Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017

Arak Medical University Journal (AMUJ)
2017; 19(116): 99-109

Original Article

The Association of Vitamin D Receptor Gene (*VDR*) ApaI Polymorphism with the Risk of Breast Cancer in Markazi Province Women

Ahmad Hamta[1*], Mahsa Mohammadi[2], Jamshid Ansari[3]

1.Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Arak University, Arak, Iran
2.MSc Student of Genetics, Department of Biology, Arak University, Arak, Iran.
3.Assistant Professor, Oncology Department, Ayatollah khansari Hospital, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Received: 31 Aug 2016, Accepted: 26 Sep 2016

Abstract

Background: Biological and epidemiological data indicate that the levels of vitamin D maybe affect the breast cancer risk. Vitamin D plays an important role in cell proliferation, apoptosis and tumor growth suppression. Vitamin D receptor is a critical mediator for the cellular reactions of vitamin D. Some of the epidemiological studies, reviewed the relationship between *VDR* gene polymorphism ApaI and breast cancer, but the controversial findings have been achieved.

Materials and Methods: In this study, a population-based case-control study including 140 patients and 160 healthy individuals of women in Markazi Province were evaluated using PCR-RFLP approach. Genomic DNA was extracted from blood samples using the salting-out procedure. Polymorphism of interest was determined by PCR-RFLP method using ApaI enzyme and statistical analysis was performed by SPSS software .

Results: Based on the results of this study, distribution of AA genotype in cancer and control groups was, 38.6 and 26.87, for AC genotype 55.00 and 66.87, and finally for CC genotype 6.43 and 6.26 respectively. The results of this study showed no association between ApaI polymorphism of the *VDR* gene and breast cancer(OR=0.903,CI=95%, 0.29-2.95.)

Conclusion: In this study, we found no association between ApaI polymorphism and breast cancer, which are consistent with the findings of some other researchs. It is necessary to examine a larger population to achieve more definitive results.

Keywords: ApaI Polymorphism, Breast Cancer, Vitamin D.

*Corresponding Author:
Address: Department of Biology, Arak University, Arak, Iran
Email: a-hamta@araku.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۹، شماره ۱۱ (شماره پیاپی ۱۱۶)، بهمن ۱۳۹۵، ۱۰۹-۹۹

بررسی ارتباط چندشکلی جایگاه ApaI ژن گیرنده ویتامین D (*VDR*) با میزان ابتلا به سرطان پستان در زنان استان مرکزی

احمد همتا[1*]، مهسا محمدی[2]، جمشید انصاری[3]

۱. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشگاه اراک ،اراک، ایران

۳. استادیار، بخش انکولوژی، بیمارستان آیت الله خوانساری، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۶/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۷/۰۵

چکیده

زمینه و هدف: داده‌های بیولوژیکی و اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهند که سطوح ویتامین D ممکن است میزان ابتلا به سرطان پستان را تحت تأثیر قرار دهد. ویتامین D در تکثیر سلولی، وقوع آپپتوز و سرکوب رشد تومور نقش مهمی دارد. گیرنده ویتامین D یک واسطه‌ی حیاتی برای واکنش‌های سلولی ویتامین D است. برخی از مطالعات اپیدمیولوژیکی ارتباط بین چندشکلی ApaI ژن *VDR* و سرطان پستان را بررسی نموده‌اند، اما نتایج متناقضی به دست آمده است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در یک جمعیت مبتنی بر مطالعه مورد- شاهدی شامل ۱۴۰ بیمار و ۱۶۰ فرد سالم از زنان ساکن استان مرکزی انجام شد. DNA ژنومی از نمونه‌های خون با روش نمکی استخراج گردید. چند شکلی مورد نظر از طریق روش PCR-RFLP و با استفاده از آنزیم ApaI مورد بررسی قرار گرفت و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت.

یافته‌ها: باتوجه به نتایج این پژوهش، به ترتیب توزیع ژنوتیپ AA برای افراد بیمار و کنترل برابر با ۳۸/۶ و ۲۶/۸۷ درصد، برای ژنوتیپ AC برابر با ۵۵/۰۰ و ۶۶/۸۷ درصد و در نهایت برای ژنوتیپ CC برابر با ۶/۲۶ و ۶/۴۳ درصد به دست آمد. طبق یافته‌های حاصل، هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های جایگاه ApaI ژن *VDR* و سرطان پستان مشاهده نشد(۲/۹۵-۰/۰۲۹ ، ۹۵٪= CI ، ۰/۹۰۳=OR).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این تحقیق حاکی از عدم ارتباط معنی‌دار بین چند شکلی ApaI و سرطان پستان است که مطابق با نتایج برخی از پژوهش‌گران می‌باشد. برای نتیجه‌گیری بهتر، نیاز به بررسی جامعه‌ی آماری بزرگ‌تری می‌باشد.

واژگان کلیدی: چندشکلی ApaI، سرطان پستان، ژن گیرنده ویتامینD

***نویسنده مسئول:** ایران، اراک، دانشگاه اراک، گروه زیست شناسی

Email: a-hamta@araku.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017

مقدمه

سرطان پستان یک بیماری موضعی بوده اما می‌تواند سایر اندام‌های لنفاوی بخش‌های دیگر بدن را نیز آلوده سازد(۱). سرطان پستان، یکی از متداول‌ترین انواع سرطان‌های قابل تشخیص و بدخیم زنان در سراسر دنیا است و عامل ۱۶ درصد تمام سرطان‌ها و ۲۹/۹ درصد از سرطان‌های تهاجمی در زنان است(۲). با وجود تحقیقات مولکولی فراوان در رابطه با بیماری‌زایی سرطان پستان، فرآیندهای زیستی مستعدکننده آن هنوز به خوبی مشخص نشده است(۳). در برخی موارد، تغییرات ژنتیکی مسیر کنترل رشد، تمایز، مرگ سلولی یا ترمیم DNA ژنومی منجر به بدخیمی سلول‌ها می‌شود(۴). در سال‌های اخیر، وقوع سرطان پستان به طور چشم‌گیری در ایران روند صعودی داشته است و به عنوان فراوان‌ترین نوع سرطان در بین زنان شایع شده است(۵). برخی عوامل خطرناک و شناخته شده مرتبط با سرطان پستان شامل: سن، نداشتن فرزند، افزایش سن در زمان اولین زایمان، شروع زود هنگام قاعدگی، یائسگی دیرهنگام، چاقی، مصرف الکل، سابقه خانوادگی بیماری، مصرف قرص‌های ضدبارداری و درمان هورمونی جایگزین می‌باشند (۶- ۸). با وجود شناسایی عوامل فوق، به نظر می‌رسد که عوامل خطرناک دیگری نیز در این بیماری نقش داشته باشند که هنوز مبهم باقی مانده‌اند(۹) و شناسایی این عوامل ناشناخته ممکن است منجر به کاهش خطر ابتلا به بیماری شود(۱۰). مطالعات زیستی و همه‌گیرشناسی نشان داده است که میزان جذب غلظت سرمی ویتامین D توسط سلول‌ها، با خطر گسترش سرطان پستان ارتباط دارد (۱۱، ۱۲). تحقیقات نشان داده است، بین کاهش مصرف ویتامین D با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان، ارتباط وجود دارد (۱۳). فعال‌ترین شکل ویتامین D، $25(OH)_2D$ و 1 است که اثرات ضدتکثیری خود و تنظیم رونویسی ژن‌های دخیل در تمایز سلولی و رشد سلولی را از طریق گیرنده ویتامینD، (Vitamin D Receptor: *VDR*) اعمال می‌نماید(۱۴).

ژن گیرنده ویتامین D یا (*VDR*) در انواع سلول‌ها و بافت‌ها مانند بافت سالم و بدخیم پستان بیان می‌شود(۱۵). ژن *VDR* در انسان بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۲ واقع شده است که شامل ۹ اگزون کدکننده پروتئین است(۲، ۱۴). در برخی پژوهش‌ها چند شکلی ژن *VDR* گزارش شده است که شامل جایگاه‌های برشی دم ApaI ، FokI، BsmI و PolyA می‌باشد(۱۶). این چند شکلی‌ها در ژن *VDR* ممکن است تکثیر سلول‌های سرطانی را تحت تأثیر قرار دهند(۱۷). چند شکلی در اگزون ۲ در انتهای ´۵ ژن *VDR* می‌تواند توسط آنزیم محدودگر FokI شناسایی شده(۱۸)، این چند شکلی یک جایگزینی تک نوکلئوتیدی T/C در یکی از دو جایگاه شروع ترجمه است و در نتیجه طول پروتئین *VDR* در سه اسید آمینه متفاوت است(۱۹). در انتهای ´۳ ژن *VDR* سه چندشکلی شناسایی شده است که هیچ تغییری در ترجمه پروتئین و رونویسی mRNA ایجاد نمی‌کنند(۱۹). دو چندشکلی اول جایگاه‌های برشی ApaI و BsmI را ایجاد می‌کنند که اینترونی هستند و بین اگزون‌های ۸ و ۹ قرار دارند (۲۰، ۲۱). سومین چندشکلی بر روی اگزون ۹ قرار دارد و در جایگاه برشی TaqI ایجاد می‌شود(۱۷).

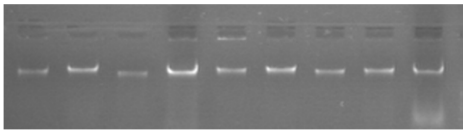
در برخی مطالعات نتایج ضد و نقیض درباره‌ی چندشکلی‌های *VDR* و سرطان پستان مخصوصاً چندشکلی آن در جایگاه ژنی ApaI گزارش شده است. سیلانپا و همکاران(۲۰۰۴) در مطالعه‌ی خود ارتباط بین چندشکلی ApaI و TaqI را با بیماری سرطان پستان ضعیف گزارش کرده‌اند(۲۲) در حالی که وانگ و همکاران(۲۰۱۳) در پژوهش‌های خود، ارتباط معنی‌داری بین بیماری سرطان پستان و پلیمورفیسم‌های ApaI و FokI گزارش کرده‌اند(۲۳). گیو و همکاران(۲۰۱۵) با بررسی میزان خطر ابتلا به سرطان پستان ژن گیرنده ویتامین D در جمعیت زنان چینی با روش PCR-RFLP دریافتند که چندشکلی جایگاه هضمی ApaI با خطر ابتلا به سرطان پستان دارای ارتباط معنادار می‌باشد(۲۴). دلایل احتمالی این نتایج ضد و نقیض ممکن است ناشی از تفاوت در شیوه‌ی اندازه‌گیری

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017

منابع رژیمی ویتامین D و مواجهه با آفتاب باشد، چرا که عواملی مانند تفاوت‌های رژیم غذایی (غذاهای طبیعی و غذاهای غنی شده)، مصرف مکمل‌ها، اختلاف در سبک زندگی افراد، میزان آلودگی محل زندگی، استفاده از کرم‌های ضدآفتاب و تنوع رنگ پوست احتمالاً سبب تفاوت نتایج این بررسی‌ها شده است(۲۵). با بررسی پژوهش‌های پیشین انجام گرفته در ارتباط با گیرنده این ژن در مطالعات داخل کشور، به نظر می‌رسد جایگاه ژنی ApaI و ارتباط آن با بیماری سرطان پستان در زنان چندان به ندرت مورد بررسی و مطالعه قرار نگرفته است. از آنجایی که مطالعات مختلف نتایج متناقضی در ارتباط با معنی‌داری ارتباط چندشکلی این ژن و خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داده‌اند، به نظر می‌رسد تحقیق در این رابطه ضروری و سودمند باشد. زیرا شناسایی جایگاه‌های چندشکلی مختلف در بیماران و افراد سالم ممکن به عنوان نشانگر مولکولی مفیدی احتمالاً جهت تشخیص بهتر بیماری و ارائه‌ی خدمات درمانی مورد استفاده و سودمند باشد. هدف از پژوهش حاضر بررسی ارتباط چندشکلی‌های جایگاه‌های ApaI گیرنده‌ی ژن ویتامین D با خطر ابتلا به سرطان پستان و هم‌چنین بررسی و شناسایی ژنوتیپ‌های مستعد به ابتلا به بیماری سرطان پستان در زنان ساکن استان مرکزی با استفاده از روش PCR-RFLP می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر، ۱۴۰ نمونه خون از زنان مبتلا به سرطان پستان بیمارستان آیت الله خوانساری واقع در شهرستان اراک به طور تصادفی اخذ گردید. هم‌چنین ۱۶۰ نمونه خون نیز از افراد سالم(زنان داوطلب) این شهرستان گرفته شد. اطلاعات دموگرافیک و فاکتورهای هورمونی افراد شامل سن، تأهل، شغل، تعداد فرزندان، رژیم غذایی، فعالیت بدنی، عوارض بارداری، سن اولین زایمان، سابقه خانوادگی سرطان پستان، سن اولین قاعدگی، وضعیت سیکل ماهانه و یائسگی در قالب یک پرسش‌نامه جمع‌آوری شد، سپس با رضایت کتبی افراد و طبق اصول اخلاقی پژوهش، ۲ میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های حاوی EDTA جمع آوری شد. سپس نمونه‌های خون به آزمایشگاه مرکزی زیست شناسی گروه علوم پایه دانشگاه اراک منتقل شده و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰ - سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از روش نمکی انجام شد. کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد درصد ارزیابی شد(شکل ۱).



شکل ۱. نمونه‌های DNA استخراج شده از خون انسان بر روی ژل آگارز یک درصد

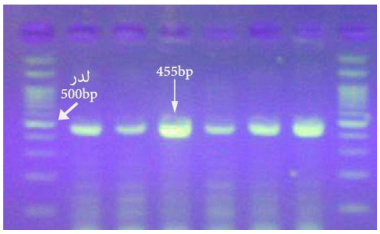
بعد از مرحله تعیین کیفیت DNA و بررسی و تأیید کیفیت نمونه‌ها جهت انجام ادامه‌ی پژوهش و تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها در جایگاه چندشکلی ApaI از روش PCR-RFLP و آنزیم محدودگر ApaI استفاده شد. برای تکثیر ژن گیرنده ویتامین D، از آغازگرهای طراحی شده به وسیله‌ی نرم افزار Primer 3 برای تکثیر قطعهٔ ۴۵۵ جفت بازی استفاده گردید. توالی جفت آغازگرهای انتخابی که توسط شرکت(سیناژن-ایران) ساخته شد به صورت زیر می‌باشد:

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017

جدول ۱. توالی پرایمری چندشکلی ApaI

طول قطعه تکثیری	توالی آغازگر (۳' - ۵')	محل	جایگاه
۴۵۵ جفت باز	F: 5'-_ACAGATGTGAAGGCTGGTG -3' R: 5'-_AGCTTCTGGATCATCTTGGC -3'	اینترون۸	ApaI

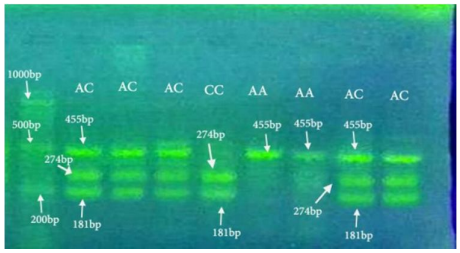
واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس، ۱ میکرولیتر پرایمر پیش رونده و ۱ میکرولیتر پرایمر پس رونده (شرکت سیناژن- ایران)، ۸/۵ میکرولیتر آب دیونایزشده و ۲میکرولیتر DNA استخراج شده انجام گرفت. تعیین پروفایل حرارتی به طور تجربی و آزمون و خطا بهینه‌سازی شد. تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته سازی در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها ۶۳°C به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه و یک دمای تکثیر نهایی ۷۲°C به مدت ۷ دقیقه استفاده شد. محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی DNA Green Viewer با استفاده از دستگاه ژل داک(Gel Documentation System ژن فلش- انگلستان) مشاهده و عکس‌برداری گردیدند. برای تشخیص قطعات تکثیر شده از نشانگر مولکولی ۵۰bp (شرکت پیشگام) استفاده شد.



شکل ۲. قطعات ٤٥٥ جفت بازی ژن VDR، تکثیر شده به وسیله PCR، نشان‌گر مولکولی ۵۰جفت بازی

بعد از تأیید باند ۴۵۵ جفت بازی حاصل از PCR (شکل ۲)، قطعات تکثیر شده به وسیله آنزیم محدود الاثر ApaI برش داده شدند. واکنش برش آنزیمی در حجم ۱۰ میکرولیتر حاوی ۰/۸ واحد آنزیم ApaI، ۱ میکرولیتر بافر مخصوص این آنزیم، ۳/۲ میکرولیتر آب استریل و ۵ میکرولیتر محصول PCR آماده گردید و در دمای ۳۷°C به مدت ۱۶ ساعت مورد برش آنزیمی قرار گرفت. در حضور آلل جهش یافته C برش آنزیمی دو قطعه ۲۷۴ و ۱۸۱ و در حضور آلل وحشی A جایگاه برش وجود نخواهد داشت. بعد از برش آنزیمی، محصولات برش داده شده با استفاده از ژل آگارز ۴ درصد حاوی DNA Green Viewer، الکتروفورز گردیدند.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017



شکل ۳. الگوهای RFLP حاصل از برش با آنزیم ApaI، الکتروفورز شده بر روی ژل آگارز ٤ درصد.
چاهک ۱: نشانگر مولکولی bp۵۰ ،
چاهک‌های۲، ۳، ٤، ۸ و ۹: ژنوتیپ AC،
چاهک ٥: ژنوتیپ CC
چاهک ٦، ۷: ژنوتیپ AA

محصول PCR بعد از هضم آنزیمی، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۶ ساعت با آنزیم ApaI برش داده شد و پس از بارگذاری روی ژل آگارز ۴ درصد باندهای مورد نظر مشاهده شدند(شکل ۳). باندهای مربوط به قطعه مورد نظر در این شکل در چاهک‌های ۲ تا ۷ مشخص می‌باشد. چاهک‌های ۲، ۳، ۴، ۸ و ۹که حالت هتروزیگوت AC دارند دارای باندهای ۲۷۴+۱۸۱+۴۵۵ جفت باز می‌باشند. چاهک ۵ که برش خورده ایجاد باندهای ۱۸۱+۲۷۴ جفت بازی کرده و دارای ژنوتیپ CC می‌باشد. چاهک ۶ و ۷ برش نخورده و طول باند ۴۵۵ جفت باز است که دارای ژنوتیپ AA می‌باشد. چاهک اول از سمت چپ DNA نشان‌گر با طول ۵۰bp می‌باشد.

به منظور بررسی اختلاف میان توزیع‌های ژنوتیپی در گروه‌های مختلف افراد بیمار و کنترل، در تحقیق حاضر پس از اخذ نمونه خون و جمع‌آوری اطلاعات آماری افراد در فرم‌های مخصوص از آزمون مربع کای استفاده شد. آنالیز رگرسیون لجستیک با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. شاخص(Odd Ratio) یا نسبت افزاینده، با فاصله اطمینان ۹۵ درصد جهت بررسی تخمین ارتباط بین چندشکلی جایگاه ApaI ژن گیرنده ویتامین D (VDR) و ریسک ابتلا به سرطان پستان،در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

در این تحقیق چندشکلی جایگاه ApaI ژن *VDR* در دو جمعیت بیمار مبتلا به سرطان پستان و کنترل مورد بررسی قرار گرفت. فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی به دست آمده در جمعیت زنان استان مرکزی در جدول ۲ نشان داده شده است. اطلاعات به دست آمده نشان می‌دهد که توزیع ژنوتیپی چندشکلی برای بیماران سرطانی و کنترل به ترتیب برای ژنوتیپ AA برابر ۳۸/۶۰ و ۲۶/۸۷ درصد و برای ژنوتیپ AC برابر ۵۵/۰۰ و ۶۶/۸۷ درصد و برای ژنوتیپ CC برابر ۶/۴۳ و ۶/۲۶ درصد است. آنالیزهای رگرسیون لجستیک نشان داد که بیماران با ژنوتیپ‌های حاوی آلل a در مقابل ژنوتیپ AA با افزایش خطر احتمال ابتلا به بیماری سرطان پستان مواجه بودند (OR=0.585; CI=95%, 0.359-0.953) در حالی که بیماران با ژنوتیپ CC در مقابل افراد دارای ژنوتیپ AA کاهش خطر ابتلا به سرطان پستان را نشان دادند (OR=0.716; CI=95%, 0.267-1.92). در مجموع ارتباط معناداری بین ژنوتیپ CC و سرطان پستان دیده نشد (p=0.50) اما بین ژنوتیپ AC و سرطان پستان ارتباط معناداری مشاهده شد (p=0.028). در جدول ۲ فراوانی ژنوتیپی و نسبت شانس در جایگاه ApaI نشان داده شده است. بررسی فراوانی‌های ژنوتیپی مشاهده شده و مورد انتظار بیانگر وجود تعادل هاردی واینبرگ در جمعیت مورد بررسی می‌باشد(p=0.087).

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017

جدول۲. فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی جایگاه برش ApaI دردو جمعیت بیمار و کنترل و نتایج حاصل

ژنوتیپ	بیمار n =۱٤۰ تعداد (٪)	کنترل n =۱٦۰ تعداد (٪)	فراوانی آللی (٪)	OR(95%CI)	p
AA	۵۴ (۳۸/۶۰)	۴۳ (۲۶/۸۷)		۱	
AC	۷۷ (۵۵/۰۰)	۱۰۷ (۶۶/۸۷)	بیمار A (۶۶/۰۷) =۱۸۵ کنترل A=۱۹۳(۶۰/۳۱)	۱/۷۴(۰/۳۴۸-۰/۹۴۱)	۰/۰۲۸
CC	۹(۶/۴۳)	۱۰(۶/۲۵)	بیمار C=۹۵ (۳۳/۹۲) کنترل C=۱۲۷(۳۹/۶۸)	۱/۷۱۶(۰/۲۶۷-۱/۹۲)	۰/۵۰
AC+CC	۸۶(۶۱/۴۲)	۱۱۷		۰/۵۸۵ (۰/۳۵۹-۰/۹۵۳)	۰/۰۳

حدود ۶۰ درصد بیماران در محدوده سنی ۴۱ تا ۶۰ سال هستند و میانگین سنی بیماران۵۱ سال به دست آمد. ۲۰/۱ درصد از بیماران حداقل در یکی از بستگان درجه اول یا دوم خود ابتلا به سرطان پستان را ذکر نمودند که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری نشان داد($p=0.001$). اما بین ژنوتیپ‌های ApaI و سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان تفاوت معناداری مشاهده نشد($p=0.313$). بین وضعیت یائسگی افراد مبتلا به سرطان پستان و گروه کنترل ارتباط معناداری دیده شد($p<0.001$) به طوری که احتمال ابتلا خطر ابتلا به سرطان پستان در افراد یائسه افزایش پیدا می‌کند. هم‌چنین با بررسی ارتباط ژنوتیپ مذکور با وضعیت یائسگی ارتباط چشم‌گیری دیده نشد ($p=۰/۲۰۷$). ۲۷ درصد از بیماران سابقه مصرف بیش از ۵ سال قرص‌های ضد بارداری را داشتند که در مقایسه با میانگین مصرف در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت.

جدول ۳. ویژگی‌های د موگرافیکی در دو گروه بیمارو کنترل

متغیرها		بیمار	کنترل	p	Df	χ^2
سن		۵۱ سال	۴۵/۸ سال	۰/۰۰۰	۶	۳۵/۴۷۲
وضعیت تأهل	مجرد	۱۴	۱۴	۰/۷۸۳	۲	۰/۴۸۸
	متأهل	۱۱٦	۱۴۱			
*مصرف قرص ضد بارداری	بله	۴۲	۸۹	۰/۵۴۴	۱	۰/۳۶۸
	خیر	۴۲	۶۲			
وضعیت یائسگی	بله	۷۸	۴۹	۰/۰۰۱	۱	۲۲/۶۷
	خیر	۵۰	۱۰۲			

*** ارزش‌های $p<0.05$ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو گروه است.**

***تعداد ۵۵ فرد مبتلا و ۹ فرد سالم اطلاعاتی در مورد مصرف یا عدم مصرف در اختیار قرار نداده اند.**

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017

بحث

به طور کلی در پژوهش حاضر بین چندشکلی تک نوکلئوتیدی مذکور و سرطان پستان ارتباط معناداری وجود نداشت($p>0.05$). کوران و همکاران(۱۹۹۹) افزایش چشم‌گیر خطر ابتلا به سرطان پستان برای ژنوتیپ aa (OR=2.54, 95% , 1.19-5.4) را در جمعیت زنان استرالیایی گزارش کرده است(۲۶). در حالی که نتایج مطالعه پژوهش حاضر خطر کاهش ابتلای افراد دارای این ژنوتیپ را به بیماری سرطان پستان نشان داد. با وجود تشابه نسبی بین اندازه جمعیت پژوهش حاضر و استرالیا (۱۳۵ بیمار و ۱۱۰ کنترل) اما تناقضی بین یافته‌ها وجود دارد. در تحقیق گیو و همکاران(۲۰۱۵) که در جمعیت چینی انجام گرفت ارتباط چشمگیری بین چندشکلی ApaI و سرطان پستان دیده شد(۲۴) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت نداشت، دلیل این اختلافات احتمالاً می‌تواند به تعداد افراد مورد بررسی، سوابق خانوادگی مختلف در ابتلا به بیماری، دامنه‌ی سنی متفاوت بیماران در دو جمعیت و تفاوت‌های جغرافیایی و تنوع در رژیم غذایی و وضعیت بهداشت سلامتی باشد. در مطالعات مشابه می‌توان به پژوهشی که در جامعه‌ی زنان تایوانی انجام گرفته، اشاره کرد که یک اثر حفاظتی در آلل a یافت شده است، این مطالعه بر مبنای تعداد کمتری افراد بیمار بود (بیمار=۳۴) (۲۷). در مطالعه سیلانپا و همکاران (۲۰۰۴) که با تعداد نمونه بیش‌تری نسبت به تحقیقات مشابه انجام شده است، نشان داده شد که ژنوتیپ‌های حاوی آلل a باعث کاهش خطر ابتلا به سرطان پستان می‌شوند(۲۲). در مطالعه‌ی یانگ و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده شد که بیماران با ژنوتیپ‌های AA و AC در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ CC به طور چشم‌گیری با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان مواجه هستند (۲۸). عطائی با بررسی بیماری سرطان پستان در زنان ساکن بابل نشان دادند که آلل a ژن VDR هیچ خطری برای ابتلا سرطان پستان در مقایسه با جمعیت سالم ندارد(۲۹) که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد.

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تفاوت چشم‌گیری بین میانگین سنی در دو گروه زنان مبتلا به سرطان پستان(۵۱) و گروه کنترل(۴۵/۸) وجود دارد ($p=0.000$)، که این امر با مطالعه‌ی کورآن و همکاران (۲۷) و مطالعات گای و همکاران (۱۹) همخوانی دارد($p<0.001$). در تحقیقی که توسط جمشیدی نائینی و همکاران (۲۰۱۵) در رابطه با دریافت ویتامین و سرطان پستان روی زنان ایرانی انجام شد، تفاوت معناداری بین بستگان درجه اول و دوم و گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد(۳۰) اما در بررسی‌های مطالعه حاضر تفاوت معناداری بین سابقه خانوادگی و گروه کنترل و بیمار مشاهده شد ($p=0.001$) که این امر با مطالعه‌ی سیلانپا و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت دارد (۲۲). در پژوهشی که توسط گای و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد، تفاوت چشم‌گیری بین وضعیت یائسگی و گروه کنترل و بیمار دیده شد(۱۹) و به طور مشابه در مطالعه‌ی حال حاضر نیز وضعیت یائسگی با گروه کنترل و بیمار ارتباط معناداری داشت ($p<0.001$). هم‌چنین بین ژنوتیپ ApaI وضعیت یائسگی تفاوت معناداری مشاهده نشد که این نتایج با مطالعات سیلانپا و همکاران(۲۰۰۴) مطابقت داشت(۲۲). براساس محاسبات انجام شده مشخص شد ارتباط معناداری بین وضعیت تاهل و ابتلا به بیماری وجود ندارد($p=0.78$) که با مطالعه‌ی جمشیدی نائینی و همکاران (۲۰۱۵) همخوانی دارد ($p=0.44$).

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش مشابه و مخالف با برخی پژوهش‌های پیشین در رابطه جایگاه ApaI ژن گیرنده ویتامین D (VDR) و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان استان مرکزی به دست آمد، لذا با توجه به شایع بودن این بیماری در اکثر نقاط جهان و برخی مناطق کشور، لزوم انجام تحقیقات در این زمینه و این جایگاه‌های ژنی با تعداد نمونه‌های بیشتر از مناطق مختلف کشور می‌توان به نتایج بهتر و جامع‌تری در رابطه با میزان شیوع این بیماری و شیوه‌های کنترل و درمان آن در مناطق مختلف کشور پی برد. اگرچه بین این پلی مورفیسم و سرطان پستان در این پژوهش، ارتباط آماری معنی‌دار مشاهده نشد اما در مورد

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017

افزایش خطر در برخی ژنوتیپ‌ها با این خزانه ژنی در استان مرکزی نتایج قابل ملاحظه‌ای به دست آمد. به هرحال نگارندگان این مقاله تأثیر تعداد نمونه و حطاهای آزمایشی و سایر عوامل بر روی نتایج حاصل از این تحقیق را نادیده نمی‌گیرند، لذا برای تکمیل این مطالعه انجام بررسی‌های جامع‌تر در این جایگاه و هم‌چنین سایر جایگاه‌ها و هاپلوتیپ‌های ژن *VDR* پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک است که با هزینه شخصی دانشجو و در آزمایشگاه ژنتیک دانشکده علوم پایه دانشگاه اراک و آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه مهندسی علوم دامی دانشگاه تهران انجام شده است. در اینجا از دکتر محمد قادرزاده، اعضای هیئت علمی گروه مهندسی علوم دامی دانشگاه اراک به ویژه دکتر محمدحسین مرادی، مسئول آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه مهندسی علوم دامی دانشگاه تهران جناب آقای امیرحسین سبحانی و پرسنل بیمارستان آیت الله خوانساری اراک و تمام بیماران و افراد کنترل شرکت کننده در مطالعه و تمام افرادی که در این مطالعه همکاری کرده اند، سپاس‌گزاری می‌گردد.

منابع

1. Weigelt B, Peterse JL, van 't Veer LJ. Breast cancer metastasis: markers and models. Nature reviews cancer. 2005; 5(8): 591-602.
2. Shahbazi S, Alavi S, Majidzadeh-A K, Ghaffarpour M, Soleimani A, Mahdian R. BsmI but not FokI polymorphism of VDR gene is contributed in breast cancer. Medical Oncology. 2013; 30(1): 1-6.
3. Fangl , Barekti Z ,Zang B ,Liu Z , Zong X .Targeted therapy in breast cancer: what's new? Swiss Med Wkly. 2011 ; 141 : w13231.
4. Wu PE, Shen CY. 'Hide-then-hit'to explain the importance of genotypic polymorphism of DNA repair genes in determining susceptibility to cancer. Journal of molecular cell biology. 2011; 3(1): 59-65.
5. Goya M. Iranian Annual Cancer Registration Report 2005/2006. Ministry of Health and Medical Education, Health Deputy. Center for Disease Control and Prevention, 2007.
6. Ahmadinejad N, Movahedinia S, Movahedinia S, Holakouie Naieni K, Nedjat SH. Distribution of breast density in Iranian women and its association with breast cancer risk factors. Iranian Red Crescent Medical Journal. 2013; 15(12): e16615.
7. McDonald C, Bauer J, Capra S , Coll J.The muscle mass, omega-3, diet, exercise and lifestyle (MODEL) study–a randomised controlled trial for women who have completed breast cancer treatment. Bio Med Central cancer. 2014; 14(1): 1.
8. Bjerkaas E, Parajuli R, Weiderpass E, Engeland A, Maskarinec G, Selmer R, Torhild I. Gramcorresponding author. Smoking duration before first childbirth: an emerging risk factor for breast cancer? Results from 302,865 Norwegian women. Cancer Causes & Control. 2013; 24(7): 1347-1356.
9. Mazhar D, Waxman J. Dietary fat and breast cancer. An International Journal of Medicine. 2006; 99(7): 469-473.
10. Amir E, Cecchini RS, Ganz PA, Costantino JP, Beddows S, Hood N, Goodwin PJ. 25-Hydroxy vitamin-D, obesity, and associated variables as predictors of breast cancer risk and tamoxifen benefit in NSABP-P1. Breast cancer research and treatment. 2012; 133(3): 1077-1088.
11. Shin MH, Holmes MD, Hankinson SE, Wu K, Colditz GA, Willett WC. Intake of dairy products, calcium, and vitamin D and risk of breast cancer. Journal of the National Cancer Institute. 2002 Sep 4;94(17):1301-11.
12. Bertone-Johnson ER, Chen WY, Holick MF, Hollis BW, Colditz GA, Willett WC, Hankinson SE. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1, 25-dihydroxyvitamin D and risk of breast

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017

Proceedings of the National Academy of Sciences. 1992; 89(15): 6665-6669.
21. Faraco JH, Morrison NA, Baker A, Shine J, Frossard PM.. ApaI dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. Nucleic acids research. 1989;17(5):2150.
22. Sillanpää P, Hirvonen A, Kataja V, Eskelinen M, Kosma VM, Uusitupa M, Vainio H, Mitrunen K. Vitamin D receptor gene polymorphism as an important modifier of positive family history related breast cancer risk. Pharmacogenetics and Genomics. 2004; 14(4): 239-245.
23. Wang J, He Q, Shao Yg, Ji M, Bao W. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk. Tumor Biology. 2013; 34(6): 3823-3830.
24. Guo B, Jiang X, Hu X, Li F, Chen X .Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer in a Chinese population. International journal of clinical and experimental medicine. 2015; 8(5): 8020.
25. Narvaez CJ, MatthewsD, E LaPorta,1,2 Katrina M. Simmons, Beaudin S. The impact of vitamin D in breast cancer: genomics, pathways, metabolism. Genome-wide view on the physiology of vitamin D. Frontiers in Physiology.2014; 5: 213.
26. Curran JE, Vaughan T, Lea RA, Weinstein SR, Morrison NA, Griffiths LR. Association of A vitamin D receptor polymorphism with sporadic breast cancer development. International Journal of Cancer. 1999; 83(6): 723-726.
27. Hou MF, Tien YC, Lin GT, Chen CJ, Liu CS, Lin SY, Huang TJ. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with sporadic breast cancer in Taiwanese patients. Breast cancer research and treatment. 2002; 74(1): 1-7.
28. Yang B, Liu S, Yang X, WangY, Zhao X, Zheng D, Gao J, et al. Current evidence on the four polymorphisms of VDR and breast cancer risk in Caucasian women. Meta Gene. 2014; 2: 41–49
29. Ataee R, Halalkhor S, Gholizade A, Moslemi D, Mmahmoudi T. Association study of gene polymorphisms in vitamin D cancer. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention. 2005; 14(8); 1991-1997.
13. Cardon LR, Palmer LJ. Population stratification and spurious allelic association. Lancet. 2003; 361(9357): 598-604.
14. Colston K, Colston J, Fieldsteel H, Feldman D. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human epithelial cancer cell lines. Cancer research. 1982; 42(3): 856-859.
15. Townsend K, Banwell CM, Guy M, Colston KW, Mansi JL, Stewart PM, Campbell MJ, Hewison M. Autocrine metabolism of vitamin D in normal and malignant breast tissue. Clinical Cancer Research. 2005; 11(9): 3579-3586.
16. Köstner K, Denzer N, Müller CS, Klein R, Tilgen W, Reichrath J. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. Anticancer research. 2009; 29(9): 3511-3536.
17. Hustmyer FG,. DeLuca HF, Peacock M. ApaI, BsmI, EcoRV and TaqI polymorphisms at the human vitamin D receptor gene locus in Caucasians, blacks and Asians .Human molecular genetics. 1993; 2(4): 487.
18. Gross C, Eccleshall TR, Malloy PJ, Villa ML, Marcus R, Feldman D. The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. Journal of Bone and Mineral Research. 1996. 11(12): p. 1850-5.
19. Guy M, Lowe LC, Bretherton-Watt D, Mansi JL, Peckitt C, Bliss J, Wilson RG, Thomas V, Colston KW.. Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk. Clinical Cancer Research. 2004; 10(16): 5472-5481.
20. Morrison NA, Yeoman R, Kelly PJ, Eisman JA. Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin.

receptor (VDR) with breast cancer in Babol population 2012.
30. Jamshidi naeini Y, Akbari ME, Abdollahi M, Ajami M, Davoodi SH. Association between Vitamin D Intake and Risk of Breast Cancer in Iranian Women: A Case-control Study. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 2015; 10(1): 31-40.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 19:49 +0330 on Saturday September 23rd 2017