

## بررسی وضعیت گیرنده‌های استروژن و پرولاکتین در سرطان پستان

دکتر مجید سیرتی ثابت<sup>۱</sup>، دکتر فاطمه کریمی تهرانی<sup>۲</sup>

دریافت مقاله: ۸۴/۱۱/۳ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۵/۱/۳۰ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۵/۵/۲۵ پذیرش مقاله: ۸۵/۷/۵

### چکیده

**زمینه و هدف:** وجود گیرنده‌های هورمونی در سلول‌های سرطانی از جنبه‌های مختلف حائز اهمیت است. بررسی وضعیت گیرنده‌های استروژنی در ارزیابی پاسخ سلول‌های سرطانی پستان به هورمون درمانی مهم است. در سال‌های اخیر مطالعات بسیاری روی گیرنده‌های پرولاکتین به خصوص در سرطان پستان انجام شده است. هدف مطالعه حاضر بررسی وضعیت گیرنده‌های استروژن و پرولاکتین در نمونه‌های سرطان پستان است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مقطعی چهل نمونه سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت. گیرنده استروژن با استفاده از روش اتصال توسط لیگاند رادیواکتیو سنجش شد. گیرنده آزاد و تام پرولاکتین با استفاده از پرولاکتین نشاندار شده با ۱۲۵I-PRL) سنجش گردید. برای سنجش گیرنده تام پرولاکتین از محلول کلرید منیزیم (۳/۵ مولار) استفاده شد.

**یافته‌ها:** ۸۵٪ نمونه‌ها از نوع سرطان مهاجم مجرای بودند و مشخص شد که به ترتیب ۶۲/۵٪، ۴۵٪ و ۶۲/۵٪ موارد دارای گیرنده استروژن، گیرنده پرولاکتین آزاد و گیرنده پرولاکتین تام هستند. ۴۵٪ سلول‌های توموری مورد مطالعه دارای هر دو گیرنده استروژن و پرولاکتین تام بودند. ارتباط معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) بین گیرنده استروژن و گیرنده پرولاکتین آزاد مشاهده شد. هم‌چنین ارتباط بین گیرنده استروژن و گیرنده پرولاکتین تام نیز معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) بود. در این مطالعه هم‌چنین مشخص گردید که ۲۰٪ نمونه‌ها دارای هیچ یک از گیرنده‌های استروژنی یا پرولاکتینی نیستند.

**نتیجه‌گیری:** با در نظر گرفتن وجود گیرنده‌های استروژنی و پرولاکتینی در سلول‌های توموری و نقش این هورمون‌ها در رشد سلول‌های سرطانی پستان اهمیت استفاده از داروهای ضد استروژنی و ضد پرولاکتینی در مهار رشد این تومورها مشخص می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** سرطان پستان، گیرنده استروژن، گیرنده پرولاکتین، هورمون درمانی

### مقدمه

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین انواع سرطان در بانوان است. نسج پستان در زنان به طور طبیعی در مقاطع مختلف از جمله دوره ماهانه، بلوغ، حاملگی و شیردهی تحت تأثیر عوامل مختلف هورمونی است [۱-۲]. عقیده بر این است که

فاکتورهای هورمونی، نقش آغازگر یا مشارکت کننده در ایجاد سرطان پستان دارند [۳-۴]. وابستگی رشد بعضی از تومورهای سرطانی پستان به هورمون‌های استروژنی مدت زیادی است که مشخص شده است [۵-۶]. با توجه به این که وجود گیرنده هورمون در بافت هدف برای ایفای نقش هورمون روی بافت

۱- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

تلفن: ۰۲۸۱-۳۳۳۰۵۳۴، فاکس: ۰۲۸۱-۳۳۲۴۹۷۰، پست الکترونیکی: sirati\_m@yahoo.com

۲- دانشیار گروه آموزشی بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

پروژسترونی و پرولاکتینی در سلول‌های سرطانی پستان، بیانگر وجود الگوی تقریباً مشابه با کشورهای دیگر است [۲۱-۲۰]. با توجه به این که میزان وجود فراوانی گیرنده‌های هورمونی در بررسی رفتار سلول‌ها در شرایط مختلف و به خصوص به هنگام کاربرد داروهای ضد هورمونی مهم است، در این مطالعه وضعیت گیرنده‌های استروژنی و پرولاکتینی و ارتباط بین آن‌ها در سلول‌های توموری سرطان پستان با استفاده از روش اتصال رادیولیگاند مورد ارزیابی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی چهل نمونه سرطان پستان که بر اساس گزارش آسیب‌شناسی همگی از نوع سرطان اولیه پستان بودند مورد بررسی قرار گرفتند نمونه‌ها از بیمارستان‌های دی و امام خمینی تهران جمع‌آوری شدند. نمونه‌های سرطانی بعد از عمل جراحی داخل فویل آلومینیومی پیچیده شده و بلافاصله درون ظرف ویژه حمل نمونه که محتوی نیتروژن مایع است قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه، درون فریزر با دمای  $-70^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری گردیدند. ید رادیواکتیو ( $^{125}\text{I}$ ) و استروژن تریتیوم‌دار از شرکت امرشام تهیه شدند. بقیه مواد شیمیایی مورد استفاده از نوع خالص بودند و از شرکت سیگما و شرکت مرک تهیه گردیدند.

از دستگاه میکروآنتی‌کانتور جهت همگن نمودن نمونه‌ها استفاده شد. نمونه‌های پودر شده در بافر تریس / EDTA / دیتیتوتریتول / گلیسرول یا TEDG (۱۰ میلی‌مولار تریس / EDTA)، ۰/۵ میلی‌مولار دیتیتوتریتول، ۷/۷٪ گلیسرول با pH برابر ۷/۴ حل شدند و بعد از سانتریفوژ و تهیه سیتوزول، رسوب حاصل در بافر تریس / منیزیم یا TM (۲۵ میلی‌مولار تریس هیدروکلرید، ۱۰ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۰/۱٪ آلومین سرم گاوی با pH برابر ۷/۴) حل گردید. جهت اندازه‌گیری میزان پروتئین موجود در نمونه‌های سیتوزولی و غشایی تهیه شده، از روش برادفورد استفاده شد [۲۲-۲۳].

مورد نظر ضروری است، بررسی میزان گیرنده استروژن و پروژسترون در تومورهای سرطان پستان از اهمیت بسزایی برخوردار است [۸-۷]. وجود گیرنده استروژن و پروژسترون در بافت توموری به عنوان یک عامل پیش‌آگهی خوب مطرح بوده و یکی از ملاک‌های مهم برای انتخاب روش هورمون درمانی است [۹-۱۱]. مطالعات اخیر نقش عوامل دیگری از جمله هورمون‌های پپتیدی در رشد تومورهای سرطان پستان را مطرح می‌نماید [۱۲-۱۳]. ارتباط هورمون پرولاکتین با تعدادی از تومورها مشخص شده است [۵]. این هورمون به صورت مستقیم یا غیرمستقیم در رشد این تومورها نقش دارد [۱۴]. پرولاکتین سبب افزایش خصلت تهاجمی تومورهای کولورکتال شده، در ازدیاد تکثیر بعضی از رده‌های سلولی سرطان پستان از جمله MCF-7 و T47-D مؤثر بوده، سبب فعال شدن لنفوسیت‌های نوع B بدخیم و سلول‌های لنفوم گردیده، رشد پرومیلوسیت‌ها را افزایش می‌دهد [۱۵-۱۶]. همچنین مشاهده شده‌است که بعضی از بافت‌های توموری نسبت به بافت طبیعی با منشاء یکسان، پرولاکتین بیشتری تولید می‌نمایند. این مسئله گویای تولید موضعی پرولاکتین می‌باشد که احتمالاً پیامد آن ازدیاد عمل میتوزنیک روی رشد سلول‌های توموری است [۱۷-۱۸].

اولین مرحله در عملکرد هورمون پرولاکتین، اتصال آن به گیرنده ویژه خود است که گیرنده‌ای غشایی است. تاکنون گیرنده‌های مختلف غشایی پرولاکتین شناسایی و کلون گردیده است [۱۹].

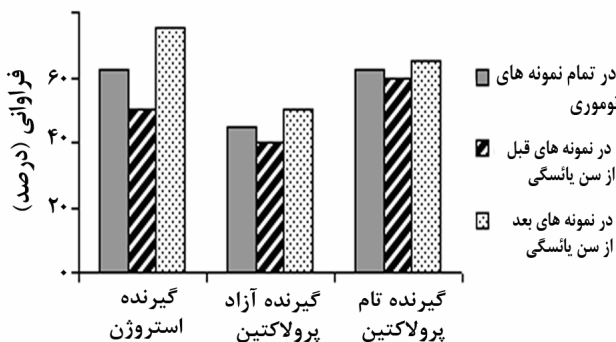
پس از مشخص شدن اهمیت بررسی گیرنده‌های استروژنی سلول‌های سرطانی پستان جهت انتخاب روش مناسب درمان و موفقیت روش درمانی، مطالعه روی وجود گیرنده هورمون‌های دیگر نیز در سرطان پستان مورد توجه قرار گرفت. در این راستا مطالعات متعددی در ارتباط با میزان فراوانی گیرنده‌های استروژن، پروژسترون و پرولاکتین در سلول‌های سرطانی پستان انجام شد. مطالعات انجام شده در ایران نیز در خصوص میزان فراوانی گیرنده‌های استروژنی،

مورد مطالعه، از آزمون آماری غیرپارامتری اسپیرمن استفاده شد. سطح معنی‌دار آماری  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### نتایج

حداقل سن مورد مطالعه بیماران ۳۰ سال و حداکثر سن ۷۵ سال بود. ۵۰٪ نمونه‌ها مربوط به بیماران قبل از سن یائسگی بود. ۸۵٪ تومورهای جمع‌آوری شده از نوع مهاجم مجرایبی بودند.

نمودار ۱ میزان درصد گیرنده استروژن، گیرنده‌های آزاد و تام پرولاکتین را در تومورهای بدخیم نشان می‌دهد. از چهل نمونه مورد بررسی ۲۵ مورد حاوی گیرنده استروژن، ۱۸ مورد دارای گیرنده آزاد پرولاکتین و ۲۵ مورد حاوی گیرنده تام پرولاکتین بودند. به ترتیب ۶۲/۵٪، ۴۵٪ و ۶۲/۵٪ تومورها دارای گیرنده استروژن، گیرنده‌های آزاد و تام پرولاکتین می‌باشند. از بیست نمونه تومور بیماران قبل از سن یائسگی ۱۰ مورد (۵۰٪) دارای گیرنده استروژن بود در صورتی که از بیست نمونه تومور بیماران بعد از سن یائسگی ۱۵ مورد (۷۵٪) دارای گیرنده استروژن بودند. در مورد گیرنده آزاد و تام پرولاکتین به ترتیب ۸ مورد (۴۰٪) و ۱۲ مورد (۶۰٪) از نمونه‌های بیماران قبل از سن یائسگی و ۱۰ مورد (۵۰٪) و ۱۳ مورد (۶۵٪) از نمونه‌های بیماران بعد از سن یائسگی دارای گیرنده بودند.



**نمودار ۱ - میزان درصد گیرنده استروژن، گیرنده‌های آزاد پرولاکتین و تام پرولاکتین در تومورهای سرطان پستان مورد بررسی**

فراوانی گیرنده استروژن، گیرنده آزاد و تام پرولاکتین در تومورهای بدخیم در جدول ۱ مشاهده می‌شود. از چهل نمونه

جهت تعیین میزان گیرنده‌های استروژن در سیتوزول نمونه‌های تومور، از روش جداسازی توسط شارکول پوشیده شده با دکستران یا (Dextran-Coated Charcoal) DCC به صورت سنجش تک مرحله‌ای استفاده شد. در این روش پس از انکوباسیون سیتوزول با هورمون نشاندار در حضور و عدم حضور عامل رقابت‌کننده (جهت تعیین اتصال کل و اتصال غیر ویژه)، هورمون آزاد رادیواکتیو به وسیله شارکول از مخلوط واکنش جدا گشت و میزان رادیواکتیویته محلول رویی که بیانگر میزان کمپلکس هورمون - گیرنده است اندازه‌گیری شد [۲۴]. برای ارزیابی فراوانی گیرنده پرولاکتین از روش سنجش توسط اتصال لیگاند استفاده گردید [۲۵]. برای تهیه پرولاکتین نشاندار شده با ید رادیواکتیو ۱۲۵ از روش لاکتوپراکسیداز تثویل و جوهانسون استفاده شد [۲۶]. برای اندازه‌گیری مقدار گیرنده تام پرولاکتین جهت جدا نمودن پرولاکتین‌هایی که از قبل به گیرنده چسبیده‌اند، از محلول کلرید منیزیم با غلظت ۳/۵ مولار استفاده شد [۲۷].

نتایج در مورد گیرنده استروژن برحسب فمتومول گیرنده بر میلی گرم پروتئین سیتوزول و در مورد گیرنده پرولاکتین بر حسب فمتومول گیرنده بر میلی گرم پروتئین غشایی بیان شده‌است. در مورد گیرنده استروژن، تومورهایی که در آن‌ها میزان گیرنده مساوی یا بزرگتر از ۱۰ فمتومول گیرنده بر میلی گرم پروتئین باشد، به عنوان تومورهای دارای گیرنده استروژن (ER<sup>+</sup>) در نظر گرفته می‌شوند. در مورد گیرنده پرولاکتین، تومورهایی که در آن‌ها میزان گیرنده مساوی یا بزرگتر از ۵ فمتومول گیرنده بر میلی گرم پروتئین باشد، به عنوان تومورهای دارای گیرنده پرولاکتین (PRLR<sup>+</sup>) در نظر گرفته می‌شوند. این مقدار بیانگر اتصال بیش از ۱٪ پرولاکتین رادیواکتیو اضافه شده، می‌باشد.

اطلاعات مربوط به بیماران با استفاده از برگه‌های آسیب شناسی به دست آمد. جهت آنالیز آماری و بررسی وجود ارتباط بین گیرنده استروژن و گیرنده پرولاکتین آزاد و نیز بین گیرنده استروژن و گیرنده پرولاکتین تام در نمونه‌های

توموری مورد بررسی ۱۴ مورد (۳۵٪) دارای هر دو گیرنده استروژن و آزاد پرولاکتین، ۱۱ مورد (۲۷/۵٪) فاقد هر دو گیرنده، ۱۱ مورد (۲۷/۵٪) فقط دارای گیرنده استروژن و ۴ مورد (۱۰٪) فقط دارای گیرنده آزاد پرولاکتین بودند. در مورد گیرنده استروژن و گیرنده تام پرولاکتین از چهل نمونه توموری مورد بررسی ۱۸ مورد (۴۵٪) دارای هر دو گیرنده استروژن و تام پرولاکتین، ۸ مورد (۲۰٪) فاقد هر دو گیرنده، ۷ مورد (۱۷/۵٪) فقط دارای گیرنده استروژن و ۷ مورد (۱۷/۵٪) فقط دارای گیرنده تام پرولاکتین بودند. آزمون آماری غیرپارامتری اسپیرمن بیانگر ارتباط معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) بین گیرنده استروژن و گیرنده آزاد پرولاکتین، بین گیرنده استروژن و گیرنده تام پرولاکتین بدخیم است. هم‌چنین بین گیرنده استروژن و گیرنده آزاد پرولاکتین، بین گیرنده استروژن و گیرنده تام پرولاکتین ارتباط معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) در قبل و بعد از سن یائسگی نیز وجود دارد.

جدول ۱- فراوانی نسبی و مطلق گیرنده استروژن، گیرنده آزاد پرولاکتین و تام پرولاکتین در تومورهای سرطان پستان مورد بررسی. اعداد داخل پرانتز بیانگر فراوانی مطلق است.

وضعیت گیرنده	گیرنده آزاد		گیرنده تام	
	مثبت n=۱۸	منفی n=۲۲	مثبت n=۲۵	منفی n=۱۵
دارای گیرنده استروژن	۳۵ (۱۴)٪	۲۷/۵ (۱۱)٪	۴۵ (۱۸)٪	۱۷/۵ (۷)٪
فاقد گیرنده استروژن	۱۰ (۴)٪	۲۷/۵ (۱۱)٪	۱۷/۵ (۷)٪	۲۰ (۸)٪

## بحث

در این مطالعه با بررسی گیرنده پرولاکتین و گیرنده استروژن در تومورهای سرطان پستان مورد بررسی، ارتباط معنی‌داری بین گیرنده استروژن و گیرنده آزاد و تام پرولاکتین در تومورهای بدخیم پستان مشاهده شد که مطابق با برخی از یافته‌های محققین دیگر است.

Holdaway ضمن بررسی هفت نمونه توموری ذکر کرده است که تومورهای دارای گیرنده پرولاکتین دارای مقادیر بیشتری از گیرنده استروژن نسبت به تومورهای فاقد گیرنده پرولاکتین می‌باشند [۱۲]. Partridge نیز با مطالعه روی شش نمونه توموری فراوانی بیشتر گیرنده‌های پرولاکتین را در تومورهای دارای گیرنده استروژن مشاهده نمود [۲۸]. Spicer نیز ارتباط بین گیرنده استروژن و گیرنده پرولاکتین را در مطالعه‌ای که روی چهارده نمونه توموری انجام داد، مشاهده

کرد. هیچ کدام از شش نمونه توموری در مطالعه وی که فاقد گیرنده استروژن بودند دارای گیرنده پرولاکتین نبودند در حالی که هشت نمونه توموری دارای گیرنده استروژن همگی دارای گیرنده پرولاکتین نیز بودند [۲۹]. هم‌چنین Graham و Ormandy اورمندی در سال ۱۹۹۲ میلادی با بررسی اثر بوتیرات سدیم روی کاهش هم زمان بیان گیرنده‌های استروژن و پرولاکتین در رده‌های سلولی T47D و MCF-7 وجود ارتباطی را در بیان این دو گیرنده پیشنهاد نمودند [۳۰-۳۱]. Ormandy در سال ۱۹۹۷ میلادی بیان گیرنده پرولاکتین و گیرنده‌های هورمون‌های جنسی استروئیدی را در بیست رده سلولی سرطان پستان و ۱۲۳ نمونه توموری بررسی نمود. در مطالعه وی ارتباط مستقیمی در بیان گیرنده پرولاکتین و گیرنده استروژن دیده شد [۳۲]. Murphy نیز ارتباطی را بین گیرنده استروژن و گیرنده پرولاکتین در ۳۰ نمونه توموری مورد بررسی مشاهده نمود. وی هم‌چنین ارتباطی را بین

گیرنده استروژن و پرولاکتین مشاهده شده است این نکته مطرح می‌شود که آیا این ارتباط و بروز هم زمان دو گیرنده به علت تحت تأثیر قرار گرفتن یکی به دلیل وجود دیگری است و یا این که تأثیر هم زمان دو گیرنده بر روی هم وجود دارد؟ مطالعات بیشتری جهت پاسخ به این پرسش باید انجام گیرد. اما وجود این دو گیرنده با هم و یا به تنهایی در اکثر نمونه‌های مورد بررسی در ارتباط با استفاده از داروهای ضد هورمونی نیز می‌تواند مهم باشد و شاید بتوان بر این اساس روش‌های درمانی مؤثرتری را در هورمون درمانی ارایه نمود.

### نتیجه‌گیری

با در نظر گرفتن اهمیت ارزیابی گیرنده‌های فاکتورهای رشد در پیشگویی رفتار بیولوژیک تومورهای سرطانی پستان و نتایج مطالعه حاضر که ۸۰٪ تومورهای مورد بررسی دارای یکی از گیرنده‌های استروژنی یا پرولاکتینی و یا هر دو گیرنده می‌باشند استفاده از داروهای ضد استروژنی و ضد پرولاکتینی در درمان این تومورها اهمیت پیدا می‌کند. بر این اساس پیشنهاد می‌شود در مورد داروهایی که دارای هر دو خاصیت ضد استروژنی و ضد پرولاکتینی هستند مطالعاتی انجام گیرد.

گیرنده استروژن و گیرنده پرولاکتین در رده‌های سلولی سرطان پستان مشاهده کرد چنان که در رده‌های سلولی فاقد گیرنده استروژن، گیرنده پرولاکتین نیز دیده نشد [۳۳]. Clevenger در سال ۱۹۹۵ میلادی وجود ارتباط بین گیرنده استروژن و گیرنده پرولاکتین را در ۲۵ نمونه تومور مورد بررسی مشاهده نمود. وی برای ارزیابی گیرنده پرولاکتین از روش ایمونوبلات استفاده کرد [۳۴].

بر خلاف مطالعات قبلی که ذکر گردید در برخی مطالعات دیگر این ارتباط مشاهده نشد چنان که Rae-Venter در مطالعه خود روی ۵۵ نمونه تومور سرطان پستان، ارتباطی را بین گیرنده استروژن و گیرنده پرولاکتین مشاهده نکرد اما ذکر نمود که در تومورهایی که مقدار گیرنده استروژن آن‌ها بین شش الی صد فمتومول بر میلی‌گرم پروتئین است، میزان گیرنده پرولاکتین بیشتری دیده می‌شود [۳۵]. Reynolds نیز در بررسی روی ۶۹ نمونه تومور سرطان پستان با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی، ارتباطی بین گیرنده پرولاکتین و گیرنده استروژن مشاهده نکرد [۳۶]. با توجه به این که در اکثر مطالعات انجام شده از جمله مطالعه حاضر، ارتباطی بین

## References

- [1] Lopez-Otin C, Diamandis EP. Breast and prostate cancer: an analysis of common epidemiological, genetic, and biochemical features. *Endocr Rev*, 1998; 19(4): 365-96.
- [2] Peaker M. Endocrine signals from the mammary gland. *J Endocrinol*, 1995; 147(2): 189-93.
- [3] Fichtner I, Becker M, Zeisig R, Sommer A. In vivo models for endocrine-dependent breast carcinomas: special considerations of clinical relevance. *Eur J Cancer*, 2004; 40(6): 845-51.
- [4] Miller AB. An overview of hormone-associated cancers. *Cancer Res*, 1978; 38(11 Pt 2): 3985-90.
- [5] McGuire WL. Steroid receptors in human breast cancer. *Cancer Res*, 1978; 38(11 Pt 2): 4289-91.
- [6] Osborne CK. Steroid hormone receptors in breast cancer management. *Breast Cancer Res Treat*, 1998; 51(3): 227-38.
- [7] Fasco MJ. Quantitation of estrogen receptor mRNA and its alternatively spliced mRNAs in breast tumor cells and tissues. *Anal Biochem*, 1997; 245(2): 167-78.
- [8] Speirs V. Oestrogen receptor beta in breast cancer: good, bad or still too early to tell? *J Pathol*, 2002; 197(2): 143-7.
- [9] Duffy MJ. Biochemical markers in breast cancer: which ones are clinically useful? *Clin Biochem*, 2001; 34(5): 347-52.
- [10] Martino S, Costantino J, McNabb M, Mershon J, Bryant K, Powles T, et al. The role of selective estrogen receptor modulators in the prevention of breast cancer: comparison of the clinical trials. *Oncologist*. 2004; 9(2): 116-25.
- [11] Poola I, Williams DM, Koduri S, Ramprakash J, Taylor RE, Hankins WD. Quantitation of estrogen receptor mRNA copy numbers in breast cancer cell lines and tumors. *Anal Biochem*, 1998; 258(2): 209-15.

- [12] Holdaway IM, Friesen HG. Hormone binding by human mammary carcinoma. *Cancer Res*, 1977; 37(7 Pt 1): 1946-52.
- [13] Nandi S. Role of hormones in mammary neoplasia. *Cancer Res*, 1994; 38: 4046-9.
- [14] Clevenger CV, Furth PA, Hankinson SE, Schuler LA. The role of prolactin in mammary carcinoma. *Endocrine Rev*, 2003; 24(1): 1-27
- [15] Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, Kelly PA. Prolactin(PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Rev*, 1998; 19(3): 225-68.
- [16] Shafie S, Brooks SC. Effect of prolactin on growth and the estrogen receptor level of human breast cancer cells (MCF-7). *Cancer Res*, 1977; 37: 792-9.
- [17] Ginsburg E, Vonderhaar BK. Prolactin synthesis and secretion by human breast cancer cells. *Cancer Res*, 1995; 55(12): 2591-95.
- [18] Malarkey WB, Kennedy M, Allred LE, Milo G. Physiological concentrations of prolactin can promote the growth of human breast tumor cells in culture. *J Clin Endocrinol Metab*, 1983; 56(4): 673-7.
- [19] Meng J, Tasi-Morris CH, Dufau ML. Human prolactin receptor variants in breast cancer: low ratio of short forms to the log-form human prolactin receptor associated with mammary carcinoma. *Cancer Res*, 2004; 64(16): 5677-82.
- [۲۰] سلامی س. بررسی ساختمان و وضعیت گیرنده هورمون پرولاکتین در سرطان پستان خانم‌های ایرانی و بررسی اثر تاموکسیفن بر اتصال هورمون - گیرنده در شرایط آزمایشگاهی. [پایان نامه کارشناسی ارشد]. تهران: دانشکده علوم، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۷۵.
- [۲۱] هاشمی م. بررسی گیرنده استروژن و پروژسترون در تومورهای بدخیم پستان. [پایان نامه کارشناسی ارشد]. تهران، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۷۴.
- [22] Bollag DM, Edelstein SJ. Protein methods. NewYork: Wiley-Liss. 1994; pp:50-60.
- [23] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitative of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976; 72: 248-54.
- [24] Jonat W, Maass H. Some comments on the necessity of receptor determination in human breast cancer. *Cancer Res*, 1978; 38(11 Pt 2): 4305-6.
- [25] Shiu RP, Kelly PA, Friesen HG. Radioreceptor assay for prolactin and lactogenic hormones. *Science*. 1973; 180(89): 968-71.
- [26] Thorell JI, Johansson BG. Enzymatic iodination of polypeptides with <sup>125</sup>I to high specific activity. *Biochim Biophys Acta*, 1971; 251(3): 363-9.
- [27] Kelly PA, Leblanc G, Djiane J. Estimation of total prolactin-binding sites after in vitro desaturation. *Endocrinology*. 1979; 104(6): 1631-8.
- [28] Partridge RK, Hahnel R. Prolactin receptors in human breast carcinoma. *Cancer*. 1979; 43: 643-6.
- [29] Spicer DV, Kreckler EA, Pike MC. The endocrine prevention of breast cancer. *Cancer Invest*, 1995; 13(5): 495-504.
- [30] Graham KA, Buick RN. Sodium butyrate induces differentiation in breast cancer cell lines expression the estrogen receptor. *J Cell Physiology*, 1988; 136(1): 63-71.
- [31] Ormandy CJ, de Fazio A, Kelly PA, Sutherland RL. Coordinate regulation of oestrogene and prolactin receptor expression by sodium butyrate in human breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992; 182(2): 740-5.
- [32] Ormandy CJ, Hall RE, Manning DL, Robertson JF, Blamey RW, Kelly PA, et al. Coexpression and cross-regulation of the prolactin receptor and sex steroid hormone receptors in breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82(11): 3692-9.
- [33] Murphy LJ, Murphy LC, Vrhovsek E, Sutherland RL, Lazarus L. Correlation of lactogenic receptor concentration in human breast cancer with estrogen receptor concentration. *Cancer Res*, 1984; 44(5): 1963-8.
- [34] Clevenger CV, Chang WP, Ngo W, Pasha TL, Montone KT, Tomaszewski JE. Expression of prolactin and prolactin receptor in human breast carcinoma: Evidence for an autocrine/paracrine loop. *Am J Pathol*, 1995; 146(3): 695-705.
- [35] Rae-Venter B, Nemoto T, Schneider SL, Dao TL. Prolactin binding by human mammary carcinoma: relationship to estrogen receptor protein concentration and patient age. *Breast Cancer Res Treat*, 1981; 1(3): 233-43.
- [36] Reynolds C, Montone KT, Powell CM, Tomaszewski JE, Clevenger CV. Expression of prolactin and its receptor in human breast carcinoma. *Endocrinology*. 1997; 138(12): 5555-60