Archive of SID

بررسی همزمان بیان ژن *BXLF2* ویروس EBV و ژن *PR/ER* انسانی در کارسینوم پستان بیماران مراجعه کننده به بیمارستان بین‌المللی تبریز

الهام ندیم[1]، چنگیز احمدی زاده*[2]

۱- گروه ژنتیک مولکولی ، واحد اهر ، دانشگاه آزاد اسلامی ، اهر، ایران

۲-گروه میکروبیولوژی، واحد اهر ، دانشگاه آزاد اسلامی ،اهر،ایران

یافته / دوره بیست و یکم / شماره ۲ / تابستان ۹۸ / مسلسل ۸۰

چکیده

دریافت مقاله: ۹۷/۱۰/۱۰ پذیرش مقاله: ۹۸/۴/۱

مقدمه: سرطان پستان در عصر حاضر، شایعترین سرطان در بین زنان بوده و یک بیماری چند مرحله ای است. ویروس EBV به عنوان یک عامل مهم در ایجاد سرطان های انسان شناخته شده است. رشد سرطان پستان در انسان اغلب با هورمون های استروئیدی نظیر استروژن و پروژسترون تنظیم می شود این مطالعه با هدف بررسی همزمان بیان ژن *BXLF2* ویروس EBV و ژن *PR/ER* انسانی درسرطان پستان بیماران مراجعه کننده به بیمارستان بین‌المللی تبریزمی باشد

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی–مقطعی بر روی ۵۰ نفر از زنان با میانگین سنی ۵۷/۳ سال مورد بررسی قرار گرفت و استخراج DNA ژنومی از بافت های نمونه به روش نمک اشباع انجام شد. سپس سنتز cDNA ازRNA های استخراج شده انجام گرفت و در نهایت بیان ژن *BXLF2* و کشف ژنوم EBV و تعیین ژن *PR/ER* با استفاده از روش Real-time PCR انجام گرفت.

یافته‌ها: با بالا رفتن مرحله بیماری سرطان پستان تغییر بیان *ER* به صورت معنی‌دار افزایش یافته و با بالا رفتن مرحله بیماری سطح بیان *PR* کاهش معنی‌داری را نشان می دهد (*p-value*=۰/۰۰۴۳). ارتباط ضعیفی بین سن و تیتر ویروسی مشخص شد. ارتباط معنی‌دار بین حضور تغییر بیان ژن گیرنده‌ی پروژسترون و لود ویروس در فرد مبتلا وجود دارد. (*P-value*≤ ۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری: در گیرنده های پروژسترونی، بیان ژن گیرنده ها در سه مرحله ی اول تقریبا در یک حدود بود و سپس کاهش یافت و درگریدهای مختلف نیز با افزایش مراحل، بیان گیرنده ی استروژنی افزایش یافت. ارتباط ضعیفی بین سن و تیتر EBV به دست آمد (*P-value*≤ ۰/۰۰۱).

واژه‌های کلیدی: ویروس اپشتین بار، کارسینوم پستان، ژن *PR/ER*، ژن *BXLF2*.

*آدرس مکاتبه: دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر.

پست الکترونیک: dr_ahmadizadeh@yahoo.com

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019

مقدمه

سرطان سینه یکی از دلایل مهم مرگ و میر در زنان می‌باشد. سرطان سینه، تکثیر بی رویه سلول‌های اپیتلیال است که مجاری پستان را می پوشانند. خطر عواملی همانند قاعدگی زودرس، یائسگی با تاخیر، نازایی یا سن زیاد در هنگام اولین زایش ممکن است مسئول ایجاد کننده سرطان سینه باشند. سرطان سینه یک روند پیچیده و چند عاملی است و تعداد زیادی از مطالعات اپیدمیولوژیکی برای شناسایی عوامل خطر متعددی برای سرطان سینه انجام شده است که شامل فاکتورهای متعدد است (۱). سرطان سینه یک بیماری نامتجانس با ویژگی‌های پاتولوژیکی همانند مورفولوژی، درجه و پروفایل گیرنده‌ی هورمون است که به منظور تشخیص گروه‌ها بر اساس ویژگی‌های بالینی و بیولوژیکی استفاده می‌شود.

برای دو دهه تصور بر این بود که ویروس اپشتین بار عامل سرطان سینه در زنان می‌باشد (۲). سلول‌های سرطان سینه طیفی از گیرنده‌های فاکتور رشد را بیان می‌کنند که این فاکتورها، طبقه بندی مولکولی بیماری را بررسی می‌کنند (۳). این موارد بیان شده، گیرنده‌های هورمونی استروئیدی، گیرنده‌های استروژنی (Estrogen)، گیرنده‌های پروژسترونی (Progesterone) و گیرنده های آندروژنی (Androgen) می‌باشند. در بخشی از گیرنده‌های هورمونی استروئیدی کلاسیک؛ برخی از این‌ها دارای گیرنده‌های داخل هسته‌ای می‌باشند (Progesterone، Androgen، Estrogen) و گیرنده‌های استروئیدی باند شده با غشاء شناسایی شده‌اند (mESR، mPGR وmAR). گیرنده‌های استروژن دو نوع α و β دارند، نوع α برای رشد مجاری پستانی طی دورهٔ بلوغ ضروری است. ولی در سرطان پستان زمانی که ظهور گیرندهٔ ER نوع β بیشتر باشد، عاقبت بهتری برای بیمار رقم میزند و بیمار دورهٔ حیات بدون بیماری طولانی‌تری خواهد داشت (۴،۵). از طرفی پروژسترون پرولیفراسیون را مهار و با افزایش مدت تماس می‌تواند سبب محدودیت رشد سلول‌های اپی تلیال پستان شود (۶). وجود این گیرنده‌ها در یک تومور پستان پاسخ آن‌ها را به درمان‌های هورمونی از ۵۵ درصد تا ۸۰ درصد بالا می‌برد (۷).

ویروس اپشتین بار در همه جا وجود دارد و می‌تواند بیش از ۹۰٪ از کل جمعیت را درگیر خود سازد و نشان داده شده است که با چندین نوع سرطان از جمله لنفوم بورکیت، بیماری تکثیری لنفاوی پس از پیوند، لنفوم هوجکین ارتباط دارد. ژن‌های لایتیک ویروس اپشتین بار اغلب پروتئین‌های ساختاری را کد می‌کنند که می‌توانند به دو گروه گلیکوپروتئینی و غیرگلیکوپروتئینی گروه بندی می‌شوند (۸). گروه‌های گلیکوپروتئینی شامل BDLF3، BILF2، BXLF2، BALF4 و BLLF1 گروه‌های غیرگلیکوپروتئینی BCLF1، BNRF1 و BXRF1 می‌باشد. این مطالعه به منظور بررسی همزمانی بیان ژن BXLF2 ویروس EBV و ژن PR/ER انسانی در کارسینوم پستان بیماران ارجاع داده شده به بیمارستان بین‌المللی تبریز انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای تعیین تعداد مناسب نمونه جهت این بررسی از نرم افزار محاسبهٔ حجم نمونه PS و با به کار بردن ضرایب e، r و z در فرمول محاسباتی N=Z2R/E2، با فاصله اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. فراوانی مشاهده شده در کشورهای همسایه ترکیه، مبنا و اساس تعیین حجم نمونه قرار گرفت و سطح معنی داری ۰/۰۵ برای رد شدن فرضیه صفر مد نظر قرار گرفت، بیماران بالینی توسط پزشک متخصص بعد از بررسی و تشخیص سرطان پستان بر اساس گزارش پاتولوژیست، سابقه خانوادگی، و دوره بالینی مشخصه این بیماری، انتخاب شدند. ۵۰ نمونه از سال ۱۳۸۹تا ۱۳۹۵ با تشخیص پاتولوژیک سرطان سینه جمع‌آوری شده بود. فاکتورهای ورود بیماران به مطالعه : تشخیص قطعی سرطان سینه با دارا بودن نتایج پاتولوژیک

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019

مثبت، دارا بودن سابقه فامیلی مثبت، میانگین سنی بین ۲۸ الی ۷۳ سال، حاضر بودن بیمار دریکی از مراحل چهارگانه کارسینوم پستان و درجه بندی دقیق پاتولوژیست بود. پس از استخراج DNA از نمونه‌های خون کامل با روش نمک اشباع، کیفیت و کمیت DNA استخراج شده تعیین گردید. برای استخراج RNA از نمونه‌هاrDNase و بافر MW2 تهیه و سپس حل کننده ی پارافین به نمونه ها افزوده شد و نمونه ها انکوبه و سانتریفیوژ شدند. بافر MLF به آن اضافه و نمونه سانتریفیوژ شد. پارافین سپس حذف شد. برای لیز نمودن نمونه ها، پروتئیناز اضافه ونمونه ها، انکوبه شدند. سپس بافر MKA اضافه شد و بمدت ۵ دقیقه بر روی یخ نگهداری و سپس سانتریفیوژ شدند. ذرات معلق روشن به میکروتیوب انتقال داده انکوبه شد. بافر MX اضافه ومخلوط شد و برای یک دقیقه در درجه حرارت اتاق انکوبه و نمونه سانتریفیوژ شدند. RNA با استفاده از کیت AID First Strand cDNA synthesi kit Revert محصول شرکت (Fermentase) بهcDNA تبدیل شد. کنترل داخلی و ژن مورد نظر: ژن خانه دار بتا اکتین که به طور معمول در مطالعات بیان ژن در سرطان پستان استفاده می شود، به عنوان کنترل داخلی انتخاب گردید. پرایمر ها توسط نرم افزار oligo طراحی شدند. سنجش کمی بیان ژن های ER و PR با استفاده از روش SYBR-green Real Time RT-PCR انجام شد. به این منظور از کیت (SYBR-green Real Time RT-PCR، TAKARA) (ژاپن) استفاده شد.جهت ارزیابی صحت و کیفیت واکنش Real-Time PCR، منحنی ذوب (Melting curve) مورد بررسی قرار گرفت. برای آنالیز داده ها، ΔCT ژن در هر نمونه از افتراق CT ژن مربوطه و CT ژن β-actin به عنوان رفرنس محاسبه شد. برای آنالیز نهایی داده های به دست آمده با استفاده از روش آماری ANOVA و به کار گیری نرم افزار SPSS17 اقدام شد. ارزش معنی داری هر یک از داده های حاصل، با فاصله اطمینان ۹۵٪ و ضریب اطمینان۰/۰۵ سنجش شده و گزارش گردید. پس از اتمام کارهای آزمایشگاهی با به کار بردن قانون هاردی واینبرگ میزان فراوانی مورد انتظار و مشاهده شده محاسبه و وارد محیط SPSS شد. برای مقایسه میانگین تعداد الل های جهش یافته در جامعه مورد مطالعه از روش آنالیز واریانس استفاده شد. فرض صفر در آنالیز واریانس برابر بودن میانگین متغیر وابسته در تمام سطوح متغیر مستقل است. اگر سطح معنی داری آزمون کمتر از ۰/۰۵ باشد فرض صفر رد شد. در جدول آنالیز واریانس مجموع مربعات تیمارها، درجات آزادی، میانگین مربعات، آماره F و سطح معنی داری آنالیز واریانس محاسبه شد.

یافته‌ها

نمونه های جمع آوری شده بین سالهای ۱۳۸۹ الی ۱۳۹۵ در گروه بندی های پاتولوژیک قرار گرفت و جدول دموگرافیک آنها ترسیم شد. پس از به دست آمدن تغییرات بیان ژن های گیرنده استروژن و پروژسترون، در تمامی موارد مورد مطالعه، بیماران در دو گروه تقسیم شده و لود ویروسی EBV با به کارگیری بیان ژن BXFL2 و با به کارگیری کیت شرکت Genome diagnostic به شماره کاتالوگ 9111009 مطالعه شد. منحنی استاندارد مربوط به استانداردهای ۱ الی ۸ درون کیت، طبق دستورالعمل پیشنهادی کیت، ترسیم و گزارش شد. برای دنبال کردن تیتر ویروسی افراد مبتلا به سرطان سینه و عفونت با EBV و سن آنها ارتباط پیرسون مابین تیتراژ ویروسی برقرار شد و با به دست آمدن R=۰/۰۵۲۹ و R2= ۰/ ۰۰۲۸

ارتباط ضعیفی ما بین سن و تیتر ویروسی به دست آمده مشخص شد.

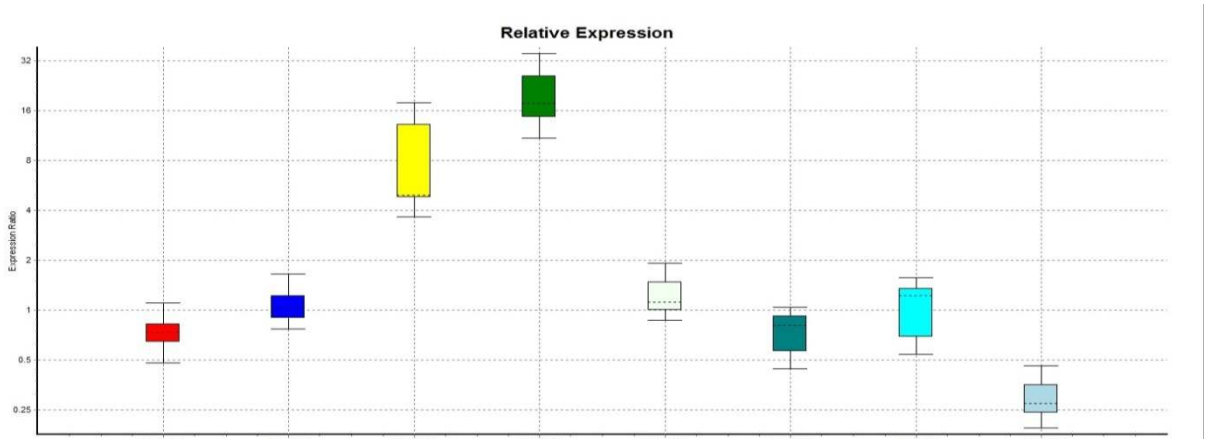
برای به دست آوردن وجود یا عدم وجود ارتباط خطی ما بین تغییر بیان ژن های ER و PR و تیتراژ ویروس در

www.SID.ir

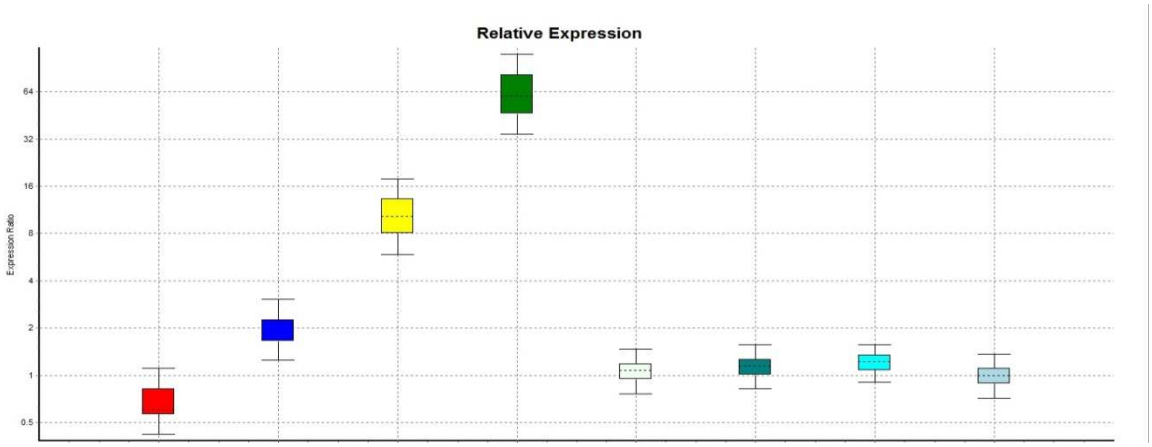
Archive of SID

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019

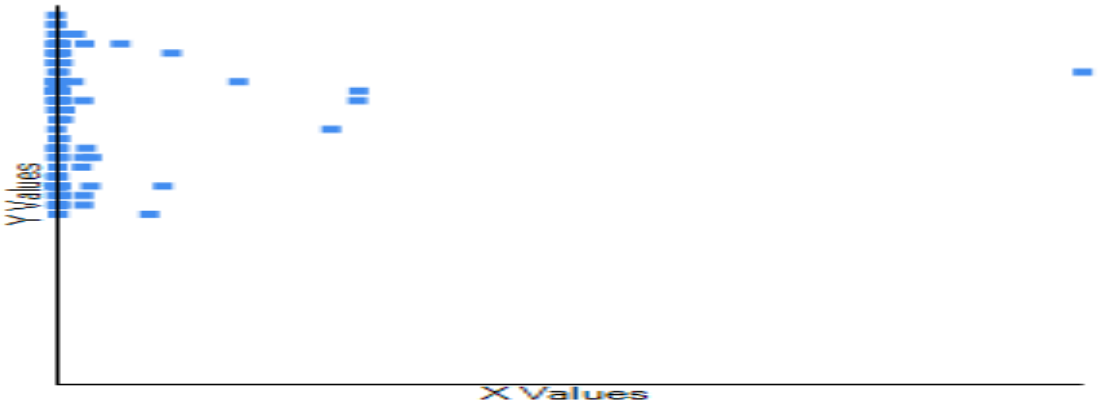
ارتباط معنی داری پیرسون بر اساس لود ویروس مورد مشاهده شده و تغییر بیان مورد انتظار محاسبه شده و مشخص شد. ارتباطی معنی دار مابین حضور تغییر بیان ژن PR و لود ویروس در فرد مبتلا وجود دارد. به طوریکه افرادی که کپی ویروسی بالای ۵۰۰ داشتند، تغییر بیان به صورت میانگین ۷/۹ بالاتر از سطح مورد انتظار بود. این میزان تغییر بیان در رابطه معنی داری قرار گرفت و با فاصله معنی داری ۹۵ درصد، ارتباط معنی داری مابین لود ویروس در فرد مبتلا و حضور تغییر بیان ژن PR در همان فرد به دست آمد (CI=۰/۰۴۹، p=۰/۰۰۴۳ و R=۰/ ۶۸۳۸ و R2=۰/ ۴۶۷۶)



نمودار۱. Whiskers با فاصله اطمینان ۹۵ ٪ مشخص کننده تغییرات بیان ژن های ER و PR در مراحل مختلف کارسینوم پستان



نمودار۲.Whiskers با فاصله اطمینان ۹۵ ٪، مشخص کننده تغییرات بیان ژنهای ER و PR در گریدهای مختلف کارسینوم پستان



نمودار۳. ارتباط نسبی مابین سن افراد حاضر در مطالعه و تیتر بیانی ژن مربوط به EBV

www.SID.ir

Archive of SID

نمودار۴. ارتباط نسبی مابین تغییر بیان ژن PR در افراد حاضر در مطالعه و تیتیر بیانی ژن مربوط به EBV

جدول ۱. پرایمرهای استفاده شده

نام پرایمر	توالی پرایمر $5'-3'$	اندازه محصول PCR بر اساس جفت باز	Tm پرایمر بر اساس درجه سانتیگراد
ER-F	TGCCCAGGGCCAAAGAGAAT	۱۲۲	۶۱/۸۰
ER-R	GAAACTGGGAAGCACAGCGG		۶۱/۸۶
PR-F	AGAAGGGCTTCTCCATCGCC	۱۲۳	۶۱/۹۸
PR-R	CCTTGGTCTTGGCTCCCACA		۶۲/۰۷
BXLF2-F	TGGACACGGAAACGCTGACT Plus	۱۸۸	۶۲/۰۲
BXLF2-R	GGATTGCATGCCCTTGACCG Minus		۶۲/۰۱

جدول۲. مشخصات بالینی بیماران شرکت داده شده در مطالعه

	تعداد بیماران (٪)
۵۰ (۱۰۰)	همه بیماران
نوع تومور بافت شناسی	
۳۸ (۷۶)	کارسینوم مجرای تهاجمی
۱۲ (۲۴)	کارسینوم لوبولار نفوذی
وضعیت گیرنده استروژن	
۲۹ (۵۸)	مثبت
۱۵ (۳۰)	منفی
۶ (۱۲)	n.a.
دخالت گره لنفاوی	
۱۴ (۲۸)	N0
۲۹ (۵۸)	N+
۷ (۱۴)	n.a.
درجه تومور	
۰ (۰)	۱
۴۱ (۸۲)	۲
۷ (۱۴)	۳
۲ (۴)	۴
مرحله تومور	
۱۲ (۲۴)	۱T
۳۳ (۶۶)	۲T
۱ (۲)	۳T
۴ (۸)	۴T
۵۷/۳	سن متوسط (محدوده)

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان سینه و تخمدان در بین زنان کل دنیا شایع‌ترین سرطان‌ها همراه با سرطان رحم محسوب می‌شود. خطر ابتلا به این بیماری، بعد از سنین ۴۰ و ۵۰ سالگی افزایش می‌یابد. (۹) که این گفته تا حدودی اطلاعات بدست آمده در این مطالعه را برای سن افراد که ۵۷,۳ سال بطور میانگین می‌باشد را تأیید می‌کند. اعتقاد بر این است که بدن زنان در سیکل‌های قاعدگی ماهانه در معرض استروژن‌های تخمدان قرار می‌گیرد، هر چه تعداد سال‌هایی که یک زن عادت ماهانه می‌شود بیشتر باشد او به مدت طولانی تری در معرض این هورمون قرارگرفته و امکان ابتلا به این نوع سرطان افزایش می‌یابد (۱۰). در یک مطالعه توسط ریچاردسون و همکاران نشان دادند که بیشتر زنان دارای سرطان سینه در گروه سنی ۴۰ تا ۵۴ سال بودند (۱۱). بنابراین مشابه به یافته‌های این مطالعه اکثر مطالعات نیز نشان داده اند که سن افراد مبتلا به

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019

سرطان سینه بیشتر در محدوده‌ی بیش از ۵۰ سال می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که سرطان سینه‌ی داکتال تهاجمی دومین نوع از سرطان‌های سینه می‌باشد (۱۲). نیکلسون و همکاران نشان دادند که در سرطان سینه ارتباطی بین گره‌های لنفاوی و فاکتورهای رشد اپیدرمی وجود دارد. همانگونه که مشخصات بالینی نشان داد بیشتر افراد در گرید ۲ و همچنین در مرحله‌ی دوم سرطان بودند و در دیگر مراحل وگریدها درصد کمی از افراد وجود داشت(۱۳). بیشتر مطالعات ارتباطی بین سن و گرید را نشان داده اند که متاسفانه در این مطالعه بررسی نشده است و ممکن است که سن افراد بیشتر در محدوده‌ی گرید ۲ بوده باشد. مطالعات نشان داده است که سرطان‌هایی که دارای مقادیر بالاتری از گیرنده‌های هورمونی هستند نسبت به آنهایی که فاقد گیرنده هستند، پیش آگهی بهتری دارند (۱۴). در مطالعه‌ای توسط تابعی و همکاران نیز فراوانی موارد مثبت گیرنده‌های استروژن در سنین زیر ۵۰ سال و هم بالای ۵۰ سال تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، آنها ارتباط سن با گرید را بررسی نمودند و یافتند که بیشتر تومورهای درجه یک در زیر ۵۰ سال قرار دارد. در این مطالعه، با افزایش گرید از ۱ به ۴ میزان بیان گیرنده‌های استروژنی بطور معنی داری افزایش یافت ولی وضعیت گیرنده‌های پروژسترونی تحت تأثیر قرار نگرفت(۱۵). در یک مطالعه، کاهش درجه‌ی تومور با افزایش میزان گیرنده‌های استروژن و پروژسترون همراه بوده است که این تا حدودی با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر در تطابق می‌باشد (۱۶). در مطالعه ای دیگر، میرزایی و همکاران وضعیت تومور مارکرهایی مانند بیان گیرنده‌های استروژن و پروژسترون با گریدهای مختلف را مورد بررسی قرار دادند و ارتباط معنی داری بین گرید و گیرنده‌های استروژنی و پروژسترونی مشاهده ننمودند ولی آنها بیان نمودند که بیمارانی که گرید بالاتری دارند، قدرت تهاجم بیشتر و احتمالاً طول عمر پایین تری دارند(۱۷). برخی از مطالعات نشان داده‌اند که بیان گیرنده‌های هورمونی با افزایش سن کاهش می‌یابد و این را توسط نسبت بزرگتری از گرید پایین توضیح دادند که با افزایش سن میزان گرید کاهش می‌یابد (۱۹-۱۸). در مطالعه‌ای توسط گوپتا و همکاران ارتباطی بین سن بیماران، بیان گیرنده‌ها و گرید نیافتند که معتقد بودند که این بدلیل گسترش شدید سرطان بود(۲۰). بیشتر مطالعات بر این باورند که ارتباط معکوسی بین گریدها و بیان گیرنده‌های هورمونی وجود دارد (۱۹-۱۸). یافته‌های این مطالعه، یاسوی و همکاران ارتباط معنی داری بین سن و تیتر ویروسی اپشتین بار در بیماران مبتلا به سرطان پستان مشاهده ننمودند(۲۱)، ذکر این نکته ضروری است که در مطالعه‌ی آنها سن افراد در محدوده‌ی ۳۰ تا ۶۹ سال بود، هرچند که میانگین سنی در مطالعه‌ی آنها اعلام نشد، تا اطلاعات آنها با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مقایسه شود. این محققین معتقد بودند که اختلافات سنی تأثیر معنی‌داری در تیتراژ ویروس اپشتین بار دارند، و افراد در سنین مختلف درجات و سطوح مختلفی از تیتراژ را کسب می‌کنند. در همین مطالعات به اختلافاتی در مورد روش‌های اندازه‌گیری اشاره شده است که می‌تواند تأثیر بسزایی بر تیتراژ ویروس گذارد. در جدیدترین مطالعه در این ارتباط، بن صابر و همکاران یافتند که هیچ گونه ارتباطی بین تیتراژ ویروس اپشتین بار و سن نیافتند(۲۲). این محققین معتقد بودند که حضور این ویروس در سرطان سینه با سنین اولیه‌ی تشخیص در ارتباط می‌باشد و احتمالا افزایش گرید سرطان سینه و ویروس اپشتین بار ممکن است در برخی سرطان‌های سینه نقش داشته باشد. با افزایش مراحل مختلف سرطان، بیان ژن گیرنده‌های استروژنی نیز افزایش می‌یابد و در گیرنده‌های پروژسترونی، بیان ژن گیرنده‌ها در سه مرحله‌ی اول تقریباً در یک حدود بود و سپس کاهش یافت. ارتباط ضعیفی ما بین سن و تیتر ویروسی

www.SID.ir

Archive of SID

اپشتین بار مشاهده شد. ارتباطی معنی‌دار ما بین حضور تغییر بیان ژن PR و لود ویروس در فرد مبتلا وجود دارد. به طوری که افرادی که کپی ویروسی بالای ۵۰۰ داشتند، تغییر بیان به صورت میانگین ۷/۹ بالاتر از سطح مورد انتظار بود می‌توان استدلال نمود که گیرنده‌های پروژسترونی تحت تأثیر گریدهای مختلف سرطان پستان قرار نمی‌گیرند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر صمیمانه سپاسگزاری می شود. و تمامی کسانی که در طول اجرای این پژوهش مرا یاری کردند تقدیر و تشکر می نمایم. شایان ذکر است که این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد خانم الهام ندیم با کد پایان نامه ۲۲۰۳۰۵۰۳۹۵۱۰۰۸ دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر می باشد.

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019

References

1. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer.Lancet Oncol. 2001;2(3):133-140
2. Marrao G, Habib M, Paiva A, Bicout D, Fallecker C, Franco S, Fafi-Kremer S, Simoes da Silva T, Morand P, Freire de Oliveira C, Drouet E. Epstein-Barr virus infection and clinical outcome in breast cancer patients correlate with immune cell TNF-alpha/IFN-gamma response. BioMed Central Journal. 2014; 14: 665-671.
3. Schnitt SJ. Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy. Mod Pathol. 2010; 23: S60-64.
4. Pedram A, Razandi M, Sainson RC, Kim JK, Hughes CC, Levin ER. A conserved mechanism for steroid receptor translocation to the plasma membrane. J Biol Chem.. 2007;282(31):22278-22288.
5. Yasui Y, Potter JD, Stanford JL, et al. Breast cancer risk and “delayed" primary Epstein–Barr virus infection. Cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001; 10(1): 9–16.
6. Naghshvar F, Zh T, Emadian O, Zare A, Ghahremani M. Status of estrogene, progesterone receptors and HER-2/neu expression in invasive breast cancer. J Gorgan Univ Med Sci. 2007;8(4):64-67.
7. Sirati F, Ghahari A, Alavi N. Determine the prevalence of prognostic factors) ER, PR, P53, HER-2/neu (in Breast Cancer and investigate their relationship with each other and with the patient's age and menopausal status. Iranian Journal of Breast Diseases 2009;1:24-31..
8. Farina A, Feederle R, Raffa S, Gonnella R, Santarelli R, Frati L, Angeloni A, Torrisi MR, Faggioni A, Delecluse HJ. BFRF1 of Epstein-Barr virus is essential for efficient primary viral envelopment and egress. J Virol. 2005;79(6):3703-3712.
9. Onsory K, Ranapoor S. Breast cancer and the effect of environmental factors involved. New Cell Mol Biotechnol Journal. 2011;1(4):59-70.
10. Bidgoli SA, Ahmadi R, Zavarhei MD. Role of hormonal and environmental factors on early incidence of breast cancer in Iran. Sci Total Environ Journal. 2010;408(19):4056-4061.
11. Richardson AK, Currie MJ, Robinson BA, Morrin H, Phung Y, Pearson JF,etal. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in breast cancer. PloS one journal. 2015;10(2):e0118989.
12. Martinez V, Azzopardi JG. Invasive lobular carcinoma of the breast: incidence and variants. Histopathol. 1979;3(6):467-488.
13. Nicholson RI, Gee JM. Oestrogen and growth factor cross-talk and endocrine insensitivity and acquired resistance in breast cancer. Br J Cancer2000;82(3):501.
14. Homaei-Shandiz F, Saeidi-Saedi H, Sharifi N. Correlation of estrogen and progesterone receptors with menopausal status in breast cancer patients referred to Omid and Ghaem hospitals J Birjand Univ Med Sci. 2009; 16 (2) :42-48
15. Tabei Z, Ashraf M. Estrogen and progesterone in 140 breast cancer patients. Iran J Endocrinol Metab 2004;1:1-8.

www.SID.ir

Archive of SID

16. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. Lancet Oncol jurnal 2001; 2: 133-140.
17. Mirzaei HR, Sabahat A, Nasrollahi F, Mohammadi-Yeganeh L. Correlation between ER, PR, HER2 receptors and prognostic factors in breast cancer. Pejouhandeh, Bimonthly Research Journal. 2010;15(4).
18. Marrão G, Habib M, Paiva A, Bicout D, Fallecker C, Franco S, Fafi-Kremer S, da Silva TS, Morand P, de Oliveira CF, Drouet E. Epstein-Barr virus infection and clinical outcome in breast cancer patients correlate with immune cell TNF-α/IFN-γ response. BioMed Central Journal. 2014;14(1):665.
19. Fatima S, Faridi N, Gill S. Breast cancer: steroid receptors and other prognostic indicators J Coll Physicians Surg Pak. 2005;15(4):230-3.
20. Gupta D, Gupta V, Marwah N, Gill M, Gupta S, Gupta G, Jain P, Sen R. Correlation of hormone receptor expression with histologic parameters in benign and malignant breast tumors. J Plant Pathol. 2015;10(1):23.
21. Yasui Y, Potter JD, Stanford JL, Rossing MA, Winget MD, Bronner M, et al. Breast cancer risk and "delayed" primary Epstein-Barr virus infection.Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001;10(1):9-16.
22. Bensaber HS, Bicout DJ, Medjamia M, Bensnouci AM, Comez A, Chebloune et al. Molecular Detection of Epstein Barr Virus in Women with Breast Cancer in the West Algeria. j Cancer Ther. 2017;8(03):234.

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019

www.SID.ir

Archive of SID

Investigation of simultaneous expression of the EBV BXLF2 gene and the human PR / ER gene in Breast Carcinoma of patients referred to Tabriz International Hospital

Nadim E[1], Ahmadizadeh Ch[*2]

1.Department of molecular genetics, Ahar Branch,Islamic Azad University, ahar,Iran
2. Department of Microbiology, Ahar Branch,Islamic Azad University, Ahar, Iran, dr_ahmadizadeh@yahoo.com

Received: *31 December 2018* **Accepted:** *22 Jun 2019*

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 12:16 +0430 on Saturday September 14th 2019

Abstract

***Background*:** breast cancer is currently the most common cancer among women, and is a multi-stage disease. The EBV virus is known to be a major contributor to human cancers. The development of breast cancer in humans is often regulated by steroid hormones, such as estrogen and progesterone. The aim of this study was to simultaneously investigate the expression of the EBV *BXLF2* and the human PR / *ER* gene in breast cancer patients referred to the l Tabriz International Hospital.

Materials and Methods: this descriptive cross-sectional study was performed on 50 women with mean age of 57.3 years Genomic DNA extraction from specimens was performed using the saturated salt method. The cDNA was then synthesized from the extracted RNAs. Real-time PCR was used for the expression of the *BXLF2* gene, the detection of the EBV genome, and the determination of the *PR* / *ER* gene.

Results: as breast cancer progressed, the expression of ER increased significantly and with the increase in the stage of the disease, the level of expression of *PR* decreased significantly (*p-value* = 0.0043). A weak correlation was found between age and viral title. There was a significant relationship between the presence of progesterone receptor gene expression and virus load in the affected person. (*P-value* <0.001).

Conclusion: In progesterone receptors, the expression of the receptor gene in the first three steps was approximately one-and-a-half times, which then decreased at different stages, the expression of the estrogen receptor expression increased. There was a weak correlation between age and EBV titers (*P-value* <0.001)

Keywords: Epstein-Barr Virus, Breast Carcinoma, *PR* / *ER* Gene, *BXLF2* Gene.

Citation: Nadim E, Ahmadizadeh Ch. Investigation of simultaneous expression of EBV BXLF2 gene and human PR / ER gene in breast carcinoma of patients referring to Tabriz International Hospital. Yafte. 2019; 21 (2):103-112.

www.SID.ir