تحقیقی

دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی

مقایسه فراوانی فعالیت آنزیم تلومراز در بافت پستانی بیماران مبتلا به سرطان پستان و سالم به روش TRAP assay

جهانبخش اسدی
استادیار بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات اختلالات متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نصرت اله ضرغامی
استاد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز،ایران

نویسنده مسئول: جهانبخش اسدی

پست الکترونیک: Ja_asadi52@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۱۲۲۳۹۰۱۱

آدرس: ایران، گرگان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی

دریافت:۹۱/۵/٦
ویرایش پایانی :۹۱/۸/۷
پذیرش:۹۱/۸/۸

چکیده

زمینه و هدف: *سرطان پستان شایع ترین نوع سرطان در زنان است. یکی از عوامل مهمی که سبب تداوم رشد و تکثیر سلول های نامیرا مانند سلول های سرطانی می شود، آنزیم تلومراز است. هدف از این مطالعه مقایسه فراوانی فعالیت آنزیم تلومراز در بافت پستانی بیماران مبتلا به سرطان پستان و سالم بود .*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی جمع آوری نمونه بافت پستان از ۳۲ بیمار با تومور بدخیم و ۲۴ نفر با تومور خوش خیم یا سالم انتخاب شدند. برای اندازه گیری فعالیت نسبی آنزیم تلومراز در بافت از روش (TRAP Assay (PCR-ELISA استفاده شد.*

یافته‌ها: *فراوانی فعالیت آنزیم تلومراز در نمونه بافتی بیماران ۹۳/۷۵ درصد و در افراد شاهد ۸ در صد مشاهده شد.*

نتیجه‌گیری: *فعالیت نسبی آنزیم تلومراز با TRAP Assay در بافت سرطانی می تواند بیومارکری خوب برای بافت سرطانی پستان باشد.*

واژه های کلیدی: *TRAP Assay، سرطان پستان و آنزیم تلومراز*

آدرس مقاله:
اسدی ج، ضرغامی ن،"مقایسه فراوانی فعالیت آنزیم تلومراز در بافت پستانی بیماران مبتلا به سرطان پستان و سالم به روش TRAP assay" مجله علوم آزمایشگاهی،بهار ۱۳۹۳، دوره هشتم(شماره۱): ۹۱-۹۴

مقدمه

سرطان پستان، شایع ترین سرطان در زنان و اولین علت مرگ ناشی از سرطان در زنان ۴۰- ۴۴ساله است. این بدخیمی، ۳۳ درصد سرطان های زنان را تشکیل داده و مسؤول ۱۹ درصد از مرگ های وابسته به سرطان می باشد. آمار و شواهد حاکی از افزایش مداوم شیوع سرطان پستان از اواسط دهۀ ۱۹۴۰ هستند(۱،۲). در ایران ۹/۶ درصد سرطان ها را سرطان پستان تشکیل می دهد (۳). یکی از عوامل مهمی که سبب تداوم رشد و تکثیر سلول های نامیرا مانند سلول های سرطانی می شود، آنزیم تلومراز است. آنزیم تلومراز یک DNA پلی مراز وابسته به RNA است که توالی های تکراری تلومری را می سازد. تلومر در انسان و سایر مهره داران یک توالی تکراری پشت سر هم غنی از GT (TTAGGG) است(۴-۶). تلومراز در اغلب سلول های پیکری طبیعی انسان وجود ندارد، اما در بیشتر از ۹۰درصد سلول های سرطانی و سلول های فناناپذیر دچار تنظیم افزایشی می گردد(۷،۸).در تناقض با یافته های فوق مطالعات دیگر نشان دادند که در بافت خوش خیم فعالیت آنزیم تلومراز قابل اندازه گیری است (۷،۸). هدف از این مطالعه تعیین فعالیت آنزیم تلومرازبا روش TRAP Assayدر بافت پستانی بیماران مبتلا به سرطان پستان و سالم بود.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی ۳۲ نمونه بافتی بیمار و ۲۴ نمونه بافتی سالم از افراد بیمار و سالم در محدوده سنی ۳۰-۵۰ سال تهیه شد. برای خرد کردن بافت ها، ابتدا متال (کاسه آلومینیوم ته صاف) طراحی شده در آزمایشگاه همراه با ازت مایع روی بافت ریخته شد و با استفاده از هاون خرد شد و پودر حاصله را در داخل میکروبتیوپ ریخته شد ودر ۸۰- قرار گرفت. اندازه گیری فعالیت آنزیم تلومراز به روش TRAP Assay،طبق روش کار کیت(Telo TAGGGTelomerase PCR ELISA^{plus} از شرکت Roche)انجام شد. پیش از انجام ELISA به هر نمونه ۱۰ میکرولیتر محلول معرف دناتوره کننده اضافه شد. برای هر لوله ۲/۵ میکرولیتر محصول PCR ریخته و در۱۵- ۲۵ درجه برای ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس تمام مراحل بعدی طبق روش کار کیت انجام شد. فعالیت تلومراز در کمتر از ۱۰ سلول در نمونه بافتی توسط این روش قابل محاسبه است و اختصاصیت روش ۹۲ درصد می باشد.

یافته ها

نمونه های بافتی ۳۲ بیمار که شامل آدنوکارسینوم ۲ نفر، لوبولار کارسینوم ۱ نفر، داکتال کارسینوم درجه یک ۱۲ نفر، داکتال کارسینوم درجه دو، ۸ نفر، داکتال کارسینوما درجه سه، ۷ نفر، توده پستان به همراه بدخیمی۲ نفر بود نمونه های بافتی شاهد نفر ۲۴ با تومور خوش خیم نفر فیبروآدنوما ۹ نفر، فاقد تومور بدخیم ۵ نفر، تغییرات فیبروکیستیک ۵ نفر، آبسه۴ نفر، هایپر پلازی داکتال فلورید بدون آتیپی۱ نفر بود. نتایج حاصل از اندازه گیری فعالیت نسبی تلومراز(RTA) نشان داد که از ۳۲ نفر گروه بیمار ۹۳/۷۵ درصد فعالیت نسبی تلومراز در افراد این گروه وجود داشت. اما در گروه افراد شاهد فقط در۲ نفر(۸ ٪) از آن ها فعالیت تلومراز دیده شد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در ۳۰ بافت (۹۳/۷۵ ٪) از ۳۲بافت بیمار با تومور بدخیم سرطان پستان فعالیت نسبی تلومراز دارد.این بررسی هماهنگ با یافته های Yashima و همکاران است که آن ها نیز در پژوهش خود ۹۲ در صد اعلام کردند و هم چنین در بررسی دیگر که توسط Hiyamaو همکاران انجام شد، ۹۴ در صد بیان شده است.اما در بافت خوش خیم افراد شاهد نشان داده شد که از ۲۴ نفر فقط در ۲ نفر (۸٪) از آن ها فعالیت نسبی تلومراز وجود داشته است. این نتایج مشابه یافته های Yashima و همکاران می باشد که ۶ در صد گزارش کردند و هم چنین Hiyama و همکاران ۱۴ در صد گزارش کردند(۹-۱۰). دلیل تفاوت زیاد فعالیت نسبی تلومراز در بیماران بدخیم سرطان پستان نسبت به بافت خوش خیم افراد شاهد این است که در سلول های سرطانی بدخیم با کوتاه شدن طول تلومر، ژن های تحریک شونده به طول تلومر، که در

مجاورت انتهائی DNA قرار دارد تحریک می شود و باعث افزایش بیان ژن آنزیم تلومراز می شود که این آنزیم مانع از کوتاه شدن طول تلومر و در نهایت تداوم تمامیت DNA و تکثیرهای مداوم سلول بدون کوتاه شدن طول تلومر می شود در صورتی که در سلول های خوش خیم، بعد از کوتاه شدن طول تلومر،سلول رو به پیری و در نهایت به سمت مرگ سلولی پیش می رود (۱۰-۹ ، ۳-۲).

نتیجه گیری

انـــدازه گیری فعالیـــت آنزیم تلومراز در بافت های مختلف با روش های مطمئن می تواند به عنوان بیومارکر خوب برای تشخیص بافت های توموری باشد.

تشکر و قدردانی

هزینه این طرح تحقیقاتی با شماره(۱۵۵/ک/ت) از طرف مرکز تحقیقات علوم تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز تامین گردیده است. نویسندگان مراتب تشکر را از همکاران محترم مرکز تحقیقات علوم تغذیه و آزمایشگاه رادیوفارماسی، مرکز تحقیقات کاربردی داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز در زمان اجرای طرح ابراز می دارند.

References

1.Cheng EH, Sheiko TV, Fisher JK, Craigen WJ, Korsmeyer SJ. *VDAC2 inhibits BAK activation and mitochondrial apoptosis*. Science. 2003; 301(5632): 513-7.

2.Kihlmark M, Imreh G, Hallberg E. *Sequential degradation of proteins from the nuclear envelope during apoptosis*. Journal of Cell Science. 2001; 114(Pt 20): 3643-53

3.Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Torbaghan S, Zaraati SH. *Annual Report of Tehran University of Medical Sciences District Cancer Registry 1997, Tehran*. Tehran University of Medical Sciences District Cancer Registry. 1999. 65.

4.Blackburn EH. *Switching and signaling at the telomere*. Cell. 2001; 106(6): 661–673.

5.Borchert GH, Giai M, Diamandis EP. *Elevated levels of prostate-specific antigen in serum of women with fibro adenomas and breast cysts.* Journal of the National Cancer Institute. 1997; 89(8): 587-588.

6.Mannello F, Bocchiotti G, Bianchi G, Marcheggiani F, Gazzanelli G. *Quantification of prostate-specific antigenimmunoreactivity in human breast cyst fluids*. Breast Cancer Research and Treatment. 1996; 38(3): 247-252.

7.Greider CW, Blackburn AB, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. Cell. 1985; 43(2 Pt 1): 405-13.

8.Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, et al. *Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer*. Science. 1994; 266(5193): 2011–2015.

9.Yashima K, Milchgrub S, Gollahon LS, Maitra A, Saboorian MH, Shay JW, et al. *Telomerase enzyme activity and RNA expression during the multistage pathogenesis of breast carcinoma*. Clin Cancer Res. 1998; 4(1): 229-34.

10.Hiyama E, Hiyama K. *Telomerase detection in the diagnosis and prognosis of cancer*. Cytotechnology. 2004; 45(1-2):61-74.

Detection of Telomerase Activity in Breast Tissue of Breast Cancer Patients and Healthy Individuals by the TRAP Assay

Asadi, J. (PhD)
Assitant Professor of Biochemistry, Metabolic Disorders Research Center, Golestan University of Medical Science, Gorgan, Iran

Zarghami, N. (PhD)
Professor of Biochemistry, Department of Clinical Biochemistry, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran

Corresponding Author: Asadi, J.

Email: Ja_asadi52@yahoo.com

Received: 27 Jul 2012
Revised: 28 Oct 2012
Accepted: 29 Oct 2012

Abstract

Background and Objective: Breast cancer is the most common cancer in women. Telomerase enzyme is one of the major factors causing the development and proliferation of immortal cells such as cancer cell. The aim of this study was to evaluate telomerase activity in breast tissues of breast cancer patients and healthy people.

Material and Methods: In this descriptive study, the samples from 32 patients with malignant tumors and from 24 with benign tumors or healthy individuals were obtained .To assess the relative activity of telomerase in the samples, TRAP assay (PCR-ELISA) was used.

Results: The frequency of telomerase activity was 93.75% in patients and 8% in healthy people.

Conclusion: The results indicate that the relative activity of telomerase in tumor tissues measured by TRAP assay could be a suitable biomarker for identifying the breast cancer tissue.

Keywords: TRAP Assay; breast cancer; telomerase

This paper should be cited as: Asadi J, Zarghami N. [Detection of Telomerase Activity in Breast Tissue of Breast Cancer Patients and Healthy Individuals by the TRAP Assay]. MLJ. 2014; 8(1):91-94 [Article in Persian]