



دانشگاه سوادکوه

پردیس دانشگاهی

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی میزان بیان فاکتورهای فیبروبلاستی و ایمنتین و فیبرونکتین

در مبتلایان به سرطان پستان

از

مونا رادمهر

استاد راهنما

دکتر رضا شیرکوهی

آذر ماه ۱۳۹۲



پردیس دانشگاهی

گروه: زیست شناسی

گرایش: ژنتیک

بررسی میزان بیان فاکتورهای فیبروبلاستی ویمنتین و فیبرونکتین

در مبتلایان به سرطان پستان

از

مونا رادمهر

استاد راهنما

دکتر رضا شیرکوهی

استاد مشاور

دکتر فرهاد مشایخی

آذر ماه ۱۳۹۲

تقدیم به پدر بزرگوارم و مادر عزیزم

دو فرشته‌ای که فروغ نگاهشان، گرمی کلامشان و دستان سبز دعایشان سرمایه‌های جاودانی زندگی ام بوده است.

تقدیر و تشکر:

سنگر و پاس یکران بر آن رب بی‌همتا و آن معبود یکتا که توان حرکت در این مسیر را به من عطا فرمود.

باسپاس فراوان از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر رضا شیرکوهی که در تمامی مراحل تحقیق راهنموده و حمایت‌های علمی و تجربی ایشان شامل حال اینجانب بوده است و بار

اختیار گذاشتن کلیه امکانات از بچ کوششی جهت انجام تحقیق در پیغ نورزیدند.

باسپاس فراوان از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر فرهاد شایخی که به‌واسطه از نظرات عالمانه و ارزشمند ایشان بهره فراوان بردم.

باسپاس فراوان از جناب آقای دکتر محبتی صفاری که از حمایت و مساعدت ایشان بهره‌مند گردیدم.

باسپاس فراوان از داوران محترم، سرکار خانم دکتر زیور صالحی و جناب آقای دکتر محمد جواد مهدی پور که در جلسه دفاع حضور به عمل رسانیدند.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
ی	چکیده فارسی.....
ک	چکیده انگلیسی.....
فصل اول: مقدمه	
۱	۱- مقدمه.....
۱	۱-۱- سرطان.....
۱	۲-۱- سرطان پستان.....
۲	۱-۲-۱- آناتومی طبیعی پستان.....
۲	۲-۲-۱- انواع سرطان پستان.....
۲	۱-۲-۲-۱- سرطان پستان غیر مهاجم.....
۳	۲-۲-۲-۱- سرطان پستان مهاجم.....
۳	۳-۲-۱- علائم سرطان پستان.....
۳	۴-۲-۱- چگونگی توصیف سرطان پستان.....
۴	۱-۴-۲-۱- مرحله بندی به روش TNM.....
۵	۵-۲-۱- روش های تشخیص.....
۵	۱-۵-۲-۱- خودآزمایی پستان.....
۵	۲-۵-۲-۱- سونوگرافی.....
۶	۳-۵-۲-۱- ماموگرافی.....
۶	۴-۵-۲-۱- بیوپسی.....
۶	۶-۲-۱- روش های درمان سرطان.....
۶	۷-۲-۱- فاکتورهای دخیل در ایجاد سرطان پستان.....
۷	۱-۷-۲-۱- فاکتورهای محیطی.....
۷	۲-۷-۲-۱- فاکتورهای ژنتیکی.....
۹	۳-۱- تبدیل اپیتلیال به مزانشیمال.....
۹	۱-۳-۱- انعطاف پذیری سلول اپیتلیالی.....
۱۰	۲-۳-۱- EMT نوع ۱ همراه با لانه گزینی، جنین زایی و توسعه‌ی اندامی.....
۱۰	۳-۳-۱- EMT نوع ۲ همراه با ترمیم بافت و فیروز اندام‌ها.....
۱۱	۴-۳-۱- EMT نوع ۳ همراه با پیشرفت سرطان و متاستاز.....
۱۲	۵-۳-۱- EMT. وقایع مرحله.....
۱۴	۱-۵-۳-۱- کادهرین ها.....
۱۴	۲-۵-۳-۱- کاتنین ها.....
۱۵	۳-۵-۳-۱- ویمنتین.....
۱۵	۱-۳-۵-۳-۱- ساختار و تنظیم ویمنتین.....

۱۷	۱-۳-۵-۲- ویمنتین در سیگنالینگ سلولی
۱۸	۱-۳-۵-۴- ماتریکس متالو پروتئینازها
۱۹	۱-۳-۵-۵- فیبرونکتین
۲۱	۱-۳-۵-۱- نقش فیبرونکتین و ECM در سیگنالینگ سلولی
۲۲	۱-۴- هدف از تحقیق

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲۵	۲- مواد و روش‌ها
۲۵	۲-۱- مواد و لوازم مورد نیاز
۲۵	۲-۱-۱- مواد و لوازم مورد نیاز جهت استخراج RNA
۲۵	۲-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت RNA استخراج شده
۲۵	۲-۱-۳- کیت سنتز cDNA تهیه شده از شرکت پرشین زیست فن ازما
۲۵	۲-۱-۴- مواد و لوازم مورد نیاز جهت واکنش زنجیره ای پلیمرز (Polymerase Chain Reaction=PCR)
۲۶	۲-۱-۵- کیت Hot Taq Eva Green QPCR Mix(no ROX) تهیه شده از شرکت سینا ژن
۲۶	۲-۱-۶- لیست دستگاهها و تجهیزاتی که در آزمایشگاه مورد استفاده قرار گرفت
۲۷	۲-۲- روش‌ها
۲۷	۲-۲-۱- جمع آوری نمونه
۲۷	۲-۲-۲- استخراج RNA از بافت
۲۷	۲-۲-۲-۱- استخراج RNA با استفاده از easy blue
۲۸	۲-۲-۲-۲- آماده سازی RNA
۲۸	۲-۲-۲-۳- ارزیابی کمی و کیفی RNA استخراج شده
۲۸	۲-۲-۲-۱- اندازه گیری کمیت RNA
۲۹	۲-۲-۲-۲- بررسی کیفی RNA
۲۹	۲-۲-۲-۴- ارزیابی بیان ژن
۲۹	۲-۲-۲-۱- PCR به کمک ترانس کریپتاز معکوس (RT-PCR)
۲۹	۲-۲-۲-۲- سنتز cDNA از RNA های استخراج شده
۳۰	۲-۲-۲-۳- واکنش کنترل
۳۱	۲-۲-۲-۵- ارزیابی و بازیابی محصولات واکنش زنجیره ای پلیمرز
۳۱	۲-۲-۲-۱- الکتروفورز ژل آگارز
۳۱	۲-۲-۲-۲- بافرهای مورد استفاده در الکتروفورز
۳۲	۲-۲-۲-۳- شرایط الکتروفورز
۳۲	۲-۲-۲-۴- تهیه ی ژل آگارز و مشاهده قطعه تکثیر شده
۳۲	۲-۲-۲-۵- روش کار برای تهیه ی ژل آگارز
۳۳	۲-۲-۲-۶- پرایمرهای اولیگونوکلئوتیدی مورد استفاده

عنوان	صفحه
۷-۲-۲- Real Time PCR (qRT-PCR)	۳۳
۱-۷-۲-۲- Real time سنجش	۳۳
۲-۷-۲-۲- رنگ اواگرین (Eva green dye)	۳۴
۳-۷-۲-۲- آنالیز آماری	۳۵
۴-۷-۲-۲- روش آستانه مقایسه ای	۳۵
۸-۲-۲- ملاحظه اخلاقی	۳۵

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج	۳۷
۱-۳- خصوصیات نمونه‌ها	۳۷
۲-۳- بررسی RNA استخراج شده	۳۸
۳-۳- واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)	۳۹
۴-۳- Real-Time PCR (qRT- PCR)	۴۰

فصل چهارم: بحث

۴- بحث	۴۷
۱-۴- مقایسه بیان ژن فیرونکتین و ویمنتین در بافت های توموری نسبت به بافت نرمال	۴۸
۲-۴- ارتباط بیان دو ژن فیرو نکتین و ویمنتین با grade	۴۸
۳-۴- ارتباط بیان دو ژن ویمنتین و فیرو نکتین با Stage	۴۹
۴-۴- ارتباط بیان دو ژن فیرو نکتین و ویمنتین با متاستاز	۴۹
۵-۴- ارتباط بیان دو ژن فیرو نکتین و ویمنتین با سایز تومور	۵۰
۶-۴- نتیجه گیری	۵۱
۷-۴- پیشنهادات	۵۲

فصل پنجم: فهرست منابع

۵- فهرست منابع	۵۴
----------------	----

فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
۴	جدول ۱-۱- طبقه بندی انواع سرطان براساس درجه تمایز.....
۵	جدول ۱-۲- مرحله بندی انواع سرطان پستان با روش TNM.....
۲۶	جدول ۱-۲- پرایمرهای مورد استفاده در PCR.....
۳۰	جدول ۲-۲- مواد مصرفی در واکنش Reverse Transcriptase PCR جهت ساخت cDNA از نمونه ها.....
۳۰	جدول ۳-۲- مواد مصرفی در واکنش PCR با پرایمرهای GAPDH.....
۳۱	جدول ۴-۲- چرخه حرارتی PCR برای ژن GAPDH.....
۳۱	جدول ۵-۲- میزان آگارز مصرفی با توجه به درصد ژل.....
۳۲	جدول ۶-۲- مواد مصرفی در ساخت بافر الکتروفورز.....
۳۳	جدول ۷-۲- فهرست پرایمرهای مورد استفاده در Real Time PCR.....
۳۴	جدول ۸-۲- مواد مصرفی در واکنش Real Time PCR.....
۳۵	جدول ۹-۲- سیکل حرارتی در واکنش Real Time PCR.....
۳۷	جدول ۱-۳- اطلاعات هیستوپاتولوژیک بیماران.....
۳۸	جدول ۲-۳- OD برای ۳۰ نمونه بیمار.....

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱) آناتومی طبیعی پستان.....	۲
شکل ۱-۲) EMT تکوینی.....	۱۰
شکل ۱-۳) EMT و فیروز.....	۱۱
شکل ۱-۴) EMT نوع III.....	۱۲
شکل ۱-۵) فرآیند EMT، عوامل مؤثر بر آن و مارکرهای اپیتلیالی و مزانشیمی.....	۱۳
شکل ۱-۶) نقش ویمنتین در سیگنالینگ سلولی.....	۱۸
شکل ۱-۷) یک زیرواحد فیرونکتین.....	۲۰
شکل ۱-۸) نمایی از مسیرهای سیگنالینگ مکانیکی مربوط به اتصالات کانونی و انقباضات سلولی.....	۲۲
شکل ۱-۳) OD و دیاگرام یکی از نمونه‌ها.....	۳۸
شکل ۳-۲) RNA استخراج شده از نمونه بافتی سالم و توموری.....	۳۹
شکل ۳-۳) تصویر مربوط به ژل آگارز ۲٪ محصولات واکنش PCR مربوط به نمونه‌های سالم و توموری.....	۳۹
شکل ۳-۴) نمودار حد آستانه یکی از نمونه‌ها مربوط به پرایمرهای فیرونکتین.....	۴۰
شکل ۳-۵) نمودار حد آستانه یکی از نمونه‌ها مربوط به پرایمرهای ویمنتین.....	۴۰
شکل ۳-۶) مقایسه بیان ژن Fibronectin در بافت‌های توموری با grade‌های مختلف نسبت به بافت‌های نرمال.....	۴۱
شکل ۳-۷) مقایسه بیان ژن Vimentin در بافت‌های توموری با grade‌های مختلف نسبت به بافت‌های نرمال.....	۴۱
شکل ۳-۸) نشان می‌دهد بیان Fibronectin در بافت‌های توموری در Stage‌های مختلف نسبت به بافت نرمال.....	۴۲
شکل ۳-۹) نشان می‌دهد بیان Vimentin در بافت‌های توموری در Stage‌های مختلف نسبت به بافت نرمال.....	۴۲
شکل ۳-۱۰) مقایسه بیان ژن Fibronectin در بافت‌های توموری در مراحل M0 و MX نسبت به بافت‌های نرمال.....	۴۳
شکل ۳-۱۱) مقایسه بیان ژن Vimentin در بافت‌های توموری در مراحل M0 و MX نسبت به بافت‌های نرمال.....	۴۳
شکل ۳-۱۲) مقایسه بیان ژن Fibronectin در بافت‌های توموری با سه سایز مختلف نسبت به بافت‌های نرمال.....	۴۴
شکل ۳-۱۳) مقایسه بیان ژن Vimentin در بافت‌های توموری با سه سایز مختلف نسبت به بافت‌های نرمال.....	۴۴
شکل ۳-۱۴) آنالیز منحنی ذوب با استفاده از پرایمرهای اختصاصی فیرونکتین.....	۴۵

بررسی بیان فاکتورهای فیروپلاستی و ویمنتین و فیرونکتین در بیماران مبتلا به سرطان پستان

مونا رادمهر

مطالعات نشان داده اند که بیان فاکتورهای فیروپلاستی در سرطان های مختلف افزایش می یابد و احتمالاً نقش مؤثری را در متاستاز بازی می کنند. بر این اساس مطالعه حاضر به بررسی میزان بیان فاکتورهای فیروپلاستی ویمنتین و فیرونکتین در بافت های توموری پستان و ارتباط آن ها با تهاجم و متاستاز می پردازد. این مطالعه به صورت نمونه گیری تصادفی، روی ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان که برای جراحی به انستیتو کانسر مجتمع بیمارستانی امام خمینی مراجعه کرده بودند، انجام گرفت. بافت های تازه طبیعی و توموری تهیه و در دمای 80- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از دریافت بافت تومور، ابتدا 100 mg بافت توسط تیغ بیستوری تکه تکه شد و سپس به کمک دستگاه هموژنایزر بافت به طور کامل هموژن شد و پس از استخراج RNA، ساخت cdNA صورت گرفت. سپس به روش Real-Time PCR، میزان بیان فیرونکتین و ویمنتین در هر یک از نمونه ها اندازه گیری شد. این اطلاعات بدست آمده با دیگر اطلاعات بالینی بیمار در نرم افزار SPSS و با استفاده از روش آماری T-Test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. میزان بیان ژن های ویمنتین و فیرونکتین در بافت های توموری نسبت به بافت نرمال افزایش معنی داری نشان داد ($P < 0.05$). همچنین بیان این دو ژن با grade بیماری ارتباط معنی داری نشان دادند ($P < 0.05$). بیان ژن ویمنتین با stage و اندازه تومور ارتباط معنی داری را نشان نداد، در مقابل بیان ژن فیرونکتین با افزایش Stage و سایز تومور به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$). افزایش بیان این دو ژن در تومورها نسبت به بافت نرمال، با توجه به مکانیسم های ذکر شده این دو ژن در مهاجرت و تهاجم این احتمال را بوجود می آورد که ویمنتین و فیرونکتین را به عنوان ژن های دخیل در فرآیند تبدیل اپیتلیال به مزانشیم (EMT) بتوان جهت ارزیابی متاستاز به کار برد. بعلاوه شاید بتوان آن ها را به عنوان مارکر پیش بینی و تشخیصی در سرطان پستان معرفی کرد.

کلید واژه ها: سرطان پستان، ویمنتین، فیرونکتین

Abstract

A study of fibroblastic factors of Vimentin and Fibronectin expression in the breast cancer patients
Mona Radmehr

Many studies has been demonstrated that expression of fibroblastic factors increase in various cancers. It is possible that they play a major role in metastasis. In this study the amount of fibroblastic factors gene expression (vimentin and fibronectin) were investigated in breast cancer patients. Thirty patients who referred for surgical operation to cancer institute of Imam Khomeini Hospital because of breast cancer were chosen by random selection. Fresh tissue samples were disrupted by smashing and homogenizing were used for complete homogenization followed by RNA extraction and conversion to cDNA. A standard curve was initially plotted by using Hot Taq Eva Green QPCR Mix(no ROX) and then expression of fibroblastic factors genes for all 30 specimens were studied by Real Time RT-PCR. Analysis of expression of vimentin and fibronectin genes has shown significant increasing in tumoral tissue as compared to control group ($P<0.05$). Over expression of fibronectin and vimentin in the breast cancer patients closely correlated with histological grade ($P<0.05$). Higher expression of fibronectin in the breast cancer patients closely correlated with TNM stage and tumor size ($P<0.05$). but there was no correlation between tumor stage, size, and vimentin levels. Over expression of vimentin and fibronectin well known genes in Epithelial- mesenchymal transition (EMT) phenomena in tumoral tissue as compared with normal tissue, suggest these genes may represent useful prognostic markers of metastasis.

Keywords: Brest cancer, Vimentin, Fibronectin

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

۱-۱- سرطان

سرطان شامل گروه وسیعی از بیماری‌هاست که در آن سلول‌ها توانایی تقسیم و رشد عادی خود را از دست می‌دهند. در اثر رشد خارج از کنترل سلول‌ها، توده‌ای به نام تومور تشکیل می‌شود. توموری که قابلیت تهاجم به سایر بافت‌ها را نداشته باشد، تومور خوش خیم^۱ یا غیر سرطانی نامیده می‌شود و در صورتی که تومور گسترده شده یا به طور بالقوه قابلیت پخش شدن به سایر بافت‌ها را داشته باشد، بدخیم یا سرطانی^۲ گفته می‌شود [۱]. انواع سرطان را می‌توان بر اساس منشأ سلولی آن‌ها تقسیم کرد. اکثر سرطان‌ها در یکی از ۳ گروه زیر قرار می‌گیرند:

۱- کارسینوم^۳ که بدخیمی سلول‌های اپیتلیال هستند و تقریباً ۹۰٪ سرطان‌های انسانی را تشکیل می‌دهند.

۲- سارکوم^۴ که به ندرت در انسان مشاهده می‌شوند و شامل تومورهای جامد از بافت‌های پیوندی نظیر عضله، استخوان، غضروف و بافت پیوندی هستند.

۳- لوسمی^۵ و لنفوم^۶ که از سلول‌های خونی و سلول‌های سیستم ایمنی منشأ می‌گیرند و تقریباً ۷٪ بدخیمی‌های انسانی را تشکیل می‌دهند.

رایج‌ترین سرطان‌ها که بیش از نیمی از موارد بدخیمی را تشکیل می‌دهند، شامل سرطان ریه، پروستات، پستان و روده بزرگ هستند. در این میان سرطان ریه کشنده‌ترین سرطان است و تقریباً ۳۰٪ مرگ سالیانه ناشی از سرطان را به خود اختصاص می‌دهد [۲].

به طور کلی روند سرطانی شدن یک سلول را می‌توان به سه مرحله تقسیم نمود:

(۱) مرحله شروع^۷، شامل مجموعه‌ای از رویدادهای تصادفی است که موجب مستعد شدن سلول برای خروج از حالت نرمال می‌شود. این وقایع اغلب توسط عوامل سرطان‌زا القا می‌شود.

(۲) مرحله بدخیمی یا تغییر شکل^۸، در این مرحله تجمع تغییرات موتاسیونی در DNA، باعث نامیرا شدن سلول، از دست دادن ممانعت تماسی با سلول‌های اطراف و متمایز شدن آن از سلول‌های سالم مجاور خود نیز می‌شود.

(۳) مرحله تهاجمی و متاستاز^۹ که در آن سلول توانایی عبور از سد اتصالات سلولی و حرکت به سمت بافت‌های مجاور را بدست می‌آورد [۳]. گسترش توده‌ها به سایر قسمت‌های بدن از طریق سیستم گردش خون و یا سیستم لنفاوی صورت می‌گیرد.

۱-۲- سرطان پستان

سرطان پستان در زنان یک مشکل اصلی بهداشت عمومی در سراسر جهان است. سرطان پستان با یک میلیون مبتلای جدید در هر سال شایع‌ترین نوع بدخیمی در میان زنان است. این بیماری تنها مختص زنان نبوده بلکه مردان نیز در خطر ابتلا به آن هستند. در سرطان پستان سلول‌های بدخیم از بافت پستان منشأ می‌گیرند و به طور نامنظم و فزاینده‌ای تکثیر می‌یابند [۴]. در کشورهای پیشرفته به طور متوسط از هر ۱۰ زن یک نفر در طول عمر خود به سرطان پستان مبتلا می‌شود که با افزایش سن میزان خطر افزایش می‌یابد. به عنوان مثال در آمریکا از هر ۸ زن یک نفر به سرطان پستان مبتلا می‌شود اما تا سن ۳۰ سالگی شانس ابتلا برای هر زن تنها ۱ به ۲۰۰۰ است.

1) Benign Tumor

2) Malignant tumor

3) Carcinoma

4) Sarcoma

5) Leukemia

6) Lymphoma

7) initiation

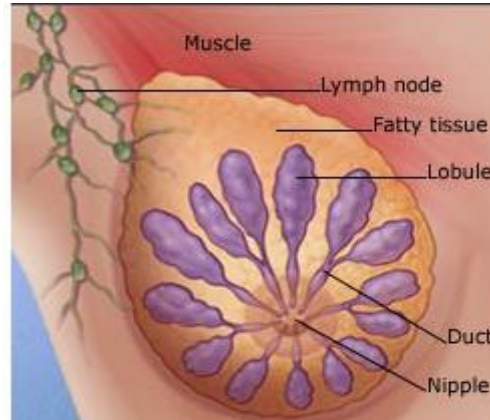
8) Transformation

9) Metastasis

در کشور های در حال توسعه ۳/۳۳٪ زنان در طول زندگی این بیماری را تجربه می کنند. ایران با میزان بروز ۲۴ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر دارای یکی از پایین ترین میزان های بروز سرطان پستان در دنیا است. این بیماری شایع ترین سرطان در بین زنان ایرانی است به طوریکه از هر ۴ مورد سرطان تشخیص داده شده در زنان یک مورد آن سرطان پستان است ولی نرخ مرگ و میر ناشی از آن کمتر از شیوع آن بوده و از هر ۱۸-۱۰ زن، یک نفر در اثر این بیماری می میرد [۵]. با توجه به تغییر الگوی عوامل خطر یعنی کاهش میزان باروری، کاهش زمان شیردهی به فرزندان، کاهش فعالیت بدنی، افزایش چاقی، افزایش مصرف غذاهای آماده و تغییر الگوی جمعیتی ایران، انتظار می رود که طی دهه های آینده بروز سرطان پستان در کشور به شدت افزایش یابد [۶، ۷].

۱-۲-۱- آناتومی طبیعی پستان

در زنان بالغ پستان از سه قسمت (پوست، بافت زیر جلدی و نسج پستان) تشکیل شده است. نسج پستان، خود شامل بافتهای غددی و بافت زمینه ای (استروما) است. غدد مولد شیر در پستان بصورت گروهی قرار دارند و به هر گروه یک لوب می گویند. هر پستان از ۱۵ - ۲۰ لوب تشکیل شده است که هر لوب بصورت یک خوشه انگور دارای یک مجرای واحد بنام مجرای شیری (لاکتوفروس داکت) و تعداد زیادی لوبول است. هر لوبول دارای ۱۰ تا ۱۰۰ ساختمان کیسه ای شکل موسوم به آلوئول است. آلوئول واحد عمل پستان است و از یک لایه سلول اپیتلیال و یک لایه سلول عضلانی (میو اپیتلیال) در خارج تشکیل شده است. سلولهای آلوئولی تحت تاثیر هورمون پرولاکتین مسئول تولید شیر بداخل آلوئول هستند و سلولهای عضلانی اطراف آن تحت تاثیر اکسی توسین مسئول ترشح شیر از آلوئول ها بداخل مجرای شیری می باشند. همانطور که گفته شد هر لوب پستان به یک مجرای بزرگ ختم می شود که بطور مستقیم از هر لوب به نوک پستان می روند و شیر را از طریق منافذ نوک پستان به بیرون تخلیه می کنند. استرومای پستان حاوی چربی - نسج همبند - عروق خونی - اعصاب و غدد لنفاستیک می باشد [۸].



شکل ۱-۱) آناتومی طبیعی پستان. پستان مجموعه ای از غدد شیری^۱، مجراهای هدایت کننده شیر^۲ به سر پستان و مقدار زیادی چربی است. اغلب سرطان های پستان از سلول های مجاری، برخی از آن ها از غدد و بقیه از سایر بافت های پستان منشاء میگیرند [۹].

۱-۲-۲- انواع سرطان پستان

انواع متفاوتی از سرطان پستان وجود دارد که شامل [۸]:

۱-۲-۲-۱- سرطان پستان غیر مهاجم (درجا):

این نوع سرطان خود به دو فرم دیده می شود که شامل:

۱) Lobules
۲) Duct

الف) کارسینومای مجرای درجا^۱: بدین معناست که سلول های سرطانی در داخل مجرا هستند و از دیواره مجرا به بافت پستان گسترش نیافته اند. ۲۰٪ از تمام سرطان های پستان از این نوع می باشند. تقریباً تمام زنان مبتلا به این نوع سرطان در مراحل اولیه، درمان می گردند. یک ماموگرافی بهترین روش برای تشخیص DCI در مراحل اولیه است.

ب) کارسینومای لوبولی درجا^۲: این کارسینوما از غدد تولید کننده شیر منشأ می گیرد اما به دیواره خارج از لوب ها گسترش نمی یابد.

۱-۲-۲-۲- سرطان پستان مهاجم:

این نوع سرطان خود به دو فرم دیده می شود که شامل:

الف) کارسینومای مجرای مهاجم^۳: شایع ترین سرطان پستان است. از مجرای عبور شیر در پستان شروع می گردد، از دیواره ی مجرا عبور کرده و به بافت چربی پستان می رسد. با توجه به این مسئله، قادر است متاستاز دهد یا از طریق جریان خون یا لنف به نقاط دیگر بدن گسترش یابد. حدود ۸۰٪ سرطان های مهاجم پستان از این نوع می باشند.

ب) کارسینومای لوبولی مهاجم^۴: این سرطان از غدد تولید کننده شیر یا لوبول ها منشأ می گیرد و سپس به دیواره و سایر نقاط بدن سرایت می نماید. حدود ۱۵-۱۰٪ از سرطان های مهاجم پستان را شامل می شود و مانند IDC متاستاز می دهد.

۱-۲-۳- علائم سرطان پستان شامل موارد زیر هستند [10]:

وجود توده و یا افزایش ضخامت در پستان و یا ناحیه ی زیر بغل
ترشح شفاف یا خونی از پستان
پوسته ریزی در نوک پستان
فرو رفتن نوک سینه به داخل
قرمزی و یا تورم سینه
فرو رفتگی پوست پستان که در آن پوست، حالتی شبیه به پوست پرتقال پیدا می کند.
وقوع تغییر شکل پستان که موجب متفاوت شدن آن با پستان دیگر شود.
زخم در پوست پستان که بهبود پیدا نکند.

۱-۲-۴- چگونگی توصیف سرطان پستان:

سرطان در هر بافت و در هر عضوی که باشد ممکن است در مراحل ابتدایی خود تشخیص داده شود و یا ممکن است در هنگام تشخیص، پیشرفت زیادی کرده باشد. درمان بیمار و نوع مراقبت از بیمار سرطانی نه تنها به نوع تومور سرطانی بستگی دارد بلکه بسته به درجه پیشرفت بیماری متفاوت است. پیشرفت سرطان را با دو معیار مرحله (Stage) و درجه (Grade) اندازه گیری میکنند.

در پاتولوژی grading یک معیار از ظاهر سلول در تومورها و نوپلاسم های دیگر است. سیستم های grading پاتولوژی بر اساس غیر طبیعی بودن ظاهر میکروسکوپی سلول، تشکیل توبول، چند شکلی هسته و همچنین نسبت نرخ تقسیمات میتوز به میزان رشد با هدف پیش بینی توسعه ها در سطح بافتی، طبقه بندی می شود. سرطان احتلال در چرخه سلولی است که با افزایش بیش از حد میزان تکثیر سلولی، دوره زندگی طولانی تر سلول و تمایز ضعیف آن منجر می شود. درجه تمایز (G1-G4) با فقدان تمایز سلولی افزایش می یابد که نشان می دهد سلول توموری چه میزان با سلول های بافت نرمال که از آن ها منشأ گرفته، تفاوت دارد. درجه یک تومور به پزشک میگوید که رفتار آن

1) Ductal Carcinoma Insitu (DCI)

2) lobular carcinoma in situ (LCI)

3) Invasive (infiltrating) ductal carcinoma (IDC)

4) Invasive lobular carcinoma (ILC)

چگونه است. تومورهای با درجه پایین Low grade cancers آنهايي هستند که در مطالعه میکروسکوپی سلول های تومور کمی غیر طبیعی هستند. این تومورها فعالیت کمتری داشته و احتمال انتشار آنها کم است. در مقابل، سرطان های با درجه بالا High grade cancers هستند که سلول های آنها در مطالعه ذره بینی بسیار غیر طبیعی هستند. این تومورها سریع رشد کرده و به سرعت در بافت های اطراف و بافت های دوردست انتشار می یابند [۱۱]. درجه تمایز توده فقط تحت تاثیر خصوصیات زیست شناختی تومور تعیین می شود بدین معنا که grade مستقیماً با خصوصیات زیست شناختی تومور ارتباط دارد [۱۲].

رایج ترین سیستم استفاده شده در grading، دستورالعمل های کمیسیون العاقی امریکا در سرطان است که در جدول ۱-۲ آمده است.

جدول ۱-۱) طبقه بندی انواع سرطان را بر اساس درجه ی تمایز نشان می دهد.

Grade 1	Low grade	Well-differentiated
Grade 2	Intermediate grade	Moderately-differentiated
Grade 3	High grade	Poorly-differentiated
Grade 4	Anaplastic	Anaplastic

مرحله یا Stage به پزشک میگوید تومور چه اندازه بزرگ است و تا چه اندازه ای در بدن منتشر شده است. اینکه تومور در چه مرحله ای است را بیشتر با بررسی های تصویربرداری مشخص میکنند و بر اساس آن پزشک می تواند با توجه به پیش آگهی که از بررسی stage دریافت می کند نوع درمان و کمک به شخص بیمار را آغاز نماید [۱۳]. گاهی اوقات مرحله سرطان به صورت شماره صفر، یک، دو، سه و چهار تعریف می شود و شماره های بزرگتر برای سرطان هایی که بیشتر پخش شده اند استفاده می گردند. گاهی مرحله سرطان با استفاده از سیستم TNM تعریف می شود که ترکیبی از حروف و شماره ها و مشابه یک کد پستی است مثلاً (T2N1M0). T، N و M به ترتیب تومور، غده لنفاوی و متاستاز را نشان می دهند. T اندازه تومور و N و M میزان گسترش به غدد لنفاوی یا سایر قسمت های درگیر شده بدن را مشخص می کند. گاهی اوقات از سیستم های مرحله بندی دیگری استفاده می شود [۱۳].

۱-۲-۴-۱ - مرحله بندی به روش TNM:

T ❖

تومور T1: اندازه تومور کمتر از 2 سانتی متر که شامل T1mic با اندازه تومور کمتر از 0.1 سانتی متر، T1a با اندازه

تومور 0.1-0.5 سانتی متر، T1b با اندازه تومور 0.5-1 سانتی متر و T1c با اندازه تومور 1-2 سانتی متر است.

تومور T2: اندازه تومور 2-5 سانتی متر

تومور T3: اندازه تومور بیش از 5 سانتی متر

تومور T4: گرفتگی سینه، تهاجم به پوست، یا سرطان پستان التهابی

N ❖

N0: فاقد متاستاز به گره لنفاوی ناحیه ای

N1: 1-3 گره لنفاوی درگیر است.

N2: 4-9 گره لنفاوی درگیر است.

N3: بیش از ۱۰ گره لنفاوی درگیر است.

M ❖

1) Tumor-Lymph Node-Metastasis

- MX : متاستاز قابل ارزیابی نبوده است.
- MO : متاستاز دوردست مشاهده نشده است.
- M1 : متاستاز در دیگر بافت ها و ارگان ها دیده شده است.

جدول (۲-۱) مرحله بندی انواع سرطان پستان با روش TNM را نشان می دهد [۱۳].

Stage grouping	T	N	M
Stage 0	T _{is}	N ₀	M ₀
Stage I	T ₁	N ₀	M ₀
Stage IIA	T ₀	N ₁	M ₀
	T ₁	N ₁	M ₀
Stage IIB	T ₂	N ₀	M ₀
	T ₂	N ₁	M ₀
	T ₃	N ₀	M ₀
Stage IIIA	T ₀	N ₂	M ₀
	T ₁	N ₂	M ₀
	T ₂	N ₂	M ₀
	T ₃	N ₁ , N ₂	M ₀
Stage IIIB	T ₄	Any N	M ₀
Stage IIIC	Any T	N ₃	M ₀
Stage IIV	Any T	Any N	M ₁

۱-۲-۵- روش های تشخیص شامل [۱۴-۱۶]:

خودآزمایی پستان، سونوگرافی از پستان در افراد جوان پستان متراکم تر، ماموگرافی از پستان در افراد مسن تر پستان با بافت چربی کمتر، سیتولوژی و بیوپسی: جراحی، برداشتن کامل پستان

۱-۲-۵-۱- خودآزمایی پستان^۱ (BSE):

یکی از انواع روش های شناسایی سرطان پستان اولیه می باشد. این روش فقط با خود زن سر و کار دارد که باید هر قسمت از پستان که برآمده، شکستگی یا تورم دارد بررسی کند. BSE سابق به عنوان یکی از اصلی ترین روش های پیدا کردن سرطان در مراحل اولیه قابل درمان شناخته می شد، اما نتیجه یکی از پژوهش های RCT بیانگر این مطلب بود که این روش در پیشگیری از مرگ ها بر اثر سرطان پستان تاثیر گذار نیست و در واقع باعث ضرر از طریق بی نیاز بودن به بیوپسی و جراحی می شود.

۱-۲-۵-۲- سونوگرافی:

سونوگرافی در کنار روش های دیگری چون معاینه بالینی و ماموگرافی برای بررسی، تشخیص و درمان برخی از تومورها و بیماری های پستان مورد استفاده قرار می گیرد. کاربرد اصلی سونوگرافی پستان در تشخیص کیست ها یا حفرات توخالی آن است. از این روش همچنین می توان برای مقاصد درمانی مانند تخلیه کیست ها یا نمونه برداری از تومورهای توپر استفاده نمود. پستان هایی که در حالت خوابیده کم ضخامت به نظر می رسند را می توان در وضعیت نشسته مورد امتحان سونوگرافی قرار داد.

^۱) Braest Self-Examination

۱-۲-۵-۳- ماموگرافی:

ماموگرافی یک عکس رادیوگرافی ساده از پستان و ابزاری برای کشف زودرس سرطان‌های غیر قابل لمس پستان است. ماموگرافی می‌تواند سرطان پستان را ده سال قبل از آن که قابل لمس شود، شناسایی کند. همه زنان چهل ساله و بیشتر باید هر دو سال یکبار ماموگرافی انجام دهند. زنانی که افراد درجه یک آنها (یعنی مادر یا خواهر آن‌ها) مبتلا به سرطان باشند باید از ۳۵ سالگی ماموگرافی سالانه انجام دهند. ماموگرافی نمی‌تواند و نباید جایگزین معاینه توسط پزشک متخصص جراحی عمومی شود.

۱-۲-۵-۴- بیوپسی:

دقیقترین روش تشخیص برای تومورها نمونه برداری است که مقداری از نسوج غیر طبیعی برداشته شده و برای بررسی پاتولوژی فرستاده می‌شود. در بخش پاتولوژی این نسوج به طریقه خاصی رنگ آمیزی شده و توسط متخصص این رشته زیر میکروسکوپ بررسی خواهند شد. نمونه برداری به چند روش قابل انجام است. نمونه برداری با عمل جراحی در اغلب موارد با خارج کردن تمام توده همراه است و توده‌ای که برداشته می‌شود، جهت بررسی به بخش پاتولوژی ارسال می‌شود اما اگر توده خیلی بزرگ باشد فقط قسمتی از آن برداشته شده و جهت بررسی فرستاده می‌شود تا در مرحله‌ی بعد و در صورت لزوم عمل قطعی انجام شود.

۱-۲-۶- روش‌های درمان سرطان

امروزه برای درمان سرطان از روش‌های متعددی استفاده می‌شود که بستگی به نوع، موقعیت و میزان پیشرفت بیماری دارد. درمان‌های رایج امروزی شامل شیمی‌درمانی، اشعه‌درمانی، جراحی، هورمون‌درمانی و درمان زیستی (ایمنی‌درمانی) است که در کنار روش‌های درمانی مکمل و فرعی تا حدودی در مهار رشد تومور و کاهش مشکلات همراه با آن مؤثر می‌باشد [۱۷].

یکی از استراتژی‌های درمان هدفمند سرطان، ژن‌درمانی است. ژن‌درمانی عبارت است از درمان بیماری بوسیله‌ی تعویض یا تصحیح ژن یا ژن‌های آسیب دیده یا افزایش نسخه‌های ژن‌های طبیعی در ژنوم که روی سلول‌های سوماتیک متمرکز شده، به یک فرد محدود می‌شود و به نسل‌های بعدی منتقل نمی‌گردد. هدف از ژن‌درمانی سرطان، کاهش قابلیت تومورزایی و متاستاز در بیماران مبتلا به سرطان است.

در نتیجه شناخت بیشتر مکانیزم‌ها و مسیرهای انتقال پیام‌های سلولی مرتبط با سرطان، یکسری روش‌های درمانی بر پایه‌ی ایجاد تداخل با مولکول‌های مؤثر در سرطان‌زایی بوجود آمده است که از این طریق موجب توقف رشد و انتشار سرطان می‌شوند. استفاده از این روش‌ها آسیب کمتری به سلول‌های طبیعی وارد می‌کند و با کاهش اثرات جانبی، شرایط مناسب‌تری را برای بیماران ایجاد می‌نماید [۱۸].

استراتژی‌های عمده مبارزه هدفمند با سرطان به طور خلاصه شامل موارد زیر می‌باشد [۱۷]:

تنظیم مسیرهای حیاتی سلول (مانند مسیر Ras، NG-KB)، اثر مستقیم بر مکانیسم‌های القا آپوپتوزیس از طریق تنظیم مهارکننده‌ها یا عرضه مستقیم القاءکننده‌های مرگ برنامه‌ریزی شده به سلول، مهار رگ‌زایی، تنظیم چرخه سلولی و مهار متاستاز.

۱-۲-۷- فاکتورهای دخیل در ایجاد سرطان پستان

سرطان پستان یک بیماری پیچیده و چند عاملی است که فاکتورهای ژنتیکی و محیطی مختلفی در آن دخالت دارند این فاکتورهای محیطی و ژنتیکی به شیوه‌های مختلفی عمل می‌کنند و اطلاعات ما از نحوه عملکرد آن‌ها و علت قطعی سرطان پستان هنوز ناقص است [۴]. بیشتر موارد سرطان پستان در زنانی گزارش شده که هیچ‌گونه تاریخچه خانوادگی بیماری نداشته‌اند. با وجود این مطالعه تاریخچه سرطان پستان در بعضی خانواده‌ها نشان داده است که وراثت یک عامل اصلی است [۱۹].

۱-۲-۷-۱- فاکتورهای محیطی:

سن: احتمال ابتلا به سرطان پستان در افراد مسن بیشتر است به همین دلیل اغلب موارد سرطان پستان در افراد بالای ۵۰ سال گزارش شده است [۲۰].

جنسیت: جنس عامل خطر اصلی برای ابتلا به سرطان پستان است. سلول های پستان در زنان بسیار بیشتر از مردان است اما دلیل اصلی بیشتر بودن سرطان پستان در زنان این است که سلول های پستان در زنان بیشتر در معرض آثار محرک رشد هورمون های استروژن و پروژسترون قرار دارد که عامل مؤثری در افزایش نرخ سرطان پستان در زنان نسبت به مردان است [۱۹].

مصرف مواد مخدر: بین مصرف الکل و دخانیات و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان ارتباط مستقیمی وجود دارد. هورمون استروژن: در معرض استروژن بودن در طول زندگی نقش مهمی در تعیین خطر ابتلا به سرطان پستان ایفا می کند به همین دلیل است که منارک زودرس و یائسگی دیررس از عوامل خطر ابتلا به سرطان پستان هستند چرا که فرد در طول زندگی خود مدت بیشتری در معرض استروژن بوده است. در طی هر دوره قاعدگی استروژن از تخمدان آزاد شده و وارد گردش خون می شود. در بافت هایی که گیرنده مخصوص استروژنی دارند (پستان و رحم) به گیرنده متصل می شوند ترکیب استروژن با گیرنده مخصوصش مجموعه ای را تشکیل می دهد که وارد هسته سلول می شود و به مناطق خاص در DNA سلول متصل می شود و باعث شروع یکسری وقایع در ژن ها می شود. استروژن با تاثیر در مرحله G1 در چرخه سلولی، سلول را وادار به تقسیم می کند و از آنجا که باعث تحریک تقسیم سلولی می شود شانس اشتباه درگیری های متعددی که از DNA حین تقسیم تهیه می شود افزایش می یابد لذا امکان جهش نیز بالا می رود [۲۱].

چاقی: چاقی نیز یک عامل خطر برای سرطان پستان به شمار می رود بخصوص اگر چاقی پس از سنین یائسگی باشد چرا که در این سنین بافت چربی منبع اصلی تولید استروژن در بدن است و بدن افراد چاق در معرض استروژن بیشتری قرار می گیرند [۲۲]. البته در برخی تحقیقات نشان داده شده است که ترکیباتی تحت عنوان Adipokine ها شامل Leptin و Adiponectin که از بافت چربی ترشح می شوند در زیست شناختی سرطان پستان در افراد چاق نقش دارند. این عوامل با فعال کردن گیرنده های استروژنی و افزایش رشد سلول ها از طریق القای تولید عروق جدید در سرطان پستان در افراد چاق اثر دارند. این عوامل در کاربری مهار آن ها در جهت مداخلات درمانی در سرطان پستان شایان توجه است [۲۳].

هورمون پروژسترون: استروژن سلول های هدف را وادار به ساخت گیرنده های مخصوص استروژن در سطح خود می کند. استروژن نه تنها این روند را برای گیرنده های مخصوص خود بلکه برای گیرنده های مخصوص پروژسترون نیز انجام می دهد یعنی با وادار ساختن بافت های هدف به ساخت گیرنده های پروژسترونی باعث تقویت اثرات پروژسترون روی سلول ها می شود [۲۴]. پروژسترون نیز مانند استروژن در مرحله G1 چرخه سلولی تاثیر می کند و مهار گیرنده های پروژسترونی نیز باعث تغییر در سیر تکاملی سرطان پستان می شود [۲۵]. البته هورمون های دیگری نیز در سرطان زایی پستان شرکت دارند. یکی از مهمترین آن ها پرولاکتین است که باعث القای میتوز، تحریک تکثیر و متوقف کردن روند آپوپتوز در سلول های سرطان پستان می شود. در تحقیقات اخیر اپیدمیولوژی از پرولاکتین به عنوان یک عامل خطر برای سرطان پستان یاد شده است که با تغییر در ساختار زیستی بافت پستان، اثر سرطان زایی خود را اعمال می کند [۲۶]. عوامل ژنتیکی نیز از مهم ترین عوامل خطر ابتلا به سرطان پستان هستند، در ادامه تغییرات ژنتیکی و بیولوژیکی سرطان پستان را مورد بحث قرار می دهیم.

۱-۲-۷-۲- عوامل ژنتیکی:

سه دسته از ژن های مهمی که جهش در آن ها موجب هموار شدن راه سرطانی شدن سلول می شود عبارتند از: