چند شکلی 135 G>C ژن *RAD51* و استعداد ابتلا به سرطان سینه در زنان منطقهٔ شمال‌غرب ایران

سونیا فریدی[۱]، نرگس زینال‌زاده[۲]*، محمدعلی حسینپور فیضی[۳]، ناصر پولادی[۴]

۱. کارشناسی‌ارشد ژنتیک مولکولی، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکدهٔ علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲. استادیار، ، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکدهٔ علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳. استاد، ، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکدهٔ علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۴. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۴/۱۳
تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۱۴

چکیده

زمینه و هدف سرطان سینه یکی از علل اصلی مرگ در میان زنان ایرانی است. پروتئین RAD51 انسانی در ترمیم نوترکیبی همولوگ شکست‌های دو رشته‌ای DNA نقشی مرکزی ایفا می‌کند و برای حفظ ثبات ژنوم ضروری است. اخیراً نشان داده شده است که یک چندشکلی تک‌نوکلئوتید (SNP) در منطقهٔ ′۵ غیرکدشوندهٔ ژن *RAD51* (*RAD51* 135G>C) خطر ابتلا به سرطان سینه را تغییر می‌دهد. هدف مطالعهٔ حاضر، یافتن رابطهٔ SNP مذکور با خطر ابتلا به سرطان سینه در میان زنان ترکی-آذری ایرانی است.

مواد و روش‌ها این مطالعه روی ۱۲۷ بیمار مبتلا به سرطان سینه و ۱۲۵ نمونهٔ شاهد انجام شد. DNA ژنومی با استفاده از روش استاندارد استخراج و چندشکلی *RAD51* 135G>C با استفاده از روش PCR مبتنی بر چند شکلی طولی قطعات برشی مشخص شد. ژنوتیپ‌ها با انجام توالی‌یابی تأیید و در نهایت، نتایج بررسی آماری شدند.

فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CG و GG چندشکلی 135 G>C ژن *RAD51* در گروه شاهد به‌ترتیب ۱/۶۱، ۲۰/۱۶ و۷۸/۲۲ درصد و در افراد بیمار به‌ترتیب ۲/۳۶، ۲۴/۴۰ و ۷۳/۲۲ درصد بودند. بررسی آماری نتایج نشان داد که بین گروه‌های بیمار و شاهد تفاوت معناداری وجود ندارد.

نتیجه‌گیری نتایج مطالعهٔ حاضر حاکی از آن بود که بین چندشکلی 135 G>C ژن *RAD51* با خطر ابتلا به سرطان سینه در جمعیت آذری ایرانی همراهی وجود ندارد.

کلیدواژه‌ها:
ایران، ترکی- آذری، چندشکلی ***RAD51* 135G>C**، سرطان سینه.

مقدمه

سرطان سینه دومین سرطان شایع در جهان، همچنین پیش‌رونده‌ترین سرطان در میان زنان کشورهای توسعه‌یافته و درحال‌توسعه است [۱، ۲]. سرطان سینه با دارابودن سهم ۲۱/۴ درصدی از کل سرطان‌های زنان، یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در میان زنان ایرانی محسوب می شود. علاوه‌بر این، طبق گزارش‌ها، زنان ایرانی حدود یک دهه زودتر از همتایان غربی خود به سرطان سینه مبتلا می‌شوند [۳، ۴] و همهٔ این‌ها بر اهمیت پژوهش در زمینهٔ سرطان سینه تأکید می‌کند.

اگرچه سازوکار بروز سرطان سینه امروزه به‌طور کامل مشخص نشده است، اما به عنوان یک بیماری ناهمگون مولکولی با پیش‌آگهی‌ها و ویژگی‌های مختلف بالینی شناخته می‌شود که مشابه سایر بدخیمی‌ها، در نتیجهٔ تعامل بین

* **نویسندهٔ مسئول: نرگس زینال‌زاده**
نشانی: تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم جانوری
تلفن: ۰۹۱۴۴۰۴۱۸۴۳ **دورنگار:** ۳۳۳۹۲۷۴۲-۰۴۱
رایانه: nzeinalzadeh@gmail.com
شناسه ORCID: نرگس زینال زاده 0000-0001-7222-3092
سونیا فریدی 0000-0001-5224-3133

مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۵، شمارهٔ ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۷، ص ۱۶۷-۱۷۲
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

عوامل ژنتیکی و محیط رخ می‌دهد [۵].

جهش‌های با نفوذ بالا در ژن‌های *BRCA1*، *BRCA2* در سلول‌های زایشی، عامل حدود ۳۰ درصد سرطان‌های سینهٔ ارثی است که ۵-۱۰ درصد کل موارد سرطان سینه را شامل می‌شود [۶-۹]. بنابراین، حداقل ۶۰ درصد بقیهٔ موارد سرطان سینه به‌دلیل جهش در ژن‌های مجزا ایجاد می‌شوند [۱۰]. چندین مطالعه همراهی در سطح ژنومی، برخی تنوعات ژنتیکی مستعدکننده یا چندشکلی‌های ژنتیکی با نفوذ پایین را مشخص کرده است که تعدادی از آن‌ها از نظر عملکردی در مسیر نوترکیبی هموLوگ (HR) در ترمیم شکست‌های دو رشتهٔ DNA (DSB) درگیر هستند [۱۱]. در میان این ژن‌ها، ژن *RAD51* به‌دلیل نقش مهم آن در تسهیل جفت‌شدن هموLوگ و تعویض رشته در ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای DNA، نامزد احتمالی در نظر گرفته شده است. ژن *RAD51* که هموLوگ ژن recA باکتریایی و RAD51 مخمر بوده و در اکثر یوکاریوت‌ها، از مخمر تا انسان، به شدت حفاظت‌شده است، پروتئین RAD51 را کد می‌کند [۱۲، ۱۳].

پروتئین RAD51 در شبکه‌ای پیچیده از مسیرهای درک‌کنندهٔ آسیب سلولی و نقاط بازرسی (checkpoint) چرخهٔ سلولی مؤثر است و در این مسیرها با پروتئین‌های p53، BRCA1، BRCA2 و PALB2 تعامل دارد. RAD51 همچنین، به‌صورت مستقیم با پروتئین‌های XRCC2 و XRCC3 کنش دارد و کمپلکسی را تشکیل می‌دهد که در ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای DNA ضروری است [۱۴، ۱۵]. بنابراین، اختلال در تنظیم RAD51 به اختلال در HR، شکستگی کروموزومی و بازآرایی‌های شدید کروموزومی منجرمی‌شود که از رخدادهای ژنتیکی مؤثر مشاهده‌شده در اغلب سرطان‌هاست [۱۶].

علاوه‌بر این، چندین چندشکلی از ژن *RAD51* گزارش شده است که بر استعداد ابتلا به سرطان سینه مؤثر هستند. چندشکلی rs1801320 که در منطقهٔ ′۵ غیرکدشوندهٔ ژن *RAD51* واقع شده، به‌دلیل نقش آن در ایجاد استعداد سرطان سینه بیشتر مورد توجه بوده است، اما مطالعات متعدد نتایج متناقضی را در جمعیت‌های مختلف نشان داده‌اند [۱۷، ۱۸]. در ایران نیز حسینی و همکاران [۱۹] وجود ارتباطی بین چندشکلی RAD51 135G>C و سرطان سینه را گزارش کرده‌اند. در مطالعهٔ مورد-شاهدی حاضر، چندشکلی *RAD51* 135G>C در یک گروه از بیماران مبتلا به سرطان سینه از جمعیت ترکی-آذری ایران مورد بررسی قرار گرفت شد.

مواد و روش‌ها

بیماران

جمعیت ایرانی-آذری مورد بررسی در این مطالعه مورد-شاهدی، شامل ۱۲۷ بیمار مبتلا به سرطان سینهٔ غیرارثی بود که بین سال‌های ۱۳۸۷ تا ۱۳۹۱ با مراجعه به بیمارستان امام رضا و نور نجات در تبریز، از نظر پاتولوژی تأیید شده بودند. گروه شاهد هم شامل ۱۲۴ زن بومی و هم‌سن بیماران و بدون سابقهٔ هر نوع سرطان بود. همراه با معاینهٔ فیزیکی ویژگی‌های بالینی، از جمله سن زمان تشخیص، اندازهٔ تومور، مرحلهٔ تومور، تهاجم به غدد لنفاوی و نوع تومور ثبت و تأییدیهٔ اخلاقی برای همهٔ بیماران از کمیتهٔ اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز کسب شد. افراد کنترل سالم انتخاب شدند و فرم رضایت از همهٔ افراد بیمار و شاهد به‌دست آمد.

تعیین ژنوتیپ چندشکلی *RAD51* 135G>C

DNA ژنومی از بافت تومور منجمد و لنفوسیت‌های خون محیطی با روش هضم پروتئیناز K و روش نمک اشباع (salting out) استخراج شد [۲۰، ۲۱]. کیفیت و کمیت DNA استخراج‌شده با الکتروفورز در ژل آگارز ۱ درصد و اسپکتروفتومتری کمّی بررسی و سپس، DNA با کیفیت بالای استخراج‌شده، در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد ذخیره شد.

تعیین ژنوتیپ *RAD51* rs18011320 (135G>C) با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز- چندشکلی طولی قطعات برشی (PCR-RFLP) انجام شد. توالی آغازگرهای پیش‌رو و معکوس به‌ترتیب ′3- TGGGAACTGCAACTCATCTGG -′5 و ′3- GCGCTCCTCTCTCCAGCAG -′5 بود. برای واکنش PCR در مجموع ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱ میکرولیتر آغازگر پیشرو، ۱ میکرولیتر آغازگر معکوس (۱۰ پیکومول) و ۱۰ میکرولیتر 2X CinnaGen tag PCR Master Mix (SinaClon، ایران) با هم مخلوط و حجم آن در آب دوبار تقطیر استریل به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. PCR با سایکلر حرارتی (SensoQuest، GmbH، آلمان) و طبق برنامهٔ به شرح زیر انجام شد: ۵ دقیقه حرارت ابتدایی در دمای ۹۵°C، ۳۵ چرخه: ۹۵°C به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰°C به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲°C به‌مدت ۳۰ ثانیه و به‌دنبال آن بسط نهایی در ۷۲°C به‌مدت ۱۰ دقیقه. از کنترل منفی در PCR برای کاهش خطاهای تجربی استفاده شد. محصولات PCR با ژل آگارز ۲ درصد با اتیدیوم بروماید ۰/۵ میلی‌لیتر/میکروگرم در زیر نور UV مشاهده شدند. پنج میکرولیتر از محصول PCR به‌طول ۱۵۷ جفت-باز، با ۲ واحد آنزیم محدودگر *MvaI* (Thermo Scientific، USA) در ۳۷°C به‌مدت ۲ ساعت هضم و

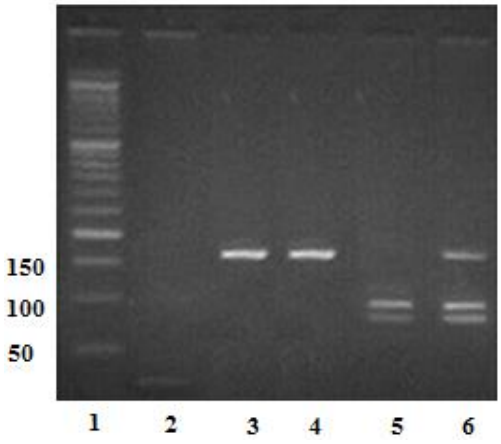
محصولات هضم بر روی ژل آگارز ۴ درصد مشاهده شدند.

هر گونه انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ از طریق وب‌سایت http://scienceprimer.com/hardy-weinberg-equilibrium-calculator بررسی و تجزیه‌وتحلیل آماری نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 انجام شد. داده‌ها با استفاده از آزمون t مستقل و Chi-square بررسی شدند. ارتباط چندشکلی 135G>C *RAD51* و سرطان سینه با محاسبهٔ نسبت شانس (OR) و فاصلهٔ اطمینان (CI) ۹۵ درصد با آزمون فیشر محاسبه و مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

چندشکلی 135G>C ژن *RAD51* برای ۱۲۷ بیمار مبتلا به سرطان سینهٔ غیارثی و ۱۲۵ نمونهٔ سالم به‌عنوان گروه شاهد تعیین ژنوتیپ شد. محدودهٔ سنی گروه بیمار و شاهد به‌ترتیب ۲۵-۸۱ و ۱۹-۷۵ سال بود.

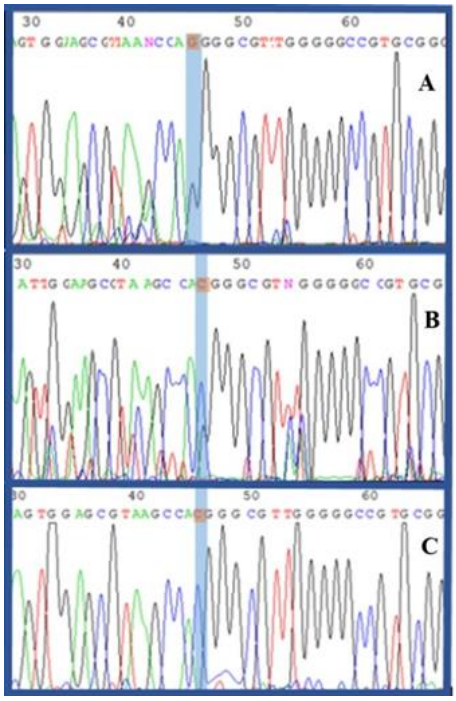
پس از تعیین ژنوتیپ‌ها، تمام بیماران و گروه شاهد به سه



شکل ۱ . بررسی چندشکلی *RAD51* 135G>C در بیماران مبتلا به سرطان سینه و افراد شاهد با روش PCR-RFLP در ژل آگارز ۴٪. محصولات PCR با آنزیم محدودگر *MvaI* هضم شدند. ۱. نردبان DNA (DNA ladder)، ۲. کنترل منفی ۳. محصول PCR هضم نشده، ۴. هموزیگوت CC (۱۵۷ جفت-باز)، ۵. هموزیگوت GG (۷۱ و ۸۶ جفت-باز)، ۶. هتروزیگوت GC (۷۱، ۸۶ و ۱۵۷ جفت باز).

ژنوتیپ C/C، G/C و G/G تقسیم شدند. در محصولات PCR، آلل G با آنزیم محدودگر هضم می‌شود و الگوی ۸۶ و ۷۱ جفت بازی ایجاد می‌کند، در حالی که آلل C هضم نمی‌شود و قطعهٔ ۱۵۷ جفت-بازی باقی می‌ماند (شکل ۱ و ۲). توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های چندشکلی 135G>C *RAD51* در بیماران مبتلا به سرطان سینه و گروه شاهد در جدول ۱ نشان داده شده است. درصد فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GC و CC در گروه شاهد ۷۸/۲۲، ۲۰/۱۶ و ۱/۶۱ درصد و در افراد بیمار ۷۳/۲۲، ۲۴/۴ و ۲/۳۶ درصد به‌دست آمد. هیچ اختلاف آماری معناداری بین فراوانی ژنوتیپی و آللی در بیماران مبتلا به سرطان سینه و گروه شاهد (p>۰/۰۵) مشاهده نشد.

همچنین، ارتباط چندشکلی 135G>C *RAD51* را با مشخصات بالینی بیماران (جدول ۲) بررسی کردیم. طبق نتایج، ارتباط آماری معناداری بین این چندشکلی و سن، اندازهٔ تومور، تهاجم به غدد لنفاوی، مرحلهٔ تومور و نوع بیماری (p>۰/۰۵) وجود نداشت.



شکل ۲. نتایج تعیین توالی چندشکلی *RAD51* 135G>C: الف) ژنوتیپ GG، ب) ژنوتیپ GC و پ) ژنوتیپ

جدول ۱. فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی افراد بیمار و سالم

ژنوتیپ	گروه بیمار تعداد(درصد)	گروه شاهد تعداد(درصد)	Odd ratio (95% CI)	p-value
GG	(۷۳/۲۲۸) ۹۳	(۷۸/۲۲۶) ۹۷	Ref	
GC	(۲۴/۴۰۹) ۳۱	(۲۰/۱۶۱)۲۵	۱/۲۹۳	۰/۳۹۹
CC	(۲/۳۶۲) ۳	(۱/۶۱۳)۲	۱/۵۶	۰/۶۲۶
آلل‌ها				
G	(۰/۸۵۴)۲۱۷	(۰/۸۸۳)۲۱۹	Ref	۰/۳۴۰
C	(۰/۱۴۶)۳۷	(۰/۱۱۷)۲۹	۱/۲۸۸	

جدول ۲. ارتباط چندشکلی *RAD51* 135G>C و ویژگی‌های بالینی

(*Invasive Ductal Carcinoma, **Invasive Lobular Carcinoma, ***Ductal Carcinoma In Situ)

متغیر	GG (٪)	GC (٪)	CC (٪)	مجموع
سن (بر حسب سال)				
۴۵≤	۱۸ (۷۸/۲۶)	۴ (۱۷/۴)	۱ (۴/۳۴)	۲۳
۴۵≥	۷۱ (۷۳/۹۶)	۲۴ (۲۵)	۱ (۱/۰۴)	۹۶
اندازه تومور				
۳ سانتیمتر≤	۳۸ (۷۶)	۱۰ (۲۰)	۲ (۴)	۵۰
۳ سانتیمتر≥	۴۴ (۷۰/۹۷)	۱۸(۲۹/۰۳)	۰ (۰)	۶۲
گره لنفی				
مثبت	۴۹ (۷۱/۰۱)	۱۹ (۲۷/۵۴)	۱ (۱/۴۵)	۶۹
منفی	۳۵ (۷۹/۵۵)	۸ (۱۸/۱۸)	۱ (۲/۲۷)	۴۴
مرحله تومور				
۰	۳ (۷۵)	۱ (۲۵)	۰ (۰)	۴
۱	۱۴ (۸۷/۵)	۲ (۱۲/۵)	۰ (۰)	۱۶
۲	۳۴ (۸۰/۹۵)	۷ (۱۶/۶۷)	۱ (۲/۳۸)	۴۲
۳	۳۲ (۶۴)	۱۷ (۳۴)	۱ (۲)	۵۰
۴	۱ (۵۰)	۱ (۵۰)	۰ (۰)	۲
نوع بیماری				
سرطان مجرایی مهاجم IDC*	۷۴ (۷۱/۸۵)	۲۷ (۲۶/۲۱)	۲ (۱/۹۴)	۱۰۳
سرطان لوبولاری مهاجم ILC**	۸ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۸
سرطان مجرایی درجا DCIS***	۳ (۷۵)	۱ (۲۵)	۰ (۰)	۴

بحث

سرطان سینه بیماری چندژنی است. طبق مدل چند ژنی سرطان سینه، چندین آلل با نفوذپذیری کم وجود دارد که با مشارکت یکدیگر یا در ترکیب با عوامل محیطی در ابتلا به این سرطان مؤثر هستند [۵]، از جمله تفاوت‌ها و تنوعات ژنتیکی افراد انسانی در مواجه با آسیب DNA و ترمیم آن که با تفاوت در خطر ابتلا به سرطان سینه همراه است. کاهش توان ترمیم DNA و افزایش آسیب DNA در بیماران مبتلا به سرطان سینه و در زنان با سابقهٔ خانوادگی سرطان سینه گزارش شده است. اما، این مسئله که تنوعات ژنتیکی شایع در ژن‌های ترمیمی DNA تا چه حد در ابتلا به سرطان سینه مؤثر هستند، همچنان نا مشخص است [۱۶، ۲۲].

شکست‌های دو رشته‌ای DNA، جزو مخرب‌ترین ضایعات زیستی می باشند که با توسط پرتوهای یونیزان و برخی مواد شیمیایی به‌وجود می‌آیند. اگر این نوع آسیب DNA به‌صورت ترمیم‌نشده باقی بماند، باعث توقف دائمی چرخهٔ سلولی و القای مرگ سلولی به‌دلیل ازدست‌رفتن مادهٔ ژنومی می‌شود؛ و اگر ترمیم نادرست انجام گیرد، به ایجاد سرطان از طریق جابه‌جایی، وارونگی یا حذف می‌انجامد [۱۶]. چندشکلی‌های ژنتیکی در ژن‌های ترمیمی DNA می توانند قابلیت ترمیم DNA را کاهش داده و باعث افزایش خطر ابتلا به تومورهای جامد شوند [۲۳].

در میان بسیاری از ژن‌های مورد بررسی، *RAD51* توجه فراوانی را به خود جلب کرده است [۲۴، ۲۵]. این ژن در ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای DNA از مسیر نوترکیبی همولوگ نقش مهمی ایفا می‌کند، به‌طوری که با پروتئین‌هایی مانند BRCA1 و BRCA2 تعامل می‌کند و باعث تشکیل رشته‌های نوکلئوپروتئینی در DNAهای تک‌رشته‌ای و شروع تهاجم رشته و جفت‌شدن همولوگ بین دو رشتهٔ DNA می‌شود [۱۶]. از آنجا که این پروتئین با BRCA1 و BRCA2 تعامل دارد، محققان پیشنهاد کرده‌اند که وجود چندشکلی یا جهش در ژن *RAD51* ممکن است در احتمال ابتلا به سرطان سینه مؤثر باشد. کاهش بیان پروتئین RAD51 در بیماران مبتلا به سرطان سینه [۲۶]، همچنین افزایش بیان این پروتئین در طیف وسیعی از رده‌های سلولی سرطان گزارش شده است [۲۷]. علاوه‌بر این، فقدان هتروزیگوسیتی منطقهٔ کروموزومی ۱۵q ۱۵،۱، که ژن *RAD51* نیز در آن قرارداد، در چندین سرطان، از جمله سرطان سینه، گزارش شده است [۲۸].

چندشکلی G>C 135 ژن *RAD51* در منطقهٔ ′۵ غیر کدشونده قرار دارد و طبق گزارش‌ها، بر پایداری mRNA یا کارایی ترجمه تأثیر دارد و از طریق تغییر سطح بیان و عملکرد پروتئین RAD51، بر توان ترمیم DNA مؤثر است [۲۹، ۳۰]. ارتباط چندشکلی مذکور با سرطان‌های مختلف، از جمله سرطان سینه، تخمدان و رودهٔ بزرگ در جمعیت‌های گوناگون مطالعه شده است [۱۷، ۲۴]. با این حال، اطلاعات متناقضی در مورد ارتباط این چند شکلی با خطر سرطان سینه وجود دارد. برای مثال، وانگ و همکاران [۳۱] با استفاده از تکنیک توالی‌یابی وجود چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی *RAD51* 135G>C را در منطقهٔ ′۵ غیرکدشونده مشخص کردند و متوجه شدند که آلل 135C، خطر ابتلا به سرطان سینه را در میان حاملان جهش *BRCA2* افزایش می‌دهد.

همچنین، طبق گزارش حسینی و همکاران [۱۹]، رابطهٔ معناداری بین ژنوتیپ‌های GC و CC چند شکلی 135 G>C ژن *RAD51* و افزایش خطر سرطان سینهٔ غیرارثی در بیماران ایرانی وجود دارد. از طرفی، تولباح و همکاران [۱۸] نشان دادند که بین چندشکلی *RAD51* 135G>C و خطر سرطان سینه در زنان عربستانی ارتباطی وجود ندارد.

با توجه به نتایج مطالعهٔ حاضر در مورد چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی *RAD51* 135G>C (rs1801320)، ارتباط معناداری بین فراوانی ژنوتیپی و آللی در بیماران مبتلا به سرطان سینه و افراد سالم در منطقهٔ شمال‌غرب ایران وجود ندارد. این نتایج، مشابه نتایج گزارش‌شده از جمعیت عربستان سعودی، لهستان و چند جمعیت دیگر است [۱۸، ۳۲] که گزارش کردند چندشکلی *RAD51* 135G>C با خطر ابتلا به سرطان سینه همراه نیست.

در نهایت، نتایج متفاوت مطالعهٔ حاضر با نتایج حسینی و همکاران [۱۵] ممکن است دال بر تفاوت‌های قومی-نژادی افراد مورد بررسی در دو مطالعه باشد [۲۵].

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از بیماران و خانواده‌های آن‌ها که با رضایت خاطر در این مطالعه شرکت کردند، تقدیر و تشکر کنند. این مطالعه با مجوز کمیتهٔ اخلاق دانشکده علوم پزشکی تبریز (کد ۳۲۵۹،۴،۵/۹۲،۳،۱۳) صورت گرفت.

References

[1]. Ghoncheh M, Mohammadian-Hafshejani A, Salehiniya H. Incidence and mortality of breast cancer and their relationship to development in Asia. Asian Pac J Cancer Prev. 2015 Dec; 16(14): 6081-7.
[2]. Kim Y, Yoo KY, Goodman MT. Differences in Incidence, Mortality and Survival of Breast Cancer by Regions and Countries in Asia and Contributing Factors. Asian Pac J Cancer Prev. 2015 Apr; 16(7): 2857-70.
[3]. Almasi Z, Mohammadian-Hafshejani A, Salehiniya H. Incidence, mortality, and epidemiological aspects of cancers in Iran; differences with the world data. Journal of BU ON.: Official Journal of the Balkan Union of Oncology. 2016 Jul 1; 21(4): 994-1004.
[4]. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, Ebrahimi M. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. The Breast Journal. 2007 Jul 1; 13(4): 383-91.
[5]. Rudolph A, Chang-Claude J, Schmidt MK. Gene–environment interaction and risk of breast cancer. British Journal of Cancer. 2016 Jan 19; 114(2): 125-33.
[6]. BRCA SG. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science. 1994 Oct; 266: 7.
[7]. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. Nature. 1995 Dec 21; 378(6559): 789.
[8]. Malkin D, Li FP, Strong LC, Nelson CE, Kim DH. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. Science. 1990 Nov 30; 250(4985): 1233.
[9]. Hirotsu Y, Nakagomi H, Sakamoto I, Amemiya K, Oyama T, Mochizuki H, Omata M. Multigene panel analysis identified germline mutations of DNA repair genes in breast and ovarian cancer. Molecular Genetics & Genomic Medicine. 2015 Sep 1; 3(5): 459-66.
[10]. Tung N, Lin NU, Kidd J, Allen BA, Singh N, Wenstrup RJ, Hartman AR, Winer EP, Garber JE. Frequency of germline mutations in 25 cancer susceptibility genes in a sequential series of patients with breast cancer. Journal of Clinical Oncology. 2016 Mar 14; 34(13): 1460-8.
[11]. Michailidou K, Hall P, Gonzalez-Neira A, Ghoussaini M, Dennis J, Milne RL, Schmidt MK, Chang-Claude J, Bojesen SE, Bolla MK, Wang Q. Large-scale genotyping identifies 41 new loci associated with breast cancer risk. Nature Genetics. 2013 Apr 1; 45(4): 353-61.
[12]. Holthausen JT, Wyman C, Kanaar R. Regulation of DNA strand exchange in homologous recombination. DNA Repair. 2010 Dec 10; 9(12): 1264-72.
[13]. Benson FE, Stasiak A, West SC. Purification and characterization of the human Rad51 protein, an analogue of E. coli RecA. The EMBO Journal. 1994 Dec 1; 13(23): 5764.
[14]. Walsh T, King MC. Ten genes for inherited breast cancer. Cancer Cell. 2007 Feb 13; 11(2): 103-5.
[15]. Hu J, Wang N, Wang YJ. XRCC3 and RAD51 expression are associated with clinical factors in breast cancer. PloS One. 2013 Aug 20; 8(8): e72104.
[16]. Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. Nature Genetics. 2001 Mar 1; 27(3): 247-54.
[17]. Wasson MK, Chauhan PS, Singh LC, Katara D, Sharma JD, Zomawia E, Kataki A, Kapur S, Saxena S. Association of DNA repair and cell cycle gene variations with breast cancer risk in Northeast Indian population: a multiple interaction analysis. Tumor Biology. 2014 Jun 1; 35(6): 5885.
[18]. Tulbah S, Alabdulkarim H, Alanazi M, Parine NR, Shaik J, Pathan AA, Al-Amri A, Khan W, Warsy A. Polymorphisms in RAD51 and their relation with breast cancer in Saudi females. OncoTargets and Therapy. 2016; 9: 269.
[19]. Hosseini M, Houshmand M, Ebrahimi A. RAD51 polymorphisms and breast cancer risk. Molecular Biology Reports. 2013 Jan; 1: 1-4.
[20]. Howe JR, Klimstra DS, Cordon-Cardo C. DNA extraction from paraffin-embedded tissues using a salting-out procedure: a reliable method for PCR amplification of archival material. Histology and Histopathology. 1997 Jul; 12(3): 595-601.
[21]. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research. 1988 Feb 11; 16(3): 1215.
[22]. Smith TR, Levine EA, Freimanis RI, Akman SA, Allen GO, Hoang KN, Liu-Mares W, Hu JJ. Polygenic model of DNA repair genetic polymorphisms in human breast cancer risk. Carcinogenesis. 2008 Aug 13; 29(11): 2132-8.
[23]. Shi S, Qin L, Tian M, Xie M, Li X, Qi C, Yi X. The effect of RAD51 135 G> C and XRCC2 G> A (rs3218536) polymorphisms on ovarian cancer risk among Caucasians: a meta-analysis. Tumor Biology. 2014 Jun 1; 35(6): 5797.
[24]. Cheng D, Shi H, Zhang K, Yi L, Zhen G. RAD 51 Gene 135G/C polymorphism and the risk of four types of common cancers: a meta-analysis. Diagnostic Pathology. 2014 Jan 23; 9(1): 18.
[25]. Sekhar D, Pooja S, Kumar S, Rajender S. RAD51 135G> C substitution increases breast cancer risk in an ethnic-specific manner: a meta-analysis on 21236 cases and 19407 controls. Scientific Reports. 2015 Jun 25; 5: srep11588.
[26]. Aleskandarany M, Caracappa D, Nolan CC, Macmillan RD, Ellis IO, Rakha EA, Green AR. DNA damage response markers are differentially expressed in BRCA-mutated breast cancers. Breast Cancer Research and Treatment. 2015; 150(1): 81.
[27]. Klopfleisch R, Schütze M, Gruber AD. RAD51 protein expression is increased in canine mammary carcinomas. Veterinary Pathology. 2010 Jan; 47(1): 98-101.
[28]. Nowacka-Zawisza M, Bryś M, Romanowicz-Makowska H, Kulig A, Krajewska WM. Loss of heterozygosity in the RAD51 and BRCA2 regions in breast cancer. Cancer Detection and Prevention. 2008 Dec 31; 32(2): 144-8.
[29]. Hasselbach L, Haase S, Fischer D, Kolberg HC, Sturzbecher HW. Characterisation of the promoter region of the human DNA-repair gene Rad51. Eur J Gynaecol Oncol. 2005 Feb; 26: 589-598.
[30]. Thacker J. The RAD51 gene family, genetic instability and cancer. Cancer Lett. 2005 Mar; 219: 125-135.
[31]. Wang WW, Spurdle AB, Kolachana P, Bove B, Modan B, Ebbers SM, Suthers G, Tucker MA, Kaufman DJ, Doody MM, Tarone RE. A single nucleotide polymorphism in the 5′ untranslated region of RAD51 and risk of cancer among BRCA1/2 mutation carriers. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers. 2001 Sep 1; 10(9): 955-60.
[32]. Krupa R, Synowiec E, Pawlowska E, Morawiec Z, Sobczuk A, Zadrozny M, Wozniak K, Blasiak J. Polymorphism of the homologous recombination repair genes RAD51 and XRCC3 in breast cancer. Experimental and Molecular Pathology. 2009 Aug 31; 87(1): 32-5.

RAD51 135G>C polymorphism and breast cancer risk in women of northwest Iran

Sonia Faridi[1], Narges Zeinalzadeh[2*], Mohammad Ali Hosseinpour Feizi[3], Nasser Pouladi[4]

1. *MSc. in Genetics, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.*
2. *Assistant professor, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.*
3. *Professor, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.*
4. *Assistant professor, Department of Biology, Faculty of Science, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.*

Abstract

Breast cancer is one of the main causes of death among Iranian women. Human RAD51 protein plays a central role in homologous recombination repair of double-stranded DNA breaks and is essential for maintaining genomic stability. A single nucleotide polymorphism in the 5′-untranslated region of *RAD51* gene (*RAD51* 135G>C) is reported to modulate breast cancer risk. The aim of this study was to find out the relationship of this SNP with breast cancer risk among Iranian Azeri Turkish women.

This case-control study was performed on 127 breast cancer cases and 125 controls. Genomic DNA was extracted and the *RAD51* 135G > C genotype was determined using a PCR–Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) based assay and confirmed by sequencing. The results were analyzed statistically.

The frequencies of CC, CG and GG genotypes of *RAD51* 135G>C were 1.613%, 20.161% and 78.225% in control group and 2.362%, 24.409% and 73.228% in patients, respectively. The results showed no significant differences among patients and controls groups.

The data presented here may suggest that the *RAD51* 135G > C polymorphism is not associated with breast cancer risk in Iranian Azeri population.

Received: 2017/11/05
Accepted: 2017/07/04

Keywords: Azeri-Turkish, breast cancer, Iran, *RAD51* 135G > C polymorphism.