

Association between rs2735839 and Serum Prostate-specific Antigen Level Regarding Risk of Prostate Cancer in Iranian Population

Behnaz Beikzadeh¹, Seyed Abdolhamid Angaji^{2,*} , Maryam Abolhasani³

¹ MSc in Genetics, Department of Cell and Molecular Biology, School of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

³ Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* **Corresponding Author:** Seyed Abdolhamid Angaji, Department of Cell and Molecular Biology, School of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran. Email: angaji@khu.ac.ir

Abstract

Received: 06.01.2019

Accepted: 13.04.2019

How to Cite this Article:

Beikzadeh B, Angaji SA, Abolhasani M. Association between rs2735839 and Serum Prostate-specific Antigen Level Regarding Risk of Prostate Cancer in Iranian Population. *Avicenna J Clin Med.* 2019; 26(1): 12-19. DOI: 10.21859/ajcm.26.1.12

Background and Objective: Prostate cancer is among the five common cancers in males. It is second cancer in terms of the age-standardized rate (ASR) (ASR=16.6) in Iran. The rs2735839 G/A, an intergenic polymorphism is located on chromosome 19q13.33 at 600 base pairs of the KLK3 gene untranslatable region. This gene which codes prostate-specific antigen (PSA) is used in the screening and diagnosis of prostate cancer. The purpose of this study was to evaluate the association between this polymorphism and prostate adenocarcinoma with PSA.

Materials and Methods: This case-control study included 103 and 100 patients with prostate adenocarcinoma and benign prostatic hyperplasia (BPH) as case and control groups, respectively. Tetra-primer amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction was used to determine the genotype of each participant regarding rs2735839 polymorphism.

Results: There was a significant difference between the adenocarcinoma prostate and BPH groups regarding genotype frequency AG+AA (OR [95% CI]=4.991 [2.475-10.065], P=0.00). According to the results of statistical analysis, a significant difference was observed between the adenocarcinoma and BPH groups in terms of allele frequency (OR [95% CI]=3.927 [2.085-7.397], P=0.00). Moreover, There was a significant difference between rs2735839 and PSA regarding the genotype frequency polymorphism (P=0.011).

Conclusion: The results indicate that rs2735839 is associated with an increased risk of prostate cancer in Iranian population. It is worth noting that a significant difference was found between the distribution of allele A and that of allele G with PSA levels of >10.

Keywords: Gamma-seminoprotein, Kallikrein 2, Prostatic Hyperplasia, Single Nucleotide Polymorphism

مطالعه همراهی بین *rs2735839* با خطر ابتلا به آدنوکارسینومای پروستات و سطح سرمی PSA در جمعیت ایران

بهناز بیک‌زاده^۱، سید عبدالحمید انگجی^{۲*}، مریم ابوالحسنی^۳

^۱ کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

^۲ استادیار، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

^۳ دانشیار، گروه آسیب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: سید عبدالحمید انگجی، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

ایمیل: angaji@khu.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: سرطان پروستات یکی از پنج سرطان شایع در بین مردان بوده و دومین سرطان به لحاظ نرخ بروز استاندارد شده سنی (ASR=۱۶/۶) در جمعیت ایران می‌باشد. *rs2735839 G/A* در کروموزوم *19q13.33* در منطقه بین ژنی در فاصله ۶۰۰ جفت بازی در قسمت پایین منطقه غیر ترجمه‌شونده ژن *KLK3* قرار گرفته است. این ژن کدکننده آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA: Prostate Specific Antigen) می‌باشد و از آن در غربالگری و تشخیص این نوع سرطان استفاده می‌گردد. با توجه به موارد بیان‌شده، مطالعه حاضر با هدف بررسی همراهی این پلی‌مورفیسم با آدنوکارسینومای پروستات و PSA انجام شد.

مواد و روش‌ها: مطالعه مورد-شاهدی حاضر شامل ۱۰۳ فرد مبتلا به آدنوکارسینومای پروستات به‌عنوان گروه مورد و ۱۰۰ فرد مبتلا به هایپرپلازی خوش‌خیم پروستات (BPH: Benign Prostatic Hyperplasia) به‌عنوان گروه کنترل بود. در این مطالعه از روش Tetra-Primer ARMS-PCR (Tetra-Primer Amplification Refractory Mutation System-Polymerase Chain Reaction) به‌منظور تعیین ژنوتایپ هریک از افراد شرکت‌کننده برای پلی‌مورفیسم *rs2735839* استفاده گردید.

یافته‌ها: بین فراوانی ژنوتیپی AG+AA در گروه آدنوکارسینومای پروستات با BPH اختلاف معناداری وجود داشت (P=۰/۰۰)، [OR=۴/۹۹۱ (۲/۴۷۵-۱۰/۰۶۵) CI=۹۵ درصد]، در رابطه با فراوانی الی نیز آنالیزهای آماری، تفاوت معناداری را بین دو گروه آدنوکارسینوما و کنترل نشان دادند (P=۰/۰۰)، [OR=۲/۰۸۵-۷/۳۹۷] CI=۹۵ درصد]، شایان ذکر است که بین فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم *rs2735839* با PSA اختلاف معناداری مشاهده گردید (P=۰/۰۱۱).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر در ارتباط با *rs2735839* نشان‌دهنده همراهی این پلی‌مورفیسم با خطر سرطان پروستات در جمعیت ایران بودند. شایان ذکر است که در این مطالعه اختلاف معناداری بین توزیع فراوانی ال A نسبت به ال G با سطح PSA>10 مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی، کالیکرئین ۲، گاما سمینوپروتئین، هایپرپلازی پروستات

مقدمه

کم‌ترین نرخ آن در کشورهای آسیایی گزارش شده است [۵]. با وجود کاهش میزان بروز و مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات در ایالات متحده و برخی از کشورهای غربی دیگر، میزان بروز این سرطان در کشورهای کمتر توسعه‌یافته و درحال توسعه رو به افزایش می‌باشد [۳، ۶-۸]. سرطان پروستات در ایران نیز همانند سایر کشورهای درحال توسعه، رو به افزایش می‌باشد [۹]. مطابق با آخرین گزارش‌های

سرطان پروستات یکی از پنج سرطان شایع از نظر نرخ بروز و مرگ و میر [۱] در میان مردان بوده و دومین علت مرگ پس از سرطان ریه در سراسر جهان می‌باشد [۲]. نرخ شیوع این سرطان در میان جمعیت‌های مختلف، بسیار متفاوت است [۳]. اقیانوسیه و به دنبال آن آمریکای شمالی، اروپای غربی، شمال اروپا و کارائیب در میان کشورهای دارای بالاترین میزان بروز سرطان پروستات در جهان قرار دارند [۴]؛ درحالی که

225543369) و در حقیقت در نزدیکی انتهای ۳ این ژن قرار گرفته است [۲۲،۲۵]. ژن *Kallikrein-related Peptidase 3* (*KLK3*) کدکننده آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) است و از آن به‌طور گسترده در غربالگری و تشخیص سرطان پروستات استفاده می‌شود [۲۶]. PSA یک سرین پروتئاز ۳۰ کیلو دالتونی می‌باشد که توسط سلول‌های اپیتلیالی غده پروستات به داخل مایع سمینال و خون ترشح می‌گردد. PSA ماده مهارکننده حرکت اسپرم را که سمنوژلین نام داشته و در مایع سمینال قرار گرفته است، هیدرولیز می‌کند؛ در نتیجه با ایجاد قطعات محلول از سمنوژلین سبب افزایش حرکت اسپرم و حالت مایع ترشحات سمینال می‌گردد. علاوه‌براین، PSA تعدادی از پروتئین‌های تنظیم‌کننده رشد که در رشد و نجات سلول‌های سرطانی اهمیت دارند را برش می‌دهد. این پروتئین‌ها عبارت هستند از: پروتئین‌های اتصال فاکتور رشد انسولینی (IGFBP2,3,5)، پروتئین مرتبط با هورمون پاراتیروئید (PTH-related protein)، $\text{latent TGF-}\beta 2$ ، فیبرونکتین و لامینین (از اجزای ماتریکس خارج سلولی) که تخریب آن‌ها گام اول در تومورزایی، متاستاز و توسعه و پیشرفت سرطان پروستات می‌باشد [۲۷،۲۸]. در سرطان پروستات، سطح پلاسمایی PSA افزایش می‌یابد و از آن به‌طور گسترده‌ای برای تشخیص این بیماری استفاده می‌شود. از سوی دیگر، افزایش سطح سرمی PSA با جهش‌هایی در P53 و بیان بیش از حد پروتئین B-cell Lymphoma 2 که آپوپتوز را در سلول‌های توموری مهار می‌کند، همبستگی دارد [۲۹].

نتایج منتشرشده توسط مطالعات گوناگون صورت‌گرفته در رابطه با بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs2735839 با سرطان پروستات در بیشتر موارد مشابه و در برخی از موارد متفاوت می‌باشند [۳۰،۳۱]. همراهی ال A (AA,AG) در این پلی‌مورفیسم با افزایش خطر مرگ و میر همراه است [۳۱]. با توجه به مطالب بیان‌شده، هدف از مطالعه حاضر بررسی این پلی‌مورفیسم در افراد مبتلا به آدنوکارسینوما پروستات در جمعیت ایران در مقایسه با گروه کنترل هاپریلازی خوش‌خیم پروستات (BPH) بود؛ زیرا تا به امروز بررسی این پلی‌مورفیسم در جمعیت ایران صورت نگرفته است. در صورتی که همراهی بین rs2735839 با افزایش خطر ابتلا به سرطان پروستات تأیید گردد، می‌توان از این پلی‌مورفیسم به‌عنوان فاکتوری برای غربالگری این بیماران استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

مطالعه مورد-شاهدی حاضر شامل ۱۰۳ نفر از مبتلایان به آدنوکارسینوما پروستات به‌عنوان مورد و ۱۰۰ نفر مبتلا به هاپریلازی خوش‌خیم پروستات (BPH) به‌عنوان گروه کنترل بود که هر دو گروه به بیمارستان هاشمی‌نژاد تهران مراجعه کرده بودند. تشخیص هر یک از این دو گروه به واسطه مقدار PSA، آزمون دیجیتال رکتوم، بیوپسی پروستات و تأیید پزشک متخصص

GLOBOCAN (Global cancer observatory) در سال ۲۰۱۸ در مورد بروز و میزان مرگ و میر سرطان در ایران، سرطان پروستات در بین مردان دومین سرطان به لحاظ نرخ بروز استاندارد شده سنی (ASR=۱۶/۶) و سومین نوع سرطان از نظر نرخ مرگ و میر استاندارد شده سنی (ASR=۸/۳) به شمار می‌رود (بدون در نظر گرفتن سرطان پوست) [۱۰].

بیش از ۹۵ درصد از سرطان‌های پروستات از نوع آدنوکارسینوما می‌باشند. تشخیص زودرس و طبقه‌بندی دقیق سرطان پروستات بسیار حیاتی است؛ زیرا میزان بقا در زمانی که سرطان از اندام پروستات فراتر رود، بسیار کاهش می‌یابد؛ اما به دلیل هتروژنیته بافتی در سرطان پروستات، هیچ‌گونه تصویربرداری اختصاصی برای تشخیص اولیه این نوع سرطان وجود ندارد. با این وجود، برخی از مؤثرترین استراتژی‌ها در این ارتباط ذکر شده‌اند. اولین قدم در تشخیص، معمولاً آنالیز آزمون PSA و آزمون دیجیتال رکتوم (DRE: Digital Rectal Exam) می‌باشد؛ اما به دلیل وجود نتایج مثبت و منفی کاذب فراوان در آزمون PSA، این آزمون دارای محدودیت‌هایی نیز می‌باشد؛ برای مثال در حالت عفونت، میزان این آنتی‌ژن در DRE و یا بزرگی خوش‌خیم پروستات (همانند سرطان) افزایش می‌یابد؛ اما نتایج منفی آن به‌تنهایی نمی‌تواند نشان‌دهنده عدم وجود سرطان باشد. حد آستانه این آنتی‌ژن بالاتر از ۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر در نظر گرفته می‌شود؛ اما گاهی مردانی با میزان کمتر از این آستانه، شواهد بافت‌شناسی مرتبط با این سرطان را نشان می‌دهند [۱۱-۱۳]. ذکر این نکته ضرورت دارد که بیوپسی سوزنی در مراحل پیشرفته بیماری برای بررسی میکروسکوپی صورت می‌گیرد [۱۴]؛ بنابراین وجود آزمون‌هایی برای غربالگری می‌تواند افرادی که ممکن است شانس ابتلا به این بیماری در آن‌ها وجود داشته باشد را پیش از ابتلا به بیماری شناسایی نماید و با تحت نظر قراردادن این افراد و انجام آزمون‌های تشخیصی موجب افزایش طول عمر آن‌ها و نیز کاهش هزینه‌های درمانی پس از آن شود [۱۵-۱۸].

سن، منطقه جغرافیایی، نژاد و عوامل ژنتیکی متعددی در ابتلا به این سرطان نقش دارند [۱۹]. از جمله تغییرات ژنتیکی که در این تومورزایی نقش دارند می‌توان به SCNAS (Somatic Copy Number Alterations)، Structural Rearrangement، Point Mutations، SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) و miRNA اشاره کرد [۱۶،۲۰]. تا به امروز بیش از ۴۰ مطالعه GWA (Genome Wide Association) گزارش گردیده است که طی آن‌ها حدود ۱۷۰ چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (SNP) شناخته شده‌اند [۲۱]. یکی از این چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی، *rs2735839 G/A* می‌باشد [۲۲،۲۳] که در کروموزوم 19q13.33 قرار گرفته است [۱۶،۲۲]. این SNP در فاصله ۶۰۰ جفت بازی در قسمت پایین منطقه غیرترجمه‌شونده (3' Untranslated Region) ژن گاما-سمینوپروتئین (*KLK3: kallikrein-3*) (GI: NG_011653.1) قرار دارد.

خارجی و دو پرایمر اختصاصی داخلی می‌باشد. توالی پرایمرها در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

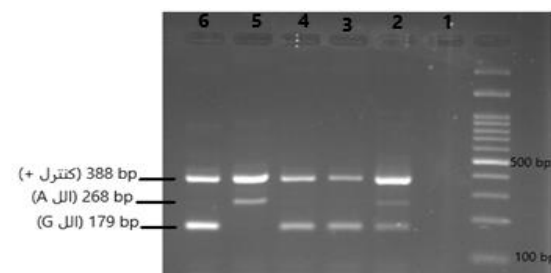
در این PCR حداکثر سه باند ایجاد می‌گردد. اندازه محصول برای ال ال = ۱۷۹ جفت باز، برای ال ال = ۲۶۸ جفت باز و برای کنترل مثبت که شامل دو پرایمر خارجی می‌باشد، ۳۸۸ جفت باز می‌باشد (جدول ۲).

با استفاده از گرادیانت PCR، دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌عنوان دمای اتصال پرایمر به DNA در مدت زمان ۳۰ ثانیه انتخاب گردید. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر صورت گرفت که هر ویال آن حاوی ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس (Taq DNA Polymerase 2x Master Mix RED- AMPLIQON-Denmark)، ۱ میکرولیتر DNA استخراجی (۰/۰۵ میکروگرم = غلظت نهایی)، ۰/۷۵ میکرولیتر از هر پرایمر (پیکومول = ۱۰ غلظت نهایی) و ۸/۵ میکرولیتر آب (PCR-grade) بود. PCR با برنامه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه در یک سیکل (داناتوراسیون اولیه)؛ ۳۲ سیکل شامل سه مرحله: الف. ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه (داناتوراسیون)، ب. ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه (اتصال پرایمر به DNA) و ج. ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه (تکثیر)؛ ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه (تکثیر نهایی) در یک سیکل انجام شد. شایان ذکر است که از کنترل منفی به‌منظور اطمینان از نبود آلودگی در PCR استفاده گردید. در نهایت، ۵ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد لود گردید و جداسازی آن‌ها با استفاده از الکتروفورز صورت گرفت. علاوه‌براین، رنگ‌آمیزی DNA با قرارگرفتن ژل در محلول اتیدیوم بروماید انجام شد و باندهای حاصل تحت نور UV (Ultraviolet) مشاهده گردید (شکل ۱).

صورت گرفت و تنها بیماران مبتلا به سرطان پروستات از نوع آدنوکارسینوما به‌عنوان مورد به مطالعه وارد شدند. اطلاعات بالینی بیماران همچون سن، مقدار PSA، حجم پروستات و مرحله بیماری در چک‌لیستی ثبت گردیدند. این دو گروه از نظر تمامی ویژگی‌ها به‌جز نوع بیماری یا اختلال در پروستات مشابه بودند و سابقه ابتلا به بیماری‌های دیگر را نداشتند. از تمامی افراد شرکت‌کننده در این مطالعه، رضایت آگاهانه مبنی بر شرکت در مطالعه و عدم افشای اسامی و اطلاعات آن‌ها اخذ گردید و پس از به امضا رسیدن فرم رضایت‌نامه، از هریک از این افراد مقدار ۳ میلی‌لیتر خون محیطی گرفته شد. نمونه‌های خونی داخل ویال‌های حاوی ضد انعقاد EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid) جمع‌آوری شدند و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. استخراج DNA (Deoxyribonucleic Acid) ژنومی از لئوسیت‌های خون محیطی مطابق با دستورالعمل کیت استخراجی FAVORGENE-Taiwan (یکتا تجهیز از ما، تهران، ایران) صورت گرفت. کیفیت DNA استخراجی از نظر کمی و کیفی به‌ترتیب توسط نانودراپ و ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ توسط دستگاه نانودراپ معادل ۱/۸ گزارش گردید. همچنین از روش Tetra-primer ARMS-PCR به‌منظور تعیین ژنوتایپ هریک از افراد شرکت‌کننده برای پلی‌مورفیسم rs2735839 (NC_000019.10) موجود در کروموزوم 19q13.33 استفاده شد. طراحی پرایمرها نیز به کمک پایگاه اطلاعاتی Primer1 صورت گرفت و صحت و درستی آن‌ها از طریق پایگاه اطلاعاتی Primer-BLAST-NCBI بررسی و تأیید گردید. شایان ذکر است که در این روش از چهار پرایمر در یک واکنش به‌منظور تعیین ژنوتایپ استفاده می‌شود که شامل دو پرایمر غیراختصاصی

جدول ۱: توالی پرایمرها و دمای ذوب هریک از آن‌ها

پرایمر	توالی	طول پرایمر	دمای ذوب
Forward outer	CTGTTAGCATGAATCATCTGGCACGGCC	۲۷	۶۷/۹۳
Reverse outer	TAACCTCAGGGTGGGAATTCCTCCAGCA	۲۸	۶۸/۶۸
Forward inner	GCCTAGGGATCTGGTTCTGTCTTGTGGACG	۳۰	۶۹/۴۶
Reverse inner	CCTTCTGGGATAGCCCCATGGTCCAATT	۲۹	۶۸/۰۷



شکل ۱: ژل آگارز Tetra-ARMS-PCR: مارکر ۱۰۰ جفت بازی (۱): کنترل منفی؛ ۲: ژنوتیپ هتروزایگوت (AG)؛ ۳ و ۴: ژنوتیپ هموزایگوت (GG)؛ ۵: ژنوتیپ هموزایگوت (AA)

جدول ۲: محصولات پلی‌مورفیسم rs2735839

پرایمرها	ال	ژنوتیپ	محصول (جفت باز)
FI-RO	G	GG	۱۷۹
FO-RI	A	AA	۲۶۸
FI-RO/FO-RI	G/A	AG	۱۷۹/۲۶۸
FO-RO	کنترل +	-	۳۸۸

شایان ذکر است که در مطالعه حاضر تعادل هاردی- واینبرگ (Hardy-Weinberg) در دو گروه کنترل ($P=0/613$) و آدنوکارسینومای پروستات ($P=0/655$) برقرار می‌باشد. در جدول ۵ ویژگی‌های بالینی افراد شرکت‌کننده به‌طور خلاصه ارائه شده است. در مطالعه حاضر به کمک آزمون فیشر، مقدار P برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌ها با ویژگی‌های بالینی محاسبه گردید. بر مبنای توزیع ژنوتیپی موجود در جدول ۵، بین فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs2735839 با مقدار PSA اختلاف معناداری به‌دست آمد ($P=0/11$). با توجه به این اختلاف، در جدول ۶ فراوانی هریک از الل‌ها در سطوح مختلف PSA ارائه شده است. مطابق با این جدول در سطح سرمی $PSA < 10$ ، اختلاف معناداری بین فراوانی الل A نسبت به الل G در مقایسه با گروه کنترل وجود ندارد ($P=0/060$)؛ اما در دو گروه دیگر که سطح سرمی PSA آن‌ها بیشتر از ۱۰ می‌باشد، اختلاف معناداری بین فراوانی الل A نسبت به الل G در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد ($P=0/012$ ، $P=0/00$).

جدول ۳: ویژگی‌های دموگرافیک افراد مورد مطالعه

متغیر	تعداد (درصد)
سن (سال)	> 65 (۴۱/۲) ۸۴
	۶۵-۷۴ (۳۸/۷) ۷۹
	≤ 75 (۱۹/۶) ۴۰
قومیت	ایرانی (۱۰۰) ۲۰۳
محل زندگی	تهران (۵۲/۲۱) ۱۰۶
	کرج (۱۵/۲۷) ۳۱
	بابل (۱۱/۳۳) ۲۳
	قزوین (۹/۳۵) ۱۹
	رشت (۷/۸۸) ۱۶
	ساری (۳/۹۴) ۸

برای مقایسه فراوانی اللی و ژنوتیپی از آزمون کای اسکوئر و فیشر با سطح معناداری ($P < 0/05$) استفاده شد. جهت بررسی همراهی بین پلی‌مورفیسم و آدنوکارسینومای پروستات نیز از Odds Ratio با فاصله اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. همچنین، آنالیزهای آماری توسط نرم‌افزار SPSS 25 انجام شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۱۰۳ فرد مبتلا به آدنوکارسینومای پروستات با رنج سنی ۴۸-۸۶ سال و ۱۰۰ فرد مبتلا به BPH با رنج سنی ۴۷-۸۱ سال شرکت نمودند. میانگین سنی گروه بیمار $67/75 \pm 8/61$ سال و گروه کنترل $65/18 \pm 8/04$ سال بود. میانگین کلی سن ۲۰۳ فرد شرکت‌کننده نیز معادل $66/48 \pm 8/41$ سال به‌دست آمد. سایر ویژگی‌های دموگرافیک افراد شرکت‌کننده در مطالعه در جدول ۳ ذکر گردیده است.

با توجه به آزمون مربع کای و ($P < 0/05$)، بین توزیع ژنوتیپی دو گروه مورد و کنترل از نظر آماری اختلاف معناداری وجود دارد. فراوانی هریک از ژنوتیپ‌ها و الل‌ها و نیز بررسی سطح معناداری rs2735839 به تفکیک ژنوتیپ‌ها در دو گروه در جدول ۴ گزارش شده است. با استفاده از ژنوتیپ GG به‌عنوان رفرنس می‌توان گفت که ژنوتیپ AG با سرطان پروستات همراهی دارد ($P=0/00$)، $OR [95\% CI] = 5/038 [2/444-10/384]$. بین فراوانی ژنوتیپی AG+AA در گروه آدنوکارسینومای پروستات با گروه کنترل نیز اختلاف معناداری وجود داشت ($P=0/00$)، $OR [95\% CI] = 4/991 [10/065-2/475]$. در رابطه با فراوانی اللی نیز آنالیزهای آماری، تفاوت معناداری را بین دو گروه آدنوکارسینوما (۰/۲۲۸) و گروه کنترل (۰/۰۷) نشان دادند ($P=0/00$)، $OR [95\% CI] = 3/927 [7/397-2/085]$.

جدول ۴: فراوانی ژنوتیپی، اللی و بررسی همراهی پلی‌مورفیسم rs2735839 با بروز آدنوکارسینومای پروستات

سطح معناداری	خطر نسبی (فاصله اطمینان ۹۵ درصد)	آدنوکارسینومای پروستات (n=103) تعداد (درصد)	کنترل (n=100) تعداد (درصد)	ژنوتیپ
-	(ژنوتیپ رفرنس) ۱	۵۹ (۵۷/۳)	۸۷ (۸۷)	GG
۰/۰۰	$5/038 (2/444-10/384)$	۴۱ (۴۰/۸)	۱۲ (۱۲)	AG
۰/۳۰۷	$4/424 (0/449-43/561)$	۳ (۲/۹)	۱ (۱)	AA
۰/۰۰	$4/991 (2/475-10/065)$	۴۴	۱۳	AA+AG
-	(الل رفرنس) ۱	۱۵۹ (۰/۷۷۲)	۱۸۶ (۰/۹۳)	الل G
۰/۰۰	$3/927 (2/085-7/397)$	۴۷ (۰/۲۲۸)	۱۴ (۰/۰۷)	الل A

بحث

می‌کند [۳۰]. rs2735839 در منطقه بین ژنی میان ژن‌های KLK2 (کدکننده hK2) و KLK3 (کدکننده پروتئین PSA) قرار گرفته و تأثیر آن بر خطر ابتلا به سرطان پروستات گزارش

خانواده ژنی KLK (Kallikrein) شامل ۱۵ ژن است که در منطقه‌ای در حدود ۳۰۰ کیلو باز بر روی کروموزوم 19q13.4 قرار دارد و دسته‌ای از سرین پروتئازها را در ژنوم انسان رمزگذاری

جدول ۵: ارتباط بین ژنوتیپ‌های rs2735839 با ویژگی‌های بالینی افراد شرکت کننده

سطح معناداری	تعداد AA (درصد)	تعداد AG (درصد)	تعداد GG (درصد)	سطح معناداری
	۰ (۰)	۱۹ (۲۲/۶)	۶۵ (۷۷/۴)	سن (سال)
	۲ (۲/۵)	۲۱ (۲۶/۶)	۵۶ (۷۰/۹)	۶۵-۷۴
	۲ (۵)	۱۳ (۳۲/۵)	۲۵ (۶۲/۵)	۷۵≤
	۰ (۰)	۳۲ (۲۴/۶)	۹۸ (۷۵/۴)	PSA (نانوگرم بر میلی‌لیتر)
	۴ (۹/۵)	۱۰ (۲۳/۸)	۲۸ (۶۶/۷)	۱۰-۲۰
	۰ (۰)	۱۱ (۳۵/۵)	۲۰ (۶۴/۵)	۲۰<
	۰ (۰)	۷ (۵۰)	۷ (۵۰)	Gleason score
	۱ (۲/۱)	۱۵ (۳۱/۹)	۳۱ (۶۶)	۶-۷
	۲ (۴/۸)	۱۹ (۴۵/۲)	۲۱ (۵۰)	۷-۱۰
	۳ (۴/۶)	۲۵ (۳۸/۵)	۳۷ (۵۶/۹)	Perineural invasion
	۰ (۰)	۱۶ (۴۲/۱)	۲۲ (۵۷/۹)	مثبت
	۱ (۵/۶)	۶ (۳۳/۳)	۱۱ (۶۱/۱)	منفی
	۲ (۲/۴)	۳۵ (۴۱/۲)	۴۸ (۵۶/۵)	Extraprostatic extension
				مثبت
				منفی

جدول ۶: همراهی فراوانی الی rs2735839 با سطح سرمی PSA

سطح معناداری	خطر نسبی (فاصله اطمینان ۹۵ درصد)	G	A	کنترل
-	(الل رفرنس) ۱	۱۸۶	۱۴	PSA
۰/۰۶۰	۱/۸۶۵ (۰/۹۶۶-۳/۵۹۸)	۲۲۸	۳۲	<۱۰
۰/۰۰	۳/۶۲۳ (۱/۷۰۷-۷/۶۹۲)	۶۶	۱۸	۱۰-۲۰
۰/۰۱۲	۲/۸۶۶ (۱/۲۲۷-۶/۶۹۳)	۵۱	۱۱	>۲۰

ناشی از همراهی ال A با این سرطان می‌باشد. علاوه بر این، در مطالعه حاضر ارتباط بین ژنوتیپ‌های rs2735839 با ویژگی‌های بالینی افراد شرکت کننده مورد ارزیابی قرار گرفت و اختلاف معناداری با سطح سرمی PSA مشاهده شد ($P=0/011$). با توجه به این اختلاف، فراوانی الی rs2735839 در سطوح مختلف PSA سرمی مورد بررسی قرار گرفت که ال A این پلی مورفیسم با مقادیر افزایش یافته PSA (>10) همخوانی داشت.

مطالعات پیشین همراهی بین ال G پلی مورفیسم rs2735839 با سطح بالای PSA را در نژادهای گوناگون اثبات کرده‌اند؛ اما با این وجود، ارتباط این پلی مورفیسم با سرطان پروستات بحث برانگیز می‌باشد [۳۴]. طی اولین GWAS (Genome Wide Association Study) که توسط ایلس و همکاران انجام شد، rs2735839 به عنوان فاکتور خطر در رابطه با سرطان پروستات شناسایی گردید و همراهی قوی تری را با مقدار PSA نسبت به پلی مورفیسم‌های پیشین نشان داد [۳۵]. گادمونسون و همکاران نیز کل ژنوم را برای شناسایی واریانت‌هایی که با سطح PSA همراهی دارند، اسکن نمودند. بر مبنای نتایج، rs2735839 در مردان بدون تشخیص سرطان پروستات با این فنوتیپ بسیار مرتبط بود [۳۶].

از سوی دیگر در مطالعه GWA در مورد مردان اروپایی، ال‌های متعددی در رابطه با سرطان پروستات شناسایی شدند؛

این پلی مورفیسم در محدوده ۶۰۰ جفت باز پایین دست ناحیه غیرترجمه شونده KLK3 و ۱۲/۲ کیلو باز بالادست منطقه شروع رونویسی KLK2 واقع شده است [۳۱]. PSA سرین پروتئازی می‌باشد که وظیفه آن ایجاد حالت مایع ترشحات سمینال است و از آن به عنوان یک فاکتور سرمی در غربالگری و بررسی پیشرفت بیماری استفاده می‌گردد. شواهدی وجود دارد مبنی بر اینکه ممکن است hK2 برای غربالگری و پیش‌آگهی بیماری مفید باشد [۳۲]. فعالیت بیش از حد KLK3 منجر به تخریب ماتریکس خارج سلولی (ECM: Extracellular Matrix) از طریق فعال سازی Pro-Matrix Metalloproteinase 2 می‌گردد. علاوه بر این، این ژن سبب فعال سازی فاکتور رشد تومور (TGF: Transforming growth factor) می‌شود [۳۳].

در مطالعه حاضر فراوانی پلی مورفیسم rs2735839 در گروه آدنوکارسینومای پروستات نسبت به گروه کنترل (BPH) در جمعیت ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که در رابطه با این پلی مورفیسم بین دو گروه آدنوکارسینومای پروستات و گروه BPH اختلاف معناداری وجود دارد. با توجه به توزیع ژنوتیپی بین دو گروه، ژنوتیپ AG در این مطالعه با سرطان پروستات همراهی دارد ($P=0/00$, $[2/444-10/384]$, $5/038$ CI=۹۵ درصد) OR. از سوی دیگر، فراوانی ژنوتیپ AA+AG و ال A نشان دهنده اختلافی معنادار بین دو گروه بود که این امر

در نتیجه لازم است برای درمان‌های تهاجمی، بیشتر مورد توجه قرار گیرند. لازم به ذکر است که میزان تأثیر این تک‌پلی‌مورفیسم به‌تنهایی برای تصمیم‌گیری بالینی برای درمان بیماران با روش‌های تهاجمی کافی نمی‌باشد؛ بنابراین ادغام این SNP همراه با اطلاعات ژنتیکی دیگر و سایر عوامل پیش‌آگهی ممکن است به تصمیم‌گیری در رابطه با بیماران به‌ویژه آن دسته از بیماران با ریسک متوسط (به‌عنوان مثال بیماران با Gleason Score=7) که تصمیم‌گیری نهایی برای آن‌ها بسیار چالش‌برانگیز است، کمک نماید [۲۵،۳۹،۴۰].

در مطالعه پومرانتز و همکاران نیز ال A این پلی‌مورفیسم با مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات دارای ارتباط بود [۲۱]. از سوی دیگر طی یک متآنالیز در سال ۲۰۱۸ در ارتباط با سه مورد از پلی‌مورفیسم‌های KLK3، بین rs2735839 و سرطان پروستات همراهی مشاهده نگردید [۳۰].

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر در ارتباط با rs2735839 نشان‌دهنده همراهی این پلی‌مورفیسم با خطر سرطان پروستات در جمعیت ایران بودند. در این مطالعه اختلاف معناداری بین توزیع فراوانی ال A نسبت به ال G با سطح PSA > ۱۰ مشاهده شد که با برخی از نتایج گزارش‌شده توسط مطالعات پیشین در جوامع مختلف مطابقت داشت. به دلیل محدودبودن نمونه‌ها در مطالعه حاضر پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده این پلی‌مورفیسم در جمعیت بیشتر و به تفکیک در هر یک از نژادهای موجود در ایران بررسی گردند.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد ژنتیک در دانشگاه خوارزمی می‌باشد. بدین‌وسیله از جناب آقای دکتر اشرافی؛ کارشناس آزمایشگاه مولکولی گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، سرکار خانم دکتر مجد؛ مدیر گروه پزشکی - مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران، سرکار خانم دکتر رودی؛ استادیار دانشگاه علوم پزشکی ایران و تمامی افرادی که در انجام این پایان‌نامه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد. شایان ذکر می‌باشد که هیچ‌گونه تضاد منافی در مطالعه حاضر گزارش نشده است.

اما در رابطه با همراهی آن‌ها در نژاد آفریقایی اطلاعات محدودی وجود داشت. در این راستا، چانگ و همکاران ۴۷ لکوس را در بین ۷۷۸۸ نفر مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش نمودند که ال خطر rs2735839 (A) با فراوانی ۰/۳۲ در نمونه‌های سرطانی و (OR) با سرطان پروستات (۹۵ CI) = ۱/۰۷ (۰/۹۹-۱/۱۸) همراهی ندارد [۳۷].

در این راستا در مطالعه‌ای در ژاپن مبنی بر همراهی این پلی‌مورفیسم با میزان PSA نشان داده شد که ال G این واریانت با افزایش سطح سرمی PSA ارتباط دارد که این مهم با نتایج پیشین به‌دست‌آمده از مطالعات انجام‌شده در سایر نقاط دنیا مشابه می‌باشد. نتایج به‌دست‌آمده در رابطه با ژنوتیپ AA+AG نسبت به GG معادل [۰/۴۱-۰/۹۴] = ۰/۶۲ (۹۵ CI درصد) [OR] بود. همراهی ال G با افزایش مقدار PSA، مغایر با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد؛ زیرا در این مطالعه همراهی ال A با افزایش PSA مشاهده گردید [۳۳].

علاوه‌براین، طی یک مطالعه هم‌گروهی در ارتباط با ۳۹۵۴ مرد از نژاد اروپایی مبتلا به سرطان پروستات، rs2735839 همراهی قابل‌ملاحظه‌ای را با مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات نشان داد و ال A این پلی‌مورفیسم با افزایش خطر مرگ ناشی از این بیماری ارتباط داشت ($P=7 \times 10^{-4}$). برخی از محققان معتقد هستند که همراهی این پلی‌مورفیسم با سرطان پروستات ممکن است وابسته به میزان PSA باشد [۳۱،۳۸]. در مطالعه حاضر نیز همراهی این پلی‌مورفیسم و ال A با سرطان در جمعیت ایران اثبات گردید.

مشکل اصلی در مدیریت بالینی بیماران مبتلا به سرطان پروستات، تشخیص و درمان فراتر از واقعیت می‌باشد. از آنجایی که طبق مطالعات پیشین در دنیا ال وحشی (G) این پلی‌مورفیسم با افزایش سطح PSA و افزایش احتمال ابتلا به درجه پایین سرطان همراه است و نیز از آنجایی که بیشتر بیماران ابتدا براساس غربالگری PSA شناسایی می‌شوند، در ارتباط با بیماران با درجه پایین ال نوع وحشی، احتمال بیشتری وجود دارد که به‌عنوان بیمارانی با درجه بالای این ال تشخیص داده شوند و از روش‌های تهاجمی برای درمان آن‌ها استفاده گردد. در مقابل، ال نوع A با درجه بالای بیماری و سطح پایین PSA در زمان تشخیص همراه می‌باشد؛ از این رو احتمال بیشتری وجود دارد که این افراد به نوع تهاجمی این سرطان مبتلا گردند؛

REFERENCES

1. Pernar CH, Ebot EM, Wilson KM, Mucci LA. The epidemiology of prostate cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(12):a030361. PMID: 29311132 DOI: 10.1101/cshperspect.a030361
2. Hassaniipour S, Fathaliipour M, Salehiniya H. The incidence of prostate cancer in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Prostate Int*. 2018;6(2):41-5. PMID: 29922630 DOI: 10.1016/j.pmi.2017.11.003
3. Rafiemanesh H, Ghoncheh M, Salehiniya H, Mohammadian HA. Epidemiology of prostate cancer and its incidence trends in Iran. *J Sabzevar Univ Med Sci*. 2016;23(2):320-7. [Persian]
4. Taitt HE. Global trends and prostate cancer: a review of incidence, detection, and mortality as influenced by race, ethnicity, and geographic location. *Am J Mens Health*. 2018;12(6):1807-23. PMID: 30203706 DOI: 10.1177/1557988318798279
5. Zhou CK, Check DP, Lortet-Tieulent J, Laversanne M, Jemal A, Ferlay J, et al. Prostate cancer incidence in 43 populations worldwide: an analysis of time trends overall and by age group. *Int J Cancer*. 2016;138(6):1388-400. PMID: 26488767 DOI: 10.1002/ijc.29894
6. Pakzad R, Mohammadian-Hafshejani A, Ghoncheh M, Pakzad I, Salehiniya H. The incidence and mortality of prostate cancer and its relationship with development in

- Asia. *Prostate Int.* 2015;3(4):135-40. PMID: 26779461 DOI: [10.1016/j.pmi.2015.09.001](https://doi.org/10.1016/j.pmi.2015.09.001)
7. Hassanipour S, Namvar G, Fathalipour M, Salehiniya H. The incidence of kidney cancer in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Biomedicine.* 2018;8(2):9. PMID: 29806587 DOI: [10.1051/bmcdn/2018080209](https://doi.org/10.1051/bmcdn/2018080209)
 8. Haas GP, Delongchamps N, Brawley OW, Wang CY, de la Roza G. The worldwide epidemiology of prostate cancer: perspectives from autopsy studies. *Can J Urol.* 2008; 15(1):3866-71. PMID: 18304396
 9. Pakzad R, Rafiemanesh H, Ghoncheh M, Sarmad A, Salehiniya H, Hosseini S, et al. Prostate cancer in Iran: trends in incidence and morphological and epidemiological characteristics. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17(2):839-43. PMID: 26925689
 10. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. Global cancer observatory: cancer today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2018.
 11. Bell KJ, Del Mar C, Wright G, Dickinson J, Glasziou P. Prevalence of incidental prostate cancer: a systematic review of autopsy studies. *Int J Cancer.* 2015;137(7):1749-57. PMID: 25821151 DOI: [10.1002/ijc.29538](https://doi.org/10.1002/ijc.29538)
 12. Hughes C, Murphy A, Martin C, Sheils O, O'Leary J. Molecular pathology of prostate cancer. *J Clin Pathol.* 2005;58(7):673-84. DOI: [10.1136/jcp.2002.003954](https://doi.org/10.1136/jcp.2002.003954)
 13. Grignon DJ, Sakr WA. Zonal origin of prostatic adenocarcinoma: are there biologic differences between transition zone and peripheral zone adenocarcinomas of the prostate gland? *J Cell Biochem Suppl.* 1994;19:267-9. PMID: 7823599
 14. Tian JY, Guo FJ, Zheng GY, Ahmad A. Prostate cancer: updates on current strategies for screening, diagnosis and clinical implications of treatment modalities. *Carcinogenesis.* 2017;39(3):307-17. PMID: 29216344 DOI: [10.1093/carcin/bgx141](https://doi.org/10.1093/carcin/bgx141)
 15. Ao X, Liu Y, Bai XY, Qu X, Xu Z, Hu G, et al. Association between EHBP1 rs721048 (A > G) polymorphism and prostate cancer susceptibility: a meta-analysis of 17 studies involving 150,678 subjects. *Onco Targets Ther.* 2015;8:1671-80. PMID: 26185455 DOI: [10.2147/OTT.S84034](https://doi.org/10.2147/OTT.S84034)
 16. Wallis CJ, Nam RK. Prostate cancer genetics: a review. *EJIFCC.* 2015;26(2):79-91. PMID: 27683484
 17. McLean MH, El-Omar EM. Genetics of gastric cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11(11):664-74. PMID: 25134511 DOI: [10.1038/nrgastro.2014.143](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.143)
 18. Zhao CX, Liu M, Xu Y, Yang K, Wei D, Shi XH, et al. 8q24 rs4242382 polymorphism is a risk factor for prostate cancer among multi-ethnic populations: evidence from clinical detection in China and a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(19):8311-7. PMID: 25339022
 19. Alvarez-Cubero MJ, Saiz M, Martinez-Gonzalez LJ, Alvarez JC, Lorente JA, Cozar JM. Genetic analysis of the principal genes related to prostate cancer: a review. *Urol Oncol.* 2013;31(8):1419-29. PMID: 23141781 DOI: [10.1016/j.urolonc.2012.07.011](https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2012.07.011)
 20. Bethel CR, DeMarzo AM, Nelson WG. Molecular pathogenesis of prostate cancer: somatic, epigenetic, and genetic alterations. *Mol Pathol.* 2009;12:489-500. DOI: [10.1016/B978-0-12-374419-7.00024-X](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374419-7.00024-X)
 21. Benafif S, Kote-Jarai Z, Eeles RA. A review of prostate cancer genome-wide association studies (GWAS). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2018;27(8):845-57. PMID: 29348298 DOI: [10.1158/1055-9965.EPI-16-1046](https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-16-1046)
 22. Ahmed M, Dorling L, Kerns S, Fachal L, Elliott R, Partliament M, et al. Common genetic variation associated with increased susceptibility to prostate cancer does not increase risk of radiotherapy toxicity. *Br J Cancer.* 2016;114(10):1165-74. PMID: 27070714 DOI: [10.1038/bjc.2016.94](https://doi.org/10.1038/bjc.2016.94)
 23. Kote-Jarai Z, Al Olama AA, Leongamornlert D, Tymrakiewicz M, Saunders E, Guy M, et al. Identification of a novel prostate cancer susceptibility variant in the KLK3 gene transcript. *Hum Genet.* 2011;129(6):687-94. PMID: 21465221 DOI: [10.1007/s00439-011-0981-1](https://doi.org/10.1007/s00439-011-0981-1)
 24. Hsu FC, Sun J, Wiklund F, Isaacs SD, Wiley KE, Purcell LD, et al. A novel prostate cancer susceptibility locus at 19q13. *Cancer Res.* 2009;69(7):2720-3. PMID: 19318570 DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-08-3347](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-3347)
 25. He Y, Gu J, Strom S, Logothetis CJ, Kim J, Wu X. The prostate cancer susceptibility variant rs2735839 near KLK3 gene is associated with aggressive prostate cancer and can stratify gleason score 7 patients. *Clin Cancer Res.* 2014;20(19):5133-9. PMID: 25274378 DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-14-0661](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0661)
 26. Parikh H, Wang Z, Pettigrew KA, Jia J, Daugherty S, Yeager M, et al. Fine mapping the KLK3 locus on chromosome 19q13.33 associated with prostate cancer susceptibility and PSA levels. *Hum Genet.* 2011;129(6):675-85. DOI: [10.1007/s00439-011-0953-5](https://doi.org/10.1007/s00439-011-0953-5)
 27. Mattsson JM, Ravela S, Hekim C, Jonsson M, Malm J, Närvänen A, et al. Proteolytic activity of prostate-specific antigen (PSA) towards protein substrates and effect of peptides stimulating PSA activity. *PLoS One.* 2014;9(9):e107819. PMID: 25237904 DOI: [10.1371/journal.pone.0107819](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107819)
 28. LeBeau AM, Singh P, Isaacs JT, Denmeade SR. Prostate-specific antigen is a "chymotrypsin-like" serine protease with unique PI substrate specificity. *Biochemistry.* 2009; 48(15):3490-6. PMID: 19281249 DOI: [10.1021/bi9001858](https://doi.org/10.1021/bi9001858)
 29. Chen C, Xin Z. Single-nucleotide polymorphism rs1058205 of KLK3 is associated with the risk of prostate cancer: a case-control study of Han Chinese men in Northeast China. *Medicine.* 2017;96(10):e6280. PMID: 28272245 DOI: [10.1097/MD.0000000000006280](https://doi.org/10.1097/MD.0000000000006280)
 30. Ding WH, Ren KW, Yue C, Zou JG, Zuo L, Zhang LF, et al. Association between three genetic variants in kallikrein 3 and prostate cancer risk. *Biosci Rep.* 2018;38(6):BSR20181151. PMID: 30413614 DOI: [10.1042/BSR20181151](https://doi.org/10.1042/BSR20181151)
 31. Pomerantz MM, Werner L, Xie W, Regan MM, Lee GS, Sun T, et al. Association of prostate cancer risk loci with disease aggressiveness and prostate cancer-specific mortality. *Cancer Prev Res.* 2011;4(5):719-28. PMID: 21367958 DOI: [10.1158/1940-6207.CAPR-10-0292](https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-10-0292)
 32. Liu H, Wang B, Han C. Meta-analysis of genome-wide and replication association studies on prostate cancer. *Prostate.* 2011;71(2):209-24. PMID: 20690139 DOI: [10.1002/pros.21235](https://doi.org/10.1002/pros.21235)
 33. Nobata S, Hishida A, Naito M, Asai Y, Mori A, Kuwabara M, et al. Association between KLK3 rs2735839 G/A polymorphism and serum PSA levels in Japanese men. *Urol Int.* 2012;89(1):39-44. PMID: 22433834 DOI: [10.1159/000332197](https://doi.org/10.1159/000332197)
 34. Severi G, Hayes VM, Neufing P, Padilla EJ, Tilley WD, Eggleton SA, et al. Variants in the prostate-specific antigen (PSA) gene and prostate cancer risk, survival, and circulating PSA. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15(6):1142-7. PMID: 16775173 DOI: [10.1158/1055-9965.EPI-05-0984](https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0984)
 35. Eeles RA, Kote-Jarai Z, Giles GG, Al Olama AA, Guy M, Jugurnauth SK, et al. Multiple newly identified loci associated with prostate cancer susceptibility. *Nat Genet.* 2008;40(3):316-21. PMID: 18264097 DOI: [10.1038/ng.90](https://doi.org/10.1038/ng.90)
 36. Gudmundsson J, Besenbacher S, Sulem P, Gudbjartsson DF, Olafsson I, Arinbjarnarson S, et al. Genetic correction of PSA values using sequence variants associated with PSA levels. *Sci Transl Med.* 2010;2(62):62ra92. PMID: 21160077 DOI: [10.1126/scitranslmed.3001513](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001513)
 37. Chang BL, Spangler E, Gallagher S, Haiman CA, Henderson B, Isaacs W, et al. Validation of genome-wide prostate cancer associations in men of African descent. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20(1):23-32. PMID: 21071540 DOI: [10.1158/1055-9965.EPI-10-0698](https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0698)
 38. Hoffmann TJ, Van Den Eeden SK, Sakoda LC, Jorgenson E, Habel LA, Graff RE, et al. A large multiethnic genome-wide association study of prostate cancer identifies novel risk variants and substantial ethnic differences. *Cancer Discov.* 2015;5(8):878-91. PMID: 26034056 DOI: [10.1158/2159-8290.CD-15-0315](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0315)
 39. Penney KL, Schumacher FR, Kraft P, Mucci LA, Sesso HD, Ma J, et al. Association of KLK3 (PSA) genetic variants with prostate cancer risk and PSA levels. *Carcinogenesis.* 2011;32(6):853-9. PMID: 21421545 DOI: [10.1093/carcin/bgr050](https://doi.org/10.1093/carcin/bgr050)
 40. Gallagher DJ, Vijai J, Cronin AM, Bhatia J, Vickers AJ, Gaudet MM, et al. Susceptibility loci associated with prostate cancer progression and mortality. *Clin Cancer Res.* 2010;16(10):2819-32. PMID: 20460480 DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-10-0028](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-0028)