



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت دریافت درجه دکترای حرفه ای در رشته پزشکی

عنوان :

بررسی رونوشت های متغیر ژن BRCA1 در تومورهای پستان

استاد راهنما :

دکتر سید سعید حسینی اصل

استاد مشاور :

دکتر محمد مآذنی

نگارش :

نقیسه فغانی

بهار 1389



فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده	1
فصل اول : طرح تحقیق	2
1-1- مقدمه	3
1-2- بیان مسئله	4
1-3- تعریف واژه ها	5
1-4- اهداف	6
1-4-1- هدف کلی	6
1-4-2- اهداف اختصاصی	6
1-4-3- هدف کاربردی	6
1-4-4- اهداف فرعی	6
1-5- فرضیات	6
فصل دوم : بررسی متون	7
2-1- مبانی نظری	8
2-1-1- ملاحظات ژنتیکی	8
2-1-2- اپیدمیولوژی	10
2-1-3- مورفولوژی	11
2-1-4- تشخیص	14
2-1-5- درمان	21
2-1-6- پیگیری	26
2-2- مطالعات جهان	28

29 مطالعات ایران 2-3
31 فصل سوم : مواد و روش ها
32 3-1 نوع مطالعه
32 3-2 جامعه آماری ، حجم نمونه
32 3-3 روش گردآوری اطلاعات
32 3-3-1 مواد لازم
36 3-3-2 وسایل
37 3-3-3 دستگاه های مورد استفاده
38 3-3-4 روش کار
42 3-3-5 ملاحظات اخلاقی
42 3-3-6 روش تجزیه و تحلیل داده ها
43 فصل چهارم : نتایج
44 ارائه نتایج
61 فصل پنجم : بحث و نتیجه گیری
62 5-1 بحث و نتیجه گیری
64 5-2 محدودیت ها
64 5-3 پیشنهادات
65 منابع
67 چکیده انگلیسی

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول 1-2- ویژگی های LCIS و DCIS.....	12
جدول 2-2- رویکرد به توده قابل لمس پستان	16
جدول 2-3- تکنیک تشخیص سه گانه	17
جدول 2-4- الگوریتم ماموگرافی	18
جدول 2-5- مرحله بندی سرطان پستان	19
جدول 2-6- رژیم های کمکی	24
جدول 2-7- درمان آندوکراین	25
جدول 2-8- اصول پایش بیماران مبتلا به سرطان پستان	27
جدول 1-3- توالی الیگونوکلئوتیدهای مورد استفاده در بررسی های RT-PCR (First)	33
جدول 2-3- توالی الیگونوکلئوتیدهای مورد استفاده در بررسی های RT-PCR	34
(second)	34
جدول 3-3- شرایط دمایی جهت تکثیر E ₂ , E11b.....	34
جدول 3-4- شرایط دمایی جهت تکثیر E14.....	34
جدول 1-4- ارتباط میان درجه تمایز توده با پیرایش E2	54
جدول 2-4- ارتباط میان درجه تمایز توده با پیرایش E11b.....	54
جدول 3-4- ارتباط میان درجه تمایز توده با پیرایش E14.....	54
جدول 4-4- ارتباط میان مرحله بیماری با پیرایش E2.....	55
جدول 5-4- ارتباط میان مرحله بیماری با پیرایش E11b.....	55
جدول 6-4- ارتباط میان مرحله بیماری با پیرایش E14.....	55
جدول 7-4- ارتباط میان درگیری غدد لنفاوی با پیرایش E2.....	56

- جدول 4-8- ارتباط میان درگیری غدد لنفاوی با پیرایش E11b.....56
- جدول 4-9- ارتباط میان درگیری غدد لنفاوی با پیرایش E14.....56
- جدول 4-10- ارتباط میان وضعیت گیرنده پروژسترون و پیرایش E2.....57
- جدول 4-11- ارتباط میان وضعیت گیرنده پروژسترون و پیرایش E11b.....57
- جدول 4-12- ارتباط میان وضعیت گیرنده پروژسترون و پیرایش E14.....57
- جدول 4-13- ارتباط میان وضعیت گیرنده استروژن و پیرایش E2.....58
- جدول 4-14- ارتباط میان وضعیت گیرنده استروژن و پیرایش E11b.....58
- جدول 4-15- ارتباط میان وضعیت گیرنده استروژن و پیرایش E14.....58

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
شکل 1-4- توزیع فراوانی درجه تمایز توده در بیماران مورد مطالعه	46.....
شکل 2-4- توزیع فراوانی مرحله بیماری در بیماران مورد مطالعه	47.....
شکل 3-4- توزیع فراوانی درگیری غدد لنفاوی در بیماران مورد مطالعه	48.....
شکل 4-4- توزیع فراوانی وضعیت گیرنده پروژسترون در بیماران مورد مطالعه	49.....
شکل 5-4- توزیع فراوانی وضعیت گیرنده استروژن در بیماران مورد مطالعه	50.....
شکل 6-4- توزیع فراوانی پیرایش اگزون 2 در بیماران مورد مطالعه	51.....
شکل 7-4- توزیع فراوانی پیرایش اگزون 11b در بیماران مورد مطالعه	52.....
شکل 8-4- توزیع فراوانی پیرایش اگزون 14 در بیماران مورد مطالعه	53.....
شکل 9-4- نمونه های الکتروفورز شده از محصول نهایی Nested RT-PCR اگزون 11 b ژن BRCA1	59.....
شکل 10-4- نمونه های الکتروفورز شده از محصول نهایی Nested RT-PCR اگزون 14 ژن BRCA1	60.....

چکیده :

مقدمه و هدف : سرطان پستان شایعترین سرطان در میان زنان می باشد ، و تقریباً $\frac{1}{3}$ تمام موارد سرطان در زنان را شامل می شود . شواهد زیادی وجود دارد که سرطان پستان نتیجه تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیک متعدد روی انکوژن ها، ژن های سرکوب کننده تومور و ژن های ترمیم کننده DNA است . این مطالعه ، بررسی رونوشت های متغیر ژن BRCA1 به عنوان ژن سرکوب کننده تومور در بیماران مبتلا به سرطان پستان با هدف دستیابی به یک فاکتور پیش آگهی جهت تشخیص زودرس تومور پستان است .

مواد و روش ها : 50 نمونه تومور از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان دی تهران که مبتلا به سرطان پستان بودند، از طریق جراحی تهیه شد و پس از استخراج RNA از تومورهای بیماران و سنتز First strand cDNA ، توسط پرایمرهای طراحی شده ، با روش Nested RT-PCR به تکثیر cDNA پرداخته و پس از انجام الکتروفورز رونوشت های متفاوت از رونوشت با طول کامل تمیز گردید .

نتایج : پس از بررسی رونوشت های متغیر ژن BRCA1 در نمونه تومور افراد مبتلا مشخص گردید که ارتباط معنی دار بین مرحله بیماری و نیز درگیری غدد لنفاوی با وجود حذف قطعه b از اگزون 11 وجود دارد .

در بررسی سایر داده ها هیچگونه ارتباط آماری معنی داری بین سایر داده های پاتولوژیکی شامل گیرنده استروژن و پروژسترون ، درجه تمایز توده و نوع آسیب شناختی با وجود پیرایش ژن BRCA1 وجود نداشت .

نتیجه گیری : با توجه به این آزمایش ، می توان از داده های پیرایش متغیر این ژن در کنار اطلاعات پاتولوژیکی برای تعیین وضعیت بدخیمی تومور و نیز در صورت انجام مطالعات بیشتر ، برای پیش بینی میزان بقای بیماران بهره برداری نمود.

واژه های کلیدی : سرطان پستان ، BRCA1 ، پیرایش متغیر

فصل اول :

طرح تحقیق

مقدمه :

بدخیمی های با منشاء اپتلیال پستان شایعترین علت سرطان زنان (به جز سرطان پوست) است که حدود $\frac{1}{3}$ همه سرطان های زنان را تشکیل می دهد . در سال 2007، از حدود 185510 مورد سرطان مهاجم پستان ، 40910 مرگ در ایالت متحده روی داده است . با بهبود وضعیت درمان و تشخیص زودرس ، مرگ و میر ناشی از سرطان پستان در ایالت متحده به صورت قابل توجهی در حال کاهش است (1) .

در ایران با توجه به مطالعات انجام شده طی دهه های اخیر به نظر می رسد که کشور ما از مناطق با شیوع متوسط بوده و میزان بروز و شیوع این بیماری در حال افزایش است .

در استان اردبیل بر اساس گزارشات کشوری ثبت موارد سرطانی ، بعد از سرطان مری و معده ، سرطان پستان شایعترین سرطان می باشد(2).

ژن BRCA1 و BRCA2 مهمترین ژن های دخیل در سرطان پستان می باشند. جهش در ژن BRCA1 در 50 درصد موارد سرطان پستان فامیلی مشاهده می شود. این رقم در مبتلایان به سرطان پستان ارثی به 85 درصد می رسد . از این رو ژن BRCA1 به عنوان ژن مستعد کننده یا پیش آمادگی سرطان پستان ارثی به حساب می آید (3).

2-1- بیان مسئله :

سرطان پستان شایعترین سرطان در میان زنان می باشد ، که $\frac{1}{3}$ تمام موارد سرطان در زنان را شامل می شود و پس از سرطان ریه دومین عامل مرگ در اثر سرطان در زنان می باشد(1).

شیوع سالانه تخمین زده شده برای سرطان پستان در کل جهان در حدود یک میلیون مورد می باشد که شامل حدود 200000 مورد در آمریکا (27 درصد از کل سرطان ها در زنان) (3 و 4 و 5) و حدود 320000 مورد در اروپا (31 درصد از تمام سرطان ها در زنان) می باشد(6) .

در ایران سرطان پستان $\frac{21}{4}$ درصد از کل موارد گزارش شده سرطان را تشکیل می دهد. میزان بروز سرطان پستان در ایران معادل $\frac{22}{4}$ در هر 100000 زن بر آورد شده است و داده های موجود حکایت از آن دارد که این بیماری در ایران روند افزایشی در پیش گرفته و از سال 1378 به بعد مقاوم اول را بین سرطان های ثبت شده در کشور دارد (8و9).

با بهبود وضعیت درمان و تشخیص زودرس ، مرگ و میر ناشی از سرطان پستان در ایالت متحده به صورت قابل توجهی در حال کاهش است (1).

ژن BRCA1 به عنوان ژن مستعد کننده یا پیشآمادگی سرطان پستان ارثی به حساب می آید . این ژن یک ژن سرکوبگر تومور است که در جایگاه 21 q 17 قرار گرفته و طولی برابر 100 کیلوباز دارد و شامل 22 اگزون کد کننده و 2 اگزون غیر کد کننده (اگزون های 1 و 24) می باشد که عملکرد آن هنوز کاملاً مشخص نیست ولی مقالات مختلف دخالت در ترمیم DNA ، تنظیم چرخه سلولی ، تمایز و تکامل جنین و عامل نسخه بردای را به آن نسبت می دهند(3).

خانمی که ژن جهش یافته BRCA1 دارد با خطر ابتلا به سرطان پستان به میزان 85 درصد در تمام طول عمر مواجه است در حالی که خانمی که فاقد ژن جهش یافته است 11 درصد احتمال خطر ابتلا به سرطان پستان را دارد(10) .