مقاله پژوهشی

تأثیر پلی مورفیسم ناحیه ′۵ ژن لپتین (G2548A) بر احتمال ابتلا به سرطان پستان در دو گروه موردمطالعه

زهرا طهماسبی فرد*

گروه زیست‌شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۱/۳۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۴/۰۱

چکیده

زمینه و هدف: لپتین هورمون مترشحه از بافت چربی، در تنظیم هموستازی انرژی نقش دارد. پلی‌مورفیسم در ساختار ژن، می‌تواند مقدار سرمی هورمون را تغییر داده و بر عملکرد سلول‌ها مؤثر باشد. در این مطالعه ارتباط بین پلی‌مورفیسم G2548A از ژن لپتین با شانس ابتلا به سرطان پستان در بیماران مبتلا در مقایسه با افراد سالم بررسی شد.

مواد و روش‌ها: از ۱۵۸ زن مبتلابه سرطان پستان و ۱۵۸ زن سالم، در همان طیف سنی خون‌گیری شد و پس از استخراج DNA و تکثیر نمونه‌ها با پرایمرهای اختصاصی، بخشی از محصولات به کمک آنزیم محدودکننده *Hha* I هضم شدند تا ژنوتایپ افراد بر اساس تعداد باندهای تشکیل‌شده بر روی ژل تعیین شود. نتایج به‌دست‌آمده با آزمون‌های آماری کای دو و رگرسیون لجستیک بررسی شد.

نتایج: میانگین سنی افراد بیمار ۵۶/۰۰ ±۰/۶۲ سال و افراد شاهد ۵۵/۴۵ ±۰/۷۲ سال بود (p-value=0.037). در مورد متغیر مصرف سیگار نیز دو گروه رابطه معناداری مشاهده شد (p-value=0.026). سابقه ابتلا بستگان به بیماری سرطان پستان، در ۴۳ (۲۷/۲۲٪) مورد از مبتلایان مثبت بود. آنالیز نتایج حاصل از ژنوتایپ‌ها نشان داد که ژنوتایپ هموزیگوت موتانت AA در دو گروه رابطه‌ی معنادار داشت و شانس ابتلا به سرطان پستان را ۱/۶۸۶ برابر افزایش می‌داد (P-Value =0.036, OR:1.686, CI95%:1.033-2.753).

نتیجه‌گیری: فراوانی الل موتانت A در گروه بیمار بیش از گروه شاهد بود و شانس ابتلا به سرطان پستان را ۱/۷۶۳ برابر در حاملین آن افزایش می‌داد. درمجموع می‌توان گفت که احتمالاً این پلی‌مورفیسم با سرطان پستان مرتبط است.

کلمات کلیدی: سرطان پستان، لپتین، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی، پلی مورفیسم طولی قطعات محدودشده

مقدمه

سرطان پستان (BC) یکی از رایج‌ترین علل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان است و بیشترین سرطان تشخیص داده‌شده در زنان سراسر جهان است. در بروز BC دلایلی نظیر طول عمر طولانی، افزایش مواجهه با عوامل خطرساز مثل درمان جایگزین هورمون، مصرف الکل، سابقه خانوادگی BC و چاقی مطرح می‌شود. شناسایی عوامل پیش‌آگهی جدید و اهداف درمانی برای BC به‌منظور طبقه‌بندی بیماران سرطانی، نظارت بر پیشرفت تومور و تشخیص زودهنگام ضروری است (۱).

مولکول‌های پیام‌رسان مشتق شده از بافت چربی، ازجمله لپتین، نقش‌های مهمی در ویژگی‌های متابولیک مرتبط با بدخیمی سرطان پستان دارند آن‌ها با بر هم زدن تعادل انرژی سلولی از طریق β -اکسیداسیون میتوکندری تا مسیر گلیکولیتیک هوازی، اعمال اثر می‌کنند (۲). همچنین، لپتین می‌تواند رشد تومور پستان را از طریق چندین مکانیسم مانند تعدیل محیط خارج سلولی، کاهش تنظیم آپوپتوز و یا با افزایش تنظیم ژن‌های ضد آپوپتوزی تحریک کند (۳). لپتین و گیرنده آن، در تومورهای پستان با درجه بالا، افزایش بیان را نشان داده‌اند که با پیشرفت و کاهش بقای فرد مبتلابه سرطان پستان مرتبط بودند (۴).

*نویسنده مسئول: **زهرا طهماسبی فرد**، گروه زیست‌شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران
Email:ztahmasebi@riau.ac.ir
https://orcid.org/ 0000-0002-9104-6308

لپتین به‌وسیله ژن چاقی کد می‌شود (۵) که بر روی کروموزوم ۷ قرار دارد (۶). این هورمون ۱۶ کیلو دالتونی (۵) توسط سلول‌های چربی، جفت و اپی‌تلیوم پستان تولید می‌شود. این هورمون نقش قابل‌توجهی در کنترل سوخت‌وساز بدن، فرآیندهای باروری، فرآیندهای ایمنی بدن، رگ زایی، خون‌سازی و اکسیداسیون چربی ایفا می‌کند (۷). سطوح گردش خون لپتین، عمدتاً توسط انسولین، کورتیکوستروئیدها و کاتکول آمین ها کنترل می‌شود (۶). همچنین، سطوح پلاسمایی لپتین در زنان بالاتر از مردان است. این تفاوت‌های جنسیتی می‌تواند با تنظیم-های استروژن و آندروژن مرتبط باشد (۸).

جهش در موقعیت G2548A ژن LEP موش، برای اولین بار در سال ۱۹۵۰ شناسایی شد (۹) در موش‌های چاق ob/ob مشخص شد که یک جهش بی‌معنی در کدون ۱۰۵ از لپتین (۱۰) سبب عدم تولید آن می‌شود. این جهش باعث چاقی، کاهش دمای بدن، مقاومت شدید به انسولین و ناباروری در موش می‌گردد. ساختار ژن LEP در تمام پستانداران حفظشده و ژن آن در انسان و موش، همولوژی ۸۴ درصدی را نشان می‌دهد (۱۱).

مطالعات انسانی نشان داده که تغییرات-LEP Rs 7799039 (G2548A) و Rs 2167270 (A19G) در ژن لپتین، با افزایش سطح سرمی لپتین و ابتلا به چاقی در چندین جمعیت مختلف مرتبط است (۱۲-۱۵). همچنین برخی مطالعات ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) در ژن لپتین (LEP) و خطر ابتلا به سرطان پستان را نشان داده‌اند (۱۶-۲۱). البته ممکن است برخی تغییرات لپتین، به ناهمگونی تومور مرتبط باشد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر پلی مورفیسم G/A ۲۵۴۸(rs7799039) از ژن لپتین بر خطر ابتلا به سرطان پستان در دو گروه بیمار و شاهد بود.

مواد و روش‌ها

برای بررسی پلی‌مورفیسم ژنی از روش مورد-شاهدی استفاده شد. ۱۵۸ بیمار زن مبتلابه سرطان پستان که بر اساس تشخیص پزشک متخصص و بررسی‌های ماموگرافی، در مراحل مختلف بیماری قرار داشتند (بر طبق تقسیم‌بندی WHO) و نیازمند جراحی بودند، انتخاب شدند. اطلاعات مربوط به نوع تومور و مرحله‌بندی تومور (Staging) از گزارش پاتولوژی بیماران اخذ گردید. افراد شاهد هم ۱۵۸ نفر از زنان که ازنظر ابتلا به بیماری‌های مختلف ازجمله دیابت، فشارخون و بیماری‌های قلبی عروقی منفی بودند و هیچ‌گونه سابقه بیماری (ازجمله سرطان پستان را در بستگان درجه اول) نداشتند. از تمامی افراد رضایت‌نامه و پرسشنامه‌ای گرفته شد تا با گرفتن اطلاعات در طرح شرکت داده شوند.

از تمامی افراد ۵-۳ میلی‌لیتر خون وریدی گرفته شد و با ۲۰۰ ماکرولیتر EDTA ۰/۵ مولار (ماده ضد انعقاد) مخلوط شد تا لخته تشکیل نشود. سپس با روش DNA salting outی نمونه‌ها استخراج گردید. برای شناسایی پلی‌مورفیسم Lep G2548A، پرایمرهای اختصاصی برای محل موردنظر طراحی شدند (جدول ۱) تا پس از تکثیر موقعیت موردنظر، با آنزیم (fermentase) *Hha* I هضم شوند. این آنزیم موقعیت نوکلئوتید ۱۲۷۶۶۶۰۱۹ از کروموزوم ۷ را با سایت تشخیصی ´5 GCGC ´3 شناسایی می‌کند. آنزیم می‌تواند قطعه تکثیرشده را، در یک موقعیت برش داده و قطعات ۱۸۱ ,۴۸ جفت بازی را بر روی ژل نشان دهد که نشان‌دهنده ژنوتایپ GG است اما در صورت وجود پلی‌مورفیسم، جایگاه برش از بین رفته و قطعه‌ای به طول ۲۲۹ جفت باز به وجود می‌آید که نشان‌دهنده ژنوتایپ AA خواهد بود. افراد دارای ژنوتایپ هتروزیگوت AG نیز قطعاتی به طول ۲۲۹، ۱۸۱و ۴۸ جفت بازی را نشان می‌دهند.

پس از شمارش ژنوتایپ‌ها در دو گروه، نتایج به‌دست‌آمده به کمک نرم‌افزار IBM SPSS23 و آزمون‌های آماری کای دو و رگرسیون لجستیک موردبررسی قرار گرفت. برای متغیرهایی مثل سن و BMI نیز میانگین محاسبه‌شده به‌صورت میانگین ± خطای معیار بیان شد. از آزمون‌های تی مستقل برای مقایسه میانگین متغیرهای کمی در دو گروه بیمار و شاهد استفاده شد.

جدول ۱- نشان‌دهنده توالی پرایمرها، دمای اتصال پرایمرها و طول قطعه تکثیرشده

polymorphism		Sequence 5'→3'	TM	PCR Product
Leptin G2548A rs7799039	Forward	TCCCGTGAGAACTATTCTTCTTTTG	58.8°C	229bp
	Reverse	AAAGCAAAGACAGGCATAAAA		

همبستگی بین ژنوتایپ‌ها و اطلاعات پاتولوژیکی بیماران نیز از طریق ضریب همبستگی پیرسون محاسبه شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

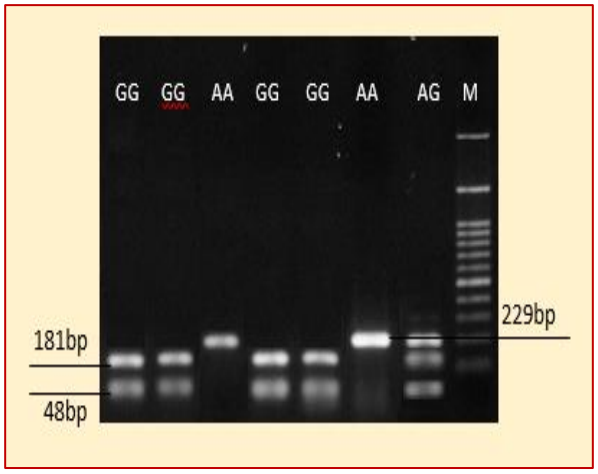
افراد مبتلابه سرطان پستان بین سنین ۶۸-۳۷ سال با میانگین سنی ۵۶/۰۰±۰/۶۲ سال قرار داشتند و افراد شاهد نیز در محدوده سنی ۶۵-۴۰ سال با میانگین سنی ۵۵/۴۵±۰/۷۲ سال بودند (p-value= 0.037). ازنظر شاخص توده بدنی (نسبت وزن برحسب کیلوگرم بر قد برحسب مترمربع) گروه بیمار ۲۵/۰±۰۵/۱۷ و گروه شاهد ۲۳/۹۱±۰/۱۵ بودند (p=0.274). وضعیت مصرف سیگار، در گروه بیمار ۱۳۲(۸۳/۵۴٪) مورد با عدم مصرف و ۲۶ (۱۶/۴۶٪) مورد مصرف‌کننده مشاهده شد. در گروه شاهد نیز ۱۴۵ (۹۱/۷۷٪) مورد عدم مصرف و ۱۳(۸/۲۳٪) مورد مصرف‌کننده بودند (p-value= 0.026). سابقه ابتلا بستگان به بیماری سرطان پستان نیز در ۴۳ (۲۷/۲۲٪) مورد از مبتلایان مثبت بود.

سایر اطلاعات پاتولوژیکی نظیر نوع سرطان و مرحله آن از پرونده بیماران اخذ شد و در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- اطلاعات مربوط به نوع سرطان و Stage بیماران شرکت‌کننده در طرح

نوع سرطان	سرطان مهاجم لوبولار	۶۶ (۴۱/۸٪)
	سرطان مهاجم مجاری	۴۶ (۲۹/۱٪)
	سرطان مجاری درجا	۲۶ (۱۶/۴٪)
	سرطان لوبولی درجا	۲۰ (۱۲/۷٪)
مرحله سرطان	مرحله I	۶ (۳/۸٪)
	مرحله II	۴۱ (۲۵/۹٪)
	مرحله II/III	۴۳ (۲۷/۲٪)
	مرحله III	۲۹(۱۸/۴٪)
	متاستاز	۳۹(۲۴/۷٪)
گیرنده استروژن	مثبت	۱۳۲ (۸۳/۵۴)
	منفی	۲۶ (۱۶/۴۶)

نتایج حاصل از شمارش ژنوتیپ‌ها و مقایسه دو گروه نشان داد که ژنوتیپ هموزیگوت AA در گروه سرطانی 55 نفر (۳۴/۸۱٪)و در افراد کنترلی 38 مورد (۲۴/۰۵٪) بود. رابطه معنی‌دار بین دو گروه مشاهده شد و نسبت شانس ابتلا در افراد حامل ژنوتایپ ۱/۶۸۶ برابر افراد شاهد بود (P-Value =0.036, OR:1.686, CI95%: 1.033-2.753). ژنوتایپ هموزیگوت GG نیز 76 مورد از افراد سرطانی (۴۸/۱۰٪) و 101 نفر از افراد کنترلی(۶۳/۹۲٪) را شامل شد. برای این ژنوتایپ نیز تفاوت معنادار بین دو گروه مشاهده شد اما نسبت شانس بیانگر اثر کاهنده این ژنوتایپ برای ابتلا به سرطان پستان بود. (P-Value=0.005, OR: 0.523, CI95%: 0.333-0.821). در مورد ژنوتایپ هتروزیگوت AG/GA هم 27 مورد در افراد سرطانی (۱۷/۰۹٪) و در افراد کنترلی 19 مورد (۱۲/۰۳٪) مشاهده شد که رابطه آماری معناداری نداشتند (P-Value =0.202, OR:1.508, CI95%: 0.800-2.841). (تعدادی از ژنوتایپ‌ها در شکل ۱ مشخص‌شده‌اند)



شکل ۱- نشان‌دهنده ژنوتایپ تعدادی از نمونه‌ها (مارکر 100bp)

بر اساس تعادل هاردی واینبرگ، فراوانی الل A در گروه سرطانی ۰/۴۳ و در افراد کنترلی ۰/۳۰ بود (p=0.001, OR:1.763, CI95%:1.270-2.446). در مورد فراوانی الل G هم در افراد سرطانی ۰/۵۷ و در افراد کنترلی ۰/۷۰ بود. نتایج در جدول ۳ مشخص‌شده‌اند.

آنالیز آماری ارتباط بین متغیرها و هر یک از ژنوتایپ‌ها در دو گروه موردبررسی قرار گرفت. ژنوتایپ GG با سن (p=0.040) و شاخص توده بدنی نیز با ژنوتایپ‌های GG (p=0.0001) و AA (p=0.001) رابطه آماری معناداری را نشان می‌دادند. ژنوتایپ AA با نوع سرطان (p=0.053) و ژنوتایپ GG با stage بیماری

(p=0.056) کمی بالاتر از حد مورد انتظار (p≥0.05) مشاهده شدند.

ضریب همبستگی بین ژنوتایپ‌ها و میزان حضور گیرنده استروژن، نوع سرطان و مرحله سرطان نیز محاسبه گردید (جدول ۴) اما هیچ‌کدام ارتباط معناداری را نشان نمی‌دادند.

و کاهش بقاء بیمار مرتبط شناخته‌شده است. این هورمون با تنظیم تکثیر سلول‌های اندوتلیال و آنژیوژنز سبب گسترش تومور می‌شود (۲۳).

الل A از پلی مورفیسم G2548A با افزایش سطح سرمی لپتین قبل از کاهش شاخص توده بدنی در زنان، مرتبط گزارش‌شده

جدول ۳- نشان‌دهنده فراوانی الل ها، مقدار p-value، نسبت شانس و CI95% در دو گروه بیمار و شاهد

Allele frequency	گروه بیمار	گروه کنترل	P value	نسبت شانس	CI 95%
A	۱۳۷ (٪۴۳/۳۵)	۹۵ (٪۳۰/۰۶)	۰/۰۰۱	۱/۷۶۳	۱/۲۷۰ -۲/۴۴۶
G	۱۷۹ (٪۵۶/۶۵)	۲۲۱ (٪۶۹/۹۴)	۰/۰۰۱	۰/۵۶۷	۰/۴۰۹ -۰/۷۸۷

جدول ۴- محاسبه ضریب همبستگی پیرسون بین ژنوتایپ ها و اطلاعات پاتولوژیکی گروه بیمار

ژنوتایپ‌ها		نوع سرطان	مرحله سرطان	گیرنده استروژن
AA	ضریب همبستگی	-۰/۱۵۲	-۰/۰۷۸	-۰/۰۷۰
	P-value	۰/۰۵۷	۰/۳۲۷	۰/۳۸۳
GG	ضریب همبستگی	۰/۰۵۲	۰/۰۶۱	۰/۱۲۰
	P-value	۰/۵۱۳	۰/۴۴۶	۰/۱۳۴
AG	ضریب همبستگی	۰/۱۲۳	۰/۰۱۸	-۰/۰۷۱
	P-value	۰/۱۲۵	۰/۸۱۹	۰/۳۷۸

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان پستان یک بیماری هتروژنوس ازلحاظ بالینی، هیستولوژیکی و پروفایل مولکولی است. فاکتورهای خطرساز برای این بیماری، می‌تواند سرنخ‌های مهمی در مورد اتیولوژی (سبب‌شناسی) بیماری را فراهم کند. امروزه مشخص‌شده که سرطان پستان نیز همانند سایر سرطان‌ها ناشی از عوامل محیطی و فاکتورهای وراثتی است. تعدادی از این عوامل عبارت‌اند از: آسیب‌هایDNA و جهش‌های ژنتیکی، مواد شیمیایی محیطی، سابقه خانوادگی، سن، تنوع جغرافیایی، تابش اشعه، مصرف الکل و سیگار و عوامل ویروسی و چاقی (۲۲).

لپتین یک واسطه شناخته‌شده در چاقی است که بیان بیش‌ازحد آن و گیرنده‌اش در سرطان پستان با پیشرفت بیماری

است. تأثیر این پلی مورفیسم بر بیان لپتین در بیشتر بررسی‌هایی که بر روی سرطان پستان انجام‌گرفته، مشاهده‌شده است. Liu و همکاران الل A از این پلی مورفیسم را، شاخص پیشرفت سرطان معرفی کردند. در مطالعه متاآنالیزی دیگری که توسط Niu و همکاران انجام گرفت، مشخص شد که سطح سرمی لپتین نقش مهمی در گسترش تومور دارد و مارکر ارزشمندی برای تشخیص است (۲۴). در مطالعه متاآنالیزی Weifeng Tang و همکاران سی‌ویک مطالعه مورد-شاهدی در ارتباط با نقش G2548A درخطر ابتلا به سرطان بررسی شد. نتایج آن‌ها نشان داد که تغیر G/A در پلی مورفیسم G2548A می‌تواند درخطر ابتلا به سرطان نقش داشته باشد (۲۵).

الل A از پلی مورفیسم G2548A منجر به ترشح بیشتر لپتین شده و با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان مرتبط است. این

پلی مورفیسم در ناحیه پروموتر ژن قرارگرفته و با تغییرات سطح سرمی لپتین، میزان چاقی و حساسیت به سرطان ارتباط دارد. در چندین مطالعه به نقش آن در گسترش تومور اشاره‌شده است (۲۴). مطالعات متعدی ارتباط این پلی مورفیسم و سرطان پستان را نشان می‌دهد (۲۶-۲۹) سایر مطالعات ارتباط پلی مورفیسم LEP-2548G/A با افزایش خطر ابتلا به سرطان پروستات (۳۰)، دیابت حاملگی (۳۱) و پوکی استخوان (۳۲) را نیز نشان داده‌اند.

نتایج این تحقیق در راستای مطالعات گذشته بود. نتایج ما نیز نشان داد که با فرض مدل ژنتیکی غالب Dominant، ژنوتایپ GG در افراد مبتلابه سرطان پستان ۷۶ (۴۸/۱۰٪) مورد و ژنوتایپ‌های AA+AG نیز ۸۲ (۵۱/۸۹٪) مورد، در افراد شاهد به ترتیب ۱۰۱ (۶۳/۹۲٪) مورد و ۵۷ (۳۶/۰۷٪) مورد مشاهده شد که اختلاف معناداری بین دو گروه وجود داشت (p=0.005). ژنوتایپ موتانت AA با شاخص توده بدنی، نوع سرطان و Stage بیماری نیز رابطه آماری معنادار داشت.

بر اساس تعادل هاردی واینبرگ نیز فراوانی الل‌ها محاسبه شد. الل موتانت A در بین دو گروه موردمطالعه، رابطه آماری معنی‌داری را نشان داد و شانس ابتلا به سرطان را ۱/۷۶۳ برابر افزایش می‌داد؛ اما الل وحشی G باوجودآنکه بین دو گروه رابطه آماری معنی‌داری داشت اما ازنظر شانس ابتلا به سرطان پستان، اثر کاهشی نشان می‌داد و ۰/۵۶۷ برابر، احتمال ابتلا به سرطان پستان را در حاملین این الل کاهش می‌داد.

درمجموع نتایج نشان می‌دهد که این پلی‌مورفیسم می‌تواند یکی از فاکتورهای مؤثر در پیدایش سرطان پستان باشد. شاید به خاطر قرارگیری آن در موقعیت پروموتر و تغییر در سطح لپتین از اهمیت بیشتری برخوردار باشد. نتایج بیشتر تائید کننده نقش این تغییر ژنتیکی در مراحل مختلف سرطان خواهد بود.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن که با کمک‌های مالی امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی مصوب است (کد طرح ۹۳/۴۰۰۸۶). همچنین از کارکنان اتاق عمل بیمارستان شهدای تجریش که در جمع‌آوری نمونه همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود. کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1395.292 از طرف کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران نیز به این پژوهش اختصاص یافت.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تضارب منافع ندارند.

References

1. Gu L, Wang CD, Cao C, Cai LR, Li DH, Zheng YZ. Association of serum leptin with breast cancer. A meta-analysis. Medicine. 2019; 98(5): e14094.
2. Andò S, Catalano S. The multifactorial role of leptin in driving the breast cancer microenvironment. Nature Reviews Endocrinology. 2012;8: 263-275.
3. Niu J, Jiang L, Guo W, Shao L, Liu Y, and Wang L. The Association between Leptin Level and Breast Cancer: A Meta-Analysis. PLoS One. 2013; 8(6): e67349.
4. Artac M, Altundag K. Leptin and breast cancer: an overview. Med Oncol. 2012; 29(3):1510-4.
5. Wanjun Y, Xingcong M, Xiaoyan G, and Shuqun Zh. Association Between Leptin (-2548G/A) Genes Polymorphism and Breast Cancer Susceptibility. A Meta-Analysis. Medicine (Baltimore). 2016; 95(4): e2566.
6. Dutta D, Ghosh S, Pandit K, Mukhopadhyay P, and Chowdhury S. Leptin and cancer: Pathogenesis and modulation. Indian J Endocrinol Metab. 2012; 16(3): S596–S600.
7. Markowska A, Malendowicz K, Drews K. The role of leptin in breast cancer. Eur J Gynaecol Oncol. 2004; 25: 192–194.
8. Newman G and Gonzalez-Perez R.Leptin–cytokine crosstalk in breast cancer. Mol Cell Endocrinol. 2014 ; 382(1): 10.1016.
9. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, a new mutation in the house mouse. J Hered. 1950; 41:317–18.
10. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature.1994; 372:425–32.
11. Considine RV, Considine EL, Williams CJ, Nyce MR, Magosin SA, Bauer TL. Evidence against either a premature stop codon or the absence of obese gene mRNA in human obesity. J Clin Invest 1995; 95: 2986–8.
12. Yiannakouris N, Melistas L, Yannakoulia M, Mungal K, Mantzoros CS. The-2548G/A polymorphism in the human leptin gene promoter region is associated with plasma free leptin levels; interaction with adiposity and gender in healthy subjects. Hormones (Athens). 2003;2: 229-36.

13. Jiang Y, Wilk JB, Borecki I, Williamson S, DeStefano AL, Xu G, Liu J. Common variants in the 5' region of the leptin gene are associated with body mass index in men from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. Am J Hum Genet. 2004; 75: 220-30.
14. Hinuy HM, Hirata MH, Sampaio MF, Armaganijan D, Arazi SS, Salazar LA, et al. Relationship between variants of the leptin gene and obesity and metabolic biomarkers in Brazilian individuals. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2010; 54: 282-8.
15. Yu Z, Han S, Cao X, Zhu C, Wang X, Guo X. Genetic polymorphisms in adipokine genes and the risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. Obesity (Silver Spring). 2012; 20: 396-406.
16. Cleveland RJ, Gammon MD, Long CM, Gaudet MM, Eng SM, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM. Common genetic variations in the leptin and leptin receptor genes, obesity and breast cancer incidence and survival. Breast Cancer Res Treat. 2010; 120(3):745–752.
17. Kaklamani VG, Sadim M, Hsi A, Offit K, Oddoux C, Ostrer H, Ahsan H, Pasche B, Mantzoros C. Variants of the adiponectin and adiponectin receptor 1 genes and breast cancer risk. Cancer Res. 2008; 68(9):3178–3184.
18. Snoussi K, Strosberg AD, Bouaouina N, Ben Ahmed S, Helal AN, Chouchane L. Leptin and leptin receptor polymorphisms are associated with increased risk and poor prognosis of breast carcinoma. BMC Cancer. 2006;6:38-41.
19. Woo HY, Park H, Ki CS, Park YL, Bae WG. Relationships among serum leptin, leptin receptor gene polymorphisms, and breast cancer in Korea. Cancer Lett. 2006; 237(1):137–142.
20. Teras LR, Goodman M, Patel AV, Bouzyk M, Tang W, Diver WR, Feigelson HS. No association between polymorphisms in lep, lepr, adipoq, adipor1, or adipor2 and postmenopausal breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2009; 18(9):2553–2557.
21. Okobia MN, Bunker CH, Garte SJ, Zmuda JM, Ezeome ER, Anyanwu SN, Uche EE, Kuller LH, Ferrell RE, Taioli E. Leptin receptor gln223arg polymorphism and breast cancer risk in Nigerian women: a case control study. BMC Cancer. 2008;8:338-41.
22. Hortobagyi GN, de la Garza Salazar J, Pritchard K, Amadori D, Haidinger R, Hudis CA, Khaled H, Liu MC, Martin M, Namer M, O'Shaughnessy JA, Shen ZZ, Albain KS; A BREAST Investigators. The global breast cancer burden: variations in epidemiology and survival. Clinical Breast Cancer. 2005; 6(5): 391-401.
23. Artac M, Altundag K. Leptin and breast cancer: an overview. Med Oncol. 2012; 29(3):1510-4.
24. Mammès O. Novel polymorphisms in the 5′ region of the LEP gene. Diabetes. 2012; 47:487–489.
25. Tang W, Kang M, Liu Ch, and Qiu H. Leptin rs7799039 (G2548A) polymorphism is associated with cancer risk: a meta-analysis involving 25,799 subjects. Onco Targets Ther. 2019; 12: 2879–2890.
26. Rostami S, Kohan L, Mohammadianpanah M. The LEP G-2548A gene polymorphisms associated with age at menarche and breast cancer susceptibility. Gene. 2015; 557:154–157.
27. Garcia-Robles MJ, Danari-Navarro A, del Toro-Arreola S,, Fafutis-Morris M. The LEP G-2548A polymorphism is not associated with breast cancer susceptibility in obese Western Mexican women. J Clin Cell Immunol. 2013; 4:133–139.
28. Luan H, Zhang H, Li Y, Wang P, Cao L, Ma H and et al. Association of two obesity-related gene polymorphisms LEPG2548A rs7799039 and LEPRQ223R rs1137101 with the risk of breast cancer. Oncotarget. 2017;8(35):59333-59344.
29. Mohan Reddy.N, Kalyan Kumar.Ch, and Kaiser Jamil Columbia. Obesity, an Additional Burden for Breast Cancer Patients with Leptin Gene Polymorphisms. International Publishing American Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 2013; 1: 18-29.
30. Ribeiro R, Vasconcelos A, Costa S, Pinto D, Morais A, Oliveira J, Lobo F, Lopes C, Medeiros R."Overexpressing leptin genetic polymorphism (-2548 G/A) is associated with susceptibility to prostate cancer and risk of advanced disease". Prostate. 2004; 59 (3): 268–74.
31. Vaskú JA, Vaskú A, Dostálová Z, Bienert P. Association of leptin genetic polymorphism -2548 G/A with gestational diabetes mellitus. Genes Nutr. 2006; 1 (2): 117–23.
32. Ye XL, Lu CF Association of polymorphisms in the leptin and leptin receptor genes with inflammatory mediators in patients with osteoporosis. Endocrine. 2013; 44 (2): 481–8.

Original Article

The Effect of the Polymorphism on the 5' Region of the Leptin gene (G2548A) on the Possibility of Breast Cancer in two Studies Groups

Tahmasebi Fard Z*

Departman of Biology, Roudehen Branch, Islamic Azad of university, Roudehen, Iran

Received: 20 Apr 2019 Accepted: 22 Jun 2019

Abstract

Background & Objective: Leptin a hormone secreted from adipose tissue plays a role in regulating energy homeostasis. Polymorphism in the gene structure can alter serum levels of hormone and affect cell function. In this study, the relationship between G2548A polymorphism of the leptin gene with the risk of breast cancer in patients compared with healthy subjects was investigated.

Materials and Methods: The blood sample of 158 women with breast cancer and 158 healthy women of the same age was collected and after extracting DNA and amplifying specimens with specific primers, some part of products was digested with *HhaI* restriction enzyme to determine the genotypes of individuals based on the number of bands formed on the gel. The results were analyzed by statistical analysis including chi-square, and logistic regression.

Results: The mean age of the patients was 56.00±0.62 years old and the control groups was 55.45±0.72 years old (p-value =0.037). There was a significant relationship between the smoking level of the two groups (p-value =0.026). The history of relatives of breast cancer patients was positive in 43 (27.22%) patients. Analysis of the results of genotypes showed that the mutant homozygote genotype AA had a significant relationship in two groups and increased by 1.686 the risk of breast cancer (P-Value=0.036, OR:1.686, CI95%:1.033-2.753).

Conclusion: The frequency of mutant A allele in the patient group was more than that of the control groups and increased the risk of breast cancer by 1.763 times in carriers. Overall, it can be said that this polymorphism is probably related to breast cancer.

Keywords: Breast Cancer (BC), Leptin, single nucleotide polymorphism, Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

***Corresponding Author: Tahmasebi Fard Zahra,** Department of Biology, Islamic Azad University of Roudehen Branch, Roudehen, Iran
Email: ztahmasebi@riau.ac.ir
https://orcid.org/ 0000-0002-9104-6308

Journal of Fasa University of Medical Sciences 9 (2019): 1879-1885