مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و چهارم/شماره‌ی ۴۰۳/هفته‌ی سوم آذر ماه ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۵

اهمیت پیش‌آگهی پلی‌مورفیسم ژن ترمیم DNA (Arg XRCC1۳۹۹Gln) در بیماران مبتلا به سرطان ریه در جمعیت استان فارس

فهیمه 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 Arg۳۹۹Gln 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 Arg۳۹۹Gln 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 XRCC1۳۹۹Gln 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 فهیمه، طهماسب محمد، قادری عباس. **اهمیت پیش‌آگهی پلی‌مورفیسم ژن ترمیم DNA (Arg XRCC1۳۹۹Gln) در بیماران مبتلا به سرطان ریه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۳): ۱۲۵۰-۱۲۴۴

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 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

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۳- استاد، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: محمد طهماسب
Email: tahmaseb@khu.ac.ir

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 (٤). 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) (٦-٥) و ترمیم شکست‌های تک رشته‌ای (SSBR یا Single-strand break repair) نشان داده شده است (٩-٧).

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 پلیمراز Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) در محل آسیب DNA ایفای نقش می‌کند. این پروتئین، در ترمیم BER با پروتئین‌ها، کمپلکس تشکیل می‌دهد (١٠).

از بین بیشتر از ٣٠٠ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی کشف شده در ژن XRCC1، سه مورد از آن‌ها شامل Arg١٩٦Trp (در اگزون ٦)، Arg٢٨٠His (در اگزون ٩) و Arg٣٩٩Gln (در اگزون ١٠)، بیشترین مطالعات در خصوص ارتباط با استعداد ابتلا به سرطان در جمعیت‌های مختلف را به خود اختصاص داده‌اند. پلی‌مورفیسم‌های 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 پلی‌مورفیسم Arg٣٩٩Gln 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 پلی‌مورفیسم بود (١/١-٠/٤ = CI ٩٥ درصد، ٠/٦ = OR) (١١). در حالی که برخی مطالعات دیگر نشان داد که این واریانت ژن، سبب افزایش خطر ابتلا به کارسینومای پانکراسی (١٢) و سرطان سینه (١٣) می‌شود.

در این مطالعه، برای اولین بار، ارتباط پلی‌مورفیسم (SNP یا Single-nucleotide polymorphism) با مشخصه‌ی rs٢٥٤٨٧ که در آن باز A جایگزین باز G (g.٢٩٠٠٥G>A، c.١١٩٦G>A یا Arg٣٩٩Gln) شده است، با استعداد ابتلا به سرطان ریه از نوع NSCLC در جمعیت ایرانی مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

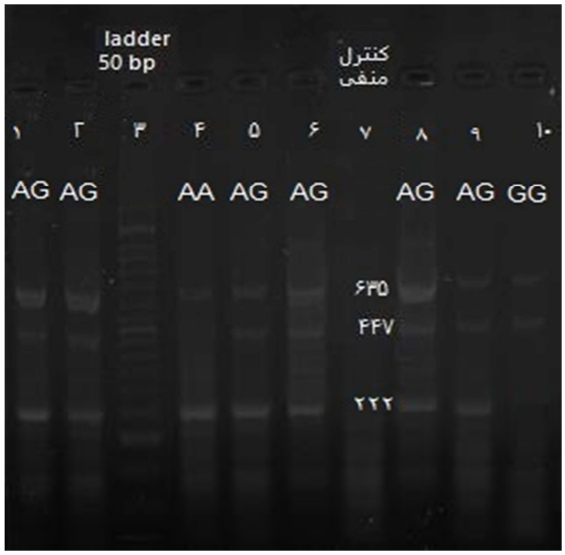
نمونه‌گیری: در این مطالعه‌ی مورد- شاهدی (Case-control)، نمونه‌ی خون ١٠٠ فرد مبتلا به سرطان ریه از نوع NSCLC که بیماری آن‌ها مورد تأیید متخصصین ریه و انکولوژی بیمارستان شهید فقیهی شیراز قرار گرفته بود و نیز ١٠٠ فرد سالم که برای اهدای خون به سازمان انتقال خون شهر شیراز مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار 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 شرکت کننده در مطالعه انجام شد.

استخراج DNA ژنومی: از تمام افراد مورد مطالعه ٥ 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 G (5 CCCTGCGCCGCTGCAGTTTCT: F_{out} و 5 TGGCGTGTGAGGCCTTACCTCC: R_{in}) سبب تکثیر قطعه‌ای به طول ٤٤٧ bp و جفت پرایمرهای اختصاصی برای آلل A (5 TCGGCGGCTGCCCTCCCA: F_{in} و 5 AGCCCTCTGTGACCTCCCAGGC: R_{out}) قطعه‌ای به طول ٢٢٢ bp را تکثیر می‌کند. جفت پرایمر F_{out} و R_{out} (جفت پرایمرعمومی خارجی) به عنوان شاهد داخلی شرایط PCR عمل کرده و قطعه‌ای به طول ٦٣٥ bp را تکثیر می‌کند.

واکنش PCR در حجم ١٠ میکرولیتر حاوی ٥ میکرولیتر از محلول Master Mix ٢X شامل Tris-HCl با pH ٨/٥، $MgCl_2$ ٠/٢ emM، Tween-20 ٠/٢ درصد، ٠/٤ میلی‌مولار Deoxynucleotide triphosphate (dNTP)، ٢ واحد بر میکرولیتر Amplicon Taq DNA polymerase، Stabilizer and inert red (شرکت پیشگام)، ٥٠ نانوگرم از DNA ژنومی، ٠/٢ میکرولیتر از پرایمرهای چهارگانه (سنتز شده توسط شرکت پیشگام) و حجم مناسبی از آب دیونیزه و با برنامه‌ی ١٠دقیقه دمای ٩٥ درجه‌ی سانتی‌گراد واسرشتی اولیه، سپس ٣٠ چرخه‌ی دمایی شامل ١ دقیقه دمای ٩٥ درجه‌ی سانتی‌گراد، ٣٠ ثانیه دمای ٦٦ درجه‌ی سانتی‌گراد و ١ دقیقه دمای ٧٢ درجه‌ی سانتی‌گراد و در نهایت، ١٠ دقیقه دمای ٧٢ 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 ١).

جهت اطمینان از روش مورد مطالعه برای تعیین ژنوتیپ، ٢٠ 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.



شکل ۱. الکتروفورز محصول Polymerase chain reaction (PCR) ۸ فرد بیمار برای تعیین ژنوتیپ آن‌ها نسبت به پلی‌مورفیسم rs۲۵۴۵۷ در ژن XRCC1. چاهک شماره‌ی ۳، اندازه‌ی نمای DNA (۵۰ bp ladder) و چاهک شماره‌ی ۷ شاهد منفی می‌باشد.

آنالیز آماری: برای بررسی تعادل Hardy-Weinberg (Hardy-Weinberg equilibrium یا HWE) 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 (CI ۹۵ درصد) بر مبنای رگرسیون لوجستیک غیر شرطی (Unconditional logistic regression) برای بررسی همبستگی احتمالی بین واریانت‌های ژن XRCC1 و خطر ابتلا به سرطان ریه مورد استفاده قرار گرفت. $P < ۰/۰۵۰$ 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.

یافته‌ها

توزیع سنی نمونه‌ها: در این مطالعه، ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان سلول‌های غیر کوچک ریه (۸۰ مرد و ۲۰ زن) با میانگین سنی ۱۲/۱۳ ± ٦٤/٧٨ سال و ۱۰۰ نفر سالم (۵۸ مرد و ٤٢ زن) با میانگین سنی ۱۵/۰۰ ± ۵۳/۱۲ 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 (۳۹۹Arg) و A (۳۹۹Gln) در بین افراد بیمار به ترتیب برابر با ۰/۵۹۵ و ۰/٤۰۵ و در بین افراد سالم به ترتیب برابر با ۰/٦۵ و ۰/۳۵ تخمین زده شد. نتایج نشان داد فراوانی ژنوتیپی در دو نمونه‌ی مورد ($P = ۰/۳۷۰$) و شاهد ($P = ۰/۳٦۰$) 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 Arg۳۹۹Gln در دو نمونه‌ی مورد و شاهد نشان داد که این پلی‌مورفیسم نه در سطح اللی ($P = ۰/۳۰۳$) و نه در سطح ژنوتیپی ($P = ۰/٤۷۲$) 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).

جدول ۱. فراوانی اللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم Arg XRCC1۳۹۹Gln در گروه‌های مورد و شاهد و همبستگی آن با استعداد ابتلا به سرطان

متغیر	ژنوتیپ	شاهد	مورد	OR* (٪۹۵CI)	مقدار P
		تعداد	تعداد		
تعداد الل‌ها	G allele	۱۳۰	۱۱۹	۱/۰۰	۰/۳۰۳
	A allele	۷۰	۸۱	۱/۲۶ (۰/۸۴–۱/۹۰)	
تعداد ژنوتیپ‌ها	GG	۳۹	۳۲	۱/۰۰	۰/۴۷۲
	AG	۵۲	۵۵	۱/۲۸ (۰/۷۱–۲/۳۵)	
	AA	۹	۱۳	۱/۷۶ (۰/۶۷–۴–۴/۶۴)	
مدل وراثتی غالب	GG + AG	۹۱	۵۸	۰/۶۶ (۰/۲۷–۱/۶۳)	۰/۴۹۸
مدل وراثتی مغلوب	AA + AG	۶۱	۶۸	۱/۳۵ (۰/۷۶–۲/۴۳)	۰/۳۷۵

* مواردی که از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($P < ۰/۰۵۰$)، به صورت پررنگ نشان داده شده است.

جدول ۲. فراوانی اللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم **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	سالم (تعداد)	بیمار(تعداد)	OR*(CI 95%)	مقدار P
جنسیت		G allele	۷۷	۹۵	۱/۰۰	۰/۲۵۸
مذکر		A allele	۳۹	۶۵	۱/۳۵ (۰/۸۲۱–۲/۲۲)	
		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)	
	غالب	GG + AG	۵۷	۶۹	۰/۱۱ (۰/۰۱–۰/۸۸)	۰/۰۱۴
	مغلوب	AA + AG	۳۸	۵۴	۱/۰۹ (۰/۵۳–۲/۲۳)	۰/۸۶۰
مؤنث		G allele	۵۳	۲۴	۱/۰۰	۰/۸۵۶
		A allele	۳۱	۱۶	۱/۱۴ (۰/۵۳–۲/۴۸)	
		GG	۱۹	۶	۱/۰۰	۰/۱۹۲
		AG	۱۵	۱۲	۲/۵۳ (۰/۷۷–۸/۳۴)	
		AA	۸	۲	۰/۷۹ (۰/۱۳–۴/۷۹)	
	غالب	GG + AG	۳۴	۱۸	۲/۱۲ (۰/۴–۱۱/۰۴)	
	مغلوب	AA + AG	۲۳	۱۴	۱/۹۲ (۰/۶۲–۵/۹۸)	
سن (سال)		G allele	۶۰	۲۴	۱/۰۰	۰/۷۰۰
≥ ۵۵		A allele	۳۴	۱۶	۱/۱۸ (۰/۵۵–۲/۵۱)	
		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)	
	غالب	GG + AG	۴۰	۲۷	۰/۲۷ (۰/۰۶–۱/۳۱)	۰/۱۲۳
	مغلوب	AA + AG	۲۷	۱۳	۱/۳۸ (۰/۴۶–۴/۰۷)	۰/۶۰۰
< ۵۵		G allele	۷۰	۹۵	۱/۰۰	۰/۳۰۳
		A allele	۳۶	۶۵	۱/۳۳ (۰/۸۰–۲/۲۲)	
		GG	۱۹	۲۵	۱/۰۰	۰/۲۲۴
		AG	۳۲	۴۵	۱/۰۷ (۰/۵۱–۲/۲۶)	
		AA	۲	۱۰	۳/۰۸ (۰/۷۴–۱۹/۴۱)	
	غالب	GG + AG	۵۱	۷۰	۰/۲۷ (۰/۰۶–۱/۳۱)	۰/۱۲۳
	مغلوب	AA + AG	۳۴	۵۵	۱/۲۳ (۰/۵۹–۲/۵۶)	۰/۷۰۶

* مواردی که از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار بودند (**P** < ۰/۰۵۰)، به صورت پررنگ نشان داده شده است.

با وجود این، آنالیز تأثیر پلی‌مورفیسم Arg۳۹۹Gln در دو جنس مذکر و مؤنث در دو گروه مورد و شاهد نشان داد که این پلی‌مورفیسم در افراد مذکر در دو گروه مورد و شاهد از نظر آماری توزیع یکسانی نداشت (P = ۰/۰۴۴).

به عبارت دیگر، این پلی‌مورفیسم با استعداد ابتلا به بیماری در مردان مرتبط است. این در حالی است که در افراد مؤنث چنین تفاوتی ملاحظه نمی‌شود (P = ۰/۱۹۲) (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 افراد مذکر گروه شاهد تنها ۲ درصد بود. این تفاوت، سبب تفاوت در مدل توارثی غالب در دو گروه بیمار و سالم گردید (P = ۰/۰۱۴) (جدول ۲). در مورد افراد مؤنث، افراد بالای ۵۵ سال و پایین ۵۵ سال، هیچ گونه تفاوتی در خصوص توزیع پلی‌مورفیسم Arg۳۹۹Gln 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

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، ٦) و روی بازوی بلند کروموزوم ۱۹ در موقعیت q۱۳ (۱۹q۱۳) نقشه‌یابی شده است (١٤). 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 XCRR1، اختلال در عملکرد این ژن، ابتلا به سرطان‌های متعددی را افزایش می‌دهد.

در این مطالعه، فراوانی ژنوتیپ Gln/Gln (A/A) و الل ۳۹۹Gln (باز 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 ژنوتیپی A/A به ترتیب برابر با ۰/۰٦ (۱۵)، ۰/۰۷۸ (۱٦) و ۰/۰۷۱ (۱۷) گزارش شده بود. مقادیر فراوانی ژنوتیپی و اللی در جمعیت اروپایی ۰/۳٤ و ۰/۱۱ گزارش شده بود (۱۸).

ارتباط پلی‌مورفیسم Arg۳۹۹Gln 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 همکارن 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 Arg۳۹۹Gln بر سرطان کلورکتال تأثیر دارد؛ به طوری که الل ۳۹۹Gln (الل A) نقش محافظتی در برابر این نوع از سرطان ایفا می‌کند (۲۱). همچنین، در مطالعه‌ی دیگری نشان داده شده است که الل A، سبب افزایش خطر ابتلا به سرطان گاستریک می‌شود (OR = ۲/۹٤ درصد، ۹۵ CI = ۱/٤۰-٦/۱۸) (۲۲).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که به طور کلی، پلی‌مورفیسم Arg۳۹۹Gln (c.۱۱۹٦G>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 = ۰/۰٤٤، ۹۵ CI = ۱/۰۱-۷۱/۰۰ درصد، OR = ۸/٤٦) (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 الل‌های G بودند (مجموع افراد GG و AG) در برابر ابتلا به این نوع سرطان دارای نوعی محافظت شدگی بودند (P = ۰/۱٤۰، ۹۵ CI = ۰/۰۱-۰/۸۸ درصد، OR = ۰/۱۱)؛ البته این نتایج بر خلاف نتایج مطالعه‌ی Ke و همکاران بود که اعلام کردند افراد چینی با ژنوتیپ Gln/Gln داری خطر پایینی برای ابتلا به سرطان NSCLC هستند (٢٤). گروه‌های دیگری نیز اعلام کردند که این پلی‌مورفیسم، هیچ گونه تأثیری بر خطر ابتلا به سرطان ریه ندارد. برای مثال، Improta و همکاران، در مطالعه‌ای بر روی جمعیت جنوب ایتالیا (۲۵) و نیز Lopez-Cima و همکاران در مطالعه‌ای روی جمعیت شمال ایتالیا (۲٦) اعلام کردند که پلی‌مورفیسم Arg۳۹۹Gln 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 شرکت کننده 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.

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 ADPRT, 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.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 20.08.2016
Vol. 34, No. 403, 3rd Week, December 2016
Accepted: 26.09.2016

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

Fahimeh Hamedi[1], Mohammad Tahmaseb[2], Abbas Ghadri[3]

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 XCRR1 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 Age399Gln 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: Hamedi 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