بررسی پیوستگی پیاپی بودن پلی AT ژن XPC در بیماران دچار بدخیمی پستان

معصومه قاسم‌زاده قزوینی (MSc)[1]- *دکتر زیور صالحی (MD, PhD)[1]- دکتر حمید سعیدی ساعدی (MD)[2]

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

پست الکترونیک: geneticzs@yahoo.co.uk

تاریخ دریافت مقاله:۹۳/۱۰/۲٤ تاریخ ارسال:۹٤/۰۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹٤/۰۷/۰۹

چکیده

مقدمه: سرطان پستان افزون شدن بدخیم سلول‌های اپی‌تلیالی مجاری یا لوب‌های پستان است. انباشتگی آسیب‌های DNA به‌عنوان عاملی مهم در بروز سرطان پستان است. یکی از مهم‌ترین سازوکارهای دفاعی، راه بازسازی برداشت نوکلئوتیدی (NER) است. آشفتگی در بیان ژن‌های ترمیم DNA نقش مهمی در سرطان‌زایی پستان ایفا می‌کند. XPC(Xeroderma pigmentosum, complementation group C) ژنی مهم در مسیر NER است که به شناسایی آسیب در DNA می‌پردازد. توالی پلی AT (PAT) یکی از بخش‌های پلی‌مورف مهم در این ژن است.

هدف: بررسی پیوستگی پلی‌مورفیسم PAT ژن XPC با سرطان پستان

مواد و روش‌ها: در این بررسی مورد- شاهدی، ۷۹ نمونه سرطانی و ۱۲۰ نمونه سالم ارزیابی شدند. ژنوتیپ‌های گوناگون پلی‌مورفیسمPAT ژن XPC، با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) تعیین شد و آنالیز آماری با نرم‌افزار MedCalc (نسخه ۱۲/۱) صورت گرفت.

نتایج: در نمونه‌های سرطانی، پراکنش ژنوتیپی -/-PAT، +/-PAT و +/+PAT به ترتیب ٦٦٪، ۱۰٪ و ۲٤٪ و در گروه کنترل، توزیع ژنوتیپی -/-PAT، +/-PAT و +/+PAT به ترتیب ۷۱٪، ۱۹٪ و ۱۰٪ بود. فراوانی‌های ژنوتیپی تفاوت معنی‌داری بین دو گروه نشان داد (P=۰/۰۱). فراوانی الل +PAT به‌طور چشمگیر در گروه بیمار (۰/۳۰) نسبت به گروه کنترل (۰/۲۰) بیشتر بود (P=۰/۰۲).

نتیجه‌گیری: شاید پلی‌مورفیسم توالی پلیAT ژن XPC عامل ژنتیکی آماده‌کننده ابتلای به سرطان پستان در جمعیت بوده است. با این وجود برای تعیین نقش این پلی‌مورفیسم ژن XPC در سرطان پستان جمعیت بزرگ‌تری مورد نیاز است.

کلید واژه‌ها: اگزودرما پیگمانتوزم/ پلی مورفیسم ژنتیک/ سرطان‌های پستان

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و پنجم، شماره ۹۷، صفحات: ۲۸-۲۰

مقدمه

سرطان پستان دومین علت مرگ‌ومیر ناشی از سرطان، پس از سرطان ریه در زنان شمرده می‌شود(۱). سرطان پستان رشد و افزایش نابهنجار سلول‌های گوناگون پستان مانند مجاری انتقال شیر، غده‌های تولیدکننده شیر و بافت‌های غیرغده‌ای پستان است. بیشتر این کارسینوم‌ها از سلول‌های ماهیچه‌ای- پوششی مجاری شیری سرچشمه می‌گیرند(۲). کارسینومای پستان به دو گروه درجا (insitu) و مهاجم (invasive) بخش می‌شود. در نوع در جا سلول‌های توموری تنها در مجاری یا لوبول‌ها وجود دارند، در حالی‌که در نوع مهاجم سلول‌های توموری به استرومای پیرامون تاخته که منجر به متاستاز و در پایان مرگ بیمار می‌شود (۳). سن پیدایش سرطان پستان بیشتر ٦۰-٤۰ ساله می‌باشد (٤). شیوع و میزان مرگ‌ومیر در اثر سرطان پستان در نژادها و مناطق جغرافیایی گوناگون متفاوت است به‌طوری‌که خطر ابتلای زنان آسیایی به سرطان پستان یک پنجم تا یک دهم زنان آمریکای شمالی و اروپایی است. این بیماری در مناطق گوناگون جهان متفاوت است (۵). در ایران سرطان پستان به‌عنوان شایع‌ترین سرطان در زنان گزارش شده‌است، به‌طوری‌که این بیماری ۲۱/٤٪ از بدخیمی‌ها را در زنان تشکیل داده و بدبختانه سن شیوع این بیماری رو به کاهش است(٦).

سرطان پستان در اثر عوامل ژنتیکی و محیطی متعددی رخ می‌دهد. از عوامل محیطی مهم می‌توان به چاقی پس از یائسگی، مصرف الکل، رژیم غذایی و برانگیختگی هورمونی اشاره کرد (۷). زمینه ژنتیکی نیز در بروز سرطان پستان نقش درخوری دارد، به‌طوری‌که جهش‌ها و پلی‌مورفیسم ژنی با اثر بر بیان ژن یا تغییر در کارکرد پروتئین باعث بروز این بیماری می‌شوند(۸). با توجه به رخداد جهش‌های ژنومی وجود سیستم ترمیمی مناسب در بدن بایسته است. راه برداشت

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲. گروه رادیوتراپی و انکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

نوکلئوتیدی (NER) یکی از این راه‌های بازسازی است که با خارج کردن بخش آسیب دیده به درست کردن ژنوم می‌پردازد (۹). اپی‌تلیوم بافت پستان نسبت به سایر بافت‌ها به‌طور طبیعی سیستم ترمیم شکست دو رشته‌ای (DSBs) کم‌تری دارد. بنابراین، کاستی در این راه‌های بازسازی DNA می‌تواند در پیشبرد سرطان پستان موثر باشد (۱۰). عملکرد مهم این مسیر، نگاهداشت ژنوم در برابر آسیب‌های وارده است که این فرایند منجر به ترمیم ژنوم یا آپوپتوز می‌شود (۱۱). ژن *XPC* که در جایگاه 3p25 جایگزین شده‌است یکی از ژن‌های مهم در مسیر NER است. کارکرد مناسب سیستم NER وابسته به پیوستن *XPC* در جهت درست خود است(۱۲). این ژن دربردارنده ۱۶ اگزون و ۱۵ اینترون است و پروتئینی با ۹۴۰ اسید آمینه کد می‌کند (۱۳). ژن *XPC* کم و بیش در همه بافت‌ها بیان می‌شود ولی در بافت‌هایی که سرعت تکثیری بالایی دارند مانند پوست، روده، کبد، پستان، بیضه و تخمدان سطح بیان بالاتری نسبت به سایر بافت‌ها نشان می‌دهند. بنابراین، تغییر در بیان این ژن به‌عنوان عامل خطرساز برای ایجاد سرطان در نظر گرفته شده‌است (۱۴).*XPC* نقش بسیار مهمی در مرحله نخست GG-NER در شناسایی ناحیه آسیب دیده، شکل‌دهی کمپلکس باز و شکل‌دهی کمپلکس ترمیمی پروتئینی ایفا می‌کند (۱۵). هنگام آسیب در مولکول DNA گردهم‌آیی نوکلئوزوم اختلال یافته و در نتیجه *XPC* به‌عنوان عاملی شناساگر آغاز به واکنش ترمیمی می‌کند (۱۶). از مهم‌ترین عملکردهای پروتئین *XPC* می‌توان به ترمیم آسیب‌های DNA، پایداری mRNA و کنترل چرخه سلولی اشاره کرد (۱۷). *XPC*، ژنی پلی‌مورف است که ۶۸۷ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) از آن گزارش شده‌است (۱۸). پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی ژن *XPC* در ایجاد زمینه ژنتیکی مناسب برای ابتلای به بیماری‌هایی مانند سرطان کولورکتال، پوست و مری دخیلند (۱۹-۲۱). پلی‌مورفیسم دو آللی Insertion/Deletion بنام توالی پلی ATیا (PAT) در اینترون شماره ۹ ژن *XPC* گزارش شده‌است. این پلی‌مورفیسم شامل وارد شدن ۸۳ باز A و T و زدایش ۵ باز (GTAAC) در موقعیت ۱۴۶۱-۱۴۵۷ در اینترون شماره ۹ می‌باشد، که شاید توان تغییر فعالیت ژنی و در نتیجه تغییر توانایی ترمیم DNA را داشته باشد. پیشنهاد شده حاملان +/+PAT نسبت به افراد با ژنوتیپ -/-PAT توان ترمیم DNA کم‌تری دارند (۲۲). گفتنی است که گر چه سبب‌شناسی سرطان پستان هنوز به درستی شناخته نشده (۲۳)، اما نقش ژن‌های ترمیم‌کننده DNA به‌عنوان عامل خطرآفرین در بروز این بیماری روشن شده‌است (۲۴). چون ژن *XPC* یکی از ژن‌هایی است که در بافت پستان بیان بالایی دارد (۱۴) دور از انتظار نیست که نقص عملکرد پروتئین یا تغییر بیان پلی‌مورفیسم‌های این ژن با بر هم زدن نقش ترمیمی DNA سلول‌های آسیب دیده در بروز این بیماری موثر باشند. پس، با توجه به اهمیت پلی‌مورفیسم PAT در اینترون شماره ۹ ژن *XPC*، و درستی و سلامت مسیر NER در تکثیر طبیعی سلول، هدف این مطالعه بررسی پلی‌مورفیسم PAT ژن *XPC* در بیماران سرطان پستان مراجعه‌کننده به بیمارستان رازی شهر رشت بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: در این مطالعه مورد- شاهدی ۷۹ بیمار دچار سرطان پستان مراجعه‌کننده به بیمارستان رازی شهر رشت و ۱۲۰ فرد سالم بررسی شدند. گروه کنترل از نظر گستره سنی و جنس با گروه بیمار یکسان بودند و پیشینه خانوادگی مثبت از نظر سرطان پستان در بستگان درجه اول آنها وجود نداشت. افزون بر آن افراد کنترل در دست‌کم ۳ ماه گذشته ماموگرافی طبیعی داشتند. آزمایش نمونه خون از افراد سالم و بیمار از شهریور ۱۳۹۲ تا اسفند ۱۳۹۲ طول کشید. از همه افراد ۱ میلی‌لیتر خون وریدی تهیه و در لوله حاوی EDTA گردآوری و بی‌درنگ به آزمایشگاه ژنتیک دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان منتقل شد.

استخراج DNA: استخراج DNA از لکوسیت‌های خون با کیت استخراج Gpp solution (ژن پژوهان، ایران) انجام شد. کیفیت DNA استخراج شده توسط الکتروفورز افقی با ژل آگارز ۱٪ و سپس عکسبرداری توسط سیستم Gel Documentation (شرکت بیو راد) ارزیابی شد. DNA به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد برده‌شد و به‌عنوان الگو در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) استفاده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز: برای بررسی پلی‌مورفیسم توالی پلی AT، از PCR بکار رفت. بدین منظور یک جفت پرایمر ویژه با نرم‌افزار Oligo (,Molecular Biology Insights version 7.54 USA) نمودارسازی شد. توالی پرایمرهای رفت و برگشت به ترتیب به‌صورت ´5-GCTTTCTGTTTGATGTCGGT-3´ و ´5-TGAAATAAGCCAGTCACGATG-3´ بود. PCR به کمک دستگاه ترموسیکلر (شرکت بیوراد، کشور سنگاپور) و در میکروتیوپ‌های ۰/۲ میکرولیتری با حجم پایانی ۲۵ میکرولیتر شامل ۳۰ نانوگرم DNA الگو، 1x Taq Buffer DNA polymerase، ۱/۵ mM کلرید منیزیم، mM dNTPs ۰/۲، ۰/۵ µM از هر یک از پرایمرهای رفت، برگشت و۱/۵ واحد Taq DNA polymerase با غلظت $5U\ \mu l^{-1}$ (بیوفلوکس، ژاپن) برای تکثیر قطعه‌ی ۵۴۳ (در صورت ژنوتیپ -/-PAT) یا ۶۲۱ (در صورت ژنوتیپ +/+PAT) جفت بازی مربوط به جایگاه پلی‌مورفی نامبرده بکار رفت. شرایط PCR به‌صورت دناتوراسیون نخست در $94^{\circ}C$ به‌مدت ۵ دقیقه و پس از آن ۳۵ چرخه دمایی به‌صورت ۴۵ ثانیه در دمای $94^{\circ}C$، ۱ دقیقه در دمای $54^{\circ}C$، ۴۵ ثانیه در دمای $72^{\circ}C$ و گسترش نهایی در $72^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

تعیین ژنوتیپ: پس از تکثیر، برای بررسی فرآورده‌های PCR و همچنین تعیین ژنوتیپ، الکتروفورز افقی روی ژل آگارز ۲٪ و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید انجام شد.

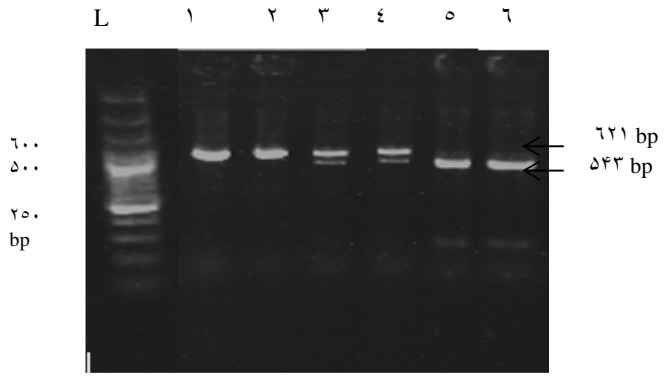
تحلیل‌های آماری: ارزش P با آزمون χ^2 محاسبه شد. آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار MedCalc (Version12.1, Mariakerke, Belgium) انجام شد. ارزش P<۰/۰۵ از لحاظ آماری، مقدار معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

از ۱۹۹ نمونه مطالعه شده، ۱۲۰ نمونه سالم به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند و گروه بیمار ۷۹ زن دچار سرطان پستان بودند. میانگین سنی در گروه بیمار ۵/۳ ±۴۷/۵ و در گروه کنترل ۲/۶±۵۱ سالگی بود. اختلاف معنی‌داری در مورد سن گروه بیمار و کنترل وجود نداشت. ویژگی‌های اساسی افراد مبتلا به سرطان پستان در جدول ۱ به‌صورت چکیده آورده شده‌است. کارسینومای مهاجم مجرایی (Invasive Ductal Carcinoma) شایع‌ترین نوع سرطان بود (۶۷٪). از نظر آسیب‌شناسی، بیشتر افراد در گام پیشرفته بیماری یعنی مرحله سوم و چهارم قرار داشتند (به‌ترتیب ۲۹/۴٪ و ۴۵/۵٪).

جدول۱. خصوصیات افراد مورد مطالعه

خصوصیات	بیماران (n=۷۹)	کنترل (n=۱۲۰)
	تعداد (٪)	تعداد (٪)
سن (سال)		
<۵۰	۴۰ (۵۰)	۵۶ (۴۶/۵)
۵۰-۶۰	۳۰ (۳۸)	۵۲ (۴۳/۵)
۶۰<	۹ (۱۲)	۱۲ (۱۰)
نوع		
کارسینوم مهاجم مجرایی	۵۳ (۶۷)	-
کارسینوم مهاجم لوبولی	۲۰ (۲۵)	-
نامشخص	۶ (۸)	
مرحله آسیب شناسی		
مرحله اول	۴ (۵)	
مرحله دوم	۱۰ (۱۲/۶)	-
مرحله سوم	۲۳ (۲۹/۴)	
مرحله چهارم	۳۶ (۴۵/۵)	
نامشخص	۶ (۷/۵)	



شکل ۱: ژل آگارز ۲٪ جهت بررسی محصولات PCR و اطمینان از تکثیر قطعه‌ی مورد نظر در پلی‌مورفیسم توالی پلی AT. L، DNA مارکر ۵۰ جفت‌بازی می‌باشد. ستون‌های ۱و۲ ژنوتیپ +/+PAT، ستون‌های ۳و٤ ژنوتیپ +/-PAT و ستون‌های ۵و٦ ژنوتیپ -PAT -/ است. قطعات ٦۲۱ و۵٤۳ جفت‌بازی با فلش مشخص شده‌است.

DNA ژنومی از تمامی نمونه‌های بیمار و کنترل با کامیابی برگرفته و روی ژل آگارز ۱٪ برده شد. برای بررسی محصول PCR حاوی پلی‌مورفیسم توالی پلی AT و تشخیص نوع ژنوتیپ و اطمینان از تکثیر قطعه‌ی ۵٤۳ یا ٦۲۱ جفت بازی، ژل آگارز ۲٪ بکار رفت(شکل ۱).

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپی و اللی پلی‌مورفیسم توالی پلی AT ژن *XPC*.

ژنوتیپ	بیماران تعداد (٪)	کنترل‌ها تعداد (٪)	OR (95% CI)	P-Value
PAT -/-	(۶۶) ۵۲	(۷۱) ۸۶	۱/۰۰ (Ref)	-
PAT -/+	۸ (۱۰)	۲۲ (۱۹)	۰/۶۰ (۰/۲۴-۱/۴۴)	۰/۲
PAT +/+	۱۹ (٪۲۴)	۱۲ (٪۱۰)	۲/۶۱ (۱/۱۷-۵/۸۳)	۰/۰۱
الل PAT	۰/۷۰	۰/۸۰	۱/۰۰ (Ref)	-
الل+ PAT	۰/۳۰	۰/۲۰	۱/۷ (۱/۰۸-۲/۷۷)	۰/۰۲

برای تعیین ریزبینانه درازای بخش‌ها از مارکر ۵۰ جفت بازی استفاده شد. ژنوتیپ -/-PAT، ناحیه درجی/ حذفی ندارد، بنابراین، پس از PCR، قطعه‌ای به طول ۵٤۳ جفت باز تکثیر می‌شد. ژنوتیپ هتروزیگوت +/-PAT، دو قطعه به طول‌های ۵٤۳ یا ٦۲۱ جفت بازی و ژنوتیپ حاوی ناحیه درجی/حذفی +/+PAT، قطعه‌ای به طول ٦۲۱ جفت باز را پس از PCR تکثیر کردند. از ۷۹ بیمار دچار سرطان پستان ۵۲ نفر (٦٦٪) ژنوتیپ -/-PAT، ۸ نفر (۱۰٪) ژنوتیپ +/-PAT و ۱۹ نفر (٢٤٪) ژنوتیپ +/+PAT داشتند و این میزان برای گروه کنترل چیدمان ۸٦ نفر (۷۱٪) برای -/-PAT، ۲۲ نفر (۱۹٪) برای +/-PAT و ۱۲ نفر (۱۰٪) برای +/+PAT داشت. پراکنش درصد فراوانی ژنوتیپی و اللی پلی‌مورفیسم توالی پلی

AT در دو گروه بیمار و کنترل در جدول ۲ آورده شده‌است. فراوان‌ترین ژنوتیپ در هر دو گروه بیمار و کنترل ژنوتیپ -/-PAT، به ترتیب ٦٦٪ و ۷۱٪ بود. فراوانی ژنوتیپ +/+PAT در نمونه‌های سرطانی ٢٤٪ و در نمونه‌های سالم ۱۰٪ بود. تفاوت معنی‌دار آماری بین گروه شاهد و بیمار در خصوص فراوانی ژنوتیپی وجود داشت (P=۰/۰۱, OR=۲/٦۱ , ۹۵٪CI=۱/۱۷-۵/۸۳). همچنین، فراوانی الل+PAT در گروه بیمار نسبت به گروه شاهد بیش‌تر بود. به‌عبارت دیگر افراد دارای الل +PAT در مقایسه با سایر افراد نزدیک ۱/۷ برابر بیشتر دستخوش سرطان پستان می‌شوند (OR= ۱/۷ , P=۰/۰۲ , ۹۵٪CI=۱/۰۸-۲/۷۷). بنابراین، پلی‌مورفیسم توالی پلی AT ژن *XPC* با سرطان پستان در جمعیت مورد مطالعه مرتبط بود.

بحث و نتیجه‌گیری

بافت پستان محل شایعی برای ایجاد بدخیمی‌های نهفته کشنده در زنان است. این بیماری دومین سرطان شایع در زنان و دومین سرطان منجر به مرگ در جهان است(۱). سالانه شمار زیادی از زنان در سراسر جهان بدلیل ابتلای به این بیماری جان خود را از دست می‌دهند. سرطان پستان زنان را در تمام سنین، نژادها، اقوام و تمام قشرهای اجتماعی، اقتصادی در نواحی جغرافیایی گوناگون مبتلا می‌کند (۲۵).

بنابراین، با توجه به اهمیت و نقش راه‌های بازسازی DNA در بیماری‌زایی سرطان پستان در این مطالعه به بررسی پلی‌مورفیسم توالی پلی AT ژن *XPC* در بیماران مبتلا به سرطان پستان پرداخته شد. یافته‌های این پژوهش تفاوت معنی‌داری در توزیع فراوانی‌های ژنوتیپی و اللی این جایگاه نشان دادند (به‌ترتیب P=۰/۰۱ و P=۰/۰۲). به‌طوری‌که ژنوتیپ هموزیگوت +/+PAT با افزایش ۲/٦ برابری در سرطان پستان همراه بود (P=۰/۰۱ ,۹۵٪CI=۱/۱۷-۵/۸۳ , OR=۲/٦۱). به‌عبارت دیگر الل خطر برای جایگاه پلی‌مورفیک در مطالعه حاضر الل +PAT تعیین شد (P=۰/۰۲ , ۹۵٪CI=۱/۰۸-۲/۷۷ ,OR=۱/۷).

حضور الل‌های خطر در رابطه با ژن‌های ترمیم کننده DNA منجر به کاهش در توانایی ترمیم DNA می‌شود. بدین‌ترتیب ممکن است به تکثیر بی‌رویه سلول‌ها بیانجامد. این مسیرهای ترمیمی مسئول درست کردن آسیب‌های گوناگون DNA هستند. NER یکی از مهم‌ترین مسیرهای ترمیمی برای آسیب القا شده توسط متابولیت‌های داخل سلولی یا مواد شیمیایی محیطی بشمار می‌رود (۱۰). برپایه مطالعات Castro و همکاران، ژن‌های درگیر در NER در مرحله اولیه سرطان پستان دچار تنظیم منفی می‌شوند، لذا ژن‌های دخیل در مسیر ترمیمی NER، نقش بسیار مهمی در بروز این بیماری دارند (۲٤). کاهش توانایی NER یا کاهش بیان ژن‌های درگیر در این سیستم می‌تواند به‌عنوان بیومارکری در شناسایی تومورزایی بافت پستان مطرح شود(۲٦). به‌طوری‌که در لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران با سرطان پستان، DNA آسیب‌دیده حاصل از کاستی NER در مقادیر زیاد پیدا شده‌است (۲۷). *XPC* یکی از ژن‌های مهم در مسیر NER است که به میزان بالایی در بافت پستان بیان می‌شود. پروتئین کد شونده توسط این ژن با همکاری سایر پروتئین‌های درگیر در مسیر NER، در شناسایی ترمیم DNA آسیب دیده نقش دارد. پروتئین *XPC* با اتصال به HR23B و تشکیل کمپلکس*XPC*-HR23B به شناسایی ناحیه آسیب دیده می‌پردازد. لذا، نقش بسیار حیاتی در آغاز فرایند ترابرد پیام پس از شناسایی آسیب و در نتیجه کنشگری P_{53} و ایست چرخه سلولی دارد(۲۸). عملکرد نادرست *XPC* در سلول‌های بافت پستان منجر به ایجاد رادیکال‌های آزاد در DNA، جهش و ناپایداری ژنومی می‌شود و بدین ترتیب در بیماری‌زایی سرطان پستان نقش بسیار مهمی ایفا می‌کند (٤). مطالعات انجام شده پیشنهاد می‌کند که عواملی مانند پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی ممکن است بیان‌کننده تفاوت‌های فردی در میزان بروز سرطان باشند. یکی از پلی‌مورفیسم‌های ژن *XPC*، توالی پلی AT است. ساختار نوکلئوتیدی این جایگاه پلی‌مورفی پیشنهاد می‌کند که دخول ۸۳ جفت بازی این جایگاه در نزدیکی یک رتروترنسپوزون صورت می‌گیرد. این دخول در ۰/۷ کیلو باز پس از انتهای ′۳ بریده شده در رتروترنسپوزون LINE-1 قرار دارد. این رتروترنسپوزون می‌تواند در Exon Shuffling یا پردازش غیرطبیعی نقش داشته باشد (۲۹). شاید این پلی‌مورفیسم با تأثیر بر فعالیت

رتروترنسپوزون توان تغییر فعالیت ژنی و در نتیجه تغییر در توان ترمیم DNA داشته باشد (۲۲). بنابراین، انتظار می‌رود الل +PAT بر فعالیت ترمیمی ژن *XPC* موجود در بافت پستان مؤثر و بدین‌ترتیب در ایجاد سرطان پستان نقش داشته‌باشد (۳۰). افزون بر آن مطالعات بیولوژی نشان داده‌اند که حضور الل +PAT باپیمودن فرایند پیرایشی mRNA سبب زدایش اگزون ۱۲ می‌شود که خود سبب ایجاد پروتئین *XPC* معیوبی می‌شود که دم انتهای کربوکسیل طبیعی را ندارد (۳۱).

تاکنون مطالعاتی در مورد نقش پلی‌مورفیسم توالی(poly (AT ژن *XPC* در بیماری‌های گوناگون مانند سرطان‌های گوناگون صورت گرفته است (۳۲).

Shen و همکاران با مطالعه ۲۷۸ بیمار و ۳۱۱ کنترل نشان دادند که پلی‌مورفیسم توالی *XPC* poly (AT) به‌طور معنی‌دار با افزایش خطر ابتلا به سرطان‌های سر و گردن در جمعیت سفید غیراسپانیولی همراه است (۳۳). در مطالعه دیگری توسط Dai و همکاران بر ۱۰۲٤ نمونه بیمار و ۱۱۳۰۲ نمونه کنترل نشان داده شد که ژنوتیپ +PAT+/+ با سرطان‌های دستگاه ادراری- تناسلی نیز ارتباط دارد(۱۸). همچنین، نقش الگوی هموزیگوت +PAT+/+ وهتروزیگوت +PAT-/+ در بروز سرطان پروستات (۳٤) و سرطان مثانه نیز تایید شده‌است (۳۵). بر پایه مطالعه Jiang و همکاران در سال ۲۰۱۲ ارتباطی برپایه تاثیر این پلی‌مورفیسم در ابتلای به سرطان دستگاه گوارش بدست نیامد. با این وجود ارتباط دوسویه بین پلی‌مورفیسم +PAT-/+ و Lys939Gln که در سرطان دستگاه گوارش نقش دارد، بدست آمد .(۳۲) در سال ۲۰۱۱ مطالعه‌ای توسط Zheng و همکاران بصورت متاآنالیز در جمعیت‌های قفقازی، آسیایی و آفریقایی با پلی‌مورفیسم توالی poly (AT) در بروز سرطان پستان انجام شد. بر پایه این بررسی افراد حامل ژنوتیپ +PAT+/+ نزدیک ۱/٤ برابر در معرض ابتلای به سرطان پستان نسبت به افراد با ژنوتیپ +PAT-/+ و -PAT-/- هستند (۱/٤۳-۱/۰۲=۹۵٪CI , OR=۱/۲۱) (۳٦). همچنین، مطالعه دیگری توسط Shore و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر ٦۱۲ زن مبتلا به سرطان پستان و ٦۸٦ مورد کنترل انجام شد. نتایج، نمایانگر افزایش ۱/٤۵ برابری ژنوتیپ +PAT+/+ در بروز سرطان پستان بود (۱/۹۷-OR=۱/٤۵, ٪۹۵CI=۱/۰۷) (۳۷).

به‌طورکلی در این پژوهش ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن *XPC* با بیماری سرطان پستان بدست آمد. لذا، حضور الل +PAT در ژن *XPC* در موقعیت اینترون شماره ۹ می‌تواند بعنوان عامل خطر در کارسینوژنز پستان مطرح باشد. گرچه برای درک بهتر نقش این عوامل ژنتیکی به مطالعات گسترده‌تر با حجم گسترده‌تر نیاز است. همچنین، با توجه به این‌که سرطان پستان چندعاملی است و عوامل گوناگون ژنتیک و محیط در ایجاد و گسترش آن موثرند لذا در مطالعات مربوط به این بیماری باید عوامل گوناگون در کنار یکدیگر و تاثیر متقابل آنها بر یکدیگر بررسی شود.

تقدیر و تشکر: نویسندگان از همه افراد شرکت‌کننده در این تحقیق نهایت تشکر را داشته و مراتب قدردانی خود را از دانشگاه گیلان که با پشتیبانی علمی خود شرایط مناسب برای انجام این تحقیق را فراهم ساخت، باز می‌نمایانند. همچنین برخود لازم می‌دانند از همکاری مرکز تحقیقات سرطان، بخش هماتولوژی و آزمایشگاه بیمارستان رازی و معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گیلان که زمینه لازم جهت گردآوری نمونه و اطلاعات مورد نیاز این تحقیق را فراهم نمودند سپاسگزاری نمایند.

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

1. Okobia MN, Bunker CH, Okonofua FE, Osime U. Knowledge, attitude and practice of Nigerian women towards breast cancer: a cross-sectional study. World Journal of Surgical Oncology 2006; 4(1):11.

2. Antonova L, Aronson K, Mueller CR. Stress and breast cancer: from epidemiology to molecular biology. Breast Cancer Research 2011; 13(2):208.

3. Li C, Uribe D, Daling J. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. British Journal of Cancer 2005; 93(9):1046-1052.

4. Han J, Haiman C, Niu T, Guo Q, Cox DG, Walter C, et al. Genetic Variation in DNA Repair Pathway Genes and Premenopausal Breast Cancer Risk. Breast Cancer Research Treatment 2009; 115(3):613-622.

5. Freeman DL. Harrison's principles of internal medicine. JAM
A: The Journal of the American Medical Association 2001; 286(8):971-972.
6. Harirchi I, Ghaemmaghami F, Karbakhsh M, Moghimi R, Mazaherie H. Patient delay in women presenting with advanced breast cancer an Iranian study.Public Health 2005; 119(10):885-891.
7. Kim EH, Willett WC , Fung T, Rosner B, Holmes MD. Diet quality indices and postmenopausal breast cancer survival. Nutrition and Cancer 2011; 63(3):381-388.
8. Ripperger T, Gadzicki D, Meindl A, Schlegelberger B. Breast cancer susceptibility: current knowledge and implications for genetic counseling. European Journal of Human Genetics 2009; 17:722-731.
9. Parshad R, Price F, Bohr V, Cowans K, Zujewski J, Sanford K. Deficient DNA repair capacity, a predisposing factor in breast cancer. British Journal of Cancer 1996; 74(1):1-4.
10. Matullo G, Peluso M, Polidoro S, Guarrera S, Munnia A, Krogh V, et al. Combination of DNA repair gene single nucleotide polymorphisms and increased levels of DNA adducts in a population-based study. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 2003; 12(7):674-677.
11. Scully R, Livingston DM. In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2. Nature 2000; 408(6811):429-432.
12. Chang HY, Nuyten DS, Sneddon JB, Hastie T, Tibshirani R, Sorlie T, et al. Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2005; 102(10):3738-3743.
13. Sak S, Barrett J, Paul A, Bishop D, Kiltie A. The polyAT, intronic IVS11-6 and Lys939Gln XPC polymorphisms are not associated with transitional cell carcinoma of the bladder. British Journal of Cancer 2005; 92(12):2262-2265.
14. Cheng L, Guan Y, Li L, Legerski RJ, Einspahr J, Bangert J, et al. Expression in normal human tissues of five nucleotide excision repair genes measured simultaneously by multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 1999; 8(9):801-807.
15. Kroenke CH, Chen WY, Rosner B, Holmes MD. Weight, weight gain, and survival after breast cancer diagnosis. Journal of Clinical Oncology 2005; 23(7):1370-1378.
16. Ura K, Araki M, Saeki H, Masutani C, Ito T, Iwai S, et al. ATP-dependent chromatin remodeling facilitates nucleotide excision repair of UV-induced DNA lesions in synthetic dinucleosomes. The EMBO Journal 2001; 20(8):2004-2014.
17. Dinant C, Luijsterburg M S, Hofer T, von Bornstaedt G, Vermeulen W, Houtsmuller AB, et al. Assembly of multiprotein complexes that control genome function. The Journal of Cell Biology 2009; 185(1):21-26.
18. Dai Q-S, Hua R-X, Zhang R, Huang Y-S, Hua Z-M, Yun CT, et al. Poly (AT) deletion/insertion polymorphism of the XPC gene contributes to urinary system cancer susceptibility: a meta-analysis. Gene 2013; 528(2):335-342.
19. Abdul Aziz Ahmad Aizat, Mohd Shahpudin Siti Nurfatimah, Mustapha Mohd Aminudin, Ravindran Ankathil. XPC Lys939Gln polymorphism, smoking and risk of sporadic colorectal cancer among Malaysians. World Journal Gastroenterol 2013 ;19 (23): 3623-3628.
20. Casson A, Zheng Z, Evans S, Veugelers P, Porter G, Guernsey D. Polymorphisms in DNA repair genes in the molecular pathogenesis of esophageal (Barrett) adenocarcinoma. Carcinogenesis 2005; 26:1536-1541.
21. Blankenburg S, Konig I, Moessner R, Laspe P, Thoms K, Krueger U, et al .Assessment of 3 xeroderma pigmentosum group C gene polymorphisms and risk of cutaneous melanoma: a casecontrol study. Carcinogenesis 2005; 26:1085-1090.
22. Khan S, Metter E, Tarone R, Bohr V, Grossman L, Hedayati M, et al. new xeroderma pigmentosum group C poly(AT) insertion/deletion polymorphism. Carcinogenesis 2000; 21:1821-1825.
23. Balmain A, Gray J, Ponder B. The genetics and genomics of cancer. Nature Genetics 2003; 33:238-244.
24. Castro MA, Mombach JC, de Almeida RM, Moreira JC. Impaired expression of NER gene network in sporadic solid tumors. Nucleic Acids Research 2007; 35(6):1859-1867.
25. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. International Journal of Cancer 2010; 127(12):293-297.
26. Latimer JJ, Johnson JM, Kelly CM, Miles TD, Beaudry-Rodgers KA, Lalanne NA, et al. Nucleotide excision repair deficiency is intrinsic in sporadic stage I breast cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences 2010; 107(50):217-253.
27. Shi Q, Wang L-E, Bondy ML, Brewster A, Singletary SE, Wei Q. Reduced DNA repair of benzo [a] pyrene diol epoxide-induced adducts and common XPD polymorphisms in breast cancer patients. Carcinogenesis 2004; 25(9):1695-1700.
28. Chen Z, Yang J, Wang G, Song B, Li J, Xu Z. Attenuated expression of xeroderma pigmentosum group C is associated with critical events in human bladder cancer carcinogenesis and progression. Cancer Research 2007; 67:4578-4585.
29. Khan SG, Muniz-Medina V, Shahlavi T, Baker CC , Inui H, Ueda T, et al. The human XPC DNA repair gene: arrangement, splice site information content and influence of a single nucleotide polymorphism in a splice acceptor site on alternative splicing and function. Nucleic Acids Research 2002; 30(16):341-362.
30. Qiao Y, Spitz M, Shen H. Modulation of repair of ultraviolet damage in the host-cell reactivation assay by polymorphic XPC and XPD/ERCC2 genotypes. Carcinogenesis 2002; 23:295-299.
31. Uchida A, Sugasawa K, Masutani C. The carboxy-terminal domain of the XPC protein plays a crucial role

in nucleotide excision repair through interactions with transcription factor IIH. DNA Repair 2002; 1:449-461.
32. Jiang X, Zhou L-t, Zhang S-c, Chen K. XPC polymorphism increases risk of digestive system cancers: Current evidence from a meta-analysis. Chinese Journal of Cancer Research 2012; 24(3):181-189.
33. Shen H, Sturgis EM, Khan SG, Qiao Y, Shahlavi T, Eicher SA, et al. An Intronic Poly (AT) Polymorphism of the DNA Repair Gene XPC and Risk of Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck A Case-Control Study. Cancer Research 2001; 61(8):3321-3325.
34. Liu Y, Chen Z, Wei Q, Yuan F, Zhi Y, Song B, et al. Poly (AT) polymorphism in the XPC gene and smoking enhance the risk of prostate cancer in a low-risk Chinese population. Cancer Genetics 2012; 205(5):205-211.
35. Liu Y, Wang H, Lin T, Wei Q, Zhi Y, Yuan F, et al. Interactions between cigarette smoking and XPC-PAT genetic polymorphism enhance bladder cancer risk. Oncology Reports 2012; 28(1):337-345.
36. Zheng W, Cong X-F, Cai W-H, Yang S, Mao C, Zou H-W. Current evidences on XPC polymorphisms and breast cancer susceptibility: a meta-analysis. Breast Cancer Research and Treatment 2011; 128(3):811-815.
37. Shore RE, Zeleniuch-Jacquotte A, Currie D, Mohrenweiser H, Afanasyeva Y ,Koenig KL, et al. Polymorphisms in XPC and ERCC2 genes, smoking and breast cancer risk. International Journal of Cancer 2008; 122(9):2101-2105

.

The Relationship of XPC Poly AT Sequence with Breast Cancer

Ghasemzadeh Qazvini M (MSc)[1]- *Salehi Z (MD, PhD)[1]- Saeidi Saedi H (MD)[2]

*Corresponding Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

Email: geneticzs@yahoo.co.uk

Received: 10/Jan/2015 Revised: 02/Jun/2015 Accepted: 1/Oct/2015

Abstract

Introduction: Breast cancer is a malignant proliferation of epithelial cells that cover the breast ducts or lobes. The accumulation of DNA damage is considered as a major factor in breast cancer. One of the most important defense mechanisms is Nucleotide Excision Repair (NER). Dysregulation of DNA repair genes expression is important for breast carcinogenesis. XPC(Xeroderma pigmentosum, complementation group C) is an important NER gene that recognizes the damage caused by a variety of bulky DNA adducts. Poly AT (PAT) sequence is one of important polymorphisms in this gene.

Objective: This study investigated the relationship of the *XPC* PAT polymorphism with breast cancer.

Materials and Methods: In this Case-Control study, we analyzed 79 patients and 120 healthy controls. The genotyping of PAT polymorphism was performed using polymerase chain reaction (PCR) and statistical analyses were conducted by theMedCalc statistical software (version 12.1).

Results: Among cancer cases, the distributions of PAT-/-, PAT-/+ and PAT+/+ genotypes were 66%, 10%, and 24%, respectively. Among controls, the distributions of PAT-/-, PAT-/+ and PAT+/+ genotypes were 71%, 19%, 10%, respectively. The genotype frequencies did differ significantly between patients and controls (P=0.01).The frequency of PAT+ allele was significantly higher in patients (0.30) than in the controls (0.20), (P=0.02).

Conclusion: Our study suggests that *XPC* Poly AT sequence polymorphism might be a genetic predisposing factor for breast Cancer. However, larger population-based studies are needed for clarifying the role of *XPC* gene polymorphism in breast Cancer.

Conflict of interest: none declared

Key words: Breast Neoplasms\ Polymorphism, Genetic\ Xeroderma Pigmentosum

_____Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 97, Pages: 20-28

Please cite this article as: Ghasemzadeh Qazvini M, Salehi Z, Saeidi Saedi H. The Relationship of XPC Poly AT Sequence with Breast Cancer. J of Guilan Univ of Med Sci 2016; 25(97):20-28. [Text in Persian]

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

2. Department of Radiation oncology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran