Molecular characterization of some mutations in BRCA1 and BRCA2 genes of breast cancer patients

التوصيف الجزيئي لبعض الطفرات الوراثية في جيني BRCA1 و BRCA2 لمرضى سرطان الثدي

زينب نزار جواد*
*كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة كربلاء

م.د. زهير محمد علي جدوع **
** رئاسة الجامعة – جامعة كربلاء

sarahnizar50@gmail.com

(بحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الأول)

الخلاصة :

برزت أهمية الدراسة الحالية في التحري عن الطفرات في جيني (BRCA1,BRCA2) باعتبارهما من الجينات المثبطة للأورام ووجود الطفرات فيهما مرتبط مع خطر الإصابة بسرطان الثدي، وكذلك معرفة العلاقة بين التوصيف الجزيئي لهذه الطفرات مع معلمات الأورام (Tumor marker) , جمعت عينات الدم من (69) مريضة مصابة بسرطان الثدي من وحده الكشف المبكر في مستشفى الحسين (ع) التعليمي – العام في محافظة كربلاء حيث تمت مقارنتها مع (30) امرأة سليمة مظهريا تم استخلاص إل DNA من عينات الدم ، وتم الكشف عن وجود أو غياب الطفرات في جيني (BRCA1,BRCA2) بواسطة تقنية تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل (Polymerase chain reaction PCR)، حيث تم التشخيص الجزيئي لثلاثة أنواع من الطفرات الوراثية المسببة لسرطان الثدي وهي : (185 del AG) و(5382 ins C) في جين (BRCA1) والطفرة (6174 del T) في جين (BRCA2)

بينت الدراسة أن أعلى نسبة إصابة بالطفرات كان في الطفرة (185 del AG) في مجموعة سرطان الثدي الشائع حيث بلغ (27.5%) في حين بلغت نسبة الإصابة (0%) بالطفرتين (5382 ins C) و(6174 del T)، أما في مجموعة سرطان الثدي الوراثي فكانت أعلى نسبة إصابة (20%) في الطفرة(185 del AG) واقل نسبة إصابة كانت في الطفرة (5382 ins C) إذ بلغت (10%)، في حين لم تسجل أي إصابة للطفرة (6174 del T)، ويتضح من نتائج الدراسة الحالية أن نسبة الإصابة بالطفرة (185 del AG) كانت الأعلى في سرطان الثدي الشائع والوراثي حيث بلغت (23.19%) بالمقارنة مع (5.8%) و(0%) للطفرتين (5382 ins C) و(6174 del T) على التوالي، ولم يلاحظ في مجموعة السيطرة إي إصابة بالطفرات الثلاثة المذكورة أنفاً

أوضحت نتائج الدراسة الحالية إلى عدم وجود أي علاقة بين المعلمات الورمية وبين الإصابة بالطفرات، وقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود علاقة عالية المعنوية في معدل المعلمات الورمية بين مجموعتي سرطان الثدي الشائع والوراثي وبين مجموعة السيطرة .

Abstract:

The importance of this study is the investigation of mutations in BRCA1 and BRCA2 genes as tumor suppressor genes related to occurrence of breast cancer, and its correlations with tumor marker. Blood sample of (69) breast cancer patients were collected from early detection unit in AL- Hussein teaching hospital in Kerbala governorate, which compared with (30) apparently healthy women.

The CA27.29 tumor marker was adopted for detection of breast cancer, The DNA was extracted from blood samples, the detection of BRCA1 and BRCA2 gene mutations were adopted using PCR technique, the molecular diagnosis for (185 del AG) and (5382 ins C) mutations in BRCA1 gene and (6174 del T) mutation BRCA2 gene were applied.

The results showed that the higher percentage of mutations were (27.5%) for(185 del AG) mutation in sporadic breast cancer group, and for hereditary breast cancer group, the percentage of(185 del AG) mutation was (20%) and for (5382 ins C) mutation was (10%), while the (6174 del T) mutation is not recorded in both patient groups. And the results also revealed that the total percentages of (185 del AG),(5382 ins C) and (6174 del T) for patient group were (23.19%) , (5.8%) and (0%) respectively, and there were no mutation detection in control group.

Finally, the results showed there were no correlation between the tumor marker and

mutations, and highly significant correlations between tumor marker of patients in comparison with control group.
Key words: Breast cancer, PCR, Mutations, BRCA1, BRCA2, Kerbala

المقدمة :

يُعرف سرطان الثدي بأنهُ عدم انتظام نمو وتكاثر وانتشار الخلايا الموجودة في أنسجة الثدي. يكون سرطان الثدي شائع بين النساء ويعتبر أحد الأسباب الرئيسية للموت، حيث يشكل نسبة (23%) من مجموع حالات السرطان و(4%) من بين السرطانات المميتة [2 , 1].

أن الاسباب الحقيقية لحدوث سرطان الثدي غير معروفة بشكل واضح وهي لا تنتج من مسبب واحد بل هي ناتجة من تضافر عدة عوامل (Multifactoral) وهذه العوامل تؤدي الي زيادة احتمال الاصابة بمرض سرطان الثدي ومن أمثلتها العمر, الطمث المبكر, انقطاع الطمث المتأخر والتدخين [3], تناول الكحول العوامل الهرمونية, الولادة بعد سن الثلاثين, قلة الإنجاب, انعدام الرضاعة الطبيعية, العوامل البيئية, قلة النشاط الرياضي, السمنة, سوء التغذية, التاريخ الشخصي للإصابة بالمرض، والعوامل الوراثية، العّرق، وعوامل أخرى غير معروفة , فضلا عن ذلك تشير الاحصائيات إلى ان نسبة (5- 10%) من كل حالات سرطان الثدي لها مسببات وراثية وتحديداً خلل في عمل الجينات الطبيعية , علماً أن هذه الجينات موجودة في الرجال والنساء على حد سواء , ولذا يمكن وراثتها عن طريق الأم أو الأب [5,4,3] ولذلك لا يقتصر حدوث سرطان الثدي على النساء وكما هو معتقد وإنما يمكن أن يحدث في الرجال أيضاً وبنسبة تقدر بأقل من (1%) [6].

لقد شخصت أكثر من (500 طفرة) في جين سرطان الثدي الأول BRCA1 ومعظم هذه الطفرات هي أحادية النيوكلتيد وهي أما طفرات حذف (Deletion Mutation) أو طفرات حشر (Insertion Mutation) أو (Framshift Mutation)، أن حدوث هذه الطفرات يختلف وبشكل واسع باختلاف المجتمعات وان أفضل تأثير معروف لهذه الطفرات هو سرطان الثدي والمبيض في اليهود الاشكناز (Ashkenazi Jewish) وهم يهود أوربا الوسطى وأوربا الشرقية مثل (ألمانيا، بولندا، أوكرانيا، روسيا)، وقد أوضحت الدراسات أن الطفرات في جيني (BRCA1, BRCA2) تعتمد على التاريخ الوراثي للعائلة للإصابة بهذا المرض والعمر [7].

تعد الأسباب الوراثية من أهم الأسباب المؤدية إلى حدوث سرطان الثدي وتشمل مورثين مهمين الأول يسمى بمورث سرطان الثدي الأول BRCA1 والذي يقع في الموقع الكروسومي (17q21) حيث يوجد (200 أليل) لهذا المورث ويبلغ وزنه (100 كيلو قاعدة)، يعتبر هذا الجين من الجينات المثبطة للورم ويتكون البروتين الناتج عنه من (1863) حامض أميني وقد حُدد جين BRCA1 في عام 1994 وصُنف ضمن الجينات المثبطة للأورام (Tumor Suppressor genes) [8].

أما المورث الثاني فيسمى بمورث سرطان الثدي الثاني BRCA2 ويقع في الموقع الكروسومي (13q12) ويعتبر أيضاً من الجينات المثبطة للورم حيث يبلغ وزنه (70 كيلو قاعدة) ويتكون البروتين الناتج عنه من (3418) حامض أميني ويمتلك (100 أليل) [9].

على الرغم من أن جيني سرطان الثدي (BRCA1, BRCA2) من الجينات الشائعة المعروفة والمرتبطة مع الخطورة العالية للإصابة بسرطان الثدي، لكن الطفرات في هذين الجينين تعطي خطورة عالية للإصابة بالسرطانات الأخرى فمثلا تسبب الطفرات في جين (BRCA1) خطورة عالية للإصابة بسرطان البنكرياس (Pancreatic cancer) وسرطان الرحم (Uterine) cancer)[10] , أما الطفرات في جين (BRCA2) فإنها تهيئ للإصابة بسرطان البروستات (Prostate cancer) وسرطان البنكرياس (Pancreatic cancer) وربما سرطان المثانة (Gallbladder cancer) وسرطان القناة الصفراء(Bile duct cancer) [11].

وبذلك تعتبر الطفرات أحد أسباب نشوء سرطان الثدي ،حيث تعتبر الطفرتين في جين سرطان الثدي الأول BRCA1 وهي 185 (5382 ins C & del AG) والطفرة (6174 del T) في جين سرطان الثدي الثاني (BRCA2) من الطفرات الشائعة والمسببة لهذا المرض [14,13,12].

الهدف من الدراسة:

نظراً لأهمية المرض ولعدم وجود دراسات على المستوى الجزيئي للمرض في محافظة كربلاء وقلتها في العراق لذا تهدف الدراسة إلى:

1- استخدام الفحوصات الجزيئية في تشخيص بعض الطفرات الوراثية في الجينين (BRCA1, BRCA2) باعتبار أن الطفرة الوراثية في هذين الجينين تعد من الأسباب الرئيسية للإصابة بمرض سرطان الثدي.
2- مقارنة نتائج الفحوصات الجزيئية بنتائج الفحص المختبري لمعلمات الأورام ودورهما في الكشف المبكرعن سرطان الثدي.

المواد و طرائق العمل Materials & Methods :

جمع العينات :

تم جمع العينات من مراجعات العيادة التخصصية للكشف المبكر لسرطان الثدي في مستشفى الحسين (ع) التعليمي في محافظة كربلاء المقدسة. شملت الدراسة (69) مريضة مراجعة للعيادة، حيث قسمت العينات قبل اجراء الفحص الجزيئي بالاعتماد على تاريخ المرض عند العائلة إلى (29) مريضة مصابة بسرطان الثدي الشائع (Sporadic Breast Cancer) وهن المريضات

التي ليس لهن تاريخ عائلي للمرض و (40) مريضة مصابة بسرطان الثدي الوراثي (Hereditary Breast Cancer) وهن المريضات التي لهن تاريخ عائلي موجب للمرض , وتمت مقارنتها مع (30) من النساء الأصحاء مظهريا وللفترة من 28 تشرين الثاني2011 لغاية 30 كانون الأول 2012. تم استثناء النساء المعالجات بالعلاج الكيميائي أو الإشعاعي وكذلك استثناء الحوامل من المريضات.

جمع عينات الدم Blood sample collection :

تم سحب (5 مل) من الدم الوريدي بواسطة محقنه طبية من مراجعات عيادة الكشف المبكر لسرطان الثدي ومجموعة السيطرة وقد قسمت عينة الدم إلى :

1- (2 مل) تم وضعها في أنابيب مانعة للتخثر EDTA حيث تم رجها بشكل خفيف لمنع تخثر الدم وحفظت في التجميد لمدة يوم واحد ومن ثم نقلت في صندوق مبرد إلى مختبر الدراسات العليا– قسم علوم الحياة– كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة كربلاء لإجراء الفحوصات الجزيئية لها.

2- (3 مل) وضعت في أنابيب مختبريه لغرض أجراء اختبار المعلمات الورمية الخاص بسرطان الثدي CA27.29 حيث تم أجراء هذا الفحص في مختبر المناعة لمستشفى الحسين (ع) التعليمي.

التوصيف الجزيئي للطفرات المدروسة

تم استخلاص الحامض النووي(DNA) من عينات الدم للعينات المشمولة بالدراسة لغرض أجراء الفحص الجزيئي للطفرات المشمولة بالدراسة حسب تعليمات عدة (Kit) لشركة Promega, تم دراسة التوصيف الجزيئي للطفرتين في جين سرطان الثدي الأول وهما (BRCA1) (5382 ins C & 185 del AG) والطفرة (6174 del T) في جين سرطان الثدي الثاني (BRCA2) والتي تعتبر من الطفرات المهمة المسببة لهذا المرض , تم اختيار البوادئ Primers وكما موضح في الجدول رقم (1) لغرض أجراء الكشف الجزيئي على الطفرات المدروسة [18,17,16,15] .

جدول رقم (1) يوضح البوادئ المستخدمة في الكشف الجزيئي عن الطفرات المدروسة

Name of gene	Sequence
BRCA1 (185 del AG) Common forword (P1)	5′-ggttggcagcaatatgtgaa -3′
Wild- type reverse (P2)	5′-gctgacttaccagatgggactctc-3′
Mutant reverse (P3)	5′-cccaaattaatacactcttgtcgtgacttaccagatgggacagta-3′
BRCA1(5382 ins C) Common reverse(P4)	5′-aaagcgagcaagagaatcgca-3′
Wild-type forward (P5)	5′-gacgggaatccaaattacacag-3′
Mutant forward (P6)	5′-Aatcgaagaaaccaccaaagtccttagcgagcaagagaatcacc-3′
BRCA2(6174 del T) Common reverse (P7)	5′-agctggtctgaatgttcgttact-3′
Wild-type forward (P8)	5′-gtgggatttttagcacagctagt-3′
Mutant forward (P9)	5′-cagtctcatctgcaaatacttcagggatttttagcacagcatgg-3′

وتوضح الجداول التالية البرامج المستخدمة في الكشف الجزيئي باستخدام تقنية إلـ PCR حسب نوع الطفرات المدروسة.

جدول رقم (2) يوضح البرنامج المستخدم للكشف عن الطفرة (185 del AG)

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	94C°	5min.	1
2	Denaturation	94C°	30sec.	35
3	Annealing	59C°	30sec.	
4	Extension	72C°	30sec	
5	Final Extension	72C°	5min.	1
6	Final hold	4	-	

جدول رقم (3) يوضح البرنامج المستخدم للكشف عن الطفرة (5382 ins C)

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	94C°	5min.	1
2	Denaturation	94C°	60sec.	35
3	Annealing	59C°	60sec.	
4	Extension	72C°	35sec	
5	Final Extension	72C°	10 min.	1
6	Final hold	4	-	

جدول رقم (4) يوضح البرنامج المستخدم للكشف عن الطفرة (6174 del T)

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	94C°	5min.	1
2	Denaturation	94C°	30sec.	35
3	Annealing	55C°	30sec.	
4	Extension	72C°	30sec	
5	Final Extension	72C°	5 min.	1
6	Final hold	4	-	

تحميل ناتج تفاعل البلمره المتسلسل والترحيل الكهربائي:

Loading of PCR product & Electrophoresis

تم تحميل (2µl) من الـ DNA ladder مع (10 µl) من نواتج PCR في جل الأكاروز وبتركيز (2%) (1X TBE Buffer) حيث تم الترحيل على طاقة كهربائية مقدارها (70V) ولمدة ساعة ونصف صُبغ الجل بصبغة بروميد ألاثيديوم السائلة وبكمية (2µl) تم مشاهدة الحزم بواسطة مطياف ألأشعة الفوق البنفسجية (UV transiluminater)، وتم تصويرها باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي(system) (Photo documentation.

التحليل الإحصائي:

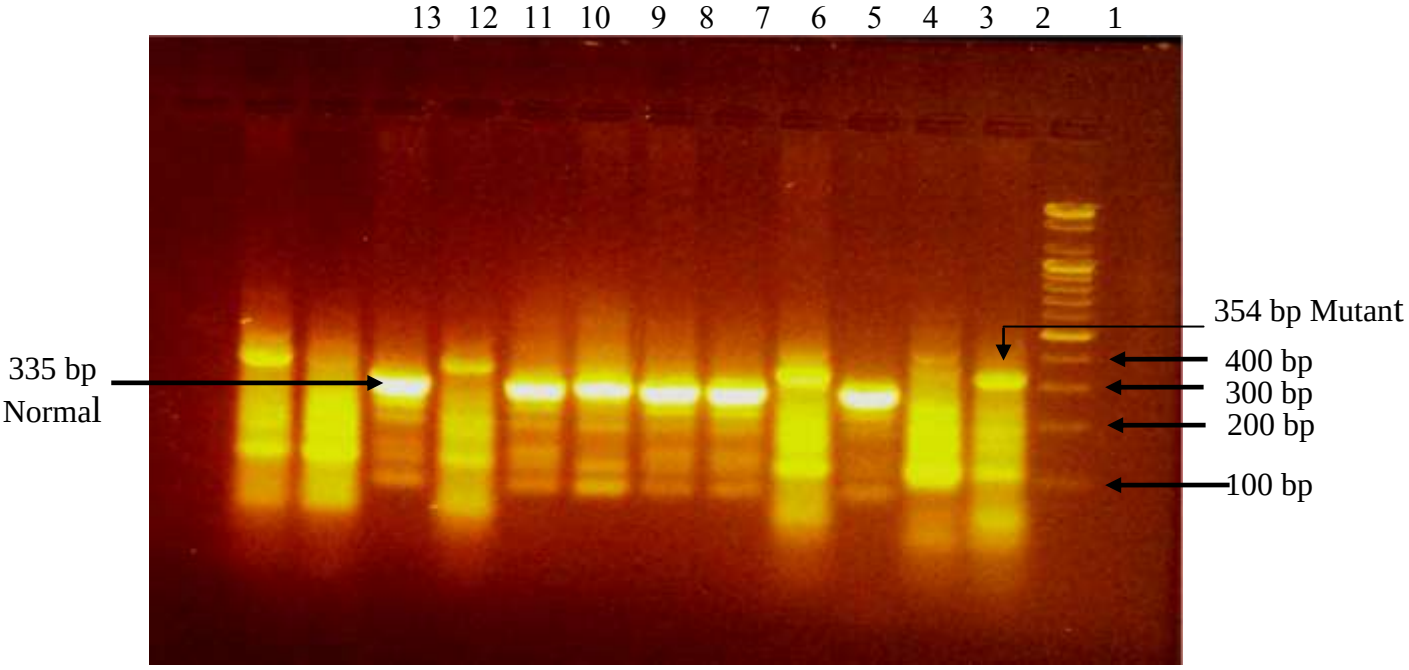
لغرض تحليل النتائج إحصائيا، تم استخدام برنامج التحليل الإحصائي (Statistical Analysis System) (SAS) /2001 V 6.12 حيث تم اعتماد مستوى المعنوية ($P\leq 0.01$) و($P\leq 0.05$) لتحديد الفروقات الإحصائية والمعنوية للنتائج.

النتائج والمناقشة Results & Discussion :

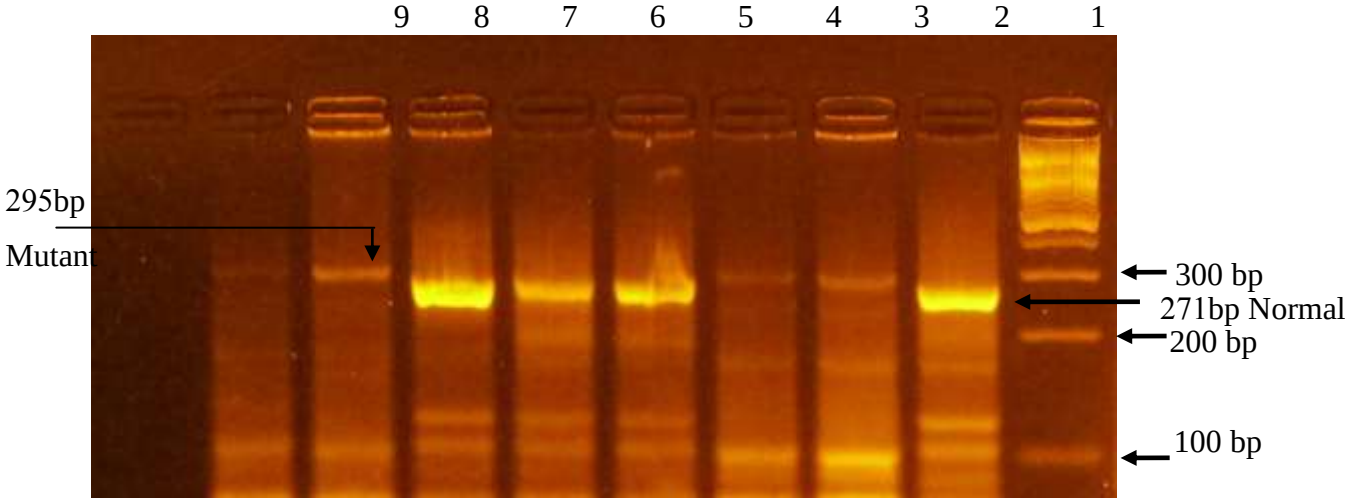
تم استخلاص الـ DNA من عينات الدم لجميع عينات الدراسة، وتم أجراء الترحيل الكهربائي للتأكد من وجود حزم الـ DNA الكرموسومي على جل الاكاروز وبتركيز (0.8 %) عند 70 فولت ولمدة ساعة ومشاهدتها تحت جهاز الاشعة فوق البنفسجية بعد صبغها بالاثيديوم بروماید، حيث أظهرت النتائج ، وجود حزم الـ DNA الكرموسومي في معظم العينات المستخلصة وتمت أعادة عملية الاستخلاص للعينات التي لم تظهر نواتج لحزم الـ DNA الكرموسومي.

التوصيف الجزيئي للطفرات المدروسة :

تم أجراء التوصيف الجزيئي باستخدام تقنية PCR لثلاث طفرات وراثية شُملت بالدراسة هي 5382 ins C, 185 del AG، 6174 del T والموجودة على الجينين المثبطين للأورام (Tumor suppressors genes) وهما BRCA1, BRCA2، حيث يوضح الشكل رقم (1) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة (185 del AG).ويوضح الشكل (2) نتائج الدراسة للتوصيف الجزيئي للطفرة (5382 ins C) باستخدام تقنية PCR ونتائج الترحيل الكهربائي لنواتج PCR.



الشكل (1) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 185 del AG على 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف , حيث يمثل العمود الأول المعلم الحجمي (100 bp DNA ladder) ، الأعمدة (2، 5، 10، 13) تحتوي على الحزم بحجم 354 زوج قاعدة والتي تمثل العينات الطافرة، أما الأعمدة (4، 6، 7، 8، 9) فتمثل العينات الطبيعية للطفرة المدروسة بحجم 335 زوج قاعدة، في حين لم يظهر العمودين (2, 12) أية حزم لنواتج PCR لهذه العينات



الشكل (2) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 5382 ins C على 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف, حيث يمثل العمود الأول المعلم الحجمي (100 bp DNA ladder) ، أما الأعمدة (2, 5 , 6 , 7) فتحتوي الحزم بحجم 271 زوج قاعدة والتي تمثل العينات السالبة أو الطبيعية لهذه الطفرة، في حين احتوت الأعمدة (3، 4، 8، 9) حزم بحجم 295 زوج قاعدة والتي تمثل العينات الطافرة.

يتبين من نتائج الجدول (5) أن أعلى نسبة إصابة في مجموعة مرضى سرطان الثدي الشائع كان للطفرة (185 del AG) وقد بلغت 8 (27.5%) في حين بلغت نسبة الإصابة (0%) في الطفرتين5382 ins C، 6174 del T، أما في سرطان الثدي الوراثي فكانت أعلى نسبة للإصابة بالطفرات هو في الطفرة (185del AG) وقد بلغت 8 (20%) واقل نسبة إصابة كانت في الطفرة (5382 ins C) وبقيمة 4 (10%) في حين لم تسجل أي إصابة بالطفرة (6174 del T) في هذا المرض، ولم يلاحظ في مجموعة السيطرة أي إصابة بالطفرات الثلاثة المذكورة أنفاً، كما يتضح من نتائج الدراسة الحالية أن الطفرة (185del AG) هي الأعلى نسبة أصابه (23.19%) بين نوعي سرطان الثدي الشائع والوراثي بالمقارنة مع (5.8%, 0%) للطفرتين (6174 del T, 5382 ins C) على التوالي.

لقد أشارت الدراسات ومنها دراسة [20,19] أن الطفرات مسؤولة عن (5%) من كل حالات سرطان الثدي الشائع، واقل من (20%) من كل حالات الإصابة بسرطان الثدي الوراثي، حيث تكون نسبة الإصابة بالطفرات في الحالات الوراثية أعلى وبمعدل طفرتين في جين (BRCA1) وطفرة واحدة في جين (BRCA2) [7] وهذا يظهر عدم تطابق هذه النتائج مع نتائج الدراسة الحالية التي اظهرت ارتفاع نسبة الأصابة بالطفرة 185 del AG ضمن مجموعة المريضات المصابات بسرطان الثدي الشائع في حين تطابقت النتائج الى حد ما فيما يخص ارتفاع نسبة الأصابة بالطفرتين 185 del AG و5382 ins C في جين BRCA1 ضمن مجموعة المصابات بسرطان الثدي الوراثي .

تختلف الإصابة بسرطان الثدي باختلاف المجاميع العرقية والمواقع الجغرافية مما يعزي عدم ظهور الطفرة (6174 del T) في جين (BRCA2)، كما وترتبط هذه الطفرة بقوة مع أنواع أخرى من السرطانات بينما ترتبط الطفرتين (5382 ins C, 185 del AG) في جين (BRCA1) ابتدءا مع الإصابة بسرطان الثدي [21] , ووجد اخرون [22] ان أعداد الطفرات المذكورة أنفاً ونسب الإصابة بهاتظهر ان الطفرة في جين (BRCA1) (185 del AG) سائدة وبنسبة تقدر بـ (1.09%) بينما تبلغ نسبة الطفرة (5382 ins C) لنفس الجين (0.13%)، أما نسبة الإصابة في الطفرة (6174 del T) لجين (BRCA2) فقد كانت (1.52%) في اليهود الاشكناز، في حين أظهرت نتائج الدراسة الحالية بان الطفرة (185 del AG) هي الأكثر سيادة والأعلى أصابه من الطفرتين (5382 ins C, 6174 del T) إذ بلغت نسبة الإصابة بهذه الطفرة (23.19%)، بينما سجلت أقل نسبة الإصابة (5.8%) في الطفرة (5382 ins C), في حين لم تسجل أي إصابة في الطفرة (6174 del T) .

لقد أشارت الدراسات [23,17] أن الطفرة (185 del AG) هي الأقل شيوعاً في النساء الإيرانيات المصابات بسرطان الثدي بالمقارنة مع الطفرتين (5382 ins C، 6174 del T), في حين أشارت الدراسة التي قام بها [18] على مجموعة من المريضات الإيرانيات ان الطفرة (5382 ins C) هي الأكثر تكرار من بين مجموع الطفرات المرتبطة مع سرطان الثدي إذ بلغت نسبة الإصابة بها (13%) كما أنها تعتبر كمؤشر لحدوث سرطان الثدي الوراثي، بينما أشار [16] أن الطفرتين (5382 ins C, 185 del AG) في جين (BRCA1) والطفرة (6174 del T) في جين (BRCA2) هما الأقل حدوثاً في المريضات الإيرانيات المصابات بسرطان الثدي.

جدول (5) يوضح نسب الإصابة بالطفرات المدروسة

الطفرات	المرضى						مجموعة السيطرة	
	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الوراثي		المجموع			
		العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
185 del AG	+	8	27.5	8	20	16	23.19	0	0
	-	21	72.4	32	80	53	76.81	30	100
5382 ins C	+	0	0	4	10	4	5.8	0	0
	-	29	100	36	90	65	94.2	30	100
6174 del T	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	-	29	100	40	100	69	100	30	100
المجموع الكلي	+	8	9.19	12	10	20	9.66	0	0
	-	79	90.8	108	90	187	90.33	90	100

تبين من نتائج جدول (6) والذي يوضح معدلات المعلمات الورمية حسب الطفرات المدروسة، أن أعلى معدل للمعلمات الورمية في سرطان الثدي الشائع للحالات الموجبة في الطفرة 185 del AG وقد بلغ 23.17 ±18، بينما بلغ معدل المعلمات الورمية (0) في الطفرتين 5382 ins C، 6174 del T في حين بلغت معدلات المعلمات الورمية في الحالات السالبة للطفرات الثلاثة المدروسة (185 del AG، 5382 ins C، 6174 del T (21.94±1.36 22.22±1.03 22.22±1.03) على التوالي.

أما في حالة سرطان الثدي الوراثي فقد بلغ أعلى معدل للمعلمات الورمية للحالات الموجبة في الطفرة (185 del AG) إذ بلغ (21.33±3.29) بينما بلغ معدل المعلمات الورمية (24.37± 6.12) في الطفرة (5382 ins C)، في حين بلغ معدل المعلمات الورمية (0) للطفرة (6174 del T)، أما معدل المعلمات الورمية للحالات السالبة في الطفرة(185 del AG) فقد بلغ (21.94± 1.36) والطفرة (5382 ins C) (21.35±1.25) وفي الطفرة (6174 del T) (21.82± 1.25)، بينما بلغ معدل المعلمات الورمية (0) في الحالات الموجبة للطفرات المدروسة الثلاثة في مجموعة السيطرة، أما في الحالات السالبة فقد بلغ معدل المعلمات الورمية للطفرات (185 del AG، 5382 ins C، 6174 del T) (16.11± 0.89).

أوضحت النتائج الإحصائية إلى عدم وجود علاقة معنوية بين المعلمات الورمية وبين الطفرات المدروسة، في حين ظهرت فروقات عالية المعنوية في معدل المعلمات الورمية بين مجموعتي سرطان الثدي الشائع والوراثي وبين مجموعة السيطرة وهذه

النتائج تشير الى فائدة استخدام المعلمات الورمية في الكشف الأولي عن حالات الأصابة بسرطان الثدي من خلال التمييز بين مجموعتي المرضى والسيطرة مع عدم قدرتها على التمييز بين نوعي سرطان الثدي الشائع والوراثي ضمن مجموعة المرضى .

ويستنتج من الدراسة الحالية أن الطفرتين (185 del AG)(5382 ins C) في جين BRCA1 كانتا الأكثر شيوعاً من الطفرة (6174 del T) في جين BRCA2، وكانت الطفرة (185 del AG) هي الأكثر تكراراً في أحداث الإصابة بسرطان الثدي من الطفرة(5382 ins C)، في حين لم تُسجل الطفرة (6174 del T) في جين BRCA2 في جميع العينات المدروسة . وان من أهم طرق التشخيص المبكر لسرطان الثدي وقبل التشخيص ألسريري والإشعاعي هو التشخيص الجزيئي بسب العلاقة الطردية بين زيادة تكرار الطفرات في جيني BRCA1,BRCA2 ونسب حدوث سرطان الثدي .

جدول (6) يوضح معدلات المعلمات الورمية حسب الطفرات المدروسة

الطفرات المدروسة	المرضى				مجموعة السيطرة	
	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الشائع			
	+	-	+	-	+	-
185 del AG	2.18±23.17 A	1.36±21.94 A	3.29±21.33 A	1.36±21.94 A	0 C	0.89±16.11 B
5382 ins C	0 C	1.03±22.22 A	6.12±24.37 A	1.25±21.35 A	0 C	0.89±16.11 B
6174 del T	0 C	1.03±22.22 A	0 C	1.25±21.82 A	0 C	0.89±16.11 B
مستوى المعنوية للمعاملات،الطفرات	P=0.01		P=0.903			

-المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة ضمن العمود الواحد بالنسبة للمتغيرات لا تختلف معنويا.
-المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة ضمن الصف الواحد بالنسبة لمجموعة المرضى والسيطرة لا تختلف

References:

1- Jemal, A.;Center,M M.;Desantis, C.; and Ward, EM. (2010). Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 19(8): 1893-1907.
2- WHO.(2011).Breast Cancer:prevention and control.Available from: http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index.html
3- Anders, C.K.; Johnson, R.;Litton, J. (2009). Breast cancer before age 40 years. Semin Oncol., 36 (3): 237-249.
4- Stratton, MR.; Campbell, PJ.; & Futreal,PA. (2009). The cancer genome. Nature .,458(7239):719–724.
5- Shannon, C.; and Smith, I.E. (2003). Breast cancer in adolescents and young women. Eur . J. Cancer., 39(18): 2632-2642.
6- Pant, K .;& Dutta,U. (2008). Understanding and management of male breast cancer: a critical review. Med Oncol., 25: 294-298.
7- Bradbury, AR.; Olopade, OI. (2007). Genetic susceptibility to breast cancer. Rev Endocr Metab Disord., 8:225–267.
8- Miki, Y., Swensen, J., Shattuck-Eidens, D., Futreal, P. A., Harshman, K., Tavtigian, S., Liu, Q., Cochran, C., Bennett, L. M., Ding, W. (1994). A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science., 266: 66-71.
9- Wooster, R.; Bignell, G.; Lancaster, J.; Swift, S.; Seal, S.; Mangion, J.; Collins, N.; Gregory, S.; Gumbs, C.; and Micklem, G. (1995). Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. Nature .,378: 789-792.
10- Thomas, DB.; Gao, DL; Ray, RM. (2002). "Randomized trial of breast self- examination in shanghai"; Final result,. J. Natl Cancer Inst; 94 (19): 1445-1457.

11- Van Asperen, C. J.; Brohet, R. M.; Meijers-Heijboer, E. J.; Hoogerbrugge, N.; Verhoef, S.; Vasen, H. F.; Ausems, M. G.; Menko, F. H.; Gomez Garcia, E. B.; Klijn, J. G.; Hogervorst, F.B.; van Houwelingen, J.C.; van't Veer, L.J.; Rookus, M.A.; van Leeuwen, F.E. (2005). Netherlands Collaborative Group on Hereditary Breast Cancer (HEBON) Cancer risks in BRCA2 families: estimates for sites other than breast and ovary. J. Med Genet .,42: 711-719.
12- Peelen,T.; van Vliet,M.; Petrij-Bosch, A. (1997). A high proportion of novel mutations in BRCA1 with strong founder effects among Dutch and Belgian hereditary breast and ovarian cancer families. Am. J .Hum Genet., 60:1041–1049.
13- Huusko, P.; Paakkonen, K.; Launonen,V. (1998). Evidence of founder mutations in Finnish BRCA1 and BRCA2 families. Am. J. Hum Genet., 62:1544–1548.
14- Gudmundsdottir, K.& Ashworth, A. (2006). The roles of BRCA1 and BRCA2 and associated proteins in the maintenance of genomic stability. Oncogene., 25:5864–5874.
15- Chan, Pak .;Cheung, R. Wong.; Betty Y.L.; Ozcelik, Hilmi.; and David E.C. Cole. (1999). Simple and Rapid Detection of BRCA1 and BRCA2 Mutations by Multiplex Mutagenically Separated PCR, Clinical Chemistry, August.,45 (8):1285-1287.
16- Fattahi, Mohammad. Javad .; Mojtahedi,Zahra.; Karimaghaee, Nazanin.; Talei,Abdul-Rasoul.; Banani,Seeyed. Javad.; Ghaderi,Abbas . (2009). Analysis of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Southern Iranian Breast Cancer Patients, Arch Iran Med., 12 (6): 584 – 587.
17- Mehdipour,Parvin.; Hosseini-AsI,Saied.; Savabi-E,Arezoo.; Habibi,Laleh.; Alvandi,Ehsan.; and Atri, Morteza. (2006). Low Frequency of 185delAG Founder Mutation of BRCA1Gene in Iranian Breast Cancer Patients, Journal of Cancer Molecules., 2(3): 123-127.
18- Rassi, H.; Houshmand, M.; Hashemi, M.; Majidzadeh, K.; Hosseini, Akbari. M.H.; Panahi, M. Shafa. Sharlat. (2008). application of multiplex pcr with histopathologic features for detection of familial breast cancer in formalinfixed,paraffinemedded histologic specimens.. ISSN., 2: 0564–3783.
19- Wooster, R.; and Weber, B.L. (2003). Breast and ovarian cancer. The New England journal of medicine., 348(23): 2339-2347.
20- Antoniou, A.C.; and Easton, D.F. (2006). Risk prediction models for familial breast cancer. Future oncology., 2(2): 257-274.
21- Lee, E.Y. (2008). Promotion of BRCA1-associated triple-negative breast cancer by ovarian hormones. Current opinion in obstetrics & gynecology., 20(1): 68-73.
22- Yazici,H.; Bitisik, O.; Akisik, E.; Cabioglu, N.; Saip,P.; Muslumanoglu, M. (2000). BRCA1 and BRCA2 mutations in Turkish breast/ovarian families and young breast cancer patients. Br. J. Cancer., 83: 737 – 742.
23- Szabo C.I.;& King, M.C.(1997). Population genetics of BRCA1 and BRCA2 // Amer. J. Hum. Genet. ,60:. 1013–1020.