

پلی مورفیسم DNA ماهواره‌های ژن CYP19 و ارتباط آن با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در جمعیت اصفهان

سید مرتضی جوادی راد^۱، دکتر سیمین همتی^۲، دکتر منوچهر توسلی^۳

چکیده

مقدمه: آروماتاز یک آنزیم کلیدی در مسیر سنتز استروژن بوده و توسط ژن سیتوکروم P-۴۵۰ (CYP19) کد می‌شود. تماس بیش از حد سلول‌ها با استروژن موجب ایجاد کارسینومای پستان شده و همچنین، بیماران مبتلا به سرطان پستان سطوح بالاتری از بیان آروماتاز را نشان می‌دهند. هدف این مطالعه بررسی پلی مورفیسم یک توالی تکراری چهارتایی تیمیدین-آدنین_n (TTTA) واقع در اینترون شماره چهار ژن CYP19 در بین مبتلایان به سرطان پستان و افراد سالم و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان پستان است.

روش‌ها: پژوهش حاضر یک مطالعه‌ی مورد شاهده‌ی بود که بر روی ۴۲۰ بیمار و ۴۳۲ فرد کنترل متناسب انجام شد. پس از استخراج DNA از خون افراد مورد مطالعه، توالی مورد نظر توسط تکنیک Polymerase Chain Reaction (PCR) تکثیر گردید و تعداد تکرار TTTA و توالی آن به وسیله‌ی الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریلامید به دست آمد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده‌ی این بود که پراکندگی آللی ژن IGF-1 در جمعیت اصفهان بین ۷ تا ۱۳ تکرار متغیر بوده و بیشترین فراوانی آللی در بین بیماران و افراد شاهد متعلق به آلل TCT-TTTA با فراوانی ۳۴/۸٪ و ۳۴/۳٪، بترتیب، است.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که فراوانی آلل با ۱۰ تکرار TTTA در افراد کنترل (۲/۳٪) بیشتر از افراد بیمار (۱/۴٪) می‌باشد. به عبارت دیگر و برخلاف نتایج پیشین، آلل (TTTA) نه تنها موجب افزایش نرخ بروز سرطان پستان نمی‌شود؛ بلکه، احتمالاً افراد حامل این آلل نسبت به بروز سرطان مقاومت بیشتری نشان می‌دهند.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، DNA ماهواره‌ای، پلی مورفیسم، CYP19

مقدمه

سرطان پستان در اثر تجمع آسیب‌های ژنتیکی در سلول‌های نرمال اپیتلیال بافت پستان و کسب فنوتیپ‌های بدخیم بروز می‌کند. سرطان پستان شیوع بالایی در بین زنان دارد بطوریکه؛ حدود ۱۰ درصد زنان در طول عمر خود با این بیماری تشخیص داده می‌شوند (۱). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که سرطان پستان با رشد رو به افزایش خود، به یکی از شایع‌ترین

بدخیمی‌ها در میان زنان ایرانی تبدیل شده و از هر ۱۰۰۰۰۰ زن، ۱۲۰ نفر به این سرطان مبتلا می‌شوند (۲و۳). اغلب سرطان‌های پستان تک‌گیر (Sporadic) بوده و بصورت چندژنی (Multigenic) بروز می‌کنند (۴) و تعداد دقیق ژن‌هایی که در جمعیت‌ها باعث ریسک ابتلا به سرطان پستان می‌شود مشخص نیست. آروماتاز (EC 1.14.14.1)، یک آنزیم از دسته آنزیم‌های سیتوکروم P450 (CYP) است که در تبدیل

^۱ دانشجوی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

^۲ استادیار، گروه پرئودرمانی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

^۳ دانشیار، گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: سید مرتضی جوادی راد

Email: javadirad@yahoo.com

پلی مورفیسم با سرطان پستان در جمعیت اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

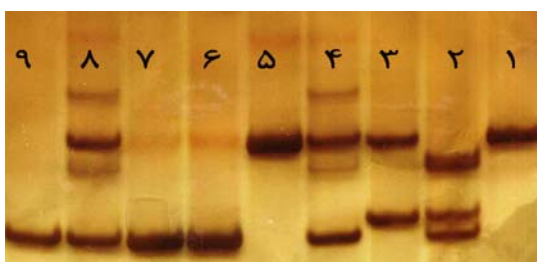
خون تام ۱۰۰ نفر از زنان مبتلا به سرطان پستان با گستردگی سنی ۲۶-۷۴ سال که تحت شیمی‌درمانی و رادیودرمانی قرار داشتند، از بیمارستان سید الشهداء اصفهان تهیه شد. گروه شاهد متناسب نیز بصورت تصادفی از بین مراجعین کنترل سلامتی به بیمارستان انتخاب شدند. DNA خون این افراد به روش رسوبدهی نمکی (Salting out) استخراج گردید و ناحیه تکراری اینترون شماره چهار ژن CYP19 توسط پرایمرهای پیشین (پرایمر پیشرو: 5'-TTAG-3' و TGAAAGGTAAGCAGGTAC و پرایمر پیرو-5'-GTCGTGAGCCAAGGTC-3') واکنش زنجیر پلیمرز در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر حاوی ۱۰۰ تا ۲۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲۰۰ میکرومولار dNTPs، ۲۰۰ نانومولار از هر یک از پرایمرهای پیشرو و پیرو، ۲/۵ میلی‌مولار MgCl₂، ۵ میکرولیتر از 10X بافر PCR و ۰/۴ میکرولیتر آنزیم DNA Polymerase در SmarTag دستگاه Mastercycler شرکت Eppendorf انجام شد. بعد از واسرشت شدن اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس بمدت ۵ دقیقه، ۳۳ سیکل PCR با دمای ۹۴ درجه بمدت ۱ دقیقه برای واسرشت شدن رشته‌ها، ۶۰ درجه بمدت ۱ دقیقه جهت اتصال پرایمرها و ۷۲ درجه بمدت ۱ دقیقه برای گسترش پرایمرها انجام شد. یک سیکل انتهایی نیز جهت تکثیر توالی‌های ناقص بمدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه در نظر گرفته شد. محصولات حاصل از واکنش زنجیر پلیمرز بعد از

آندروژن‌های ۱۹ کربنه به استروژن‌های ۱۸ کربنه آروماتیک نقش دارد. این آنزیم محصول پروتئینی ژن CYP19 بوده، ۷۰ کیلوباز از DNA ژنومی را اشغال می‌کند و حاوی ۱۰ آگزون می‌باشد (۵). مطالعات Bullun و Simpson در سال ۱۹۹۴ نشان داد که بخش‌های توموری بافت پستان در ۶۷٪ مبتلایان به سرطان پستان دارای بالاترین میزان رونوشت‌های CYP19 می‌باشند (۶).

تعیین توالی ژن CYP19 به همراه مطالعات ژنومیک عملکردی نشان می‌دهد که این ژن دارای ۸۸ نقطه پلی‌مورف شامل: ۸۵ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی، ۲ حذف‌واضافه و یک توالی تکراری ۴ نوکلئوتیدی تیمیدین-آدنین (TTTA)_n می‌باشد (۷). از این میان، توالی تکراری چهار نوکلئوتیدی تیمیدین-آدنین (TTTA)_n بیشتر مورد توجه قرار گرفته است؛ زیرا، مطالعات متعدد نشان داده است که تعداد تکرارهای TTTA این میکروساتلایت با سرطان پستان ارتباط زیادی دارد (۸). مطالعات متعدد در جمعیت‌های مختلف با گروه‌های نژادی متفاوت نشان داده است که آل‌های بلند میکروساتلایت ژن CYP19 (با ۱۰ تکرار TTTA و بیشتر) موجب افزایش استعداد ابتلا به سرطان پستان می‌شوند. چنانچه، زنان ژاپنی‌ها با ۱۰ تکرار TTTA (OR=۱/۸)، زنان آفریقایی‌ها با ال‌های بزرگتر از ۱۰ تکرار TTTA (OR=۱/۲۹)، زنان برزیلی با ۱۰ تکرار TTTA (OR=۳)، و زنان اروپایی با ۱۰ و ۱۲ تکرار TTTA (OR=۷/۸ و OR=۲/۴۲) بترتیب در معرض خطر افزایش یافته‌ای برای سرطان پستان هستند (۱۱-۷).

در این مطالعه پلی‌مورفیسم ژن CYP19 بررسی و با دیگر جمعیت‌ها مقایسه شد. همچنین ارتباط این

آلل متفاوت برای آلل ۷ تکرار TTTA مشاهده کردند.



شکل ۱: ژل پلی اکریل آمید ۱۰٪ جهت بررسی پلی مورفیسم ناحیه پروموتوری ژن CYP19. در اینجا علاوه بر مارکر ۱۰۰ جفت باز (M)، از محصول PCR نمونه‌های شماره ۱ و ۹ بعد از تعیین توالی، به عنوان مارکر مخصوص آلل استفاده شد. نمونه شماره ۱ بلندترین آلل و نمونه شماره ۹ کوچکترین آلل موجود در جمعیت مورد مطالعه بود.

جدول ۱. فراوانی آلل‌های مختلف در بین بیماران، افراد شاهد و کل افراد مورد آزمایش

آلل	فراوانی در بیماران	فراوانی در افراد شاهد	فراوانی در کل افراد
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
۷-TCT	۱۴۶(۳۴/۸)	۱۴۸(۳۴/۳)	۲۹۴(۳۴/۶)
۷+TCT	۹۴(۲۲/۴)	۸۹(۲۰/۶)	۱۸۳(۲۱/۵)
۸	۳۸(۹/۱)	۴۴(۱۰/۲)	۸۲(۹/۷)
۹	۲(۰/۵)	۳(۰/۷)	۵(۰/۶)
۱۰	۶(۱/۴)	۱۰(۲/۳)	۱۶(۱/۹)
۱۱	۱۱۷(۲۷/۹)	۱۱۵(۲۶/۶)	۲۳۲(۲۷/۳)
۱۲	۱۵(۳/۶)	۲۰(۴/۶)	۳۵(۴/۱)
۱۳	۱(۰/۳)	۳(۰/۷)	۴(۰/۵)
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

اختلاف ایندو در یک توالی سه تایی TCT واقع در بالادست تکرار TTTA می‌باشد که در برخی حذف شده این دو آلل را بصورت [(TTTA)7-TCT] و [(TTTA)7+TCT] نشان می‌دهند (۸). ما نیز در این تحقیق این دو آلل متفاوت را مشاهده نمودیم. بیشترین فراوانی آللی در بین بیماران و افراد شاهد متعلق به

بهینه‌سازی توسط ژل آگارز ۱٪ تایید و جهت بررسی پلی مورفیسم ژن CYP19 از الکتروفورز ژل پلی اکریلامید ۱۰٪ معمولی (non-denaturing PAGE) استفاده شد. ژل توسط روش نیترا نقره رنگ آمیزی و نتایج توسط اسکنر ثبت شد. بعد از مشاهده پلی مورفیسم، دو آلل هموزیگوت در ژل‌های رنگ آمیزی شده که دارای بلندترین و کوتاهترین طول تکرار بودند (نمونه شماره ۶ و ۱۳ بترتیب) توسط کیت استخراج DNA از ژل آگارز شرکت فرمنتاز خالص سازی شدند. سپس جهت تعیین توالی به شرکت سیناژن (www.cinnagen.com) ارسال تا به عنوان مارکر آللی مورد استفاده قرار گیرند. به کمک این مارکرها طول تکرار آلل‌های بیمار و شاهد، تعیین و فراوانی آللی ژن CYP19 محاسبه گردید.

بررسی‌های آماری به کمک نرم افزار اینترنتی SISA (www.quantitativeskills.com/sisa) انجام شد. ابتدا ترکیبات آللی و فراوانی آلل‌های ژن CYP19 در جمعیت مورد مطالعه، تعیین شد. در نهایت OR و ارتباط این تکرارها با بروز سرطان در جمعیت به کمک آزمون مربع کای پیرسون (χ^2) و Ratio Odd (OR) محاسبه گردید.

یافته‌ها

با توجه به توانایی کم ژل آگارز در جداسازی قطعات DNA با اختلاف طول نزدیک به هم، برای اندازه‌گیری دقیق تعداد تکرارهای توالی TTTA واقع در پروموتور ژن CYP19، بررسی‌های بعدی محصول PCR بر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۰٪ انجام شد (شکل ۱). آللی ژن CYP19 در جمعیت اصفهان بین ۷ تا ۱۳ تکرار متغیر است (جدول ۱). Baxter و همکاران دو

آزمون مربع کای پیرسون (جدول ۳) نشان داد که افزایش فراوانی آلل کوتاه با هفت تکرار TTTA (7+TCT) در بین بیماران نسبت به افراد شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهد ($p=0/5272$ ، $OR=1/1113$ و $CI/95:0/8012-1/5413$). همچنین، بالاتر بودن فراوانی آلل بلند با سیزده تکرار TTTA در افراد شاهد نسبت به بیماران، موجب افزایش معنی‌دار مقاومت به بروز سرطان پستان نمی‌شود ($p=0/3299$ ، $OR=0/3413$ و $CI/95:0/0354-3/2943$).

بحث

این پژوهش که برای اولین بار در ایران انجام شده، الگوی پراکندگی و فراوانی ال‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف میکروستلایت ایترون شماره چهار ژن CYP19 در منطقه‌ی اصفهان را نشان می‌دهد. در

آلل TTTA)7-TCT با فراوانی $34/8\%$ و $34/3\%$ ، بترتیب، می‌باشد. به این ترتیب، در میان کل افراد مورد بررسی، آلل TTTA)7-TCT با فراوانی $34/6\%$ و آلل 11)TTTA با فراوانی $27/3\%$ رایج‌ترین آلل‌ها می‌باشد. فراوانی آلل‌های با 10 و 13 تکرار TTTA در افراد سالم دو برابر افراد بیمار بوده ($2/3$ در برابر $1/4$ برای آلل با 10 تکرار TTTA و $0/7$ در برابر $0/3$ برای آلل با 13 تکرار TTTA). بنابراین آلل‌های بلند در افراد سالم رایج‌تر هستند.

در عوض فراوانی آلل‌های کوتاه TTTA)7-TCT و TTTA)7 +TCT در افراد بیمار بیشتر از افراد شاهد است (جدول ۱). همچنین، در افراد مورد بررسی 27 ترکیب اللی (ژنوتیپ) مختلف مشاهده شد که در این میان ترکیب آللی 11 / 7-TCT بیشترین فراوانی را در هر دو گروه بیمار ($23/3\%$) و شاهد ($19/0\%$) به خود اختصاص داده بود (جدول ۲).

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در بین بیماران و افراد شاهد

ژنوتیپ	بیماران	افراد شاهد	ژنوتیپ	بیماران	افراد شاهد
7-TCT / 7-TCT	23	27	7+TCT / 13	0	2
7-TCT / 7+TCT	34	23	8 / 8	2	1
7+TCT / 7+TCT	12	15	8/10	0	1
7-TCT / 8	12	19	8 / 11	10	12
7-TCT / 9	1	1	9/11	0	1
7-TCT / 10	1	2	8 / 12	3	1
7-TCT / 11	49	41	10 / 10	0	1
7-TCT / 12	3	7	10 / 11	3	2
7-TCT / 13	0	1	10 / 12	0	1
7+TCT / 8	9	9	11 / 11	14	16
7+TCT / 9	1	1	11 / 12	5	7
7+TCT / 10	9	2	12 / 12	1	1
7+TCT / 11	22	20	11/13	1	0
7+TCT / 12	2	2	Total	210	216

جدول ۳. جدول ارتباط فراوانی آللی تعداد تکرار TTTA ژن CYP19 با ریسک ابتلا به سرطان پستان در جمعیت اصفهان

آلل	تعداد تکرار TTTA	OR	95%CI	p-value
v-TCT	۷	۱/۰۲۲۵	۰/۷۷۰۸-۱/۳۵۶۳	۰/۸۷۷۳
v+TCT	۷	۱/۱۱۱۳	۰/۸۰۱۲-۱/۵۴۱۳	۰/۵۲۷۲
۸	۸	۰/۸۷۷۲	۰/۵۵۵۷-۱/۳۸۴۷	۰/۵۷۳۵
۹	۹	۰/۶۸۴۲	۰/۱۱۳۷-۴/۱۱۵۷	۰/۶۷۶۶
۱۰	۱۰	۰/۶۱۱۶	۰/۲۲۰۳-۱/۶۹۸۱	۰/۳۴۰۷
۱۱	۱۱	۱/۰۶۴۴	۰/۷۸۷۲-۱/۴۳۹۳	۰/۶۸۵۱
۱۲	۱۲	۰/۷۶۳	۰/۳۸۵۲-۱/۵۱۱۱	۰/۴۳۶۵
۱۳	۱۳	۰/۳۴۱۳	۰/۰۳۵۴-۳/۲۹۴۳	۰/۳۲۹۹

تحقیق حاضر، برای بررسی اثر پلی مورفیسم تعداد تکرار ریزماهواره TTTA ژن CYP19 بر سرطان پستان، یک مطالعه اپیدمیولوژیک از نوع بیمار-کنترل بر روی جمعیت منطقه اصفهان انجام شده است.

در مطالعه نژادهای مختلف ساکن در ایالات متحده آمریکا مشخص شد که ۶ آلل مختلف برای توالی تکراری TTTA در محدوده ۷-۱۳ تکرار وجود داشته و فراوانترین آلل‌های توالی تکراری TTTA در همه زنان آفریقایی-آمریکایی، ژاپنی، سفیدپوستان آمریکایی لاتین و سفیدپوستان غیر آمریکایی لاتین، آلل $(TTTA)_v$ و $(TTTA)_{11}$ می‌باشند (۱۰). این نتایج با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. Okobia و همکارانش در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که فراوانترین آلل‌ها در بین هر دو گروه زنان بیمار و کنترل نیجریایی متعلق به آلل‌های $(TTTA)_8$ و $(TTTA)_v$ بوده و فراوانی این دو آلل بترتیب ۴۹/۷۸٪ و ۳۳/۸۵٪ در بیماران و ۵۵/۰۴٪ و ۳۰/۲۶٪ در افراد شاهد است (۱۴). Baxter و همکارانش در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که، هفت آلل مختلف در محدوده ۷ تا ۱۳ تکرار از توالی تکراری TTTA، در زنان انگلیسی وجود دارد و

فراوانترین آلل در بین این زنان، $(TTTA)_{11}$ با فراوانی ۳۷/۹٪ و ۳۶/۲٪ بترتیب در بین مبتلایان به سرطان پستان و افراد شاهد می‌باشد. دومین آلل رایج در زنان انگلیسی، $(TTTA)_v$ با فراوانی ۳۵/۸٪ و ۳۲٪ بترتیب در بین مبتلایان به سرطان پستان و افراد شاهد می‌باشد (۸). در مطالعه سفیدپوستان قفقازی در سال ۲۰۰۰ مشخص شد که آلل $(TTTA)_{11}$ با فراوانی ۳۸/۲٪ و ۳۷/۹٪، و آلل $(TTTA)_v$ با فراوانی ۳۳/۸٪ و ۳۵/۳٪ بیشترین فراوانی را در بین بیماران و افراد شاهد، بترتیب، دارا می‌باشند (۱۵). تعیین توالی مجدد ژن CYP-19 در سال ۲۰۰۵ مشخص کرد که، با وجود اینکه فراوانترین آلل در هر سه نژاد: سفیدپوست قفقازی، سیاهپوستان آمریکایی و آمریکایی‌های آسیایی تبار آلل $(TTTA)_v$ می‌باشد ولی آفریقایی‌های آمریکا دارای بیشترین فراوانی $(TTTA)_v$ (۸۳/۳٪) برای آلل کوتاه $(TTTA)_v$ بوده و بعد از آن بترتیب آسیایی‌ها (۵۳/۳٪) و قفقازی‌ها (۴۷/۵٪) قرار دارند (۷). در عوض دومین آلل رایج در هر سه نژاد $(TTTA)_{11}$ ، دارای بیشترین فراوانی در آسیایی‌ها (۳۵/۰٪) و سفیدپوستان قفقازی (۳۴/۲٪) می‌باشد. در جمعیت مورد مطالعه در این تحقیق، بیشترین فراوانی آللی در بین بیماران و افراد شاهد متعلق به آلل $(TTTA)_v$ -TCT با فراوانی ۳۴/۸٪ و ۳۴/۳٪، بترتیب، می‌باشد. دومین آلل در هر دو گروه بیماران و افراد شاهد $(TTTA)_{11}$ با فراوانی ۲۷/۹٪ و ۲۶/۶٪ بترتیب، می‌باشد. نتایج این مطالعه با یافته‌های Ma و همکارانش مطابقت داشته و با توجه به شباهت جمعیت ایرانی به جمعیت سفیدپوستان قفقازی، شاید بتوان نشان می‌دهد که احتمالاً دو جمعیت ایرانی و سفیدپوستان قفقازی از جد مشترکی مشتق شده‌اند.

Kristensen و همکاران در سال ۱۹۹۸ بیان کردند

پلی مورفیسم ژن CYP19 در زنان آفریقایی (نیجریه) نشان داد که زنان حامل آلل‌های بزرگتر از ۱۰ دارای ریسک افزایش ابتلا به سرطان پستان ($OR=1/29$) بوده که معنی‌دار نبود ($95\%CI=0/83-2/00$). این تفاوت همچنین، در زنان قبل و بعد از دوران یائسگی نیز مشاهده شد (۷). Ribeiro و همکارانش نشان دادند که، در جمعیت برزیلی، فراوانی آلل $TTTA_{10}$ در بیماران ۳ برابر بیشتر از افراد شاهد بوده و این تفاوت معنی‌دار ($OR=0/048$) است (۱۱). Probst-Hensch و همکارانش در سال ۱۹۹۹ و Healy و همکارانش در سال ۲۰۰۰، ارتباط بین توالی ایترونی $TTTA_n$ و افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان را نفی کردند (۱۳ و ۱۵). در این مطالعه نیز، اختلاف معنی‌داری بین آلل کوتاه با هفت تکرار $TTTA_{7+TCT}$ و افزایش خطر ریسک ابتلا به سرطان پستان ($p=0/5272$; $95\%CI=0/8012-1/5413$) و $OR=1/1113$ و همچنین، آلل بلند با سیزده تکرار $TTTA$ و افزایش معنی‌دار مقاومت به بروز سرطان پستان ($p=0/3299$; $95\%CI=0/0354-3/2943$) و $OR=0/3413$ مشاهده نشده است. بررسی نتایج این پروژه نشان می‌دهد که افراد با آلل‌های بلند (۱۰ و ۱۳ تکرار $TTTA$) نه تنها استعداد بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان ندارند، بلکه؛ این افراد احتمالاً بترتیب ۲ و ۳ برابر بیشتر نسبت به بروز سرطان پستان مقاوم شده‌اند (جدول ۲)، هر چند محاسبات آماری افزایش معنی‌دار برای این مقاومت نشان نمی‌دهد.

که یک آلل نادر دارای بلندترین تکرار $TTTA_{12}$ ، خطر افزایش یافته‌ی ابتلا به سرطان پستان در بیماران را، نسبت به افراد شاهد، نشان می‌دهد ($OR=2/42$) و این ارتباط را معنی‌دار ($95\%CI:1/03-5/80$) بیان کردند (۹). Miyoshi و همکارانش نشان دادند که افراد هموزیگوت برای آلل $TTTA_{10}$ در معرض خطر افزایش یافته‌ای ($OR=1/8$) برای سرطان پستان بوده و این اختلاف معنی‌دار ($95\%CI:0/97-3/36$) می‌باشد (۱۰). Haiman و همکارانش در سال ۲۰۰۰ با مطالعات نمونه-کنترل خود نشان دادند که در مقایسه با افراد کنترل، فرکانس آلل $TTTA_{10}$ و $TTTA_{12}$ در بیماران بالاتر بوده ولی این تفاوت تنها در مورد آلل $TTTA_{10}$ معنی‌دار ($p=0/005$) است (۱۶). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۱ روی زنان انگلیسی انجام شد، Baxter و همکارانش نشان دادند که فراوانی سه آلل ۸، ۱۰ و ۱۲ در بیماران نسبت به افراد شاهد بیشتر است اما، تنها دو آلل ۸ و ۱۰ ($p=0/012$ و $p=0/028$) بترتیب) و نه آلل ۱۲ ($p=1/00$)، اختلاف معنی‌داری بین بیماران و افراد شاهد نشان می‌دهند (۸). ایشان نشان دادند که افراد با ۱۰ تکرار $TTTA$ بطور معنی‌داری در معرض خطر افزایش یافته برای ابتلا به سرطان پستان (بیش از ۷ برابر) قرار دارند (۸). Ahsan و همکارانش در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که آلل $TTTA_{11}$ در ارتباط با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در زنان حامل این آلل، و همچنین در زنان با مادران حامل این آلل، می‌باشد (۱۷). مطالعات

References

1. Aronson K. Alcohol: a recently identified risk factor for breast cancer. *CMAJ* 2003; 168(9): 1147-8.
2. Yavari P, Mosavizadeh M, Sadrol-Hefazi B, Mehrabi Y. Reproductive characteristics and the risk of breast cancer--

- a case-control study in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005; 6(3): 370-5.
3. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. *Breast J* 2007; 13(4): 383-91.
 4. Figer A, Karasik YP, Baruch RG, Chetrit A, Papa MZ, Sade RB, et al. Insulin-like growth factor I polymorphism and breast cancer risk in Jewish women. *Isr Med Assoc J* 2002; 4(10): 759-62.
 5. Toda K, Terashima M, Kawamoto T, Sumimoto H, Yokoyama Y, Kuribayashi I, et al. Structural and functional characterization of human aromatase P-450 gene. *Eur J Biochem* 1990; 193(2): 559-65.
 6. Bulun SE, Simpson ER. Regulation of aromatase expression in human tissues. *Breast Cancer Res Treat* 1994; 30(1): 19-29.
 7. Ma CX, Adjei AA, Salavaggione OE, Coronel J, Pelleymounter L, Wang L, et al. Human aromatase: gene resequencing and functional genomics. *Cancer Res* 2005; 65(23): 11071-82.
 8. Baxter SW, Choong DY, Eccles DM, Campbell IG. Polymorphic variation in CYP19 and the risk of breast cancer. *Carcinogenesis* 2001; 22(2): 347-9.
 9. Kristensen VN, Andersen TI, Lindblom A, Erikstein B, Magnus P, Borresen-Dale AL. A rare CYP19 (aromatase) variant may increase the risk of breast cancer. *Pharmacogenetics* 1998; 8(1): 43-8.
 10. Miyoshi Y, Iwao K, Ikeda N, Egawa C, Noguchi S. Breast cancer risk associated with polymorphism in CYP19 in Japanese women. *Int J Cancer* 2000; 89(4): 325-8.
 11. Ribeiro FS, de Amorim LM, de Almeida ST, Mendonca GA, de Moura Gallo CV, Pinto LF. CYP19 (TTTA)_n polymorphism and breast cancer risk in Brazilian women. *Toxicol Lett* 2006; 164(1): 90-5.
 12. Tsuchiya N, Wang L, Suzuki H, Segawa T, Fukuda H, Narita S, et al. Impact of IGF-I and CYP19 gene polymorphisms on the survival of patients with metastatic prostate cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24(13): 1982-9.
 13. Probst-Hensch NM, Ingles SA, Diep AT, Haile RW, Stanczyk FZ, Kolonel LN, et al. Aromatase and breast cancer susceptibility. *Endocr Relat Cancer* 1999; 6(2): 165-73.
 14. Okobia MN, Bunker CH, Zmuda JM, Ezeome ER, Anyanwu SN, Uche EE, et al. Simple tandem repeat (TTTA)_n polymorphism in CYP19 (aromatase) gene and breast cancer risk in Nigerian women. *J Carcinog* 2006; 5: 12.
 15. Healey CS, Dunning AM, Durocher F, Teare D, Pharoah PD, Luben RN, et al. Polymorphisms in the human aromatase cytochrome P450 gene (CYP19) and breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2000; 21(2): 189-93.
 16. Haiman CA, Hankinson SE, Spiegelman D, De V, I, Colditz GA, Willett WC, et al. A tetranucleotide repeat polymorphism in CYP19 and breast cancer risk. *Int J Cancer* 2000; 87(2): 204-10.
 17. Ahsan H, Whittemore AS, Chen Y, Senie RT, Hamilton SP, Wang Q, et al. Variants in estrogen-biosynthesis genes CYP17 and CYP19 and breast cancer risk: a family-based genetic association study. *Breast Cancer Res* 2005; 7(1): R71-R81.

Polymorphisms of Satellite DNA CYP19 gene and its association with increased risk of breast cancer in Isfahan population

Seyed Morteza javadirad¹, Simin Hemati PhD², Manochehr Tavassoli PhD³

Abstract

Background: Aromatase is a key enzyme in production of estrogen. This enzyme is encoded by cytochrome P-450 (CYP19) gene. It has been shown that overexposure of cells to estrogen causes breast carcinoma and breast cancer patients show higher level of aromatase expression. The purpose of this study was to investigate polymorphism of the CYP19 intron 4 (TTTA)_n among breast cancer patients and healthy individuals and its relation to risk of breast cancer.

Methods: This study was a case-control study on 100 patients and 100 controls women. DNA was extracted from the blood of study subjects, the sequence were amplified by the technique of Polymerase Chain Reaction (PCR). Thereafter the number and sequence of TTTA was measured by gel electrophoresis on Polyacrylamid.

Findings: The results of this study shown that CYP19 gene allele distribution in Isfahan population varies between 7 and 13. The most common allele in both controls and cases was (TTTA)₇-TCT with frequencies of 34.3% and 34.8%, respectively.

Conclusion: Our results show that the frequency distribution of 10 TTTA repeats is more in controls (2.3%) than in patients (1.3%). This discrepancy suggests a protective role for this allele for Isfahanian women.

Key words: breast cancer, microsatellite, polymorphism, CYP19

¹ Student, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

² Assistant Professor, Department of Radiology, School of Medicinn, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

³ Associate Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Seyed Morteza javadirad, Email: javadirad@yahoo.com