

اهمیت پیش‌آگهی پلی‌مورفیسم ژن ترمیم DNA (Arg XRCC1³⁹⁹Gln) در بیماران مبتلا به سرطان ریه در جمعیت استان فارس

فهیمة حامدی^۱، محمد طهماسب^۲، عباس قادری^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: پلی‌مورفیسم ژنتیکی در ژن‌های درگیر در ترمیم DNA ممکن است با کاهش ظرفیت ترمیمی محصولات این ژن‌ها، سبب افزایش خطر ابتلا به سرطان‌های مختلف در انسان شود. ژن XRCC1 یکی از ژن‌های مهم در ترمیم DNA می‌باشد. در این مطالعه، پلی‌مورفیسم Arg³⁹⁹Gln در ژن XRCC1 و ارتباط آن با استعداد ابتلا به سرطان ریه در جمعیت استان فارس مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی، DNA استخراج شده از ۱۰۰ فرد سالم و ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان ریه از نوع Non-small cell lung cancer (NSCLC) به منظور تعیین همبستگی تأثیر پلی‌مورفیسم Arg³⁹⁹Gln ژن XRCC1 بر سرطان ریه، در جمعیت استان فارس مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین ژنوتیپ افراد از تکنیک Amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) استفاده شد.

یافته‌ها: افراد مذکر حامل ژنوتیپ Gln/Gln به میزان ۸/۵ برابر بیشتر در گروه مردان مبتلا به سرطان ریه بودند ($P = ۰/۰۴۴$). به علاوه، درصد مردانی که دارای باز G در محل این پلی‌مورفیسم بودند (افراد GG و AG)، در گروه بیمار کمتر بود ($P = ۰/۰۱۴$). دسته‌بندی داده‌ها بر اساس سن بیشتر و کمتر از ۵۵ سال نیز تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه سالم و بیمار نشان نداد.

نتیجه‌گیری: با وجود فقدان تأثیر پلی‌مورفیسم Arg XRCC1³⁹⁹Gln بر استعداد ابتلا به سرطان ریه در کل نمونه‌ها، در بین مردان وجود ژنوتیپ Gln/Gln سبب افزایش قابل ملاحظه‌ای در استعداد ابتلا به سرطان ریه شده است. بنابراین، از این ژنوتیپ می‌توان به عنوان یک نشانگر زیستی برای افراد مذکر استفاده کرد.

واژگان کلیدی: پلی‌مورفیسم Arg³⁹⁹Gln، ژن XRCC1، Amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction، Non-small cell lung cancer

ارجاع: حامدی فهیمة، طهماسب محمد، قادری عباس. اهمیت پیش‌آگهی پلی‌مورفیسم ژن ترمیم DNA (Arg XRCC1³⁹⁹Gln) در بیماران

مبتلا به سرطان ریه. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۳): ۱۲۵۰-۱۲۴۴

یاخته‌های کوچک (Small-cell lung cancer یا SCLC) و سرطان ریه با یاخته‌های غیر کوچک (Non-small cell lung cancer) یا NSCLC می‌باشد. این دو نوع سرطان ریه، با توجه به نوع سلول موجود در بافت ریه که سرطانی شده‌اند، تعریف می‌شود. به طور تقریبی، ۸۵ درصد از انواع سرطان ریه از نوع NSCLC می‌باشد (۱). سیگار کشیدن و تشعشعات یونیزان، از عوامل مؤثر آسیب‌های DNA می‌باشند. آسیب‌هایی که در صورت عدم ترمیم می‌تواند باعث اشتباهات در همانندسازی DNA شود. بنابراین، افرادی که ژن‌های

مقدمه

سرطان ریه، یکی از سرطان‌های شایع در سراسر جهان است که ۲۳ و ۱۴ درصد مرگ‌های ناشی از سرطان را به ترتیب در مردان و زنان تشکیل می‌دهد (۱). سرطان ریه در ایران، یکی از پنج تومور شایع است و نرخ ابتلا به آن در مردان و زنان در ایران نسبت به گذشته افزایش یافته و شبیه به نرخ جنوب و شرق اروپا شده است (۲). برآورد می‌شود ۱۷/۶ درصد از مرگ ناشی از کل سرطان‌ها، مربوط به سرطان ریه باشد (۳). سرطان ریه دو نوع اصلی دارد که عبارت از سرطان ریه با

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

به سازمان انتقال خون شهر شیراز مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. همه‌ی افراد مورد مطالعه در دو گروه شاهد و مورد داری قومیت فارس بودند و از نظر سنی و جنسی فاقد اختلاف معنی‌دار بودند. مشخصاتی نظیر سن، جنس، سابقه‌ی مصرف سیگار و مواد مخدر از طریق تهیه‌ی پرسش‌نامه مورد سؤال قرار گرفت. کلیه‌ی مراحل تحقیق با رضایت افراد شرکت‌کننده در مطالعه انجام شد.

استخراج DNA ژنومی: از تمام افراد مورد مطالعه ۵ میلی‌لیتر خون محیطی در تیوب‌های حاوی EDTA جمع‌آوری شد. استخراج DNA با روش Salting out انجام گرفت و کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با روش الکتروفورز و اسپکتروفوتومتری بررسی شد.

تعیین ژنوتیپ افراد: جهت تعیین ژنوتیپ افراد بیمار و افراد سالم، از روش Amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) استفاده شد. جفت پرایمر اختصاصی برای شناسایی آلل 5' CCCTGCGCCGCTGCAGTTTCT) G و F_{out}: 5' TGGCGTGTGAGGCCTTACCTCC (R_{in}: ۵ سبب تکثیر قطعه‌ای به طول ۴۴۷ bp و جفت پرایمرهای اختصاصی برای آلل 5' TCGGCGGCTGCCCTCCCA) A و F_{in}: 5' AGCCCTCTGTGACCTCCAGGC (R_{out}: 5 قطعه‌ای به طول ۲۲۲ bp را تکثیر می‌کند. جفت پرایمر F_{out} و R_{out} (جفت پرایمر عمومی خارجی) به عنوان شاهد داخلی شرایط PCR عمل کرده و قطعه‌ای به طول ۶۳۵ bp را تکثیر می‌کند.

واکنش PCR در حجم ۱۰ میکرولیتر حاوی ۵ میکرولیتر از محلول Master Mix ۲X شامل Tris-HCl با pH ۸/۵، ۰/۲ emM MgCl₂، ۰/۲ درصد Tween-20، ۰/۴ میلی‌مولار Deoxynucleotide triphosphate (dNTP)، ۲ واحد بر میکرولیتر Stabilizer and inert red، Amplicon Taq DNA polymerase (شرکت پیشگام)، ۵۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۰/۲ میکرولیتر از پرایمرهای چهارگانه (سنتز شده توسط شرکت پیشگام) و حجم مناسبی از آب دیونیزه و با برنامه‌ی ۱۰ دقیقه دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و اسرشتی اولیه، سپس ۳۰ چرخه‌ی دمایی شامل ۱ دقیقه دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه دمای ۶۶ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱ دقیقه دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و در نهایت، ۱۰ دقیقه دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای بسط نهایی انجام شد. محصولات تکثیر شده روی ژل برده شدند و بر اساس الگوی الکتروفورزی به دست آمده، ژنوتیپ هر کدام از نمونه‌ها تعیین گردید (شکل ۱).

جهت اطمینان از روش مورد مطالعه برای تعیین ژنوتیپ، ۲۰ درصد از نمونه‌ها به طور تصادفی انتخاب و تعیین ژنوتیپ برای آن‌ها برای بار دوم نیز تکرار شد که نتایج به دست آمده در همه‌ی موارد با نتایج قبلی یکسان بود.

درگیر در ترمیم آسیب‌های DNA آن‌ها حاوی جهش می‌باشند، به علت اختلال در توانایی ترمیم DNA، ممکن است خطر بالایی از ابتلا به سرطان‌های مختلف را نشان دهند (۴). پروتئین XRCC1 (X-ray repair cross-complementing protein 1) از پروتئین‌هایی است که نقش آن در مکانیسم‌های ترمیم DNA مانند ترمیم خروج بازی (BER یا Base excision repair) (۵-۶) و ترمیم شکست‌های تک رشته‌ای (SSBR یا Single-strand break repair) نشان داده شده است (۷-۹).

پروتئین XRCC1 هیچ گونه نقش آنزیمی ندارد و گمان بر این است که تنها به عنوان یک عامل مؤثر در سر هم بندی شدن پروتئین‌های درگیر در ترمیم مانند DNA لیگاز III، Polβ، Aprataxin و پلیمرز 1 Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP1) در محل آسیب DNA ایفای نقش می‌کند. این پروتئین، در ترمیم BER با پروتئین‌ها، کمپلکس تشکیل می‌دهد (۱۰).

از بین بیشتر از ۳۰۰ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی کشف شده در ژن XRCC1، سه مورد از آن‌ها شامل Arg196Trp (در آگزون ۶)، Arg280His (در آگزون ۹) و Arg399Gln (در آگزون ۱۰)، بیشترین مطالعات در خصوص ارتباط با استعداد ابتلا به سرطان در جمعیت‌های مختلف را به خود اختصاص داده‌اند. پلی مورفیسم‌های XRCC1 ممکن است بر فعالیت پروتئین-ترمیم DNA- تأثیر بگذارند و بدین وسیله در استعداد ابتلا به سرطان در انسان مؤثر باشد. مطالعات اپیدمیولوژی در خصوص تأثیر پلی مورفیسم Arg399Gln بر خطر ابتلا به سرطان نتایج متفاوتی را در جمعیت‌های متفاوت به همراه داشته است. برای مثال، مطالعه‌ی Xing و همکاران دال بر کاهش خطر سرطان سر و گردن با این پلی مورفیسم بود (OR = ۰/۶، درصد CI = ۱/۱-۰/۴) (۱۱). در حالی که برخی مطالعات دیگر نشان داد که این واریانت ژن، سبب افزایش خطر ابتلا به کارسینومای پانکراسی (۱۲) و سرطان سینه (۱۳) می‌شود.

در این مطالعه، برای اولین بار، ارتباط پلی مورفیسم SNP یا (Single-nucleotide polymorphism) با مشخصه‌ی rs25487 که در آن باز A جایگزین باز G (>A، g. ۲۹۰۰۵، >A c. ۱۱۹۶G) یا Arg399Gln) شده است، با استعداد ابتلا به سرطان ریه از نوع NSCLC در جمعیت ایرانی مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

نمونه‌گیری: در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی (Case-control)، نمونه‌ی خون ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان ریه از نوع NSCLC که بیماری آن‌ها مورد تأیید متخصصین ریه و انکولوژی بیمارستان شهید فقیهی شیراز قرار گرفته بود و نیز ۱۰۰ فرد سالم که برای اهدای خون

یافته‌ها

توزیع سنی نمونه‌ها: در این مطالعه، ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه (۸۰ مرد و ۲۰ زن) با میانگین سنی $64/78 \pm 12/13$ سال و ۱۰۰ نفر سالم (۵۸ مرد و ۴۲ زن) با میانگین سنی $53/12 \pm 15/00$ سال مشارکت داشتند.

فراوانی ژنوتیپی و اللی نمونه‌ها: با استفاده از الگوی الکتروفورزی محصولات PCR روی ژل، فراوانی ژنوتیپ‌های GG (Arg/Arg)، GA (Arg/Gln) و AA (Gln/Gln) در این پلی‌مورفیسم به ترتیب در بین افراد بیمار برابر با ۰/۳۲ (۳۲ نفر)، ۰/۵۵ (۵۵ نفر) و ۰/۱۳ (۱۳ نفر) و در بین افراد سالم به ترتیب برابر با ۰/۳۹ (۳۹ نفر)، ۰/۵۲ (۵۲ نفر) و ۰/۰۹ (۹ نفر) بود. بر اساس فراوانی‌های ژنوتیپی، فراوانی اللی G (Arg) (۳۹۹) و A (Gln) (۳۹۹) در بین افراد بیمار به ترتیب برابر با ۰/۵۹۵ و ۰/۴۰۵ و در بین افراد سالم به ترتیب برابر با ۰/۶۵ و ۰/۳۵ تخمین زده شد. نتایج نشان داد فراوانی ژنوتیپی در دو نمونه‌ی مورد ($P = 0/370$ و شاهد ($P = 0/360$) در تعادل Hardy-Weinberg قرار دارد.

بررسی همبستگی پلی‌مورفیسم Arg399Gln در ژن XRCC1 با استعداد ابتلا به سرطان ریه‌ی NSCLC: این بررسی در کل دو نمونه‌ی مورد و شاهد و بر اساس جنسیت و نیز سن افراد انجام گردید (جدول ۱).

در هر تقسیم‌بندی، دو مدل وراثتی غالب و مغلوب مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه‌ی آماری در هر کدام از آنها تعیین گردید. نتایج به دست آمده از مقایسه‌ی فراوانی‌های اللی و ژنوتیپی برای پلی‌مورفیسم Arg399Gln در دو نمونه‌ی مورد و شاهد نشان داد که این پلی‌مورفیسم نه در سطح اللی ($P = 0/303$) و نه در سطح ژنوتیپی ($P = 0/472$) ارتباط معنی‌داری با استعداد ابتلا به بیماری سرطان ریه ندارد. این عدم ارتباط در دو مدل توارثی غالب و مغلوب نیز مورد تأیید قرار گرفت (جدول ۱).



شکل ۱. الکتروفورز محصول PCR) ۸ فرد بیمار برای تعیین ژنوتیپ آنها نسبت به پلی‌مورفیسم rs252457 در ژن XRCC1. چاهک شماره‌ی ۳، اندازه‌ی نمای DNA (50 bp ladder) و چاهک شماره‌ی ۷ شاهد منفی می‌باشد.

آنالیز آماری: برای بررسی تعادل Hardy-Weinberg (HWE یا Hardy-Weinberg equilibrium) در فراوانی‌های اللی و ژنوتیپی و نیز خصوصیات کلی بین افراد مبتلا به سرطان ریه‌ی NSCLC و افراد سالم از آزمون χ^2 استفاده شد. نسبت‌های odd (ORs) و فواصل اطمینان ۹۵ درصد (95% CI) بر مبنای رگرسیون لجستیک غیر شرطی (Unconditional logistic regression) برای بررسی همبستگی احتمالی بین واریانت‌های ژن XRCC1 و خطر ابتلا به سرطان ریه مورد استفاده قرار گرفت. $P < 0/050$ به عنوان سطح معنی‌داری آماری تعیین شد. واکاوی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۵ (version 15, SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) انجام گردید.

جدول ۱. فراوانی اللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم Arg XRCC1³⁹⁹Gln در گروه‌های مورد و شاهد و همبستگی آن با استعداد ابتلا به سرطان

مقدار P	OR* (%95CI)	شاهد		ژنوتیپ	متغیر
		مورد	تعداد		
۰/۳۰۳	۱/۰۰ (۰/۸۴-۱/۹۰)	۱۱۹	۱۳۰	G allele	تعداد الی‌ها
		۸۱	۷۰	A allele	
۰/۴۷۲	۱/۰۰ (۰/۷۱-۲/۳۵)	۳۲	۳۹	GG	تعداد ژنوتیپ‌ها
		۵۵	۵۲	AG	
		۱۳	۹	AA	
۰/۴۹۸	۰/۶۶ (۰/۲۷-۱/۶۳)	۵۸	۹۱	GG + AG	مدل وراثتی غالب
۰/۳۷۵	۱/۳۵ (۰/۷۶-۲/۴۳)	۶۸	۶۱	AA + AG	مدل وراثتی مغلوب

* مواردی که از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($P < 0/050$)، به صورت پررنگ نشان داده شده است.

جدول ۲. فراوانی الی و ژنوتیپی پلی مورفیسم XRCC1 Arg399Gln بر حسب جنس و سن افراد مبتلا به سرطان ریهی Non-small cell lung cancer (NSCLC) و همبستگی آن با استعداد ابتلا به سرطان ریه

متغیر	مدل وراثتی	ژنوتیپ	سالیم (تعداد)	بیمار (تعداد)	OR* (CI 95%)	مقدار P
جنسیت		G allele	۷۷	۹۵	۱/۰۰	۰/۲۵۸
		A allele	۳۹	۶۵	۱/۳۵ (۰/۸۲۱-۲/۲۲)	
مذکر		GG	۲۰	۲۶	۱/۰۰	۰/۰۴۴
		AG	۳۷	۴۳	۰/۸۹ (۰/۴۳-۱/۸۶)	
		AA	۱	۱۱	۸/۴۶ (۱/۰۱-۷۱/۰۰)	
		GG + AG	۵۷	۶۹	۰/۱۱ (۰/۰۱-۰/۸۸)	۰/۰۱۴
مؤنث	غالب	AA + AG	۳۸	۵۴	۱/۰۹ (۰/۵۳-۲/۲۳)	۰/۸۶۰
		G allele	۵۳	۲۴	۱/۰۰	۰/۸۵۶
سن (سال) ≥ 55		A allele	۳۱	۱۶	۱/۱۴ (۰/۵۳-۲/۴۸)	۰/۱۹۲
		GG	۱۹	۶	۱/۰۰	
		AG	۱۵	۱۲	۲/۵۳ (۰/۷۷-۸/۳۴)	
		AA	۸	۲	۰/۷۹ (۰/۱۳-۴/۷۹)	
		GG + AG	۳۴	۱۸	۲/۱۲ (۰/۴-۱۱/۰۴)	
		AA + AG	۲۳	۱۴	۱/۹۲ (۰/۶۲-۵/۹۸)	
		G allele	۶۰	۲۴	۱/۰۰	۰/۷۰۰
		A allele	۳۴	۱۶	۱/۱۸ (۰/۵۵-۲/۵۱)	
سن (سال) < 55		GG	۲۰	۷	۱/۰۰	۰/۸۳۱
		AG	۲۰	۱۰	۱/۴۲ (۰/۴۵-۴/۵۰)	
		AA	۷	۳	۱/۲۲ (۰/۲۵-۶/۰۸)	
		GG + AG	۴۰	۲۷	۰/۲۷ (۰/۰۶-۱/۳۱)	۰/۱۲۳
مذکر	مغلوب	AA + AG	۲۷	۱۳	۱/۳۸ (۰/۴۶-۴/۰۷)	۰/۶۰۰
		G allele	۷۰	۹۵	۱/۰۰	۰/۳۰۳
مؤنث		A allele	۳۶	۶۵	۱/۳۳ (۰/۸۰-۲/۲۲)	۰/۲۲۴
		GG	۱۹	۲۵	۱/۰۰	
		AG	۳۲	۴۵	۱/۰۷ (۰/۵۱-۲/۲۶)	
		AA	۲	۱۰	۳/۰۸ (۰/۷۴-۱۹/۴۱)	۰/۱۲۳
مذکر	غالب	GG + AG	۵۱	۷۰	۰/۲۷ (۰/۰۶-۱/۳۱)	۰/۷۰۶
		AA + AG	۳۴	۵۵	۱/۲۳ (۰/۵۹-۲/۵۶)	

* مواردی که از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار بودند ($P < 0/050$)، به صورت پررنگ نشان داده شده است.

افراد مذکر گروه شاهد تنها ۲ درصد بود. این تفاوت، سبب تفاوت در مدل توارثی غالب در دو گروه بیمار و سالم گردید ($P = 0/014$) (جدول ۲). در مورد افراد مؤنث، افراد بالای ۵۵ سال و پایین ۵۵ سال، هیچ گونه تفاوتی در خصوص توزیع پلی مورفیسم Arg399Gln در بین دو گروه مورد و شاهد دیده نشد (جدول ۲).

بحث

سرطان ریه و بسیاری از سرطان‌های دیگر ناشی از تجمع آسیب‌های ماده‌ی ژنتیکی در انسان است. آسیب‌های وارده بر DNA در بسیاری

با وجود این، آنالیز تأثیر پلی مورفیسم Arg399Gln در دو جنس مذکر و مؤنث در دو گروه مورد و شاهد نشان داد که این پلی مورفیسم در افراد مذکر در دو گروه مورد و شاهد از نظر آماری توزیع یکسانی نداشت ($P = 0/044$).

به عبارت دیگر، این پلی مورفیسم با استعداد ابتلا به بیماری در مردان مرتبط است. این در حالی است که در افراد مؤنث چنین تفاوتی ملاحظه نمی‌شود ($P = 0/192$) (جدول ۲). عمده‌ی این تفاوت در ژنوتیپ AA مشاهده شد؛ به طوری که ۱۴ درصد افراد مذکر گروه مورد دارای ژنوتیپ AA بودند، در حالی که این مقدار در

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که به طور کلی، پلی‌مورفیسم Arg³⁹⁹Gln (c.1196G>A) بر خطر ابتلا به سرطان ریه تأثیری ندارد (جدول ۱)، اما مرتب کردن داده‌ها بر حسب جنس و سن، مؤید آن بود که در گروه مردان، افرادی که دارای ژنوتیپ Gln/Gln (A/A) هستند، نزدیک به ۸/۵ برابر بیشتر در معرض سرطان ریه از نوع NSCLC قرار دارند (P = ۰/۰۴۴، CI = ۱/۰۱-۷۱/۰۰، ۹۵ درصد، OR = ۸/۴۶) (جدول ۲). این نتیجه با یافته‌های مطالعه‌ی Natukula و همکاران همسو است؛ آنان بیان داشتند که ژنوتیپ AA سبب افزایش خطر ابتلا به سرطان ریه (OR = ۰/۳۳، P = ۰/۰۳۰) در مردان می‌شود (۲۳).

همچنین، افرادی که دارای یکی از ال‌های G بودند (مجموع افراد GG و AG) در برابر ابتلا به این نوع سرطان دارای نوعی محافظت شدگی بودند (P = ۰/۱۴۰، CI = ۰/۰۱-۰/۸۸، ۹۵ درصد، OR = ۰/۱۱)؛ البته این نتایج بر خلاف نتایج مطالعه‌ی Ke و همکاران بود که اعلام کردند افراد چینی با ژنوتیپ Gln/Gln دارای خطر پائینی برای ابتلا به سرطان NSCLC هستند (۲۴). گروه‌های دیگری نیز اعلام کردند که این پلی‌مورفیسم، هیچ گونه تأثیری بر خطر ابتلا به سرطان ریه ندارد. برای مثال، Improt و همکاران، در مطالعه‌ای بر روی جمعیت جنوب ایتالیا (۲۵) و نیز Lopez-Cima و همکاران در مطالعه‌ای روی جمعیت شمال ایتالیا (۲۶) اعلام کردند که پلی‌مورفیسم Arg³⁹⁹Gln تأثیری بر سرطان ریه ندارد.

با توجه به یافته‌های پیش‌گفته، تفاوت‌های مشاهده شده بین این مطالعه با مطالعات دیگر می‌تواند به دلایلی نظیر تفاوت در تعداد نمونه‌ها و تفاوت ژنتیکی در بین گروه‌های مختلف جمعیتی و نژادی باشد. برای مثال، افراد سیاه پوست نسبت به افراد سفید پوست دارای نرخ بالاتری از ابتلا به سرطان و یا مرگ ناشی از آن هستند؛ به طوری که سرطان ریه، دومین سرطان شایع در زنان و مردان سیاه پوست است (۲۷).

نتیجه‌ی نهایی این که با توجه به یافته‌ی این مطالعه، می‌توان گفت پلی‌مورفیسم Arg³⁹⁹Gln می‌تواند برای افراد مذکر استان فارس به عنوان یک نشانگر زیستی مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، حاصل بخشی از نتایج پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد ژنتیک در دانشگاه خوارزمی می‌باشد. بدین وسیله، نویسندگان از تمامی افراد شرکت‌کننده در این پژوهش به ویژه کمک‌های صمیمانه‌ی آقای مهیار ملک‌زاده از همکاران مرکز تحقیقات سرطان شیراز در تأمین نمونه‌های خون، DNA و اطلاعات پزشکی این مطالعه تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

از موارد با استفاده از سیستم‌های ترمیمی، تصحیح می‌شوند، اما در صورت ازدیاد این آسیب‌ها و یا اختلال در سیستم‌های ترمیمی، صدمات وارده بر DNA تجمع می‌یابد و در نهایت، ممکن است سبب اختلال در فعالیت ترمیمی این پروتئین و تجمع آسیب‌های وارده به DNA و در نهایت سبب افزایش خطر ابتلا به سرطان شود. ژن XRCC1 یکی از ژن‌هایی است که نقش آن در سیستم‌های ترمیمی DNA از جمله BER و SSBR مشخص شده (۸، ۶) و روی بازوی بلند کروموزوم ۱۹ در موقعیت q13 (۱۹q۱۳) نقشه‌یابی شده است (۱۴). اهمیت نقش XRCC1 در ترمیم SSB هنگامی بیشتر آشکار شد که جهش در این ژن سبب حساسیت فزاینده‌ی سلول‌ها به دامنه‌ی وسیعی از ترکیبات ژنوتوکسین و نیز افزایش فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی، حذف‌های ژنتیک و تبادلات کروماتیدهای خواهری گردید (۹-۷). البته، نقش همه‌ی جهش‌ها روی فعالیت محصول ژن XRCC1 یکسان نیست و بررسی تأثیر تک تک جهش‌های یافت شده در این ژن، از سال‌ها پیش در دستور کار محققین علوم زیستی و پزشکی قرار داشته است. به علت فعالیت ترمیمی ژن XRCC1 اختلال در عملکرد این ژن، ابتلا به سرطان‌های متعددی را افزایش می‌دهد.

در این مطالعه، فراوانی ژنوتیپ Gln/Gln (A/A) و ال Arg³⁹⁹Gln (با A) در ژن XRCC1 در نمونه‌ی افراد سالم به ترتیب ۰/۰۹ و ۰/۳۵ به دست آمد که به طور قابل ملاحظه‌ای با فراوانی آن‌ها در جمعیت چین همخوانی و در جمعیت اروپایی تفاوت داشت. در سه مطالعه‌ی انجام شده در جمعیت چین، فراوانی ژنوتیپ A/A به ترتیب برابر با ۰/۰۶، ۰/۰۷۸، (۱۵) و ۰/۰۷۱ (۱۷) گزارش شده بود. مقادیر فراوانی ژنوتیپی الی در جمعیت اروپایی ۰/۳۴ و ۰/۱۱ گزارش شده بود (۱۸).

ارتباط پلی‌مورفیسم Arg³⁹⁹Gln با برخی از سرطان‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. در برخی از جمعیت‌ها و نیز در برخی از سرطان‌ها، ارتباط معنی‌داری بین این پلی‌مورفیسم و خطر ابتلا به سرطان مشاهده نشده است. برای مثال، مطالعه‌ی Li و همکاران در خصوص سرطان سر و گردن در جمعیت امریکای لاتین (۱۹) و نیز مطالعه‌ی Al Mutairi و همکاران در خصوص سرطان سینه در عربستان (۲۰)، نشان داد که این پلی‌مورفیسم ارتباط معنی‌داری با این دو سرطان ندارد. با این حال، مطالعات Khan و همکاران در جمعیت کشمیر نشان داد که پلی‌مورفیسم Arg³⁹⁹Gln بر سرطان کلورکتال تأثیر دارد؛ به طوری که ال Arg³⁹⁹Gln (ال A) نقش محافظتی در برابر این نوع از سرطان ایفا می‌کند (۲۱). همچنین، در مطالعه‌ی دیگری نشان داده شده است که ال A، سبب افزایش خطر ابتلا به سرطان گاستریک می‌شود (OR = ۲/۹۴، CI = ۱/۴-۶/۱۸، ۹۵ درصد، ۲۲).

References

1. Dela Cruz CS, Tanoue LT, Matthay RA. Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clin Chest Med* 2011; 32(4): 605-44.
2. Hosseini M, Naghan PA, Karimi S, SeyedAlinaghi S, Bahadori M, Khodadad K, et al. Environmental risk factors for lung cancer in Iran: a case-control study. *Int J Epidemiol* 2009; 38(4): 989-96.
3. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61(2): 69-90.
4. Bernstein C, Bernstein H, Payne CM, Garewal H. DNA repair/pro-apoptotic dual-role proteins in five major DNA repair pathways: fail-safe protection against carcinogenesis. *Mutat Res* 2002; 511(2): 145-78.
5. Vidal AE, Boiteux S, Hickson ID, Radicella JP. XRCC1 coordinates the initial and late stages of DNA abasic site repair through protein-protein interactions. *EMBO J* 2001; 20(22): 6530-9.
6. Lu AL, Li X, Gu Y, Wright PM, Chang DY. Repair of oxidative DNA damage: mechanisms and functions. *Cell Biochem Biophys* 2001; 35(2): 141-70.
7. Op het Veld CW, Jansen J, Zdzienicka MZ, Vrieling H, van Zeeland AA. Methyl methanesulfonate-induced hprt mutation spectra in the Chinese hamster cell line CHO9 and its xrcc1-deficient derivative EM-C11. *Mutat Res* 1998; 398(1-2): 83-92.
8. Thompson LH, Brookman KW, Dillehay LE, Carrano AV, Mazrimas JA, Mooney CL, et al. A CHO-cell strain having hypersensitivity to mutagens, a defect in DNA strand-break repair, and an extraordinary baseline frequency of sister-chromatid exchange. *Mutat Res* 1982; 95(2-3): 427-40.
9. Zdzienicka MZ, van der Schans GP, Natarajan AT, Thompson LH, Neuteboom I, Simons JW. A Chinese hamster ovary cell mutant (EM-C11) with sensitivity to simple alkylating agents and a very high level of sister chromatid exchanges. *Mutagenesis* 1992; 7(4): 265-9.
10. Almeida KH, Sobol RW. A unified view of base excision repair: lesion-dependent protein complexes regulated by post-translational modification. *DNA Repair (Amst)* 2007; 6(6): 695-711.
11. Xing D, Qi J, Miao X, Lu W, Tan W, Lin D. Polymorphisms of DNA repair genes XRCC1 and XPD and their associations with risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *Int J Cancer* 2002; 100(5): 600-5.
12. Duell EJ, Holly EA, Bracci PM, Wiencke JK, Kelsey KT. A population-based study of the Arg399Gln polymorphism in X-ray repair cross-complementing group 1 (XRCC1) and risk of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 2002; 62(16): 4630-6.
13. Chacko P, Rajan B, Joseph T, Mathew BS, Pillai MR. Polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 and increased genetic susceptibility to breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 89(1): 15-21.
14. Lamerdin JE, Montgomery MA, Stilwagen SA, Scheidecker LK, Tebbs RS, Brookman KW, et al. Genomic sequence comparison of the human and mouse XRCC1 DNA repair gene regions. *Genomics* 1995; 25(2): 547-54.
15. Cao Y, Miao XP, Huang MY, Deng L, Hu LF, Ernberg I, et al. Polymorphisms of XRCC1 genes and risk of nasopharyngeal carcinoma in the Cantonese population. *BMC Cancer* 2006; 6: 167.
16. Shen H, Xu Y, Qian Y, Yu R, Qin Y, Zhou L, et al. Polymorphisms of the DNA repair gene XRCC1 and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Int J Cancer* 2000; 88(4): 601-6.
17. Chen S, Tang D, Xue K, Xu L, Ma G, Hsu Y, et al. DNA repair gene XRCC1 and XPD polymorphisms and risk of lung cancer in a Chinese population. *Carcinogenesis* 2002; 23(8): 1321-5.
18. Zhou W, Liu G, Miller DP, Thurston SW, Xu LL, Wain JC, et al. Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and ERCC2, smoking, and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12(4): 359-65.
19. Li C, Hu Z, Lu J, Liu Z, Wang LE, El-Naggar AK, et al. Genetic polymorphisms in DNA base-excision repair genes ADPR1, XRCC1, and APE1 and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 2007; 110(4): 867-75.
20. Al Mutairi FM, Alanazi M, Shalaby M, Alabdulkarim HA, Pathan AA, Parine NR. Association of XRCC1 gene polymorphisms with breast cancer susceptibility in Saudi patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(6): 3809-13.
21. Khan NP, Pandith AA, Yousuf A, Khan NS, Khan MS, Bhat IA, et al. The XRCC1 Arg399Gln gene polymorphism and risk of colorectal cancer: a study in Kashmir. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(11): 6779-82.
22. Halim NH, Chong ET, Goh LP, Chuah JA, See EU, Chua KH, et al. Variant Alleles in XRCC1 Arg194Trp and Arg399Gln Polymorphisms Increase Risk of Gastrointestinal Cancer in Sabah, North Borneo. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016; 17(4): 1925-31.
23. Natukula K, Jamil K, Pingali UR, Attili VS, Madireddy UR. The codon 399 Arg/Gln XRCC1 polymorphism is associated with lung cancer in Indians. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(9): 5275-9.
24. Ke HG, Li J, Shen Y, You QS, Yan Y, Dong HX, et al. Prognostic significance of GSTP1, XRCC1 and XRCC3 polymorphisms in non-small cell lung cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(9): 4413-6.
25. Improta G, Sgambato A, Bianchino G, Zupa A, Grieco V, La TG, et al. Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 and risk of lung and colorectal cancer: a case-control study in a Southern Italian population. *Anticancer Res* 2008; 28(5B): 2941-6.
26. Lopez-Cima MF, Gonzalez-Arriaga P, Garcia-Castro L, Pascual T, Marron MG, Puente XS, et al. Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of northern Spain. *BMC Cancer* 2007; 7: 162.
27. Jemal A, Center MM, Ward E. The convergence of lung cancer rates between blacks and whites under the age of 40, United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(12): 3349-52.

Prognostic Importance of Polymorphisms in DNA-Repair Gene (XRCC1 Arg399Gln) in Patients with Lung Cancer in Fars Province, Iran

Fahimeh Hamed¹, Mohammad Tahmaseb², Abbas Ghadri³

Original Article

Abstract

Background: Genetic polymorphisms in DNA-repair genes may increase the risk of developing cancer due to reducing the DNA-repair capacity. XRCC1 is one of the important genes in DNA repair. This study was designed to examine the polymorphisms associated with XRCC1 Arg399Gln and to investigate its role as susceptibility marker for non-small cell lung cancer (NSCLC) in population of Fars province, Iran.

Methods: In this case-control study, extracted DNA from 100 healthy controls and 100 patient of lung cancer were used to examine the role of XRCC1 Arg399Gln polymorphism in context of non-small cell lung cancer in population of Fars province in Iran. Amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) technique was used for determining of individuals' genotyping.

Findings: Our data showed a strong association between Gln/Gln (A/A) genotype and risk of developing non-small cell lung cancer in men. Moreover, men with at least one A allele (AA+ AG) showed reduced risk of developing non-small cell lung cancer. No such an associations were found in subgroups of women or when samples were divided based on their ages.

Conclusion: According to our results, although there was no significant association between XRCC1 Arg399Gln polymorphism and developing of lung cancer in population, men with Gln/Gln genotype were in high risk of developing non-small cell lung cancer in Fars province, Iran. Therefore, Gln/Gln polymorphism could be used as a biomarker for screening men at high risk of lung cancer.

Keywords: XRCC1, Arg399Gln polymorphism, Amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR), Non-small cell lung cancer (NSCLC)

Citation: Hamed F, Tahmaseb M, Ghadri A. Prognostic Importance of Polymorphisms in DNA-Repair Gene (XRCC1 Arg399Gln) in Patients with Lung Cancer in Fars Province, Iran. J Isfahan Med Sch 2016; 34(403): 1244-50.

1- MSc Student, Department of Cell and Molecular Sciences, School of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Department of Cell and Molecular Sciences, School of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

3- Professor, Institute for Cancer Research, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Corresponding Author: Mohammad Tahmaseb, Email: tahmaseb@khu.ac.ir