

The Effect of Progesterone on the Viability of MCF-7 Cell Line and Evaluation of Expression of P53, BAX and BCL-2 Genes

Hadis Rostami Motamed¹ , Mehrdad Shariati¹ , Rahim Ahmadi^{2*} , Saeed Khatamsaz¹ , Mokhtar Mokhtari¹ 

¹Department of Biology,
School of Basic Sciences,
Kazerun Branch, Islamic
Azad University, Kazerun,
Iran.

²Department of Biology,
School of Basic Sciences,
Hamadan Branch, Islamic
Azad University, Hamadan,
Iran.

*Corresponding Author:

Rahim Ahmadi;
Department of Biology,
School of Basic Sciences,
Hamadan Branch, Islamic
Azad University, Hamadan,
Iran.

Email:
r-ahmadi@iauh.ac.ir

Received: 16 Apr, 2019
Accepted: 27 Jul, 2019

Abstract

Background and Objectives: Researches have shown that progesterone influences the viability of breast cancer cells. The purpose of this study was to investigate the effect of progesterone on the viability of MCF-7 cell line and evaluation of Expression level of *P53*, *Bax*, and *Bcl-2* Genes.

Methods: In this laboratory-experimental study, MCF-7 cells were purchased from Pasture institute and divided into control group and the group received progesterone in the concentrations of 0.001, 0.01, 0.1, 1, and 10mg/mL. The viability of the cells was assessed using MTT assay. The relative expression level of *P53*, *Bax*, and *Bcl-2* genes was investigated by Real Time PCR technique. Data analysis was performed using one-way ANOVA and independent samples t-test.

Results: Exposure to 10mg/ml of progesterone resulted in decreased viability of MCF-7 cells compared to the control group ($p < 0.001$). However, exposure to 0.001, 0.01, 0.1, and 1mg/ml of progesterone did not significantly alter the viability of the MCF-7 cells, as compared to the control group. The expression level of *P53* and *Bax* genes significantly increased in MCF-7 cells exposed to the concentration 2.5mg/ml of progesterone compared to the control group ($p < 0.05$ and $p < 0.001$, respectively), but, the expression level of *Bcl-2* gene significantly decreased compared to the control group ($p < 0.001$).

Conclusion: The results of this study revealed that high concentration of progesterone reduces the viability of MCF-7 cells and the cytotoxic effect of progesterone on MCF-7 cells is performed by induction of Bax dependent apoptosis and increased expression level of *P53* tumor suppressor gene. Accordingly, progesterone is important in the treatment of breast cancer.

Keywords: Progesterone; Apoptosis; MCF-7 cell.

DOI: 10.29252/qums.13.7.1

تأثیر پروژسترون بر زنده‌مانی رده سلولی MCF-7 و ارزیابی بیان ژن‌های P53، BAX و BCL-2

حدیث رستمی معتمد^۱، مهرداد شریعتی^۱، رحیم احمدی^{۲*}، سعید خاتم‌ساز^۱، مختار مختاری^۱

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات نشان داده‌اند پروژسترون بر زنده‌مانی سلول‌های سرطان پستان تأثیر گذار است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات پروژسترون بر زنده‌مانی رده سلولی MCF-7 و ارزیابی بیان ژن‌های P53، BAX و BCL-2 انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، سلول‌های MCF-7 پس از تهیه از بانک انستیتو پاستور، به دو گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده پروژسترون در غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تقسیم‌بندی شدند. زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از تست MTT اندازه‌گیری شد. سطح نسبی بیان ژن‌های P53، Bax و Bcl-2 با روش Real time PCR مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و تی تست مستقل آنالیز شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، مواجهه با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروژسترون سبب کاهش زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 در مقایسه با گروه کنترل شد ($p < 0/001$). اما مواجهه با غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروژسترون، در زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 در مقایسه با گروه کنترل، تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد. بیان ژن‌های P53، Bax در سلول‌های MCF-7 در مواجهه با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروژسترون نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری داشت (به ترتیب $p < 0/05$ ، $p < 0/001$)، اما بیان ژن Bcl-2 در مقایسه با گروه کنترل، دچار کاهش معنی‌داری شد ($p < 0/001$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد پروژسترون در غلظت بالا سبب کاهش زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 می‌شود و اثر سیتوتوکسیک پروژسترون بر سلول‌های MCF-7 از طریق القای آپوپتوز وابسته به Bax و افزایش بیان ژن ضد توموری P53 اعمال می‌گردد. براین اساس هورمون پروژسترون در درمان سرطان پستان، حایز اهمیت است.
کلیدواژه‌ها: پروژسترون؛ آپوپتوز؛ سلول‌های MCF-7.

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

^۲گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

رحیم احمدی؛ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

r-ahmadi@iauh.ac.ir

دریافت: ۹۸/۱/۲۷

پذیرش: ۹۸/۵/۵

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Rostami Motamed H, Shariati M, Ahmadi R, Khatamsaz S, Mokhtari M.
The effect of progesterone on the viability of MCF-7 cell line and evaluation of expression of P53, BAX and BCL-2 genes.
Qom Univ Med Sci J 2019;13(7):1-9. [Full Text in Persian]

سرطان‌ها ارتباط وجود دارد. در این راستا، نتایج مطالعات دیگر نشان می‌دهند پروژسترون یک فاکتور خطر برای سرطان پستان است (۱۱). همچنین مهار رشد سلول‌های سرطان پستان به وسیله پروژسترون با تغییر بیان ژن‌هایی همراه بوده که در توقف رشد و تمایز نقش دارند (۱۲). پروژسترون با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند با اثرات استرس اکسیداتیو مقابله کند. استرس اکسیداتیو باعث القای آپوپتوز از طریق افزایش سطح بیان ژن‌های پروآپوپتوتیک (*BAX*، *P53*) و کاهش بیان ژن‌های ضدآپوپتوزی (*BCL-2*) در سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۳).

در مقابل، برخی مطالعات نشان می‌دهند پروژسترون یا هورمون‌های جنسی بر روی سلول‌های سرطانی اثر سیتوتوکسیک نداشته و بر ژن‌های آپوپتوز نیز تأثیر قابل توجهی ندارند و سبب القای سرطان می‌شوند. نتایج مطالعه‌ای که در ارتباط با بررسی مکانیسم مولکولی آپوپتوز ناشی از پروژسترون در سلول‌های سرطانی پستان انجام شد، نشان داد پروژسترون به‌طور قابل توجهی باعث کاهش بیان *p53* می‌گردد (۱۴). همچنین داده‌های پژوهشی نشان دادند استروژن و پروژسترون تکثیر سلولی سرطان پستان را افزایش می‌دهند (۱۵).

با در نظر گرفتن شیوع قابل توجه سرطان پستان در جهان (۷) و ایران (۸)، همچنین عوارض جسمی، روانی و اقتصادی ناشی از ابتلا به این سرطان و با توجه به نتایج متضاد در حیطه پژوهش (۲۱-۱۳)، و محدودیت مطالعات پیشین، در مطالعه حاضر به بررسی اثرات پروژسترون بر زنده‌مانی رده سلولی MCF-7 و ارزیابی بیان ژن‌های *BAX*، *P53* و *BCL-2* پرداخته شد. یافته‌های حاصل از این تحقیق می‌تواند مبنایی جهت مطالعات کاربردی در این زمینه باشد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، ابتدا هورمون پروژسترون به صورت پودر از شرکت داروسازی ابوریحان تهران خریداری شد و جهت حل کردن پودر پروژسترون، ۱۰۰ لاندا DMSO به ۰/۱ گرم پودر پروژسترون اضافه گردید و ورتکس انجام گرفت، سپس بعد از افزودن یک میلی‌لیتر PBS مجدداً عمل ورتکس انجام شد.

پروژسترون، یک هورمون استروئیدی است که نقش مهمی در بسیاری از عملکردهای تولیدمثلی ایفا می‌کند (۱). اثرات متعدد و پیچیده پروژسترون بر روند تولیدمثل زنان از طریق اتصال به گیرنده‌های پروژسترونی و فعال شدن آن‌ها صورت می‌گیرد (۲). پروژسترون بر بافت‌های سرطان پستان نیز تأثیرات عمده‌ای اعمال می‌کند (۳).

در ارتباط با ژن‌های مرتبط با سرطان و آپوپتوز در سلول‌های سرطانی، مطالعه حاضر به ارزیابی بیان ژن‌های *Bcl-2*، *Bax*، *P53* پرداخت. ژن *P53* یک فسفو پروتئین هسته‌ای ۵۳ کیلودالتونی را کد می‌کند که عملکرد طبیعی آن محافظت از ژنوم بوده و سبب ترمیم ژنوم با القای مرگ می‌شود و در صورت عدم ترمیم، آنکو پروتئین *P53* سلولی باعث آپوپتوز شده و سلول‌های کارسینوماتیک را حذف می‌کند (۴). ژن *BAX* رمزگذار پروتئین *BAX* در انسان است. این پروتئین در تنظیم آپوپتوز نیز نقش دارد. همچنین بیان ژن *BAX* توسط سرکوبگر توموری *P53* تنظیم و در آپوپتوز وابسته به *P53* ایفای نقش می‌کند. داروها و مواد افزایش‌دهنده بیان این ژن خود موجب آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و اثرات ضد سرطانی می‌شوند (۵). وزن مولکولی پروتئین ژن *Bcl-2*، ۲۵ کیلودالتون است. این پروتئین فعالیت آنزیم‌های کاسپاز را تنظیم و سبب رهایی سیتوکروم C از میتوکندری و فعال شدن کاسپاز-۹، سپس کاسپاز-۳ و سرانجام مرگ سلول می‌گردد. پروژسترون، رشد سلول‌های سرطانی را با وجود استروژن مهار می‌کند (۶). سرطان پستان، شایع‌ترین بدخیمی و دومین علت مرگ‌ومیر در سراسر جهان است (۷). در کشور نیز از هر ۱۵-۱۰ زن، احتمال ابتلا یک زن به سرطان پستان وجود دارد (۸). ارتباط هورمون‌های استروئیدی با مهار یا القای سرطان‌ها، به‌ویژه سرطان پستان در موارد زیادی مورد بررسی قرار گرفته است. هورمون‌های استروئیدی، اثرات تکثیر یا ضد تکثیری بر سلول‌های سرطانی دارند (۹). مطالعاتی در زمینه تأثیر هورمون‌های استروئیدی جنسی بر سلول‌های سرطانی، به‌خصوص در حوزه اثرات آن‌ها بر ژن‌های آپوپتوزی، ضدآپوپتوزی و متابولیسم انجام گرفته است (۱۰) در مطالعات مختلف مشخص شده است بین تأثیر پروژسترون بر انواع مختلف

Archive of SID

برای بررسی بیان ژن‌های *Bax*، *Bcl-2* و *P53* در رده سلولی MCF-7، سلول‌ها به دو گروه کنترل و گروه مواجهه با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر پروژسترون که براساس غلظت‌های تست‌شده در آزمون MTT به روش رگرسیون محاسبه گردید (۲۲)، تقسیم‌بندی شدند. تعداد 5×10^5 سلول درون هر چاهک پلیت ۶ خانه‌ای کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار گرفتند. سپس غلظت ۲/۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر پروژسترون به سلول‌ها اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار داده شدند، در ادامه بعد از انجام عمل سانتریفوژ، کل RNA از رده سلولی MCF-7 (طبق دستورالعمل کیت Bioapp, Iran) استخراج شد، سپس سنتز cDNA

طبق دستورالعمل سازنده کیت (Takara, Japan) انجام گرفت. برای ارزیابی بیان ژن، از روش Real time-PCR و دستگاه AB-step one استفاده گردید. واکنش Real time-RT PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر به شرح زیر تهیه شد:

۱۰ میکرولیتر SYBR-Green PCR Master Mix، ۱ میکرولیتر cDNA، ۲ میکرولیتر از پرایمرهای رفت و برگشت، ۷ میکرولیتر آب مقطر.

در این مطالعه، پرایمر ژن‌های *P53*، *Bax*، *Bcl-2* و *GAPDH* با استفاده از نرم‌افزار Beacon Designer طراحی شدند (جدول). برنامه دمایی Real time-RT PCR در دستگاه AB-step one به شرح زیر بود:

۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه برای ۴۰ چرخه متوالی انجام گرفت. نتایج حاصل از آزمایش با روش $RQ=2^{-\Delta\Delta CT}$ مورد آنالیز قرار گرفت.

در ادامه، محیط کشت DMEM اضافه و حجم به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و متعاقباً رقت‌های لازم به روش سریالی تهیه گردید. در مرحله بعد، رده سلولی MCF-7 از انستیتو پاستور تهران خریداری و در محیط کشت DMEM، FBS و در انکوباتور (حاوی دی‌اکسید کربن ۵٪ و در دمای ۳۷ درجه) کشت داده شد. پس از اینکه، ۷۰ الی ۸۰ درصد کف فلاسک پر از سلول شد، عمل بازاریچه انجام گرفت. در ادامه، به منظور بررسی سنجش زنده‌مانی سلول‌های MCF-7، از تست MTT استفاده شد. برای انجام تست MTT در ابتدا بعد از شمارش سلولی با استفاده از رنگ‌تریبان‌بلو و لام نئوبار، تعداد 1×10^4 سلول در هر چاهک (پلیت ۹۶ خانه به مدت ۲۴ ساعت) کشت داده شد و داخل انکوباتور قرار گرفت، سپس براساس تحقیقات پیشین، از پروژسترون در غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر استفاده گردید و سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت با غلظت‌های مختلف پروژسترون تیمار شدند؛ برای این منظور، ۱۰۰ لاندا از هر غلظت پروژسترون به یک ردیف از چاهک‌ها اضافه شد و برای هر غلظت ۸ بار تکرار در دو آزمایش جداگانه انجام گرفت. از طرفی، یک ردیف از چاهک‌ها به عنوان گروه کنترل (بدون مواجهه با دارو) در نظر گرفته شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، محلول محیط کشت و هورمون را خارج کرده و به هر چاهک میزان ۱۰۰ لاندا رنگ MTT با غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر در تاریکی افزوده شد و به مدت ۳ ساعت داخل انکوباتور قرار گرفت. سپس محیط رویی را خارج کرده و ۱۰۰ لاندا DMSO به هر چاهک اضافه گردید. پس از ۱۵ دقیقه داخل دستگاه ELISA rider (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) قرار گرفت و میزان شدت رنگ حاصل با طول‌موج ۵۷۰ نانومتر به روش اسپکتروفوتومتری خوانده شد.

جدول: پرایمرهای ژن *P53*، *Bax*، *Bcl-2* و *GAPDH*

پرایمر	ژن
F: `°CATCTACAAGCAGTCACAGCACAT`۳'	<i>P53</i>
R: `°CAACCTCAGGCGGCTCATAG`۳'	
F: `°TTGCTTCAGGGTTTCATCCAG`۳'	<i>Bax</i>
R: `°AGCTTCTTGGTGGACGCATC`۳'	
F: `°TGTGGATGACTGAGTACCTGAACCC`۳'	<i>Bcl-2</i>
R: `°CAGCCAGGAGAAATCAAACAGAG`۳'	
F: `°CCCCTCTCCACCTTTGAC`۳'	<i>GAPDH</i>
R: `°CATACCAGGAAATGAGCTTGACAA`۳'	

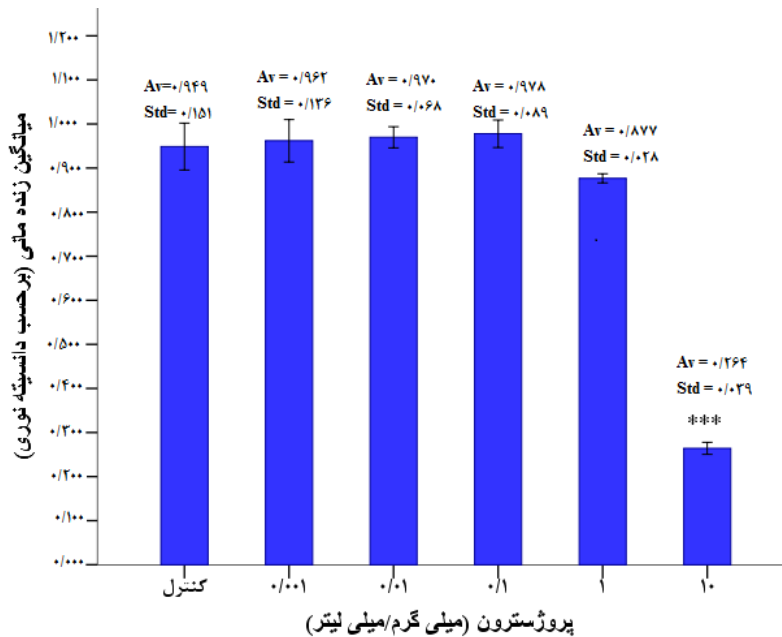
زنده‌مانی رده سلولی MCF-7 در مقایسه با گروه کنترل را نشان می‌دهد.

اختلاف معنی‌داری در زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 در گروه‌های دریافت‌کننده پروژسترون در غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. در مقابل، زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 در گروه دریافت‌کننده پروژسترون در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p < 0/001$) (نمودار شماره ۱).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۱، Excell، آزمون کولموگروف - اسمیرنوف، (برای وضعیت نرمال بودن داده‌ها)، آزمون واریانس یک‌طرفه، آزمون تعقیبی توکی و تی‌تست مستقل تجزیه و تحلیل شدند. اختلاف بین گروه‌ها در سطح $\alpha < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

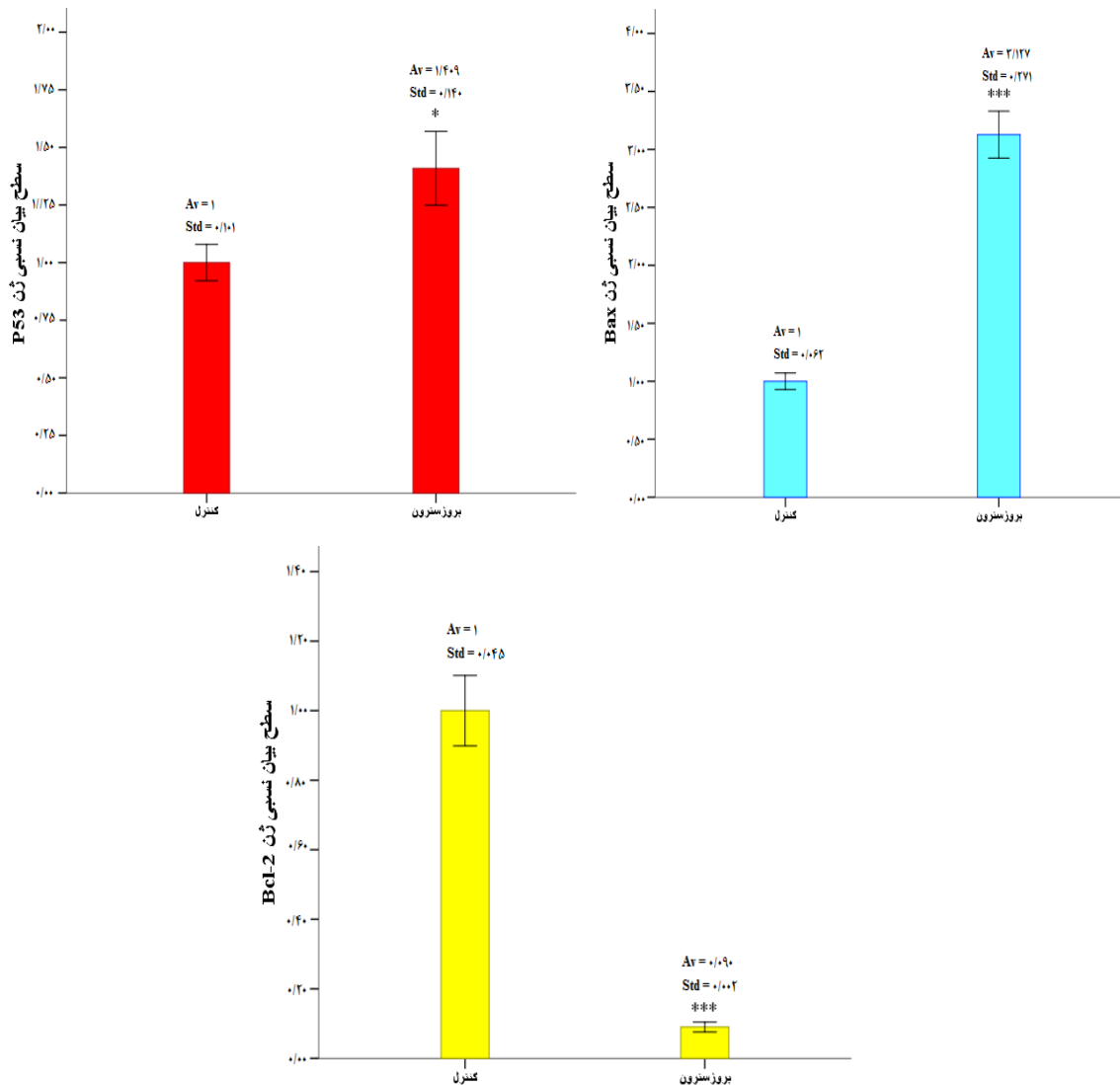
نمودار شماره ۱ مقایسه اثرات غلظت‌های مختلف پروژسترون بر



نمودار شماره ۱: مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف پروژسترون بر زنده‌مانی رده سلولی MCF-7. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده‌اند و حاصل ۸ بار تکرار در دو آزمایش جداگانه می‌باشند. * بیانگر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ($p < 0/001$).

همچنین سطح بیان نسبی ژن *Bax* در گروه دریافت‌کننده پروژسترون در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0/001$)، اما سطح بیان نسبی ژن *Bcl-2* در گروه دریافت‌کننده پروژسترون در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0/001$) (نمودار شماره ۲).

نمودار شماره ۲، بیانگر بیان نسبی ژن‌های *Bcl-2*، *Bax*، *P53* در رده سلولی MCF-7 دریافت‌کننده پروژسترون در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. سطح بیان نسبی ژن *P53* در رده سلولی MCF-7 در گروه دریافت‌کننده پروژسترون در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0/05$).



نمودار شماره ۲. بیان نسبی ژن‌های *P53*، *Bax*، *Bcl-2* در رده سلولی MCF-7 دریافت‌کننده پروژسترون در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با ژن کنترل (GAPDH).

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده‌اند و حاصل سه بار تکرار می‌باشند.

علائم * و *** بیانگر به ترتیب $p < 0.05$ و $p < 0.001$ در مقایسه با کنترل است.

بحث

غلظت پروژسترون، ارتباط مستقیمی با میزان ابتلای زنان زیر ۴۰ سال به سرطان پستان دارد (۲۳). اگرچه پروژسترون یک عامل محافظتی در برابر سرطان پستان است، اما یافته‌های مطالعات نشانگر آن است که پروژسترون می‌تواند یک سلول بنیادی حساس به تغییر را در غدد پستانی گسترش دهد (۲۴). در راستا با نتایج حاصل از این مطالعه، یافته‌های پژوهش‌های دیگر نیز نشان می‌دهد پروژسترون می‌تواند بیشترین اثر فعالیت سایتوتوکسیک را بر سلول‌های سرطان پستان (MCF-7) داشته باشد (۱۷). همچنین در مطالعه‌ای که بر روی رده سلولی T47D سرطان پستان انجام گرفت مشخص گردید پروژسترون در غلظت ۱۰ میکرومولار

در این مطالعه، پروژسترون در غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اثر معنی‌داری بر زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 نداشت، اما پروژسترون در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سبب کاهش زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 شد؛ بنابراین پروژسترون در غلظت بالا می‌تواند بر رده سلولی MCF-7 اثرسیتوتوکسیک داشته باشد. مطالعه‌ای نشان داد ترکیب استرادیول و انواع پروژسترون منجر به اثرات متفاوتی بر بیان گیرنده‌های استروژن و پروژسترون می‌شود و دارای اثرات متفاوتی نیز بر روی رشد سلول MCF-7 می‌باشد (۱۶).

Archive of SID

درمقابل، گزارش‌هایی مبنی بر اینکه پروژسترون در سلول‌های سرطان پستان T47D باعث کاهش بیان *P53* می‌شود، موجود است (۱۴). مطالعات پیشین نشان داده‌اند پروژسترون می‌تواند باعث مهار آپوپتوز در غشای جنینی و افزایش تنظیم بیان پروتئین‌های ضدآپوپتوزی *Bcl-2* گردد (۲۱). با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، پروژسترون سبب القای آپوپتوز در رده سلولی سرطان پستان شده و القای آپوپتوز در این سلول‌ها از طریق افزایش بیان نسبی ژن آپوپتوزی *Bax* و کاهش بیان نسبی ژن ضدآپوپتوزی *Bcl-2* اتفاق می‌افتد. در تحقیق حاضر پروژسترون باعث افزایش سطح نسبی بیان ژن ضدتوموری *P53* گردید و از این طریق در مقابله با سرطان پستان نقش داشت.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد هورمون پروژسترون قادر است در یک مسیر وابسته به دوز، سبب کاهش زنده‌مانی در سلول‌های سرطان پستان MCF-7 گردد که این امر را از طریق آپوپتوز وابسته به *Bax* اجرا می‌کند. همچنین پروژسترون بر روی سلول‌های سرطانی پستان دارای اثرات ضد توموری است که از طریق افزایش بیان نسبی ژن ضد توموری *P53* اعمال می‌کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دکتری مصوب دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون است. بدین وسیله از تمامی کسانی که در این پژوهش ما را یاری نمودند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

سبب مهار تکثیر سلول‌ها پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون می‌شود (۱۴). نتایج پژوهشی دیگر نشان داد پروژسترون رشد و متاستاز را در سرطان پستان سه‌گانه منفی از طریق گیرنده غشایی آلفا پروژسترون مهار می‌کند که وجود شواهدی مبنی بر اثرات ضدسرطانی مسیر غشایی گیرنده آلفا پروژسترون در درمان سرطان پستان سه‌گانه منفی (TNBC) انسانی، تأییدکننده این مطلب است (۱۱). در مطالعه‌ای دیگر مشخص گردید میزان بالای پروژسترون در اوایل بارداری با خطر کمتری در سرطان پستان با گیرنده پروژسترون - مثبت/گیرنده استروژن - مثبت در مادر همراه است (۱۸). همچنین نشان داده شده است یک‌بار استفاده از پروژسترون باعث افزایش زنده‌مانی در سلول‌های MCF-7 به صورت وابسته به دوز می‌شود که این یافته با نتایج مطالعه حاضر همسو نبود (۱۵).

در مطالعه حاضر پروژسترون با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سبب افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های آپوپتوزی *Bax*، *P53* و کاهش معنی‌دار بیان ژن ضد آپوپتوزی *Bcl-2* شد که با نتایج مطالعات پیشین که به بررسی اثر پروژسترون بر سرطان تخمدان و آندومتر پرداخته بودند همخوانی داشت (۱۳). پژوهش درباره اثرات استروژن و پروژسترون بر بیان ژن *BCL-2* در سلول‌های سرطانی تخمدان نشان داده است هورمون‌های استروئیدی قادرند سبب کاهش بیان ژن *BCL-2* شوند (۲۵). در مطالعه‌ای هورمون‌های جنسی زنانه (استروژن و پروژسترون) منجر به افزایش سطح بیان ژن *Bax* و کاهش سطح بیان ژن *Bcl-2* که اثر محافظت‌کننده‌ای بر ریسک ابتلا به سرطان دهانه رحم دارند، گردید (۱۹). نتایج پژوهشی دیگر نشان داد پروژسترون می‌تواند سبب القای آپوپتوز از طریق کاهش سطح بیان ضدآپوپتوزی *Bcl-2* شود (۲۰).

References:

1. Diep CH, Daniel AR, Mauro LJ, Knutson TP, Lange CA. Progesterone action in breast, uterine, and ovarian cancers. *J Mol Endocrinol* 2015;54(2):R31-53. PubMed
2. Sitruk-Ware R. Non-clinical studies of progesterone. *Climacteric* 2018;21(4):315-20. PubMed
3. Daniel AR, Knutson TP, Lange CA. Signaling inputs to progesterone receptor gene regulation and promoter selectivity. *Mol Cell Endocrinol* 2009;308(1-2):47-52. PubMed

4. Pleşan DM, Georgescu CV, Pătrână NI, Pleşan C, Stoica D. Immunohistochemical study of p53 and Ki67 in a group of patients with mammary carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* 2010;51(3):459-65. PubMed
5. Westphal D, Kluck RM, Dewson G. Building blocks of the apoptotic pore: how Bax and Bak are activated and oligomerize during apoptosis. *Cell Death Differ* 2014;21(2):196. PubMed
6. Foidart JM, Colin C, Denoo X, Desreux J, Béliard A, Fournier S, de Lignières B. Estradiol and progesterone regulate the proliferation of human breast epithelial cells. *Fertil Steril* 1998;69(5):963-9. PubMed
7. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases: breast cancer— epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ* 2000;321(7261):624-28. PubMed
8. Azizi E, Namazi A, Kaabinejadian S, Fouladdel S, Rezaei P, Ramezani M. Molecular analysis of MEN1 expression in MCF7, T47D and MDA-MB 468 breast cancer cell lines treated with adriamycin using RT-PCR and immunocytochemistry. *Daru* 2010;18(1):17-22. PubMed
9. Simoes BM, Alferez DG, Howell SJ, Clarke RB. The role of steroid hormones in breast cancer stem cells. *Endocrine Related Cancer* 2015;22(6):T177-86. PubMed
10. Christgen M, Christgen H, Heil C, Krech T, Länger F, Kreipe H, Lehmann U. Expression of KAI1/CD82 in distant metastases from estrogen receptor-negative breast cancer. *Cancer Sci* 2009;100(9):1767-71. PubMed
11. Zhou L, Zhou W, Zhang H, Hu Y, Yu L, Zhang Y, et al. Progesterone suppresses triple-negative breast cancer growth and metastasis to the brain via membrane progesterone receptor α . *Int J Mol Med* 2017;40(3):755-61. PubMed
12. Alkhalaf M, El-Mowafy AM. Overexpression of wild-type p53 gene renders MCF-7 breast cancer cells more sensitive to the antiproliferative effect of progesterone. *J Endocrinol* 2003;179(1):55-62. PubMed
13. Nguyen H, Syed V. Progesterone inhibits growth and induces apoptosis in cancer cells through modulation of reactive oxygen species. *Gynecol Endocrinol* 2011;27(10):830-6. PubMed
14. Im JY, Kim TH, Lee YJ, Kim IY, Kwack SJ, Byung Mu Lee, et al. Molecular mechanism of progesterone-induced apoptosis in human breast cancer T47D Cells. *J Cancer Prev* 2008;13(3):177-83. Link
15. Tian JM, Ran B, Zhang CL, Yan DM, Li XH. Estrogen and progesterone promote breast cancer cell proliferation by inducing cyclin G1 expression. *Braz J Med Biol Res* 2018;51(3): 1-7. PubMed
16. Chen FP, Chien MH, Chen HY, Huang TS, Ng YT. Effects of estradiol and progestogens on human breast cells: regulation of sex steroid receptors. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2013;52(3):365-73. PubMed
17. Chávez-Riveros A, Garrido M, Ramírez Apan MT, Zambrano A, Díaz M, Bratoeff E. Synthesis and cytotoxic effect on cancer cell lines and macrophages of novel progesterone derivatives having an ester or a carbamate function at C-3 and C-17. *Eur J Med Chem* 2014;82:498-505. PubMed
18. Fortner RT, Tolockiene E, Schock H, Oda H, Lakso HÅ, Hallmans G, et al. Early pregnancy sex steroids during primiparous pregnancies and maternal breast cancer: a nested case-control study in the Northern Sweden Maternity Cohort. *Breast Cancer Res* 2017;19(1):82. PubMed
19. Fonseca-Moutinho JA, Cruz E, Carvalho L, Prazeres HJ, De Lacerda MM, Da Silva DP, et al. Estrogen receptor, progesterone receptor, and bcl-2 are markers with prognostic significance in CIN III. *Int J Gynecol Cancer* 2004;14(5):911-20. PubMed
20. Hu Z, Deng X. The effect of progesterone on proliferation and apoptosis in ovarian cancer cell. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2000;35(7):423-6. PubMed
21. Wang Y, Abrahams VM, Luo G, Norwitz NG, Snegovskikh VV, Ng SW, Norwitz ER. Progesterone inhibits apoptosis in fetal membranes by altering expression of both pro-and antiapoptotic proteins. *Reprod Sci* 2018;25(8):1161-7. PubMed

22. Bigdeli R, Shahnazari M, Panahnejad E, Cohan RA, Dashbolaghi A, Asgary V. Cytotoxic and apoptotic properties of silver chloride nanoparticles synthesized using *Escherichia coli* cell-free supernatant on human breast cancer MCF 7 cell line. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2019;47(1):1603-9. PubMed
23. Kaaks R, Berrino F, Key T, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, et al. Serum sex steroids in premenopausal women and breast cancer risk within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst* 2005;97(10):755-65. PubMed
24. Alviggi C, Marci R, Vallone R, Conforti A, Di Rella F, Strina I, et al. High progesterone levels during the luteal phase related to the use of an aromatase inhibitor in breast cancer patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017;21(13):3134-8. PubMed
25. Xie YL, Yang YJ, Tang C, Sheng HJ, Jiang Y, Han K, et al. Estrogen combined with progesterone decreases cell proliferation and inhibits the expression of *Bcl-2* via microRNA let-7a and miR-34b in ovarian cancer cells. *Clin Transl Oncol* 2014;16(10):898-905. PubMed