

بررسی کمی بیان ژن های PALB2 و BRIP1 در جمعیت زنان ایرانی مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با گروه شاهد

المیرا شفیعی^۱، اردشیر حسام پور^۲

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۲ استادیار، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در دنیا و دومین علت مرگ و میر پس از سرطان ریه در زنان است. هدف از این تحقیق بررسی کمی بیان ژن‌های BRIP1 و PALB2 در نمونه خون افراد مبتلا به سرطان سینه نسبت به افراد شاهد سالم و بررسی نقش این دو ژن به عنوان بیومارکر جهت غربالگری بود.

روش بررسی: پژوهش موردی شاهد زیر به بررسی سطح بیان ژن‌های PALB2 و BRIP1 در ۵۰ نمونه از افراد بیمار در مقایسه با ۵۰ نمونه شاهد انجام شد. RNA تام استخراج، cDNA سنتز و بیان PALB2 و BRIP1 در حضور ژن کنترل GAPDH با استفاده از روش qRT-PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: افزایش معنی‌دار بیان بیومارکرهای هدف در افراد سرطانی نسبت به نرمال مشاهده شد، به طوری که ژن‌های BRIP1 و PALB2 به ترتیب ۳/۴۱۹ و ۷/۳۲۶ برابر افزایش بیان نشان دادند ($p=0/001$). همچنین نتایج با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ با توجه به میانگین Ct افراد سالم مورد ارزیابی قرار گرفت و grade بیماری با میزان بیان ژن‌ها ارتباط معنی‌داری را نشان داد، به طوری که با افزایش مرحله و درجه شدت سرطان بیان بیومارکرها افزایش می‌یافت ($p=0/003$).

نتیجه‌گیری: با توجه به افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های BRIP1 و PALB2 در افراد بیمار در مقایسه با افراد نرمال شاهد، احتمالاً افزایش بیان سبب مهار فعالیت ژن‌های سرکوب کننده تومور می‌شود. با توجه به افزایش بیان این ژن‌ها در نمونه‌های سرطانی، این ژن‌ها را می‌توان به عنوان نشانگر احتمالی مرتبط با سرطان سینه جهت بررسی‌های تکمیلی معرفی کرد.

واژگان کلیدی: BRIP1، PALB2، Real Time PCR، مارکر.

مقدمه

پستان می‌شود که به طور سیستماتیک از فردی به فرد دیگر فرق دارد (۱). سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان است و حدود ۳۳٪ از سرطان‌های موجود در زنان را شامل می‌شود و مسئول ۱۹٪ مرگ و میر ناشی از سرطان است و دومین علت مرگ و میر پس از سرطان ریه در زنان است (۲،۳). اپیدمیولوژی سرطان پستان در جهان نشان داد که تقریباً یکی از سه سرطان شایع شناخته شده در ایالات متحده آمریکا است و آن را به عنوان دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در میان زنان به حساب می‌آورند (۴). بیشترین بروز در ایالات متحده آمریکا در میان زنان ۷۵-۷۹ سال و متوسط

سرطان پستان یکی از مشکلات جهانی از لحاظ بهداشت، تندرستی و درمان است و از مهم‌ترین سرطان‌ها در زنان به شمار می‌رود. این بیماری از برهم کنش فاکتورهای غیرژنتیکی و ژنتیکی ایجاد می‌شود. تنوع و گوناگونی بیولوژیکی سرطان پستان موجب گسترش چندین نوع سرطان

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی، اردشیر

حسام پور (email: a.hesampour@gmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۶/۱۰/۲۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۷/۴/۲۶

DEAH است و با تکرار BRCT سرطان پستان نوع ۱ (BRCA1) تعامل دارد (۱۵). در این راستا با بررسی کمی میزان بیان این دو ژن و مقایسه میزان بیان در نمونه‌های خون افراد سالم با افراد مبتلا به سرطان پستان در مراحل مختلف سرطان می‌توان ارتباط بین تغییرات بیانی ژن‌های PALB2 و BRIP1 و نقش آنها در پیشبرد سرطان را مطالعه کرد.

مواد و روشها

جمع آوری نمونه‌ها

۵۰ نمونه خون مبتلایان به سرطان پستان با طیف سنی ۸۵-۴۵ سال و ۵۰ نمونه خون افراد شاهد که جواب سونوگرافی، ماموگرافی و آزمایشگاهی آنها در سه دوره متوالی معاینه ۱ ساله منفی اعلام شده بود، به همراه پرسش‌نامه و رضایت‌نامه، با رعایت قوانین اخلاق در مطالعات تجربی پزشکی Helsinki و تبعیت از دستورالعمل‌های مربوطه از قسمت پاتولوژی بیمارستان بقیه الله اعظم به شماره کمیته اخلاق ۲۰۸/۴۱ جمع آوری شد. نمونه خون با رعایت اصول انتقال و نگهداری به تانک ازت و فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. تمامی دستورالعمل‌های اخلاقی برای نگهداری و استفاده از نمونه‌های انسانی رعایت شد.

استخراج RNA از نمونه خون

استخراج RNA از نمونه‌های خون جمع آوری شده با استفاده از کیت GeneAll کره انجام شد. نمونه‌های استخراج شده توسط اسپکترومتر نانودراپ (Thermo scientific, Germany) سنجش کمی و توسط الکتروفورز افقی روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی کیفی شد و از نمونه‌هایی که نسبت جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر میان ۲-۱/۸ داشتند جهت سنتز cDNA استفاده شد. دو میکروگرم از RNA با استفاده از کیت سنتز cDNA، Revert Aid First Strand cDNA، Thermo Fisher, Synthesis Kit, #K1622 - داخل دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystem) ABI مورد استفاده قرار گرفت.

طراحی پرایمر PCR

برای طراحی پرایمرها از نرم‌افزار Primer Express version 3 software (Applied Biosystems, Austin, TX, USA) و همچنین سایت NCBI استفاده شد. پرایمرها در جدول ۱ نمایش داده شده‌اند. توالی ژن GAPDH به عنوان شاهد داخلی مورد استفاده قرار گرفت.

سن تشخیص در ۶۱ سالگی است (۵). تفاوت قابل توجه این است که اوج سنی ابتلا به سرطان پستان در کشورهای آسیایی بین ۴۰ تا ۵۰ سال است، در حالی که در کشورهای غربی بین ۶۰ تا ۷۰ سال است. مطالعات نشان می‌دهند که بروز سرطان پستان در آسیا در حال افزایش است (۶). بررسی اپیدمیولوژی سرطان پستان در ایران نشان می‌دهد که به عنوان سومین علت مرگ و میر به شمار می‌آید. نتایج بررسی نشان داده است که عوامل ژنتیکی در درجه اول و عوامل محیطی شامل استرس و اضطراب و وضعیت اقتصادی، تاهل، سن شروع قاعدگی، تعداد حاملگی و سن اولین بارداری می‌تواند در آن موثر باشد (۷). امروزه به کمک پیشرفت‌های تکنولوژی اطلاعات زیادی به دست آمده که در شناخت زودرس بیماری سرطان کمک خواهد کرد و غربالگری به موقع تاثیر زیادی در تشخیص و درمان دارد. در حال حاضر تشخیص به طور عمده به ماموگرافی متکی است و تشخیص توسط بیومارکرهای زیستی راه جدید تسهیل در تشخیص اولیه سرطان است (۸). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که خطر ابتلا به سرطان تا ۸۰٪ می‌تواند به دلیل جهش در ژن‌های ATM، CHEK2 و BRIP1 باشد که به علت افزایش بیان ژنی تا دو برابر در معرض خطر سرطان پستان هستند. لذا با شناسایی و ارزیابی کمی این ژن‌ها در خون می‌توان با روش‌های غیرتهاجمی تشخیص زود هنگام داد (۹). یک راه کار جدید برای تشخیص سرطان استفاده از بیومارکرها است. بیومارکرها عموماً به یک شاخص قابل سنجش از برخی حالت‌ها و شرایط بیولوژیکی و اطلاعات زیستی اشاره دارند. پیش آگاهی از این بیماری به طور عمده در تشخیص زود هنگام آن موثر است. بیومارکرها اغلب در بررسی فرایندهای طبیعی زیستی، فرایندهای پاتوژن و پاسخ به درمان ویژه ارزیابی می‌شود. همچنین بیومارکرها می‌توانند کمک به تشخیص اینکه آیا یک بیمار باید درمان شود یا پیش بینی نتیجه پس از درمان خاص و انتخاب درمان یک راهنما برای بیمار است (۱۰، ۱۱). بنابراین بیومارکرهای زیستی می‌توانند ابزار مفیدی برای نظارت بر ریسک بیماری و پیش آگاهی از بروز سرطان در مراحل اولیه ظهور باشند و درمان را آسان‌تر کنند (۱۲). سرطان پستان به تغییرات ژنتیکی وابسته است که این تغییرات می‌توانند مربوط به ژن‌های سوماتیک باشند. محصول ژن PALB2 پروتئینی است که احتمالاً به عنوان سرکوبگر تومور عمل می‌کند. این پروتئین با پروتئین BRCA2 در فضای هسته‌ای ارتباط دارد و به احتمال زیاد اجازه می‌دهد موضع پایدار بین هسته‌ای و ازدیاد BRCA2 را در بر داشته باشد (۱۳، ۱۴). BRIP1 پروتئین کد گذاری شده توسط این ژن عضو خانواده Helicase RecQ

جدول ۱. توالی پرایمری ژن های PALB2 و BRIP1 به همراه ژن کنترل GAPDH

توالی	شماره دسترسی	پرایمر
5'- AGGATCTCTCACCGCAGCTAA-3'	XM_017023673	F PALB2
5'- TCAGGCCCAACATCAAGTGTG-3'	XM_017023673	R
5'- CTTACCCGTCACAGCTTGCTA-3'	XM_011525341	F BRIP1
5'- CACTAAGAGATTGTTGCCATGCT-3'	XM_011525341	R
5'-CTCTCTGCTCCTCCTGTTTCG-3'	XM_508955	F GAPDH
5'-ACGACCAAATCCGTTGACTC-3'	XM_508955	R

انجام Real time PCR

واکنش Real time PCR با استفاده از کیت 480 Master mix , SYBR Green I (Roche Applied Science) ساخت شرکت Roche با برنامه حرارتی به شرح واسرشت سازی اولیه DNA الگو با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله دوم به صورت متناوب در طول ۴۰ چرخه (cycles) با دمای ۹۵ درجه به مدت ۳۰-۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. اندازه گیری میزان فلورسنت توسط دستگاه Rotor-gene 6000 ساخت کمپانی Corbet استرالیا انجام شد و منحنی های تکثیر و تفکیک با استفاده از نرم افزار رسم و آنالیز شد. جهت تایید صحت انجام واکنش PCR و تکثیر قطعات، محصول واکنش Real Time PCR پس از بررسی توسط نانودراپ روی ژل آگارز ۲ درصد ارزیابی و صحت اندازه قطعات حاصل از تکثیر مورد ارزیابی قرار گرفت.

آنالیز داده ها

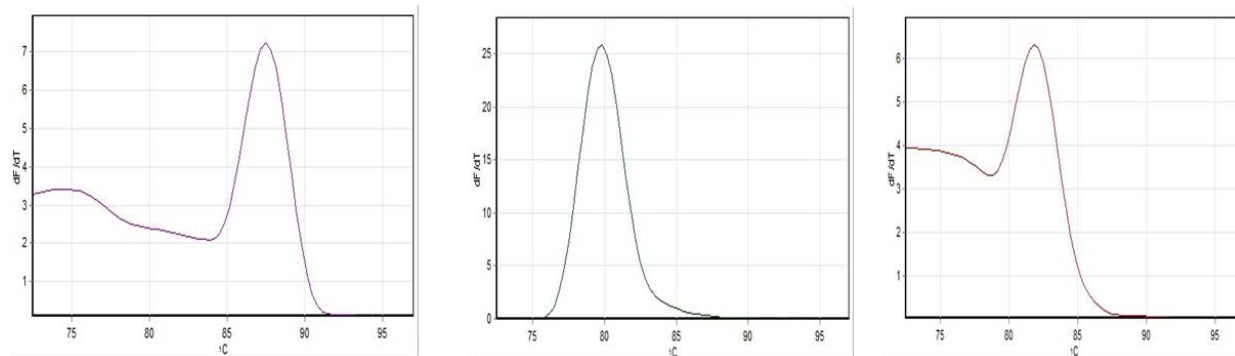
داده های خام حاصل از Real Time PCR با استفاده از نرم افزار تجزیه و تحلیل شدند. پس از تکثیر، CT (cycle threshold) نمونه ها شناسایی و همچنین PCR efficiency mean تعیین شد. بر اساس روش Relative Quantification

(RQ) و فرمولاسیون $2^{-\Delta\Delta Ct}$ به صورت مضربی از میزان بیان ژن های BRIP1 و PALB2 درج شده و در مقایسه با ژن داخلی GAPDH و در مجاور نرمال متوازن مورد بررسی و تفسیر قرار گرفت. حدود اطمینان در تمامی آزمایشات ۹۵٪ در نظر گرفته شد و $P < 0.05$ معنی دار محسوب شد.

یافته ها

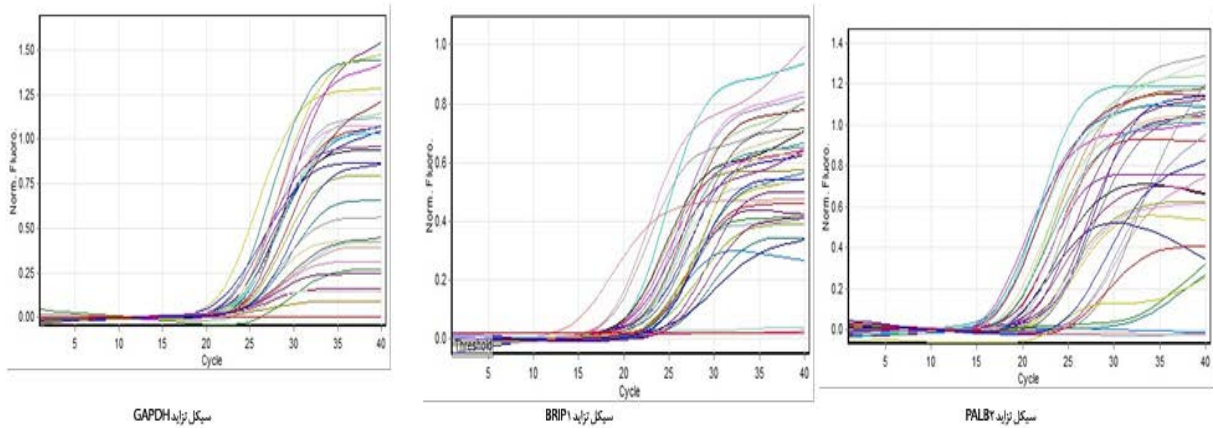
نتایج بررسی نسبت مقدار RNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ بررسی شد. به منظور بررسی اختصاصیت پرایمرها، کیفیت رنگ فلورسانت سایبرگرین، اطمینان از تکثیر قطعات اختصاصی و بررسی عدم وجود قطعات غیر اختصاصی و عدم وجود دایمر پرایمر در محصول PCR نمودار منحنی ذوب برای ژن های BRIP1, PALB2 و GAPDH به صورت جداگانه توسط دستگاه Rotor gene Q Real time PCR رسم شد.

نتایج به صورت تک قله ای به دست آمد که این خود بیانگر تنها یک محصول PCR است (شکل ۱). در ضمن محصول PCR نیز بر روی ژل قرار گرفت و مشاهده شد که هر کدام از واکنش های انجام شده توسط پرایمرهای اختصاصی تنها یک باند اختصاصی وجود دارد که این نیز اختصاصی بودن نتایج PCR در نمونه های ما را تایید کرد. نتایج سیکل تزیاید در

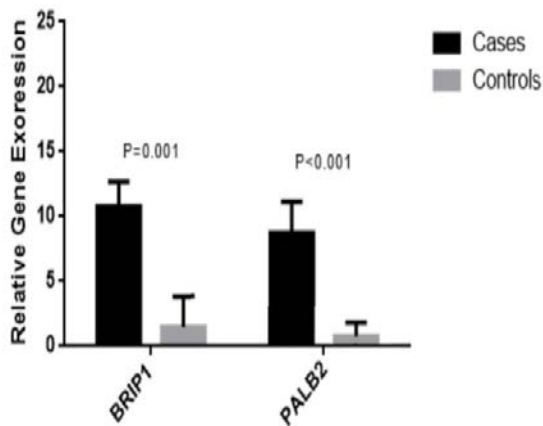


شکل ۱. از راست به چپ الف- منحنی ذوب PALB2، ب- منحنی ذوب BRIP1، ج- منحنی ذوب GAPDH

منحنی ذوب: محور افقی دما بر حسب °C و محور عمودی میزان فلورسنت است. تک قله بودن در نمودارها نشانه عدم وجود دایمر پرایمر و باند غیر اختصاصی است.



شکل ۲. منحنی سیکل تریپد بیومارکرها. محور افقی شماره سیکل تریپد و محور عمودی میزان فلورسنت است.



شکل ۳ ترسیم شده است.

در این پژوهش جمعیت مورد مطالعه ما شامل دو گروه بیماران و افراد سالم بودند که با بر آورد حجم نمونه آماری در هر گروه ۵۰ نفر قرار گرفتند میانگین سنی بیماران و افراد سالم به ترتیب ۵۴/۹±۹/۲۱ و ۵۱/۸±۸/۲۲ سال بود که از نظر توزیع داده، تست کولموگروف اسمیرنوف نشان می‌دهد که پارامتر سن از توزیع نرمال برخوردار بود و گروه بیمار و افراد سالم از این نظر یکسان انتخاب شده بودند (p=۰/۲).

بررسی تغییر بیان نسبی ژن‌های PALB2 و BRIP1

بررسی تغییر بیان نسبی در افراد مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم نشان داد که تغییر بیان نسبی ژن‌های PALB2 و BRIP1 در افراد مبتلا به سرطان سینه به ترتیب ۸/۶۹±۲/۴۵ و ۱۰/۷۷±۱/۷ است (p=۰/۰۰۱). همچنین نسبت بیان ژن‌های PALB2 و BRIP1 در نمونه‌های کنترل به ترتیب ۱/۱۸±۰/۶۱ و ۳/۱۵±۱/۴۷ بود (p=۰/۰۰۱) که این تغییرات حاکی از بیان افزایشی ژن‌های PALB2 و BRIP1 در مقایسه با افراد نرمال است که برای ژن PALB2 ۷/۳۳ برابر افزایش بیان نسبت به افراد نرمال و برای ژن BRIP1 افزایش بیان ۳/۴۲ برابر نسبت به افراد نرمال است. نتایج نشان می‌دهد بررسی کمی بیان ژن‌های PALB2 و BRIP1 در نمونه خون بیماران و افراد مستعد به سرطان پستان می‌تواند بیومارکر برای تشخیص و غربالگری سرطان پستان باشد. در این راستا با شناسایی این دو ژن از خون نتایج نشان داد که میزان بیان ژن‌های PALB2 و BRIP1 در نمونه خون افراد مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم افزایش معنی داری دارد (نمودار ۱).

نمودار ۱. تغییر بیان نسبی ژن‌های PALB2 و BRIP1 در افراد مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم. میزان بیان ژن‌های PALB2 و BRIP1 در نمونه خون افراد مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم افزایش معنی داری دارد.

بررسی وضعیت مرحله بیماری

از ۵۰ بیمار، ۲۲ (۴۴ درصد) مورد دارای سلول‌های سرطانی در مرحله ۳ و ۲۸ مورد (۵۶ درصد) در مرحله ۴ سرطان قرار داشتند. در بررسی ارتباط بین مرحله و درجه شدت بیماری در بیماران مشخص شد که بین این دو پارامتر ارتباط معنی‌داری وجود دارد و پراکندگی فراوانی‌ها در مرحله و درجه‌ها یکسان است و با افزایش مرحله و درجه شدت بیماری نیز افزایش می‌یابد (نمودار ۲).

بررسی ارتباط بین سن و میزان بیان ژن‌های PALB2

و BRIP1 در افراد بیمار و سالم

به منظور به دست آوردن ارتباط بین دو پارامتر کمی سن و میزان بیان PALB2 و BRIP1 از آزمون Pearson استفاده شد و میانگین و انحراف معیار داده‌ها با هم مقایسه شد. نتایج این

زود هنگام جهت بررسی و شناسایی بیومارکرهای مرتبط با سرطان پستان می‌تواند نقش به‌سزایی در پیش‌آگهی، تشخیص، واکنش به درمان با داروهای هدفمند و پیش‌درمان سرطان داشته باشد. نتایج حاضر با پژوهش‌های انجام شده در ارتباط با ارتباط تغییرات بیانی بیومارکرها در سرطان‌های متعدد مطابقت دارد. در بسیاری از موارد نتایج مطالعات پیشین، افزایش معنی‌دار بیومارکرهای احتمالی دخیل در سرطان پستان را نشان داده است (۲۶، ۲۵). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۶ توسط Thompson, et al بر روی جهش‌بر روی ۱۸ ژن هدف در پنل تشخیص سرطان بر روی نمونه‌های بیماران مبتلا به سرطان انجام شد، نتایج نشان داد که در ژن‌های BRCA1، BRCA2 و PALB2 جهش‌های متعددی اتفاق افتاده است و تغییرات بیانی حاصله احتمالاً دخیل در ایجاد و یا روند سرطان هستند (۲۷). در پژوهشی که در سال ۲۰۱۴ بر روی بررسی بیان مارکرهای BRIP1، LAMC2 و miR155 در سرطان پروستات توسط Zhao, et al انجام شد، نتایج تایید کرد که در بین ژن‌های مذکور شبکه تنظیمی بیانی وجود دارد که افزایش بیانی با مراحل ایجاد سرطان ارتباط معنی‌دار و مستقیمی دارد که به‌عنوان یک شاخص پیش‌آگاهی مهم در سرطان دهانه پروستات است (۲۸، ۲۰). محصول ژن PALB2 پروتئینی است که به‌عنوان سرکوبگر تومور عمل می‌کند و ژن BRIP1 اولین ژن عمده در ارتباط با سرطان ارثی پستان BRCA1 است که BRIP1 با تکرار BRCT سرطان پستان نوع ۱ (BRCA1) تعامل دارد (۱۵، ۲۳). با توجه به پایین بودن سن ابتلا به سرطان پستان در ایران تشخیص زود هنگام این سرطان یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در جهت سلامت جامعه است. از طرفی تشخیص زود هنگام سرطان پستان باعث درمان به‌موقع این بیماری می‌شود. همچنین از آنجایی که اکثر قریب به اتفاق موارد خانوادگی سرطان پستان به دلیل تغییرات سطح بیانی ژن‌ها ایجاد می‌شود، لذا با شناسایی سطح کمی بیان این ژن‌ها می‌توان استعداد به ابتلا و غربالگری با استفاده از علایم پیش‌آگهی ژنتیکی را در خون افراد مشکوک و مستعد بررسی کرد. هدف از انجام این مطالعه بررسی کمی بیان ژن‌های PALB2 و BRIP1 در نمونه‌های خون افراد سالم و مبتلا به سرطان پستان و هدف نهایی امکان استفاده از آن به‌عنوان یک بیومارکر جهت تعیین مرحله سرطان و پیش‌آگهی پاسخ به درمان بود (۲۴، ۲۳، ۲۱).

بررسی پژوهش‌های اخیر نشان داده است که PALB2 یک جز جدایی‌ناپذیر از مجموعه BRCA مورد نیاز برای تعمیر

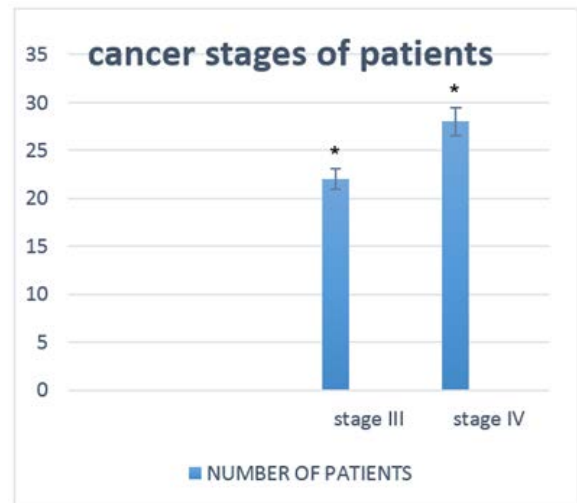
بررسی نشان داد که بین پارامتر سن و ΔCt ژن‌های PALB2 و BRIP1 ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($p=0/01$).

بررسی ارتباط بین مرحله و درجه بیماری با میزان بیان

ژن‌های PALB2 و BRIP1

بدین منظور ابتدا داده‌ها به دو گروه کنترل و بیمار تفکیک شدند و در ادامه از آزمون Pearson جهت بررسی همبستگی بین مرحله بیماری و ΔCt بیان بیومارکرهای PALB2 و BRIP1 بهره گرفته شد. نتایج نشان داد بین مرحله بیماری و میزان ΔCt ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($p=0/001$). همین آزمون در مورد درجه بیماری نیز انجام شد و نتایج نشان داد که درجه تمایز سلول‌های سرطانی یا grade بیماری با میزان بیان نیز PALB2 و BRIP1 ارتباط معنی‌داری دارد ($p=0/003$).

به منظور بررسی بهتر این نوع ارتباط، میزان بیان بیومارکرهای PALB2 و BRIP1 با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ با توجه به میانگین Ct افراد سالم مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بیانگر این بود که میزان بیان PALB2 و BRIP1 با افزایش مرحله بیماری ارتباط مستقیمی دارد.



نمودار ۲. تغییرات بیانی بیومارکرها. محور افقی سن افراد مبتلا به سرطان و محور عمودی تغییرات بیانی را نشان می‌دهد.

بحث

نتایج پژوهش حاضر تغییرات معنی‌دار و هم‌زمان بیان ژن‌های PALB2 و BRIP1 با افزایش ۷/۳۲۶ و ۳/۴۱۹ برابر در نمونه‌های مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با نمونه‌های نرمال را نشان داد. همچنین نتایج ارتباط معنی‌داری بین شدت و stage بیماری و افزایش بیان ژن‌های کاندید را نشان داد. لذا طراحی روشی غیر تهاجمی با قدرت تشخیص

ترجمه در رده‌های سلول‌های سرطانی MCF-7 و MCF-7 EPIR تنظیم می‌کند. مطابق با این ایده، FOXM1\MEF ها سطوح پایین‌تری از BRIP1 را در مقایسه با WTMEF ها بیان می‌کنند (۲۹). نتایج نشان داد که بیان بیش از حد N- FOXM1 موجب القا سطح BRIP1 mRNA و بیان پروتئین در سلول‌های MCF-7 می‌شود. سطح بیان BRIP1 بدون در نظر گرفتن FOXM1 یا DELTA N FOXM1 پس از ۴۸ ساعت درمان اپیروبوکسین در سلول‌های MCF 7 کاهش می‌یابد. همچنین نتایج نشان داد که FOXM1 قادر به انتقال پروتئین BRIP1 از طریق FHRE واقع در موقعیت BP337 است و بیشتر تایید می‌کند که BRIP1 یک ژن هدف FOXM1 است (۲۲، ۲۴).

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش و ارتباط معنی‌دار بین افزایش بیان کمی ژن‌های PALB2 و BRIP1 در بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با نمونه‌های سالم و ارتباط معنی‌دار بین میزان افزایش بیان و شدت و stage بیماری، لذا مطالعه کمی این ژن‌ها می‌تواند به عنوان شناساگر احتمالی در بررسی پیش‌آگهی، غربالگری و پایش درمان به عنوان روشی غیرتهاجمی در تشخیص زود هنگام سرطان پستان کاربری داشته باشد. مطالعات آتی در جهت بررسی ارتباط میزان بیان این ژن‌ها با خصوصیات هیستوپاتولوژی و بالینی بیماران در ادامه مطالعه انجام خواهد شد. امید است در آینده بتوان از آنها به عنوان بیومارکر پیش‌آگهی دهنده برای کمک به تشخیص غیرتهاجمی و پایش درمان استفاده کرد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این تحقیق همکاری کردند، تقدیر و تشکر می‌شود.

نوترکیب هومولوگ است. گزارش‌ها حاکی از آن است که پروتئین‌های BRCA2 و PALB2 به طور مستقیم به BRCA1 متصل می‌شوند و به عنوان داربست مولکولی در شکل‌گیری مجموعه BRCA1 و BRCA2 و PALB2 ذخیره می‌شوند. حال با استفاده از سلول‌های SF9 حشرات و سیستم بیان Baculo virus تایید کرده‌اند که PALB2 به طور مستقیم با BRCA1 تعامل می‌کند. همچنین برای بررسی اینکه آیا PALB2 داخلی و BRCA1 در Invivo تعامل می‌کند، با استفاده از لیتاز سلولی T293 آزمایش کیمونوپراکسید (COLP) انجام داده‌اند و مطابق با نتایج TAP هر دو PALB2 و BRCA2 در رسوبات BRCA1 یافت شد و نشان داد که PALB2 جز مجموعه BRCA1 در Invivo است (۱۶). سلول‌های ES در موش صحرایی نقص‌های ناشی از آسیب DNA از ضایعات PALB2 در سلول‌های انسانی و تخریب Germline PALB2 به مرگ زودرس جنینی منجر شد. حذف ترکیبی PALB2 که توسط K14-Cre هدایت می‌شود و به تشکیل تومور پستان با تاخیر طولانی منجر شد. در مطالعه‌ای که در سلول‌های جهش یافته در ژن BRCA1 انجام شد، نتایج نشان داد که کنترل خسارت DNA توسط PALB2 متفاوت از آنچه توسط BRCA1 اجرا می‌شود و بیشتر شبیه به BRCA2 است (۱۷). در مطالعات دیگری نقش تغییرات بیانی ژن BRIP1 در ترمیم آسیب DNA و مقاومت به اپی‌نفرین در سلول‌های سرطان پستان و فیبروبلاست‌های جنینی موش (MEFS) مورد بررسی قرار گرفت (۱۸، ۱۹). نتایج نشان داد که FOXM1 بیان BRIP1 را در سطوح پروتئین و mRNA تعدیل می‌کند و پروتئین BRIP1 با BRCA1 ارتباط برقرار می‌کند و برای فعالیت بازسازی DNA double-strand break (DSB) پروتئین BRCA1 مورد نیاز است (۱۶). این داده‌ها به وضوح نشان می‌دهد که FOXM1 بیان BRIP1 را در سطوح رونویسی و

REFERENCES

- Giordano, A. and N. Normanno, Breast cancer in the post genomic era. 2009: Springer Science & Business Media.
- Hosseinzadeh M, Eivazi Ziaei J, Mahdavi N, Aghajari P, Vahidi M, Fateh A. Risk factors for breast cancer in Iranian women: a hospital based case control study in Tabriz, Iran. J Breast Cancer 2014;17:236-243.
- Dumitrescu R, Cotarla I. Understanding breast cancer risk. Where do we stand in 2005. J Cell Mol Med 2005;9:208-221.
- DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. CA Cancer J Clin. 2014;64:52-62.
- Sadjadi A, Nouraie M, Ghorbani A, Alimohammadian M, Malekzadeh R. Epidemiology of breast cancer in the Islamic Republic of Iran: first results from a population-based cancer registry. East Mediterr Health J 2009;15:1426-31.
- Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. Eur J Cancer. 2013;49:1374-403.

7. Ebrahimi, M., M. Vahdaninia, A. Montazeri. Risk factors for breast cancer in Iran : a case control study. *Breast Cancer Res* 2002;4: r10.
8. Simon R. Clinical trial designs for evaluating the medical utility of prognostic and predictive Biomarkers in oncology. *Pre Med* 2010;7:33-47.
9. Shiovitz S, Korde LA. Genetics of breast cancer: a topic in evolution. *Ann Oncol.* 2015;26:1291-99.
10. Simon R. Sensitivity. Specificity PPV and NPV for predictive biomarkers. *J Natl Cancer Inst* 2015;107: pii: djv153.
11. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013;63:11-30.
12. Hayes DF. Biomarker Validation and testing .*Molon col* 2015;9:960-66.
13. Xia B, Sheng Q, Nakanishi K. Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2. *Mol cell* 2006;22:719-29.
14. Zhang F, Ma J, Wu J. PALB2 links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-damage response *Curr Biol.* 2009 ;19:524.
15. Casadei S, Norquist BM, Walsh T. Contribution of inherited mutations in the BRCA2 interacting protein PALB2 to familial breast cancer. *Cancer Res.* 2011; 71-2222-29.
16. Shirley M.H.SY. PALB2 is an integral component of the BRCA complex required for homologous recombination repair 5. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106:7155-60.
17. Bowman-Colin C, Xia B, Bunting S, Klijn C, Drost R, Bouwman P, et al. Palb2 synergizes with Trp53 to suppress mammary tumor formation in a model of inherited breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110:8632-37.
18. Monteiro LJ, Khongkow P, Kongsema M, Morris JR, Man C, Weekes D, et al. The Forkhead Box M1 protein regulates BRIP1 expression and DNA damage repair in epirubicin treatment. *Oncogene.* 2013;32:4634-45.
19. Rohanizadegan M. Analysis of circulating tumor DNA in breast cancer as a diagnostic and prognostic biomarker. *Cancer Genet.* 2018 pii: S2210-7762:30292-2.
20. Loke SY, Lee ASG. The future of blood-based biomarkers for the early detection of breast cancer. *Eur J Cancer.* 2018;92:54-68.
21. Sauter ER. Reliable Biomarkers to Identify New and Recurrent Cancer. *Eur J Breast Health.* 2017;13:162-167.
22. Boschetti E, D'Amato A, Candiano G, Righetti PG. Protein biomarkers for early detection of diseases: The decisive contribution of combinatorial peptide ligand libraries. *J Proteomics.* 2017: S1874-3919:30285-3.
23. Bahrami A, Aledavood A, Anvari K, Hassanian SM, Maftouh M, Yaghobzade A, et al. The prognostic and therapeutic application of microRNAs in breast cancer: Tissue and circulating microRNAs. *J Cell Physiol.* 2018;233:774-786.
24. Nassar FJ, Nasr R, Talhouk R. MicroRNAs as biomarkers for early breast cancer diagnosis, prognosis and therapy prediction. *Pharmacol Ther.* 2017;172:34-49.
25. Iranshahi N, Zafari P, Yari KH, Alizadeh E. The most common genes involved in epigenetics modifications among Iranian patients with breast cancer: A systematic review. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2016;31;62:116-122.
26. Mistry DA, French PW. Circulating Phospholipids as Biomarkers of Breast Cancer: A Review. *Breast Cancer (Auckl).* 2016;10:191-196.
27. Thompson ER, Rowley SM, Li N, McInerney S, Devereux L, Wong-Brown MW, et al. Panel Testing for Familial Breast Cancer: Calibrating the Tension Between Research and Clinical Care. *J Clin Oncol.* 2016;34:1455-59.
28. Zhao LL, Zhang T, Liu BR, Liu TF, Tao N, Zhuang LW. Construction of pancreatic cancer double-factor regulatory network based on chip data on the transcriptional level. *Mol Biol Rep.* 2014;41:2875-83.
29. Raman D, Foo CH, Clement MV, Pervaiz S. Breast Cancer: A Molecular and Redox Snapshot. *Antioxid Redox Signal.* 2016;25:337-70.