

# پلی مورفیسم rs1256054 در ژن گیرنده استروژن بتا و خطر ابتلا به سرطان پستان

• دکتر سکینه عباسی

PhD ژنتیک انسانی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران

دانشکده پیرا پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی

[abbasisk@tums.ac.ir](mailto:abbasisk@tums.ac.ir)

• دکتر سمیرا کلباسی

دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

[kalbasi\\_samira@yahoo.com](mailto:kalbasi_samira@yahoo.com)

## عنوان مکرر: پلی مورفیسم ژن گیرنده استروژن بتا و سرطان پستان

این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران (گرانته # ۶۱۶۵) تصویب و پشتیبانی مالی شده است.

### چکیده

زمینه و هدف: نقش ژن گیرنده استروژن آلفا و بتا ( $ER-\alpha, \beta$ ) در بروز سرطان پستان غیر قابل انکار است. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که الگوی سن بروز سرطان پستان در شرق میانه، از ساکنین کشورهای غربی متفاوت است.

روش کار: آگزون های ۳ و ۷ در ژن  $ER-\beta$  در زنان مبتلا به سرطان پستان (۱۵۰) و در افراد سالم (۱۴۷) جهت تشخیص هر گونه گوناگونی ژنتیکی به کمک روش تکثیر پلی مورفیسم بر اساس ساختار فضایی تک زنجیره DNA (SSCP-PCR) مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته ها: در آگزون ۷ جهشی خاموش به شکل پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) در کدون ۳۹۲ و فقط در بیماران مبتلا به سرطان پستان (۵,۷٪) ( $P=0,01, \chi^2=17,122$ ) مشاهده شد. آلل CTG در کدون ۳۹۲ ( $C1176G$ ) ارتباط مستقیم با وقوع متاستاز در غدد لنفاوی را نشان می دهد.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان دهنده آن است که پلی مورفیسم  $ER-\beta$  در آگزون ۷ کدون

۳۹۲ ( $C1176G$ ) با جنبه های مختلف از سرطان پستان و متاستاز گره های لنفاوی در گروه بیماران مبتلا به سرطان پستان مرتبط است.

کلیدواژه: سرطان پستان، پلی مورفیسم، ژن گیرنده استروژن بتا، SSCP-PCR

### مقدمه

سرطان پستان شایع ترین سرطان در میان زنان در اکثر نقاط جهان از جمله ایران است. تفاوت های جغرافیایی و تاثیر آن در بروز و میزان مرگ و میر ناشی از سرطان پستان نشان می دهد که عوامل خطر شناخته شده برای سرطان پستان در نقاط مختلف جهان متفاوت بوده و عوامل محیطی اهمیت بیشتری نسبت به عوامل ژنتیکی در بروز این سرطان دارند [۱]. به عنوان مثال، ثابت شده است که در ایران زنان جوان در معرض خطر نسبتاً بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان نسبت به همتهای غربی خود هستند [۲،۳]. منشا سرطان پستان در سلول های اپیتلیال مجاری غده پستانی است و این سلول ها دارای گیرنده های استروژن (ERs) بوده که غده پستان نرمال در پاسخ به استروژن تخمدان تشکیل می گردد [۴]. فعال شدن استروژن از طریق ERs به واسطه رونویسی ژن های مختلفی است که همه در تکثیر سلولی نقش دارند. فقط بخش کوچکی (کمتر از ۵٪) از سرطان پستان ارثی است و از این تعداد، حدود نیمی مستعد جهش در ژن های  $BRCA1$ ،  $BRCA2$ ،  $TP53$ ، یا دیگر ژن های مستعد کننده سرطان



شناخته شده است [۷-۵]. اما، مطالعه دو قلوها نشان می‌دهد که توارث سرطان پستان حدود ۳۰٪ است [۸]، که احتمالاً ژن یا ژن‌های دیگری غیر از ژن‌های شناخته شده در خطر ابتلا به سرطان سینه عمل می‌کنند. اگر چه هنوز به درستی معلوم نیست که کدام نواحی ژنومی، کدام فعالیت‌های بیوشیمیایی بدن و یا مسیر سیگنالینگ در بروز یا پیشرفت سرطان پستان نقش اساسی دارد.

شواهد اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که استروژن نقش حیاتی در بروز سرطان پستان در زنانی با قاعدگی زودرس و یائسگی دیررس دارد. چاقی نیز با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان مرتبط است؛ سنتز استروژن در بافت چربی، عامل اصلی این افزایش خطر است. داده‌های موجود، دخالت‌گیرنده استروژن در فرآیندهای مولکولی را در افزایش بروز سرطان پستان دخیل می‌داند [۱۵-۱۰].

گوناگونی‌های پلی مورفیک ژن گیرنده استروژن  $ER-\alpha$  با خطر ابتلا به سرطان پستان در سفید پوستان همراه است [۲۶-۱۶]. اما، بر خلاف ژن  $ER-\alpha$  که به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است، برای اثبات دخالت ژن  $ER-\beta$  در سرطان پستان شواهد بیشتری نیاز است [۳۵-۲۷]. در حال حاضر، اطلاعات پراکنده‌ای در مورد بیان، فراوانی جهش و تنوع آلل ژن  $ER-\beta$  در سرطان پستان وجود دارد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف شناسایی گیرنده هورمون استروئیدی در دو منطقه تصادفی (اگزون ۳ و ۷) از ژن  $ER-\beta$  که ممکن است با خطر ابتلا به سرطان پستان همراه باشد طراحی شده است و در نهایت هدف ما ایجاد یک پایگاه داده‌ها برای پلی مورفیسم‌های ژنتیکی ژن  $ER-\beta$  در ژنوم جامعه ایرانی (آسیایی قفقاز) و تعیین ارتباط بین پلی مورفیسم  $ER-\beta$  و ویژگی‌های مختلف بالینی قابل مشاهده در سرطان پستان در زنان ایران است.

## روش‌ها

### جامعه مورد مطالعه

تحقیق حاضر یک مطالعه مورد-شاهد است که از فروردین ۱۳۸۶ تا دی ۱۳۸۸ بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان (۱۵۰ نفر) عمدتاً ساکن تهران، که به تازگی در انستیتو کانسر، مجتمع بیمارستان امام خمینی (ره) بیماریشان تشخیص

و تایید پاتولوژیکی شده بود صورت گرفت. گروه شاهد ( $N=147$  نفر) شامل زنان سالم بدون هر سابقه سرطان پستان و یا هر نوع بیماری نئوپلاستیک دیگر و همچنین بدون سابقه سرطان پستان در بستگان درجه یک می‌باشد [۳۶]. زنانی که در طول زندگی هیستریکتومی، یائسگی مصنوعی داشته و یا در معرض هر نوع اشعه و شیمی درمانی قرار داشته‌اند از مطالعه حذف شدند. شایان ذکر است که تمامی افراد شرکت‌کننده در این مطالعه و قبل از ورود به این تحقیق ملزم به مطالعه و امضای رضایت‌نامه کتبی آگاهانه گردیدند. اطلاعات جمعیتی و عوامل خطر ابتدا با استفاده از پرسشنامه کوتاه ساختاری شامل اطلاعات مربوط به سن، وزن، قد، نژاد، مذهب، وضعیت تأهل، تعداد حاملگی و فرزندان، سن در تولد اولین فرزند، مدت متوسط دوره شیردهی، سابقه خانوادگی سرطان پستان (بستگان درجه یک)، سن شروع قاعدگی، سن در ازدواج، وضعیت یائسگی، سن یائسگی، گروه‌های خونی ABO، نژاد، سن شروع بیماری، متاستاز در گره‌های لنفاوی، مرحله سرطان در زمان آزمایش و بیان ژن  $ER$  در بافت سرطان پستان به دست آمد و سپس 5ml خون محیطی همراه با EDTA بر اساس پروتکل تهیه شده جمع‌آوری و جهت آزمایش‌های ژنومیک و تجزیه و تحلیل ژنوتایپی نگهداری شدند.

### غربالگری گوناگونی در ژن $ER-\beta$ به کمک روش تکثیر پلی مورفیسم ساختار فضایی تک زنجیره DNA (SSCP-PCR)

به منظور شناسایی هر گونه تغییر پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) در ساختار دو اگزون منتخب (اگزون ۳ و اگزون ۷) از  $ER-\beta$ ، روش SSCP-PCR مورد استفاده قرار گرفت. DNA ژنومی از لکوسیت‌های خون با استفاده از کیت استخراج Plus-TMDNG (Cinnagen-Inc، تهران، ایران) مطابق با دستورالعمل کارخانه سازنده استخراج شد. مجموعه‌ای از پرایمرها برای تکثیر اگزون‌های ۳ و ۷ ژن  $ER-\beta$  توسط نرم افزار primer3 (V.0.4.0) (جدول ۱) طراحی شدند.

PCR تا ۳۰ چرخه با مراحل زیر انجام گرفت: دناتوراسیون و اسرشتی DNA برای ۳۰ ثانیه در دمای  $95^{\circ}C$ ، اتصال پرایمرها

برای ۳۰ ثانیه در  $58^{\circ}C$ ، طویل شدن DNA در  $40^{\circ}C$  ثانیه در  $72^{\circ}C$  و مرحله طویل شدن نهایی در ۵ دقیقه در دمای  $72^{\circ}C$

## SSCP الکتروفورز بر روی ژل

پلی اکریل آمید ۱۲ درصد (۱:۲۹ آکریل آمید و بیس آکریل آمید) انجام شد ( $V=200$ )، به مدت ۲۰ ساعت در  $16^{\circ}\text{C}$ ، سپس جهت مشاهده باندها رنگ آمیزی با نیترات نقره (۱٪) استفاده شد. شناسایی و تایید باند غیر معمول حاصل از SSCP-PCR پس از استخراج از ژل آگارز با استفاده از کیت استخراج DNA (Fermentas# K015، آلمان) صورت گرفت و ابتدا با پرایمر رفت (Forward) به کمک Applied Big dye Terminator V3.1 Cycle Sequencing kit protocol, (16 capillaries) ABI 3130XL (Biosystem Kit, Microgen Co., USA) تعیین توالی شد.

جهت تایید توالی های پلی مورفیک پس از خالص سازی محصول PCR با استفاده از کیت استخراج PCR QIAquick (Germany, QIAGEN) خالص شده و سپس با پرایمر برگشت (Reverse) مجدداً تعیین توالی شدند.

## آنالیز آماری

داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS-16 و آزمون کای اسکوئر ( $\chi^2$ ) تجزیه و تحلیل شدند و نسبت شانس (OR) نیز محاسبه گردید. سطح معنی داری آزمون ها کمتر از 0.05 در نظر گرفته شد.

## نتایج

در این مطالعه، ۱۵۰ بیمار با سرطان پستان با متوسط سن  $47,49 \pm 11,43$  سال و ۱۴۷ زن بدون سابقه خانوادگی سرطان پستان با متوسط سن  $40,75 \pm 10,54$  سال به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. در آزمون شماره ۳، هیچ جهش جدید و یا SNP در جمعیت مورد مطالعه پیدا نشد. آزمون شماره ۷ نشان داد که جهشی ساکت به شکل SNP در کدون 392 (Lue 392 Lue) rs1256054 (dbSNP128) که در آن نوکلئوتید C به G (G 1176 C) تبدیل شده ولی هر دو کدون CTC و CTG برای اسید آمینه لوسین رمزگذاری می کنند. در حالی که پلی مورفیسم کدون ۳۹۲ فقط در بیماران وجود داشت، فراوانی های به دست آمده از لحاظ آماری

معنی دار نیز بود،  $8,7\%$  برای ژنوتیپ CG، و  $1,3\%$  برای ژنوتیپ GG در مقایسه با  $90,0\%$  CC برای ژنوتیپ نرمال ( $P=0,029$ ،  $\chi^2=4,769$ ) (جدول ۲).

در میان تمام عوامل خطر مورد مطالعه در سرطان پستان، تنها دو عامل نژاد و گروه خونی ABO، تفاوت معنی داری بین گروه مورد و شاهد نشان دادند ( $P<0,05$ )، به طوری که در استان فارس در میان بیماران هتروزیگوت CG توزیع فراوانی ژنوتیپی معنی دار بود ( $P=0,003$ ،  $\chi^2=9,11$ ) و همچنین در مطالعه چهار گروه خونی ABO، گروه های خونی A و B تفاوت معنی داری بین گروه مورد و شاهد نشان دادند ( $P=0,027$ ،  $\chi^2=4,920$  و  $P=0,024$ ،  $\chi^2=5,108$ ) (جدول ۳).

در میان بیماران مبتلا به سرطان پستان، ۷۰،۱٪ با درصد سابقه فامیلی درجه یک سرطان پستان که از این میان  $52,6\%$  با ژنوتیپ CG و  $10,5\%$  با ژنوتیپ GG بودند و  $2,3\%$  از آن ها نیز بدون سابقه فامیلی سرطان پستان و ژنوتیپ CG را نشان دادند که این اختلاف نیز از نظر آماری معنی دار بود ( $P=0,001$ ،  $\chi^2=27,645$ ). علاوه بر این، اختلاف، در فراوانی ژنوتیپی در بیماران مبتلا به سرطان پستان با متاستاز LN، برای مجموع ژنوتیپ های CG و GG،  $39\%$ ، در مقایسه با بیماران مبتلا به سرطان پستان بدون متاستاز LN در شرایط مشابه  $4.7\%$  ( $P=0,001$ ،  $\chi^2=17,314$ ) معنی دار بود (جدول ۴).

فراوانی آلل  $392G$  به میزان قابل توجهی در بیماران مبتلا به سرطان پستان با سن شروع قاعدگی ۱۲ سال و پایین تر ( $9,2\%$ ) نسبت به بیمارانی که سن شروع قاعدگی بالاتر از ۱۲ سال داشتند ( $3,3\%$ ) بالاتر بود. همچنین فراوانی آلل  $392G$  به میزان قابل توجهی در بیماران مبتلا به سرطان پستان در فامیل درجه یک ( $36,8\%$ ) نسبت به افراد بدون سابقه فامیلی سرطان پستان بالاتر ( $1,1\%$ )، با تفاوت  $35,7\%$  بود. علاوه بر این، فراوانی آلل  $392G$  نیز به میزان قابل توجهی در بیماران مبتلا به سرطان با متاستاز LN ( $23,9\%$ ) نسبت به افراد بدون متاستاز LN ( $2.4\%$ ) با تفاوت  $21,5\%$  بالاتر بود و چنانچه انتظار می رود، فراوانی آلل  $392C$  به طور قابل توجهی در بیماران مبتلا به سرطان با متاستاز LN ( $76.1\%$ ) نسبت به بیماران بدون LN متاستاز ( $97,6\%$ ) پایین تر بود ( $P=0,001$ ،  $\chi^2=33,838$ ) (جدول ۵). همبستگی معنی داری در بیمارانی با سابقه فامیلی سرطان



پستان در بستگان درجه یک و متاستاز LN مشاهده شد، که با محاسبه  $OR_1$  در جدول ۶ نشان داده شده است. هنگامی که سرطان پستان به تنهایی مورد بررسی قرار می گیرد، توزیع فراوانی ژنوتیپی تفاوت معنی داری را در گروه مورد و شاهد ( $P=0,029$ ) به نمایش می گذارد. خطر برآورد شده برای ژنوتیپ نرمال CC در بیماران ( $0,47,9\%$ ) و در گروه شاهد بالاتر ( $0,52,1\%$ ) بود و این در حالی است که، ژنوتیپ CG و یا ژنوتیپ GG در کدون ۳۹۲ فقط در بیماران مبتلا به سرطان پستان مشاهده شد نه در افراد سالم.

علاوه بر این، توزیع فراوانی ژنوتیپی در وجود یا عدم وجود سابقه فامیلی سرطان پستان در بستگان درجه یک فراوانی های متفاوت و از لحاظ آماری معنی داری را برای کدون ۳۹۲ ( $P=0,001$ ) و LN متاستاز به نمایش گذاشته است. ژنوتیپ هتروزیگوت CG در بیماران با سابقه فامیلی سرطان پستان در بستگان درجه یک نسبت به گروه دیگر تقریباً ۳ برابر بوده و خطر نسبی برای بیماران با سابقه فامیلی برابر  $0,16/0$  و در جامعه با اطمینان  $95\%$  در محدوده  $0,073 - 0,004$  می باشد. مضافاً این که ژنوتیپ هتروزیگوت CG در بیماران با متاستاز غدد لنفاوی نسبت به گروه دیگر بیشتر بوده و خطر نسبی برای بیماران با متاستاز غدد لنفاوی برابر  $0,99/0$  و در جامعه با اطمینان  $95\%$  در محدوده  $0,337 - 0,029$  می باشد و این در حالی است که ژنوتیپ GG تنها در افراد با سابقه فامیلی سرطان پستان و متاستاز LN (جدول ۶) مشاهده شد.

## بحث

ER- $\beta$  یکی از عوامل مهم در مکانیسم عمل استروژن در بسیاری از بافت ها، از جمله سیستم اعصاب مرکزی، سیستم قلبی عروقی، سیستم ایمنی بدن، دستگاه ادراری، دستگاه گوارش، کلیه ها و ریه ها می باشد. گوناگونی های این ژن آشکارا عامل ایجاد زمینه مستعد برای بروز سرطان پستان است [۳۷]. مطالعات متعددی در بررسی ارتباط انواع گوناگونی ژن ER- $\beta$  و خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت های مختلف وجود دارد [۲۷-۳۵]، اما به جز Zheng و همکاران، هیچ یک از تحقیقات فوق پلی مورفیسم rs1256054 را شامل نمی شود [۲۹]. سه پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در رابطه با ژن ER- $\alpha$  و سرطان پستان قبلاً مورد مطالعه قرار گرفته است [۲۲-۲۴]. مطالعه حاضر

با تمرکز بر تغییرات ژنتیکی ژن ER- $\beta$  در بیماران مبتلا به سرطان پستان برای اولین بار در ایران صورت گرفته است. این SNP (تغییر کدون CTC به CTG) تنها در گروه بیمار مبتلا به سرطان دیده شد، که معنی دار بودن ( $P=0,029$ ) افزایش ژنوتیپ CG ( $0,8,7\%$ ) در مقایسه با ژنوتیپ GG ( $0,1,3\%$ )، نشان می دهد ژنوتیپ CG می تواند عامل خطر برای ابتلا به سرطان پستان به حساب آید (جدول ۲). علاوه بر این، فراوانی ژنوتیپ CG در نژاد فارس و همچنین در هر دو خون A و B در مقایسه با دیگر عوامل خطر (به ترتیب  $0,10\%$ ،  $0,11\%$  و  $0,14,3\%$ ) افزایش قابل توجهی را نشان می دهند که این خود نمایانگر آن است که ژنوتیپ CG و ویژگی های ذکر شده ممکن است در استعداد ابتلا به سرطان پستان نقش داشته باشند (جدول ۳). گزارش نشان می دهد که SNP ها در مناطق مختلف ژن ER- $\beta$  نه تنها با سرطان پستان بلکه با بیماری های چون بی اشتهایی عصبی (anorexia nervosa)، پارکینسون (Parkinson) و اختلال در تخمک گذاری (ovulatory) نیز ارتباط دارد [۴۱-۴۸، ۳۸، ۲۸-۲۷].

همچنین افزایش فراوانی ژنوتیپ CG در بیماران با سابقه فامیلی سرطان پستان (در فامیل درجه یک) نسبت به بیماران بدون سابقه فامیلی سرطان پستان تفاوت  $0,3,5\%$  را نشان می دهد، که این تفاوت برای ژنوتیپ GG بسیار کمتر و  $0,5,1\%$  است. این تفاوت فاحش نشان می دهد که ژنوتیپ CG ممکن است در بروز سرطان پستان فامیلی بیش از ژنوتیپ GG نقش داشته باشد. همین شرایط را هنگامی که وضعیت متاستاز LN را در بیماران مورد مطالعه قرار دادیم مشاهده شد، به طوری که فراوانی ژنوتیپ CG  $0,21,7\%$  بیشتر از بیمارانی بود که متاستاز LN را نداشتند در حالی که این تفاوت برای ژنوتیپ GG  $0,8,7\%$  بود و این نتیجه نیز نشان می دهد که ژنوتیپ CG ممکن است مرتبط با ایجاد متاستاز LN در سرطان پستان در ایران باشد (جدول ۴).

برخی از مطالعات از جمله تحقیقات انجام شده در شانگهای [۲۹]، فنلاند [۳۰] و ایالات متحده آمریکا [۳۱] هیچ تفاوت آماری معنی داری بین فراوانی آلل ها در دو گروه مورد و شاهد دیده نشده است. با این حال، تعدادی از تحقیقات انجام شده در جمعیت های مختلف از جمله سوئد [۳۲]، هند [۲۷]، آلمان [۳۳] و ژاپن [۴۰] مشابه نتایج ما، تفاوت آماری معنی داری بین فراوانی

ممکن است در بروز سرطان پستان فامیلی و متاستاز LN موثر باشد اما نمی تواند به عنوان عامل خطر در ابتلا به سرطان پستان در نظر گرفته شود.

### نتیجه گیری

در این تحقیق ارتباط پلی مورفیسم کدون ۳۹۲ CTG / CTC با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان فامیلی و متاستاز LN مطالعه شد. علاوه بر این، مشخص شد که هتروزیگوسیتی CG خطر ابتلا به سرطان پستان فامیلی و LN متاستاز را افزایش می دهد. با این حال، نتایج ما این مفهوم را می رسانند که SNP های مورد مطالعه نقشی در اتیولوژی سرطان پستان بازی نمی کنند و پلی مورفیسم ژن ER-β است که می تواند در افزایش استعداد ابتلا به سرطان پستان نقش داشته باشد. این اولین مطالعه در گوناگونی ژن ER-β و ارتباط آن با فاکتورهای مختلف خطر در سرطان پستان در ایران است. در حال حاضر ژن ER-β، در ارزیابی های قبل از عمل جراحی می تواند شاخص مهمی برای پیش بینی متاستاز به گره های لنفاوی در سرطان پستان باشد. تجزیه و تحلیل های گسترده تری برای مشخص شدن نقش پلی مورفیسم ER-β در استعداد ابتلا به سرطان پستان نیاز است. در ادامه این مطالعه پیشنهاد می شود با بررسی نواحی دیگر ژن ER-β اطلاعات کافی جدید در زمینه زیست شناسی و اتیولوژی پیچیده سرطان پستان فراهم آید.

### اختصارات

BMI: شاخص توده بدن، CI: فاصله اطمینان، ESR: گیرنده استروژن، LN: گره های لنفاوی، PCR: واکنش زنجیره ای پلیمرز، اره اش خون یا سیستم گروه خون رئوسوس (Rh): SNP: پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی، SSCP: پلی مورفیسم شکل فضایی تک رشته DNA

### تقدیر نامه

این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران گرانت # ۶۱۶۵ حمایت مالی و پشتیبانی شده است که در اینجا نویسنده مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را اعلام می نماید.

آل ها در گروه مورد و شاهد پیدا کرده اند. نتایج فوق ارتباط بین پلی مورفیسم کدون ۳۹۲ و بروز سرطان پستان را تقویت می کند. علاوه بر این، فراوانی آل G در بیماران با سابقه سرطان پستان در فامیل درجه یک در مقایسه با در بیماران بدون سابقه سرطان پستان در فامیل درجه یک به میزان قابل توجهی بالاتر بود (با اختلاف ۳۵٫۷٪). افزایش فراوانی آل G نیز در بیماران با متاستاز LN در مقایسه با بیماران بدون متاستاز LN با اختلاف ۲۱٫۵٪ مشاهده شد ( $P=0,001$ ) که نشان می دهد که حضور آل G ممکن است نقش عامل پیش بینی کننده هم در ابتلا به سرطان پستان فامیلی و هم پیشرفت بیماری به شکل متاستاز LN داشته باشد (جدول ۵). به عنوان یک ابزار عملی، رابطه بین کدون ۳۹۲ و احتمال متاستاز LN در نقش یک شاخص بالینی در طول ارزیابی قبل از عمل جراحی می بایست بیشتر مورد توجه قرار گیرد. بررسی گوناگونی کدون ۳۹۲ در پیش بینی تهاجم سرطان به غدد لنفاوی که با عود موضعی و چگونگی پیشرفت بیماری همراه است شاخص مهمی در زمان تصمیم گیری برای انجام شیمی درمانی محسوب می شود. [۴۵-۴۲]

با این حال، هنوز ارتباط بین پلی مورفیسم های ساکت و فنوتیپ مشخص نیست. یکی از احتمالات، آن است که پلی مورفیسم ساکت در ارتباط با یک جهش ژنتیکی دیگری است که به طور مستقیم تحت تاثیر فنوتیپ سرطان پستان قرار دارد. احتمال دیگر آن است که ترکیب نوکلئوتیدی در جایگاه یک پلی مورفیسم ساکت می تواند با تغییر سطح بیان ژن استروژن، منجر به متاستاز غدد لنفاوی در سرطان گردد.

ژنوتیپ های ER-β با ویژگی های بالینی انتخاب شده در سرطان پستان، از جمله سن منارک، سابقه فامیلی سرطان پستان و متاستاز LN مقایسه شدند. ارتباط معنی داری ( $P=0,001$ ) بین سابقه فامیلی سرطان پستان و متاستاز LN یافت شد، که با اندازه ORs ارائه و در جدول ۶ نشان داده شده است. از طرف دیگر خطر برآورد شده برای بیماران با سابقه فامیلی سرطان پستان و بیماران با متاستاز LN که برای کدون ۳۹۲ هتروزیگوت بودند نسبت به گروه شاهد بسیار پائین تر بود (به ترتیب ۰٫۰۱۶ و OR= ۰٫۰۹۹ با ۹۵٪ CI). این نتیجه نشان می دهد که پلی مورفیسم کدون ۳۹۲ خطر ابتلا به سرطان پستان را تحت تاثیر قرار نمی دهد. با توجه به نتایج فوق، گرچه SNP در کدون ۳۹۲



جدول ۱- توالی پرایمر های اگزون های ۳ و ۷ ژن گیرنده استروژن بتا

Polymorphism site	Melting temperature [°C]	Oligonucleotide sequences	Sequence size
Exon 3	59.23	Primers for PCR reaction F TTGCTCCCTAGAGAGACTGA	151
	59.86	R CTCACACGACCAGACTCCA	
Exon 7	60.04	Primers for PCR reaction F 5' GATGAGGGGAAATGCGTAGA 3'	156
	60.14	R 5' GGCCCAGCTGTGTGATTACT 3'	

جدول ۲. فراوانی توزیع ژنوتیپ ها در کدان ۳۹۲ اگزون ۷ ژن استروژن به گیرنده  $\beta$  در جمعیت مورد مطالعه: گروه سرطان پستان در مقابل گروه شاهد

نتیجه تست	مجموع	هموزیگوت <sup>c</sup>	هتروزیگوت <sup>b</sup>	نرمال <sup>a</sup>	کدان ۳۹۲ گروه
	درصد	درصد	درصد	درصد	
$\chi^2=4.769$	100	1.3	8.7	90.0	مورد
$P=0.029$	100	-	-	100	کنترل
	100	0.7	4.4	94.9	مجموع

<sup>a</sup>Genotype normal, CTC/CTC, <sup>b</sup> Genotype heterozygote, CTC/CTG, <sup>c</sup> Genotype homozygote, CTG/CTG

جدول ۳. فراوانی توزیع ژنوتیپی در کدان ۳۹۲ در آگزون ۷ استروژن گیرنده  $\beta$  ژن و عوامل خطر عمده در جمعیت مورد مطالعه: گروه سرطان پستان، در مقابل گروه شاهد

نتیجه تست	کدان ۳۹۲					مشخصه گروه
	مجموع درصد	هموزیگوت <sup>c</sup> درصد	هتروزیگوت <sup>b</sup> درصد	نرمال <sup>a</sup> درصد	مورد	
سن شروع قاعدگی (سال)						
$\chi^2=1.887$ P=0.169	100	1.7	15.0	83.3	مورد	<=12
	100	-	-	100	کنترل	
	100	1.0	9.4	89.6	مجموع	
$\chi^2=2.229$ P=0.135	100	1.1	4.4	94.4	مورد	>12
	100	-	-	100	کنترل	
	100	0.5	2.0	97.5	مجموع	
	100	1.3	8.7	90	مورد	مجموع
	100	-	-	100	کنترل	
	100	0.7	4.4	94.9	مجموع	
نژاد						
-	100	-	-	100	مورد	عرب و ارمنی
	100	-	-	-	کنترل	
	100	-	-	100	مجموع	
$\chi^2=9.11$ P=0.003	100	-	10.0	90.0	مورد	فارس
	100	-	-	100	کنترل	
	100	-	4.1	95.9	مجموع	
$\chi^2=0.697$ P=0.404	100	5.6	11.1	83.3	مورد	لر و کرد
	100	-	-	100	کنترل	
	100	3.7	7.4	88.9	مجموع	
$\chi^2=1.17$ P=0.279	100	2.2	4.3	93.5	مورد	ترک
	100	-	-	100	کنترل	
	100	1.1	2.4	96.5	مجموع	
$\chi^2=1.527$ P=0.217	100	-	13.0	87.0	مورد	گیلکی و مازندرانی
	100	-	-	100	کنترل	
	100	-	8.8	91.2	مجموع	
	100	1.3	8.7	90.0	مورد	مجموع
	100	-	-	100	کنترل	
	100	0.7	4.4	94.9	مجموع	
گروه خون ABO						
$\chi^2=4.920$ P=0.027	100	-	11.1	88.9	مورد	A
	100	-	-	100	کنترل	
	100	-	4.3	95.7	مجموع	
$\chi^2=5.106$ P=0.024	100	-	14.3	85.7	مورد	B
	100	-	-	100	کنترل	
	100	-	4.1	95.9	مجموع	
-	100	-	-	100	مورد	AB
	100	-	-	100	کنترل	
	100	-	-	100	مجموع	
$\chi^2=1.884$ P=0.17	100	1.9	7.8	90.3	مورد	O
	100	-	-	100	کنترل	
	100	1.3	5.1	93.6	مجموع	
	100	1.3	8.7	90	مورد	مجموع
	100	-	-	100	کنترل	
	100	0.7	4.4	94.9	مجموع	

<sup>a</sup> Genotype normal or 00, CTC/CTC, <sup>b</sup> Genotype heterozygote or 01, CTC/CTG, Genotype homozygote or 11, CTG/CTG



جدول ۴. توزیع فراوانی ژنوتیپ ها در کدان ۳۹۲ اگزون ۷ گیرنده استروژن  $\beta$  زن و ویژگی های دموگرافیک و عوامل خطر عمده

نتیجه تست	مجموع	هموزیگوت <sup>c</sup>	هتروزیگوت <sup>b</sup>	نرمال <sup>a</sup>	کدان ۳۹۲
	درصد	درصد	درصد	درصد	مشخصه
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>					
$\chi^2=0.144$ P=0.705	100	-	20.0	80.0	$\leq 18.5$
	100	1.8	7.0	91.2	18.5-24.9
	100	-	9.1	90.9	25-29.9
	100	3.0	9.1	87.9	>30
	100	1.3	8.7	90.0	مجموع
<b>سن شروع سرطان پستان (به سال)</b>					
$\chi^2=0.959$ P=0.328	100	-	8.3	91.7	$\leq 40$
	100	2.0	8.8	89.2	>40
	100	1.3	8.7	90.0	مجموع
<b>سابقه خانوادگی سرطان پستان</b>					
$\chi^2=27.645$ P=0.001	100	10.5	52.6	36.8	درجه اول خانواده را تحت تاثیر قرار می دهد
	100	-	2.3	97.7	تحت تاثیر قرار نمی دهد
	100	1.3	8.7	90	مجموع
<b>متاستاز غدد لنفاوی</b>					
$\chi^2=17.314$ P=0.001	100	8.7	30.4	60.9	بلی
	100	-	4.7	95.3	خیر
	100	1.3	8.7	90.0	مجموع
<b>بیان ER در بافت سرطان پستان</b>					
$\chi^2=4.799$ P=0.028	100	5.0	15.0	80.0	مثبت
	100	-	5.4	94.6	منفی
	100	-	11.1	88.9	بررسی نشده
	100	1.3	8.7	90.0	مجموع

<sup>a</sup> Genotype normal, CTC/CTC, <sup>b</sup> Genotype heterozygote, CTC/CTG, Genotype homozygote, CTG/CTG

جدول ۵. فراوانی ژنوتیپی و آلی کدان ۳۹۲ (CTC / CTC) آگزون ۷، استروژن گیرنده  $\beta$  در جمعیت مورد مطالعه: گروه مبتلا به سرطان پستان در مقابل گروه شاهد و گوه مبتلا به سرطان پستان در حضور در مقابل عدم حضور عوامل خطر عمده

ER- $\beta$ Alleles		ER- $\beta$ genotypes			کدان ۳۹۲	
CTG <sup>e</sup>	CTC <sup>d</sup>	CTG/CTG <sup>c</sup>	CTC/CTG <sup>b</sup>	CTC/CTC <sup>a</sup>	مشخصه	
<b>سرطان پستان</b>						
17(5.7%)	283(94.3%)	2(1.3%)	13(8.7%)	135(90.0%)	(n=150)	مورد
-	294(100%)	-	-	147(100%)	(n=147)	کنترل
$\chi^2=17.122$ , P=0.001		$\chi^2=4.769$ , P=0.029				
<b>سن شروع قاعدگی (سال)</b>						
11(9.2%)	109(90.8%)	1(1.7%)	9(15.0%)	50(83.3%)	(n=60)	$\leq 12$
6(3.3%)	174(96.7%)	1(1.2%)	4(4.4%)	85(94.4%)	(n=90)	$> 12$
$\chi^2=4.583$ , P=0.032		$\chi^2=0.604$ , P=0.437				
<b>سن یائسگی (سال)</b>						
7(7.4%)	87(92.6%)	1(2.2%)	5(10.6%)	41(87.2%)	(n=47)	$\leq 50$
-	24(100%)	-	-	12(100%)	(n=12)	$> 50$
$\chi^2=1.884$ , P=0.17		$\chi^2=0.528$ , P=0.467				
<b>ABO خون گروه</b>						
3(5.6%)	51(94.4%)	-	3(11.1%)	24(88.9%)	(n=27)	A
2(7.1%)	26(92.9%)	-	2(14.3%)	12(85.7%)	(n=14)	B
-	12(100%)	-	-	6(100%)	(n=6)	AB
12(5.8%)	194(94.2%)	2(1.9%)	8(7.8%)	93(90.3%)	(n=103)	O
$\chi^2=0.058$ , P=0.81		$\chi^2=3.238$ , P=0.765				
<b>نژاد</b>						
-	6(100%)	-	-	3(100%)	(n=3)	عرب و ارمنی
6(5.0%)	114(95.0%)	-	6(10.0%)	54(90.0%)	(n=60)	فارس
4(11.1%)	32(88.9%)	1(5.6%)	2(11.1%)	15(83.3%)	(n=18)	لر و کرد
4(4.3%)	88(95.7%)	1(2.2%)	2(4.3%)	43(93.5%)	(n=46)	ترک
3(6.5%)	43(93.5%)	-	3(13.0%)	20(87.0%)	(n=23)	گیلکی و مازندرانی
$\chi^2=0.05$ , P=0.822		$\chi^2=0.141$ , P=0.707				
<b>سابقه خانوادگی سرطان پستان</b>						
14(36.8%)	24(63.2%)	2(10.6%)	10(52.6%)	7(36.8%)	(n=19)	درجه اول خانواده را تحت تاثیر قرار می دهد
3(1.1%)	259(98.9%)	-	3(2.3%)	128(97.7%)	(n=131)	تحت تاثیر قرار نمی دهد
$\chi^2=78.847$ , P=0.001		$\chi^2=27.645$ , P=0.001				
<b>متاستاز غدد لنفاوی</b>						
11(23.9%)	35(76.1%)	2(8.7%)	7(30.4%)	14(60.9%)	(n=23)	بلی
6(2.4%)	248(97.6%)	-	6(4.7%)	121(95.3%)	(n=127)	خیر
$\chi^2=33.838$ , P=0.001		$\chi^2=17.314$ , P=0.001				
<b>بیان ER در بافت سرطان پستان</b>						
10(12.5%)	70(87.5%)	2(5.0%)	6(15.0%)	32(80.0%)	(n=40)	مثبت
5(2.7%)	179(97.3%)	-	5(5.4%)	87(94.6%)	(n=92)	منفی
2(5.6%)	34(94.4%)	-	2(11.1%)	16(88.9%)	(n=18)	بررسی نشده
$\chi^2=5.161$ , P=0.023		$\chi^2=4.779$ , P=0.028				

<sup>a</sup> Genotype, CTC/CTC, <sup>b</sup> Genotype, CTC/CTG, <sup>c</sup> Genotype, CTG/CTG <sup>d</sup> Normal allele, CTC, <sup>e</sup> Mutate allele, CTG

جدول ۶. برآورد خطر ویژگی های دموگرافیک و عوامل خطر عمده با گیرنده استروژن  $\beta$  اگزون ۷، کدان ۳۹۲ در ژنوتیپ های مختلف

OR (95% CI)	P value	خیر n=147	بلی n=150	سرطان پستان ژنوتیپ
1.0(reference)	0.029	147(52.1%)	135(47.9%)	نرمال <sup>a</sup>
-		-	13(100%)	هتروزیگوت <sup>b</sup>
-		-	2(100%)	هموزیگوت <sup>c</sup>

OR (95% CI)	P value	>12 n=90	<=12 n=60	سن شروع قاعدگی (سال) ژنوتیپ
1.0(reference)	0.437	85(63%)	50(37.0%)	نرمال
0.261(0.077-0.893)		4(30.8%)	9(69.2%)	هتروزیگوت
0.588(0.036 -9.613)		1(50%)	1(50%)	هموزیگوت

OR (95% CI)	P value	ندارد n=131	دارد n=19	سابقه خانوادگی سرطان پستان (بستگان درجه یک) ژنوتیپ
1.0(reference)	0.001	128(94.8%)	7(5.2%)	نرمال
0.016(0.004- 0.073)		3(23.1%)	10(76.9%)	هتروزیگوت
-		-	2(100%)	هموزیگوت

OR (95% CI)	P value	ندارد n=127	دارد n=23	متاستاز غدد لنفاوی ژنوتیپ
1.0(reference)	0.001	121(89.6%)	14(10.4%)	نرمال
0.099(0.029 – 0.337)		6(46.2%)	7(53.8%)	هتروزیگوت
-		-	2(100%)	هموزیگوت

<sup>a</sup> Genotype normal, CTC/CTC, <sup>b</sup> Genotype heterozygote, CTC/CTG, <sup>c</sup> Genotype homozygote, CTG/CTG

## References

- 1- McPherson K, Steel C, Dixon J. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ*; 2000. 321:624-628.
- 2- Harirchi I, Ebrahimi M, Zamani N, Jarvandi S, Montazeri A: Breast cancer in Iran: a review of 903 case records. *Public Health*; 2000. 114:143-145.
- 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):383-391.
- 4- Anderson E. The role of oestrogen and progesterone receptors in human mammary development and tumorigenesis. *Breast Cancer Res*; 2002. 4:197-201.
- 5- Newman B, Mu H, Butler L, Millikan R, Moorman P, King M. Frequency of breast cancer attributable to BRCA1 in a population-based series of American women. *JAMA*; 1998. 279:915-921.
- 6- Walsh T, Casadei S, Coats KH, Swisher E, Stray SM, Higgins J, Roach KC, et al. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA*; 2006. 295(12):1379-88.
- 7- Filippini SE, Vega A. Breast cancer genes. beyond BRCA1 and BRCA2. *Front Biosci* 2013;18:1358-1372.
- 8- Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer-analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med*; 2000. 343:78-85.
- 9- Jordan V. Selective estrogen receptor modulation: concept and consequences in cancer. *Cancer Cell*; 2004. 5:207-213.
- 10- Hanstein B, Djahansouzi S, Dall P, Beckmann M, Bender H. Insights into the molecular biology of the estrogen receptor define novel therapeutic targets for breast cancer. *Eur J Endocrinol*; 2004. 150:243-255.
- 11- Tempfer C, Schneeberger C, Huber J. Applications of polymorphisms and pharmacogenomics in obstetrics and gynecology. *Pharmacogenomics*; 2004. 5:57-65.
- 12- Lymberis S, Parhar P, Katsoulakis E, Formenti S: Pharmacogenomics and breast cancer. *Pharmacogenomics*; 2004. 5:31-55.
- 13- Bland K, Copeland E. *The breast: comprehensive management of benign and malignant disorders*. 3rd ed. Saunders; St. Louis; 2004.
- 14- Kallel I, Rebai M, Khabir A, Farid NR, Rebai A. Genetic Polymorphisms in the EGFR (R521K) and Estrogen Receptor (T594T) Genes, EGFR and ErbB-2 Protein Expression, and Breast Cancer Risk in Tunisia. *J Biomed Biotechnol*; 2009. 2009:Article ID753683.
- 15- Ramalhinho AC, Marques J, Fonseca-Moutinho J, Breitenfeld L. Genetic polymorphisms of estrogen receptor alpha -397 PvuII (T>C) and -351 XbaI (A>G) in a portuguese population: prevalence and relation with breast cancer susceptibility. *Mol Biol Rep*; 2013. 40(8):5093-103.
- 16- Curran J, Lea R, Rutherford S, Weinstein S, Griffiths L. Association of estrogen receptor and glucocorticoid receptor gene polymorphisms with sporadic breast cancer. *Int J Cancer*; 2001. 95:271-275.
- 17- Vasconcelos A, Medeiros R, Veiga I, Pereira D, Carrilho S, Palmeira C, et al. Analysis of estrogen receptor polymorphism in codon 325 by PCR-SSCP in breast cancer: association with lymph node metastasis. *Breast J*; 2002. 8:226-229.
- 18- Heldring N, Pike A, Andersson S, Matthews J, Cheng G, Hartman J, et al. Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets *Physiol Rev*; 2007.87:905-931.
- 19- Wang J, Higuchi R, Modugno F, Li J, Umblas N, Lee J, et al. Estrogen receptor alpha haplotypes and breast cancer risk in older Caucasian women. *Breast Cancer Res Treat*; 2007. S. Estrogen Receptor- Beta Gene Polymorphism in Women with Breast Cancer At the imam Khomeini Hospital complex, Iran. *MBC Med Genetics*; 2010. 11:109.
- 20- Abbasi S, Azimi C, Othman F, Einollahi N, Dashti N, Nabatchian F, et al. Risk Factors for Breast Cancer in Iranian Women: A Case Control Study. *Int J Cancer Res*; 2009. 5(1):1-11.
- 21- Abbasi S, Azimi C, Othman F, Noori Dalooi MR, Ashtiani ZO, Mojarrad M, et al. Estrogen Receptor - $\alpha$  Gene Codon 10 (T392C) Polymorphism in Iranian women with Breast Cancer: a case control study. *Trends Mol Sciences*; 2009. 1(1):1-1.



22. Srinivasan V, Spence DW, Pandi-Perumal SR, Trakht I, Esquifino AI, Cardinali DP, et al. Melatonin, environmental light, and breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*; 2008.108(3):339-350.
23. Surekha D, Sailaja K, Nageswara Rao D, Raghunadharao D, Vishnupriya S: Oestrogen receptor beta (ERβ) polymorphism and its influence on breast cancer risk. *J Gent*; 2009. 88(2):261-266.
24. Iwasaki M, Hamada GS, Nishimoto IN, Netto MM, Motola J Jr, Laginha FM et al.. Isoflavone, polymorphisms in estrogen receptor genes and breast cancer risk in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians and non- Japanese Brazilians. *Official J Japan Cancer Assoc*; 2009. 100(5):927-933.
25. Zheng S, Zheng W, Chang B, Shu X, Cai Q, Yu H, et al. Joint effect of estrogen receptor beta sequence variants and endogenous estrogen exposure on breast cancer risk in Chinese women. *Cancer Res*; 2003. 63:7624-7629.
26. Forsti A, Zhao C, Israelsson E, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA, Hemminki K. Polymorphisms in the estrogen receptor beta gene and risk of breast cancer: no association. *Breast Cancer Res Treat*; 2003.79(3):409-413.
27. Cox DG, Philip Bretsky P, Peter Kraft P, Paul Pharoah P. Haplotypes of the Estrogen receptor beta (ESR2) gene and breast cancer risk. *Int J Cancer*; 2008. 122(2):387-392.
28. Maguire P, Margolin S, Skoglund J, Sun X, et al.: Gustafsson J. Estrogen Receptor Beta (ESR2) Polymorphisms in Familial and Sporadic Breast Cancer. *Breast Cancer Res Treat*; 2005. 94(2):145-152.
29. Treeck O, Elemenler E, Kriener C, Horn F, Springwald A, Hartmann A, et al. Polymorphisms in the promoter region of ESR2 gene and breast cancer susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 2009. 114(3- 5):207-11.
30. Sakoda LC, Blackston CR, Doherty JA, Ray RM, Lin MG, Gao DL, et al. Selected estrogen receptor 1 and androgen receptor gene polymorphisms in relation to risk of breast cancer and fibrocystic breast conditions among Chinese women. *Cancer Epidemiol*; 2011. 35(1):48-55.
31. Anghel A, Raica M, Narita D, Seclaman E, Nicola T, Ursoniu S, et al. Estrogen receptor alpha polymorphisms: correlation with clinicopathological parameters in breast cancer. *Neoplasma*; 2010. 57(4):306-15.
32. Abbasi S: Polymorphisms in estrogen receptor -alpha and beta genes in breast cancer patients from Imam Khomeini Hospital. In [Ph.D thesis] Malaysia: Universiti Putra Malaysia;2008.
33. Abbasi S, Ismail P, Othman F, Rosli R, Azimi C. Estrogen receptor-α (ESR1) gene, codon 594 (G3242A) polymorphism among Iranian women with breast cancer: a case control study. *Asian J Scie Res*; 2009. 2(1):51-60.
34. Westberg L, Hakansson A, melke J, Shahabi HN, Nilsson S. Association between the estrogen receptor beta gene and age at onset of Parkinson disease. *Psychoneuroendocrinolgy*; 2004.29:993-998.
35. Sundarajan C, Liao WX, Roy AC, Ng SC. Association between estrogen receptor-beta gene polymorphisms and ovulatory dysfunctions in patients with menstrual disorders. *J Clin Endocrinol Metab*; 2001.86:135-139.
36. Ogawa S, Hosoi T, Shiraki M, Orimo H, Emi M, Muramatsu M, et al. Association of estrogen receptor beta gene polymorphism with bone mineral density. *Biochem Biophys Res Commun*; 2000. 269:537-541.
- 37- Abbasi S. Estrogen receptor-beta gene polymorphism in women with breast cancer at the Imam Khomeini Hospital Complex, Iran. *BMC Med Genet*; 2010.11:109.
- 38- Abbasi S, Nouri M, Azimi C. Estrogen receptor genes variations and breast cancer risk in Iran. *Int J Clin Exp Med*; 2012. 5(4):332-41.
- 39- Paulus JK, Zhou W, Kraft P, Johnson BE, Lin X, Christiani DC. Haplotypes of estrogen receptor-beta and risk of non-small cell lung cancer in women. *Lung Cancer*; 2011. 71(3):258-63.
- 40- Kallel I, Rebai M, Rebai A. Mutations and polymorphisms of estrogens receptors genes and diseases susceptibility. *J Recept Signal Transduct Res*; 2012. 32(6):304-13.
- 41- Borgquist S, Hjertberg M, Henningson M, Ingvar C, Rose C, Jernström H. Given breast cancer, is fat better than thin? Impact of the estrogen receptor beta gene polymorphisms. *Breast Cancer Res Treat*; 2013. 137(3):849-62