

ارتباط پلی مورفیسم آرژنین / پرولین کدون ۷۲ ژن p53 با خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان آذربایجان شرقی

محمدعلی حسین پور فیضی^{۱*} (PhD)، ریحانه روانبخش گاوگانی^۲ (MSc)، راضیه پوراحمد^۳ (PhD)، ناصر پولادی^۴ (MSc)،

پروین آذرفام^۴ (MSc)، وحید منتظری^۵ (MD)

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز

۲- گروه ژنتیک دانشکده علوم شهرکرد

۳- گروه زیست شناسی دانشگاه تربیت معلم آذربایجان

۴- گروه فیزیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۵- گروه جراحی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۹۰/۴/۴، اصلاح: ۹۰/۶/۱۶، پذیرش: ۹۰/۸/۱۸

خلاصه

سابقه و هدف: سرطان پستان شایع ترین سرطان در زنان جهان است و یک سوم از زنان سرطانی به این نوع سرطان مبتلا هستند. یکی از مهمترین ژنهای سرکوبگر تومور درگیر در سرطان پستان، ژن p53 می باشد. تحقیقات نشان می دهد پلی مورفیسم G به C در کدون ۷۲ از ژن p53 با افزایش خطر ابتلا به سرطان های زیادی ارتباط دارد و شاید بتوان این پلی مورفیسم را به عنوان مارکر استعداد به سرطان پستان در نظر گرفت. لذا این مطالعه به منظور بررسی ارتباط پلی مورفیسم آرژنین / پرولین کدون ۷۲ ژن P53 با خطر ابتلا به سرطان پستان در زنان انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه مورد- شاهدهی بر روی ۱۲۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان (از نوع مهاجم و درجا) مراجعه کننده به بیمارستانهای شهر تبریز و همچنین ۹۹ نفر سالم (کنترل) انجام شد. نمونه خون محیطی تهیه و استخراج DNA به روش پروتئیناز K انجام شد و ژنوتیپ های مختلف کدون ۷۲ از ژن p53، با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) ARMS و توالی یابی مستقیم DNA تعیین و مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته ها: در گروه کنترل توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم ژن P53 برای ژنوتیپ های Arg/Arg، Pro/Arg، Pro/Pro، به ترتیب ۳/۳٪، ۵۰/۵٪، ۱۹/۲٪ بود. توزیع ژنوتیپ در گروه های سرطانی نیز به ترتیب ۴/۴٪، ۳۴/۹٪ و ۲۰/۶٪ بود. تفاوت معنی داری بین توزیع ژنوتیپ Arg/Arg و Arg/Pro در گروه کنترل و سرطانی دیده شد ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که پلی مورفیسم کدون ۷۲ ژن P53 یک عامل مستعدکننده برای ابتلا به سرطان پستان می باشد، ولی برای تعیین نقش این پلی مورفیسم در رشد سرطان پستان مطالعات بیشتری لازم است.

واژه های کلیدی: پلی مورفیسم، ژن P53، سرطان پستان.

مقدمه

است، به طوریکه حداقل در آسیا به میزان ۴ برابر کمتر از آمریکای شمالی می باشد (۴). وقوع اشکال مختلف آلی در یک ژن پلی مورفیسم نامیده می شود. پلی مورفیسم اشکال مختلفی دارد که یکی از انواع آن تغییر در کدون و به دنبال آن تغییر در ژنوتیپ ایجاد شده است. تحقیقات نشان می دهند که پلی مورفیسم

سرطان پستان شایع ترین بدخیمی مهاجم در زنان جهان است که یک سوم از زنان سرطانی به این نوع سرطان مبتلا هستند (۱ و ۲). در هر سال بیش از یک میلیون مورد جدید بیماری تشخیص داده می شود (۳). شیوع و میزان مرگ و میر در اثر سرطان، در نژاد ها و موقعیت های جغرافیایی مختلف بسیار متفاوت

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ب ۳۱ / ۴ مرکز قطب زیست شناسی و تنوع زیستی دانشگاه تبریز و پایان نامه ریحانه روانبخش گاوگانی دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک دانشکده علوم دانشگاه شهرکرد می باشد.

* مسئول مقاله:

e-mail: pourfeizi@eastp.ir

آدرس: تبریز، خیابان آزادی، نبش گلگست، ساختمان پارک علمی و فناوری استان آذربایجان شرقی، تلفن: ۳۳۶۲۲۸۰-۰۴۱۱

میکرولیتر TaqDNA پلیمرز (با غلظت ۵۰/۱ ml)، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت (با غلظت ۱۰ میکرومول) تهیه گردید، سپس با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر ساخت شرکت Labcycler کشور آلمان و تنظیم شرایط بهینه برای انجام واکنش مراحل تکثیر در چهار مرحله برنامه ریزی شد:

مرحله اول: واسرشت شدگی ابتدایی، ۹۴ درجه به مدت ۳ دقیقه

مرحله دوم: الف) واسرشت شدگی: ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه ب) اتصال پرایمر: ۶۲ درجه برای تکثیر پرولین و ۵۹ درجه به مدت ۳۰ ثانیه ج) گسترش: ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه مرحله دوم ۳۵ سیکل تکرار گردید.

مرحله سوم: گسترش نهایی: ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه.

بعد از اتمام کار محصولات PCR بدست آمده تا زمان الکتروفورز در یخچال نگهداری شد. توالی های پرایمرهای اختصاصی برای پرولین که ناحیه ای به طول ۱۷۷ جفت باز را تکثیر می کند، عبارتند از (۱۷):

F: 5'GCC AGA GGC TGC TCC CCC 3'

R: 5'CGT GCA AGT CAC AGA CTT 3'

جهت تکثیر آرژنین مقادیر مواد مورد استفاده نظیر پرولین بود با این تفاوت که مقدار TaqDNA پلیمرز اضافه شده ۰/۲ میکرولیتر (با غلظت ۵۰/۱ ml) و توالی پرایمری اختصاصی (۱۷):

F: 5' TCC CCC CTT GCC GTC CCAA 3'

R: 5' CTG GTG CAG GGG CCA CGC 3'

انجام و جهت حصول اطمینان از وجود DNA در محصولات واکنش از یک کنترل داخلی (ژن B globin) استفاده شد. طول قطعه تکثیر شده توسط این پرایمرها ۸۰۰ جفت باز می باشد. کلیه مواد آزمایش از شرکت سیناژن - تهران خریداری شدند. محصولات PCR بدست آمده جهت تعیین توالی به شرکت فزا پژوه تهران ارسال و نتایج حاصل از تعیین توالی مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

برای مقایسه توزیع فراوانی سه ژنوتیب مختلف کدون ۷۲ در نمونه های سرطانی با گروه کنترل از آزمون کای استفاده شد نسبت شانس و سطح اطمینان ۹۵٪ برای تعیین رابطه بین متغیر وابسته و مستقل محاسبه شد و ($p < 0.05$) معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه از ۱۲۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۹۹ فرد سالم نمونه خون محیطی جمع آوری شد. استخراج DNA و تکثیر آل آرژنین و پرولین بر روی نمونه ها انجام گرفت (شکل ۱). برای تأیید نتایج ARMS-PCR تعدادی از نمونه ها توالی یابی مستقیم نیز انجام گرفت (شکل ۴-۲).

سن گروه بیمار بین ۲۲-۸۲ سال (میانگین سنی $47/26 \pm 1/044$ سال) و سن گروه کنترل بین ۱۹-۷۶ سال (میانگین سنی $48/36 \pm 1/30$) بود. هیچ یک از افراد تحت مطالعه سیگار و الکل مصرف نمی کردند. از تعداد ۱۲۶ بیمار ۵۶ نفر دارای ژنوتیب GG و ۴۴ نفر دارای ژنوتیب GC (۳۴/۹٪) و ۲۶ نفر دارای ژنوتیب CC (۲۰/۶٪) بودند. در گروه کنترل ژنوتیب GG (۳۰/۳٪)، GC (۵۰/۵٪) و CC (۱۹/۲٪) بودند (شکل ۵). فراوانی ژنوتیپی هموزیگوت Arg/Arg در نمونه های سرطانی ۴۴/۴٪ و در نمونه های کنترل ۳۰/۳٪ بود.

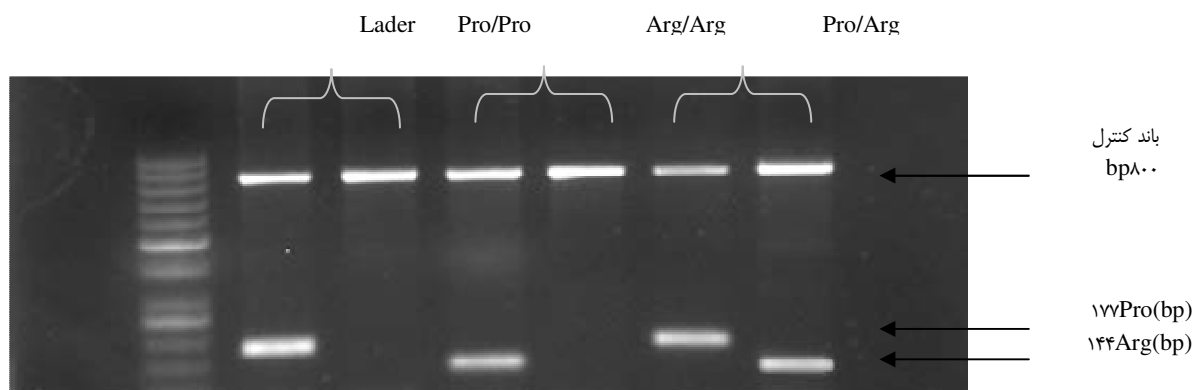
ژنتیکی یکی از عوامل تفاوت های فردی در میزان بروز سرطان می باشند (۱). در سال ۲۰۰۱، توالی ژنوم انسانی کامل شد و آنالیز این توالی نشان داد که ۹۹٪ از توالی افراد مختلف با هم یکسان می باشد (۷-۵) و تفاوت بین افراد ناشی از وجود ۴/۵ میلیون پلی مورفیسم (چند شکلی تک نوکلئوتیدی) توزیع شده در سراسر ژنوم چه در نواحی کد کننده و غیر کدکننده می باشد. این پلی مورفیسم ها عامل تفاوت افراد در داشتن صفات منحصر به فرد می باشد (۸). از بین ۴/۵ میلیون پلی مورفیسم، حدود ۱/۵ میلیون مربوط به ۸۲ ژن درگیر در انتقال سیگنال در مسیر ژن p53 می باشد (۹ و ۱۰). ژن p53 که دارای ۱۱ اگزون و ۳ ناحیه عملکردی می باشد، به عنوان مهمترین ژن سرکوبگر تومور از فرضیه دو ضربه ای نادسون پیروی می کند (۱۱ و ۱۲). جهش در ژن p53 در ۴۶-۱۶ درصد از سرطان های پستان مشاهده شده است (۱۳). علاوه بر جهش، پلی مورفیسم های این ژن نیز به عنوان عامل خطر ساز در ایجاد سرطان هایی نظیر پستان، کولورکتال، ریه و نازوفارنژیال گزارش شده است (۱۶-۱۴). تحقیقات نشان می دهد که تغییرات نژادی و جغرافیایی در عملکرد پلی مورفیسم ژن P53 دخیل است (۱۷). حداقل ۳۷ پلی مورفیسم در این ژن کشف شده که یکی از متداولترین آن، در کدون ۷۲ اگزون ۴ قرار دارد که کد کننده اسیدآمینه آرژنین (CGC Arg) و یا پرولین (CCC Pro) می باشد (۱۸ و ۱۹). تحقیقات نشان می دهد که پلی مورفیسم کدون ۷۲ ژن p53 (p53 Arg72Pro) روی عملکرد آن تأثیر می گذارد (۲۰)، بطوریکه پروتئین P53 دارای آرژنین در کدون ۷۲ (p53 72Arg)، دارای قدرت کمتر برای القاء آپوپتوز در شرایط خارج از بدن (In vitro) می باشد و همچنین ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم p53 Arg72Arg با سرطان پستان در زنان ترک پیدا شده است (۲۱). با توجه به اثرات تفاوت های نژادی و موقعیت های جغرافیایی روی خطر ابتلا به سرطان پستان، این مطالعه به منظور بررسی ارتباط بین این پلی مورفیسم با خطر ابتلا به سرطان انجام شد.

مواد و روشها

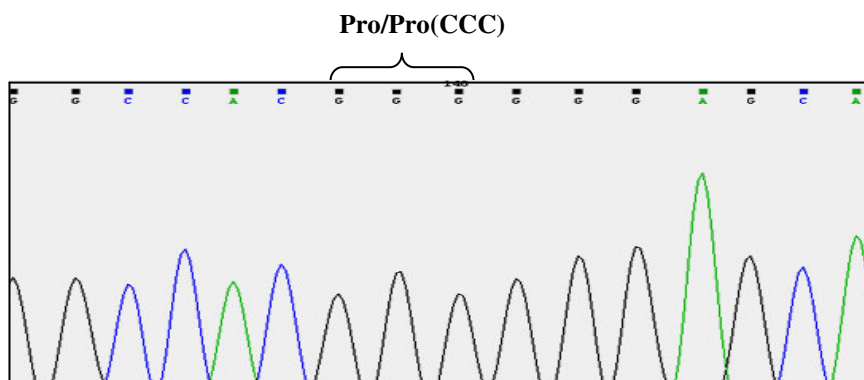
این مطالعه مورد - شاهدهی بر روی ۱۲۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان مراجعه کننده به بیمارستان های تخصصی امام رضا (ع) و نور نجات تبریز انجام شد. از نمونه ها خون محیطی تهیه و پرسشنامه ای در رابطه با مصرف سیگار و مصرف الکل آنها تنظیم گردید. از ۹۹ فرد سالم نیز (کنترل) که سابقه خانوادگی ابتلا به هر گونه سرطان را نداشته و از لحاظ دارا بودن فاکتورهای خطر ابتلا به سرطان پستان و عدم مصرف سیگار و الکل مورد پرسش قرار می گرفتند، بعد از اخذ رضایت کتبی، نمونه خون محیطی تهیه گردید. استخراج DNA به روش پروتئیناز K (روش Salting out) انجام شد (۲۲) و به منظور تعیین غلظت DNA استخراج شده، مقداری از DNA استخراج شده در ژل آگارز ۱/۵٪ بار گذاری شد و همچنین از روش اسپکتروفتومتری نیز استفاده گردید. به منظور بررسی پلی مورفیسم، توالی پلی مورفیک کدون ۷۲ ژن p53 از روش ARMS-PCR استفاده گردید، بدین ترتیب که هر ویال از واکنش های PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر (بدین ترتیب: ۱/۵ میکرو لیتر DNA با غلظت متوسط ۲۰۰ نانوگرم)، ۲/۵ میکرولیتر از بافر PCR (با غلظت 10X)، ۰/۷۵ میکرولیتر $MgCl_2$ (با غلظت ۵۰ میلی مولار)، ۰/۵ میکرولیتر از dNTP (با غلظت ۱۰ میلی مولار)، ۰/۱۵

نمونه های سرطانی و نمونه های کنترل معنی دار نبود ($p=0/72$, $OR=0/42$ و $CI=0/125$). نتایج بدست آمده از تعداد آلل مطالعه شده نشان داد که تعداد آلل ۱۵۶ (۶۱/۹٪) از بیماران و ۱۱۰ (۵۵/۵٪) از نمونه های کنترل دارای آلل G و تعداد آلل ۹۶ (۳۸/۱٪) از بیماران و ۸۸ (۴۴/۴٪) دارای آلل C بودند که ارتباط معنی داری بین توزیع فراوانی آللی در گروه کنترل و بیمار دیده نشد ($p=0/32$, $OR=1/0$ و $CI=0/52-1/12$).

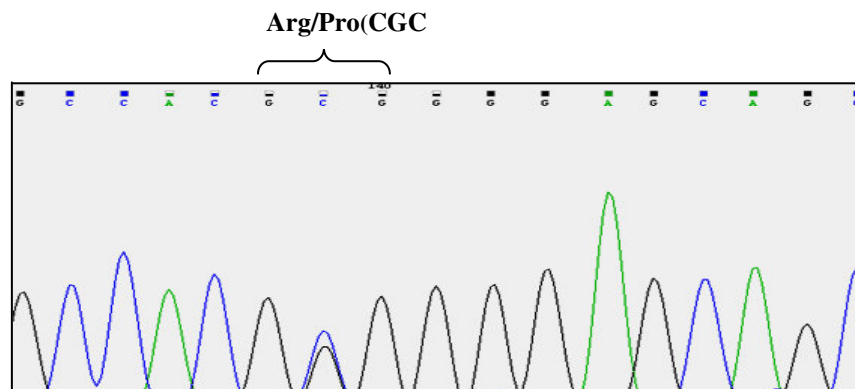
بین گروه بیمار و کنترل تفاوت معنی داری مشاهده گردید ($p=0/04$, $OR=13/12$ و $CI=4/20-95/142$). فراوانی ژنوتیپی هتروزیگوت Arg/Pro در نمونه های سرطانی ۳۴/۹٪ و در نمونه های کنترل ۵۰/۵٪ دیده شد که تفاوت معنی داری بین این دو گروه وجود داشت ($p=0/02$, $OR=5/22$ و $CI=1/99-15/06$). فراوانی ژنوتیپی هموزیگوت Pro/Pro در گروه سرطانی ۲۰/۶٪ و در گروه کنترل ۱۹/۲٪ بود. اختلاف بین فراوانی ژنوتیپ Pro/Pro در



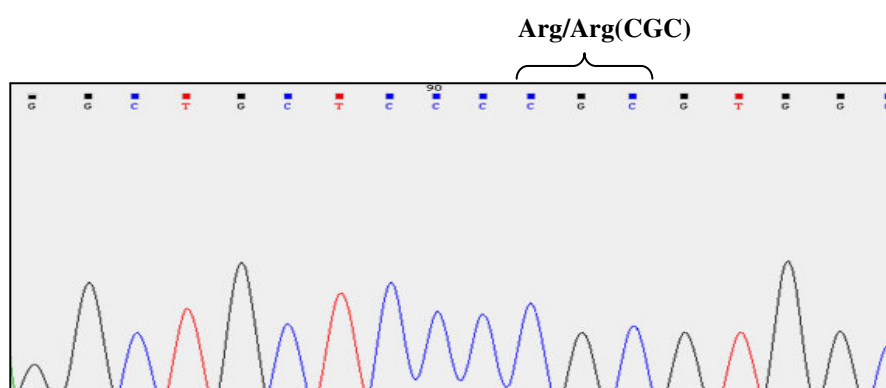
شکل ۱. ژل آگارز مربوط به تکثیر آلل آرژنین و پرولین: مارکر DNA (۵۰ جفت باز)، باند ۱۴۴ جفت بازی هموزیگوت آرژنین (Arg/Arg)، باند ۱۷۷ جفت بازی هموزیگوت پرولین (Pro/Pro) و دو باند ۱۴۴ و ۱۷۷ جفت بازی، هتروزیگوت (Arg/Pro) می باشند.



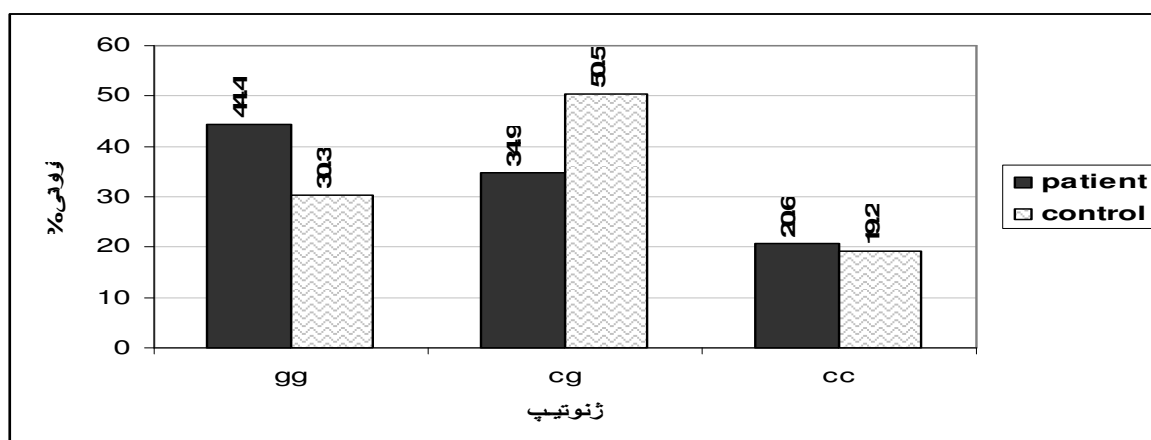
شکل ۲. محل مشخص شده نشان می دهد، فرد دارای ژنوتیپ هموزیگوت Pro/Pro می باشد.



شکل ۳. محل مشخص شده نشان می دهد فرد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت Arg/Pro می باشد.



شکل ۴. محل مشخص شده نشان می دهد فرد دارای ژنوتیپ هموزیگوت Arg/Arg می باشد.



شکل ۵. مقایسه فراوانی ژنوتیپی در بیماران سرطانی و گروه کنترل

بحث و نتیجه گیری

به عنوان فاکتور خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت مصر گزارش شده است (۲۴). ولی در بین بیماران ژاپنی (۲۵) و پاکستانی (۲۶) ارتباط معنی داری را بین واریانت های کدون ۷۲ ژن P53 و ریسک سرطان پستان پیدا نکردند.

مطالعات انجام یافته بر روی بیماران نروژی، نشان می دهد که فراوانی جهش سوماتیک P53 در هموزیگوت های P5372Pro/Pro، نسبت به هموزیگوت های P5372Arg/Arg کمتر می باشد (۲۷) که نشان می دهد، عملکرد طبیعی P53 در هموزیگوت های P5372Pro/Pro نسبت به هموزیگوت های P5372Arg/Arg کمتر آسیب می بیند.

مطالعات نشان می دهند که در سرطان گردن رحم (مرتبط با ویروس Human Papilloma Virus, HPV) بیان بیش از اندازه پروتئین آرژنین دار P53 وجود دارد (۲۸) و افراد هموزیگوت آرژنین دار P53 هفت برابر بیشتر از افراد هتروزیگوت، برای ابتلاء به سرطان گردن رحم مستعد می باشند و از طرف دیگر نوع آرژنین دار پروتئین P53 در برابر ویروس (HPV) ضعیف تر بوده و راحت تر تخریب می شود (۲۷). در مطالعه حاضر ابتلا به ویروس HPV در نمونه های سرطانی کنترل نشد ولی با توجه به اینکه این موضوع می تواند یک مورد مهم باشد، در مطالعات آینده ابتلا به ویروس HPV بیماران نیز مورد بررسی قرار خواهد گرفت. به منظور ارزیابی نقش دقیق تر این پلی مورفیسم در کارسینوم پستان، مطالعه اثرات برهمکنش ژن p53 با سایر ژن ها از قبیل MDM-2 و AKT پیشنهاد می شود.

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که شانس ابتلا به سرطان پستان با ژنوتیپ هموزیگوت Arg/Arg بیش از چهار برابر بیشتر از ژنوتیپ های هموزیگوت Pro/Pro و هتروزیگوت Arg/Pro می باشد (OR= ۴/۲۲) که با نتایج بدست آمده با تحقیقات انجام یافته بر روی بیماران ترکی (۲۱) و مصری (۲۸) همخوانی دارد.

همچنین نتایج بدست آمده نشان داد که شانس ابتلاء به سرطان پستان در افراد دارای ژنوتیپ Arg/Pro بیش از پنج برابر کمتر از سایر ژنوتیپ ها می باشد (OR= ۵/۲۰) نظر به اینکه هیچ یک از افراد تحت مطالعه سیگاری نبوده و الکل مصرف نمی کردند لذا در این مطالعه عوامل زمینه ساز از قبیل کشیدن سیگار و مصرف الکل بررسی نشد، بنابراین مطالعه ما نوعی بررسی ارتباط این پلی مورفیسم با سرطان پستان در جمعیت غیرسیگاری محسوب می شود. پروتئین طبیعی P53 نقش محافظت از ژنوم در مقابل صدمات وارده را دارد که منجر به ترمیم ژنوم و یا آپوپتوز می شود (۲۳). مطالعات نشان می دهند که تغییرات مولکولی در ژن P53 از جمله پلی مورفیسم، با رشد و توسعه سرطان پستان ارتباط دارد (۲۳). پلی مورفیسم شایع G به C در ژن P53 موجب تبدیل آرژنین به پرولین در ساختمان پروتئین می شود و تحقیقات نتایج ضد و نقیضی در رابطه با نقش پلی مورفیسم آرژنین/ پرولین در استعداد ابتلاء به سرطان نشان می دهند. تحقیقات انجام یافته بر روی زنان ترکی نشان میدهد که ارتباط قوی بین ژنوتیپ P5372Arg/Arg و سرطان پستان وجود دارد همچنین این ژنوتیپ

تقدیر و تشکر

کارکنان اتاق عمل بیمارستانهای تخصصی امام رضا و نورنجات تبریز و گروه ژنتیک دانشکده علوم پایه شهر کرد تشکر و قدردانی می گردد.

بدین وسیله از دست اندرکاران قطب زیست شناسی و تنوع زیستی دانشگاه تبریز و پرسنل گروه زیست شناسی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، از

Association of p53 Arg/Pro Polymorphism at Codon 72 with Risk of Breast Cancer in East Azerbaijani Women

M.A. Hossein Pour Feizi (PhD)^{1*}, R. Ravanbakhsh Gavgani (MSc)², R. Pourahmad (PhD)², N. Pouladi (MSc)³, P. Azarfam (MSc)⁴, V. Montazeri (MD)⁵

1. Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran

2. Department of Genetic, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

3. Department of Biology, Azerbaijan University of Tarbiat Moallem, Tabriz, Iran

4. Department of Medical Physics, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

5. Department of Surgery, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(2); Mar 2012; pp: 31-38

Received: Jun 25th 2011, Revised: Sep 7th 2011, Accepted: Nov 9th 2011.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Breast cancer is most common cancer among women in the world and one third women affected by this cancer. P53 gene is one of the most important tumor suppressor genes. Investigations show G to C polymorphism at codon 72 of p53 gene, is associated with the increasing of cancer, and perhaps it can be regarded as a predisposing marker for breast cancer. This study was done to assess the association of p53 Arg/Pro polymorphism at codon 72 with risk of breast cancer in women.

METHODS: This case-control study was conducted on 126 patients with invasive and insitu, as well as 99 control individuals as controls from Tabriz hospitals, DNA extraction was conducted using proteinase K method, different genotype of codon 72 of gene p53 were determined using allele-specific polymerase chain reaction (PCR) and direct DNA sequencing and compared.

FINDINGS: In the control group, the genotype distribution of p53 polymorphism, showed 30.3%, 50.5% and 19.2% for the Arg/Arg, Arg/Pro, Pro/Pro Genotypes, respectively. In the cancer group, the distribution was 44.4%, 34.9% and 20.6% for the Arg/Arg, Arg/Pro and Pro/Pro genotypes, respectively. Distribution differences in the p53 codon 72 polymorphism between the cases and controls were statistically significant ($p < 0.05$).

CONCLUSION: This study indicates that p53 codon polymorphism is a genetic predisposing factor for breast cancer in East Azerbaijan's women. However, further studies are needed to determine the role of p53 codon 72 polymorphism in breast cancer.

KEY WORDS: Genetic polymorphism, P53, Breast cancer.

*Corresponding Author;

Address: East Azarbaijan Science and Technology Park Building, Azadi St., Tabriz, Iran

Tel: +98 411 3262280

E-mail: pourfeizi@eastp.ir

References

- 1.Kalemi TG, Lambropoulos AF, Gueorguiev M, Chrisafi S, Papazisis KT, Kotsis A. The association of p53 mutations and p53 codon 72, Her 2 codon 655 and MTHFR C677T polymorphisms with breast cancer in Northern Greece. *Cancer Lett* 2005;222(1):57-65.
- 2.Khadang B, Fattahi MJ, Talei A, Samsami Dehaghani A, Ghaderi A. Polymorphism of TP53codon 72 showed no association with breast cancer in Iranian women. *Cancer Genet Cytogenet* 2007;173(1):38-42.
- 3.Ferlay J, Bray F, Pisane P, Parkin DM. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001;94(2):153-6.
- 4.Borresen-Dale AL. TP53 and breast cancer. *Hum Mutant* 2003;21(3):292-300.
- 5.Bond GL, Hu W, Levine A. A single nucleotide polymorphism in the MDM2 gene: from a molecular and cellular explanation to clinical effect. *Cancer Res* 2005;6513:5481-4.
- 6.Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291(5507):1304-51.
- 7.Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001;409(6822):928-33.
- 8.Chakravarti A. Population genetics-making sense out of sequence. *Nat Genet* 1999;21(Suppl 1):56-60.
- 9.Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature* 2000;408(6810):307-10.
- 10.Jin S, Levine AJ. The p53 functional circuit. *J Cell Sci* 2001;114(Pt 23):4139-40.
- 11.Riley KJ, Maher LJ 3rd. p53-RNA interactions: new clues in an old mystery. *RNA* 2007;13(11):1825-33.
- 12.Varley JM. Germline TP53 mutations and Li-fraumeni syndrome. *Hum Mutat* 2003;21(3):313-20.
- 13.Faghani M, Nikbakht M, Salehi M, et al. Study of p53 polymorphism at codon 72 in patients of breast cancer in Isfahan. *J Isfahan Med Sch* 2007;25(84):26-33. [in Persian]
- 14.Osorio A, Martinez-Delgado B, Pollan M, et al. A haplotype containing the p53 polymorphisms Ins 16bp and Arg72Pro modifies cancer risk in BRCA2 mutation carriers. *Hum Mutant* 2006;27(3):242-8.
- 15.Mahasneh AA, Abdel-Hafiz SS. Polymorphism of p53 gene in Jordanian population and possible associations with breast cancer and lung adenocarcinoma. *Saudi Med J* 2004;25(11):1568-73.
- 16.Sun Y,Keshava C, Sharp DS, Weston A, McCanlies EC. DNA sequence variants of p53 cancer and aging. *Am J Hum Genet* 1999;65(6):1779-82.
- 17.Brenna SM, Silva ID, Zeferino LC, Pereira JS, Martinez EZ, Syrjanen KJ. Prognostic value of p53 codon 72 polymorphism in invasive cervical cancer in Brazil. *Gynecol Oncol* 2004;93(2):374-80.
- 18.Soussi T, Wiman KG. Shaping genetic alterations in human cancer: the p53 mutation paradigm. *Cancer Cell* 2007;12(4):303-12.
- 19.Singh V, Rastogi N, Mathur N, Singh K, Singh MP. Association of polymorphism in MDM-2 and p53 genes with breast cancer risk in Indian women. *Ann Epidemiol* 2008;18(1):48-57.
- 20.Miyoshi Y, Iwao K, Ikeda N, Egawa C, Noguchi S. Breast cancer risk associated with polymorphism in CYP19 in Japanese Women. *Int J Cancer* 2000; 89(4):325-8.
- 21.Buyru N, Tigli H, Dalay N. p53 codon 72 polymorphism in breast cancer. *Oncol Rep* 2003;10(3):711-4.
- 22.Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press 2000; pp: 8889-902.
- 23.Gomez-Lazaro M, Fernandez-Gomez FJ, Jordan J. p53: twenty five years understanding the mechanism of genome protection. *J Physiol Biochem* 2004;60(4):287-308.
- 24.Papadakis EN, Dokianakis DN, Spandidos DA. p53 codon 72 polymorphism as a risk factor in the development of breast cancer. *Mol Cell Biol Res Commun* 2000;3(6):389-92.

25. Noma C, Miyoshi Y, Taguchi T, Tamaki Y, Noguchi S. Corrigendum to association of p53 genetic polymorphism (Arg72Pro) with estrogen receptor positive breast cancer risk in Japanese women. *Cancer Lett* 2005;227(2):197-203.
26. Tammiska J, Eerola H, Heinonen M, et al. Breast cancer patients with p53 Pro72 homozygous genotype have a poorer survival. *Clin Cancer Res* 2005;11(14):5098-103.
27. Langerod A, Bukholm IR, Bregard A, et al. p53 codon 72 polymorphism may affect the function of TP53 mutations in breast carcinomas but not in colorectal carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11(12):1684-8.
28. Wang YC, Chen CY, Chen SK, Chang YY, Lin P. p53 codon 72 polymorphism in Taiwanese lung cancer patients : association with lung cancer susceptibility and prognosis. *Clin Cancer Res* 1999;5(1):129-34.