مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۳، خرداد ۱۳۹۴(شماره پی در پی۹۸)

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم C26304T ژن XRCC1 با استعداد ابتلا به سرطان معده در جمعیت گیلان

زمان ارجمند، زیور صالحی*، فرهاد مشایخی، سمیرا مرزبند
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۱/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۳/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: سرطان معده یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها می‌باشد و تشخیص زود هنگام می‌تواند در روش درمان مؤثر باشد. ناپایداری ژنومی و در نتیجه بروز تغییرات ژنی یک مرحله مولکولی و پاتوژنیک قاطع می‌باشد که در اوایل روند سرطان‌زایی معده رخ می‌دهد. ژن XRCC1 یکی از مهم‌ترین ژن‌های ترمیم DNA می‌باشد. پروتئین XRCC1 نقش اساسی در مسیر ترمیم DNA با برداشت باز ایفا می‌کند. پلی‌مورفیسم‌های ژن XRCC1 توانایی ترمیم DNA را تحت تأثیر قرار داده و با استعداد ژنتیکی به سرطان مرتبط هستند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم C26304T ژن XRCC1 با خطر ابتلا به سرطان معده بود.

روش بررسی: در مطالعه مورد- شاهدی حاضر، DNA ژنومی از ۱۱۰ بیمار مبتلا به سرطان معده و ۱۱۶ فرد سالم استخراج شد. دو گروه از نظر سن، جنس و نژاد مطابقت داشتند. جهت تعیین فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم C26304T ژن XRCC1، از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و هضم آنزیمی استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری کای اسکوئر تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: فراوانی آلل‌های C و T در بیماران به ترتیب ۰/۸۸ و ۰/۱۱ و در افراد سالم ۰/۹۴ و ۰/۰۶ بود (p>۰/۰۵). توزیع ژنوتیپ‌های CC، CT و TT در بین افراد بیمار، به ترتیب ۷۸/۲، ۲۰ و ۱/۸ درصد بود. در بین گروه شاهد نیز، توزیع ژنوتیپ‌های CC، CT و TT به ترتیب ۸۸/۸، ۱۰/۳ و ۰/۹ درصد بود. از نظر فراوانی ژنوتیپی بین بیماران و افراد شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید. ژنوتیپ CT به طور معنی‌دار با افزایش خطر سرطان معده مرتبط بود (p=۰/۰۴۲). علاوه بر این توزیع ژنوتیپ CT+TT بین بیماران و افراد سالم متفاوت بود(p=۰/۰۳۳).

نتیجه‌گیری: غربالگری پلی‌مورفیسم ژن XRCC1 می‌تواند به عنوان یک نشانگر مفید در تعیین حساسیت فردی به سرطان معده و کمک به راهکارهای پیشگیری و درمانی در افراد مستعد مورد استفاده قرار گیرد. تأیید قطعی این امر نیازمند تکرار مطالعات مشابه با جمعیت‌های بزرگتر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان معده، XRCC1، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی، ترمیم DNA

*نویسنده مسئول: **زیور صالحی**، رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی
Email: geneticzs@yahoo.co.uk

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

مقدمه

سرطان معده نتیجه تکثیر کنترل نشده سلول‌های بدخیم در معده می‌باشد. سرطان معده به دلیل موارد بالای ابتلا به آن، پیش آگهی ضعیف و روش‌های درمانی محدود، با بیش از ۷۰۰۰۰۰ مرگ در هر سال، سومین علت مرگ و میرهای ناشی از سرطان در جهان محسوب می‌شود(۲ و۱). توسعه و پیشرفت این بیماری آهسته بوده و اکثر بیماران در مراحل پیشرفته بیماری تشخیص داده می‌شوند. علی‌رغم کاهش بروز بیماری در چند دهه اخیر و پیشرفت در درمان بیماری‌ها، جراحی تنها درمان امید بخش برای درمان می‌باشد. با این حال، حتی پس از عمل جراحی، بقا ۵ ساله پایین حدود ۳۰ درصد دارد و بیشتر بیماران در اثر متاستاز می‌میرند(۳ و۲). تشخیص زود هنگام و درمان سریع، مؤثرترین استراتژی برای درمان سرطان معده می‌باشد. نتیجه کمپین‌های آموزشی به وسیله انکولوژیست‌ها برای کاهش تعداد بیماران مبتلا به سرطان پیشرفته به اندازه کافی کارا نبوده است. علاوه بر این، هزینه‌های پزشکی با گذشت هر سال در حال افزایش است. از این رو به نظر می‌رسد تشخیص جمعیت با خطر بالای ابتلا به سرطان، یک روش عملی برای کاهش تعداد افراد مبتلا به سرطان باشد. به عنوان مثال، تشخیص تغییرات DNA مرتبط با حساسیت سرطان هر فرد، می‌تواند یک استراتژی مؤثر برای حل این مشکل باشد.

سرطان‌ها بیماری‌های تک ژنی نیستند. بسیاری از انکوژن‌ها، ژن‌های سرکوبگر تومور و ژن‌های ترمیم کننده DNA در این بیماری درگیر می‌باشند. DNA در اکثر سلول‌ها به طور منظم به وسیله موتاژن‌های درونی و بیرونی دچار آسیب می‌شود. سیستم‌های ترمیم کننده DNA نقش مهمی در حفاظت از ژنوم در برابر عوامل سرطان‌زا دارند. آسیب ترمیم نشده می‌تواند منجر به آپوپتوزیس و یا رشد غیر قابل تنظیم سلول و سرطان شود. آنزیم‌های ترمیم کننده DNA در تعمیر DNA آسیب دیده درگیر بوده و دارای یک نقش مهم در سرطان‌زایی می‌باشند. در انسان، بیش از ۷۰ ژن در چهار مسیر اصلی ترمیم DNA نقش دارند؛ ترمیم با برداشت باز(BER)، ترمیم با برداشت نوکلئوتید(NER)، ترمیم شکست دو رشته‌ای(DSBR) و ترمیم جفت باز اشتباه(MMR)(۴). انواع درگیر در مسیر BER شامل XRCC1، انواع درگیر در مسیر NER شامل XPC، XPD و ERCC1، انواع درگیر در مسیر DSBR شامل؛ BRCA1، BRCA2 و XRCC3 و انواع درگیر در مسیر MMR شامل hMLH1، hMSH2، hPMS2 و hMSH6 می‌باشند. اگر چه فعالیت آنزیمی XRCC1 هنوز به طور کامل مشخص نشده است، اما با بسیاری از پروتئین‌های درگیر در مسیر BER و ترمیم شکست تک رشته‌ای DNA (SSBR) برهمکنش دارد(۵ و۴).

ژن XRCC1 با ۱۷ اگزون و ۱۶ اینترون و با اندازه ۳۹ کیلوباز در موقعیت کروموزومی 19q13.2-13.3 قرار دارد (www.ncbi.nlm.nih.gov) و یک پروتئین ۷۰ کیلودالتونی با ۶۳۳ آمینواسید کد می‌کند(۶). محصول ژن XRCC1 به عنوان یک پروتئین داربست به طور مستقیم با سایر پروتئین‌ها از جمله DNA لیگاز III،

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

PARP [poly (ADP-ribose) polymerase]و DNA پلیمراز β مرتبط بوده و فرآیندهای BER و SSBR را تسهیل می‌کند(۷). مسیرBER، آسیب DNA ایجاد شده به وسیله انواعی از فاکتورهای داخلی و خارجی شامل؛ اکسیداسیون، عوامل آلکیله کننده و پرتوهای یونیزان را ترمیم می‌کند(۹ و۸).

پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) ممکن است عملکرد و توانایی ترمیم DNA را تغییر دهند. بیش از ۳۰۰ SNP در پایگاه داده‌ای dbSNP برای XRCC1 گزارش شده است که از این تعداد تقریباً ۳۵ واریانت در نواحی اگزونی و پروموتری قرار دارند. یکی از SNPs شایع این ژن، جایگزینی باز C با باز T در موقعیت نوکلئوتیدی ۲۶۳۰۴ در اگزون شماره ۶ می‌باشد که منجر به یک تغییر آمینواسیدی می‌شود(۱۰). پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی XRCC1 به عنوان یک عامل خطر با سرطان‌هایی از جمله سرطان ریه(۱۱)، پستان(۱۲)، پروستات(۱۴ و۱۳) پوست(۱۵) و کولورکتال(۱۶) مرتبط هستند. سرطان معده در ایران به خصوص مناطق شمال و شمال غرب کشور شیوع زیادی داشته و خطر ابتلا به آن در این مناطق بالاست. هم‌چنین با توجه به اهمیت ژن XRCC1 در ترمیم DNA و نقش پلی‌مورفیسم‌های این ژن در بیماری‌ها و سرطان‌های مختلف و نیز نقش عوامل ژنتیکی در ایجاد سرطان، هدف از این پژوهش بررسی ارتباط بین جایگاه پلی‌مورفیک C26304T ژن XRCC1 و خطر سرطان معده در جمعیت استان گیلان بود.

روش بررسی

این مطالعه از نوع موردـ شاهدی می‌باشد و جامعه آماری گروه بیمار شامل ۱۱۰ فرد مبتلا به سرطان معده است که در فاصله زمانی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳ به بیمارستان رازی رشت مراجعه نمودند. تشخیص سرطان معده براساس یافته‌های آندوسکوپی و پاتولوژی و تأیید پزشک فوق تخصص انجام گرفت. بیماران با انواع مختلف سرطان معده تشخیص داده شده وارد مطالعه شدند. ویژگی‌های دموگرافیک و خصوصیات بالینی و پاتولوژی بیماران شامل؛ سن، جنس، محل تومور، نوع سرطان معده و مرحله بیماری در چک لیست ثبت گردید. براساس شواهد بالینی و یافته‌های آزمایشگاهی بیماران مورد بررسی فاقد بیماری‌های التهابی مانند کولیت اولسرو و بیماری التهابی روده بودند. گروه شاهد شامل ۱۱۶ فرد سالم و غیر خویشاوند با افراد بیمار بودند که از نظر بالینی و یافته‌های آندوسکوپی فاقد سرطان بودند و از نظر مشخصات سنی، جنس، نژاد و منطقه جغرافیایی با بیماران مورد تحقیق مطابقت داشتند. افراد شاهد فاقد بیماری‌های خود ایمن، بیماری التهابی روده و یا بیماری‌های عفونی مزمن بودند. شرایط اخلاقی تحقیق یعنی آگاه نمودن بیماران مبنی بر این که نمونه خون گرفته شده از آن‌ها در جهت کارهای تحقیقاتی استفاده می‌گردد و نیز اطلاعات آن‌ها محرمانه بوده و افشا نخواهد شد، رعایت شد و کلیه داوطلبان قبل از ورود به مطالعه، فرم رضایت‌نامه استاندارد تدوین شده را امضا نمودند. از کلیه افراد

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

مورد مطالعه مقدار ۲ میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA اخذ گردید.

استخراج DNA ژنومیک از لنفوسیت نمونه‌های خون محیطی با استفاده از کیت Gpp Solution (ژن پژوهان، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. DNA به دست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و به عنوان الگو جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز(PCR) استفاده گردید.

در این مطالعه ژن XRCC1 واقع بر کروموزوم ۱۹ به عنوان ژن هدف مورد بررسی قرار گرفت. واکنش PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) جهت شناسایی پلی‌مورفیسم C26304T به کار برده شد. بدین منظور ابتدا به وسیله نرم‌افزار Oligo7 (نسخه V/۵۴) و پایگاه اطلاعاتی NCBI طراحی پرایمرها صورت گرفت. تکثیر قطعه ژنی مورد نظر به وسیله PCR و پرایمرهای اختصاصی مستقیم و معکوس F-5´TAC TCA CTC AGG ACC CAC GTT3´ و R-5´AGC AGC CCA CCT ATA ATA CTG AC3´ در دستگاه ترموسایکلر(بیوراد) انجام گرفت. برنامه زمانی گرمایی دستگاه در سه مرحله تنظیم گردید. مرحله اول که منجر به دناتوراسیون اولیه ملکول‌های DNA می‌شود، ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد، مرحله دوم، ۹۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه جهت دناتوراسیون ثانویه،۵۷/۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه برای اتصال پرایمر و ۷۲ درجه به مدت ۴۵ ثانیه جهت گسترش پرایمرها در ۳۵ سیکل متوالی انجام شد و در مرحله سوم ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه برای گسترش نهایی انجام شد. این واکنش‌ها در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری انجام شد. ترکیب‌های هر واکنش شامل ۱۰۰ـ۵۰ نانوگرم DNA ژنومیک، ۰/۵ میکرومول از هر پرایمر، ۲/۵ میکرولیتر بافر واکنش PCR، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۰/۲ میلی‌مولار از هر dNTPs و ۱/۵ واحد Taq DNA polymerase انجام شد. ژل آگارز ۲ درصد مخلوط با رنگ اتیدیوم بروماید آماده شد و سپس محصولات تکثیر شده ژن هدف و مارکر DNA روی ژل آگارز بارگذاری و الکتروفورز شد و زیر نور UV مشاهده گردید. این مرحله برای تأیید تکثیر قطعات اختصاصی ژن و عدم حضور محصولات غیر اختصاصی و جفت شدن پرایمرها انجام شد.

برای انجام RFLP جهت هضم آنزیمی قطعه ۱۸۳ جفت‌بازی مورد نظر در ژن XRCC1، از آنزیم محدود کننده PvuII استفاده شد. مخلوط واکنش جهت هضم آنزیمی شامل ۰/۳ میکرولیتر آنزیم محدود کننده *Pvu*II، ۱/۵ میکرولیتر بافر آنزیم، ۳ میکرولیتر آب استریل و ۱۰ میکرولیتر محصول PCR بود. این مخلوط در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴ ساعت انکوبه گردید. در صورت وجود آلل T در قطعه ۱۸۳ جفت بازی تکثیر شده، محصول PCR شکسته شده و دو قطعه ۱۲۷ و ۵۶ جفت بازی تولید می‌شود. پس از اتمام مدت انکوباسیون، محصولات RFLP روی ژل آگارز ۳ درصد تحت تأثیر الکتروفورز از هم جدا شدند.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار MedCalc و آزمون آماری مجذور کای، تجزیه و تحلیل شدند. با استفاده از آنالیز آماری، نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان ۹۵ درصد (۹۵ درصد CI) محاسبه و ارتباط بین پلی‌مورفیسم و بیماری مشخص گردید. p<۰/۰۵ از لحاظ آماری، یک مقدار معنی‌دار در نظر گرفته شد.

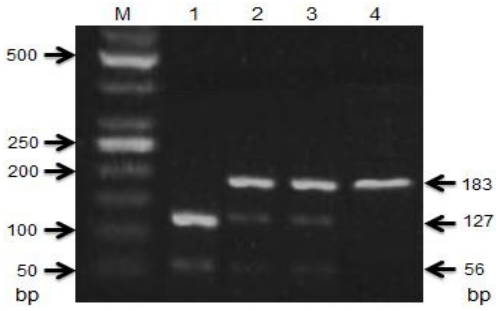
یافته‌ها

پس از قرار گرفتن محصول PCR در معرض آنزیم محدود کننده و الکتروفورز بر روی ژل آگارز، بر اساس نوع ژنوتیپ یکی از حالات زیر به دست آمد؛ بر این اساس تک باند ۱۸۳ جفت بازی نشان دهنده ژنوتیپ CC، دو باند ۱۲۷ و ۵۶ جفت بازی نشان دهنده ژنوتیپ TT و سه باند ۱۸۳، ۱۲۷ و ۵۶ جفت بازی نشان دهنده ژنوتیپ CT می‌باشد (شکل۱).

جدول ۱ توزیع فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم C26304T ژن XRCC1 در بیماران مبتلا به سرطان معده و افراد سالم را نشان می‌دهد. از نظر توزیع فراوانی ژنوتیپی، از ۱۱۰ بیمار مبتلا به سرطان معده، ۸۶ نفر (۷۸/۲ درصد) دارای ژنوتیپ هموزیگوت طبیعی CC، ۲۲ نفر (۲۰ درصد) دارای ژنوتیپ هتروزیگوت CT، و ۲ نفر(۱/۸ درصد) دارای ژنوتیپ هموزیگوت موتانت TT بودند. فراوانی ژنوتیپی در گروه شاهد برای ژنوتیپ‌های CC، CT و TT به ترتیب ۱۰۳ نفر (۸۸/۸ درصد)، ۱۲ نفر (۱۰/۳ درصد) و ۱ نفر (۰/۹ درصد) مشاهده شد. با توجه به توزیع فراوانی ژنوتیپی بین گروه بیمار و شاهد و مقایسه آن‌ها مشخص شد توزیع ژنوتیپ CT بین این دو گروه دارای یک اختلاف معنی‌دار است(p=۰/۰۴۲ ,OR=۲/۱۹۵, CI=۱/۰۲۷ – ۴/۶۹۲). نتایج نشان داد تعداد آلل‌های C و T در افراد گروه بیمار به ترتیب ۱۹۴ (۰/۸۸) و ۲۴(۰/۱۱) و در افراد گروه شاهد نیز به ترتیب ۲۱۸ (۰/۹۴) و ۱۴ (۰/۰۶) بود که تفاوت معنی‌داری بین آلل‌های ژن XRCC1 بین افراد دو گروه یافت نشد(p> ۰/۰۵)(جدول ۱).

در این تحقیق مجموعاً ۲۲۶ نفر مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد ۱۱۰ نفر با میانگین سنی ۶۴/۲ سال، مبتلا به سرطان معده بودند. از این تعداد بیمار، ۷۲ نفر(۶۵/۴ درصد) مرد و ۳۸ نفر (۳۴/۵ درصد) زن بودند. تعداد ۱۱۶ نفر با میانگین سنی ۶۳/۵ سال نیز افراد سالمی بودند که به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. در گروه شاهد تعداد ۷۳ نفر(۶۲/۹ درصد) مرد و ۴۳ نفر(۳۷/۱ درصد) زن بودند. از نظر پاتولوژی، آدنوکارسینوما با ۹۴/۵ درصد شایع‌ترین نوع سرطان معده در بین بیماران مورد بررسی بود. هم‌چنین از نظر موقعیت آناتومیکی، ناحیه کاردیای معده با ۴۰ درصد شایع‌ترین محل حضور تومور بود و پس از آن تنه و آنتر به ترتیب با ۳۱/۸ درصد و ۲۸/۲ درصد در مرتبه دوم و سوم قرار داشتند. از نظر مرحله پاتولوژیکی تومور نیز، تعداد ۴ نفر(۳/۶ درصد) در مرحله ۱، ۱۸ نفر(۱۶/۴ درصد) در مرحله دو، ۳۵ نفر (۳۱/۸ درصد) در مرحله سه و ۴۶ نفر (۴۱/۸ درصد) در مرحله چهار قرار داشتند. اطلاعات مربوط به خصوصیات نمونه‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019



شکل۱: ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم C26304T ژن XRCC1. M: مارکر ۵۰ جفت بازی، ستون ۱: ژنوتیپ TT (۱۲۷ و ۵۶ جفت باز)، ستون ۲ و ۳: ژنوتیپ CT (۱۸۳، ۱۲۷ و ۵۶ جفت باز)،
ستون ۴: ژنوتیپ CC (۱۸۳ جفت باز)

جدول۱: مقایسه فراوانی آللی و ژنوتیپی حاصل از پلی‌مورفیسم C26304T ژن XRCC1 در بیماران مبتلا به سرطان معده و گروه شاهد

متغیر	بیمار(درصد) تعداد=۱۱۰	شاهد (درصد) تعداد=۱۱۶	نسبت شانس با حدود اطمینان ۹۵ درصد	سطح معنی‌داری
ژنوتیپ CC	۸۶ (٪۷۸/۲)	۱۰۳ (٪۸۸/۸)	۱/۰۰۰ (Ref)	
ژنوتیپ CT	۲۲ (٪۲۰)	۱۲ (٪۱۰/۳)	۲/۱۹۵ (۱/۰۲۷ – ٤/٦٩٢)	۰/۰٤۲
ژنوتیپ TT	۲ (٪۱/۸)	۱ (٪۰/۹)	۲/۳۹۵ (۰/۲۱۳ – ۲٦/۸۷۰)	۰/٤۷۸
CC vs. CT+TT			۲/۲۱۱ (۱/۰٦۲– ٤/٦۰۲)	۰/۰۳۳
TT vs. CT+CC			۰/٤٦۹ (۰/٤۱۹– ٥/۲٥۳)	۰/٥۳۹
آلل C	۱۹٤ (۰/۸۸)	۲۱۸ (۰/۹٤)	۱/۰۰۰ (Ref)	
آلل T	۲٤ (۰/۱۱)	۱٤ (۰/۰٦)	۱/۹۲٦ (۰/۹٦۹– ۳/۸۲۸)	۰/۰٦۱

جدول۲: اطلاعات مربوط به بیماران مبتلا به سرطان معده

خصوصیات	تعداد (درصد)
جنس	
مرد	۷۲ (٦٥/٤)
زن	۳۸ (۳٤/٥)
پاتولوژی	
آدنوکارسینوما	۱۰٤ (۹٤/٥)
لنفوم	۲ (۱/۸)
سایر	٤ (۳/٦)
موقعیت آناتومیکی	
کاردیا	٤٤ (٤۰)
آنتر	۳۱ (۲۸/۲)
تنه	۳٥ (۳۱/۸)
مرحله پاتولوژیکی تومور	
۱	٤ (۳/٦)
۲	۱۸ (۱٦/٤)
۳	۳٥ (۳۱/۸)

٤	٤٦ (٤١/٨)
نامشخص	٧ (٦/٤)

بحث

درک زمینه ژنتیکی و اتیولوژی سرطان معده برای تشخیص خطر سرطان ضروری بوده و به شناسایی بیومارکرها و یافتن اهداف و روش‌های درمانی جدید کمک می‌کند. این موضوع هم‌چنین به پیش‌بینی بیماری و توسعه فرآیندهای درمان فردی در آینده کمک خواهد کرد(۱۷). تشخیص زود هنگام این بیماری و عوامل پیش آگهی دهنده بقاء در بیماران مبتلا به سرطان معده، یک امر ضروری و حیاتی می‌باشد. داشتن اطلاعات جدید در زمینه عوامل مؤثر بر بقاء سرطان به عنوان یکی از ارکان مهم برای انکولوژیست‌ها، پزشکان، اپیدمیولوژیست‌ها و تمامی افرادی که درگیر مسائل بالینی و پژوهشی می‌باشند، ضروری است و این امر به برنامه‌ریزی مدون برای آموزش همگانی درباره تشخیص و علایم خطر اولیه بیماری و انجام آزمایش‌های دوره‌ای کمک می‌کند. شواهد نشان می‌دهد واریانت‌های ژنتیکی باعث اختلاف در توانایی‌های ترمیم DNA در جمعیت انسانی می‌شوند. بنابراین پلی‌مورفیسم‌های شایع می‌توانند در استعداد ژنتیکی افراد به سرطان دارای یک نقش باشند.

نتایج این پژوهش نشان‌دهنده‌ی ارتباط پلی‌مورفیسم C26304T ژن XRCC1 با سرطان معده می‌باشد. فراوانی بالای ژنوتیپ CC در افراد سالم (۸۸/۸ درصد) نسبت به افراد بیمار(۷۸/۲ درصد) نشان می‌دهد که این ژنوتیپ ممکن است نقش حفاظتی داشته و به عنوان یک ژنوتیپ محافظ در برابر ابتلا به سرطان معده عمل نماید. از سویی دیگر بالا بودن فراوانی ژنوتیپ CT در افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم، نشان می‌دهد که ژنوتیپ CT ممکن است یک ژنوتیپ با خطر ابتلا به سرطان معده باشد. هم‌چنین فراوانی ژنوتیپ TT در افراد بیمار دو برابر افراد سالم بود، ولی به علت تعداد کم افراد با ژنوتیپ TT و نبود اختلاف معنی‌دار بین این دو گروه نمی‌توان این ژنوتیپ را یک فاکتور خطر در نظر گرفت. با توجه به توزیع ژنوتیپ CT و نیز توزیع ژنوتیپ CT+TT که در بین بیماران و افراد سالم به طور معنی‌دار متفاوت بودند، به نظر می‌رسد آلل T در محل این پلی‌مورفیسم یک فاکتور خطر برای ابتلا به سرطان معده باشد و افراد با یک آلل T با احتمال بیشتری به سرطان معده مبتلا می‌شوند. لذا ممکن است بتوان از این آلل به عنوان یک بیومارکر پیش آگهی دهنده و تشخیصی در برنامه‌های غربالگری مربوط به سرطان معده در استان گیلان استفاده نمود.

آسیب‌های DNA مانند آسیب اکسیداتیو DNA و شکست‌های تک رشته‌ای و دو رشته‌ای DNA، در پیشرفت و توسعه سرطان درگیر هستند. این آسیب‌ها ممکن است باعث خطاهایی در جریان سنتز DNA شده و در ادامه باعث جهش‌های DNA و افزایش خطر توسعه سرطان شوند. هیچ شکی نیست که ژن‌های ترمیم کننده DNA از طریق مسیرهای ترمیمی مختلف نقش مهمی در حفظ پایداری ژنوم دارند. چندین ژن

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

ترمیم کننده DNA که دارای نقش‌های اساسی در حفظ تمامیت ژنوم هستند به طور گسترده مطالعه شده‌اند(۱۸ و۴). پروتئین XRCC1 که به وسیله ژن XRCC1 کد می‌شود، فرآیند BER و ترمیم شکست‌های تک رشته‌ای در سلول‌های پستانداران را از طریق برهم‌کنش با چندین جزء آنزیمی تسهیل می‌نماید(۷). واریانت‌های ژن XRCC1 ممکن است تغییر ساختار یا عملکرد پروتئین را باعث شوند و یا پروتئین‌هایی ایجاد کنند که کارایی BER را تحت تأثیر قرار داده و از این‌رو استعداد افراد به سرطان معده را تغییر دهند. پلی‌مورفیسم C26304T در محل اگزون ۶ ژن XRCC1 و در دمین حفاظت شده‌ی پروتئین داربستی XRCC1 قرار دارد و به طور بالقوه روی تشکیل و کارایی کمپلکس ترمیمی اثر دارد. این پلی‌مورفیسم باعث یک تغییر آمینواسیدی از آرژینین به تریپتوفان در کدون ۱۹۴ پروتئین کد شده می‌شود. این تغییر آمینواسیدی که در داخل هسته هیدروفوبیک پروتئین قرار دارد، ممکن است با تغییر برهم‌کنش‌های پروتئین ـ پروتئین بین XRCC1 و سایر پروتئین‌های BER، توانایی ترمیم DNA را تحت تأثیر قرار دهد(۱۹ و۱۰).

مطالعه‌ها نشان می‌دهد ارتباط آشکاری بین این پلی‌مورفیسم و خطر سرطان، صرف‌نظر از نوع سرطان، وجود دارد. نتایج حاصل از یک بررسی متاآنالیز بر روی پلی‌مورفیسم‌های ژن XRCC1 نشان داد حاملان ژنوتیپ TT در پلی‌مورفیسم C26304T ممکن است در معرض خطر افزایش یافته ابتلا به سرطان معده باشند(۲۰). مطالعاتی دیگر با نتایج مشابه نشان می‌دهد ژنوتیپ‌های CT و TT و نیز آلل T باعث افزایش خطر ابتلا به سرطان دهان(۲۱) و ژنوتیپ CT باعث افزایش خطر ابتلا به انواع خاصی از سرطان‌های پوست می‌شود(۱۵). از سوی دیگر، در برخی مطالعه‌ها هیچ تفاوتی در توزیع ژنوتیپ، فراوانی آللی و ارتباط آن با وقوع سرطان یافت نشده است. در مطالعه‌های انجام شده در آمریکا(۲۲) و چین(۲۳) نتایج نشان دهنده عدم ارتباط ژنوتیپ CT و آلل T با سرطان معده است. نتایج یک بررسی متاآنالیز نیز هیچ ارتباطی را بین پلی‌مورفیسم C26304T و سرطان کبد نشان نداد(۲۴). یافته‌های این پژوهش نیز ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ CT و آلل T در ژن XRCC1 در مقایسه گروه بیمار و شاهد با خطر سرطان معده نشان داد که شاهد جدیدی برای نقش احتمالی این پلی‌مورفیسم در توسعه و پیشرفت سرطان‌ها می‌باشد. دلایل احتمالی تفاوت در نتایج مطالعه‌های مختلف ممکن است تا حدودی به علت اختلافات قومی و نژادی، وضعیت بیماری، اندام درگیر در بیماری، اندازه نمونه، زمینه‌های ژنتیکی و هم‌چنین پیچیدگی بیان ژن و یا تنظیم بیان ژن در سطوح مختلف باشد. اثرات فنوتیپی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی به وسیله سایر عوامل ژنتیکی یا زمینه ژنتیکی فرد و عوامل محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد که مثالی از برهمکنش ژن و محیط برای ایجاد یک فنوتیپ است. از این رو به نظر می‌رسد پلی‌مورفیسم‌ها فقط در ارتباط با یک زمینه ژنتیکی خاص و یا همراه با عوامل محیطی، می‌توانند باعث

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

بروز بیماری و اختلال شوند، لذا پیشنهاد می‌شود جهت بررسی دقیق‌تر پلی‌مورفیسم‌ها و ارتباط آن‌ها با بیماری‌ها در این نوع مطالعه‌ها نمونه‌های شاهد و بیمار از مناطق مشابهی انتخاب گردند تا علاوه بر داشتن زمینه ژنتیکی مشابه، دارای عوامل محیطی مشابه نیز باشند.

نتیجه‌گیری

عملکردهای بیولوژیک ژن XRCC1 در ترمیم DNA آسیب دیده مهم هستند. مجموع مطالعه‌های صورت گرفته و پژوهش حاضر می‌تواند شاهدی مبنی بر پلی‌ژنیک بودن سرطان معده باشد. نتایج حاصل از این مطالعه وجود ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ CT و آلل T و سرطان معده را نشان می‌دهد، لذا احتمالاً آلل T می‌تواند به عنوان یک فاکتور خطر ژنتیکی در استعداد ابتلا به سرطان معده در جمعیت مورد مطالعه نقش داشته باشد. از این رو غربال‌گری افراد در محل این پلی‌مورفیسم، می‌تواند به عنوان یک مارکر مفید در تعیین استعداد افراد به سرطان معده و کمک به راهکارهای پیشگیری و درمانی در افراد مستعد مورد استفاده قرار گیرد. اگرچه مطالعه‌های بیشتر با نمونه‌های بزرگتر جهت تأیید این یافته‌ها مورد نیاز است.

تقدیر و تشکر

از کلیه بیمارانی که با مشارکت خود انجام این تحقیق را امکان‌پذیر نمودند، و آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه گیلان در فراهم آوردن تجهیزات مورد نیاز صمیمانه قدردانی می گردد.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

REFERENCES

1.Forman D, Sierra M. The current and projected global burden of gastric cancer. IARC Helicobacter pylori Working Group Helicobacter pylori Eradication as a Strategy for Preventing Gastric Cancer Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. IARC Working Group Reports 2014; (8): 5-15.

2.Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric Adenocarcinoma: Review and Considerations for Future Directions. Annals of Surgery 2005; 241(1): 27-39.

3.Dragovich T, Campen C. Anti-EGFR-targeted therapy for esophageal and gastric cancers: an evolving concept. Journal of Oncology 2009; 10: 33 .

4.Hoeijmakers JHJ. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. Nature 2001; 411(6835): 366-74.

5.Kang SY, Lee KG, Lee W, Shim JY, Ji SI, Chung KW, et al. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 associated with basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma of the skin in a Korean population. Cancer Science 2007; 98(5): 716-20.

6.Hanssen-Bauer A, Solvang-Garten K, Gilljam KM, Torseth K, Wilson III DM, Akbari M, et al. The region of XRCC1 which harbours the three most common nonsynonymous polymorphic variants, is essential for the scaffolding function of XRCC1. DNA Repair 2012; 11(4): 357-66.

7.Caldecott KW, Aoufouchi S, Johnson P, Shall S. XRCC1 polypeptide interacts with DNA polymerase β and possibly poly (ADP-ribose) polymerase, and DNA ligase III is a novel molecular 'nick-sensor'in vitro. Nucleic Acids Research 1996; 24(22): 4387-94.

8.Lindahl T. Suppression of spontaneous mutagenesis in human cells by DNA base excision–repair. Mutation Research/Reviews in Mutation Research 2000; 462(2–3): 129-35.

9.Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B. Mechanisms of human DNA repair: an update. Toxicology 2003; 193(1–2): 3-34.

10.Thompson L, Brookman K, Jones N, Allen S, Carrano A. Molecular cloning of the human XRCC1 gene, which corrects defective DNA strand break repair and sister chromatid exchange. Molecular and Cellular Biology 1990; 10(12): 6160-71.

11.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.

12.Moullan N, Cox DG, Angèle S, Romestaing P, Gérard J-P, Hall J. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1, breast cancer risk, and response to radiotherapy. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 2003; 12(11): 1168-74.

13.Hirata H, Hinoda Y, Tanaka Y, Okayama N, Suehiro Y, Kawamoto K, et al. Polymorphisms of DNA repair genes are risk factors for prostate cancer. European Journal of Cancer 2007; 43(2): 231-7.

14.Rybicki BA, Conti DV, Moreira A, Cicek M, Casey G, Witte JS. DNA repair gene XRCC1 and XPD polymorphisms and risk of prostate cancer. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 2004; 13(1): 23-9.

15.Chiyomaru K, Nagano T, Nishigori C. XRCC1 Arg194Trp polymorphism, risk of nonmelanoma skin cancer and extramammary Paget's disease in a Japanese population. Archives of Dermatological Research 2012; 304(5): 363-70.

16.Abdel-Rahman SZ, Soliman AS, Bondy ML, Omar S, El-Badawy SA, Khaled HM, et al. Inheritance of the 194Trp and the 399Gln variant alleles of the DNA repair gene XRCC1 are associated with increased risk of early-onset colorectal carcinoma in Egypt. Cancer Letters 2000; 159(1): 79-86.

17.McLean MH, El-Omar EM. Genetics of gastric cancer. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2014; 11(11): 664-74.

18.Curtin NJ. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. Nature Reviews Cancer 2012; 12(12): 801-17.

19.Ginsberg G, Angle K, Guyton K, Sonawane B. Polymorphism in the DNA repair enzyme XRCC1: utility of current database and implications for human health risk assessment. Mutation Research/Reviews in Mutation Research 2011; 727(1): 1-15.

20.Chen B, Zhou Y, Yang P, Wu X-T. Polymorphisms of XRCC1 and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis. Molecular Biology Reports 2012; 39(2): 1305-13.
21.Zhang Y, Wang Y, Wu J, Li L-J. XRCC1 Arg194Trp polymorphism is associated with oral cancer risk: evidence from a meta-analysis. Tumor Biology 2013; 34(4): 2321-7.
22.Ratnasinghe LD, Abnet C, Qiao Y-L, Modali R, Stolzenberg-Solomon R, Dong Z-W, et al. Polymorphisms of XRCC1 and risk of esophageal and gastric cardia cancer. Cancer Letters 2004; 216(2): 157-64.
23.Yan L, Yanan D, Donglan S, Na W, Rongmiao Z, Zhifeng C. Polymorphisms of XRCC1 gene and risk of gastric cardiac adenocarcinoma. Diseases of the Esophagus 2009; 22(5): 396-401.
24.Xie T, Wang Z-G, Zhang J-L, Liu H. X-ray repair cross-complementing group 1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. World journal of gastroenterology. WJG 2012; 18(31): 4207.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 5:49 +0430 on Saturday May 25th 2019

Association between XRCC1 C26304T gene Polymorphism and susceptibility to Gastric Cancer in Guilan population

Arjmand Z, Salehi Z*, Mashayekhi F, Marzband S

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

Received: 21 March 2015 Accepted: 31 May 2015

Abstract

Background & aim: Gastric cancer is one of the most common malignancies and its early diagnosis can be effective in their treatment. Loss of genomic stability and the resulting gene alterations appears to be a crucial molecular and pathogenic step that occurs early in the gastric carcinogenesis process. X-ray repair cross-complementing gene 1 (XRCC1) is one of the most important DNA repair genes. The XRCC1 protein plays an essential role in base excision repair. Coding polymorphisms of the XRCC1 gene have been shown to affect the DNA repair capacity and to be associated with genetic susceptibility to carcinogenesis. The aim of this study was to investigate the association of XRCC1 C26304T gene polymorphism with the risk of gastric cancer.

Methods: In the present case-control study, genomic DNA was extracted from 110 cases with gastric cancer and 116 normal subjects as control group. Two groups had similar age, sex and ethnic background. The Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method was used for detection the genotype and allele frequencies of XRCC1 single nucleotide polymorphism in each subject. Data were analyzed using the MedCalc (V.12.1) software and Chi-square test and $P<0.05$ was considered significant.

Results: C and T allele frequency in patients 0.88, 0.11 and in healthy subjects were 0.94, 0.06 respectively ($p>0.05$). The C and T allele frequencies in cases were 0.88 and 0.11, respectively and 0.94 and 0.06 in healthy individuals ($p>0.05$). The distribution of CC, CT and TT genotypes among cancer cases were 78.2%, 20%, 1.8%,and In the control group were 88.8%, 10.3%, and 0.9% respectively. The genotype frequencies were significantly different in the cases and controls. The CT genotype was significantly associated with an increased risk of gastric cancer ($p= 0.042$). In addition, the distribution of the CT+TT genotype was different between case and control subjects ($p= 0.033$).

Conclusions: Results revealed that the Screening of XRCC1 gene polymorphism could be a marker in personal sensitivity to gastric cancer and useful in cancer treatment and prevention process. Confirmation of this finding needs to be repeated with similar studies in larger population.

Key words: Gastric cancer, XRCC1, Single Nucleotide Polymorphism, DNA Repair

***Corresponding author: Salehi Z**, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
Email: geneticzs@yahoo.co.uk

Please cite this article as follows:
Arjmand Z, Salehi Z, Mashayekhi F, Marzband S. Association between XRCC1 C26304T gene Polymorphism and susceptibility to Gastric Cancer in Guilan population. Armaghane-danesh 2015; 20 (3): 198-209.