اثرات استروژن، پروژسترون و تستوسترون بر پرولیفراسیون رده های سلولی سرطان پستان

دکتر محمد هاشمی*، دکترسعید قوامی*

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی

تاریخ دریافت مقاله : ۸۳/۱۲/۱۱
تاریخ پذیرش مقاله : ۸۴/۲/۲۴

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

چکیده

زمینه و هدف: هورمون های استروئیدی پرولیفراسیون سرطان پستان را تحت تاثیر قرار می دهند. هدف از این پژوهش بررسی اثرات β-۱۷ استرادیول، پروژسترون و تستوسترون بر رده های سلولی سرطان پستان MCF-7 و MDA-MB468 می باشد.

مواد و روش کار: سلول ها در محیط کشت با سرم استریپ شده توسط چارکول محتوی غلظت های مختلف هورمون های استروژن، پروژسترون و تستوسترون و در محیط کشت با سرم استریپ شده محتوی استرادیول (۱۰ nM) و غلظت های مختلف پروژسترون و تستوسترون به مدت ۷۲ ساعت کشت داده شدند. پرولیفراسیون سلولی با روش MTT ارزیابی شد.

یافته ها: نتایج نشان می‌دهد که استرادیول به طور معنی داری سبب پرولیفراسیون رده سلولی MCF-7 می شود ($P<۰/۰۵$)، اما بر رده سلولی MDA-MB468 اثری ندارد. در حالی که پروژسترون به تنهایی اثر معنی داری بر رده های سلولی مورد مطاله ندارد، ولی در حضور استرادیول از پرولیفراسیون رده سلولی سلولی MCF-7 جلوگیری می کند. تستوسترون به طور معنی داری از پرولیفراسیون رده سلولی MCF-7 در حضور و در غیاب استرادیول جلوگیری می کند ولی بر روی رده سلولی MDA-MB-468 اثری ندارد.

نتیجه گیری: پرولیفراسیون سلول های سرطان پستان وابسته یا غیر وابسته به هورمون هستند. **(مجله طبیب شرق، سال هفتم، شماره ۱، بهار ۱۳۸٤، ص ۲۱ تا ۲۹)**

گلواژه ها: رده هاي سلولي سرطان پستان، پرولیفراسیون، هورمون هاي استروئیدي

مقدمه

هوموستاز بافتی در نتیجه تعادل بین تزاید سلولی و آپوپتوز می باشد. آپوپتوز نقش کلیدي در تنظیم رشد و تکامل بافت‌هاي سالم و سرطاني به عهده داشته و به هم خوردن روند آپوپتوز منجر به بیماري هاي مختلف از جمله سرطان مي شود.[۱-۳] آپوپتوز را در بافت ها و رده هاي سلولي با حذف هورمون و فاکتورهاي رشد مي توان القاء کرد. همانند پرولیفراسیون به نظر مي رسد که آپوپتوز هم در بافت طبیعي پستان داراي تغییرات دوره اي است و حداکثر آن در پایان فاز لوتئال است.[۴] این روند افزایش آپوپتوز در اثر کاهش استروژن یا پروژسترون است که در پایان سیکل ماهانه اتفاق مي‌افتد. اثر استرادیول در رده هاي سلولي داراي گیرنده بررسي و نشان داده شده که در این رده‌هاي سلولي حذف استروژن و یا آنتي استروژن منجر به مرگ سلولي مي شود.[۵و۶] غدد پستاني بافت هدف براي هورمون هاي استروژن و پروژسترون هستند. اثرات این هورمون‌ها به واسطه اتصال به گیرنده اختصاصي شان مي باشد.

اثر آنتي آپوپتوتیك استروژن همراه با اثر میتوژنیك آن در سلول هاي پستان در ایجاد سرطان پستان نقش دارد. آنتي استروژن ها

آدرس نویسنده مسئول: زاهدان، معاونت پژوهشي دانشگاه علوم پزشکي Email: hashemim@zdmu.ac.ir

به عنوان یك شیوه درماني در پیشگیري از سرطان پستان کاربرد دارد. پروژستین ها در پیشگیري از بارداري و هورمون درماني جایگزیني[۱] به کار مي رود. علي رغم اهمیت

[۱] *Hormone replacement therapy (HRT)*

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

درماني آن ها، يافته ها مبني بر اثر پروژستين ها در رده هاي سلولي سرطان پستان اندك است. اطلاعاتي در رابطه با تنظيم هورموني آپوپتوز در بافت طبيعي پستان در دست نيست. اغلب مطالعات in vitro در رابطه با اثر پروژسترون در روي سلول‌هاي طبيعي پستان[۷] و رده هاي سلولي پستان كه داراي گيرنده پروژسترون (از قبيلT47-D) هستند[۸] حاكي از آن است كه پروژسترون اثر آنتي پروليفراسيون دارد. شواهد باليني نشان دهنده اين است كه آندروژن ها در درمان سرطان پستان مؤثر هستند و در غلظت فيزيولوژيك، رشد رده سلولي سرطان پستان ZR-75-1 را مهار مي كند.[۹]

روش كار

رده‌هاي سلولي مورد بررسي: رده هاي سلولي سرطان پستان MDA-MB-468 وMCF-7 از بانك سلولي ايران (NCBI) مستقر در انستيتو پاستور خريداري شد. رده MCF-7، يك مدل استاندارد براي تحقيقات سرطان پستان در in vitro است كه به صورت چسبيده به كف فلاسك رشد مي نمايد. منشاء اين رده آدنوكارسينوماي پستان است و داراي مورفولوژي سلول هاي اپي تليال بوده و گيرنده استروژن را بيان مي نمايد. منشاء رده MDA-MB-468نيز آدنوكارسينوماي پستان و داراي مورفولوژي سلول هاي اپي تليال بوده و تفاوت اصلي آن با رده قبلي اين است كه گيرنده استروژن را بيان نمي كند.[۱۰]

كشت رده هاى سلولى: رده هاى سلولى در محيط كشت RPMI-1640 محتوي۱۰ درصد سرم جنين گوساله، ۲ ميلي مولار گلوتامين، ۲ گرم در ليتر بي كربنات، ۱۰۰ واحد در ميلي ليتر پني سيلين و ۱۰۰ ميكرو گرم در ميلي ليتر استرپتومايسين در انكوباتور CO_2 با شرايط ۵ درصد دي اكسيدكربن، ۹۵ درصد هواي مرطوب و دماي $37^{\circ}c$ كشت داده شد.[۱۱و۱۲]

پاساژ سلول ها: در صورتي كه تراكم سلولي در فلاسك ها به بيش از ۸۵ درصد برسد، سلول‌ها پاساژ داده مي شد. به اين صورت كه ابتدا در زير هود لاميناز، محيط كشت سلول ها خالي شد، سپس به آن ۳ ميلي ليتر محلول تريپسين استريل (براي تهيه اين محلول، ۰/۰۵ گرم تريپسين و۰/۰۲ گرم EDTA را در ۱۰۰ ميلي ليتر فسفات بافر سالين (PBS) حل و با فيلتر ۰/۲ ميكرون استريل شد) اضافه گرديد. پس از۱ تا ۲ دقيقه محلول تخليه و به مدت ۱۰ دقيقه در انكوباتور CO_2 قرار داده مي شد. به محض مشاهده كنده شدن سلول ها از كف فلاسك به وسيله ميكروسكوپ معكوس، آن‌ها را به هود لامنيار منتقل كرده و به آن محيط كشت اضافه و بين فلاسك هاي جديد تقسيم مي‌شدند. فلاسك ها با درج مشخصات و تاريخ، مجدداً در انكوباتور CO_2 كشت داده مي شد.

استريپ كردن سرم جنين گاوي(FCS) : براي بررسي وابستگي رده سلولي به هورمون، نياز به سرم استريپ (عاري از هورمون) است كه تهيه آن به اين صورت است كه: سوسپانسيون ۵ درصد چاركول، ۰/۵درصد دكستران تي-۷۰ تهيه شد. معادل حجمي از FCS مورد نظر، سوسپانسيون دكستران، چاركول اضافه و در۲۵۰۰ دور در دقيقه سانتريفوژ شد. سپس به رسوب حاصل، سرم اضافه و به مدت يك ساعت در ۳۷ درجه سانتيگراد انكوبه و سپس به مدت ۲۰ دقيقه سانتريفوژ شد. آنگاه سرم با فيلتر ۰/۲ ميكرون فيلتر و در ۲۰- درجه سانتيگراد نگهداري گرديد. با اين روش، بيش از ۹۹ درصد هورمون هاي استروئيدي حذف مي شوند.[۱۰]

تيمار سلول ها: سلول ها در فلاسكcm^2 ۲۵ كشت داده شد زماني كه تراكم سلولي به حدود ۸۵ درصد

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

رسید، تریپسینه نموده و پس از شمارش سلولي توسط لام نئوبار، سلول با دانسیتة یکسان (3×10^4 سلول در میلي لیتر) به هر یك از چاهك های پلیت ۹۶ چاهکي اضافه مي شد. حال پلیت ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور CO_2 قرار مي‌گرفت تا سلول ها به کف چسبیده و رشد نمایند. پلیت هایي که مطابق با دستورالعمل بالا جهت تیمار آماده شدند، به زیر هود منتقل گردید و محیط کشت چاهك ها توسط سمپلر با دقت خالي شد. سپس محیط کشت جدید با سرم استریپ شده حاوي غلظت هاي مختلف ، به هر یك اضافه گردید. براي بررسي اثر هورمون ها بر روند پرولیفراسیون/سیتوتوکسیسیتي، سلول ها در پلیت ۹۶ چاهکي رشد داده و سپس محیط کشت سلول ها با محیط کشت جدید با سرم استریپ شده محتوي غلظت هاي مختلف هورمون‌هاي استروژن، پروژسترون و تستوسترون تعویض گردید. همچنین سلول ها را با سرم استریپ شده محتوي استرادیول (۱۰ nM) و غلظت هاي مختلف پروژسترون و تستوسترون تیمار شدند. براي هر غلظت سه چاهك در نظر گرفته شد. چاهك هاي شاهد محتوي محیط کشت با سرم استریپ شده بوده و هیچ تیماري دریافت نکردند.

بررسي سیتوتوکسیسیتي با استفاده از روش MTT[2]: MTT نمك زرد رنگ تترازولیم محلول در آب است که توسط سوکسینات دهیدروژناز میتوکندري هاي سلول‌هاي زنده و فعال، احیاء و به ترکیب رنگي فورمازان نامحلول تبدیل مي‌شود که این رنگ با حلال آلي حل گشته و شدت رنگ در طول موج ۵۷۰ نانومتر متناسب با میزان سلول هاي زنده است.[۱۱-۱۳] براي ارزیابي سیتوتوکسیسیتي، سلول ها با دانسیته 3×10^4cell/ml، در پلیت هاي ۹۶ چاهکي کشت داده و پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت که سلول ها به سطح پلیت چسبید و وارد فاز رشد شدند، تیمار مي گردند. پس از مدت زمان مورد نظر (۷۲ ساعت) به هر چاهك ۵۰ میکرولیتر محلول MTT (محلول ۵ mg/ml MTT در PBS) اضافه و به مدت ۵ ساعت در انکوباتور انکوبه مي‌شد. سپس محیط کشت سلول با سرنگ و سوزن به دقت خارج و به هر چاهك، ۱ میلي لیتر دی متیل سولفوکسید (DMSO) اضافه و جذب هر چاهك در مقابل شاهد، در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت مي‌شد.

نتایج بر حسب درصد سلول هاي زنده تیمار شده نسبت به کنترل محاسبه گردید.

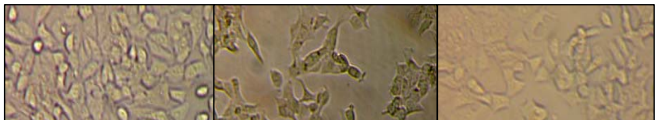
روش هاي آماري: جهت ارزیابي آماري نتایج بدست آمده از تست ANOVA با استفاده از نرم افزار آماري SPSS –10 استفاده شد.

یافته ها

در تصویر ۱ مورفولوژی سلول های MCF-7 در محیط کشت کامل حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی استریپ نشده و استریپ شده و محیط کشت حاوی سرم جنین گاوی استریپ شده محتوي استرادیول (۱۰ nM) نشان داده شده است. مورفولوژی سلول های MCF-7 در محیط کشت حاوی سرم جنین گاوی استریپ شده تغییر کرده و در این شرایط به خوبی رشد نمی‌کند که دال بر وابستگی این رده سلولی به هورمون برای رشد است. افزودن استرادیول به سرم استریپ شده سبب مي شود که مورفولوژي آن شبیه به شاهد شود و به خوبي رشد نماید.

تصویر ۱. مورفولوژي سلول هاي MCF-7 در محیط کشت محتوي ۱۰ درصد سرم جنین گاوي (A)، محیط کشت حاوي سرم استریپ شده (B) و محیط کشت حاوي سرم استریپ شده محتوي ۱۰ nM استرادیول (C).

A B C



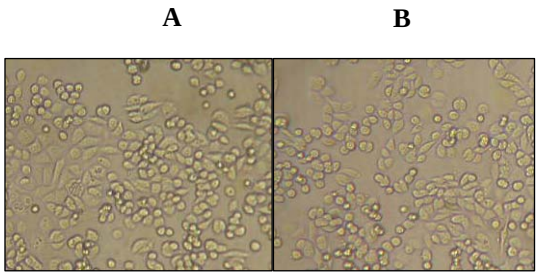
[2] *[3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H tetrazolium bromide]*

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

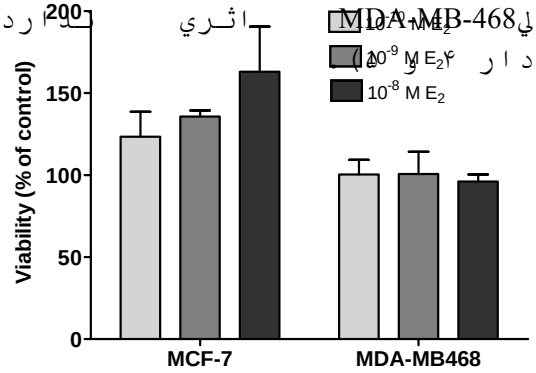
تصویر ۲ مورفولوژي سلول هاي MDA-MB468 در محیط کشت حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی استریپ نشده و استریپ شده را نشان مي دهد. همان طوري که مشاهده مي شود مورفولوژي این رده سلولي در دو محیط با هم تفاوت ندارد و به خوبي در محیط کشت عاري از هورمون رشد مي کند.

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

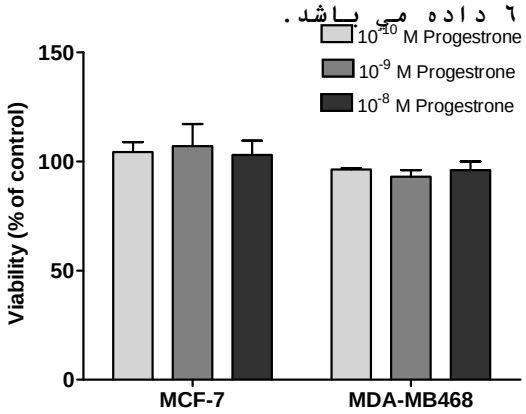
تصویر ۲. مورفولوژي سلول هاي MDA-MB468 در محیط کشت محتوي ۱۰ درصد سرم جنین گاوي (A)، محیط کشت حاوي سرم استریپ شده (B).



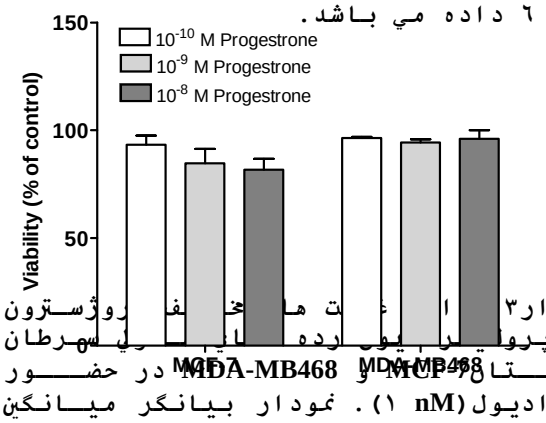
در نمودار ۱ اثر غلظت های مختلف استرادیول بر رده هاي سلولي MCF-7 و MDA-MB468 پس از ۷۲ ساعت نشان داده شده است. استرادیول به طور معني داري سبب پرولیفراسیون رده سلولي MCF-7 مي شود ($P<0/05$)، در حالي که بر رده سلولي MDA-MB468 اثري ندارد. همان طوري که در نمودار ۲ نشان داده شده پروژسترون به تنهایي اثر معني داري بر رده هاي سلولي مورد مطاله ندارد ولي در حضور استرادیول از پرولیفراسیون رده سلولي سلولي MCF-7 جلوگیري مي‌کند (نمودار ۳). تستوسترون به طور معني داري از پرولیفراسیون رده سلولي MCF-7 در حضور و در غیاب استرادیول جلوگیري مي‌کند در صورتي که بر روي رده سلولي MDA-MB-468 اثري ندارد (نمودار ۴).



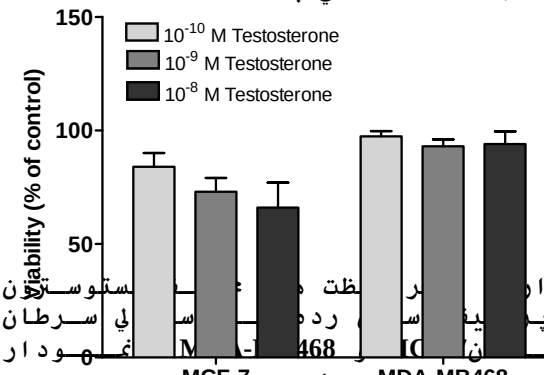
نمودار۱. اثر غلظت هاي مختلف استرادیول بر پرولیفراسیون رده هاي سلولي سرطان پستان MCF-7 و MDA-MB468 . نمودار بیانگر میانگین ± انحراف معیار (Mean SD ±) ۶ داده مي باشد.



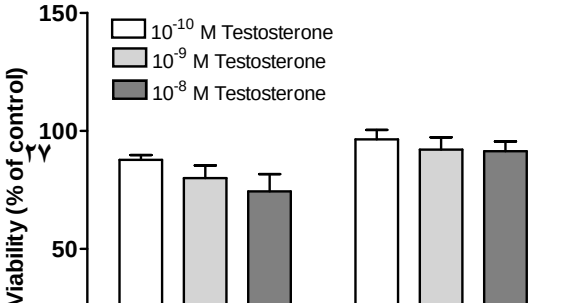
نمودار۲. اثر غلظت هاي مختلف پروژسترون بر پرولیفراسیون رده هاي سلولي سرطان پستان MCF-7 و MDA-MB468 . نمودار بیانگر میانگین ± انحراف معیار (Mean SD ±) ۶ داده مي باشد.



نمودار۳. اثر غلظت هاي مختلف پروژسترون بر پرولیفراسیون رده هاي سلولي سرطان پستان MCF-7 و MDA-MB468 در حضور استرادیول (۱ nM). نمودار بیانگر میانگین ± انحراف معیار (Mean SD ±) ۶ داده مي باشد.



نمودار۴. اثر غلظت هاي مختلف تستوسترون بر پرولیفراسیون رده هاي سلولي سرطان پستان MCF-7 و MDA-MB468 . نمودار بیانگر میانگین ± انحراف معیار (Mean SD ±) ۶ داده مي باشد.



Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

نموداره. اثر غلظت هاي مختلف تستوسترون بر پروليفراسيون رده هاي سلولي سرطان پستانMCF-7 و MDA-MB468 در حضور استراديول(۱ nM). نمودار بيانگر ميانگين ± انحراف معيار (Mean ± SD) ٦ داده مي باشد.

بحث

هورمون درماني به عنوان يك شيوه درماني مؤثر در سرطان پستان است. اولين بار بيتسون در سال ۱۸۹۶ بيان كرد كه برداشتن دو طرفه تخمدان در خانم مبتلا به سرطان پيشرفته پستان باعث بهبود بيماري مي شود. پس از آن روش هاي اندوكرين درماني متعددي مطرح شد كه از جمله آن ها مي توان به آدرنالكتومي، هيپوفيزكتومي و تجويز دوز فارماكولوژيك استروژن ها، اندروژن ها، پروژستين ها و گلوكوكورتيكوئيدها اشاره كرد. هيچكدام از اين روش ها آن چنان در درمان موفق نبود. در اوايل دهه ۱۹۷۰ تاموكسيفن كه يك آنتي استروژن است، در درمان سرطان پستان مطرح شد. اندازه‌گيري گيرنده استروژن اين امكان را فراهم آورد تا تومورهايي كه به هورمون درماني پاسخ مي‌دهند انتخاب گردند.[۱۴] هورمون هاي استروئيدي عمل خود را به واسطه گيرنده هاي سيتوپلاسمي خود انجام مي دهند و بر بيان ژن اثر مي گذارند.

استروژن اثرات متعددي در بيان ژن هاي مختلف از جمله فاكتور رشد، بيان گيرنده فاكتور رشد و گيرنده پروژسترون دارد.[۱۵و ۱۶] بررسي ها نشان داده كه استراديول از آپوپتوز در رده هاي سلولي MCF-7جلوگيري مي كند و اين عمل را به واسطه فسفوريلاسيون و غير فعال كردن پروتئين BAD كه يك پروآپوپتوتيك پروتئين است انجام مي دهد.[۱۷] استرس هاي مختلف نظير هيپوكسي و آسيب به DNA سبب توقف رشد يا آپوپتوز وابسته به p53 مي شود.[۱۸] در رده سلولي MCF-7 كه آلل وحشي p53 در آن بيان مي شود،[۱۹] استراديول سبب غير فعال شدن عملكرد اين پروتئين مي گردد. از طرفي غير فعال شدن p53 وابسته به استراديول سبب تومورزايي سلول هاي بدخيم وابسته به گيرنده استروژن مي شود. همچنين در رده سلولي MCF-7 نشان داده شده كه استروژن از طريق گيرنده سطح سلولي و با افزايشcAMP سبب پروليفراسيون سلولي مي‌شود.[۲۰]

از طرفي استراديول سبب افزايش بيان پروتئين Bcl 2 مي‌شود كه اين پروتئين اثر آنتي آپوپتوزي دارد.[۱و۲۱و۲۲] استراديول در غلظت هاي فيزيولوژيك سبب پروليفراسيون سلول هاي رده MCF-7 مي شود.[۲۳] در اين پژوهش مشاهده شد كه سلول هاي MCF-7 كه در محيط كشت با سرم استريپ شده كشت داده شده، افزودن استراديول سبب پروليفراسيون وابسته به ميزان، در اين رده سلولي مي شود.

بسياري از اعمال پروژسترون به اثرات ضد استروژني آن نسبت داده مي شود. پروژسترون بيان گيرنده استروژن (ER) را كاهش داده و تجزيه آن را افزايش مي دهد.[۲۴] پروژسترون به تنهايي اثري ندارد ولي در حضور استراديول باعث مهار رشد سلول هاي سرطاني مي شود. يكي از دلايلي كه پروژسترون به تنهايي اثر ندارد ولي در حضور استروژن از

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

پرولیفراسیون رده سلولیMCF-7 جلوگیري مي‌کند این است که گیرنده پروژسترون از محصولات عمل استروژن است و در غیاب استرادیول گیرنده پروژسترون بیان نمي شود.[۲۵] همان طوري که بیان شد پروژسترون رشد سلول هاي سرطاني را در حضور استروژن مهار مي کند و این فرضیه که پروژسترون اثر محافظتي در مقابل استروژن در بافت پستان دارد را تائید مي نماید. از میزان بالاي پروژستین ها در درمان سرطان پستان استفاده مي‌شود.[۲۶]

بیان شده است که پروژسترون سبب پرولیفراسیون رده سلولیT47D مي شود.[۲۷] این رده داراي گیرنده استروژن و پروژسترون مي باشد. نتایج حاضر نشان داد در رده MCF-7 که داراي این گیرنده ها است پروژسترون در حضور استرادیول سبب مهار پرولیفراسیون سلولي مي شود ولي به تنهایي اثري ندارد.

شواهد بالیني نشان دهنده این است که آندروژن ها در درمان سرطان پستان مؤثر هستند و در غلظت فیزیولوژیك رشد رده سلولي سرطان پستان را مهار مي کند.[۹] در این پژوهش نشان دادیم که تستوسترون رشد رده سلولي MCF-7 را در حضور و در غیاب استروژن مهار مي کند ولي بر رده سلولي MDA-MB468 بي اثر است.

پژوهش هاي انجام شده حاکي از آن است که در میزان فیزیولوژیك، تستوسترون و دي هیدروتستوسترون پرولیفراسیون سلول‌هاي رده MCF-7 را در حضور[۲۸-۳۰] و در غیاب استروژن مهار مي نماید[۲۸و۳۱]، گرچه همه مطالعات این ارتباط را نشان نمي‌دهد.[۳۲] آندروژن ها اثر استروژن را در رده سلولي MCF-7 مهار مي نماید.[۳۳] در این پژوهش ما نیز نشان دادیم که تستوسترون در حضور و در غیاب استرادیول پرولیفراسیون رده سلولیMCF-7 را مهار مي کند.

در رده سلولیMDA-MB435 که گیرنده آندروژن را در غیاب گیرنده هاي استروژن و پروژسترون بیان مي کند آندروژن سبب پرولیفراسیون این رده سلولي مي شود.[۳۴] در رده سلولي MDA-MB468 مشخص شد که تستوسترون اثري بر پرولیفراسیون در این رده سلولي ندارد و تاکنون گزارشي از اثر آندروژن ها در این رده سلولي منتشر نشده است. نقش و اهمیت بالیني آندروژن ها و گیرنده هاي آن ها در سرطان پستان به درستي شناخته نشده است.

سپاسگزاري

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقات سرطان گروه بیوشیمي دانشکده پزشکي دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. از سرکار خانم دکتر کریمي تهراني کمال تشکر و قدرداني مي‌شود.

References

1. Hashemi M, Kroczak TJ. Apoptosis and autoimmune disease. Curr Med Chem AIAA 2005; 4: 429-37.
2. Wyllie AH. Apoptosis and regulation of cell numbers in normal & neoplastic tissues: an overview. Cancer Metast Rev 1992; 11:95-103.
3. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biologic phenomenon with wide-ranging implications in tissue-kinetics. Br J Cancer 1972; 26: 239 -57.
4. Ferguson D, Anderson T. Morphologic evaluation of cell turn over in relation to the menstrual cycle in "resting" human breast. Br J Cancer 1981; 44:177- 81.

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

5. Kyprianou M, English HF, Davidson NE, Isaacs JT. Programmed cell death during regression of the MCF-7 human breast cancer following estrogen ablation. Cancer Res 1991; 51:162-6.
6. Perry PR, Kang Y, Greaves B. Effects of tamoxifen on growth and apoptosis of estrogen-dependent and independent human breast cells. Ann Surg Oncol 1995; 2: 238-45.
7. Gompel A, Malet C, Spritzer P, et al. Progestin effect on proliferation and 17b-hydroxy steroid dehydrogenase activity in normal breast cells in culture. J Clin Endocrinol Metab 1986; 63:1174-80.
8. Vignon F, Bardon S, Chalbos D. Antiestrogenic effect of R5020, a synthetic progestin in human breast cancer cells in culture. J Clin Endocrinol Metab 1983; 56:1124 -30.
9. Poulin R, Simard J, Labrie C, et al. Down-regulation of estrogen receptors by androgens in the ZR-75-1 human breast cancer cell line. Endocrinology 1989; 125:392-9.
10. Hashemi M, Karami Tehrani F, Ghavami S, Sirati sabet M. Adenosine deaminase activities in the estrogen receptor positive and negative human breast cancer cell lines. Medical Journal of the Islamic Republic of Iran 2005; 19: 53-6.
11. Hashemi M, Karami Tehrani F, Farzami B. Caspase dependent apoptosis induced by Cladribine in estrogen receptor negative breast cancer cell line, MDA-MB468. Journal of Sciences Islamic Republic of Iran 2003; 14:303-10.
12. Hashemi M, Karami Tehrani F, Ghavami S. Cytotoxicity effect of Cladribine on the MCF-7 human breast cancer cell line. Iranian Biomedical journal 2004; 8:7-12.
13. Ghavami S, Kerkhoff C, Los M, et al. Mechanism of apoptosis induced by S100A8/A9 in colon cancer cell lines: the role of ROS and the effect of metal ions. J Leukoc Biol 2004; 86:169-75.
14. Wyld DK, Chester JD, Perren TJ. Endocrine aspects of the clinical management of breast cancer - current issues. Endocrine Related Cancer 1998; 5: 97-110.
15. Klijn JGM, Berns EMJJ. Prognostic factors and response to therapy in breast cancer. Cancer Survey 1993; 18:165-97.
16. Horwitz KB, McGuire WL. Estrogen control of progestrone receptor in human breast cancer. J Biol Chem 1978; 253:2223-8.
17. Fernando RI, Wimalasena J. Estradiol Abrogates Apoptosis in Breast Cancer Cells through Inactivation of BAD: Ras-dependent Nongenomic Pathways Requiring Signaling through ERK and Akt. Molec Biol Cell 2004; 15:3266-84.
18. Maltzman W, Czyzyk L. UV irradiation stimulates levels of p53 cellular tumor antigen in nontransformed mouse cells. Mol Cell Biol 1984; 4:1689-94.
19. Runnebaum IB, Nagarajan M, Bowman M, et al. Mutations in p53 as potential molecular markers for human breast cancer. Pro Natl Acad Sci 1991; 88:10657-61.
20. Zivadinovic D, Gametchu B, Watson CS. Membrane estrogen receptor-alpha levels in MCF-7 breast cancer cells predicts cAMP and proliferation responses. Breast Cancer Res 2005; 7: 101-12.

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

21. Huang Y. Estrogen increases intracellular p26 Bcl-2 to p21 Bax ratios and inhibits taxol-induced apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells. Breast Cancer Res Treat 1997; 42:73-81.
22. Dong L, Wang W, Wang F, et al. Mechanisms of transcriptional activation of Bcl-2 gene expression by 17beta-estradiol in breast cancer cells. J Biol Chem 1999; 274:32099-107.
23. Lippman M, Bolan G, Huff K. The effects of estrogens and antiestrogens on hormone-responsive human breast cancer in long-term tissue culture. Cancer Res 1976; 36:4595-601.
24. Graham JD, Clarke CL. Physiological action of progesterone in target tissues. Endocr Rev 1997; 18:502-19.
25. Allegra JC, Korat O, Do HM, Lippman M. The regulation of progesterone receptor by 17 beta estradiol and tamoxifen in the Zr-75-1 human breast cancer cell line in defined medium. J Recept Res 1981; 2:17-27.
26. Muss HB, Cruz JM. High-dose progestin therapy for metastatic breast cancer. Ann Oncol 1992; 3 3:15-20.
27. Moore MR, Hathaway LD, Bircher JA. Progestin stimulation of thymidine kinase in the human breast cancer cell line T47D. Biochim Biophys Acta 1991; 1096:170-4.
28. Ando S, De Amicis F, Rago V, et al. Breast cancer: from estrogen to androgen receptor. Mol Cell Endocrinol 2002; 193:121-5.
29. Boccuzzi G, Brignardello E, Di Monaco M, et al. 5-En-androstene-3 beta, 17 beta-diol inhibits the growth of MCF-7 breast cancer cells when estrogen receptors are blocked by estradiol. Br J Cancer 1994; 70:1035-9.
30. Ortmann J, Prifti S, Bohlmann MK,et al. Testosterone and 5 alpha dihydro testosterone inhibit in vitro growth of human breast cancer cell lines. Gynecol Endocrinol 2002; 16:113-20.
31. Mac Indoe JH, Etre LA. An antiestrogenic action of androgens in human breast cancer cells. J Clin Endocrinol Metab 1981; 53:836-42.
32. Birrell SN, Bentel JM, Hickey TE,et al. Androgens induce divergent proliferative responses in human breast cancer cell lines. J Steroid Biochem Mol Biol 1995; 52:459-67.
33. Mac Indoe JH, Etre LA. Androgens inhibit estrogen action in MCF-7 human breast cancer cells. Life Sci 1980; 27:1643-8.
34. Hall RE, Birrell SN, Tilley WD, Sutherland RL. MDA-MB-453, an androgen-responsive human breast carcinoma cell line with high level androgen receptor expression. Eur J Cancer 1994; 30:484-90.

Effects of estradiol, progesterone and testosterone on proliferation of human breast cancer cell lines

Hashemi M., PhD*, Ghavami S., PhD*

Downloaded from zjrms.ir at 14:23 +0430 on Wednesday June 5th 2019

Background: *Steroid hormones affect the proliferation of breast cancer. The aim of this study was to test the effect of estradiol, progesterone and testosterone on MCF-7 and MDA-MB468 human breast cancer cell line.*

Methods and Materials: *The human breast cancer cell line MCF-7 and MDA-MB468 were grown in charcoal striped serum in the presence and absence of 10 nM 17- β-estradiol with different concentration of progesterone and testosterone for 72 hrs. Growth of cells evaluated by MTT method.*

Results: *The results demonstrated that estradiol produced an increase in the cell proliferation rate of MCF-7 cells grown in the presence of charcoal-stripped serum, but had no effect on MDA-MB468 cells. While progesterone had no effect on cell growth when tested alone on both cell lines, it significantly inhibited the growth of MCF-7 cells in the presence of 10 nM estradiol. Testosterone had no effect on cell growth of MDA-MB468 cells in the presence or absence of estradiol. In MCF-7 cells, testosterone significantly inhibited the growth of these cells in the absence or presence of estradiol.*

Conclusions: *Proliferation of breast cancer cells are hormone dependent or hormone independent.*

KEY WORDS: *Breast cancer cell line, Proliferation, Steroid hormone*

***Clinical Biochemistry Dept, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences and health services, Zahedan, Iran.**