

Correlation between telomerase gene expression and different stages of breast cancer and obesity

M. Rahmati Yamchi*

N. Zarghami**

M. Rahbani Noubar***

R. Najafipour****

M. Mobasser*****

*Assistant Professor of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

**Professor of Clinical Biochemistry, Endocrine Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

***Professor of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

****Assistant Professor of Clinical Biochemistry and Genetics, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*****Associate Professor of Endocrinology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*Abstract

Background: Breast cancer is the most common cancer in women. Obesity is known as a risk factor for breast cancer acting directly on breast cancer by producing adipocytokines. On the other hand, it seems that telomerase activity and especially expression of its catalytic subunit (hTERT) are critical for cancer initiation and development.

Objective: To determine the relationship between obesity grades and adipocytokines associated with expression of hTERT gene at different stages of breast cancer.

Methods: This was an analytical study carried out on 65 breast cancer patients during 2009-2010. Blood sample and fresh tumour tissue were collected from all patients. Expression of hTERT gene in tumour tissue was evaluated using quantitative real-time PCR and the plasma level of adipocytokines also tested.

Findings: Expression of hTERT gene was detected in 53 samples with an expression level which significantly correlated with BMI, stage, and grade of cancer. Also, there was a positive significant correlation between hTERT expression level and leptin level ($r=0.484$, $P=0.008$) however, no correlation with other adipocytokines including IL-6 ($r=-0.041$, $P=0.83$) and TNF- α ($r=-0.059$, $P=0.76$) was observed.

Conclusion: Considering the data, it could be concluded that obesity, as the source of leptin, may play a direct role in occurrence and development of breast cancer.

Keywords: Breast Cancer, Obesity, hTERT, Adipocytokine

Corresponding Address: Nosratallah Zarghami, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Email: Zarghami@tbzmed.ac.ir

Tel: +98-411-3363234

Received: 1 Jan 2011

Accepted: 26 Sep 2011

ارتباط بین بیان ژن تلومراز با مراحل مختلف سرطان پستان و چاقی زنان

دکتر محمد رحمتی یامچی*

دکتر نصرت‌اله ضرغامی**

دکتر محمد رهبانی نوبر***

دکتر رضا نجفی پور****

دکتر مجید مبصری*****

* استادیار گروه بیوشیمی و آزمایشگاه‌های بالینی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

** استاد گروه بیوشیمی و آزمایشگاه‌های بالینی و مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم (استخوان) دانشگاه علوم پزشکی تبریز

*** استاد گروه بیوشیمی و آزمایشگاه‌های بالینی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

**** استادیار بیوشیمی بالینی و ژنتیک مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

***** دانشیار و متخصص غدد دانشگاه علوم پزشکی تبریز

آدرس نویسنده مسؤول: تبریز، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، گروه بیوشیمی و آزمایشگاه‌های بالینی، تلفن ۳۳۶۳۳۳۴-۰۴۱۱

Email: Zarghami@tbzmed.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۴

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۱۱

* چکیده

زمینه: سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در زنان است. چاقی از جمله عوامل خطر شناخته شده برای این سرطان است که با تولید آدیپوسیتوئین‌ها می‌تواند نقش مستقیمی در بروز سرطان داشته باشد. از طرفی برای شروع و پیشرفت سرطان، فعالیت آنزیم تلومراز به خصوص بیان ژن زیر واحد کاتالیتیک آن (hTERT)، ضروری به نظر می‌رسد.

هدف: مطالعه به منظور تعیین ارتباط بین درجه‌های مختلف چاقی و آدیپوسیتوئین‌ها با بیان ژن hTERT و مراحل سرطان پستان انجام شد. **مواد و روش‌ها:** این مطالعه تحلیلی در سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ بر روی ۶۵ بیمار مبتلا به سرطان پستان انجام شد. و نمونه خون و بافت توموری تازه از آن‌ها گرفته شد. در بافت توموری بیان ژن hTERT با روش کمی Real-time PCR و در پلاسمای آن‌ها غلظت آدیپوسیتوئین‌ها با روش ایمنونواسی ارزیابی شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری تی، اسپیرمن و کای دو تحلیل شدند.

یافته‌ها: از ۶۵ بیمار مورد مطالعه، در ۵۳ نفر ۱٪ بیان ژن hTERT مشاهده شد که سطح بیان آن با شاخص توده بدنی، مرحله و درجه سرطان ارتباط معنی‌داری داشت. همچنین ارتباط مثبت و معنی‌داری بین بیان ژن hTERT با لپتین ($r=0/484$, $P=0/008$) وجود داشت، اما این ارتباط با سایر آدیپوسیتوئین‌ها شامل اینترلوکین-۶ ($r=-0/041$, $P=0/83$) و $TNF-\alpha$ ($r=-0/059$, $P=0/076$) از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، می‌توان نتیجه گرفت که چاقی به عنوان منبع لپتین می‌تواند در بروز و پیشرفت سرطان پستان نقش مستقیمی داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: سرطان پستان، چاقی، زیر واحد کاتالیتیک تلومراز (hTERT)، آدیپوسیتوئین

* مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در بین زنان است که سالانه بیش از یک میلیون نمونه جدید آن در جهان ثبت می‌شود و میزان مرگ و میر ناشی از این سرطان در کشورهای پیشرفته بیش‌تر از سایر کشورهاست.^(۱) مطالعه‌ها نشان داده است که سبک زندگی به طرق مختلف در بروز و گسترش سرطان پستان نقش دارد.^(۲) برای مثال چاقی به عنوان یک عامل مرتبط با سبک زندگی، خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می‌دهد و به عنوان یک عامل خطر برای پیشرفت سرطان پستان در نظر گرفته می‌شود.^(۳) همچنین در زنان مبتلا به سرطان پستان، ارتباط مستقیم بین شاخص توده بدنی بالای ۲۵ با اندازه تومور و درگیری گروه‌های لنفاوی گزارش شده است.^(۴) از طرفی مشخص شده است که چاقی با افزایش سرعت مرگ و میر ناشی از سرطان پستان در زنان ارتباط دارد.^(۵)

مطالعه‌های همه‌گیر شناختی نشان می‌دهد که خطر

سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در بین زنان است که سالانه بیش از یک میلیون نمونه جدید آن در جهان ثبت می‌شود و میزان مرگ و میر ناشی از این سرطان در کشورهای پیشرفته بیش‌تر از سایر کشورهاست.^(۱) مطالعه‌ها نشان داده است که سبک زندگی به طرق مختلف در بروز و گسترش سرطان پستان نقش دارد.^(۲) برای مثال چاقی به عنوان یک عامل مرتبط با سبک زندگی، خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می‌دهد و به عنوان یک عامل خطر برای پیشرفت سرطان پستان در زنان مبتلا به سرطان پستان، ارتباط مستقیم بین شاخص توده بدنی بالای ۲۵ با اندازه تومور و درگیری گروه‌های لنفاوی گزارش شده است.^(۴) از طرفی مشخص شده است که چاقی با افزایش سرعت مرگ و میر ناشی از سرطان پستان در زنان ارتباط دارد.^(۵)

مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تلومراز در انواع مختلفی از سرطان‌ها از جمله سرطان پستان، مجدداً فعال می‌شود؛ به طوری که فعالیت آن در بیش از ۸۰ تا ۹۵ درصد از تومورهای پستان قابل اندازه‌گیری و فعالیت آن برای شروع و ادامه مرحله بدخیم‌تر تومورها لازم است.^(۱۳و۱۴) برخی مطالعه‌ها یافته‌های ضد و نقیضی در مورد شاخص‌های تشخیصی، نتیجه بیماری، متغیرهای بالینی و آسیب‌شناختی و ارتباط آن‌ها با فعالیت تلومراز ارائه داده‌اند^(۱۴) که شاید مؤید این مطلب باشد که احتمالاً فعالی تلومراز تحت تأثیر سایر متغیرها مثل مهارکننده‌های تلومراز و شاخص توده بدنی (به عنوان نماینده حالت چاقی) است.

افزایش بیان زیر واحد کاتالیتیک تلومراز (hTERT) با میزان فعالیت تلومراز در سلول‌های سرطانی ارتباط مستقیم دارد و بررسی میزان بیان آن با روش کمی Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) انجام شده است.^(۱۵) اما از آن جا که تا به حال ارتباط بین فعالیت تلومراز و سطح پلاسمایی آدیپوسیتوکین‌ها با میزان چاقی در زنان مبتلا به سرطان پستان مطالعه نشده است، مطالعه حاضر با هدف تعیین ارتباط بین درجه‌های مختلف چاقی و آدیپوسیتوکین‌ها با بیان ژن hTERT و مراحل سرطان پستان انجام شد.

* مواد و روش‌ها:

این مطالعه تحلیلی در سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ بر روی ۶۵ بیمار مبتلا به سرطان پستان و با درجه‌های مختلف چاقی و بدون سابقه شیمی درمانی یا اشعه درمانی انجام شد. تمام نمونه‌ها از بیمارانی که به بیمارستان‌های امام رضا (ع) و بیمارستان نور نجات شهر تبریز مراجعت کرده بودند، به صورت تصادفی انتخاب شدند. نمونه‌گیری پس از تأیید طرح توسط کمیته اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، اخذ رضایت‌نامه آگاهانه و پرکردن پرسش‌نامه (شامل همه شاخص‌های اجتماعی، فیزیولوژیک، تاریخیچه، سبک زندگی و عوامل

ابتلا به سرطان پستان در زنان چاق حدود ۳۰ تا ۵۰ درصد بالاتر از زنان غیرچاق است. مکانیسم و مسیرهایی که چاقی را با سرطان مرتبط می‌کنند چند عاملی هستند و جلوگیری از آن‌ها بسیار مشکل است؛ برای مثال جذب انرژی بیش از حد، مصرف کم انرژی و افزایش توده چربی بدن می‌توانند از عوامل مهم در این زمینه باشند. افزایش توده چربی بدن به عنوان منبع مولکول‌های تنظیمی مسیرهای متابولیکی و اندوکرینی مرتبط با مسیرهای سرطان‌زایی می‌تواند باعث بروز سرطان شوند.^(۶)

مکانیسم مولکولی دقیق ارتباط بین چاقی و سرطان پستان هنوز به طور کامل مشخص نیست، اما عوامل مترشح از بافت چربی (آدیپوسیتوکین‌ها) به عنوان عوامل اصلی این ارتباط مطرح هستند. لپتین یکی از عوامل مترشح از بافت چربی است که سطح پلاسمایی بالای آن با چاقی ارتباط مستقیم دارد.^(۷) لپتین می‌تواند تکثیر انواع مختلفی از سلول‌های پیش سرطانی و سرطانی را تحریک و به عنوان یک سیتوکین التهابی عمل کند.^(۸) همچنین با راه‌سازی اینترلوکین-۶ (IL-6) و دیگر سیتوکین‌ها، عمل سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اینترلوکین-۶ و عامل نکروزکننده تومور آلفا (TNF- α) از دیگر آدیپوسیتوکین‌ها هستند که اثر آن‌ها بر بروز سرطان پستان مطالعه شده و افزایش اینترلوکین-۶ در مراحل اولیه سرطان، نقش مهمی و در مراحل نهایی، اثر معکوس از خود نشان داده است.^(۹) مطالعه‌ها نشان داده‌اند که اینترلوکین-۶ با القای مهاجرت سلولی از طریق فعال کردن مسیر کینازی و همچنین مهار تمایز سلول‌ها، باعث تسهیل شرایط برای ایجاد بدخیمی می‌شود.^(۹) از طرفی TNF- α که سطح پلاسمایی آن به طور کامل با میزان توده بافت چربی بدن مرتبط است، به طریق اتوکراین و پاراکراین فرایندهایی مثل آپوپتوز و تولید سایر آدیپوسیتوکین‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد.^(۱۰) یکی از مکانیسم‌های اثر TNF- α بر بروز سرطان پستان از طریق تحریک تولید آندوژنی استروژن‌ها است.^(۱۱و۱۲)

PCR و با استفاده از Syber Green I شرکت Roche آلمان و سیستم Rotor-Gene 6000 بررسی شد. پرایمرهای زیر جهت پژوهش طراحی شدند: پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر hTERT به ترتیب ۵'CCGCCTGAGCTGTACTTTGT۳' به عنوان پرایمر مستقیم و ۵'CAGGTGAGCCACGAAGTGT۳' به عنوان پرایمر معکوس که محصولی به طول ۱۹۸ جفت باز را تولید می کنند و برای بتا-اکتین به ترتیب ۵'TCCCTGGAGAAGAGCTACG۳' به عنوان پرایمر مستقیم و ۵'GTAGTTTCGTGGATGCCACA۳' به عنوان پرایمر معکوس که محصولی به طول ۱۳۱ جفت باز را تولید می کنند.

کیفیت واکنش های Real-Time-PCR با تهیه نمودارهای استاندارد به صورت دو بار تکرار تأیید شد. واکنش Real-Time-PCR با ذوب اولیه (۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه) شروع و سپس ۴۰ چرخه از دنایوراسیون (۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه)، تشکیل حالت دو رشته ای (۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه)، و تکثیر (۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه) انجام شد و در نهایت منحنی ذوب از دمای ۷۵ تا ۹۵ درجه سانتی گراد رسم شد.

غلظت پلاسمایی لپتین با استفاده از روش ایمونواسی (الیزا) به صورت کمی با استفاده از کیت شرکت medagnost آلمان با حساسیت n نانوگرم در میکرولیتر ۰/۲ اندازه گیری شد که ضریب تغییرات (CV) بین نمونه ای و درون نمونه ای آن در هر دو مورد ۱۰ درصد بود. غلظت پلاسمایی اینترلوکین-۶ و عامل نکروز کننده تومور آلفا با استفاده از روش ایمونواسی (الیزا) به صورت کمی با استفاده از کیت شرکت Benser MedSystems با حساسیت ۰/۹۲ پیگوگرم در میکرولیتر برای اینترلوکین-۶ و ۲/۳ پیگوگرم در میکرولیتر برای TNF- α اندازه گیری شد. ضریب تغییرات بین نمونه ای برای اینترلوکین-۶ برابر ۲/۶ درصد و برای عامل نکروز کننده تومور آلفا برابر ۱۰/۳ درصد و درون نمونه ای برای

تن سنجی) انجام شد. قبل از اتاق عمل، رضایت نامه و ۱۰ سی سی نمونه خون از بیماران گرفته شد. سپس در اتاق عمل و حین جراحی، بافت های توموری به اندازه یک گرم توسط جراح برداشته سریع در داخل لوله های استریل بدون DNase - RNase و در نیتروژن مایع به فریزر -۷۰ درجه سانتی گراد منتقل و تا موقع استفاده ذخیره شدند. با توجه به گزارش سازمان بهداشت جهانی، شاخص توده بدنی به صورت وزن بدن برحسب کیلوگرم بر مربع قد برحسب متر از روی اطلاعات پرسش نامه محاسبه شد. بیماران به چهار گروه کم تر از وزن طبیعی با شاخص توده بدنی کم تر از ۱۸/۵ کیلوگرم بر مترمربع، وزن طبیعی با شاخص توده بدنی بین ۱۸/۵ تا ۲۴/۹ کیلوگرم بر مترمربع، وزن بالا با شاخص توده بدنی بین ۲۴/۹ تا ۲۹/۹۹ کیلوگرم بر مترمربع و چاق با شاخص توده بدنی بیش از ۲۹/۹۹ کیلوگرم بر مترمربع تقسیم بندی شدند.

نمونه خون در لوله های حاوی EDTA یک ساعت پس از نمونه گیری با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفوژ و پلاسما، بافی کوت و گلبول های قرمز آن جدا و در دمای -۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

حدود ۱۰۰ میلی گرم از بافت توموری تازه به طور مکانیکی پودر گردید و RNA پودر حاصل در لوله های استریل بدون DNase-RNase با استفاده از محلول RNase^{plus} شرکت سیناژن طبق روش کار شرکت استخراج شد. در مرحله آخر به رسوب RNA بافر TE اضافه و غلظت و کیفیت RNA حاصل با قرائت جذب نوری در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و نسبت جذب نوری طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر بررسی شد که برای تمامی نمونه ها حدود ۱/۷ تا ۲/۱ بود. در مرحله بعدی، ارزیابی کیفیت با الکترو فورز ژل آگارز تأیید و دو باند ۱۸ S و ۲۸ S مشاهده شد. RNA حاصل، بعد از تیمار با DNase با استفاده از کیت شرکت فرمنتاز به cDNA تبدیل شد.

سطح بیان mRNA ژن بتا-اکتین به عنوان نمونه شاهد کمی درونی و ژن hTERT با روش کمی-Real-Time

اینترلوکین-۶ برابر ۷/۸ درصد و برای عامل نکروزکننده تومور آلفا برابر ۳/۲ درصد بود. غلظت آدیپوسیتوکین ها در همه نمونه های پلاسمایی به صورت همزمان اندازه گیری شد.

داده ها با نرم افزار SPSS۱۶ و آزمون های آماری تی، کای دو و اسپیرمن تحلیل شدند و P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

* یافته ها:

اطلاعات توصیفی بیماران در سه گروه، میانگین سن

بیماران در سه گروه (با وزن طبیعی، بالا و چاق) به ترتیب ۴۳/۴۱±۹/۱ و ۴۷/۸۸±۱۱/۲، ۴۴/۰۶±۱۰/۱۷ سال بود. از نظر سابقه فامیلی چاقی، تنش، فشارخون، سطح تحصیلات، سیگاری یا غیرسیگاری بودن و نسبت دور کمر به دور باسن (WHR) اختلاف معنی دار آماری بین سه گروه مشاهده نشد. اما از نظر سابقه فامیلی، ابتلا به سرطان پستان در بیماران با وزن طبیعی به طور معنی داری بیش تر از بقیه گروه ها بود. ارتباط معنی دار مثبتی بین شاخص توده بدنی و سطح بیان ژن hTERT وجود داشت (جدول شماره ۱).

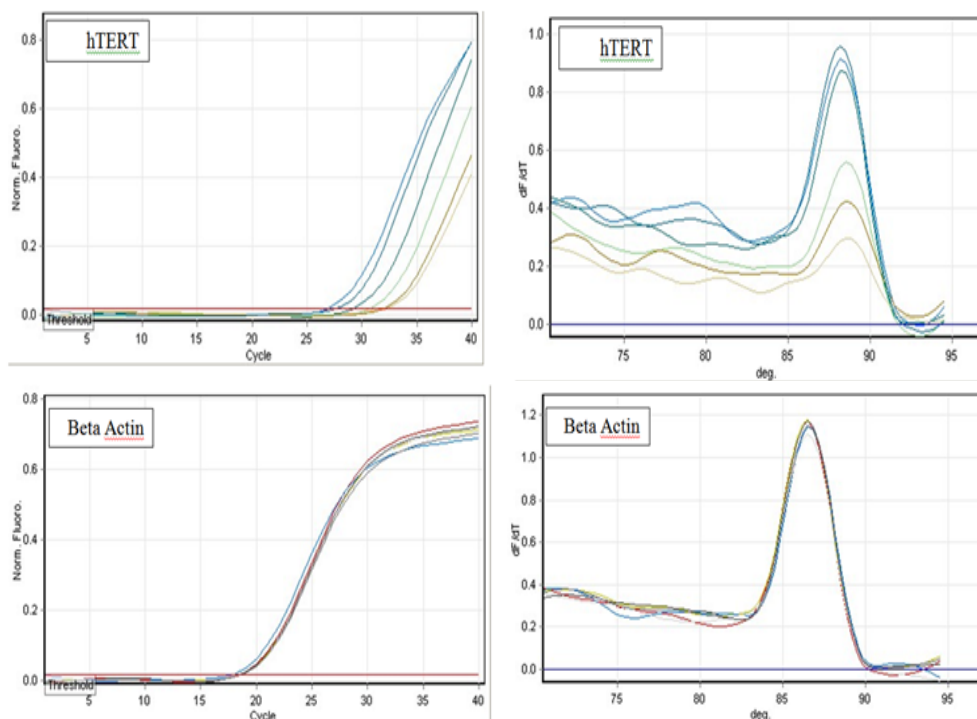
جدول ۱- اطلاعات بیماران مبتلا به سرطان پستان براساس شاخص توده بدنی

شاخص توده بدنی	طبیعی (۱۵ نفر)	وزن بالا (۱۵ نفر)	چاق (۱۶ نفر)	سطح معنی داری
متغیر				
سن بیمار (سال)	۴۴/۰۶±۱۰/۱۷	۴۷/۸۸±۱۱/۲	۴۳/۴۱±۹/۱	۰/۳۵۱
سن اولین قاعدگی (سال)	۱۳/۳۸±۰/۱۸۴	۱۳/۵±۰/۲۸۲	۱۳/۴۱±۰/۳۰۹	۰/۹۸۲
سن ازدواج (سال)	۲۰/۹۱±۱/۳	۲۰/۹۳±۲/۸	۱۷/۴۷±۱/۶	۰/۳۹۱
قد (سانتی متر)	۱۶۳/۰۸±۹/۶	۱۶۱/۵±۸/۵	۱۵۷/۶±۳/۴	۰/۰۱۹
وزن (کیلوگرم)	۶۱/۴±۵/۳	۷۱/۶±۶/۳	۷۹/۱±۵/۴	۰/۰۱
شاخص توده بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۳/۱۲±۱/۳	۲۷/۳۴±۱/۷	۳۱/۹۲±۲	۰/۰۰
دور کمر (سانتی متر)	۸۵/۸۵±۸/۳	۸۷/۷۶±۹/۷	۹۴/۴۱±۵/۵	۰/۰۰۲
دور باسن (سانتی متر)	۱۰۱/۵±۸/۱	۱۰۵/۴±۴/۳	۱۰۹/۱±۴/۸	۰/۰۰۱
نسبت دور کمر به باسن (WHR)	۰/۸۴±۰/۰۷	۰/۸۴±۰/۱۱	۰/۸۶±۰/۰۵	۰/۷۶۷
درصد چربی بدن	۳۴/۲±۶	۳۷/۲۳±۴/۶	۴۲/۸۲±۳/۸	۰/۰۰۹
	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	
سابقه فامیلی سرطان پستان	۲۱ (۶۱/۷)	۲ (۱۳/۳)	۳ (۱۸/۷۵)	۰/۰۰۳
	۱۳ (۳۸/۳)	۱۳ (۸۶/۷)	۱۳ (۸۱/۲۵)	
سابقه فامیلی چاقی	۲۴ (۷۰/۵۹)	۱۰ (۶۶/۶)	۱۵ (۹۳/۷۵)	۰/۰۹
	۱۰ (۲۹/۴۱)	۵ (۳۳/۴)	۱ (۶/۲۵)	
تنش	۳۳ (۵۰)	۱۶ (۲۴/۲)	۱۷ (۲۵/۸)	۰/۶۱
	۱ (۵۰)	۱ (۵۰)	۰ (۰)	
پرفشاری خون	۹ (۴۷/۴)	۵ (۲۶/۳)	۵ (۲۶/۳)	۰/۹۷
	۲۵ (۵۱)	۱۲ (۲۴/۴۸)	۱۲ (۲۴/۴۸)	
تحصیلات دانشگاهی	۲۸ (۴۴/۷)	۱۵ (۲۵/۴)	۱۷ (۲۷/۱)	۰/۱۱
	۶ (۶۶/۶)	۳ (۳۳/۳)	۰ (۰)	
سیگار کشیدن	۱ (۳۳/۳)	۲ (۶۶/۶)	۰ (۰)	۰/۳۲
	۳۳ (۵۰)	۱۵ (۲۲/۷)	۱۷ (۲۷/۸)	

در بین بیماران چاق و با وزن طبیعی در مرحله درجه دو و سه سرطان از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). ارتباط معنی‌دار و مستقیمی بین بیان ژن hTERT با لپتین وجود داشت ($r = 0.484$, $P = 0.008$)، اما این ارتباط با اینترکولین-۶ و $TNF-\alpha$ از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول‌های شماره ۲ و ۳).

آنالیز نتایج Real-time PCR با روش $\Delta\Delta Ct$ مشخص کرد که ۱۲ نمونه ژن hTERT را بیان نمی‌کردند، ولی ۵۳ نمونه دیگر آن را بیان می‌کردند و سطح بیان این ژن به طور معنی‌دار در گروه چاق از گروه با وزن طبیعی بالاتر بود (شکل شماره ۱). بیش‌تر نمونه‌هایی که hTERT را بیان می‌کردند در مراحل دو و سه و در درجه‌های یک و دو بودند و اختلاف بیان ژن hTERT

شکل ۱- ارزیابی کمی محصول real-time RT-PCR با استفاده از Syber Green I برای ژن‌های hTERT و بتا‌اکتین در بیماران مبتلا به سرطان پستان چاق و غیر چاق، نمودارهای آبی بیماران چاق و بقیه رنگ‌ها بیماران غیر چاق هستند ($r^2 = 0.99$)



جدول ۲- سطح پلاسمایی لپتین، $TNF-\alpha$ و اینترلوکین-۶ در بیماران مبتلا به سرطان پستان براساس شاخص توده بدنی

شاخص توده بدنی متغیر	طبیعی (۳۴ نفر)	وزن بالا (۱۵ نفر)	چاق (۱۶ نفر)
لپتین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۹/۵۷±۶/۳	۲۹/۶±۱۲/۲	۳۳/۴۷±۳۲/۱۷
$TNF-\alpha$ (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	۳/۵۳±۰/۷۱	۱۱/۲±۱۶/۳۸	۶/۰۳±۶/۱۳
اینترلوکین-۶ (پیکوگرم بر میلی‌لیتر)	۳/۷۲±۱/۶۶	۸/۰۹±۴/۰۵	۶/۳۶±۲/۶۴

جدول ۳- ارتباط بین سطح بیان ژن hTERT

با آدیپوسیتوکین ها و عوامل چاقی دور شکمی

متغیر	r	سطح معنی داری
لپتین	۰/۴۸۴	۰/۰۰۸
TNF- α	-۰/۰۵۹	۰/۷۶۳
اینترلوکین-۶	-۰/۰۴۱	۰/۸۳۳
دور کمر (سانتی متر)	۰/۲۱۹	۰/۲۲
نسبت دور کمر به دور باسن (WHR)	۰/۲۱۲	۰/۲۳۷

* بحث و نتیجه گیری:

در مطالعه حاضر ارتباط معنی داری بین سطح پلاسمایی بالای لپتین و سرطان پستان در بیماران چاق وجود داشت و همچنین سطح لپتین با بیان ژن hTERT مرتبط بود. مطالعه های اخیر بر روی کشف مکانیسم اثر آدیپوسیتوکین ها بر تومورزایی در بافت پستان متمرکز شده است. کشف لپتین و ارتباط مستقیم سطح پلاسمایی لپتین با شاخص توده بدنی باعث شده است تا لپتین به عنوان رابط بین چاقی و خطر سرطان پستان مطرح شود.^(۱۶)

مطالعه ها نشان داده اند که اثر اینترلوکین-۶ می تواند با توجه به مرحله سرطان متفاوت باشد برای مثال؛ سطح پلاسمایی بالای آن در مراحل اولیه سرطان نقش محافظتی و در مراحل پیشرفته و حالت های بدخیمی نقش تحریکی دارد.^(۹) اما هیچ مطالعه ای یافت نشد که اثر آن را بر بیان ژن hTERT در زنان با درجه های مختلف چاقی مطالعه کند. لذا به نظر می رسد با توجه به یافته های مطالعه حاضر، مکانیسم اثر اینترلوکین-۶ از طریق مکانیسم هایی به غیر از تحریک بیان ژن hTERT انجام می شود.

در مورد اثر نکروز کننده تومور آلفا برخی مطالعه ها نشان داده اند که سطح نکروز کننده تومور آلفا در افراد مبتلا به سرطان پستان با درجه های مختلف چاقی نسبت به گروه شاهد تغییری نمی کند، اما با افزایش شاخص توده بدنی مقدار آن هم به طور مستقیم افزایش می یابد.^(۱۰، ۱۸) احتمالاً نقش سرطان زایی آن در پستان

به دلیل تحریک تولید استروژن در بدن باشد. اما در مورد اثر آن بر بیان ژن hTERT مطالعه ای یافت نشد و یافته های مطالعه حاضر نیز رابطه معنی داری از اثر آن بر بیان ژن hTERT نشان نداد.

در مورد ارتباط چاقی دور شکمی و سرطان پستان مطالعه ها نشان داده اند که دور کمر، نسبت دور کمر به باسن و شاخص توده بدنی در بیماران مبتلا به سرطان پستان بالاتر از گروه شاهد بودند^(۱۹، ۲۰) که نتایج مطالعه حاضر این یافته ها را تأیید می کند. همچنین در این مطالعه، ارتباط مثبتی بین شاخص توده بدنی و بیان ژن hTERT نشان داده شد. به نحوی که بیان ژن hTERT در بیماران چاق به خصوص بیماران دارای چاقی دور شکمی بالا بود که احتمالاً آدیپوسیتوکین ها موجب این ارتباط مثبت می شوند. هیچ مطالعه ای در ارتباط با اثر دور کمر و نسبت دور کمر به باسن بر بیان hTERT یافت نشد و مطالعه حاضر اولین مطالعه در این زمینه است.

در برخی مطالعه ها بین مرحله و درجه سرطان پستان و اثر آن بر بیان hTERT ارتباط ضعیفی وجود داشت.^(۲۱) اما در سایر مطالعه ها ارتباط معنی داری مشاهده شد و بیان hTERT با افزایش درجه سرطان افزایش یافت که مؤید نتایج مطالعه حاضر است.^(۲۲) در مطالعه حاضر نیز بیان بالای hTERT با افزایش مرحله و درجه تومور افزایش می یافت که نشان می دهد احتمالاً بیان بالای hTERT به علت برخی عوامل مانند آدیپوسیتوکین ها از جمله لپتین ایجاد می شود.

به طور کلی، مطالعه حاضر نشان داد که سطح لپتین پلاسما در بیماران مبتلا به سرطان پستان چاق بیش تر از بیماران غیرچاق است. همچنین سطح بالای بیان hTERT با مرحله سرطان ارتباط دارد و ممکن است در آینده بتوان به عنوان عامل تشخیصی از آن استفاده کرد. علاوه بر آن سطح بالای همزمان لپتین و بیان ژن hTERT می تواند به روشن شدن مکانیسم کنترل هورمونی بیان hTERT کمک کند و چاقی به عنوان

6. Kelesidis I, Kelesidis T, Mantzoros CS. Adiponectin and cancer: a systematic review. *Br J Cancer* 2006 May 8; 94 (9): 1221-5
7. Tworoger SS, Eliassen AH, Kelesidis T, et al. Plasma adiponectin concentrations and risk of incident breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Apr; 92 (4): 1510-6
8. Tian YF, Chu CH, Wu MH, et al. Anthropometric measures, plasma adiponectin, and breast cancer risk. *Endocr Relat Cancer* 2007 Sep; 14 (3): 669-77
9. Bachelot T, Ray-Coquard I, Menetrier-Caux C, et al. Prognostic value of serum levels of interleukin 6 and of serum and plasma levels of vascular endothelial growth factor in hormone-refractory metastatic breast cancer patients. *Br J Cancer* 2003 Jun 2; 88 (11): 1721-6
10. Hou WK, Xu YX, Yu T, et al. Adipocytokines and breast cancer risk. *Chin Med J (Engl)* 2007 Sep 20; 120 (18): 1592-6
11. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc* 2001 Aug; 60 (3): 349-56
12. Paraskevi k, Sophia p, Stavros H. Structure and function of telomeres/telomerase and their role in preleukaemia and haematologic malignancies. *Haema* 2003; 6 (1): 35-47
13. Dumont N, Crawford YG, Sigaroudinia M, et al. Human mammary cancer progression model recapitulates methylation events associated with breast premalignancy. *Breast Cancer Res* 2009; 11 (6): R87
14. Mokbel KM, Parris CN, Ghilchik M, et al. Telomerase activity and lymphovascular invasion in breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2000 Feb; 26 (1): 30-3
15. Donate LE, Blasco MA. Telomeres in cancer and ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2011 Jan 12; 366 (1561): 76-84

منبع لپتین می‌تواند در بروز و پیشرفت سرطان پستان نقش مستقیمی داشته باشد. پیشنهاد می‌شود برای روشن‌تر شدن مکانیسم‌های کنترل بیان hTERT، ارتباط بیان hTERT و سطح سایر آدیپوسیتوکین‌ها ارزیابی شود. همچنین برای تأیید مکانیسم اثر لپتین بر بیان ژن hTERT، مطالعه بیش‌تر در سطح انتقال داخل سلولی پیام لپتین ضروری به نظر می‌رسد.

* سپاس‌گزاری:

بدین‌وسیله از دانشگاه علوم پزشکی تبریز، گروه بیوشیمی و آزمایشگاه‌های بالینی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات غدد بیمارستان امام رضا که تأمین‌کننده امکانات و هزینه انجام طرح بودند، قدردانی می‌شود.

* مراجع:

1. Smigal C, Jemal A, Ward E, et al. Trends in breast cancer by race and ethnicity: update 2006. *CA Cancer J Clin* 2006 May-Jun; 56 (3): 168-83
2. Velie EM, Nechuta S, Osuch JR. Lifetime reproductive and anthropometric risk factors for breast cancer in postmenopausal women. *Breast Dis* 2005-2006; 24: 17-35
3. Carmichael AR, Bates T. Obesity and breast cancer: a review of the literature. *Breast* 2004 Apr; 13 (2): 85-92
4. Olsson A, Garne JP, Tengrup I, et al. Body mass index and breast cancer survival in relation to the introduction of mammographic screening. *Eur J Surg Oncol* 2009 Dec; 35 (12): 1261-7
5. Berclaz G, Li S, Price KN, et al. Body mass index as a prognostic feature in operable breast cancer: the International Breast Cancer Study Group experience. *Ann Oncol* 2004 Jun; 15 (6): 875-84

16. Rose DP, Haffner SM, Baillargeon J. Adiposity, the metabolic syndrome, and breast cancer in African-American and white American women. *Endocr Rev* 2007 Dec; 28 (7): 763-77
17. Wang L, Lim EJ, Toborek M, Hennig B. The role of fatty acids and caveolin-1 in tumor necrosis factor alpha-induced endothelial cell activation. *Metabolism* 2008 Oct; 57 (10): 1328-39
18. Alokail MS, Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Hussain T. Combined effects of obesity and type 2 diabetes contribute to increased breast cancer risk in premenopausal women. *Cardiovasc Diabetol* 2009 Jun 23; 8: 33
19. Harvie M, Hooper L, Howell AH. Central obesity and breast cancer risk: a systematic review. *Obes Rev* 2003 Aug; 4 (3): 157-73
20. Wu MH, Chou YC, Chou WY, et al. Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk. *Br J Cancer* 2009 Feb 24; 100 (4): 578-82
21. Kirkpatrick KL, Ogunkolade W, Elkak AE, et al. hTERT expression in human breast cancer and non-cancerous breast tissue: correlation with tumour stage and c-Myc expression. *Breast Cancer Res Treat* 2003 Feb; 77 (3): 277-84
22. Elkak A, Mokbel R, Wilson C, et al. hTERT mRNA expression is associated with a poor clinical outcome in human breast cancer. *Anticancer Res* 2006 Nov-Dec; 26 (6C): 4901-4