



کنگره بین المللی علوم و مهندسی

آلمان - هامبورگ

اسفند ماه ۱۳۹۶

ارزیابی متاستاز سرطان سینه به مغز استخوان در مدل موشی با استفاده از

Real Time-PCR

مرتضی هاتفی*^۱

۱- گروه زیست شناسی، واحد بناب، دانشگاه آزاد اسلامی، بناب، ایران

چکیده

زمینه و هدف: گسترش تومور از طریق سیستم گردش خون اندامهای دورتر بیماران مهم ترین دلیل مرگ ۹۰٪ در بیماران سرطان پستان است. شناخت ژن‌ها، پروتئین‌ها و شرایط ریز محیطی موثر بر فرایند متاستاز، می‌تواند به درک بهتر این فرایند مرگ بار و در نتیجه درمان مناسب آن کمک کند. رده سلولی توموری (4T1) توانایی متاستاز مؤثر به نواحی را که در سرطان پستان انسان الوده می‌شوند را دارد. در مطالعه اخیر، هدف بررسی و ارزیابی متاستاز سرطان سینه به مغز استخوان در مدل موشی با استفاده از Real Time-PCR می‌باشد.

روش بررسی: رده سلولی 4T1 از بانک سلولی انیستوپاستور ایران تهیه و در محیط کشت High Glucose DMEM با افزودن ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۲ درصد از انتی بیوتیک‌های پنی سیلین و استرپتوماسین در شرایط مرطوب با انکوباتر ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵ درصد CO₂ کشت داده شد و به موش‌ها تزریق شد. نمونه‌ها در فرمالین ۷ درصد فیکس شدند و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین میزان متاستاز مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام PCR سلول‌ها چندین بار با بافر نمکی فسفات شست و شو داده شد. و برای استخراج RNA به مدت ۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰rpm سانترفیوژ شد. برای انجام واکنش رونویسی معکوس مخلوط واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد و ۵ ثانیه در ۸۵ درجه سانتیگراد انکوبه شد.

یافته‌ها: با روند رو به رشد تومور، مرکز بافت توموری اولیه دچار نکروز شده بود و در حدود هفته ششم کلون‌های متاستاتیک روی بافت‌های کبد و مغز استخوان مشاهده شد. در بررسی‌های Real Time-PCR متاستاز سرطان سینه به مغز استخوان از ۱۰ نمونه ۶ نمونه (P=0/0002) مثبت اعلام شد و ۴ نمونه



کنگره بین المللی علوم و مهندسی

آلمان - هامبورگ

اسفند ماه ۱۳۹۶

(P=0/0005) منفی اعلام شد. جهت جلوگیری از پیشرفت بیماری و متاستاز به بافت های دیگر تشخیص و درمان به خصوص درمان تلفیقی در مراحل اولیه سرطان امری ضروری به نظر می رسد. بحث: تشخیص دیر هنگام و پیشروی سرطان به سمت متاستاز، درمان فرد به مخاطره می اندازد. متاستاز یکی از بزرگترین مشکلات درمان سرطان پستان می باشد. تکنیک مولکولی REAL TIME PCR در تشخیص سلول های توموری موجود در خون بیماران نسبت به تکنیک های سلولی مانند ایمونوهیستوشیمی از دقت بیشتری برخوردار است. با توجه به قابلیت رشد سریع و متاستاز تهاجمی رده ی سلولی 4T1 و طبق مطالعات قبلی، درگیری عوامل مختلف در متاستاز سریع این رده ی سلولی، غیر قابل چشم پوشی است. انتظار می رود که مطالعات کامل تر همانند کشف مسیرهای اصلی متاستاز و درمان آن بر روی این رده سلولی انجام گیرد.

واژه های کلیدی: متاستاز، سرطان سینه، مغز استخوان، Real Taim PCR

۱- مقدمه

سرطان پستان شایع ترین سرطان تشخیص داده شده و دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در میان خانمها است که سالانه ۱ میلیون مورد جدید از این بیماری تشخیص داده می شود. سن وقوع این بیماری در کشورهای توسعه یافته ۴۰-۵۰ سال می باشد در حالی که متاسفانه در ایران در سن ۳۰-۴۰ سالگی است. میزان شیوع این بیماری در زنان آسیایی در مقایسه با آمریکا و اروپای غربی تا حدودی کمتر است. همچنین زنان ساکن کشورهای صنعتی در مقایسه با سایرین، ریسک ابتلای بالاتری دارند که البته کشور ژاپن یک استثناء به شمار می آید.

متاستاز، علت اصلی مرگ در بیشتر بیماران مبتلا به سرطان پستان است. انتشار سلول های سرطانی در طی متاستاز از طریق خون، لنف و یا هر دو صورت می گیرد. پیشرفت تومور از محل اولیه (متاستاز) شاخص بیشتر تومورهای بدخیم است. در افرادی که دچار متاستاز می شوند تومور ثانویه در ۹۰ درصد موارد در استخوان و کبد تشکیل می شوند. استخوان محل اولیه و اصلی متاستاز است که فراوانی متاستاز استخوانی بیش از ۸۰ درصد می باشد. با ایجاد متاستاز، بیماری به مرحله غیرقابل درمان وارد می شود. هنگامی که اساس مولکولی متاستاز تومور بررسی می شود، بر روی تکثیر سلول های سرطانی و انتشار آنها از تومور اولیه تمرکز می گردد در حالی که وقایع مولکولی که در محل متاستاز اتفاق می افتد علت اصلی مرگ و میر است. از این رو، شناخت وقایع متاستاز و فهم ارتباط آن با خصوصیات مولکولی تومور اولیه و همچنین، تشخیص زودهنگام و دقیق سرطان در مراحل اولیه، مفید است. از طرفی، به منظور قابل استفاده بودن نتایج حاصل از تحقیق در موارد انسانی، استفاده از مدل هایی که