Research Article

**Nova Biologica Reperta** 11(4): 12-20 (2025)

Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115

https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press;

مقاله پژوهشی

**یافته‌های نوین در علوم زیستی**

جلد ۱۱، شماره ۴، صفحات ۱۲ الی ۲۰ (۱۴۰۳)

انتشارات دانشگاه خوارزمی

# همراهی ژن *ERCC5* (SNP: rs2296147 T>C) با استعداد ابتلا به سرطان پستان در شمال‌غرب ایران

**رعنا سادات عباس آباد[۱]، سارا غفاریان[۲*]**

[۱] فارغ التحصیل کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران، [۲] استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

**مسئول مکاتبات:** سارا غفاریان s.ghaffarian@azaruniv.ac.ir

**چکیده.** ژن *ERCC5* از اجزای کلیدی مسیر NER است و یک اندونوکلئاز کلیدی را کد می‌کند. در این پژوهش همراهی چندشکلی rs2296147 T>C ژن *ERCC5* با استعداد ابتلا به سرطان پستان در قالب مطالعه مورد-شاهدی و بر روی جامعه آماری متشکل از ۱۰۰ زن مبتلا به سرطان پستان و ۱۰۰ فرد سالم با تکنیک Tetra-ARMS PCR مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل با استفاده از برنامه‌ی آماری آنلاین javastat و نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۶ انجام شد. فراوانی ژنوتیپ‌های CC ، TC و TT در بیماران به ترتیب ۱۱/۴۶، ۵۸/۳۳ و ۳۰/۲۱ درصد و فراوانی آن‌ها در افراد کنترل به ترتیب ۲۲، ۴۴ و ۳۴ درصد بود. تجزیه‌های آماری نشان دهنده همراهی معنی‌دار ژنوتیپ‌های CC (P-value= ۰/۰۴۹) (OR=۰/۴۵۹, CI 95% =۰/۲۰۹ -۱/۰۰۷) و CT با سرطان پستان (P-value= ۰/۰۴۵) (OR=۱/۷۸۲ , CI 95% =۱/۰۱۲ -۳/۱۳۹) بود. فراوانی آلل‌های C و T در بیماران به ترتیب ۴۰/۶۲ و ۵۹/۳۷ درصد و در جمعیت کنترل به ترتیب ۴۴ و ۵۶ درصد بود. نتایج حاصل نشان دهنده عدم همراهی فراوانی هیچ یک از الل‌های T (P-value= ۰/۴۹۹) و C (P-value= ۰/۴۹۹) با ریسک ابتلا به سرطان پستان بود. از بین ویژگی‌های بالینی سمت درگیر همراهی معنی‌داری با توزیع ژنوتیپی این SNP داشت. براساس نتایج حاصل، این چندشکلی می‌تواند باعث افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در شمال غرب ایران شود.

**واژه‌های کلیدی:** ترمیم برش نوکلئوتیدی، چند شکلی تک نوکلئوتیدی، ژن *ERCC5* ، مطالعه مورد-شاهدی، ویژگی‌های بالینی

# Association between ERCC5 Gene (SNP: rs2296147 T>C) and the Risk of Breast Cancer in Northwest of Iran

**Rana Sadat Abbasabad[1], Sara Ghaffarian[2*]**

[1]MSc graduate, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran, [2]Assistant Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.

Corresponding author: Sara Ghaffarian, s.ghaffarian@azruniv.ac.ir

**Abstract.** ERCC5 gene, is a key component of NER pathway and encodes a key endonuclease. In this study, we analyzed the association between rs2296147 T>C polymorphism of ERCC5 gene with the risk of breast cancer in a case-control study with statistical population consisting of 100 patients and 100 healthy controls by Tetra-ARMS PCR. Statistical analysis was performed using javastat online statistics package and SPSS V.26. The frequency of CC, CT, and TT genotypes in the case group, were 11.46%, 58.33%, and 30.21%, respectively and they were 22%, 44%, and 34% for the control group. Statistical analysis showed a significant association between CC (p-value=0.049) (OR=0.459, CI 95%=0.209-1.007) and CT genotype (p-value=0.045) (OR=1.782, CI 95%=1.012-3.139) with breast cancer risk. Also, C and T alleles frequency in the case group, were 40.62 % and 59.37% and those in the control group were 44 % and 56 % respectively. There was not any significant association between T (p-value=0.499) and C (p-value=0.499) alleles frequency and breast cancer risk in Northwestern Iran. Also, there was no significant association between this SNP frequency and patient's pathological traits. In conclusion, our study indicated that ERCC5 rs2094258 polymorphism may contribute to the risk of breast cancer in northwestern of Iran.

**Key words.** Case-Control study, Nucleotide excision Repair, Pathological traits, Single Nucleotide Polymorphism, *ERCC5* gene

Received 15.12.2023/ Revised 19.02.2025/ Accepted 28.02.2025/ Published 15.03.2025

دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۴/ اصلاح: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱/ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱/ انتشار: ۱۴۰۳/۱۲/۲۵

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-29 ]

[ DOI: 10.22034/11.4.12 ]

## مقدمه

سرطان یکی از علت‌های اصلی مرگ‌ومیر میلیون‌ها انسان در سراسر جهان است. در سال ۲۰۲۲ سرطان پستان با ۲/۳ میلیون مورد جدید ابتلا و با فراوانی ۱۱/۷ درصد به عنوان شایعترین سرطان در جهان از سرطان ریه پیشی گرفت. با وجود اینکه نرخ ابتلا به سرطان پستان در کشورهای توسعه یافته بیشتر است، اما نرخ مرگ و میر بیماران مبتلا به سرطان پستان در زنان کشورهای در حال توسعه، بطور قابل توجهی بالاتر از کشورهای توسعه یافته می‌باشد. پیش بینی می‌شود تا سال ۲۰۴۰ نرخ ابتلا به سرطان به ۴۷ درصد برسد (Sung et al., 2021).

سرطان یک بیماری متاثر از عامل‌های خطر ژنتیکی و محیطی است. عوامل محیطی متعددی مانند جنسیت، سن، استروژن، سابقه خانوادگی، و سبک زندگی ناسالم از جمله عوامل افزایش احتمال ابتلا به سرطان پستان هستند (Siegel & Miller, 2018)، اما وجود سابقه خانوادگی قوی‌ترین عامل خطر برای این بیماری به شمار می‌آید (Braunwald et al., 2001). جهش یکی از فاکتورهای عمده ایجاد تنوع ژنتیکی است و تغییرات ژنتیکی عامل ایجاد، تفاوت در حساسیت و پاسخ بدن به بیماری-ها هستند. هر SNP (Sigle Nucleotide Polymorphism) یک تغییر تک نوکلئوتیدی در توالی DNA است. SNPهایی مثل چندشکلی‌های ناحیه تنظیمی و ناحیه کدکننده، می‌توانند منجر به افزایش ریسک ابتلا به سرطان شوند. SNPهای مرتبط با سرطان پستان می‌توانند بعنوان یک ابزار بالقوه برای شناسایی افراد مستعد ابتلا به سرطان، بهبود تشخیص سرطان و برنامه‌ریزی درمان استفاده شوند. تحقیقات نشان داده است این چندشکلی‌ها عامل داشتن صفات منحصر به فرد و یکی از دلایل تفاوت فردی در بروز سرطان هستند (Yuan et al., 2014). به همین دلیل یکی از بهترین روش‌ها برای مقابله با سرطان، تشخیص زود هنگام آن است.

از نظر ژنتیکی جهش در ژن‌های کلیدی باعث ایجاد سرطان می‌شوند. این ژن‌های کلیدی در چهار دسته شامل ژن‌های سرکوب کننده تومور، انکوژن‌ها، ژن‌های دخیل در مرگ برنامه ریزی شده سلول و ژن‌های ترمیم کننده DNA قرار می‌گیرند. سیستم‌های ترمیمی DNA نقش اساسی در حفظ یکپارچگی ژنوم و محافظت سلول‌ها در برابر تغییرات ژنتیکی ایفا می‌کنند و مسئول ترمیم آسیب‌های وارد شده به DNA هستند (Tutt & Ashworth, 2002). این ژن‌ها به عنوان ژن‌های کاندید مستعد کننده ابتلا به سرطان در نظر گرفته شده‌اند (Rudolph et al., 2016). زمانی‌که این ژن‌ها دچار جهش شوند دیگر نمی‌توانند آسیب وارد شده به ژن‌های دیگر را ترمیم کنند و عدم ترمیم جهش‌ها می‌تواند منجر به خودکشی سلول و یا سرطان شوند (Tutt & Ashworth, 2002). بیش از ۱۵۰ ژن ترمیم کننده DNA انسانی در ۵ مسیر اصلی شناخته شده‌است که شامل ترمیم برش نوکلئوتیدی (NER)، ترمیم برش باز (BER)، ترمیم عدم تطابق (MMR)، ترمیم شکست دو رشته‌ای (DSBR) و ترمیم همراه رونویسی (TCR) می‌باشد. از بین این مسیرها NER مسئول ترمیم انواع مختلف آسیب DNA از جمله دایمرهای تیمیدین، آسیب DNA اکسیداتیو، پیوندهای متقابل مواد افزایشی حجیم و آسیب الکیله شدن است (Wood, 1997).

ترمیم NER یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های ترمیم DNA بوده و شامل پروتئین‌های زیادی است که در شناسایی آسیب DNA و برش آن نقش دارند. ژن‌های گروه *ERCC* از فاکتورهای کلیدی مسیر NER هستند (Liu et al., 2018). ژن *ERCC5* بخش مهمی از دستگاه ترمیم DNA است و انواع جهش‌های *ERCC5* می‌توانند منجر به نقص توانایی‌های ترمیم DNA، بی‌ثباتی ژنومی و عدم تنظیم رونویسی ژنتیکی شود. ارتباط SNPهای *ERCC5* با توسعه برخی از سرطان‌ها از جمله سرطان پستان مشاهده شده است (Ding et al., 2011). نشان داده شده که این ژن‌ها برای ثبات ژنتیکی حیاتی هستند و نقص در این ژن‌ها بیشتر باعث ایجاد سرطان و پیش آگهی بد سرطان می‌شود (Liu et al., 2018).

ژن *ERCC5* که با نام *XPG* (Xeroderma pigmentosum G) نیز شناخته می‌شود در موقعیت 13q32.3-q33.1 کروموزوم ۱۳ قرار گرفته است (Takahashi et al., 1992). این ژن با داشتن ۱۵ اگزون و ۱۴ اینترون، ۳۲ کیلوباز طول دارد (Wakasugi et. 1997). پروتئین *ERCC5* انسانی دارای دومین‌های N– و I– نوکلئازی بسیار محافظت شده‌ای است که با هم هسته نوکلئاز را تشکیل می‌دهند (Scherly et al., 1993). ژن ERCC5 یک اندونوکلئاز اختصاصی DNA تک رشته‌ای به طول ۱۱۶۸ آمینواسید را کد می‌کند که DNA آسیب‌دیده را از سمت '۳، در محل آسیب‌دیده می‌شکافد. همچنین بصورت هترودایمر XPF/ERCC1 در برش غیرآنزیمی انتهای '۵ در مکانیسم NER شرکت می‌کند و اتصال کمپلکس ترمیم DNA به DNA آسیب دیده را تثبیت می‌کند (Hohl et al., 2007). جایگاه rs2296147 ژن *ERCC5* در موقعیت 5'_UTR، احتمالا در محل تشخیص P53 (Cartharius et al., 2005) و محل اتصال فاکتور رونویسی TFBS واقع شده است. اگرچه عملکرد بیولوژیکی این جایگاه در حال حاضر کاملا شناسایی نشده است اما بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که



[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-29 ]
[ DOI: 10.22034/11.4.12 ]

SNPهای ژن *ERCC5* واقع در TFBS احتمالا با تغییر در اتصال فاکتورهای رونویسی به DNA موجب تغییر در بیان ژن‌ها می‌شوند (Pittman et al., 2010).

همراهی بین چندشکلی rs2296147 C>T ژن ERCC5 و ریسک ابتلا به سرطان پستان در ۱۰۰ نمونه سرطانی و ۷۵ نمونه کنترل از جمعیت پاکستان مورد مطالعه قرار گرفت. در این پژوهش تجزیه و تحلیل آماری رابطه معنی‌داری بین ژنوتیپ TCو افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داد. همچنین سابقه خانوادگی و یائسگی دیرهنگام از عوامل خطر مرتبط با سرطان پستان معرفی شد (Malik et al., 2016). در پژوهشی دیگر که همراهی پنج SNP ژن *ERCC5* و خطر ابتلا به سرطان پستان را در ۳۲۵ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۳۲۵ فرد شاهد از زنان چینی بین ژانویه ۲۰۱۱ تا مارس ۲۰۱۴ مورد مطالعه قرار گرفت، همراهی ژنوتیپ AA در جایگاه چندشکل rs2094258 ژن *ERCC5* با احتمال ابتلا به سرطان پستان نشان داده شد. همچنین در این مطالعه افراد سیگاری ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های GA و GG از rs2094258 با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان گزارش شد (Na et al., 2015).

با در نظر گرفتن نقش SNPها در ایجاد حساسیت به سرطان، نقش کلیدی ژن *ERCC5* در مسیر ترمیمی NER و همچنین با توجه بررسی منابع انجام شده و عدم وجود گزارش قبلی، در این مطالعه توزیع ژنوتیپی، اللی و همراهی چندشکلی rs2296147 T>C ژن *ERCC5* با استعداد ابتلا به سرطان پستان و برخی ویژگی‌های بالینی این بیماران در زنان شمال‌غرب ایران مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

**جمعیت مورد مطالعه:** جامعه مورد مطالعه در این پژوهش زنان شمال غرب ایران بود. مطالعه بصورت مورد-شاهدی و برمبنای مقایسه فراوانی ژنوتیپی و اللی بین دو گروه بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد شاهد بدون سابقه ابتلا به سرطان در اقوام درجه یک و دو آنها بود. برای این منظور نمونه خون ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان پستان از بین مراجعه کنندگان به بیمارستان نور نجات تبریز در سال ۱۳۹۸ جمع‌آوری شد. جامعه‌ی آماری شاهد پژوهش شامل ۱۰۰ فرد سالم، در رده سنی مشابه بیماران بود. تعدادی از مشخصات بالینی بیماران شامل سن، اندازه تومور، درجه تومور، درگیری غدد لنفاوی، سمت درگیری (راست یا چپ) و نوع تومور نیز ثبت شد. از تمامی افراد مطالعه رضایت نامه کتبی دریافت شد.

**استخراج DNA:** پس از تهیه نمونه خون وریدی، استخراج DNA به روش نمک اشباع (Salting out) با استفاده از پروتئیناز K (Suguna et al., 2014) انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز یک درصد و اسپکتروفتومتر مورد بررسی قرار گرفت. DNAهای استخراج شده تا زمان مصرف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

**تکنیک Tetra-ARMS PCR:** بررسی چندشکلی تک نوکلئوتیدی rs2296147 T>C ژن *ERCC5* در جمعیت مورد مطالعه با استفاده از تکنیک Tetra-ARMS PCR انجام شد. برای این منظور طراحی آغازگرها بر مبنای توالی آغازگرهای استفاده در مطالعه‌ی Malik و همکاران (Malik et al., 2018) انجام و سنتز آنها توسط شرکت آلمانی Metabion آلمان صورت گرفت (جدول شماره ۱).

**جدول ۱**- توالی آغازگرها و اندازه قطعات تکثیری طی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

**Table 1.** Primer's sequence and products length for polymerase chain reaction

| Name | Sequence | SNP | Band length (bp) |
|---|---|---|---|
| Outer forward | TGTCGCAGGGACATCTTCTGGCTGTTTCCG | | 305 |
| Outer Reverse | CCCGGGAGGAAGCCCTCCCTGCTCCTAC | | |
| Inner forward | CCCGCCAACGGCCATTCTCTGGACC | C | 187 |
| Inner Reverse | CTGTCACCGCCTCCCGGAAGAAAGCCA | T | 170 |

پرایمرهای سنتز شده بصورت لیوفیلیزه دریافت شد و طبق پروتکل مقدار مشخصی آب مقطر تزریقی به آنها اضافه شد. محلول‌های اصلی جهت استفاده به نسبت یک به ده رقیق شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

واکنش Tetra- ARMS-PCR در حجم نهایی ۱۰/۵ میکرولیتر با ترکیبات شامل Master mix (AMPLIQON) به مقدار ۵ میکرولیتر، DNA الگو به مقدار یک میکرولیتر با غلظت ۲۵ نانوگرم بر میکرولیتر، پرایمرهای رفت و برگشت بیرونی هرکدام به مقدار ۰/۳ میکرولیتر با غلظت ۰/۵ میکرومولار، پرایمرهای رفت و برگشت درونی هرکدام به مقدار ۰/۵ میکرولیتر و آب به مقدار ۲/۹ میکرولیتر انجام شد. چرخه‌های حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل یک چرخه واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه واسرشت‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۶۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و بسط



[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-29 ]

[ DOI: 10.22034/11.4.12 ]

در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه و یک چرخه بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. محل اتصال آغازگرها بر روی ژن هدف در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

TGTGCGGAGGCGGAGCTTCCGCCCTGCGCGTCGTATTAGACGGAAACCGAGCGGGCCCATTTTTCATGGG
TTTGCGGACCCACCAGCGAAGGCGGGAGGTGTCGCAGGGACATCTTCTGGCTGTTTCCGTCGCCTGCGTG
GCCCTTGCACCCCGGTCTTCCATTAGCGGCGCAGACGTTTGGGCCTAAGCGCTGGGCGAGGCGAGGCCCT
GCCCCTCCCGCCAACGGCCATTCTCTGGACCTGTCTTTCTTCCGGGAGGCGGTGACAGCTGCTGAGACGT
GTTGCAGCCAGAGTCTCTCCGCTTTAATGCGCTCCCATTAGTGCCGTCCCCCACTGGAAAACCGTGGCTTC
TGTATTATTTGCCATCTTTGTTGTGTAGGAGCAGGGAGGGCTTCCTCCCGGGGTCCTAGGCGGCGGTGCAG
TCCGTCGTAGAAGAATTAGAGTAGAAGTTGTCGGGGTCCGCTCTTAGGACGCAGCCGCCTCATGGGGGTC
CAG

**شکل ۱**- محل اتصال پرایمرها به DNA هدف (رنگ زرد: پرایمر رفت خارجی، صورتی: پرایمر برگشت خارجی، سبز: پرایمر رفت داخلی، آبی: پرایمر برگشت درونی و قرمز: نوکلئوتید چندشکل)

**Figure 1.** Primers annealing location on target DNA sequence (Yellow: Outer forward, Pink: Outer reverse, Green: Inner forward, Blue: Inner reverse and Red: polymorph nucleotide)

به منظور تفکیک قطعات DNA حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر اساس اندازه از الکتروفورز ژل آگارز ۲/۵ درصد استفاده شد. اندازه قطعات به دست آمده پس از بارگذاری روی ژل آگارز با استفاده از نشانگر ۱۰۰ جفت باز (SMOBIO, Taiwan) تعیین شد.

**تجزیه آماری:** تعیین ژنوتیپ افراد بیمار و کنترل مورد مطالعه بر اساس اندازه نوارهای تکثیرشده تعیین شد و براین اساس فراوانی اللی و ژنوتیپی در جمعیت بیمار و کنترل تعیین شد. برای بررسی ارتباط بین فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها بین دو گروه شاهد و بیمار از آزمون مربع کای پیرسون و در مواردی که تعداد داده های مشاهده شده کمتر از پنج مورد بود از آزمون دقیق فیشر در سطح اطمینان ۹۵ ٪استفاده شد. $p<0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد. شدت ارتباط بین چندشکلی ها و خطر ابتلا به سرطان با استفاده از نسبت شانس با فاصله اطمینان ٪۹۵ محاسبه شد. آزمون‌های آماری اشاره شده برای ژنوتیپ ها و آلل‌ها با استفاده از برنامه javastat online statistics package (https://statpages.info/ctab2x2.html) انجام شد. برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ ها و مشخصات بالینی بیماران از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد.

**تجزیه بیوانفورماتیکی:** به منظور ارزیابی نقش احتمالی چندشکلی rs2296147 ژن *ERCC5* بر تغییر ساختار فضایی پروتئین ERCC5 انسانی، تغییرات ساختار فضایی ناشی از این چند شکلی توسط نرم افزار RNAsnp مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برخی دیگر از ویژگی‌های این SNP با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی ALIbaba2.1، Splice Aid2 و HaploReg v4.1 مورد مطالعه قرار گرفت.

**ملاحظات اخلاقی**: تمامی اطلاعات لازم از پرونده‌های بالینی بیماران استخراج و فرم رضایت انجام طرح تحقیقاتی توسط بیماران تکمیل‌گردیده بود. هیچ نوع مداخله اضافی از طرف محققین بر روی بیماران صورت نگرفت. تمامی اطلاعات بیماران کاملاً محرمانه بوده و در جایی نام و نشانی از آن‌ها ذکر نخواهد شد. این پژوهش با کد اخلاق به شماره IR.AZARUNIV.REC.1401.017 در کمیته اخلاق دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تصویب و در سامانه ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی ثبت شده است.

## نتایج

**ویژگی‌های بالینی و نتایج حاصل از تکنیک Tetra-ARMS PCR:** متوسط سن افراد بیمار و شاهد مورد مطالعه در این پژوهش ۴۸/۹ سال با انحراف معیار ۱۲/۵۶ بود. اطلاعات بالینی بیماران مورد مطالعه در جدول ۲ ذکر شده است.

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-29 ]
[ DOI: 10.22034/11.4.12 ]

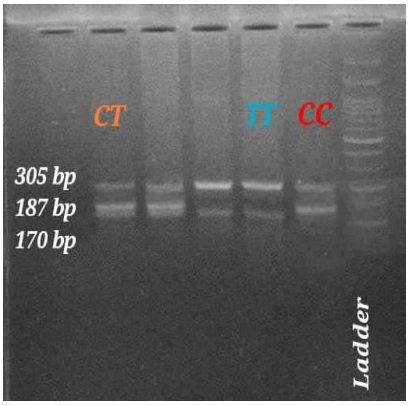
**جدول ۲**- توزیع ژنوتیپی بیماران مورد مطالعه در جایگاه SNP: rs2296147 T>C ژن *ERCC5* در ارتباط با مشخصات بالینی بیماران

**Table 2.** Genotype distribution of *ERCC5* Gene (SNP: rs2296147 T>C) for cases pathologic traits

| Pathological trait | Group | CC (%) | CT (%) | TT (%) | P-value |
|---|---|---|---|---|---|
| Age (Year) | 45≥ | 3 (37.5 %) | 26 (50 %) | 7 (30.43 %) | 0.325 |
| | >45 | 5 (62.5 %) | 26 (50 %) | 16 (69.56 %) | |
| Side | Right | 3 (37.5 %) | 34 (65.38 %) | 44 (55.69 %) | 0.000 |
| | Left | 5 (62.5 %) | 14 (26.92 %) | 35 (44.30 %) | |
| | Both | 0 (0.00 %) | 4 (7.69 %) | 0 (0.00 %) | |
| Tumor size (cm) | 2.5≥ | 4 (57.14 %) | 21 (46.66 %) | 10 (45.55 %) | 0.851 |
| | 2.5> | 3 (42.85 %) | 24 (53.33 %) | 12 (54.54 %) | |
| Lymph node | N0 | 3 (42.85 %) | 26 (66.66 %) | 10 (45.45 %) | 0.103 |
| | N1 | 2 (28.57 %) | 5 (12.82 %) | 10 (45.45 %) | |
| | N2 | 2 (28.57 %) | 7 (17.94 %) | 2 (9.09 %) | |
| | N3 | 0 (0.00 %) | 1 (2.56 %) | 0 (0.00 %) | |
| Tumor stage | Stage 1 | 4 (66.66 %) | 17 (54.83 %) | 12 (57.14 %) | 1.000 |
| | Stage 2 | 2 (33.33 %) | 13 (41.93 %) | 9 (42.85%) | |
| | Stage 3 | 0 (0.00 %) | 1 (3.22 %) | 0 (0.00 %) | |
| Tumor type | IDC | 6 (85.71 %) | 28 (65.11 %) | 19 (86.36 %) | 0.527 |
| | ILC | 0 (0.00 %) | 3 (6.97 %) | 2 (9.90 %) | |
| | Fibroadenoma | 0 (0.00 %) | 7 (16.28 %) | 1 (4.54 %) | |
| | Fibrocystic | 1 (14.28 %) | 5 (11.62 %) | 0 (0.00 %) | |

* T1≤ 2.5cm, T2> 2.5cm, ** N0: 0, N1: 1-3cm, N2: 4-9cm, N3≥ 10cm

بر اساس نتایج حاصل از واکنش Tetra-ARMS PCR، پرایمرهای خارجی قطعه‌ای به طول ۳۰۵ جفت باز، جفت پرایمر اختصاصی طراحی شده برای آلل T قطعه‌ای به طول ۱۷۰ جفت باز و جفت پرایمر مربوط به آلل C قطعه‌ای به طول ۱۸۷ جفت باز تکثیر کردند. تعیین ژنوتیپ افراد مورد مطالعه بر اساس اندازه نوارهای تکثیرشده برای هر فرد در واکنش Tetra ARMs-PCR انجام شد. نوارهای تکثیر شده برای چند نمونه با ژنوتیپ های مختلف در شکل شماره ۲ نشان داده شده است.




**شکل ۲**- قطعات حاصل از واکنش Tetra-ARMS PCR بر روی ژل آگاروز

**Figure 2.** Tetra-ARMS PCR products on agarose gel

**توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل ها بین دو گروه بیمار و سالم:**

در پژوهش حاضر، ژنوتیپ ۹۶ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۱۰۰ فرد کنترل از بین ۱۰۰ بیمار و ۱۰۰ کنترل مورد مطالعه تعیین شد. در مابقی افراد تکثیر موفق نبود. از بین افراد بیمار، تعداد افراد دارای ژنوتیپ CC، ۱۱ نفر با فراوانی ۱۱/۴۶ درصد، ژنوتیپ TT، ۲۹ نفر با فراوانی ۳۰/۲۱ درصد و افراد با ژنوتیپ CT، ۵۶ نفر با فراوانی ۵۸/۳۳ درصد بوند. در بین افراد کنترل تعداد افراد دارای ژنوتیپ CC، ۲۲ نفر با فراوانی ۲۲ درصد، ژنوتیپ TT، ۳۴ نفر با فراوانی ۳۴ درصد و افراد دارای ژنوتیپ CT، ۴۴ نفر معادل ۴۴ درصد بود. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه ژنوتیپ‌های CT (p-value=0.045) و CC (p-value=0.049) با احتمال ابتلا به سرطان در سطح احتمال ۵ درصد معنادار بود. توزیع فراوانی ژنوتیپی افراد بیمار و کنترل در جدول شماره ۳ نشان داده شده است.

همچنین فراوانی آلل‌های C و T در افراد بیمار به ترتیب ۴۰/۶۲٪ و ۵۹/۳۷٪ و در افراد کنترل به ترتیب ۴۴ درصد و ۵۶ درصد بود (p-value=۰/۴۹۹). بر این اساس بین توزیع فراوانی آلل‌های C و T با دو گروه بیمار و کنترل نیز ارتباط معناداری مشاهده نشد (p<0.05). توزیع فراوانی آللی در میان افراد بیمار و کنترل در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-29 ]

[ DOI: 10.22034/11.4.12 ]

**جدول ۳-** توزیع فراوانی ژنوتیپی و اللی چند شکلی ژن *ERCC5* (SNP: rs2296147 T>C) در افراد بیمار و کنترل

**Table 3.** Genotypic and allelic frequency distribution for *ERCC5* Gene (SNP: rs2296147 T>C) in case and controls

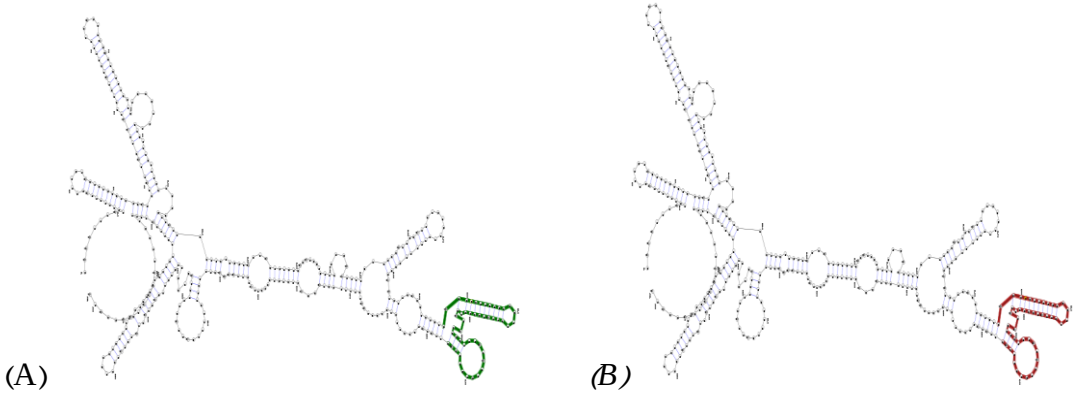
| Genotype/allele | Patient (%) | Control (90) | P-value | OR (CI=95%) |
|---|---|---|---|---|
| TT | 29 (30.21 %) | 34 (34.00 %) | 0.570 | 0840 (-) |
| CT | 56 (58.33 %) | 44 (44.00 %) | 0.045 | 1.782 (-) |
| CC | 11 (11.46 %) | 22 (22.0 %) | 0.049 | 0.459 (-) |
| T | 114 (59.37 %) | 112 (56.00 %) | 0.499 | 11.480 (-) |
| C | 78 (40.62 %) | 88 (44.00 %) | 0.499 | 0.871 (-) |

**توزیع فراوانی ژنوتیپ ها و علائم بالینی:** بر اساس تجزیه‌های انجام شده همراهی آماری معناداری بین توزیع ژنوتیپ‌های چندشکلی rs2296147 ژن *ERCC5* با سمت درگیر بدن افراد مبتلا به سرطان پستان، (p=۰/۰۰۰) مشاهده شد (p<0.05). اما همراهی این چند شکلی از ژن *ERCC5* با سن افراد مبتلا به سرطان پستان (p=۰/۳۲۵)، نوع تومور (p=۰/۵۲۷)، درجه‌بندی تومور (p=۱/۰۰۰)، اندازه تومور (p=۰/۸۵۱) و درگیری غدد لنفی (p=۰/۱۰۳) مشاهده نشد.

**نتایج حاصل از تجزیه بیوانفورماتیکی:**

**تغییرات ساختار فضایی دوم RNA:** تغییرات ساختار فضایی دوم RNA ناشی از چندشکلی rs2296147 ژن *ERCC5* توسط نرم‌افزار RNAsnp بررسی شد. ساختار فضایی دوم RNA مربوط به دو الل وحشی و جهش‌یافته در شکل ۲ نشان داده شده است.

بر این اساس تغییر ساختار فضایی ناشی از چندشکلی rs2296147 ژن *ERCC5* منجر به کاهش ΔG آلل جهش یافته (ΔG= -160.70 kcal/mol) در مقایسه با آلل طبیعی (ΔG= -162.90 kcal/mol) با p-value= ۰/۷۶ شد. با وجود کاهش ΔG ، این کاهش غیرمعنادار بود (p-value> ۰/۲) (شکل ۳).




**شکل ۳-** تغییرات ساختار دوم RNA از چندشکلی rs2296147 ژن ERCC5 (A. آلل طبیعی، B. آلل جهش یافته)

**Figure 3.** RNA secondary structure changes caused by ERCC5 gene (SNP: rs2296147 C>T) polymorphism (A. Wild allele, B. Mutant allele)

**تاثیر چندشکلی بر اتصال فاکتورهای رونویسی:** بر اساس نتایج حاصل از آنالیز چندشکلی مورد مطالعه بر روی ژن *ERCC5* توسط نرم‌افزار ALIbaba2.1، هیچ یک از دو الل وحشی و جهش یافته، تمایلی به فاکتور رونویسی خاصی نداشتند. نتایج حاصل از آنالیز این چندشکلی با استفاده از نرم-افزار Splice Aid2 نشان داد که در صورت وجود الل وحشی هیچ پروتئینی به RNA مورد نظر متصل نمی‌شود. اما با تغییر نوکلئوتید و ایجاد الل جهش یافته، پروتئین hnRNP K با امتیاز ۱- به RNA مورد نظر متصل می‌شود. نتیجه حاصل از آنالیز چند شکلی rs2296147 بر روی ژن *ERCC5* توسط نرم افزار HaploReg v4.1 نشان داد که در اثر تغییر نوکلئوتید T به C طی جهش، تمایل فاکتور رونویسی BDP1_disc1 برای اتصال به این ناحیه از DNA افزایش می‌یابد.

## بحث

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-29 ]
[ DOI: 10.22034/11.4.12 ]

سرطان به یکی از مهمترین و بزرگترین موانع در افزایش عمر انسان تبدیل شده است. SNPهای موثر بر بیان ژن به تفاوت‌های بین افراد در حساسیت به بیماری و شدت آن تاثیر می‌گذارند. تنظیم ترمیم DNA یک عامل حیاتی در فرایند چند مرحله‌ای سرطان‌زایی است و ژن *ERCC5* از اجزای کلیدی در مسیر ترمیمی NER از اجزای مهم سیستم ترمیم DNA است. بر اساس نتایج تحقیقات مختلف SNPهای *ERCC5* با توسعه برخی از سرطان‌ها از جمله سرطان پستان مرتبط هستند (Ding et al., 2011).

مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی rs2296147 وrs1047768 از ژن *ERCC5* با خطر ابتلا به سرطان پستان بر روی ۴۹۳ فرد مبتلا به سرطان پستان و ۳۸۷ زن سالم از جمعیت پاکستان با روش ARMS- PCR نشان داد، توزیع ژنوتیپی افراد بیمار و سالم برای ژنوتیپ CT به ترتیب، ۱۹/۷٪ و ۳/۴٪، برای ژنوتیپ TT به ترتیب ۷۵/۵٪ و ۹۴/۸٪ و برای ژنوتیپ CC به ترتیب ۴/۷٪ و ۱/۸٪ بود. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش شروع زودهنگام یائسگی و سابقه خانوادگی همراهی معنی‌داری با ریسک ابتلا به سرطان پستان نشان دادند. بین ژنوتیپ TT از rs2296147 هیچ ارتباطی با سرطان پستان یافت نشد اما افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت CC و هتروزیگوت CTهمراهی معناداری با خطر ابتلا به سرطان پستان داشتند (Malik et al., 2018). در پژوهشی دیگر ارتباط بین چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی rs873601، rs751402، rs2296147، rs2094258 و rs1047768 ژن *ERCC5* با خطر ابتلا به سرطان پستان در ۳۲۵ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۳۲۵ فرد شاهد از زنان چینی به روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد در افراد سیگاری ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های GA و GG ازSNPی rs2094258 با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان وجود دارد، اما SNPی rs2296147 با ریسک ابتلا به سرطان ارتباط معنی داری نشان نداد (Na et al., 2015).

rs2296147 یک eQTL برای *ERCC5* است و الل Tی این SNP، با فراوانی رونوشت *ERCC5* احتمالا از طریق افزایش پاسخ‌دهی به فاکتور رونویسی *TP53* مرتبط است. این اثرات رونویسی بر *ERCC5* احتمالا منجر به تغییر در عملکرد ترمیم DNA می‌شود. این یافته‌ها می‌تواند توضیح قانع کننده‌ای برای ارتباط ژنوتیپ rs2296147 و rs17655 این ژن با خطر ابتلا به سرطان پستان باشد (Zhang et al., 2016).

Zuo و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه‌ای به روش متاآنالیز که در آن ۲۵ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی دو ژن *ERCC5* و *ERCC4* از ۱۶۰ مقاله واجد شرایط بر روی ۱۹ نوع سرطان مورد بررسی قرار گرفت، SNPهای این دو ژن با افزایش ریسک ابتلا به سرطان همراهی نشان دادند. نتایج نشان داد شش SNP از ژن *ERCC5* شامل rs2094258، rs1047768، rs873601، rs51402، rs2228959، rs2296147 بطور قابل توجهی با حساسیت به سرطان‌ها همراهی دارند. همچنین بر این اساس معلوم شد، چندشکلی rs1047768 در مدل مغلوب خطر ابتلا به سرطان کولورکتال را در آسیایی‌ها افزایش می‌دهد. در مقابل یک عامل محافظتی از سرطان کولورکتال در قفقازی‌ها در مدل اللی است. در این مطالعه نشان داده شد که پلی‌مورفیسم rs2296147 با کاهش خطر سرطان مری در آسیایی‌ها مرتبط است. نتایج این پژوهش نشان دهنده تفاوت در همراهی یا عدم همراهی چندشکلی‌های این دو ژن با ریسک ابتلا به سرطان در مردم مناطق مختلف بود. این تحقیقات با ارائه شواهد جامع اپیدمیولوژیک نشان داد که انواع رایج SNPهای ژن‌های *ERCC5* و *ERCC4* با استعداد ابتلا به سرطان‌های مثانه، مری، پستان، حنجره، معده و رحم ارتباط دارند (Zou et al., 2022). اما یک مطالعه متاآنالیز دیگر بر روی ۴۱۲ بیمار و ۶۱۳ کنترل سالم، ارتباط چندشکلی rs2296147 با ریسک ابتلا به سرطان معده را غیرمعنی‌دار گزارش کرد (Huang et al., 2018). چند شکلی rs1047768 ژن *ERCC5* عامل افزایش معنی‌دار ریسک ابتلا به سرطان ریه بویژه در مردان زیر ۶۰ سال گزارششده است (Lan et al., 2022).

در پژوهش حاضر بررسی ارتباط چندشکلی rs2296147 ژن ERCC5 با ویژگی‌های بالینی بیماران، نشان دهنده‌ی همراهی معنی‌دار سمت درگیر با این چندشکلی بود. ارتباط معنی‌داری بین این چندشکلی با یائسگی و سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان و ارتباط غیرمعنی‌دار آن با سن قاعدگی گزارش شده است (Malik et al., 2018). همچنین همراهی معنی‌داری بین این چندشکلی با مصرف سیگار، یائسگی و سن اولین زایمان زنده و عدم همراهی آن با سن، اولین قاعدگی و مصرف الکل گزارش شده است (Na et al., 2015). عرض جغرافیایی، نژاد، اندازه جمعیت و نوع رژیم غذایی عناصر اصلی هستند که می‌تواند منجر به تفاوت بین نتایج در جمعیت‌های مختلف باشد.

## نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و همراهی معنی‌دار سرطان پستان با ژنوتیپ‌های CC و TC از جایگاه چندشکل rs2296147 T>C ژن *ERCC5*، ممکن است این SNP یک ریسک فاکتور برای سرطان پستان در جمعیت زنان شمال‌غرب

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-29 ]

[ DOI: 10.22034/11.4.12 ]

ایران باشد. شناسایی و بررسی چنین SNPهایی می‌تواند یک ابزار کم هزینه مفید در غربالگری‌ها جهت ارزیابی خطر ابتلا به سرطان فردی باشد و به تشخیص و مدیریت زود هنگام سرطان کمک کند. با توجه به همراهی این چندشکلی با فراوانی ژنوتیپی در جمعیت‌های بیمار و کنترل ایران و پاکستان، نتایج متنوع در مورد سرطان‌های مختلف، و تنوع در همراهی چندشکلی‌های این ژن با ویژگی‌های بالینی بیماران لازم است ارتباط آن با ریسک ابتلا به سرطان پستان در جامعه آماری بزرگتری از افراد بیمار و سالم و نژادهای مختلف همراه با مطالعه بیان افتراقی این ژن در افراد بیمار و سالم بصورت مستقل مورد مطالعه قرار گرفته و ریسک فاکتورهای نژادهای مختلف بصورت مستقل تعریف شوند.

## سپاسگزاری

نتایج این مقاله، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد با کد اخلاق مصوب IR.AZARUNIV.REC.1401.017 می‌باشد که در آزمایشگاه زیست شناسی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام شده است. نویسندگان برخود لازم می‌دانند از همکاران و همچنین خانم فاطمه عظیمی از فارغ التحصیلان کارشناسی ارشد این گروه سپاسگزاری نمایند.

## REFERENCES

**Braunwald, S.A., Fauci, L.D., Kasper, L.S., Hauser, L.D., Longo, L. & Jameson, J.** 2001. Harrison's principles of internal medicine. 15th edition, McGraw-Hill publications, New York, United states, 1187. **ISBN 13: 9780079136862**

**Cartharius, K., Frech, K., Grote, K., Klocke, B., Haltmeier, M., Klingenhoff, A., Frisch, M., Bayerlein, M. & Werner, T.** 2005. MatInspector and beyond: promoter analysis based on transcription factor binding sites. Bioinformatics 21: 2933-2942, 2005. **doi: 10.1093/bioinformatics/bti473**

**Ding, P.D., He, X.F. & Zhang, Y. 2011.** Association between *XPG* Asp1104His and XPF Arg415Gln polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis of case–control studies. BreastCancer Research and Treatment 129: 203-209. **doi: 10.1007/s10549-011-1447-9**

**Hohl, M., Dunand_Sauthier, I.L., Staresincic, L., Jaquier-Gubler, P., Thorel, F., Mauro, M., Clarkson, S.G. & Scharer, O.O.** 2007. Domain swapping between *FEN-1* and *XPG* defines regions in *XPG* the mediate nucleotide excision repair activity and substrate specificity. Nucleic acids research 135: 3053-3063. **doi:10.1093/nar/gkm092**

**Huang, S., He, A., Xie, N., Xu, D., Chen, Q. & Qi, S.** 2018. Associations between seven polymorphisms in *ERCC5* and gastric cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis. International Journal of Clinical and Experimental Medicine 11: 3043-3050. **ISSN:1940-5901/IJCEM0063709.**

**Lan, X., Li, Y., Wu, Y., Li, X. & Xu, L.** 2022. The Association of ERCC1 and *ERCC5* Polymorphisms with Lung Cancer Risk in Han Chinese. Journal of Cancer 13: 517-526. **doi: 10.7150/jca.59277**

**Liu, Y., Hu, Y., Zhang, M., Jiang, R. & Liang, G.** 2018. Polymorphism in *ERCC2* and *ERCC5* and risk of prostate cancer, A meta- analysis and systemic review. Journal of Cancer 9: 2786-2794. 2018. **doi:10.7150/jca.25356**

**Malik, S.S., Sumaira Mubarik, S. & Masood, N.** 2018. Muhammad Tahir Khadim. An insight into clinical outcome of *XPG* polymorphisms in breast cancer. Molecular Biology Reports 45: 2369-2375. **doi:10.1007/s11033-018-4401-7**

**Na, N., Dun, E., Ren, L., & Li, G.** 2015. Association between *ERCC5* gene polymorphisms and breast cancer risk. International Journal of Clinical and Experimental Pathology 8: 3192-3197. **PMID: 26045839; PMCID: PMC4440148.**

**Pittman A.M., Naranjo, S., Jalava, E., Twiss, P., Ma, Y., Olver, B. & Houlston, R.S.** 2010. Allelic variation at the 8q23. 3 colorectal cancer risk locus functions as a cis-acting regulator of EIF3H. PLoS Genetics 6: 8600-8606. **doi: 10.1371/journal.pgen.1001126**

**Rudolph, A., Chang-Claude, J. & Schmidt, M.K.** 2016. Gene-environment interaction and risk of breast cancer. British journal of cancer 114: 125-133. **doi: 10.1038/bjc.2015.439**

**Scherly, D., Nouspikel, T., Corlet, J., Ucla, C. & Bairoch A.** 1993. Complementation of the DNA repairdefect in xeroderma pigmentosum group G cells by a human cDNA related to yeast

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-29 ]

[ DOI: 10.22034/11.4.12 ]

RAD2. Nature 363: 182-185. doi: 10.1038/363182a0

**Suguna. S., Nandal, D.H. & Kamble, S.** 2014. Genomic DNA isolation from human whole blood samples by non-enzymatic salting out method. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 6: 198-199. https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol6Issue6/9478.pdf

**Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. & Bray, F.** 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. A Cancer Journal for Clinician 71: 209-249. doi:10.3322/caac.21660

**Siegel, L.R., Miller D.K. & Jemal A.** 2018. Cancer statistics. Cancer Journal for clinicians 68: 7-30. doi:10.3322/caac.21442

**Takahashi, E.I., Shiomi, N. & Shiomi, T.** 1992. Precise localization of the excision repair gene, *ERCC5*, to human chromosome 13q32. 3-q33. 1 by direct R-banding fluorescence in situ hybridization," Japanese Journal of Cancer Research, 83: 1117-1119. doi: 10.1111/j.1349-7006.1992.tb02731.x

**Tutt, A. & Ashworth A.** 2002. The relationship between the rols of BRCA genes in DNA repair and cancer predisposition. Trends in molecular medicine 8: 571-576. doi: 10.1016/s1471-4914(02)02434-6

**Wakasugi M., Reardon T.J. & Sancar A.** 1997. The Non-catalytic function of *XPG* protein during dual incision in human nucleotide excision repair", Journal of Biological chemistry, vol. 272, pp. 16039- 16034, 1997. doi:10.1074/jbc.272.25.16030

**Wood, D.R.** 1997. DNA damage recognition during nucleotide excision repair in mammalian cells. Biochimie 81: 39-44. doi:10.1016/s0300-9084(99)80036-4

**Yuan, P., Liu, D. &Deng, N.** 2014. Identification of differently expressed genes with specific SNP loci for breast cancer by the integration of SNP and gene expression profiling analyses. Pathology & Oncology Research 21: 469-475. doi: 10.1007/s12253-014-9851-1

**Zhang, X., Crawford, E.L., Blomquist, T.M., Khuder, S.A., Yeo, J., Levin, A.M. & Willey J.C.** 2016. Haplotype and diplotype analyses of variation in *ERCC5* transcription cis-regulation in normal bronchial epithelial cells. Physiological genomics 48: 537- 543. doi: 10.1152/physiolgenomics.00021

**Zuo, C., Lv, X., Liu, T., Yang, L., Yang, Z., Yu, C. & Chen H.** 2022. Polymorphism in *ERCC4* and *ERCC5* and risk of cancer: systematic research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence. Frontiers in oncology 12: 951193. doi: 10.3389/fonc.2022.951193

*****

**How to cite this article:**

**Abbasabad, R,S. Ghaffarian,S.** 2025. Association between ERCC5 Gene (SNP: rs2296147 T>C) and the Risk of Breast Cancer in Northwest of Iran. Nova Biologica Reperta 11: 12-20. (In Persian).

**عباس آباد، ر.س، غفاریان، س.** ۱۴۰۳. همراهی ژن ERCC5 (SNP: rs2296147 T>C) با استعداد ابتلا به سرطان پستان در شمال‌غرب ایران. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۱: ۲۰-۱۲.

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-29 ]

[ DOI: 10.22034/11.4.12 ]