC3, PCR-RFLP

Address: Department of Radiotherapy, Ayatollah Khansari Hospital, Daneshgah St., Arak, Iran

Tel: +988633675001

Email: Jamshidsa@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2024: 35(1): 70 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

[1] *M.Sc., Department of Genetic, Infectious Diseases Research Center (IDRC), Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran*

[2] *MD, Department of Oncology, Ayatollah Khansari Hospital, Arak university of Medical Sciences, Arak, Iran (Corresponding Author)*

[3] *BSc in Laboratory Sciences, Islamic Azad University of Tehran, Medical Branch, Tehran, Iran*