

## بررسی پلی مورفیسم تکرار TAAAA در ژن p53 و ارتباط آن با سرطان پروستات

زهرا صدری<sup>۱</sup>، منوچهر توسلی<sup>۲</sup>، سیمین همتی<sup>۳</sup>، فروزان صفری<sup>۴</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** سرطان پروستات، از لحاظ آسیب‌شناسی و تظاهرات بالینی، هتروژنیسیته بالایی دارد. در پاسخ به استرس، p53 نقش مهمی در جلوگیری از پیشرفت سرطان دارد. بر اساس اطلاعات پژوهشگران، مطالعه‌ای در مورد ارتباط تعداد تکرارهای TAAAA واقع در اینترون یک ژن p53 و سرطان پروستات انجام نشده بود. از این رو، پژوهش حاضر با هدف بررسی پلی‌مورفیسم TAAAA واقع در اینترون یک ژن p53 در بین مبتلایان به سرطان پروستات و افراد شاهد و ارتباط آن با سرطان پروستات انجام شد.

**روش‌ها:** در این پژوهش، مجموع ۳۰۶ نمونه‌ی خون شامل ۱۵۶ نمونه‌ی خون مرد مبتلا به سرطان پروستات و ۱۵۰ نمونه‌ی مرد شاهد جمع‌آوری و بررسی شد. DNA با استفاده از روش رسوب نمکی از خون استخراج شد. توالی تکراری TAAAA با روش Polymerase chain reaction (PCR) تکثیر شد و طول محصولات با استفاده از ژل پلی‌آکریل‌آمید و توالی‌یابی مستقیم تعیین شد.

**یافته‌ها:** بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، ۵ آلل و ۱۲ ژنوتیپ مختلف برای پلی‌مورفیسم تکرار TAAAA در ژن p53 مشخص شد. آلل ۸ تکرار TAAAA، شایع‌ترین آلل در بین افراد گروه‌های مورد و شاهد برآورد شد. مردان هموزیگوت ۹/۹ و ۱۰/۱۰ خطر افزایش یافته‌ای برای ابتلا به سرطان پروستات داشتند. به علاوه، در این مطالعه، هیچ ارتباطی بین این ژنوتیپ با سن شروع، توارث‌پذیری و متاستاز مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** مطالعه‌ی حاضر، ارتباط معنی‌داری را بین پلی‌مورفیسم تکرار TAAAA در ژن p53 و خطر ابتلا به سرطان پروستات نشان داد. افراد هموزیگوت ۹/۹ و ۱۰/۱۰ خطر افزایش یافته‌ای برای ابتلا به سرطان پروستات داشتند.

**واژگان کلیدی:** سرطان پروستات، ژن p53، پلی‌مورفیسم، تکرار TAAAA

**ارجاع:** صدری زهرا، توسلی منوچهر، همتی سیمین، صفری فروزان. بررسی پلی مورفیسم تکرار TAAAA در ژن p53 و ارتباط آن با سرطان پروستات. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۸۴): ۶۰۵-۶۱۱

## مقدمه

سرطان پروستات، دومین سرطان رایج در بین مردان و ششمین عامل مرگ و میر در بین سرطان‌ها محسوب می‌شود (۱). خوش‌بختانه، با استفاده از روش‌های غربالگری و امکان تشخیص زودهنگام آن و همچنین، روش‌های درمانی کارآمد، نرخ مرگ و میر ناشی از این سرطان رو به کاهش است. از جمله روش‌های غربالگری این سرطان، استفاده از آنتی‌ژن ویژه پروستات (Prostate specific antigen یا PSA) است که با حساسیت بالایی افراد مبتلا به این سرطان را غربالگری می‌کند (۲).

همچنین، یکی از روش‌های تشخیص قابل اطمینان برای این سرطان، استفاده از بیوپسی است که در آن برش کوچکی از پروستات را برای دیدن با میکروسکوپ و انجام سایر آزمایش‌ها جدا می‌کنند (۳). عوامل خطر متعددی برای بروز سرطان پروستات وجود دارد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها چاقی سن و داشتن سابقه‌ی خانوادگی است (۴).

ژن p53 بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ (17p13.1) قرار دارد و یک فسفوپروتئین هسته‌ای را کد می‌کند. در ابتدا، تصور می‌شد که این ژن، یک آنکوژن است؛ چرا که همراه با آنکوژن Ras،

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
- ۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- استادیار، گروه پرتودرمانی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤؤل: منوچهر توسلی

Email: manoochehr@biol.ui.ac.ir

۵۰-۸۵ سال انجام شد. افراد شاهد، دارای هیچ گونه علامت ابتلا به سرطان پروستات نبودند و نتیجه‌ی آزمایش PSA آن‌ها طبیعی بوده است و در ظاهر سالم بوده‌اند.

همچنین، افراد بیمار شامل افراد Benign prostatic hyperplasia (BPH) نبودند. جهت جمع‌آوری اطلاعات بالینی و مطالعات آماری، فرم‌های پرسش‌نامه طراحی و تکثیر شد؛ به طوری که مطالبی از قبیل سابقه‌ی فامیلی ابتلا به سرطان در این فرم‌ها گنجانده شدند. همچنین، اطلاعات مربوط به درجه‌ی پیشرفت بیماری و سن، از پرونده‌ی افراد مورد بررسی، استخراج گردید. در مرحله‌ی بعد، اطلاعات بالینی و خانوادگی بیماران و همچنین، افراد گروه شاهد در جداولی خلاصه گردید.

در طی نمونه‌گیری، جهت جلوگیری از لخته شدن نمونه‌ها، به هر یک میلی‌لیتر خون، ۱۰۰ میکرولیتر محلول  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  (Ethylenediaminetetraacetic acid) (۱۰ درصد) اضافه شد و به منظور نگهداری طولانی مدت، این نمونه‌ها در دمای  $-20^\circ\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند.

از نمونه‌ی خون افراد مورد مطالعه، DNA ژنومی به روش رسوب‌دهی نمکی استخراج گردید (۱۷) و ناحیه‌ی ژنی مورد نظر توسط پرایمرهای پیش‌رو  $5'-\text{AATCCGGGAGGAGGTTGCAGTAAG}-3'$  و پیرو  $5'-\text{ACAGCTCCTTAATGGCAGGCTCTTT}-3'$  تکثیر گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase chain reaction) یا PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲۰۰ میکرومولار  $\text{dNTPs}$ ، ۲۰۰ نانومولار از هر یک از پرایمرهای پیش‌رو و پیرو، ۲/۵ میکرولیتر از بافر  $\text{PCR} 10\times$ ، ۲ میلی‌مولار  $\text{MgCl}_2$  و دو واحد آنزیم Taq DNA polymerase (شرکت سیناژن تهران) در دستگاه ترموسایکلر شرکت اپندورف انجام شد.

پس از واسرشت شدن اولیه در دمای  $95^\circ\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۳ چرخه‌ی PCR در دمای  $95^\circ\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه به منظور واسرشت شدن رشته‌ها،  $56^\circ\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه جهت اتصال پرایمرها و  $72^\circ\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه جهت گسترش پرایمرها انجام شد. یک چرخه‌ی انتهایی نیز جهت تکثیر توالی‌های ناقص به مدت ۱۰ دقیقه در دمای  $72^\circ\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد در نظر گرفته شد.

محصولات حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، توسط ژل آگارز ۱ درصد تأیید و جهت بررسی پلی مورفیسم ژن p53 از الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد غیر واسرشت (Non-Denaturing PAGE) یا Non-Denaturing polyacrylamide gel electrophoresis) استفاده گردید.

سلول‌های فیبروبلاست جوندگان را سرطانی می‌کرد (۵). تحقیقات بعدی، نشان داد که این ژن در حقیقت یک سرکوبگر تومور است (۶). اگر پروتئین p53 دارای جهش غیر فعال کننده باشد و یا پروتئین طبیعی p53 با فعال شدن MDM2 Mouse double minute 2 (MDM2) و یا آنکو پروتئین‌های ویروسی غیر فعال شود، سلول به تکثیر ادامه می‌دهد (۷). تنظیم شدید Rad51 با E2F1 و p53 در سلول‌های سرطانی در پاسخ به هیپوکسی و آسیب به DNA اتفاق می‌افتد (۸). p53 در چهار نوع مرگ سلولی شامل اتوفاژی، آپوپتوز، پیری سلول (Senescence) و نکروز (Necrosis) دخالت دارد (۹).

القای پروتئین سرکوب کننده‌ی تومور p53، بین مسیرهای سیگنال اتوفاژی و آپوپتوزی ارتباط ایجاد می‌کند و مرگ سلولی را در سلول‌های سرطان پروستات تنظیم می‌کند. p53 نقش مهمی در مرگ سلولی در پاسخ به استرس دارد (۱۰).

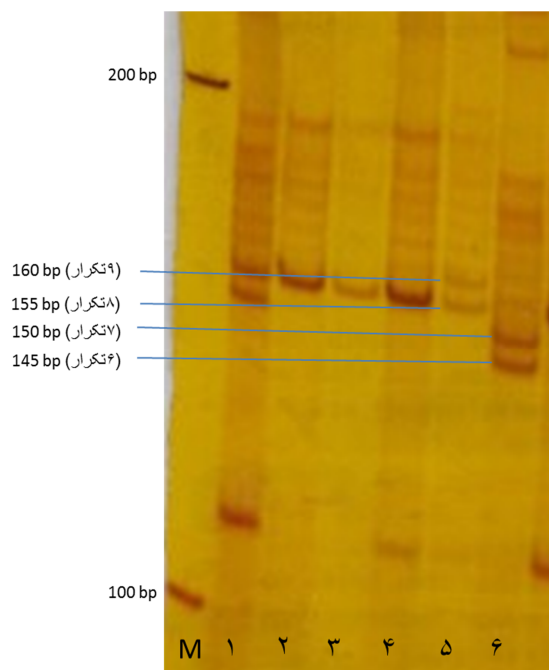
به نظر می‌رسد، بیشتر جهش‌های ژن p53 در مناطق بسیار حفاظت شده‌ی ژن رخ می‌دهند (۱۱). اغلب این جهش‌ها به صورت Missense (تغییر یک نوکلئوتید به نوکلئوتید دیگر) می‌باشند (۱۲). جهش‌های ژن p53 در تمامی اگزون‌های کد کننده‌ی آن به خصوص در اگزون‌های ۴ تا ۹ که کد کننده‌ی دامین متصل شونده به DNA می‌باشند، وجود دارند (۱۳). جهش در این اگزون‌ها حدود ۷۴ درصد می‌باشد (۱۴). غیر فعال شدن هم‌زمان Phosphatase and tensin homolog (PTEN) و p53، موجب سرطان پروستات تهاجمی می‌شود (۱۵). در سرطان‌های پروستات لوکالیزه، p53 طبیعی بیان می‌شود، اما در سرطان‌های پروستات پیشرفته، افزایش میزان جهش در ژن p53 مشاهده می‌شود (۱۶).

DNAهای ماهواره‌ای ریز (STR یا Short tandem repeat) با قرار گرفتن در توالی افزایش دهنده‌ها، با تغییر احتمالی ساختمان ایجاد شده می‌توانند بر روی بیان ژن‌ها تأثیر بگذارند و یا با قرار گرفتن در اینترون‌ها، می‌توانند در سرعت جدا شدن اینترون‌ها و در نتیجه، بر بیان ژن‌ها تأثیر بگذارند. در این مطالعه، با توجه به اهمیت p53 در ایجاد سرطان، پلی مورفیسم TAAAA در اینترون شماره‌ی یک این ژن، بررسی و ارتباط آن با سرطان پروستات در جمعیت اصفهان مشخص شد.

### روش‌ها

از مهر ماه ۱۳۹۳ تا خرداد ماه ۱۳۹۴، نمونه‌گیری خون از ۱۵۶ مرد مبتلا به سرطان پروستات در واحد نمونه‌گیری بیمارستان حضرت سیدالشهدا (ع) شهر اصفهان و ۱۵۰ مرد سالم در آزمایشگاه‌های رسالت، خواجه نصیر و بیمارستان الزهرا (س) در سنین بین

آلل‌ها در بین افراد مورد مطالعه برای ژن p53 و نیز ارتباط این آلل‌ها با خطر ابتلا به سرطان پروستات آمده است.



شکل ۱. نمونه‌ای از تصویر ژل پلی آکریدل آمید ۱۰ درصد جهت بررسی پلی مورفیسم TAAAA در اینترون یک ژن p53

در کل افراد مورد مطالعه، ۱۲ ترکیب آللی (ژنوتیپ) مختلف برای ژن p53 مشاهده شد. نتایج بررسی ژنوتیپ‌های مختلف ژن p53 نشان داد که فراوان‌ترین ژنوتیپ موجود در هر دو گروه مورد (۳۴/۵ درصد) و شاهد (۳۴/۰ درصد) متعلق به ژنوتیپ ۸/۸ است. به علاوه، ترکیب آللی ۱۰/۱۰ فقط در افراد گروه مورد و ترکیب آللی ۷/۶، ۷/۶، ۸/۶، ۹/۶ و ۱۰/۸ فقط در افراد گروه شاهد دیده شد. در جدول ۲، توزیع میزان فراوانی هر ترکیب آللی در بین افراد گروه‌های مورد و شاهد برای ژن p53 آمده است.

ژل با روش نیرتات نقره رنگ آمیزی و نتایج با استفاده از اسکنر ثبت شد (شکل ۱). پس از مشاهده‌ی پلی مورفیسم، دو نمونه با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت فرمتاز) از ژل آگارز خالص سازی شد. سپس، جهت تعیین توالی به شرکت سیناکلون ارسال شد تا به عنوان نشانگر آللی مورد استفاده قرار گیرد. به کمک این نشانگرها، طول تکرار آلل‌های مورد و شاهد، تعیین و فراوانی آللی ژن p53 محاسبه گردید.

پس از آن، تجزیه و تحلیل اطلاعات آماری با استفاده از سرویس اینترنتی SISA انجام شد. در ابتدا، فراوانی ترکیبات آللی و فراوانی آلل‌های ژن مورد نظر مشخص شد و سپس ارتباط این تکرارها با بروز سرطان به کمک آزمون  $\chi^2$  و Odd ratio با استفاده از آزمون رگرسیون محاسبه شد.  $P < 0/050$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

با توجه به توانایی کم ژل آگارز در جداسازی قطعات DNA با اختلاف اندازه‌ی کم، برای اندازه‌گیری دقیق تعداد تکرارهای توالی TAAAA واقع در اینترون یک ژن p53، بررسی‌های بعدی محصول PCR بر روی ژل پلی آکریدل آمید ۱۰ درصد انجام شد (شکل ۱).

از بین نمونه‌های مورد آزمایش، نمونه‌های هموزیگوت ۷/۷ و ۹/۹ جهت تعیین توالی انتخاب و پس از خالص سازی از ژل آگارز، جهت تعیین توالی به شرکت سیناکلون ارسال شدند تا به عنوان نشانگر آللی مورد استفاده قرار گیرند (۱۸).

در این مطالعه، ۵ آلل مختلف برای تکرار TAAAA واقع در اینترون شماره‌ی یک ژن p53 در محدوده‌ی ۶ تا ۱۰ تکرار در افراد شاهد و مبتلایان به سرطان پروستات مشاهده شد (جدول ۱). از بین این آلل‌ها، آلل ۸ تکرار TAAAA شایع‌ترین آلل ژن p53 در بین افراد گروه‌های مورد (۵۹/۹ درصد) و شاهد (۵۹/۰ درصد) برآورد شد و آلل ۶ تکرار TAAAA، دارای کمترین فراوانی در افراد گروه مورد (صفر درصد) و شاهد (۱ درصد) بود. در جدول ۱، فراوانی

جدول ۱. فراوانی آلل‌های مختلف در بین افراد گروه‌های مورد و شاهد و ارتباط این آلل‌ها با خطر ابتلا به سرطان پروستات

آلل	گروه مورد تعداد (درصد)	گروه شاهد تعداد (درصد)	OR	۹۵ درصد CI	مقدار P
۶	۰ (۰)	۳ (۱/۰)	-	-	-
۷	۶۱ (۱۹/۵)	۶۵ (۲۱/۶)	۰/۹۰	۰/۶۱-۱/۳۲	۰/۵۹۰
۸	۱۸۷ (۵۹/۹)	۱۷۷ (۵۹/۰)	۱/۰۱	۰/۷۸-۱/۳۱	> ۰/۹۹۹
۹	۵۹ (۱۸/۹)	۵۱ (۱۷/۰)	۱/۱۱	۱/۶۷-۰/۷۴	۰/۶۰۰
۱۰	۵ (۱/۶)	۴ (۱/۳)	۱/۲۰	۰/۳۲-۴/۵۱	۰/۷۸۰

OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

جدول ۲. فراوانی انواع ترکیبات آلی مشاهده شده ی ژن p53 در گروه های مورد و شاهد

ژنوتیپ	گروه مورد تعداد (درصد)	گروه شاهد تعداد (درصد)
۷/۶	۰ (۰)	۱ (۰/۶)
۸/۶	۰ (۰)	۱ (۰/۶)
۹/۶	۰ (۰)	۱ (۰/۶)
۷/۷	۶ (۳/۸)	۶ (۴/۰)
۸/۷	۴۰ (۲۵/۶)	۳۹ (۲۶/۰)
۹/۷	۸ (۵/۱)	۱۲ (۸/۰)
۱۰/۷	۱ (۰/۶)	۱ (۰/۶)
۸/۸	۵۷ (۳۶/۵)	۵۱ (۳۴/۰)
۹/۸	۳۳ (۲۱/۱)	۳۲ (۲۱/۳)
۱۰/۸	۰ (۰)	۳ (۲/۰)
۹/۹	۹ (۵/۷)	۳ (۰)
۱۰/۱۰	۲ (۱/۲)	۰ (۰)
کل	۱۵۶ (۱۰۰)	۱۵۰ (۱۰۰)

ژنوتیپ های ۹/۹ و ۱۰/۱۰ فراوانی متفاوتی را در بین دو گروه مورد و شاهد نشان دادند و به نظر می رسد با خطر ابتلا به سرطان پروستات در ارتباط باشند. آزمون های آماری به منظور بررسی این ارتباط صورت گرفت.

سطح معنی داری  $P = ۰/۰۴۰$  و  $OR = ۳/۵۲$ ، وجود ارتباط ژنوتیپ ۹/۹ و ۱۰/۱۰ با خطر ابتلا به سرطان پروستات را نشان داد. در مرحله ی بعد، ارتباط ژنوتیپ های ۹/۹ و ۱۰/۱۰ با عوامل درجه ی پیشرفت بیماری، توارث پذیری و سن شروع بیماری بررسی شد؛ ارتباط معنی داری بین این ژنوتیپ ها و عوامل پیش گفته مشاهده نشد (جدول ۳).

### بحث

جهش های p53 به طور تقریبی در تمام آگزون های این پروتئین دیده

شده است، اما بیشتر در آگزون های ۹-۴ که ناحیه ی متصل شونده به DNA را کد می کند، دیده می شود (۱۳). دسته ای دیگر از جهش ها، جهش هایی است که سبب می شود p53 ویژگی های یک انکوژن را پیدا کند و مانند یک انکوژن در سلول عمل کند. هر دو نوع جهش پیش گفته، نقش بسیار مهمی در تومورزایی در سرطان های مختلف ایفا می کنند (۱۹).

در مطالعه ای بر روی مدل موشی، دیده شد که با ایجاد یک جهش در p53 که به صورت R279H است، عملکرد این پروتئین در این موش ها از بین می رود و سبب آغاز و پیشرفت سرطان پروستات در موش ها می شود. به عبارتی، وجود این جهش در p53 هم سبب شروع سرطان پروستات و هم باعث پیشروی سرطان به مراحل بالاتر می شود (۲۰).

همچنین، در مطالعه ی Ecke و همکاران، دیده شده است که ایجاد جهش در آگزون های ۷ و ۸ در p53 می تواند به عنوان یک عامل پیش برنده ی سرطان پروستات باشد. در افرادی با این جهش، دیده شده است که p53 سالم از دست می روند (Loss of heterozygosity) و p53 های جهش یافته به صورت غیر عادی افزایش بیان نشان می دهند (Overexpression) و همین تغییر، سبب پیشرفت سرطان می شود (۲۱).

به دلیل اهمیت بالای این پروتئین در سلول های سرطانی، تحقیقات گسترده ای برای استفاده از آن به منظور درمان سرطان انجام گرفته است و به تازگی، از وکتورهای ویروسی جهت بیان و انتقال p53 به منظور بهبود سلول های سرطانی استفاده می کنند (۲۲).

ژن های دخیل زیادی در ایجاد سرطان پروستات دخالت دارند که از آن جمله می توان به ژن های BRCA1, RCA2, HPCB1 و p53 اشاره کرد (۲۲).

در این مطالعه، ۵ آلل مختلف برای تکرار TAAAA واقع در اینترون شماره ی یک ژن p53 در محدوده ی ۶ تا ۱۰ تکرار در افراد شاهد و مبتلایان به سرطان پروستات مشاهده شد.

جدول ۳. ارتباط ژنوتیپ های ۹/۹ و ۱۰/۱۰ با عوامل درجه ی پیشرفت بیماری، توارث پذیری و سن شروع بیماری

ژنوتیپ	تعداد ژنوتیپ ها		فاصله ی اطمینان (CI)	OR	مقدار P
	سایر ژنوتیپ ها	۱۰/۱۰ + ۹/۹			
وجود متاستاز	۴۱	۴	۰/۱۹-۳/۵۶	۰/۸۲۰	۰/۸۰۰
عدم وجود متاستاز	۳۴	۴			
دارای سابقه ی خانوادگی سرطان	۲۳	۱	۰/۰۵-۴/۱۹	۰/۴۹۰	۰/۵۰۰
فاقد سابقه ی خانوادگی سرطان	۷۹	۷			
سن (< ۷۱ سال)	۵۹	۷	۰/۵۳-۶/۹۲	۱/۹۲۰	۰/۳۰۰
سن (> ۷۱ سال)	۶۵	۴			

OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

ژنوتیپ‌های کوتاه سبب افزایش بیان ایزوفرم‌های کوتاه شده‌ی N انتهای می‌شوند که عملکرد مهار کنندگی بر روی p53 دارند. نتیجه‌گیری نهایی این که با بررسی پلی مورفیسم تکرار TAAAA در اینترون شماره‌ی یک ژن p53، مشخص شد که افراد با ژنوتیپ‌های بلند (۹/۹ و ۱۰/۱۰) خطر افزایش یافته‌ای برای ابتلا به سرطان پروستات دارند. بنا بر این، ممکن است این تکرار آلی، بتواند به عنوان یک نشانگر پیش‌آگهی سرطان پروستات مورد استفاده قرار گیرد. به علاوه، در این مطالعه هیچ ارتباطی بین این ژنوتیپ‌ها با درجه‌ی پیشرفت، توارث و سن شروع بیماری مشاهده نشد؛ البته عدم وجود ارتباط معنی‌دار، می‌تواند به علت تعداد کم نمونه‌ها باشد.

### تشکر و قدردانی

در پایان، از حمایت معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان در راستای انجام این طرح، از کلیه‌ی بیماران محترم، همکاران بیمارستان سیدالشهدای (ع) اصفهان به خاطر در اختیار قرار دادن اطلاعات پزشکی و نمونه‌ی خون بیماران و خانم الهه جان‌نثاری به خاطر یاری ایشان در جمع‌آوری نمونه‌ها و کلیه‌ی افرادی که به صورت مادی و معنوی پژوهشگران را در انجام این پژوهش یاری رساندند، سپاسگزاری می‌گردد.

ژنوتیپ‌های ۹/۹ و ۱۰/۱۰ فراوانی متفاوتی را در بین دو گروه مورد (۷ درصد) و شاهد (۲ درصد) نشان می‌دهند و به نظر می‌رسد با خطر ابتلا به سرطان پروستات در ارتباط باشند. چنانچه گفته شد، DNAهای ماهواره‌ای ریز می‌توانند بر روی بیان ژن‌ها تأثیر بگذارند؛ از این رو، امکان آن وجود دارد که در ژنوتیپ‌های هموزیگوت ۹/۹ و ۱۰/۱۰، میزان بیان p53 کاهش پیدا می‌کند. STRهای واقع شده در اینترون‌ها، همچنین می‌توانند بر روی محصولات پیرایش متفاوت اینترون‌ها و ایجاد ایزوفرم‌های مختلف تأثیر بگذارند (۲۵-۲۳). برخی از ایزوفرم‌های p53 فاقد N انتهایی فعال کننده‌ی رونویسی می‌باشند؛ بنا بر این، امکان آن وجود دارد که ژنوتیپ‌های هموزیگوت ۹/۹ و ۱۰/۱۰ p53 در تولید بیشتر این ایزوفرم‌های مهار کننده نقش داشته باشند.

نجفی درجه و همکاران، همچنین ارتباط این توالی تکراری در ژن p53 را با سرطان پستان بررسی کردند، اما نتایج متفاوتی به دست آوردند (۱۸). آن‌ها ارتباطی بین تکرارهای بلند ۹/۹ و ۱۰/۱۰ با سرطان پستان مشاهده نکردند؛ بلکه بر عکس، نتایج مطالعه‌ی آن‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های کوتاه ۷/۶، ۸/۶ و ۷/۷، سبب افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان می‌شود ( $P = 0.009$ ,  $OR = 4.074$ ). این امکان وجود دارد که پروتئین‌های ارتباطی در سلول‌های پستان و پروستات متفاوت باشند. برای مثال، در سلول‌های پستان،

### References

- Caini S, Gandini S, Dudas M, Bremer V, Severi E, Gherasim A. Sexually transmitted infections and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol* 2014; 38(4): 329-38.
- Djulfbegovic M, Beyth RJ, Neuberger MM, Stoffis TL, Vieweg J, Djulfbegovic B, et al. Screening for prostate cancer: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2010; 341: c4543.
- Yaghi MD, Kehinde EO. Oral antibiotics in transrectal prostate biopsy and its efficacy to reduce infectious complications: Systematic review. *Urol Ann* 2015; 7(4): 417-27.
- Beuzebec P, Soulie M, Richaud P, Salomon L, Staerman F, Peyromaure M, et al. Fusion genes and prostate cancer. From discovery to prognosis and therapeutic perspectives. *Prog Urol* 2009; 19(11): 819-24. [In French].
- Eliyahu D, Raz A, Gruss P, Givol D, Oren M. Participation of p53 cellular tumour antigen in transformation of normal embryonic cells. *Nature* 1984; 312(5995): 646-9.
- Lane DP, Benchimol S. p53: oncogene or anti-oncogene? *Genes Dev* 1990; 4(1): 1-8.
- Oliner JD, Kinzler KW, Meltzer PS, George DL, Vogelstein B. Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas. *Nature* 1992; 358(6381): 80-3.
- Wu M, Wang X, McGregor N, Pienta KJ, Zhang J. Dynamic regulation of Rad51 by E2F1 and p53 in prostate cancer cells upon drug-induced DNA damage under hypoxia. *Mol Pharmacol* 2014; 85(6): 866-76.
- Baumann K. Cell death: multitasking p53 promotes necrosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13(8): 480-1.
- Ringer L, Sirajuddin P, Tricoli L, Waye S, Choudhry MU, Parasido E, et al. The induction of the p53 tumor suppressor protein bridges the apoptotic and autophagic signaling pathways to regulate cell death in prostate cancer cells. *Oncotarget* 2014; 5(21): 10678-91.
- Soussi T, Caron de FC, May P. Structural aspects of the p53 protein in relation to gene evolution. *Oncogene* 1990; 5(7): 945-52.
- Hainaut P, Hollstein M. p53 and human cancer: the first ten thousand mutations. *Adv Cancer Res* 2000; 77: 81-137.
- Cho Y, Gorina S, Jeffrey PD, Pavletich NP. Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: understanding tumorigenic mutations. *Science* 1994; 265(5170): 346-55.
- Petitjean A, Mathe E, Kato S, Ishioka C, Tavtigian SV, Hainaut P, et al. Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the

- IARC TP53 database. Hum Mutat 2007; 28(6): 622-9.
15. Uemura H, Kura Y, Ando N, Fukushima E, Hatanaka Y, Yamamoto Y, et al. Functional evaluation of synchronous inactivation of PTEN and P53 in a murine model of prostate cancer. Cancer Res 2014; 74(19 Supplement): 84.
  16. Dean JL, Jones JK, Goodwin JF, Knudsen KE. Determining the impact of CRPC-specific p53 mutation on therapeutic response and prostate tumor progression. Cancer Res 2015; 75(15 Supplement): 1217.
  17. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16(3): 1215.
  18. Najafi-Dorche S, Tavassoli M, Hemati S, Safari F. The study of TAAAA polymorphism in p53 gene and its association with breast cancer. J Isfahan Med Sch 2015; 33(323): 134-43. [In Persian].
  19. Oren M, Rotter V. Mutant p53 gain-of-function in cancer. Cold Spring Harb Perspect Biol 2010; 2(2): a001107.
  20. Vinall RL, Chen JQ, Hubbard NE, Sulaimon SS, Shen MM, Devere White RW, et al. Initiation of prostate cancer in mice by Tp53R270H: evidence for an alternative molecular progression. Dis Model Mech 2012; 5(6): 914-20.
  21. Ecke TH, Schlechte HH, Schiemenz K, Sachs MD, Lenk SV, Rudolph BD, et al. TP53 gene mutations in prostate cancer progression. Anticancer Res 2010; 30(5): 1579-86.
  22. Goldstein AS, Huang J, Guo C, Garraway IP, Witte ON. Identification of a cell of origin for human prostate cancer. Science 2010; 329(5991): 568-71.
  23. Gemayel R, Cho J, Boeynaems S, Verstrepen KJ. Beyond junk-variable tandem repeats as facilitators of rapid evolution of regulatory and coding sequences. Genes (Basel) 2012; 3(3): 461-80.
  24. Hui J, Reither G, Bindereif A. Novel functional role of CA repeats and hnRNP L in RNA stability. RNA 2003; 9(8): 931-6.
  25. Hui J, Stangl K, Lane WS, Bindereif A. HnRNP L stimulates splicing of the eNOS gene by binding to variable-length CA repeats. Nat Struct Biol 2003; 10(1): 33-7.

## The Study of TAAAA Repeat Polymorphism in p53 Gene and Its Association with Prostate Cancer

Zahra Sadri<sup>1</sup>, Manoochehr Tavassoli<sup>2</sup>, Simin Hemati<sup>3</sup>, Forouzan Safari<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Prostate cancer has a high degree of heterogeneity in pathology and clinical appearance. In response to stress, P53 plays an important role in preventing cancer development. To our knowledge, this is the first report about polymorphic TAAAA repeat of the P53 gene and its relation to prostate cancer risk. The purpose of this study was to investigate polymorphism of TAAAA in the first intron of p53 gene among prostate cancer patients and healthy individuals and its relation to risk of prostate cancer.

**Methods:** A total of 306 peripheral blood samples consisting of 156 from patients with prostate cancer and 150 from healthy control individuals were included in the study. DNA was extracted from blood using salting-out method. TAAAA repeat sequences were amplified by PCR technique and the length of products was determined by polyacrylamide gel and direct sequencing.

**Findings:** Based on our results, 5 alleles and 12 different genotypes for P53 TAAAA repeat polymorphism were observed. The most common allele in both patients and controls was the allele 8/8. Men who carry 9/9 or 10/10 genotypes of p53 gene are at significantly higher risk of prostate cancer. The allelic length of p53 polymorphisms had no significant effect on age of onset, inheritance as well as metastasis.

**Conclusion:** Our study showed a strong association between the TAAAA repeat polymorphism in P53 gene and risk of prostate cancer.

**Keywords:** Prostate cancer, p53 gene, Polymorphism, TAAAA repeat

**Citation:** Sadri Z, Tavassoli M, Hemati S, Safari F. **The Study of TAAAA Repeat Polymorphism in p53 Gene and Its Association with Prostate Cancer.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(384): 605-11.

1- MSc Student, Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Radiotherapy, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Manoochehr Tavassoli, Email: manoochehr@biol.ui.ac.ir