

ارتباط بین طول توالی تکراری CA در اینترون I ژن PIK3CA با خطر ابتلا به سرطان پستان

نجمه حشمت‌پور: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، اصفهان

منوچهر توسلی*: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان

سیمین همتی: گروه رادیوتراپی و انکلوزی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

سیدحسین حجازی: گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

فروزان صفری: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، اصفهان

چکیده

مقدمه: مسیر انتقال پیام فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز (PI3K) تنظیم کننده طیف گسترده‌ای از فرایندهای مهم سلولی از جمله تکثیر سلولی، بقا، آپوپتوز، جنبش سلولی، مهاجرت سلولی و متابولیسم انسولین است. زیر واحد کاتولیتیکی آلفا انسانی بوسیله ژن فسفاتیدیل اینوزیتول ۴،۵ بیس فسفات (PIK3CA) کد می‌شود. بر اساس اطلاعات ما این اولین گزارش در مورد پلی‌مورفیسم تکرار دی نولئوتید CA در ژن PIK3CA و ارتباط آن با سرطان می‌باشد. در این مطالعه پلی‌مورفیسم ریز ماهواره دو نوکلئوتید CA در اینترون ۱ ژن PIK3CA بین بیماران سرطان پستان و افراد سالم تعیین و ارتباط بین تکرارهای CA با سرطان پستان مورد بررسی قرار می‌گیرد.

روش بررسی: پژوهش حاضر یک مطالعه مورد شاهدی بود که بر روی ۲۰۰ زن مبتلا به سرطان پستان و ۲۰۰ زن سالم انجام شد. پس از استخراج DNA از خون افراد مورد مطالعه، توالی موردنظر توسط تکنیک PCR تکثیر گردید و نمونه‌هایی با اندازه‌های متفاوت تعیین توالی شدند و به عنوان مارکر مورد استفاده قرار گرفتند. تعداد تکرار CA و توالی آن بوسیله الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریل در مقایسه با مارکرهای تعیین توالی شده به دست آمد.

یافته‌ها: پنج طول متفاوت از تکرار CA بین ۱۰ تا ۱۴ تکرار و ۱۰ ترکیب آللی (ژنوتیپ) مختلف در بین بیماران و افراد کنترل مشاهده شد. بیشترین فراوانی آللی در میان افراد بیمار و کنترل مربوط به آلل ۱۳ تکرار بود. زنانی که حامل یک آلل یا دو آلل کوچک‌تر از ۱۳ تکرار CA باشند به طور معنا داری ($P=0.03$) در خطر فرایندهای برای ابتلا به سرطان پستان قرار دارند ($OR=2.05$). بیشترین خطر ابتلا به سرطان برای حاملین کوچک‌ترین آلل (CA10) با نسبت افزاینده ۴/۲۶ است ($OR=4.26$, $P=0.006$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که بین تعداد توالی تکراری اینترون ۱ ژن PIK3CA و خطر ابتلا به سرطان پستان رابطه مستقیمی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز، میکروستلایت CA، سرطان پستان.

* نشانی نویسنده پاسخگو: اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، منوچهر توسلی.

نشانی الکترونیک: manoochehr@biol.ui.ac.ir

مکمل در اینترون خود می‌باشند (۱۳، ۱۴ و ۱۵). در سال Lim ۲۰۱۱ و همکارانش بین خذف اگزون ۵ در ژن-۷ Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma kit viral oncogene homolog (KIT) تکراری دو نوکلئوتید AT در اینترون‌های ۵ و ۴ پیوستگی [LOD (logarithm of odds)=11/8] کامل نشان دادند [۷]. از طرف دیگر توالی‌های تکراری با قرار گرفتن در توالی‌های افزایش‌دهنده (Enhancers) و تغییر در ساختار DNA می‌توانند در میزان بیان ژن تاثیرگذار باشد (۱۶). در اینترون ۱ ژن PIK3CA و خطر ابتلا به سرطان پستان با برسی بیوانفورماتیکی ژن PIK3CA دو ناحیه از تکرارهای دو نوکلئوتیدی GT و CA در اینترون ۱ این ژن مشاهده شد که الگوی پراکندگی، تنوع و فراوانی آلل‌های این دو ناحیه از ژن PIK3CA تا کنون مورد بررسی قرار نگرفته بود. در این مطالعه پلی‌مورفیسم ریز ماهواره CA در اینترون ۱ این ژن و ارتباط آن با سرطان پستان در جمعیت بیماران بیمارستان حضرت سیدالشهدا شهر اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری خون از ۲۰۰ زن مبتلا به سرطان پستان و ۲۰۰ زن سالم در سنین بین ۳۰-۷۴ سال، در واحد نمونه‌گیری بیمارستان حضرت سیدالشهدا شهر اصفهان انجام شد و برای انجام این مطالعه مورد شاهدی مورد آزمایش قرار گرفتند. زنان بیمار مورد مطالعه در بیمارستان سید الشهداء اصفهان تحت شیمی‌درمانی یا پرتو درمانی بودند و گروه کنترل از بین زنانی که برای بررسی سلامتی خود به این بیمارستان مراجعه کرده بودند و به صورت متناسب با گروه مورد انتخاب شد. خون تام از بیماران و افراد شاهد با رضایت کامل افراد به صورت کتبی، از آنها گرفته شد. اطلاعات مربوط به سن شروع بیماری و سابقه فامیلی ابتابه سرطان (در خویشاوندان درجه یک و دو) از پرونده افراد مورد مطالعه استخراج شد. از نمونه خون افراد مورد مطالعه DNA به روش رسوب‌دهی نمکی (Salting out) استخراج شد و ناحیه اینترون ۱ ژن PIK3CA توسط پرایمرهای پیشرو ۳' CAGCACAGACATGCACATGCGCG و پیرو ۳' GTAATATGAATGACAATGCGAGTC Primer3Plus تکثیر شد. پرایمرها با کمک سایت اینترنتی

مقدمه

بر اساس داده‌هایی نهاد تخصصی سازمان جهانی بهداشت در فرانسه درباره ۲۸ نوع سرطان در ۱۸۴ کشور دنیا در سال ۲۰۱۲، بعد از سرطان ریه (یک میلیون و ۸۰۰ هزار نفر، ۱۳٪ در مجموع)، سرطان پستان شایع‌ترین سرطان (یک میلیون و ۷۰۰ هزار نفر، ۱۱٪ در مجموع) است (۱). علت واقعی بروز سرطان پستان و تعداد دقیق ژن‌هایی که در جمعیت‌های مختلف باعث خطر ابتلا به سرطان پستان می‌شوند، مشخص نیست. به هم خوردن تنظیم مسیر انتقال پیام گیرنده‌های تیروزین کیناز (RTKs) در سرطان پستان رایج است. در میان مهم‌ترین وقایع مولکولی پایین دست فعل شدن RTK‌ها، فال شدن فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز (PI3K) می‌باشد (۳،۲). PI3K یکی از اعضای خانواده لیپید کینازها است که کاتالیز کننده فسفولیاسیون فسفاتیدیل اینوزیتول ۵،۴ بیس-فسفات (PIP2) در موقعیت کربن شماره ۳ و تولید پیامبر ثانویه به نام فسفاتیدیل اینوزیتول ۵،۴،۳ تری فسفات (PIP3) می‌باشد (۴). این لیپیدهای فسفولیله شده هدف‌های پایین دست متنوعی رافعال می‌کند از جمله پروتئین کیناز B (PKB) که تنظیم کننده طیف گسترده‌ای از فرایندهای مهم سلولی از جمله تکثیر سلولی، ترانسفورماسیون، چسپندگی سلولی، آپوپتوز، بقا، جنبش سلولی و ترافیک داخل سلولی پروتئین‌های است (۵). زیر واحد کاتالیتیکی آلفا بوسیله ژن فسفوتیدیل اینوزیتول (۴،۵) بیس فسفات (PIK3CA) کد می‌شود. مطالعات اخیر جهش‌های ژن PIK3CA را در سرطان‌های مختلف از جمله سرطان پستان نشان داده‌اند (۷،۶). بعد از ژن سرکوب‌کننده تومور TP53، ژن PIK3CA فراوان‌ترین ژن جهش یافته در سرطان پستان است (۹،۸). جهش‌های فعل کننده ژن PIK3CA و افزایش بیان پروتئین PIK3CA یکی از وقایع آغازی در سرطان پستان به نظر می‌رسد که در ابتداء تومور نقش بازی می‌کند ولی نه در مراحل تهاجمی تومور (۱۰). تکرارهای دو نوکلئوتیدی رایج‌ترین تکرارهای ساده پراکنده در ژنوم می‌باشند و اغلب توالی‌های تکراری بلند طول‌های متفاوتی نشان می‌دهند. تحقیقات نشان داده است که تکرارهای دو نوکلئوتیدی می‌توانند در کاهش یا افزایش بیان ژن موثر باشند (۱۱،۱۲). ۸٪ از ژن‌هایی که دارای پیرایش جایگزین هستند دارای جفت تکرارهای

در جمعیت مورد مطالعه، تعیین شد. در نهایت ارتباط این تکرارها با بروز سرطان در جمعیت به کمک آزمون X^2 و رگرسیون لجستیک محاسبه شد.

یافته‌ها

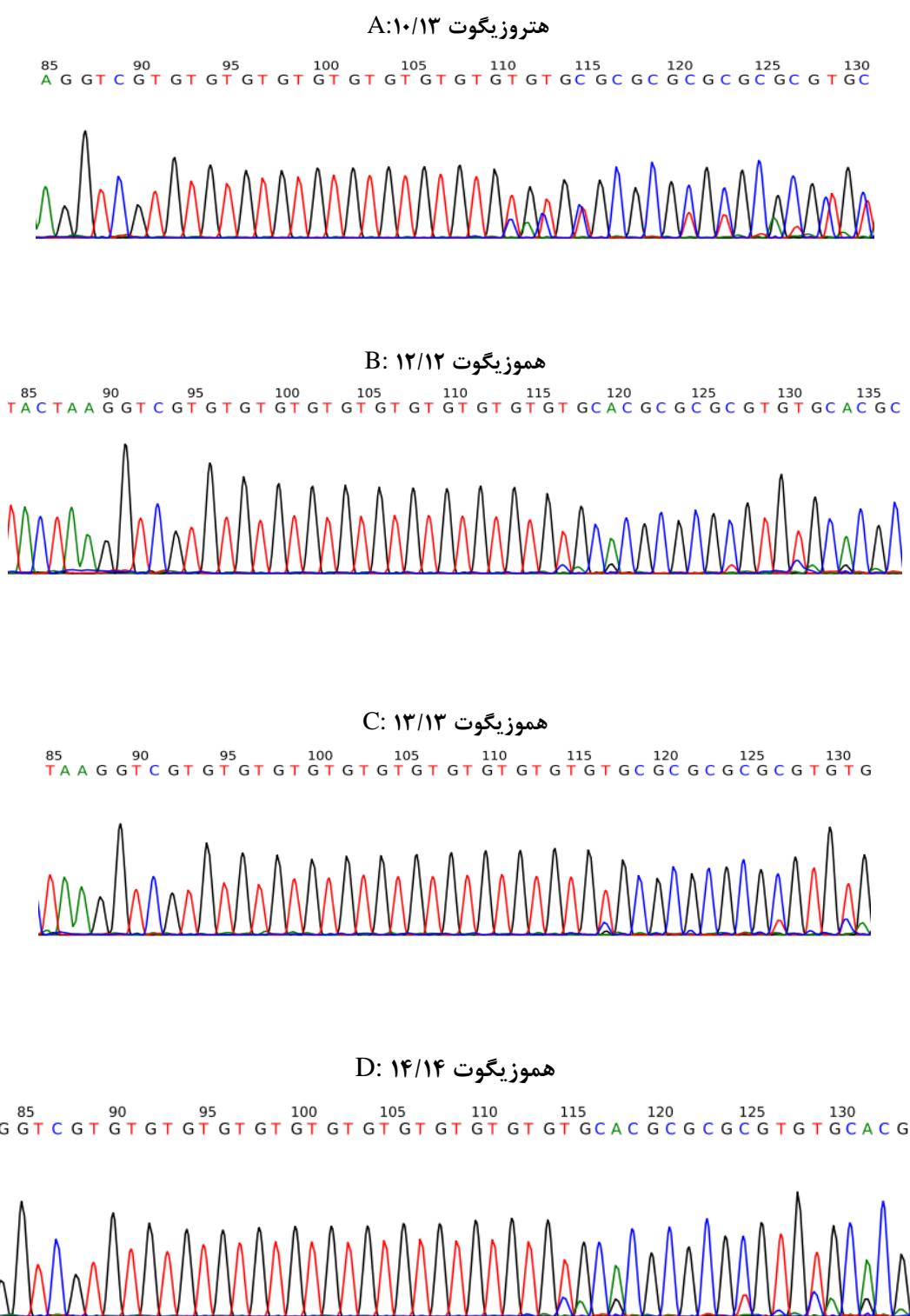
همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده، پراکندگی تکرار آللی CA ژن PIK3CA در جمعیت زنان اصفهان بین ۱۴ تا ۱۰ بود. آلل ۱۳ تکرار بیشترین فراوانی آللی را در میان افراد بیمار ($78/5\%$) و شاهد ($84/25\%$) دارد. در مقایسه با افراد شاهد، فرکانس آلل‌های کوتاه ۲۰ تا ۱۰ تکرار (آل‌های S) در افراد بیمار بیشتر بود، محاسبات آماری به کمک آزمون X^2 و نسبت شانس (Odds Ratio) توسط آزمون رگرسیون نشان می‌دهد که این افراد بطور معنی‌داری بیشتر در خطر ابتلا به سرطان پستان هستند ($P=0.003$, $OR=20.5$) و بیشترین خطر ابتلا به سرطان پستان برای حاملین آلل ۱۰ تکرار است، نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که این افراد نسبت به افرادی که حامل آلل‌های دیگری (غیر از ۱۰) هستند $4/26$ مرتبه بیشتر در خطر ابتلا به سرطان پستان می‌باشند ($OR=4/26$, $P=0.006$). اختلاف قابل ملاحظه‌ای در توزیع آلل‌های بلند ۱۴ و ۱۳ بین افراد شاهد و بیمار وجود ندارد ولی بعلت اختلاف موجود بین آلل‌های کوتاه این اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهد ($OR=0.48$, $P=0.0038$). به عبارت دیگر افرادی که حامل آلل‌های بلند هستند نسبت به افراد حامل آلل‌های کوتاه، کمتر به سرطان مبتلا می‌شوند.

در جدول ۲، توزیع میزان فراوانی هر ترکیب آللی در بین بیماران و افراد کنترل خلاصه شده است. در افراد تحت بررسی ۱۰ ترکیب آللی (زنوتیپ) مختلف مشاهده شد. ترکیب آللی $13/13$ بیشترین فراوانی را در بیماران ($70/5\%$) و افراد کنترل ($78/0\%$) دارد.

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری در توزیع ترکیبات آللی شامل دو آلل کوچکتر از ۱۳ (SS) در بیماران و افراد شاهد وجود دارد و زنانی که حامل دو آلل SS باشند $2/5$ مرتبه بیشتر در خطر ابتلا به سرطان پستان هستند ($OR=2/56$, $P=0.003$).

طراحی شدند (۲۴). واکنش زنجیره پلی‌مراز در حجم نهایی 50 میکرولیتر حاوی $50-100$ نانوگرم DNA ژنومی، 200 میکرو مولار dNTPs، 100 نانومولار از هر $MgCl_2$ یک از پرایمرهای پیشرو و پیرو، $1/5$ میلی مولار $2/5$ میکرولیتر از $10X$ بافر PCR و دو واحد آنزیم Smar Tag DNA polymerase از شرکت سینا ژن خریداری شد) در دستگاه PCR از شرکت ژاپنی TAKARA انجام شد. بعد از واشرست شدن اولیه در 94 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه، 33 سیکل PCR با دمای 94 درجه به مدت 1 دقیقه برای واشرست شدن رشتلهای 53 درجه به مدت 1 دقیقه جهت اتصال پرایمرها و 72 درجه به مدت 1 دقیقه برای گسترش پرایمرها انجام شد. یک سیکل انتهایی 10 دقیقه‌ای در دمای 72 درجه جهت جهت تکثیر توالی‌های ناقص در نظر گرفته شد. محصولات حاصل از واکنش زنجیره پلی‌مراز بعد از بهینه‌سازی توسط ژل آگاراز $\%$ تایید شد. با توجه به توانایی کم ژل آگاراز در جداسازی، برای اندازه‌گیری دقیق تعداد تکرارهای توالی CA اینترون یک ژن PIK3CA بررسی‌های بعدی محصول PCR بر روی ژل آکریل آمید $\%10$ معمولی (PAGE denaturing نیترات نقره رنگ‌آمیزی و نتایج توسط اسکر ثبت شد. بعد از مشاهده پلی‌مورفیسم 4 نمونه هتروزاگوت و 2 نمونه هموزاگوت مشاهده شده در ژل‌های رنگ‌آمیزی شده که شامل 6 آلل بودند، توسط کیت استخراج DNA از ژل آگاراز فرمنتاز خالص سازی شدند. سپس جهت تعیین توالی به روش سنگر در کشور آلمان به شرکت سیناکلون تهران ارسال تا به عنوان مارکر آللی مورد استفاده قرار گیرند (شکل ۱).

به کمک این مارکرهای طول تکرار آلل‌های بیمار و شاهد تعیین و فراوانی آللی تکرار CA در ژن PIK3CA محاسبه شد. با توجه به تعداد ترکیبات آللی، آلل‌ها در دو گروه کوتاه تر از 13 تکرار (S) و مساوی یا بلندتر از 13 تکرار (L) و ترکیبات آللی در سه گروه SS و LL و SL تقسیم شدند. پس از ورود اطلاعات جمع‌آوری شده بررسی‌های آماری به کمک نرمافزار SPSS V20 انجام شد. ابتدا فراوانی ترکیبات آللی و آلل‌های ژن PIK3CA



شکل ۱: نتایج حاصل از تعیین توالی ناحیه تکراری CA ژن PIK3CA با ژنتیپ‌های مختلف. تعیین توالی با استفاده از پرایمر برگشت صورت گرفته و بهمین جهت توالی رشته مکمل CA نشان داده می‌شود (A-D).

جدول ۱: توزیع فراوانی آلل‌های مختلف تکرار CA در ناحیه اینترون ۱ زن PIK3CA و ارتباط آنها با خطر ابتلا به سرطان پستان (n=۴۰۰)

P-value	OR (95% CI)	بیمار		تکرار CA
		کنترل	تعداد (درصد)	
		تعداد	تعداد (درصد)	
.۰/۰۰۶	۴/۲۶ (۱/۴۰-۱۲/۹۸)	۴(۱/۰)	۱۶(۴/۰)	۱.(CA)
.۰/۲۶	۱/۸۸(.۰/۶۸-۵/۱۹)	۶(۱/۵)	۱۱(۲/۷۵)	۱۱(CA)
.۰/۲۴	۱/۴۹(.۰/۷۶- ۲/۹۲)	۱۶(۴/۰)	۲۳(۵/۷۵)	۱۹(CA)
.۰/۰۰۳۸	۲/۰۵(۱/۲۵- ۳/۳۷)	۲۶(۶/۵)	۵۰(۱۲/۵)	مجموع S
.۰/۰۳۶۷	۰/۶۸(.۰/۴۷ - ۰/۹۸)	۳۳۷(۸۴/۲۵)	۳۱۴(۷۸/۵)	۱۳(CA)
.۰/۱	۰/۹۶ (.۰/۵۸- ۱/۶۱)	۳۷(۹/۲۵)	۳۶(۹/۰)	۱۴(CA)
.۰/۰۰۳۸	۰/۴۸(.۰/۲۹- ۰/۸۰)	۳۷۴(۹۳/۵)	۳۵۰(۸۷/۵)	مجموع L

S: آلل‌هایی که تعداد تکرار CA آنها کمتر از ۱۳

L: آلل‌هایی که تعداد تکرار CA آنها مساوی یا بزرگتر از ۱۳

جدول ۲: توزیع فراوانی انواع ترکیبات آللی مشاهده شده در اینترون ۱ زن PIK3CA در دو گروه بیمار و شاهد (n=۴۰۰)

آلل/آلل	بیمار		ژنتیپ
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
	کنترل	بیمار	
۱۰/۱۰	۴(۲/۰)	۴(۲/۰)	
۱۰/۱۲	۳(۱/۵)	۳(۱/۵)	
۱۱/۱۱	۵(۲/۵)	۵(۲/۵)	SS
۱۲/۱۲	۵(۲/۵)	۵(۲/۵)	
۱۷/۸/۵	۱۷(۸/۵)	۷(۳/۵)	SS
۱۰/۱۳	۵(۲/۵)	۱(۰/۵)	
۱۱/۱۳	۱(۰/۵)	۲(۱/۰)	LS
۱۲/۱۳	۱۰(۵/۰)	۹(۴/۵)	
۱۶/۸/۰	۱۶(۸/۰)	۱۲(۶/۰)	LS
۱۳/۱۳	۱۴۱(۷۰/۵)	۱۵۶(۷۸/۰)	
۱۳/۱۴	۱۶(۸/۰)	۱۳(۶/۵)	LL
۱۴/۱۴	۱۰(۵/۰)	۱۲(۶/۰)	
۱۶۷(۸۳/۵)	۱۸۱(۹۰/۵)		LL

S: آلل‌هایی که تعداد تکرار CA آنها کمتر از ۱۳

L: آلل‌هایی که تعداد تکرار CA آنها مساوی یا بزرگتر از ۱۳

جدول ۳: نتایج ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف تکرار CA در اینتررون ۱ ژن PIK3CA با خطر ابتلا به سرطان پستان

P value	OR (95% CI)	بیمار		ژنوتیپ
		کنترل	تعداد(درصد)	
۰/۰۳	۲/۵۶ (۱/۰۴- ۶/۳۲)	۷(۳/۵)	۱۷(۸/۵)	SS
۰/۰۳۷	۰/۵۳(۰/۲۹- ۰/۹۷)	۱۸۱(۹۰/۵)	۱۶۷(۸۳/۵)	LL
۰/۱۷	۴/۰۶(۰/۴۵- ۳۶/۶۶)	۱(۱/۵)	۴(۲/۰)	۱/(CA), (CA)
۰/۱	۵/۱۰(۰/۰۵۹- ۴۴/۰/۷)	۱(۰/۵)	۵(۲/۵)	۱/(CA), (CA)

آل (S) (Short): آلل‌هایی که تعداد تکرار GT آنها مساوی و یا کمتر از ۱۳
آل (L) (Large): آلل‌هایی که تعداد تکرار GT آنها بزرگتر از ۱۴

بحث

صلیبی DNA در این نواحی شود (۲۳). علاوه بر این توالی‌های تکراری به طور اختصاصی با یک فراوانی بالا در ژنوم یوکاریوتی در اطراف نواحی پرموموتور و عنصر رونویسی قرار می‌گیرند و نشان داده شده است که تعدادی از وقایع زیستی از قبیل همانندسازی DNA، نوترکیبی در جایگاه خاص و رونویسی درگیر هستند (۲۳).

مطالعات مختلف حاکی از تاثیر توالی‌های تکراری دو نوکلئوتیدی CA/GT واقع در اینتررون ۱ تعدادی از ژن‌ها بر روی بیان آنها است (۲۶، ۲۵) و در بیشتر مطالعات پیشین مشخص شده است که فراوانی تکرارهای دو تایی و بیان ژن به شکلی معکوس با هم مرتبط می‌باشد و تکرارهای بلند CA/GT تاثیر منفی بر رونویسی داشته که این اثر منفی با افزایش طول تکرارها بیشتر می‌شود (۲۸، ۲۷)، فرضیه‌ای که نتایج بدست آمده از این تحقیق PIK3CA نیز از آن حمایت می‌کند. از آنجایی که ژن CA نقش آنکوئنی در سرطان‌ها ایفا می‌کند، افزایش تعداد تکرارهای CA در اینتررون ۱ احتمالاً منجر به کاهش بیان آن شده و منجر به نقش محافظت کننده‌ی آلل‌های بلند تکرارهای CA اینتررون ۱ ژن PIK3CA در برابر سرطان پستان می‌شود. بر عکس آلل‌های کوتاه احتمالاً باعث افزایش بیان و در نتیجه افزایش خطر ابتلا به سرطان می‌شوند.

به طور خلاصه نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که ال‌های کوتاه تکرار CA واقع در ژن PIK3CA، ممکن است با خطر افزایش یافته ابتلا به سرطان پستان مرتبط باشند.

مسیر انتقال پیام PI3K یکی از مهم‌ترین مسیرهای انتقال پیام در سرطان است (۱۰-۱۶). مهار این مسیر انتقال پیام می‌تواند سبب توقف رشد سلولی شود. بنابراین اجزای این مسیر می‌توانند هدف مناسبی برای درمان سرطان باشند. تکرارهای دو نوکلئوتیدی چند شکلی در طول ژنوم به طور معمول وجود دارند و به طور گسترده‌ای به عنوان مارکرهای ژنتیکی استفاده می‌شوند. بعضی از تکرارهای دو نوکلئوتیدی نشان داده شده است که در تنظیم رونویسی ژن نقش عملکردی دارند (۱۴-۱۶). در این مطالعه پراکندگی و فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف توالی تکراری CA ژن PIK3CA در جمعیت بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان حضرت سیدالشهدا شهر اصفهان مشخص شد. نتایج این مطالعه نشان داد که آلل‌های کوچک S و ژنوتیپ‌های SS یک عامل خطر برای بروز سرطان محسوب می‌شوند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تکرارهای CA کوتاه‌تر ممکن است که نسبتاً اتصال پایدارتری نسبت به تکرارهای CA بلندتر با فاکتورهای هسته ایجاد کنند. در مطالعات قبلی که بر اساس سیستم *in vitro* و ژن‌های گزارشگر انجام شده بود ارتباط بین طول تکرارهای GT و بیان ژن در ژن‌های STAT6 (۲۰)، کلازن نوع یک انسانی a^2 (۲۰)، گیرنده هورمون رشد انسانی (۲۱) و ماتریکس متالو پروتئیناز ۹ (۲۲) نشان داده شده است. تاثیر این تکرارها در اتصال به پروتئین‌ها، فعالیت پرموموتور و تنظیم رونویسی می‌تواند با تغییر ساختارهای DNA از شکل B به فرم‌های H, Z یا

تشکر و قدردانی

در پایان از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه اصفهان جهت انجام این پژوهش، از کلیه بیماران محترم و خانم الهه جان‌ثماری به خاطر یاری ایشان در جمع‌آوری نمونه‌ها و کلیه افرادی که به صورت مادی و معنوی ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

مطالعات بیشتر روی جمعیت‌های مختلف و بررسی ارتباط این تکرارها با میزان بیان ژن PIK3CA برای تصدیق این ارتباط ژنتیکی مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که بین تعداد توالی تکراری CA/اینترنون ۱ ژن PIK3CA و خطر ابتلا به سرطان پستان رابطه مستقیمی وجود دارد. بنابراین شاید بتوان از این تکرار آللی به عنوان یک مارکر پیش‌آگاهی سرطان پستان استفاده نمود.

References

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed December 2013.
2. Miron A, Varadi M, Carrasco D, Li H, Luongo L, Kim HJ, Park SY, Cho EY, Lewis G, Kehoe S, Iglehart JD, Dillon D, Allred DC, Macconail L, Gelman R, Polyak K: PIK3CA mutations in situ and invasive breast carcinomas. *Cancer Res* 2010; 70: 5674-8.
3. Nout RA, Bosse T, Creutzberg CL, Jürgenliemk-Schulz IM, Jobsen JJ, Lutgens LC, van der Steen-Banasik EM, van Eijk R, Ter Haar NT, Smit VT. Improved risk assessment of endometrial cancer by combined analysis of MSI, PI3K-AKT, Wnt/β-catenin and P53 pathway activation. *Gynecol Oncol* 2012; 126(3): 466-73.
4. Huang W, Jiang D, Wang X, Wang K, Sims CE, Allbritton NL, Zhang Q. Kinetic analysis of PI3K reactions with fluorescent PIP2 derivatives. *Anal Bioanal Chem* 2011; 401(6): 1881-8.
5. Wells V, Mallucci L. Phosphoinositide 3-kinase targeting by the beta galactoside binding protein cytokine negates akt gene expression and leads aggressive breast cancer cells to apoptotic death. *Breast Cancer Res* 2009; 11(1): 1-10.
6. Zhao L, Vogt PK. Class I PI3K in oncogenic cellular transformation. *Oncogene* 2008; 27: 5486-96.
7. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457-81.
8. Saal LH, Holm K, Maurer M, Memeo L, Su T, Wang X, Yu JS, Malmström PO, Mansukhani M, Enoksson J, Hibshoosh H, Borg A, Parsons R. PIK3CA mutations correlate with hormone receptors, node metastasis, and ERBB2, and are mutually exclusive with PTEN loss in human breast carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65: 2554-9.
9. Stemke- Hale K, Gonzalez- Angulo AM, Lluch A, Neve RM, Kuo WL, Davies M, Carey M, Hu Z, Guan Y, Sahin A, Symmans WF, Pusztai L, Nolden LK, Horlings H, Berns K, Hung MC, van de Vijver MJ, Valero V, Gray JW, Bernard R, Mills GB, Hennessy BT. An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 6084-91.
10. Janku F, Wheeler JJ, Westin SN, Moulder SL, Naing A, Tsimerman AM, Fu S, Falchook GS, Hong DS, Garrido-Laguna I, Luthra R, Lee JJ, Lu KH, Kurzrock R. PI3K/AKT/mTOR inhibitors in patients with breast and gynecologic malignancies harboring PIK3CA

- mutations. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 20: 402-5.
11. Okladnova O, Syagailo YV, Tranitz M, Stöber G, Riederer P, Mössner R, Lesch KP. A promoter associated polymorph repeat modulates PAX6 expression in human brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 248: 402-5.
 12. Searle S, Blackwell JM. Evidence for a functional repeat polymorphism in the promoter of the human NRAMP1 gene that correlates with autoimmune versus infectious disease susceptibility. *J Med Genet* 1999; 36(4): 295-9.
 13. Rich A. DNA comes in many forms. *Gene* 1993; 135: 99-109.
 14. Lian Y, Garner HR. Evidence for the regulation of alternative splicing via complementary DNA sequence repeats. *Bioinformatics* 2005; 21(8): 1358-64.
 15. Hegyi H, Kalmar L, Horvath T, and Tompa P. Verification of alternative splicing variants based on domain integrity, truncation length and intrinsic protein disorder. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(4): 1208-19.
 16. Lim HT, Zhong T, Cho IC, Seo BY, Kim JH, Lee SS, Ko MS, Park HB, Kim BW, Lee JH, Jeon JT. Novel alternative splicing by exon skipping in KIT associated with whole-body roan in an intercrossed population of Landrace and Korean Native pigs. *Anim Genet* 2011; 42(4): 451-5.
 17. Heshmatpour N1, Hematti S, Hejazi SH, Safari F, Tavassoli M. Association between the lengths of GT dinucleotide repeat in the PIK3CA gene with breast cancer risk. *Med Oncol* 2014; 31(7): 29-33
 ۱۸. کمیته دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله. ششم مرداد ۱۳۹۲. <http://bmsusrc.ir/post/237>
 19. Gao PS, Heller NM, Walker W, Chen CH, Moller M, Plunkett B, Roberts MH, Schleimer RP, Hopkin JM, Huang SK. Variation in dinucleotide (GT) repeat sequence in the first exon of the STAT6 gene is associated with atopic asthma and differentially regulates the promoter activity in vitro. *J Med Genet* 2004; 41(7): 535-9.
 20. Li YC, Ross J, Scheppeler JA, Franzia BR Jr. An in vitro transcript ion analysis of early responses of the human immuno deficiency virus type I long terminal repeat to different transcriptional activators. *Mol Cell Biol. Mol Cell Biol* 1991; 11(4): 1883-93.
 21. Akai J, Kimura A, Hata RI. Transcript ion regulat ion of the human type I collagen a 2 (COLIA2) gene by the combination of two dinucleotide repe ats. *Gene* 1999; 239(1):65-73.
 22. Shimajiri S, Arima N, Tanimoto A, Murata Y, Hamada T, Wang KY, Sasaguri Y. Shor tened microsatellite d (CA) 21 sequence dow n-regulates prom oter activiy of matrix metallo proteinas e 9 gene. *FEBS Lett* 1999; 455(1-2): 70-4.
 23. Travers AA, Klug A. DNA topology and its biological effects. *Cold Spring Habor Laboratory Press* 1990; 11: 57-106.
 24. <http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>
 25. Weber JL, Wong C. Mutation of human short tandem repeats. *Human molecular genetics* 1993; 2(8), 1123-8.
 26. Hui J, Hung LH, Heiner M, Schreiner S, Neumüller N, Reither G, et al. Intronic CA-repeat and CA-rich elements: a new class of regulators of mammalian alternative splicing. *The EMBO journal* 2005; 24(11): 1988-98.
 27. Zhang W, He L, Liu W, Sun C, Ratain MJ. Exploring the relationship between polymorphic (TG/CA) n repeats in intron 1 regions and gene expression. *Human genomics* 2009; 3: 236.
 28. Levinson G, Gutman GA. High frequencies of short frameshifts in poly-CA/TG tandem repeats borne by bacteriophage M13 in Escherichia coli K-12. *Nucleic Acids Research* 1987; 15(13): 5323-38.