

To Investigate the Association of Thr241Met Polymorphisms of the XRCC3 Gene with the Risk of Breast Cancer in Women in Markazi Province

Ahmad Hamta^{1*}, Milad Pezeshki², Jamshid Ansari³

1. Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Arak, Arak, Iran.
2. MSc Student in Genetics, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Arak, Arak, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Oncology, Ayatollah Khansari Hospital, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Received: 11 Nov 2017, Accepted: 7 Jan 2018

Abstract

Background: Biological and epidemiological data suggest that damage induced by endogenous and exogenous factors affects the integrity and stability of DNA and associated with susceptibility to breast cancer. The XRCC3 protein participates in DNA double-strand breaks and recombination repair. The aim of the present study was to evaluate associations between the risk of breast cancer and Thr241Met polymorphism in the XRCC3 gene.

Materials and Methods: In this study, the effects of Thr241Met polymorphism of the XRCC3 gene and the risk of breast cancer in a population-based case-control study inclusive 80 patients and 80 healthy individuals of women in Markazi province were evaluated. Genomic DNA was extracted from blood samples using the kit procedure. The genotypes of samples were determined by PCR-RFLP technique. Statistical analysis was done using SPSS software (estimation of χ^2 and p-value) and the final results were determined.

Results: Statistically significant difference was observed between the two groups of patients and controls for three genotypes of the site rs861539 (p= 0.000). Genotype CT (p= 0.000, OR=2.352, CI= 95%; 2.431 - 39.948) and TT (p = 0.003, OR= 2.352, CI=95%; 0.611 - 9.049) significant associations were showed with risk of breast cancer. Instead, the genotype CC (p= 0.000) showed a protective role against susceptibility to breast cancer.

Conclusion: This study identified that there is significant association between Thr241Met polymorphisms of the XRCC3 and the risk of susceptibility to breast cancer, which is in accordance to some of researchers' studies.

Keywords: Breast cancer, PCR-RFLP, Single nucleotide polymorphism, XRCC3.

*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Faculty Sciences, University of Arak, Arak, Iran.
Email: A-hamta@araku.ac.ir

بررسی ارتباط چندشکلی Thr241Met ژن XRCC3 با خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان استان مرکزی

احمد همتا^{۱*}، میلاد پزشکی^۲، جمشید انصاری^۳

۱. دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۳. استادیار، بخش انکولوژی، بیمارستان آیت الله خوانساری، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۲۰، تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: داده‌های بیولوژیکی و اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهند که آسیب‌های القاء شده توسط فاکتورهای با منشأ درونی و بیرونی بر روی پایداری و بی‌نقص ماندن DNA تأثیر گذاشته و با استعداد ابتلا به سرطان پستان در ارتباط می‌باشند. پروتئین XRCC3 در شکست‌های دو رشته‌ای DNA و ترمیم به روش نوترکیبی شرکت می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین چندشکلی Thr241Met ژن XRCC3 با خطر ابتلا به سرطان پستان بود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر، اثرات چندشکلی T241M ژن XRCC3 و خطر ابتلا به سرطان پستان در یک جمعیت مبتنی بر مطالعه مورد-شاهدی شامل ۸۰ بیمار و ۸۰ فرد سالم از زنان ساکن استان مرکزی مورد ارزیابی قرار گرفت. استخراج DNA از نمونه‌های خونی با استفاده از کیت انجام شد. ژنوتایپ نمونه‌ها با تکنیک PCR-RFLP تعیین شد. در نهایت از نرم افزار SPSS (محاسبه χ^2 و p) جهت بررسی آماری استفاده و نتایج نهایی مشخص شد.

یافته‌ها: از نظر آماری، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و کنترل برای سه ژنوتیپ جایگاه rs861539 ($p=0/000$) مشاهده شد. ژنوتیپ‌های CT ($OR=2.352, CI=95\%; 2.431 - 39.948$) و TT ($p = 0.000, OR=2.352, CI=95\%; 0.611 - 9.049$) ارتباط معنی‌داری با خطر ابتلا به سرطان پستان از خود نشان دادند. در عوض، ژنوتیپ CC ($p=0/000$) یک نقش حفاظتی از خود در مقابل ابتلا به سرطان پستان نشان داد.

نتیجه‌گیری: این تحقیق ارتباط معنی‌داری را میان چند شکلی Thr241Met در ژن XRCC3 و خطر ابتلا به سرطان پستان شناسایی نمود که این امر با برخی از مطالعات محققین مطابقت دارد.

واژگان کلیدی: چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی، سرطان پستان، XRCC3، PCR-RFLP.

*نویسنده مسئول: ایران، اراک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

Email: A-hamta@araku.ac.ir

مقدمه

سرطان پستان یکی از متداولترین و شایعترین نوع سرطان‌های تشخیصی و بدخیم در زنان سراسر دنیا است (۱). بیشترین میزان وقوع آن در آمریکای شمالی مشاهده می‌شود، این درحالی است که کمترین میزان وقوع سرطان پستان در آسیا و آفریقا است. این سرطان در میان زنان اروپایی نیز از شایعترین سرطان‌ها محسوب می‌گردد (۲). سرطان پستان اغلب از بافت‌های پستانی، سلول‌های پوشاننده، مجاری شیری و لوبول‌های اطراف مجاری (لوبولار) منشأ می‌گیرد (۳). شیوع سرطان‌ها در استان مرکزی در سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۵ مورد بررسی قرار گرفته است که در این میان سرطان پوست و سرطان پستان پرفرکانس‌ترین سرطان به ترتیب در جمعیت کل استان مرکزی و جمعیت زنان استان مرکزی گزارش شد (۴). سرطان پستان به عنوان سومین بدخیمی شایع در جهان تشخیص داده شده است که سالیانه بیش از ۱/۳ میلیون زن دچار آن می‌شوند. فاکتورهای خطر گوناگونی در رابطه با بروز سرطان پستان وجود دارند که در قالب فاکتورهای ژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرند، به طوری که این دو فاکتور در کنار هم می‌توانند منجر به بروز بیماری گردند (۱). تحقیقات نشان داده است که میان تغییرات ژنتیکی در سیستم‌های ترمیمی DNA و خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط وجود دارد (۵). روش‌های مختلف تعمیر DNA نقش مهمی در حفاظت پایداری ژنوم ایفا می‌کنند که این پایداری ژنوم می‌تواند بر روی خطر ابتلا به سرطان نقش موثری داشته باشد (۲). به طور کلی سرطان می‌تواند توسط آسیب‌های وارد شده به DNA (در حین سنتز DNA و در صورت عدم تعمیر آن‌ها) به وجود آید (۶). ژن‌های تعمیر کننده DNA نقش مهمی را در تعمیر آسیب‌های وارد شده به DNA ایفا می‌کنند و ممکن است مانع از فعال شدن انکوژن‌ها یا غیر فعال شدن ژن‌های بازدارنده تومور شوند (۷). ظرفیت تعمیری DNA (در حالت طبیعی) در حفظ عملکرد سلولی و برقراری هومئوستاز ضروری می‌باشد (۸). بیشتر ژن‌های شناخته شده در

سرطان پستان نقش مهمی در تعمیر DNA دارند (۹). دو مکانیسم تعمیری برای شکستگی‌های دو رشته‌ای ایجاد شده در DNA وجود دارد؛ مکانیسم اول، اتصال پایانه‌های غیر همولوگ و مکانیسم دوم تعمیر نو ترکیبی همولوگی می‌باشد (۱۰). ژن XRCC3 از ژن‌های مربوط به مسیر تعمیر نو ترکیبی همولوگی می‌باشد که مطالعات بسیاری در مورد این ژن و ارتباط آن با خطر ابتلا به انواع مختلفی از سرطان‌ها صورت گرفته است (۲). ژن XRCC3 در بدون نقص ماندن DNA نقش دارد که این نقش خود را از طریق تعمیر نو ترکیبی شکست دو رشته‌ای ایفا می‌کند (۹). ژن XRCC3 در انسان در جایگاه سیتوژنتیکی 14q32.3 قرار گرفته است (۱۱). XRCC3 به همراه Rad51C نقش مهمی در تعمیر نو ترکیبی همولوگی دارد، به گونه‌ای که تغییرات تک نوکلئوتیدی در ژن کدکننده XRCC3 با خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط می‌باشد (۱۲). در حین فرآیند ترمیم نو ترکیبی همولوگی، پروتئین XRCC3 که یکی از پارالوگ‌های Rad51 محسوب می‌شود (۱۳) از طریق میان-کنش با پروتئین Rad51C منجر به گردهم‌آبی سایر زیر واحدهای Rad51 به محل تخریب می‌گردد (۱۴). فسفوریلاسیون XRCC3 برای بارگیری پروتئین RAD51 توسط کروماتین و تعمیر به واسطه نو ترکیبی همولوگی ناشی از شکستگی‌های دو رشته‌ای مورد نیاز است (۱۵). چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی‌ای (SNPs) در ژن‌های دخیل در مسیرنو ترکیبی همولوگی از جمله XRCC3 شناسایی شده‌اند که بر روی استعداد ژنتیکی افراد در ارتباط با ابتلا به سرطان پستان را تا حد زیادی تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۶). چند شکلی تک نوکلئوتیدی rs861539 موجب جایگزینی باز سیتوزین به جای تیمین می‌شود که در بسیاری از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است. در نتیجه این تغییر اسید آمینه ترئونین به اسید آمینه متیونین تغییر پیدا می‌کند که این تغییر در کدون ۲۴۱ و در آگزون ۷ اتفاق می‌افتد و می‌تواند بر جایگاه فسفوریلاسیون در نتیجه میان‌کنش پروتئین‌های درگیر در تعمیر

دیگر پیش‌گویی بالینی و ارائه‌ی خدمات درمانی باشد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی ارتباط چندشکلی Thr241Met ژن XRCC3 با خطر ابتلا به سرطان پستان و هم‌چنین بررسی و شناسایی هاپلوتیپ‌های مستعد به ابتلا به بیماری سرطان پستان در زنان ساکن استان مرکزی با استفاده از روش PCR-RFLP می‌باشد.

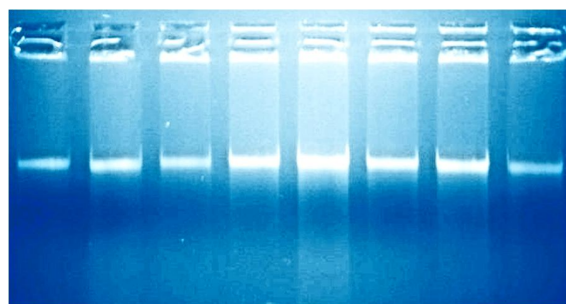
مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر، حجم نمونه بر اساس مطالعات صورت گرفته و منابع مشخص گردید، به گونه‌ای که ۸۰ نمونه خون در سال ۱۳۹۵ از جامعه بیماران مبتلا به سرطان پستان بیمارستان آیت الله خوانساری واقع در شهرستان اراک به طور تصادفی اخذ گردید. هم‌چنین، ۸۰ نمونه خون نیز از افراد سالم (زنان داوطلب) این شهرستان گرفته شد. اطلاعات جمعیت‌شناختی و فاکتورهای هورمونی افراد شامل سن، تأهل، شغل، تعداد فرزندان، رژیم غذایی، فعالیت بدنی، عوارض بارداری (سقط و مرده زایی)، سن اولین زایمان، سابقه خانوادگی سرطان پستان، سن اولین قاعدگی، وضعیت سیکل ماهانه، یائسگی و غیره در قالب یک پرسش‌نامه جمع‌آوری شد. سپس با رضایت کتبی افراد و طبق اصول اخلاقی پژوهش، ۲ میلی لیتر خون محیطی در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری شد و نمونه‌های خون به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم پایه دانشگاه اراک منتقل شده و تا زمان استخراج DNA در دمای ۴۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج DNA طبق پروتکل کیت DNG plus (سیناکلون-ایران) انجام گرفت. سپس کیفیت و کمیت DNA استخراج شده و مقدار خلوص آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (ژن وی-امریکا) و ران بر روی ژل آگارز مشخص گردید. در شکل ۱ کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد نشان داده شده است.

DNA و به دنبال آن بر روی عملکرد تعمیر XRCC3 تاثیر بگذارد (۱). پلی‌مورفیسم rs861539 دارای جایگاه برش برای آنزیم‌های NlaIII می‌باشد که در نتیجه برش و ایجاد باندهای متناظر می‌توان ژنوتیپ نمونه‌ها را مورد آنالیز قرارداد (۱۷). در سلول‌های پستانداران ایجاد موتاسیون در ژن XRCC3 موجب کاهش نوترکیبی همولوگی می‌گردد (۱۸). آسیب و تعمیر DNA شامل چندین مسیر کلیدی هستند که به منظور برطرف کردن کاستی‌های ژنوم و حفظ پایداری و صحت ژنوم عمل می‌کنند. اجزای معیوب در سیستم تعمیر و آسیب DNA یک علت اساسی برای توسعه و پیشرفت بسیاری از سرطان‌ها می‌باشند و سرطان پستان از این قاعده مستثنی نیست (۱۶). تحقیقات مختلفی در ارتباط با بررسی همبستگی بین چند شکلی‌های مختلف ژن XRCC3 با سرطان پستان در جمعیت‌های انسانی انجام شده است (۱). نتایج به دست آمده از این تحقیقات بسته به نوع جمعیت مورد مطالعه و نیز نوع جایگاه‌های پلی‌مورفیسم بررسی شده متفاوت بوده است، به طوری که برخی به وجود همبستگی و بعضی دیگر به عدم وجود همبستگی اشاره کرده‌اند (۱۷). در برخی مطالعات، نتایج ضد و نقیض درباره‌ی چندشکلی‌های XRCC3 و سرطان پستان به ویژه چند شکلی آن در جایگاه ژنی Thr241Met گزارش شده است (۱). در مطالعه صورت گرفته توسط جین و همکاران در کشور کانادا ارتباط معنی‌داری میان چندشکلی rs861539 و خطر ابتلا به سرطان پستان گزارش گردید (۱۹). این چندشکلی در مطالعه صورت گرفته توسط چن هسین سو و همکاران در کشور تایوان نیز ارتباط معنی‌داری با خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داد (۱۱). از آنجایی که بسیاری از مطالعات نتایج مهم و معناداری در ارتباط با معنی‌داری ارتباط این چندشکلی و خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داده‌اند، به نظر می‌رسد تحقیق در این رابطه ضروری و سودمند باشد. هم‌چنین شناسایی جایگاه‌های چندشکلی مختلف در بیماران و افراد سالم می‌تواند به عنوان نشانگر مولکولی مفیدی جهت تشخیص بهتر بیماری به عبارت

چندشکلی Thr241Met ژن XRCC3 توسط آنزیم محدود گر NlaIII (فرمنتاس- امریکا) تعیین ژنوتیپ شدند. جهت انجام واکنش PCR و تکثیر قطعه مورد نظر که محتوی چندشکلی Thr241Met ژن XRCC3 است، از پرایمرهایی که توسط شرکت تکاپوزیست ساخته شد، استفاده گردید. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است.

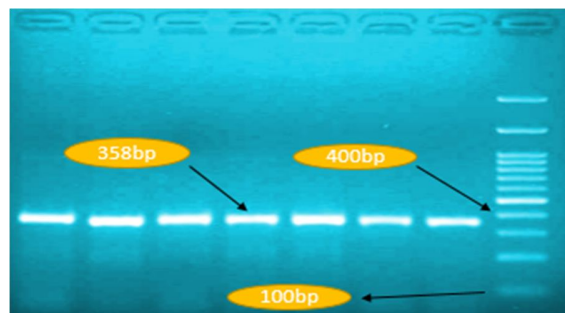


شکل ۱. استخراج DNA از نمونه‌های بیمار با استفاده از کیت DNG plus

نمونه‌ها پس از استخراج و بررسی کمیت و کیفیت DNA آن با به کارگیری روش PCR-RFLP در جایگاه

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده جهت تکثیر چندشکلی Thr241Met (۱۱)

چندشکلی	محل	توالی آغازگر (۵' - ۳')	طول قطعه تکثیری
Thr241Met	اگزون ۷	F: 5'-GACACCTTGTTGGAGTGTGT-3' R: 5'-GTCTTCTCGATGGTTAGGCA-3'	۳۵۸ جفت باز



شکل ۲. توالی ۳۵۸bp تکثیر شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی

بعد از تأیید صحت اندازه باند تکثیری، محصولات حاصل از PCR تحت عمل هضم آنزیمی محدودگر NlaIII قرار گرفتند. واکنش برش آنزیمی در حجم ۱۵ میکرولیتر حاوی ۰/۸ میکرولیتر آنزیم NlaIII، ۱/۵ میکرولیتر بافر مخصوص این آنزیم، ۴/۷ میکرولیتر آب استریل و ۸ میکرولیتر محصول PCR آماده گردید و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶ ساعت تحت برش آنزیمی قرار گرفت. در حضور آلل موتانت T برش آنزیمی دو قطعه ۱۰۵ و ۱۹۶ و در حضور آلل وحشی C جایگاه برش وجود

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۱/۵ میکرولیتر پرایمر فوروارد و ۱/۵ میکرولیتر پرایمر ریورز (تکاپوزیست- ایران)، ۷ میکرولیتر آب دو بار تقطیر و ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده انجام گرفت. تکثیر قطعه موردنظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها ۶۳ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و یک دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه صورت گرفت.

محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد که حاوی DNA Green Viewer ران شده و سپس با استفاده از دستگاه ژل داگ (ژن فلش-انگلستان) مشاهده و عکس-برداری شدند (شکل ۲). برای تشخیص قطعات تکثیر شده از نشان گر مولکولی ۱۰۰ bp (سیناکلون- ایران) استفاده شد.

درصد و بررسی اثر پیش بینی کننده هر فاکتور روی سرطان پستان، سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

چندشکلی rs861539 در دو جمعیت بیمار مبتلا به سرطان پستان و کنترل مورد بررسی قرار گرفت به گونه‌ای که انجام تست آماری χ^2 حدود اطمینان $p=0/000$ را نشان داد و مشخص شد رابطه آماری معنی داری بین ژنوتیپ‌های حاصل و بیماری وجود دارد (جدول ۳ و ۴).

فراوانی پلی مورفیسم rs861539(C/T) برای آلل C در گروه بیمار ۵۳/۱۳۵ و در گروه کنترل ۷۵ درصد محاسبه شد. این فراوانی در مورد آلل T در بیماران ۴۶/۸۷۵ و در گروه کنترل ۲۵ درصد محاسبه شد.

بر اساس محاسبات آماری انجام شده، ارتباط معناداری بین فراوانی آللی و بیماری وجود داشت ($p=0/000$). فراوانی ژنوتیپی آن نیز به ترتیب در گروه بیمار و کنترل برای ژنوتیپ CC، ۲۰ و ۵۳/۷۵ درصد، برای ژنوتیپ CT، ۳/۷۵ و ۶۶/۲۵ درصد و برای ژنوتیپ TT، ۱۳/۷۵ و ۳/۷۵ درصد به دست آمد. بر اساس محاسبات آماری انجام شده، ارتباط معناداری بین ژنوتیپ‌ها و بیماری دیده می‌شود. نتایج حاصل بیانگر این است که ژنوتیپ CT ($OR=9.854$)، ارتباط معناداری بین تنوع ژنتیکی و سرطان پستان را نشان می‌دهد.

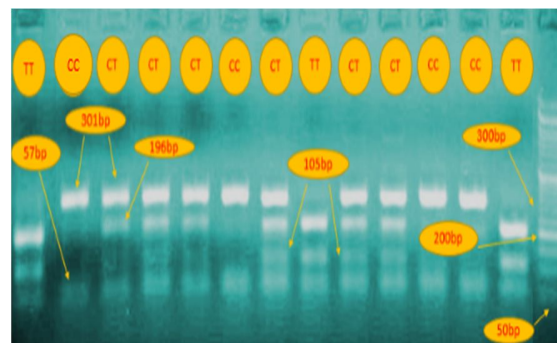
هم چنین ژنوتیپ TT ($OR=2.352$, $CI=95\%$) نیز افزایش ریسک را نشان می‌دهد و از طرفی چون فراوانی ژنوتیپ CC در گروه کنترل بیشتر بوده، آلل C احتمالاً نقش حفاظتی را در ابتلا به این بیماری دارد. هم چنین ارتباط معنی داری میان ژنوتیپ‌های این چندشکلی و گیرنده‌های هورمونی استروژن (ER)، پروژسترون (PR) و فاکتور رشد اپیدرمی به دست آمد (جدول ۵).

نخواهد داشت و باند ۳۰۱ جفت بازی حاصل خواهد شد که در صورت هتروزیگوت بودن هر سه قطعه مذکور حاصل می‌گردد. این در حالی است که وجود جایگاه برش دیگر در محصول تکثیر همواره یک باند ۵۷ جفت بازی ایجاد می‌کند که هیچ نقشی در تعیین ژنوتیپ نخواهد داشت. در جدول ۲ اندازه و تعداد باندهای مربوط به هر ژنوتیپ آورده شده است.

جدول ۲. قطعات حاصل از هضم محصول PCR پلی مورفیسم rs861539 توسط آنزیم NlaIII

نوع ژنوتیپ	اندازه و تعداد قطعات
CC	۵۷-۳۰۱
TT	۵۷-۱۰۵-۱۹۶
CT	۵۷-۱۰۵-۱۹۶-۳۰۱

بعد از برش آنزیمی، محصولات برش داده شده با استفاده از ژل آگارز ۳ درصد حاوی DNA Green Viewer (شرکت سیناکلون- ایران) الکتروفورز گردید (شکل ۳).



شکل ۳. تصویر ژل محصول PCR بعد از هضم آنزیمی NlaIII. در این جا از نشانگر مولکولی 50bp استفاده شده است و ژنوتیپ هر نمونه در قسمت بالای آن آورده شده است.

تست آماری χ^2 برای ارزیابی اثر پلی مورفیسم بر ویژگی‌های سرطان پستان مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز رگرسیون لجستیک با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. برای محاسبه شانس نسبی با فاصله اطمینان ۹۵

جدول ۳. فراوانی ژنوتیپ‌های TT، CT و CC در گروه بیمار و گروه کنترل

ژنوتیپ	تعداد- فراوانی		کل
	بیمار	کنترل	
CC	۱۶ (۲۰ درصد)	۴۳ (۵۳/۷۵ درصد)	۱۶۰
CT	۵۳ (۶۶/۲۵ درصد)	۳۴ (۴۲/۵ درصد)	۱۶۰
TT	۱۱ (۱۳/۷۵ درصد)	۳ (۳/۷۵ درصد)	۱۶۰
کل	۸۰	۸۰	۱۶۰

در جدول ۶ نتایج حاصل از ارتباط میان متغیرهای خطر سرطان پستان بررسی شده و آزمون χ^2 ، مقدار p و درجه آزادی برای هر متغیر میان افراد بیمار و کنترل محاسبه شده است.

جدول ۶. نتایج حاصل از ارتباط میان متغیرهای خطر سرطان پستان افراد کنترل و بیمار

متغیرها	p*	Df	χ^2
سن	۰/۰۰۲	۶	۲۱/۳۹۱
وضعیت تأهل	۰/۲۸۶	۲	۲/۵۰۱
مصرف قرص ضد بارداری	۰/۹۳۲	۲	۰/۱۴۱
وضعیت یائسگی	۰/۱۸۹	۲	۳/۳۲۹
تحصیلات	۰/۰۰۰	۴	۴۴/۵۳۲
شغل	۰/۰۰۸	۴	۱۳/۷۳۵
رژیم غذایی	۰/۰۰۰	۲	۱۶/۱۰۴
سن شروع قاعدگی	۰/۰۰۰	۳	۹۸/۵۲۰
داشتن سقط جنین	۰/۰۰۰	۲	۲۶/۰۹۱
داشتن مرده زایی	۰/۰۰۱	۲	۱۵/۰۱۷
سن اولین زایمان	۰/۰۹۷	۲	۴/۶۷۴
تعداد فرزندان	۰/۰۰۱	۲	۱۳/۳۶۲
سابقه فامیلی سرطان پستان	۰/۰۰۸	۲	۱۱/۶۷۵

* سطح معنی‌داری کمتر از $p < 0.05$

بحث

به طور کلی، در پژوهش حاضر ارتباط معناداری بین چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی مورد مطالعه و سرطان پستان وجود داشت ($p = 0.000$). در مقایسه نتایج باید اظهار داشت که جین و همکاران (سال ۲۰۰۴) در مطالعه‌ای بر روی چندشکلی rs861539 ژن XRCC3 در کشور کانادا، ۴۰۲ زن مبتلا به سرطان پستان به همراه ۴۰۲ فرد سالم را به عنوان

جدول ۴. محاسبه مقدار p ژنوتیپ‌های TT، CT و CC در گروه بیمار و گروه کنترل

تست کای-اسکوآر			
ژنوتیپ	χ^2	Df	p*
ژنوتیپ	۲۱۰/۷۷ ^a	۲	۰/۰۰۰
تعداد افراد	۱۶۰		

* سطح معنی‌داری کمتر از $p < 0.05$

جدول ۵. محاسبه OR چندشکلی rs861539

ژنوتیپ	Df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
				Lower	Upper
ژنوتیپ CC	۲	۰/۰۰۰			
ژنوتیپ CT	۱	۰/۰۰۰	۹/۸۵۴	۲/۴۳۱	۳۹/۹۴۸
ژنوتیپ TT	۱	۰/۰۰۳	۲/۳۵۲	۰/۶۱۱	۹/۰۴۹

طبق نتایج حاصل، بیشتر بیماران در محدوده سنی ۴۱ تا ۵۰ سال هستند و میانگین سنی بیماران ۴۹ سال به دست آمد که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p = 0.002$). ۱۸/۷۷ درصد از بیماران حداقل در یکی از بستگان درجه اول یا دوم خود ابتلا به سرطان پستان را ذکر نمودند که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری نشان می‌داد ($p = 0.008$). بین وضعیت یائسگی افراد مبتلا به سرطان پستان و گروه کنترل ارتباط معناداری دیده نشد ($p = 0.189$). هم‌چنین ارتباط معناداری میان مصرف قرص‌های ضد بارداری در گروه افراد مبتلا به سرطان پستان و کنترل مشاهده نشد ($p = 0.932$).

تغییر موجب کاهش ظرفیت سیستم تعمیری شده و با خطر ابتلا به سرطان در ارتباط می‌باشد (۱).

بر طبق محاسبات آماری انجام شده بین وجود سرطان در بستگان و ابتلا به بیماری ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($p = 0/008$). به این معنا که داشتن بستگان مبتلا، خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش داده و می‌تواند نشانه‌ای برای پیشگیری کردن این افراد باشد. در مطالعه‌ای که توسط کلدیتز و همکاران صورت گرفت، ارتباط معنی‌داری بین وجود سرطان در بستگان و ابتلا به بیماری وجود داشت، به گونه‌ای که با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد (۲۱). هم‌چنین نتایج ما در ارتباط با بررسی سابقه فامیلی سرطان پستان با بستگان درجه دو ($p = 0/003$) با داده‌های به دست آمده توسط بهجت مرزبانی و همکاران (سال ۲۰۱۶) در استان کرمانشاه سازگاری دارد (۲۲). میانگین سنی افراد بیمار ۴۹ سال بود که کم سن‌ترین آن‌ها ۲۶ سال و مسن‌ترین آن‌ها ۸۷ سال سن داشت؛ از بین این افراد، ۹ نفر دارای سن زیر ۴۰ سال بودند و ۷۱ نفر بالای ۴۰ سال سن داشتند. بیشترین موارد ثبت شده به گروه سنی ۴۱ تا ۵۰ سال تعلق داشت که با مطالعه فاضلی و همکاران در استان مرکزی (سال ۲۰۱۴) همخوانی داشت (۲۳). بر اساس تست آماری χ^2 بین سطح تحصیلات و ابتلا به بیماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p = 0/000$). نتایج ما در ارتباط با بررسی سطح تحصیلات در مقطع زیر دیپلم و خطر ابتلا به سرطان پستان ($p = 0/005$) با داده‌های به دست آمده توسط بهجت مرزبانی و همکاران (سال ۲۰۱۶) در استان کرمانشاه تعامل دارد، این در حالی است که در دیگر مقاطع تحصیلی ارتباط معناداری میان سطح تحصیلات و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده نشد (۲۲) که می‌تواند به دلیل تفاوت سطح فرهنگ و آگاهی در جامعه باشد. در نتیجه، افزایش میزان تحصیلات سبب افزایش اطلاعات افراد نسبت به وضعیت سلامت خود و چگونگی پیشگیری از ابتلا به بیماری مانند چکاپ ماهیانه، استفاده از تغذیه سالم و غیره می‌شود. براساس محاسبات انجام شده، مشخص شد که ارتباط

کنترل توسط تکنیک PCR-RFLP مورد بررسی قرار دادند. در نتیجه این مطالعه، ارتباط معنی‌داری میان ژنوتیپ TT چندشکلی rs861539 و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده شد (۱۹). هم‌چنین در مطالعه‌ای که توسط هانا رومانوویچ و همکاران (سال ۲۰۱۲) در کشور لهستان صورت گرفت، نتایج حاصل نشان داد که ژنوتیپ هتروزیگوس (CT)Tht/Met ($OR=2/61$ ، $p=0/0001$) یک ارتباط آماری با خطر ابتلا به سرطان پستان دارد (۲). این در حالی است که در مطالعه‌ای که توسط راکوئل ساتوس و همکاران (سال ۲۰۱۰) در کشور برزیل صورت گرفت، نتایج حاصل هیچ گونه ارتباط معنی‌داری میان چندشکلی rs861539 و خطر ابتلا به سرطان پستان نشان ندادند (۲۰). در مطالعه صورت گرفته توسط چن هسین سو و همکاران (سال ۲۰۱۵) در کشور تایوان، چندشکلی rs861539 در جمعیتی به تعداد ۲۳۲ زن مبتلا به سرطان پستان به همراه ۱۲۳۲ زن سالم به عنوان کنترل، به وسیله تکنیک PCR-RFLP، مورد مطالعه قرار گرفت. در نتیجه این مطالعه، ژنوتیپ TT ($p=0/0002$)، $OR=2/99$ و CT ($OR=1/74$ ، $p=0/0001$) چندشکلی rs861539 ارتباط معنی‌داری با خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داد (۱۱). این در حالی است که در مطالعه‌ای دیگر که در کشور عربستان سعودی توسط علی اعلا محمد و همکاران (سال ۲۰۱۶) بر روی چندشکلی rs861539 صورت گرفت، ژنوتیپ‌های چندشکلی rs861539 هیچ‌گونه ارتباط معناداری با خطر ابتلا به سرطان پستان از خود نشان ندادند (۱۷). در مطالعه مشابهی که توسط متولی باشی و همکاران (سال ۲۰۱۱) در استان اصفهان صورت گرفت، ارتباط این چندشکلی با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار گرفت که در نتیجه این مطالعه چندشکلی rs861539 ارتباط معنی‌داری با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال از خود نشان داد (۵). در تفسیر این ارتباط باید گفت که وجود این چندشکلی در ژن XRCC3 موجب تغییر رمز ژنتیکی و به دنبال آن تولید پروتئین متفاوتی از XRCC3 می‌شود که این

پیش‌گویی بالینی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. با توجه به نتایج حاصل و وجود فرکانس بالایی از ارتباط میان چندشکلی rs861539 و خطر ابتلا به سرطان پستان، این چندشکلی می‌تواند به عنوان یک بیومارکر نقش بسزایی در پیش‌گویی بالینی در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان پستان داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک است که در آزمایشگاه ژنتیک دانشکده علوم پایه دانشگاه اراک انجام شده است. بدین وسیله از آقایان دکتر علی قضاوی، دکتر ابراهیم اناری و پرسنل بیمارستان آیت الله خوانساری اراک (بخش انکولوژی، آزمایشگاه و اوژانس) و تمامی بیماران و افرادی که در این مطالعه همکاری نمودند، تشکر و سپاس‌گزاری می‌گردد.

منابع

1. Gohari-Lasaki S, Gharesouran J, Ghojzadeh M, Montazeri V, Saadatian H, Ardebili SM. DNA repair gene XRCC3 241Met variant and breast cancer susceptibility of Azeri population in Iranian. *Genetika*. 2015; 47(2): 733-9.
2. Romanowicz-Makowska H, Bryś M, Forma E, Maciejczyk R, Połać I, Samulak D, Michalska M, Smolarz B. Single nucleotide polymorphism (SNP) Thr241Met in the XRCC3 gene and breast cancer risk in Polish women. *Polish Journal of Pathology*. 2012 Jun 1; 63(2): 121-5.
3. Shahbazi S, Alavi S, Majidzadeh-a K, GhaffarPour M, Soleimani A, Mahdian R. BsmI but not FokI polymorphism of VDR gene is contributed in breast cancer. *Medical Oncology*. 2013 Mar 1; 30(1): 393.
4. Mohaghegh F, Hamta A. The study of cancer incidence and cancer registration in Markazi province between 2001-2006 and comparison with national statistics, Iran. *Arak Medical University Journal*. 2008; 11(2): 84-93.

معناداری بین وضعیت تاهل و ابتلا به بیماری وجود ندارد ($p = 0/286$) که با مطالعه‌ی صورت گرفته توسط بهجت مرزبانی و همکاران (سال ۲۰۱۶) مطابقت دارد ($p = 0/55$) (۲۲). در مطالعه حاضر، ارتباط معناداری بین وضعیت سن قاعدگی و ابتلا به بیماری مشاهده گردید ($p = 0/000$) که با مطالعه‌ی صورت گرفته توسط عنصری و همکاران (سال ۲۰۱۱) تعامل داشته ($p < 0/01$) (۲۴) و با مطالعه صورت گرفته توسط بهجت مرزبانی و همکاران (سال ۲۰۱۶) در تضاد می‌باشد ($p < 0/05$) (۲۲). براساس بررسی آماری انجام شده، مشخص شد که ارتباط معناداری بین وضعیت داشتن سقط جنین و ابتلا به بیماری وجود دارد ($p = 0/000$) که تاییدکننده مطالعه‌ی صورت گرفته توسط تانگ و همکاران می‌باشد (۲۵). براساس محاسبه آماری انجام شده مشخص شد ارتباط معناداری میان سن اولین زایمان و ابتلا به بیماری وجود ندارد ($p = 0/097$) که با مطالعه‌ی صورت گرفته توسط سیمیا بشارت و همکاران در استان گلستان (۲۰۱۱) مطابقت داشته (۲۶) ($p = 0/77$) و با مطالعه صورت گرفته توسط بهجت مرزبانی و همکاران (سال ۲۰۱۶) مطابقت ندارد ($p = 0/004$) (۲۲).

نتیجه‌گیری

سرطان یک بیماری ژنتیکی و پیچیده است که عوامل مختلفی نظیر جنس، سن، سابقه قرار گرفتن در برابر اشعه، چاقی، رژیم غذایی، سابقه خانوادگی و سایر عوامل محیطی در این بیماری نقش دارند. سرطان پستان نیز در میان سرطان‌ها از این قاعده مستثنی نمی‌باشد، به گونه‌ای که مطالعه مزبور بر پایه مطالعات مورد-شاهدی بر روی ۸۰ زن بیمار و ۸۰ زن سالم ساکن استان مرکزی انجام گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده ارتباط معنی‌داری میان ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs861539 و سرطان پستان مشاهده شد. هم‌چنین از بررسی برخی ویژگی‌های بالینی و دموگرافیکی بیماران نتایج قابل ملاحظه‌ای حاصل شد. در سرطان و نیز سرطان پستان

5. Motovali-Bashi M , Hemati S , Korbekandi H. Corelation of Homologus Recombination Repair System by studying a Single nucleotide Polymorphisms in XRCC3 Gene with Initiation and Progression of Colorectal Cancer. Isfahan Medical School. 2011; 29.
6. Guo S, Li X, Gao M, Li Y, Song B, Niu W. The relationship between XRCC1 and XRCC3 gene polymorphisms and lung cancer risk in northeastern Chinese. PloS one. 2013 Feb 8; 8(2): e56213.
7. Huang JY, Yang JF, Qu Q, Qu J, Liu F, Liu FE, Xiong T, Lu SH. DNA repair gene XRCC3 variants are associated with susceptibility to glioma in a Chinese population. Genet Mol Res. 2015 Jan 1; 14(3): 10569-75.
8. Zhang E-J ,Cui Z-G , Xu Z-F , Duan W-Y ,Huang S-H ,Tan X ,Yin Z-H , Sun C-F ,Lu L. Lack of In Auence of an XRCC3 Gene Polymorphism on Oral Cancer Susceptibility : Meta-analysis .Cancer Prevention, 2014. 15: p. 10329.
9. Osawa K, Nakarai C, Uchino K, Yoshimura M, Tsubota N, Takahashi J, Kido Y. XRCC3 gene polymorphism is associated with survival in Japanese lung cancer patients. International journal of molecular sciences. 2012 Dec 5; 13(12): 16658-67.
10. Jang MY, Kim JS, Kim SG. XRCC3, a Target Gene for Termination Technology in Plants. Electronic Journal of Biology. 2005; 1(4): 56-60.
11. Su CH, Chang WS, Hu PS, Hsiao CL, Ji HX, Liao CH, Yueh TC, Chuang CL, Tsai CW, Hsu CM, Lane HY. Contribution of DNA double-strand break repair gene XRCC3 genotypes to triple-negative breast cancer risk. Cancer Genomics-Proteomics. 2015 Nov 1; 12(6): 359-67.
12. Mohseni A.R ,Toogeh G.H ,Farnuosh M. Polymorphism in the DNA Repair Gene XRCC3 and Therapeutic Outcomes in Patients with AML. Genetics in 3 millennium. 2015: 13.
13. Masson JY, Stasiak AZ, Stasiak A, Benson FE, West SC. Complex formation by the human RAD51C and XRCC3 recombination repair proteins. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2001 Jul 17; 98(15): 8440-6.
14. Duarte MC, Colombo J, Rossit AR, Silva AE. Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 in a Brazilian population. Genetics and Molecular Biology. 2005 Sep; 28(3): 397-401.
15. Somyajit K, Basavaraju S, Scully R, Nagaraju G. ATM-and ATR-mediated phosphorylation of XRCC3 regulates DNA double-strand break-induced checkpoint activation and repair. Molecular and cellular biology. 2013 May 1; 33(9): 1830-44.
16. Majidinia M, Yousefi B. DNA repair and damage pathways in breast cancer development and therapy. DNA repair. 2017 Jun 30; 54: 22-9.
17. Ali AM ,AbdulKareem H, Al Anazi M, Reddy Parine N, Shaik JP, Alamri A, Ali Khan Pathan A, Warsy A. Polymorphisms in DNA repair gene XRCC3 and susceptibility to breast cancer in Saudi females. BioMed research international. 2016: 6.
18. Brenneman MA, Wagener BM, Miller CA, Allen C, Nickoloff JA. XRCC3 controls the fidelity of homologous recombination: roles for XRCC3 in late stages of recombination. Molecular cell. 2002 Aug 31; 10(2): 387-95.
19. Figueiredo JC, Knight JA, Briollais L, Andrulis IL, Ozcelik H. Polymorphisms XRCC1-R399Q and XRCC3-T241M and the risk of breast cancer at the Ontario site of the Breast Cancer Family Registry. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers. 2004 Apr 1; 13(4): 583-91.
20. Santos RA, Teixeira AC, Mayorano MB, Carrara HH, Andrade JM, Takahashi CS. DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 polymorphisms and their relationship with the level of micronuclei in breast cancer patients. Genetics and molecular biology. 2010; 33(4): 637-40.
21. Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Risk factors for breast cancer according to family history of breast cancer. JNCI: Journal of the National Cancer Institute. 1996 Mar 20; 88(6): 365-71.

22. Marzbani B, Taymoori P, Nouri B. Assessment of Risk Factors for Breast Cancer Among Women Under 50 Years Old. *Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research*. 2017 Jun 15; 15(1): 47-60.
23. Fazeli Z, Najafian Zade M, Eshtati B, Almasi Hashiani A. Five-Year Evaluation of Epidemiological, Geographical Distribution and Survival Analysis of Breast Cancer in Markazi Province, 2007-2011. *Arak Medical University Journal*. 2014; 16(11): 73-80.
24. Onsory K, Ranapoor S. Breast cancer and the effect of environmental factors involved. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 2011 Oct 15; 1(4): 59-70.
25. Tang MT, Weiss NS, Malone KE. Induced abortion in relation to breast cancer among parous women: a birth certificate registry study. *Epidemiology*. 2000 Mar 1; 11(2): 177-80.
26. Besharat S, Motie MR, Besharat M, Roshandel G. Breast cancer risk factors in women of Golestan Province in Iran: A case-control study. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility*. 2011; 13(6): 46-51.