Al-Kufa University Journal for Biology
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
العدد الخاص بالمؤتمر العلمي الدولي الثاني لعلوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة / 2016

تقيم تكرار الطفرات الوراثية لجينات BRCA1 و BRCA2 في النساء المصابات بسرطان الثدي في محافظة النجف الاشرف

د. ظافرة جعفر الفتلاوي **د.قسور موسى الطريحي** **م.م آلاء عبد الزهرة كاظم**
كلية التربية للبنات/ جامعة الكوفة **كلية التربية للبنات/ جامعة الكوفة** **كلية الطب جامعة الكوفة**

الخلاصة

جُمعت 100عينة من أنسجة أورام الثدي المطمورة بشمع البارافين المستأصلة من50 مريضة مصابة باورام الثدي الغدي الحميد Fibroadenoma و50 مريضة مصابة بسرطان الثدي القنوي Ductal Carcinoma من بعض المختبرات الأهلية ومختبر الامراض النسجية في مدينة الصدر الطبية، شُخصت المرحلة السريرية للمرض Clinical stage والدرجة النسجية Histological grades لعينات أورام الثدي القنوي واستعملت تقنية تفاعل البلمرة التسلسلي PCR للتحري عن 185 delAG في اكسون 2 و 5382 insC في اكسون 20 في جين BRCA1 المحمول على كروموسوم 17، وطفرة 6174 del T على اكسون 11 في جين BRCA2 المحمول على كروموسوم 13.

أظهر الفحص T-test هناك اختلاف معنوي ($p< 0.001$) بين معدل أعمار النساء المصابات بسرطان الثدي القنوي (44.47 + 10.6) سنة ومعدل أعمار النساء المصابات بسرطان الثدي الغدي الحميد (25.38 + 7.68)سنة. أظهرت نتائج تقنية تفاعل البلمرة التسلسلي PCR انعدام طفرات BRCAs في أورام FA وأن تكرار حدوث الطفرات في BRCA1 هو 14(28%) مقارنة بتكرار BRCA2 6(12%) في أورام DC, وقد أوضحت نتائج التحليل الإحصائي وجود ارتفاع معنوي ($p<0.0001$) إذا ما قورن تكرار حدوث الطفرات في DC (40%) مع FA (0%)، فضلا عن وجود فرق معنوي ($P<0.05$) إذا ما قورنت النسبة المئوية لتكرار حدوث الطفرة 185delAG 8(16%) بتكرار طفرتي $_{5382}$insC 6 (12%) في BRCA1 و6174delT 6 (12%) في BRCA2 أضف الى الارتفاع المعنوي ($p<0.001$) لتكرار BRCA1 14 (28%) مقارنة BRCA2 6 (12%) . اضف الى ان تكرار $BRCA_2$ مهم معنويا في الفئة العمرية (40 ≤) سنة في حين يكون BRCA1 اكثر تكرارا في سن الاربعين سنة صعودا.

Abstract

100 samples of paraffin wax were excised from 50 women with tumors of breast glandular (Fibroadenoma)(FA) and 50 women with Ductal Carcinoma (DC) breast cancer, of some private laboratories and histopathological laboratory in Al-Sadr Medical City, were diagnosed Clinical stage and Histological grades of samples tumors breast ductal. PCR technique was used in order to detect gene mutation in delAG $_{185}$ in exon $_{2}$ and insC $_{5382}$ in exon $_{20}$ in BRCA1 on chromosome 17, and del T $_{6174}$ Exon 11 in $BRCA_2$ on chromosome 13 .

T-test revealed significant differences ($p <0.001$) between the ages , (44.47± 10.6 years; 25.38 ± 7.68years) of women with DC and FA respectively,. PCR technique was indicated lack of BRCAs mutations in FA, so BRACs mutations showed high significance($p<0.0001$) when compared DC (40%) to FA (0%). Highly significanct frequency ($p< 0.001$) of mutations in BRCA1 14 ((28%) compared to $BRCA_2$ 6 (% 12) in DC. as well as significant difference ($P <0.05$) when compared frequency% of $_{185}$delAG 8 (16%) to $_{5382}$insC 6(12)%) in the BRCA1 and $_{6174}$ delT 6(12%) in $BRCA_2$

$BRCA_2$ mutations repeated more group aged (≥40 years) while BRCA1 be more frequent at the aged forty years upwards.

Al-Kufa University Journal for Biology
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
العدد الخاص بالمؤتمر العلمي الدولي الثاني لعلوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة / 2016

المقدمة

يعد سرطان الثدي من أنواع السرطانات ذات التغيرات الكروموسومية المعقدة (Rodger وجماعته، 1984) وتشير الدراسات إن الأشكال الكروموسومية في الحالات التي تم الكشف عنها تحوي مؤشرات كروموسومية غير طبيعية وأن أغلب الخلايا تكون ثلاثية المجموعة الكروموسومية Triploidyأو رباعية المجموعة الكروموسومية Tetraploidy (Pandis،1993). وتتداخل بعض العوامل البيئية كالإشعاع وبعض المواد الكيميائية المطفرة وأنواع معينة من الفيروسات في إحداث طفرة أو عدة طفرات في جينات محددة داخل الخلية الجسمية Somatic cells قد تتسبب في الإصابة بالمرض، إذ تفقد الخلية السيطرة على عملية الانقسام مما يؤدي إلى استمرارها بالانقسام دون التوقف أو عدم دخولها في مرحلة التمايز, وممكن أن تتسبب هذه الطفرات في إرجاع الخلية المتمايزة إلى مرحلة ما قبل التمايز مما يؤدي إلى معاودتها للانقسام الغير مسيطر عليه (Newman وجماعته، 1989).

وفي الآونة الأخيرة كثرت الاهتمامات التي تهدف إلى التنبؤ المبكر بحدوث سرطان الثدي واستعملت المؤشرات الجزيئية في هذا الصدد ويمكن عد طفرات BRCA1 وBRCA2 السبب الرئيسي لأغلب حالات سرطان الثدي وهي جينات متحسسة للورم وإن التعبير الجيني لـ BRCA1 و BRCA2في خلايا الثدي.وكثير من الأنسجة الأخرى.يكون مسؤول عن إصلاح ضرر الحمض النووي أو يمكن أن تقوم بتحطيم الخلايا destroy cells في حالة عدم قدرتها على إصلاح الضرر إما في حالة تطفير الجين BRCA فأن الحمض النووي لا يمكن إصلاحه مما يؤدي إلى الإصابة بالأورام الخبيثة (Lahad وجماعته، 2007). إذ تشير الدراسات إلى أن هناك علاقة ايجابية طردية بين زيادة تكرار الطفرات في الجينات BRCA1 وBRCA2 ونسبة حدوث سرطان الثدي (Diana،2009). وفي الآونة الأخيرة أصبحت الدراسات الجزيئية هي الرائدة في مجال تشخيص الإصابة بالأورام الخبيثة والتنبؤ بحدوثها ووضع الطرق الوقائية والعلاجية لها (Kuraya وجماعته، 2005).

المواد وطرق العمل Materials & Methods

جُمعت 100عينة من أنسجة أورام الثدي المطمورة بشمع البارافين المستأصلة من50 مريضة مصابة باورام الثدي الغدي الحميد Fibroadenoma و50 مريضة مصابة بسرطان الثدي القنوي Ductal Carcinoma من بعض المختبرات الأهلية ومختبر الامراض النسجية في مدينة الصدر الطبية، شُخصت المرحلة السريرية للمرض Clinical stage لعينات أورام الثدي القنوي واستعملت تقنية تفاعل البلمرة التسلسلي PCR للتحري عن delAG 185 في اكسون 2 و insC 5382 في اكسون 20 في جين BRCA1 المحمول على كروموسوم 17، وطفرة T del 6174 على اكسون 11 في جين BRCA2 المحمول على كروموسوم 13.

استخلص الـ DNA من أنسجة أورام الثدي وذلك باستعمال خمسة مقاطع بسمك 10مايكرون من أنسجة أورام الثدي المطمورة بشمع البارافين لغرض عزل جينوم DNA باستعمال Genomic tissues protocol DNA Mini kit الذي صمم خصيصا لهذا الغرض ثم قيس تركيز DNA المستخلص باستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer وبطول موجي 260 نانوميتر طبقاً لـ Ausubel وجماعته (2003) وطبقت المعادلة التالية لإيجاد تركيز الدنا:

تركيز الدنا (مايكروغرام/ مل) = الكثافة الضوئية x معامل التخفيف مايكروغرام / مل.

جهزت البرايمرات جدول (1) الأمامية Forward (F) والخلفية (R) Reverseلطفرات 185delAG و 5382insCفي الجين BRCA1 وطفرة 6174delTفي الجين BRCA2من شركة Bioneer (Pak وجماعته، 2008) لغرض تضخيم DNA باستعمال تقنية تفاعل البلمرة التسلسلي PCR (MS- PCR) استنادا إلى لبرتوكول الماسترمكس AccuPower RTLA PreMix PCRالمجهز من شركة

Al-Kufa University Journal for Biology
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
العدد الخاص بالمؤتمر العلمي الدولي الثاني لعلوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة / 2016

Bioneer(جدول2) واجريت الخطوات لجين BRCA1 طبقا لجدول (3) ولجين BRCA2 طبقا لجدول (4). وكما يلي:

- هيأت أنبوبة لكل عينة تحتوي على 5 مايكروليتر من المزيج الرئيسي Master Mix.
- أضيف 5 مايكروليتر من مستخلص قالب الدنا إلى الأنبوبة.
- أضيف6مايكروليتر من محلول العمل Work Solution (2مايكروليتر لكل من البادئ أمامي Forwardو الخلفي Reverse الشائع و المطفر)المحضر في الخطوة السابقة.
- أكمل الحجم إلى 20 مايكروليتر بإضافة الماء المعقم اللايوني.
- دور الخليط بالمازج بسرعة عالية لإذابة المزيج.
- وضعت العينات في جهازPCR بعد إن تمت برمجته طبقاً لما ذكر في بروتوكول العمل لكل من جين BRCA1 جدول (3) و جين BRCA2 جدول (4).

جدول (1) برايمرات الدراسة الحالية

الجين	التسلسل	اتجاه البادئ	ناتج PCR	نوع البادئ	أسم الطفرة
BRCA1	5’ ggttggcagcaatatgtgaa-3	F		Common	185delAG
	5’gctgacttaccagatgggactctc -3	R	335 bp	Wild type	
	ccaaattaatacactcttgtcgtgacttaccagatgggacagta-3	R	354 bp	Mutant	
BRCA1	5’ gacgggaatccaaattacacag-3	R		Common	5382insC
	5’ aaagcgagcaagagaatcgca-3	F	271 bp	Wild type	
	5’aatcgaagaaaccaccaaagtccttagcgagcaagagaatcacc-3	F	295 bp	Mutant	
BRCA2	5’ agctggtctgaatgttcgttact-3	F	151 bp	Common	6174delT
	5’ gtgggatttttagcacagctagt-3	R		Wild type	
	5’ cagtctcatctgcaaatacttcagggatttttagcacagcatgg-3	F	171 bp	Mutant	

Al-Kufa University Journal for Biology
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
العدد الخاص بالمؤتمر العلمي الدولي الثاني لعلوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة / 2016

جددول (2) مكونات تفاعل PCR

ت	مكونات التفاعل	VOLUME الحجم
-1	المزيج الرئيسيMaster Mix	5µl
-2	البادئات الأمامية Forward والخلفية Reverse	6µl
-3	مستخلص قالب الدناDNA Templet	5µl
-4	ماء مقطر	4 µl
الحجم الكلي=20µl		

جدول (3) بروتوكول عمل جهاز PCR لجين BRCA1

PCR reaction for BRCA1 gene				
ت	الخطوات	درجة الحرارة	الزمن	عدد الدورات
-1	التفكيك الاولDenaturation 1	94 °C	5 min	دورة واحدة
-2	التفكيك الثانيDenaturation 2	94 °C	1 min	35دورة
-3	الالتصاق Annealing	60 °C	30 Sec	
-4	الامتداد الأولExtension 1	72 °C	1 min	
-5	الامتداد النهائي Final Extension	72 °C	5 min	دورة واحدة

جدول (4) بروتوكول عمل جهاز PCRلجينBRCA2

PCR reaction for BRCA2 gene				
ت	الخطوات	درجة الحرارة	الزمن	عدد الدورات
-1	التفكيك الأولDenaturation 1	94 °C	5 min	دورة واحدة
-2	التفكيك الثانيDenaturation 2	94 °C	1 min	35 دورة
-3	الالتصاقAnnealing	57°C	30 Sec	
-4	الامتداد الأولExtension 1	72 °C	1 min	
-5	الامتداد النهائيFinal Extension	72 °C	5 min	دورة واحدة

حضر هلام الاكاروز Agarose ورحلت العينات باستعمال فولتية مقدارها 70 فولت ولمدة ساعة ونصف.

رفع الهلام بعد اكتمال الترحيل ووضع على جهاز UV – Transilluminater، صورت حزم الدنا المرحلة وذلك لتحديد نواتج تفاعل البلمرة التسلسلي لجينات BRCA1 و BRCA2.

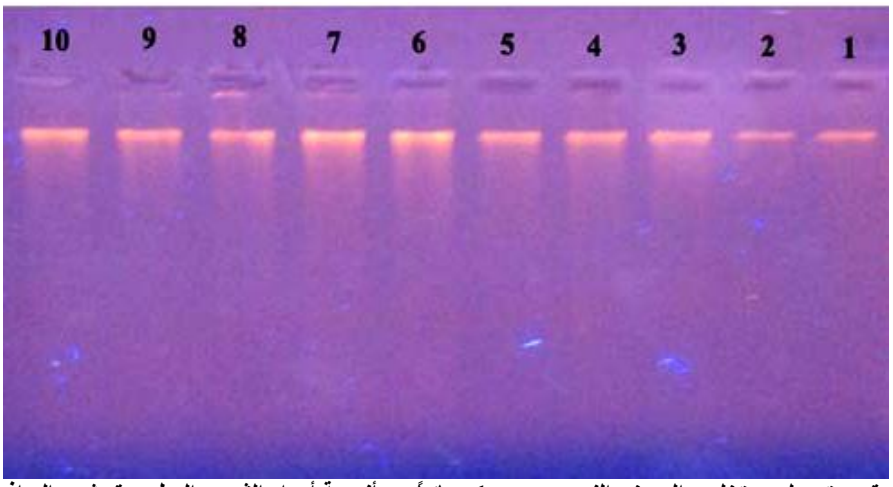
التحليل الإحصائي

استعمل البرنامج الإحصائي SPSS نسخة 17لإجراء التحليل الإحصائي وقد عبرعن تكرار حدوث الطفرات بالنسب المئوية واستعمل اختبار الطالب T- test لغرض معرفة معنوية التباينات بين المجاميع.

Al-Kufa University Journal for Biology
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
العدد الخاص بالمؤتمر العلمي الدولي الثاني لعلوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة / 2016

النتائج والمناقشة
الدراسة الجزيئية

استخلص الدنا من أنسجة أورام الثدي ورحلّ المستخلص كهربائيا باستعمال جهاز الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis وصورت حزم جينوم الدنا باستعمال كاميرا رقمية (Sony) .



صورة 1: ترحيل مستخلص الحمض النووي DNA كهربائياً من أنسجة أورام الثدي المطمورة بشمع البرافين

ويوضح جدول(6) أن 20/50 (40%) مريضة فقط من النسوة المصابات بسرطان الثدي القنوي (DC) تحمل إحدى الطفرات قيد الدراسة صورة (2 و 3) ، فقد كان تكرار الطفرة 185delAG هو 8/50 (16%) والطفرة 5382 insC 6/50 (12%) في الجين BRCA1 في حين كان تكرار الطفرة 6174delT 6/50 (12%) في الجين BRCA2 وباستعمال اختبار الطالب T-test فقد وجدت زيادة مهمة إحصائيا ($p < 0.0001$) إذا ما قورنت النسبة المئوية لتكرار الطفرات في DC 50/ 20(40%) مع FA 50/ 0 (0%)، فضلا عن وجود فرق معنوي ($P<0.05$) اذا ما قورنت النسبة المئوية لتكرار حدوث الطفرة 185delAG (16%) بكلا الطفرتين و 5382 insC و 6174delT ، ومن جهة أخرى يظهر مجموع تكرار طفرتي BRCA1 14/50 (28%) زيادة معنوية ($p<0.0001$) في نسبة الإصابة بسرطان الثدي القنوي إذا ما قورن بجين BRCA2 6/50 (12%).

(صورة1). أظهرت النتائج (جدول 5) أن قيمة تكرار طفرات BRCA1 و BRCA2 في سرطان الثدي الغدي الحميد هي 0.0% في حين يبين الجدول ذاته أن نسبة تكرار طفرتي BRCA1 في مريضات سرطان الثدي القنوي هي 14(28 %) وتكرار طفرة BRCA2 هي 6 (12 %).

Al-Kufa University Journal for Biology
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
العدد الخاص بالمؤتمر العلمي الدولي الثاني لعلوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة / 2016

جدول (5) النسب المئوية لتكرار الطفرات في الجينات BRCA1 وBRCA

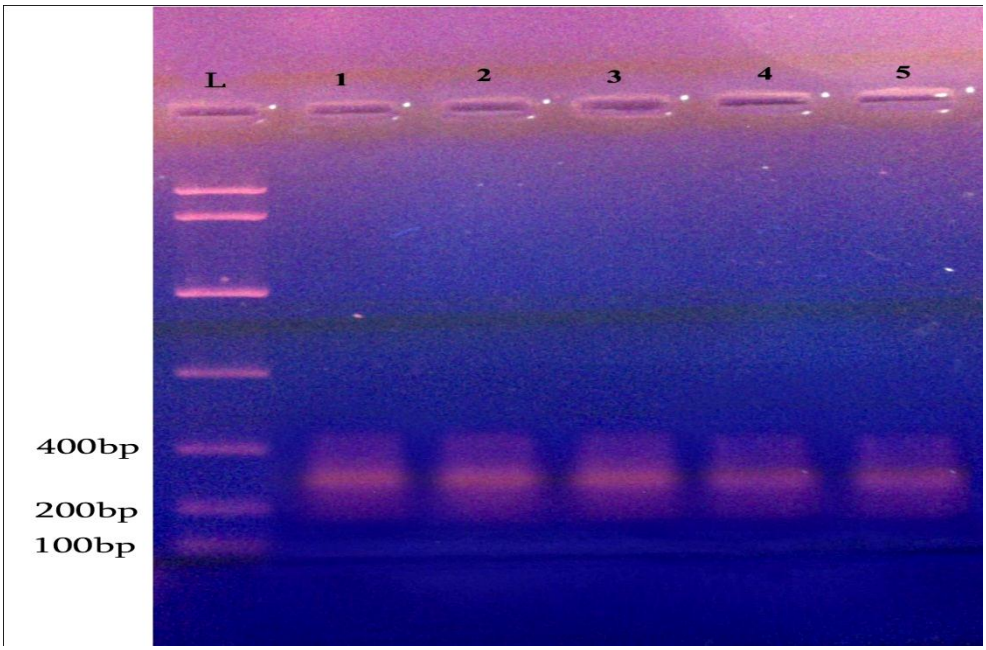
نوع النسيج الورمي	BRCA1 Mutation		BRCA2 Mutation		المجموع الكلي
	Negative	Positive	Negative	Positive	
الحميد	50 % 100	0 %0.0	50 % 100	0 %0.0	50 % 100
الخبيث	36 %72	14 %28	44 %88	6 %12	50 % 100

جدول (6) النسب المئوية لتكرار طفرتي 185delAG و5382insC في جين BRCA1 وطفرة6174delT في جين BRCA2 في الفئات العمرية للنساء المصابات بسرطان الثدي القنوي

الفئة العمرية	العمر	تكرار المريضات (النسب المئوية)	طفرة 185delAG (M1)	طفرة 5382insC (M2)	طفرة 6174delT (M3)	مجموع تكرار الطفرات
الأولى	≤ 40	(50%)25	(6%) 3 (12%)	(2%)1 (4%)	(8%) 4* (16%)	(16%)8 (32 %)
الثانية	41 – 60	(40%) 20	(8%)4* (20%)	(8%) 4* (20%)	(4%) 2 (10%)	(20%)10 (50 %)
الثالثة	≥ 61	(10%) 5	(2%) 1 (20%) **	(2%) 1 (20%) * *	(0%) 0 (0%)	(4%)2 (40%)
	المجموع	50 100%	8 16%	6 12%	6 12%	20 100%

* :وجود أهمية معنوية للنسب المئوية لتكرار الطفرات من اصل حجم العينة الكلي (50 مريضة)
.**: وجود أهمية معنوية للنسب المئوية لتكرار الطفرات من اصل حجم العينة لكل فئة عمرية .

Al-Kufa University Journal for Biology
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
العدد الخاص بالمؤتمر العلمي الدولي الثاني لعلوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة / 2016



صورة (2) ترحيل ناتجPCR (70v ، 90 min) للنوع المطفر والبري ل 5382insC في اكسون 20 لجين BRCA1 ملاحظة:(L: معلم الدنا، الحزم المطفرة 1,2,3,4, في الموقع 295 bp)

ولم توضح نتائج تقنية PCR وجود إي من المريضات الحاملة لطفرتين على الجين نفسه أو لطفرتين في جينين مختلفين في آن واحد.

أجريت الكثير من الدراسات لإيجاد النسب المئوية لمساهمة كل من هذه الطفرات على إحداث الإصابة في شعوب مختلفة ، وقد تباينت النتائج بشكل كبير، إذ أوضح Vehmanen وجماعته (2001) أن نسبة تكرار طفرات BRCA1 تمثل خطورة عالية في العوائل الفنلندية وتمثل حوالي 13 %. وبين الباحث Liede و جماعته (2000) أن نسبة تكرار حدوث الطفرات في BRCA1 هي 13.5% وترتفع هذه النسبة قليلا في دراسة أجراها الباحث Struewing وجماعته (1997) إذ تشير هذه الدراسة الى ان تكرار حدوث الطفرات في BRCA1 هو 16% مقتربا من الباحث Tobias وجماعته (2000) الذي أوضح تكرار حدوث الطفرات في الجين BRCA1 هو 17% ، وقد أظهرت الدراسات في أعلاه انخفاضا عما وجد في الدراسة الحالية.

في حين تظهر دراسات أخرى ارتفاعا واضحا إذا ما قورنت بالدراسة الحالية فقد وجد الباحث Moslehi وجماعته (2000) في النساء اليهوديات (الاشكيناز) مقارنة مع النساء المسلمات (العراقيات) أن خطر تطوير سرطان الثدي العائد لـ BRCA1 هو 31% في حين ارتفعت هذه النسبة في دراسة عراقية للباحثة Amina وجماعتها (2010) لتصل إلى 48% وطبقاً لدراسة Fouad وجماعته (2011) فأنها ترتفع لتصل إلى 84%.

وتتفق الدراسة الحالية مع نتائج كل من الباحث Moslehi (2000) و Satagopan وجماعته (2001) إذ ظهرت لديهم النسبة المئوية لقابلية التطفير في BRCA1 هي 27.4% و28.6%. على التوالي.

على الرغم من التفسيرات العديدة لأسباب هذه الأورام ومحاولة الحد من حدوثها إلا انه لوحظ أن الإصابة بسرطان الثدي في حالة تزايد مستمرة , فقد وجد أن حوالي 12 مليون حالة جديدة من سرطان الثدي تحدث على مستوى العالم سنويا (Cuzick، 2007؛ Patel وجماعته، 2007)، ويمكن أن يفسر التطفير في BRCA1 2-3 % من نسب الاصابة بسرطانات الثدي، وتشير

الدراسات الحديثة الى دور التاريخ العائلي في إحداث الإصابة بسرطان الثدي، ويذكر الباحثان Couto وHemminki (2007) أن النساء اللاتي لهن تاريخ عائلي وبالذات علاقة من الدرجة الأولى كأن تكون القريبات المصابات أم أو أخت تليها القريبات من الدرجة الثانية كالجدة والعمة، يكن ّمعرضات للإصابة بسرطان الثدي، بنسبة أعلى من النساء اللاتي ليس لهن تاريخ عائلي في المرض.

وتتداخل العوامل البيئية والوراثية في نشوء سرطان الثدي في الأقرباء من الدرجة الأولى بنسبة أعلى مما هو عليه من الدرجة الثانية ويعود ذلك للأسباب الوراثية Herditery causes.

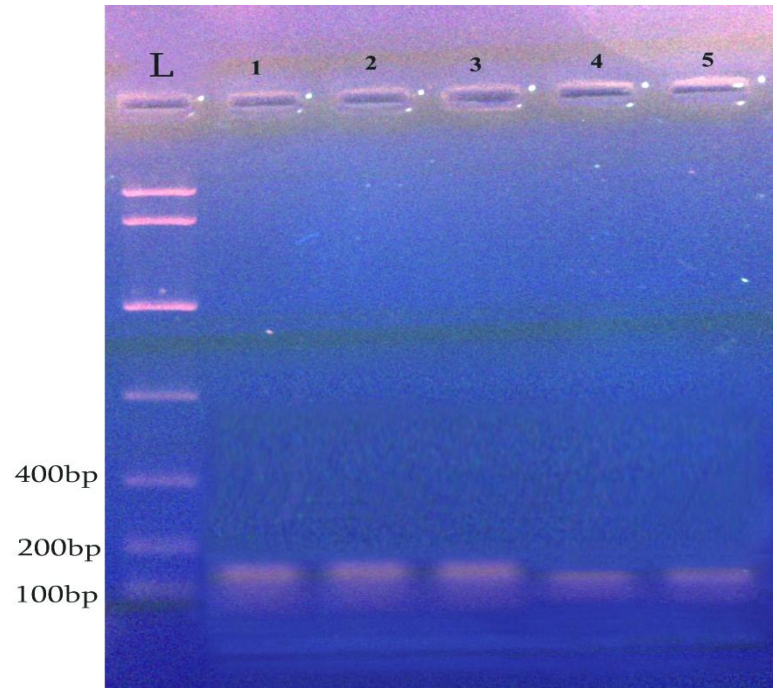
وهناك دراسات تشير إلى أن الطفرات في الجين BRCA1 تشكل 15-20 % من إصابات سرطان الثدي في النساء اللاتي لهن تاريخ عائلي بينما تشكل نسبة 60-80% في النساء اللاتي لهن تاريخ عائلي في الإصابة بسرطاني الثدي و المبيض (Couch وجماعته، 1997؛ Ford وجماعته، 1998)؛ في حين تشكل نسبة الإصابة باليهود الأشكنازي والتي تعزى إصابتهم بسرطان الثدي والمبيض الى BRCA1 ولديهم تاريخ عائلي إلى 41% (Tonin وجماعته، 1996).

وبين باحثون آخرون أن الطفرات في BRCA1 تسبب سرطان الثدي ويحدد خطرها بين 45 % إلى 87% (Thompson وجماعته، 2002) .

تكرار طفرة 6174delT في الجين BRCA2 في النساء المصابات بسرطان الثدي

أظهرت نتائج ترحيل الدنا المضخم بتقنية PCR لعينات أورام الثدي الخبيثة المعدة للكشف عن وجود طفرة 6174delT في اكسون 11من جين BRCA2 وقد وجدت هذه الطفرة في دنا ستة مريضات (صورة 3) في الموقع 171bp في حين أظهرت 44 مريضة الأليل البري في الموقع 150 bp وقد أوضحت نتائج الترحيل أن تكرار حدوث الطفرة 6174delT هو 6 (12%) واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع عدد من الباحثين الذين جاءت دراساتهم مقاربة أو مطابقة للدراسة الحالية فقد ذكر كل من Boyd وجماعته (2000) و Antoniou وجماعته (2002) و Aminaوجماعتها (2010) إلى أن تكرار حدوث الطفرة 6174delT هو 11.1% و 11.5% و 12% و 12.3% على التتالي. وتتباين الدراسات حول نسب تكرار التطفير في هذا الجين فهناك دراسات تشير إلى قيم أعلى مما جاء في الدراسة الحالية والدراسات أنفة الذكر إذ توضح نتائج دراسة أمريكية أن نسبة تكرار حدوث طفرات BRCA2هي23% ويسهم في نشوء سرطان الثدي بنسبة 27%. (King وجماعته، 2003).

Al-Kufa University Journal for Biology
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
العدد الخاص بالمؤتمر العلمي الدولي الثاني لعلوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة / 2016



صورة (3) ترحيل ناتج PCR (70 v ، 90 min) للنوع المطفر والبري لـ 6174delT في اكسون 11 لجين BRCA2 ملاحظة : (L: معلم الدنا ، الحزم المطفرة 3, 2, 1 في الموقع 171bp و الحزم البرية 6 ,5 في الموقع 151 bp)

وفي دراسات اخرى تنخفض نسبة تكرار حدوث طفرات BRCA2 عما جاء في الدراسة الحالية والدراسات الموافقة لها إذ أظهرت نتائج الباحث Sekine (2001) أن النسبة المئوية لقابلية التطفير في BRCA2 هي 3.6% وكانت نسبتها 4% في دراسة الباحث Gayther وجماعته (1999). و4.8% في دراسة الباحث Ligtenberg وجماعته (1999) وارتفعت عن كلا الدراستين في دراسة Tobias وجماعته (2000) إلى 7 % ولكنها لم تصل إلى نسبة تكرارها في الدراسة الحالية.

بينما يبين الباحث Butcher وجماعته (2004) أن اغلب السرطانات تحدث بسبب طفرات وراثية تتضمن الجين BRCA1 وBRCA2 وتمثل خطر عالي لتطوير سرطان الثدي يقدر بحوالي 7% من الحالات.

وفي دراسة للباحث Couch وجماعته (2002) بين فيها أن طفرة 185delAG في BRCA1 و6174delT في BRCA2 هي أكثر الطفرات شيوعاً في سرطان الثدي، و أشير سابقا أن هناك تبايناً كبيراً وواسعاً في نسب مخاطر جينات BRCAs ففي دراسة قدرت أخطار الجين BRCA2 بـ (45 - 60)% لتطوير سرطان الثدي (Antoniou وجماعته، 2003) وحوالي (11-30)% لتطوير سرطان المبيض (Milne وجماعته، 2011). ولا يمكن أن تعزى جميع مخاطر BRCA2 إلى 6174delT إذ وجد Lilian وجماعته (2005) طفرات أخرى في جين BRCA2 مثل طفرة حذف الثايمين – ثايمين وتدعى 6503-6504delTT وطفرة حذف الثايمين 5667 delT وان أكثر الطفرات شيوعا هي 6174delT (Hoeflich -Lee وجماعته، 2008 ؛ Cabarcas وجماعته، 2010).

ويتوضح دور BRCA2 بأنه يشفر لبروتين كابح للورم ويشترك في إصلاح ضرر الكروموسومات ومع أن تركيبه يختلف عن الجين BRCA1 لكن وظائفهما تبدو متشابهة (Cabarcas وجماعته، 2010) ويفسر دور هذه الجينات في إحداث الإصابة بسرطان الثدي أو

غيره من الأورام الخبيثة ذات الصلة، في أن خلايا الأفراد الذين يحملون طفرات جرثومية غير منشطة في هذه الجينات تعتمد على التعبير الجيني للأليل البري Wild-type وان هذه الخلايا لديها تعبير جيني مختلف فهي لا تستطيع إصلاح فواصل الحمض النووي المزدوج مقارنة مع الخلايا التي تحمل اثنين من الاليلات البرية (Bellacosa وجماعته، 2010).

ويبين Tovey وجماعته (2006) و Hollmen وجماعته (2009) أن التغايرات الوراثية ربما تقف وراء الإصابة بسرطان الثدي الوراثي والانفرادي، إذ أن تحول الخلايا الطبيعية إلى خلايا سرطانية يكمن في التغاير الذي يحصل في جين واحد أو كلا الجينين على مستوى الكر وموسوم. وتتمثل هذه التغايرات بالطفرات الجينية المتعددة مثل الحذف Deletions والإدراج Insertion والتضخيم وإعادة الترتيب وإعادة الاتحاد والطفرات النقطية في الجينوم، كما ويتوضح خطر الطفرات في BRCA2 مع خطر تطوير عدد من السرطانات منها سرطان الثدي وسرطان البنكرياس وسرطان البروستات وسرطان المبيض بينما يرتبط الجين BRCA1 مع سرطان الثدي اولا وسرطان المبيض ثانيا (Hoeflich - Lee وجماعته، 2008).

وقد أشار الباحث Vehmanen (2001) إلى أن الناتج الجيني لجين BRCA2 هو بروتين نووي (KD 390) ينتج عن تعبير BRCA2 mRNA ويوجد هذا البروتين بصورة طبيعية في أنسجة عديدة مثل المبيض و نسيج الثدي الطلائي والصعترية والخصى والمشيمة والرئة والطحال اما في حالة الاورام المشتقة من الخلايا الطلائية للمبيض فان BRCA2 mRNA يعاني اقتراناً مختلفاً لينتج بروتيناً مغايراً هو BRCA2a.

وان كل من BRCA2 وBRCA2a يتواجدان بمستويات عالية في الصعترية والخصى وبمستويات معتدلة في الغدة اللبنية والبروستات ويعتقد أن هذين البروتينين يملكان دوراً في التغايرات النسجية (Vehmanen، 2001).

أن تحديد التغايرات الوراثية على الخارطة الجينية البشرية قد تهيا لفهم الاسباب وراء الاصابة بسرطان الثدي على المستوى الجزيئي الدقيق، اذ ان التغيرات الجينية في الجينوم تسمح بتفسير التداخل بين الجينات التي تشترك في استحثاث سرطان الثدي. وقد وضعت تقنية PCR للكشف عن الطفرات وتضخيم الحمض النووي (Naresh وجماعته، 2008 ؛ Mufti وجماعته، 2009).

المصادر

Al-Kuraya, K.; Schraml, P.; Sheikh, S.; and et al., **(2005)**. Predominance of high-grade pathway in breast cancer development of Middle East women. *Mod Pathol*, Vol. 7. P: 891– 7.

Amina, N.; Waleed, H.; Sarah, S., **(2010)**. Detection of BRCA1 and BRCA2 mutation for Breast cancer in sample of Iraqi women above 40 years. vol. 7(1).

Antoniou, A.; Pharaoh, P.; Narod, S., **(2003).** Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet*. Vol. 72(5). P: 1117- 30

Antoniou, A.; Pharoah, P.; McMullan, G.; and et al., **(2002).** A comprehensive model for familial breast cancer

PTEN. *OnLine J. Bio. Sci*. vol. 10. P: 114- 25.

Couch, F.; DeShano, M.; Blackwood, M.; and et al., **(1997)**. BRCAL Mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer. *N Engl J Med*. Vol. 336. P:1049-1415.

Couch, F.; Michelle, L.; Blackwood, M.; and et al., **(2007)**. BRCA1 Mutations in Women Attending Clinics That Evaluate the Risk of Breast Cancer. *The new England journal of medicine*. Vol. 336. P: 1409- 15.

Couch, F.; Weber, B., **(2002)**. Breast cancer. In: Vogelstein, B.; Kinzler, K. (eds). The Genetic Basis of Human Cancer, 2nd ed. *McGraw-Hill*, New York. P: 549– 81.

Couto, E.; Hemminki, K., **(2007)**. Estimates of heritable and environmental components of familial breast cancer using family history information. *Br J Cancer*. Vol. 96(11). P:1740- 42

Cuzick, J.; Forbes, J.; Sestak, I.; and et al., **(2007)**. Long-term results of tamoxifen prophylaxis for breast cancer-96-month follow-incorporating BRCA1, BRCA2 and other genes. *Br J Cancer*.vol. 86(1). P: 76-83.

Ausubel, F.; Brent, R.; Kingston, R.; and et al., **(2003)**. Current Protocols in Molecular Biology. *John Wiley & Sons*, *Inc*, P: 47- 55.

Bellacosa, A.; Godwin, A.; Peri, S.; and et al., **(2010)**. Altered gene expression in morphologically normal epithelial cells from heterozygous carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Cancer Prev Res (Phila)*, vol. 3. P: 48- 61.

Boyd, J.; Sonoda, Y.; Federici, M.; and et al., **(2000)**. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA.* vol. 283(17). P: 2260- 65.

Butcher, D.; Mancini- Di Nardo, T.; Archer, D.; and et al., **(2004)**. DNA binding, sites for putative methylation boundaries in the unmethylated region of the BRCA1 promoter, *Int. J. Cancer*, vol. 111. P: 669-78.

Cabarcas, S.; Watabe, L.; Schramm, **(2010)**. Inhibition of U6 snRNA Transcription by

cancer-susceptibility genes*; Am. J. Hum. Genet*. P: 1021– 29.

Hemminki, K.; Granstrm, C.; Czene, K., **(2002).** Attributable risks for familial breast cancer by proband status and morphology: a nationwide epidemiologic study from Sweden . *Int J Cancer* . vol. 100(2). P: 214– 19.

Hollmen, M.; Maatta, L.; Bald, M.; and et al., **(2009)**. Suppression of breast cancer cell growth by a monoclonal antibodytargeting cleavable ErbB4 isoforms. *Oncogene*, vol. 28. P: 1309-1319.

.

King, M.; Marks, J.; Mandell, J.; and et al., **(2003)**. Breast and ovarian cancers risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science*. Vol. 302. P: 574 - 77.

Lahad, E.; Catane, R.; Eisenberg, S.; and et al., **(2007)**. Founder BRCA1 and BRCA2 Mutations in Ashkenazi Jews in Israel: Frequency and Differential Penetrance in Ovarian Cancer and in Breast-Ovarian Cancer Families. up of the randomized IBIS-I trial. J *Natl Cancer Inst*. Vol. 99. P: 272-82.

Diana, A., **(2009)**. Molecular genetic study for the early diagnosis of human breast cancer. Faculty Of Science – Department Of Biology King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia.

Ford, D.; Easton, D.; Stratton, M.; and et al., **(1998)**. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*. Vol. 62. P: 676- 89.

Fouad El- said El- Debaky1, Naglaa Ibrahim Azab*1, Naglaa Fathy Alhusseini1, **(2011).** Sanya khairy Eliwa1 and Hamed Rashsad Musalam2 Breast Cancer Gene 1 (BRCA 1) Mutation in Female Patients with or without Family History in Qalubia Governorate. *Journal of American Science*. Vol. 7(2).

Gayther, S.; Russell, P.; Harrington, P.; and et al., (**1999**). The contribution of germline BRCA1 and BRCA2 mutations to familial ovarian cancer: no evidence for other ovarian

Moslehi, R.; Chu, W.; Karlan, B.; and et al., **(2000)**. BRCA1 and BRCA2 mutation analysis of 208 Ashkenazi Jewish women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet*. Vol. 66(4). P: 1259- 72.

Mufti, M.; Mostari, G.; Deb, K.; and et al., **(2009).** Genetic diversity of red chittagong cattle using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Am. J. Animal Vet. Sci*. vol. 4. P: 1-5.

Naresh, A.; Long, G.; Vidal, W.; and et al., **(2006)**. The ERBB4/HER4 intracellular domain 4ICD is a BH3-only protein promoting apoptosis of breast cancer cells. *Cancer Res*. Vol. 66. P: 6412- 20.

Newman, B.; Austin, M.; Lee, M.; and et al., **(1989)**. Inheritance of human breast cancer: Evidence for Autosomal dominant transmission in high-risk families. *Proc. Nat. Acd. Scp. USA*. Vol. 85. P: 3044- 48.

Pak, C.; Betty, Y.; Hilmi, O.; and et al., (2008). Simple and rapid detection of BRCA1 and BRCA2 mutations by multiplex mutagenic ally separated PCR. Clini. *Am. J. Hum Genet*. Vol. 60(5). P: 1059-1067.

Lee- Hoeflich, S.; Crocker, E.; Yao, T.; and et al., **(2008)**. A central role for HER3 in HER2-amplified breast cancer: implications for targeted therapy. *Cancer Res*. Vol. 68. P: 5878-5887.

Ligtenberg, M.; Hogervorst, F.; Willems, H.; and et al., **(1999)**. Characteristics of small breast and/or ovarian cancer families with germline mutations in BRCA1 and BRCA2. *Br J Cancer*. Vol. 79. P: 1475-78.

Lilian, J.; Sandra, A.; Eudocia, S.; and et al., **(2005).** BRCA1 and BRCA2 mutations in a South American population. Institute of Biomedical Sciences, School of Medicine, University of Chile, Av *Independencia*. (10) 27.

Milne, R.; and A., **(2011)**. Antoniou, Genetic modifiers of cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO. *22 Suppl*. P: i11- 7.

analysis of BRCA1 and BRCA2 and clinicopathologic analysis of ovarian cancer in 82 ovarian cancer families: two common founder mutations of BRCA1 in Japanese population". *Clinical Cancer Research*. Vol. **7**(10). P: 3144– 50.

Struewing, J.; Hartge, P.; Wacholder, S., **(199)**. The risk of cancer associated with specific mutations of *BRCA1* and *BRCA2* among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med*. Vol. 336. P: 1401- 8.

Thompson, D.; Easton, D., **(2002).** Variation in BRCA1 cancer risks by mutation position. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1. Vol. 1. P: 329- 36.

Tobias, D.; Eng, C.; McCurdy, L.; and et al., **(2000)**. Founder BRCA 1 and 2 mutations among a consecutive series of Ashkenazi Jewish ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol*. Vol. 78. P: 148- 51.

Tonin, P.; Weber, B.; Offit, K.; and et al., **(1996)**. Frequency of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jewish breast cancer families. *Nat Med*. 2(11). P: 1179 -83.

Chemi. Vol. 45. P : 1285- 87.

Pandis, N.; Jin, Y.; Limon, J.; and et al., **(1993)**. Intersittial deletion of the short Arm of Chromosome 3 as a primary chromosome, abnormality in carcinoma the breast genes, *Chromosome 8 cancer.* vol. 6. P: 151- 55.

Patel, R.; Sharma, C.; Jordan, V., **(2007)**. Optimizing the anti hormonal treatment and prevention of breast cancer. *Breast Cancer*, vol. 14. P: 113- 22.

Rodger, C.; Hill, S.; Halten, M., **(1984)**. Cytogenetic analysis in human breast carcinoma. In nine cases in the diploid range investigated using direct preparation. *Cancer Genetic Cytogenetic.* Vol. 13. P: 95- 115.

Satagopan, J.; Offit, K.; Foulkes, W.; and et al., **(2001)**. Thelifetime risks of breast cancer in Ashkenazi Jewish carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. vol. 10 (5). P: 467- 73.

Sekine, M.; Nagata, H.; Tsuji, S., **(2001).** Japanese Familial Ovarian Cancer Study Group. "Mutational

Tovey, S.; Dunne, C.; Witton, T.; and et al., **(2006).** HER4 in breast cancer: comparison of antibodies against intra- and extracellular domains of HER4. *Breast Cancer Res*. Vol. 8. P: 1- 8.

Vehmanen, P., **(2001).** Breast Cancer-Predisposing Genes In finnish Breast And Ovarian Cancer Families Thesis , Finnish Cancer Institute, University of Helsinki, helsinki , Finland.