تاثیر سرب موجود در رژلب بر جهش زایی ژن BRCA1

فاطمه رودباری[1*]، زینب خلیلی کالی[2]، مجتبی محسنی[1]

۱) گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲) گروه زیست، دانشکده علوم پایه، موسسه آموزش عالی نور دانش، میمه اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۳۱

چکیده

مقدمه: سرطان پستان یکی از مهم ترین سرطان های کشنده زنان می باشد. تغییرات در ژن های BRCA1، BRCA2، CDH1، STK11 و TP53 خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می دهد. علاوه بر تغییرات ژنتیکی، فاکتورهای محیطی نیز ممکن است در ابتلای فرد به این سرطان تاثیر بگذارد. سرب یکی از خطرناک ترین مواد شیمیایی در هوا و محصولاتی چون لوازم آرایشی است. از این رو در این پژوهش به بررسی تغییرات ژنی BRCA1 در ۹ رت دریافت کننده دوز های متفاوت سرب موجود در رژ لب و مقایسه آن با گروه کنترل پرداخته شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد–شاهدی، ۱۲ رت ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰ گرم به صورت تصادفی به ۴ گروه: کنترل(۱)، دریافت کننده دوز پایین(۲)، متوسط(۳) و بالای(۴) سرب موجود در رژلب(بر اساس اندازه گیری های سازمان غذا و داروی آمریکا) تقسیم شدند. گروه های ۲، ۳ و ۴ سرب استات را برای مدت ۲ ماه به صورت آب خوراکی دریافت نمودند. بعد از این مدت، DNA از نمونه های خونی استخراج گردید و سپس ژن BRCA1 به وسیله PCR تکثیر گشت. به منظور بررسی تغییرات ژنومی، همه محصولات PCR، توالی یابی شدند.

یافته های پژوهش: نتایج توالی یابی نشان داد که هیچ تغییر نوکلئوتیدی در ژن BRCA1 گروه های مورد و کنترل رخ نداده است.

بحث و نتیجه گیری: هیچ یک از دوزهای سرب موجود در رژ لب سبب تغییراتی در ژن BRCA1 نمی گردد. ممکن است در مناطق دیگری از این ژن، تغییراتی رخ داده باشد که در این پژوهش مورد بررسی ما قرار نگرفته است. هم چنین این امکان وجود دارد که همین مقادیر از سرب در طولانی مدت بتواند سبب بروز تغییراتی در توالی ژن مذکور گردد.

واژه های کلیدی: سرطان پستان، ژن BRCA1، سرب استات، موش صحرایی، رژ لب

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

Email: roudbari@umz.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

سرطان در نتیجه رشد غیر قابل کنترل سلول ها به وجود می آید که خود ناشی از عوامل محیطی و اختلالات ژنتیکی است(۱). چهار دسته از ژن ها که در هدایت سلول های سرطانی نقش دارند شامل: آنکوژن ها، ژن های مهارکننده تومور، ژن های تعمیر کننده DNA و ژن های مرگ برنامه ریزی شده هستند. هم چنین از عوامل محیطی خطرزا می توان به مواد شیمیایی، اشعه های آفتاب، امواج کوتاه، ویروس ها و باکتری ها اشاره کرد(۲،۳).

سرطان پستان از شایع ترین سرطان های زنان در جهان و ایران و دومین علت مرگ پس از سرطان ریه می باشد که عوامل ژنتیکی، تغذیه ای و محیطی مختلفی در بروز این نوع از سرطان، دخالت دارند(۴). بر اساس آمارهای سازمان جهانی بهداشت، از هر ۸ تا ۱۰ زن، یک نفر دچار سرطان پستان می شود و بر اساس آمارها در کشور ما، از هر ۱۰ تا ۱۵ زن، احتمال ابتلای یک زن به این بیماری وجود دارد(۵).

ژن های متعددی در بروز سرطان پستان دخالت دارند ولی از مهم ترین آن ها، می توان به ژن های BRCA1, BRCA2, TP53, PTEN اشاره کرد. همه افراد این ژن ها را دارند ولی خطا و موتاسیون در یکی از این ژن ها ریسک ابتلا به سرطان را به میزان ۵۰ تا ۸۵ درصد بالا می برد(۶،۷). ژن BRCA1 یک توالی ژنتیکی است که بر روی بازوی بلند کروموزوم 17 و در موقعیت 17q21 قرار گرفته است. این ژن، پروتئینی کد می کند که حاوی ۱۸۶۳ اسید آمینه و سه دومین شناخته شده Ring finger domain, BRCA1 C Terminus domain و دومین سوم که در اگزون ۱۱ تا ۱۳ گسترش دارد، است(شکل شماره ۱)(۸).

این پروتئین با مهارکننده های توموری و حس گرهای آسیب DNA و انتقال دهنده های سیگنال، ترکیب می شود و یک کمپلکس پروتئینی چند زیر واحدی به نام BASC را تشکیل می دهد. پروتئین BRCA1 در مهار کردن تومورها و تعمیر DNA، رونویسی، نوترکیبی و پایداری ژنومی نقش ایفاء می کند. اگر این ژن دچار آسیب یا جهش شود، تعمیر DNA به طور صحیح صورت نگرفته و این موضوع ریسک ابتلا به سرطان را افزایش می دهد. موتاسیون در این ژن علاوه بر سرطان پستان، ریسک ابتلا به سرطان های تخمدان، لوله فالوپ و پروستات را نیز افزایش می دهد(۹،۱۰).

یکی از مواد شیمیایی ای که برای سلامتی افراد مضر است ولی کاربردهای فراوانی در زندگی روزمره ما دارد، سرب می باشد. این فلز، یک موتاژن ضعیف در پستانداران است و در آنزیم هایی که برای سنتز DNA، تعمیر DNA و یا برای کنترل ساختار مارپیچی DNA مهم هستند، اختلال ایجاد می کند. گاهی سرب به عنوان یک کوکارسینوژن یا پروموتر تومور عمل می کند. محققان به بررسی ارتباط سرب با سرطان های مختلفی نظیر سرطان کلیه، مثانه، پوست، معده، شش، پستان و سرطان های مغزی پرداختند. در مجموع اگر سرب به صورت مزمن و دائم وارد بدن شود، تقریباً روی تمامی سیستم های بدن تاثیر می گذارد(۱۴-۱۱). مواد آرایشی دارای سرب هستند زیرا این فلز تاثیر زیادی در باقی ماندن پارافین و رنگ های زیبنده، بر روی صورت دارد. هر چقدر این لوازم، سرب بیشتری داشته باشند، ماندگاری رنگ روی پوست طولانی تر می گردد. اکثر رژلب های موجود در بازار دارای سرب هستند. سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)، تعداد زیادی از رژلب ها را مورد بررسی قرار داد و میزان سرب موجود در آن ها را از ۰/۰۲۶ تا ۷/۱۹ ppm اعلام کرد. میانگین میزان سرب در رژلب ها ۱/۱۱ ppm بوده است(۱۵،۱۶).

مواد و روش ها

گروه بندی موش های صحرایی: در این پژوهش تجربی با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی، از ۱۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار ۶۰ روزه تهیه شده از مرکز انستیتو پاستور، با میانگین وزن ۲۵۰ گرم استفاده شد. آزمودنی ها در دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته و رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد نگهداری شدند. این ۱۲ سر موش صحرایی بعد از آشنایی با محیط آزمایشگاه، به طور تصادفی به چهار گروه سه تایی که شامل گروه شاهد(گروه ۱)،

گروه های دریافت کننده دوز پایین(گروه ۲)، دوز متوسط(گروه ۳) و دوز بالای سرب موجود در رژ لب بودند(گروه ۴)، دسته بندی شدند.

آماده سازی محلول ها: برای تهیه محلول گروه دوم، ۰/۰۰۰۱ گرم از سرب استات با ترازویی با دقت ۰/۰۰۰۰۱ وزن شده و سپس با آب معمولی به حجم ۲۵۰۰ سی سی رسانیده شد و برای تهیه محلول سرب گروه سوم و چهارم به ترتیب ۰/۰۰۲۰ گرم و ۰/۰۱۳۱ گرم از سرب استات وزن شده و هر کدام به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانیده شدند. این محلول های حاوی سرب به مدت دو ماه به طور مداوم، به صورت آب خوراکی به حیوان خورانده شد. بعد از گذشت دو ماه، همه گروه ها بعد از وزن کشی، با محلول کتامین و زایلازین با نسبت ۵ به ۲ بی هوش گردیدند و سپس عمل خون گیری از چشم به منظور استخراج DNA ژنومی صورت گرفت. عمل خون گیری از اندام های دیگر منجر به مرگ موش و توقف پژوهش می گردید.

استخراج DNA: استخراج DNA توسط کیت استخراج DNA از خون تام شرکت یکتا تجهیز آزما انجام شد و طبق دستورالعمل شرکت سازنده به شرح زیر انجام گرفت:

ابتدا به ۲۰۰ میکرولیتر از خون، ۲۰ میکرولیتر از پروتئاز K و ۲۰۰ میکرولیتر از بافر BG اضافه و با دقت پیپتاژ گردید. سپس این محلول برای ۱۵ دقیقه در حمام آب ۶۰ درجه قرار داده شد تا عمل لیز شدن رخ دهد. در مرحله بعد، ۲۰۰ میکرولیتر از اتانول ۱۰۰ درصد به محلول اضافه و برای ۳۰ ثانیه با دست تکان داده شد. بعد ازاین مرحله یک ستون BG در یک Collection tube گذاشته و کل محتویات تیوب، با پیپت به ستون BG اضافه گردید. بعد از یک دقیقه سانتریفیوژ در ۱۴۰۰۰ rpm، محلول زیرین دور ریخته شد. بلافاصله این ستون با ۵۰۰ میکرولیتر بافر W1 شسته و بعد برای یک دقیقه دوباره سانتریفیوژ گردید و بعد از آن، ستون BG با ۷۵۰ میکرولیتر از Wash buffer شسته و بعد از یک دقیقه سانتریفیوژ، محلول زیرین دوباره دور ریخته شد. سپس به مدت ۳ دقیقه اضافه تر سانتریفیوژ گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آب مقطر ۳۷ درجه، با پیپت دقیقاً در وسط فیلتر ستون اضافه شد و ۳ دقیقه به همان صورت باقی ماند. بعد از آن، برای ۲ دقیقه سانتریفیوژ انجام شد تا DNA جدا گردد. سپس DNA، در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره شد. به منظور بررسی کیفیت DNA استخراج شده، همه نمونه ها بر روی ژل آگارز ۱ درصد برده شدند.

طراحی پرایمرها: جهت انجام واکنش زنجیره ای پلی مراز، ابتدا آغازگرهای رفت و برگشت با استفاده از اطلاعات توالی ثبت شده در سایت http://www.ncbi.nlm.nih.gov و نرم افزارهای Gene runner و الیگو طراحی گردیدند(جدول شماره ۱) و سپس برای سنتز به شرکت سینا کلون سفارش داده شدند.

تکثیر و جداسازی منطقه RING Finger(منطقه ای با بیشترین احتمال بروز جهش) از ژن BRCA1: برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز، از PCR master mix شرکت یکتا تجهیز آزما استفاده شد و قابل ذکر است که آنزیم مقاوم به حرارت به کار رفته در این کیت، Taq DNA Polymerase بوده است. تکثیر ژن در ۳۶ سیکل، طبق برنامه ای به شرح زیر انجام گردید: مرحله واسرشتگی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، مرحله واسرشتگی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، مرحله اتصال آغازگرها به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۶۱ درجه سانتی گراد، مرحله گسترش به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد و مرحله گسترش نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام گرفت. مقدار مواد مصرفی در انجام PCR در جدول شماره ۲ آورده شده است. در نهایت به منظور تایید انجام واکنش، محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد(طبق دستور شرکت سازنده Ladder: سینا کلون) در کنار مارکر ۵۰ جفت بازی، الکتروفورز گردید و نتایج با استفاده از دستگاه Gel doc مورد بررسی قرار گرفت.

تعیین توالی محصول واکنش PCR: به منظور تعیین توالی، محصولات PCR با استفاده از کیت تخلیص شرکت یکتا تجهیز آزما، تخلیص شد و سپس جهت تعیین توالی به شرکت تکاپو زیست ارسال گردید.

نتایج تعیین توالی ژن با استفاده از سایت اینترنتی WWW.ncbi/blast و نرم افزار ClustalW2، از لحاظ تشابهات و اختلافات با ژن BRCA1 موش صحرایی موجود در بانک جهانی ژن، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته های پژوهش

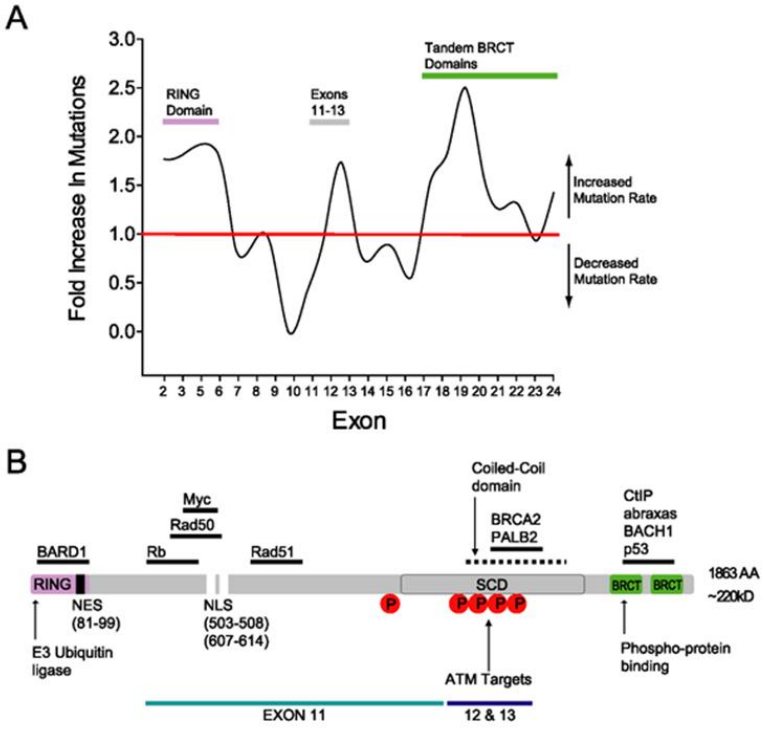
با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت یکتا تجهیز آزما، DNA ژنومی از خون تام تمام موش های صحرایی مورد پژوهش، استخراج گردید(شکل شماره ۲).

قطعه DNA تکثیر یافته به وسیله PCR در حدود ۴۰۳ جفت باز بوده و باند های دیگری در ژل آگارز مشاهده نگردید که این نشان دهنده اختصاصی بودن پرایمرهای طراحی شده می باشد(شکل شماره ۳).

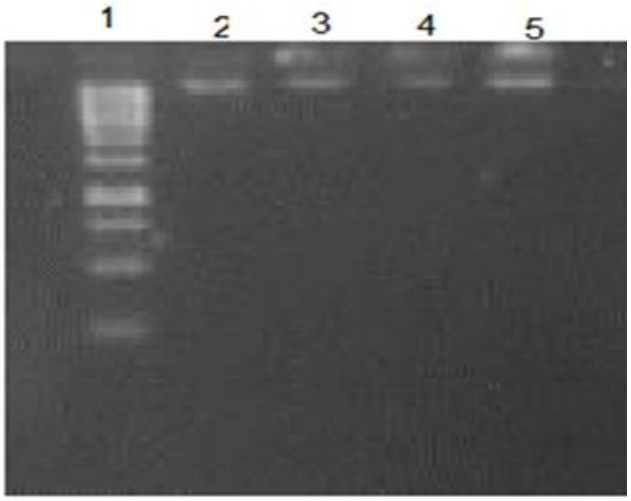
نتایج تعیین توالی DNA: برای بررسی تاثیر سرب بر روی توالی ژن BRCA1، محصول PCR تمامی گروه ها، برای توالی یابی به شرکت Bioneer ارسال گردید. نمونه ها به روش ختم زنجیره تعیین توالی شدند. برای خوانش توالی ها، از آغازگر بالا دست استفاده شد. توالی های به دست آمده به وسیله نرم افزارهای بایوادیت و کروماس تجزیه شده و سپس با توالی مورد نظر رمان به وسیله نرم افزارهای Blast و ClustalW2 تطبیق داده شد و هیچ تغییر باز، حذف و یا ورود نوکلئوتید به توالی اصلی ژن به دست نیامد(شکل شماره ۴).

جدول شماره ۱. توالی پرایمرهای طراحی شده برای ژن BRCA1

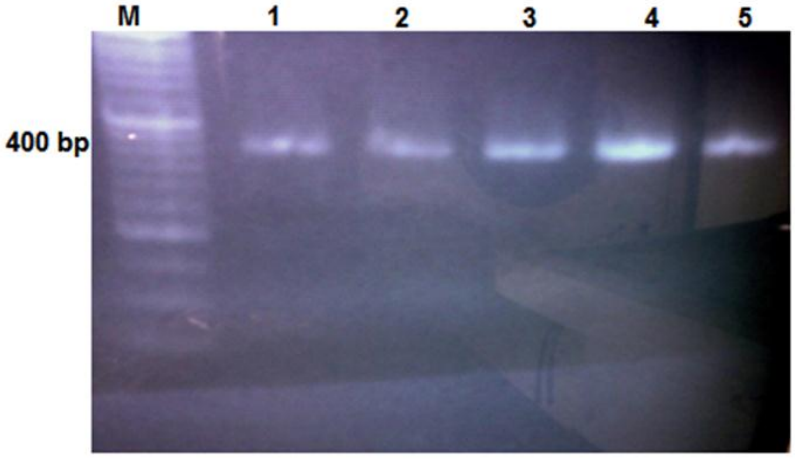
پرایمر	توالی(5' to 3')	طول پرایمر(bp)	طول محصول PCR (bp)
رفت	TGATCTAAGGCTATTCAACCCTC	۲۳	
برگشت	TGTGATTTCTTACACAGACAGGC	۲۳	۴۰۳



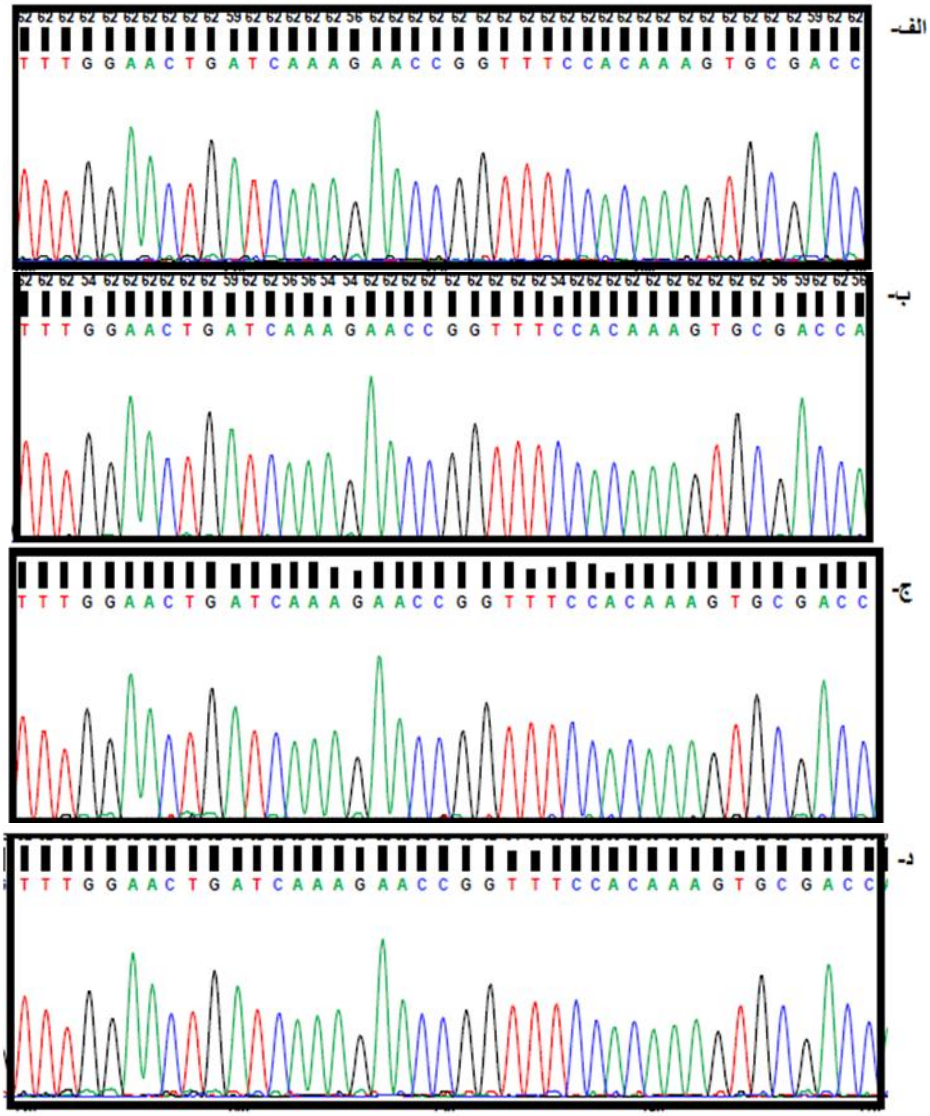
شکل شماره ۱. شکل A آشکار می کند که بیشترین میزان موتاسیون ها در ژن BRCA1، در دومین RING Finger، اگزون ۱۳-۱۱ و دومین BRCT رخ می دهد. شکل B نقشه دومین های BRCA1 است.



شکل شماره ۲. ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده در ژل آگارز ۱ درصد. در این تصویر، ۱ مربوط به DNA Ladder 50bp(با Cat.No:PR901633) و باندهای ۲ تا ۵ مربوط به چهار نمونه از DNA های استخراج شده از بین DNA نمونه های مورد پژوهش



شکل شماره ۳. تصویر الکتروفورزی محصول PCR ژن BRCA1 در گروه های مورد و شاهد بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد. باندهای ۱ و ۲ مربوط به رت های کنترل و باندهای ۳ تا ۵ به ترتیب مربوط به رت های دریافت کننده دوز پایین، متوسط و بالای سرب موجود در رژ لب می باشند. M بیانگر DNA Ladder 50 bp (Cat.No:PR901633) می باشد.



شکل شماره ٤. مقایسه توالی ژن BRCA1 گروه کنترل با گروه های دریافت کننده سرب. تصویر الف مربوط به توالی ژن در گروه کنترل، تصویر ب مربوط به گروه دریافت کننده دوز پایین سرب، تصویر ج مربوط به توالی گروه دریافت کننده دوز متوسط و تصویر د مربوط به گروه دریافت کننده دوز بالای سرب می باشد.

بحث و نتیجه گیری

امروزه در جهان استفاده از انواع لوازم آرایشی در بین زنان و حتی دخترهای کم سن و سال، رواج بسیاری دارد. اکثر مصرف کنندگان این محصولات، تنها به جنبه زیبایی آن نگاه می کنند و توجهی به آسیب های احتمالی آن بر سلامت ندارند. با توجه به حضور انواع مواد شیمیایی خطرناک نظیر سرب در ترکیبات لوازم آرایش، ضرورت داشت که تاثیر سرب بر یکی از ژن های دخیل در سرطان پستان و تخمدان را مورد بررسی قرار گیرد. آن چه که مشهود است، سرطان درمان قطعی ندارد و تنها در صورتی که در مراحل اولیه تشخیص داده شود، تا حدودی قابل درمان و کنترل می باشد. با این وجـــود، یـــکی از موثرترین راه های مبارزه، پیشگیری از آن است با توجه به پتانسیل سرب در بیماری زایی، در این پژوهش تاثیر این ماده خطرناک در بروز ســـــرطان پستان که از شایع ترین سرطان های زنان در جهان و دومین علت مرگ به دلیل بدخیمی ها پس از سرطان ریه است مورد بررسی قرار گرفت تا شاید از این طریق، کمکی به افزایش آگاهی و در نهایت پیشگیری از آن به عمل

آید. تغییرات ژنتیکی در ژن های متوقف کننده تومور، یکی از ریسک فاکتورهای سرطان پستان است. از مهم ترین ژن های متوقف کننده تومور که در این نوع از سرطان دچار تغییرات می شود، ژن BRCA1 است که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفته است.

در پژوهش حاضر، با بررسی تاثیر دوزهای پایین(۰/۰۲۶ ppm)، متوسط(۱/۱۱ ppm) و بالا(۷/۱۹ ppm) سرب موجود در رژ لب بر روی توالی ژن BRCA1 در زمان محدود(۲ ماه)، این نتایج حاصل شد که احتمالاً این دوزهای سرب در این مدت دو ماهه نمی توانند روی توالی نوکلئوتیدی ژن مذکور تغییراتی ایجاد نمایند.

پژوهش های زیادی در مورد ارتباط سرب با بیماری ها صورت گرفته است. یکی از گروه هایی که اثر این ماده خطرناک را مورد مطالعه قرار داده است، آویو و همکاران می باشند که تاثیر این ماده را بر روی عملکرد کلیه و فشارخون مورد بررسی قرار دادند. آن ها از این پژوهش دریافتند که مواجهه با سرب در اوایل زندگی، منجر به بیماری های کلیوی مزمن و افزایش فشارخون در بزرگسالی می گردد(۱۷).

هم چنین در مطالعه دیگری که توسط فهیم و همکارش انجام گرفت، به این نتیجه رسیدند که سرب و کادمیوم با همکاری یکدیگر، باعث آسیب به بیضه ها، پروستات و تشکیل سنگ در مثانه و کلیه ها می گردند(۱۸).

لیلیس در مطالعه ای متوجه این موضوع گردید که مواجهه طولانی مدت با سرب در برخی از مشاغل، باعث بروز نفروپاتی و سرطان کلیوی می شود(۱۹).

در نتایج پژوهش حاضر با نتایج لیلیس، فهیم و آویو به دلیل متفاوت بودن نوع بیماری و سرطان های حاصله، دوزهای سرب به کار رفته و جمعیت های مورد مطالعه در پژوهش ها، تفاوت مشاهده گردید. هم چنین این پژوهش به بررسی مولکولی اثر سرب بر روی توالی ژن خاصی پرداخته است. ولی محققین مذکور، از طریق اندازه گیری پارامترهایی نظیر میزان فیلتراسیون گلومرولی، تغییرات سیتولوژی نظیر جایگزین شدن اپیتلیوم ستونی توسط اپیتلیوم سنگ فرشی در بافت پروستات و بیضه ها و اندازه گیری میزان کراتنین و اوره خون به بررسی اثر سرب در بیماریزایی پرداختند.

از دیگر محققینی که ارتباط سرب با تومورزایی را مورد بررسی قرار داده اند، می توان به کالابرس و همکارش اشاره نمود. که طی تحقیقی، متوجه تاثیر سرب در القاء تکثیر سلولی و تومورزایی گردیدند(۲۰). نتایج مطالعه فوق با فرضیه انجام پژوهش حاضر هم خوانی دارد. زیرا ژن BRCA1 یکی از فاکتورهای تعمیرکننده DNA می باشد و در صورت بروز جهش در توالی این ژن، در فرآیند تعمیر DNA اختلال ایجاد می گردد که این امر در نهایت منجر به تکثیر بی رویه DNA آسیب دیده و بروز تومور می شود.

هوآ و همکارش، گروه دیگری بودندکه ارتباط سرب با بروز سرطان را مورد بررسی قرار دادند. آن ها در طی مطالعه ای، شواهد و دلایل مثبتی را مبنی بر ارتباط سرب با سرطان شش و معده ارائه نمودند(۱۱). اما در پژوهش حاضر مشاهده گردید که سرب از طریق تاثیر بر ناحیه انگشت حلقه ژن BRCA1، منجر به سرطان نمی گردد ولی ممکن است بر روی قسمت های دیگری از این ژن که مورد بررسی ما قرار نگرفته است، منجر به بروز جهش و در نهایت سرطان گردد.

در مطالعه استینلند و همکارش در مورد نقش سرب در بروز سرطان های انسانی نظیر سرطان های مغزی، شش و معده مشخص گردید که سرب یک موتاژن ضعیف و یک ریسک فاکتور برای ابتلا به سرطان های معده و شش محسوب می شود(۲۱). از دلایل تفاوت بین یافته های پژوهش حاضر با استینلند و همکارش، می توان به تفاوت در نوع سرطان ها، نوع جمعیت مورد مطالعه و شیوه انجام تحقیق اشاره نمود.

سوئی و همکاران به بررسی تاثیر سرب و سلنیوم بر روی پروتئین متصل شونده به تلومر(Rap1p)، تلومراز و طول تلومر در ساکارومیسس سروزیه پرداخته به این نتیجه دست یافتند که سرب باعث کوتاه شدن طول تلومر، بر هم زدن ساختار و کاهش غلظت Rap1p و کاهش فعالیت تلومراز می گردد(۲۲). فعالیت کم تلومراز به فرسایش تلومر در توالی های تکراری تلومری منجر می شود که عملکرد حفاظتی تلومر را مختل می کند و

به پیری سلول، اتصال انتها به انتهای کروموزوم ها و مرگ سلولی می انجامد. هم چنین در سلول های سرطانی، بیان و فعالیت آنزیم تلومراز افزایش می یابد و به این ترتیب باعث نامیرا شدن سلول های سرطانی می گردد. بین نتایج پژوهش حاضر و مطالعات سوئی هم خوانی وجود دارد. به این دلیل که در تحقیق سوئی مشخص گردید که سرب نمی تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم تلومراز و در نهایت نامیرا و سرطانی شدن سلول ها گردد. در این تحقیق نیز مشاهده گردید که این میزان از سرب در مدت محدود مطالعه، نمی تواند سبب بروز جهش در ژن و در نهایت سرطان پستان گردد.

لاند استروم و همکاران به بررسی تاثیر سرب و آرسنیک در بروز سرطان ریه پرداختند و در نهایت به این نتیجه رسیدند که آرسنیک از ریسک فاکتورهای احتمالی برای ابتلا به سرطان ریه می باشد ولی این ارتباط را بین سرب و این سرطان، نیافتند(۲۳). نتایج پژوهش حاضر با نتایج استروم و همکاران هم خوانی دارد، هر چند نوع سرطان های مورد مطالعه با هم متفاوت است ولی به دلیل تاثیر نداشتن سرب بر روی احتمال ایجاد این سرطان ها، بین نتایج مطابقت وجود دارد.

کلی و همکاران، گروه دیگری بودند که در مورد بیماریزایی سرب تحقیق نمودند. آن ها به بررسی نقش سرب در بیماری آلزایمر پرداختند و به این نتیجه رسیدند که سرب از طریق کاهش متیلاسیون جزایر CPG پروموتر ژن APP و کاهش بیان بعضی از پروتئین ها، می تواند باعث بروز این بیماری شود(۲۴). بین نتایج پژوهش حاضر و این گروه تفاوت وجود دارد. احتمالاً تفاوت نتایج دو پژوهش می تواند به این دلیل باشد که پژوهش حاضر به بررسی تاثیر سرب بر روی عوامل اپی ژنتیک نپرداخته بلکه به بررسی تاثیر آن بر ژنتیک پرداخته است. هم چنین نوع ژن های مورد بحث در این دو تحقیق، با هم متفاوت می باشد.

در پایان خاطر نشان می گردد که این تحقیق تنها به بررسی تاثیر سرب بر روی منطقه کوچکی از ژن BRCA1، در مدت محدود ۲ ماه پرداخته است. ممکن است در مناطق دیگری از این ژن، تغییراتی رخ داده باشد که مورد بررسی قرار نگرفته است. هم چنین این امکان وجود دارد که همین مقادیر از سرب در طولانی مدت بتواند سبب بروز تغییراتی در توالی ژن مذکور گردد.

کد اخلاق: IR.UMZ.REC.1397.48

References

1.Robert L. Nussbaum, Roderick R. Thompson genetics in medicine. 1th ed. Tomorrow Publication. 2009;P.133-9.

2.Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000;100:57-70.

3. Sonnenschein C, Soto AM. Theories of carcinogenesis an emerging perspective. Semi Cancer Biol 2008;18:372-7. doi: 10.1016/j.semcancer.2008.03.012

4. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murrey T , et al. Cancer statistics. CA Cancer J Cline 2008;71-96. doi:10/ 10.3322/CA.2007.0010

5. Miki Y, Swensen J, Shattuck D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science 1994;266:66-71.doi:10/

10,10126/science.7545954

6. Varley J, Moran A, Ellis D, Odair L, Pharoah P. BRCA1and BRCA2 and TP53 mutation in very early onset breast cancer whith associated risks to relatives. Europ J Cancer 2006;42:1143-50. doi: 10,1016/j.ejca.2005.11.032

7. Pietschmann A, Mehdipour P, Atri M, Hofmann W, Hosseiniasl SS, et al. Mutation analysis of BRCA1 and BRCA2 genes in Iranian high risk breast cancer families. J Cancer Res Clin Oncol 2005;131:552-8. doi:/10 10,1007s00432-005-0678-8

8.Paterson JW. BRCA1 a review of structure and putative functions. Dis Markers1998;13:261-74.

9. Starita LM, Parvin JD. The multiple nuclear functions of BRCA1 transcription ubiquitination and DNA repair.Curr Opon Cell Biol2003; 15:345-50.

10. Friedenson B. The BRCA1/2 pathway prevents hematologic cancers in addition to breast and ovarian cancers. BMC Cancer

2007;7:152.
11. Hua Fu, Paolo B. Cancer and occupational exposure to inorganic lead compounds a metaanalysis of published data. Occup Environ Med 1995;52:73-81. doi: 10/10,1136/oem.52.2.73
12.Ghorbel M, Boujelbene F, Makniayadi F, Guermazi A, Kammoun JC, Murat F,et al. Effect of chronic lead exposure on kidney function in male and female Rats determination of a lead exposure biomarker. Arch Physiol Biochem 2001;109:457-63.
13. Johnson FM. Thegenetic effects of environmental lead. Mutat Res1998;410:123-40.
14.Pegrand jung K, Prechts S, Fels LM, Herbort C, Stoite H. Changed excretion of urinary proteins and enzymes by chronic exposure to lead . Nephrol Dial Transplant 1998;9:613-8.
15. Hepp NM, Mindak WR, Cheng J. Determination of total lead in lipstick development and single lab validation of a micro wave assisted digestion inductively coupled plasma mass spectrometric Method. J Cosmet Sci 2009;60:405-14. doi: 10/10.1111/j.1468-2494.2010.00577_2.x
16. Hepp NM, Mindak WR, Cheng J. Determination of total lead in 400 lipsticks on the U.S. market using avalidated microwave asisted digestion inductively coupled plasma mass spectrometric method. J Cosmet Sci2012;63:159-76.
17. Aviva A, John E, Bernstein J, Gold Smith DI, Spitzer A. Lead intoxication during development :its late effect on kidney function And blood pressure. Kid Int 1980;17:430-7. doi: 10/10.1007/s00467-015-3222-3
18.Fahim MS, Khare N.K. Effect of subtoxic levels of Lead and cadmium on urogenital organs of male Rats. Arch Androl1980;4:357-62.
doi:10/10.3109/01485018008986982
19.Lilis R. Long term occupational lead exposure, chronic nephropathy and renal cancer a case repot. Am J Ind Med 1981;2:293-7.
20.Calabrese EJ, Baldwin LA. Lead induced cell proliferation and organ specific tumorigenicity. Drug Metab Rev 1992;24:409-16.
21.Steenland K, Boffetta P. Lead and cancer in humans. Am J Indus Med2000;38:295-9. doi:10.1002/1097-0274(200009)38:3
22.Cui QH, Tang CC, Huang YG. Effect of lead and selenium on telomere binding protein Rap1p telomerase and telomeric DNA in Saccharomyces cerevisiae. Shanghai 2002;34:240-4.
23.Nils L, Englyst V, Gerhardsson L. Lung cancer development in primary smelter workers a nested casereferent study. J Occup Environ Med 2006;48:376-80.doi: 10.1097/01.jom.0000201556.95982.95.
24.Kelly Mi, Laura S, Dana C, Henry L. alzheimers disease and environmental exposure to lead: the epidemiologic evidence and potential role of epigenetics. Curr Alzheimer Res 2012;9:563-573.

Effects of Using Lipsticks with any Lead Content on the BRCA1 Gene Mutations

Roodbari F[1], kalilikali Z[2], Mohseni M[1]*

(Received: August 19, 2017 Accepted: May 21, 2018)

Abstract

Introduction: Breast cancer is one of the leading causes of cancer death in women. Variations in the BRCA1, BRCA2, CDH1, STK11 and TP53 genes increase the risk of developing breast cancer. In addition to specific genetic changes, environmental factors may influence an individual's risk of developing breast cancer. Lead is one of the most dangerous chemicals in the air as well as many products, such as cosmetics. Therefore, this study aimed to evaluate BRCA1 gene mutations in 9 rats receiving different doses of lead in the lipstick, compared to the control group.

Materials & Methods: In this case-control study, 12 female Wistar rats with mean weight of 250 g were randomly divided into 4 groups of control (1) and the rats receiving low (2), average (3) and high doses (4) of lead in lipstick according to the measurements by the American Food and Drug Administration. Groups 2, 3, and 4 received lead acetate in their drinking water for 2 months on a daily basis. Afterward, DNA from blood samples was extracted and the BRCA1 gene was amplified using polymerase chain reaction (PCR) method. All PCR products were sequenced to investigate the genomic changes. *Ethics code:* IR.UMZ.REC.1397.48

Findings: The results of the sequencing showed no nucleotide changes in the BRCA1 sequences in the experimental and control groups.

Discussion & Conclusions: According to the results, none of the doses of lead in lipstick change the BRCA1 gene. There may have been changes in other parts of the gene that have not been investigated in this study. Moreover, it is also possible that the same amounts of lead in the long run cause changes in the gene sequence.

Keywords: BRCA1gene, Breast Cancer, Lead acetate, Lipstick, Rat

1. Dept of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
2. Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Nour Danesh Institute of Higher Education, Isfahan, Iran
**Corresponding author Email: roudbari@umz.ac.ir*