بررسی ارتباط مولکولی جهش حذف bp5395 ژن CHEK2 و ابتلا به سرطان پستان

منیژه جلیلوند[۱]، رضا نجفی پور[۳]، محمد شکاری[۱*]، مانا علومی[۲*]، صفرعلی علی زاده[۳]، عبدل عظیم نجاتی زاده[۱]

۱ - گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
۲ -گروه بیولوژی مولکولی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۳- گروه بیوشیمی و ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان زنان و دومین علت رایج مرگ ناشی از سرطان در خانم‌ها می‌باشد. فاکتورهای ژنتیکی نقش مهمی در بروز سرطان پستان دارند. از جمله این فاکتورهای ژنتیکی، ژن CHEK2 (checkpoint kinase 2) می‌باشد که به عنوان یک ژن سرکوبگر تومور نقش مهمی در ترمیم DNA آسیب دیده دارد. جهش در ژن CHEK2 سبب از دست رفتن این ویژگی می¬شود. یکی از جهش‌های ژن CHEK2، جهش حذف bp5395 است که در تعدادی از جمعیت‌های دنیا با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان ارتباط دارد. در این مطالعه ارتباط بین جهش حذف bp5395 ژن CHEK2 و ریسک ابتلا به سرطان پستان در جمعیت زنان مورد مطالعه ایرانی بررسی شد.

روش بررسی: پس از بررسی و استخراج اطلاعات پاتولوژیکی بیماران بخش جراحی بیمارستان میلاد تهران ۳۸ زن مبتلا به سرطان پستان زیر ۴۵ سال و ۶۲ زن مبتلا به سرطان پستان بالای ۴۵ سال به همراه ۱۰۰ نفر گروه سالم دارای شرایط سنی مشابه وارد مطالعه شدند. پس ازاخذ فرم رضایت نامه و گرفتن ۵ سی سی خون کامل حاوی ضد انعقاد EDTA و استخراج DNA، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، جهش حذف bp5395 ژن CHEK2 با روش Multiplex PCR مورد بررسی و ارتباط آن با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در بیماران در مقایسه با گروه سالم مورد ارزیابی قرارگرفت.

یافته ها: جهش حذف bp5395 ژن CHEK2 در هیچ‌کدام از گروه بیماران خانم مبتلا به سرطان پستان و افراد شاهد در جمعیت مورد مطالعه در این تحقیق مشاهده نگردید.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر آشکار ساخت که ارتباط معناداری بین افزایش استعداد ابتلا به سرطان پستان و حامل بودن جهش بزرگ اگزون ۹ و ۱۰ ژن CHEK2 در جمعیت مورد مطالعه وجود نداشت.

کلمات کلیدی: سرطان پستان، CHEK2، جهش حذف bp5395 ژن

نویسنده مسئول:

آدرس:

ایمیل:

مقدمه

سرطان پستان رایج‌ترین سرطان در خانم‌ها است. بر اساس آمارهای سازمان جهانی بهداشت، از هر ۸ تا ۱۰ زن یک نفر دچار سرطان پستان می‌شود (۱). آمارها نشان می‌دهند که در ایران از هر ۱۰ تا ۱۵ زن احتمال ابتلای یک نفر به سرطان پستان وجود دارد و ضمناً سن بروز سرطان پستان در زنان ایران دست کم یک دهه کمتر از کشورهای توسعه یافته می‌باشد (۱). مطالعات قبلی در مورد سرطان پستان، میانگین سنی افراد مبتلا به سرطان پستان در ایران را ۴۸ سال در مقابل ۵۵ سال در کشورهای دیگر گزارش داده‌اند (۲).

از نظر علت، سرطان پستان یک بیماری به شدت ناهمگن است که در اثر تاثیر متقابل عوامل محیطی و وراثتی ایجاد می‌شود (۱). در زمان بلوغ تحت اثر هورمون‌های استروژنی و بدنبال تکثیر اپی‌تلیوم پستان و ایجاد لوبول‌های پستان به صورت کلونال، چنانچه قبل از توسعه لوبول‌ها ، یک سلول پیش ساز لوبولار جهش مستعد کننده سرطان را کسب کند، همه سلول‌های لوبول کامل این جهش را کسب خواهند کرد که منجر به افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان می شود (۳). مطالعات محققین نشان می دهند که این بیماری در خویشاوندان درجه یک فرد شاخص (Proband) فراوانی بیشتری دارد که این موضوع نقش فاکتورهای ژنتیکی در بروز این سرطان را نشان می دهد (۳). اکثر موارد سرطان پستان به صورت تک گیر دیده می‌شود، ولی بعضی موارد در اثر جهش ژنهای بازدارنده تومور رخ می‌دهند که نقش اغلب آنها حفظ درستی و تمامیت ژنوم است (۱). این ژن‌ها مشتمل بر ATM[1]، TP53، CHEK2، NBS1(Nibrin)، $BRAC_1$، $BRAC_2$ هستند که در شماری از سرطان‌های پستان میزان بالایی از ناپایداری ژنومی (Genomic Instability) را نشان می‌دهند (۱, ۳-۴). ناپایداری DNA به علت تغییر در مسیرهای مولکولی تنظیم کننده تکثیر سلولی، تمایز، آپوپتوز و ترمیم DNA اتفاق می‌افتد (۱). در عمل ژن‌های بازدارنده تومور معمولا در سیگنالینگ سلولی که چرخه سلولی را کنترل می‌کند، مشارکت دارند یا در پاسخ به آسیب DNA از جمله شکست دو رشته ای DNA، در عمل ترمیم آن دارای نقش هستند (۵).

ترمیم شکست‌های DNA دو رشته ای بوسیله نوترکیبی همساخت بدون خطا (Homologous Recombination)، با استفاده از شبکه‌ای از پروتئین‌های دخیل در نشانگان‌های سرطان پستان رخ می‌دهد. این مسئله نشان می‌دهد که نقص در ترمیم شکست‌های DNA دو رشته ای می تواند با استعداد ژنتیکی ابتلا به سرطان پستان مرتبط باشد (۱). تاریخچه خانوادگی سرطان پستان با سن شروع زود هنگام غیر معمول در ارتباط است که علاوه بر سرطان پستان با سرطان تخمدان، تومورهای دوجانبه فراوان وگاهی سرطان پستان در مردان همراهی نشان می دهد (۵).

ژن CHEK2 به عنوان یکی از ژن‌های سرکوبگر تومور نقش مهمی در ترمیم DNA و حفظ پایداری کروموزوم دارد (۴).

این ژن به طول ۵۰ کیلو باز دارای ۱۴ اگزون بر روی کروموزوم ۲۲ در ناحیه 22q12.1 قرار دارد (۴). ژن CHEK2، پروتئین هسته ای سرین/ ترئونین کیناز با نام CHEK2 (OMIM -604373) به طول ۵۴۶ آمینو اسید را کد می‌کند. فعال شدن این پروتئین در پاسخ به آسیب DNA مانع از ورود سلول به میتوز و بروز سرطان خواهد شد (۶-۸).

در پاسخ به آسیب DNA دو رشته‌ای یا آسیب‌های رونویسی، پروتئین کیناز ۳۰۵۶ رزیدویی ATM، با تغییر در ساختار کروماتین فعال می شود. زمانی که ATM فعال شد، سوبستراهای متعددی از جمله پروتئین های P53، NBS1(Nibrin)، CHEK2 و BRCA1 را فسفریله و فعال می کند. CHEK2 یک کیناز میانجی است و وقتی که توسط ATM فسفریله و فعال شد، با انتقال پیام ATM سبب فسفریله و فعال شدن تعداد زیادی از سوبستراهای بالا دست خود شامل تومور ساپرسورP53، پروتئین‌های خانواده CDC25 و سرین ۹۸۸ ژن BRCA1، می شود. این سوبستراها که در چرخه سلولی دخیل هستند و کیفیت ترمیم آسیب DNA را افزایش می‌دهند، سبب افزایش یکپارچگی وتمامیت ژنوم می‌شوند. بنابراین جهش در ژن CHEK2 سبب از دست رفتن این ویژگی و آسیب به DNA می‌گردد (۴-۵, ۹-۱۰).

جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 یکی از جهش‌های این ژن می‌باشد که سبب اختلال در عملکرد پروتئین CHEK2 می‌شود. این اختلال در عملکرد پروتئین، افزایش ریسک ابتلا به سرطان‌های مختلف از جمله سرطان پستان خانوادگی را در بعضی از جوامع سبب می‌شود . مطالعات مختلفی در سراسر جهان به بررسی ارتباط بین جهش ژن CHEK2 و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان پرداخته است اما در خیلی از قومیت‌ها و جمعیت‌ها نیاز به این نوع مطالعات هنوز وجود دارد (۱۱-۱۲).

بر اساس جستجوهای صورت گرفته به نظر می‌رسد تاکنون در جعیت زنان ایرانی هیچ مطالعه‌ای در خصوص جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان انجام نشده است. لذا مطالعه حاضر به منظور بررسی این موضوع در جمعیت زنان ایرانی طراحی و اجرا شده است.

روش بررسی:

در این مطالعه مورد - شاهدی ۱۰۰ بیمار خانم مبتلا به سرطان پستان بخش جراحی بیمارستان میلاد تهران که اطلاعات پاتولوژیکی مورد نظر شامل درجه توموری، مرحله توموری، سن و نتایج هیستوپاتولوژی از پرونده بالینی آنها استخراج و ثبت گردیده بود، به همراه ۱۰۰ نفر گروه کنترل سالم دارای شرایط سنی مشابه که عدم وجود تومور پستان در تمام آنها با روش ماموگرافی تائید شده بود، وارد مطالعه شدند.

معیار انتخاب این تعداد نمونه بر اساس مطالعات مشابه صورت گرفته پیشین بود (۱۱-۱۲). اطلاعات پاتولوژیکی کامل بیماران مورد مطالعه توسط پاتولوژیست به تائید

رسیده بود. نمونه های بیماران در محدوده زمانی تیرماه سال ۱۳۹۰ لغایت تیرماه ۱۳۹۲ به مدت دو سال جمع آوری شدند.

ابتدا از بیماران و افراد شاهد پس از دریافت رضایت نامه، ۵ سی‌سی خون کامل محیطی در لوله خلاء حاوی K2- EDTA گرفته شد. DNA نمونه خون‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA (Qiagen; USA) جداسازی شد. DNA استخراج شده نمونه‌ها تا زمان استفاده دمای ۸۰- نگهداری گردیدند. واکنش Multiplex- PCR با استفاده از پرایمر های اختصاصی استفاده شده در مطالعه پیشین انجام شد .

در افراد نرمال پرایمرهای جفت اول با تکثیر قطعه هدف در اینترون ۸، قطعه ۳۷۹bp و پرایمرهای جفت دوم با تکثیر قطعه هدف در اینترون ۱۰، قطعه ۵۲۲bp را تکثیر می‌کنند. در افراد بیمار حامل این جهش، پرایمر پیشرو (Forward) اینترون ۸ با پرایمر پسرو (Reverse) اینترون ۱۰ ایجاد محصول ۴۵۰bp می‌نماید (جدول شماره ۱).

هر واکنش Multiplex- PCR شامل ۵ پیکو مول از هر یک از پرایمرها، ۱/۵ واحد از آنزیم Taq پلیمراز، ۸ میکرومولار دزاکسی نوکلئوتید تری فسفات(dNTP)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (10X)، ۳۰ میکرومولارکلرید منیزیم (MgCl2)، ۲۰-۵۰ نانوگرم DNA بود که با ddH2O به حجم نهایی ۲۵µl می‌رسید. شرایط واکنش Multiplex- PCR در جدول شماره ۲ آمده است.

پس از انجام واکنش Multiplex-PCR، محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد ورنگ ژل رد (Gel Red; UK) الکترفورز گردید. در ژل الکتروفورز محصول PCR با اندازه های ۳۷۹، ۵۲۲ و ۴۵۰ بازی ردیابی می‌شدند. نتایج بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS 17.0 و 3.5.4 Epi- Info و تست آماری کای اسکوئر و آزمون فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و P-values کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان نتایج معنی دار منظور شدند.

یافته ها

تعداد ۱۰۰ بیمار خانم با تشخیص سرطان پستان که مارکرهای ER، PR، Ki67، و HER2 در آنها اندازه گیری شده بود وارد مطالعه شدند. میانگین سنی بیماران ۱۰/۶۴±۴۸/۰۶ بود. ۵۸ نفر از خانم های بیمار و ۳۲ نفر از خانم های شاهد دارای سابقه خانوادگی سرطان پستان بودند. ۴ نفر از خانم های بیمار و ۵ نفر از خانم های شاهد مورد مطالعه مجرد بودند. ۹۶ درصد بیماران واجد توموری با تشخیص کارسینومای مجرایی تهاجمی که ۷۳ درصد داکتال کارسینوما و ۲۳ درصد داکتال کارسینومای NOS بودند و ۴ درصد واجد توموری با تشخیص کارسینومای لپکی تهاجمی بودند. نتایج بررسی هیستوپاتولوژیکی انواع کارسینوم در بیماران خانم زیر ۴۵ سال و بالای ۴۵ سال معنی دار نبود (جدول۳).

جدول شماره۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در بررسی جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2

Primer Location	Sequence	Exon on request	Detected fragments	Results
Intron8	Forward:5'-TGTAATGAGCTGAGATTGTGC-3'	Exon9	379bp	Negative
Intron8	Reverse:5'-CAGAAATGAGACAGGAAGTT-3'	Exon9		
Intron10	Forward:5'-CTCTGTTGTGTACAAGTGAC-3'	Exon10	522bp	Negative
Intron10	Reverse:5'-GTCTCAAACTTGGCTGCG-3'	Exon10		
Intron8	Forward:5'-TGTAATGAGCTGAGATTGTGC-3'	Exon9	450bp	Positive
Intron10	Reverse:5'-GTCTCAAACTTGGCTGCG-3'	Exon10		

جدول شماره ۲: شرایط دمایی واکنش Multiplex PCR برای بررسی حذف 5,395 bp ژن CHEK2

مرحله	°C	مدت	تعداد چرخه
۱	۹۴	۱۰ دقیقه	۱
۲	۹۴	۲۵ ثانیه	۲۹
	۵۸	۴۰ ثانیه	
	۷۲	۴۵ ثانیه	
۳	۷۲	۵ دقیقه	۱

نتایج بررسی درجه (Grade) و مرحله (Stage) نمونه های پاتولوژیک بیماران خانم زیر ۴۵ سال و بالای ۴۵ سال به ترتیب در نمودار های شماره ۱ و ۲ قید شده اند. مرحله توموری IIA شایعترین مرحله در میان تومورها بود (جدول۳). اختلاف بین دو گروه نیز معنی دار نیست. همچنین نتایج بررسی درجه و مرحله نمونه های پاتولوژیک بیماران خانم زیر ۴۵ سال و بالای ۴۵ سال به ترتیب در نمودار های شماره ۱ و ۲ قید شده اند. مرحله توموری IIA شایعترین مرحله در میان تومورها بود (جدول۳). اختلاف بین دو گروه نیز معنی دار نیست.

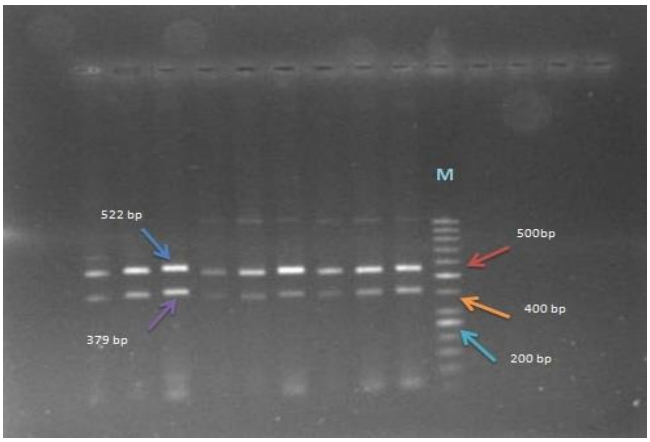
همچنین نتایج استخراج شده بررسی بیومارکرهای بیماران خانم مبتلا به سرطان پستان در جدول شماره ۳ ذکر گردیده است. بیومارکر ER در گروه زیر ۴۵ سال ۱۹ مورد (۵۰ درصد) مثبت بود و در گروه بالای ۴۵ سال ۳۴ مورد (۵۴ درصد) مثبت بود (جدول۳)، که اختلاف بین دو گروه معنی دار نیست. بروز PR نیز در گروه زیر ۴۵ سال ۱۵ مورد (۳۹ درصد) و در گروه بالای ۴۵ سال ۳۱ مورد (۵۰ درصد) بود (جدول۳)، که اختلاف بین دو گروه معنی دار نیست. در مورد ki-67 نیز در گروه زیر ۴۵ سال ۲۶ مورد (۶۸ درصد) مثبت و در گروه بالای ۴۵ سال ۵۰ مورد (۸۰ درصد) مثبت بود (جدول۳) که اختلاف معنی دار نبود.

جدول ۳-یافته های کلینیکوپاتولوژیک در ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان

	سرطان پستان قبل از ۴۵ سالگی			سرطان پستان بعد از ۴۵ سالگی		
	تعداد	درصد	P value	تعداد	درصد	P value
هیستولوژی سرطان پستان						
داکتال کارسینوم	۳۴	۸۹/۴	۰/۵۶	۳۹	۶۲/۹	۰/۶۳
داکتال NOS کارسینوم	۳	۷/۸	۰/۱۳	۲۰	/۳ ۳۲	۰/۶۰
لوبولار کارسینوم	۱	۲/۶	۰/۵۸	۳	۴/۸	۰/۵۴
درجه بدخیمی (grade)						
I	۲	۵/۳	۰/۵۳	۲	۳/۲	۰/۵۸
II	۱۱	۲۸/۹	۰/۶۵	۱۱	۱۷/۷	۰/۷۳
III	۲۵	/۸ ۶۵	۰/۸۰	۴۹	/۳ ۷۹	۰/۸۸
مرحله بدخیمی(stage)						
Ia	۶	۱۵/۷	۰/۸۷	۹	۱۴/۶	۰/۸۷
Ib	۰	۰	۰	۲	۳/۲	۰/۵۰
IIa	۱۷	۴۴/۷	۰/۸۷	۳۳	/۲ ۵۳	۰/۹۳
IIb	۹	۲۳/۶	۰/۳۰	۴	۶/۵	۰/۳۵
IIIa	۳	۷/۸	۰/۴۴	۸	۱۲/۹	۰/۹۳
IIIb	۱	۲/۶	۰/۶۹	۲	۳/۲	۰/۶۳
IIIc	۲	۵/۲	۰/۵۳	۲	۳/۲	۰/۵۸
IVa	۰	۰	۰	۲	۳/۲	۰/۵۰
بروز گیرنده استروژنی(ER)						
+	۱۹	۵۰	۰/۹۸	۳۴	۵۴	۰/۹۹
-	۱۹	۵۰	۰/۹۸	۲۸	۴۶	۰/۹۹
بروز گیرنده پروژسترونی (PR)						
+	۱۵	۳۹	۰/۷۹	۳۱	۵۰	۰/۸۷
-	۲۳	۶۱	۰/۸۳	۳۱	۵۰	۰/۸۸
بروزKi67						
+	۲۶	۶۸	۰/۹۲	۱۱	۱۷	۰/۹۷
-	۱۲	۳۲	۰/۹۸	۵۱	۸۳	۰/۹۷
بروز Her2/neu						
+	۵	۱۳	۰/۸۳		۵۰	۰/۹۰
-	۳۳	۸۷	۰/۶۳		۱۲	۰/۷۱

در مورد Her2/neu نیز در گروه زیر ۴۵ سال ۳۳ مورد (۸۷ درصد) منفی و ۵ مورد مثبت (۱۳درصد) بودند. در گروه بالای ۴۵ سال ۵۱ مورد (۸۳ درصد) منفی و ۱۱ مورد (۱۷درصد) مثبت بودند (جدول۳)، که اختلاف بین دو گروه معنی دار نبود.

پس از انجام Multiplex-PCR برای کلیه نمونه‌های بیمار و شاهد و الکتروفورز محصول PCR، کلیه نمونه‌ها دارای باندهای ۳۷۹bp و۵۲۲bp بودند و محصول PCR دارای باند ۴۵۰bp در هیچ‌کدام از نمونه‌های بیمار و شاهد مشاهده نشد (شکل شماره۱).



شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR نرمال ۳۷۹bp و ۵۲۲bp ایجاد شده به وسیله پرایمرهای اختصاصی CHEK2 M: DNA Ladder ۱۰۰bp

بحث و نتیجه گیری:

در تمام دنیا سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان زنان است (۱۳-۱۴). در حدود ۲۳ درصد از موارد مرگ و میر ناشی از سرطان، به دلیل سرطان پستان است (۱۵). سالانه ۳۵۰۰۰ مورد مرگ بر اثر سرطان پستان در دنیا اتفاق می‌افتد. سرطان پستان با شیوع بیش از ۱ میلیون مورد

جدید در سال، حدود ۲۳ درصد از کل موارد جدید ابتلا به سرطان را شامل می‌شود (۱۴, ۱۶). برطبق مستندات انجمن سرطان آمریکا، از سال ۱۹۹۰ به بعد، مرگ حاصل از سرطان پستان رو به کاهش است و این امر به دلیل تشخیص سریعتر و درمان بهتر می‌باشد. هم‌چنین ۸/۶ درصد از تمام کل موارد سرطان در زنان ومردان و ۱۹ درصد از تمام موارد سرطان در زنان سرطان پستان می‌باشد (۱۵-۱۶). میانگین سن تشخیص سرطان پستان در کشورهای غربی ۵۶ سال و در ایران ۴۵ سال است. مطالعات نشان دادند که میزان بروز سرطان در ایران در حدود ۵۱۰۰۰ مورد در سال است. در مجموع میزان بروز سرطان پستان در ایران پایین تر از اروپا و ایالات متحده برآورد شده است (۱-۳, ۱۶).

جهش در ژن CHEK2 در تعدادی از قومیت‌ها و جمعیت‌ها، با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط بوده است (۴, ۸-۹, ۱۷-۱۹) یکی از جهشهای ژن CHEK2، جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 است که در تعدادی از جمعیت های دنیا سبب افزایش ریسک ابتلا به سرطان سینه می گردد (۱۷, ۲۰). در این مطالعه جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 در هیچ‌کدام از دو گروه بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد شاهد یافت نشد. یافته های این مطالعه، اولین گزارش از بررسی ارتباط بین جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 و ریسک افزایش ابتلا به سرطان پستان در ایران می‌باشد و شایان ذکر است که مطالعه مشابهی نیز در کشورهای مجاور ایران نیز که دارای تشابه ملیتی و قومیتی هستند، هم تا کنون انجام نشده است.

در مطالعات مشابه انجام گرفته توسط محققین در سایر کشورها با تعداد نمونه های بیشتر، ارتباط بین جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 و ریسک افزایش ابتلا به سرطان پستان تائید شده است (۱۷, ۲۱). شاید وجود این ارتباط در آن جوامع و عدم وجود آن در جمعیت مورد مطالعه ما به علت تفاوت در قومیت ها باشد یا شاید به علت حجم بیشتر نمونه های مورد مطالعه آنها باشد.

نتایج مطالعات مشابه محققین در دنیا نیز با هم متفاوت می باشد مثلاً در مطالعه‌ای، جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 در دو خانواده آمریکایی با ملیت چک و اسلواکی یافت شد، اما در دیگر قومیت‌های آمریکایی این جهش یافت نشد (۲۱) و یا درمطالعه دیگری بیان شده است که جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 در بیماران مبتلا به سرطان پستان درجمهوری چک و کشور لهستان نیز یافت می شود (۱۷). همچنین مطالعه ای که در جمهوری چک بر روی افراد مبتلا به سرطان پانکراتیت انجام شد، هیچ ارتباطی را بین جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 و افزایش ریسک ابتلا به این سرطان نشان نداد (۲۲). در تحقیق صورت گرفته در کشور لهستان در سال ۲۰۰۷ بر روی زنان مبتلا به سرطان پستان غیر خانوادگی و خانوادگی زودرس و زنان مبتلا به سرطان پستان بالای ۵۰ سال انجام شد، بین افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان و حامل بودن جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 ارتباط مشاهده شد. اما در

این تحقیق ارتباطی بین سابقه ابتلا به سرطان پستان خانوادگی یا سرطان پستان تک گیر با افزایش استعداد ابتلا به سرطان پستان و حامل بودن جهش حذف بزرگ اگزون ۹ و ۱۰ ژن CHEK2 مشاهده نشد، همچنین ارتباطی بین جهش حذف ژن CHEK2 و سرطان پستان زودرس یافت نگردید (۱۷). البته در بررسی Myszka و همکاران که در سال ۲۰۱۱ انجام شد، آنها نیز ارتباطی بین جهش حذف ژن CHEK2 و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در زنان جنوب غربی لهستان پیدا نکردند که نمایانگر متفاوت بودن این جهش در قومیت‌های گوناگون می‌باشد (۲۳).

با توجه به بررسی مطالعات گذشته، در ارزیابی اطلاعات پاتولوژیکی و زیست شناسی مولکولی بیماران مبتلا به سرطان پستان، تومورهای مرتبط با جهش BRCA1 ویژگی‌های تهاجمی شامل بروز زودرس، درجه بالای تومور، گیرنده استروژن (ER) وگیرنده پروژسترون (PR) منفی و سرعت تکثیر بالا نشان می‌دهند (۲۴-۲۵). همچنین در مطالعات پیشین بین مرحله بالا و درجه پایین و سایز تومور و بروز سرطان پستان در سنین پایین ارتباط مشاهده شده است (۲۶-۲۷). در بحث بیومارکرها هم بروز HER2/neu و ki-67 در بیماران مبتلا، ارتباطی با بروز سرطان پستان زودرس ندارد اما گیرنده های استروژن و پروژسترون مثبت با بروز سرطان پستان در سنین بالا مرتبط نشان داده شده اند (۲۶-۲۹).

با بررسی عوامل پاتولوژیک چنین استنباط می‌گردد که ویژگی‌های تهاجمی، شامل بروز زودرس، درجه و مرحله بالای تومور، محتوای وابستگی هورمونی سرطان پستان همانند گیرنده استروژن (ER) وگیرنده پروژسترون(PR) منفی و سرعت تکثیر بالای تومورها قبل و بعد از سن باروری، ارتباطی با افزایش استعداد ابتلا به سرطان پستان در حاملین جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 در خانم های مبتلا به سرطان پستان ایرانی ندارد. همچنین در بررسی نتایج پاتولوژیکی بیماران این مطالعه بین عوامل درجه هیستولوژیک پایین و مرحله توموری بالا با بروز سرطان پستان در سنین پایین ارتباطی مشاهده نشد.

با توجه به عدم وجود اختلاف معنادار در مشخصات پاتولوژیکی و سن بیماران در جمعیت مورد مطالعه ایران، به نوعی شاید بتوان گفت بین عوامل هیستوپاتولوژیک مبتلایان سرطان پستان در هر یک از این دو گروه سنی زیر۴۵ سال و بالای ۴۵ سال و حامل بودن جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 ارتباطی وجود ندارد و این حذف بزرگ به عنوان عامل مستعد کننده افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در هیچکدام از دو گروه مورد مطالعه یافت نشد.

از محدودیت‌های این مطالعه تعداد پایین نمونه های مورد مطالعه بود که امکان دارد افزایش تعداد نمونه‌های مورد مطالعه، احتمال یافتن جهش حذف بزرگ اگزون ۹ و ۱۰ ژن CHEK2 را به عنوان فاکتور افزایش دهنده ریسک ابتلا به سرطان سینه بالا ببرد. همچنین می‌توان به این مورد اشاره داشت که احتمال دارد بررسی افراد بیشتر مبتلا به سرطان پستان زودرس احتمال یافتن ارتباط بین این جهش و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان را افزایش دهد.

از محدودیت‌های دیگر مطالعه حاضر فراوانی کمتر بیماران مبتلا به سرطان پستان دو طرفه (۱۰ از ۱۰۰) است که امکان دارد با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان به دلیل این حذف ژنی مرتبط باشد. در مطالعات مورد بررسی نیز این مورد یافت نشده است (۳۰-۳۱). اگرچه این ارتباط در مورد سایر جهش‌های ژن CHEK2 همانند جهش 1100delC مشاهده شده است (۳۲). اما جهش حذف ۵۳۹۵bp با این افزایش ریسک مرتبط نمی‌باشد. بنابراین ما قادر به تائید ارتباط بین جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان دوطرفه در جمعیت مورد مطالعه نیستیم. اگرچه ممکن است افزایش تعداد نمونه‌های مورد مطالعه، احتمال یافتن جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 را به عنوان فاکتور افزایش دهنده ریسک ابتلا به سرطان سینه بالا ببرد اما شاید این جهش در بعضی از قومیت‌های ایرانی اساساً وجود نداشته باشد. با این وجود انجام مطالعه مشابه با تعداد نمونه بیشتر می‌تواند مفید و گامی در جهت تشخیص سریع‌تر بیماران مبتلا به سرطان پستان به دلیل جهش حذف ۵۳۹۵bp ژن CHEK2 باشد.

با توجه به نقش پررنگ ژن CHEK2 در تسهیل روند سرکوب تومورزایی سلول‌های پستان از طریق ترمیم DNA آسیب دیده و احتمال نقش پیش‌بینی کنندگی در سوق دادن سلول‌ها به سمت توموری شدن و یا وخیم تر شدن شرایط سلول تومور، بررسی سایر جهش‌های ژن CHEK2 پیشنهاد می‌گردد . احتمال ارتباط بین سایر جهش‌های ژن CHEK2 و ریسک افزایش ابتلا به سرطان پستان مطرح می‌باشد.

تشکر و قدردانی:

از همه مسئولین ذیربط و کلیه افرادی که ما را در انجام این طرح یاری کرده و نیز بیماران محترم شرکت کننده در این طرح قدردانی و سپاسگزاری به عمل می آید.

References:

1. Noori DM, Tabarestani S. Paper: Molecular Genetics, Diagnosis And Treatment Of Breast Cancer: Review Article.

2. Davarnia B, Mehdipour P, Atri M, al e. The Association between BRAC1 expression and Breast Cancer tumor genesis. Journal of Ardabil university of medicine Scienes. 2012;12(2):132-9.

3. Keshavarzi F, Javadi G, Nafisi N, al e. Identification of BRCA1 and BRCA2 mutations in a number of Iranian patients with early onest breast cancer or a breast cancer family history. Breast disease Journal. 2009;2(2):15-24.

4. Nevanlinna H, Bartek J. The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility. Oncogene 2006;25:5912-9.

5. Strachan T, Read A. Human molecular genetics. BIOS Scientific. Oxford; 1996.

6. Moore KL, Dalley AF, Agur AM. Clinically oriented anatomy: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

7. Liu C, Wang Y, Wang Q-S, Wang Y-J. The CHEK2 I157T variant and breast cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis. Asian Pac J cancer prev. 2012;13(4):1355-60.

8. Consortium TCBCC-C. CHEK2 1100delC and Susceptibility to Breast Cancer:ACollaborative Analysis Involving 10,860 Breast Cancer Cases and 9,065 Controls from 10 studies. AmJHumGenet. 2004;74:1175-82.

9. Desrichard A, Bidet Y, Uhrhammer N, Bignon Y-J. CHEK2 contribution to hereditary breast cancer in non-BRCA families. Breast Cancer Res. 2011;13(6):R119.

10. Chen L, Nievera CJ, Lee AY-L, Wu X. Cell cycle-dependent complex formation of BRCA1· CtIP· MRN is important for DNA double-strand break repair. Journal of Biological Chemistry. 2008;283(12):7713-20.

11. ElAmrani A, Moumad K, Attaleb M, Benhassou M, Försti A, Ennaji MM, et al. Absence of CHEK2 1100delC, R145W and I157T Mutations in Breast Cancer in a Moroccan Population. Journal of Cancer Research and Treatment. 2014;2(1):6-9.

12. Iniesta MD, Gorin MA, Chien L-C, Thomas SM, Milliron KJ, Douglas JA, et al. Absence of CHEK2* 1100delC mutation in families with hereditary breast cancer in North America. Cancer genetics and cytogenetics. 2010;202(2):136-40.

13. Parkin DM. International variation. Oncogene. 2004;23(38):6329-40.

14. Stewart S, King J, Thompson T, Friedman C, Wingo P. A cancer mortality surveillance United States, 1990-2000. MMWRSurveill Summer. 2004;53(SS03):101-8.

15. Habibi A. Epidemiological aspects of cancer in Iran. Int Surg. 1985;70(2):105-8.

16. Sajadi A, Nouraie M, Mohagheghi M, Mousavi-Jarrahi A, Malekezadeh R, Parkin D. Cancer occurrence in Iran in 2002,an international perspective. Asian Pac J Cancer Prev. 2005;6(3):359-63.

17. Cybulski C, Wokołorczyk D, Huzarski T, Byrski T, Gronwald J, Górski B, et al. A deletion in CHEK2 of 5,395 bp predisposes to breast cancer in Poland. Breast cancer research and treatment. 2007;102(1):119-22.

18. Cybulski C, Górski B, Huzarski T, Byrski T, Gronwald J, Dębniak T, et al. CHEK2-positive

breast cancers in young Polish women. Clinical cancer research. 2006;12(16):4832-5.

19. Steven A, Henry T. CHEK2 Mutation and Hereditary Breast Cancer. Journal of Clinical Oncology. 2007;25:6-7.

20. Bąk A, Janiszewska H, Junkiert-Czarnecka A, Heise M, Pilarska-Deltow M, Laskowski R, et al. A risk of breast cancer in women-carriers of constitutional CHEK2 gene mutations, originating from the North-Central Poland. Hereditary cancer in clinical practice. 2014;12(1):10.

21. Wlash T, Casadei S, Coats K, al e. Spectrum of Mutations in BRCA1 , BRCA2 , CHEK2 , and TP53 in families at high risk of breast cancer. JAMA. 2006;295:1379-88.

22. Mohelnikova-Duchonova B, Havranek O, Hlavata I, Foretova L, Kleibl Z, Pohlreich P, et al. CHEK2 gene alterations in the forkhead-associated domain, 1100delC and del5395 do not modify the risk of sporadic pancreatic cancer. Cancer epidemiology. 2010;34(5):656-8.

23. Myszka A, Karpinski P, Slezak R, Czemarmazowicz H, Stembalska A, Gil J, et al. Irrelevance of CHEK2 variants to diagnosis of breast/ovarian cancer predisposition in Polish cohort. Journal of applied genetics. 2011;52(2):185-91.

24. Oldenburg R, Meijers-Heijboer H, Cornelisse C, Devilee P. Genetic susceptibility for breast cancer: how many more genes to be found? Critical reviews in oncology/hematology. 2007;63(2):125-49.

25. Chappuis PO, Nethercot V, Foulkes WD, editors. Clinico–pathological characteristics of BRCA1-and BRCA2-related breast cancer. Seminars in surgical oncology; 2000: Wiley Online Library.

26. Sidoni A, Cavalier A, Bellezza G, Scheibel M, Bucciarelli E. Breast cancer in young women: clinicopathological features and biological specificity. Breast cancer research and treatment. 2003;12(4):247-50.

27. Hung H, Neven P, Drijkoningen M, Paridaens R, Wildiers H, Limbergen V, et al. Hormone receptors do not predict the Her2/neu status in all age groups of women with an operable breast cancer. Annals of oncology. 2005;16:1755-61.

28. Zheng W, Zhen J, Ma L, Meng F, Huang L, Ma D. Comparison of Her-2/neu, Er and PCNA expression in premenopausal and postmenopausal patients with breast carcinoma. APMIS. 2005;113(3):175-81.

29. Kadivar M, Rezaee M, Jadidfard R, Joulaee A. Evaluation of Histopathology and Biologic Markers in Premenopausal (under 40 years) and Postmenopausal (over 60 years) Women with Breast Cancer in Hazrat-e-Rasoul and Atieh Hospitals. Iran universtiy of Medical Sciences. 2010;72(17):49-57