مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۸، شماره ۳/ مرداد و شهریور ۱۳۹۵/ ۱۳۶-۱۲۸

مقاله پژوهشی

بررسی پلی مورفیسم تکرار TAAAA در ژن *p53* و ارتباط آن با سرطان کولورکتال

زهرا فاتحی[۱]، منوچهر توسلی[۲*]، سیمین همتی[۳]، فروزان صفری[۲]

[۱]دانشجو، گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛ [۲]گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛ [۳]گروه پرتودرمانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹٤/۳/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹٤/۸/۱۹

چکیده:

زمینه و هدف: **تغییرات ژنتیکی در ژن *p53* با تومورزایی به‌خصوص تومورهای جامد مانند کولون، ریه و پستان در ارتباط می باشند. تاکنون مطالعه ای در مورد ارتباط تعداد تکرارهای TAAAA واقع در اینترون ۱ ژن *p53* و سرطان کولورکتال صورت نگرفته است. هدف این پژوهش، بررسی پلی مورفیسم TAAAA واقع در اینترون ۱ ژن *p53* در بین مبتلایان به سرطان کولورکتال و افراد سالم و ارتباط آن با سرطان کولورکتال می باشد.**

روش بررسی: **در این پژوهش، نمونه خون ۱۵۱ فرد مبتلا به سرطان کولورکتال و ۱۸۰ فرد سالم جمع آوری و بررسی شد. پس از استخراج DNA ژنومی از خون محیطی و تکثیر توالی مورد نظر، تعداد تکرار و توالی TAAAA به‌وسیله الکتروفورز بر روی ژل پلی آکریل آمید و تعیین توالی به‌دست آمد.**

یافته ها: **در این مطالعه، ۵ آلل متفاوت از تکرار TAAAA بین ٦ تا ۱۰ تکرار و ۱۳ ترکیب آللی (ژنوتیپ) مختلف در بین افراد شاهد و مورد مشاهده شد. بیشترین فراوانی آللی در میان افراد مورد و شاهد مربوط به آلل ۸ تکرار بود. تعداد ژنوتیپ های هموزیگوت مساوی یا کوچک تر از ۸ در افراد شاهد بیشتر از بیمار می باشد. بر عکس تعداد ژنوتیپ های مساوی و بزرگ تر از ۹ (۹/۹ و ۹/۱) در افراد بیمار بیشتر است. به‌علت تعداد کم نمونه ها محاسبات آماری ارتباط معنی داری را نشان نمی دهد. هیچ ارتباطی بین این ژنوتیپ ها با متاستاز و سن فرد مشاهده نشد.**

نتیجه گیری: **مطالعات ما ارتباط معنی داری را بین پلی مورفیسم تکرار TAAAA در ژن *p53* و خطر ابتلا به سرطان کولورکتال نشان نداد.**

واژه های کلیدی: ***p53*، سرطان کولورکتال، تکرار TAAAA، پلی مورفیسم.**

مقدمه:

سرطان کولورکتال شایع‌ترین سرطان دستگاه گوارش می‌باشد که عامل اصلی بروز آن به‌طور دقیق شناخته نشده است. این سرطان باتوجه به عامل جنسیت در بین زنان، پس از سرطان ریه و پستان رتبه سوم را ازنظر شیوع دارد و در بین مردان پس از سرطان ریه و پروستات قرار می گیرد. ازنظر مرگ و میر در زنان پس از سرطان پستان شایع‌ترین علت مرگ می‌باشد (۱). سرطان کولورکتال سومین سرطان رایج در مردان با نرخ ۸/۳ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر و چهارمین در بین زنان با نرخ ۷ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر می باشد (۲). بیشتر موارد سرطان کولورکتال احتمالاً در اثر عوامل محیطی ایجاد می شوند. در حدود ۵٪ از موارد این نوع سرطان عوامل ژنتیکی نقش مهمی را در ایجاد بیماری ایفا می نمایند (۴،۳). شایع‌ترین سندرم های ارثی که در بروز سرطان کولورکتال دخیل هستند، عبارتند از: سندرم لینچ یا سندرم سرطان کولورکتال غیر پولیپی

*نویسنده مسئول: اصفهان- دانشگاه اصفهان- گروه زیست شناسی- تلفن: ۰۳۱-۳۲٦۷۲٦۲٤، E-mail: manoochehr@biol.ui.ac.ir

ارثی و سندرم آدنوماتوز پولیپی فامیلی (۵). در ۱۵٪-۱۰٪ موارد سرطان کولورکتال، سابقه ی فامیلی سرطان در بستگان فرد مبتلا مشاهده می شود (۶). در این گونه موارد عوامل تغذیه ای و محیطی احتمالاً در تداخل با عوامل ژنتیکی عمل کرده و موجب بروز بیماری می گردند (۷). خطر مرتبط با سابقه ی فامیلی سرطان بستگی به تعداد بستگان مبتلا و سن تشخیص بیماری در آن‌ها دارد (۸). افرادی که یکی از بستگان درجه اول آن‌ها در سن زیر ۵۰ سال مبتلا به سرطان کولورکتال تشخیص داده شده است، در معرض خطر ۲ تا ۳ برابری ابتلا به سرطان کولورکتال قرار می گیرند؛ همچنین اگر ۲ یا بیشتر از ۲ نفر از بستگان درجه ی یک در هر سنی مبتلا به سرطان کولورکتال تشخیص داده شوند، خطر ۴ تا ۶ برابری ایجاد بیماری فرد را تهدید می کند (۷). سرطان کولورکتال اغلب به‌علت یک جهش در مسیر انتقال پیام Wnt ایجاد می شود و ژن های بسیاری شامل: *p53*, APC, PTEN و ... در بروز آن دخالت دارد (۱۰،۹). *p53* در ۴ نوع مرگ سلولی شامل اتوفاژی، آپوپتوز، سنسنس ۱ و نکروزیس ۲ دخالت دارد (۱۱). به‌عبارت دیگر، در ادامه ی آسیب DNA, *p53* فرایندهای کلیدی نظیر، ترمیم DNA، توقف چرخه سلولی، پیری و آپوپتوز را به منظور سرکوب تومور کنترل می کند (۱۲). فعال سازی *p53* شامل ۳ مرحله: پایداری *p53*، اتصال به DNA و فعال‌سازی رونویسی می باشد و همچنین Mdm2 و Mdmx دو کنترل کننده ی منفی مهم *p53* می باشند (۱۴،۱۳). ژن *p53* در ۵۰٪ از سرطان های کولورکتال دچار جهش می شود. این جهش ها بیشتر در ۵ کدون اصلی شامل ۱۷۵،۲۴۵،۲۴۸،۲۷۳،۲۸۲ صورت می گیرد (۱۶،۱۵). کروموزوم ۱۷ در اکثر موارد در سرطان کولورکتال درگیر می شود که بر روی بازوی کوتاه این کروموزوم ژن *p53* قرار دارد (۱۷). ژن *p53* دارای ۱۱ اگزون که حدود ۲۰ هزار جفت باز از DNA را شامل می شود و ۱۰ اینترون می باشد. این ژن پروتئینی ۵۳ کیلودالتونی که شامل ۳۹۳ اسیدآمینه می باشد را کد می کند (۱۸). که پایانه ی N آن نقش فعال کننده رونویسی (Transactivator)، پایانه ی C آن نقش تنظیم کننده (Transregulator) و بخش مرکزی مسئول اتصال به DNA (DNA-Banding) می باشد (۱۹).

در اینترون شماره یک TAAAA تاکنون مطالعه ای در زمینه وجود پلی مورفیسم تعداد تکرارهای کولورکتال صورت نگرفته است. در این مطالعه پلی مورفیسم و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان ژن *p53* و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال در جمعیت اصفهان مورد بررسی و نتایج آن مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

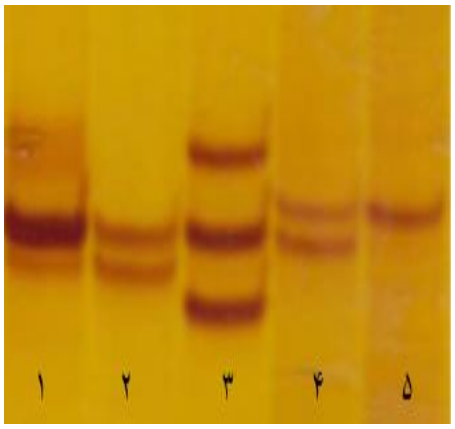
روش بررسی:

نمونه خون تام ۱۵۱ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال که تحت شیمی درمانی و رادیوتراپی قرار داشتند، با رضایت بیماران از بیمارستان سید الشهدا (ع) اصفهان جمع آوری شد؛ همچنین نمونه ی خون تام ۱۸۰ فرد سالم که جهت بررسی وضعیت سلامتی خود به بیمارستان مراجعه کرده بودند، جمع آوری شد. اطلاعات مربوط به متاستاز از پرونده افراد بیمار مورد بررسی، استخراج گردید. از نمونه ی خون افراد مورد مطالعه، DNA ژنومی به روش رسوب دهی نمکی استخراج گردید و ناحیه ژنی مورد نظر توسط پرایمرهای پیش رو 5′-AATCCGGGAGGAGGTTGCAGTAAG-3′ و پیرو 5′-ACAGCTCCTTTAATGGCAGGCTCTTT-3′ تکثیر گردید. واکنش زنجیره ای پلی مراز (Polymerase Chain Reaction) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲۰۰-۱۰۰ نانو گرم DNA ژنومی، ۲۰۰ میکرومولار (Deoxyribonucleotide) dNTPs، ۱۰۰ نانومولار از هر یک از پرایمرهای پیش رو و پیرو، ۲/۵ میکرولیتر از بافر PCR 10X، ۱/۲ میلی مولار $MgCl_2$، ۲ واحد آنزیم SmarTaq DNA polymerase (شرکت سیناژن تهران) در دستگاه ترموسایکلر شرکت اپندروف انجام شد. پس از واسرشت شدن اولیه در دمای ۹۵ درجه ی سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۳ سیکل PCR در دمای ۹۵ درجه ی سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه

به منظور واسرشت شدن رشته ها، ۵۶ درجه ی سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه جهت اتصال پرایمرها و ۷۲ درجه ی سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه جهت گسترش پرایمرها انجام شد. یک سیکل انتهایی نیز جهت تکثیر توالی های ناقص به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه ی سانتی گراد در نظرگرفته شد. محصولات حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمراز توسط ژل آگارز ۱٪ تأیید و جهت بررسی پلی مورفیسم ژن *p53* از الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید ۱۰٪ غیر واسرشت استفاده شد. ژل با روش نیترات نقره رنگ آمیزی و نتایج توسط اسکنر ثبت شد. پس از مشاهده ی پلی مورفیسم، ۳ نمونه با اندازه های مختلف توسط کیت استخراج DNA (شرکت فرمنتاز) از ژل آگارز خالص سازی شدند؛ سپس جهت تعیین توالی به شرکت سیناکلون ارسال شدند تا به‌عنوان نشانگر آللی مورد استفاده قرار گیرند. به کمک این نشانگرها، طول تکرار آلل های مورد و شاهد، تعیین و فراوانی آللی ژن *p53* محاسبه گردید. پس از آن، اطلاعات آماری توسط نرم‌افزار SISA انجام شد. در ابتدا فراوانی ترکیبات آللی و فراوانی آلل های ژن مورد نظر مشخص شد و سپس ارتباط این تکرارها با بروز سرطان به کمک آزمون χ^2 و (Odd ratio) توسط آزمون رگرسیون محاسبه شد. سطح معنی داری کوچک تر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری مقبول فرض شد.

یافته ها:

با توجه به توانایی کم ژل آگارز در جداسازی قطعات DNA با اختلاف کم، برای اندازه گیری دقیق تعداد تکرارهای توالی TAAAA واقع در اینترون ۱ ژن *p53*، بررسی های بعدی محصول PCR بر روی ژل پلی آکریل آمید ۱۰٪ انجام شد (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: نمونه ای از تصویر ژل پلی آکریل آمید ۱۰٪ جهت بررسی پلی مورفیسم TAAAA در اینترون یک ژن *p53*

ردیف‌های ۱ تا ۵، تنوعات آللی تکرارهای TAAAA در ژن p53 را در افراد مورد بررسی نشان می‌دهد. اندازه‌های مختلف آلل‌ها، اختلاف در تعداد تکرارهای TAAAA را نمایش می دهد. نمونه شماره ۱ هموزیگوت ۸/۸ شماره ۲ هتروزیگوت ۷/۸، شماره ۳ هتروزیگوت ٦/۸، شماره ٤ هتروزیگوت ۸/۹ و شماره ۵ هموزیگوت ۹/۹ می باشند.

در این مطالعه ۵ آلل مختلف برای تکرار TAAAA واقع در اینترون شماره ۱ ژن *p53* در محدوده‌ی ۶ تا ۱۰ تکرار در افراد شاهد و مبتلایان به سرطان کولورکتال مشاهده شد (جدول شماره ۱). از بین این آلل‌ها، آلل ۸ تکرار TAAAA شایع‌ترین آلل ژن *p53* در بین بیماران (۵۷/۶٪) و افراد شاهد (۵۹/۸٪) برآورد شد. کمترین فراوانی آللی تکرار TAAAA در بیماران متعلق به آلل ۶ تکرار (۱/۶٪) و در افراد شاهد متعلق به آلل ۱۰ و ۶ تکرار (۱/۱٪) است. در جدول شماره ۱ فراوانی آلل‌ها در بین افراد مورد مطالعه برای ژن *p53* و نیز ارتباط این آلل ها با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال بررسی شده است.

جدول شماره ۱: فراوانی آلل های تکرار TAAAA در اینترون ۱ ژن *p53* در افراد بیمار و شاهد و ارتباط این آلل ها با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال

آلل	تعداد		OR (95%CI)	P
	بیمار (٪)	شاهد (٪)		
٦	٥(١/٦)	٤(١/١)	١/٤٨١(٠/٣٩٤-٥/٥٦٧)	٠/٣٩٩
٧	٥٢(١٧/٢)	٧٣(٢٠/٥)	٠/٨٠٦(٠/٥٤٤-١/١٩٦)	٠/٦٠٩
٨	١٧٣(٥٧/٦)	٢١٣(٥٩/٨)	٠/٩(٠/٦٦-١/٢٢٩)	٠/٨٤١
٩	٦٦(٢١/٨)	٦٢(١٧/٤)	١/١٣٥(٠/٧٧١-١/٦٧١)	٠/٨١١
١٠	٦(٢/٠)	٤(١/١)	١/٧٨٤(٠/٤٩٩-٦/٣٨١)	٠/٥٠٤
کل	٣٠٢(١٠٠)	٣٦٠(١٠٠)		

در کل افراد مورد مطالعه، ۱۳ ترکیب آللی (ژنوتیپ) مختلف برای ژن *p53* مشاهده شد. نتایج بررسی ژنوتیپ‌های مختلف ژن *p53* نشان داد که فراوان‌ترین ژنوتیپ موجود در هر ۲ گروه بیمار (۳۱/۱٪) و شاهد (۳۵/۵٪) متعلق به ژنوتیپ ۸/۸ است. به علاوه ترکیبات آللی ۶/۷ فقط در بیماران و ترکیب آللی ۶/۶ و ۷/۱۰ فقط در افراد شاهد مشاهده شد. در جدول شماره ۲ توزیع میزان فراوانی هر ترکیب آللی در بین بیماران و افراد شاهد برای ژن *p53* و نیز ارتباط این ژنوتیپ ها با خطر ابتلا به سرطان پستان بررسی شده است.

جدول شماره۲: فراوانی ژنوتیپ های مختلف TAAAA در اینترون ۱ ژن *p53* در بین افراد بیمار و شاهد و ارتباط این ژنوتیپ ها با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال

ژنوتیپ	تعداد		OR (95%CI)	P
	بیمار (٪)	شاهد (٪)		
٦/٦	٠(٠/٠)	١(٠/٥)	-	-
٦/٧	١(٠/٧)	٠(٠/٠)	-	-
٦/٨	٣(٢)	١(٠/٥)	٣/٦٢٨(٠/٣٧٣-٣٥/٢٤٨)	٠/٣٧٦
٦/٩	١(٠/٧)	١(٠/٥)	١/١٩٣(٠/٠٧٤-١٩/٢٤١)	٠/٠٧٥
٧/٧	٣(٢)	٨(٤/٤)	٠/٤٣٦(٠/١١٤-١/٦٧٣)	٠/١٢١
٧/٨	٣٤(٢٢/٥)	٤١(٢٢/٧)	٠/٩٨٥(٠/٥٨٨-١/٦٥٢)	٠/٦٦٣
٧/٩	١١(٧/٣)	١٥(٨/٣)	٠/٨٦٤(٠/٣٨٤-١/٩٤٣)	٠/٤١٤
٧/١٠	٠(٠/٠)	١(٠/٥)	–	–
٨/٨	٤٧(٣١/١)	٦٤(٣٥/٥)	٠/٨١٩(٠/٥١٧-١/٢٩٨)	٠/٦٤٣
٨/٩	٤٠(٢٦/٥)	٤١(٢٢/٧)	١/٢٢٢(٠/٧٤-٢/٠١٨)	٠/٧٩٧
٨/١٠	٢(١/٣)	٢(١/١)	١/١٩٥(٠/١٦٦-٨/٥٨٤)	٠/١٧
٩/٩	٥(٣/٣)	٤(٢/٢)	١/٥٠٧(٠/٣٩٧-٥/٧١٤)	٠/٤٠٧
٩/١٠	٤(٢/٦)	١(٠/٥)	٤/٨٧١(٠/٥٣٩-٤٤/٠٥٣)	٠/٥٣٩
کل	١٥١	١٨٠		

در مورد ژنوتیپ های هموزیگوت مساوی یا کوچک‌تر از ۸ به‌ویژه درخصوص هموزیگوت های ۶ و ۷ اختلاف در توزیع مشاهده می‌شود. تعداد این ژنوتیپ ها در افراد شاهد بیشتر از بیمار می باشد. برعکس تعداد ژنوتیپ های مساوی و بزرگ‌تر از ۹ (۹/۹ و ۹/۱) در افراد بیمار بیشتر از شاهد می باشد. مطالعات آماری به این منظور انجام شد (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳: بررسی ارتباط ژنوتیپ های هموزیگوت و خطر بروز سرطان کولورکتال

ژنوتیپ	تعداد		OR (95%CI)	P
	بیمار (٪)	شاهد (٪)		
۷/۷+۶/۶	۳(۱/۹)	۹(۵/۰)	۰/۳۸(۰/۱۰-۱/۴۵)	۰/۱۳
۸/۸+۷/۷+۶/۶	۵۰(۳۳/۱)	۷۳(۴۰/۵)	۰/۷۲(۰/۴۶-۱/۱۴)	۰/۱۶
هر دو الل مساوی و بزرگ‌تر از ۹	۹(۵/۹)	۵(۲/۸)	۲/۲(۰/۷۲-۶/۷۷)	۰/۱۵

براساس جدول شماره ۳، باتوجه به P>۰/۰۵ ارتباط معنی داری بین این ژنوتیپ ها و خطر ابتلا به سرطان مشاهده نشد.

به علاوه در این مطالعه هیچ ارتباطی بین این ژنوتیپ ها با متاستاز و سن فرد مشاهده نشد.

بحث:

جهش های غیر فعال کننده در ژن *p53* در ۵۰٪ از سرطان های انسانی شامل سرطان کولورکتال شناسایی شده است. این جهش ها بیشتر در ۵ کدون اصلی شامل ۱۷۵،۲۴۵،۲۴۸،۲۷۳،۲۸۲ صورت می گیرد. جهش در کدون ۱۷۵ با فرکانس بالا در تومورهای واقع در کولون رخ می دهد و جهش مربوط به کدون ۲۸۸ در اگزون ۸ در تومورهای رکتال رایج تر است (۲۰). جهش در یک کپی از ژن *p53* و از دست دادن کپی دیگر در اثر (LOH) در بسیاری از سرطان ها ازجمله سرطان کولون مشاهده شده است و این مسئله پیشنهاد می کند که از دست دادن هر ۲ کپی از ژن *p53* جهت تومورزایی ضروری است.

در این مطالعه ۵ آلل مختلف برای تکرار TAAAA واقع در اینترون شماره ۱ ژن *p53* در محدوده‌ی ۶ تا ۱۰ تکرار در افراد شاهد و مبتلایان به سرطان کولورکتال مشاهده شد. از بین این آلل‌ها، آلل ۸ تکرار TAAAA شایع‌ترین آلل ژن *p53* در بین بیماران و افراد شاهد برآورد شد. در کل افراد مورد مطالعه، ۱۳ ترکیب آللی (ژنوتیپ) مختلف برای ژن *p53* مشاهده شد. نتایج بررسی ژنوتیپ‌های مختلف ژن *p53* نشان داد که فراوان‌ترین ژنوتیپ موجود در هر ۲ گروه بیمار (۳۱/۱٪) و شاهد (۳۵/۵٪) متعلق به ژنوتیپ ۸/۸ است.

پلی مورفیسم توالی تکراری TAAAA در منطقه پروموتوری ژن لیپوپروتئین a (LP[a]) نیز مشاهده شده است (۲۲،۲۱). این پلی مورفیسم با افزایش فعالیت رونویسی و افزایش سطح پلاسمایی لیپوپروتئین a مرتبط می باشد. بین تکرارهای ۵ تایی لیپوپروتئین a و سطح این پروتئین ارتباط معکوسی وجود دارد. اندازه آلل ها و فراوانی تکرارهای TAAAA در مطالعه ما با مطالعه انجام شده برای ژن لیپوپروتئین a مشابه می باشد. با این تفاوت که ما آلل ۵ تکرار مشاهده نکردیم.

در مورد ژنوتیپ های هموزیگوت مساوی یا کوچک‌تر از ۸ به ویژه درخصوص هموزیگوت های ۶ و ۷ اختلاف در توزیع مشاهده می‌شود. تعداد این ژنوتیپ ها در افراد شاهد بیشتر از بیمار می باشد. برعکس تعداد ژنوتیپ های مساوی و بزرگ‌تر از ۹

(۹/۹ و ۹/۱) در افراد بیمار بیشتر از شاهد می باشد؛ ولی آزمون‌های آماری با توجه به P>۰/۰۵ (P=۰/۱) ارتباط معنی داری بین این ژنوتیپ ها و خطر ابتلا به سرطان را نشان نداد. دلیل این عدم ارتباط احتمالاً تعداد کم ژنوتیپ های مورد نظر می باشد و با افزایش تعداد نمونه ها احتمال ارتباط نیز افزایش پیدا می کند.

باتوجه به اینکه DNA های ماهواره ای ریز یا STR ها با قرار گرفتن در توالی افزایش دهنده ها احتمالاً با تغییر ساختمان ایجاد شده می توانند بر روی بیان ژن ها تأثیر بگذارند و یا با قرار گرفتن در اینترون ها می توانند در سرعت جدا شدن اینترون ها در نتیجه بر بیان ژن ها تأثیر گذارند (۲۷-۲۴). STR های واقع شده در اینترون ها همچنین می توانند بر روی محصولات پیرایش متفاوت اینترون ها و ایجاد ایزوفرم های مختلف تأثیر گذارند (۲۹،۲۸). برخی از ایزوفرم های ژن *p53* فاقد N انتهایی فعال کننده رونویسی می باشند؛ بنابراین این امکان وجود دارد که هموزیگوت های کوچک ۶ و ۷ ژن *p53* منجر به کاهش بیان ژن *p53* و یا افزایش تولید ایزوفرم های مهارکننده فاقد N انتهایی شوند. نجفی و همکاران نیز پلی مورفیسم توالی تکراری TAAAA در ژن *p53* را بررسی و ارتباط آن با سرطان پستان را مورد مطالعه قرار دادند و نتایج متفاوتی برای ژنوتیپ ۷/۷ مشاهده نمودند. تعداد ژنوتیپ های ۷/۷ در افراد بیمار بیشتر از کنترل بود و این ارتباط معنی دار بود (P=۰/۰۱، OR=۴/۵) (۲۹). صدری و همکاران نیز پلی مورفیسم توالی تکراری TAAAA در ژن *p53* را بررسی و ارتباط آن با سرطان پروستات را مورد مطالعه قرار دادند و نتایج متفاوتی برای مجموع ژنوتیپ های ۹/۹ و ۱۰/۱ مشاهده نمودند. تعداد مجموع ژنوتیپ های ۹/۹ و ۱۰/۱ در افراد بیمار بیشتر از کنترل بود و این ارتباط معنی دار بود (P=۰/۰۴، OR=۳/۵۲) (۳۰).

نتیجه گیری:

در این تحقیق پلی مورفیسم تکرار TAAAA واقع در اینترون ۱ ژن *p53* و ارتباط آن‌ها با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار گرفت؛ ولی با وجود اختلاف در توزیع برخی از ژنوتیپ ها در بیماران و گروه شاهد ارتباط معنی داری بین تعداد تکرارهای TAAAA و سرطان کولورکتال مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی:

از حمایت مالی مدیریت پژوهشی دانشگاه اصفهان جهت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می شود. از خانم الهه جان نثاری به خاطر یاری ایشان در جمع‌آوری نمونه ها، از کلیه بیماران محترم، بیمارستان سید الشهدا (ع) به خاطر در اختیار قرار دادن اطلاعات پزشکی و نمونه ی خون و کلیه ی افرادی که به صورت مادی و معنوی ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، تشکر و قدردانی می گردد.

منابع:

1. Corman ML. Colon and Rectal surgery. 4th ed. New York: Lippincott company; 1999: 625-762.
2. Safaee A, Moghimi-Dehkordi B, Pourhoseingholi MA, Vahedi M, Maserat E, Ghiasi S, et al. Risk of colorectal cancer in relatives: A case control study. Indian J Cancer. 2010; 47(1): 27-30.
3. Samowitz WS, Curtin K, Lin HH, Robertson MA, Schaffer D, Nichols M, et al. The colon cancer burden of genetically defined hereditary nonpolyposis colon cancer. Gastroenterology. 2001; 121(4): 830-8.
4. Jass JR. Familial colorectal cancer: Pathology and molecular characteristics. Lancet Oncol. 2000; 1: 220-6.

5. Mishra N, Hall J. Identification of patients at risk for hereditary colorectal cancer. Clin Colon Rectal Surg. 2012; 25(2): 67-82.
6. De Jong AE, Vasen HF. The frequency of a positive family history for colorectal cancer: A population-based study in the Netherlands. Neth J Med. 2006; 64(10): 367-70.
7. Kerber RA, Slattery ML, Potter JD, Caan BJ, Edwards SL. Risk of colon cancer associated with a family history of cancer or colorectal polyps: The diet, activity, and reproduction in colon cancer study. Int J Cancer. 1998; 78(2): 157-60.
8. Hamelin R, Laurent-Puig P, Olschwang S, Jego N, Asselain B, Remvikos Y, et al. Association of *p53* mutations with short survival in colorectal cancer. Gastroenterology. 1994; 106(1): 42-8.
9. Worthley DL, Whitehall VL, Spring KJ, Leggett BA. Colorectal carcinogenesis: Road maps to cancer. World J Gastroenterol. 2007; 13(28): 3784-91.
10. Baumann K. Cell death: multitasking *p53* promotes necrosis. Nat Rev Mol Cell Biol. 2012; 13(8): 480-1.
11. Riley T, Sontag E, Chen P, Levine A. Transcriptional control of human *p53*-regulated genes. Nat Rev Mol Cell Biol. 2008; 9(5): 402-12.
12. Toledo F, Wahl GM. Regulating the *p53* pathway: in vitro hypotheses, in vivo veritas. Nat Rev Cancer. 2006; 6(12): 909-23.
13. Kruse JP, Gu W. Modes of *p53* regulation. Cell. 2009; 137(4): 609-22.
14. Soussi T, Dehouche K, Beroud C. *p53* website and analysis of *p53* gene mutations in human cancer: Forging a link between epidemiology and carcinogenesis. Hum Mutat. 2000; 15(1): 105-13.
15. Tominaga T, Iwahashi M, Takifuji K, Hotta T, Yokoyama S, Matsuda K, et al. Combination of *p53* codon 72 polymorphism and inactive *p53* mutation predicts chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer. Int J Cancer. 2010; 126(7): 1691-701.
16. Smith G, Carey FA, Beattie J, Wilkie MJ, Lightfoot TJ, Coxhead J, et al. Mutations in APC, Kirsten-ras, and *p53*-alternative genetic pathways to colorectal cancer. Proc Natl Acad Sci USA. 2002; 99(14): 9433-8.
17. Zhang JS, Caplin S, Bosman FT, Benhattar J. Genetic diversity at the *p53* locus between primary human colorectal adenocarcinomas and their lymph-node metastases. Int J Cancer. 1997; 70(6): 674-8.
18. Hofseth LJ, Hussain SP, Harris CC. *p53*: 25 years after its discovery. Trends Pharmacol Sci. 2004; 25(4): 177-8.
19. Cadwell C, Zambetti GP. The effects of wild-type *p53* tumor suppressor activity and mutant *p53* gain-of-function on cell growth. Gene. 2001; 277(1-2): 15-30.
20. Tominaga T, Iwahashi M, Takifuji K, Hotta T, Yokoyama S, Matsuda K, et al. Combination of *p53* codon 72 polymorphism and inactive *p53* mutation predicts chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer. Int J Cancer. 2010; 126(7): 1691-701.
21. Nascimento H, Silva L, Lourenco P, Vieira E, Dos Santos R, Rego C, et al. Lipoprotein (a) levels in obese Portuguese children and adolescents: Contribution of the pentanucleotide repeat (TTTTA) n polymorphism in the apolipoprotein (a) gene. Arch Pediatr Adolesc Med. 2009; 163(4): 393-4.
22. Berglund L, Ramakrishnan R. Lipoprotein (a): An elusive cardiovascular risk factor. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2004; 24(12): 2219-26.
23. Gebhardt F, Zanker KS, Brandt B. Modulation of epidermal growth factor receptor gene transcription by a polymorphic dinucleotide repeat in intron 1. J Biol Chem. 1999; 274(19): 13176-80.

24. Agarwal AK, Giacchetti G, Lavery G, Nikkila H, Palermo M, Ricketts M, et al. CA-Repeat polymorphism in intron 1 of HSD11B2: Effects on gene expression and salt sensitivity. Hypertension. 2000; 36(2): 187-94.
25. Suzuki M, Kageyama S, Shinmura K, Okudela K, Bunai T, Nagura K, et al. Inverse relationship between the length of the EGFR CA repeat polymorphism in lung carcinoma and protein expression of EGFR in the carcinoma. J Surg Oncol. 2008; 98(6): 457-61.
26. Sharma VK, Kumar N, Brahmachari SK, Ramachandran S. Abundance of dinucleotide repeats and gene expression are inversely correlated: A role for gene function in addition to intron length. Physiol Genomics. 2007; 31(1): 96-103.
27. Gemayel R, Cho J, Boeynaems S, Verstrepen KJ. Beyond junk-variable tandem repeats as facilitators of rapid evolution of regulatory and coding sequences. Genes. 2012; 3(3): 461-80.
28. Hui J, Reither G, Bindereif A. Novel functional role of CA repeats and hnRNP L in RNA stability. RNA. 2003; 9(8): 931-6.
29. Najafi S, Tavassoli M, Hemati S, Safari F. The study of TAAAA polymorphism in *p53* gene and its association with breast cancer: Master’s thesis. 2014.
30. Sadri Z, Tavassoli M, Hemati S, Safari F. The study of TAAAA polymorphism in *p53* gene and its association with prostate cancer: Master’s thesis. 2015.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2016; 18(3): 128-136. **Original article**

The study of TAAAA polymorphism in *p53* gene and its association with colorectal cancer

fatehi Z[1], Tavassoli M[2*], Hemati S[3], Safari F[2]
[1]Student, Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran; [2]Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran; [3]Radiotherapy Dept., Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran.
Received: 10/May/2015 Accepted: 10/Nov/2015

Background and aims: Genetic alternation in *p53* gene is associated with tumorgenesis, specially breast, colon and lung tumors. To our knowledge, there has been no study on the relationship between TAAAA repeat in the first intron of *p53* gene and cancer risk. The aim of this study was to investigate polymorphism of TAAAA in the first intron of *p53* gene among colorectal cancer patients and healthy individuals and its relation to risk of colorectal cancer.
Methods: In this research, 151 blood samples of patients with colorectal cancer and 180 healthy samples were studied. After DNA extraction from peripheral blood samples by salting out method and amplification of desired sequence, the number of TAAAA repeats was determined by Polyacrylamide gel electrophoresis and direct sequencing.
Results: In this study, five different length of TAAAA repeat in the range of 6-10 and 13 allele combinations (genotypes) were observed among patients and controls. The most frequent allele in both patients and controls was the 8-TAAAA repeat. Results of homozygous genotypes equal or below 8 are higher among the controlled than the case subjects. In the contrary, number of genotypes equal or higher than 9 (9.10, 9.9) was higher among the patients. Due to the insufficient number of samples, the statistical analysis didnot not show a meaningful relationship. There is no meaningful relationship between genotype, metastasis and age.
Conclusion: Our study did not show a strong association between the TAAAA repeat polymorphism in *p53* gene and the risk of colorectal cancer.

***Keywords: p53*, Colorectal cancer, TAAAA repeat, Polymorphism.**

Cite this article as: Fatehi Z, Tavassoli M, Hemati S, Safari F. The study of TAAAA polymorphism in *p53* gene and its association with colorectal cancer. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 18(3): 128-136.

[*]Corresponding author:
Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00983132672624, E-mail: manoochehr@biol.ui.ac.ir