





دانشکده علوم طبیعی
گروه زیست شناسی جانوری

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (MSc) در رشته
ژنتیک

عنوان

بررسی پلی مورفیسم پروموتور ژن (SNP309)
MDM2

در مبتلایان سرطان پستان در شمالغرب کشور

استاد راهنما

دکتر محمد علی حسینپور فیضی

استاد مشاور

ناصر پولادی

پژوهشگر

صغری تقی زاده

آبان ماه ۱۳۸۹

A close-up photograph of several pink tulips with green leaves. The petals are covered in small, clear water droplets, giving them a fresh and dewy appearance. The background is a plain, light color.

تقدیم به

پدر عزیز و بزرگوارم

و

مادر صبور و فداکارم

به پاس تمام فداکاری ها و شکیبایی هاشان

"من لم يشكر المخلوق، لم يشكر الخالق"

حمد و سپاس بیکران خدای را که انسان را حکمت آموخت و قدرت تفکر بخشید تا با تامل در پدیده های عالم هستی، راه بهتر زیستن را بیاموزد.

خدایا به من توفیق تلاش در شکست، صبر در ناامیدی، جهاد بی سلاح، کار بی پاداش،

فداکاری در سکوت، عظمت بی نام، خدمت بی نان، ایمان بی ریا، خوبی بی نمود و قناعت

بی غرور روزی کن.

اینک که به یاری خدا مراحل اجرا و نگارش این پایان نامه به پایان رسیده، بر خود لازم می دانم قدر دان کسانی باشم که مرا تا این مرحله مورد حمایت خویش قرار داده و تحمل مشکلات را بر من آسان نموده اند.

از راهنمایی های ارزنده استاد راهنمای ارجمند جناب آقای دکتر حسینپور فیضی که در تمام مراحل اجرا و نگارش این پایان نامه همواره از تدابیر خردمندانه و یاری بی دریغشان بهره مند بودم، تشکر و قدردانی می نمایم.

بی شک این مقوله بی شور و مشورت با اساتید محترم مقدور و میسر نبود، بنابراین بجاست که از مشاوره ها و راهنمایی های استاد بزرگوار جناب آقای مهندس پولادی کمال سپاس را ابراز دارم. از استاد ارجمند جناب آقای دکتر امین بخش که زحمت داوری و بازخوانی این پایان نامه را تقبل نموده و موجب پربار شدن آن شده اند، تشکر می کنم.

از مدیریت محترم گروه جناب آقای دکتر شیخ زاده به خاطر همکاری صمیمانه شان در طول اجرای این تحقیق سپاسگذارم. از تمامی اساتید محترم گروه ژنتیک که حق استادی بر گردن اینجانب داشته و افتخار کسب علم و ادب را در محضرشان داشته ام، قدر دانی می نمایم.

از خانم های مهندس آذرفام، خانی و خدایی به خاطر یاری اینجانب در امور آزمایشگاهی سپاسگذارم.

لطف و همراهی آقایان مهندس عمرانی، حقی، بهرامی و نظری را ارج نهاده و صمیمانه از آن ها تقدیر و تشکر می نمایم.

از هم کلاسی ها و هم آزمایشگاهی های عزیزم خانم ها شیری، قنبریان، رجحان نژاد، توفیق، نیک زبان و روان بخش به خاطر یاری اینجانب به صور مختلف، صمیمانه سپاسگذارم.

در پایان از دو شمع فروزان زندگیم، پدر و مادر عزیز و بزرگوارم به پاس فداکاری ها، گذشت ها، صبر و بردباریشان تشکر نموده و بر دستان پرمهرشان بوسه می زنم و از خواهران و برادران ارجمندم به خاطر همراهیشان در تمامی مراحل زندگی ام سپاسگذاری می نمایم و برای تمامی این عزیزان سلامتی، سعادت و سربلندی آرزومندم.

| |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| نام خانوادگی دانشجو: تقی زاده نام: صغری |
| عنوان پایان نامه: بررسی پلی مورفیسم پروموتر ژن (SNP309) MDM2 در مبتلایان سرطان پستان در شمالغرب کشور استاد راهنما: دکتر محمدعلی حسینپور فیضی استاد مشاور: ناصر پولادی |
| مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: زیست شناسی گرایش: ژنتیک دانشگاه: تبریز دانشکده: علوم طبیعی تاریخ فارغ التحصیلی: ۸۹/۸/۱ تعداد صفحه: ۱۳۱ |
| واژه های کلیدی: پلی مورفیسم، جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2، مارکر مولکولی، سرطان پستان |
| چکیده MDM2 آنکوژنی می باشد که پروتئین کد شده توسط آن یک فسفو پروتئین است که با عملکرد یوبی کوئیتین لیگازی باعث ممانعت از فعالیت P53 و پیش برندگی تخریب آن می باشد. P53 یک مهار کننده سرطان می باشد که فعالیت آن در بسیاری از سرطان های انسانی به علت جهش در خود ژن P53 یا انحرافات در بیان پروتئین های عمل کننده در مسیر P53 از قبیل MDM2 ممکن است از بین رفته یا به شدت تضعیف گردد. اخیرا یک جانشینی T به G در پروموتر ژن MDM2 (SNP309)، شناسایی شده و ارتباط آن با بیان افزایش یافته MDM2 نشان داده شده است و مشخص گردیده که این بیان افزایش یافته با بروز در سنین پایین چندین تومور از جمله سرطان سینه همراه است. از این رو شاید بتوان آن را به عنوان یک مارکر استعداد ابتلا به سرطان پستان در نظر گرفت. ما در این پژوهش تاثیر این پلی مورفیسم (MDM2, SNP309) بر کارسینومای پستان را بررسی نموده ایم. این مطالعه با بررسی ۱۱۲ نمونه سرطانی و ۱۰۰ نمونه کنترل در استان آذربایجان شرقی انجام شد. ژنوتیپ های مختلف جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2، با استفاده از PCR-RFLP، PCR-SSCP و Sequencing تعیین شد. در گروه کنترل توزیع ژنوتیپی این پلی مورفیسم ژن MDM2 برای |

ژنوتیپ های T/T، GT و GG، به ترتیب ۲۸٪، ۴۰٪ و ۳۲٪ بود. توزیع ژنوتیپی این پلی مورفیسم در گروه سرطانی ۲۵.۹٪ برای ژنوتیپ T/T، ۳۶.۶٪ برای T/G و ۳۷.۵٪ برای G/G بود. تفاوت معنا دار آماری بین توزیع این پلی مورفیسم ژن MDM2 در گروه کنترل و سرطانی دیده نشد. (P Value=0.71>0.05).

پژوهش حاضر نشان می دهد که پلی مورفیسم پروموتور ژن MDM2 در جایگاه ۳۰۹ به تنهایی همراهی قابل استنادی با ابتلا به سرطان پستان در جمعیت شمالغرب کشور ندارد، ولی برای تعیین نقش دقیق این پلی مورفیسم و پلی مورفیسم های دیگر در ژنهای مرتبط با این ژن (AKT و P53)، در رشد سرطان پستان مطالعات بیشتری لازم است.

فصل اول: بررسی منابع

- ۱-۱ پستان و اپیدمیولوژی سرطان پستان ۱
- ۲-۱ بیماریهای خوش خیم پستان ۱۰
۱. فیبروآدنوم پستان ۱۰
۲. فیبروکیستها ۱۱
۳. نکروز چربی ۱۱
۴. هایپرپلازی اپی تلیال (رشد زیاد سلولهای پستان) ۱۱
۵. پاپیلوم داکت (ترشح مایع زردخون) ۱۲
۶. اکتازی داکت (ترشح مایع زرد و چسبناک) ۱۲
۷. آنومالیهای تکامل طبیعی ۱۲
۸. درد، پستانهای توده ای ۱۲
۹. توده خوشخیم غدد شیری ۱۲
۱۰. التهابها و عفونتها ۱۲
۱۱. اوریون ۱۲
۱۲. لیپوم (تومور چربی) ۱۲
۱۳. کالاکتوسل (نوعی کیست در بارداری) ۱۲
۱۴. بیماریهای مادرزادی ۱۲
۱۵. نوک پستانهای فرورفته ۱۲
۱۶. پستانهای اضافی، نوکهای اضافی پستان ۱۲
۱۷. مشکلات پوستی و کیستهای سباسه ۱۲
۱۸. بیماریها و اختلالات قفسه سینه ۱۲
۱۹. شیردهی ۱۲
۲۰. تومورهای خوشخیم دیگر ۱۲
- ۳-۱ بیماریهای بد خیم پستان (سرطان) ۱۲
- ۱-۳-۱ کارسینومای غیر مهاجم مجاری پستان (Ductal carcinoma in situ) ۱۳
- ۲-۳-۱ کارسینومای غیر مهاجم لوبولی پستان (Lobular carcinoma in situ) ۱۳
- ۳-۳-۱ کارسینومای مهاجم مجاری پستان (Invasive or infiltrating ductal carcinoma) ۱۴
- ۴-۳-۱ کارسینومای مهاجم لوبولی پستان (Invasive or infiltrating lobular carcinoma) ۱۴
- ۴-۱ انواع سرطان پستان نادر ۱۵

- ۱-۴-۱ سرطان پستان التهابی (Inflammatory breast cancer) ۱۵
 ۲-۴-۱ کارسینومای مدولاری (Medullary carcinoma) ۱۵
 ۳-۴-۱ سرطان پستان منفی سه گانه (Triple-negative cancer) یا
 Metaplastic Carcinoma ۱۶
 ۴-۴-۱ کارسینومای موسینوس (Mucinous carcinoma) ۱۶
 ۵-۴-۱ بیماری پاژه نوک پستان (Paget disease of the nipple) ۱۷
 ۶-۴-۱ کارسینومای پاپیلاری (Papillary carcinoma) ۱۷
 ۷-۴-۱ تومور فیلوئیدی (Phyllodes tumor) ۱۷
 ۸-۴-۱ کارسینومای توبولی (Tubular carcinoma) ۱۷
 ۹-۴-۱ آنژیوسارکوما (Angiosarcoma) ۱۷

۵-۱ درجه بندی تومور ۱۸

۶-۱ فاکتورهای خطر سرطان پستان ۱۸

- ۱-جنسیت ۱۹
 ۲- سابقه خانوادگی سرطان پستان (بستگان درجه یک) ۱۹
 ۳- بالا بودن سن (سن بالاتر از ۳۵ سال) ۱۹
 ۴- سرطان‌های دیگر مانند سرطان تخمدان ۱۹
 ۵- رژیم غذایی (چربی و گوشت) ۱۹
 ۶- مصرف الکل ۲۰
 ۷- بیماریهای خوشخیم پستان ۲۰
 ۸- مصرف استروژن (داروهای استروژنی) ۲۰
 ۹- منارک زودرس (شروع قاعدگی زودتر از موعد) و یائسگی
 بعد از ۵۵ سالگی ۲۰
 ۱۰- اولین حاملگی بعد از ۲۵ سالگی ۲۰
 ۱۱- نولی پاریتته (نداشتن زایمان) ۲۱
 ۱۲- اختلاف جغرافیایی (جهان غرب) ۲۱
 ۱۳- چاقی ۲۱
 ۱۴- ویروس‌ها ۲۱
 ۱۵- تابش اشعه یونیزان ۲۱
 ۱۶- نوع بافت پستانی ۲۱
 ۱۷- شخصیت (مضطرب) ۲۱
 ۱۸- سابقه سرطان پستان در سمت مقابل ۲۱

۷-۱ خانواده های ژنی که پلی مورفیسم آنها در ابتلا به سرطان سینه دخیل است ۲۱

- ۱-۷-۱ ژنهای دخیل در متابولیسم هورمونهای استروئیدی ۲۲
 ۱-۱-۷-۱ عملکرد هورمون های استروئیدی ۲۲

| | | |
|-----|--------------------------------------------------------|---------|
| ۲۳ | (Estrogen receptor α)ER- α | ۲-۱-۷-۱ |
| ۲۳ | ژنهای دخیل در متابولیسم کارسینوژنها (زنوبیوتیک ها) | ۲-۷-۱ |
| ۲۴ | عملکرد کارسینوژن ها | ۱-۲-۷-۱ |
| ۲۵ | GSTM1 و T1 | ۲-۲-۷-۱ |
| DNA | ژنهای دخیل در ترمیم DNA | ۳-۷-۱ |
| ۲۶ | مکانسیم های ترمیم DNA در انسان | ۱-۳-۷-۱ |
| ۲۷ | XRCC1 | ۲-۳-۷-۱ |
| ۲۸ | ژنهای کد کننده فاکتورهای رشد و سایتوکین ها | ۴-۷-۱ |
| ۲۸ | فاکتور رشد اپیدرمی (EGF) | ۱-۴-۷-۱ |
| ۲۹ | ژن های پر خطر مهم | ۵-۷-۱ |
| ۲۹ | ژنهای BRCA1 و BRCA2 | ۱-۵-۷-۱ |
| ۳۰ | P53 ژن | ۲-۵-۷-۱ |
| ۳۱ | MDM2 ژن | ۸-۱ |
| ۳۱ | کشف ژن MDM2 | ۱-۸-۱ |
| ۳۲ | ساختمان ژن MDM2 | ۲-۸-۱ |
| ۳۴ | ساختمان پروتئین MDM2 | ۳-۸-۱ |
| ۳۵ | دمین متصل شونده به P53 | ۱-۳-۸-۱ |
| ۳۵ | توالی جایگیری در هسته (NLS) و توالی خروج از هسته (NES) | ۲-۳-۸-۱ |
| ۳۶ | دمین اسیدی | ۳-۳-۸-۱ |
| ۳۶ | انگشت روی | ۴-۳-۸-۱ |
| ۳۶ | جایگاه اتصال کاسپازی | ۵-۳-۸-۱ |
| ۳۶ | جایگاه های حفاظت شده DNA-پروتئین کینازی | ۶-۳-۸-۱ |
| ۳۶ | دمین RING | ۷-۳-۸-۱ |
| ۳۷ | توالی جایگیری هستکی | ۸-۳-۸-۱ |
| ۳۷ | عملکرد پروتئین MDM2 | ۴-۸-۱ |
| ۳۸ | تنظیم فعالیت MDM2 | ۹-۱ |
| ۳۹ | میانکنش های MDM2 | ۱۰-۱ |
| ۴۱ | میانکنش MDM2-P53 | ۱-۱۰-۱ |
| ۴۲ | ارتباط P53 و MDM2 از طریق حلقه خود تنظیمی | ۱۱-۱ |

| | | | |
|-------------|------------------------|--------------------------------------|---------------------|
| ۴۵ | MDM2-P53 | میانکنش برای ساختاری | ۱۲-۱ |
| ۴۵ | MDM2 | در هسته و سیتوپلاسم | ۱۳-۱ |
| ۴۷ | P53 | تخریب و تنظیم یوبی کوئیتینه شدن | ۱۴-۱ |
| ۴۸ | MDM2 | به روش مستقل از | ۱۵-۱ |
| ۴۹ | MDM2 | عضای خانواده و ایزوفورم های پروتئینی | ۱۶-۱ |
| ۵۰ | MDM2 | و سرطان | ۱۷-۱ |
| ۵۰ | MDM2 | و تشکیل تومور | ۱-۱۷-۱ |
| ۵۳ | MDM2 | افزایش فعالیت در تومورها | ۲-۱۷-۱ |
| ۵۳ | MDM2 | در سرطان | ۳-۱۷-۱ |
| ۵۸ | MDM2 | و رویکرد های درمانی سرطان | ۱۸-۱ |
| ۶۰ | فصل دوم: مواد و روش ها | | |
| استفاده | مورد | لوازم و تجهیزات | ۱-۲ ۶۱ |
| استفاده | مورد | مواد | ۲-۲ ۶۲ |
| ۶۳ | | مواد مصرفی عمومی | ۱-۲-۲ |
| ۶۴ | | مواد مصرفی شیمیایی | ۲-۲-۲ |
| ۶۵ | | مواد مصرفی بیولوژیک | ۳-۲-۲ |
| خون | نمونه های | تهیه | ۳-۲ ۶۶ |
| salting out | روش | ژنومی به | ۴-۲ ۶۶ |
| آنزیمی | | روش | ۱-۴-۲ ۶۷ |
| DNA | جهت استخراج | مواد، محلولها و وسائل لازم | ۱-۱-۴-۲ از ۶۷ |

| | | |
|-------------------------------------------------------------------------|---------|----|
| روش تهیه محلولهای لازم جهت استخراج DNA از خون ۶۷ ✓ | ۲-۱-۴-۲ | ۶۹ |
| تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده | ۵-۲ | ۷۱ |
| روش اسپکتروفتومتری | ۱-۵-۲ | ۷۱ |
| روش الکتروفورز روی ژل آگارز | ۲-۵-۲ | ۷۳ |
| واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) | ۶-۲ | ۷۳ |
| محلولهای لازم جهت واکنش PCR | ۱-۶-۲ | ۷۴ |
| آغازگرهای استفاده شده جهت تکثیر منطقه پروموتری ژن MDM2 (در اینترون اول) | ۲-۶-۲ | ۷۵ |
| بررسی پلی مورفیسم پروموتر ژن MDM2 (SNP309) به روش RFLP-PCR | ۷-۲ | ۷۶ |
| آنزیم محدودگر MspA1I و جایگاه برش آن | ۱-۷-۲ | ۷۷ |
| غلظت اجزای مورد استفاده برای شکست جایگاه آنزیمی MspA1I (RFLP) | ۲-۷-۲ | ۷۷ |
| بررسی پلی مورفیسم پروموتر ژن MDM2 (SNP309) به روش SSCP-PCR | ۸-۲ | ۷۹ |
| تایید ژنوتیپ ها با توالی یابی مستقیم DNA (sequencing) ۸۰ | ۹-۲ | |
| الکتروفورز روی ژل آگارز | ۱۰-۲ | ۸۰ |
| مواد و محلولهای لازم جهت تهیه ژل آگارز و الکتروفورز | ۱-۱۰-۲ | ۸۱ |
| روش ساخت بافر ۱ X TAE | ۲-۱۰-۲ | ۸۱ |
| مواد لازم برای ساخت بافر ۵۰ X TAE در حجم ۲۵۰ سی سی | ۳-۱۰-۲ | ۸۲ |
| روش الکتروفورز افقی | ۳-۱۰-۲ | ۸۳ |

| | | | |
|------------|-----------|----------------------------------------------|--------|
| ژل | از | عکسبرداری | ۱۱-۲ |
| | | | ۸۴ |
| اکریل آمید | پلی | ژل | ۱۲-۲ |
| | اکریل | روی | ۸۴ |
| اکریل آمید | ژل پلی | مواد و محلولهای لازم جهت تهیه | ۱-۱۲-۲ |
| | اکریل | ژل پلی | ۲-۱۲-۲ |
| | اکریل | آمید ۱۰ درصد | ۳-۱۲-۲ |
| | اکریل | آمید | ۴-۱۲-۲ |
| | اکریل | عمودی برای محصولات هضم آنزیمی | ۵-۱۲-۲ |
| SSCP | انجام | برای عمودی | ۸۷ |
| | | | ۸۷ |
| رنگ آمیزی | ژل پلی | اکریل آمید با نیترات نقره | ۱۳-۲ |
| | | | ۸۷ |
| رنگ آمیزی | ژل پلی | مواد و محلولهای لازم جهت رنگ آمیزی با نیترات | ۱-۱۳-۲ |
| | | | نقره |
| | | رنگ آمیزی نیترات نقره | ۲-۱۳-۲ |
| | | | ۸۸ |
| آماره | | آنالیز | ۱۴-۲ |
| | | | ۸۹ |
| فصل | سوم: | نتایج و بحث | ۹۰ |
| | | | ۹۰ |
| نتایج | | | -۱-۳ |
| | | | ۹۱ |
| | | توصیف نمونه‌های انسانی | ۱-۱-۳ |
| | | تعیین کیفیت و کمیت DNA استخراج شده | ۲-۱-۳ |
| | | تعیین شرایط مناسب برای انجام واکنش PCR منطقه | ۳-۱-۳ |
| | | اینترون اول ژن MDM2 و جمع آوری محصولات PCR | ۹۹ |
| | | بررسی پلی مورفیسم پروموتور ژن MDM2 در جایگاه | ۴-۱-۳ |
| | | با روش PCR-RFLP | ۳۰۹ |
| | | بررسی پلی مورفیسم پروموتور ژن MDM2 در جایگاه | ۵-۱-۳ |
| | | با روش PCR-SSCP | ۳۰۹ |
| | | | ۱۰۴ |
| بحث | | | ۲-۳ |
| | | | ۱۱۱ |
| MDM2 | انتخاب ژن | اهمیت مطالعه سرطان پستان و | ۱-۲-۳ |
| | | | ۱۱۱ |

۲-۲-۳ مطالعات انجام گرفته در نقاط مختلف دنیا و تنوع
نژادی پلی مورفیسم ها ۱۱۷

۳-۳ نتیجه گیری و پیشنهادات ۱۲۳
۱-۳-۳ نتیجه گیری ۱۲۳
۲-۳-۳ پیشنهادات ۱۲۴

فهرست منابع ۱۲۵
ضمائم
چکیده ی انگلیسی

فهرست جداول و نمودار ها

فصل اول: بررسی منابع

جدول ۱-۱. شیوع سرطان پستان در دنیا (سال ۲۰۱۰) ۴
جدول ۱-۲. شیوع سرطان پستان در آسیا (سال ۲۰۱۰) ۸
جدول ۱-۳. درجه بندی تومور ۱۸
جدول ۱-۴. میانکنش های پروتئین MDM2 ۴۰
جدول ۱-۵. میانکنش های پروتئین MDM2 ۴۱
جدول ۱-۶. تزايد MDM2 ۵۱

فصل دوم: مواد و روش ها

جدول ۲-۱. لیست دستگاهها و لوازم مورد استفاده ۶۱
جدول ۲-۲. لیست مواد مصرفی عمومی ۶۲
جدول ۲-۳. لیست مواد مصرفی شیمیایی ۶۳
جدول ۲-۴. لیست مواد مصرفی بیولوژیک ۶۴
جدول ۲-۵. غلظت اجزای مورد استفاده برای واکنش PCR ۷۳

| | | | |
|--------------|----------|-------------------------------|----|
| PCR | جدول ۶-۲ | برنامه دمایی مناسب برای واکنش | ۷۴ |
| MspA1I RFLP | جدول ۷-۲ | غلظت اجزای مورد استفاده برای | ۷۵ |
| MspA1 I RFLP | جدول ۸-۲ | آل های تولید شده پس از | ۷۶ |
| TAE50 X | جدول ۹-۲ | طرز تهیه بافر | ۷۹ |

فصل سوم: بحث و نتیجه گیری

| | | |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| جدول ۱-۳ | مشخصات و ویژگی های پاتولوژیکی بیماران که نمونه های خونی سرطانی از آن ها جمع آوری شده است. | ۹۱ |
| جدول ۲-۳ | مشخصات افراد سالمی که از آن ها نمونه خونی دریافت شده است. | ۹۷ |
| جدول 3-3 | فراوانی آلی و توزیع ژنوتیپی جایگاه ۳۰۹ پروموتور ژن MDM2 در دو گروه کنترل و سرطانی | ۱۰۶ |
| جدول ۴-۳ | سن تشخیص (نمونه های سرطانی) و انتخاب (نمونه های کنترل) نمونه ها و OR های آن ها | ۱۰۸ |
| جدول ۵-۳ | همراهی ژنوتیپ ها و آل های MDM2 SNP309 با سه ویژگی کلینوپاتولوژیکی اصلی | ۱۱۰ |
| جدول ۶-۳ | خلاصه ای از مطالعات انجام گرفته در خصوص همراهی MDM2 SNP309 با سرطان های مختلف در نقاط مختلف دنیا | ۱۲۰ |

فهرست شکل ها

فصل اول: بررسی منابع

| | | | | |
|----------|---------|-------------|-----|--------|
| MDM2 | ژن | ساختمان | ۱-۱ | شکل ۳۴ |
| MDM2 | پروتئین | آمینو اسیدی | ۲-۱ | شکل ۳۵ |
| MDM2-P53 | میانکنش | | ۳-۱ | شکل ۴۳ |

- شکل ۴-۱. واریانت های مختلف پروتئین MDM2
۴۹
- شکل ۵-۱. میانکنش های متقابل P53 و MDM2 در شرایط
استرس ۵۷
- شکل ۶-۱. ساختار مولکولی برخی از آنتگونیست های مولکول
MDM2
۵۹

فصل دوم: مواد و روش ها

- شکل ۱-۲. مراحل واکنش زنجیره ای پلیمرازی (PCR)
۷۴

فصل سوم: بحث و نتیجه گیری

- شکل ۱-۳. شمایی از DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۲٪
۹۹
- شکل ۲-۳. شمایی از محصولات PCR در ژل آگارز ۲٪
۱۰۰
- شکل ۳-۳. الکتروفورز محصولات حاصل از برش آنزیم *MspAII*
روی ژل آگارز ۳٪
۱۰۲
- شکل ۴-۳. شکل ۳-۳ الکتروفورز محصولات حاصل از برش آنزیم
MspAII روی ژل آکريل آمید ۱۰٪
۱۰۳
- شکل ۵-۳. توالی ژنوتیپ های مختلف جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2
۱۰۵

۱-۱ پستان و اپیدمیولوژی سرطان پستان

پستان، علامت مشخصه انسان برای قرار گرفتن در رده ی پستانداران است. تا هنگام بلوغ پستان های افراد مذکر و مؤنث شبیه به هم هستند و در این زمان استروژن و سایر هورمون های زنانه مترشح می شود از تخمدان موجب نمو پستان ها در فرد مؤنث می شوند. پستان عضوی غده ای-ترشحی بامنشا اکتودرمی است که از ۱۵ تا ۲۰ لب تشکیل شده و هر لب شامل صدها لوبول است که توسط مجاری کوچک به هم متصل شده اند. این لوبول ها از یک سری مجاری منشعب به مجاری اصلی شیر منتهی می شوند که در نوک پستان باز می شود [۱]. بافت همبندی حامی و پرعروق پستان صرفاً از بافت مزانشیم مشتق می شود. نیمه فوقانی پستان به خصوص ربع فوقانی خارجی، نسبت به سایر قسمت های آن بافت غددی بیشتری دارد. استروما و بافت زیرپوستی پستان، حاوی چربی (در حدود ۸۵ درصد بافت پستان)، بافت همبندی، عروق خونی، اعصاب و لنفاتیک است. پوست پستان نازک و حاوی فولیکول های مو، غدد سبابه و غدد عرق اکراین^۱ می باشد [۲]. شناخت مسیر عروق خونی و لنفاوی در پستان از اهمیت خاصی برخوردار است، به دلیل اینکه می تواند محل متاستاز های سرطان پستان بویژه به ریه و استخوان را توجیه کند. عروق لنفاوی به دو منبع اصلی تخلیه می شوند که عبارتند از [۳]:

الف- گره های لنفاوی زیر بغل

ب- گره های لنفاوی داخلی پستان

الف- گره های لنفاوی زیر بغل: به طور کلی حدود ۵۳ گره لنفاوی^۲ در زیر بغل وجود دارد که به سه سطح تقسیم می شود. موقعیت گره ها از سطح اول به سطح سوم به سمت داخل پستان می باشد. گرفتاری متاستاتیک گره های سطح سوم از لحاظ پیش اگهی بیماری بدتر است. لنف قسمت پایینی و خارجی به گره های خارجی و پایینی تخلیه می شود. لنف قسمت آروئل^۳ و قسمت بالای به گره های داخلی تر می ریزد.

ب- گره های لنفاوی داخلی پستان: این گره ها به تعداد تقریبی سه الی چهار گره در هر پستان هستند و در اطراف عروق داخلی پستان قرار گرفته اند. با وجود تعداد کم و اندازه کوچک آن ها ، قسمت اعظم لنف داخلی پستان به داخل آن ها تخلیه می شود. لنف قسمت نیپل^۴ و آروئل هم به این گره ها وهم به گره های زیر بغل می ریزد. در نهایت مجاری لنفاوی داخل پستان به عروق سیاهرگی بزرگ گردن تخلیه می شوند.

بروز سرطان در قسمت های مختلف همچون اپی تلیوم مجاری ، لوبها و یا بافت همبند می تواند صورت گیرد. سرطان پستان معمولا تکثیر بدخیم سلولهای اپیتلیال مفروش کننده لوبولها یا مجاری پستان می باشد. حدود ۹۵ درصد سرطان پستان از بافت اپی تلیال منشا می گیرند (کارسینوما). مانند تمام بدخیمی های اپی تلیالی، میزان بروز سرطان پستان نیز با افزایش سن تدریجاً بالا رفته، ولی از سن قطع قاعدگی شیب این منحنی کاهش می یابد. سن شروع قاعدگی، اولین بارداری و نیز یائسگی، سه تاریخ مهم تأثیر گذار

2 Lymph Node

3 Areol

4 Nipple

بر وقوع سرطان پستان در زنان هستند. شایع ترین کارسینومای مهاجم، کارسینومای مجرای مهاجم (invasive ductal carcinoma) است که ۷۶ درصد کل کارسینومای پستان را تشکیل می دهد. بیشترین محل منشأ سرطان پستان، ربع فوقان خارجی (۳۸/۵ درصد) و ناحیه مرکزی (۲۹ درصد) می باشد که دلیل آن تراکم بافت پستان در این مناطق می باشد. سرطان پستان در سمت چپ کمی شایع تر از سمت راست است. ابتلاء همزمان هر دو پستان به سرطان شایع نیست (۱ تا ۲ درصد)، اما به صورت غیرهمزمان^۵ در ۵ تا ۸ درصد از بیماران مشاهده می شود [۲].

سرطان پستان شایع ترین سرطان عضوی در زنان است که هر ساله بیش از یک میلیون زن مبتلا به این سرطان تشخیص داده می شود. یکی از عوامل مرگ های ناشی از سرطان در زنان ۴۰ تا ۴۴ ساله می باشد. ۱۰ درصد همه سرطان ها را شامل می شود و مسؤول ۱۹ درصد از مرگ های وابسته به سرطان می باشد. در سال ۲۰۰۶-۲۰۰۷، ۲۱۲۹۲۰ مورد سرطان پستان در ایالات متحده در زنان گزارش شده است، که ۳۱ درصد از انواع مختلف سرطان هایی است که در زنان ایجاد می شوند [۴-۵]. سرطان پستان بیشتر به حالت مزمن دیده می شود که زنان بالغ را تحت تأثیر قرار می دهد. به استثنای سرطان های پوست، سرطان پستان شایع ترین بدخیمی در میان زنان است که دومین عامل عمده مرگ سرطانی است. [۶] اختلاف فاحشی در شیوع سرطان پستان در کشورهای جهان وجود دارد. انگلیس (۱ به ۹) بالاترین نرخ مرگ و میر ناشی از سرطان پستان را دارا می باشد. در حالی که کره ی جنوبی کمترین میزان را دارد (۲/۶ سرطان در

۱۰۰,۰۰۰ نفر). این مقدار در ایالات متحده ۲۲ مورد در ۱۰۰,۰۰۰ نفر می‌باشد. شیوع سرطان پستان در زنان کشورهای در حال توسعه به استثنای ژاپن کمتر از میزان ابتلاء آن در کشورهای صنعتی می‌باشد. اما نرخ امید به زندگی^۶ افراد با سرطان پستان در کشورهای در حال توسعه، در مجموع کمتر از کشورهای پیشرفته است، که در مرحله‌ی اول به‌خاطر تأخیر در تشخیص موارد می‌باشد [۷].

در بریتانیا در یک دوره ۳۰ ساله (۱۹۷۷-۲۰۰۶) میزان شیوع سرطان پستان ۶۳ درصد افزایش یافته است؛ میزان شیوع در سال ۱۹۷۷ و ۲۰۰۶ به ترتیب ۷۵ در ۱۰۰,۰۰۰ و ۱۲۲ در ۱۰۰,۰۰۰ بود. به نظر می‌رسد افزایش استفاده از HRT^۷ (درمان جایگزینی هورمون) در افزایش نرخ شیوع سرطان پستان نقش دارد. همچنین یک مرحله کاهش در شیوع سرطان پستان در سال ۲۰۰۸ در زنان بالاتر از ۵۰ ساله دیده می‌شود که مصادف با کاهش ناگهانی در استفاده از HRT در زنان یائسه می‌باشد [۸-۹].

نرخ شیوع سرطان پستان در ایالات متحده در مورمن‌ها، هندی‌ها، اسکیموها، آمریکائی‌های مکزیکی تبار و ژاپنی‌ها و زنان فیلیپینی ساکن در هاوایی کمتر از میانگین است، درحالی‌که راهبه‌ها و زنان یهودی نرخ شیوع بالای میانگین دارند [۱۰].

جدول ۱-۱. شیوع سرطان پستان در دنیا (سال ۲۰۱۰) [۱۱]

| Country/Region | Extrapolated Incidence | Population Estimated Used |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------|
| Breast Cancer in North America (Extrapolated Statistics) | | |

| | | |
|-------------------------------------------------------------------|---------|-------------------|
| USA | 221,321 | 293,655,405 |
| Canada | 24,500 | 32,507,874 |
| Mexico | 79,105 | 104,959,594 |
| Breast Cancer in Central America (Extrapolated Statistics) | | |
| Belize | 205 | 272,945 |
| Guatemala | 10,762 | 14,280,596 |
| Nicaragua | 4,039 | 5,359,759 |
| Breast Cancer in Caribbean (Extrapolated Statistics) | | |
| Puerto Rico | 2,937 | 3,897,960 |
| Breast Cancer in South America (Extrapolated Statistics) | | |
| Brazil | 138,752 | 184,101,109 |
| Chile | 11,926 | 15,823,957 |
| Colombia | 31,888 | 42,310,775 |
| Paraguay | 4,666 | 6,191,368 |
| Peru | 20,759 | 27,544,305 |
| Venezuela | 18,855 | 25,017,387 |
| Breast Cancer in Northern Europe (Extrapolated Statistics) | | |
| Denmark | 4,079 | 5,413,392 |
| Finland | 3,930 | 5,214,512 |
| Iceland | 221 | 293,966 |
| Sweden | 6,772 | 8,986,400 |
| Breast Cancer in Western Europe (Extrapolated Statistics) | | |
| Britain (United Kingdom) | 45,424 | 60,270,708 for UK |
| Belgium | 7,799 | 10,348,276 |
| France | 45,540 | 60,424,213 |
| Ireland | 2,991 | 3,969,558 |
| Luxembourg | 348 | 462,690 |
| Monaco | 24 | 32,270 |
| Netherlands (Holland) | 12,298 | 16,318,199 |
| United Kingdom | 45,424 | 60,270,708 |
| Wales | 2,199 | 2,918,000 |
| Breast Cancer in Central Europe (Extrapolated Statistics) | | |
| Austria | 6,161 | 8,174,762 |
| Czech Republic | 939 | 1,0246,178 |
| Germany | 62,121 | 82,424,609 |
| Hungary | 7,561 | 10,032,375 |