



بررسی همراهی چندشکلی ژن WDR79 (rs2287497C>T) در استعداد ابتلا به سرطان پستان در شمال غرب ایران

زهرا عبادی (MSc)^{*}، سارا غفاریان (PhD)^{**}

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۴/۲۷ - پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۶/۱۸)

چکیده

زمینه: ژن WDR79 یک RNA آنتی سنس را کد می‌کند که برای تثبیت و القای p53 ضروری است. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ژن WDR79 با خطر ابتلا به سرطان مرتبط است. این مطالعه با هدف بررسی همراهی چندشکلی rs2287497C>T ژن WDR79 با استعداد ابتلا و پیش‌آگهی سرطان پستان در جمعیت زنان شمال غرب ایران انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش که به صورت مورد-شاهدی انجام شد، همراهی چندشکلی rs2287497C>T ژن WDR79 با استعداد ابتلا به سرطان پستان در جامعه آماری متشکل از ۱۰۰ بیمار و ۱۰۰ زن کنترل با رنج سنی ۷۶-۱۹ سال با تکنیک Tetra ARMS-PCR مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل با استفاده از برنامه‌ی آماری آنلاین jvavastat و نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۶ انجام شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های CC، TT و CT در بیماران به ترتیب ۷۶، ۲۱ و ۳ درصد و فراوانی آن‌ها در افراد کنترل به ترتیب ۸۰، ۱۸ و ۲ درصد بود. فراوانی آلل‌های C و T در افراد بیمار به ترتیب ۸۶/۵ و ۱۳/۵ درصد بود. همچنین در جمعیت کنترل فراوانی آلل‌های C و T به ترتیب ۸۹ و ۱۱ درصد بود. تجزیه‌های آماری نشان دهنده عدم همراهی فراوانی ژنوتیپی و آللی با سرطان پستان و همراهی چندشکلی با سن و درجه تومور بود.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاصل چندشکلی rs2287497C>T ژن WDR79 با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان همراهی ندارد. همراهی توزیع ژنوتیپی این SNP با ویژگی‌های پاتولوژیکی افراد مبتلا به سرطان پستان شامل سن و درجه تومور معنی‌دار بود.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، چند شکلی تک نوکلئوتیدی، ژن WDR79، Tetra ARMS-PCR

^{**}تبریز، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

مقدمه

پستان از لوبول‌ها، مجراها، و استروما تشکیل شده است و هر کدام از این ساختارها می‌توانند با فرآیندهای خوش‌خیم تحت تأثیر قرار بگیرند. سرطان پستان از تکثیر غیرطبیعی سلول‌ها در بافت پستان آغاز می‌شود (۱). سرطان سینه ۳۰ درصد از سرطان‌های زنان را شامل می‌شود (۲)، به عنوان دومین عامل مرگ و میر زنان در کشورهای توسعه یافته و سومین علت مرگ و میر در کشورهای کمتر توسعه یافته شناخته می‌شود (۳). در ایران سرطان سینه به عنوان شایع‌ترین سرطان زنان و همچنین پنجمین عامل اصلی مرگ و میر در بین زنان ایرانی شناخته شده است (۴). حدود ۱۰-۵ درصد از سرطان‌های پستان از نوع فامیلی و وراثتی می‌باشد (۵). WDR79 یک ژن مهار کننده تومور است که جهش آن در سرطان‌های مختلف از جمله سرطان پستان نشان داده شده است (۶). جهش در ژن WDR79 در ۱۹ تا ۵۷ درصد از سرطان‌های پستان انسان گزارش شده است (۷). این ژن در موقعیت p13.17 واقع شده، دارای ۱۱ اگزون بوده و ۲۰ کیلو باز طول دارد (۸). WDR79 یک رونوشت آنتی سنس بسیار حفاظت شده مرتبط با p53 را کد می‌کند. این رونوشت، از طریق تعاملات WDR79/p53 RNA، نقش مهمی در تنظیم پس از رونویسی p53 دارد. در نتیجه جهش WDR79 به میزان قابل توجهی، منجر به تخریب mRNA p53 و سرکوب القای p53 در هنگام آسیب DNA می‌شود. با توجه به اهمیت WDR79 در تعدیل بیان و عملکرد p53، اختلال WDR79 می‌تواند منجر به تومورزایی شود. از آنجائیکه عملکرد نادرست مسیر p53، تقریباً مشخصه اصلی تومورهای انسانی است، هر گونه جهش منجر به عدم یا اختلال عملکرد WDR79، یکی از رایج‌ترین مکانیسم‌های تومورزایی است. می‌توان نتیجه

گرفت این موضوع ممکن است دلیل ایجاد تومور در برخی از تومورهای دارای p53 نوع وحشی باشد (۹ و ۱۰). پروتئین رمزگذاری شده توسط این ژن یک فسفوپروتئین با ۳۹۳ اسید آمینه رمزگذاری شده است و از پنج منطقه بسیار محافظت شده و چهار حوزه عملکردی تشکیل شده است (۱۱). پروتئین WDR79 یک انکوژن بالقوه ضروری برای بقای سلول‌های سرطانی است. اثبات شده است افزایش بیان WDR79 منجر به بدخیمی تومور شده و از بین رفتن WDR79 با القای آپوپتوز، رشد سلول‌های سرطانی را مختل می‌کند. این امر WDR79 را به یک هدف جالب برای مداخله درمانی نشان می‌دهد (۱۲). یافته‌های اخیر نشان می‌دهد پروتئین WDR79 با ارائه داریستی برای پروتئین‌های ترمیم DNA، تنظیم‌کننده ترمیم شکستگی دو رشته‌ای DNA است (۱۳). این پروتئین یک واسطه اصلی در بسیاری از عملکردهای سلولی مانند رونویسی ژن، سنتز و ترمیم DNA، تنظیم چرخه سلولی، پیری سلول و آپوپتوز است و به عنوان "نگهبان ژنوم" شناخته می‌شود. حداقل در نیمی از تومورهای انسان از جمله سرطان پستان جهش‌های ساختاری غیرفعال کننده ژن p53 مشاهده شده است. علاوه بر جهش‌های شناسایی شده، چندشکلی‌های عملکردی در p53 از عوامل مستعد کننده سرطان هستند (۱۴). عملکرد نادرست مسیر p53، تقریباً مشخصه اصلی تومورهای انسانی است. هر گونه جهش منجر به عدم یا اختلال عملکرد WDR79، یکی از رایج‌ترین مکانیسم‌های تومورزایی است. جهش‌هایی که منجر به تومورزایی می‌شوند معمولاً جایگزینی‌های تک بازی هستند که منجر به جایگزینی اسیدهای آمینه در دومین متصل شونده به DNA P53 (DBD) می‌شوند (۱۵).

WDR79 که با عنوان WDR79 β /TCAB1 نیز شناخته می‌شود، عضوی از خانواده پروتئین‌های تکراری WD و شامل شش دومین تکراری WD است که با دی‌پپتید گلیسین-هیستیدین (GH) شروع و به اسید تریپتوفان-اسپارتیک ختم می‌شود. WDR79 به عنوان یک پروتئین داربست از طریق ساختار β که توسط دومین‌های تکراری WD تشکیل شده است عمل می‌کند و در مونتاژ تلومراز، تشکیل بدنه کژال و تعمیر شکستگی دو رشته‌ای DNA نقش دارد (۱۶).

برای اولین بار در یک تجزیه و تحلیل توالی مجدد گسترده از WDR79، نشان داده شد که پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی rs2287497C/T و rs2287498، این ژن با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط هستند (۱۷). مطالعات نشان داده‌اند که چندشکلی در این ژن، با افزایش خطر ابتلا به سرطان تهاجمی تخمدان مرتبط هستند (۱۸).

نقش WDR79 در سرطان بیشتر توسط سطوح بالای پروتئین در سلول‌های سرطانی انسان در مقایسه با سلول‌های طبیعی پشتیبانی می‌شود (۱۹). شکست WDR79 از طریق تداخل RNA، باعث آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شود، که به معنی نقش بیان WDR79 در بقای سلول‌های سرطانی است (۲۰). کاهش WDR79 در سرطان تخمدان با ترمیم معیوب DNA مرتبط است (۲۱). همچنین، از دست دادن WDR79 هسته‌ای با پیش آگهی ضعیف در سرطان سر و گردن همراه است (۲۲).

لین (Lin) و همکاران، با مطالعه‌ی ۲۰۱ بیمار مبتلا به سرطان مثانه و ۳۱۱ شاهد سالم در جمعیت چین به روش ARMS-PCR همراهی/عدم همراهی پلی‌مورفیسم پنج SNP از ژن P53 (rs2287493، rs1042522، rs9895829، rs12602273 و

rs17882227) با خطر ابتلا به سرطان مثانه را مورد مطالعه قرار دادند. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه SNP‌های rs9895829G و rs17882227C با افزایش خطر ابتلا به سرطان مثانه همراهی نشان دادند. همچنین هاپلوتایپ‌های GTT و CCTC ال‌های محافظتی در برابر سرطان مثانه و هاپلوتایپ CGCC به عنوان یک فاکتور خطر در جمعیت چین معرفی شد. بر اساس این مطالعه پلی‌مورفیسم SNP ی rs1042522 واقع در کدون ۷۲ ژن TP53 نقش مهمی در بررسی ارتباط بین هاپلوتایپ‌های ژن TP53 و خطر بروز سرطان مثانه دارد (۲۳).

به منظور بررسی رابطه‌ی SNP‌های ژن TP53 با ریسک ابتلا به سرطان سینه، اسپراگو (Sprague) و همکاران، در یک مطالعه مورد-شاهدی تنوع ژنتیکی این ژن را در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان سینه در آگزون ۴ (rs1042522)، ۷ SNP ایترونی و ۳ SNP در 3'UTR از کدون ۷۲ روی جمعیتی از زنان ماساچوست، ویسکانسین و نیوهمپشایر با بازه سنی ۲۰-۷۴ سال مورد مطالعه قرار دادند. آنالیز بطور جداگانه برای سرطان سینه درجا (۱۷۶ بیمار و ۵۸۱ کنترل) و تهاجمی (۱۴۹۰ بیمار و ۱۲۹۱ کنترل) انجام شد. در این مطالعه هیچ یک از ۱۱ SNP منفرد مورد مطالعه یا هاپلوتایپ‌های رایج ارتباط معناداری با ریسک سرطان سینه درجا نداشتند. در مجموع کل زنان مورد مطالعه دو SNP مرتبط ($D' = 0.99$, $r^2 = 0.95$) بر روی ایترون ۷ با افزایش اندک ریسک ابتلا به سرطان تهاجمی همراهی داشتند: با این حال این همراهی فقط برای ژنوتیپ‌های هتروزیگوس معنادار بود. همچنین واریانت‌های دیگری در 3'UTR (rs9894946)، و در دو SNP دارای همبستگی ($D' = 0.94$, $r^2 = 0.81$) واقع در ایترون ۶ (rs1625895) و ۴ (rs2909430)، با

کاهش ریسک ابتلا به سرطان تهاجمی سینه در زنان ۵۰ سال و جوان تر همراهی داشتند. بر این اساس واریانت های رایج ژن TP53 می توانند ریسک ابتلا به سرطان سینه تهاجمی را تحت تأثیر قرار دهند (۲۴).
SNP های مختلفی از ژن P53 در تحقیقات مختلف مطالعه شده و همراهی آن ها با سرطان پستان تعیین شده است. تحقیقات صورت گرفته بر روی این ژن در سرطان ها و جمعیت های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. بر این اساس با توجه به عدم مطالعه همراهی این SNP با سرطان پستان در جمعیت زنان شمال غرب ایران، در این پژوهش چندشکلی SNP شماره rs2287497C/T ژن WDR79 تجزیه و همراهی آن با احتمال ابتلا به سرطان پستان و همچنین با ویژگی های پاتولوژیکی سرطان پستان در جمعیت زنان شمال غرب ایران مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه گیری و جمعیت مورد مطالعه

در این مطالعه ۱۰۰ زن مبتلا به سرطان پستان و ۱۰۰ زن سالم بدون هیچ گونه سابقه ابتلا به سرطان در افراد درجه یک و دو خانواده به عنوان گروه شاهد در بازه سنی ۱۹ تا ۷۶ سال مورد مطالعه قرار گرفتند. برای بررسی چندشکلی از افراد مورد مطالعه خون وریدی گرفته شده شد.

استخراج DNA

استخراج DNA با روش نمک اشباع (۲۵) با اندکی تغییرات انجام گرفت. برای این منظور مقدار ۲ میلی لیتر از خون بیماران درون لوله آزمایش انتقال و سه برابر حجم خون بافر لیز کننده به لوله های آزمایش اضافه شد. لوله ها چندین بار سروته شدن تا اختلاط کامل ترکیبات درون آن ها، به منظور لیز شدن گلبول های قرمز به مدت

۲۰-۱۰ دقیقه در یخچال قرار داده شدند. سپس لوله ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰rpm سانتریفیوژ و مایع رویی تخلیه شد. ۱۰ میلی لیتر بافر لیز کننده به رسوب حاصل اضافه، رسوب در آن حل شده، مجدداً با ۱۸۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی تخلیه شد. این عمل تا زمان تشکیل رسوب کاملاً سفیدرنگ تکرار شد.

در ادامه به رسوب ایجاد شده در ته لوله آزمایش، مقدار ۲ میلی لیتر محلول SE بافر (بافر سدیم کلراید/ اتیلن دی آمین تترا استیک اسید) اضافه و به خوبی مخلوط شد. سپس به محلول ایجاد شده ۱۰ میکرو لیتر پروتئیناز K (با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و ۲۰۰ میکرو لیتر SDS ۱۰ درصد اضافه شد و به خوبی ورتکس گردید. لوله آزمایش به مدت ۲۴ ساعت درون بن ماری با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از تجزیه کامل پروتئین ها، ۱/۵ میلی لیتر کلروفرم و ۹۰۰ میکرو لیتر محلول نمک اشباع به لوله ها اضافه شد. سپس لوله ها با ۳۸۰۰ rpm به مدت ۶۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رویی شفاف به لوله آزمایش استریل دیگر انتقال داده شد، چهار میلی لیتر اتانول مطلق سرد به آن اضافه گردید و به آرامی مخلوط شد تا کلاف DNA ظاهر شود.

کلاف DNA به دست آمده با نوک سمپلر به میکروتیوب استریل ۱/۵ میلی لیتری منتقل و پس از شستشو با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه زیر هود خشک شده و در نهایت در ۱۰۰ میکرو لیتر آب مقطر استریل حل شد.

بررسی چندشکلی به روش Tetra ARMS-PCR

برای بررسی چندشکلی از افراد مورد مطالعه خون وریدی گرفته شده و سپس استخراج DNA به روش نمک اشباع انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA به روش الکتروفورز ژل آگارز مورد بررسی قرار گرفت.

سپس DNA استخراج شده با آب مقطر استریل به غلظت مورد استفاده رقیق شد.

به منظور بررسی وجود چند شکلی در موقعیت rs2287497C/T ژن WDR79 از تکنیک Tetra-ARMS PCR با نام کامل Tetra-primer Amplification Refractory Mutation System

Polymerase Chain Reaction استفاده شد که یک روش مبتنی بر PCR برای شناسایی چندشکلی‌های تکنوکلوتیدی می‌باشد. طراحی پرایمرها بر مبنای مطالعه لین و همکاران (۲۳) انجام (جدول ۱) و سنتز پرایمر توسط شرکت Metabion آلمان انجام شد.

جدول ۱) توالی آغازگرهای مورد استفاده و اندازه قطعات تکثیری طی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز			
آغازگر	توالی	SNP	طول محصول PCR (جفت باز)
رفت خارجی	CTATGCTTTTCAAGTGTAGGGCTAGGG		۲۴۸
برگشت خارجی	TGAAAGGCTGTAAGTGTTAAGGATAACA		
رفت داخلی	TGAGGGAAGTAGAAGACACAAACGGT	C	۱۲۶
برگشت داخلی	CCTTTTAGACTGAGCTTACATTTTATCGAG	T	۱۲۲

واکنش ARMS-PCR در حجم نهایی ۱۲ میکرولیتر با ترکیبات پرایمرهای رفت و برگشت بیرونی هرکدام به مقدار ۰/۷ میکرولیتر، پرایمرهای رفت و برگشت درونی هرکدام به مقدار ۰/۸ میکرولیتر، DNA الگو به مقدار یک میکرولیتر، Master mix (AMPLIQON) به مقدار ۷ میکرولیتر و آب به مقدار ۱ میکرولیتر انجام شد. چرخه‌های حرارتی واکنش PCR شامل یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ °C به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه واسرشت‌سازی در ۹۴ °C به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۵۶ °C به مدت ۴۰ ثانیه و بسط در دمای ۷۲ °C به مدت ۴۰ ثانیه و در نهایت یک چرخه بسط نهایی در ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه بود. محصولات حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد الکتروفورز شدند. اندازه قطعات تکثیر شده بر روی ژل آگارز با استفاده از نشانگر اندازه DNA ۱۰۰bp (SMOBIO, Taiwan) تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تعیین ژنوتیپ افراد بیمار و کنترل مورد مطالعه براساس اندازه نوارهای حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر

روی ژل آگارز انجام گرفت. بر این اساس فراوانی آلی و ژنوتیپی در جمعیت مورد مطالعه تعیین شد. فراوانی‌های ژنوتیپی و آلی با استفاده از آزمون مربع کای پیرسون، نرم‌افزار آنلاین javastat online statistics package spss و (<http://statpages.org/ctab2x2.html>) (ویرایش ۲۶) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقدار $P.value < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

تمامی اطلاعات لازم از پرونده‌های بالینی بیماران استخراج و فرم رضایت انجام طرح تحقیقاتی توسط بیماران تکمیل‌گردیده بود. هیچ نوع مداخله اضافی از طرف محققین بر روی بیماران صورت نگرفت. تمامی اطلاعات بیماران کاملاً محرمانه بوده و در جایی نام و نشانی از آن‌ها ذکر نخواهد شد. این پژوهش با کد اخلاق به شماره ۰۰۴. ۱۴۰۲.

IR.AZARUNIV.REC در کمیته اخلاق دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تصویب و در سامانه ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی ثبت شده است.

توزیع فراوانی ژنوتیپی بین دو گروه بیمار و کنترل

<http://bpums.ac.ir>

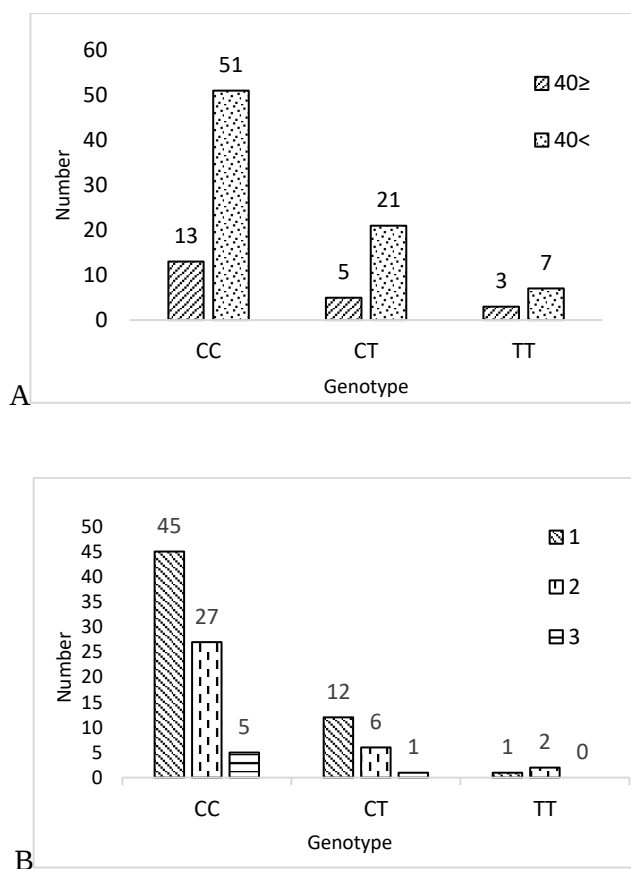
جدول ۲) توزیع فراوانی ژنوتیپی و اللی چند شکلی rs2287497 C/T ژن WDR79 در افراد بیمار و کنترل				
ژنوتیپ/ال	تعداد و فراوانی بیماران (%)	تعداد و فراوانی کنترل (%)	نسبت شانس	P-value
CC	۷۶ (۷۶٪)	۸۰ (۸۰٪)	Ref	۰/۳۴۷
CT	۲۱ (۱۸٪)	۱۸ (۱۸٪)	۰/۳۹۳	۰/۷۵۱
TT	۳ (۳٪)	۲ (۲٪)	۱/۵۶۰	۰/۴۶۱
C	۱۷۳ (۸۶/۵٪)	۱۷۸ (۸۹٪)	Ref	۰/۳۷
T	۲۷ (۱۳/۵٪)	۲۲ (۱۱٪)	۱/۲۹	۰/۳۷

ارتباط توزیع فراوانی ژنوتیپها با علائم بالینی

بر اساس تجزیه‌های انجام شده بر روی ارتباط چندشکلی rs2287497 C/T ژن WDR79 با علائم بالینی بیماران، ارتباط معنی‌داری بین این چند شکلی با سن ($p\text{-value}=۰/۰۳۹$) (شکل ۳-A) و درجه تومور

($p\text{-value}=۰/۰۴۷$) (شکل ۳-B) در سطح احتمال ۵

درصد وجود داشت. اما ارتباط بین توزیع فراوانی ژنوتیپی این SNP با اندازه تومور ($p\text{-value}=۰/۰۵$)، درگیری لنفی ($p\text{-value}=۰/۰۵$) و نوع تومور ($p\text{-value}=۰/۰۳۵$)، معنی‌دار نبود (جدول ۳).



شکل ۳) ارتباط توزیع فراوانی ژنوتیپها با علائم بالینی: سن بیماران (A)، درجه تومور (B)

جدول ۳) ارتباط بین چند شکلی rs2287497 C/T ژن WDR79 در افراد بیمار و کنترل با مشخصات کلینیکی بیماران					
متغیرها	C/C(%)	C/T(%)	T/T(%)	p-value	
سن (سال)	≥ ۴۰	۱۳ (۲۰/۳۱) %	۵ (۱۹/۲۳) %	۳ (۳۰) %	۰/۰۳۹
	> ۴۰	۵۱ (۷۹/۶۹) %	۲۱ (۸۰/۷۷) %	۷ (۷۰) %	
اندازه تومور (cm)	≥ ۳	۳۵ (۴۷/۳) %	۸ (۳۳/۳) %	۲ (۱۰۰) %	۰/۵
	> ۳	۳۹ (۵۲/۷) %	۱۶ (۶۶/۷) %	۰ (۰) %	
درگیری لنف	مثبت	۴۲ (۵۶/۰) %	۱۶ (۶۹/۵) %	۱ (۵۰) %	۰/۵
	منفی	۳۳ (۴۴/۰) %	۷ (۳۰/۵) %	۱ (۵۰) %	
درجه تومور	۱	۴۵ (۵۸/۴۴) %	۱۲ (۶۳/۱۵) %	۱ (۳۳/۳۳) %	۰/۰۴۷
	۲	۲۷ (۳۵/۰۶) %	۶ (۳۱/۵۸) %	۲ (۶۶/۶۷) %	
	۳	۵ (۶/۵) %	۱ (۵/۲۷) %	۰ (۰) %	
ویژگی‌های بالینی	IDC	۵۹ (۷۲/۸۳) %	۱۲ (۶۶/۶۶) %	۱ (۱۰۰) %	۰/۳۵
	ILC	۷ (۸/۶۴) %	۰ (۰) %	۰ (۰) %	
	Fibroadenoma	۸ (۹/۸۷) %	۵ (۲۷/۸) %	۰ (۰) %	
	Fibrocystic	۷ (۸/۶۴) %	۱ (۵/۴) %	۰ (۰) %	

بحث

سرطان پستان بیشترین تعداد مرگ و میر ناشی از سرطان را در میان زنان ایجاد می‌کند اما مکانیسم دقیق ابتلا به آن هنوز نامشخص است. غیر از ژنتیک، عوامل متعددی از جمله سابقه خانوادگی، سابقه بارداری، سن اولین زایمان، سابقه شیردهی، فعالیت بدنی، مصرف ماهی، استفاده از قرص‌ها و مواجهه با دود دست دوم با ابتلا به سرطان پستان ارتباط آماری معنادار نشان داده‌اند (۲۶). بعلاوه انواع مختلف سرطان پستان و ناهمگونی و پیچیدگی آن‌ها تشخیص زودهنگام و درمان آن را با مشکل مواجه کرده است. بنابراین استفاده از بیومارکرهای آلی برای تشخیص و درمان زودهنگام آن ضروری می‌باشد (۲۷).

WDR79 یک رونوشت آنتی سنس بسیار حفاظت شده مرتبط با p53 است که نقش مهمی در تنظیم پس از رونویسی p53، از طریق تعاملات WDR79/p53 RNA ایفا می‌کند. شکست WDR79 بطور قابل توجهی، منجر به تخریب mRNA p53 و سرکوب القای p53 در هنگام آسیب DNA می‌شود. با توجه به اهمیت WDR79 در تعدیل بیان و عمل p53، اختلال عملکرد WDR79 می‌تواند منجر به تومورزایی شود.

این ممکن است همان چیزی باشد که در برخی از تومورها با p53 نوع وحشی اتفاق می‌افتد (۹ و ۱۰). علاوه بر بیان تنظیم نشده WDR79، تنوع ژنتیکی WDR79 نیز می‌تواند بر میزان حساسیت به سرطان تأثیر بگذارد. در واقع واریانت‌های WDR79 می‌توانند ساختار و عملکرد پروتئین WDR79 را تغییر و بر تنظیم رونویسی یا عملکرد p53 تأثیر بگذارند، که در نهایت ممکن است بر خطر ابتلا به سرطان تأثیرگذار باشد (۱۷ و ۱۸).

پروتئین WDR79 یک انکوژن بالقوه ضروری برای بقای سلول‌های سرطانی است. اثبات شده است افزایش بیان WDR79 منجر به بدخیمی تومور می‌شود و همچنین، از بین رفتن WDR79 با القای آپوپتوز عظیم، رشد سلول‌های سرطانی را مختل می‌کند. این امر WDR79 را به یک هدف جالب برای مداخله درمانی نشان می‌دهد (۱۲). پلی‌مورفیسم‌ها و هاپلوتیپ‌های ژن WDR79 ممکن است باعث آسیب‌پذیری از سرطان، تهاجم و پیش آگهی تومور یا پاسخ درمانی سرطان شوند (۲۸). شیوع قابل توجه جهش‌های WDR79 مرتبط با تومور یک پدیده شناخته شده است. اعتقاد بر این است که این پروتئین جهش یافته در انتقال تومورهای مراحل اولیه به

فنوتیپ‌های تهاجمی‌تر و ایجاد فرم‌های متاستاتیک نقش دارد (۲۹ و ۳۰).

در مطالعه‌ای بر روی جمعیت لهستان، rs2287497C/T یک پلی‌مورفیسم رایج WDR79 واقع در ناحیه تنظیمی WDR79-WDR79، با افزایش خطر سرطان تهاجمی تخمدان در زنان ارتباط نشان داد. در این مطالعه هموزیگوسیتی اختصاصی این SNP در زنان مبتلا به سرطان تخمدان به‌طور قابل توجهی بالا بود (۳۱). در مطالعه‌ای بر روی ۷۳۱ بیمار و ۱۱۲۴ کنترل از نروژ و همچنین ۱۹۵ بیمار و ۲۲۹۶ کنترل از لهستان ارتباط ۳ SNP rs2287497C/T و rs2287498، rs2287499 با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان گزارش شد (۱۷). در مطالعه‌ای مدرک (Medrek) و همکاران، به ارزیابی ارتباط بین چندشکلی rs2287497 و خطر سرطان تخمدان در جمعیت لهستان پرداختند، آن‌ها ۶۲۶ فرد بیمار و ۱۰۴۵ فرد سالم را تعیین ژنوتیپ کردند. آن‌ها نشان دادند که هموزیگوت TT در جایگاه rs2287497 ($p\text{-value}=0/03$) در میان بیماران به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد کنترل بود بنابراین آن‌ها گزارش کردند که این چندشکلی ارتباط قوی با خطر بروز سرطان تخمدان دارد (۱۸).

سامانی و همکاران، در مطالعه‌ای روی زنان ایرانی نشان دادند که جهش‌های ژنتیکی TP53 با شروع زود هنگام سرطان پستان در زنان ایرانی در ارتباط است. در این مطالعه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی همراهی SNP شماره rs1625895 با بروز سرطان پستان در ۸۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۹۶ فرد کنترل مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه ژنوتیپ هموزیگوت GG متداول‌ترین ژنوتیپ در ارتباط با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان زنان ایرانی بود (۳۲).

لین و همکاران، در مطالعه‌ای بر روی ۲۰۱ بیمار مبتلا به سرطان مثانه و ۳۱۱ شاهد سالم در جمعیت چین همراهی ۵ SNP ژن P53 را با سرطان پستان به روش ARMS-PCR مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان دهنده همراهی چندشکلی دو SNP rs9895829G و rs17882227C و عدم همراهی ۳ SNP rs2287497، rs1042522 و rs12602273 با افزایش خطر ابتلا به سرطان مثانه بود. در این پژوهش فراوانی ژنوتیپ‌های CC و TT به‌ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی را داشتند (۲۳). در پژوهش حاضر، بررسی ارتباط بین تنوع توالی شایع WDR79، rs2287497 C/T و خطر ابتلا به سرطان پستان و همچنین پیش‌آگهی در جمعیت زنان آذری شمال غرب ایران نشان داد هم در بیماران و هم در گروه کنترل، فراوانی آلل غالب C بیشتر از آلل مغلوب جهش یافته T است. فراوانی بیشتر هموزیگوت‌های غالب CC و فراوانی بسیار کمتر هموزیگوت‌های TT مغلوب نیز در هر دو گروه بارز بود. هیچ شواهدی دال بر وجود تفاوت معنی‌دار در فراوانی آللی و ژنوتیپی بین گروه بیمار و شاهد مشاهده نشد. این نتایج هم‌راستا بودن نتایج مطالعه ما بر روی سرطان پستان در زنان ایرانی را با نتایج مطالعه لین و همکاران، بر روی سرطان مثانه در جمعیت چین نشان داد.

در مطالعه‌ای مشابه لیث (Laith) و همکاران، در بررسی ارتباط میان چندشکلی rs2287497 ژن WDR79 با خطر بروز سرطان پستان در جمعیت اردنی، ۲۳۰ زن مبتلا به سرطان پستان را مورد بررسی قرار دادند که طبق نتایج آن‌ها چندشکلی rs2287497 به‌طور قابل توجهی با سن اولین بارداری ($p\text{-value}=0/001$)، سیگار کشیدن ($p\text{-value}=0/041$) و وضعیت غدد لنفاوی زیر بغل

($p\text{-value}=6e4$) مرتبط بود. ولی با سایر ویژگی‌های پاتولوژیک بیماری مرتبط نبود (۳۳). تجزیه و تحلیل نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده‌ی ارتباط WDR79 rs2287497 C/T با ویژگی‌های بالینی سن و درجه تومور بود.

در یک مطالعه متاآنالیز، بررسی ارتباط واریانت p.Arg72Pro از ژن P53 با ریسک ابتلا به سرطان پستان بر روی مطالعات مورد-شاهدی انجام شده برای تعیین ژنوتیپ در این موقعیت روی افرادی در بازه سنی مشابه با ۷۸۴۱ بیمار و ۸۸۷۶ کنترل، همبستگی معنی‌داری بین این چند شکلی و ریسک ابتلا به سرطان پستان مشاهده شد. در افراد دارای ال پرولین ریسک ابتلا به سرطان پستان بیشتر از افراد دارای ال آرژنین بود (۳۴). ژائو (Zhao) و همکاران در جدیدترین مطالعه متاآنالیز با بررسی ارتباط چندشکلی کدون‌های ۷۲، IVS3 16 bp و TP53 rs2287497 C/T با ریسک ابتلا به سرطان پستان بر روی داده‌های حاصل از ۱۷ مطالعه متاآنالیز با استفاده از ۵ مدل ژنی، ارتباط جزئی مشابه سایر مطالعات متاآنالیز منتشر شده گزارش کردند. اما بسیاری از نتایج معنادار این مطالعه غیر از همبستگی بین چندشکلی IVS3 16 bp و ریسک ابتلا به سرطان پستان در مجموع مطالعات، پس از اصلاح توسط BFD (Bayesian false discovery probability) غیرقابل اعتماد تشخیص داده شد. همچنین طی آنالیز با حساسیت بالا که فقط روی مطالعاتی با استاندارد ارزیابی کیفیت انجام شد، این نتایج غیر قابل اعتماد مجدد تأیید شد (۳۵).

اگرچه تنوع WDR79 rs2287497 C/T ممکن است بر ریسک سرطان پستان به شیوه‌ای مبتنی بر سن و درجه تومور تأثیر بگذارد، اما مستقیماً منجر به

حساسیت به سرطان پستان در جمعیت زنان آذری ایران نمی‌شود. بنابراین SNP مورد مطالعه یک بیومارکر مولکولی برای خطر سرطان پستان نیست و نمی‌تواند به عنوان یک بیومارکر پیش آگهی برای ارزیابی پیشرفت بیماری با توجه به ویژگی‌های بالینی و پاتولوژیک عمل کند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، ارتباط معنی‌داری بین توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها در جایگاه چندشکلی rs2287497 C/T ژن WDR79 و احتمال ابتلا به سرطان پستان در زنان شمال غرب ایران مشاهده نشد. چندشکلی rs2287497 C/T ژن WDR79 همراهی معناداری با سن و درجه تومور داشت اما همراهی سایر ویژگی‌های پاتولوژیکی مورد مطالعه با این چندشکلی معنی‌دار نبود. با توجه به مطالعات انجام شده و همراهی و عدم همراهی چندشکلی تک نوکلئوتیدی برخی SNP‌های ژن WDR79 با سرطان‌های مختلف، و نتایج متفاوت در جمعیت‌های مختلف، به منظور نتیجه‌گیری جامع لازم است ارتباط این چند شکلی با ابتلا به سرطان پستان بر روی گروه‌های نژادی متفاوت و اندازه بزرگ‌تر جامعه آماری افراد بیمار و کنترل بصورت مستقل مورد مطالعه قرار گرفته و ریسک فاکتورهای نژادهای مختلف بصورت مستقل تعریف شوند.

سپاس و قدردانی

پژوهش فوق حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی با گرایش سلولی-مولکولی مصوب شورای تحصیلات تکمیلی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان است. این مطالعه در آزمایشگاه زیست

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

شناسی سلولی - مولکولی گروه زیست دانشگاه شهید مدنی آذربایجان و با بودجه اختصاص یافته معاونت پژوهش به پایان نامه دانشجو انجام یافته است.

References:

1. Tvorogov D, Sundvall M, Kurppa K, et al. Somatic mutations of ErbB4: selective loss-of-function phenotype affecting signal transduction pathways in cancer. *J Biol Chem* 2009; 284(9): 5582-5591. doi: [10.1074/jbc.M805438200](https://doi.org/10.1074/jbc.M805438200).
2. Harris JR, Lippman ME, Morrow M, et al. Diseases of the breast. 5th ed. Philadelphia: Williams & Wilkins Health, 2014, 20-30. doi: <https://doi.org/10.1002/bjs.1800831157>.
3. Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, et al. The global burden of cancer 2013. *JAMA Oncol* 2015; 1(4): 505-527. doi: [10.1001/jamaoncol.2015.0735](https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.0735).
4. Shamsheirani A, Heydari K, Shams Z, et al. Breast cancer risk factors in Iran: a systematic review & meta-analysis. *Horm Mol Biol Clin Invest* 2020; 41(4): 1-16. doi: [10.1515/hmbci-2020-0021](https://doi.org/10.1515/hmbci-2020-0021).
5. Claus EB, Schildkraut JM, Thompson WD, et al. The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer. *Cancer* 1996; 77(11): 2318-2324. doi: [10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19960601\)77:11<2318::AID-CNCR21>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19960601)77:11<2318::AID-CNCR21>3.0.CO;2-Z).
6. Kaur RP, Vasudeva K, Kumar R, et al. Role of p53 gene in breast cancer: focus on mutation spectrum and therapeutic strategies. *Curr Pharm Des* 2018; 24(30): 3566-3575. doi: [10.2174/1381612824666180926095709](https://doi.org/10.2174/1381612824666180926095709).
7. Feng Y, Spezia M, Huang S, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes Dis* 2018; 5(2): 77-106. doi: [10.1016/j.gendis.2018.05.001](https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001).
8. Lacroix M, Toillon RA, Leclercq G. p53 and breast cancer, an update. *Endocr relat Cancer* 2006; 13(2): 293-325. doi: <https://doi.org/10.1677/erc.1.01172>.
9. Mahmoudi S, Henriksson S, Corcoran M, et al. Wrap53, a natural p53 antisense transcript required for p53 induction upon DNA damage. *Mol Cell* 2016; 64(5): 1009. doi: [10.1016/j.molcel.2016.11.027](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.11.027).
10. Joerger AC, Fersht AR. The p53 pathway: origins, inactivation in cancer, and emerging therapeutic approaches. *Annu rev biochem* 2016; 85: 375-404. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060815-014710>.
11. Pietsch EC, Humber O, Murphy ME. Polymorphisms in the p53 pathway. *Oncogene* 2006; 25(11): 1602-1611. doi: [10.1038/sj.onc.1209367](https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209367).
12. Marcello MA, Morari EC, Cunha LL, et al. P53 and expression of immunological markers may identify early stage thyroid tumors. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013: 846584. doi: [10.1155/2013/846584](https://doi.org/10.1155/2013/846584).
13. Henriksson S, Rassoolzadeh H, Hedström E, et al. The scaffold protein WRAP53β orchestrates the ubiquitin response critical for DNA double-strand break repair. *Genes dev* 2014; 28(24): 2726-2738. doi: [10.1101/gad.246546.114](https://doi.org/10.1101/gad.246546.114).
14. Ma H, Hu Z, Zhai X, et al. Joint effects of single nucleotide polymorphisms in P53BP1 and p53 on breast cancer risk in a Chinese population. *Carcinogenesis* 2006; 27(4): 766-771. doi: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi295>.
15. Hedau S, Jain N, Husain SA, et al. Novel germline mutations in breast cancer susceptibility genes BRCA1, BRCA2 and p53 gene in breast cancer patients from India. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 88(2): 177-186. doi: [10.1007/s10549-004-0593-8](https://doi.org/10.1007/s10549-004-0593-8).
16. Chen J, Sheng X, Ma H, et al. WDR79 mediates the proliferation of non-small cell lung cancer cells by regulating the stability of UHRF1. *J Cell Mol Med* 2018; 22(5): 2856-2864. doi: [10.1111/jcmm.13580](https://doi.org/10.1111/jcmm.13580).
17. Garcia-Closas M, Kristensen V, Langerød A, et al. Common genetic variation in TP53 and its flanking genes, WDR79 and ATP1B2, and susceptibility to breast cancer. *Int J Cancer* 2007; 121(11): 2532-2538. doi: [10.1002/ijc.22985](https://doi.org/10.1002/ijc.22985).
18. Mędrek K, Magnowski P, Masojć B, et al. Association of common WRAP 53 variant with ovarian cancer risk in the Polish population. *Mol Biol Rep* 2013; 40(3): 2145-2147. doi: [10.1007/s11033-012-2273-9](https://doi.org/10.1007/s11033-012-2273-9).

19. Rao X, Huang D, Sui X, et al. Overexpression of WRAP53 is associated with development and progression of esophageal squamous cell carcinoma. *PloS one* 2014; 9(3): e91670. doi: [10.1371/journal.pone.0091670](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091670).
20. Mahmoudi S, Henriksson S, Farnebo L, et al. WRAP53 promotes cancer cell survival and is a potential target for cancer therapy. *Cell death dis* 2011; 2(1): e114. doi: [10.1038/cddis.2010.90](https://doi.org/10.1038/cddis.2010.90).
21. Hedström E, Pederiva C, Farnebo J, et al. Downregulation of the cancer susceptibility protein WRAP53 β in epithelial ovarian cancer leads to defective DNA repair and poor clinical outcome. *Cell death dis* 2015; 6(10): e1892. doi: <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.250>.
22. Garvin S, Tiefenböck K, Farnebo L, et al. Nuclear expression of WRAP53 β is associated with a positive response to radiotherapy and improved overall survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Oral oncol* 2015; 51(1): 24-30. doi: [10.1016/j.oraloncology.2014.10.003](https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.10.003).
23. Lin HY, Yang MC, Huang CH, et al. Polymorphisms of TP53 are markers of bladder cancer vulnerability and prognosis. *Urol Oncol* 2013; 31(7): 1231-1241. doi: [10.1016/j.urolonc.2011.11.031](https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2011.11.031).
24. Sprague BL, Trentham-Dietz A, Garcia-Closas M, et al. Genetic variation in TP53 and risk of breast cancer in a population-based case control study. *Carcinogenesis* 2007; 28(8): 1680-1686. doi: [10.1093/carcin/bgm097](https://doi.org/10.1093/carcin/bgm097).
25. Suguna S, Nandal DH, Kamble S, et al. Genomic DNA isolation from human whole blood samples by non enzymatic salting out method. *Int J Pharm Pharm Sci* 2014; 6(6): 198-199. [https://www.researchgate.net/publication/289617992_Genomic_DNA_isolation_from_huma
n_whole_blood_samples_by_non_enzymatic_salting_out_method](https://www.researchgate.net/publication/289617992_Genomic_DNA_isolation_from_human_whole_blood_samples_by_non_enzymatic_salting_out_method)
26. Mohamadi S, Jalali F, Rekabpour SJ. Risk Factors of Breast Cancer in Women of Bushehr City: A Case-Control Study. *Iran South Med J* 2023; 25(6): 505-518. (Persian) URL: <http://ismj.bpums.ac.ir/article-1-1699-en.html>.
27. Delgir S, Ilkhani K, Safi A, et al. The expression of miR-513c and miR-3163 was downregulated in tumor tissues compared with normal adjacent tissue of patients with breast cancer. *BMC Med Genomics* 2021; 14(1): 180. doi: [10.1186/s12920-021-01029-3](https://doi.org/10.1186/s12920-021-01029-3).
28. Carlson RW, Allred DC, Anderson BO, et al. Breast cancer. Clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2009; 7(2): 122-192. doi: [10.6004/jnccn.2009.0012](https://doi.org/10.6004/jnccn.2009.0012).
29. Darvish-Aminabad E, Sedaie-Bonab A, HosseinpourFeizi MA, et al. The Investigation of WRAP53 rs2287499 Association with Thyroid Cancer Risk and Prognosis among the Azeri Population in Northwest Iran. *J Kerman Univ Med Sci* 2017; 24(6): 448-458. https://jkmu.kmu.ac.ir/article_59759.html.
30. Vousden KH, Prives C. P53 and prognosis: new insights and further complexity. *Cell* 2005; 120(1): 7-10. doi: [10.1016/j.cell.2004.12.027](https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.12.027).
31. Alonso S, Izagirre N, López S, et al. The diversity profile of TP53 is influenced by positive selection on the immediately upstream locus WDR79. *Hum Hered* 2010; 69(1): 34-44. doi: [10.1159/000243152](https://doi.org/10.1159/000243152).
32. Assad Samani L, Javadirad SM, Parsafar S, et al. TP53 rs1625895 is related to breast cancer incidence and early death in Iranian population. *Indian J Clin Biochem* 2019; 34(4): 485-489. doi: [10.1007/s12291-018-0774-6](https://doi.org/10.1007/s12291-018-0774-6).
33. Al-Eitan LN, Rababa'h DM, Alghamdi MA, et al. Correlation between candidate single nucleotide variants and several clinicopathological risk factors related to breast cancer in Jordanian women: a genotype-phenotype study. *J Cancer* 2019; 10(19): 4647-4654. doi: [10.7150/jca.33857](https://doi.org/10.7150/jca.33857).
34. Diakite B, Kassogue Y, Dolo G, et al. p.Arg72Pro polymorphism of P53 and breast cancer risk: a meta-analysis of case control studies. *BMC Med Genet* 2020; 21(1): 206. doi: [10.1186/s12881-020-01133-8](https://doi.org/10.1186/s12881-020-01133-8).
35. Zhao L, Yin XX, Qin J, et al. Association Between the TP53 Polymorphisms and Breast Cancer Risk: An Updated Meta-Analysis. *Front genet* 2022; 13: 807466. doi: [10.3389/fgene.2022.807466](https://doi.org/10.3389/fgene.2022.807466).

Original Article

Association of *WDR79* (rs2287497C>T) Polymorphism with Breast Cancer Susceptibility in Northwest of Iran

Z. Ebadi (MSc)^{1*}, S. Ghaffarian (PhD)^{1**}

¹ Department of Cellular and Molecular Biology, School of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

(Received 18 Jul, 2023

Accepted 9 Sep, 2023)

Abstract

Background: The *WDR79* gene encodes an antisense RNA which it is essential for stabilization and induction of p53 gene. *WDR79* gene Single nucleotide polymorphisms are associated with cancer risk. This study was done to assess the association of *WDR79* (rs2287497C>T) gene polymorphism with the risk and prognosis of breast cancer in women's of northwest Iran.

Materials and Methods: In this case-control study, the association of *WDR79* (rs2287497C>T) gene polymorphism with breast cancer susceptibility was studied in a statistical population consisting of 100 patients and 100 healthy controls aged 19-76 years old by Tetra ARMS-PCR. Statistical analysis was performed using javastat online statistics package and SPSS V.26.

Results: In the case group, the frequency of CC, TT, and TC genotypes were 76, 21, 3 percent respectively and they were 80, 18, and 2 percent for the control group. Also, C and T allele frequency in case group, was 86.5 and 13.5 percent and those in the control group were 89 and 11 percent respectively. Statistical analysis showed non-significant association between genotype and allele frequency and breast cancer. Also our results showed significant association between age and tumor size of patients with breast cancer in Northwest Iran.

Conclusion: These research findings suggest that *WDR79* (rs2287497C>T) polymorphism of rs2287497C/T is not related to the risk of breast cancer. There was significant relationship between this SNP polymorphism and pathological characteristic including age and tumor size.

Keywords: Breast Cancer, Single Nucleotide Polymorphism, *WDR79* gene, Tetra ARMS-PCR

©Iran South Med J. All rights reserved

Cite this article as: Ebadi Z, Ghaffarian S. Association of *WDR79* (rs2287497C>T) Polymorphism with Breast Cancer Susceptibility in Northwest of Iran. *Iran South Med J* 2023; 26(1): 1-13

**Address for correspondence: Department of Cellular and Molecular Biology, School of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

E. mail: s.ghaffarian@azruniv.ac.ir

*ORCID: 0009-0006-7982-8848

**ORCID: 0000-0003-0385-8638

Website: <http://bpums.ac.ir>
Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>