ارتباط جابه‌جایی بازی ناحیه تنظیمی 1-AP و تشکیل تومور در بافت پستان

مجد متولی باشی، زهره حسینی، مرتضی صادقی

چکیده
زمینه و هدف: ماتریکس متالوپروتيناز-9 از آنزیم‌های پروتئین‌بندی است که قادر به هضم کلارین و زالین می‌باشد. یک تغییر تک نوکلئوتیدی سیطزین به تیمین در ناحیه 1-AP در ناحیه تنظیمی، باعث افزایش بیان این زن می‌شود. هدف مطالعه حاضر، بررسی نقش باز تیمین در تشکیل تومور در سلول‌های داکت و لوبول (Ducts & Lobules) بافت پستان است.

مواد و روش: در این مطالعه مورد - شاهدی 90 بیمار مبتلا به نوموز پستان از بیمارستان امید اصفهان بین سال‌های 1344 تا 1346 به هر ماه 100 نمونه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. نوکلئوتید افزاده توسط تکنیک RFLP-PCR تعیین گردید.

یافته‌ها: مقدار افزاده در بیماران و گروه کنترل گویای وجود زنوتیپ‌های تیمین-تیمین (TT) و سیطزین-تیمین (ST) به‌طور متوسط 3438-7-34377-5 (p=0.001) بود. این مقدار از 34377-5 تا 3438-7 در افراد افزایش یافته‌بود. در افراد افزایش یافته 1-AP می‌توانند کنکردن شروع سرطان پستان را در افراد حامل باشد و باعث افزایش خطر ابتلا تومور بافت پستان گردید.

نتیجه‌گیری: ارتباط مثبت بین وجود تکنولئوتیدی تیمین در ژن‌های 1-AP و ابتلا تومور پستان می‌تواند ناشی از عدم کپاسیتی پروتئین‌ها در سلول‌های حساسیت سلول‌ها برای سرطان شدن باعث هضم ماهرکننده‌های فاکتورهای رشد و افزایش تعداد ژن‌های فاکتورهای باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، ماتریکس متالوپروتيناز-9، جابه‌جایی بازی

1-استادیار گروه آموزشی زیست‌شناسی، بخش زنیک دانشگاه اصفهان
mbashi@sci.ui.ac.ir
2-استادیار گروه آموزشی زیست‌شناسی، بخش زنیک دانشگاه اصفهان
3-کارشناس ارشد گروه آموزشی زنیک، بخش زنیک دانشگاه اصفهان
سربازان پستان اولین عامل مرگ زنان در جهان است [1]. شناسایی سرباز در مراحل اوغیره، اهمیتی اساسی در درمان و مهار این بیماری درآمده و تأخیر در درمان سرباز باعث کاهش بیت و افزایش احتلاق مرگ در این بیماران می‌شود [2]. ماتریکس‌سالم پروتئین‌زای-9 (MMP-9) (Matrix Metalliproteinase-9) یکی از اعضای خانواده آنزیم‌های است که در تجزیه اتصالات بین غشاء پا به سلول‌ها و ماتریکس خارج سلولی ابزاری نقش می‌کند [3]. نقایت در افزایش بیان انواع مختلف این آنزیم‌ها در رده‌های سلولی سربازی در مراحل مختلف روند سربازی شدن گویای این مطلب می‌باشد که سلول‌های بدخیمن در مقایسه با سلول‌های خوش خیمه آنزیم بیشتری ترشح MRI-کننده [3]، یکی از مهارت‌های اصلی خانواده ماتریکس‌سالم پروتئین‌زای-9 می‌باشد که بر روی اتصالات بین سلولی شکل‌گیری می‌کند. در این تحقیق، درصد دخیل است [4-5]. این پروتئین به دلیل دارای فعالیت کلاژن‌زایی در حالت افزایش بیان، با از هم ریختگی غشاء بیان از یک طرف و افزایش رهایی عوامل رشد و هضم ماتریکس‌سالم پروتئین‌زای-9 و هضم ماتریکس‌سالم پروتئین‌زای-9 در این عوامل از طرف دیگر، نقشی اساسی در سربازی شدن سلول‌ها ایفا می‌کند [6]. میزان بیان این آنزیم و در نتیجه مقایسه مشخص‌کننده آن در هضم اتصالات بین سلول‌ها و بیشتر سرباز می‌تواند تحت تأثیر توانایی تنظیم‌گر در پروتئینزای-9 باشد. تنظیم بیان این زن در سطح رنگ‌ریزی سلول‌های سربازی و به‌طور کلی تأثیر معنی‌داری از طریق چاپ‌کننده‌های و (Specific Protein-1) SP1 (Enhancing Twenty Six)
در فریز در دمای -20 سانتی‌گراد (EDTA) Acetic acid تهیه‌گر خرد. برای استخراج زنیومی از خون، از روشن میکرو استفاده شد [18].

تعیین زنیون خون بیماران از روش‌های زنیونی که در دازی دقیق نسبت بالایی نیز هست و معنی‌دار جهت تشخیص بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، خروق بیکر قفل تکثیر. برای طراحی پرایمر از موتورهای جستجوگر و ترم‌فرماسازی و مربوط‌گرای سنتز مواد جستجوگر SGD و ترم‌فرماسازی استفاده گردید. سپس محصولات Oligo PCR به کمک آنزیم محدودکننده پیل Pacl که فقط برای آلی حاوی نوکلئوتید تیمی، دارای جایگاه شناسایی است مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. برای این منظور 10 میکروالتریزت محصول هر نمونه به همراه 5 واحد از آنزیم مورد نظر 10 میکروالتر بدن محلول آنزیمی به مدت یک شب در دمای 37 درجه سانتی‌گراد اکسوزاگردین گردید. سپس محصولات هضم آنزیمی به زنگ محلول به نسبت 1:3 مخلوط و حدود 10 میکروالتر از هر نمونه در چاه‌های زل اکاژر 1/15 به همراهی شد.

برای مشاهده باندی حاصل، زل اکاژر با ولنتا 100 Tris-Boric acid EDTA الکتروروز شد و بدين صورت طبقات حاصل از برخ از تیمیک تکثیفی شدند. بنابراین آل‌های واجد نوکلئوتید تیمین به منطقه پلی‌مورفیسم به دو قطعه بریده می‌شوند ویلی آل‌های حاوی نوکلئوتید سیستومز (در منطقه پلی‌مورفیسم) دست نخورده باقی می‌مانند. همچنین محصولات PCR 10 نمونه بیمار به طور صادقی در Ethylene-Di-amin-Tetra 28

جلد دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره 9 شماره 1 سال 1389
نتیجه
میانگین سنی افراد مبتلا به سرطان پستان14.1±7.4 سال و افراد گروه کنترل 9±2 سال بود. در این مطالعه زنوتیپ افراد در دو گروه بیماران واجد سرطان RFLP-PCR با افراد گروه کنترل توسط تکنیک شناسایی گردید (شکل 1).

نموده ۱

نموده ۲

شکل ۱- نتایج حاصل از RFLP-PCR و تعیین توالی در یک فرد سالم (شماره ۱) و یک فرد سرطانی (شماره ۲) ۴ زنوتیپ‌های مختلف.

اندازه تومور در افرادی که دارای دو آلل تیمین بودند بسیار بزرگتر (۵/۵ سانتی متر) از افرادی بود که هر یک آلل تیمین بودند. داده‌ها و آنالیزهای آماری- مقایسه‌های بین افراد دو گروه که یک آلل تیمین هستند گواهی این مطلب می‌باشد که افراد با زنوتیپ‌های CT, CT, CT, CT نسبت به شبیه افرادی که افراد با زنوتیپ‌های CC در معرض سرطان و تشکیل تومور باافت پستان هستند (OR=۳/۳۷, CI=۰/۴۷۸-۷/۴۷۳ (جدول ۱).

تغییر توالی شدید و در اثر زنوتیپ تک تک افراد در توانایی تنظیمی مورد نظر مشخص گردید. برای تأیید صحت زنوتیپ افراد مورد مطالعه علاوه بر Sequencing از RFLP-PCR یک آزمون تکمیلی استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها حاصل از کار عملی، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۲ استفاده شد. به منظور بررسی اختلاف فراوانی توزیع زنوتیپ موجود در گروه‌های مستقل مورد مطالعه، از

ملجع دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۹ شماره ۱ سال ۱۳۸۹
بحث

طبق بافتنهای این مطالعه، فراوانی آل‌های تیمین و سیتوزین‌های اول-AP زن-9 در افراد سرطان و سرطان‌های دارای اختلاف معنی‌داری است به طوری که افراد دارای نوکلتونتید تیمین در این ناحه، بیش از سه برای بیشتر از افراد فاقد نوکلتونتید تیمین در معرض خطر ایجاد تومور پستان هستند (40/000= p). (OR=2/27).

مشاهدات بیماری حاکی از آن است که میزان رگ‌زایی به علت یک فاکتور کلیدی در سرطان‌های سلول‌های هپاتوبی‌نرده و گسترش تومور‌های جامد اینفای نقش می‌کند [119]. از عملکرد راهبردی مهم‌ترین مثالی بود که بکه این امر تأییدکننده نشان می‌دهد که تومور پستان دفعه 9 بر هر هضم اتصالات سلولی و رهایی فاکتورهای رشد سلولی رگ‌زایی می‌باشد [20]. افزایش بایان این زن‌ها تاکنون در انواعی از سرطان‌ها شامل سرطان معدن، سرطان سینه و سرطان پروستات مشاهده شده است [14-21].

## جدول 1- توزیع فراوانی طیف‌های بیماران سرطان و افراد سالم

<table>
<thead>
<tr>
<th></th>
<th>بیماران سرطانی (%)</th>
<th>افراد سالم (%)</th>
<th>OR</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>100</td>
<td>90</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>CC</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>CT</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>TT</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>CT+TT</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

### معنی‌داری آماری

*OR: (CI)*  

### (CI)*  

*OR: (CI)*
نتیجه‌گیری
بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، زنان دارای زننده‌های CT و در ناحیه 1-9 Zn ممکن است این افراد مستعد برای ابتلا به سرطان پستان و تشکیل تومور پستان معرض می‌گردند و شاید بتوان از این آزمایش زننده، برای تشخیص زنان مستعد ابتلا به تومور بافت پستان استفاده کرد.

 تشکر و قدردانی
این مطالعه به همکاری و مساعدت بخش سرطان بیمارستان امید سازمان انتقال خون و همچنین همایشات تکمیلی دانشکده امراض شناسی دانشگاه تبریز انجام شد. بدری و همکارانش از مراجعین و همکاران دانشکده امراض شناسی و همایشات تکمیلی دانشگاه تبریز می‌گوید با این ناحیه از پروتئین‌های محدود آنها با این وجود انجام یک تحقیق و سبیع‌تر کل جامعه ایران برای اثبات این نظریه لازم به نظر می‌رسد. برای مطالعات دیگر در این زمینه پیشنهاد می‌گردد که بیماران علائم بر تعیین زننده، از لحاظ بایان بعدی مورد نظر نیز بررسی گردد.

References


Association between a Single Base Substitution at AP-1 Regulating Region in MMP-9 gene and Tumor Creation in Breast Tissue

M. Motovali-Bashi¹, Z. Hojati², M. Sadeghi³

Received:14/04/08  Sent for Revision:20/12/08  Received Revised Manuscript: 01/02/10  Accepted: 25/02/10

Background and Objectives: Matrix metalloproteinase-9 is one of the proteolytic enzymes that serves in the digestion of collagen and gelatin. A single cytosine to thymidine substitution in AP-1 site in the promoter causes over-expression in the thymidine allele. The aim of this study was the detection of thymidine base function on ducts and lobules cells of breast tissue for entering the cancer step.

Materials and Methods: This research is a case-control study involving 90 breast cancer patients without metastasis to other tissues from Omid hospital between 2006-2008; and 100 healthy controls. Sample genotypes were detected by RFLP-PCR technique. At the end genotype of samples was detected by direct sequencing. Also the existence of tumor in ducts and, lobules cells of breast tissues in all the respondents was determined by mammography and expert physicians.

Results: Comparison of the case and control groups showed T/T genotype and C/T genotype in 0% and 9% of the control groups, and 2.3% and 22.2% of the patients. Therefore, thymine nucleotide at AP-1 region of MMP-9 gene could be a facilitated factor for initiation of breast cancer, and could increase the risk of initiation and development of breast tumor (p= 0.004), (CI=1.438-7.423; OR=3.27).

Conclusions: The positive association between the thymine nucleotide at AP-1 site and creation of tumor in breast tissue can arise from enzyme protease activity and result in the digestion of growth factor inhibitors and release of these factors.

Key words: Breast Cancer, Matrix metalloproteinase-9, Base substitution

Funding: This study was funded by Graduate Studies Office of Isfahan University.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Isfahan University approved the study.

1- Assistant Prof., Dept. of Biology, Genetic Division, Isfahan University, Isfahan, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0311) 7932490, Fax: (0311) 7932456, E-mail: mbashi@sci.ui.ac.ir
2- Assistant Prof., Dept. of Biology, Genetic Division, Isfahan University, Isfahan Iran
3- Master of Science, Dept. of Biology, Genetic Division, Isfahan University, Isfahan, Iran