



## بررسی پلی مورفیسم Ala234Thr ژن SEPP1 در زنان مبتلا به سرطان پستان در استان گیلان

سمانه محمد دوست (MSc)<sup>۱</sup>، زیور صالحی (MD .PhD)<sup>۱\*</sup>، حمید سعیدی ساعدی (MD)<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

<sup>۲</sup> گروه انکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان رشت، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۲/۱۸ - پذیرش مقاله: ۹۶/۳/۱۳)

### چکیده

**زمینه:** سلنوپروتئین P (Sepp1) سلنوپروتئین عمده پلاسما بوده و بیش از ۵۰ درصد سلیونیوم پلاسما را در بر می گیرد. اثرات مستقیم و غیرمستقیم Sepp1 روی دفاع آنتی اکسیدانی می تواند مسئول نقش آن در ریسک سرطان باشد. یکی از پلی مورفیسم های رایج ژن SEPP1، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (rs3877899) Ala234Thr است که در ناحیه کدکننده ژن واقع می باشد. در این مطالعه، ارتباط پلی مورفیسم Ala234Thr ژن SEPP1 با سرطان پستان بررسی شد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه مورد - شاهدهی، ۱۶۲ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۲۲۷ فرد سالم با یکدیگر مقایسه شدند. DNA ژنومی از لوکوسیت های خون محیطی استخراج شد. تعیین ژنوتیپ DNA در پلی مورفیسم SEPP1 Ala234Thr توسط تکنیک واکنش زنجیره ای پلیمرز پلی مورفیسم طول قطعات - محدودشونده (PCR- RFLP) با استفاده از آنزیم MwoI انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار MedCalc و آنالیز مربع کای (χ<sup>۲</sup>) صورت گرفت.

**یافته ها:** از نظر فراوانی ژنوتیپی بین بیماران و افراد شاهد اختلاف معنی دار مشاهده شد. افراد هموزیگوت AA نسبت به سایرین در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان قرار داشتند (P=۰/۰۰۱، CI ۱/۷۹-۵/۸۴، OR=۳/۲۳، درصد، ۹۵).

**نتیجه گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه، پلی مورفیسم Ala234Thr ژن SEPP1، ممکن است با استعداد ابتلا به سرطان پستان در جمعیت زنان شمال ایران مرتبط باشد. اگرچه جهت تأیید این نتایج، لازم است مطالعاتی در جمعیت های بزرگ تر صورت گیرد.

**واژگان کلیدی:** استان گیلان، پلی مورفیسم، سرطان پستان، سلنوپروتئین، SEPP1, Ala234Thr

## مقدمه

سرطان پستان یک بیماری چند عاملی و رایج‌ترین نوع سرطان در بین زنان سراسر دنیاست (۱). بروز این بیماری در بین زنان ایرانی در حال افزایش است (۲). یکی از عواملی که می‌تواند در شروع و پیشرفت انواع سرطان‌ها و از جمله سرطان پستان نقش مهمی داشته باشد، استرس اکسیداتیو و سطوح بالای محصولات واکنشگر اکسیداتیو می‌باشد. قسمت عمده پستان از بافت چربی تشکیل شده است، بنابراین پراکسیداسیون لیپید در بافت پستان می‌تواند منجر به استرس اکسیداتیو شود (۳). برای جلوگیری از آسیب حاصل از استرس اکسیداتیو سلول‌ها دارای یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی هستند، این آنتی‌اکسیدان‌ها آسیب ایجاد شده به وسیله رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشگر اکسیژن (Ros) را خنثی می‌کنند (۴).

یک گروه از پروتئین‌هایی که در حفاظت سلول بر علیه آسیب‌های اکسیداتیو نقش دارند، سلنوپروتئین‌ها می‌باشند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی سلنوپروتئین‌ها به دلیل وجود باقی مانده سلنوسیتستین (Sec) در جایگاه فعال این پروتئین‌ها می‌باشد (۵). در واقع عنصر سلنیوم (se) که دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی است به شکل اسیدآمینو سلنوسیتستین در ساختار سلنوپروتئین درج می‌شود، و این عمل از طریق ترجمه کدون خاتمه UGA در mRNA سلنوپروتئین‌ها صورت می‌گیرد (۶ و ۷).

سلنوپروتئین P (Sepp1)، فراوان‌ترین سلنوپروتئین موجود در سرم بوده و سلنیوم را برای تولید سایر سلنوپروتئین‌ها به بافت‌های مختلف بدن عرضه می‌کند (۸). این سلنوپروتئین به عنوان یک بیومارکر مفید برای وضعیت سلنیوم بدن می‌باشد (۹). Sepp1 در ساختار پلی‌پتید خود ده باقی مانده سلنوسیتستین دارد و به دلیل ویژگی‌های فیزیکی غیرمعمول و متابولیک خود، در بین سایر سلنوپروتئین‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است (۱۰). ژن SEPP1 حدوداً ۱۲kb (و دارای ۷ اگزون بوده) و روی کروموزوم شماره ۵ واقع است (۱۱). Sepp1 در پلاسمای انسان، در تجزیه پراکسی‌نیتريت درگیر است و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان

خارج سلولی عمل می‌نماید (۱۲). بنابراین، می‌تواند به عنوان یک فاکتور حفاظتی مهم برای بافت‌های مختلف در معرض استرس اکسیداتیو عمل نماید (۱۳).

Ala234Thr (rs3877899) یک پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی رایج از ژن SEPP1 می‌باشد. در واقع این پلی‌مورفیسم یک تغییر A/G بوده و به یک تغییر آمینواسیدی آلانین - ترئونین در کدون ۲۳۴ منجر می‌گردد (۱۱). این پلی‌مورفیسم، نسبت ایزوفرم‌های Sepp1 در پلاسما را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به طوری که الل ماژور G با تولید ایزوفرم ۶۰ کیلو دالتونی (غنی از سلنیوم) مرتبط است، در حالی که الل A با تولید ایزوفرم ۵۰ کیلو دالتونی (سلنیوم پائین) مرتبط می‌باشد (۱۴). در واقع این پلی‌مورفیسم می‌تواند، بر میزان تحویل سلنیوم به بافت‌ها و در نتیجه تولید سایر سلنوپروتئین‌های با خاصیت آنتی‌اکسیدانی اثر بگذارد (۱۵).

ارتباط پلی‌مورفیسم Ala234Thr با خطر انواع مختلف سرطان (از جمله سرطان پستان، سرطان پروستات و سرطان کولورکتال)، در جمعیت‌های مختلف بررسی شده است. اطلاعات حاصل از برخی از این مطالعات نشان دادند که این پلی‌مورفیسم، عملکرد Sepp1 را تغییر داده و بنابراین می‌تواند خطر ابتلا به سرطان را افزایش دهد. در مطالعه‌ای که توسط مپلان (Meplan) و همکاران انجام شد، ارتباط بین این پلی‌مورفیسم و استعداد ابتلا به سرطان پستان گزارش شد به طوری که کاهش قابل توجهی در ریسک سرطان پستان در افراد با ژنوتیپ هموزیگوت AA پلی‌مورفیسم Ala234Thr مشاهده شد (۱۶).

تاکنون در ایران هیچ مطالعه‌ای در خصوص بررسی پلی‌مورفیسم‌های سلنوپروتئین Sepp1 در رابطه با سرطان پستان صورت نگرفته بود. با در نظر گرفتن اهمیت آسیب اکسیداتیو در ایجاد و پیشرفت سرطان پستان و با توجه به عملکرد مهم Sepp1 در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، تحقیق حاضر با هدف بررسی نقش پلی‌مورفیسم Ala234Thr ژن SEPP1 در سرطان پستان، در جمعیتی از زنان استان گیلان انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از دو گروه بیمار و کنترل نمونه خون تهیه شد. گروه بیمار شامل ۱۶۲ زن مراجعه کننده به بیمارستان رازی رشت بودند که سرطان پستان در آنها توسط پزشک متخصص تشخیص داده شده بود. این نمونه‌ها از مرداد ماه ۹۳ تا بهمن ماه ۹۴ به مدت ۱۶ ماه جمع‌آوری شد. گروه کنترل نیز شامل ۲۲۷ زن سالم بود (که برای ارزیابی سلامتی خود به آزمایشگاه بیمارستان رازی مراجعه کرده بودند) و در رده سنی افراد بیمار انتخاب شدند (از آنجا که گروه بیمار بالای ۳۰ سال بودند زنان بالای ۳۰ سال به عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند). زنان گروه کنترل عاری از هرگونه سرطان و غیر خویشاوند با زنان بیمار بودند. زنان غیر بومی و زنانی که علاوه بر سرطان پستان به انواع دیگر سرطان مبتلا بودند از مطالعه حذف شدند. قبل از دریافت رضایت‌نامه از افراد مورد بررسی، اطلاعات لازم در خصوص ماهیت پژوهش در اختیار آنان قرار داده شد. سپس مشخصات این افراد در قالب پرسشنامه کوتاهی (شامل سن، سابقه شیردهی، سابقه خانوادگی سرطان پستان و درمان جایگزینی هورمون) جمع‌آوری شد. اطلاعات پاتوبیولوژیکی نمونه‌ها (شامل بافت‌شناسی، درگیری غدد لنفاوی و وضعیت گیرنده‌های هورمونی) از پرونده پزشکی بیماران استخراج شد. این پژوهش (با کد ۷۳۴۴ تاریخ ۱۳۹۳/۳) در دانشگاه گیلان تصویب شد.

DNA ژنومی با استفاده از کیت GPP-Solution (شرکت ژن پژوهان، تهران، ایران) از ۱ میلی‌لیتر خون استخراج شد. به منظور بررسی کیفی DNA استخراج شده از روش الکتروفورز افقی روی ژل آگارز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید استفاده شد. ولتاژ ۹۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه برقرار شده و آشکارسازی باندها با استفاده از نور UV و در دستگاه Gel Documentation (محصول شرکت بایورد، کالیفرنیا، آمریکا) صورت گرفت.

جهت تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم Ala234Thr ژن SEPP1 از تکنیک PCR-RFLP استفاده شد. پرایمرهای مورد استفاده توسط نرم‌افزار Oligo7 ویرایش ۷/۴۵

طراحی شدند (Accession number :DQ022288.1) توالی این پرایمرها به صورت F:5'-TAGGAGCCAACCTCTGAATCTGT-3' و R: 5'-GTTGAAACTCCATCGCCTCA-3' می‌باشد. محصول واکنش PCR قطعه‌ای به طول ۳۰۱ جفت باز است که شامل ناحیه پلی‌مورف مورد نظر می‌باشد.

حجم کلی هر واکنش PCR، ۲۵ میکرولیتر و متشکل از ۲۵ نانوگرم DNA ژنومی، ۰/۵ میلی‌مولار از هر یک از آغازگرهای مستقیم و معکوس (محصول شرکت فزایپروه، تهران، ایران)، کیت PCR محصول شرکت سیناژن و آب استریل دوبار تقطیر بود. برنامه PCR با واسرشته سازی اولیه ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۴ °C، ۳۵ سیکل با واسرشته سازی در دمای ۹۴ °C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال ۵۷ °C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۷۲ °C به مدت ۴۵ ثانیه و در نهایت ۷۲ °C به مدت ۵ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر تنظیم شد. محصول PCR تحت تیمار با آنزیم MwoI در دمای ۳۷ °C و به مدت ۳ ساعت قرار گرفت. سپس محصولات حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد و آشکارسازی باندها در دستگاه Gel Documentation انجام شد. برای بررسی صحت ژنوتایپینگ، ۵ درصد از نمونه‌ها به طور تصادفی انتخاب و مجدداً تعیین ژنوتیپ شدند، نتایج حاصله کاملاً مطابق با نتایج اولیه بود.

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MedCalc ویرایش ۱۲/۱، انجام شد. تفاوت توزیع ژنوتیپی و اللی بین جمعیت بیمار و کنترل از طریق آزمون‌های آماری  $\chi^2$  (Chi-Square) تعیین شد. همچنین جهت اندازه‌گیری میزان خطر بیماری برای هر ژنوتیپ و هر ال، مقادیر Odds Ratio (OR) و بازه اطمینان ۹۵ درصد نیز محاسبه شد.

## یافته‌ها

جمعیت مورد مطالعه در این پژوهش شامل ۱۶۲ زن مبتلا

هورمون) وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). ویژگی‌های افراد بیمار و کنترل در جدول ۱ نشان داده شده است.

به سرطان پستان و ۲۲۷ زن سالم بود. تفاوت معناداری بین دو گروه بیمار و کنترل در ارتباط با فاکتورهای خطر (شامل سن، سابقه شیردهی، سابقه خانوادگی و درمان جایگزینی

جدول ۱) ویژگی‌های کلینیکی و آسیب‌شناسی افراد گروه سالم و کنترل				
p.value	کنترل	بیمار	ویژگی	
۰/۱۴	۸۹	۵۱	سن	
	۱۳۸	۱۱۱	<۴۵	≥۴۵
۰/۳۲	۱۴۹	۱۱۵	سابقه شیردهی	
	۷۸	۴۷	بله	خیر
۰/۹۳	۹	۷	سابقه خانوادگی سرطان پستان	
	۲۱۸	۱۵۵	بله	خیر
۰/۰۷	۱۶	۲۱	سابقه درمان جایگزینی هورمون	
	۲۱۱	۱۴۱	بله	خیر
	-	۱۳۷	بافت شناسی	
	-	۱۸	مجربایی	غیرمجربایی
	-	۹۳	متاستاز به غده لنفاوی	
	-	۴۲	مثبت	منفی
	-	۸۷	گیرنده	
	-	۳۷	مثبت	منفی
* به علت عدم دسترسی به پرونده پزشکی برخی از بیماران و نیز فقدان اطلاعات مربوطه در برخی موارد، تعداد افراد کل در این جدول متفاوت است.				

میزان اثر هر ژنوتیپ بر خطر سرطان پستان به کمک آزمون odds Ratio محاسبه شد. آنالیز آماری نشان داد که افراد دارای ژنوتیپ AA تقریباً ۳/۲ برابر بیشتر از افراد با ژنوتیپ GG در معرض خطر ابتلا به سرطان پستان بودند ( $p=0.001$ ;  $OR=3.23$ ، درصد،  $CI$  ۱/۷۹-۵/۸۴،  $p=0.001$ ). همچنین، هتروزیگوت‌های AG یک خطر افزایش یافته برای ابتلا به سرطان پستان نشان دادند ( $P=0.002$ ;  $OR=3.8$ ، درصد،  $CI$  ۱/۳۳،  $OR=2.26$ ). در گروه بیمار، فراوانی الل A و G به ترتیب ۶۵/۴۳ درصد، ۳۴/۵۷ درصد و در گروه کنترل به ترتیب ۸۲/۶، ۱۷/۴ درصد بود. در توزیع اللی نیز بین دو گروه بیمار و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود داشت به طوری که فراوانی الل A در جمعیت بیمار بیشتر بود.  $\chi^2=29.16$  با سطح معنی‌دار  $p<0.0001$  به دست آمد. محاسبه آماری نشان داد که در صورت وجود

بررسی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی Ala234Thr ژن SEPP1 توسط روش PCR-RFLP انجام شد. در حضور الل A، جایگاه برش برای آنزیم قابل شناسایی نبوده و برشی صورت نمی‌گیرد. بنابراین پس از واکنش RFLP، مشاهده قطعه کامل ۳۰۱ جفت بازی بیانگر الل A و مشاهده قطعات 198bp و 103bp بیانگر الل G بود (شکل ۱).

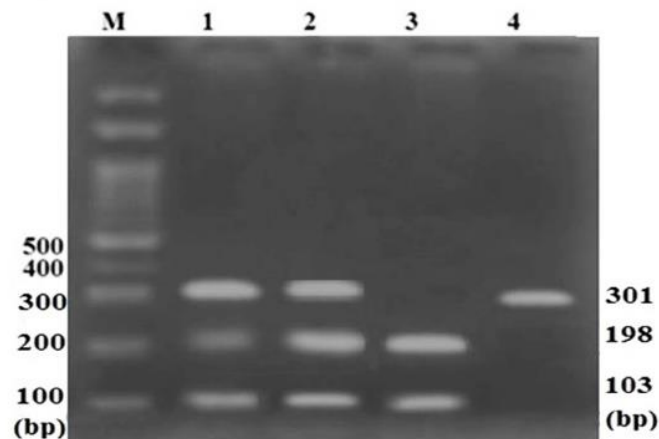
فراوانی ژنوتیپ‌های GG و AG و AA در گروه بیمار به ترتیب ۵۳/۰۹ و ۲۴/۶۹ و ۲۲/۲۲ درصد و در گروه کنترل به ترتیب ۷۴/۸۹ و ۱۵/۴۲ و ۹/۶۹ درصد بود. تفاوت ژنوتیپی میان دو گروه بیمار و کنترل با استفاده از آزمون  $\chi^2$  بررسی شد،  $\chi^2=21$  با سطح معنی‌دار  $p<0.0001$  به دست آمد. از آنجایی که در توزیع ژنوتیپی بین دو گروه بیمار و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود داشت،

SEPP1 و اثر هریک از آنها بر سرطان پستان در جدول ۲ آورده شده است.

الل A (Thr)، ریسک سرطان پستان افزایش می‌یابد (OR=۲/۵۱، CI ۱/۸-۳/۵، p<۰/۰۰۰۱). فراوانی‌های ژنوتیپی و اللی پلی مورفیسم Ala234Thr ژن

جدول ۲) فراوانی ژنوتیپی و اللی مشاهده شده در ژن SEPP1 و میزان اثر هر ژنوتیپ و الل بر بروز بیماری					
P.value	OR CI /۹۵	کنترل‌ها تعداد (درصد)	بیماران تعداد (درصد)		
-	(Ref)۱/۰۰	(۷۴/۸۹)۱۷۰	(۵۳/۰۹)۸۶	GG	ژنوتیپ‌ها
۰/۰۰۲	(۱/۳۳-۳/۸)۲/۲۶	(۱۵/۴۲)۳۵	(۲۴/۶۹)۴۰	GA	
۰/۰۰۱	(۱/۷۹-۵/۸۴)۳/۲۳	(۹/۹۶)۲۲	(۲۲/۲۲)۳۶	AA	
<۰/۰۰۰۱	(۱/۷۱-۴/۰۵)۲/۶۳	(۲۵/۱۱)۵۷	(۴۶/۹۱)۷۶	AA AG	
<۰/۰۰۰۱	(Ref)۱/۰۰	(۸۲/۶)۳۷۵	(۶۵/۴۳)۲۱۲	G	آلل‌ها
	(۱/۸-۳/۵)۲/۵۱	(۱۷/۴)۷۹	(۳۴-۵۷)۱۱۲	A	

سایر ژنوتیپ‌ها نسبت به ژنوتیپ GG سنجیده شدند.



شکل ۱) محصول واکنش هضم آنزیمی با آنزیم *MwoI* روی ژل آگارز ۲ درصد. DNA مارکر. نمونه ۱ و ۲ ژنوتیپ AG، نمونه ۳ ژنوتیپ GG و نمونه ۴ ژنوتیپ AA را نشان می‌دهد

## بحث

ژن‌های کدکننده سلنوپروتئین‌ها، از طریق مکانیسم‌های حفاظت سلول، استعداد ابتلا به سرطان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱۷). در پژوهش حاضر، اثر پلی مورفیسم Ala234Thr ژن SEPP1 بر خطر سرطان پستان در جمعیتی از زنان استان گیلان ارزیابی شد. بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه، افراد داری ژنوتیپ AA و AG در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان بودند، در حقیقت افراد با داشتن حداقل یک الل A خطر

در مجموع آنالیزهای آماری نشان داد که در جمعیت مورد مطالعه، پلی مورفیسم rs3877899 ژن SEPP1 می‌تواند به عنوان فاکتور خطر برای سرطان پستان در نظر گرفته شود. تاکنون، بررسی‌های محدودی بر روی واریانت‌های ژنتیکی پلی مورفیسم‌های ژنتیکی سلنوپروتئین‌ها در ارتباط با سرطان پستان انجام شده است. با توجه به مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر، برخی از واریانت‌های ژنتیکی عملکردی در

مطالعه تنها یک SNP عملکردی بررسی شده و برهم کنش‌های محیط-ژن مورد بررسی قرار نگرفته است. از آنجاییکه استعداد ابتلا به سرطان پستان می‌تواند توسط تعاملات بین چندین پلی‌مورفیسم و نیز تعاملات بین پلی‌مورفیسم‌ها و محیط تحت تأثیر قرار گیرد و نیز با توجه با اینکه فراوانی ال‌های SNP در جمعیت‌های مختلف متفاوت می‌باشد بنابراین نیاز است که این مطالعه در سایر جمعیت‌ها به همراه بررسی سایر تنوعات ژن SEPP1 اجرا شود.

### نتیجه‌گیری

به‌طورکلی بر اساس نتایج حاصل از این بررسی، ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم Ala234 ژن SEPP1 با سرطان پستان وجود داشت و احتمالاً ال‌A در این جایگاه پلی‌مورفیک به عنوان فاکتور خطر ژنتیکی در استعداد ابتلا به سرطان پستان در جمعیت مورد مطالعه مطرح می‌باشد. با در نظر گرفتن محدودیت‌های پژوهش حاضر از جمله اندازه کوچک جمعیت و باتوجه به اتیولوژی پیچیده این بیماری نیاز است که بررسی‌های بیشتر در جمعیت‌های بزرگ‌تر و همراه با فاکتورهای ژنتیکی و محیطی دیگر انجام شود تا یک نتیجه‌گیری دقیق و فراگیر به دست آید.

### سپاس و قدردانی

از دانشگاه گیلان بابت حمایت مالی قدردانی می‌گردد. نویسندگان مقاله از همه بیماران شرکت کننده در این پژوهش و همکاری کارکنان بخش انکولوژی بیمارستان رازی در تهیه نمونه‌ها تشکر می‌نمایند.

### تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

## References:

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012.

افزایش یافته نسبت به این بیماری نشان می‌دهند. پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی Ala234Thr که در ناحیه کدکننده از ژن واقع می‌شود، به‌طور بالقوه می‌تواند عملکرد پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد. در ضمن، برخی از مطالعات انجام شده، بر این امر دلالت دارند که این واریانت ژنتیکی باعث تغییر در متابولیسم سلنیوم در بافت‌های مختلف می‌شود و فعالیت سایر سلنوپروتئین‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۵). بنابراین ممکن است در افراد مختلف با توجه به نوع ال، این سلنوپروتئین کارایی متفاوتی داشته باشد. در نتیجه با توجه به نقش مهمی که SEPP1 در انتقال سلنیوم به سایر بافت‌ها برای تولید سایر آنتی‌اکسیدان‌ها دارد، عملکرد تغییر یافته آن می‌تواند با ریسک ابتلا به انواعی از سرطان‌ها از جمله سرطان پستان مرتبط باشد. اگر چه از چندین مطالعه انجام شده بر روی این پلی‌مورفیسم در جمعیت‌های مختلف و سرطان‌های مختلف، نتایج متفاوتی حاصل شده است. برخلاف نتایج حاصل از این پژوهش در مطالعه‌ای که میلان و همکاران انجام شد، کاهش قابل توجهی در ریسک سرطان پستان در افراد با ژنوتیپ هموزیگوت ترئونین (AA) برای پلی‌مورفیسم Ala234Thr ژن SEPP1 مشاهده شده است (۱۸). در پژوهش دیگری که توسط پلات (Pellat) و همکاران انجام شد، هیچ ارتباط معنی‌داری بین این پلی‌مورفیسم و ریسک سرطان پستان گزارش نشده است (۵). در مطالعات انجام شده در جمعیت‌های سوئد و آلمان و نیوزلند نشان داده شد که هیچ ارتباط معنی‌داری بین Ala234Thr ژن SEPP1 و سرطان پروستات وجود ندارد (۱۹-۲۱). در یک مطالعه دیگر گزارش شد که هیچ ارتباط معنی‌داری بین این پلی‌مورفیسم و سرطان کولورکتال وجود ندارد (۲۲). نتایج متفاوت ممکن است به دلیل تفاوت جمعیت مورد بررسی، تفاوت در خزانه‌های ژنتیکی و همچنین تأثیر فاکتورهای ژنتیکی و محیط باشد. در این

*Int J Cancer* 2015;136(5):359-86.

2. Enayatrada M, Amoori N, Salehiniya H. Epidemiology and trends in breast cancer

- mortality in Iran. *Iran J Public Health* 2015; 44(3):430-1.
3. Mencialha A, Victorino VJ, Cecchini R, et al. mapping oxidative changes in breast cancer: understanding the basic to reach the clinics. *Anticancer Res* 2014; 34:1127-40.
  4. Weydert CJ, Cullen JJ. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat Protoc* 2010; 5:51-66.
  5. Pellatt AJ, Wolff RK, John EM, et al. SEPP1 influences breast cancer risk among women with greater native american ancestry: the breast cancer health disparities study. *PLoS one* 2013; 8(11): e80554.
  6. Kesse-Guyot E, Fezeu L, Jeandel C, et al. French adult's cognitive performance after daily supplementation with antioxidant vitamins and minerals at nutritional doses: a post hoc analysis of the supplementation in vitamins and mineral antioxidants. *Am J Clin Nutr* 2011; 94(3):892-9.
  7. Low SC, Berry MJ. Knowing when not to stop: selenocysteine incorporation in eukaryotes. *Trends Biochem Sci* 1996; 21(6):203-208.
  8. Hill KE, Lloyd RS, Burk RF. Conserved nucleotide sequences in the open reading frame and 3'untranslated region of selenoprotein P mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(2):537-41.
  9. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *The Journal of nutrition* 2003; 133(5): 1517S-20S.
  10. Burk RF, Hill KE. Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. *Annu Rev Nutr* 2005; 25: 215-35.
  11. Jablonska E, Gromadzinska J, Reszka E, et al. SEPP1 (selenoprotein P, plasma, 1). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol* 2011; 15(10):887-9.
  12. Méplan C, Hesketh J. Selenium and cancer: a story that should not be forgotten-insights from genomics. *Cancer Treat Res* 2014; 159:145-66.
  13. Mostert V. Selenoprotein P. properties, functions, and regulation. *Arch Biochem Biophys* 2000; 376(2):433-8.
  14. Méplan C, Nicol F, Burtle B, et al. Relative abundance of selenoprotein P isoforms in human plasma depends on genotype, se intake, and cancer status. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11(11):2631-40.
  15. Méplan C, Crosley LK, Nicol F, et al. Genetic polymorphisms in the human selenoprotein P gene determine the response of selenoprotein markers to selenium supplementation in a gender-specific manner (the SELGEN study). *The FASEB Journal* 2007; 21(21): 3063-74.
  16. Méplan C. Selenium and Chronic Diseases: A Nutritional Genomics Perspective. *Nutrients* 2015; 7(5): 3621-51.
  17. Méplan C, Hughes DJ, Pardini B, et al. Genetic variants in selenoprotein genes increase risk of colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31(6): 1074-9.
  18. Méplan C, Dragsted LO, Ravn-Haren G, et al. Association between Polymorphisms in Glutathione Peroxidase and Selenoprotein P Genes, Glutathione Peroxidase Activity, HRT Use and Breast Cancer Risk. *PLoS ONE* 2013; 8(9):e73316.
  19. Steinbrecher A, Méplan C, Hesketh J, et al. Effects of selenium status and polymorphisms in selenoprotein genes on prostate cancer risk in a prospective study of European men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(11):2958-68.
  20. Cooper ML, Adami H-O, Grönberg H, et al. Interaction between single nucleotide polymorphisms in selenoprotein P and mitochondrial superoxide dismutase determines prostate cancer risk. *Cancer Res* 2008; 68(24):10171-77.
  21. Karunasinghe N, Han D, Goudie M, et al. Prostate disease risk factors among a New Zealand cohort. *J Nutrigenet & Nutrigenomics* 2012; 5(6):339-51.
  22. Al-Taie OH, Uceyler N, Eubner U, et al. Expression profiling and genetic alterations of the selenoproteins GI-GPx and SePP in colorectal carcinogenesis. *Nutrition and cancer* 2004; 48(1):6-14.

Original Article

# Analysis of Ala234Thr Polymorphism *SEPP1* gene in the Women with Breast Cancer in Guilan Province, Iran

S. Mohammaddoust (MSc)<sup>1</sup>, Z. Salehi (MD, PhD)<sup>1\*</sup>, H. Saeidi Saedi (MD)<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, School of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

<sup>2</sup> Department of Oncology, Cancer Research Center, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

(Received 8 Mar 2017 Accepted 3 Jun 2017)

## Abstract

**Background:** Selenoprotein P (Sepp1) is the main selenoprotein in plasma and contains over 50% of the total plasma selenoprotein. The direct and indirect effects of Sepp1 on anti-oxidant defense can be responsible for its role in increasing cancer risk. One of the common polymorphism of *SEPP1* gene is the Ala234Thr single nucleotide polymorphism (SNP) in the coding region. In this research, we studied the association between *SEPP1* Ala234Thr (rs3877899) polymorphism and the risk of breast cancer.

**Materials and Methods:** In this case-control study, 162 patients with breast cancer were compared with 227 healthy volunteers. Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes. Determination of DNA genotyping in *SEPP1* Ala234Thr (rs3877899) polymorphism was performed by the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) using *MwoI* enzyme. Statistical analysis was performed using  $\chi^2$ -test in the MedCalc software

**Results:** The genotype frequencies were significantly different between the patients and control group. Participants with AA homozygosity were at a higher risk for breast cancer compared to others (OR=3.23; 95%CI, 1.79-5.84;  $p=0.001$ ).

**Conclusion:** The study results showed that the Ala234Thr polymorphism of the *SEPP1* gene might be associated with the higher risk for breast cancer in the female population northern Iran. However, further research with larger sample size is required to confirm this research results.

**Key words:** Guilan province, polymorphism, Breast cancer, Selenoprotein, Ala234Thr, *SEPP1*

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Mohammaddoust S, Salehi Z, Saeidi Saedi H. Analysis of Ala234Thr Polymorphism *SEPP1* gene in Women with Breast Cancer in Guilan Province. Iran South Med J 2018; 20(6): 519-526

Copyright © 2018 Mohammaddoust, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

\*Address for correspondence: Department of Biology, School of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. Email: genetics@yahoo.co.uk