

Investigation of rs2234693 C/T Polymorphism in Estrogen Alpha-Receptor Gene and its Relationship with Breast Cancer Susceptibility in West of Mazandaran Province, Iran

Ebrhim Vosoughi^{1,2},
Shahrbano Keihanian³,
Saba sadat Hosseini¹,
Nematollah Ahangar^{4,5}

¹ Doctor of Pharmacy, Student Research Committee, Ramsar International Unit, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran

² Researcher, Azerbaijan National Academy of Sciences, Genetic Resources Institute, Baku, Azerbaijan

³ Associate Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran

⁴ Associate Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Associate Professor, Department of Toxicology/Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 29, 2017 ; Accepted July 17, 2018)

Abstract

Background and purpose: Estrogen hormone is a physiological regulator of breast tissue proliferation and changes in its signaling pathways, including the alpha-estrogen receptor, occurs during breast cancer and its progression. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes can lead to differences in cancer susceptibility and response to treatment in different populations. In the present study, we investigated rs2234693 C/T single-nucleotide polymorphism in ESR α gene in breast cancer patients and healthy population in west of Mazandaran province, Iran.

Materials and methods: A case-control study was performed in 91 healthy women without family history of breast cancer and 71 women with breast cancer admitted to oncology department in Ramsar Imam Sajjad Hospital between April and September 2017. Peripheral blood (3 ml) was taken from the subjects and stored at -20°C. The PCR-RFLP method was used to determine the distribution of rs2234693 polymorphisms.

Results: The incidence of breast cancer in individuals with homozygous TT genotype was significantly higher ($p < 0.001$) compared to those with CT and wild CC. Moreover, individuals with T allele are at significantly higher and increased risk for breast cancer (OR = 2.207, 95%CI = 1.40-3.48, $p = 0.001$).

Conclusion: To the best of our knowledge, this study for the first time suggested that T allele of rs2234693 C/T polymorphism might be a leading allele that cause increased breast cancer susceptibility in west of Mazandaran province.

Keywords: breast cancer, estrogen receptor alpha, Mazandaran, Iran, PCR-RFLP

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (164): 13-20 (Persian).

* **Corresponding Author:** Nematollah Ahangar - Pharmaceutical Sciences Research Center and Department of Toxicology/Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: n.ahangar@mazums.ac.ir)

بررسی پلی مورفیسم rs2234693 C/T ژن گیرنده استروژنی آلفا و ارتباط آن با ابتلا به سرطان سینه در غرب استان مازندران

ابراهیم وثوقی^۱
شهربانو کیهانیان^۳
صباسادات حسینی^۱
نعمت اله آهنگر^۵

چکیده

سابقه و هدف: هورمون استروژن، تنظیم کننده فیزیولوژیکی تکثیر بافت سینه است و تغییرات در مسیرهای سیگنالینگ آن، از جمله گیرنده استروژن آلفا در طول سرطان سینه و پیشرفت آن اتفاق می افتد. پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی (SNPs) در ژن ها می توانند به تفاوت در استعداد ابتلا به سرطان و پاسخ متفاوت به درمان در جمعیت های مختلف منجر شوند. در مطالعه حاضر، همراهی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs2234693C/T در ژن α ESR α با سرطان سینه در جمعیت بیمار و سالم غرب استان مازندران مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: پژوهش موردی-شاهدی حاضر بر روی ۹۱ خانم سالم بدون سابقه خانوادگی سرطان سینه و ۷۱ خانم مبتلا به سرطان سینه بستری شده در بخش انکولوژی بیمارستان امام سجاد (ع) رامسر در فاصله زمانی فروردین تا شهریور ۱۳۹۶ انجام گرفت. ۳ میلی لیتر خون محیطی از هر کدام از افراد گرفته شده و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. از تکنیک PCR-RFLP جهت تعیین پراکنندگی پلی مورفیسم های rs2234693 استفاده شد.

یافته ها: در افراد مبتلا به سرطان سینه، ژنوتیپ هموزیگوت TT به طور معنی دار ($p < 0.001$) بیش تر از ژنوتیپ های CT و هموزیگوت CC مشاهده شد. علاوه بر این، افرادی که واجد آلل T هستند، به طور معنی داری میزان بالاتر و خطر بیش تری برای ابتلا به سرطان سینه دارند ($OR = 2.207, 95\%CI = 1.40-3.48, p = 0.001$).

استنتاج: مطالعه ما برای نخستین بار در غرب مازندران پیشنهاد می کند که آلل T پلی مورفیسم rs2234693 ممکن است آلل پیشرو در افزایش احتمال ابتلا به سرطان سینه باشد.

واژه های کلیدی: سرطان سینه، گیرنده آلفای استروژن، مازندران، ایران، PCR-RFLP

مقدمه

به سرطان سینه در ایران در مقایسه با کشورهای غربی نسبتاً جوان ترند و حدود یک دهه زودتر مبتلا می شوند (۱-۴). یکی از مهم ترین خطرات تعیین کننده برای سرطان سینه مربوط به سطح هورمون های درونی و وقایع اصلی تولیدمثلی

در کشورهای صنعتی و در سراسر جهان، سرطان سینه از معمول ترین سرطان ها در میان زنان است و سالانه با بیش از یک میلیون ابتلا و ۱۴۰ هزار مرگ و میر، مهم ترین علت مرگ و میر ناشی از سرطان محسوب می شود. مبتلایان

E-mail: n.ahangar@mazums.ac.ir

مؤلف مسئول: نعمت اله آهنگر - ساری: مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، مرکز تحقیقات علوم دارویی

۱. دکتر داروساز، کمیته تحقیقات دانشجویی، پردیس رامسر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران

۲. محقق ژنتیک پزشکی، آکادمی ملی علوم آذربایجان و انستیتو تحقیقات و ذخایر ژنتیک، باکو، آذربایجان

۳. دانشیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، تنکابن، ایران

۴. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. دانشیار، گروه سم شناسی/فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۹/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۴/۲۶

گروه مورد شامل ۷۱ خانم مبتلا به سرطان پستان غیر خوشاوند ساکن غرب استان مازندران، مراجعه کننده و بستری شده در بخش انکولوژی بیمارستان امام سجاد (ع) رامسر در فاصله زمانی فروردین تا شهریور ۱۳۹۶ و گروه شاهد شامل ۹۱ خانم سالم ساکن همین منطقه بدون سابقه ابتلا به سرطان سینه در خود و هم چنین عدم سابقه خانوادگی این سرطان در بستگان درجه اول و دوم، با میانگین سنی مشابه با گروه مورد بودند. معیارهای ورود به طرح همان طور که در بالا اشاره شد عبارت بودند از خانم‌های مبتلا به سرطان سینه بستری شده در بخش انکولوژی با تایید ابتلا به سرطان توسط فوق تخصص انکولوژی و آزمایشات پاتولوژی و صحبت و توضیحات پزشک با بیماران جهت مشارکت در طرح و این که هیچ گونه مداخله‌ای در روند درمانی ایشان انجام نخواهد شد.

معیار خروج از مطالعه نیز عدم رضایت بیماران برای مشارکت یا انصراف از همکاری ایشان بود. اطلاعات دموگرافیک و فاکتورهای هورمونی افراد شامل سن، تاهل، شغل، تعداد فرزندان، رژیم غذایی، فعالیت بدنی، عوارض بارداری، سن اولین زایمان، سابقه خانوادگی سرطان پستان، سن اولین قاعدگی، وضعیت سیکل ماهانه و یائسگی و ... در قالب یک پرسش نامه جمع آوری شد. سپس با رضایت کتبی افراد و طبق اصول اخلاقی پژوهش، ۲ میلی لیتر خون محیطی از هر کدام از نمونه‌ها اخذ شده و در لوله‌های حاوی EDTA جمع آوری و تا انجام مراحل بعدی در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

استخراج DNA، توالی پرایمرها و واکنش PCR

استخراج DNA ژنومیک از نمونه‌های خونی با استفاده از روش (فنل-کلروفرم-ایزو آمیل الکل) انجام شد. بررسی کیفیت DNA توسط ژل آگارز ۳ درصد و رنگ آمیزی با Safe Stain تایید شد. تعیین ژنوتیپ به روش PCR-RFLP صورت گرفت. در روند PCR، از پرایمرهای (سیناکلون، ایران) با توالی پرایمر رفت (Forward) شامل 5'CTG CCA CCC TAT CTG

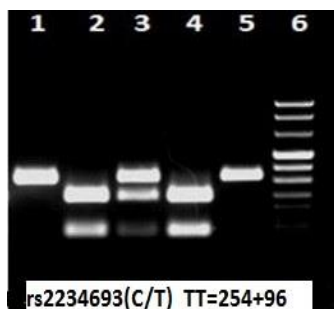
است (۵). مشخص شده است در سرطان سینه تیپکال که در سلول‌های لومینال اپیتلیال غدد پستانی رخ می‌دهد، این سلول‌ها دارای گیرنده‌های استروژن هستند که به استروژن تخمدانی برای رشد پاسخ می‌دهند (۷،۶). بیان استروژن از طریق گیرنده آن تنظیم می‌شود (۸). گیرنده استروژن یکی از اهداف مولکولی شناخته شده برای درمان سرطان پستان است (۹). یکی از مهم ترین واسطه‌های پاسخ هورمونی در بافت‌های حساس به استروژن مانند پستان، گیرنده استروژن آلفا ($ESR\alpha$) است که یک بیومارکر بالینی بسیار مفید برای پیشروی سرطان محسوب می‌شود (۱۰). ژن $ESR\alpha$ در موقعیت 6q24-27 واقع و از ۸ اگزون تشکیل شده است (۱۱). گیرنده‌ها در تنظیم عملکردهای سلولی موثرند و ایجاد تغییرات کوچک در ساختمان آن‌ها نقش اساسی در عملکرد آن‌ها داشته که این ممکن است به تدریج بر کیفیت پاسخ آن‌ها نیز تاثیر بگذارد (۱۲). پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs2234693 در ۳۹۷ جفت باز، بالا دست اگزون ۲ این ژن واقع شده است (۱۳). این پلی مورفیسم با فنوتیپ بیماری‌های قلبی - عروقی، پوکی استخوان، سرطان‌های وابسته به هورمون مثل سرطان سینه، پروستات و آندومتر همراهی نشان داده است (۱۴). در نقاط مختلف جهان و به ویژه آسیای شرقی، مطالعات متعددی انجام شده و اطلاعات منتشر شده آن‌ها در مورد همراهی پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ژن $ESR\alpha$ با استعداد ابتلا به سرطان سینه نتایج متفاوتی داشته است (۱۵، ۱۶). از آن جا که تفاوت‌های نژادی و جغرافیایی در میزان خطر ابتلا و ویژگی‌های بالینی سرطان سینه موثر است، در مطالعه حاضر برای نخستین بار بررسی همراهی این پلی مورفیسم در ژن گیرنده استروژن آلفا با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت زنان بیمار و سالم غرب استان مازندران مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های مورد مطالعه

مطالعه حاضر یک مطالعه موردی - شاهدهی بوده و

SPSS نسخه ۱۶ به طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به منظور مقایسه توالی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در افراد مورد مطالعه از آزمون مربع کای و نسبت بخت (Odds Ratio) با محدوده اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.



تصویر شماره ۱: تصویر الکتروفورز پس از RFLP بر روی محصولات PCR پلی مورفیسم گیرنده استروژن آلفا موتاسیون rs2234693 (C/T) با استفاده از آنزیم محدودالانتر PvuII: 1: هموزیگوت طبیعی CC. 2 و 4: هموزیگوت جهش یافته TT. 3: هتروزیگوت CT. 5: قطعه تکثیر شده 350 جفت باز به عنوان کنترل. 6: DNA Ladder 50 bp مورد استفاده برای تایید باندهای مورد نظر

یافته ها

در این تحقیق، تعداد ۷۱ نمونه بیمار دارای سرطان سینه و ۹۱ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به جدول شماره ۱، در بیماران دارای سرطان سینه، ۳۷ نمونه (۵۲/۱ درصد) دارای ژنوتیپ هموزیگوت TT، ۲۱ نمونه (۲۹/۶ درصد) دارای ژنوتیپ هتروزیگوت TC و ۱۳ نمونه (۱۸/۳ درصد) ژنوتیپ سالم CC بوده‌اند. در گروه افراد سالم، ۶ نمونه (۶/۶ درصد) دارای ژنوتیپ هموزیگوت TT، ۷۵ نمونه (۸۲/۴ درصد) دارای ژنوتیپ هتروزیگوت TC و ۱۰ نمونه (۱۱ درصد) دارای ژنوتیپ سالم CC بوده‌اند. به نتایج مربوط به آزمون در جدول شماره ۱ اشاره شده است.

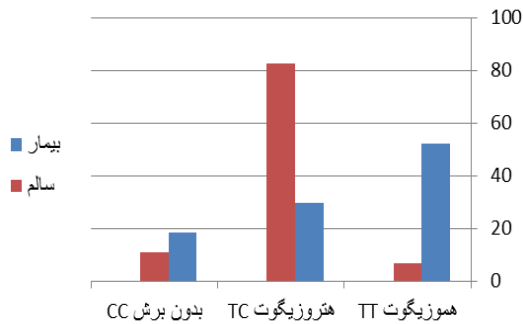
3' TAT CTT TTC CTA TTC TCC 5' (Reverse) شامل 5'TCT TTC TCT GCC ACC CTG 3' استفاده گردید. برنامه PCR طی یک چرخه واسرشت اولیه به مدت ۱۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، سپس ۳۵ چرخه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز شامل واسرشت به مدت ۱ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال پرایمر به مدت ۱ دقیقه در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد، طولیل شدن زنجیره به مدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در آخر یک چرخه بازآرایی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بهینه‌سازی و در دستگاه ترموسایکلر T100 (Bio-RAD, USA) انجام شد. انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در شرایط فوق سبب ایجاد یک محصول به اندازه ۳۵۰ جفت باز شد. بعد از تایید باند ۳۵۰ جفت بازی حاصل از PCR، جهت انجام فرآیند RFLP از آنزیم محدودکننده PvuII طبق پروتکل مربوطه و انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد. پس از زمان انکوباسیون، محصول هضم آنزیمی در ژل آگارز ۳ درصد حاوی ۰/۷ میکرولیتر safe stain بارگذاری و در نهایت باندهای جدا شده بر اساس وزن مولکولی، توسط uv trans-illuminator مشاهده شد. وجود آلل موتانت هموزیگوت T سبب ایجاد دو قطعه ۲۵۴ و ۹۶ جفت بازی می‌شود. ژنوتیپ هتروزیگوت سه باند ۲۵۴، ۳۵۰ و ۹۶ جفت بازی را نشان می‌دهد و حضور آلل وحشی C جایگاهی برای برش توسط آنزیم ایجاد نکرده و فقط باند ۳۵۰ دیده خواهد شد (تصویر شماره ۱).

آنالیز آماری

اطلاعات به دست آمده، با استفاده از نرم‌افزار آماری

جدول شماره ۱: نتایج آزمون کای دو برای بررسی پراکنندگی ژنوتیپ در پلی مورفیسم rs2234693 ژن ESRα در افراد سالم و مبتلا به سرطان سینه

گروه	بیمار تعداد (درصد)	سالم تعداد (درصد)	آماره آزمون	سطح معنی داری	OR	فاصله اطمینان ۹۵ درصد		سطح معنی داری
						حد پایین	حد بالا	
هموزیگوت TT	۵۲/۱۳۷	۶/۶۶	۵۱/۴۳	۰/۰۰۱	۰/۰۴۵	(ژنوتیپ پایه)		۰/۰۰۱
هتروزیگوت TC	۲۹/۶۲۱	۸۲/۴۷۵				۰/۰۱۶	۰/۱۲۲	
بدون برش CC	۱۸/۳۱۳	۱۱/۱۰				۰/۰۵۰	۰/۳۱۶	
جمع کل	۱۰۰/۷۱	۱۰۰/۹۱						



تصویر شماره ۲: توزیع فراوانی بر حسب درصد پلی مورفیسم rs2234693 ژن ESR α به تفکیک دو گروه بیمار و سالم

جدول شماره ۲: نتایج آزمون کای مربع برای بررسی پراکنندگی آللی پلی مورفیسم rs2234693 ژن ESR α در افراد سالم و مبتلا به

سرطان سینه

آلل	گروه بیمار n (%)	گروه سالم n (%)	مقدار آماره χ^2	سطح معنی داری
T	(66/9) 95	(47/8) 87	11/819	0/001
C	(33/1) 47	(52/2) 95		

جدول شماره ۳: نسبت بخت و ضریب اطمینان پراکنندگی آللی در پلی مورفیسم rs2234693 ژن ESR α در افراد سالم و مبتلا به سرطان سینه

نسبت بخت	نسبت بخت
2/207	نسبت بخت
1/40 - 3/48	ضریب اطمینان (CI) /95
3/413	Z Statistics
0/001	P-value

بحث

در این مطالعه برای نخستین بار ارتباط میان پلی مورفیسم rs2234693 ژن گیرنده ESR α و ابتلا به سرطان سینه در جمعیت غرب استان مازندران مورد ارزیابی قرار گرفت. به طور کلی در این مطالعه بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs2234693 ژن گیرنده ESR α و افزایش احتمال ابتلا به سرطان سینه همراهی آشکار وجود داشت. افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه برای برخی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها وجود دارد. در این مطالعه برای ژنوتیپ‌های TT و CT از پلی مورفیسم مورد بررسی، افزایش خطر ابتلا وجود داشت، به طوری که OR ژنوتیپ TT پلی مورفیسم rs2234693 در این مطالعه 4/5 برابر نسبت به ژنوتیپ TC و 2/5 برابر نسبت به ژنوتیپ CC بیش تر بود. این مطالعه نشان داد افراد دارای

در جدول شماره ۱ با توجه به این که p-value آزمون برابر با 0/001 و کوچک تر از 0/05 شده است، در سطح اطمینان 95 درصد رابطه بین پلی مورفیسم rs 2234693 با بیماری سرطان سینه تایید می گردد. با توجه به مقادیر فراوانی در جدول شماره ۱ مشخص می شود که وجود ژن هموزیگوت تاثیر معنی داری در ابتلا افراد به بیماری سرطان سینه دارد. نسبت بخت برای ژنوتیپ هتروزیگوت نسبت به هموزیگوت برابر با 0/45 با ارزش احتمالی 0/05 < p نشان دهنده یکسان نبودن شانس ابتلا به بیماری سرطان سینه برای افراد با ژنوتیپ هموزیگوت و هتروزیگوت است. بدین معنا که افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت نسبت به افراد دارای ژنوتیپ بدون برش به هموزیگوت شانس برابر با 0/45 برای ابتلا به سرطان سینه دارند. نسبت بخت برای ژنوتیپ بدون برش نسبت به هموزیگوت برابر با 0/126 با ارزش احتمالی 0/05 < p نشان دهنده یکسان نبودن شانس ابتلا به بیماری سرطان سینه برای افراد با ژنوتیپ هموزیگوت و بدون برش است. بدین معنی که افراد دارای ژنوتیپ بدون برش نسبت به افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت TT شانس برابر با 0/126 برای ابتلا به سرطان سینه دارند. با توجه به نتایج آزمون کای مربع در جدول شماره ۲، میزان p-value آزمون کوچک تر از مقدار 0/05 است که نشان دهنده وجود اختلاف معنادار میان فراوانی آلل T و C پلی مورفیسم rs 2234693 در دو گروه بیمار و سالم است. با توجه به مقادیر فراوانی مشخص است که در گروه بیماران مبتلا به سرطان سینه فراوانی آلل T بالاتر است. هم چنین نسبت بخت (Odd Ratio) OR=2/207 با ضریب اطمینان (CI) 95 درصد برابر با 1/40 - 3/48 و ارزش احتمالی 0/05 < p نشان دهنده یکسان نبودن شانس ابتلا به بیماری سرطان سینه برای افراد با آلل T و C است. بدین معنا که افراد دارای آلل T، 2/207 برابر شانس بیش تری برای ابتلا به سرطان سینه نسبت به افراد فاقد این آلل را دارا هستند. اطلاعات فوق در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

آلل T، ۲/۲۰۷ برابر شانس بیش تری برای ابتلا به سرطان سینه نسبت به افراد فاقد این آلل را دارا می‌باشند که با مطالعه Cai و همکاران هم‌خوانی دارد (۱۷). Modugno و همکاران نیز به افزایش خطر سرطان سینه در واجدین آلل T که زایمان نداشتند، اشاره کرده‌اند (۱۸).

Shen و همکاران نیز افزایش خطر در زنان واجد این دو ژنوتیپ که سابقه خانوادگی سرطان پستان داشتند را بیان می‌کنند (۱۹).

یافته‌های ما نشان داد که زنان مبتلا به سرطان سینه، دارای تفاوت معنی‌دار در پراکندگی ژنوتیپ با گروه کنترل می‌باشند، به طوری که در گروه بیمار، اختلاف معنی‌داری میان ژنوتیپ‌های TT و CT با افراد سالم وجود دارد و این مورد در مطالعه سعادت‌مند و همکاران نیز تأیید شده است (۲۰).

عباسی و همکاران نیز این مورد را در مطالعه خود تأیید کرده‌اند (۲۱). Xu و Li در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که تنوع بالای فعالیت رونویسی از آلل T در پلی مورفیسم rs2234693، رابطه معنی‌داری با افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه دارد که با مطالعه ما هم‌خوانی داشت (۲۲). در سال ۲۰۱۲، Giacomazzi و همکاران نشان دادند که پلی مورفیسم‌های T/C در زنان مبتلا به سرطان سینه در کشور برزیل توزیع بیش تری دارند که مطالعه ما هم یافته‌های آن‌ها را تأیید کرد (۲۳).

مطالعه ما نشان داد که ژن ESR α در بروز و افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه در غرب مازندران نقش دارد که با مطالعه Yadav و همکارانش در سال ۲۰۱۵ هم‌خوانی داشت (۲۴). در سال ۲۰۱۵، Zhang و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که افراد با ژنوتیپ TT+TC و یا TT در مقایسه با ژنوتیپ CC در پلی مورفیسم‌های مختلف ژن ESR α در معرض خطر ابتلا به سرطان سینه قرار دارند و هم‌چنین نشان دادند که در افراد آسیائی دارای ژنوتیپ TT، پلی مورفیسم rs2234693 نسبت به ژنوتیپ CC دارای ریسک بالای ابتلا به سرطان سینه می‌باشند که با مطالعه ما هم‌خوانی داشت (۲۵). پاتورنز

سرطان و عوامل شناخته و ناشناخته محیطی و ژنتیکی دخیل در آن بسیار متفاوت است. واقع شدن پلی مورفیسم مورد مطالعه در اینترون به دلایلی در خطر ابتلا بالقوه به سرطان سینه موثر است زیرا پلی مورفیسم rs2234693 ممکن است با تغییرات در سایر ژن‌های ناشناخته مجاور با ESR α که خطر سرطان سینه را افزایش می‌دهند، در ارتباط نزدیک باشد. تغییرات اینترونی در توالی ژن ممکن است روی بیان ژن‌های دیگر از طریق تاثیر در رونویسی و یا تغییر پایداری mRNA آن‌ها اثر داشته باشد و هم‌چنین برخی از اینترون‌ها، توالی‌های تنظیمی مانند تقویت کننده‌ها دارند که بر سطح بیان ژن از راه تنظیم رونویسی اثر می‌گذارند.

با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که گیرنده استروژن نقش متفاوتی در تنظیم ژن‌ها و در ایجاد سرطان سینه دارد و بررسی بیان آن و یا نقش پلی مورفیسم‌های مختلف آن می‌تواند راهنمای تشخیص جنبه‌های مختلف سرطان سینه و هم‌چنین پاسخ‌های سلولی و ملکولی به داروهای استروژنی و ضد استروژنی و داروهای مصرفی در درمان این سرطان باشد. روش‌های ملکولی با اختصاصی بودن برای هر نژاد، یکی از بهترین روش‌های تشخیص بیماری‌های مختلف در نژادهای مختلف هستند. بررسی نقش پلی مورفیسم‌های مختلف ژن گیرنده استروژنی می‌تواند یک روش ارزشمند برای تشخیص و ارائه درمان مناسب برای سرطان سینه باشد. در مطالعه حاضر که بر روی یک جمعیت کوچک غرب مازندران انجام شد، بین این پلی مورفیسم و خطر ابتلا به سرطان سینه ارتباط آماری معنی‌دار مشاهده شد. برای تکمیل مطالعه بررسی میزان بیان ژن ESR α و درجه‌بندی تومور در ارتباط با نوع آلل در فرد و نیز انجام همین طرح در سایر نقاط کشور با تعداد بیش تر نمونه‌ها و ارزیابی پراکندگی پلی مورفیسم مذکور و نیز سایر پلی مورفیسم‌های ژن ESR α و بررسی ارتباط آن‌ها با خطر ابتلا و نیز پیشرفت و برآیند نهایی سرطان سینه پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

پژوهشی پردیس خودگردان رامسر اعلام می دارند. همچنین از پرسنل محترم بخش آنکولوژی بیمارستان امام سجاد (ع) رامسر نیز به جهت مساعدت در انجام طرح قدردانی می گردد.

این تحقیق حاصل بخشی از پایان نامه دکترای داروسازی آقای ابراهیم وثوقی، مصوب پردیس خودگردان رامسر، با کد طرح ۲۵۵۶ بوده است. نویسندگان مقاله مراتب سپاس و قدردانی خویش را از امور

References

1. Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, et al. Harrison's principles of internal medicine: Oncology and Hematology. 17th ed. 2008. p. 479-747.
2. Alteri R, Barnes C, Burke A, Gansler T. American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014.
3. Sharma GN, Dave R, Sanadya J, Sharma P, Sharma KK. Various types and management of breast cancer: An overview. *J Adv Pharm Technol Res* 2010; 1(2): 109-126.
4. Kwan ML, Kushi LH, Weltzien E, Maring B, Kutner SE, Fulton RS, et al. Epidemiology of breast cancer subtypes in two prospective cohort studies of breast cancer survivors, *Breast Cancer Res* 2009; 11(3): R31.
5. Ladd AG-Z, Vásquez AA, Rivadeneira F, Siemes C, Hofman A, Stricker BC, et al. Estrogen receptor α polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 107(3): 415-419.
6. Heffner LJ, Schust DJ. The reproductive system at a glance. 3rd ed. Chichester, West Sussex, UK; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2010. p. 125.
7. Meldrum DR. Female reproductive aging--ovarian and uterine factors. *Fertil Steril* 1993; 59(1):1-5.
8. Silvestri S, Thomsen AB, Gozzini A, Bagger Y, Christiansen C, Brandi ML. Estrogen receptor alpha and beta polymorphisms: is there an association with bone mineral density, plasma lipids, and response to postmenopausal hormone therapy? *Menopause* 2006; 13(3): 451-461.
9. Koehler KF, Helguero LA, Haldosen LA, Warner M, Gustafsson JA. Reflections on the discovery and significance of estrogen receptor beta. *Endocr Rev* 2005; 26(3): 465-478.
10. Greene GL, Gilna P, Waterfield M, Baker A, Hort Y, Shine J. Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. *Science* 1986; 231(42): 1150-1154.
11. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996 11; 93(12): 5925-5930.
12. Devita VT, Lawrence TS, Hellman D, Rosenberg S. Devita, Helman, and Rosenbergs Cancer, Principles & Practice of Oncology Review. 10th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2005.
13. Green S, Walter P, Kumar V, Krust A, Bornert JM, Argos P, et al. Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature* 1986; 320(6058): 134-139.
14. Casazza K, Page GP, Fernandez JR. The association between the rs2234693 and rs9340799 estrogen receptor alpha gene polymorphisms and risk factors for

- cardiovascular disease: a review. *Biol Res Nurs* 2010; 12(1): 84-97.
15. Shao W, Brown M. Advances in estrogen receptor biology: prospects for improvements in targeted breast cancer therapy. *Breast Cancer Res* 2004; 6(1): 39-52.
 16. Huang J, Li X, Hilf R, Bambara RA, Muyan M. Molecular basis of therapeutic strategies for breast cancer. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2005; 5(4): 379-396.
 17. Cai Q, Shu XO, Jin F, Dai Q, Wen W, Cheng JR, et al. Genetic Polymorphisms in the Estrogen Receptor α Gene and Risk of Breast Cancer Results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12(9): 853-859.
 18. Modugno F, Zmuda JM, Potter D, Cai C, Ziv E, Cummings SR, et al. Association of estrogen receptor α polymorphisms with breast cancer risk in older Caucasian women. *Int J Cancer* 2005 10; 116(6): 984-991.
 19. Shen Y, Li DK, Wu J, Zhang Z, Gao E. Joint effects of the CYP1A1 MspI, ER α PvuII, and ER α XbaI polymorphisms on the risk of breast cancer: results from a population-based case-control study in Shanghai, China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(2): 342-327.
 20. Saadatmand S, Hamta A, Sadeghi A, Mohaghegh F. Study in association of single Nucleotide polymorphism in ESR1 gene rs2234693 with breast cancer in markazi province. *Arak Med Univ J* 2015; 17(93): 32-38 (Persian).
 21. Abbasi S, Nouri M, Azimi C. Estrogen receptor genes variations and breast cancer risk in Iran. *Int J Clin Exp Med* 2012; 5(4): 332-341.
 22. Li LW, Xu L. Menopausal Status Modifies Breast Cancer Risk Associated With ESR1 PvuII and XbaI Polymorphisms in Asian Women: a HuGE Review and Meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(10): 5105-1511.
 23. Giacomazzi J, Aguiar E, Palmero EI, Schmidt AV, Skonieski G, Filho DD, et al. Prevalence of ER α -397 PvuII C/T, ER α -351 XbaI A/G and PGR PROGINS polymorphisms in Brazilian breast cancer-unaffected women. *Braz J Med Biol Res* 2012; 45(10): 891-897.
 24. Yadav R, Chauhan P, Kaushal V, Vashist M. Estrogen Receptor a (Esr1) Polymorphism and Breast Cancer. *Am J Pharm Tech Res* 2015; 5(1): 113-136.
 25. Zhang Y, Zhang M, Yuan X, Zhang Z, Zhang P, et al. Association between ESR1 PvuII, XbaI, and P325PPolymorphisms and Breast Cancer Susceptibility: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit* 2015; 21: 2986-2996.