

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه زابل

مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته زیست شناسی - ژنتیک

اثر عصاره هیدروالکلی سیاهدانه بر بیان ژن کاسپاز ۳ در رده

سلولی MCF7 سرطان سینه

اساتید راهنما:

دکتر صدیقه اسمعیل زاده بهابادی

دکتر مهتا مظاهری نائینی

اساتید مشاور:

دکتر شهلا نجفی

مهندس فاطمه دهمرده قلعه نو

نگارش:

فاطمه مشتاقی

بهمن ۹۳

تقدیم به

پدر بزرگوار و مادر مهربانم

آن دو فرشته ای که از خواسته هایشان گذشتند، سختی ها را به جان خریدند و خود را
سپر بلای مشکلات و ناملایمات کردند تا من به جایگاهی که اکنون در آن ایستاده ام برسم.

فاطمه مشتاقی

بهمن ۹۳

سپاسگزاری

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. و سلام و مورد بر محمد و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان وامدار وجودشان است؛ و نفرین پیوسته بر دشمنان ایشان تا روز رستاخیز....

بدون شک جایگاه و منزلت معلم، اجل از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی شائبه ی او، با زبان قاصر و دست ناتوان، چیزی بنگاریم

اما از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تامین می کند و سلامت امانت هایی را که به دستش سپرده اند، تضمین؛ بر حسب وظیفه و از باب " من لم یشکر المنعم من المخلوقین لم یشکر الله عزّ و جلّ "؛ از پدر و مادر عزیزم این دو معلم بزرگوارم که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت هایم گذشته اند و در تمام عرصه های زندگی یار و یاور بی چشم داشت برای من بوده اند؛ از استاد با کمالات و شایسته؛ دکتر صدیقه اسمعیل زاده بهابادی و مهتا مظاهری نائینی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند؛ از استاد صبور و با تقوا، دکتر شهلا نجفی و مهندس فاطمه دهمرده، که زحمت مشاوره این رساله را در حالی متقبل شدند که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی رسید؛ و از استاد فرزانه و دلسوز؛ سرکار خانم دکتر فاطمه حدادی که زحمت داوری این رساله را متقبل شدند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم.

صمیمانه تشکر میکنم از خواهران عزیزتر از جانم عارفه خانم و عاطفه خانم که وجودشان شادی بخش و صفایشان مایه آرامش من است و برادرانم حمید رضا و محمد رضا که همواره در طول تحصیل متحمل زحماتم بودند و تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات، و وجودشان مایه دلگرمی من می باشد. باشد که این خردترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید.

چکیده

سرطان سینه یکی از شایع ترین انواع سرطان است که هر ساله باعث مرگ و میر فراوانی در بین زنان و مردان می شود. روش های درمانی سرطان سینه دارای عوارض جانبی هستند و ممکن است پس از مدت کوتاهی مقاومت دارویی ایجاد شود، بنابراین یافتن داروهایی موثرتر همراه با عوارض جانبی کمتر برای افزایش طول عمر این بیماران ضروری می باشد. به همین دلیل توجه محققین به سمت گیاهان دارویی جلب شده است زیرا گیاهان دارویی فاقد عوارض جانبی هستند. یکی از مکانیسم های عملکردی داروهای ضدسرطان القاء آپوپتوز است که موجب مرگ سلول های سرطانی می شود. مطالعات نشان داده است که گیاه سیاهدانه به دلیل وجود ترکیباتی نظیر تیموکینون و لینولئیک اسید دارای خاصیت سیتوتوکسیکی و آپوپتوتیک است. ژن کاسپاز ۳ از جمله ژن های القا کننده مسیر آپوپتوز می باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات سیتوتوکسیک عصاره هیدروالکلی سیاهدانه بر زنده مانی و تغییرات بیان ژن کاسپاز ۳ در سلول های رده MCF7 سرطان سینه بود. بدین منظور سلول های رده MCF7 با غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی سیاهدانه (۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. تاثیر عصاره بر زنده مانی سلولی توسط روش رنگ آمیزی با تریپان بلو و بیان ژن کاسپاز ۳ با روش واکنش زنجیره پلیمرازی در زمان واقعی (Real time PCR) بررسی شد. نتایج بررسی زنده مانی نشان داد که سلول های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی سیاهدانه در مقایسه با سلول های شاهد تغییرات مورفولوژی حاکی از مرگ سلولی را نشان دادند. عصاره هیدروالکلی سیاهدانه در غلظت های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به طور معنی داری سبب کاهش درصد زنده مانی سلول های سرطانی در زمان های مختلف نسبت به نمونه شاهد شد. نتایج Real time PCR نشان داد که بیان ژن کاسپاز ۳ در زمان ۷۲ ساعت تحت تاثیر غلظت های مختلف عصاره (۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری داشته است. با توجه نتایج حاضر می توان سیاهدانه را به عنوان دارو جهت درمان سرطان سینه پیشنهاد نمود.

واژه های کلیدی: سرطان سینه، سیاهدانه، واکنش زنجیره پلیمرازی در زمان واقعی، کاسپاز ۳.

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول مقدمه و کلیات

۲	۱-۱- مقدمه
۳	۱-۱-۱- اهداف تحقیق
۳	۱-۲- کلیات تحقیق
۳	۱-۳- سرطان
۴	۱-۴- سرطان سینه
۵	۱-۵- اپیدمیولوژی و اهمیت سرطان سینه
۵	۱-۵-۱- وضعیت سرطان سینه در دنیا
۶	۱-۵-۲- وضعیت سرطان سینه در کشورهای پیشرفته
۶	۱-۵-۳- وضعیت سرطان سینه در کشورهای در حال توسعه
۶	۱-۵-۴- وضعیت سرطان سینه در ایران
۶	۱-۶- علائم سرطان سینه
۷	۱-۷- انواع سرطان سینه
۸	۱-۸- مراحل بیماری سرطان سینه
۹	۱-۹- تشخیص سرطان سینه
۹	۱-۹-۱- ماموگرافی
۹	۱-۹-۲- سونوگرافی
۹	۱-۹-۳- تصویربرداری با رزونانس مغناطیسی (MRI)
۹	۱-۹-۴- اسکن توموگرافی به روش ساطع کردن پوزیترون (PET)
۹	۱-۱۰- روش‌های درمان سرطان سینه
۹	۱-۱۰-۱- جراحی
۱۰	۱-۱۰-۲- شیمی‌درمانی
۱۰	۱-۱۰-۳- پرتو درمانی
۱۰	۱-۱۰-۴- هورمون‌درمانی
۱۰	۱-۱۰-۵- درمان هدفمند
۱۰	۱-۱۱- اتیولوژی سرطان سینه
۱۱	۱-۱۲- متاستاز و سرطان سینه
۱۲	۱-۱۳- آپوپتوز
۱۳	۱-۱۴- مسیرهای آپوپتوزی
۱۳	۱-۱۴-۱- مسیر بیرونی یا آپوپتوز القاء شده توسط گیرنده‌های مرگ
۱۴	۱-۱۴-۲- مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی آپوپتوز
۱۶	۱-۱۵- کاسپازها

۱۸	۱-۱۶ - کاسپاز ۳
۱۸	۱-۱۷ - تکنیک REAL TIME PCR
۱۹	۱-۱۷-۱ - مزایای تکنیک REAL TIME PCR
۱۹	۱-۱۷-۲ - کاربردهای تکنیک REAL TIME PCR
۱۹	۱-۱۷-۳ - انواع اندازه‌گیری در تکنیک REAL TIME PCR
۲۰	۱-۱۸ - مورفولوژی گیاه سیاهدانه

فصل دوم مروری بر تحقیقات انجام گرفته

۲۲	۲-۱ - اهمیت گیاهان دارویی در درمان سرطان
۲۳	۲-۲ - سیاهدانه
۲۳	۲-۲-۲ - ترکیبات سیاهدانه
۲۴	۲-۲-۳ - اثرات دارویی سیاهدانه
۲۴	۲-۳ - ژنتیک و سرطان سینه
۲۶	۲-۴ - مروری بر تحقیقات انجام گرفته

فصل سوم مواد و روش‌ها

۲۹	۳-۱ - دستگاه‌های مورد استفاده
۲۹	۳-۲ - تهیه عصاره هیدروالکلی سیاهدانه
۳۰	۳-۳ - تهیه سلول‌ها
۳۰	۳-۴ - تهیه محیط کشت
۳۰	۳-۵ - نگهداری از سلول‌ها
۳۰	۳-۶ - پاساژ سلول‌ها
۳۱	۳-۷ - انجماد سلول‌ها
۳۲	۳-۸ - تیمار سلول‌ها با عصاره هیدروالکلی سیاهدانه
۳۳	۳-۹ - بررسی زنده مانی
۳۴	۳-۱۰ - استخراج RNA
۳۴	۳-۱۱ - مراحل استخراج RNA با استفاده از ترايزول
۳۵	۳-۱۲ - تعیین کمیّت و کیفیت RNA
۳۶	۳-۱۲-۱ - طرز تهیه ژل آگارز ۲٪
۳۷	۳-۱۲-۲ - طرز تهیه بافر الکتروفورز TAE(1X)
۳۷	۳-۱۳ - ساخت CDNA
۳۹	۳-۱۴ - انجام RT-PCR
۳۹	۳-۱۵ - طراحی آغازگرها
۳۹	۳-۱۶ - آماده سازی آغازگرها
۴۰	۳-۱۷ - واکنش زنجیره ای پلیمرز PCR
۴۰	۳-۱۸ - واکنش RT-PCR نیمه کمی

۴۱ REAL TIME PCR واکنش	۳-۱۹
۴۱ رسم منحنی استاندارد	۳-۱۹-۱
۴۱ REAL TIME PCR انجام واکنش	۳-۱۹-۲
۴۲ THRESHOLD و مقدار CT	۳-۱۹-۳
۴۲ آنالیز آماری	۳-۲۰

فصل چهارم نتایج و بحث

۴۴ نتایج بررسی درصد زنده‌مانی	۴-۱
۴۵ مورفولوژی سلول‌های رده MCF7 سرطان سینه تحت تاثیر عصاره هیدروالکلی سیاهدانه	۴-۲
۴۶ نتایج استخراج RNA	۴-۳
۴۶ نتایج تعیین غلظت و کیفیت RNA توسط اسپکتروفتومتری	۴-۳-۱
۴۶ نتایج مربوط به PCR شیب دمایی	۴-۴
۴۸ نتایج ساخت CDNA	۴-۵
۴۹ REAL TIME PCR واکنش	۴-۶
۴۹ بررسی منحصر به فرد بودن محصولات REAL TIME PCR	۴-۶-۱
۵۱ نتایج منحنی استاندارد ژن GAPDH	۴-۶-۲
۵۲ منحنی استاندارد ژن کاسپاز ۳	۴-۶-۳
۵۲ منحنی تکثیر ژن GAPDH	۴-۶-۴
۵۳ منحنی تکثیر ژن کاسپاز ۳	۴-۶-۵
۵۳ نتایج آنالیز منحنی ذوب	۴-۶-۶
۵۴ منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن GAPDH	۴-۶-۷
۵۴ منحنی ذوب ژن GAPDH	۴-۶-۸
۵۵ منحنی تغییرات ذوب ژن کاسپاز ۳	۴-۶-۹
۵۵ منحنی ذوب ژن کاسپاز ۳	۴-۶-۱۰
۵۶ تاثیر عصاره هیدروالکلی سیاهدانه بر بیان ژن کاسپاز ۳	۴-۷
۵۷ بحث	۴-۸
۶۱ پیشنهادات	۴-۹
۶۲ فهرست منابع	
۷۲ پیوست	

فهرست جداول

صفحه

۲۹	۳-۱- دستگاه های مورد استفاده در آزمایش
۳۷	۳-۲- مواد و وسایل لازم برای تهیه بافر TAE
۳۸	۳-۳- مواد لازم جهت ساخت مخلوط اول CDNA
۳۸	۳-۴- مواد لازم جهت ساخت مخلوط دوم CDNA
۳۹	۳-۵- مشخصات آغازگرها
۴۰	۳-۶- مواد مورد نیاز و غلظت آنها در واکنش زنجیره ای پلیمرز
۴۱	۳-۷- برنامه زمانی PCR
۴۱	۳-۸- مواد لازم جهت واکنش REAL TIME PCR
۴۲	۳-۹- برنامه REAL TIME PCR

فهرست اشکال

صفحه

۱-۱ - میزان مرگ ناشی از سرطان سینه در هر یکصد هزار نفر در دنیا	۵
۱-۲ - شکل واکنش‌های آبخاری فعال شدن کاسپازها توسط گیرنده‌های مرگ	۱۴
۱-۳ - شکل واکنش‌های آبخاری فعال شدن کاسپازها در مسیر میتوکندریایی	۱۶
۱-۴ - ساختار و چگونگی فعال شدن کاسپازها	۱۷
۳-۱ - تیمار زنی سلول‌ها	۳۳
۳-۲ - طرز تهیه ژل آگارز و ریختن نمونه‌ها در چاهک‌های ژل	۳۷
۴-۱ - تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی سیاهدانه بر درصد زنده‌مانی سلول‌های MCF-7	۴۵
۴-۲ - مقایسه مورفولوژی سلول‌های رده MCF7 سرطان سینه در نمونه‌های شاهد و تیمار شده	۴۵
۴-۳ - نتایج چند نمونه استخراج RNA	۴۶
۴-۴ - نتایج PCR شیب دمایی ژن کاسپاز ۳	۴۷
۴-۵ - نتایج PCR شیب دمایی ژن <i>GAPDH</i>	۴۷
۴-۶ - تکثیر قطعه BP ۱۳۴ مربوط به ژن کاسپاز ۳	۴۸
۴-۷ - تکثیر قطعه BP ۱۶۱ مربوط به ژن <i>GAPDH</i>	۴۹
۴-۸ - نتایج REAL TIME PCR ژن <i>GAPDH</i>	۵۰
۴-۹ - نتایج REAL TIME PCR ژن کاسپاز ۳	۵۱
۴-۱۰ - منحنی استاندارد ژن <i>GAPDH</i>	۵۲
۴-۱۱ - منحنی استاندارد ژن کاسپاز ۳	۵۲
۴-۱۲ - منحنی تکثیر ژن <i>GAPDH</i>	۵۳
۴-۱۳ - پیشرفت واکنش تکثیر ژن کاسپاز ۳	۵۳
۴-۱۴ - تغییرات فلورسانس بر حسب دما برای ژن <i>GAPDH</i>	۵۴
۴-۱۵ - منحنی ذوب ژن <i>GAPDH</i>	۵۴
۴-۱۶ - تغییرات فلورسانس برای ژن کاسپاز ۳	۵۵
۴-۱۷ - منحنی ذوب ژن کاسپاز ۳	۵۶
۴-۱۸ - تغییرات بیان ژن کاسپاز ۳ تحت تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی سیاهدانه	۵۷

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

سرطان بیماری سلول‌ها است. بدن انسان مجموعه‌ای از سلول‌هایی است که هر کدام وظیفه خاصی به عهده دارند تا بتواند عملکرد صحیح و سلامتی یک فرد را تضمین نماید. اگر سلولی به صورت غیر قابل کنترل رشد و تکثیر یابد، ایجاد مشکلات بسیاری برای خود و سایرین خواهد کرد. سلول‌های سرطانی دیگر شهروندان خوبی نخواهند بود و نه تنها وظایف‌شان را انجام نمی‌دهند بلکه سلول‌های طبیعی را تحت فشار قرار می‌دهند، به حدود آن‌ها تعدی می‌کنند و مواد مغذی آن‌ها را جهت سوخت لازم برای رشد تسریع یافته خود استفاده می‌کنند (Chassevent *et al.*, 2001). در سال ۲۰۱۰، در جهان بیش از ۱۴,۰۰۰,۰۰۰ نفر به سرطان دچار شدند و نزدیک به ۷,۰۰۰,۰۰۰ یعنی ۵۰٪ از آن‌ها دچار مرگ شدند (پارسا، ۱۳۹۰). بیماری‌های با قدرت نامحدود تکثیر، مثل سرطان در نتیجه تغییر در ژنوم ایجاد می‌شوند. سرطان سینه یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در زنان به خصوص در منطقه مدیترانه شرقی می‌باشد. در ایران ۱۶ درصد از کل سرطان‌ها مربوط به سرطان سینه می‌باشد که رتبه اول را در بین زنان ایرانی داشته است (خدابخشی و همکاران، ۱۳۹۰). وضعیت جغرافیایی، نحوه زندگی، رژیم غذایی، عوامل استرس‌زا مانند: بالا رفتن سن از دواج و چاقی از جمله عوامل محیطی مستعدکننده ابتلا به سرطان سینه به شمار می‌روند (عنصری و رعناپور، ۱۳۹۰). آپوپتوز نوعی از مرگ سلولی است که در پاسخ به عامل‌های تنش‌زای گوناگون مانند عامل‌های فیزیولوژیک، پاتولوژیک و یا محرک‌های سیتوتوکسیک در بدن رخ می‌دهد (Reed, 2002). مشخص شده است که این پدیده یک مرحله فعال و وابسته به انرژی در سلول بوده و سازوکارها و عامل‌های ژنتیکی با برنامه خاصی در کنترل و اجرایش نقش دارند (Leist and Jaattela, 2001). چنان‌چه فعالیت آپوپتوزی کاهش یابد، سلول به سمت سرطانی شدن پیش می‌رود (نوری‌دلویی و رجب‌پور، ۱۳۹۰). این فرایند توسط ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی خاصی مشخص می‌شود که شامل حباب‌دار شدن سیتوپلاسم، انقباض هسته، تراکم کروماتین و ... است. شواهد نشان می‌دهند که تنظیم آپوپتوز نقش عمده‌ای در پیشرفت تومور و درمان ضدتوموری دارد (نبیونی و همکاران،

۱۳۹۰). با وجود این واقعیت که بسیاری از تومورها ابتدا به شیمی‌درمانی پاسخ می‌دهند، سلول‌های سرطان سینه می‌توانند پس از آن زنده بمانند و به درمان مقاوم شوند (Yang et al., 2006). نگرانی عمده بر اساس گزارش‌های اخیر توسعه مقاومت دارویی سلول‌های سرطانی است. این وضعیت به دلیل قرارگرفتن طولانی مدت در معرض درمان است (Motaghd et al., 2013). همچنین به دلیل نگرانی روزافزون در مورد عوارض داروهای شیمیایی و بی اثر بودن تعدادی از آن‌ها در مصرف طولانی مدت، استفاده از ترکیبات طبیعی به صورت جایگزین یا مکمل درمان، مورد توجه قرار گرفته است. استفاده انسان از گیاهان به عنوان دارو از ابتدای تمدن بشری تاکنون ادامه دارد (Dattner, 2003). داروهای گیاهی به عنوان درمان جایگزین با عوارض کمتر و خواص متعدد و در برخی موارد به عنوان تنها درمان موثر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Huseini et al., 2006).

۱-۱-۱- اهداف تحقیق

۱. بررسی اثر سیتوتوکسیکی عصاره هیدروالکلی بذر سیاهدانه بر مرگ سلول‌های MCF7 سرطان سینه
۲. بررسی اثر عصاره هیدروالکلی بذر سیاهدانه بر بیان ژن القاکننده آپوپتوز کاسپاز ۳ در رده سلولی

MCF7

۱-۲- کلیات تحقیق

۱-۳- سرطان

قدیمی‌ترین توصیف سرطان را در نوشته‌های مصری می‌توان یافت که در آن به غده یا تومور سینه اشاره شده است و مربوط به ۱۵۰۰ تا ۳۰۰۰ سال پیش از میلاد مسیح است. شواهد نشان می‌دهد که احتمالاً بقراط یونانی اولین کسی است که این بیماری را تشخیص داده؛ چون غده سرطانی و رگ‌های خونی اطراف آن به خرچنگ شباهت دارد، به همین دلیل بقراط اسم این بیماری را خرچنگ می‌گذارد که به یونانی کارکینوس نامیده می‌شود و امروزه هم کارسینوما نامیده می‌شود (شیخ نژاد، ۱۳۸۹). در آمریکا ۲۰ درصد کل مرگ‌ومیرها ناشی از سرطان است که بعد از بیماری‌های قلبی عروقی، دومین علت مرگ را تشکیل می‌دهد (Gurm, 2008؛ خادمی و سجادی هزاوه، ۱۳۸۸). بالاترین درصد سرطان‌ها به ترتیب عبارت است از سرطان شش، سرطان معده، سرطان کبد، سرطان سینه در خانم‌ها و سرطان پروستات در آقایان، سرطان

روده و بالاترین درصد سرطان در کودکان، سرطان خون و مغز و غدد لنفاوی است (پارسا، ۱۳۹۰). سه نوع عامل به تنهایی و یا به طور مشترک خطر ایجاد سرطان را در یک فرد افزایش می‌دهند که این سه عامل عبارتند از: نحوه زندگی، محیط و وراثت. تخمین زده می‌شود که نحوه زندگی و عوامل محیطی تقریباً در ۹۰ درصد موارد در ایجاد انواع سرطان‌ها دخالت دارند (عنصری و رعناپور، ۱۳۹۰). سرطان وقتی ایجاد می‌شود که ژن‌های درون یک سلول طبیعی دچار جهش شوند. سرطان با وقوع یک جهش منفرد در یک ژن ایجاد نمی‌شود، بلکه جهش‌های متعدد در ژن‌های کلیدی لازم است تا پدیده سرطانی شدن شروع شود، این روند تجمع جهش‌ها در چندین ژن، سال‌ها طول می‌کشد به همین دلیل است که سرطان در افراد مسن‌تر بیشتر دیده می‌شود (Futreal *et al.*, 2005). از زمانی که اولین جهش در ژن‌ها بوجود می‌آید تا زمانی که به یک توده سرطانی تبدیل می‌شود احتمالاً نزدیک به ۷ سال طول می‌کشد (Baak *et al.*, 2003). به طور کلی می‌توان گفت سرطان وقتی به وقوع می‌پیوندد که جهش در ژن‌های کلیدی رخ دهد. ژن‌های کلیدی سه دسته‌اند:

- پروتئوآنکوژن‌ها که مسئول شروع پیشبرد رشد و تقسیم سلولی هستند.
- ژن‌های سرکوب کننده تومور (TSG) که مهارکننده رشد سلولی هستند و عملکرد طبیعی این ژن‌ها، سلول را از تقسیم شدن باز می‌دارد.
- ژن‌های ترمیم کننده DNA که مسئول ترمیم آسیب‌های وارده به ساختار ژنتیکی سلول هستند (Gerger *et al.*, 2007).

۴-۱- سرطان سینه

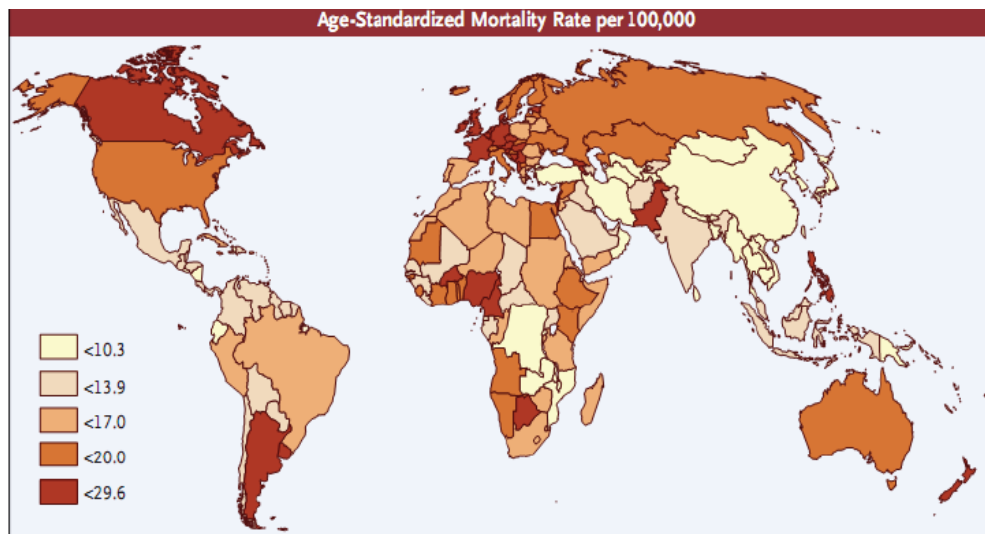
پس از سال‌ها پیشرفت در زمینه بهداشت هنوز انواع سرطان و از جمله سرطان سینه از مشکلات اساسی در اغلب کشورهاست. سرطان سینه شایع‌ترین بدخیمی غیرجلدی در آمریکا است به طوری که سالانه در آمریکا حدود ۴۰۰۰۰ نفر و در کل دنیا ۴۰۰۰۰۰ نفر بر اثر سرطان سینه از بین می‌روند (Alvaro and Edith, 2009). سرطان سینه و افزایش روزافزون آن یک مشکل بهداشتی عمده در سراسر

دنیا می‌باشد. این سرطان در ایران کمتر از دیگر نقاط آسیا بوده در حالی که در طی دهه اخیر شیوع این سرطان در زنان ایرانی رشد بالایی داشته است که نگران‌کننده می‌باشد (Mousavi *et al.*, 2007). سن بروز سرطان سینه در زنان ایران دست کم یک دهه کمتر از زنان کشورهای توسعه‌یافته است. میانگین سن تشخیص سرطان سینه در کشورهای غربی ۵۶ سال و در ایران ۴۵ سال است (نوری دلویی و طبرستانی، ۱۳۸۹). تقریباً از هر ۹ زن، یک نفر در طول عمر خود به سرطان سینه مبتلا می‌شود. در مورد شیوع بیماری در ایران آمار دقیقی موجود نیست (Kissan *et al.*, 2003) ولی مطالعات انجام شده نشان می‌دهد سرطان سینه پنجمین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در بین زنان ایرانی است. سرطان سینه بیماری است که در آن سلول‌های بدخیم از بافت سینه منشا گرفته و به طور نامنظم و فزاینده‌ای تکثیر می‌یابند و بدون اینکه موجب عکس‌العمل مهاجمی در سیستم ایمنی بدن شود، از سیستم ایمنی و دفاعی بدن عبور می‌کنند (Akbari *et al.*, 2011).

۱-۵ - اپیدمیولوژی و اهمیت سرطان سینه

۱-۵-۱ - وضعیت سرطان سینه در دنیا

میزان بروز سرطان سینه در دنیا حدود ۱۳۸۴۱۵۵ مورد در سال است. بررسی آمار مربوط به سرطان سینه موید افزایش این بیماری در دنیا می‌باشد (شکل ۱-۱). به نظر می‌رسد تا سال ۲۰۲۰، ۲۶ درصد افزایش در میزان کنونی سرطان سینه و عمدتاً در کشورهای در حال توسعه ایجاد شود (عابدینی و همکاران، ۱۳۸۹).



شکل ۱-۱ - میزان مرگ ناشی از سرطان سینه در هر یکصد هزار نفر در دنیا

۲-۵-۱- وضعیت سرطان سینه در کشورهای پیشرفته

در امریکا سرطان سینه یک سوم سرطان‌های زنان را تشکیل می‌دهد و میزان بروز آن از همه سرطان‌ها بیشتر است. شیوع سرطان سینه در طی ۶۰ سال گذشته دو برابر شده است و از حدود ۵۵ در ۱۰۰۰۰۰ در سال ۱۹۴۰ به ۱۱۸ در ۱۰۰۰۰۰ در سال ۱۹۹۸ رسیده است (عابدینی و همکاران، ۱۳۸۹). بررسی بقا و اپیدمیولوژی بیماری نشان داده است که ۷۵٪ از تومورهای سینه در زنان بالای ۵۰ سال رخ می‌دهد، فقط ۵/۶ درصد در زنان زیر ۳۰ سال دیده شده است (Batori et al., 2006).

۳-۵-۱- وضعیت سرطان سینه در کشورهای در حال توسعه

نتایج یک مطالعه بین‌المللی در ارتباط با سرطان سینه در کشورهای در حال توسعه حکایت از این واقعیت دارد که از میان چهار صد هزار مرگ ناشی از سرطان سینه، حدود ۵۵ درصد از آن در کشورهای با درآمد پایین رخ می‌دهد این نوع سرطان در جنوب شرق آسیا در حال حاضر شایع‌ترین نوع سرطان بوده و در شرق آسیا نیز در گروه جمعیتی بانوان، پس از سرطان معده و در جنوب آسیا پس از سرطان گردن رحم شایع‌ترین سرطان، سرطان سینه می‌باشد (عابدینی و همکاران، ۱۳۸۹).

۴-۵-۱- وضعیت سرطان سینه در ایران

بر اساس بررسی انجام شده در سال ۱۳۸۲ در ایران، از بین ۲۸ استان کشور بروز این سرطان در بین زنان در ۱۷ استان رتبه اول را دارد. متأسفانه سن بروز سرطان سینه در زنان ایرانی پائین‌تر از میانگین سن جهانی است.

سرطان سینه پراکندگی استانی نسبتاً یکسانی داشته و در تمامی استان‌ها درصد موارد سرطانی گزارش شده قرار دارد به جز در اردبیل که پس از سرطان‌های معده و مری و در استان کهگیلویه بویراحمد، بعد از سرطان پوست قرار دارد. در مطالعه‌ای که در ایران در سال ۲۰۰۲ توسط سجادی و همکاران انجام شد سرطان سینه در زنان برابر با ۱۷/۱ در یکصد هزار نفر جمعیت رتبه اول سرطان در زنان بود، این رقم در سال ۲۰۰۶، در بانوان به ۲۴ در صد هزار رسیده است (عابدینی و همکاران، ۱۳۸۹).

۶-۱- علائم سرطان سینه

- ترشحات (خونی یا آبکی)

- تغییرات پوست سینه به صورت فرورفتگی و یا کشیدگی پوست سینه به دنبال سرطان سینه ایجاد می‌شود. در بعضی موارد چسبندگی تومور سرطانی به قسمت زیر پوست، باعث تغییر شکل سینه می‌شود.
- ایجاد زخم در پوست و ورم در پوست سینه و شبیه شدن به پوست پرتقال، نشانه پیشرفت بیماری است.
- تغییرات نوک سینه به شکل فرورفتگی، قرمزی، پوسته پوسته شدن همراه با خارش، انحراف یا هر تغییری در نوک سینه مهم است.
- گاهی اوقات تنها علامت سرطان سینه می‌تواند بزرگ شدن غده‌های لنفاوی زیر بغل باشد که به شکل توده‌های سفت در زیر بغل لمس می‌شود.
- توده‌های مشکوک به سرطان، در لمس به صورت سفت یا سخت احساس می‌شوند، حرکت نمی‌کنند و به قسمت‌های اطراف خود چسبیده‌اند، منفرد و بدون درد هستند (کاوایانی، ۱۳۸۸).

۷ - ۱ - انواع سرطان سینه

سرطان سینه از نظر ویژگی‌های بالینی، به سه رده تقسیم می‌شود:

۱) کارسینوم لپکی درجا (LCIS)^۱، که نوعی تکثیر سلول‌ها معمولاً کوچک و با اتصالات شل است که از واحد مجرای - لپکی انتهایی، با یا بدون درگیری مجراهای انتهایی منشأ می‌گیرد. در پی این ضایعه، خطر سرطان سینه به شکل دو سویه افزایش می‌یابد که بروز آن در زنان پس از یائسگی نیز در حال افزایش است. تعیین بروز واقعی LCIS به دلیل آن که اختلالات بالینی یا پرتونگاری سینه ویژه مرتبط با این ضایعه وجود ندارد، دشوار است.

۲) کارسینوم مجرای درجا (DCIS)^۲ که نوعی تکثیر سلول‌های اپی‌تلیال مجرای سینه با ظاهر بدخیم، بدون وجود شواهدی از تهاجم به ورای غشای پایه می‌باشد. حدود ۱۵ تا ۳۰ درصد سرطان‌های یافته شده در برنامه‌های پرتونگاری سینه برای غربالگری، رده DCIS هستند و بیشترین افزایش در بروز DCIS در زنان ۴۹ تا ۶۹ سال گزارش شده است.

1.Lobular Carcinoma Insitu
2.Ductal Carcinoma Insitu

۳) کارسینوم مهاجم سینه نیز شامل گروه ناهمگنی از ضایعات هستند که بر اساس تظاهرات بالینی، ویژگی‌های پرتونگاری، مشخصات آسیب‌شناختی و رفتار زیستی با هم متفاوتند. عقیده بر این است که منشأ بیشتر سرطان‌های مهاجم سینه از واحد لپکی مجرای انتهایی است. سرطان مجرای نفوذ کننده یا مهاجم رایج‌ترین نوع بافت شناسی سرطان سینه است که ۷۰ تا ۸۰ درصد موارد را در برمی‌گیرد (نوری دلوئی وطبرستانی، ۱۳۸۹).

۸-۱ - مراحل بیماری سرطان سینه

مراحل بیماری بستگی به سرعت رشد و نیز شکل سلول‌ها دارد. مرحله سرطان، ترکیبی از اطلاعات مربوط به قطر تومور، تهاجم به بافت‌های اطراف، درگیری غدد لنفاوی و انتشار تومور به سایر اندام‌ها که می‌تواند تا حد زیادی میزان بقا بیماران را بعد از درمان مشخص کند.

- مراحل بیماری به شرح زیر است:

- مرحله ۰: سرطان سینه غیر مهاجم که اصطلاحاً به آن سرطان درجا می‌گویند. در این مرحله سلول‌های سرطانی محدود به سطح پوشاننده مجاری شیری هستند و از آن فراتر نرفته‌اند.

- مرحله ۱: در این مرحله سرطان از مجاری شیری و لوبول‌ها عبور کرده و به بافت اطراف رسیده است. قطر تومور کمتر از ۲ سانتی‌متر است و هیچ یک از غدد لنفاوی زیر بغل درگیر نشده‌اند.

- مرحله ۲: مثل مرحله قبلی است ولی قطر تومور بین ۲ تا ۵ سانتی‌متر بوده و گاهی درگیری غدد لنفاوی زیر بغل نیز وجود دارد.

- به مرحله‌های ۰، ۱ و ۲، مراحل اولیه یا ابتدایی بیماری می‌گویند.

- مرحله ۳: تومور ممکن است از ۵ سانتی‌متر بزرگ‌تر بوده و بعضی از غدد لنفاوی نیز درگیر باشند. یا تومور کوچک‌تر بوده ولی غدد لنفاوی متعددی درگیر باشند. سرطان‌های پیشرفته موضعی و سرطان‌های انتهایی مرحله ۳ محسوب می‌شوند.

- مرحله ۴: همان سرطان متاستاتیک با درگیری سایر اعضای دورتر می‌باشد. در این مرحله سرطان از سینه و غدد لنفاوی فراتر رفته و به قسمت‌های دیگر بدن مثل استخوان، کبد، ریه و مغز رسیده است (سجادیان و همکاران، ۱۳۸۹).

۹-۱ - تشخیص سرطان سینه

۹-۱-۱ - ماموگرافی

ماموگرافی به دو منظور انجام می‌شود. ۱) ماموگرافی غربالگری: بررسی سینه با اشعه X در یک خانم بدون علامت است. هدف از این رادیوگرافی کشف توده‌های سرطان قبل از رسیدن به اندازه قابل لمس است. ۲) ماموگرافی تشخیصی: به منظور ارزیابی بیشتر سینه در خانم‌هایی که با یکی از علائم مشکوک به سرطان سینه مانند توده، ترشح و تغییرات پوستی سینه مراجعه می‌کنند، ارائه می‌گردد (عابدینی و همکاران، ۱۳۸۹).

۹-۱-۲ - سونوگرافی

سونوگرافی روشی حساس با حداقل تهاجم است، این روش در خانم‌های جوان با علائم و نشانه‌های بیماری‌های سینه ارجح است. برخی از ضایعات فقط با سونوگرافی تشخیص داده می‌شوند (Arab and Nasrollahi, 2006).

۹-۱-۳ - تصویربرداری با رزونانس مغناطیسی (MRI)

این روش در بررسی ضایعاتی که به کمک معاینه یا ماموگرافی اطلاعات کافی از آن‌ها بدست نیامده و ماهیت نامشخص دارند استفاده می‌شود.

۹-۱-۴ - اسکن توموگرافی به روش ساطع کردن پوزیترون (PET)

روشی برای بررسی فعالیت متابولیکی تومور است. در این روش از یک ترکیب رادیواکتیو (فلوئورودزوکسی گلوکز رادیواکتیو) که توسط بافت دارای متابولیسم بالا، متابولیزه می‌شود استفاده شده و ناحیه توموری مشخص می‌گردد (عابدینی و همکاران، ۱۳۸۹؛ ابراهیم پور و ملک، ۱۳۸۹).

۱۰-۱ - روش‌های درمان سرطان سینه

۱۰-۱-۱ - جراحی

جراحی قدیمی‌ترین و اصلی‌ترین روش درمان در سرطان سینه است. در هر مرحله و برای هر نوع از سرطان سینه روش‌های جراحی خاص وجود دارد. رایج‌ترین روش جراحی سینه برداشت کامل آن است.

۲- ۱۰- ۱ - شیمی درمانی

در این روش دارو از طریق خوراکی یا تزریقی وارد بدن می‌شود و بسته به نوع سرطان برای درمان، جلوگیری از گسترش، آهسته کردن رشد سرطان، از بین بردن سلول‌های گسترش یافته به سایر نقاط بدن یا برای کاهش علائم ناشی از آن به کار می‌رود.

۳- ۱۰- ۱ - پرتو درمانی

درمان با اشعه برای سرطان‌های محدود به یک ناحیه به کار می‌رود که برای انهدام یا صدمه زدن به سلول‌های سرطانی در جهت جلوگیری از تکثیر آن‌ها استفاده می‌شود (کاویانی، ۱۳۸۸).

۴- ۱۰- ۱ - هورمون درمانی

با هورمون درمانی، از رسیدن استروژن و تاثیر آن بر روی گیرنده‌های هورمونی جلوگیری به عمل می‌آید. با مصرف داروهایی که گیرنده‌های هورمونی سلول‌های سرطانی را مهار می‌کنند، از رشد تومور و یا تشدید مجدد آن جلوگیری می‌شود.

۵- ۱۰- ۱ - درمان هدفمند

امروزه در آزمایشگاه‌ها و با روش‌های خاص، آنتی بادی‌ها را در حجم زیاد و به وسیله یک سلول منفرد یا یک کلونی سلولی تولید کرده و آن‌ها را علیه یک هدف خاص جهت‌دار می‌کنند. هرسپتین یکی از همین آنتی‌بادی‌هاست که به گیرنده‌های HER2 موجود بر روی سطح سلول‌های سرطانی می‌چسبد و باعث می‌شود که توانایی این سلول برای رشد و تقسیم شدن کاهش یابد (سجادیان و همکاران، ۱۳۸۹).

۱۱- ۱- اتیولوژی سرطان سینه

سرطان سینه یک بیماری به شدت ناهمگن است که در اثر تأثیر متقابل عامل‌های خطر وراثتی و محیطی ایجاد می‌شود و به تجمع پیش رونده تغییرات ژنتیک و اپی‌ژنتیک در سلول‌های سرطان سینه منجر می‌شود. وجود سابقه خانوادگی سرطان سینه قوی‌ترین عامل خطر برای این بیماری به شمار می‌آید. تقریباً ۲۰ درصد همه سرطان‌های سینه را انواع خانوادگی تشکیل می‌دهند و از نظر بیماری‌زایی، وابستگی خاصی به ژن مستعدکننده ویژه آن بیماری دارند (Antoniou and Easton, 2006).