پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۵ آذر سال ۱۳۹۱ (۹۱-۸۵)

رابطه ویروس اپشتن بار با سرطان پستان

زهرا طهماسبی فرد[۱]
فرزانه تفویضی[۲]
لیلا خجاره[۳]

چکیده

سابقه و هدف: سرطان پستان یکی از شایع‌ترین بدخیمی زنان در دنیاست. تشخیص زود هنگام این سرطان عامل کلیدی برای درمان آن است. سرطان پستان یک بیماری چند مرحله‌ای است که ویروس می‌تواند در آن نقش بازی کند. EBV به‌عنوان یک عامل مهم در ایجاد سرطان‌های انسان شناخته شده است. در این تحقیق رابطه بین EBV و سرطان پستان مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش ها: ۶۷ بلوک پارافینی از بافت سرطان پستان و ۵۳ بلوک پارافینی بافت غیر سرطانی پستان (۲۶ نمونه فیبروآدنوما و ۲۷ نمونه فیبروسیستیک) به‌عنوان شاهد جمع‌آوری شدند. پس از استخراج DNA با کیت (شرکت Roche)، همه نمونه‌ها برای حضور ژن بتاگلوبین بررسی شدند و نمونه‌های مناسب برای وجود DNA-EBV با روش PCR(Polymerase Chain Reaction) مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌ها با آزمون X^2 همگونی و نرم افزار SPSS.15 آنالیز شدند.

یافته‌ها: از ۶۷ نمونه بافت سرطان پستان ۲ مورد برای ژن بتاگلوبین منفی بودند و کنار گذاشته شدند. باقی نمونه‌ها از ۶۵ نمونه سرطان پستان ۲۳ مورد (۳۵/۳۸ درصد) و از ۵۳ نمونه شاهد ۱۱ مورد (۲۰/۷۵ درصد) (فیبروآدنوما ۷ مورد (۲۶/۹۲ درصد) و فیبروسیستیک ۴ مورد (۱۴/۸۱ درصد) برای DNA-EBV مثبت بودند. در مجموع از ۱۱۸ نمونه بررسی شده ۳۴ مورد (۲۸/۸۱ درصد) مثبت مشاهده شد.از لحاظ آماری شاخص کرامر برای عفونت EBV در نمونه‌های سرطانی و شاهد ۰/۴۶ بوده که نشان دهنده رابطه معنی‌دار است ($p = ۰/۰۱$).

استنتاج: از لحاظ آماری ارتباط معنی‌داری بین عفونت EBV و سرطان پستان وجود دارد. برای اثبات رابطه احتمالی اپشتن بار ویروس با سرطان پستان نیاز به بررسی‌های اپیدمیولوژیکی، بیولوژیکی و مولکولی است تا مکانیسم دخالت این ویروس در فرآیند سرطان‌زایی روشن شود.

واژه های کلیدی: سرطان پستان، اپشتن بار ویروس، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

مقدمه

در حال حاضر سرطان پس از بیماری‌های قلبی- عروقی، دومین علت مرگ را به خود اختصاص داده است(۱). سرطان پستان دومین عامل مرگ ناشی از سرطان‌ها به شمار می‌رود تقریباً از هر ۸ زن، یک نفر مبتلا به سرطان پستان می باشد که در اغلب اوقات منجر به برداشتن کامل بافت پستان، شیمی درمانی، پرتو درمانی و هورمون درمانی می گردد(۲). سرطان پستان، یک نوع سرطان به وجود آمده از بافت پستان است که

مولف مسئول: زهرا طهماسبی فرد- رودهن: بلوار امام، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی E-mail: Ztahmasebi@riau.ac.ir
۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن
۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند
۳. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی
تاریخ دریافت : ۹۰/۱۰/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۰/۱۲/۱۳ تاریخ تصویب : ۹۱/۹/۶

Archive of SID
www.SID.ir

عمدتاً لایه درونی غده‌های شیر یا لوبول‌ها (مجاری برای انتقال شیر) را درگیر می‌کند(۳). فاکتورهای اولیه خطر برای ایجاد سرطان شامل، سن(۴)، عدم باروری یا شیردهی(۵)، سطوح بالای هورمون‌ها(۶، ۷)، نژاد، وضعیت اقتصادی و کمبود ید در رژیم غذایی گزارش شده‌است(۸، ۹، ۱۰). محققین به دنبال سایر مسیرهای ایجاد کننده بیماری هستند.

سرطان پستان یک بیماری چند مرحله‌ای است که ویروس‌ها می‌توانند در یکی از این چند مرحله از فرایند بیماری‌زایی، نقش داشته باشند(۱۱). ویروس‌ها در گسترش انواع سرطان‌های مختلف، نقش دارند(۱۲). اخیراً تئوری اتیولوژی ویروسی در مورد فیزیوپاتولوژی سرطان پستان مطرح شده است. به‌علاوه نظریاتی در مورد القاء سرطان به‌وسیله عوامل عفونی متعدد با سرکوب کردن سیستم ایمنی از طریق انتقال از حیوان به انسان یا تأثیر مستقیم یا غیر مستقیم بر انکوژن‌ها مطرح شده است(۱۳). مهم‌ترین DNA ویروس‌هایی که به‌عنوان انکوژنیک در انسان‌ها شناخته شده‌اند شامل ویروس هپاتیت B، پاپیلوماویروس‌ها و EBV می‌باشند(۱۱). EBV یکی از هشت هرپس ویروس انسانی است که اولین بار به‌وسیله Epstein و Barr در سال ۱۹۶۴ شناسایی شد. محققین آن‌را عامل لنفوما که در بخش‌های خاصی از آفریقای شرقی شایع بود، می‌دانستند. علایم بالینی این لنفوما نیز توسط Dennis Burkitt بیان شد(۱۴). علاوه بر لنفومای بورکیت آفریقایی در لنفومای مرتبط با ایدز و لنفومای هوچکین در بیماران پیوندی نیز شناسایی شد. این DNA ویروس انکوژنیک، مرتبط با سایر بدخیمی‌ها نظیر سرطان ریه، سرطان معده(۱۱) سرطان‌هایی شبیه لنفواپی تلیال در غدد بزاقی و تیموس(۱۵، ۱۶) و لنفومای T-cell نیز شناخته شده است(۱۶).

اپشتن بار ویروس در شیر انسان وجود داشته و می‌تواند پس از انتقال DNA-EBV رشد سلول‌های شیری انسان را تحریک کند از طرف دیگر سلول‌های اپی‌تلیال نرمال پستان نیز با تماس مستقیم با این ویروس، آلوده می‌شوند(۱۷). ظاهراً مکانیسم‌های انکوژنیک EBV در سلول‌های لنفاتیک (منتهی به لنفوما می‌شوند) و سلول‌های اپی‌تلیال (که منجر به سرطان بینی- حنجره و سایر سرطان‌ها می‌شوند) متفاوت از یکدیگر است(۱۷). بیش از ۹۰ درصد جمعیت جوان دنیا به این ویروس آلوده‌اند. افراد آلوده مدت طولانی از زندگی خود، حامل این ویروس هستند. EBV از طریق تماس بزاقی منتقل شده و در طی عفونت حاد، اپی‌تلیوم سنگ‌فرشی مطبق حنجره را آلوده می‌کند اما بعد در طی عفونت پنهان در درون لنفوسیت‌های B قرار می‌گیرد(۱۸). ارتباط بین EBV و سرطان پستان هنوز مورد بحث است. برخی گزارشات شیوع EBV در سرطان پستان را تابیش از ۲۱-۵۱ درصد مطرح می‌کنند در حالی‌که سایر محققین قادر به شناسایی آن در نمونه‌های بافت سرطانی پستان نبوده‌اند(۱۸).ارتباط اتیولوژیکی بین EBV و بیماری تاکنون مشخص نشده است و نقش آن در ایجاد تغییر شکل سلول‌ها ناشناخته باقی مانده است. در این مطالعه، ما شناسایی ویروس را در نمونه‌های سرطان پستان و نمونه‌های طبیعی بافت پستان به روش PCR انجام دادیم تا مشخص شود که آیا ویروس در اتیولوژی سرطان پستان بیماران ایرانی نقش دارد یا خیر تا در صورت مثبت بودن نتایج از آن بتوان برای پیشگیری، تشخیص و درمان نیز استفاده کرد.

مواد و روش ها

تهیه نمونه و استخراج DNA

۶۷ نمونه بلوک پارافینه سرطان پستان و ۵۳ نمونه بلوک پارافینه بافت غیر سرطانی پستان (فیبروآدنوما و فیبروسیستیک) به‌عنوان شاهد از بیمارستان‌های امام خمینی، بوعلی و ۱۳ آبان جمع‌آوری شدند. نمونه‌های غیر سرطانی مربوط به افرادی بودند که به هیچ نوع بدخیمی در هیچ جای بدن مبتلا نبودند. بلوک‌های انتخاب شده مربوط به سال‌های ۱۳۸۴ تا ۱۳۸۹ شمسی

Archive of SID

www.SID.ir

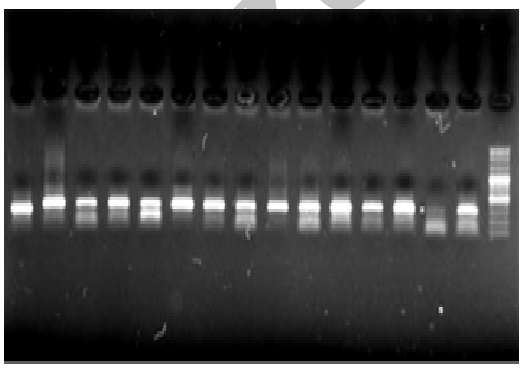
بودند و افراد جراحی شده میانگین سنی ۴۸ سال (حداقل ۳۳ سال و حداکثر ۵۶ سال) را داشتند. طیف سنی افراد شاهد انتخاب شده نیز، در طیف سنی موارد سرطانی قرار داشتند. با استفاده از دستگاه میکروتوم برش‌های بسیار نازک ۱۰ میکرونی به تعداد ۴ عدد از بلوک‌های پارافینی تهیه شد و در میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری اپندورف فاقد DNase/RNase ریخته شد. برای هر نمونه از دستکش یک‌بار مصرف، تیغ و اپلیکاتور نو استفاده گردید. بعد از دپارافینه کردن با Xylene و اتانول مطلق، DNA با استفاده از کیت استخراج شرکت Roche۱ مطابق با دستور کار ارائه شده توسط شرکت، استخراج گردید. روش استخراج به این ترتیب بود که ابتدا بافت‌های دپارافینه در ۱۰۰ میکرولیتر بافر لیز کننده بافت، ۱۶ میکرولیتر SDS ۱۰ درصد و ۴۰ میکرولیتر پروتئیناز K در ۵۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند تا بافت کاملاً لیز شود. بعد از افزودن ۳۲۵ میکرولیتر Binding Buffer و ۳۲۵ میکرولیتر اتانول مطلق، مخلوط بر روی ستون برده شد. سپس سه بار شستشو برای برداشتن مواد اضافی به کمک بافر شستشو انجام گرفت. DNA چسبیده به ستون با ۵۰ میکرولیتر بافر Eluted شستشو داده شد و تا زمان انجام PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

ارزیابی خلوص و کیفیت DNA استخراج شده

مقدار و خلوص DNA استخراج شده با استفاده از فتونا نومتر (IMPLEN GmbH, Germany) تعیین شد. نسبت جذب نوری (Optical Density: OD) طول موج‌های ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر سنجیده شد و نمونه‌هایی که این نسبت را در حدود ۱/۷ تا ۲ داشتند برای انجام PCR استفاده شدند. از طرف دیگر حدود ۲ میکرولیتر از هر نمونه بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برده شد تا آلودگی‌های احتمالی مشاهده شوند.

تکثیر ژن بتاگلوبین

پس از استخراج DNA، تمامی نمونه‌ها با پرایمرهای GH20,PCO4 ژن بتاگلوبین با ترادف‌های F: 5-GCTCGGTGCCTTTAGTGATGG-3 و R: PCR 5- CGATCCTGAGACTTCCACACTG-3 شدند تا قطعه‌ای به‌طول ۲۵۰ جفت بازبیر روی ژل مشاهده شود. نمونه‌های مناسب برای انجام تکثیر PCR از روی تکثیر ژن بتاگلوبین تعیین می‌شدند. تکثیر قطعات این ژن مناسب بودن محیط واکنش را برای انجام PCR نشان می‌داد. برای انجام واکنش، مخلوط ۲۰ میکرولیتری برای هر نمونه تهیه شد. ابتدا در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه گرم شدند و سپس برای ۴۵ چرخه تحت فرآیند PCR شامل تخریب در ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۶۶ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ ثانیه و طویل شدن قطعه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ ثانیه قرار گرفتند سپس در انتها برای یک چرخه نیز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بمدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. محصولات PCR جهت تأیید، بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند تا باند ۲۵۰ جفت بازی مشاهده شود (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: نشان دهنده تکثیر بتا گلوبین در نمونه‌های سرطانی و شاهد : چاهک ۱ تا ۱۰ نمونه های سرطانی، چاهک ۱۱ تا ۱۵ نمونه های غیر سرطانی (شاهد)، چاهک ۱۶ مارکر

1. Roche-Diagnostics Indianapolis, IN

Archive of SID
www.SID.ir

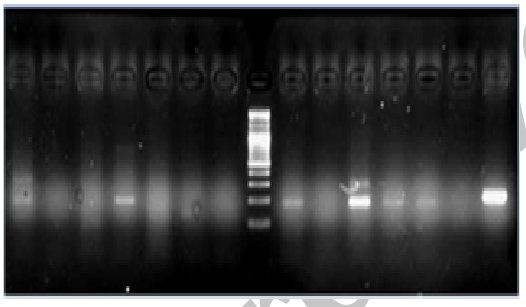
انجام واکنش PCR برای شناسایی EBV

تمامی نمونه‌های بتاگلوبین مثبت، برای شناسایی EBV-DNA تکثیر شدند. برای هر نمونه، در یک میکروتیوب ۰/۲ میلی‌لیتری ۱۲/۵ میکرولیتر Master mix (شرکت Ampliqon, Denmark)، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت، ۱μgDNA استخراج شده ریخته شد، سپس با آب مقطر حجم نهایی واکنش به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد و پس از اطمینان از محکم بسته شدن درب تیوب‌ها، آن‌ها در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفتند. هر چرخه تکثیری با پرایمرهای اختصاصی EBV (F: 5′ AGT CTG GGA AGA CAA CCA CA 3′ & R: 5′ CCC GCC TAC ACA CCA ACT AT 3′) شامل، مرحله تخریب اولیه با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای پنج دقیقه و ۴۰ چرخه شامل تخریب دو زنجیره در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، چسبیدن پرایمرها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و طویل شدن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و در انتها مجدداً در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه باقی می‌ماندند تا اطمینان حاصل شود که کاملاً محصول طویل شده است. سپس محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد که به آن رنگ اتیدیوم بروماید نیز افزوده شده بود، الکتروفورز شدند تا قطعات ۲۱۰ bp بر روی ژل آشکار گردد. در تمامی مراحل برای شناسایی آلودگی‌های احتمالی از کنترل مثبت (ویروس جدا شده از رده سلولی Lymphoblastoid) و کنترل منفی (آب به‌جای DNA) استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تکثیر ژن بتاگلوبین نشان می‌داد که از ۶۷ نمونه سرطان پستان۲ نمونه از لحاظ کیفی جهت تست PCR مناسب نبودند.تمامی DNA های مناسب، با پرایمرهای EBV تکثیر شدند. نتایج بیانگر این بود که از ۶۵ نمونه بافت سرطان پستان۲۳ مورد (۳۵/۳۸ درصد) و از ۵۳ نمونه شاهد۱۱ مورد (۲۰/۷۵ درصد) مثبت شدند. نمونه‌های شاهد در دو گروه فیبروآدنوما و فیبروسیستیک قرار داشتند. ۲۶ نمونه فیبرو آدنوما جمع‌آوری شده بود که از این تعداد ۷ مورد (۲۶/۹۲ درصد) مثبت شدند. از ۲۷ نمونه فیبروسیستیک نیز ۴ مورد (۱۴/۸۱ درصد) حاوی DNA-EBV بودند. در مجموع از کل نمونه‌های بررسی شده که شامل ۱۱۸ نمونه بود ۳۴ مورد (۲۸/۸۱ درصد) با روش PCR مثبت شدند. در تصویر شماره ۲ تعدادی از نمونه‌های مثبت و منفی در کنار کنترل مثبت (ویروس جدا شده از رده سلولی Lymphoblastoid) و کنترل منفی (از آب به‌جای DNA استفاده شد) نشان داده شده‌اند.

برای آنالیز آماری داده‌ها، از آزمون X^2 همگونی استفاده شد و با اطمینان ۹۹ درصد مشخص شد که بین ویروس اپشتن بار و سرطان پستان رابطه وجود دارد.



تصویر شماره ۲: نشان دهنده نتایج حاصل از تعدادی نمونه مثبت و منفی بیماران سرطانی و شاهد: از چاهک ۱ تا ۶: نمونه‌های شاهد (شماره ۱و ۴ مثبت و بقیه منفی)، چاهک ۷: نمونهء کنترل منفی، چاهک ۸ : مارکر، از چاهک ۹ تا ۱۴ نمونهء بیماران سرطانی (شماره ۹، ۱۱، ۱۲، ۱۳ مثبت و بقیه منفی)، چاهک ۱۵ : نمونهء کنترل مثبت(DNA تخلیص شدهء ویروس)

بحث

احتمال این‌که ویروس‌ها بتوانند در اتیولوژی سرطان پستان نقش داشته باشند اولین بار به‌وسیله Bittnerو همکارانش در سال ۱۹۳۶ مطرح شد. آن‌ها در شیر موش فاکتور ناشناخته‌ای را یافتند که می‌توانست

Archive of SID

www.SID.ir

سرطان پستان را در بزرگ‌سالی به‌وجود آورد. این فاکتور ناشناخته بعدها تومور ویروس پستان موش[1] نام گرفت(۱۷). نقش ویروس‌ها در سرطان پستان از زمان شناسایی این ویروس مطرح شد ولی توالی ژنوم ویروس‌هایی که در انسان‌ها یافت شدند، نشان نمی‌داد که بتوانند مستقیماً در سرطان‌زایی نقش داشته باشند(۱۲). در تحقیقی که توسط Speck و همکارانش انجام شد بر روی ۲۲ رده سلولی به‌دست آمده از سرطان پستان وجود EBV با روش PCR مورد بررسی قرار گرفت ولی در هیچ‌کدام از نمونه‌ها DNA ویروسی پیدا نشد(۱۹). آن‌ها دلیل منفی بودن نتایج خود را این‌گونه توجیه کردند که ویروس می‌تواند در انکوژنیستیه شرکت کند سپس آن‌جا را ترک نماید یعنی با مکانیسم Hit and Run عمل نماید. مشاهده EBV به شکل اپی‌زوم پایدار و کاهش ویروس در رده‌های سلولی تغییر شکل یافته بدون آنکه فنوتیپ تغییر شکل یافتگی آنها کاهش یابد، نشان دهنده این است که نقش EBV را در بسیاری از تومورهای ویروس منفی، نمی‌توان نادیده گرفت(۱۹، ۲۰).

در بررسی Mccall و همکارانش ۱ مورد از ۱۱۵ مورد بررسی شده از سرطان پستان برای EBV مثبت شد. این یافته با نتایجی که تا ۴۸ درصد مثبت گزارش شده بود، مغایرت داشت. آن‌ها دو دلیل برای بالا بودن نتایج مثبت سایرین مطرح کردندکه یکی آلودگی پنهان لنفوسیت‌ها به EBV بود زیراکه PCR نمی‌تواند بین سلول‌های نئوپلاستیک و لنفوسیت‌های آلوده تمایز قائل شود و دیگری استفاده از چرخه‌های بالای تکثیر تا حد ۸۰ چرخه بود که سبب به‌وجود آمدن نتایج مثبت بیشتری می‌شود(۲۱). در مجموع شواهد خاصی از ارتباط بین EBV و سرطان پستان با شناسایی ژن‌های EBV در سرطان‌های پستان به‌دست آمده است. حدود ۲۷ مطالعه بر روی EBV و سرطان پستان انجام شده که ۲۲ مورد بر اساس آنالیز PCR بوده است. سکانس‌های EBV در ۱۸ مورد از این مطالعات شناخته شده است. ۵ مورد از این مطالعات بر اساس ایمنوهیستوشیمی IHC و تکنیک‌های In situ هیبریداسیون ISH بوده که EBV در هیچ‌کدام از این مطالعات شناسایی نشده است. فقط در سه مطالعه از بافت‌های نرمال پستان زنان به‌عنوان کنترل استفاده شده وEBV در دو مورد از این مطالعات شناسایی نشده و در یک مورد از آن‌ها ۲۳ درصد در نمونه‌های سرطانی و ۳۵ درصد نمونه‌های کنترلی تشخیص داده شده است. از آن‌جا که ارزیابی ویروس با تکنیک‌هایی که بر پایه شناسایی پروتئین‌های ویروسی است، به دو دلیل لود پائین ویروس و این‌که EBV در حالت نهفته حداقل بیان پروتئینی را دارد، مشکل می‌باشد(۱۷) بنابراین ما از روش PCR استفاده کردیم. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، مشابه نتایج به‌دست آمده توسط محققین دیگر نظیر Mazouni (۳۳/۲ درصد موارد مثبت شناسایی کردند) (۲۲) Serene Perkins (۴۶ درصد مثبت گزارش کردند(۲۳)، Mathilde Bonnet (در ۵۱ درصد از تومورها مثبت شناسایی شده) بوده و حتی در گزارش دیگری که توسط Hratch Arbach ارائه شده، تعداد کپی‌های ژنوم EBV در نمونه‌های سرطان پستان محاسبه شده است(۱۵). یافته‌های ما نشان می‌دهد که احتمالاً اپشتن بار ویروس را می‌توان به‌عنوان یکی از عوامل آلودگی موجود در بافت‌های پستان در نظر گرفت. بررسی‌های بیشتر اپیدمیولوژیکی، بیولوژیکی و مولکولی لازم است تا مکانیسم دخالت این ویروس در فرآیند سرطان‌زایی روشن شود. با توجه به افزایش تعداد بیماری‌هایی مرتبط با عفونت EBV، تولید واکسن بر علیه این ویروس اهمیت زیادی پیدا می‌کند تا از این طریق از بیماری‌ها یا بدخیمی‌های مرتبط با این ویروس پیشگیری کرد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن و حمایت‌های

1. Mouse mammary tumor virus

Archive of SID
www.SID.ir

ریاست محترم آن واحد جناب آقای دکتر حیدری انجام گرفته است. ضمناً از معاونت محترم پژوهشی بیمارستان‌های امام خمینی، بوعلی و سیزده آبان که در تهیه نمونه‌های آزمایشگاهی کمال همکاری را داشتند و کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری دادند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Godazandeh GHA, Khani H, Khalilian AR, Âtarod Z, Firozjaee MA, Partovi A, et al. Knowledge and practice of above 15 years old females towards breast cancer prevention in Sari township, 2004. J Mazandaran Univ Med Sci 2006; 16(52): 64-76.
2. Heravi Karimovi M, Pourdehqan M, Jadid Milani M, Foroutan SK, Aieen F. Study of the effects of group counseling on quality of sexual life of patients with breast cancer under chemotherapy at Imam Khomeini Hospital. J Mazandaran Univ Med Sci 2006, 16(54): 43-51.
3. Sariego J. Breast cancer in the young patient. Am Surg 2010; 76(12): 1397-1400.
4. Steiner E, Klubert D. Assessing Breast Cancer Risk in Women. Am Fam Physician 2008; 78(12): 1361-1366.
5. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease.Lancet. 2002; 360(9328): 187-95.
6. Yager JD, Davidson NE. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. N Engl J Med 2006; 354(3): 270-282.
7. Santoro E, DeSoto M, Hong Lee J. Hormone Therapy and Menopause. National Research Center for Women & Families. 2009; Available from: http://www.center4research. org. Accessed September 29, 2012.
8. Venturi S. Is there a role for iodine in breast diseases? Breast 2001; 10(5): 379-382.
9. Aceves C, Anguiano B, Delgado G.Is iodine a gatekeeper of the integrity of the mammary gland? J Mammary Gland Biol Neoplasia. 2005; 10(2): 189-196.
10. Stoddard FR 2nd, Brooks AD, Eskin BA, Johannes GJ. Iodine alters gene expression in the MCF7 breast cancer cell line: evidence for an anti-estrogen effect of iodine. Int J Med Sci 2008; 5(4): 189-196.
11. Labrecque LG, Barnes DM, Fentiman IS, Griffin BE. Epstein-Barr virus in epithelial cell tumors: a breast cancer study. Cancer Res 1995; 55(1): 39-45.
12. Glaser SL, Hsu JL, Gulley ML. Epstein-Barr virus and breast cancer: state of the evidence for viral carcinogenesis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004; 13(5): 688-697.
13. Mazouni C, Fina F, Romain S, Ouafik L, Bonnier P, Brandone JM, et al. Epstein-Barr virus as a marker of biological aggressiveness in breast cancer. Br J Cancer 2011; 104(2): 332-337.
14. Lin JC. Antiviral Therapy for Epstein-Barr Virus-Associated Diseases. Tzu Chi Med J 2005; 17: 1-10.
15. Arbach H, Viglasky V, Lefeu F, Guinebretière JM, Ramirez V, Bride N, et al. Epstein-Barr virus (EBV) genome and expression in breast cancer tissue: effect of EBV infection of breast cancer cells on resistance to paclitaxel (Taxol). J Virol 2006; 80(2): 845-853.
16. Bonnet M, Guinebretiere JM, Kremmer E,

Archive of SID

www.SID.ir

Grunewald V, Benhamou E, Contesso G, et al. Detection of Epstein-Barr virus in invasive breast cancers. J Natl Cancer Inst 1999; 91(16): 1376-1381.

17. Lawson JS, Heng B. Viruses and Breast Cancer. Cancers 2010; 2(2): 752-772.
18. Thompson MP, Kurzrock R. Epstein-Barr virus and cancer. Clin Cancer Res 2004; 10(3): 803-821.
19. Speck P, Callen DF, Longnecker R. Absence of the Epstein-Barr virus genome in breast cancer-derived cell lines. J Natl Cancer Inst 2003; 95(16): 1253-1255.
20. Ambinder RF. Gammaherpesviruses and "Hit- and-Run" oncogenesis. Am J Pathol 2000; 156(1): 1-3.
21. McCall SA, Lichy JH, Bijwaard KE, Aguilera NS, Chu WS, Taubenberger JK. Epstein-Barr virus detection in ductal carcinoma of the breast. J Natl Cancer Inst 2001; 93(2): 148-150.
22. Mazouni C, Fina F, Romain S, Ouafik L, Bonnier P, Brandone JM, et al. Epstein-Barr virus as a marker of biological aggressiveness in breast cancer. Br J Cancer 2011; 104(2): 332-337.
23. Perkins RS, Sahm K, Marando C, Dickson-Witmer D, Pahnke GR, Mitchell M, et al. Analysis of Epstein-Barr virus reservoirs in paired blood andbreast cancer primary biopsy specimens by real time PCR. Breast Cancer Res 2006; 8(6): 1-8.

Archive of SID

www.SID.ir