بررسی برخی از مارکرهای سرطانی و فاکتورهای خونی در سرطان پستان القایی با DMBA در موش صحرایی نژاد SD

احمد همتا[1]*؛ سید محمدعلی شریعت‌زاده[1]؛ ملک سلیمانی مهرنجانی[1]

چکیده

زمینه: مدل‌های حیوانی، ابزار بسیار مفیدی برای مطالعه بیماری‌های پیچیده می‌باشند. بدین طریق می‌توان تفاوت‌های ژنومیک در انسان‌ها را مطالعه و همچنین تأثیر فاکتورهای محیطی در بروز سرطان را به حداقل رساند. در این پژوهش، تغییرات دو آنتی‌ژن PCNA و VWF با استفاده از روش ایمنوهیستوشیمی و همچنین سه مارکر سرطانی و دو فاکتور خونی در موش‌های مبتلا به سرطان القایی اندازه‌گیری شد.

روش‌ها: با خوراندن 10mg از ماده کارسینوژنیک DMBA در موش‌های صحرایی نژاد SD، ایجاد سرطان پستان گردید. بعد از ایجاد تومورها نمونه‌های توموری برای تست ایمنوهیستوشیمی استفاده شد. همچنین سه مارکر سرطانی و دو فاکتور خونی در نمونه‌های سرطانی با استفاده کیت‌های مربوطه و بر طبق دستورالعمل کارخانه‌های سازنده، اندازه‌گیری گردید و با استفاده از نرم‌افزار SPSS، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: دو آنتی‌ژن PCNA و VWF در نمونه‌های توموری در مقایسه با کنترل، واکنش شدیدی از خود نشان دادند. از بین مارکرهای خونی، میزان CA15.3 در مقایسه با کنترل، تفاوت معناداری را نشان داد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های هیستوپاتولوژیکی و ایمنوهیستوشیمی، تومورهای ایجادشده، شباهت زیادی به تومورهای پستانی با منشأ انسانی دارند. اندازه‌گیری CA15.3 در تومورهای القایی در مقایسه با نمونه‌های کنترل، تفاوت معناداری را نشان داد. چنانچه این مارکر در تومورهای پستانی انسان نیز همان رفتار را نشان می‌دهد. سایر موارد اندازه‌گیری‌شده در تومورهای القایی در مقایسه با کنترل، تفاوت معناداری را نشان نداد. این نتایج تأکید می‌نماید که سرطان پستان القایی توسط DMBA در موش‌های صحرایی نژاد SD، مدل مناسبی برای مطالعات زیست‌شناسی سرطان پستان می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: مارکر سرطانی، PCNA، VWF، 7,12-dimethylbenz[α] anthracene سرطان پستان، موش صحرایی نژاد اسپراگ داوولی.

«دریافت: 1389/3/18 پذیرش: 1389/8/11»

1. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک

* **عهده‌دار مکاتبات:** اراک، سردشت، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، تلفن: 0861-4173414

Email: a-hamta@araku.ac.ir

مقدمه

یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در اکثر کشورهای جهان به‌جز ژاپن، سرطان پستان می‌باشد (1). دغدغه‌ای که امروزه سرطان را به‌عنوان یک معضل بهداشتی در سطح جهان معرفی می‌کند و مبارزه با آن را جزو اولویت‌های بهداشتی درمانی قرار می‌دهد، رشد رو به افزایش تعداد مبتلایان به این بیماری در سطح جهانی و به‌خصوص در کشور ما می‌باشد، به‌طوری‌که سالیانه بیش از 70000 مورد به خیل بیماران سرطانی افزوده و بیش از 40000 نفر نیز به کام مرگ می‌روند. در حال حاضر بیش از 200000 بیمار سرطانی در کشور وجود دارد (2). سرطان پستان یک بیماری پیچیده است و ابتلای به آن به عوامل ژنتیکی و محیطی بستگی دارد (3) ولی تاکنون خیلی از تغییرات ژنتیکی خاص آن به‌طور دقیق تعریف و توضیح

داده نشده است. یکی از دلایل این نقص به‌خاطر این حقیقت است که مطالعه و بررسی ژنتیکی این بیماری‌ها در جوامع انسانی به‌دلیل ناهمگونی افراد، بسیار مشکل و گاهی تفسیر نتایج با اطمینان کافی همراه نخواهد بود. با انتخاب یک مدل حیوانی مناسب، برخی از این مشکلات می‌تواند برطرف گردد. با استفاده از نژادهای مناسب از جوندگان پرورش‌یافته inbreed در آزمایشگاه، زمینه ژنتیکی ناهمگونی موجود و تغییرات ناشی از اثرات محیطی بر آن‌ها نیز کاهش زیادی خواهد یافت.

PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) پروتئینی با وزن مولکولی 36 KD به‌عنوان سایکلین – پلی‌پپتید درون‌هسته‌ای- تعریف شده است. این پروتئین توسط سلول‌های درحال تقسیم بیان شده و حداکثر سنتز آن در طول فاز S چرخه سلولی می‌باشد. PCNA فاکتوری ضروری برای DNA پلی‌مراز در همانندسازی بوده و در شروع و پیشرفت چرخه سلولی دخالت می‌نماید (4). طبق گزارشات به‌دست‌آمده، نسبت سلول‌های تومورال نوع بدخیم نشاندار شده، نسبت به نوع خوش‌خیم بیشتر می‌باشد و این آنتی‌بادی ابزار بسیار خوبی برای طبقه‌بندی انواع تومورها است (5). این آنتی‌بادی، وضعیت تهاجمی بودن یا نبودن سلول‌های توموری را نشان می‌دهد، که به‌عنوان شاخص تکثیر سلولی در نظر گرفته می‌شود (6). نقش اولیه VWF (Von Willebrand factor)، اتصال به سایر پروتئین‌ها به‌ویژه پروتئینی به نام فاکتور VIII است که در مناطق آسیب‌دیده اهمیت دارد و در مکانیسم انعقاد خون، به‌ویژه با اتصال به رسپتورهای موجود در پلاکت، نقش اصلی را بازی می‌کند. فاکتور VIII تا زمانی که در چرخه غیرفعال است به VWF باند شده و با عمل ترومبین از آن آزاد می‌شود. این پروتئین در سلول‌های اندوتلیال و مگاکاریوسیت‌ها تولید می‌شود. بیان ایمونوهیستوشیمیایی VWF، ابزار مفیدی برای تشخیص تومورهای با منشأ اندوتلیالی است. در فرایند تومورزایی پیشرفته، هم‌گام با رشد بافت توموری، فرایند رگ‌زایی نیز در تومور رخ می‌دهد (7) و بیان VWF، نقش مهمی در مکانسیم آنژیوژنز (رگ‌زایی) بافت تومورال دارد.

مواد شیمیائی موجود در محیط، نقش مؤثری در ایجاد سرطان‌های مختلف از جمله سرطان پستان دارد. از جمله مهم‌ترین این مواد، هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAH) Polycyclic aromatic hydrocarbons است که به فراوانی در دود سیگار، گوشت سرخ‌کرده، مواد غذایی دود داده‌شده و قیر یافت می‌شود. 7,12 Dimethylbenz(a) anthracene (DMBA) نوعی کارسینوژن رایج آزمایشگاهی و از هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای و سنتتیک می‌باشد (8). ماده کارسینوژن DMBA به‌عنوان یک مدل از هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای نیز می‌تواند استفاده گردد (9 و 10) که بر اساس شیوه استفاده از آن در رت‌های isogenic (مشابه از نظر ژنتیکی) ایجاد سرطان خاص می‌نماید. چنانچه با خوراندن این ماده در حلال مناسب، ایجاد سرطان پستان می‌گردد (11) و سرطان ایجادشده نیز از نظر هیستوپاتولوژیکی و ایمنوهیستوشیمیایی با سرطان پستان انسانی مشابهت دارد (12). در این تحقیق با استفاده از DMBA در رت‌های نژاد SD، ایجاد سرطان پستان گردید و مارکرهای سرطانی و فاکتورهای خونی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی- تحلیلی می‌باشد. در این پژوهش از دو آنتی‌بادی خریداری‌شده از شرکت Dako (Dako Denmark A/s) به شرح ذیل استفاده گردید:

PCNA (Proliferating cell nuclear Antigen)(Clone pc10 Code N1529).

Von Willebrand factor (Clone F8/86 Code N1505 RTU)

مراحل انجام این تکنیک با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده آنتی‌بادی انجام گرفت.

در این بررسی، رت‌های ماده بالغ از نژاد Sprague

Dawley (SD) با میانگین وزنی 150±10g از مؤسسه سرم‌سازی رازی خریداری شد. قبل از شروع آزمایش، جهت سازگاری حیوانات با محیط به‌مدت یک هفته و در شرایط 12 ساعت تاریکی، 12 ساعت روشنایی و درجه حرارت 22±3 سانتی‌گراد و دسترسی آزاد به آب و غذا در قفس‌ها در اتاق حیوانات نگه‌داری شدند. حیوانات به‌طور اتفاقی به 2 گروه تقسیم شدند و با رعایت موازین اخلاقی، نشانه‌گذاری شده و به گروه اول (n=10) به‌عنوان گروه کنترل، 0/5cc روغن کنجد به‌صورت گاواژ دهانی داده شد. به گروه دوم (n=10) به‌عنوان گروه تیمار، محلول حاوی 10mg DMBA که در 0/5cc روغن کنجد حل گردیده بود گاواژ داده شد. این دارو برای یک بار به حیوان خورانده شد. رت‌ها هر روز از نظر ایجاد تومور، مورد بازرسی و کنترل با دست قرار می‌گرفتند. بعد از ظهور تومورها و رسیدن آن‌ها به اندازه مطلوب (به طول 15-10 میلی‌متر) اقدام به خون‌گیری از نمونه‌های کنترل و تیمار از طریق بیهوشی کامل توسط اتر و خون‌گیری مستقیم از قلب شد. سپس سرم نمونه‌ها در سانتریفوژ با دور 1500 دور در دقیقه جدا شده و با استفاده از کیت‌های CAN-Ag و روش الایزا و همچنین کیت‌های مربوط به مارکرهای سرطانی CA15.3 (Cancer Antigen 15.3)، CEA (Carcinoembryonic antigen) و CA125 و همچنین فاکتورهای خونی آلکالین فسفاتاز و فریتین (گرم در دسی‌لیتر) مورد سنجش قرار گرفت. برای انجام ایمونوهیستوشیمی به‌طور خلاصه مراحل ذیل انجام گردید.

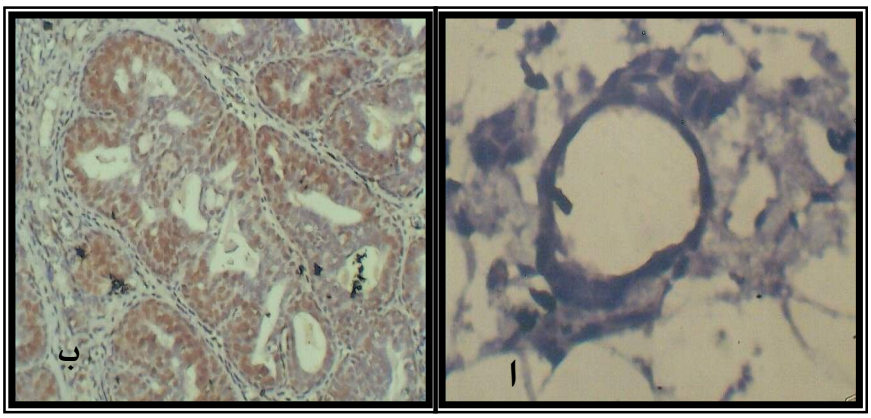
برای انجام ایمونوهیستوشیمی، لام چسب‌دار تهیه شد. به این منظور از چسب سیالن (sialan) با نام کامل 3-Aminopropyl استفاده گردید. چسب سیالن به‌مقدار 5cc در 250cc استون خالص رقیق گردید. شستشوی لام قبل از تهیه لام چسب‌دار انجام شد. برش‌های تهیه‌شده از بلوک‌های پارافینی روی لام‌های چسب‌دار که از قبل تهیه شده بود، قرار گرفته و به‌مدت یک‌ساعت در آون با درجه حرارت 60-55 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و به‌منظور تکمیل پارافین‌گیری از دو ظرف زایلل خالص هرکدام به‌مدت 20 دقیقه عبور داده شد، سپس مراحل هیدراسیون بافتی با عبور از رقت‌های سریال الکل 96، 80، 70 و 60 و آب مقطر، هرکدام به‌مدت 10-5 دقیقه انجام شد. برای بازیافت هر آنتی‌ژن به روش خاص خود که توسط شرکت سازنده توصیه شده است (به‌کمک حرارت یا آنزیم‌های پروتئولیتیک) عمل شد.

بعد از بازیافت آنتی‌ژن ها بلوکه کردن پراکسیداز بافتی انجام شد. برای این کار از H2O2 به‌عنوان بلوکان استفاده شد، محلول H2O2 روی لام ریخته و لامل روی آن قرار داده شد و بعد از 20-10 دقیقه داخل آب مقطر قرار داده شد تا لامل‌ها خارج شوند. سپس با PBS لام‌ها شسته شدند تا آمادگی ترکیب با آنتی‌بادی را بیابند. پس از حدود 5 دقیقه، لام‌ها را خارج گردید. سپس حدود چند قطره آنتی‌بادی اولیه به لام اضافه کرده و لامل روی آن قرار داده شد و در طول شب (12 ساعت بیشتر) در دمای یخچال در جای مرطوب نگه‌داری شد. سپس از یخچال خارج کرده در سرم فیزیولوژی 15-10 دقیقه قرار داده تا آنتی‌بادی های باند نشده شسته شوند. سپس آنتی‌بادی ثانویه را روی لام ریختیم و لامل را روی آن قرار داده و پس از 4-3 ساعت با PBS شستشو دادیم. بعد از آن به‌منظور آشکارسازی از ماده رنگ‌زای DAB استفاده گردید. بدین‌منظور چندقطره از DAB را روی لام ریخته و به‌مدت 20 دقیقه انکوبه گردید، سپس برای پررنگ‌تر شدن DAB، چند ثانیه در کربنات لیتیم و بعد در سولفات مس به‌مدت 5 دقیقه قرار داده شد و به‌منظور رنگ‌آمیزی کنتراست حدود 3 دقیقه در 0/5cc هماتوکسیلین Meyer، به‌مدت چند ثانیه در کربنات لیتیم و در الکل 70، 80، 96 هرکدام 5 دقیقه و در گزیلول 3 بار هرکدام 5 دقیقه قرار داده شد. سپس لامل با چسب انتلان چسبانده شد و با میکروسکوپ نوری مطالعه گردید. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری t-test و Mann–Whitney test تحلیل شد.

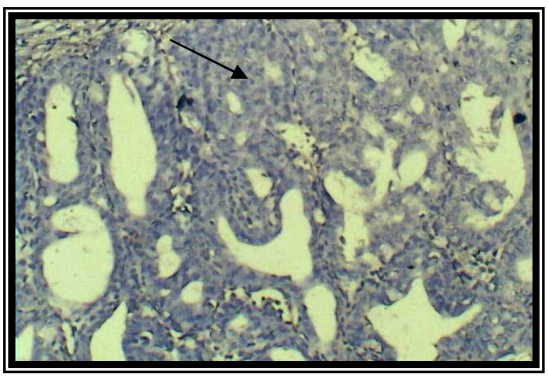
یافته‌ها

تمامی موش‌های تیمارشده با DMBA به‌فاصله سه‌ماه از زمان گاواژ و تا حداکثر چهارماه بعد از آن، مبتلا به سرطان پستان شدند. نتایج حاصل از مطالعات ایمنوهیستوشیمی (IHC) توسط آنتی‌بادی‌های PCNA و VWF و بررسی آنتی‌بادی PCNA در بافت تومروی القاشده به‌وسیله DMBA انجام گرفت. تصویر 1-الف نشان می‌دهد که واکنش سلول‌های طبیعی به‌دست آمده از موش‌های کنترل با آنتی‌بادی PCNA مثبت، بسیار ضعیف می‌باشد و تعدادی از سلول‌ها رنگ‌پذیری کمی را دارند. نتیجه استفاده از آنتی‌بادی PCNA بر روی بافت تومورال در تصویر 1- ب نشان داده شده است، هم‌چنان‌که مشاهده می‌شود واکنش سلول‌های اپی‌تلیال تومروی با PCNA مثبت بوده و هسته‌ها رنگ‌پذیری شدید و پراکنده‌ای را نشان می‌دهند. سلول‌های تومورال بافت پستان موش صحرایی که با آنتی‌ژن VWF واکنش مثبت دارد در تصویر 2 نشان داده شده است. چنانچه ملاحظه می‌گردد سلول‌های توموری واکنش قوی را با آنتی‌بادی VWF نشان داده است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری 3 مارکر ژنتیکی (CEA، CA15-3 و CA125) و 2 فاکتور خونی، آلکالین فسفاتاز (ALP) و فریتین در موش‌های صحرایی مبتلا به سرطان پستان القایی توسط ماده کارسینوژن DMBA پس از اندازه‌گیری، آنالیز شد. میانگین فاکتورها در دو گروه تیمار و کنترل، به‌صورت نمودارهای 1، 2، 3 و 4 نشان داده شده است.

نتایج آماری به‌دست‌آمده نشان داد که اختلاف آماری

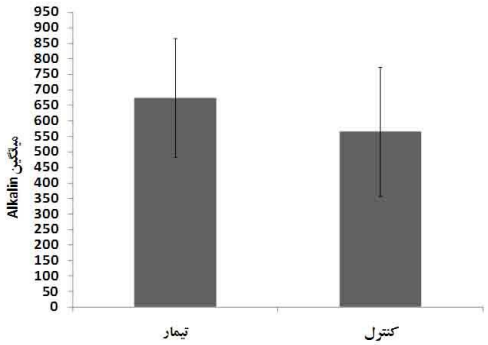


تصویر 1- (الف) سلول‌های اپیتلیال مجرایی در بافت پستان نرمال با بزرگنمایی 100 x در رنگ‌آمیزی با حضور آنتی‌بادی PCNA و رنگ‌زای DAB نشان داده شده است . **(ب)** سلول‌های اپیتلیال ساختارهای مجرایی در بافت پستان تومورال با بزرگنمایی 100 x در رنگ‌آمیزی با حضور آنتی‌بادی PCNA و رنگ‌زای DAB دیده می‌شود.

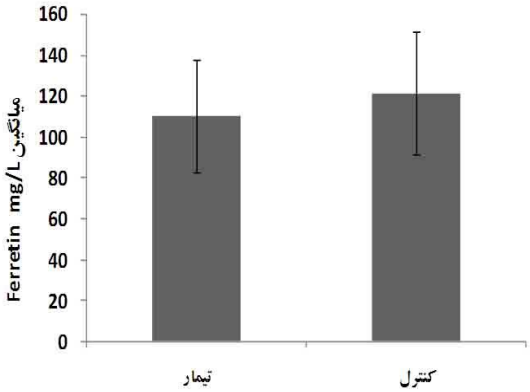


تصویر 2- سلول‌های تومورال بافت پستان با بزرگنمایی 100 x در حضور آنتی‌بادی VWF و ماده رنگ‌زای DAB دیده می‌شود.

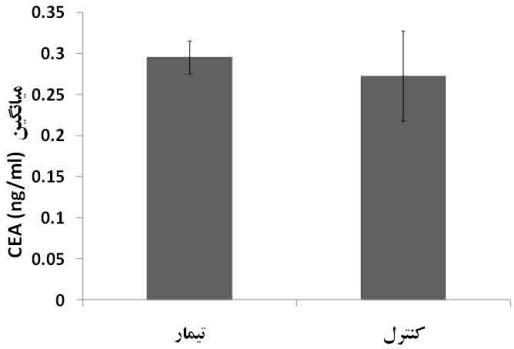
معناداری بین میانگین CA15.3 در دو گروه تیمار و کنترل وجود دارد (P=0/002). ولی اختلاف معناداری بین میانگین‌های دو گروه تیمار و کنترل برای فاکتورهای آلکالین فسفاتاز (P=0/330)، فاکتور CEA (P=0/494) و فریتین (P=0/599) مشاهده نشد. اختلاف مارکر ژنتیکی CA125 در دو گروه شاهد و تیمار معنادار نبود (P=0/864) (نمودار 5).



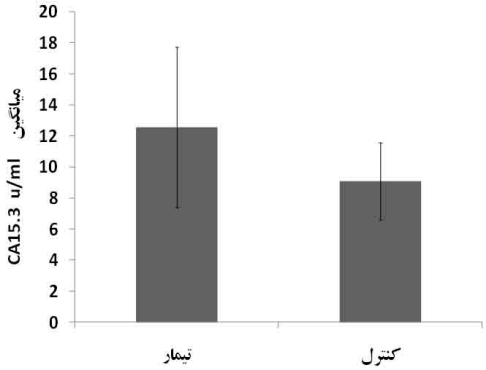
نمودار 1 - مقایسه میانگین آلکالین در دو گروه تیمار و کنترل در سرطان پستان القایی توسط DMBA



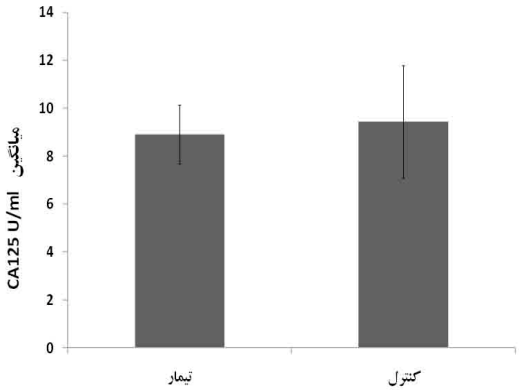
نمودار 2 - مقایسه میانگین فریتین در دو گروه تیمار و کنترل در سرطان پستان القایی توسط DMBA



نمودار 3 - مقایسه میانگین CEA در دو گروه تیمار و کنترل در سرطان پستان القایی توسط DMBA



نمودار 4 - مقایسه میانگین CA 15.3 در دو گروه تیمار و کنترل در سرطان پستان القایی توسط DMBA



نمودار 5 - مقایسه میانگین CA 125 در دو گروه تیمار و کنترل در سرطان پستان القایی توسط DMBA

بحث

در این مطالعه، دو آنتی‌بادی PCNA و VWF با روش ایمنوهیستوشیمی به‌کاربرده شد که نتایج هر دو تأکیدی بر شباهت تومورهای القایی استفاده‌شده در این تحقیق با تومورهای انسانی دارد (12).

نتایج ایمونوهیستوشیمی با این آنتی‌بادی نشان داد که هسته‌ها در بافت تومورال، رنگ‌پذیری شدید و پراکنده‌ای را دارند که نشانه رشد و نمو زیاد سلول‌های توموری است. بیان این آنتی‌ژن در سلول‌های نرمال به مقدار کم انجام می‌گیرد و در واکنش با آنتی‌بادی PCNA، واکنش مثبت ضعیفی را نشان می‌دهد ولی بیان این آنتی‌ژن در سلول‌های توموری، زیاد بوده که این موضوع نشان‌دهنده رشد و تکثیر زیاد سلولی می‌باشد. مثبت بودن PCNA در نمونه‌های توموری استفاده‌شده در این تحقیق، نشان‌دهنده

رشد و تمایز کافی تومورها بود، همچنین بیان شدید PCNA در سلول‌های توموری، نشان‌دهنده سنتز شدید DNA در سلول بوده که نشان از رشد و تقسیم سلولی شدید سلول‌های سرطانی داشت. نتایج به‌دست‌آمده با آنتی‌بادی (VWF)، نشان داد که نمونه تومورال، واکنش مثبت شدیدی را دارد. نمونه توموری استفاده‌شده برای کشت سلولی و سپس مطالعات سیتوژنتیکی در مرحله رشد کامل و پیشرفته بوده‌اند **(13)**. مطالعه با استفاده از روش‌های ایمونوهیستوشیمی نشان داد که با توجه به الگوی مثبت بودن واکنش آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌های موجود در تومورهای بافتی استخراج‌شده از غدد پستانی رت‌های تیمارشده با DMBA که در این پژوهش به‌کار برده شد، شباهت کاملی به سرطان پستان ایجاد شده در انسان دارد و از نظر هیستوپاتولوژیکی و ایمونوهیستوشیمی، مشابه تومورهای پستانی انسانی است، بنابراین از دیدگاه ژنتیکی و تغییرات بیان ژن‌ها نیز بایستی تشابهات زیادی بین تومورهای پستانی ایجادشده در رت و تومورهای انسانی وجود داشته باشد **(12)**.

امروزه مدل‌سازی بیماری‌های پیچیده مانند سرطان برای کشف مکانیسم‌های دقیق آسیب‌های ژنومیک، بسیار متداول شده است. در این تحقیق از DMBA برای القای سرطان پستان در موش‌های صحرایی نژاد SD استفاده گردید. این ترکیب شیمیایی به فراوانی برای شبیه‌سازی سرطان در موش صحرایی استفاده می‌شود و مکانیسم‌های مولکولی ظهور بیماری، مورد تحقیق و بررسی قرار می‌گیرد **(14)**. ارزیابی‌های قابل قبول برای مبتلایان به سرطان بعد از عمل جراحی و پیشگیری از عود دوباره بیماری و همچنین در طی شیمی درمانی، نیاز به فاکتورهای قابل اندازه‌گیری دارد. همچنین این ارزیابی‌ها برای تشخیص زودرس بیماری بسیار مفید می‌باشند.

مارکرهای توموری موادی هستند که در خون، ادرار و یا بافت‌های بدن برخی از بیماران مبتلا به سرطان مشاهده می‌شود لذا یک مارکر توموری می‌تواند توسط تومور و یا بدن فرد مبتلا ساخته شود **(15 و 16)** و همچنین فاکتوری جهت نظارت بر موفقیت و یا عدم موفقیت درمان‌ها به‌حساب آید. CA15.3 از جمله مارکرهای توموری برای سرطان پستان می‌باشد که در آن تظاهر بیش از حد دارد و توسط ژن Mucin 1 (MUC1) سنتز می‌گردد **(17)**. این مارکر، یک گلیکوپروتئین بین‌غشایی بوده و متعلق به گروه موسین‌ها است. این گلیکوپروتئین در سلول‌های طبیعی در سطح آپیکال سلول واقع است ولی در سلول‌های سرطانی در تمام سطح سلول بیان می‌گردد بنابراین تیتر آن در جریان خون افزایش می‌یابد. گرچه این مارکر به عقیده برخی از محققین برای غربالگری بیماران مناسب نیست **(16)** ولی در پیگیری بیماران در تشخیص زودرس متاستاز و همچنین پیگیری پاسخ به درمان در بیماران متاستاتیک، بسیار مورد توجه است **(18)**. فریتین و آلکالین فسفاتاز نیز از جمله دیگر مارکرهای سرطانی هستند که در هنگام پیدایش و پیشرفت سرطان، مقدار آن‌ها در خون مبتلایان افزایش می‌یابد. آلکالین فسفاتازها قادر به حذف فسفات انتهای ´5 (دفسفوریلاسیون) از مولکول‌های تک‌رشته‌ای یا دورشته‌ای RNA و DNA می‌باشد **(19)**.

همچنین بررسی تومور مارکرهای اختصاصی، اهمیت زیادی در کسب اطلاعات در رابطه با سیر بیماری دارد. از طرف دیگر، اندازه‌گیری این مارکرها بسیار آسان و کم‌هزینه می‌باشد. لذا می‌توانند جهت ارزیابی پیش‌آگاهی، پاسخ به درمان و همچنین پیگیری بعد از درمان، بسیار مفید باشند **(20و21)**. از آن‌جایی که استفاده از ماده کارسینوژنیک DMBA در تحقیقات مدل‌سازی‌شده سرطان پستان، بسیار رو به گسترش می‌باشد و محققین زیادی جنبه‌های مختلف این سرطان را در مدل‌های حیوانی مورد بررسی قرار می‌دهند تا شباهت‌ها و تفاوت‌های احتمالی آن مشخص گردد، لذا با مطالعه نمونه‌های سرطانی القایی در این تحقیق و استفاده از سه مارکر سرطانی و دو فاکتور خونی مشخص گردید که میانگین اندازه‌گیری‌شده مارکر CA15.3 در نمونه‌های تیمار و کنترل، اختلاف معناداری را نشان می‌دهد که

افزایش این مارکر خونی در تومورهای انسان نیز گزارش شده است (22 و 23) و نتیجه‌گیری شده است که افزایش این مارکر سرطانی در بیماران می‌تواند فاکتور مهمی در پیش‌آگاهی برای روش‌های درمانی مختلف و استراتژی‌های اتخاذ شده بعد از عمل جراحی باشد (24). همچنین در بیماران مبتلا به سرطان پستان، میزان تغییر مارکر CA15.3 برای پیشگویی نئوپلاستیک در استخوان اهمیت دارد (25). نتایج ایمنوهیستوشیمی در این تحقیق نشان داد که تومورهای حاصله از نظر هیستوپاتولوژیکی و ایمنوهیستوشیمیایی شبیه به سرطان پستان در انسان می‌باشد که با نتایج سایر محققین از جمله Russo (8) موافقت دارد. نتیجه دیگر این پژوهش نشان داد که با توجه به یکسان رفتار کردن سه مارکر سرطانی در سرطان القایی در موش صحرایی و سرطان پستان در انسان، سایر فاکتورهای بیماری و همچنین الگوهای رفتاری و پاسخ‌دهی به درمان‌ها نیز مشابه است و پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات آتی از موش‌های مبتلا به این سرطان القایی توسط DMBA برای تست‌های In vitro و In vivo استفاده گردد و نتایج آن مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

القای سرطان پستان در موش‌های صحرایی نژاد SD توسط DMBA می‌تواند مدل مناسبی را برای مطالعه این بیماری پیچیده ایجاد نماید، چنانچه تومورهای تشکیل‌شده در موش‌های مبتلا علاوه بر دارا بودن شباهت‌های پاتولوژیکی و ایمنوهیستوشیمیایی، از نظر فاکتورهای خونی و مارکرهای سرطانی نیز رفتاری مشابه با تومورهای پستانی انسان از خود نشان می‌دهند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کمک‌های مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه اراک و همچنین از کمک‌های آقای فراهانی در انجام امور آزمایشگاهی، تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. Int J Cancer 1999; 80(6):827-41.
2. Mohaghegh F, Hamta A, Shariatzadeh SMA. [The study of cancer incidence and cancer registration in Markazi province between 2001-2006 and comparison with national statistics, Iran (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences 2008; 11(2): 84-93.
3. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000; 100(1): 57–70.
4. Ogle TF, Dai D, George P, Mahesh VB. Stromal cell progesterone and estrogen receptors during proliferation and regression of the decidua basalis in the pregnant rat. Biol Reprod 1997; 57(3):495-506.
5. Ma DF, Katoh R, Zhou H, Wang PY. Promoting effects of milk on the development of 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene (DMBA)-induced mammary tumors in rats. Acta Histochem Cytochem 2007; 40(2):61-7.
6. Hall PA, Levison DA, Woods AL, Yu CC, Kellock DB, Watkins JA, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. J Pathol 1990; 162(4): 285-94.
7. Sehested M, Hou-Jensen K. Factor VIII related antigen as an endothelial cell marker in benign and malignant diseases. Virchows Arch A Pathol Anat Histol 1981; 391(2): 217-25.
8. Miyata M, Furukawa M, Takahashi K, Gonzalez FJ, Yamazoe Y. Mechanism of 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene-induced immunotoxicity: role of metabolic activation at the target organ. Jpn J Pharmacol 2001;86(3):302-9.
9. Toko T, Shibata J, Sugimoto Y, Yamaya H, Yoshida M, Ogawa K, et al. Comparative pharmacodynamic analysis of TAT-59 and tamoxifen in rats bearing DMBA-induced mammary carcinoma. Cancer Chemother Pharmacol 1995; 37(1-2): 452-6.
10. Luo S, Labrie C, Bélanger A, Candas B, Labrie F. Prevention of development of dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) -induced mammary tumors in the rat by the new nonsteroidal antiestrogen EM-800 (SCH57050). Breast Cancer Res Treat 1998; 49(1): 1-11.

11. Shariatzadeh SMA, Hamta A, Soleimani Mehranjani M, Rasooli Z. [Determination of chromosomal changes in DMBA- induced skin cancer in SD rat strains (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences 2009; 12(2): 73-87.
12. Russo J, Russo IH. Experimentally induced mammary tumors in rats. Breast Cancer Res Treat 1996; 39(1): 7-20.
13. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. N Engl J Med 1991; 324(1): 1-8.
14. Labrie F, Li SH, Labrie C, Lévesque CH, Mérand Y. Inhibitory effect of a steroidal antiestrogen (EM-170) on estone-stimulated growth of 7,12- dimethylbenz(a) anthracene(DMBA)-induced mammary carcinoma in the rat. Breast Cancer Res Treat 1995; 33(3): 233-8.
15. Sarandakou A, Protonotariou E, Rizos D. Tumor markers in biological fluids associated with pregnancy. Crit Rev Clin Lab Sci 2007; 44 (2): 151–78.
16. Gion M, Boracchi P, Dittadi R, Biganzoli E, Peloso L, Mione R, et al. Prognostic role of serum CA15.3 in 362 Node-negative breast cancers. An old player for a new game. Eur J Cancer 2002; 38(9): 1181-8.
17. Duffy MJ, Duggan C, Keane R, Hill AD, McDermott E, Crown J, et al. High preoperative CA 15-3 concentrations predict adverse outcome in node-negative and node-positive breast cancer: study of 600 patients with histologically confirmed breast cancer. Clin Chem 2004; 50 (3): 559–63.
18. Stieber P, Lassig M, Untch M, Nagel D, Heinemann V. How can CEA and CA15.3 be used for estimation of the clinical status and effectiveness of therapy during metastatic breast cancer? Journal of clinical oncology 2004 ASCO annual meeting proceeding 2004; 2(14 Suppl): 566-9.
19. Pavesi F, Lotzniker M, Scarabelli M, Mauro E, Visconti G, Nicolato E, et al. Circulating CA549 and other associated antigens in breast cancer patients. Oncology 1994; 51(1): 18–21.
20. Arslan N, Serdar M, Deveci S, Ozturk B, Narin Y, Ilgan S, et al. Use of CA15-3, CEA and prolactin for the primary diagnosis of breast cancer and correlation with the prognostic factors at the time of initial diagnosis. Ann Nucl Med 2000;14(5): 395-9.
21. Pronk LC, Stoter G, van Putten WL, de Wit R. The correlation of CA15.3 and TPS with tumor course in patients with metastatic breast cancer. J Cancer Res Clin Oncol 1997; 123(2): 128-32.
22. Ohuchi N, Sato SI, Akimoto M, Taira Y, Matoba N, Takahashi K, et al. The correlation between the immunohistochemical expression of DF3 antigen and serum CA15-3 in breast cancer patients surgery today. Jpn J Surg 1991; 21(2): 129-37.
23. Nishimura R, Nagao K, Miyayama H , Matsuda M , Baba KI, Matsuoka Y, et al. Elevated serum ca15-3 levels correlate with positive estrogen receptor and initial favorable outcome in patients who died from recurrent breast cancer. Breast Cancer 2003; 10(3): 45-52.
24. D'Alessandro R, Roselli M, Ferroni P, Mariotti S, Spila A, Aloe S, et al. Serum tissue polypeptide specific antigen (TPS): complementary tumor marker to CA 15-3 in the management of breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2001; 68(1): 55-63.
25. Buffaz PD, Gauchez AS, Caravel JP, Vuillez JP, Cura C, Agnius-Delord C, et al. Can tumour marker assays be a guide in the prescription of bone scan for breast and lung cancers? Eur J Nucl Med 1999; 26(1):8–11.