

## پلی مورفیسم در ژن گیرنده استروژن- $\alpha$ کدان ۱۰ (T392C) در زنان مبتلا به سرطان پستان در ایران

سکینه عباسی: استادیار علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران  
سیروس عظیمی: دانشیار ژنتیک، انستیتو کانسر، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران  
سمیرا کلباسی: دانشجوی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران

### چکیده

**مقدمه:** شواهد نشان می‌دهد که پلی مورفیسم در ژن گیرنده استروژن- $\alpha$  (ESR1) با سرطان پستان و اشکال بالینی آن در میان سفید پوستان ارتباط مستقیم دارد. مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که سن ابتلا به بیماری در میان سفید پوستان خاورمیانه و غربی متفاوت است. در این مطالعه پلی مورفیسم در ژن ESR1 و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان پستان در ایران مورد بررسی قرار گرفته است.

**روش بررسی:** نوع مطالعه مورد-شاهدی می‌باشد که با هدف ایجاد پایگاه اطلاعاتی پلی مورفیسم در ژن ESR1 در جمعیت زنان ایران طراحی شده است. غربالگری پلی مورفیسم در ژن ESR1 در بیمارانی که به تازگی سرطان پستان در آن‌ها تشخیص داده شده است (۱۵۰ نفرمورد) و در زنان کاملاً سالم (۱۴۷ نفر کنترل) به کمک روش SSCP-PCR انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان می‌دهد که پلی مورفیسمی به شکل جهش خاموش تک نوکلئوتیدی (SNP) در جمعیت مورد آزمایش وجود دارد که قبلاً نیز در جمعیت‌های متفاوتی گزارش شده بود. فراوانی آلل ۱ (TCC) در کدان ۱۰، (T/C, S392S), (TCT → TCC)، اگزون ۱ در بیماران مبتلا به سرطان پستان (۴۵/۷ درصد) به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به افراد سالم (۳۹/۸ درصد) بیشتر بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ( $p=0/148$ ). به علاوه فراوانی آلل ۱ (TCC) در کدان ۱۰ در بیماران مبتلا به سرطان پستان با سابقه فامیلی سرطان پستان (۷۸/۹ درصد) به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به بیماران سرطان پستان بدون سابقه فامیلی سرطان پستان (۴۰/۸ درصد) بیشتر بود. فراوانی آلل ۱ (TCC) در کدان ۱۰ در بیماران مبتلا به سرطان پستان با متاستاز LN (۵۸/۷ درصد) نسبت به بیماران سرطان پستان بدون متاستاز LN (۴۳/۳ درصد) نیز بیشتر بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که پلی مورفیسم ژن گیرنده استروژن  $\alpha$  با خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان در ایران مرتبط است. اطلاعات به دست آمده نشان می‌دهد که وجود همبستگی مثبت بین آلل ۱ در کدان ۱۰ و متاستاز LN همراه با حضور هر دو آلل ۰ و ۱ در کنار هم ممکن است یکی از پارامترهای مهم در بروز متاستاز LN در سرطان پستان باشند.

**واژه‌های کلیدی:** سرطان پستان، گیرنده استروژن  $\alpha$ ، پلی مورفیسم

## مقدمه

در ایران، رایج‌ترین سرطان‌ها در زنان عبارت‌اند از: سرطان پستان، پوست، روده بزرگ، معده، حنجره و لوسمی. با وجودی که بیشتر زنان به سرطان پستان مبتلا می‌شوند، بیشتر مرگ‌ومیر به ترتیب ناشی از سرطان معده، خون، ریه، کبد و پستان است. درحالی‌که اگر هریک از این سرطان‌ها زود تشخیص داده شوند درمان امکان‌پذیر می‌باشد.

غربالگری نقش مهمی در پیشگیری از سرطان دارد. سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی با بیش از ۸۰۰۰ مورد جدید و فوت ۱۲۰۰ نفر در هر سال می‌باشد و این در حالی است که ۷۱ درصد شانس زنده ماندن دارند. میزان بروز سرطان پستان در زنان بیش از ۴۷ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر می‌باشد [۴-۶]. پارامترهای بافت-بالینی حاضر تنها قادر است به ۶۰ درصد از بیماران مبتلا به سرطان پستان برای رسیدن به وضعیت سلامت پایدار کمک کند [۷]. نشانگرهای ژنتیکی هم در سطح تک‌ژنی و هم در سطوح انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌کننده تومور و حتی کروموزوم از ارزش زیادی در تشخیص و پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سرطان پستان برخوردارند [۴].

هورمون استروژن بر روی رشد، تمایز و عملکرد بسیاری از بافت‌های هدف از جمله پستان، رحم، مهبل (واژن)، تخمدان، بیضه، اپیدیدیم و پروستات مؤثر است [۸]. اثر بیولوژیکی استروژن مانند تحریک رشد و تمایز بافت طبیعی پستان به واسطه میل بالای اتصال به گیرنده‌های استروژن (ESRs) می‌باشد [۹]. ESRs پروتئین‌های گیرنده هسته‌ای هستند که حاوی یک domain اتصالی استروژن و یک domain اتصالی DNA می‌باشند [۱۰] و [۱۱] دو نوع ESR وجود دارد، *ESR1* (آلفا-ESR) و *ESR2* (بتا-ESR). ژن *ESR1* بر روی کروموزوم ۲5.1 [۱۲]، و ژن *ESR2* بر روی کروموزوم 24-4q22 [۱۳ و ۱۴] قرار گرفته‌اند.

شواهد موجود حاکی از آن است که سرطان پستان به دلیل تعامل بین عناصر ژنتیکی و انواع عوامل زیست‌محیطی بروز می‌کند. نژاد و قومیت نیز نقش مهمی در خطر ابتلا به سرطان پستان با شیوع متفاوت از کمترین فراوانی در گروه‌های خاصی از زنان آسیایی به بالاترین فراوانی در زنان قفقازی دارد [۱۴]. به طوری‌که آمریکایی‌های آسیایی تبار به طور سنتی کمترین خطر ابتلا

به سرطان پستان در ایالات متحده آمریکا را دارند [۱۵]. علاوه بر این، مقایسه منحنی سن بروز سرطان پستان در جمعیت آسیایی و غربی در کشورهای بومی، خود تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد. توزیع سن شروع سرطان پستان در شرق آسیا بین سنین ۵۰-۴۰ سالگی می‌باشد. درحالی‌که در زنان غربی، بالاتر از سن ۵۰ سالگی است. در ایران نیز بیماران مبتلا به سرطان پستان حدوداً ۶ سال جوان‌تر از هم‌تایان غربی خود می‌باشند. مطالعه تظاهر متفاوت سرطان پستان در جوامع خاورمیانه در افرادی که از نظر ژنتیکی مشابه ولی از لحاظ جغرافیایی از هم جدا می‌باشند، دخالت عوامل ژنتیکی غیر معمول را در بروز آن نشان می‌دهد [۱۶].

سرطان پستان معمولاً در سلول‌های اپی‌تلیال مجرای غده پستانی شروع می‌شود [۱۷ و ۱۸]. این سلول‌ها حاوی گیرنده‌های استروژن می‌باشند که به استروژن مترشحه از تخمدان‌ها در رشد طبیعی غده پستانی نرمال پاسخ می‌دهند. اینکه چگونه استروژن باعث تحریک رشد سلول‌ها می‌گردد کاملاً روشن نیست. آنچه مسلم است، فعال شدن ESR به کمک استروژن در نتیجه رونویسی ژن‌های متعددی است که در تکثیر سلولی نقش دارند. تحقیقات نشان داده است که قرار گرفتن در معرض استروژن خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می‌دهد به طوری‌که این خطر در طول مدت تأثیر بالا می‌رود [۱۹]. در سلول‌های سرطانی، بیان ژن‌های ESRs متفاوت است و بیماری‌هایی که ژن ESR در سلول‌های توموری پستان بیان می‌شود بهتر به درمان با هورمون پاسخ می‌دهند [۲۰].

امروزه، ارتباط پلی‌مورفیسم ژنتیکی در ژن ESR و خطر ابتلا به بیماری‌ها از جمله سرطان پستان، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. تعدادی از تغییرات توالی DNA در ژن ESR پیش از این گزارش شده است [۱۵]. امروزه از جهش و پلی‌مورفیسم در ژن مرتبط با سرطان پستان جهت پیش‌بینی و پیش‌آگهی از تشکیل تومور استفاده می‌شود. اما، میزان جهش‌ها در ژن *ESR1* در بافت سرطان پستان پایین است [۲۱].

در حال حاضر اطلاعات کمی در مورد بیان ژن *ESR1*، میزان جهش و انواع اللی آن در سرطان پستان در آسیا و خاورمیانه، بخصوص کسانی که در کشور مادری خود اقامت دارند، موجود است. بنابراین مطالعه حاضر به

در این تحقیق گوناگونی ژن ESR1 با روش SSCP-PCR برای شناسایی هرگونه جهش و یا گوناگونی در جمعیت ایران Exon1 ژن ESR1 با استفاده از روش Single Nucleotide Polymorphism-PCR (SSCP) غربالگری شد. در مجموع ۱۵۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و تعداد ۱۴۷ فرد شاهد غربالگری شده برای شناسایی گوناگونی جهش مرتبط، مورد مقایسه قرار گرفتند. ابتدا DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNG™ Plus - (inc) Cinnagen، تهران، ایران) مطابق با دستورالعمل کارخانه سازنده از سلول‌های خون استخراج شدند. سپس DNA ژنومی (۵۰ نانوگرم) جهت ژنوتایپینگ مبتنی بر PCR مورد استفاده قرار گرفت.

اگزون ۱ از ژن ESR1 با روش PCR با استفاده از پرایمرهایی که توالی الیگونوکلوئوتیدی آنها توسط Hsiao و همکاران قبلاً مورد استفاده قرار گرفته بود، تکثیر شدند [۱۶]:

**Forward primer 5'-**  
**GGTTTCTGAGCCTTCTGCCCTG -3'**  
 (301-322)  
**Reverse primer 5'-**  
**AGGCCGGTCTGACCGTAGA -**  
**3'(593-575)**

PCR در شرایط زیر انجام گرفت: برای ۳۰ چرخه، ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۵۸ درجه سانتی‌گراد و ۴۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد جدایی الکتروفوریک برای SSCP بر روی ژل پلی‌آکریل آمید ۸ درصد (Bisacrylamide: Acrylamide ۱۹:۰۱) در بافر (۹۰ میلی مول / L تریس - بورات و ۲ میلی مول / L EDTA) در ۲۰۰ ولت برای ۲ ساعت الکتروفورز شدند، پس از آن الکتروفورز با ۲۵۰ ولت به مدت ۲۴ ساعت در ۱۶ درجه سانتی‌گراد ادامه یافت. پس از الکتروفورز، باندها در ژل با استفاده از ۰/۱ درصد نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند. نمونه‌های PCR که تغییر در الگوهای باند در مقایسه با الگوی کنترل مثبت با Forward Primer را نشان می‌دهند، روی ژل آگارز با استفاده از کیت استخراج Fermentas #K0153, Germany خالص شده مستقیماً توسط Big Dye Terminator V3.1

بررسی پلی‌مورفیسم ESR1 بیماران مبتلا به سرطان پستان جهت ایجاد یک پایگاه اطلاعاتی پلی‌مورفیسم ژنتیکی برای ژن ESR1 در ایران و همچنین با هدف مقایسه نتایج آن با گزارش‌های موجود از کشورهای غربی و شرق دور در رابطه با پلی‌مورفیسم ژن ESR1 و خطر ابتلا به سرطان پستان صورت گرفته است.

## روش بررسی

### جامعه مورد مطالعه

در این مطالعه مورد-شاهدی، گروه مورد بیماران مبتلا به سرطان پستان (N= ۱۵۰) با متوسط سن ۴۳/۴۹±۴۷/۴۹ سال و عمدتاً ساکن تهران می‌باشند. سرطان پستان در همه بیماران توسط پاتولوژیست در مجتمع بیمارستان امام خمینی (ره) تشخیص داده و تأیید شده است و جهت آزمایش‌های تشخیصی لازم به آزمایشگاه سانترال ارجاع داده شده است. گروه شاهد (N= ۱۴۷) با متوسط سن ۵۴/۱۰±۷۵/۴۰ سال شامل زنان سالم بدون سابقه سرطان پستان و یا سایر بیماری‌های بدخیم و همچنین عدم وجود سابقه فامیلی سرطان پستان در اقوام درجه یک وی می‌باشند. در این تحقیق زنانی با هیستریکتومی رحم، یائسگی مصنوعی و همچنین زنانی که در معرض هر نوع از پرتودرمانی و شیمی‌درمانی در طول زندگی خود قرار گرفته‌اند از مطالعه حذف شدند. همه بیماران و افراد سالم قبل از نمونه‌گیری پس از آگاهی دادن از چگونگی مطالعه و با کسب اجازه کتبی به شرکت در این تحقیق دعوت شدند.

با استفاده از یک پرسشنامه کوتاه، اطلاعات دموگرافیک و عوامل خطری مثل سن، وزن، قد، نژاد، مذهب، وضعیت تأهل، تعداد حاملگی و فرزندان، سن در زمان تولد اولین فرزند، طول مدت دوره شیردهی به‌طور متوسط، سابقه خانوادگی از سرطان پستان (بستگان درجه اول)، سن شروع قاعدگی، سن ازدواج، وضعیت یائسگی، سن یائسگی، گروه خون، سن شروع بیماری، متاستاز در بافت لنفاوی، مرحله سرطان در زمان تست و بیان ژن ER در سلول‌های توموری سرطان پستان کسب شدند. این اطلاعات از طریق مصاحبه و پرسش از جمعیت آماری و یا اعضای خانواده آنها به‌دست آمده‌است. سپس نمونه‌ها از خون محیطی برای آزمایش‌های ژنومیک جمع‌آوری و ذخیره شدند.

ژنوتیپ‌های مختلف نشان داد که SNP با تعادل هاردی واینبرگ برای هر دو گروه کنترل و بیمار ( $P < 0.05$ ) منطبق است.

جدول ۲ توزیع فراوانی ویژگی‌های جمعیتی انتخاب‌شده و عوامل خطر عمده‌ای مانند BMI، سن قاعدگی، نژاد، گروه خون و Rh در مقایسه بین مبتلایان به سرطان پستان و گروه شاهد در جمعیت مورد مطالعه را نشان می‌دهد. همه این ویژگی‌ها با توزیع‌های مختلف فراوانی بین سرطان پستان و گروه شاهد از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ).

نتایج نشان داد جهش جدیدی در جمعیت مورد مطالعه ما در ناحیه مذکور وجود ندارد، اما، یک پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی مشترک خاموش dbSNP128 (rs2077647) در کدان ۱۰ وجود دارد.

فراوانی ژنوتیپی و الی در جمعیت مورد مطالعه میان گروه مورد و گروه شاهد در جدول ۳ نشان داده شده است. فراوانی آلل ۱ (TCC) در کدان ۱۰ (T/C) (TCT → TCC، S392S) در بیماران مبتلا به سرطان (۴۵/۷ درصد) نسبت به افراد شاهد (۳۹/۸ درصد) بالاتر است و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P = 0.148$ ). در مطالعه عامل خطر، مشاهده سرطان پستان در اقوام درجه اول بیمار، فرکانس آلل ۱ در کدان ۱۰ (TCT → TCC) در بیماران مبتلا به سرطان با سابقه خانوادگی (۷۸/۹ درصد) نسبت به افراد بدون سابقه خانوادگی (۴۰/۸ درصد) به‌طور معنی‌دار ( $P = 0.001$ ) دو برابر بیشتر بود.

Biosystem) Cycle Sequencing Kit protocol (کیت کاربردی، شرکت Microgen، ایالات متحده آمریکا) در دستگاه ABI 3130XL Sequencer (۱۶ capillaries) تعیین توالی شدند. نمونه‌هایی که SNPs را نشان دهند جهت تأیید دوباره با Reverse Primer تعیین توالی می‌شوند.

### تجزیه و تحلیل آماری

از تست  $X^2$  جهت ارزیابی تأثیر ساختار پلی‌مورفیسم بر ویژگی‌های سرطان پستان استفاده شد. تجزیه و تحلیل بدون قید و شرط منطقی (Unconditional logistic regression analysis) با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 13.0 for Windows XP; SPSS Inc., SPSS Cary, NC, USA) برای محاسبه نسبت شانس (ORS) با فاصله اطمینان ۹۵ درصد و بررسی اثر پیش‌بینی هر عامل بر خطر ابتلا به سرطان پستان مورد استفاده قرار گرفت.  $P < 0.05$  به‌عنوان یک نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

توزیع‌های انتخاب‌شده از ویژگی‌های دموگرافیک و عوامل خطر مهم برای سرطان پستان در مورد و شاهد در جدول ۱ نشان داده شده است.

فرکانس الی اگزون ۱ ژن *ESR1* در میان ۲۹۷ زنان ایرانی (۱۵۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۱۴۷ فرد شاهد سالم) برای جهش یا هر نوع پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) توسط PCR - SSCP و تعیین توالی DNA غربالگری شد. تعداد افراد مورد مطالعه با















فراوانی توزیع ژنوتیپ‌های مختلف در حضور و عدم حضور LN متاستاز در کدان ۱۰ تفاوت‌های معنی‌داری را از نظر آماری نشان می‌دهد ( $P=0/001$ ). خطر تخمین زده شده برای افراد هتروزیگوت (۰۱) در کدان ۱۰، ( $OR\ 0.533$ ،  $95\%CI\ 0.114-2.492$ ) نسبت به افرادی که برای کدان مذکور هموزیگوت می‌باشند، حدود ۶ برابر پایین‌تر است. ( $OR\ 95\%CI\ 0.16-0.593$ )  
 بنابراین، نتایج ما نشان داده است که بخصوص هتروزیگوت (۰۱) SNP در کدان ۱۰ ممکن است دقت در پیش‌بینی متاستاز LN را در سرطان پستان کاهش دهد و این SNP بیماران مبتلا به سرطان پستان را در برابر متاستاز LN محافظت می‌کند.

در انتها، در این تحقیق مقایسه ما در توزیع جغرافیایی جهانی شناخته شده در مورد پلی مورفیسزم  $ER-\alpha$  در کدان ۱۰ نشان می‌دهد که اگزون ۱ تفاوت قابل توجهی در مقایسه با گزارش مطالعات ژنومی غربی دارد. مقایسه داده‌ها نشان می‌دهد که فراوانی آلل ۱ در کدان ۱۰ در ایران (۴۵/۷ درصد) قابل مقایسه با این فراوانی در ایالات متحده آمریکا (۴۴/۹ درصد) است و پایین‌تر از استرالیا (۵۱ درصد) و بالاتر از انگلستان (۴۱ درصد) و تایوان (۳۲ درصد) می‌باشد. بنابراین، جمعیت ایران از الگوی مشابهی برای پلی مورفیسزم  $ER-\alpha$  با دیگر قفقازیان تبعیت می‌کند که کاملاً با الگوی دیگر جمعیت‌های آسیایی متفاوت است [۱۶].

ژنوتیپ‌های  $ER-\alpha$  با عوامل خطر منتخب سرطان پستان از جمله سن شروع قاعدگی، وضعیت تاهل، سن شروع سرطان پستان، متاستاز LN و وجود یا عدم وجود سابقه خانوادگی سرطان پستان مقایسه شدند، تنها متاستاز LN و سابقه خانوادگی سرطان پستان ارتباط معنی‌دار نشان داد که با  $OR_S$  در جدول ۴ نمایش داده شده است.

فراوانی‌های ژنوتیپ، توزیع مختلفی را در حضور و عدم حضور سرطان پستان در فامیل درجه یک برای کدان ۱۰ نشان می‌دهد ( $P=0/005$ ). اگرچه خطر برآورد شده در افرادی که برای آلل ۱ در کدان ۱۰ هموزیگوت (۱۱) می‌باشند با  $OR<1$  بسیار بالاتر بود ( $OR\ 0.826$ ،  $95\%CI\ 0.463-1.477$ ). بررسی سابقه خانوادگی سرطان پستان در فامیل درجه یک نشان می‌دهد فراوانی آلل ۱ در بیماران با سابقه خانوادگی سرطان پستان (۷۸/۹ درصد) از فراوانی آلل ۱ در بیماران بدون سابقه خانوادگی سرطان پستان (۴۰/۸ درصد) بالاتر است. همچنین خطر برآورد شده برای سابقه خانوادگی سرطان پستان در فامیل درجه یک در افراد هموزیگوت (۱۱) برای آلل ۱ در کدان ۱۰ در مقایسه شکل هتروزیگوت مربوطه (۰۱) بسیار بیشتر بود ( $OR\ 2.229$ ،  $95\%CI\ 0.386-12.881$ ).

جدول ۴: خطر احتمالی برای مشخصات درماگرافی و فاکتورهای خطر عمده با زنوتیپ های متفاوت گیرنده استروژن  $\alpha$ ، اگزون ۱، کدان ۱۰

OR (95% CI)	P.value	خیر (n=147)	بله (n=150)	سرطان پستان ژنوتیپ
		تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	
1/0(reference)	۰/۰۱۳	(۵۵/۲)۳۲	(۴۴/۸)۲۶	نرمال
۰/۸۲۶(۰/۴۶۳-۱/۴۷۷)		(۵۰/۴)۱۱۳	(۴۶/۶)۱۱۱	هتروزیگوت
۰/۱۴۸(۰/۳۰-۰/۷۲۷)		(۱۳/۳)۲	(۸۶/۷)۱۳	هموزیگوت
OR (95% CI)	P.value	(n=90) >12	(n=60) ≤12	سن در زمان شروع قاعدگی ژنوتیپ
		تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	
1/0(reference)	۰/۹۷۳	(۶۵/۴)۱۷	(۳۴/۶)۹	نرمال
۰/۷۴۸(۰/۳۰۷-۱/۸۲۵)		(۵۸/۶)۶۵	(۴۱/۴)۴۶	هتروزیگوت
۰/۸۴۷(۰/۲۱۳-۳/۳۶۳)		(۶۱/۵)۸	(۳۸/۵)۵	هموزیگوت
OR (95% CI)	P.value	عدم ابتلا (n=131)	ابتلا (n=19)	سرطان پستان در بستگان درجه یک ژنوتیپ
		تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	
1/0(reference)	۰/۰۰۵	(۹۲/۳)۲۴	(۷/۷)۲	نرمال
۲/۲۲۹(۰/۳۸۶-۱۲/۸۸۱)		(۹۶/۴)۱۰۷	(۳/۶)۴	هتروزیگوت
-		-	(۱۰۰)۱۳	هموزیگوت
OR (95% CI)	P.value	خیر (n=127)	بلی (n=23)	متاستاز غدد لنفاوی ژنوتیپ
		تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	
1/0(reference)	۰/۰۰۱	(۹۲/۳)۲۴	(۷/۷)۲	نرمال
۰/۵۳۳(۰/۱۱۴-۲/۴۹۲)		(۸۶/۵)۹۶	(۱۳/۵)۱۵	هتروزیگوت
۰/۰۹۷(۰/۰۱۶-۰/۵۹۳)		(۵۳/۸)۷	(۴۶/۲)۶	هموزیگوت

<sup>a</sup> Genotype normal or 00, TCT/TCT, <sup>b</sup> Genotype heterozygote or 01, TCT/TCC, <sup>c</sup> Genotype homozygote or 11, TCC/TCC

## بحث و نتیجه‌گیری

ارتباط پلی‌مورفیسیم ژنتیکی ESR1 با خطر ابتلا به سرطان پستان توجه زیادی را به خود جلب کرده است زیرا ESRs به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رونویسی وابسته به هورمون به نوبه خود نقش قابل توجهی در بروز سرطان پستان بازی می‌کنند [۲۲ و ۲۸]. چندین پلی‌مورفیسیم در ژن ESR1 از جمله پلی‌مورفیسیم اگزون ۱ تاکنون [۲۶، ۲۳، ۱۶] گزارش شده‌اند. در مطالعات قبلی موضوع سرطان پستان و ارتباطش با پلی‌مورفیسیم ESR1 مطرح شده است [۹، ۲۴ و ۲۸]. جهش سوماتیکی ژن ESR1 نیز شناسایی شده است [۲۹] اما، موتاسیون ESR1 در سلول‌های جنسی به‌ندرت در بیماران مبتلا به سرطان پستان رخ می‌دهد. تفاوت‌های غیر قابل توضیح نشانه‌های سرطان پستان در بین سفیدپوستان آسیایی و سفیدپوستان غربی ما را به‌سوی تحقیق در مورد آنکه آیا عوامل ژنتیکی ناشناخته‌ای در ژنوم ایرانی‌ها در بروز سرطان پستان دخیل است، رهنمون ساخت و این ما را بر آن داشت تا به انجام تجزیه و تحلیل پلی‌مورفیسیم ESR1 به کمک SSCP-PCR پردازیم.

غربالگری در ژن ESR1 (اگزون ۱) در ۱۵۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۱۴۷ زن سالم انجام شد. پرایمرهای PCR مورد استفاده در یک غربالگری اولیه اولین بار در یک مطالعه مشابه در ایالات متحده انجام شده است [۹]. با این حال، غربالگری به روش PCR - SSCP نشان داد حضور SNP در کدان ۱۰ (TCT)  $\rightarrow$  (T/C S392S) در جمعیت ایران قبلاً نیز در ایالات متحده (۴۴/۹ درصد)، انگلستان (۴۱ درصد)، استرالیا (۵۱ درصد) و تایوان (۳۲ درصد) گزارش شده است [۱۶].

ژنوتایپ مبتنی بر PCR قادر به تشخیص جهش‌های جدید بود اما، هیچ کدام در کدان ۱۰ یافت نشد. در مطالعه اخیر، فراوانی SNP در ESR1 اگزون ۱ الگوی متفاوتی نسبت به گروه‌های مطالعه‌شده آسیایی به نمایش گذاشته است. مقایسه جمعیت ایران با کشورهای دیگر برای ژنوتیپ ESR1 در بیماران مبتلا به سرطان پستان به شرح زیر است: فراوانی آلل ۱ در کدان ۱۰ (T/C)، S392S) در بیماران مبتلا به سرطان پستان در ایران (سفیدپوستان آسیایی) (۴۵/۷ درصد) مشابه با گزارش‌های به‌دست آمده از جوامع غرب است اما، این فراوانی از مناطق آسیا از جمله تایوان [۱۶] و کره [۲۸] بسیار بالاتر می‌باشد.

این یافته‌ها همراه با بروز نسبتاً پایین سرطان پستان در ایران در مقایسه با جمعیت غربی حاکی از آن است که این SNP دارای اثرهای محافظتی در ابتلا به سرطان پستان و متاستاز LN در ایران است.

از لحاظ ابزار عملی رابطه بین کدان ۱۰ و احتمال، به‌عنوان یک شاخص بالینی در طول ارزیابی پیش جراحی، حداقل در جمعیت ایران سزاوار تحقیقات بیشتری است و به‌دلیل حمله به غدد لنفاوی با بازگشت و پیشرفت بیماری همراه می‌باشد. در زمان تصمیم‌گیری برای شیمی‌درمانی نیز متاستاز LN به‌عنوان یک شاخص بسیار مهم قابل توجه است [۳۰ و ۳۱]. مطالعات مختلف در متاستاز LN عواملی از جمله عامل ذاتی - ژنتیکی مربوط به تحرک سلول، تهاجم عروقی و رگ‌زایی را مورد مطالعه قرار داده‌است. اطلاعات ارائه‌شده نشان می‌دهد که وجود همبستگی مثبت بین آلل ۱ در کدان ۱۰ و متاستاز LN همراه با حضور هر دو آلل ۰ و ۱ در کنار هم ممکن است یکی از پارامترهای مهم در بروز متاستاز LN در سرطان پستان باشند (جدول ۴).

به‌طور خلاصه می‌توان اظهار داشت که در این مطالعه پلی‌مورفیسیم ESR1 در جمعیت ایرانی سرطان پستان (۱۵۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۱۴۷ فرد شاهد) با استفاده از PCR-SSCP از خون محیطی برای اولین بار انجام گرفت. مطالعه SNPs در اگزون ۱ ژن ESR1 در بین جوامع غربی و شرقی بخصوص در جمعیت شرق دور فراوانی متفاوتی را نشان داده است که این تفاوت با کمی تغییر در جمعیت ایران نیز مشاهده شد. همچنین در مطالعه اخیر، همبستگی معنی‌دار از نظر آماری بین توزیع آلل و تظاهر سرطان پستان فردی و خانوادگی در آلل ۱ از کدان ۱۰ (T/C S392S) یافت شد اما، به‌دلیل محدود بودن حجم نمونه در مطالعه حاضر، یافته‌های ما به تأیید بیشتری نیاز دارد. این به‌عنوان بخشی از کارهای آینده ما برنامه‌ریزی شده است زیرا تعیین SNP از خون محیطی گزینه بسیار عملی و غیرتهاجمی برای ارزیابی قبل از عمل جراحی و ادامه درمان می‌باشد.

## تشکر و قدردانی

این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران تحت گرانت شماره ۲۸۵۰ حمایت شده است.

## References

1. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, MosaviJarrahi A, Harirchi I, Najafi M, Ebrahimi M. Breast Cancer in Iran: An Epidemiological Review. *The Breast Journal* 2007; 13(4): 383-91.
2. Summary of Report on Cancer Incidence in Iran. Cancer and Genetics Administration, Non Communicable Diseases Sector of Iranian Center for Prevention and Control of Diseases. 2000. Deputy of Health, Ministry of Health, Treatment and Education, Islamic Republic of Iran, 2000.
3. Behjati F, Atri M, Najmabadi H, Nouri K, Zamani M, Mehdipour P. Prognostic value of chromosome 1 and 8 copy number in invasive ductal breast carcinoma among Iranian women: an interphase FISH analysis. *Pathol Oncol Res* 2005; 11(3):157-63.
4. Montazeri A, Ebrahimi M, Mehrdad N. Delayed presentation in breast cancer: A study in Iranian women. *BMC Womens Health* 2003; 3(1):4.
5. Harirchi I, Ebrahimi M, Zamani N, Jarvandi S, Montazeri A. Breast cancer in Iran: a review of 903 case records. *Public Health*. 2000; 114: 143-5.
6. Najafi M, Ebrahimi M, Kaviani A, Hashemi E, Montazeri A. Breast conserving surgery versus mastectomy: cancer practice by general surgeons in Iran. *BMC Cancer* 2005; 5: 35.
7. Bertucci F, Nasser V, Granjeaud S, Houlgatte R. Gene expression profiles of poor prognosis primary breast cancer correlate with survival. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 863-72.
8. Clark JH, Schrader WT, O'Malley, BW. Mechanism of action of steroid hormone Wilson J. D. Foster D. W. eds. *Textbook of Endocrinology*, WB. Saunders New York 1999: 35-90.
9. Roodi N, Bailey LR: Kao WY, Verrier CS, Yee CJ, Dupont WD, Parl FF. Estrogen receptor gene analysis in estrogen receptor-positive and receptor-negative primary breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst* 1995; 87: 446-51.
10. Potter JD, Cerhan JR, Sellers TA, McGovern PG, Drinkard C, Kushi LR, Folsom AR. Progesterone and estrogen receptors and mammary neoplasia in the Iowa Women's Health Study: how many kinds of breast cancer are there? *Cancer Epidemiol. Biomark Prev* 1995; 4: 319-26.
11. Rayer Z. Steroid receptors in breast cancer. *Br. J. Surg* 1991; 78: 528-35.
12. Menasce LP, White GR, Harrison CJ, Boyle JM. Localization of the estrogen receptor locus (ESR) to chromosome 6q25.1 by FISH and a simple post-FISH banding technique. *Genomics* 1993; 17: 263-5.
13. Enmark E, Peltö-Huikko M, Grandien K, Lagercrantz S, Lagercrantz J, Fried G, Nordenskjöld M, Gustafsson JA. Human estrogen receptor  $\beta$  gene structure, chromosomal localization and expression pattern. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 1997; 82: 4258-65.
14. Nilsson M, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA. Nuclear receptors in disease: the oestrogen receptors. *Essays Biochem* 2004; 40: 157-67.
15. Brinton L, Lacey J, Devesa SS. Epidemiology of Breast Cancer. In: Donegan WL, Spratt JS, *Cancer of the Breast*. 5. Philadelphia: WB Saunders 2002; 111-132.
16. Hsiao WC, Young KC, Lin SL, Lin PW. Estrogen receptor- $\alpha$  polymorphism in a Taiwanese clinical breast cancer population: a case-control study. *Breast Cancer Res* 2004; 6(3): R180-86.
17. Anderson E, Clarke RB, Howell A. Estrogen responsiveness and control of normal human breast proliferation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1998; 3:23-35.
18. Anderson E. The role of oestrogen and progesterone receptors in human mammary development and tumorigenesis. *Breast Cancer Res* 2002; 4: 197-201.
19. Key TJ, Pike MC. The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24: 29-43.
20. Ravdin PM, Green S, Dorr TM, McGuire WL, Fabian C, Pugh RP, Carter RD, Rivkin SE, Borst JR, Belt RJ, Metch B, Osborne CK. Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1284-91.
21. Yee CJ, Dupont WD, Parl FF. Estrogen receptor gene analysis in estrogen receptor-positive and receptor-negative primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 446-51.
22. Beato M, Herrlich P, Schultz G. Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot. *Cell* 1995; 83: 851-7.
23. Wedre S, Lovmar L, Humphreys K, Magnusson C, Melhus H, Syvanen AC.

- Oestrogen receptor- gene haplotype and postmenopausal breast cancer risk: a case control study. *Breast Cancer Res* 2004; 6(4): R437-49.
24. Iwase H, Greenman JM, Barnes DM, Hodgson S, Bobrow L, Mathew CG. Sequence variants of the estrogen receptor (ER) gene found in breast cancer patients with ER negative and progesterone receptor positive tumors. *Cancer Lett* 1996; 108:179-84.
25. Curran JE, Lea RA, Rutherford S, Weinstein SR, Griffiths LR. Association of estrogen receptor and glucocorticoid receptor gene polymorphisms with sporadic breast cancer. *Int J Cancer* 2001; 95: 271-5.
26. Vasconcelos A, Medeiros R, Veiga I, Pereira D, Carrilho S, Palmeira C, Azevedo C, Lopes CS. Analysis of estrogen receptor polymorphism in codon 325 by PCR-SSCP in breast cancer: association with lymph node metastasis. *Breast J* 2002; 8: 226-9.
27. Southey MC, Batten LE, McCredie MR, Giles GG, Dite G, Hopper JL, Venter DJ. Estrogen receptor polymorphism at codon 325 and risk of breast cancer in women before age forty. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 532-6.
28. Kang HJ, Kim SW, Kim HJ, Ahn SJ, Bae JY, Park SK, Kang D, Hirvonen A, Choe KJ, Noh DY. Polymorphisms in the estrogen receptor-alpha gene and breast cancer risk. *Cancer Lett* 2002; 178: 175-80.
29. Murphy LC, Dotzlaw H, Leygue E, Douglas D, Coutts A, Watson PH. Estrogen receptor variants and mutations. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997; 62: 363-72.
30. Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project protocol B-06. 10-year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Cancer* 1993; 71: 2507-14.
31. Goldhirsch A, Wood WC, Senn HJ, Glick JH, Gelber RD. Meeting highlights: international consensus panel on the treatment of primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1441-5.