(مقالهٔ پژوهشی)

بررسی سطح بیان ژن RAD51 پس از تابش پرتوهای یونیزان به سلول‌های لنفوسیت خونی به منظور ارزیابی ترمیم DNAدربیماران مبتلا به سرطان سینه مراجعه‌کننده به بیمارستان گلستان اهواز

سید علی‌حسین صابری[۱]، محسن شفیعی[۲*]، سید محمّد حسینی[۳]، سید محمود لطیفی[۴]

۱- دانشیار گروه ژنتیک پزشکی.
۲-دانشجوی کارشناسی‌ارشد فیزیک پزشکی.
۳- استادیار گروه رادیوتراپی و آنکولوژی.
۴- مربی گروه آمار واپیدمیولوژی.

۱-گروه ژنتیک پزشکی،دانشکدهٔ پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
۲-گروه فیزیک پزشکی،دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
۳- گروه رادیوتراپی وآنکولوژی، مرکز آموزشی درمانی بیمارستان گلستان اهواز، ایران.
۴- گروه آمار واپیدمیولوژی، دانشکدهٔ بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی-شاپور اهواز، ایران.

* نویسندهٔ مسؤول:
محسن شفیعی؛گروه فیزیک پزشکی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
تلفن:۹۸۹۱۳۶۰۱۱۹۹۴

Email: Mohsen.shafiee65@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف:سرطان سینه شایع‌ترین سرطان در بین زنان می‌باشد. یکی از روش‌های درمان این بیماری رادیوتراپی می‌باشد. مکانیسم‌های مختلف شامل تنظیم سیکل سلولی، ترمیم DNA و آپوپتوزیس در پاسخ به تابش پرتویی در سلول‌ها فعال می‌شوند. با بررسی وضعیت مکانیسم‌ها و مارکرهای بیولوژیکی، می‌توان پاسخ سلول‌های فرد به پرتو تابشی(حساسیت پرتویی) را ارزیابی کرد و با توجه به حساسیت پرتویی فرد، برنامه درمانی متناسب با بیمار تنظیم نمود هدف از این مطالعه ارزیابی حساسیت پرتویی در بیماران مبتلا به سرطان سینه و کمک به طراحی دقیق تر پروتوکل های درمانی درراديو تراپی است.

روش بررسی: در این پژوهش با استفاده از روش RT-qPCR، میزان بیان ژن RAD51 در سلول‌های لنفوسیت خونی در بیماران مبتلا به سرطان سینه و افراد سالم به‌دست آورده شد.ارتباط بیان ژنRAD51 در بیماران با پارامترهای کلینیکی به کمک آزمون‌های آماری غیرپارامتریک (Mann-Whitney and Kruskal-wallis tests) در نرم‌افزارSPSS17مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها:بیان ژن RAD51 در بیماران بعد از تابش پرتویی افزایش معناداری(P: 0/006 , ۸ برابر) نسبت به افراد سالم نشان داد. رابطهٔ معناداری بین بیان ژن RAD51 با گیرندهٔ رشد اپیدرمالHER2/Neu (P: 0/024)، و سن بیماران (P: 0/03) یافت شد.

نتیجه‌گیری: بیان ژنRAD51 در سلول‌های لنفوسیت خونی می‌تواند مارکر بیولوژیکی مناسبی جهت سنجش حساسیت پرتویی در بیماران سرطان سینه باشد.

کلید واژگان: RAD51، حساسیت پرتویی، بیان ژن، سرطان سینه، رادیوتراپی.

دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱۰/۳ دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۱/۱۱/۴ اعلام قبولی: ۱۳۹۱/۱۱/۲۱

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

سرطان سینه یک بیماری شایع در بین زنان در کشورمان می‌باشد و دومین علت مرگ‌ومیر رایج ناشی از سرطان است(۱). یکی از روش‌های درمان سرطان سینه، رادیوتراپی است. هدف از رادیوتراپی، استفاده از پرتوهای یونیزان برای از بین بردن سلول‌های سرطانی بدخیم‌می‌باشد.در کنار درمان رادیوتراپی سلول‌های سالم بیماران نیز تحت تابش پرتویی قرار می‌گیرند. در شرایط درمانی(رادیوتراپی) استاندارد، بافت سالم بیماران پاسخ پرتویی متفاوتی را بروز می‌دهند. با پیشرفت علم رادیوبیولوژی امکان ارزیابی پاسخ سلول‌های بیمار(حساسیت‌پرتویی) به پرتوتابشی فراهم آمده است و با توجه به حساسیت پرتویی فرد، برنامهٔ درمانی متناسب با بیمار تنظیم می‌شود(۲). بنابراین یکی از اهداف علم رادیوبیولوژی ارزیابی حساسیت پرتویی بیماران سرطان سینه برای کاهش عوارض زودرس ودیررس بعد از رادیوتراپی می‌باشد(۳). در رادیوبیولوژی، سلول‌های فیبروبلاست و لنفوسیت‌های خونی جهت بررسی آثار پرتویی، مورد استفاده قرار می‌گیرند.پاسخ این سلول‌ها به تابش پرتویی را می‌توان با بررسی مکانیسم‌ها ومارکرهای بیولوژیکی در سلولو بررسی آسیب‌های سیتوژنتیکی (در سطح کروموزوم) مورد ارزیابی قرار داد(۴، ۵).فرایندهای مختلف سلولی (نقاط تنظیمی، ترمیم DNAو آپوپتوزیس) در پاسخ به درمان رادیوتراپی(تابش پرتویی)در سلول‌ها فعال می‌شوند، مهمترین فرایند پاسخ به تابش رادیوتراپی، فرایندهای ترمیمی شکست‌های دو رشته‌ایDNAمی‌باشند، زیرا بین آسیب‌های وارد شده به DNA سلول، شکست-های دو رشته‌ای مهمترین علت مرگ سلولی می‌باشند (۲). بنابراین ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای اهمیت به‌سزایی در بقای سلول‌هایت حت تابش وآسیب بافتی دارد. از فرایند-های ترمیمی شکست‌های دو رشته‌ای می‌توان به HR(Homologous recombination) و Non) NHEJ(homologous end joining اشاره کرد (۶).

ژن γH2AXمارکر بیولوژیکی دخیل در فرایندهای ترمیمی HR وNHEJ می‌باشد که برای سنجش حساسیت پرتویی در بیماران کاربرد دارد(۷). مهمترین فرایند ترمیمی، در شکست‌های دو رشته‌ایDNA فرایند ترمیمیHR می-باشد.در روش HR،شکست‌های دو رشته‌ایDNA از روی رشتهٔ سالم ترمیم می‌شوند. ژن RAD51 در فرایند ترمیمیHR، نقش محوری دارد(۸). اینژندر ژنوتایپ انسان در جایگاه 15q15.1قرار گرفته و دارای ۱۰ اگزون می-باشد.RAD51 و پارالگ‌های آن همانند ,RPA,BRCA1 BRCA2 به انتهای 3´ رشته‌های آسیب دیده متصل می-شوند و امکان بازشدگی رشتهٔDNA همولوگ سالم را جهت سنتز رشتهٔآسیب دیده فراهم می‌کنند.در این پژوهش مکانیسم ترمیم DNA به کمک مارکر بیولوژیکیRAD51 در سلول‌های خونی به منظور ارزیابی حساسیت پرتویی بافت سالم در بیماران مبتلا به سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفته است.برای این منظور بیان ژنRAD51درسطح mRNAبا استفاده از روش PCR کمی (RT-qPCR) اندازه‌گیری شده است. همچنین رابطهٔ بین بیان ژن RAD51 و پارامترهای کلینیکی در بیماران مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

دراین پژوهش، مقطعی (مورد- شاهد)، ۲۰ بیمار مبتلا به سرطان سینه که به بیمارستان گلستان اهواز مراجعه کرده بودند و بدخیمی آنها توسط متخصص آسیب‌شناسی مورد تأیید قرار گرفته بود، به عنوان گروه هدف در نظر گرفته شدند. این بیماران در محدودهٔ سنی ۷۳-۳۱ و میانگین سنی ۱۱±۴۹ قرار داشتند و تحت هیچ درمانی قرار نگرفته بودند و اطلاعات کلینیکی و پاراکلینیکی از پروندهٔ بیماران و پرسش‌نامه تهیه گردید.۲۰ نفر زن با میانگین سنی۹ ± ۳۶

Archive of SID

www.SID.ir

سال وبا محدودهٔ سنی۴۵-۲۲ به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. این افراد فاقد هرگونه بیماری ژنتیکی خاصی بودند(در پژوهش حاضر انتخاب حجم نمونه بر اساس پژوهش‌های قبلی که در رابطه با استفاده از مارکرهای بیولوژیکی در بررسی سرطان سینه انجام شده بودند، صورت گرفته است(۹).

الف) نمونه‌گیری وتابش پرتویی:

ابتدا از جامعهٔ مورد مطالعه نمونهٔ خون محیطی (2ml) تهیه گردید، سپس طی شرایط استریل و در دمای°۴ به بخش شتاب‌دهندهٔ بیمارستان گلستان اهواز انتقال داده شدند.در ادامه نمونه‌های خونی به وسیلهٔ دستگاه شتاب‌دهندهٔ خطی (LINAC)تحت تابش پرتوییدوگری (E=6Mev, Electron) قرار گرفتند.

ب)کشت سلولی:

خون محیطی تابش دیده بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد و به خون محیطی تابش دیده به میزان 2mlمحیط کشت(RPMI1600 و20% FBS) اضافه گردید و سپس به انکوباتور ۳۷درجه انتقال داده شد.

ج)استخراج RNA:

با کمی تغییردر پروتکل شرکت سازنده(سینا ژن) از تمامی جامعهٔ مورد نظرRNA سلولی استخراج شد.در این روش ابتدا گلبول‌های قرمز خون توسط13ml بافر RBC Lysis Buffer1X، لیز شدند و سلول‌های خونیبه کمک سانتریفوژرسوب شدند. در ادامه به کمک 1ml RNX plus(سیناژن) ابتدا سلول‌های خونی لیز شدند و در ادامه باکلروفوم (۲۰۰میکرولیتر) و سانتریفیوژRNAسلولی به فازی جداگانه تفکیک شد. RNA جدا شده توسط ایزوپروپانول (۹۰۰میکرولیتر) سرد رسوب داده می‌شودو با اتانول۷۵٪، RNAاستخراج شده را شست‌وشو دادیم.در پایان نیز به وسیلهٔ آب دیونیزه (RNase-free،۲۵µL) رقت مورد نظر از RNA سلولی تهیه گردید. با دستگاه نانودرآپآلودگی وغلظتRNAدرهر یک از نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

د) سنتزcDNA:

با کیت استخراج cDNA(Fermentas)، از هر یک از نمونه‌ها با توجه به غلظت RNA استخراج شده(۵-۱میکروگرم)،cDNA تهیه شد. در این مرحله،از آنزیم ترانس‌کریپتاز معکوس(Reverse transcriptase)برای تبدیل mRNAبه cDNA استفاده شد. برای هرژن دو پرایمر رفت و برگشت طراحی شد،این پرایمرها توسط نرم-افزار Probe express software (Applied Biosystems)طراحی شدند و برای کاهش محصولات فرعی در اثر وجودDNAهای آلوده، طراحی پرایمر در نواحی اگزون‌ها انجام شد. توالی این پرایمرها به صورت زیر می‌باشد:

RAD51, F (5'GGCCTGCTGGAGAGAGGA3')

RAD51, R (5'CCACACTGCTCTAACCGTGA3')

B-actin, F (5'ATTGGCAATGAGCGGTTC3')

B-actin, R (5'GGATGCCACAGGACTCCAT3')

ه)انجام RT-qPCR:

بعد از تعیین غلظت cDNA ساخته شده به کمک پرایمرهای طراحی شده واکنشRT-qPCR بهینه‌سازی گردید. این واکنش {cDNA(4µL)، Deionized water (4µL)،Master mix (8µL)،primers(4µL-10Pmol)} در حجم نهایی۲۰ میکرولیتر به کمک دستگاه ABIstep one انجام شد. به منظور بهینه‌سازی واکنش به کمک رقت‌های مختلف محصول PCR، نمودارهای استاندارد وبازده واکنش برای ژنRAD51 (E=94%) وB-actin(E=97%) به‌دست آورده‌شد.سپس برای تمامی نمونه‌ها واکنش PCR طی یک سیکل5min دردمای°C94(Activation) و ۴۵ سیکل مراحل 15sec

Archive of SID

www.SID.ir

دردمای$94^{\circ}C$ (Denaturation)، 1min دردمای$65^{\circ}C$ (Annealing)و30sec دردمای$72^{\circ}C$ (Extension) ویک سیکل 5min در دمای$72^{\circ}C$ (Final Extension) انجام گردید.در این پروژه بیان ژن در لنفوسیت‌های تابش دیدهٔ افراد سالم به عنوان کالیبراتور در مقایسه با لنفوسیت های تابش دیدهٔ افراد بیمار انتخاب شدند. نتایج به‌دست آمده با روش($E+1^{-\Delta\Delta CT}\Delta\Delta CT$) به کمک ژن رفرنس-B actin تجزیه و تحلیل شدند، برای تمامی جامعهٔ مورد مطالعه بیان ژن RAD51به‌دست آورده شد.در پژوهش حاضر بیماران با توجه به پارامترهای کلینیکی به گروه‌های مختلف تقسیم شدند و ارتباط بیان ژن RAD51 در بیماران با پارامترهای کلینیکی با استفاده از نسخهٔ ۱۷ نرم-افزارSPSS و به کمک آزمون‌های آماری غیرپارامتریک (Kruskal-wallis Test،Mann-whitney Test) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

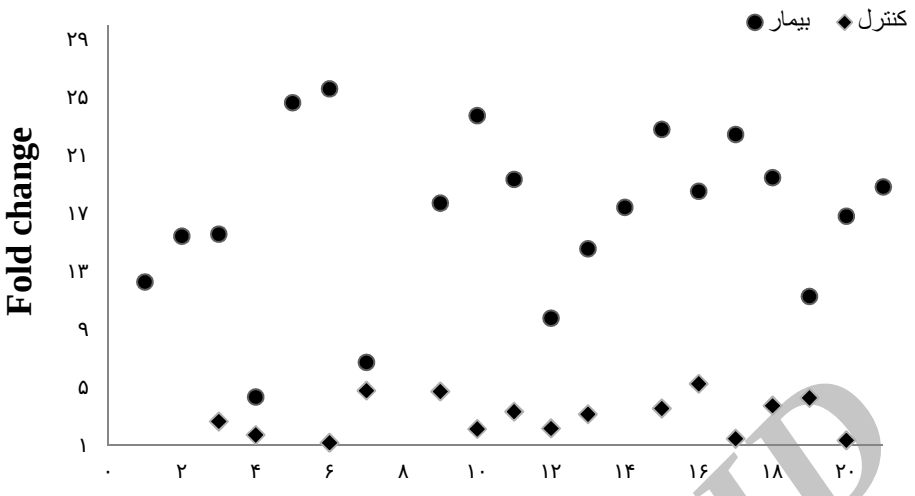
نتایج حاصل از qRT-PCR به کمک روشΔΔCT تجزیه و تحلیل شدند(۱۰). بیان ژن RAD51،در بیماران (Median=۱۷/۵۹، ۲۳/۶۳- =Rangeافزایش معناداری(P:0/006 , 8 Fold change) نسبت به بیان این ژن در افراد سالم (Median=۲/۱۷ , ۵/۲۷- =Range۰/۳)داشت (نمودار۱).

ارزیابی رابطهٔ بیان ژنRAD51در بیماران با پارامترهای کلینیکی نشان داد که ارتباط معناداری بین بیان ژن RAD51 و گیرندهٔHER2 (P: 0/024) وجود دارد،در بیماران با $HER2^{+}$، بیان ژن RAD51 افزایش یافته بود. همچنین در بیمارانی که دارای میانگین سنّی کمتری بودند، میزان بیان ژن RAD51 در آنها، افزایش معناداری (P: 0/03) نشان داده است. رابطهٔ معناداری بین بیان ژن RAD51 با دیگر پارامترهای کلینیکی مشاهده نشد(جدول ۱).

جدول ۱: نتایج بررسی بیان ژن RAD51 با پارامترهای کلینیکی

پارامترهای کلینیکی		میانگین بیان ژن RAD51	آزمون آماری	P
سن بیماران	≤50 years	۹/۴۶±۲/۲۵	Kruskal-wallis Test	۰/۰۳
	> 50 years	۶/۶۴±۲/۱۱		
تمایز یافتگی تومور (Grade)	G1	۵/۵۸±۰/۷۹	Kruskal-wallis Test	۰/۱۰
	G2	۹/۱۷±۲/۶۴		
	G3	۷/۷۳±۲/۳۷		
گیرنده پروژسترون	Negative	۸/۰۵±۲/۱۴	Mann-whitney Test	۰/۵۵
	Positive	۸/۸۱ ±۲/۱۸		
گیرنده استروژن	Negative	۹/۳۴±۲/۱۳	Mann-whitney Test	۰/۱۳
	Positive	۸/۵۱ ±۲/۱۵		
HER2/Neu	Negative	۷/۱۰±۲/۲۶	Mann-whitney Test	۰/۰۲۴
	Positive	۹/۸۹±۲/۷۴		

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار۱: تغییرات بیان ژن

بحث

بیماران سرطان سینه با روش درمانی استاندارد رادیوتراپی، در پاسخ به تابش پرتویی عوارض متفاوتی بروز می‌دهند(۱۱). بنابراین اهمیت شناخت حساسیت پرتویی بیماران، جهت کاهش عوارض پرتویی در بیماران بیش از پیش نمایان می‌شود.با توجه به اینکه سلول‌های فیبروبلاست به خوبی لنفوسیت‌ها نمی‌توانند پاسخ پرتویی بیماران را نمایان کنند(۱۲) و همچنین استفاده از نمونه‌های خونی بیماران و افراد سالم یک روش غیر تهاجمی می‌باشد، لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران به عنوان سلول‌های مورد بررسی انتخاب شدند. از آنجا که دوز دوگری، دوزی با حساسیت و اختصاصیت کامل می‌باشد(۱۳)، و معادل دوز درمانی در هر جلسهٔدرمان می‌باشد، این دوز جهت بررسی بیان ژن RAD51 انتخاب شد.پارامتر $HER2^{+}$در بیماران سرطان سینه قدرت تهاجمی و متاستازی سرطان رانشان می هد (۱۴) در این پژوهش در بیماران با $HER2^{+}$، بیان ژن RAD51 افزایش یافته بود(P: 0/024)از آنجا که HER2 یک پروتوانکوژن است، و از طرفی افزایش بیان ژن RAD51 می‌تواند باعث تشدید نوترکیبی (Recombination) و تشدید ژنی انکوژن-ها(مانندHER2)شود، بنابراین افزایش ژن RAD51منجر به تشدید و افزایش انکوژنHER2شده است. طبق مطالعات گذشته بیماران مبتلا به سرطان سینه با میانگین سنی کمتر،میزان بقای کمترینسبت به بیماران با میانگین سنّی بالاتردارند(۱۵) در این پژوهش نیز در بیماران با میانگین سنی کمتراز ۵۰ سال بیان ژن RAD51 افزایش یافته بود، ازآنجا که افزایش بیان ژن RAD51 منجربه کاهش بقا در بیماران سرطان سینه (۱۶) می‌شود، به نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش بقا در بیماران با میانگین سنی کمتر، افزایش بیان ژن RAD51می‌باشد. در سلول‌های فیبروبلاست و سلول‌های خونی نسبت بیان ژن‌های شرکت‌کننده در فرایند-های ترمیمیHR وNHEJمنجر به پاسخ‌های پرتویی متفاوتی در بیماران می‌شود(۱۷، ۱۸).کاهش عملکرد پروتئین‌های شرکت‌کننده در فرایندهای ترمیمی(به‌ویژه HR) در مدل‌های حیوانی و انسانی منجر به افزایش حساسیت پرتویی در سلول‌های تابشی می‌شود(۱۹)صالح و همکارانش با بررسی بیان ژن RAD51 در رده‌های سلولی فیبروبلاست (پوست) بیماران سرطان سینه، نتیجه گرفتند که بین بیان ژن RAD51 و حساسیت پرتویی در سلول‌های

Archive of SID
www.SID.ir

تابشی رابطهٔ معناداری وجود ندارد(۲۰). در حالی که نتایج پژوهش حاضر نشان دادکه بیان ژن RAD51 در لنفوسیت-های خون محیطی بیماران، افزایش معناداری (P:0/006) نسبت به افراد سالم دارد، که نشان از افزایش فرایند ترمیمیHR در بیماران نسبت به افراد سالم می‌باشد.از جهتی نیز نسبت بیان ژن RAD51بعد از شرایط پرتویی یکسان در بیماران متفاوت(بازهٔ۲۳/۶۳-۴/۳۶) می‌باشد. مطالعهٔ حاضر با مطالعهٔ ساک و همکاران که بر روی سلول-های فیبروبلاست انجام شد، هم‌راستا می‌باشد. در این مطالعه نشان داده شد که بیان ژن RAD51می‌تواند مارکر بیولوژیکی مناسبی جهت حساسیت‌سنجی بیماران باشد (۲۱). با توجه به اینکه RAD51 نقش به‌سزایی در ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای و کاهش آپوپتوزیس(بقای سلول-ها)(۲۲) دارد و از آنجا که حساسیت پرتویی بیماران به تابش پرتویی متفاوت است، تغییرات بیان ژنRAD51 در سلول‌های خون محیطی می‌تواند، نشان‌دهندهٔ مقاومت ویا حساسیت پرتویی در بیماران باشد.بنابراین می‌توان از بیان این ژن در بیماران به عنوان یک مارکر بیولوژیکی جهت سنجش حساسیت پرتویی آنها استفاده نمود. در پژوهش حاضر با توجه به اینکه مطالعهٔ بالینی جهت ارتباط بیان ژن RAD51 باحساسیت پرتویی در بیماران، بعد از رادیوتراپی صورت نگرفته است، بنابراین لازم است پژوهشی کوهرت در مورد رابطهٔ بیان ژن RAD51با حساسیت پرتویی در بیماران و پارامترهای کلینیکی انجام شود.بیان ژن RAD51 به صورت یک ژن خارجی در سلول و بررسی تشدید ژنیHER2 نیز می‌توانددر رابطه با علّت فعال شدن انکوژن‌ها بسیار با اهمیت باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از پژوهش اخیربه شرح زیر می‌باشد:

۱)بیان ژنRAD51 در سلول‌های لنفوسیت خونی می-تواند مارکر بیولوژیکی مناسبی جهت سنجش حساسیت پرتویی در بیماران سرطان سینه باشد.

۲) افزایش بیان ژن RAD51 می‌تواند باعث تشدید نوترکیبی و تشدید ژنیHER2 شود.

۳)افزایش بیان ژن RAD51 می‌تواند منجربه کاهش بقا در بیماران سرطان سینه شود.

قدردانی

از مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اهواز و از کارکنان مراکز شیمی درمانی و رادیوتراپی بیمارستان گلستان اهواز، به خاطر همکاریشان در انجام این پژوهش، قدردانی و تشکر می‌نماییم.

منابع

1-Howell A, Sims AH, Ong KR, Harvie MN, Evans DG, Clarke RB. Mechanisms of Disease: prediction and prevention of breast cancer--cellular and molecular interactions. Nat Clin Pract Oncol 2005;2(12):635-46.

2-Hall EJ, Giaccia AJ. Radiobiology for the Radiologist. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

3-Tutt A, Yarnold J. Radiobiology of breast cancer. Clin Oncol (R Coll Radiol) 2006;18(3):166-78.

4-Chistiakov DA, Voronova NV, Chistiakov PA. Genetic variations in DNA repair genes, radiosensitivity to cancer and susceptibility to acute tissue reactions in radiotherapy-treated cancer patients. Acta Oncol 2008;47(5):809-24.

5-Duffy MJ, O'Donovan N, Crown J. Use of molecular markers for predicting therapy response in cancer patients. Cancer treat Rev 2011;37(2):151-9.

6-Groth P, Orta ML, Elvers I, Majumder MM, Lagerqvist A, Helleday T. Homologous recombination repairs secondary replication induced DNA double-strand breaks after ionizing radiation. Nucleic Acids Res 2012;40(14):6585-94.

7-Goodarzi AA, Jeggo PA. Irradiation induced foci (IRIF) as a biomarker for radiosensitivity. Muta Res 2011;736(1-2):39-47.

Archive of SID

www.SID.ir

8-Henning W, Stürzbecher HW. Homologous recombination and cell cycle checkpoints: Rad51 in tumour progression and therapy resistance.Toxicology 2003;193(1-2):91-109.

9-Mitsuhashi M, Peel D, Ziogas A, Anton-Culver H. Enhanced expression of Radiation-induced Leukocyte CDKN1A mRNA in Multiple Primary Breast Cancer Patients: Potential New Marker of Cancer Susceptibility. Biomarker Insights 2009;4:201-9.

10-Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. Nucleic Acids Res 2001;29(9):e45.

11-Rødningen OK, Børresen-Dale AL, Alsner J, Hastie T, Overgaard J. Radiation-induced gene expression in human subcutaneous fibroblasts is predictive of radiation-induced fibrosis. Radiother Oncol 2008;86(3):314-20.

12-Kasten-Pisula U, Vronskaja S, Overgaard J, Dikomey E. In normal human fibroblasts variation in DSB repair capacity cannot be ascribed to radiation-induced changes in the localisation, expression or activity of major NHEJ proteins. Radiother Oncol 2008;86(3):321-8.

13-Paul S, Amundson SA. Development of gene expression signatures for practical radiation biodosimetry. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2008;71(4):1236-44.

14-Colón E, Reyes JS, González Keelan C, Climent-Peris C. Prevalence of steroied Receptors and HER-2/neu in breast cancer biopsies of women living in Puerto Rico. PR Health sci J 2002;21(4):299-303.

15-Benz CC, Thor AD, Eppenberger-Castori S, Eppenberger U, Moore D 3rd. Understanding the age dependency of breast cancer biomarkers. Adv Gerontol 2003;11:117-20.

16-Le Scodan R, Cizeron-Clairac G, Fourme E, Meseure D, Vacher S, Spyratos F, et al. DNA repair gene expression and risk of locoregional relapse in breast cancer patients. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2010;78(2):328-36.

17-Djuzenova C, Mühl B, Schakowski R, Oppitz U, Flentje M. Normal expression of DNA repair proteins, hMre11, Rad50 and Rad51 but protracted formation of Rad50 containing foci in X-irradiated skin fibroblasts from radiosensitive cancer patients. Br J Cancer 2004;90(12):2356-63.

18-Leong T, Chao M, Bassal S, McKay M. Radiation-hypersensitive cancer patients do not manifest protein expression abnormalities in components of the nonhomologous end-joining (NHEJ) pathway. Br J Cancer 2003;88(8):1251-5.

19-Ruffner H, Joazeiro CA, Hemmati D, Hunter T, Verma IM. Cancer-predisposing mutations within the RING domain of BRCA1: loss of ubiquitin protein ligase activity and protection from radiation hypersensitivity. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98(9):5134-9.

20-Saleh EM, El-Awady RA. Expression of RAD51, BRCA1 and P53 does not correlate with cellular radiosensitivity of normal human fibroblasts. Ir J Med Sci 2011;180(3):715-20.

21-Sak A, Stueben G, Groneberg M, Böcker W, Stuschke M. Targeting of Rad51-dependent homologous recombination: implications for the radiation sensitivity of human lung cancer cell lines. Br J Cancer 2005;92(6):1089-97.

22-Collis SJ, Tighe A, Scott SD, Roberts SA, Hendry JH, Margison GP. Ribozyme minigene-mediated RAD51 down-regulation increases radiosensitivity of human prostate cancer cells. Nucleic Acids Res 2001;29(7):1534-8.

Archive of SID

www.SID.ir

The Expression Levels of RAD51 after Ionizing Radiation in Peripheral Blood Lymphocytes for Evaluation of DNA Repair in Breast Cancer Patients Referred to Ahvaz Golestan Hospital

Seyed Ali Hossein Saberi[1], Mohsen Shafiee[2*], Seyed Mohammad Husseini[3], Seyed Mahmoud Latifi[4]

1-Associate Professor of Medical Genetic.
2-MSc Student of Medical Physics.
3-Assistant Professor of Radiotherapy and Oncology.
4-Lecturer of Epidemiology & Biostatistics.

1-Departmant of Medical GeneticAhvaz, Cellular and Molecular Biology Research Center, University of Medical Sciences. Ahvaz, Iran.
2-Departmant of Medical Physics, Ahvaz,University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
3-Department of Radiotherapy & Oncology, Golestan Hospital.
4-Department of Epidemiology& Biostatistics, Diabetes Research Center, School of Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

**Corresponding author:*
Departmant of Medical Physics, Ahvaz,University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel:+989136011994
Email:Mohsen.Shafiee65@ gmail. com

Abstract

Background and Objective: Breast cancer is one of the most common cancers among the women. One of the radical method for treatment of breast cancer is radiotherapy. Radiation induces different responses in cells, including cell cycle checkpoint activation, DNA repair and apoptosis. To check cellular responses and radiosensitivity in each patient, DNA repair mechanism and proteins, as biological markers, can be evaluated. Based on the repair capacity and radiosensitivity of cells in each patient we can design a treatment planning using radiation therapy The purpose of this study was to evaluate to the radiosensitivity in breast cancer patients to improve treatment planning

Subjects and Methods:A quantitative reverse transcriptase PCR-based assay for measurement of the expression level of RAD51 in lymphocyte cells for all breast cancer patients and healthy controls. Statistical analyses were performed using SPSS17 software. The relation between the expression level of RAD51and clinical characteristics of patients was analyzed by using the nonparametric Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests.

Results: The expression level of RAD51 significantly up regulated in the peripheral blood lymphocytes of patients (P= 0.006, 8 Fold change) compared to healthy controls. A significantcorrelation between the expression level of RAD51 and HER2/neu (P=0.024) as well as patients age (P= 0.03).

Conclusion: Expression level of RAD51 in lymphocyte cells can be a useful biological marker for evaluation of radiosensitivity in breast cancer.

Keyword: RAD51, Gene expression, Breast cancer, Radiotherapy, Radiosensitivity.

►*Please cite this paper as:*
Hossein Saberi SA, Shafiee M, Husseini SM,Latifi SM. The Expression Levels of RAD51 after Ionizing Radiation in Peripheral Blood Lymphocytes for Evaluation of DNA Repair in Breast Cancer Patients Referred to Ahvaz Golestan Hospital. Jundishapur Sci Med J 2013; 12(3):299-306

Received: Dec23, 2012 **Revised: Jan23, 2013** **Accepted: Feb 9, 2013**

Archive of SID
www.SID.ir