Original Article

Investigation of *c-Myc* gene amplification in breast cancer patients and its correlation with other prognostic factors

Zahraei Z[1*], Sarlak A[1], Akbari ME[2]

1- Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Chemistry, University of Kashan, Kashan, I. R. Iran.
2- Department of General Surgery, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

February 17, 2017; Accepted November 18, 2017

Abstract:

Background: Breast cancer is the most common cancer in woman. The frequency of amplification of some proto-oncogenes like *c-Myc* gene may be various in different populations. In this study, amplification of *c-Myc* oncogene was determined in breast cancer patients and its correlation with prognostic factors such as age, tumor size, tumor stage, grade of the disease, lymph node involvement, HER/2 protein expression, estrogen and progesterone receptors and recurrence was also investigated.
Materials and Methods: In this study, to determine the amplification of *c-Myc* oncogenes in breast cancer patients, the multiplex PCR technique was used. After extracting DNA from 100 tumor tissue and 8 normal breast tissue samples, amplification of *c-Myc* gene was determined by coamplification of a single-copy reference gene, γ-IFN, and the target gene *c-myc* in PCR reaction and using the Gel analyzer software. In the next step, the correlation of the amplification of this gene with other prognostic factors was investigated.
Results: In this study, amplification of the *c-Myc* gene was observed in 27% of the tumor samples. The statistic analysis showed that amplification of the *c-Myc* oncogene was significantly associated with the recurrence of breast cancer. There was no significant correlation between amplification of the *c-Myc* oncogene and other prognostic factors including age, estrogen and progesterone receptors, lymph node involvement, HER/2 expression, tumor size, stage and grade of the disease.
Conclusion: Amplification of the *c-Myc* gene can be used as an independent prognostic factor in predicting the recurrence in breast cancer patients.

Keywords: Breast cancer, Gene amplification, *c-Myc* oncogene, Prognostic factors

* **Corresponding Author.**
Email: zahraei@kashanu.ac.ir
Tel: 0098 912 125 2612
Fax: 0098 31 559 12397

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, February, 2018; Vol. 21, No 6, Pages 584-590

Please cite this article as: Zahraei Z, Sarlak A, Akbari ME. Investigation of *c-Myc* gene amplification in breast cancer patients and its correlation with other prognostic factors. ***Feyz*** 2018; 21(6): 584-90.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-27]

بررسی میزان تکثیر ژن *c-Myc* در بیماران مبتلا به سرطان پستان و ارتباط آن با سایر فاکتورهای پیش‌آگهی

زهره زهرائی[1*]، عاطفه سرلک[2]، محمداسماعیل اکبری[3]

خلاصه:

سابقه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در بین زنان است. برحسب نوع جمعیت تزاید برخی انکوژن‌ها نظیر *c-Myc* در تومورهای پستان ممکن است متفاوت باشد. در این مطالعه به بررسی ازدیاد ژن *c-Myc* در بیماران مبتلا به سرطان پستان و ارتباط آن با فاکتورهای پیش‌آگهی از جمله سن، گیرنده‌های استروژن و پروژسترون، درگیری غدد لنفاوی، بیان پروتئین HER/2، عود، اندازه تومور، مرحله بیماری و درجه بافتی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: به‌منظور تعیین تکثیر انکوژن *c-Myc* در بیماران مبتلا به سرطان پستان از روش PCR تمایزی استفاده شد. پس از استخراج DNA از تعداد ۱۰۰ نمونه بافت توموری پارافینی و ۸ نمونه بافت پستان سالم، ازدیاد ژن *c-Myc* با تکثیر هم‌زمان آن با ژن تک‌نسخه *γ-IFN* در واکنش PCR و با استفاده از نرم‌افزار ژل آنالایزر تعیین شد. سپس، ارتباط ازدیاد این ژن با سایر عوامل پیش‌آگهی بررسی گردید.

نتایج: در این مطالعه ازدیاد ژن *c-Myc* در ۲۷ درصد از بیماران مشاهده شد و ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد این ژن با عود بیماری وجود داشت. یافته‌ها حاکی از عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین ازدیاد ژن *c-Myc* با فاکتورهای پیش‌آگهی سن، گیرنده‌های استروژن و پروژسترون، درگیری غدد لنفاوی، بیان HER/2، اندازه تومور، مرحله بیماری و درجه بافتی بود.

نتیجه‌گیری: ازدیاد ژن *c-Myc* می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی مستقل در پیش‌گویی عود در بیماران مبتلا به سرطان پستان به‌کار رود.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، ازدیاد ژن، انکوژن *c-Myc*، فاکتورهای پیش‌آگهی

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیست و یکم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۶، صفحات ۵۹۰-۵۸۴

مقدمه

سرطان پستان یکی از مهم‌ترین مسائل مربوط به سلامت زنان در دنیا و از جمله ایران است و سالانه بیش از ۵۰۲۰۰۰ نفر از زنان به‌دلیل خطر ابتلا به این سرطان جان خود را از دست می‌دهند [۱]. در ایران ۲۴/۶ درصد از سرطان‌های زنان را سرطان پستان شامل می‌شود [۲]. اگرچه بروز سرطان پستان در ایران و سایر کشورهای آسیایی نسبت به دیگر کشورها از نرخ پایین‌تری برخوردار است، اما این بیماری در ایران ۱۰ سال زودتر از دیگر کشورها بروز می‌کند [۳].

[1] استادیار، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان

[2] کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان

[3] استاد، گروه جراحی عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

* **نشانی نویسنده مسئول:**

کاشان، کیلومتر ۶ بلوار قطب راوندی، دانشگاه کاشان، دانشکده شیمی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی

تلفن: ۰۹۱۲۱۲۵۲۶۱۲ **دورنویس:** ۰۳۱ ۵۵۹۱۲۳۹۷

پست الکترونیک: zahraei@kashanu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۹ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۶/۸/۲۷

انتخاب شیوه درمان مناسب و پیگیری علمی وضعیت بیمار، از اقدامات پیچیده‌ای است که نیازمند بررسی دقیق و جامع شاخص‌های پیش‌آگهی دارد. برخی شاخص‌های پیش‌آگهی این بیماری عبارتند از: وضعیت غدد لنفاوی زیر بغل، اندازه تومور اولیه، نمای نسجی سرطان پستان، مرحله‌بندی بالینی، سن بیمار، گیرنده‌های استروژنی و پروژسترونی و تغییرات ژنتیکی نظیر تغییرات سیتوژنتیکی، موتاسیون‌های ژنی و ازدیاد ژنی [۴]. بررسی تغییرات ژنتیکی در تومورها به فهم ژنتیک تومور کمک کرده و اطلاعات مفیدی در مورد مراقبت بیماری در اختیار پزشک قرار می‌دهد. تکثیر و تزاید ژنی یکی از مکانیسم‌های فعال شدن پروتوانکوژن‌ها و ایجاد تومور است که باعث افزایش تعداد کپی یک ناحیه محدودی از کروموزوم و ایجاد بیش از دو کپی از ژن‌های موجود در آن ناحیه می‌گردد [۵]. در بیماران مبتلا به سرطان پستان، ازدیاد و بیان بیش از حد برخی از انکوژن‌ها از جمله *HER/2*، *int-2* و *c-Myc* مشاهده شده است [۷،۶]. *c-Myc* جزء خانواده ژنی Myc و از فاکتورهای رونویسی است که روی ناحیه کروموزومی 8q.24.1 واقع شده است. این انکوژن نقش‌های متعددی در سلول نظیر کنترل سیکل سلولی، آپوپتوز، متابولیسم سلول، و بیوسنتز کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و نوکلئیک اسیدها ایفا می‌کند [۹،۸]. ازدیاد این انکوژن موجب

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-27]

افزایش تقسیمات سلولی و افزایش عبور سلول‌ها از فاز G_1 به فاز S می‌شود؛ درنتیجه نسخه‌های بیشتری از سلول همانندسازی می‌شود [۱۰]. نتایج تحقیقات متعدد انجام شده روی جمعیت‌های مختلف نشان داده است که میزان ازدیاد این ژن در جمعیت‌های مختلف بیماران مبتلا به سرطان پستان متغیر است. همچنین، نتایج متناقضی درخصوص ارتباط ازدیاد این ژن با فاکتورهای پیش‌آگهی مختلف نظیر سن، مرحله بیماری، و عود گزارش شده است [۱۱]. در سال ۲۰۰۰ محققین برای بررسی اهمیت بالینی تکثیر ژن *c-Myc* در بیماران مبتلا به سرطان پستان ۲۹ تحقیق انجام شده را مورد بررسی قرار دادند و میانگین تکثیر این ژن را ۱۵/۷ درصد گزارش نمودند [۱۲]. مطالعات دیگر نیز حاکی از ارتباط ازدیاد این ژن با پیش‌آگهی ضعیف در بیماران است [۱۶-۱۳]. Schlotter و همکاران، اهمیت تکثیر این ژن را به عنوان فاکتور پیش آگهی عود زودرس در بیماران مبتلا به سرطان پستان با عدم درگیری غدد لنفاوی نشان دادند [۱۳]. از سوی دیگر، گزارش‌هایی نیز از عدم وجود ارتباط معنی‌دار بین تکثیر ژن *c-Myc* با سایر فاکتورهای پیش‌آگهی در دست است [۱۸،۱۷]. علی‌رغم تحقیقات گسترده در این زمینه، اختلاف موجود در نتایج و نیز تأثیر عوامل جمعیتی در وضعیت شاخص‌های پیش-آگهی اهمیت بررسی‌های بیشتر را به‌منظور درمان بهتر و مؤثرتر خاطرنشان می‌سازد. این مطالعه با هدف بررسی میزان ازدیاد انکوژن *c-Myc* در بیماران مبتلا به سرطان پستان و ارتباط آن با فاکتورهای پیش‌آگهی در دسترس مانند: سن، سایز تومور، وضعیت گیرنده‌های استروژنی و پروژسترونی، مرحله‌بندی تومور، درجه‌بندی بافتی، درگیری غدد لنفاوی و عود بیماری انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری:

در این مطالعه ۱۰۰ نمونه بلوک پارافینی مربوط به بیماران مؤنث مبتلا به سرطان پستان با میانگین سنی ۴۵/۸۳±۱۰/۶۶۴ سال که بین سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۸۸ به مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی یا کلینیک آذر تهران مراجعه و تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند، جمع‌آوری شد. اطلاعات مورد نیاز شامل اندازه تومور، وضعیت درگیری غدد لنفاوی، سن بیمار در زمان تشخیص، وضعیت گیرنده HER/2، عود، مرحله‌ی بیماری، درجه بافت‌شناسی تومور، و وضعیت گیرنده‌های استروژن و پروژسترون از پرونده بیماران استخراج و ثبت شد. در این مطالعه ۸ نمونه بافت پستان سالم ذخیره در پارافین به‌عنوان کنترل نیز مورد بررسی قرار گرفت.

پارافین‌زدایی:

برش‌هایی به ضخامت ۱۰ میکرومتر از بافت‌های پارافینی تهیه و به ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. به‌منظور حذف پارافین، به هر ویال ۱ میلی‌لیتر زایلن اضافه شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. برای رسوب دادن بافت، نمونه‌ها به‌مدت ۴ دقیقه با دور RPM ۱۲۰۰۰ در دمای اتاق سانتریفوژ شدند. محلول رویی دور ریخته شد و مراحل فوق مجدداً تکرار گردید. برای حذف کامل زایلن از رسوب بافتی، نمونه‌ها دو مرتبه با ۵۰۰ میکرولیتر اتانول شستشو داده شدند.

استخراج DNA:

پس از تبخیر کامل اتانول برای استخراج DNA، ۱۰۰ میکرولیتر بافر هضم با pH=8.5 (Tris 50mM, EDTA 1 mM, Tween20 0.5%) همراه با ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پروتئیناز K به نمونه‌ها افزوده شد و به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سپری شدن زمان لازم، با قرار دادن نمونه‌ها در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد آنزیم غیرفعال شد. در مرحله آخر نمونه‌ها با دور RPM ۱۲۵۰۰ به‌مدت ۳۰ ثانیه سانتریفوژ شدند و محلول رویی که حاوی DNA بود، جداسازی شد. برای ارزیابی کمی و کیفی DNA از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. جذب نمونه‌های DNA در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر قرائت شده و با استفاده از رابطه زیر تعیین غلظت شد: $DNA\ (\mu g/ml)=OD_{260}\times DF\times 50$ در این رابطه، OD_{260}، مقدار جذب در ۲۶۰ نانومتر و DF (Dilution factor) نشان-دهنده میزان رقیق‌سازی DNA است. نمونه‌های DNA برای ادامه پژوهش در ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

PCR تمایزی:

پس از استخراج DNA از نمونه‌ها، تکثیر هم‌زمان ژن *c-Myc* (ژن هدف) و ژن گاما اینترفرون *γ –IFN* (ژن کنترل) در هر نمونه به روش PCR تمایزی انجام شد. چهار آغازگر با توالی زیر برای انجام واکنش PCR تحت شرایط مناسب استفاده شد [۱۹]:

توالی پیشرو و پیرو ژن *c-Myc*:

5´CCTCAACGTTAGCTTCACCAAC3´
5´CTGCTGGTAGAAGTTCTCCTC3´

توالی پیشرو و پیرو ژن *γ –IFN*:

5´GCAGAGCCAAATTGTCTCCT3´
5´GGTCTCCACACTCTTTTGGA3´

جفت پرایمر ژن *c-Myc* محصولی به طول ۹۶ جفت باز و جفت پرایمر ژن *γ –IFN* محصولی به طول ۸۲ جفت باز تشکیل می‌داد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-27]

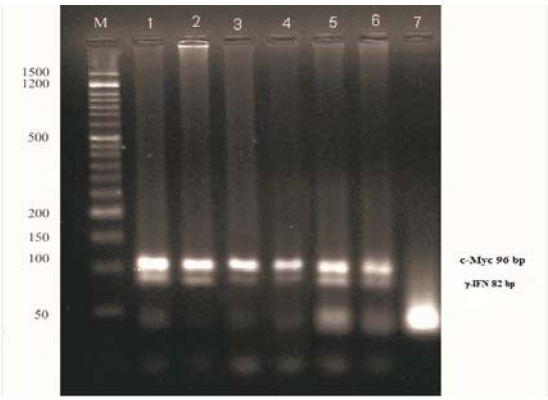
مخلوط واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر تهیه شده (dNTP ۰/۴ mM، ۱/۵ mM MgCl2، ۰/۶ µM از هر پرایمر، ۲U آنزیم Taq DNA پلیمراز) و تکثیر DNA با استفاده از دستگاه PCR (BIO-RAD, USA) انجام شد. شرایط دمایی دستگاه PCR به‌صورت زیر بهینه گردید: مرحله واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه، ۳۰ چرخه که هر چرخه شامل مرحله واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال پرایمر در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، مرحله گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه بود و در مرحله آخر تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه انجام گرفت. محصولات PCR تمایزی روی ژل آگاروز ۳ درصد بارگذاری شد و دانسیتومتری و مقایسه شدت باندها روی ژل با نرم‌افزار ژل آنالایزر انجام گردید. با توجه به پیک‌های به‌دست آمده و سطح زیرمنحنی مربوط به هر باند، نسبت شدت باندها (BIR=Band Intensity Ratio) در فرد با استفاده از فرمول زیر به‌دست آمد:

شدت نسبی باند *γ-IFN*/ شدت نسبی باند *c-Myc*=BIR

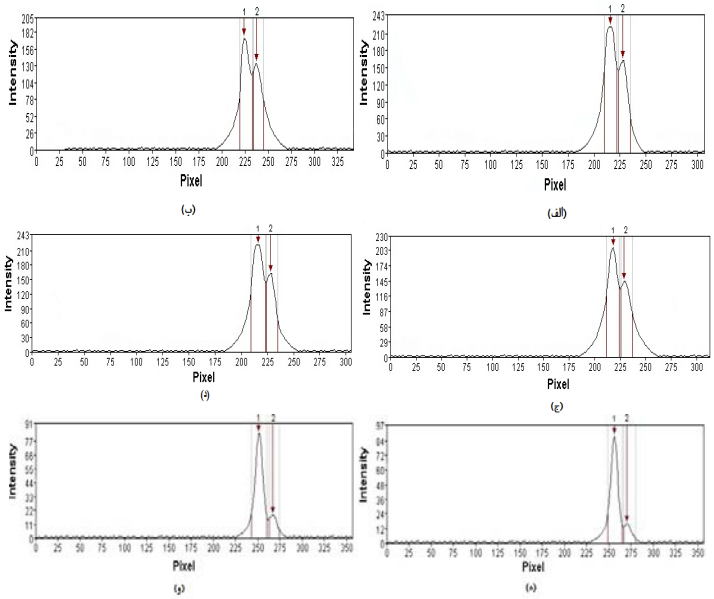
سپس عدد معیار برای تعیین ازدیاد ژن *c-Myc* در بیماران، با به‌دست آوردن میانگین BIR در افراد سالم + دو برابر انحراف معیار تعیین شد. به‌منظور بررسی ارتباط ازدیاد ژن *c-Myc* با سایر فاکتورهای پیش‌آگهی و تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ و انجام تست مجذور کای استفاده گردید و مرز استنتاج آماری ۰/۰۵ ≥ *P* در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از انجام PCR تمایزی و ژل‌های تهیه شده از محصول PCR در شکل شماره ۱ آمده است. در شکل شماره ۲ نتایج بررسی ژل با نرم‌افزار ژل آنالایزر و منحنی‌های مربوط به بافت‌های سالم و بیمار مقایسه شده است؛ هرچه تعداد نسخه‌های ژن هدف (*c-Myc*) بیشتر از ژن کنترل (*γ-IFN*) باشد، محصول PCR مربوط به ژن هدف نسبت به ژن کنترل، در مقایسه با فرد سالم بیشتر تولید خواهد شد، همان‌طور که در شکل شماره ۱ (لاین‌های ۳ و ۴) مشاهده می‌شود.



شکل شماره ۱- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن‌های *c-Myc* و *γ-IFN* روی ژل آگاروز ۳ درصد. M؛ مارکر DNA، شماره‌های ۱ و ۲؛ نمونه‌های سالم، شماره‌های ۳ و ۴؛ نمونه‌های همراه با ازدیاد ژن *c-Myc*، و شماره‌های ۵ و ۶ نمونه‌های فاقد ازدیاد در ژن *c-Myc* هستند. شماره ۷ کنترل منفی است.



شکل شماره ۲- مقایسه آنالیز منحنی‌های رسم شده با نرم‌افزار ژل‌آنالایزر در نمونه‌های سالم و توموری. پیک شماره ۱ مربوط به ژن *c-Myc* و پیک شماره ۲ مربوط به ژن *γ-IFN* است. موارد الف و ب مربوط به نمونه‌های سالم است، موارد ج و د نمونه‌های بیمار بدون ازدیاد ژن *c-Myc* و موارد ه و و مربوط به نمونه‌های بیمار با ازدیاد ژن *c-Myc* است.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-27]

در فرد بیمار با ازدیاد ژن *c-Myc* نسبت شدت باند *c-Myc* به شدت باند *γ-IFN* به‌وضوح بیشتر است. معیار ازدیاد ژنی، افزایش ۲/۱ برابری یا بیشتر شدت باند *c-Myc* نسبت به شدت باند *γ-IFN* در نمونه توموری در مقایسه با همین نسبت در نمونه طبیعی بود. فراوانی نسبی ازدیاد ژن *c-Myc* در نمونه‌های بیمار ۲۷ درصد بود. نتایج نشان داد نسبت شدت *c-Myc* نسبت به شدت ژن *γ-IFN* در نمونه‌های توموری بین حالت ازدیاد نیافته ۱/۵ تا حالت ازدیاد یافته ۴ متغیر است. در این مطالعه حداقل و حداکثر سن بیماران به‌ترتیب ۲۳ و ۷۵ سال و میانگین سنی آن‌ها ۱۰/۶۶۴± ۴۵/۸۳ سال بود. همان‌طور که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است افراد به دو گروه با سن کمتر یا مساوی با ۴۵ سال و بیشتر از ۴۵ سال تقسیم شدند و از ۴۹ بیماری که کمتر یا مساوی با ۴۵ سال سن داشتند، ۱۵ نفر (۳۰/۶ درصد) ازدیاد ژن *c-Myc* را نشان دادند و از ۵۱ بیماری که بیشتر از ۴۵ سال سن داشتند، ۱۲ نفر (۲۳/۵ درصد) ازدیاد این ژن را نشان دادند. پس از بررسی‌های آماری ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* و سن بیماران مشاهده نشد (P=۰/۴۲۵). ازدیاد ژن *c-Myc* در ۲۳/۶ درصد از بیماران با وضعیت گیرنده استروژن مثبت و در ۲۶/۲ درصد از بیماران با وضعیت گیرنده پروژسترون مثبت مشاهده شد. در این بررسی ارتباط آماری معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* و گیرنده‌های استروژنی و پروژسترونی مشاهده نشد. این ژن در ۲۶/۸ درصد از بیماران با درگیری غدد لنفاوی و در ۲۷/۳ از بیماران با بیان HER/2 مثبت ازدیاد یافته بود. ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد این ژن با درگیری غدد لنفاوی و بیان HER/2 مشاهده نشد. همچنین، ازدیاد این ژن در ۴۷/۴ درصد از بیماران همراه با عود و در ۲۰/۶ درصد از بیماران بدون عود مشاهده شد. در این بررسی ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* با عود بیماری به‌دست آمد (P<۰/۰۵). تومورها از نظر اندازه به دو دسته کمتر یا مساوی با ۵ سانتی‌متر و بیشتر از ۵ سانتی‌متر تقسیم شدند. ازدیاد ژن *c-Myc* در ۲۳/۳ درصد از تومورهای با اندازه تومور کمتر یا مساوی با ۵ سانتی‌متر و در ۴۰ درصد از تومورهای با اندازه بیشتر از ۵ سانتی‌متر مشاهده شد. در این بررسی ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* و اندازه تومور مشاهده نشد. فراوانی بروز ازدیاد ژن *c-Myc* در تومورهای پستان مرحله I، II، III و IV به‌ترتیب ۱۸/۸، ۲۰/۵، ۳۶/۴ و ۰ درصد بود و فراوانی بروز ازدیاد این ژن در تومورهای پستان با درجه‌های بافتی I، II و III به‌ترتیب ۲۳/۵، ۲۵ و ۳۰/۸ درصد به‌دست آمد. در این بررسی‌ها نیز ارتباط معنی‌داری بین میزان ازدیاد ژن *c-Myc* و مراحل مختلف بیماری و درجه بافتی مشاهده نشد.

جدول شماره ۱- ارتباط ازدیاد ژن *c-Myc* با فاکتورهای پیش‌آگهی در بیماران مورد مطالعه

متغیر	تعداد*	ازدیاد یافته	درصد ازدیاد	P
سن (سال)				
≤۴۵	۴۹	۱۵	۳۰/۶	۰/۴۲۵
>۴۵	۵۱	۱۲	۲۳/۵	
وضعیت گیرنده استروژن				
مثبت	۷۲	۱۷	۲۳/۶	۰/۳۴۷
منفی	۲۴	۸	۳۳/۳	
وضعیت گیرنده پروژسترون				
مثبت	۶۵	۱۷	۲۶/۲	۰/۹۷۱
منفی	۳۱	۸	۲۵/۸	
درگیری غدد لنفاوی				
مثبت	۵۶	۱۵	۲۶/۸	۰/۹۸۰
منفی	۳۷	۱۰	۲۷	
بیان HER/2				
مثبت	۲۲	۶	۲۷/۳	۰/۹۷۰
منفی	۶۵	۱۸	۲۷/۷	
عود بیماری				
مثبت	۱۹	۹	۴۷/۴	۰/۰۱۹
منفی	۶۸	۱۴	۲۰/۶	
اندازه تومور (cm)				
≤۵	۸۶	۲۰	۲۳/۳	۰/۲۴۷
>۵	۱۰	۴	۴۰	
مرحله تومور				
I	۱۶	۳	۱۸/۸	۰/۳۳۹
II	۴۴	۹	۲۰/۵	
III	۳۳	۱۲	۳۶/۴	
IV	۱	۰	۰	
درجه بافتی				
I	۱۷	۴	۲۳/۵	۰/۷۹۳
II	۴۰	۱۰	۲۵	
III	۳۹	۱۲	۳۰/۸	

* اطلاعات مربوط به فاکتورهای پیش‌آگهی درخصوص برخی از بیماران نامشخص بود که از مطالعه آماری خارج گردید.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد بیان ژن *c-Myc* در ۲۷ درصد از بیماران مبتلا به سرطان پستان ازدیاد می‌یابد. در تحقیقات مشابهی که روی جمعیت‌های مختلف انجام گرفته، نتایج متفاوتی به‌دست آمده است. در تحقیقی که توسط Escot و همکاران روی ۱۲۱ بیمار مبتلا به سرطان پستان انجام شد، ازدیاد انکوژن *c-Myc*

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-27]

در ۳۲ درصد از بیماران مشاهده شد [۲۰]. در یک مطالعه دیگر ازدیاد این انکوژن، ۱ مورد در هر ۶ مورد سرطان پستان گزارش شده است [۱۲]. Watson و همکاران میزان ازدیاد این انکوژن را در سرطان پستان بین ۳۰-۲۰ درصد گزارش کرده‌اند [۲۱]. در بررسی دیگری که با روش مولتی‌پلکس PCR انجام شد نیز در ۲۱ درصد از بیماران مبتلا به سرطان پستان ازدیاد انکوژن *c-Myc* مشاهده شده است [۲۲]. در بررسی‌هایی که در مورد ارتباط با ازدیاد این ژن و سن بیماران انجام گرفته است نیز نتایج مختلفی به‌دست آمده است. در برخی از مطالعات انجام شده نتیجه‌ای مطابق با مطالعه حاضر به‌دست آمده است. در مطالعه‌ای که توسط Scorilas و همکاران و همچنین مطالعه‌ای که توسط Ismail و همکاران انجام شد، ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد این ژن و سن بیماران مشاهده نشده است [۲۴،۲۳]. مطالعه‌ی دیگری که توسط Escot و همکاران انجام شد، نتیجه‌ای مخالف با مطالعه حاضر به‌دست آورده و نشان داده است که بین ازدیاد این ژن و سن بیماران ارتباط معنی‌دار وجود دارد [۲۰]. گزارش شده است که ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* و اندازه تومور وجود ندارد [۲۳،۱۷] که مطابق با نتیجه به‌دست آمده در این مطالعه است. نتایج حاصل از مطالعات انجام شده ارتباط معنی‌داری را بین ازدیاد ژن *c-Myc* و درگیری گره‌های لنفاوی نشان نداده است [۲۴،۲۳،۲۰]. درخصوص ارتباط ازدیاد ژن مذکور و درجه‌بندی بافتی گزارش‌های متناقضی در دست است. در برخی از مطالعات ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* و درجه‌بندی بافتی مشاهده نشده است [۲۳،۲۰،۱۷]، درحالی‌که در مطالعات دیگر نشان داده شده است که ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد این ژن و درجه‌بندی بافتی وجود دارد [۲۵،۱۵]. موافق با مطالعه حاضر، برخی از محققین نشان داده‌اند که ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* و گیرنده‌های استروژنی و پروژسترونی وجود ندارد [۲۵،۲۰،۱۷،۱۵]. نتایج تحقیق Tsuda و همکاران روی بیماران مبتلا به سرطان پستان در مراحل پائین و مراحل بالای بیماری نشان داده است که ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* با مرحله بیماری وجود دارد [۲۶]. همچنین، در مطالعه Ismail و همکاران نیز مشخص گردید ازدیاد این ژن در مراحل ۳ و ۴ بیماری بیشتر از مراحل ۱ و ۲ رخ می‌دهد که نشان‌دهنده وجود ارتباط معنی‌دار بین ازدیاد ژن *c-Myc* و مرحله بیماری است و با نتیجه مطالعه حاضر مغایرت دارد [۲۴]. به‌نظر می‌رسد می‌توان با انتخاب نمونه‌های بیماری که از نظر مراحل مختلف بیماری توزیع مناسب و یکسانی داشته باشند، نتایج متفاوتی از نتیجه کنونی به‌دست آورد. در تحقیق دیگری که توسط Gutman و همکاران روی ۱۳۱ بیمار با تومورهای مختلف پستان، معده، و کلون انجام شد، ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* و مرحله‌بندی بیماری مشاهده نشد [۲۷] که موافق با نتیجه به‌دست آمده در مطالعه حاضر است. موافق با نتایج تحقیق حاضر، مطالعه‌ای توسط Scorilas و همکاران روی ۱۵۲ بیمار انجام شد که نشان داد در ۲۷ تا ۲۸ درصد از بیمارانی که دارای عود محلی هستند، ازدیاد ژن *c-Myc* وجود داشته و تنها در ۷ تا ۸ درصد از بیماران با عود محلی ازدیاد ژن *c-Myc* وجود ندارد ولذا ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن *c-Myc* و عود محلی گزارش شده است [۲۳]. در مطالعه Berns و همکاران نیز که روی ۱۵۲ بیمار مبتلا به سرطان پستان انجام گرفت ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد انکوژن ژن *c-Myc* و عود مشاهده شد [۲۸].

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتیجه به‌دست آمده از مطالعه حاضر به‌نظر می‌رسد ازدیاد ژن *c-Myc* می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی مستقل در پیشگویی عود در بیماران مبتلا به سرطان پستان به‌کار رود.

تشکر و قدردانی

این مقاله براساس پروژه کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی در دانشگاه کاشان تهیه و تدوین شده است. بدین‌وسیله از مسئولین محترم مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و کلینیک آذر و کلیه عزیزانی که ما را در انجام این پروژه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References:

[1] Mousavi SM, Gouya MM, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N, Seddighi Z. Cancer incidence and mortality in Iran. ***Ann Oncol*** 2009; 20(3): 556-63.

[2] Jazayeri SB, Saadat S, Ramezani R, Kaviani A. Incidence of primary breast cancer in Iran: Ten-year national cancer registry data report. ***Cancer Epidemiol*** 2015; 39(4): 519-27.

[3] Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. ***Breast J*** 2007; 13(4): 383-91.

[4] Alizadeh Sh, Moshfeghi K, Kalantari M, Ebrahimi Kh. Lymph-node involvement and tumor markers in patients with breast cancer. ***Arak Med Univ J*** 2010; 12(4): 44-50. [in Persian]

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-27]

[5] Albertson DG, Gene amplification in cancer, ***Trends Genetics*** 2006; 22(8): 447-55.
[6] Pauley RJ, Gimotty PA, Pains TJ, Dawson PJ, Wolman SR. INT2 and ERBB2 amplification and ERBB2 expression in breast tumors from patients with different outcomes. ***Breast Cancer Res Treat*** 1996; 37(1): 65-76.
[7] Berns EM, Klijn JG, Staveren IL, Portengen H, Noordegraaf E, Foekens JA. Prevalence of amplification of the oncogenes c-myc, HER2/neu, and int-2 in one thousand human breast tumours: correlation with steroid receptors. ***Eur J Cancer*** 1992; 28(2-3): 697-700.
[8] Dang CV. MYC, metabolism, cell growth, and tumorigenesis. ***Cold Spring Harb Perspect Med*** 2013; 3(8): a014217.
[9] Nesbit CE, Tersak JM, Prochownik EV. MYC oncogenes and human neoplastic disease. ***Oncogene*** 1999; 18(19): 3004-16
[10] Tansey WP. Mammalian MYC proteins and cancer. ***New J Sci*** 2014; 2014: 1-27.
[11] Xu J, Chen Y, Olopade OI. MYC and breast cancer. ***Genes Cancer*** 2010; 1(6): 629-40.
[12] Deming SL, Nass SJ, Dickson RB, Trock BJ. C-myc amplification in breast cancer: a meta-analysis of its occurrence and prognostic relevance. ***Br J Cancer*** 2000; 83(12): 1688-95.
[13] Schlotter CM, Vogt U, Boss U, Mersch B, Wassmann K. C-myc, not HER-2/neu, can predict recurrence and mortality of patients with node-negative breast cancer. ***Breast Cancer Res*** 2003; 5(2): R30-6.
[14] Robanus-Maandag EC, Bosch CA, Kristel PM, Hart AA, Fanyete IF, Nedelof PM, et al. Association of C-MYC amplification with progression from the in situ to the invasive stage in C-MYC-amplified breast carcinomas. ***J Pathol*** 2003; 201(1): 75-82.
[15] Al-Kuraya k, Schraml P, Torhorst J, Tapia C, Zaharieva B, Novotny H, et al. Prognostic relevance of gene amplification and coamplification in breast cancer. ***Cancer Res*** 2004; 64 (23): 8534-40.
[16] Aulmann S, Adler N, Rom J, Helmchen B, Schirmacher P, Sinn HP. C-myc amplification in primary breast carcinomas and their local recurrences. ***J Clin Pathol*** 2006; 59(4): 424-8.
[17] Rodriguez-pinilla SM, Jones RL, Lambros MB, Arriola E, Savage K, James M, et al. Myc amplification in breast cancer: a chromogenic in situ hybridization study. ***J Clin Path*** 2007; 60(9): 1017-23.
[18] Chrzan P, Skokowski J, Karmolinski A, Pawelczyk T. Amplification of c-myc gene and overexpression of c-Myc protein in breast cancer and adjacent non-neoplastic tissue. ***Clin Biochem*** 2001; 34(7): 557-62.
[19] Sarbia M, Loberg Ch, Wolter M, Arjumand J, Heep H, Reifenberger G, et al. Expression of Bcl-2 and amplification of c-myc are frequent in basaloid squamous cell carcinomas of the esophaqus. ***Am J Pathol*** 1999; 155(4): 1027-32.
[20] Escot C, Theillet C, Lidereau R, Spyratos F, Champeme MH, Gest J, et al. Genetic alteration of the c-myc protooncogene (MYC) in human primary breast carcinomas. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 1986; 83(13): 4834-8.
[21] Watson PH, Safneck JR, Le K, Dubik D, Shiu RP, Relationship of c-myc Amplification to Progression of Breast Cancer From In Situ to Invasive Tumor and Lymph Node Metastasis. ***J Natl Cancer Inst*** 1993; 85(11): 902-7.
[22] Chrzan P, Skokowski J, Karmolinski A, Pawelczyk T. Amplification of c-myc gene and overexpression of c-Myc protein in breast cancer and adjacent non-neoplastic tissue. ***Clin Biochem*** 2001; 34(7): 557-62.
[23] Scorilas A, Trangas T, Yotis J, Pateras C, Talieri M. Determination of c-myc amplification and overexpression in breast cancer patients: evaluation of its prognostic value against c-erbB-2, cathepsin-D and clinicopathological characteristics using univariate and multivariate analysis. ***Br J Cancer*** 1999; 81(8): 1385-91.
[24] Ismail MF, Aly MS, Khaled HM, Mohamed HM. Detection of HER-2/neu, c-myc amplification and p53 inactivation by FISH in Egyptian patients with breast cancer. ***Ger Med Sci*** 2009; 6: 7.
[25] Rummukainen JK, Salminen T, Lundin J, Joensuu H, Isola JJ, Amplification of c-myc Oncogene by Chromogenic and Fluorescence In Situ Hybridization in Archival Breast Cancer Tissue Array Samples. ***Lab Invest*** 2001; 81(11): 1545–51.
[26] Tsuda H, Hirohashi S, Hirota T, Shimosato Y. Alterations in Copy Number of c-erbB-2 and c-myc Proto-oncogenes in Advanced Stage of Human Breast Cancer. ***Acta Pathol Jpn*** 1991; 41(1): 19-23.
[27] Gutman M, Ravia Y, Assaf D, Yamamoto T, Rozin R, Shiloh Y. Amplification of c-myc and c-erbB-2 proto-oncogenes in human solid tumors: Frequency and clinical significance. ***Int J Cancer*** 1989; 44(5): 802-5.
[28] Berns EM, Klijn JG, van Staveren IL, Portengen H, Noordegraaf E, Foekens JA. Prevalence of amplification of the oncogenes c-myc, HER2/neu, and int-2 in one thousand human breast tumours: correlation with steroid receptors. ***Eur J Cancer*** 1992; 28(2-3): 697-700.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-10-27]