

# اندازه گیری بیان ژن گیرنده پروژسترون در بافت سرطانی و سالم پستان انسان به روش Real-time PCR

مهسا ضابطیان حسینی<sup>۱</sup>، دکتر محمدرضا نصیری<sup>۲</sup>، دکتر علی اصغر اسلمی نژاد<sup>۳</sup>، دکتر کامران غفار زادگان<sup>۴</sup>، دکتر احمد رضا موثقی<sup>۵</sup>، شاهرخ قوتی<sup>۶\*</sup>، آرزو حسینی<sup>۷</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۲. دانشیار گروه ژنتیک سرطان، پژوهشکده فناوری زیستی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۳. استادیار گروه ژنتیک و اصلاح دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۴. دکترای تخصصی پاتولوژی گوارش، معاون پژوهشی گروه سرطان بیمارستان رضوی، مشهد، ایران.
۵. استاد گروه پاتولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۶. دانشجوی دکترای تخصصی ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۷. دانشجوی دکترای تخصصی ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۱۱/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۲

خلاصه

**مقدمه:** پیشرفت در ژنتیک مولکولی و عوامل تشخیص سرطان پستان در فهم بهتر زیست شناسی تغییر و تبدیل بافت سالم پستان به بافت سرطانی با خصوصیات تهاجمی و متاستاتیک کمک می کند. هدف این تحقیق به کارگیری روش قدرتمند Real-time PCR نسبی مبتنی بر سایبرگرین جهت اندازه گیری نسبی بیان ژن گیرنده پروژسترون A در انسان می باشد.

**روش کار:** ۱۰ نمونه بافت طبیعی و ۲۰ نمونه بافت سرطانی پستان (درجه ۲) قبل از درمان و بدون آلودگی جمع آوری شدند. RNA کل استخراج و قطعات ژنی گیرنده پروژسترون A و ژن مرجع GAPDH توسط واکنش رونویسی معکوس سنتز و cDNA ساخته شد. تکثیر ژن ها با هدف اندازه گیری بیان ژن توسط واکنش Real-time PCR به صورت نسبی صورت گرفت. داده های خام بصورت Ct از دستگاه استخراج شد و با استفاده از نرم افزار SDS نسخه ۱/۴، برنامه GLM و رویه تی دانشجویی نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته ها:** ژن PR-A در بافت های طبیعی و سرطانی بیان می شود ولی میزان بیان ژن PR-A در بافت های سرطانی نسبت به بافت های طبیعی بیشتر است ( $p \leq 0/05$ ). نتایج آزمون بررسی تفاوت میزان بیان ژن PR-A در بافت های سرطانی نسبت به میانگین نمونه های طبیعی نشان داد که بیان ژن PR-A در ۷۰ درصد از نمونه ها افزایش معنی داری داشته است. آنالیز آماری نشان داد که هیچ ارتباط معنی داری بین افزایش بیان ژن PR-A و وضعیت تأهل و یائسگی وجود نداشت ( $p \leq 0/05$ ). همچنین بین میزان بیان ژن PR-A و سن بیماران مبتلا رابطه خطی معنی داری وجود دارد ( $p \leq 0/05$ ).

**نتیجه گیری:** ژن PR-A به خوبی می تواند به عنوان مرجعی به منظور پیش آگاهی، شناسایی و غربالگری بیماران سرطانی از افراد سالم حتی در مراحل اولیه بیماری مورد استفاده قرار گیرند.

**کلمات کلیدی:** بیان ژن، ژن گیرنده پروژسترون A، سرطان پستان انسان، Real-time PCR, GAPDH

\* نویسنده مسئول مکاتبات: شاهرخ قوتی؛ دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.. تلفن: ۰۵۱۱-۸۷۹۵۶۱۶؛ پست الکترونیک:

Ghovvati@stu-mail.um.ac.ir

## مقدمه

سرطان پستان یکی از شایع ترین سرطان ها در میان زنان سراسر دنیا است (۱). احتمال ابتلا به این سرطان در طول عمر برای زنان ۱۰ درصد می باشد. به عبارت دیگر از هر ۱۰ نفر یک نفر به سرطان پستان مبتلا می شود (۲). با وجود تلاش های به عمل آمده در تشخیص زود هنگام و درمان، سرطان پستان بعد از سرطان ریه دومین عامل مرگ و میر در زنان می باشد (۲). امروزه تلاش بسیار زیادی صورت می گیرد تا میزان بروز مرگ و میر در سرطان پستان و تخمدان را از طریق تشخیص زود هنگام کاهش دهند. سرطان پستان یک بیماری سیستمیک نبوده ولی در صورت ابتلا پیشرونده است. در صورت تشخیص به موقع می توان با روش های پیشگیرانه تا حدود زیادی از ابتلا به سرطان پستان جلوگیری نمود. اگر چه غربالگری صحیح می تواند پیشرفت سرطان پستان را متوقف کند، اما در انواع پیشرفته، معمولاً درمان بی نتیجه است. به طور کل سرطان نتیجه ترکیبی از فاکتورهای مختلف شامل جهش های ارثی و عوامل محیطی است (۳).

اگر چه سرطان پستان دارای کمترین نرخ ابتلاء در ایران در مقایسه با سایر کشورهای آسیایی می باشد ولی در طی چهار دهه گذشته افزایش میزان ابتلاء به این بیماری باعث شده که سرطان پستان به عنوان یکی از بیماری های بدخیم با فراوانی بسیار بالا در بین زنان ایرانی شناخته شود (۴-۵، ۲). بیشترین میزان شیوع سرطان سینه در کشورهای غربی و کشورهای توسعه یافته در گروه های سنی ۵۰ تا ۶۰ سال است در حالی که بیشترین میزان شیوع سرطان سینه ایران در سنین ۴۰ تا ۵۰ سال است (۱، ۳، ۶).

تحقیقات نشان داده اند هورمون های تخمدانی بخصوص استروژن و پروژسترون نقش مهم و کاربردی در رشد تومورهای پستانی بازی می کنند. هورمون استروژن یکی از اصلی ترین هورمون های تخمدان است که باعث پیشرفت سرطان می شود ولی شواهدی در دست است که نشان می دهد پروژسترون نیز دارای نقش مهمی در سرطان پستان می باشد. در صورت وجود گیرنده های هورمون پروژسترون در سطح سلول های سرطانی ممکن

است سلول های سرطانی به درمان های هورمونی پاسخ دهند و در صورتی که تعداد این گیرنده ها بیشتر باشد احتمال درمان نیز افزایش خواهد یافت (۷). مطالعات سال های اخیر نشان داده که ۷۵ درصد افراد مبتلا به سرطان پستان دارای گیرنده پروژسترون در سطح سلول های سرطانی می باشند (۸).

از طرفی زنان به عنوان مادر یکی از ارکان اصلی تشکیل دهنده خانواده در جامعه می باشند و این بیماری افراد را در سنین حداکثر فعالیت فردی و اجتماعی درگیر می کند و در صورت عدم تشخیص و درمان به موقع، بدون استثناء فرد مبتلا را به کام مرگ خواهد کشاند. در صورت تشخیص سرطان پستان در مراحل اولیه و انجام درمان مناسب، طول عمر بیش از ۹۰ درصد از مبتلایان افزایش خواهد یافت. همچنین با تشخیص زود هنگام سرطان پستان می توان هزینه های اقتصادی ناشی از درمان و لطمات اجتماعی را کاهش داد و شانس بیشتری برای درمان و افزایش طول عمر افراد مبتلا مهیا نمود.

پروژسترون دارای دو گیرنده به نام های PR-A<sup>۱</sup> و PR-B<sup>۲</sup> می باشد که دارای ساختار های متفاوت بوده شواهدی مبنی بر فعالیت متفاوت این دو گیرنده دیده شده است. این دو گیرنده به طور همزمان در سلول بیان می شوند و بسته به مقدار هورمون پروژسترون میزان بیان آنها متفاوت است در نتیجه تغییر در بیان آنها باعث تغییرات مورفولوژی سلول می شود (۹).

هدف از این تحقیق بررسی میزان بیان ژن گیرنده پروژسترون A در بافت سرطانی و سالم پستان انسان، بهینه کردن روش Real time PCR برای اندازه گیری بیان ژن گیرنده پروژسترون A و معرفی روش جدید با کارایی بالاتر و سرعت بیشتر در شناخت سرطان پستان و تغییرات قبل و حین ابتلاء به آن در جهت ارائه راهکاری متفاوت و جدید برای تجویز داروهای هورمونی برای بهبودی فرد بیمار می باشد.

## روش کار

جمعیت مورد مطالعه در این تحقیق شامل ۲۰ نمونه بافت پستان سرطانی درجه ۲ و ۱۰ نمونه بافت پستان

<sup>1</sup> Progesterone Receptor A

<sup>2</sup> Progesterone Receptor B

سالم ارجاع داده شده به آزمایشگاه پاتولوژی بود. حجم نمونه در سطح معنی داری  $\alpha=0/05$  با استفاده از نرم افزار PASS<sup>1</sup> (نسخه ۵) و رویه آزمون مقایسه میانگین دو جامعه مستقل تعیین شد. نمونه ها به صورت پارافینه به آزمایشگاه بیوتکنولوژی حیوانی آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد فرستاده شد و تا زمان استخراج RNA در دمای ۲۰- نگهداری شد (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات نمونه های مورد بررسی بر اساس روش Immune histochemistry

شماره	*ER	**PR	Her2	درجه	سرطانی	سالم
۱	***SP 90%	SP 90%	+	۲	✓	
۲	SP 85%	SP 30%	+	۲	✓	
۳	SP 90%	****MP 15%	+	۲	✓	
۴	Mp 75%	Sp 5%	+	۲	✓	
۵	MP 80%	MP 90%	+	۲	✓	
۶	SP 60%	MP80%	+	۲	✓	
۷	SP 95%	SP 95%	+	۲	✓	
۸	SP 70%	SP 80%	+	۲	✓	
۹	SP 90%	SP 5%	+	۲	✓	
۱۰	Sp 90%	Sp 90%	+	۲	✓	
۱۱	SP 55%	SP 5%	+	۲	✓	
۱۲	SP 60%	SP 80%	+	۲	✓	
۱۳	SP 40%	SP 40%	+	۲	✓	
۱۴	Sp 95%	Sp 60%	+	۲	✓	
۱۵	SP 95%	SP 60%	+	۲	✓	
۱۶		Invasive ductal carcinoma		۲	✓	
۱۷		Fibrocystic changes			✓	
۱۸		Fibrocystic changes			✓	
۱۹		Fibrocystic changes			✓	
۲۰		Fibrocystic changes			✓	
۲۱		Fibrocystic changes			✓	
۲۲		Fibro adenoma			✓	
۲۳		Fibrocystic changes			✓	
۲۴		Invasive ductal carcinoma		۲	✓	
۲۵		Invasive ductal carcinoma, ER and PR: Sp90%		۲	✓	
۲۶		Invasive ductal carcinoma, ER :Sp 60% and PR: Sp 98%		۲	✓	
۲۷		Invasive lobular carcinoma, ER and PR: Sp 95%,Her2 +		۲	✓	
۲۸		Fibro adenoma			✓	
۲۹		Fibro adenoma			✓	
۳۰		Fibro adenoma			✓	

\*ER: Estrogen receptor \*\*PR: Progesterone receptor \*\*\*SP: Strongly positive  
\*\*\*MP: Moderately positive

<sup>1</sup>Power and Sample Size

سازی cDNA ها با آب مقطر فاقد DNase به غلظت تقریبی ۳۰۰ ng/μl صورت گرفت و غلظت نهایی توسط نانودراپ تأیید شد. طراحی آغازگرهای اختصاصی برای ژن های PR-A و GAPDH<sup>5</sup> با استفاده از نرم افزار Primer Premier (نسخه ۵) انجام شد. سپس با استفاده از ابزار قدرتمند Blast و پایگاه داده ای همچون RT Primer Data و base از یکتا بودن محل اتصال جفت آغازگرها و ساختمان فضایی آنها اطمینان حاصل شد. ساخت و تولید آغازگرها توسط شرکت بیونر کره جنوبی صورت گرفت (جدول ۲).

استخراج RNA از بلوک های پارافینه با استفاده از کیت FFPE<sup>1</sup> شرکت کایژن آلمان بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. کمیت و کیفیت RNA استخراجی توسط دستگاه طیف سنج نانودراپ<sup>۲</sup> ۲۰۰۰ تعیین شد. RNA استخراج شده بلافاصله برای انجام مرحله نسخه برداری معکوس و ساخت و تولید cDNA<sup>3</sup> توسط کیت شرکت فرمنتاز<sup>۴</sup> بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده مورد استفاده قرار گرفت. کمیت سنجی cDNA های ساخته شده با استفاده از دستگاه نانودراپ ۲۰۰۰ (Thermo, Wilmington, USA) به روش طیف سنجی انجام شد. پس از طیف سنجی به منظور همسان سازی غلظت cDNA های تولید شده، رقیق

جدول ۲- توالی آغازگرهای اختصاصی طراحی شده ژن های PR-A و GAPDH

ژن	توالی آغازگرها	شماره ثبت ژن در بانک جهانی ژن و موقعیت آغازگرها	طول قطعه (جفت باز)	دمای اتصال (درجه سانتیگراد)
PR-A	3' CCCAGCATGTCGCCTTAGAA F: 5' 3' AGGGCTTGGCTTTCATTTGG R: 5'	NM_000926 (۲۶۰۰-۲۷۴۹)	۱۵۰	۶۲
GAPDH	3' GAAGGCTGGGGCTCATTTGC F: 5' 3' GCTGATGATCTTGAGGCTGTTGT R: 5'	NM_002046 (۴۲۰-۵۴۶)	۱۲۷	۶۲

سایبرگرین با استفاده از دستگاه ABI 7300 انجام گرفت (۱۰). اجزای واکنش Real-time PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و غلظت نهایی مواد در جدول ۳ نشان داده شده است.

تکثیر ژن های PR-A و GAPDH برای اندازه گیری بیان ژن توسط واکنش Real time PCR بر اساس روش استاندارد به صورت نسبی صورت گرفت. تعیین کمیت نسبی در Real time-PCR بوسیله اندازه گیری افزایش تشعشع فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ

جدول ۳- اجزای واکنش استاندارد Real time-PCR

مواد واکنش	حجم یک نمونه
مخلوط آماده سایبرگرین	۱۰ میکرو لیتر
کلرید منیزیم	۱/۵ میکرو لیتر
آغازگر رفت	۰/۱۵ میکرو لیتر
آغازگر برگشت	۰/۱۵ میکرو لیتر
cDNA	۲ میکرو لیتر
آب دو بار تقطیر DNase Free	۱۱/۲ میکرو لیتر
حجم کل	۲۵ میکرو لیتر

همچنین برنامه حرارتی برای تکثیر هردو ژن با استفاده از روش Real-time PCR یکسان و طبق جدول ۴ بود.

<sup>1</sup>formalin-fixed, paraffin-embedded

<sup>2</sup>Spectrophotometer nanodrop

<sup>3</sup>Complement DNA

<sup>4</sup>RevertAid™ H minus Reverse Transcriptase

<sup>5</sup>Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

جدول ۴- برنامه حرارتی تکثیر ژن های PR-A و GAPDH

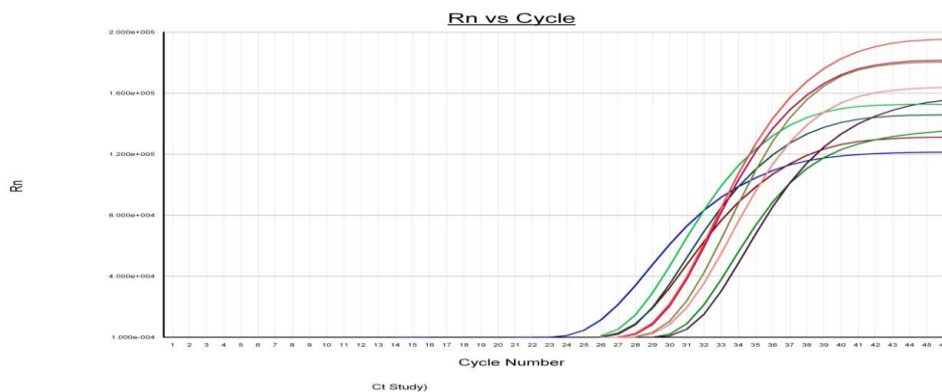
تعداد چرخه	مرحله	دما (سانتی گراد)	زمان
۱	واسرشته سازی اولیه		
		۹۵	۱۰ دقیقه
۴۵	واسرشته سازی	۹۵	۳۰ ثانیه
	اتصال	۶۰	۳۰ ثانیه
	گسترش	۷۲	۳۰ ثانیه
منحنی ذوب			
۱	واسرشته سازی	۹۵	۱۵ ثانیه
	اتصال	۶۰	۱ دقیقه
	واسرشته سازی	۹۵	۱۵ ثانیه
	ذوب	۶۰	۱۵ ثانیه

### یافته ها

نتایج کمیت و کیفیت RNA استخراجی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ ۲۰۰۰ حاکی از خلوص بالا و عدم وجود آلوده کنند های فنلی و EDTA<sup>۴</sup> بود. نتایج طیف سنجی cDNA های تولید شده نشان داد که cDNA ها از کمیت و کیفیت مناسبی برای واکنش Real-time PCR برخوردار هستند. نتایج و منحنی تکثیر ژن های PR-A و GAPDH با استفاده از Real-time PCR نشان دادند که تکثیر به خوبی و با عملکرد مناسب و بدون هیچگونه پارازیتی صورت گرفته است (شکل ۱).

رسم منحنی ذوب به وسیله اندازه گیری تغییرات میزان فلورسانس در زمان های مختلف بوسیله دستگاه Real time PCR صورت گرفت.

پس از انجام واکنش تکثیر به روش Relative Quantitative Real-time PCR، داده های خام بصورت Ct<sup>۱</sup> از دستگاه استخراج شد و تجزیه و تحلیل Ct ها با استفاده از نرم افزار SDS<sup>۲</sup> (نسخه ۱/۴) انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار برنامه GLM<sup>۳</sup> و رویه تی دانشجویی نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) صورت گرفت. همچنین اندازه گیری میزان بیان ژن PR-A با استفاده از روش پفافل (۲۰۰۱) انجام گرفت.



شکل ۱- منحنی تکثیر محصولات ژن PR-A انسانی

<sup>۴</sup> Ethylenediaminetetraacetic acid

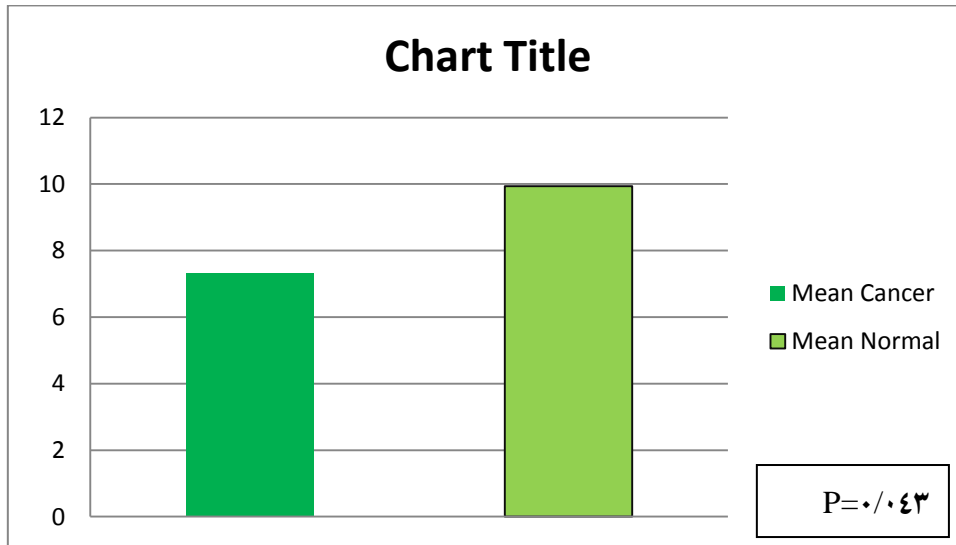
<sup>۱</sup> Threshold cycle

<sup>۲</sup> Sequence Detection Systems

<sup>۳</sup> General linear modelling

اختصاصی و ساختارهای ثانویه بودند (شکل ۲).  
معنی داری تفاوت بین  $\Delta\Delta Ct$  نمونه ها توسط تی دانشجویی در سطح معنی داری  $\alpha=0/05$  آزمون شدند. نتایج نشان داد که میزان بیان ژن PR-A در بافت های سرطانی درجه ۲ و طبیعی انسان تفاوت معنی داری دارد ( $P \leq 0/05$ ) (شکل ۲).

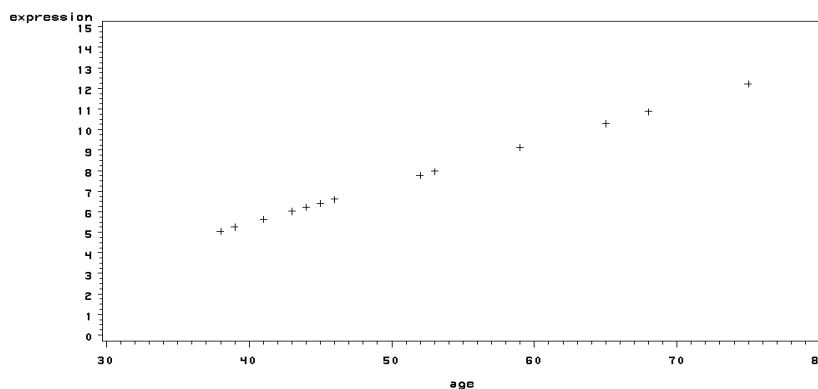
به سبب عدم اختصاصیت رنگ فلورسنس سایبرگرین، برای اطمینان از تولید قطعات اختصاصی و عدم وجود باندهای غیراختصاصی و ساختارهای ثانویه و دوتایی پرایمر در محصولات Real-time PCR منحنی ذوب رسم شد. نتایج منحنی ذوب برای آغازگرهای طراحی شده نشان داد که هر دو جفت آغازگر به صورت اختصاصی عمل نموده و فاقد هر گونه قطعات غیر



شکل ۲- نمودار میانگین بیان ژن PR-A در بافت سرطانی و سالم

همچنین نتایج آزمون آماری ارتباط میزان بیان ژن PR-A با متغیرهای مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار قدرتمند SAS پس از رسم نمودار خطی نشان داد که فقط بین سن بیماران مورد مطالعه و میزان بیان ژن ارتباط خطی معنی داری در سطح ۵ درصد وجود دارد (جدول ۵ و شکل ۳).

همچنین میزان تغییرات Fold Change حدود ۶/۱ برآورد شد. این میزان تغییر نشان دهنده افزایش میزان بیان ژن PR-A در بافت سرطانی نسبت به بافت های طبیعی است. افزایش بیان ژن PR-A باعث بالا رفتن نسبت گیرنده های پروژسترون A/B در بافت سرطانی نسبت به بافت سالم می شود (۱۲، ۱۳).



شکل ۳- نمودار خطی ارتباط میزان بیان ژن PR-A با سن بیماران

جدول ۵- توزیع فراوانی خصوصیات فردی و متغیر مورد مطالعه در سرطان پستان

متغیر	کلاس متغیرها	تعداد کل	درصد	p
سن	$\leq 45$	۱۰	٪۵۰	$p < 0/0299$
	$> 45$	۱۰	٪۵۰	
وضعیت تاهل	متاهل	۳	٪۸۵	$p < 0/401$
	مجرد	۱۷	٪۱۵	
وضعیت یانستگی	یانسه	۶	٪۳۰	$p < 0/13$

پروژسترون در بافت های سرطانی پستان را تأیید می نماید.

محققان تأیید کردند در سرطان پستان زمانی که بیان این دو گیرنده برابر شود و یا یکی از دو ایزوفرم غالب شوند، سلول نزدیک به سرطانی شدن است ولی در سلول سرطانی بیان یکی از ایزوفرم ها غالب می شود که در اکثر موارد ایزوفرم PR-A فرم غالب است (۱۶- ۱۵، ۱۲). همچنین آنها فرضیه پیشرفت تومورهای سرطان پستان به دلیل شکسته شدن سیگنال های فرستاده شده از هورمون پروژسترون مطرح نمودند (۱۲). یافته های پژوهشگران نشان می دهد که آنچه در سرطان پستان دارای اهمیت می باشد نسبت بیان این دو گیرنده نسبت به هم است و در ۳۹ درصد از نمونه های سرطانی بدخیم بیان PR-A نسبت به میزان بیان PR-B به صورت غالب بود و غالبیت بیان یکی از ایزوفرم های گیرنده پروژسترون در بافت سرطانی پستان ۳۰ برابر بیشتر از بافت های طبیعی می باشد (۱۶، ۱۷). همچنین در بافت های طبیعی به طور معمول بیان هیچ یک از ایزوفرم ها به صورت غالب نیست. نتایج بررسی بیان PR-A در هر یک از نمونه های سرطانی به میانگین نمونه های سالم نشان داد که بیان PR-A در ۷۰ درصد از نمونه ها افزایش و در ۳۰ درصد از نمونه ها کاهش داشت. در بیشتر تحقیقات ذکر شده که میزان بیان گیرنده ژن پروژسترون در بافت سرطانی و بافتی که نزدیک به سرطانی شدن است افزایش پیدا می کند (۱۷- ۱۶، ۱۲). یافته های تاریکیو (۲۰۱۱) و جاکوبسن (۲۰۰۵) نشان داد که افزایش PR-A باعث هر چه بدخیم تر شدن تومور می شود که یافته های بدست آمده از این تحقیق نتایج آنها را نیز تأیید می نماید (۱۸-۱۹).

نتایج آزمون آماری، رسم نمودار خطی و محاسبات در شکل ۵ نشان داد که افزایش بیان PR-A ارتباط معنی داری با افزایش سن دارد و افزایش سن باعث افزایش میزان بیان PR-A می شود ( $p \leq 0/05$ ).

### بحث

گراهام و همکاران در سال ۱۹۹۵ بررسی هایی در زمینه بررسی بیان ژن با روش Immuno blot انجام دادند. نتایج آنها نشان داد نسبت بیان A/B در بیشتر نمونه ها افزایش داشت. آنها همچنین علت این افزایش را کاهش بیان PR-B و افزایش میزان بیان PR-A در بافت های سرطانی گزارش نمودند (۱۳). با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق و با استناد به مطالعه گراهام و همکاران علت افزایش نسبت A/B و یا افزایش بیان PR-A را می توان در تفاوت فعالیت های این دو گیرنده توجیه نمود. همچنین گراهام و همکاران اظهار داشتند PR-A دارای نقش مهارکننده ای برای PR-B در بافت های سرطانی است زیرا PR-A دارای ساختارهای ممانعت کننده فعال و مهارکننده رونویسی می باشد (۱۳). همچنین هوپ و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که در اکثر نمونه های سرطانی افزایش میزان نسبت دو گیرنده PR-A به PR-B به سبب افزایش میزان بیان ژن PR-A می باشد که این غالب بودن PR-A را به دلیل مهار مستقیم فعالیت رونویسی گیرنده استروژن بیان نمودند (۱۴). با استناد به مطالب ذکر شده می توان این گونه اظهار داشت که افزایش میزان بیان ژن PR-A در نمونه های سرطانی این مطالعه نتایج بدست آمده از تحقیقات قبلی انجام شده مبنی بر افزایش میزان بیان ژن گیرنده هورمون

ابتدایی سرطان پستان به منظور تجویز دارو های مناسب هورمونی استفاده نمود.

### تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد و پژوهشکده فناوری زیستی دانشگاه فردوسی مشهد به سبب حمایت مالی و فراهم نمودن امکانات و تجهیزات پژوهشی تشکر و قدردانی می شود. همچنین از همکار محترم جناب آقای دکتر محمد دوستی که در اجرای پروژه همکاری شایسته ای داشتند صمیمانه سپاسگزاری می شود.

### نتیجه گیری

هنگام وقوع و سرطانی شدن سلول های پستان و در طی دوره بیماری بیان ژن PR-A در بیشتر بافت های سرطانی افزایش دارد و این افزایش بیان نیز با افزایش سن ارتباط خطی معنی داری دارد. البته این نتایج نشان دهنده اهمیت و تأثیر زیاد این ژن در پیشرفت سرطان پستان است. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق می توان ژن PR-A را به عنوان یکی از شاخص های ملکولی در تشخیص زود هنگام سرطان پستان معرفی نمود و به طور گسترده از آن در آزمایشگاه های تشخیص طبی به عنوان یک روش تشخیص در مراحل

### منابع

1. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al Breast cancer in Iran: an epidemiological review. *Breast J* 2007 Jul-Aug;13(4):383-91.
2. Harirchi I, Ebrahimi M, Zamani N, Jarvandi S, Montazeri A. Breast cancer in Iran. a review of 903 case records. *Public Health* 2000 Mar;114(2):143-5.
3. Tabor MP, Brakenhoff RH, Ruijter-Schippers HJ, Kummer JA, Leemans CR, Braakhuis BJ. Genetically altered fields as origin of locally recurrent head and neck cancer: a retrospective study. *Clin Cancer Res* 2004 Jun 1; 10(11):3607-13.
4. Behjati F, Atri M, Najmabadi H, Nouri K, Zamani M, Mehdipour P. Prognostic value of chromosome 1 and 8 copy number in invasive ductal breast carcinoma among Iranian women: an interphase FISH analysis. *Pathol Oncol Res* 2005 Sep;11(3):157-63.
5. Yassaee VR, Zeinali S, Harirchi I, Jarvandi S, Mohagheghi MA, Hornby DP, et al. Novel mutation in the BRCA1 and BRCA2 genes in Iranian women with early-onset breast cancer. *Breast Cancer Res* 2002;4(4):R6.
6. Lin Y, Kikuchi S, Tamakoshi K, Kondo T, Niwa Y, Yatsuya H, et al. Active smoking, passive smoking and breast cancer risk: findings from the Japan Collaborative Cohort Study for Evaluation of Cancer Risk. *J Epidemiol* 2008;18(2):77-83.
7. Abba MC, Hu Y, Sun H, Drake JA, Gaddis S, Baggerly K, et al. Gene expression signature of estrogen receptor  $\alpha$  status in breast cancer. *BMC Genomics* 2005 Mar;37(6):1-13.
8. Christensen SA. Receptors in breast cancer: interpreting estrogen, progesterone, and HER-2 status. Available at: [www.suite101.com/content/receptors-in-breast-cancer-a146306](http://www.suite101.com/content/receptors-in-breast-cancer-a146306) (2009 Sep).
9. Camacho-Arroyo I, Rodríguez-Dorantes M. Transcriptional activity regulated by progesterone receptor isoforms. *Mol Endocrinol* 2006;25-38.
10. Vandesompele J, De Paepe A, Speleman F. Elimination of primer-dimer artifacts and genomic coamplification using a two-step SYBR green I real-time RT-PCR. *Anal Biochem* 2002 Apr;303(1):95-8.
11. Pfaffle MW. A new mathematical model for relative quantification in realtime RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2001 May;29(9):e45.
12. Graham JD, Clark CL. Expression and transcriptional activity of progesterone receptors A and progesterone receptor B in mammalian cells. *Breast Cancer Res* 2002 Jul;4(5):187-90.
13. Graham JD, Yeates C, Balleine RL, Harvey SS, Milliken JS, Bilous AM, et al. Characterization of progesterone receptor A and B expression in human breast cancer. *Cancer Res* 1995 Nov 1;55(21):5063-8.
14. Hopp TA, Weiss HL, Hilsenbeck SJ, Cui Y, Allred DC, Horwitz KB, et al. Breast cancer patients with progesterone receptor PR-A-rich tumors have poorer disease-free survival rates. *Clin Cancer Res* 2004 Apr 15;10(8):2751-60.
15. Graham JD, Mote PA, Salagame U, van Dijk JH, Balleine RL, Huschtscha LI, et al. DNA replication licensing and progenitor numbers are increased by progesterone in normal human breast. *Endocrinology* 2009 Jul;150(7):3318-26.
16. Lydon JP, Edwards EP. Finally! A model for progesterone receptor action in normal human breast. *Endocrinology* 2009 Jul;150(7):2988-90.
17. Mote PA, Bartow S, Tran N, Clarke CL. Loss of co-ordinate expression of progesterone receptors A and B is an early event in breast carcinogenesis. *Breast Cancer Res* 2002 Mar;72(2):163-72.
18. Hasan TN, B LG, Masoodi TA, Shafi G, Alshatw AA, Sivashanmugham P. Affinity of estrogens for human progesterone receptor A and B monomers and risk of breast cancer: a comparative molecular modeling study. *Adv Appl Bioinform Chem* 2011 Mar;4:29-36.
19. Jacobsen BM, Schittone SA, Richer JK, Horwitz KB. Progesterone-independent effects of human progesterone receptors (PRs) in estrogen receptor-positive breast cancer: PR isoform-specific gene regulation and tumour biology. *Mol Endocrinol* 2005 Mar;19(3): 574-87.