

بررسی سطح بیان ژن RAD51 پس از تابش پرتوهای یونیزان به سلول‌های لنفوسیت خونی به منظور ارزیابی ترمیم DNA در بیماران مبتلا به سرطان سینه مراجعه‌کننده به بیمارستان گلستان اهواز

سید علی حسین صابری^۱، محسن شفیعی^{۲*}، سید محمد حسینی^۳، سید محمود لطیفی^۴

چکیده

زمینه و هدف: سرطان سینه شایع‌ترین سرطان در بین زنان می‌باشد. یکی از روش‌های درمان این بیماری رادیوتراپی می‌باشد. مکانیسم‌های مختلف شامل تنظیم سیکل سلولی، ترمیم DNA و آپوپتوزیس در پاسخ به تابش پرتویی در سلول‌ها فعال می‌شوند. با بررسی وضعیت مکانیسم‌ها و مارک‌های بیولوژیکی، می‌توان پاسخ سلول‌های فرد به پرتو تابشی (حساسیت پرتویی) را ارزیابی کرد و با توجه به حساسیت پرتویی فرد، برنامه درمانی متناسب با بیمار تنظیم نمود هدف از این مطالعه ارزیابی حساسیت پرتویی در بیماران مبتلا به سرطان سینه و کمک به طراحی دقیق‌تر پروتکل‌های درمانی در رادیوتراپی است.

روش بررسی: در این پژوهش با استفاده از روش RT-qPCR، میزان بیان ژن RAD51 در سلول‌های لنفوسیت خونی در بیماران مبتلا به سرطان سینه و افراد سالم به دست آورده شد. ارتباط بیان ژن RAD51 در بیماران با پارامترهای کلینیکی به کمک آزمون‌های آماری غیرپارامتریک (Mann-Whitney and Kruskal-wallis tests) در نرم‌افزار SPSS 17 مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بیان ژن RAD51 در بیماران بعد از تابش پرتویی افزایش معناداری (P: 0/006, ۸ برابر) نسبت به افراد سالم نشان داد. رابطه معناداری بین بیان ژن RAD51 با گیرنده رشد اپیدرمال HER2/Neu (P: 0/024)، و سن بیماران (P: 0/03) یافت شد.

نتیجه‌گیری: بیان ژن RAD51 در سلول‌های لنفوسیت خونی می‌تواند مارکر بیولوژیکی مناسبی جهت سنجش حساسیت پرتویی در بیماران سرطان سینه باشد.

کلید واژگان: RAD51، حساسیت پرتویی، بیان ژن، سرطان سینه، رادیوتراپی.

۱- دانشیار گروه ژنتیک پزشکی.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیک پزشکی.

۳- استادیار گروه رادیوتراپی و آنکولوژی.

۴- مربی گروه آمار و اپیدمیولوژی.

۱- گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران.

۲- گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران.

۳- گروه رادیوتراپی و آنکولوژی، مرکز آموزشی درمانی بیمارستان گلستان اهواز، ایران.

۴- گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی- شاپور اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول:

محسن شفیعی؛ گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران.

تلفن: ۹۸۹۱۳۶۰۱۱۹۹۴

Email: Mohsen.shafiee65@gmail.com

مقدمه

ژن H2AX مارکر بیولوژیکی دخیل در فرایندهای ترمیمی HR و NHEJ می‌باشد که برای سنجش حساسیت پرتویی در بیماران کاربرد دارد (۷). مهمترین فرایند ترمیمی، در شکست‌های دو رشته‌ای DNA فرایند ترمیمی HR می‌باشد. در روش HR، شکست‌های دو رشته‌ای DNA از روی رشته سالم ترمیم می‌شوند. ژن RAD51 در فرایند ترمیمی HR، نقش محوری دارد (۸). این ژن در ژنوتایپ انسان در جایگاه 15q15.1 قرار گرفته و دارای ۱۰ اگزون می‌باشد. RAD51 و پارالگ‌های آن همانند RPA, BRCA1, BRCA2 به انتهای 3' رشته‌های آسیب دیده متصل می‌شوند و امکان بازشدگی رشته DNA همولوگ سالم را جهت سنتز رشته آسیب دیده فراهم می‌کنند. در این پژوهش مکانیسم ترمیم DNA به کمک مارکر بیولوژیکی RAD51 در سلول‌های خونی به منظور ارزیابی حساسیت پرتویی بافت سالم در بیماران مبتلا به سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفته است. برای این منظور بیان ژن RAD51 در سطح mRNA با استفاده از روش PCR کمی (RT-qPCR) اندازه‌گیری شده است. همچنین رابطه بین بیان ژن RAD51 و پارامترهای کلینیکی در بیماران مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

در این پژوهش، مقطعی (مورد-شاهد)، ۲۰ بیمار مبتلا به سرطان سینه که به بیمارستان گلستان اهواز مراجعه کرده بودند و بدخیمی آنها توسط متخصص آسیب‌شناسی مورد تأیید قرار گرفته بود، به عنوان گروه هدف در نظر گرفته شدند. این بیماران در محدوده سنی ۷۳-۳۱ و میانگین سنی 49 ± 11 قرار داشتند و تحت هیچ درمانی قرار نگرفته بودند و اطلاعات کلینیکی و پاراکلینیکی از پرونده بیماران و پرسش‌نامه تهیه گردید. ۲۰ نفر زن با میانگین سنی 36 ± 9

سرطان سینه یک بیماری شایع در بین زنان در کشورمان می‌باشد و دومین علت مرگ‌ومیر رایج ناشی از سرطان است (۱). یکی از روش‌های درمان سرطان سینه، رادیوتراپی است. هدف از رادیوتراپی، استفاده از پرتوهای یونیزان برای از بین بردن سلول‌های سرطانی بدخیم می‌باشد. در کنار درمان رادیوتراپی سلول‌های سالم بیماران نیز تحت تابش پرتویی قرار می‌گیرند. در شرایط درمانی (رادیوتراپی) استاندارد، بافت سالم بیماران پاسخ پرتویی متفاوتی را بروز می‌دهند. با پیشرفت علم رادیوبیولوژی امکان ارزیابی پاسخ سلول‌های بیمار (حساسیت پرتویی) به پرتوتابشی فراهم آمده است و با توجه به حساسیت پرتویی فرد، برنامه درمانی متناسب با بیمار تنظیم می‌شود (۲). بنابراین یکی از اهداف علم رادیوبیولوژی ارزیابی حساسیت پرتویی بیماران سرطان سینه برای کاهش عوارض زودرس و دیررس بعد از رادیوتراپی می‌باشد (۳). در رادیوبیولوژی، سلول‌های فیبروبلاست و لنفوسیت‌های خونی جهت بررسی آثار پرتویی، مورد استفاده قرار می‌گیرند. پاسخ این سلول‌ها به تابش پرتویی را می‌توان با بررسی مکانیسم‌ها و مارکرهای بیولوژیکی در سلولو بررسی آسیب‌های سیتوژنتیکی (در سطح کروموزوم) مورد ارزیابی قرار داد (۴، ۵). فرایندهای مختلف سلولی (نقاط تنظیمی، ترمیم DNA و آپوپتوزیس) در پاسخ به درمان رادیوتراپی (تابش پرتویی) در سلول‌ها فعال می‌شوند، مهمترین فرایند پاسخ به تابش رادیوتراپی، فرایندهای ترمیمی شکست‌های دو رشته‌ای DNA می‌باشند، زیرا بین آسیب‌های وارد شده به DNA سلول، شکست‌های دو رشته‌ای مهمترین علت مرگ سلولی می‌باشند (۲). بنابراین ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای اهمیت به‌سزایی در بقای سلول‌ها تحت تابش و آسیب بافتی دارد. از فرایندهای ترمیمی شکست‌های دو رشته‌ای می‌توان به HR (Homologous recombination) و NHEJ (non-homologous end joining) اشاره کرد (۶).

نانودرآپالودگی و غلظت RNA در هر یک از نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

(د) سنتز cDNA:

با کیت استخراج cDNA (Fermentas)، از هر یک از نمونه‌ها با توجه به غلظت RNA استخراج شده (۵-امیکروگرم)، cDNA تهیه شد. در این مرحله، از آنزیم ترانس کریپتاز معکوس (Reverse transcriptase) برای تبدیل mRNA به cDNA استفاده شد. برای هر ژن دو پرایمر رفت و برگشت طراحی شد، این پرایمرها توسط نرم-افزار Probe express software (Applied Biosystems) طراحی شدند و برای کاهش محصولات فرعی در اثر وجود DNAهای آلوده، طراحی پرایمر در نواحی آگزون‌ها انجام شد. توالی این پرایمرها به صورت زیر می‌باشد:

RAD51, F
 (5'GGCCTGCTGGAGAGAGGA3')
 RAD51, R
 (5'CCACACTGCTCTAACCGTGA3')
 B-actin, F
 (5'ATTGGCAATGAGCGGTTTC3')
 B-actin, R
 (5'GGATGCCACAGGACTCCAT3')

ه) انجام RT-qPCR

بعد از تعیین غلظت cDNA ساخته شده به کمک پرایمرهای طراحی شده واکنش RT-qPCR بهینه‌سازی گردید. این واکنش {primers (4μL-10Pmol), (8μL) Deionized water (4μL), Master mix (4μL) cDNA} در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر به کمک دستگاه ABI step one انجام شد. به منظور بهینه‌سازی واکنش به کمک رقت‌های مختلف محصول PCR، نمودارهای استاندارد و بازده واکنش برای ژن RAD51 (E=94%) و B-actin (E=97%) به دست آورده شد. سپس برای تمامی نمونه‌ها واکنش PCR طی یک سیکل 5min دردمای 94 C (Activation) و ۴۵ سیکل مراحل 15sec

سال و با محدوده سنی ۴۵-۲۲ به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. این افراد فاقد هرگونه بیماری ژنتیکی خاصی بودند (در پژوهش حاضر انتخاب حجم نمونه بر اساس پژوهش‌های قبلی که در رابطه با استفاده از مارکرهای بیولوژیکی در بررسی سرطان سینه انجام شده بودند، صورت گرفته است (۹)).

الف) نمونه‌گیری و تابش پرتویی:

ابتدا از جامعه مورد مطالعه نمونه خون محیطی (2ml) تهیه گردید، سپس طی شرایط استریل و در دمای ۴° به بخش شتاب‌دهنده بیمارستان گلستان اهواز انتقال داده شدند. در ادامه نمونه‌های خونی به وسیله دستگاه شتاب‌دهنده خطی (LINAC) تحت تابش پرتو ییدوگری (E=6Mev, Electron) قرار گرفتند.

ب) کشت سلولی:

خون محیطی تابش دیده بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد و به خون محیطی تابش دیده به میزان 2ml محیط کشت (RPMI1600 و 20% FBS) اضافه گردید و سپس به انکوباتور ۳۷ درجه انتقال داده شد.

ج) استخراج RNA:

با کمی تغییر در پروتکل شرکت سازنده (سینا ژن) از تمامی جامعه مورد نظر RNA سلولی استخراج شد. در این روش ابتدا گلبول‌های قرمز خون توسط 13ml بافر RBC Lysis Buffer IX لیز شدند و سلول‌های خونیه کمک سانتریفوژ رسوب شدند. در ادامه به کمک 1ml RNX plus (سیناژن) ابتدا سلول‌های خونی لیز شدند و در ادامه با کلروفوم (۲۰۰ میکرولیتر) و سانتریفوژ RNA سلولی به فازی جداگانه تفکیک شد. RNA جدا شده توسط ایزوپروپانول (۹۰۰ میکرولیتر) سرد رسوب داده می‌شود و با اتانول ۷۵٪، RNA استخراج شده را شست‌وشو دادیم. در پایان نیز به وسیله آب دیونیزه (RNase-free, ۲۵μL) رقت مورد نظر از RNA سلولی تهیه گردید. با دستگاه

یافته‌ها

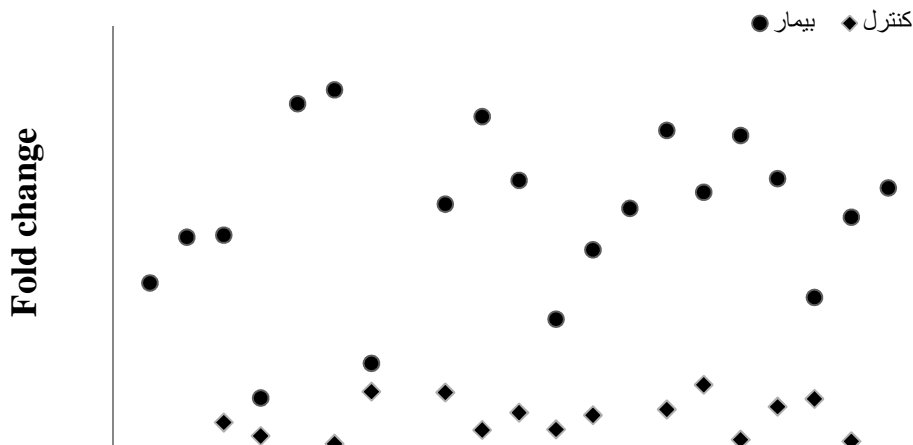
نتایج حاصل از qRT-PCR به کمک روش CT تجزیه و تحلیل شدند (۱۰). بیان ژن RAD51 در بیماران (Median=۱۷/۵۹، Range=۴/۳۶-۲۳/۶۳) معناداری (P: 0/006, 8 Fold change) نسبت به بیان این ژن در افراد سالم (Median=۲/۱۷، Range=۰/۳-۵/۲۷) داشت (نمودار ۱).

ارزیابی رابطه بیان ژن RAD51 در بیماران با پارامترهای کلینیکی نشان داد که ارتباط معناداری بین بیان ژن RAD51 و گیرنده HER2 (P: 0/024) وجود دارد، در بیماران با HER2⁺ بیان ژن RAD51 افزایش یافته بود. همچنین در بیمارانی که دارای میانگین سنی کمتری بودند، میزان بیان ژن RAD51 در آنها، افزایش معناداری (P: 0/03) نشان داده است. رابطه معناداری بین بیان ژن RAD51 با دیگر پارامترهای کلینیکی مشاهده نشد (جدول ۱).

دردمای 94 C (Denaturation)، 1min دردمای 65 C (Annealing) و 30sec دردمای 72 C (Extension) و یک سیکل 5min دردمای 72 C (Final Extension) انجام گردید. در این پروژیه بیان ژن در لئوسیت‌های تابش دیده افراد سالم به عنوان کالیبراتور در مقایسه با لئوسیت‌های تابش دیده افراد بیمار انتخاب شدند. نتایج به دست آمده با روش (E+۱ CT⁻ CT⁺) به کمک ژن رفرنس B-actin تجزیه و تحلیل شدند، برای تمامی جامعه مورد مطالعه بیان ژن RAD51 به دست آورده شد. در پژوهش حاضر بیماران با توجه به پارامترهای کلینیکی به گروه‌های مختلف تقسیم شدند و ارتباط بیان ژن RAD51 در بیماران با پارامترهای کلینیکی با استفاده از نسخه ۱۷ نرم افزار SPSS و به کمک آزمون‌های آماری غیرپارامتریک (Kruskal-wallis Test, Mann-whitney Test) تجزیه و تحلیل شدند.

جدول ۱: نتایج بررسی بیان ژن RAD51 با پارامترهای کلینیکی

پارامترهای کلینیکی	میانگین بیان ژن RAD51	آزمون آماری	P
سن بیماران	50 years > 50 years	Kruskal-wallis Test	۰/۰۳
تمایز یافتگی تومور (Grade)	G1 G2 G3	Kruskal-wallis Test	۰/۱۰
گیرنده پروژسترون	Negative Positive	Mann-whitney Test	۰/۵۵
گیرنده استروژن	Negative Positive	Mann-whitney Test	۰/۱۳
HER2/Neu	Negative Positive	Mann-whitney Test	۰/۰۲۴



نمودار ۱: تغییرات بیان ژن

بحث

ها (مانند HER2) شود، بنابراین افزایش ژن RAD51 منجر به تشدید و افزایش انکوژن HER2 شده است. طبق مطالعات گذشته بیماران مبتلا به سرطان سینه با میانگین سنی کمتر، میزان بقای کمترین نسبت به بیماران با میانگین سنی بالاتر دارند (۱۵) در این پژوهش نیز در بیماران با میانگین سنی کمتر از ۵۰ سال بیان ژن RAD51 افزایش یافته بود، از آنجا که افزایش بیان ژن RAD51 منجر به کاهش بقا در بیماران سرطان سینه (۱۶) می شود، به نظر می رسد یکی از دلایل کاهش بقا در بیماران با میانگین سنی کمتر، افزایش بیان ژن RAD51 می باشد. در سلول های فیروپلاست و سلول های خونی نسبت بیان ژن های شرکت کننده در فرایند های ترمیمی HR و NHEJ منجر به پاسخ های پرتویی متفاوتی در بیماران می شود (۱۷، ۱۸). کاهش عملکرد پروتئین های شرکت کننده در فرایندهای ترمیمی (به ویژه HR) در مدل های حیوانی و انسانی منجر به افزایش حساسیت پرتویی در سلول های تابشی می شود (۱۹) صالح و همکارانش با بررسی بیان ژن RAD51 در رده های سلولی فیروپلاست (پوست) بیماران سرطان سینه، نتیجه گرفتند که بین بیان ژن RAD51 و حساسیت پرتویی در سلول های

بیماران سرطان سینه با روش درمانی استاندارد رادیوتراپی، در پاسخ به تابش پرتویی عوارض متفاوتی بروز می دهند (۱۱). بنابراین اهمیت شناخت حساسیت پرتویی بیماران، جهت کاهش عوارض پرتویی در بیماران بیش از پیش نمایان می شود. با توجه به اینکه سلول های فیروپلاست به خوبی لنفوسیت ها نمی توانند پاسخ پرتویی بیماران را نمایان کنند (۱۲) و همچنین استفاده از نمونه های خونی بیماران و افراد سالم یک روش غیر تهاجمی می باشد، لنفوسیت های خون محیطی بیماران به عنوان سلول های مورد بررسی انتخاب شدند. از آنجا که دوز دوگرمی، دوزی با حساسیت و اختصاصیت کامل می باشد (۱۳)، و معادل دوز درمانی در هر جلسه درمان می باشد، این دوز جهت بررسی بیان ژن RAD51 انتخاب شد. پارامتر $HER2^+$ در بیماران سرطان سینه قدرت تهاجمی و متاستازی سرطان را نشان می دهد (۱۴) در این پژوهش در بیماران با $HER2^+$ بیان ژن RAD51 افزایش یافته بود ($P: 0/024$) از آنجا که $HER2^+$ یک پروتوانکوژن است، و از طرفی افزایش بیان ژن RAD51 می تواند باعث تشدید نوترکیبی (Recombination) و تشدید ژنی انکوژن-

در مورد رابطه بیان ژن RAD51 با حساسیت پرتویی در بیماران و پارامترهای کلینیکی انجام شود. بیان ژن RAD51 به صورت یک ژن خارجی در سلول و بررسی تشدید ژنی HER2 نیز می‌تواند در رابطه با علت فعال شدن انکوژن‌ها بسیار با اهمیت باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از پژوهش اخیر به شرح زیر می‌باشد:

- ۱) بیان ژن RAD51 در سلول‌های لنفوسیت خونی می‌تواند مارکر بیولوژیکی مناسبی جهت سنجش حساسیت پرتویی در بیماران سرطان سینه باشد.
- ۲) افزایش بیان ژن RAD51 می‌تواند باعث تشدید نوترکیبی و تشدید ژنی HER2 شود.
- ۳) افزایش بیان ژن RAD51 می‌تواند منجر به کاهش بقا در بیماران سرطان سینه شود.

قدردانی

از مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اهواز و از کارکنان مراکز شیمی درمانی و رادیوتراپی بیمارستان گلستان اهواز، به خاطر همکاری‌شان در انجام این پژوهش، قدردانی و تشکر می‌نمایم.

تابشی رابطه معناداری وجود ندارد (۲۰). در حالی که نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن RAD51 در لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران، افزایش معناداری (P:0/006) نسبت به افراد سالم دارد، که نشان از افزایش فرایند ترمیمی HR در بیماران نسبت به افراد سالم می‌باشد. از جهتی نیز نسبت بیان ژن RAD51 بعد از شرایط پرتویی یکسان در بیماران متفاوت (بازه ۲۳/۶۳-۴/۳۶) می‌باشد. مطالعه حاضر با مطالعه ساک و همکاران که بر روی سلول‌های فیبروبلاست انجام شد، هم‌راستا می‌باشد. در این مطالعه نشان داده شد که بیان ژن RAD51 می‌تواند مارکر بیولوژیکی مناسبی جهت حساسیت‌سنجی بیماران باشد (۲۱). با توجه به اینکه RAD51 نقش به‌سزایی در ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای و کاهش آپوپتوزیس (بقای سلول-ها) (۲۲) دارد و از آنجا که حساسیت پرتویی بیماران به تابش پرتویی متفاوت است، تغییرات بیان ژن RAD51 در سلول‌های خون محیطی می‌تواند، نشان‌دهنده مقاومت و یا حساسیت پرتویی در بیماران باشد. بنابراین می‌توان از بیان این ژن در بیماران به عنوان یک مارکر بیولوژیکی جهت سنجش حساسیت پرتویی آنها استفاده نمود. در پژوهش حاضر با توجه به اینکه مطالعه بالینی جهت ارتباط بیان ژن RAD51 با حساسیت پرتویی در بیماران، بعد از رادیوتراپی صورت نگرفته است، بنابراین لازم است پژوهشی کوهرت

منابع

- 1-Howell A, Sims AH, Ong KR, Harvie MN, Evans DG, Clarke RB. Mechanisms of Disease: prediction and prevention of breast cancer--cellular and molecular interactions. *Nat Clin Pract Oncol* 2005;2(12):635-46.
- 2-Hall EJ, Giaccia AJ. *Radiobiology for the Radiologist*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
- 3-Tutt A, Yarnold J. *Radiobiology of breast cancer*. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2006;18(3):166-78.
- 4-Chistiakov DA, Voronova NV, Chistiakov PA. Genetic variations in DNA repair genes, radiosensitivity to cancer and susceptibility to acute tissue reactions in radiotherapy-treated cancer patients. *Acta Oncol* 2008;47(5):809-24.
- 5-Duffy MJ, O'Donovan N, Crown J. Use of molecular markers for predicting therapy response in cancer patients. *Cancer treat Rev* 2011;37(2):151-9.
- 6-Groth P, Orta ML, Elvers I, Majumder MM, Lagerqvist A, Helleday T. Homologous recombination repairs secondary replication induced DNA double-strand breaks after ionizing radiation. *Nucleic Acids Res* 2012;40(14):6585-94.
- 7-Goodarzi AA, Jeggo PA. Irradiation induced foci (IRIF) as a biomarker for radiosensitivity. *Muta Res* 2011;736(1-2):39-47.

- 8-Henning W, Stürzbecher HW. Homologous recombination and cell cycle checkpoints: Rad51 in tumour progression and therapy resistance. *Toxicology* 2003;193(1-2):91-109.
- 9-Mitsunashi M, Peel D, Ziogas A, Anton-Culver H. Enhanced expression of Radiation-induced Leukocyte CDKN1A mRNA in Multiple Primary Breast Cancer Patients: Potential New Marker of Cancer Susceptibility. *Biomarker Insights* 2009;4:201-9.
- 10-Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2001;29(9):e45.
- 11-Rødningen OK, Børresen-Dale AL, Alsner J, Hastie T, Overgaard J. Radiation-induced gene expression in human subcutaneous fibroblasts is predictive of radiation-induced fibrosis. *Radiother Oncol* 2008;86(3):314-20.
- 12-Kasten-Pisula U, Vronskaja S, Overgaard J, Dikomey E. In normal human fibroblasts variation in DSB repair capacity cannot be ascribed to radiation-induced changes in the localisation, expression or activity of major NHEJ proteins. *Radiother Oncol* 2008;86(3):321-8.
- 13-Paul S, Amundson SA. Development of gene expression signatures for practical radiation biodosimetry. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008;71(4):1236-44.
- 14-Colón E, Reyes JS, González Keelan C, Climent-Peris C. Prevalence of steroid Receptors and HER-2/neu in breast cancer biopsies of women living in Puerto Rico. *PR Health sci J* 2002;21(4):299-303.
- 15-Benz CC, Thor AD, Eppenberger-Castori S, Eppenberger U, Moore D 3rd. Understanding the age dependency of breast cancer biomarkers. *Adv Gerontol* 2003;11:117-20.
- 16-Le Scodan R, Cizeron-Clairac G, Fourme E, Meseure D, Vacher S, Spyrtos F, et al. DNA repair gene expression and risk of locoregional relapse in breast cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010;78(2):328-36.
- 17-Djuzenova C, Mühl B, Schakowski R, Oppitz U, Flentje M. Normal expression of DNA repair proteins, hMre11, Rad50 and Rad51 but protracted formation of Rad50 containing foci in X-irradiated skin fibroblasts from radiosensitive cancer patients. *Br J Cancer* 2004;90(12):2356-63.
- 18-Leong T, Chao M, Bassal S, McKay M. Radiation-hypersensitive cancer patients do not manifest protein expression abnormalities in components of the nonhomologous end-joining (NHEJ) pathway. *Br J Cancer* 2003;88(8):1251-5.
- 19-Ruffner H, Joazeiro CA, Hemmati D, Hunter T, Verma IM. Cancer-predisposing mutations within the RING domain of BRCA1: loss of ubiquitin protein ligase activity and protection from radiation hypersensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(9):5134-9.
- 20-Saleh EM, El-Awady RA. Expression of RAD51, BRCA1 and P53 does not correlate with cellular radiosensitivity of normal human fibroblasts. *Ir J Med Sci* 2011;180(3):715-20.
- 21-Sak A, Stueben G, Groneberg M, Böcker W, Stuschke M. Targeting of Rad51-dependent homologous recombination: implications for the radiation sensitivity of human lung cancer cell lines. *Br J Cancer* 2005;92(6):1089-97.
- 22-Collis SJ, Tighe A, Scott SD, Roberts SA, Hendry JH, Margison GP. Ribozyme minigene-mediated RAD51 down-regulation increases radiosensitivity of human prostate cancer cells. *Nucleic Acids Res* 2001;29(7):1534-8.

The Expression Levels of RAD51 after Ionizing Radiation in Peripheral Blood Lymphocytes for Evaluation of DNA Repair in Breast Cancer Patients Referred to Ahvaz Golestan Hospital

Seyed Ali Hossein Saberi¹, Mohsen Shafiee^{2*}, Seyed Mohammad Husseini³,
Seyed Mahmoud Latifi⁴

1-Associate Professor of Medical Genetic.

2-MSc Student of Medical Physics.

3-Assistant Professor of Radiotherapy and Oncology.

4-Lecturer of Epidemiology & Biostatistics.

1-Department of Medical Genetic Ahvaz, Cellular and Molecular Biology Research Center, University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

2-Department of Medical Physics, Ahvaz, University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

3-Department of Radiotherapy & Oncology, Golestan Hospital.

4-Department of Epidemiology & Biostatistics, Diabetes Research Center, School of Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author:

Department of Medical Physics, Ahvaz, University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Tel: +989136011994

Email: Mohsen.Shafiee65@gmail.com

Abstract

Background and Objective: Breast cancer is one of the most common cancers among the women. One of the radical method for treatment of breast cancer is radiotherapy. Radiation induces different responses in cells, including cell cycle checkpoint activation, DNA repair and apoptosis. To check cellular responses and radiosensitivity in each patient, DNA repair mechanism and proteins, as biological markers, can be evaluated. Based on the repair capacity and radiosensitivity of cells in each patient we can design a treatment planning using radiation therapy. The purpose of this study was to evaluate to the radiosensitivity in breast cancer patients to improve treatment planning.

Subjects and Methods: A quantitative reverse transcriptase PCR-based assay for measurement of the expression level of RAD51 in lymphocyte cells for all breast cancer patients and healthy controls. Statistical analyses were performed using SPSS17 software. The relation between the expression level of RAD51 and clinical characteristics of patients was analyzed by using the nonparametric Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests.

Results: The expression level of RAD51 significantly up regulated in the peripheral blood lymphocytes of patients ($P=0.006$, 8 Fold change) compared to healthy controls. A significant correlation between the expression level of RAD51 and HER2/neu ($P=0.024$) as well as patients age ($P=0.03$).

Conclusion: Expression level of RAD51 in lymphocyte cells can be a useful biological marker for evaluation of radiosensitivity in breast cancer.

Keyword: RAD51, Gene expression, Breast cancer, Radiotherapy, Radiosensitivity.

Please cite this paper as:

Hossein Saberi SA, Shafiee M, Husseini SM, Latifi SM. The Expression Levels of RAD51 after Ionizing Radiation in Peripheral Blood Lymphocytes for Evaluation of DNA Repair in Breast Cancer Patients Referred to Ahvaz Golestan Hospital. *Jundishapur Sci Med J* 2013; 12(3):299-306

Received: Dec23, 2012

Revised: Jan23, 2013

Accepted: Feb 9, 2013