**(مقالة پژوهشي)**

بررسي سطح بيان ژن RAD51 پس از تابش پرتوهاي يونيزان به سلول­هاي لنفوسيت خوني به منظور ارزيابي ترميم DNAدربيماران مبتلا به سرطان سينه مراجعه­کننده به بيمارستان گلستان اهواز

سيد علي­حسين صابري1، محسن شفيعي2\*، سيد محمّد حسيني3، سيد محمود لطيفي4

1- دانشیار گروه ژنتيك پزشکي.

2-دانشجوي کارشناسی­ارشد فيزيک پزشکي.

3- استاديار گروه راديوتراپي و آنکولوژي.

4- مربي گروه آمار واپيدميولوژي.

1-گروه ژنتيک پزشکي،دانشکدة پزشکي، مرکز تحقيقات سلولي مولکولي، دانشگاه علوم پزشکي جندي­شاپور اهواز، ايران.

2-گروه فيزيک پزشکي،دانشکدة پزشکي، دانشگاه علوم پزشکي جندي­شاپور اهواز، ايران.

3- گروه راديوتراپي وآنکولوژي، مرکز آموزشي درماني بيمارستان گلستان اهواز، ایران.

4- گروه آمار واپيدميولوژي، دانشكدة بهداشت، دانشگاه علوم پزشکي جندي­شاپور اهواز، ايران.

**\*** نويسندة مسؤول:

محسن شفيعي؛گروه فيزيک پزشکي، دانشکدة پزشکي، دانشگاه علوم پزشکي جندي­شاپور اهواز، ايران.

تلفن:989136011994

Email: [Mohsen.shafiee65@ gmail.com](mailto:Mohsen.shafiee65@%20gmail.com)

چكيده

زمينه و هدف:سرطان سينه شايع­ترين سرطان در بين زنان مي­باشد. يکي از روش­هاي درمان اين بيماري راديوتراپي مي­باشد. مکانيسم­هاي مختلف شامل تنظيم سيکل سلولي، ترميم DNA و آپوپتوزيس در پاسخ به تابش پرتويي در سلول­ها فعال مي­شوند. با بررسي وضعيت مکانيسم­ها و مارکرهاي بيولوژيکي، مي­توان پاسخ سلول­هاي فرد به پرتو تابشي(حساسيت پرتويي) را ارزيابي کرد و با توجه به حساسيت پرتويي فرد، برنامه درماني متناسب با بيمار تنظيم نمود هدف از این مطالعه ارزیابی حساسیت پرتویی در بیماران مبتلا به سرطان سینه و کمک به طراحی دقیق تر پروتوکل های درمانی دررادیو تراپی است.

روش بررسي: در اين پژوهش با استفاده از روش RT-qPCR، ميزان بيان ژن RAD51 در سلول­هاي لنفوسيت خوني در بيماران مبتلا به سرطان سينه و افراد سالم به­دست آورده شد.ارتباط بيان ژنRAD51 در بيماران با پارامترهاي کلينيکي به کمک آزمون­هاي آماري غير­پارامتريک (Mann-Whitney and Kruskal-wallis tests) در نرم­افزارSPSS17مورد بررسي قرار گرفت.

يافته­ها:بيان ژن RAD51 در بيماران بعد از تابش پرتويي افزايش معنا­داري(P: 0/006 , 8 برابر ) نسبت به افراد سالم نشان داد. رابطة معنا­داري بين بيان ژن RAD51 با گيرندة رشد اپييدرمالNeu/HER2 (P: 0/024)، و سن بيماران (P: 0/03) يافت شد.

نتيجه­گيري: بيان ژنRAD51 در سلول­هاي لنفوسيت خوني مي­تواند مارکر بيولوژيکي مناسبي جهت سنجش حساسيت پرتويي در بيماران سرطان سينه باشد.

کليد واژگان:RAD51 ، حساسيت پرتويي، بيان ژن، سرطان سينه، راديوتراپي.

**دريافت مقاله: 3/10/1391 دريافت مقالة اصلاح­شده: 4/11/1391 اعلام قبولي: 21/11/1391**

مقدمه

سرطان سينه يک بيماري شايع در بين زنان در کشورمان مي­باشد و دومين علت مرگ­ومير رايج ناشي از سرطان است(1). يکي از روش­هاي درمان سرطان سينه، راديوتراپي است. هدف از راديوتراپي، استفاده از پرتوهاي يونيزان براي از بين بردن سلول­هاي سرطاني بدخيم­مي­باشد.در کنار درمان راديوتراپي سلول­هاي سالم بيماران نيز تحت تابش پرتويي قرار مي­گيرند. در شرايط درماني(راديوتراپي) استاندارد، بافت سالم بيماران پاسخ پرتويي متفاوتي را بروز مي­دهند. با پيشرفت علم راديوبيولوژي امکان ارزيابي پاسخ سلول­هاي بيمار(حساسيت­پرتويي) به پرتوتابشي فراهم آمده است و با توجه به حساسيت پرتويي فرد، برنامة درماني متناسب با بيمار تنظيم مي­شود(2). بنابراين يکي از اهداف علم راديوبيولوژي ارزيابي حساسيت پرتويي بيماران سرطان سينه براي کاهش عوارض زودرس وديررس بعد از راديوتراپي مي­باشد(3). در راديوبيولوژي، سلول­هاي فيبروبلاست و لنفوسيت­هاي خوني جهت بررسي آثار پرتويي، مورد استفاده قرار مي­گيرند.پاسخ اين سلول­ها به تابش پرتويي را مي­توان با بررسي مکانيسم­ها ومارکرهاي بيولوژيکي در سلولو بررسي آسيب­هاي سيتوژنتيکي (در سطح کروموزوم) مورد ارزيابي قرار داد(4، 5).فرايند­هاي مختلف سلولي (نقاط تنظيمي، ترميمDNA و آپوپتوزيس) در پاسخ به درمان راديو­تراپي(تابش پرتويي)در سلول­ها فعال مي­شوند، مهمترين فرايند پاسخ به تابش راديوتراپي، فرايند­هاي ترميمي شکست­هاي دو رشته­ايDNAمي­باشند، زيرا بين آسيب­هاي وارد شده بهDNA سلول، شکست­هاي دو رشته­اي مهمترين علت مرگ سلولي مي­باشند (2). بنابراين ترميم شکست­هاي دو رشته­اي اهميت به­سزايي در بقاي سلو­ل­هايت حت تابش وآسيب بافتي دارد. از فرايند­هاي ترميمي شکست­هاي دو رشته­اي مي­توان به (Homologous recombination)HR و (Non homologous end joining) NHEJاشاره کرد (6). ژنγH2AX مارکر بيولوژيکي دخيل در فرايندهاي ترميمي HR وNHEJ­ مي­باشد که براي سنجش حساسيت پرتويي در بيماران کاربرد دارد(7). مهمترين فرايند ترميمي، در شکست­هاي دو رشته­ايDNA فرايند ترميميHR مي­باشد.در روش HR،شکست‌هاي دو رشته­ايDNA از روي رشتة سالم ترميم مي­شوند. ژن RAD51 در فرايند ترميميHR‌، نقش محوري دارد(8). اينژندر ژنوتايپ انسان در جايگاه15q15.1 قرار گرفته و داراي 10 اگزون مي­باشد.RAD51 و پارالگ­هاي آن همانند RPA,BRCA1, BRCA2 به انتهاي3⬝ رشته­هاي آسيب ديده متصل مي­شوند و امکان باز­شدگي رشتة DNAهمولوگ سالم را جهت سنتز رشتةآسيب ديده فراهم مي­کنند.در اين پژوهش مکانيسم ترميم DNA به کمک مارکر بيولوژيکيRAD51 در سلول­هاي خوني به منظور ارزيابي حساسيت پرتويي بافت سالم در بيماران مبتلا به سرطان سينه مورد بررسي قرار گرفته است.براي اين منظور بيان ژنRAD51درسطح mRNA با استفاده از روش PCR کمي ((RT-qPCR اندازه‌گيري شده است. همچنين رابطة بين بيان ژن RAD51 و پارامترهاي کلينيکي در بيماران مورد بررسي قرار گرفته است.

**روش بررسي**

دراين پژوهش، مقطعي (مورد- شاهد)، 20 بيمار مبتلا به سرطان سينه که به بيمارستان گلستان اهواز مراجعه کرده بودند و بدخيمي آنها توسط متخصص آسيب­شناسي مورد تأييد قرار گرفته بود، به عنوان گروه هدف در نظر گرفته شدند. اين بيماران در محدودة سني 73-31 و ميانگين سني 11±49 قرار داشتند و تحت هيچ درماني قرار نگرفته بودند و اطلاعات کلينيکي و پاراکلينيکي از پروندة بيماران و پرسش­نامه تهيه گرديد.20 نفر زن با ميانگين سني9 ±36 سال وبا محدودة سني45-22 به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. اين افراد فاقد هرگونه بيماري ژنتيکي خاصي بودند(در پژوهش حاضر انتخاب حجم نمونه بر اساس پژوهش­هاي قبلي که در رابطه با استفاده از مارکرهاي بيولوژيکي در بررسي سرطان سينه انجام شده بودند، صورت گرفته است(9).

الف) نمونه­گيري وتابش پرتويي:

ابتدا از جامعة مورد مطالعه نمونة خون محيطي (2ml) تهيه گرديد، سپس طي شرايط استريل و در دمايₒ4 به بخش شتاب­دهندة بيمارستان گلستان اهواز انتقال داده شدند.در ادامه نمونه­هاي خوني به وسيلة دستگاه شتاب­دهندة خطي (LINAC)تحت تابش پرتوييدوگري (E=6Mev, Electron) قرار گرفتند.

ب)کشت سلولي:

خون محيطي تابش ديده بلافاصله به آزمايشگاه انتقال داده شد و به خون محيطي تابش ديده به ميزان 2mlمحيط کشت( RPMI1600 و20% FBS) اضافه گرديد و سپس به انکوباتور 37درجه انتقال داده شد.

ج)استخراج RNA:

با کمي تغييردر پروتکل شرکت سازنده(سينا ژن) از تمامي جامعة مورد نظرRNA سلولي استخراج شد.در اين روش ابتدا گلبول­هاي قرمز خون توسط13ml بافرRBC Lysis Buffer1X ، ليز شدند و سلول­هاي خونيبه کمک سانتريفوژرسوب شدند. در ادامه به کمک1ml RNX plus(سيناژن) ابتدا سلول­هاي خوني ليز شدند و در ادامه باکلروفوم (200ميکروليتر) و سانتريفيوژRNAسلولي به فازي جداگانه تفکيک شد. RNA جدا شده توسط ايزوپروپانول (900ميکروليتر) سرد رسوب­ داده مي­شودو با اتانول75%،RNA استخراج شده را شست­وشو داديم.در پايان نيز به وسيلة آب ديونيزه (Lµ25،RNase-free) رقت مورد نظر از RNA سلولي تهيه گرديد. با دستگاه نانودرآپآلودگي وغلظتRNAدرهر يک از نمونه­ها مورد بررسي قرار گرفتند.

د) سنتزcDNA:

با کيت استخراج cDNA(Fermentas)، از هر يک از نمونه­ها با توجه به غلظتRNA استخراج شده(5-1ميکروگرم)،cDNA تهيه شد. در اين مرحله،از آنزيم ترانس­کريپتاز معکوس(Reverse transcriptase)براي تبديل mRNAبه cDNA استفاده شد. براي هرژن­ دو پرايمر رفت و برگشت طراحي­ شد،اين پرايمرها توسط نرم­افزار Probe express software (Applied Biosystems) طراحي شدند و براي کاهش محصولات فرعي در اثر وجودDNAهاي آلوده، طراحي پرايمر در نواحي اگزون­ها انجام شد. توالي اين پرايمر­ها به صورت زير مي­باشد:

RAD51, F (5'GGCCTGCTGGAGAGAGGA3')

RAD51, R (5'CCACACTGCTCTAACCGTGA3')

B-actin, F (5'ATTGGCAATGAGCGGTTC3')

B-actin, R (5'GGATGCCACAGGACTCCAT3')

**ه)انجام RT-qPCR**:

بعد از تعيين غلظت cDNA ساخته شده به کمک پرايمرهاي طراحي شده واکنشRT-qPCR بهينه­سازي گرديد. اين واکنش {(L-10Pmolµ4)primers،(Lµ8) Master mix ،(Lµ4)Deionized water ،(Lµ4)cDNA} در حجم نهايي20 ميکروليتر به کمک دستگاه ABIstep one انجام شد. به منظور بهينه­سازي واکنش به کمک رقت­هاي مختلف محصول PCR، نمودارهاي استاندارد وبازده واکنش براي ژنRAD51 (E=94%) وB-actin(E=97%) به­دست آورده­شد.سپس براي تمامي نمونه­ها واکنش PCR طي يک سيکل5min دردماي94◦C(Activation) و 45 سيکل مراحل 15sec دردماي94◦C (Denaturation)، 1min دردماي65◦C (Annealing)و30sec دردماي72◦C (Extension) ويک سيکل 5min در دماي72◦C (Final Extension) انجام گرديد.در اين پروژه بيان ژن در لنفوسيت­هاي تابش ديدة افراد سالم به عنوان کاليبراتور در مقايسه با لنفوسيت­هاي تابش ديدة افراد بيمار انتخاب شدند. نتايج به­دست آمده با روشΔΔCT-ΔΔCT)1+(E به کمک ژن رفرنسB-actin تجزيه و تحليل شدند، براي تمامي جامعة مورد مطالعه بيان ژن RAD51به­دست آورده شد.در پژوهش حاضر بيماران با توجه به پارامترهاي کلينيکي به گروه­هاي مختلف تقسيم شدند و ارتباط بيان ژن RAD51 در بيماران با پارامتر­هاي کلينيکي با استفاده از نسخة 17 نرم­افزارSPSS و به کمک آزمون­هاي آماري غيرپارامتريک  
( Mann-whitney Test،Kruskal-wallis Test) تجزيه و تحليل شدند.

**يافته­ها**

نتايج حاصل از qRT-PCR به کمک روشΔΔCT تجزيه و تحليل شدند(10). بيان ژن RAD51،در بيماران (59/17Median=، 63/23- 36/4Range=افزايش معناداري(P:0/006 , 8 Fold change) نسبت به بيان اين ژن در افراد سالم (17/2 , Median=27/5-3/0Range=)داشت (نمودار1).

ارزيابي رابطة بيان ژنRAD51در بيماران با پارامتر­هاي کلينيکي نشان داد که ارتباط معنا­داري بين بيان ژن RAD51 و گيرندة HER2(P: 0/024) وجود دارد،در بيماران با +HER2، بيان ژن RAD51 افزايش يافته بود. همچنين در بيماراني که داراي ميانگين سنّي کمتري بودند، ميزان بيان ژن RAD51 در آنها، افزايش معنا­داري  
 (P: 0/03) نشان داده است. رابطة معنا­داري بين بيان ژن RAD51 با ديگر پارامترهاي کلينيکي مشاهده نشد(جدول 1).

**جدول 1: نتايج بررسي بيان ژنRAD51 با پارامترهاي کلينيکي**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| P | آزمون آماري | ميانگين بيان ژن RAD51 | پارامترهاي کلينيکي | |
| 03/0 | Kruskal-wallis Test | 25/2±46/9 | ≤50 years | سن بيماران |
| 11/2±64/6 | > 50 years |
| 10/0 | Kruskal-wallis Test | 79/0±58/5 | G1 | تمايز يافتگي  تومور  )Grade( |
| 64/2±17/9 | G2 |
| 37/2±73/7 | G3 |
| 55/0 | Mann-whitney Test | 14/2±05/8 | Negative | گيرنده  پروژسترون |
| 18/2± 81/8 | Positive |
| 13/0 | Mann-whitney Test | 13/2±34/9 | Negative | گيرنده  استروژن |
| 15/2± 51/8 | Positive |
| 024/0 | Mann-whitney Test | 26/2±10/7 | Negative | HER2/Neu |
| 74/2±89/9 | Positive |

**نمودار1: تغييرات بيان ژن**

**بحث**

بيماران سرطان سينه با روش درماني استاندارد راديوتراپي، در پاسخ به تابش پرتويي عوارض متفاوتي بروز مي­دهند(11). بنابراين اهميت شناخت حساسيت پرتويي بيماران، جهت کاهش عوارض پرتويي در بيماران بيش از پيش نمايان مي­شود.با توجه به اينکه سلول­هاي فيبروبلاست به خوبي لنفوسيت­ها نمي­توانند پاسخ پرتويي بيماران را نمايان کنند(12) و همچنين استفاده از نمونه­هاي خوني بيماران و افراد سالم يک روش غير تهاجمي مي­باشد، لنفوسيت­هاي خون محيطي بيماران به عنوان سلول­هاي مورد بررسي انتخاب شدند. از آنجا که دوز دوگري، دوزي با حساسيت و اختصاصيت کامل مي­باشد(13)، و معادل دوز درماني در هر جلسةدرمان مي­باشد، اين دوز جهت بررسي بيان ژن RAD51 انتخاب شد.پارامترHER2+در بيماران سرطان سينه قدرت تهاجمي و متاستازي سرطان­ رانشان مي­هد (14) در اين پژوهش در بيماران با +HER2، بيان ژن RAD51 افزايش يافته بود(P: 0/024)از آنجا که HER2 يک پروتوانکوژن است، و از طرفي افزايش بيان ژن RAD51 مي­تواند باعث تشديد نوترکيبي (Recombination) و تشديد ژني انکوژن­ها(مانندHER2)شود، بنابراين افزايش ژن RAD51 منجر به تشديد و افزايش انکوژن­HER2شده است. طبق مطالعات گذشته بيماران مبتلا به سرطان سينه با ميانگين سني کمتر،ميزان بقاي کمترينسبت به بيماران با ميانگين سنّي بالاتردارند(15) در اين پژوهش نيز در بيماران با ميانگين سني کمتراز 50 سال بيان ژن RAD51 افزايش يافته بود، ازآنجا که افزايش بيان ژن RAD51 منجربه کاهش بقا در بيماران سرطان سينه (16) مي­شود، به نظر مي­رسد يکي از دلايل کاهش بقا در بيماران با ميانگين سني کمتر، افزايش بيان ژن RAD51مي­باشد. در سلول­هاي فيبروبلاست و سلول­هاي خوني نسبت بيان ژن­هاي شرکت­کننده در فرايند­هاي ترميمي HRوNHEJ­منجر به پاسخ­هاي پرتويي متفاوتي در بيماران مي­شود(17، 18).کاهش عملکرد پروتئين­هاي شرکت­کننده در فرايندهاي ترميمي(به­ويژه HR) در مدل­هاي حيواني و انساني منجر به افزايش حساسيت پرتويي در سلول­هاي تابشي مي­شود(19)صالح و همکارانش با بررسي بيان ژن RAD51 در رده­هاي سلولي فيبروبلاست (پوست) بيماران سرطان سينه، نتيجه گرفتند که بين بيان ژن RAD51 و حساسيت پرتويي در سلول­هاي تابشي رابطة معنا­داري وجود ندارد(20). در حالي که نتايج پژوهش حاضر نشان دادکه بيان ژن RAD51 در لنفوسيت­هاي خون محيطي بيماران، افزايش معناداري (P:0/006) نسبت به افراد سالم دارد، که نشان از افزايش فرايند ترميميHR در بيماران نسبت به افراد سالم مي­باشد.از جهتي نيز نسبت بيان ژن RAD51‌بعد از شرايط پرتويي يکسان در بيماران متفاوت(بازة63/23-36/4) مي­باشد. مطالعة حاضر با مطالعة ساک و همکاران که بر روي سلول­هاي فيبروبلاست انجام شد، هم­راستا مي­باشد. در اين مطالعه نشان داده شد که بيان ژن RAD51مي­تواند مارکر بيولوژيکي مناسبي جهت حساسيت­سنجي بيماران باشد (21). با توجه به اينکه RAD51 نقش به­سزايي در ترميم شکست­هاي دو رشته­اي و کاهش آپوپتوزيس(بقاي سلول­ها)(22) دارد و از آنجا که حساسيت پرتويي بيماران به تابش پرتويي متفاوت است، تغييرات بيان ژن RAD51 در سلول­هاي خون محيطي مي­تواند، نشان­دهندة مقاومت ويا حساسيت پرتويي در بيماران باشد.بنابراين مي­توان از بيان اين ژن در بيماران به عنوان يک مارکر بيولوژيکي جهت سنجش حساسيت پرتويي آنها استفاده نمود. در پژوهش حاضر با توجه به اينکه مطالعة باليني جهت ارتباط بيان ژن RAD51 باحساسيت پرتويي در بيماران، بعد از راديوتراپي صورت نگرفته است، بنابراين لازم است پژوهشي کوهرت در مورد رابطة بيان ژن RAD51با حساسيت پرتويي در بيماران و پارامترهاي کلينيکي انجام شود.بيان ژن RAD51 به صورت يک ژن خارجي در سلول و بررسي تشديد ژنيHER2 نيز مي­توانددر رابطه با علّت فعال شدن انکوژن­ها بسيار با اهميت ­باشد.

نتيجه­گيري: نتايج حاصل از پژوهش اخيربه شرح زير مي­باشد:

1)بيان ژنRAD51 در سلول­هاي لنفوسيت خوني مي­تواند مارکر بيولوژيکي مناسبي جهت سنجش حساسيت پرتويي در بيماران سرطان سينه باشد.

2) افزايش بيان ژن RAD51 مي­تواند باعث تشديد نوترکيبي و تشديد ژنيHER2 شود.

3)افزايش بيان ژن RAD51 مي­تواند منجربه کاهش بقا در بيماران سرطان سينه ­شود.

**قدرداني**

از مرکز تحقيقات سلولي مولکولي دانشگاه علوم پزشکي اهواز و از کارکنان مراکز شيمي درماني و راديوتراپي بيمارستان گلستان اهواز، به خاطر همکاريشان در انجام اين پژوهش، قدرداني و تشکر مي­نماييم.

**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)](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tutt+A%2C+Yarnold+J.+Radiobiology+of+breast+cancer) 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-Mitsuhashi 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Col%C3%B3n%20E%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12572236), [Reyes JS](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Reyes%20JS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12572236), [González Keelan C](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Gonz%C3%A1lez%20Keelan%20C%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12572236), [Climent-Peris C](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Climent-Peris%20C%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12572236). Prevalence of steroied 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Benz%20CC%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12820531), [Thor AD](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Thor%20AD%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12820531), [Eppenberger-Castori S](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Eppenberger-Castori%20S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12820531), [Eppenberger U](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Eppenberger%20U%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12820531), [Moore D 3rd](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Moore%20D%203rd%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12820531). 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, Spyratos 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 Shafiee2\*, Seyed Mohammad Husseini3,**

**Seyed Mahmoud Latifi4**

**Abstract**

*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-Departmant of Medical GeneticAhvaz, Cellular and Molecular Biology Research Center, University of Medical Sciences. Ahvaz, Iran.*

*2-Departmant 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:*

*Departmant of Medical Physics, Ahvaz,University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.*

*Tel:+989136011994*

*Email:*[*Mohsen.Shafiee65@ gmail. com*](mailto:Mohsen.Shafiee65@%20gmail.%20com)

**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 RAD51and 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 significantcorrelation 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**.c resincluded 30 remaidedمتوسط ، 2/0 تا 4/0 به معنای توافق ضعیف و کمتر از 2/0 به معنای توافق ناچیز در نظر گرفته شد.