

دراسة وراثية جزيئية للتشخيص المبكر لسرطان الثدي البشري

ديانا علي حمود القويحي

المستخلص

يعتبر سرطان الثدي من أكثر السرطانات انتشاراً بين النساء في العالم، ولقد نما الاهتمام في هذه الآونة باستخدام الدلالات الجزيئية لمرضى سرطان الثدي للمساعدة في التنبؤ المبكر بالإصابة. فطبقاً لمعظم الدراسات الحديثة فإن هنالك هناك علاقة ايجابية مطردة بين زيادة تكرار الطفرات في جينات **BRCA1** و **BRCA2** ونسبة حدوث سرطان الثدي. ونهدف في هذه الدراسة إلى الربط بين أي تغيير يحصل لأي قاعدة ضمن أكسون رقم 10 و 11 في جين **BRCA1** و أكسون رقم 10 و 11 في جين **BRCA2** (الذان يمثلان معظم المنطقة المعرضة للطفرات)، بالعوامل المسببة للأمراض في مجموعه من المرضى المصابين بسرطان الثدي في المنطقة الغربية بالمملكة العربية السعودية. كما وتم في هذه الدراسة تحليل القطاعات النسيجية لسرطان الثدي باستخدام تقنية الصبغ المناعي للكيمياء النسيجية لتقدير نواتج الجينات (البروتينات) الخاصة بجين **BRCA1** وجين **Her2/neu** لتأكيد النتائج ومقارنتها مع نتائج التقنيات الأخرى في هذه الدراسة. لقد تم استخلاص الحمض النووي من 60 عينة نسيجية لمرضى سرطان الثدي ذو نشأة متعددة، تتراوح أعمارهن بين 30-72 سنة، و 20 عينة دم لمرضى سرطان الثدي يوجد في عائلتهن تلويخ مرضى بالإصابة بسرطان الثدي، و تتراوح أعمارهن بين 30-62 سنة وذلك من حالات سرطانية متقدمة في أنابيب الثدي.

أظهرت النتائج بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل للحمض النووي، وتقنية إثبات التغيرات في الخيط المفرد للحمض النووي في عينات السرطان ذات المنشأ المتعددة أن عدد حزم الحمض النووي التي أظهرت حيود بلغت 60/18 (30%)، بينما أظهرت تقنية التسلسل المتعاقب للاكسونات لنفس العينات طفرات لتسع مريضات 60/9 (15%) أظهرن 11 نوع مختلف من الطفرات، 4 طفرات ضمن أكسون رقم 11 في جين **BRCA1** (36.3%)، 4 طفرات ضمن أكسون رقم 10 في جين **BRCA2** (36.3%) و 3 طفرات ضمن أكسون رقم 11 في جين **BRCA2** (27.28%). أما عينات السرطان ذات المنشأ الوراثي فقد أظهرت النتائج بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل للحمض النووي، وتقنية إثبات التغيرات في الخيط المفرد للحمض النووي أن عدد حزم الحمض النووي التي أظهرت حيود بلغت 20/10 (50%) بينما أظهرت تقنية التسلسل المتعاقب للاكسونات لنفس العينات طفرات لسبع مريضات 20/7 (35%)، وكانت هذه الطفرات 4 طفرات ضمن أكسون رقم 11 في جين **BRCA1** (57.1%)، 2 طفرات ضمن أكسون رقم 10 في جين **BRCA2** (28.6%) و طفرة واحدة ضمن أكسون رقم 11 في جين (14.3%) **BRCA2**. كما أظهرت النتائج انه لم تظهر أي طفرات في أكسون رقم 10 في الجين **BRCA1** في أي من السرطان ذات المنشأ المتعددة و المنشأ الوراثي. وقد اتضح أن الصبغ المناعي بالكيمياء النسيجية لتعبير الجين **Her2/neu** أفضل من تعبير الجين **BRCA1** لمتابعة حالة المرضى في حال عدم توفر التقنيات الجينية العالية. ولقد لخصت الدراسة الى أنه يتعين على الإناث في عمر 30 سنة فما فوق الاهتمام بمراقبة سرطان الثدي والكشف الدوري المنتظم حيث أن النوع الذي تم إكتشافه في المملكة العربية السعودية م يختلف عن المكتشف في الدول الأخرى من حيث الخطورة.

Abstract

Breast cancer is the most frequent cancer in women world wide. A growing interest in the use of molecular markers in order to assess prognosis of breast cancer is taking place. According to most recent studies, there is a positive relationship between increased frequency of mutations in BRCA1 and BRCA2 genes and the causes of breast cancer.

The current work aims to correlate any nucleotide change observed within exons (10 & 11) in BRCA1 and BRCA2 genes (that represent most areas of mutations in the two genes) with causative etiological factors ,for a chosen group of breast cancer patients respectively, from the Western region of Saudi Arabia. And immunohistochemistry analysis was performed as a confirmatory test for the over expression of HER-2 neu and BRCA1 proteins.

The DNA was extracted from the 60 paraffin-embedded tissues and the 20 blood samples of sporadic and familial (family history) breast invasive ductal carcinoma (BIDC). The sporadic breast cancer patient's age ranged between 30-72 years. And the familial breast cancer patients aged between 30-62 years. Polymerase chain reaction (PCR) was performed. Single stranded conformation polymorphisms (SSCPs) assay showed band shift for 18/60 (30%) of the sporadic tumor samples, but mutations detected by DNA sequencing in 11nucleotides only, representing 9/60 (15%). There were 4/11 (36.36 %) in BRCA1 exon 11, 4/11 (36.36) in BRCA2 exon 10 and 3/11(27.28 %) in BRCA2 exon 11. While in the 20 familial breast cancer patients, band shifts were identified in 10/20 (50%), but mutations detected in 7 nucleotide in 7/20 (35%) tumor samples, 7 mutations, 4 in BRCA1 exon 11 (57.1%), 2 in BRCA2 exon 10 (28.6 %), 1 in BRCA2 exon 11(14.3%).

No mutations were detected in BRCA1 and exon 10 for the sporadic and the familial breast cancer. It was demonstrated that in sporadic breast cancer patients, immunohistochemistry of breast cancer patients for HER-2/neu expression was much better than BRCA1 expression, for patient follow-up, in the absence of high and sensitive technologies. The conclusion of this study showed that ,all females from age 30 and more should watch breast cancer by doing monthly self-breast examination because the type of breast cancer discovered in the KSA is more aggressive from other countries.