جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

(مقاله پژوهشی)

# بررسی ارتباط بیان هسته ای و سیتوپلاسمی پروتئین Hsp70 و پروتئین p53 در نمونه های سرطان پستان

ساره عاشورزاده [*1]، مرضیه پناهی [**]، ایران رشیدی [***]، جمال ناطقی [****]

**چکیده**

**زمینه و هدف:** Hsp70 چپرونی است که به P53 متصل شده و می تواند محل تجمع و موقعیت قرارگیری آن را در سلول کنترل نماید. تجمع هسته ای P53 با نتایج ضعیف کلینیکی و پیش آگهی پایین در سرطان همراه است. هدف از انجام این تحقیق تعیین ارتباط احتمالی بین بروز Hsp70 در هسته یا سیتوپلاسم سلول های سرطانی و تجمع P53 در هسته سلول های سرطان پستان و ارتباط این دو مارکر با سایر فاکتورهای کلینیکی وپاتولوژیکی تومور بود.

**روش بررسی:** با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمی بروز P53 هسته ای و Hsp70 هسته ای و سیتوپلاسمی در ۴۷ نمونه سرطانی پستان جمع آوری شده از بخش آسیب شناسی بیمارستان شفا شهرستان اهواز (۱۳۸۶-۱۳۸۵)، مورد بررسی قرار گرفت. برش های پارافینی با آنتی بادی(P53(N1581,Dako و آنتی بادی (Hsp70(ab47454, abcam رنگ آمیزی گردید. Hsp70 بر اساس تجمع هسته ای و سیتوپلاسمی و P53 بر اساس تجمع هسته ای مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند.

**یافته ها:** بین تجمع سیتوپلاسمی و هسته ای Hsp70 و تجمع هسته ای P53 ارتباط آماری معنا داری مشاهده نشد. ارتباط آماری معناداری بین بروز هسته ایHsp70 و P53 و فاکتورهای کلینیکوپاتولوژی تومور پستان وجود نداشت. همبستگی متوسطی(P=۰/۰۰۱) بین درصد تجمع سیتوپلاسمی و هسته ای Hsp70 مشاهده گردید. بین بیان سیتوپلاسمی Hsp70 و درجه بافتی تومور ارتباط معنی داری وجود دارد.

**نتیجه گیری:** بین تجمع هسته ای P53 با سطح سیتوپلاسمی و هسته ای Hsp70 در سرطان پستان ارتباطی وجود ندارد. اما بین سطح Hsp70 هسته ای و سیتوپلاسمی مرتبط بوده و به گرید هیستو لوژیکی تومور پستان بستگی دارد.

*م ع پ ۱۳۸۸؛ ۸(۳): ۳۲۲-۳۱۳*

**کلید واژگان:** سرطان پستان، P53 ، Hsp70.

## مقدمه

سرطان پستان ۱۹ در صد مرگ های ناشی از سرطان را شامل شده و روز به روز درحال افزایش است (۱). پیشگیری، تشخیص و مداخله زود هنگام، نخستین هدف آنکولوژیست ها و بیولوژیست های سرطان، می باشد (۲). در سال های اخیر کشف بیومارکرهای سرطان عمده تحقیقات در زمینه سرطان را به خود اختصاص داده است. امروزه متداول ترین استفاده از بیومارکرهای توموری برای پیداکردن بیماری های اولیه و عود بیماری ها می باشد (۳).

* دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم تشریح، دانشگاه جندی شاپور اهواز
** استادیارگروه علوم تشریح، دانشگاه جندی شاپور اهواز
***دانشیار گروه پاتولوژی، دانشگاه جندی شاپور اهواز
**** فوق تخصص خون شناسی
۱- نویسنده مسوول: Email: marpanahi@ajums.ac.ir

دریافت مقاله ۱۳۸۷/۳/۲۷ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۸/۱/۱۹ اعلام قبولی: ۱۳۸۸/٤/۱

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد



یکی از این بیومارکرها، پروتئین های شوک حرارتی (Heat -Shock Proteins) است که در محدوده گسترده ای از سرطان های انسانی به میزان زیاد بیان می شود و در تومورها بر تکثیر، تمایز، تهاجم، متاستاز و مرگ سلول دلالت می کند. Hsp ها بیومارکرهای مفیدی برای تشخیص سرطان زایی در بعضی بافت ها و سیگنالی از درجه تمایز و تهاجم بعضی سرطان ها هستند. این پروتئین ها بوسیله استرس های حرارتی، فیزیکی و شیمیایی در گونه های زیادی از حیوانات تولید می شوند (۴).

سطح بیان Hsp می تواند نشانه ای از وقوع تغییرات غیرطبیعی (کارسینوما) در بافتی خاص باشد؛ مثلاً Hsp27 در هیپرپلازی اندومتریال، Hsp10 و Hsp60 در کارسینوژنز گردن رحم و کولون وHsp70 درکارسینوژنز اپی تلیوم دهانی به میزان زیادی بیان می شوند (۴).

از طرفی دیگر ژنP53 یک پروتئین سرکوبگر تومور بوده که جهش در ژن P53 یک ناهنجاری مولکولی متداول در سرطان پستان می باشد و امروزه در کلینیک به عنوان شاخص مفیدی در پیش بینی و پیش آگهی بیماری مورد استفاده قرار می گیرد (۵). p53 در کنترل چرخه سلولی، آپوپتوز و در بقاء و ثبات ژنتیکی سلول نقش دارد. تمام وجوه عملکردی پروتئین p53 این گونه است که ارگانیسم را در مقابل صدمات و تخریب‌ها حفظ می‌کند. در حقیقت p53 برای تکامل طبیعی سلولها مورد نیاز نیست (۶).

p53 در سیتوپلاسم ساخته می‌شود و می‌بایستی به داخل هسته انتقال پیدا کند تا عملکرد اختصاصی اش (فاکتور نسخه برداری بودن)، را اعمال نماید (۷). عملکرد p53، به تجمع آن در هسته وابسته نیست و تنظیم پتانسیل غشاء میتوکندری توسط برهمکنش آن با پروتئین های میتوکندریال Bcl-2 و Hsp70 انجام می‌پذیرد (۱۰-۸).

Hsp70 نقش و عملکرد یک خانه دار را در سلول دارا می باشد که در آن به عنوان جزئی از ترکیب پیچ خوردگی و مسیر انتقال سیگنال تولید می‌شود و عملکرد سلول هایی که تصحیح ساختار پروتئین ها و تعمیر پیچش های نابجا را انجام می‌دهند کنترل می نماید (۱۱).

در بعضی تحقیقات مشخص شده که Hsp70 نه تنها به تمایز پایین تومورها دلالت دارد بلکه با افزایش تکثیر(پستان، گردن رحم، ریه)، متاستاز به عقده های لنفاوی(پستان و کولون)، افزایش اندازه تومور (گردن رحم)، وجود جهش در P53 (پستان، اندومتر) و مرحله کلینیکال بالا (دهان، کولون، ملانوما) نیز مرتبط است (۱۲).

با این وجود محققین بر این نکته تأکید دارند که تعیین Hsp70 از طریق ایمنوهیستوشیمی می‌تواند از ارزش تشخیصی و پیشگویانه در کلینیک برخوردار بوده (۱۳)، اما برای تعیین جایگاه و ارتباط آن با سایر شاخص‌ها نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد.

## روش بررسی

این پژوهش روی تمام نمونه های سرطان پستان که در طی سال های ۸۶-۱۳۸۵ به بخش آسیب شناسی بیمارستان شفا شهرستان اهواز مراجعه کرده بودند و بلوک های پارافینی و گزارش آسیب شناسی آن ها در دسترس بود، انجام گرفت.

برای تعیین محل دقیق تومور و نوع تومور سرطانی ابتدا برش هایی جهت رنگ آمیزی H & E تهیه گردید و توسط آسیب شناس مورد بررسی قرار گرفت.

جهت انجام ایمنوهیستوشیمی برش های ۵ میکرونی روی لام پوشیده شده با چسب Triethoxysilyl - propylamin تهیه گردید. برای بازیابی آنتی ژن، لام ها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول سیترات بافر با PH=۶ و در دمای ۹۸ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. برای مهار پراکسیداز اندوژنوس محلول، (EnVision. HRP Rabbit/ Peroxidase Block mouse. REF K5007) از محصولات شرکت Dako به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای اتاق استفاده گردید.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد



بعد از هر کدام از مراحل انکوباسیون، لام ها با محلول بافر فسفات شستشو گردیدند. مرحله مهار واکنش زمینه ای با استفاده از محلول (REF X0909) Protein Block محصول شرکت Dako انجام شد. پس از طی این مراحل لام ها با آنتی بادی اولیه علیه Hsp70 محصول شرکت abcam با مشخصات (ab47454, monoclonal, dilution1/200, abcam) و آنتی بادی اولیه علیه P53 با مشخصات (N1581, monoclonal, Ready-to-use, Dako) به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه شدند و پس از شستشو، با آنتی بادی ثانویه موجود در کیت EnVision(K5007, Dako) به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردیدند و به مدت ۱۰ دقیقه در مجاورت کروموژن DAB قرار گرفتند. از هماتوکسیلین جهت رنگ آمیزی مخالف استفاده شد و پس از آبگیری و شفاف سازی لام ها مانت شدند.

شمارش سلولی با بزرگنمایی ۴۰۰x میکروسکوپ نوری توسط دو نفر (به طور جداگانه) صورت گرفت. در مورد نمونه های رنگ آمیزی شده با Hsp70، درصد رنگ پذیری هسته و سیتوپلاسم سلولها به طور مستقل مورد بررسی قرار گرفت و در مورد P53 ، فقط درصد رنگ پذیری هسته ها مورد توجه بود.

بروز Hsp70 سیتوپلاسمیک و هسته ای با توجه به درصد سلول های رنگ گرفته رتبه بندی گردید. در این روش:

۰= هیچ سلولی رنگ نگرفته است

۱= مثبت بودن کمتر از یک صدم سلول ها

۲ = مثبت بودن یک صدم تا یک دهم سلول ها

۳= مثبت بودن یک دهم تا یک سوم سلول ها

۴= مثبت بودن یک سوم تا دو سوم سلول ها

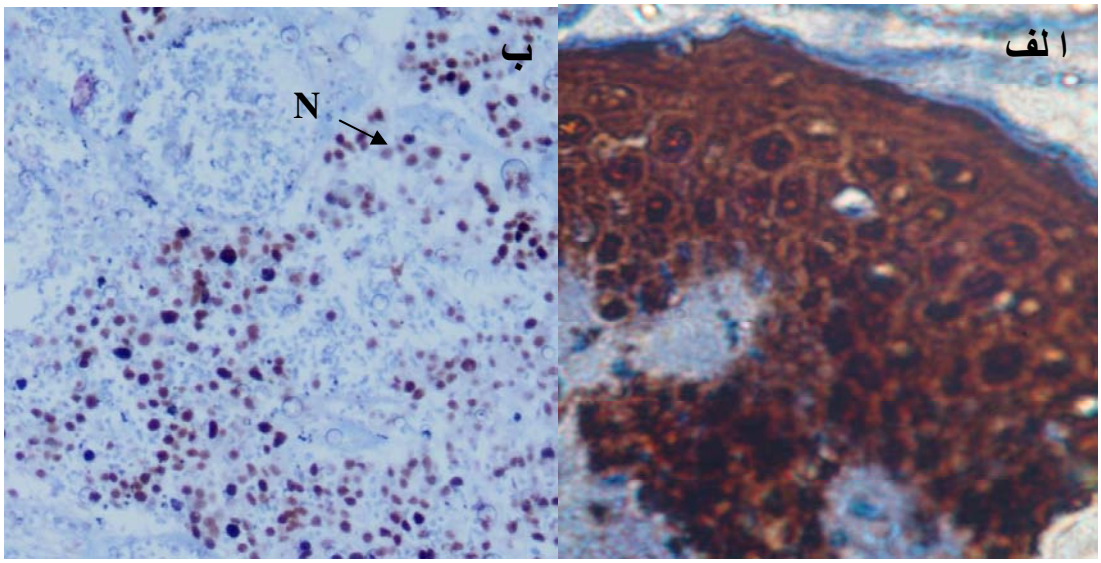
۵= مثبت بودن بیشتر از دو سوم سلول ها

این رتبه ها برای آنالیز آماری با نرم افزار SPSS دسته بندی گردیدند؛ بدین ترتیب که برای بروز Hsp70 هسته ای، رتبه بالاتر از ۴ مثبت و برای بروز Hsp70 سیتوپلاسمی، رتبه های ۳ و بالاتر از آن مثبت قلمداد شد (۱۵). برای مارکر P53 وجود حتی یک هسته رنگ شده، مثبت در نظر گرفته شد (۱۶). داده ها با استفاده از آزمون های کای دو و همبستگی مورد بررسی قرار گرفتند و اختلاف معنادار با P-value < ۰/۰۵ نشان داده شد.

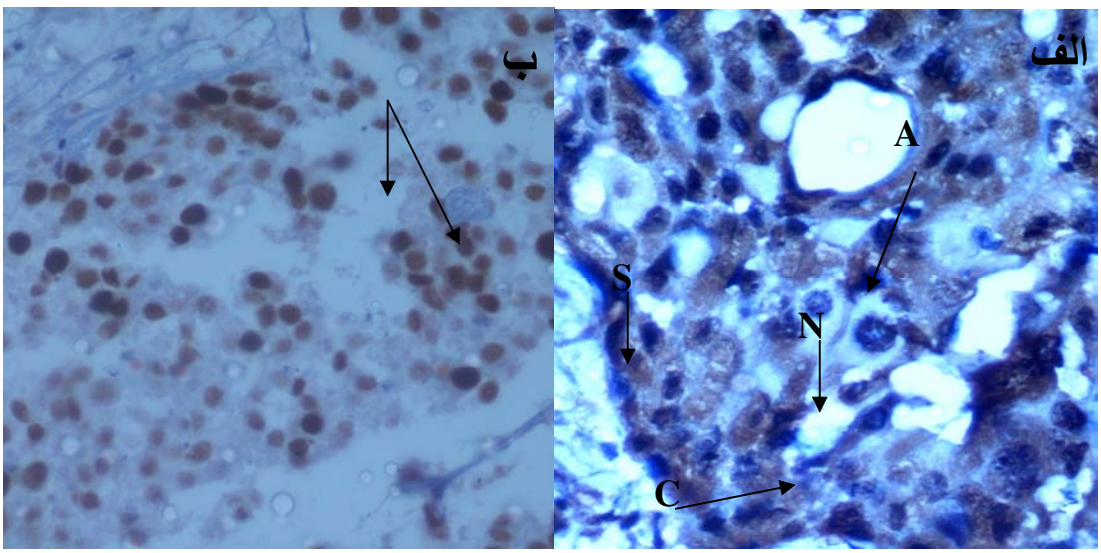
## یافته ها

در این پژوهش ۴۷ نمونه سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت که ۵ نمونه از نوع سرطان مهاجم لوبولار و بقیه سرطان مهاجم داکتال بودند. سن بیماران تحت مطالعه بین ۳۰ تا ۷۶ سال قرار داشت. در مطالعه حاضر بروز Hsp70 و P53 در سلول های سرطانی پستان (نه در همهٔ آن ها) نشان داده شد (شکل ۲)، اما در سلول های طبیعی استرومایی و سلول های بافت چربی بروز این بیومارکرها مشاهده نگردید.

لازم به ذکر است از نمونه های پوست به عنوان کنترل مثبت برای Hsp70 (شکل۱-ب) و از یک برش بافتی سرطان پستان داکتال ( که قبلاً مثبت بودن آن برای پروتئین P53 در آزمایشگاهی دیگر تأیید شده بود) برای پروتئین P53 استفاده گردید (شکل۱-الف).




شکل۱. الف- نمونه کنترل مثبت،برش پوست. بروز **Hsp70** با رنگ قهوه ای در هسته و سیتوپلاسم قابل مشاهده است.
ب- نمونه کنترل مثبت، برش سرطان داکتال پستان، بروز**P53** در هسته سلول ها رؤیت می شود.




شکل۲. الف- بافت سرطان پستان ، بروز **Hsp70** در سلول های سرطانی، **C** (سلول سرطانی با بروز **Hsp70** در سیتوپلاسم)، **N** (سلول سرطانی با بروز **Hsp70** در هسته)، **A** (سلول سرطانی و عدم بروز **Hsp70** در هسته و سیتوپلاسم) و **S** (سلول های استرومایی و عدم بروز **Hsp70** در آن ها)، ب- بروز **P53** در هسته سلول های سرطانی (پیکان ها).

با توجه به نوع آنتی بادی استفاده شده، تنها هسته آن دسته از سلول های سرطانی که واجد پروتئین P53 بودند، به رنگ قهوه ای درآمد. از بین ۴۷ نمونه، ۱۹ نمونه (۴۰/۴ درصد) تجمع پروتئین P53 را در هسته خود دارا بودند (شکل۲-ب). طبق نتایج آزمون کای دو بین بروز P53، سن بیمار و سایر فاکتورهای هیستوپاتولوژیک تومور ارتباط معنا داری مشاهده نشد ( جدول های ۱و۲ ). همچنین بین بروز هسته ای و سیتوپلاسمی Hsp70 و تجمع هسته ای P53 هیچ ارتباطی یافت نشد.

ارتباط بین بروز Hsp70 سیتوپلاسمی و درجه بافت شناسی تومور با P-value = ۰/۰۴۹ از نظر آماری معنا دار بود، اما هیچ ارتباط معنادار دیگری بین بروز Hsp70 سیتوپلاسمی با سایر فاکتورهایی چون درجه هسته ای تومور، سن بیمار و نوع ساختار بافتی تومور رؤیت نشد (جدول۱).

**جدول۱: مقایسه بروز پروتئینهای P53, Hsp70 هسته ای و Hsp70 سیتوپلاسمی با سایر فاکتورهای هیستوپاتولوژیکی تومور در سرطان پستان**

| فاکتور هیستوپاتولوژیک | تعداد نمونه | Hsp70 هسته ای | | | Hsp70 سیتوپلاسمی | | | P53 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | مثبت | منفی | P-value | مثبت | منفی | P-value | مثبت | منفی | P-value |
| Histological type | | | | | | | | | | |
| IDC* | ۴۲ | ۲۲ | ۲۰ | ۰/۴۷ | ۳۵ | ۷ | ۰/۶۲۵ | ۱۹ | ۲۳ | ۰/۰۶٤ |
| ILC** | ۵ | ۲ | ۳ | | ۴ | ۱ | | ۰ | ۵ | |
| Histological Grade | | | | | | | | | | |
| I/II | ۳۲ | ۱۴ | ۱۸ | ۰/۲۶۵ | ۲۵ | ۷ | ×۰/۰۴۹ | ۱۰ | ۲۲ | ۰/۱۴۸ |
| III | ۱۵ | ۹ | ۶ | | ۱۵ | ۰ | | ۸ | ۷ | |
| Nuclear Grade | | | | | | | | | | |
| I/II | ۳۳ | ۱۷ | ۱۶ | ۰/۵ | ۲۶ | ۷ | ۰/۰۸ | ۱۴ | ۱۹ | ۰/۳۵۱ |
| III | ۱۴ | ۶ | ۸ | | ۱۴ | ۰ | | ۴ | ۱۰ | |

*IDC=Invasive Ductal Carcinoma, **ILC=Invasive Lobular Carcinoma.

P-value < ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنا دار است.

**جدول۲: مقایسه بروز پروتئین های P53, Hsp70 هسته ای و Hsp70 سیتوپلاسمی با سن در سرطان پستان**

| سن | تعداد نمونه | Hsp70 هسته ای | | | Hsp70 سیتوپلاسمی | | | P53 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | مثبت | منفی | P-value | مثبت | منفی | P-value | مثبت | منفی | P-value |
| <۴۰ | ۹ | ۵ | ۴ | ۰/۶۹۶ | ۶ | ۳ | ۰/۲٤۲ | ۳ | ۶ | ۰/۰٤۹ |
| ۴۰-۶۰ | ۳۰ | ۱۶ | ۱۴ | | ۲۶ | ۴ | | ۱۲ | ۱۸ | |
| ≥۶۰ | ۸ | ۳ | ۵ | | ۷ | ۱ | | ۴ | ۴ | |

P-value < ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنا دار است.

بین درصد بروز Hsp70 سیتوپلاسمی و درصد بروز Hsp70 هسته ای در سلولهای توموری با p=۰/۰۰۱ هبستگی وجود دارد که با توجه به مقدار ضریب همبستگی پیرسون، این همبستگی در حد متوسط می باشد (جدول-۳). بروز Hsp70 سیتوپلاسمی در دو نوع مختلف سرطان پستان (لوبولار و داکتال) در یک سطح قرار داشت.

**جدول۳: همبستگی بین متغیرهای درصد بروزHsp70 سیتوپلاسمی و بروز Hsp70 هسته ای و P53 در تومورهای سرطان پستان**

| | Nuclear Hsp70 | P53 |
|---|---|---|
| Cytoplasmic Hsp70 | * ۰/۰۰۱ | **۰/۰۵۴ |
| Nuclear Hsp70 | — | ** ۰/ ۲۲۱ |

*P-value < ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنا دار است.

** از لحاظ آماری معنا دار است.

**بحث**

پژوهش های زیادی برای فهمیدن تغییرات خاص DNA که موجب سرطان پستان می‌شوند صورت گرفته است. حاصل این مطالعات بدین صورت است که بعضی از ژن ها کنترل رشد، تقسیم و مرگ سلول را به عهده دارند. ژن هایی که رشد سلول و تقسیم آن را به راه می‌اندازند با نام کلی انکوژن شناخته می‌شوند. گروهی دیگر از ژن ها را که باعث کاهش تقسیم سلولی و یا باعث مرگ سلولی می‌شوند ژن های سرکوبگر تومور می‌نامند. امروزه از بسیاری از این ژن ها به عنوان تومور مارکر نام برده می شود. مارکرهایی که بعداً در طول سیر بیماری، در طول پیشرفت یا بعد از آن مشخص می شوند برای اطلاعات پیش آگهی دهنده یا در مورد اتخاذ تصمیمات درمانی مهم می باشند (۳).

P53 یک بازیگر مهم و اصلی در جلوگیری از چرخه سلولی و آپوپتوز در پاسخ به انواع استرسها و سیگنال های داخلی و خارجی است (۱۸)؛ و چون این آسیب در سلول های سرطانی متداول است، ممکن است نقش مهمی در آغاز تولید تومور و پیشرفت آن داشته باشد (۱۹).

با توجه به این که P53 برای اولین بار در سه دهه پیش شناسایی شد، به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته و به عنوان مهمترین ژن جهش یافته در انواع مختلف سرطان‌ها شناخته شده است (۲۰).

همچنین گفته می‌شود این ژن در مقاومت تومورها به رادیوتراپی و شیمی‌درمانی مشارکت دارد (۱۶). کمبود عملکرد p53، یکی از ابتدایی ترین اتفاقات در نامیراشدن سلول های انسانی است (۲۱)؛ بنابراین مطالعه در عملکرد تنظیمیp53 و دوباره فعال شدن آن برای درمان سرطان‌ها بسیار حیاتی است.

p53 در سیتوپلاسم ساخته می‌شود و می‌بایستی به داخل هسته انتقال پیدا کند تا عملکرد اختصاصی اش (فاکتور نسخه برداری بودن) را اعمال نماید (۷). عملکرد p53 به تجمع آن در هسته وابسته نیست و تنظیم پتانسیل غشاء میتوکندری توسط برهمکنش آن با پروتئین های میتوکندریال Bcl-2 و hsp70 انجام می‌پذیرد (۱۰-۸).

تجمع p53 در هسته سلولهای سرطانی عموماً بعنوان یک مارکر برای تأیید جهش ژن p53 است چرا که جهش در ژن p53 باعث تغییراتی در ساختار پروتئین شده و زمینه را برای اتصال این پروتئین به Hsp70 فراهم می سازد.

Hsp70 یکی از انواع Hsp هاست که گفته می شود در سرطان های مختلف با تمایز پایین تومورها،

افزایش تکثیر، متاستاز به عقده های لنفاوی، افزایش اندازه تومور و وجود جهش در p53 مرتبط است(۱۲). Hsp70 نقش و عملکرد یک خانه دار را در سلول دارد که در آن به عنوان جزئی از ترکیب پیچ خوردگی و مسیر انتقال سیگنال تولید می‌شود و عملکرد سلول هایی را که تصحیح ساختار پروتئینها و تعمیر پیچش های نابجا را انجام می‌دهند، کنترل می نماید (۱۱).

Hsp70 هم در سیتوپلاسم و هم در هسته سلول های سرطانی دیده می شود به همین دلیل هم تولید Hsp70 در هسته و هم انتقال و جابجایی آن به سیتوپلاسم در سلول های تحت استرس مورد توجه و بررسی قرار می گیرد. طبق مطالعات انجام گرفته ارزیابی موقعیت Hsp70 در سلول و همچنین میزان بروز آن در سلول های سرطانی در پیش بینی پاسخ سلول های سرطانی به شیمی درمانی مهم جلوه نموده است. اعتقاد بر این است که Hsp70 با P53 جهش یافته موجود در رده های سلولهای سرطانی کمپلکس می شود (۲۲).

در بعضی تحقیقات مشخص شده است که جهش P53 در سرطان داکتال پستان همراه با بالا رفتن درجه تومور، افزایش می یابد (۲۳) و گروهی دیگر اعلام کردند که در سرطان داکتال بین درجه تومور، وضعیت گیرنده های استروژنی و جهش P53 ارتباط وجود دارد (۲۴).

در تحقیق حاضر با مقایسه بیان P53 با سایر فاکتورهای کلینیکوپاتولوژیکی تومور (درجه هسته ای، درجه بافتی و نوع بافت شناسی سرطان) هیچ گونه ارتباط معنا داری یافت نشد که مشابه با نتایج تحقیقات زلارس (۲۶) می باشد. البته در بعضی مطالعات دیگر تعیین تجمع هسته ای پروتئین P53 از طریق ایمنوهیستوشیمی با پیش آگهی ضعیف در بیمار مبتلا به سرطان پستان مرتبط می باشد (۲۶).

بروز بالای P53 می تواند رفلکسی از سرعت بالاتر تکثیری و مرحله پیشرفته تری از گسترش سرطان باشد و تجمع هسته ای P53 نیز ممکن است با ریسک بالاتر فرد در جهت میکرومتاستاز و عود بیماری در آینده مرتبط باشد(۲۸ و ۲۷). در تحقیق کنونی به دلیل عدم دسترسی به اطلاعات کافی و کامل در مورد وضعیت کنونی بیماران و همچنین محدودیت زمانی موجود، امکان بررسی ارتباط بین P53 هسته ای با احتمال متاستاز و عود بیماری وجود نداشت.

گروهی از محققین وجود ارتباط معنا دار بین تجمع هسته ای پروتئین p53 با نتایج ضعیف تر کلینیکی در سرطان پستان را گزارش کرده اند. از آن جا که احتمال داده می شود Hsp70 با p53 جهش یافته اتصال می یابد و تمرکز آن را کنترل می کند، محققین در صدد برآمدند تا ارتباط احتمالی بین وجود Hsp70 و p53 جهش یافته در هسته و یا سیتوپلاسم سلول های سرطانی را کشف کنند (۱۴).

در این زمینه تحقیقات الج و همکاران (۱۴) به این نتیجه رسید که احتمالاً ارتباط مشخصی بین تجمع هسته ای یا سیتوپلاسمیک Hsp70 با تجمع p53 وجود ندارد. با این حال، بیمارانی که p53 در آن ها منفی و Hsp70 مثبت است شانس بقا بهتری نسبت به بیمارانی داشتند که علاوه بر p53 منفی، Hsp70 نیز در آن ها منفی بود.

در تحقیق حاضر نیز بین تجمع هسته ای Hsp70 و تجمع سیتوپلاسمی آن در سرطان های پستان ارتباط معناداری مشاهده نشد. اما از آن جا که بیماران مورد مطالعه این تحقیق مورد بررسی طولانی مدت قرار نگرفتند؛ بنابراین نمی توان در خصوص بقاء و شانس زنده ماندن آنان نتیجه گیری کرد.

در مطالعاتی که سعی در تعیین ارتباط بین بروز Hsp70 با سایر فاکتورهای کلینیکی و پاتولوژیکی داشتند نتایج قابل تأملی بدست آمد؛ به نحوی که طبق این پژوهش ها بین بروز هسته ای Hsp70 و اندازه تومور و درجه پایین تومور همبستگی معنا داری دیده شد. در عین حال بروز سیتوپلاسمی Hsp70 با بقاء و طول عمر کمتر بیمار ارتباط معنادار داشت. چنین استنباط می شود که

احتمالاً بروز Hsp70 در هسته با خصوصیات بیولوژیکی تومور ارتباط دارد و ظهور سیتوپلاسمی Hsp70 با بقاء بدون بیماری و بقاء پس از عود بیمار ارتباط دارد (۲۹).

در این مطالعه، درصد بروز Hsp70 سیتوپلاسمی در نمونه های سرطانی نوع داکتال با نوع لوبولار با هم مقایسه شدند و طبق آنالیزهای آماری در هر دو نوع مذکور بروز Hsp70 حدود ۸۰ درصد مثبت گزارش شد، در حالی که این نتایج در مورد بروز Hsp70 در هستهٔ سلول های سرطانی این دو نوع سرطان پستان نیز صادق بود. علاوه بر این، در نمونه های سرطانی پژوهش اخیر تنها در ۱۲/۸ درصد نمونه ها هم بروزHsp70 هسته ای و هم بروز Hsp70 سیتوپلاسمی مثبت و در ۴۶/۸ درصد موارد هر دو مارکر مذکور منفی بودند. طبق نظر لازاریس و همکاران بین بروز Hsp70 و درجه بالای تومور ارتباط وجود دارد و درعین حال با نتیجه بیماری و بقا بیمار این ارتباط به صورت مستقیم می باشد (۱۳).

در پژوهش اخیر بین بروز سیتوپلاسمی Hsp70 در تومورهای پستان و درجه بافت شناسی ارتباط معناداری داری مشاهده شد. در مطالعات دیگر نیز بین درجه تومور و بروز Hsp70 در هسته ارتباط معناداری بدست آمده است (۱۵و۳۰) به گونه ای که طبق پژوهش های به عمل آمده بین بروز هسته ای Hsp70 و بروز سیتوپلاسمی آن ارتباط نسبتاً کمی گزارش شده است. احتمالاً بروز ضعیف Hsp70 هسته ای با پاسخ کم به تاموکسیفن ارتباط دارد.

در تحقیق حاضر، همبستگی میان بروز هسته ای Hsp70 و بروز Hsp70 سیتوپلاسمی نیز مورد بررسی قرارگرفت که این همبستگی معنادار بود. در مطالعه جلالی ندوشن(۱۷) نه تنها هیچ ارتباطی بین بروز Hsp70 در هسته و سیتوپلاسم سلول های سرطانی یافت نشد، بلکه ارتباط بین تجمع هسته ای p53 و تجمع هسته ای با سیتوپلاسمی Hsp70 نیز معنا دار نبود.

## منابع


1- Eshtiaghi R, Ameri M, Mirzadeh S. Surgical Principles. 1st ed. Tehran: Eshtiagh Publication; 1376: 1120, 178-87.

2- Posads E, Simpkins F, Liotta L, Macdonald C, Khon E. Proteomic analysis for the early detection and rational treatment of cancer-realistic hope. Ann Oncol 2005;16:16-22.

3- Chatterjee SK, Zetter BR. Cancer biomarkers: knowing the present and predicting the future. Future Oncol 2005;1(1):37-50.

4- Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive and treatment implications. Cell Stress chaperones. 2005;10(2):86-103 .

5- Berns EM, De witte HH, Klijn JG. Prognostic value of p53 protein accumulation in human primary breast cancer: an analysis by luminometric immunoassay on 1491 tumor cytosols. Anti cancer Res 1997;371:3003-6.

6- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. 4th ed. New York: Garland Science Taylor & Francis Group; 2002:1344-5.

7- Vousden KH, Woude GF. The ins and outs of p53. Nat Cell Biol 2000;2:E178-E180.

8- Mihara M, Erster S, Zaika A, Petrenko O, Chittenden T, Pancoska P, et al. p53 has a direct apoptogenic role at the mitochondria. Mol Cell 2003;11(3):577-90.

9- Perfettini JL, Kroemer RT, and Kroemer G. Fatal liaisons of p53 with Bax and Bak. Nat Cell Biol 2004;6:386-8.

10- Leu JI, Dumont P, Hafey M, Murphy ME, George DL. Mitochondrial p53 activates Bak and causes disruption of a Bak-Mcl1 complex. Nat Cell Biol 2004;6(5):443-50.

11- Mayer MP, Bukau B. Hsp70 chaperones: Cellular functions and molecular mechanism. Cell Mol Life Sci 2005;62:670-84.

12- Daniel R, Ciocca D, Stuart K, Calderwood S. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. Cell Stress Chaperones 2005;10(2):86-103.

13- Lazaris A, Chatzigianni EB, Panoussopoulos D, Tzimas GN, Davaris PS, Golematis B. Proliferating cell nuclear antigen and heat shock protein 70 immunolocalization in invasive ductal breast cancer not otherwise specified. Breast Cancer Res Treat 1997;43:43-51.

14- Elledge RM, Clark GM, Fuqua AW, Yu Y, Craige Allred D. P53 protein accumulation detected by five different antibodies: relationship to prognosis and heat shock protein 70 in breast cancer. Cancer Res 1994;54:3752-7.
15- Ciocca DR, Green S, Elledge R, Clark G, Pugh R, Ravdin P, et al. Heat shock proteins hsp27 and hsp70: lack of correlation with response to tamoxifen and clinical course of disease in Estrogen receptor-positive metastatic breast cancer. Clin Cancer Res 1998;5:1263-6.
16- Tiezzi D, Andrade J, Silva A, Zola F, Marana H, TiezziM. HER-2 , P53 , P21 and hormonal receptors proteins expression as predictive factors of response and prognosis in locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant docetaxel plus epirubicin combination. BMC Cancer 2007;7(36):1471-81.
17- Jalali Nodooshen M, Bakhshayesh S. Clinical applications of serum and tissue markers in Breast Cancer. Pathology (Academic Journal of Pathology Society of Iran), No 7, 1386.
18- Levine AJ, Wu MC, Chang A, Silver A, Attiyeh EF, Lin J, et al. The spectrum of mutations at the p53 locus. Evidence for tissue-specific mutagenesis, selection of mutant alleles, and a “gain of function” phenotype. Ann N Y Acad Sci 1995;768:111-28.
19- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000;100:57-70.
20- Lane D. P53 from pathway to therapy. Carcinogenesis 2004;25:1071-81.
21- Duncan E, Wadhwa R, Kaul SC. Senescence and immortalization of human cells. Biogerontology 2000;1(2):103-21.
22- Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. Nature 1989;342:705-8.
23- Agnantis N, Fatouros M, Arampatzis I, Briasoulis E, Ignatiadou E, Paraske E, et al. Carcinogenesis of breast cancer: Advances and applications. Gastric Breast Cancer 2004;3(1):13-22.
24- Allred D. Biologic characteristics of ductal carcinoma in situ. In: Silverstein NJ, ed. Ductal carcinoma in situ of the breast. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002:37-48.
25- Yamashita H, Toyama T, Nishio M, Ando Y, Hamaguchi M, Zhang Z, et al. p53 protein accumulation predicts resistance to endocrine therapy and post relapse survival in metastatic breast cancer. Breast Cancer Res 2006;8(4):1186-94.
26- Zellars RC, Hilsenbeck SG, Clark GM, Allred DC, Herman TS, Chamness GC, et al. Prognostic Value of p53 for Local Failure in Mastectomy-Treated Breast Cancer Patients. J Clin Cancer 2000;18:1906-13.
27- Allred D, Clark G, Elledge R, Fuqua S, Brown R, Chamness G, et al. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. J Natl Cancer Inst 1993;85:200-6.
28- Silvestrini R, Benini E, Daidone G, Veneroni S, Boracchi I, Fronzo G, et al. p53 as independent prognostic marker in lymph node negative breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1993;85:965-70.
29- Thanner F, Sutterlin MW, Kapp M, Rieger L, Kristen P, Dietl J, et al. Heat shock protein 70 as a prognostic marker in node-negative breast cancer. Anticancer Res 2003;23(2A):1057-62.
30- Berns E, Klijn J, Van Putten W, de Witte H, Look MP, Meijer-van Gelder M, et al. p53 protein accumulation predicts poor response to tamoxifen therapy of patients with recurrent breast cancer. J Clin Oncol 1998;16:121-7.

# A Survey of relation to nuclear and cytoplasmic Hsp70 and P53 expression in breast cancer

**Ashourzadeh S[1], Panahi M*[1], Rashidi I[2], Nateghi J[3]**

*[1]Department of Anatomical, [2]Department of Pathology, [3]Department of Hemathology, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran*

## Abstract

**Background and Objective:** Heat shock protein 70 (hsp70) is a chaperone that binds to mutant P53 and consequently could regulate its accumulation or localization. Nuclear accumulation of P53 protein is associated with a poorer clinical outcome in breast cancer patients. The aims of this study were to determine whether hsp70 was associated with nuclear accumulation of P53 and is there any relationship between hsp70 expression and P53 with clinicopathological factors of breast cancer.

**Subjects and Methods:** Breast tumors of patients (n=47) were sent to Shafa pathology lab in province of Khouzestan/Iran were examined by immunohistochemistry for nuclear P53 and cytoplasmic or nuclear hsp70. The paraffin sections were stained with the P53 antibody (N1581, Dako) and the hsp70 antibody (ab47454, abcam). Hsp70 and P53 were scored statistically according to the nuclear and/or cytoplasmic content and the nuclear content respectively.

**Results:** There was no significant association between nuclear or cytoplasmic hsp70 staining and accumulation of P53. No significance association was found between nuclear hsp70 or P53 expression and clinicopathological factors of breast tumors. There was a correlation ($P<0.001$) between nuclear and cytoplasmic hsp70 expression. The cytoplasmic expression of hsp70 was moderately significant in relation to histological grade of breast tumors ($P=0.049$).

**Conclusion:** In human breast cancer, nuclear accumulation of P53 was not associated with nuclear or cytoplasmic hsp70 levels, but cytoplasmic hsp70 level is correlated with nuclear hsp70 level and is related with histological grade of breast tumors.

**Keywords:** Breast cancer, P53, Hsp70

**Received: 16/Jun/2008** **Revised: 8/Apr/2009** **Accepted: 22/Jun/2009**

* Corresponding author email: marpanahi@ajum.ac.ir