جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة

العلاقة بين الطفرات في جيني BRCA1, BRCA2 وبعض عوامل الخطورة لدى مرضى سرطان الثدي في محافظة كربلاء

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة كجزء من متطلبات نيل
شهادة الماجستير في علوم الحياة/ علم الحيوان من قبل الطالبة

زينب نزار جواد

اشراف

د. زهير محمد علي جدوع

1434 هـ

2012م

Z

وَأَنزَلَ اللَّهُ عَلَيْكَ الْكِتَابَ وَالْحِكْمَةَ وَعَلَّمَكَ مَا لَمْ تَكُنْ تَعْلَمُ وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا۞

صدق اللّٰه العلي العظيم

سورة النساء: الآية **113**

اقرار المشرف على الرسالة

أشهد ان اعداد هذه الرسالة قد جرى تحت اشرافي في كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علم الحيوان.

التوقيع:

الاسم: م. د. زهير محمد علي جدوع

المرتبة العلمية: مدرس

العنوان:جامعة كربلاء

- -

بناء على التوصيات المتوافرة، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

رئيس قسم علوم الحياة

التوقيع:

الاسم: ا.م.د.ستار جاسم الراجحي

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد دكتور

التاريخ:

اقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا اعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالبة: زينب نزار جواد في محتوياتها وفيما له علاقة بها ووجدناها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة/ علم الحيوان وبتقدير (   ).

رئيس اللجنة

التوقيع:

الاسم:

المرتبة العلمية:

العنوان:

التاريخ:

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم:

المرتبة العلمية:

العنوان:

التاريخ:

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم:

المرتبة العلمية:

العنوان:

التاريخ:

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع:

الاسم:

المرتبة العلمية:

العنوان:

التاريخ:

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع:

الاسم:

المرتبة العلمية:

التاريخ:

الإهداء

إلى كل مريض يتمنى من الله الشفاء...

إلى كل من وقف معي وساندني بكلمة أو موقف أو دعاء...

اهدي جهدي المتواضع...

زينـــب

الشكر والتقدير

الحمد لله كما ينبغي لجلال وجهه، وعظيم سلطانه، وله الحمد والشكر على صنعهِ وحسن بلائه، والصلاة والسلام على منارة العلم الإمام المصطفى الأمي الذي علم المتعلمين والمبعوث رحمة للعالمين وعلى أهل بيته مصابيح الدجى والعروة الوثقى، وعلى أصحابه والتابعين له إلى يوم الدين وبعد...

يطيب لي وأنا أنتهي من إعداد رسالتي أن اشكر الله سبحانه وتعالى الذي مَنّ عليَّ، ووفّقني، وهداني، وسدّد خطاي، وسهّل لي أمري، ويسّر لي ما كنت أصبو إليه، وأتقدم بجزيل شكري وبالغ امتناني إلى أستاذي الفاضل الدكتور زهير محمد علي لاقتراحه موضوع البحث، ولجهده المتواصل في المتابعة والإرشاد ولتوجيهاته السديدة طيلة مدة أعداد البحث فجزاه الله أوفر الجزاء، كما أقدم شكري الخالص إلى عميد كلية التربية للعلوم الصرفة الدكتور قيس السماك والى أساتذة ومنتسبي قسم علوم الحياة والى الدكتورة ياسمين خضير لما قدموه لي من عون ومساعدة.

أتقدم بوافر الشكر والتقدير إلى أساتذة ومنتسبي كلية الطب/ جامعة كربلاء وأخص منهم بالذكر الدكتورة آلاء محمد، والدكتورة مي سعد، والدكتور كمال الياسري، والأستاذ حيدر البكري لما أبدوه من تعاون وتذليل للصعوبات طيلة مدة البحث.

كما لايسعني ألاّ أن أقدم شكري الجزيل إلى منتسبي وحدة الكشف المبكر لسرطان الثدي في مستشفى الحسين (ع) التعليمي – العام والى الدكتور محمد صالح ومنتسبي وحدة المناعة جميعهم والى الدكتور علي رحيم الاسدي والدكتور صباح الحسيني وزوجته الدكتورة مها الفتلاوي لمساعدتهم ومساندتهم الأخوية الكبيرة، وأقدم شكري الجزيل لجميع الأخوات اللواتي قبلن بسحب الدم منهن، وأسأل الله أن يمن على الجميع بالصحة والعافية.

وكذلك اشكر كل من ساعد على إتمام هذا البحث وقدم لي العون ومد لي يد المساعدة وزودني بالمعلومات اللازمة لإتمام هذا البحث واخص بالذكر الدكتور إسماعيل حسين عزيز/ معهد الهندسة الوراثية جامعة بغداد، والدكتور حسن حسين/ كلية الصيدلة، والدكتور ثامر الجنابي/ كلية الزراعة، وطالب الدكتوراه نصير مرزه، والأستاذ محي القزويني والأستاذ مصطفى عباس/ كلية التربية للعلوم الإنسانية.

كما وأقدم شكراً خالصاً وامتناناً بالغاً واحتراماً كبيراً إلى عائلتي الكريمة، علماً بأن الكلمات تقف عاجزة عن التعبير، لما تحملته معي من أعباء طيلة هذه الفترة.

زينب

List of contents قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	
	الإهداء...	
	الشكر والتقدير..	
I	الخلاصة...	
IV	قائمة المحتويات..	
VII	قائمة الجداول..	
VIII	قائمة الأشكال..	
IX	قائمة المختصرات..	
	الفصل الأول	
1	**المقدمة وأهداف البحث**	
	الفصل الثاني **استعراض المراجع**	
4	الأورام السرطانية...	1-2
4	تعريف الأورام وأنواعها..	1-1-2
5	نشوء السرطان..	1-1-2
5	دور الجينات في نشوء السرطان...	3-1-2
6	سرطان الثدي...	2-2
7	وبائية سرطان الثدي..	1-2-2
10	أنواع سرطان الثدي...	2-2-2
12	أعراض وعلامات سرطان الثدي..	3-2-2
12	عوامل الخطورة في سرطان الثدي..	4-2-2
18	جينات سرطان الثدي..	2- 2- 5
21	مراحل سرطان الثدي..	6-2-2
22	أمراضية سرطان الثدي..	7-2-2

8-2-2	تشخيص سرطان الثدي..	23
9-2-2	العلاج..	25
10-2-2	الجهاز اللمفاوي ودوره في سرطان الثدي.....................................	27
11-2-2	سرطان الثدي المبكر الحدوث...	27
12-2-2	سرطان الثدي في الذكر..	28
	الفصل الثالث **المواد وطرائق العمل**	
1-3	المواد..	29
1-1-3	الأجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة...	29
2-1-3	المواد الكيميائية..	30
2-3	طرائق العمل..	31
1-2-3	جمع العينات...	31
2-2-3	جمع المعلومات..	31
3-2-3	جمع عينات الدم...	32
4-2-3	اختبار المعلمات الورمية الخاصة بسرطان الثدي...............................	32
1-4-2-3	مكونات اختبار CA 27.29 Test...	32
2-4 -2-3	طريقة عمل اختبار CA 27.29..	32
5-2-3	التوصيف الجزيئي...	33
1-5-2-3	استخلاص الـDNA...	34
2-5-2-3	ترحيل الـDNA على هلام الأكاروز..	35
3 -5 -2 -3	التوصيف الجزيئي للطفرات المدروسة...	36
4-5-2-3	تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل لجيني سرطان الثدي الأول والثاني.................	37
5-5-2-3	تحميل ناتج تفاعل البلمره المتسلسل والترحيل الكهربائي........................	39
6-2-3	التحليل الإحصائي..	39
	الفصل الرابع **النتائج والمناقشة**	
1-4	جمع المعلومات..	40

1-1-4	الحالة الزوجية..	40
2-1-4	الرضاعة...	41
3-1-4	صلة القرابة بين الوالدين..	42
4-1-4	عدد الأطفال...	44
5-1-4	العمر..	45
6-1-4	الوزن..	46
2-4	المعلمات الورمية CA 27.29..	51
1-2-4	تأثير بعض المتغيرات (الحالة الزوجية - حالة الرضاعة - صلة القرابة بين الوالدين) على المعلمات الورمية لدى النساء المصابات بسرطان الثدي والنساء السليمات..	52
2-2-4	تأثير بعض المتغيرات (العمر- الوزن- عدد الأطفال) على المعلمات الورمية في النساء...	56
3-4	التوصيف الجزيئي..	59
1-3-4	استخلاص الـ DNA الكروموسومي..	59
2-3-4	التوصيف الجزيئي للطفرات المدروسة..	59
3-3-4	نتائج الطفرات المدروسة..	62
	الاستنتاجات	66
	التوصيات	67
	المصادر	68

قائمـــــــة الجـــــــداول

الجدول	العـــــــــــنوان	الصفحة
1-2	درجات الأنواع المهمة للسرطان لبعض الدول العربية والاقليمية.............................	8
2-2	المقارنة بين جيني BRCA1,BRCA2..	15
1-3	الأجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة في الدراسة..	29
2-3	المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة...	30
3-3	البادئ المستخدمة في الكشف الجزيئي عن الطفرات المدروسة............................	36
4-3	المواد المستخدمة في تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل..	37
5-3	البرنامج المستخدم للكشف عن الطفرة 185 del AG	38
6-3	البرنامج المستخدم للكشف عن الطفرة 5382 ins C...	38
7-3	البرنامج المستخدم للكشف عن الطفرة 6174 del T	38
1-4	تأثير الحالة الزوجية على نسبة الإصابة بسرطان الثدي لدى النساء..........................	41
2-4	تأثير حالة الرضاعة على نسبة الإصابة بسرطان الثدي في النساء............................	42
3-4	تأثير صلة القرابة بين الوالدين على نسبة الإصابة بسرطان الثدي في النساء..............	43
4-4	تأثير عدد الأطفال على نسبة الإصابة بسرطان الثدي في النساء المتزوجات..............	44
5-4	تأثير العمر على نسبة الإصابة بسرطان الثدي في النساء...	46
6-4	تأثير الوزن على نسبة الإصابة بسرطان الثدي في النساء......................................	47
7-4	معدلات المعلمات الورمية حسب المجاميع المدروسة..	49
8-4	تأثير الحالة الزوجية ، حالة الرضاعة ، صلة القرابة بين الوالدين على المعلمات الورمية لدى النساء...	51
9-4	تأثير الفئات العمرية والفئات الوزنية وعدد الأطفال على المعلمات الورمية للنساء المصابات بسرطان الثدي..	52
10-4	نسب الإصابة بالطفرات المدروسة..	55
11-4	معدلات المعلمات الورمية حسب الطفرات المدروسة..	58

قائمـــــــــة الإشكـــــــــــــال

الشكل	العنوان	الصفحة
شكل (2-1)	التشريح الداخلي للثدي	**7**
شكل (2-2)	أعداد المصابين بسرطان الثدي في العراق..	9
شكل (2-3)	نسب الإصابة بسرطان الثدي في محافظة كربلاء......................................	10
شكل (2-4)	المواقع الكروموسومي لجيني(BRCA1,BRCA2).................................	14
شكل (4-1)	الترحيل الكهربائي لحزم إلـ DNA الكروموسومي على 0.8% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة..	59
شكل (4-2)	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 185 del AG على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف..	
شكل (4-3)	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 185 del AG على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف..	60
شكل (4-4)	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 5382 ins C على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف..	60
شكل (4-5)	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 5382 ins C على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف..	61
شكل (4-6)	الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 6174 del T على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف..	62

قائمـــــــــة المختصــــــرات

Bp	Base pair
BRCA1	**Breast cancer gene 1**
BRCA2	**Breast cancer gene 2**
BRIP1	**BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1**
CA15.3	**Cancer Antigen 15.3**
CA 27-29	**Cancer Antigen 27-29**
CDH1	**cadherin 1, type 1, E-cadherin (epithelial)**
CHEK2	**Cell cycle checkpoint kinase gene**
DCIS	**Ductal carcinoma in-situ**
DNA	**Deoxyribonucleic Acid**
EDTA	**Ethylene diamin tetra acetic acid**
ER	**Estrogen receptor**
ESR1	**Estrogen Receptor Gene**
Her2/neu	**Human epidermal growth factor receptor 2**
HRT	**Hormone replacement therapy**
Kb	**Kilo base pair**
KDa	**Kilodalton**
LCIS	**Lobular carcinoma in situ**
mRNA	**Messenger Ribonucleic Acid**
µl	**Microliter**
PALB2	**partner and localizer of *BRCA2***
PCR	**Polymerase chain reaction**
P	**The short arm of chromosome**
PR	**Progesterone receptor**
Q	**The long arm of chromosome**
SAS	**Statistical analyse system**
STK11	**serine/threonine kinase 11**
TP53	**Tumor suppressor gene**
WHO	**World Health Organization**

الخلاصة

تكمن 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 وعدد من عوامل الخطورة للإصابة بسرطان الثدي.

جمعت عينات الدم من (69) مريضة مصابة بسرطان الثدي من وحده الكشف المبكر في مستشفى الحسين (ع) التعليمي – العام في محافظة كربلاء المقدسة إذ تمت مقارنتها مع (30) امرأة سليمة مظهرياً، تمت دراسة توزيع العينات طبقاً لبعض المتغيرات مثل العمر – الحالة الزوجية – حالة الرضاعة – عدد الأطفال – الوزن– صلة القرابة للوالدين– وجود أمراض سرطانية في العائلة، وذلك لمعرفة تأثير هذه المتغيرات على نسب الإصابة بسرطان الثدي ولكون هذه المتغيرات من عوامل الخطورة للإصابة بسرطان الثدي.

أشارت الدراسة إلى عدم وجود فرق معنوي بين نوعي سرطان الثدي (الشائع والوراثي) وبين المتغيرات(العمر – الحالة الزوجية – حالة الرضاعة – عدد الأطفال– صلة القرابة للوالدين)، حيث أظهرت النتائج فيما يخص الحالة الزوجية إن المتزوجات أعلى نسبة للإصابة بسرطان الثدي الشائع والوراثي وبنسبة (86.2%) و(92.5%) على التوالي، بينما كانت أقل نسبة أصابه في نوعي سرطان الثدي الشائع والوراثي في العازبات وقد بلغت (13.7%) و(7.5%).

وأظهرت نتائج تأثير حالة الرضاعة على نسبة الإصابة بسرطان الثدي، أن المرضعات كن الأقل نسبة أصابه بسرطان الثدي الشائع والوراثي (10.3%) و(22.5%) على التوالي، بينما غير المرضعات هن الأعلى نسبة أصابه بسرطان الثدي الشائع (89.6%) وبسرطان الثدي الوراثي وبنسبة (77.5%).

تبين من نتائج تأثير صلة القرابة للوالدين أن أعلى نسبة إصابة بسرطان الثدي الشائع كانت في النساء اللواتي لايملكن أي قرابة بين الوالدين (51.7%)، واقل نسبة إصابة كانت في النساء اللواتي يملكن صلة القرابة بين الأبوين وبنسبة (48.2%)، بينما كانت أعلى نسبة بسرطان الثدي الوراثي في النساء اللواتي يملكن صلة القرابة بين الأبوين (60%) واقل نسبة إصابة في النساء اللواتي لايملكن أي قرابة بين الوالدين وبنسبة (40%).

أما فيما يتعلق بعدد الأطفال، فقد كانت النساء المنجبات (4-1 أطفال)أعلى نسبة أصابه بسرطان الثدي الشائع والوراثي وبنسب أصابه (36%) و(59.4%) على التوالي، بينما كانت النساء غير المنجبات الأقل نسبة إصابة بسرطان الثدي الشائع والوراثي وبنسب أصابه (12%) و(13.5%)على التوالي.

وقد أشارت النتائج الخاصة بمتغير العمر أن أعلى نسبة للإصابة بسرطان الثدي الشائع والوراثي كانت (27.5%) و(35%) في الفئات العمرية (30−40 سنة) و(اقل من 30 سنة) و(41−50 سنة)، في حين كانت اقل نسبة إصابة في الفئة العمرية (الأكثر من 60 سنة) إذ بلغت(6.8%) في سرطان الثدي الشائع و(7.5%) في حالة سرطان الثدي الوراثي.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية والخاصة بتأثير الوزن على نسب الإصابة بسرطان الثدي إلى وجود علاقة معنوية بين الوزن وبين نوعي سرطان الثدي الشائع والوراثي.

تم اعتماد اختبار المعلمات الورمية CA27.29 للكشف عن سرطان الثدي، إذ أظهرت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود علاقة عالية معنوية ($P\leq 0.01$) بين المعلمات الورمية وبين نوعي سرطان الثدي الشائع والوراثي إذ كان معدل هذه المعلمات أعلى في حالة الإصابة بمرض سرطان الثدي بنوعية (الشائع والوراثي) من مجموعة السيطرة، في حين لم يظهر أي تأثير معنوي ($P\geq 0.05$) للمتغيرات (العمر – الحالة الزوجية – حالة الرضاعة – عدد الأطفال – الوزن– صلة القرابة بين الوالدين) وكذلك الطفرات المدروسة على معدل المعلمات الورمية. لقد أوضحت نتائج الدراسة الحالية بعدم 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 .

تم استخلاص إل DNA من عينات الدم بواسطة عدة استخلاص إل DNA، وتم الكشف عن وجود أو غياب الطفرات في جيني (BRCA1،BRCA2) بواسطة تقنية تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل PCR، إذ 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).

أوضحت الدراسة أن أعلى نسبة إصابة بالطفرات كان في الطفرة (185 del AG) في مجموعة سرطان الثدي الشائع حيث بلغ (27.5%) في حين لم تسجل أي أصابة 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 إذ بلغت (23.19%) بالمقارنة مع (5.8%) للطفرة (5382 ins C) ولم تلاحظ إي إصابة بالطفرة (6174 del T) بين نوعي سرطان الثدي الشائع والوراثي، كما ولم يلاحظ في مجموعة السيطرة أي إصابة بالطفرات الثلاثة المذكورة أنفاً.

الفَصْلُ الأَوَّلُ

المقدمة

Introduction

المقدمة **Introduction**

يعّد السرطان من الأمراض القاتلة ومن التحديات الرئيسية التي تواجه المجتمعات اليوم، ينشأ السرطان عندما تنقسم الخلية بصورة غير منتظمة وخارجة عن نطاق السيطرة، وهذا بدوره يؤدي إلى نمو غير منتظم، إذ ينتج عن هذا النمو كتلة من الأنسجة الفائضة تعرف بالورم (Tumor)، أن ألاورام أما أن تكون أورام حميدة Benign tumor وهي أورام غير خطرة تشبه خلاياها خلايا النسيج ألأصلي الذي تكونت منه، تمتاز بتموضعها في موقع نشوئها ألاصلي وعدم انبثاثها إلى مناطق أخرى. أوتكون أمراض سرطانية خبيثة Malignant tumor وهي أورام خطرة تمتاز بانتشارها إلى ألأنسجة وألاعضاء ألأخرى من الجسم، إذ تمتاز ألأورام الخبيثة بنوعين من ألانتشار فأما أن تغزو الأنسجة والأعضاء المجاورة، أو يمكن لبعض الخلايا ضمن الورم أن تنفصل وتنتشر بعيداً إلى أجزاء أخرى من الجسم إذ يسمى انتشار الخلايا من منطقة في الجسم إلى أخرى بالانبثاث Metastasis (Isabelle وجماعة ،2008).

يُعطى السرطان أسم الجزء الذي بدأ منه وعلى هذا الأساس يُعرف سرطان الثدي بأنهُ عدم انتظام نمو وتكاثر وانتشار الخلايا الموجودة في أنسجة الثدي. يكون سرطان الثدي شائعاً بين النساء ويعد أحد الأسباب الرئيسية للموت، حيث يشكل نسبة (23%) من مجموع حالات السرطان و(4%) من بين السرطانات المميتة (Jemal وجماعة،2010 و WHO ،2011). إن الاسباب الحقيقية لحدوث سرطان الثدي غير معروفة بشكل واضح وهي لا تنتج من مسبب واحد بل هي ناتجة من تضافر عدة عوامل Multifactoral disease وهذه العوامل تؤدي الي زيادة احتمال الاصابة بمرض سرطان الثدي ومن أمثلتها العمر، الطمث المبكر، انقطاع الطمث المتأخر والتدخين (Anders ،2009)، 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 (Pruitt وجماعته، 2009 وGray،2009 وJohnوجماعته،2005)، فضلاً عن ذلك تشير الاحصائيات إلى أن نسبة (5- 10%) من كل حالات سرطان الثدي لها مسببات وراثية وتحديداً تشوهات في عمل الجينات الطبيعية مثل جيني سرطان الثدي الأول والثاني (BRCA2،BRCA1) علماً أن هذه الجينات موجودة في الرجال والنساء سواسية، ولذا يمكن وراثتها عن طريق الأم أو الأب(Andersوجماعته،2009 وStrattonوجماعته،2009 وShannon و Smith،2003) ولذلك لا يقتصر حدوث سرطان الثدي على النساء وكما هو معتقد وإنما يمكن أن يحدث في الرجال أيضاً وبنسبة تقدر بأقل من (1%) (PantوDutta،2008). تنشأ غالبية حالات سرطان الثدي من الطبقة الداخلية للخلايا الطلائية التجويفية في النسيج القنوي ولكنه ينشأ أيضاً من النسيج الفصيصي، إذ يكون سرطان الثدي على نوعين أما سرطان ثدي منتشر (Invasive Breast Cancer) أو غير منتشر

Introduction

(Noninvasive Breast Cancer) وأن حوالي (90- 95%) من كل حالات سرطان الثدي تكون أما قنوية (Ductal) أو مفصصة (Lobular) (Tavassoliو Devilee، 2003 و Svenska، 2011)، يعد سرطان الثدي من بين أبرز ألإمراض المؤدية إلى الوفاة بين الإناث (WHO،2011)، إذ يتم تشخيص أكثر من (1 مليون) إصابة بسرطان الثدي في جميع أنحاء العالم كل سنة وحوالي ثلث هذا العدد يموتون من هذا المرض. تختلف معدلات الإصابة بسرطان الثدي باختلاف دول العالم إذ سجلت الولايات المتحدة الأمريكية وبريطانيا معدلات إصابة عالية بهذا المرض، أما في أفريقيا فكانت نسبة الإصابة بهذا المرض منخفضة، وفي أسيا كانت نسب الإصابة بمرض سرطان الثدي عالية حيث سُجلت زيادة وبنسبة (3%) (Ferlayوجماعته، 2010 وParkin، 2004 وParkin وجماعته،2005). قسم العلماء سرطان الثدي إلى نوعين وهما سرطان الثدي الشائع (Sporadic Breast Cancer): وهو سرطان غير وراثي ويمثل اغلب حالات سرطان الثدي (Clemons وGoss، 2001)، وسرطان الثدي الوراثي (Hereditary Breast Cancer): يمثل نسبة (5- 10%) من كل حالات سرطان الثدي، يحصل هذا النوع من السرطان بسب الطفرات في الجينات الأكثر شيوعاً مثل جيني (BRCA1, BRCA2) حيث يشخص في أقارب الدرجة الأولى والثانية المتوارثين للمرض، ويبدأ مبكراً ويزداد مع تقدم العمر ويكون مصاحب لسرطانات عدّة (Narodو Foulkes،2004)، ويعد سرطان الثدي العائلي (Family BreastCancer) جزء من سرطان الثدي الوراثي إذ يشخص هذا النوع ضمن أفراد العائلة الواحدة المصابين بسرطان الثدي ويمثل نسبة (15%) من كل حالات سرطان الثدي (Verhoog وجماعتة ،2000).

الهدف من الدراسة:

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

1- دراسة تأثير بعض العوامل على نسب الإصابة بسرطان الثدي مثل الحالة الزوجية، عدد الأطفال، الوزن ، حالة الرضاعة، العمر ، صلة القرابة للوالدين، وجود أمراض سرطانية في العائلة .
2- 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 .
3- مقارنة نتائج الفحوصات الجزيئية بنتائج الفحص المختبري لمعلمات الأورام ودورهما في الكشف المبكر.

الفَصْلُ الثَّانِي

استعراض المراجع

استعراض المراجع Literature Review

2-1 الأورام السرطانية

2-1-1 تعريف الأورام وأنواعها

يعرف الورم (Tumor) بصورة عامة على انه نمو نسيجي غير طبيعي للخلية، ليس للجسم القدرة على التحكم به والسيطرة عليه، إذ ينشأ نتيجة لتعرض تلك الخلية إلى بعض المؤثرات والتغيرات مما يجعلها تختلف عن الخلية الطبيعية التي تنشأ منها، كما أنها لا تعود إلى أصلها بعد زوال المسبب وتأثيره (Kumar وجماعته،2003)

تقسم الأورام إلى نوعين، منها ما هو حميد (Benign tumor) والتي تمتاز بأنها ذات نمو بطيء قد يستغرق سنوات وهي عادة تشبه النسيج الأصلي الذي نشأت منه وتكون محددة في منطقة معينة ولا تتمكن من غزو الأنسجة المجاورة في الجسم فضلًا عن أنها لا تشكل خطراً في بعض الأنواع على حياة الشخص المصاب بها، إنّ أورام الثدي الحميد تقسم إلى قسمين أورام ليفية كيسية Fibrocystic breast tumor وأورام غدية ليفية Fibroadenoma of breast tumor، إذ يظهر النوع الأول في النساء بين عمر (40- 50 سنة) وهو من الأمراض الكيسية المزمنة ومن أعراضه الم الثدي Breast pain (Rosai، 2004 و Santenو Mansel، 2005)، أما النوع الثاني فيشكل نسبة (25%) من أمراض الثدي الحميدة في النساء ويحدث في عمر (15- 35 سنة) ويحدث هذا الورم خلال الحمل وخلال الرضاعة (Elwakeel و Umpleby،2003)، أما النوع الأخر فهي الأورام الخبيثة (Malignant tumor) أو ما يطلق عليها بالسرطان (Cancer) هذا النوع من الأورام هو اشد خطورة على حياة المريض المصاب بها، لأنها سريعة النمو إذ لا تحتاج سوى أسابيع أو أشهر قليلة لتنمو وتكّون كتلة ورمية خبيثة، وهي لا تشبه الخلية الأصل شكلاً ولا وظيفة ولها القدرة على الانتشار الواسع (الانبثاث Metastasis) إلى باقي أنسجة الجسم

إنّ الأورام السرطانية تحتل المرتبة الثانية من بين مسببات الموت في العالم بعد أمراض القلب والأوعية الدموية. (Kenemans وجماعته،2004 و Bourgaize وجماعته ،2000)

تصنف الأورام السرطانية بحسب نوع النسيج الذي تنشأ منه إلى:

1- سرطانات الأنسجة الطلائية Epithelial tissue carcinomas

وهي الأكثر شيوعا مثل سرطان الجلد والقولون والثدي والبروستات والرئة.

2- سرطان النسيج الدموي واللمفاوي Leukemia and Lymphomas

يأتي بعد النوع الأول من حيث الانتشار، فابيضاض الدم Leukemia ينشأ في نخاع العظم (Bone marrow) ويكون بشكل خلايا مفردة Single cells، أما سرطان العقد اللمفاوية (Lymphoma) فيكون بشكل كتلة صلبة (Tumor mass).

3- سرطانات الأنسجة الضامة Connective tissue Sarcomas

وهي الأقل شيوعاً مثل سرطان العظم والعضلات والنسيج الدهني والغضاريف (Kumar وجماعته،2003 و Leopold وجماعته،2003).

2-1-2 نشوء السرطان

اهتم العلماء والباحثون بدراسة السرطان منذ اكتشافه والى يومنا هذا وبجوانبه كافة لما يشكله من خطر كبير على حياة الإنسان إذ يعد ثاني أهم مسببات الموت في العالم، أن عملية تكوين السرطان (Carcinogenesis) تتضمن خطوات عدّة منها فقدان الكشف عن ضرر الـ DNA وهذا يقود إلى تكاثر خلوي غير مسيطر عليه، كما أن الخلايا الورمية تكتسب تغيرات وراثية إذ تكون هذه التغيرات مفيدة في النمو باللاضافة إلى التحفيز على تكوين الأوعية الدموية (Angiogenesis)، وعدم الاستجابة إلى الإشارات المثبطة للنمو والقابلية على غزو الأنسجة والانتشار Metastasis (Hanahan و Weinberg، 2000)

إنّ نشوء السرطان يكون في الأصل من خلية واحدة طبيعية عن طريق تعرضها إلى عوامل يطلق عليها المسرطنات Carcinogens (kreeger و Lauffenburger، 2010) التي قد تكون فيزيائية أو كيميائية أو بايولوجية(Nevidjon و Sowers،2000)، وإنّ هذه المؤثرات تعمل على جينات تلك الخلية مولدة الطفرات (Mutation)، يحتاج نشوء الورم السرطاني إلى تراكم تلك الطفرات التي تصيب الجينات الأساسية المسيطرة على نمو الخلية، إذ أن فهم عمل هذه الجينات يمثل المفتاح لفهم السُبل الرئيسية المؤدية إلى نشوء السرطان. (Kufe وجماعته،2003).

3-1-2 دور الجينات في نشوء السرطان

يلعب نوعان من الجينات دورا رئيسيا في تنظيم وتنسيق دورة الخلية Cell cycle وهو ذلك التسلسل المعقد من الأحداث التي تؤدي إلى كبر حجم الخلية وانقسامها، والجينات المسؤولة عن هذا النمو

هي الجينات الورمية الأولية (Proto-oncogenes) والجينات الكابتة للأورام (Tumor suppressor genes) والتي تكون مسؤولة عن تنظيم تثبيط نمو الخلية (Turnerوجماعته،2000).

إنّ الجينات المسرعة والكابتة للأورام تلعب دورين رئيسين الأول هو في تنظيم دورة حياة الخلية الطبيعية ومنع ضرر الـ DNA مثل جين P53 والثاني هو استثارة التسرطن فهما المسؤولان معا عن معظم عمليات التكاثر الخلوي غير المنتظم في سرطانات الإنسان (Hanahan وWeinberg،2000)، فعندما تتعرض الجينات الورمية الأولية إلى أحد المطفرات فأنها قد تصبح جينات مسرطنة Oncogenes (Zhang وجماعته،2003) وبالتالي تعمل هذه الجينات الأخيرة على تكاثر غير مسيطر عليه للخلية عن طريق قيام الجين الطافر بالتشفير إلى أنتاج كمية كبيرة من البروتين المحفز للنمو (Growth Stimulatory Protein) (Turnerوجماعته،2000)

أما الجينات الكابتة للأورام فأنها تساهم في نشوء السرطان وذلك عندما تصبح هذه الجينات طافرة، أن الطفرات في الجينات البادئة للورم (Oncogenes) تؤدي إلى حدوث تغيرات في الجينات الكابتة للأورام وبالتالي سوف تفقد وظيفتها. وهذه التغيرات تؤدي إلى بقاء الخلية وحدوث طفرات أضافية (Blagosklonny،2005)

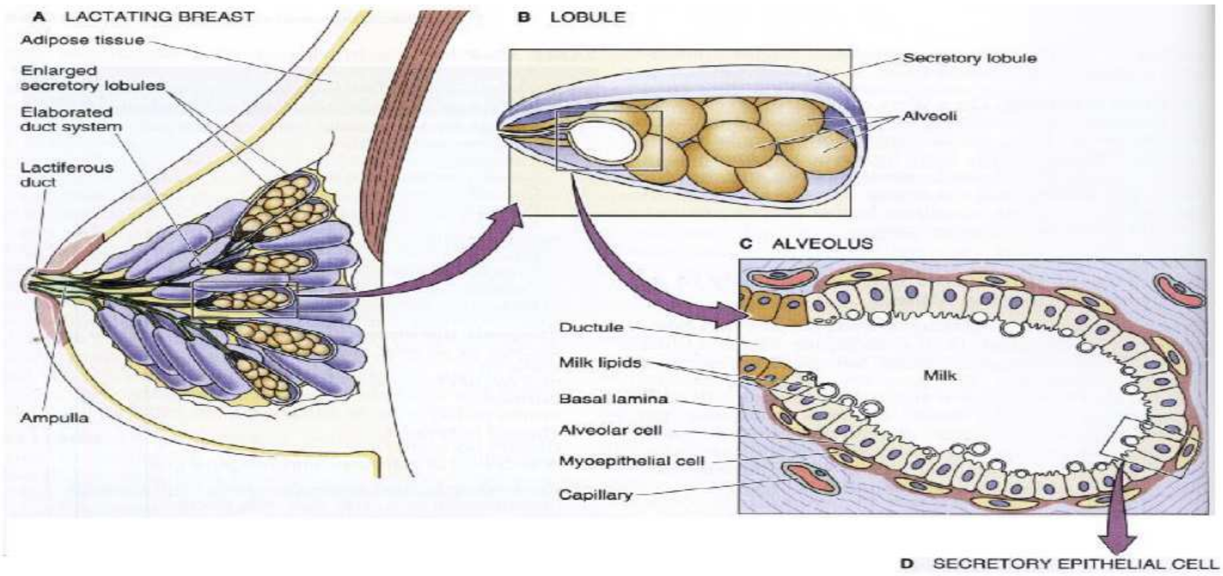
هناك نوعان من الجينات تلعب دوراً مهما في الدفاع عن الخلية عند حدوث خلل ما، وأولها الجينات المسؤولة عن موت الخلية المبرمج (Apoptosis)، أن هذه الجينات تكون غير طبيعية أو مثبطة تماما في حالة الخلايا السرطانية (Liu وجماعته،2003 و Makin و Dive ،2003)، وتأتي أهمية الموت المبرمج عند حدوث الطفرات الوراثية والتي تغير من قابلية الخلية إذ تصبح خلايا قابلة للتكاثر والنمو وتعرف بالخلايا السرطانية بدلا من أن تكون خلايا ميتة ، أما ثاني هذه الجينات فتسمى بجينات أصلاح الدنا DNA repair genes والتي لها دور مهم في عملية النمو والانقسام والتمايز الخلوي وتبرز أهمية هذه الجينات في المحافظة على سلامة الجينات من أي خلل يمكن أن يؤدي بالنهاية إلى حدوث أورام سرطانية (Kufeوجماعته،2003).

2-2 سرطان الثدي Breast cancer

يعّد سرطان الثدي هو الأكثر شيوعا لدى النساء في العالم ومن أهم الأمراض التي تؤدي إلى الموت بين الإناث، وتقدر الإحصائيات بوجود أكثر من مليون حاله أصابه بالمرض لكل سنة في العالم (Bray وجماعته،2004 و Kamanger وجماعته، 2006)

أن الأساس في فهم هذا المرض هو معرفة التركيب الطبيعي للثدي، إذ يتكون بصورة رئيسية من الفصوص (Lobes) ويحتوي كل فص على فصيصات اصغر في نهايتها عشرات البصيلات التي تنتج

الحليب، ترتبط الفصيصات والبصيلات بواسطة أنابيب دقيقة تسمى القنوات (ducts)، وان هذه القنوات وظيفتها هي حمل الحليب من الفصوص إلى الحلمة (Nipple)، كذلك يتكون الثدي من الأنسجة الدهنية وأنسجة رابطة محيطة بالقنوات والفصيصات وأوعية دموية ولمفاوية. يكون ثدي المرأة أكثر تصلبا وتكتلا قبل انقطاع الطمث بسبب تأثير هرمون الاستروجين (Estrogen) ويقل مستوى هذا الهرمون بعد انقطاع الطمث لذا يكون الثدي أكثر ليونة واقل تكتلا، تأتي العضلات أسفل الثدي وتملأ المادة الدهنية الفراغات بين الفصوص والقنوات مما يعطي الثدي طبيعة تكتلية غير متجانسة، أما الأوعية الدموية فأنها تقوم بتغذية خلايا الثدي، يقوم الجهاز اللمفاوي (شبكة من الأوعية اللمفاوية، القنوات اللمفاوية، العقد اللمفاوية) في الحماية من الالتهابات، حيث تقوم الأوعية اللمفاوية بتفريغ السوائل المترشحة من الأوعية الشعرية إلى العقد اللمفاوية تحت الإبط والواقعة خلف عظم القص(Boron و BoulPaep، 2003).



*(Boron و BoulPaep، 2003)

شكل (2–1) يوضح التشريح الداخلي للثدي

1-2-2 وبائية سرطان الثدي Epidemiology of Breast Cancer

هناك العديد من الدراسات التي تناولت على نطاق واسع وبائية سرطان الثدي وذلك لان سرطان الثدي من السرطانات الشائعة في النساء بعد سرطان الجلد. (WHO،2006)

هناك اختلافات واضحة في معدلات الإصابة بسرطان الثدي في بلدان العالم إذ سجلت زيادة في نسب الإصابة بسرطان الثدي وكانت في نساء أسيا الشرقية بحدود (3%) أما في أمريكا وأوربا فكانت نسبة الإصابة بسرطان الثدي حوالي (60%) (Parkin،2004 و Parkin وجماعته،2005)، ويخمن بان مليون حالة من سرطان الثدي تشخص سنويا في العالم، هناك عدد من الدول التي سُجلت فيها معدلات عالية

لسرطان الثدي مثل الهند واليابان وسنغافورة وكوريا وكذلك الصين إذ سُجل تزايد في نسب الإصابة بحدود (20– 30%) مقارنة مع الأعوام الماضية (Peggy،2008)

أما في بلدان الشرق الأوسط فكانت نسبة الوفيات بسبب سرطان الثدي في بعض البلدان (9–10%) وكانت معدلات حدوث سرطان الثدي في بعض الدول العربية والإقليمية عالية فكان في المرتبة الأولى من بين أنواع السرطانات الأخرى(Boffetta، 2004)وكما موضح في الجدول رقم (2–1) .

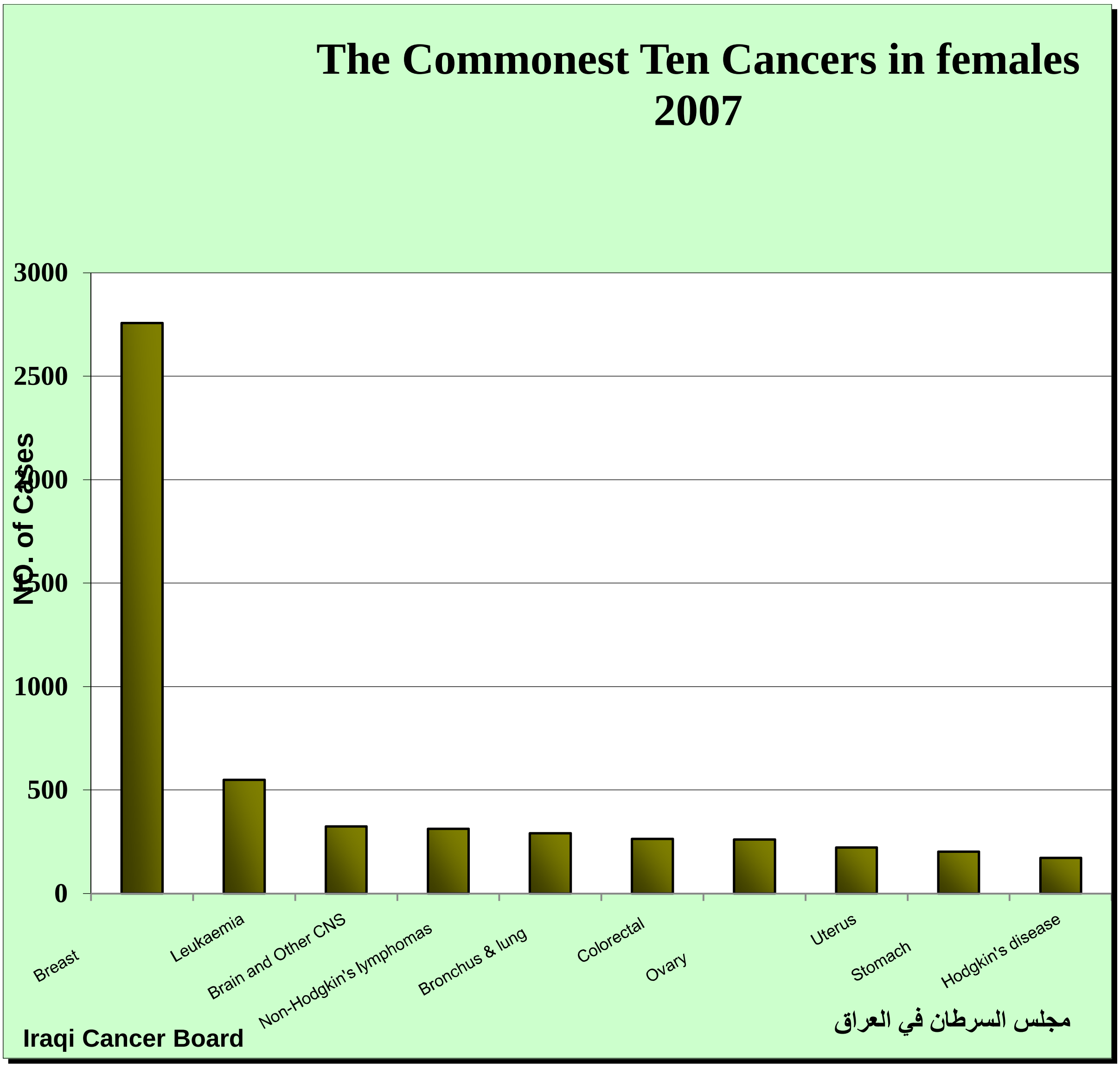
جدول رقم (2–1) يوضح درجات الأنواع المهمة للسرطان لبعض الدول العربية والإقليمية

القطر	نوع السرطان				
	الدرجة الأولى	الدرجة الثانية	الدرجة الثالثة	الدرجة الرابعة	الدرجة الخامسة
البحرين	الرئة	الثدي	المثانة	القالون	البروستات
مصر	المثانة	الثدي	الجلد	سرطان الدم	القالون
إيران	الثدي	الرئة	المثانة	البلعوم	الدماغ
الأردن	الثدي	الرئة	القولون	المثانة	الدماغ
الكويت	الثدي	الرئة	القولون	المثانة	الدماغ
العراق	الثدي	الرئة	المثانة	البلعوم	الدماغ
لبنان	الثدي	الرئة	القولون	البروستات	الدماغ
سوريا	الثدي	القولون	الرئة	سرطان الدم	الدماغ
الأمارات العربية المتحدة	الثدي	القولون	سرطان الدم	الغدد اللمفاوية	الغدة الدرقية
السعودية	الثدي	سرطان المستقيم	الدماغ	سرطان الدم	الغدة الدرقية
قطر	الثدي	القولون	الرئة	الكبد	الدماغ

(GLOBOCAN ،2004) *

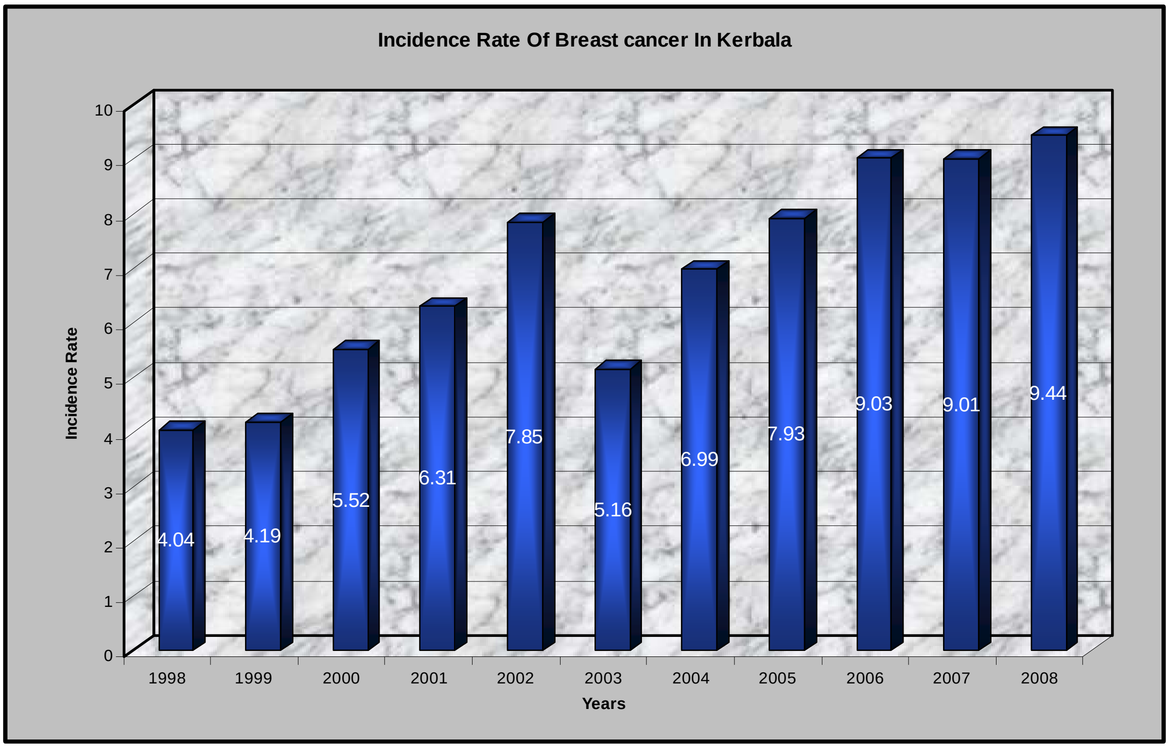
أن واقع المرض في العراق يشير إلى تزايد حالات إصابة النساء بسرطان الثدي بحسب إحصائيات وبيانات رسمية صادرة عن مراكز صحية، وعيادات تخصصية في وزارة الصحة، إذ بلغت نسبة الإصابات

بسرطان الثدي (19.8%، 24%، 30%، 31%) خلال سنوات (1976، 1985، 1989، 1991) من بين أنواع السرطانات الخبيثة في النساء العراقيات، في حين بلغت نسبة الإصابة في النساء تحت عمر (30 سنة) (5%) أما النساء اللواتي أعمارهن من (40 سنة فأكثر) فكانت نسبة حدوث المرض لديهن (75%) (Al-Azzawi،2006)، ويوضح الشكل (2-2) أعداد المصابين بسرطان الثدي في العراق مقارنة بالأنواع الأخرى من حالات السرطان .



شكل (2-2) يوضح أعداد المصابين بسرطان الثدي في العراق

أما محافظة كربلاء فشهدت زيادة في معدلات الإصابة بسرطان الثدي وكما موضح في الشكل (2-3) بحسب إحصائيات مجلس السرطان العراقي



شكل(2-3) يوضح نسب الإصابة بسرطان الثدي في محافظة كربلاء

2-2-2 أنواع سرطان الثدي Types of Breast Cancer

هناك أنواع عديدة لسرطان الثدي مختلفة نسيجيا إذ تنشأ أورام الثدي من الخلايا الطلائية للنسيج القنوي Ductal Epithelial أو النسيج الفصيصي Lobular Epithelial وتقسم إلى نوعين رئيسيين:

1- السرطان الموضعي Insitu Carcinoma

2- السرطان المنتشر Invasive Carcinoma (Tavassoli وDevilee ،2003)

1- سرطان الثدي الموضعي

وهو يتكون من الأنواع التالية:

a- سرطان الثدي الموضعي القنوي Ductal Carcinoma In situ

نوع شائع من أنواع أمراض الثدي غير المنتشر، إذ أن الخلايا السرطانية في هذا النوع تنتشر داخل القنوات اللبنية ولكنها لا تنتشر خلال جدار القنوات إلى أنسجة الثدي المحيطية، يتم الكشف عن هذا

النوع بواسطة التصوير الشعاعي(الماموكرافي)، وهي تعد من الطرق المفضلة للكشف عن هذا النوع في مراحله المبكرة (Wiechmanو Kuerer، 2008)

b- سرطان الثدي الموضعي الفصيصي Lobular Carcinoma in situ (LCIS)

هو ورم سرطاني موضعي (غير منتشر) يحدث بالفصوص lobes في الثدي، أن هذا النوع من السرطان يمكن أن يتطور إلى ورم سرطاني خبيث (Hanbyو Hughes، 2008)

2- سرطان الثدي المنتشر

ويتكون من الأنواع التالية:

1- سرطان الثدي القنوي المنتشر Invasive or Infiltrating ductal carcinoma

يعد هذا النوع من أكثر الأنواع شيوعا ويبدأ في قنوات الحليب مخترقا جدار القنوات إذ ينمو في الأنسجة الدهنية للثدي، إن هذا النوع يكون قادراً على الانبثاث (Metastasis) إلى الأجزاء الأخرى من الجسم خلال الجهاز اللمفاوي أو مجرى الدم وان هذا النوع يشكل نسبة (79%) من سرطان الثدي المنتشر (Kumar وجماعته، 2005)

b- سرطان الثدي الفصيصي المنتشر Invasive or Infiltrating Lobular Carcinoma

يبدأ هذا النوع في غدد أنتاج الحليب (الفصوص) ويمكن أن ينتشر Metastasis إلى الأجزاء الأخرى من الجسم (Coombs وجماعته،2010)، ويشكل نسبة (5- 10%) ويمتاز هذا النوع بزيادة احتمال كونه متعدد المراكز Multicentricity (Chung،2004)

لقد صنفت منظمة الصحة العالمية الأورام في الثدي إلى ستة أنواع رئيسية هي:-

1- أورام قنوية خبيثة Ductal Carcinoma
2- أورام فصيصية خبيثة Lobular Carcinoma
3- أورام مخاطينية خبيثة Mucinous Carcinoma
4- أورام نخاعينية خبيثة Medullary Carcinoma
5- أورام حليمية خبيثة Papillary Carcinoma
6- أورام نبيبية خبيثة Tubular Carcinoma

أن الأورام القنوية والفصيصية تمثل تقريبا (90- 95%) من كل الحالات (Tarassoli وDevilee،2003)

3-2-2 أعراض وعلامات سرطان الثدي Signs and Symptoms of Breast Cancer

هنالك عدد من الأعراض والعلامات يمكن أن تتزامن مع الإصابة بسرطان الثدي وأن ظهور احد هذه الأعراض أو العلامات التالية قد يدل على بداية الإصابة بسرطان الثدي ولا يشترط وجود جميع الأعراض في حدوث الإصابة ومن هذه الأعراض:-

1- وجود كتلة Lumps وتضخم في العقد اللمفاوية Lymph nodes الواقعة في منطقة الإبط، إن الأوعية اللمفاوية الموجودة في الثدي تؤدي إلى غدد صغيرة تسمى الغدد اللمفاوية (توجد تحت الإبط وحول عظمة الترقوة وبداخل الصدر) وتساهم هذه الغدد في محاربة الالتهابات وفي تصفية السائل اللمفاوي من الفضلات وان معظم الأوعية اللمفاوية في الثدي تؤدي إلى غدد لمفاوية في الإبط (الغدد اللمفاوية الابطية)، هذه الغدد اللمفاوية هي من أهم المراحل في تقدير حال المرض، فلو احتوت هذه الغدد على خلايا سرطانية بعد فحصها فهذا يدل على أن الورم قد تعدى حدود الثدي وخرج إلى مناطق أخرى في الجسم وتكون هذه الغدد جزءا منها. (Cokkinides وجماعته،2007)

2- الم موضعي في الثدي أو تحت الإبط (رغم أن معظم الأورام الخبيثة غير مصحوبة بألم).

3- خروج إفرازات دموية أو غير دموية من الحلمة.

4- وجود كتلة أو غلاظه بالثدي أو تحت الإبط تكون واضحة وملموسة وعادة تتمكن المريضة من كشفها بنفسها فالأورام الخبيثة يصعب تحديدها إذ يكون الورم ثابتاً وملتصقاً مع جدار الصدر ولهذا فهو صعب أو قليل الحركة عند فحصه طبيا باللمس فضلاً عن انكماش الجلد المغطي للحلمة إذ يخلق نقرة صغيرة أو تكتل.

5- حدوث الم واحمرار وتآكل الثدي وهو نادر وفي مراحل متأخرة.

6- من الأعراض النادرة الحدوث ظهور عقد أضافية وتورم الذراع وألم في العظام وانتفاخ في البطن واليرقان وأعراض ارتفاع السكر وتنتج هذه الأعراض عند انتشار المرض في الجسم (Hemantوجماعته،2009 و Lacroix،2006)

4-2-2 عوامل الخطورة في سرطان الثدي Risk factor in Breast cancer

يمكن تحديد عوامل الخطورة التي تزيد من فرص الإصابة بهذا المرض عند وجودها في الأشخاص العاديين غير أن وجود واحد أو عدد من هذه العوامل لا يعني حتمية إصابة الشخص بهذا المرض وهذه العوامل تشمل:-

2- تقدم العمر Aging

خطر سرطان الثدي، يزداد بتقدم العمر، وان اغلب حالات الإصابة بسرطان الثدي عند النساء تحدث في سن (50 فأكثر) وان معظم أنواع السرطانات تتطور ببطء على مر الزمان ولهذا السبب سرطان الثدي هو الأكثر شيوعا بين النساء المسنات (Ticeوجماعته،2008).

3- التاريخ الشخصي للإصابة Case history

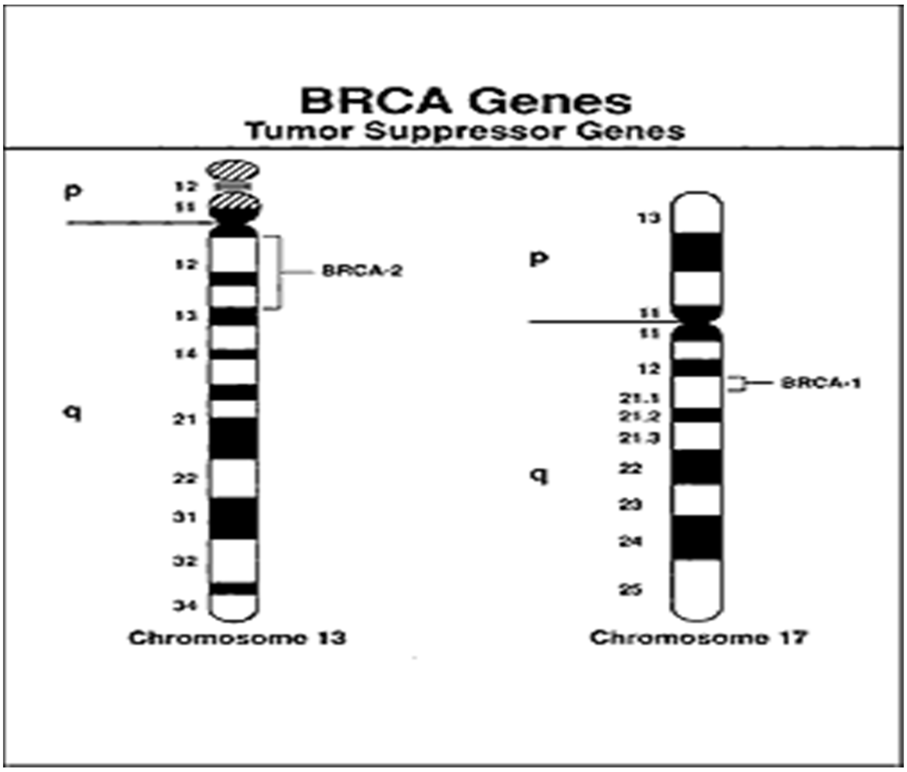
وجود سرطان سابق في احد الثديين يزيد من معدلات الإصابة بسرطان الثدي خاصة إذا حدث ذلك قبل انقطاع الطمث أو الإصابة بسرطان المبيض أو الرحم، والنساء المصابات بسرطان الثدي الحميد فأنهن يمتلكن خطر عالٍ للإصابة بسرطان الثدي وبحدود (4- 5 مرات) (Bijkerوجماعته،2007 و Li وجماعته،2003).

4- العوامل الوراثية Genetic Factor

تمثل العوامل الوراثية (5- 10%) من كل حالات سرطان الثدي، وخاصة أذا تمثلت بالأم أو أحدى الأخوات، وان احتمالية الإصابة بسرطان الثدي تكون أعلى في النساء اللاتي لديهن أقارب من الدرجة الأولى (أم، أخت، ابنة، أب) مصابات بهذا المرض حيث ترتفع النسبة إلى الضعف، أما أذا كان الأقارب من الدرجة الثانية (الجدة، العمة، الخالة) سواء من الأم أو الأب فان نسبة الإصابة ترتفع ولكن تكون اقل من الحالة الأولى (Bradbury وOlopade،2007)

تعد الأسباب الوراثية من أهم الأسباب المؤدية إلى حدوث سرطان الثدي، وتشمل مورثين مهمين الأول يسمى مورث سرطان الثدي الأول BRCA1 والذي يقع في الموقع الكروسومي (17q21) حيث يوجد (200 أليل) لهذا المورث ويبلغ حجمه (100 kb)، يعد 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 (Mikiوجماعته،1994)

أما المورث الثاني فيسمى مورث سرطان الثدي الثاني BRCA2 ويقع في الموقع الكروسومي (13q12) ويعد أيضاً من الجينات المثبطة للورم إذ يبلغ حجمه (70kb) ويتكون البروتين الناتج عنه من 3418 حامض أميني ويمتلك (100 أليل) (Woosterوجماعته،1995)



**www.geneclinics.org/profiles/brca1

شكل (2–4) يوضح الموقع الكروموسومي لجيني (BRCA1, BRCA2)

لقد لوحظ أن كلا الجينين (BRCA1, BRCA2) مسؤولين عن المحافظة على سلامة الجينيوم على الأقل في المرحلة الأخيرة من أصلاح الـ DNA، السيطرة على نقاط تفتيش الخلية، تنظيم خطوات الانقسام الخلوي، وأن الفقدان التام لوظيفة البروتين الناتج عنها يؤدي إلى زيادة ملحوظة في عدم استقرار الجينيوم (Gudmandsdattir و Ashworth، 2006 و Wangوجماعته،2000)

ويوضح الجدول رقم (2–3) مقارنة بين BRCA1 و BRCA2 اعتماداً على بعض المعايير المهمة:

جدول رقم (2–2) يوضح المقارنة بين جيني (BRCA1, BRCA2)

المعايير	BRCA1	BRCA2
1- الموقع	17q21	13q12
2- حجم الجين Gene size	81 kb	84 kb
3- حجم البروتين الناتج	1863حامض أميني	3418 حامض أميني
4- الوظيفة	1-جينات مثبطة للورم 2-تنظيم الاستنساخ 3-دور في أصلاح DNA 4- السيطرة على انقسام الخلية	1 - جينات مثبطة للورم 2- تنظيم الاستنساخ 3- دور في أصلاح DNA 4- تنظيم موت الخلية ودورة انقسامها
5- الطفرات	أكثر من 500 طفرة	450 طفرة
6- الخطورة	60- 80%	60- 80%
7- العمر	الأعمار الفتية (40- 50 سنة)	50 سنة
8- نسبة سرطان الثدي الوراثي المسبب من جين واحد	52%	32%
9- نسبة سرطان الثدي وسرطان المبيض الوراثي	81%(20-40) risk	14% (10-20)risk

* (Huuskoوجماعته،1998و Peelen وجماعته،1997)

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، إن 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)، فعلى الرغم من أن (10%) من حالات سرطان الثدي والمبيض هي وراثية، فان هذه النسبة عند اليهود الاشكناز أعلى بكثير، إذ أن الطفرات في جين BRCA هي طفرات مرتبطة وبقوة مع المجتمعات العرقية، فقد وجد أن طفرات BRCA1 هي طفرات سائدة في اليهود الاشكناز وبطفرتين لجين (BRCA1) والتي هي:(185delAG,5382insC) (Huusko وجماعته،1998و Peelen وجماعته،1997) ،وطفرة واحدة لجين (BRCA2) (6174delT) (Gudmandsdattirو Ashworth ،2006)أوضحت الدراسات أن الطفرات في جيني (BRCA1, BRCA2) تعتمد على التاريخ الوراثي للإصابة بهذا المرض والعمر (Fasching وجماعته،2007) وعلى سبيل المثال الطفرة الحاصلة في جين (BRCA1) والتي هي (185 del AG) وجدت بنسبة (16– 20%) في الأشخاص المصابين بسرطان الثدي قبل عمر (50 سنة) (Raoوجماعته،2008)

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 (Thomasوجماعته،2002)،أما الطفرات في جين (BRCA2) فأنها تهيئ للإصابة بسرطان البروستات Prostate cancer وسرطان البنكرياس Pancreatic cancer وربما سرطان المثانة Gallbladder cancer وسرطان القناة الصفراء Bile duct cancer (Van Asperenوجماعته،2005).

5– العوامل الغذائية Nutritional factors

زيادة نسبة الشحوم (الدهون) في الأكل وزيادة الوزن تزيد من نسبة الإصابة بسرطان الثدي ولاسيما إذا كانت الزيادة قد بدأت من بعد مرحلة البلوغ، أما الحمية أو قلة تناول الغذاء فأنها لا تقلل أيضاً من خطر الإصابة بسرطان الثدي (Wuوجماعته،2008)، وأشارت الدراسات إلى أن الخضروات والفواكه تعتبر كمصدر طبيعي يعطي حماية للنساء من الإصابة بهذا المرض (Gerber وجماعته،2003).

6– تأثير العوامل البيئية Environmental factors

وتشمل الإشعاع كالتعرض إلى مصادر الأشعة المؤينة وكذلك تشمل التعامل مع المواد الكيمياوية الخطرة، والعمل في المجالات الصناعية ،واستنشاق الغازات السامة ، وكذلك تشمل الأسباب العلاجية حيث

يسبب العلاج الكيمياوي السرطان بعد سنين عدّة، وأيضا ضعف المناعة (John وجماعته،2007 و Tarassoli و Devilee، 2003).

7- الأثنية (العِرقية) Ethnicity

النساء البيض أكثر عرضة للإصابة بسرطان الثدي من النساء السود، كما أن النساء الأسيويات اقل عرضة للإصابة بالمرض من النساء الأمريكيات، إذ أن معدل حدوث الطفرات في جيني سرطان الثدي الأول والثاني (BRCA, BRCA2) ضمن المجموعات العرقية متباين وبنسبة (1- 4%) لكل جين ، لذلك فان الاختلافات في سيادة سرطان الثدي في المجموعات العرقية العنصرية يمكن أن يكون واضحاً بالنسبة للطفرات الحاصلة في جيني (BRCA1, BRCA2) (Ghafoorوجماعته،2003).

8- الحمل Pregnancy

أن النساء اللاتي لم يحملن أبداً أو ينجبن طفلهن الأول بعد سن الثلاثين يزداد لديهن خطر الإصابة بسرطان الثدي مقارنة بالنساء اللواتي يحملن في عمر (25 سنة) كما أن قلة الأطفال أو انعدام الولادة يكون مرتبطاً مع خطر الإصابة بسرطان الثدي (Holmbergوجماعته،2005 و Nichols وجماعته،2005).

9- الحيض Menarche

إنّ الحيض المبكر (قبل 12 سنة) يسبب تكاثر في خلايا الغدد اللبنية وذلك من خلال التعرض لمستويات هرمونية عالية وبالتالي سوف تزداد فرص الإصابة بسرطان الثدي، وكذلك فرص الإصابة بهذا المرض تزداد عند انقطاع الطمث بعد سن (50 سنة) (Andersوجماعته،2009).

10- تناول الكحول Alcohol Consumption

إنّ تناول الكحول يسبب ارتفاعاً في مستوى بعض الهرمونات الجنسية في مجرى الدم وبالتالي تزداد نسبة الإصابة بسرطان الثدي إلى مرة ونصف في النساء اللواتي يتناولن 2- 5 كؤوس من الكحول في اليوم الواحد (Suzukiوجماعته،2006 و Rinaldi وجماعته،2006).

11- الكثافة النسيجية للثدي Density of the Breast tissue

تسبب الكثافة النسيجية العالية في الثدي خطراً متزايداً للإصابة بسرطان الثدي في النساء وبحدود (2-6) مرات مقارنة بالنساء الأقل كثافة نسيجية.

(Tamimiوجماعته،2007 و Kerlikowskeوجماعته،2010).

12- النشاط الحركي Physical Activity

تخفف الرياضة أذا تمت ممارستها بانتظام من خطر الإصابة بالسرطان حتى لو اقتصرت على(1.25 -2.30 ساعة) في الأسبوع إذ أنها في هذه الحال تؤدي إلى تخفيض الخطر وبنسبة 18% (Monninkhofوجماعته،2007).

13- التدخين

أوضحت عدد من الدراسات بان للتدخين علاقة بخطر الإصابة بسرطان الثدي والذي يعد من أكثر السرطانات شيوعاً لدى النساء فعندما تدخن المرأة السكائر أو إي وسيلة أخرى تدخل عبرها مكونات التبغ المسرطنة للجسم فان ذلك يزيد من أحتمالية أصابتها بسرطان الثدي (Haوجماعته،2007 و Hamajima و Hirose ،2002).

14- العلاج الهرموني التعويضي Hormone Replacement Therapy (HRT)

إن استعمال هرموني الاستروجين والبروجسترون من قبل النساء في سن اليأس ولعدة سنوات لعلاج أعراض الشيخوخة يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي وبنسبة (10- 20%)

(Dumitrescu و Cotrala ،2005).

15- الرضاعة الطبيعية Breast Feeding

إن الرضاعة الطبيعية تقلل من خطر الإصابة بسرطان الثدي في النساء حيث أكدت الدراسات أن زيادة مدة الرضاعة الطبيعية تعطي حماية من الإصابة بمرض سرطان الثدي

(Vona-Davisو Rose ،2009).

16- موانع الحمل

إن تناول الحبوب المانعة للحمل تؤدي إلى زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي (March bank *et al.*, 2002)، وذلك بسب تأثير هرمون الاستروجين Estrogen فزيادة تركيزه من مصدر خارجي كزيادة تناول حبوب منع الحمل يؤدي إلى زيادة احتمال الإصابة بمرض سرطان الثدي (Shaaban وجماعته،2003).

17- عوامل أخرى

وتشمل الطول Height والوزن Weight، كتلة الجسم Body mass Index، إذ أشارت الدراسات أن لهذه العوامل علاقة بالإصابة بسرطان الثدي فكلما ازدادت هذه العوامل زادت فرص الإصابة بهذا المرض (Reeves وجماعته2007 و Michels و Ekbom،2004).

2- 2- 5 جينات سرطان الثدي

1- جين (TP53)Tumor suppressor gene

وهو من الجينات المثبطة للورم، يقع على كروموسوم (17 P 13.1) ويتكون البروتين الناتج عنه من 393 حامضاً أمينياً، يعمل هذا الجين كعامل استنساخ (Transcription factor) حيث يشترك في تنظيم تقدم دور الخلية وإصلاح ضرر الـ DNA وفي استقرار الجينيوم وموت الخلية المبرمج Apoptosis (Vogelsteinوجماعته،2000)

يعد TP53 من الجينات الشائعة المطفرة في أورام البشر (Gasco وجماعته،2003) وإن الطفرات في هذا الجين تسبب متلازمة Li- Franmeni Syndrome كما وإن هذه الطفرات تسبب خطر الإصابة بسرطان الثدي بالإضافة إلى سرطانات أخرى كاللوكيميا وسرطان الدماغ وسرطان العظام وان الطفرات في هذا الجين مرتبطة أيضاً بزيادة حجم الورم ودرجته وانبثاث العقد اللمفاوية الابطية.

2- جين (CHEK2)cadherin 1, type 1, E-cadherin epithelial

هو من الجينات المثبطة للورم Tumor Suppressor Gene، وهو موجود في الموقع الكروموسومي22q12.1، ينشط هذا الجين في حالة الاستجابة لضرر الـ DNA (Bartek وجماعته،2004 و Bellوجماعته،2007)، إن حدوث الطفرات في هذا الجين لها علاقة بزيادة الإصابة بسرطان الثدي ومن الطفرات الشائعة في هذا الجين والتي لها علاقة بسرطان الثدي هي (1100 del C) وهذه الطفرة هي Heterozygous، إذ أشارت الدراسات إلى أن (4.8) من الخطر النسبي لحدوث سرطان الثدي كان بسبب طفرة (1100 del C) في العائلات ذات التاريخ الايجابي مع سرطان الثدي (Weischerوجماعته،2008).

3- جين مستقبل الاستروجين (ESR1) Estrogen Receptor Gene

إن عملية تضخيم نتاجات مستقبل الاستروجين ثبت وجودها في 20% من حالات سرطان الثدي، وقد لوحظ أن ESR1 المتضخم مرتبط مع المستويات العالية لهرمون الاستروجين والاستجابة العالية لعلاج التموكسوفين Tamoxifen (Holstوجماعته،2007)

وقد حدد تضخيم هذا الجين في الأورام الخبيثة بالإضافة إلى الأورام المنتشرة المتقدمة، إذ أن هذه المستقبلات هي مستقبلات هرمونية ستيرويدية تلعب دوراً مهماً في نمو وتقدم سرطان الثدي، وأن جين مستقبل الاستروجين (ERS1) له دور في تنظيم عملية الاستنساخ لعدد من الجينات المهمة والمسؤولة عن نمو الخلية وتمايزها ومقاومة موت الخلية المبرمج فيها(Herynkو Fugua، 2004)، يعد جين (ESR1) من الجينات المطفرة، وان (70%) من حالات الإصابة بسرطان الثدي وزيادة استنساخ mRNA مرتبطة بتعبير (ERS1).

4- جين Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2/ neu)

يمتلك هذا الجين تسميات عدّة هما HER2، NEU ، ERBB2، إذ يشفر لبروتين يتكون من 1255 حامضاً أمينياً ومشفر لأحد عوامل النمو المسمى Epidermal growth Factor Receptor2 (Linggi و Carpenter، 2006)، وقد لوحظ أن له ارتباط مع الإصابة بسرطان الثدي عند النساء، إذ وجد أن النساء المصابات بسرطان الثدي يكن موجبات الإصابة عند التحري عن هذا العامل (Baselga وجماعته،2006).

5- جين Cadherin 1, type 1, E-cadherin epithelial (CDH1)

هو من الجينات المثبطة للورم Tumor Suppressor genes يقع في الموقع الكروموسومي 16 q 22.1، وظيفة هذا الجين هو المحافظة على التصاق الخلايا مع بعضها في الأنسجة بعملية تسمى الالتصاق الخلوي Cell adhesion، أن التغير في هذا الجين يكون مرتبطاً مع عدد من السرطانات ومرتبط مع بعض الحالات المرضية مثل انبثاث العقد اللمفاوية Lymph node metastasis (Debies و Welch، 2004)

إن الطفرات في هذا الجين تسبب السرطان المعوي (Gastric Cancer) والذي يلاحظ في العائلات ذات التاريخ الوراثي الموجب مع هذا النوع من السرطان، كما أن الطفرات في هذا الجين أيضاً لها دور في حدوث سرطان الثدي، حيث أظهرت الدراسات بان قلت أو انعدام التعبير الجيني لل (E-Cadherin) يكون شائعاً مع سرطان الثدي المنتشر الفصيصي Infiltrating Lobular Carcinoma (Wahedوجماعته،2004).

6- جين Serine/threonine kinase 11 (STK11)

يصنف ضمن الجينات العالية الخطورة يقع في الموقع الكروموسومي (19 p13.3)، وأن الطفرات في هذا الجين تسبب متلازمة(Peutz- Jegher syndrome) كذلك تزيد من خطر النمو الورمي الجديد (neoplasia) في الثدي والخصيتين والبنكرياس، تلاحظ الطفرات في هذا الجين في سرطان الثدي القنوي المنتشر Invasive ductal carcinoma (Tischkowiz وجماعته،2002).

7- جين (PALB2) Partner and localizer of BRCA2

يقع في الموقع الكروموسومي (16 p 12.2) ويعمل هذا الجين وبصورة مباشرة مع جين سرطان الثدي الثاني (BRCA2) في أصلاح كسر شريط الـ DNA، أن الطفرات في هذا الجين تسبب مرض Fanconi anemia (Reidوجماعته،2007)، كما تسبب الطفرات في هذا الجين خطر متزايد للإصابة بسرطان الثدي والذي يكون بحدود (2- 3 أضعاف) (Rahmanوجماعته،2007 و Reidوجماعته،2007).

8- جين (BRIP1)BRCA1 interacting proteinC-terminal helicase1

ويسمى (BACH1) ويقع هذا الجين في الموقع الكروموسومي(17q 22.2) وهو يعمل مباشرة مع جين سرطان الثدي الأول (BRCA1) وتكون وظيفته أصلاح ضرر الـ DNA وفي نقطة تفتيش دورة الخلية Cell Cycle Check point، أن الطفرات في هذا الجين مرتبطة بزيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي في حالة الطفرات الأحادية الاليل Monoallelic بينما الطفرات الثنائية الاليل Biallelic في هذا الجين تسبب مرض Fanconi anemia (Levranوجماعته،2005 و Seal وجماعته،2006).

تلعب عدد من الجينات دوراً مهماً في الاستعداد الوراثي للإصابة بسرطان الثدي وتقسم هذه الجينات إلى:

أ- جينات متوسطة الخطورة في سرطان الثدي Moderate risk breast cancer gene

وتتضمن جينات (PALB2, BRIP1, CHEK2, ATM) أن التغيرات النادرة في هذه الجينات تزيد خطر الإصابة بسرطان الثدي بحدود (2-3) مرات عند حامليها (Foulkes, 2008)، وأن معدل الطفرات المتباينة الزيجه Heterozygous في هذه الجينات يقع بين(2.5 - 4.3) إذ يخمن الخطر من تغير هذه الجينات بأقل من (3%) في حالة الإصابة بسرطان الثدي غير الوراثي و (5%) في سرطان الثدي الوراثي (Pharoahوجماعته،2004 و Strattonو Rahman ،2008).

ب- الجينات العالية الخطورة لسرطان الثدي High risk breast cancer genes

وتشمل (STK11, CDH1,TP53, BRCA2, BRCA1) هذه الجينات عرفت عام (1995) بواسطة دراسات جينية عديدة (Oldenburgوجماعته،2007) إذ التغيرات في هذه الجينات يمكن أن تشكل نسبة (3– 10%) من كل حالات الإصابة بسرطان الثدي، وان هذه النسبة ترتفع في الأفراد الذين يمتلكون طفرات أبوية متوارثة عالية في الجينات المؤهبة لسرطان الثدي مثل جيني (BRCA1, BRCA2) (Thompsonو Easton، 2004).

6-2-2 مراحل ودرجات سرطان الثدي Stages and Grade of Breast Cancer

هناك طرق عدة لتقسيم مراحل الأورام وتعتمد هذه التقسيمات على 3 عوامل وهي (TNM) إذ يشير (T) إلى حجم الورم، أما (N) فيشير إلى حجم الورم في الغدد اللمفاوية وتعتمد على حجم الغدد اللمفاوية تحت الإبط، أما (M) فتشير إلى الانبثاثية أو الانتقال (Metastasis) أو مدى انتشار الورم في أجزاء أخرى من الجسم.

أما المراحل فهي:

1– سرطان الثدي المرحلة صفر (Stage 0)

في هذه المرحلة يكون السرطان موضعياً وغير منتشر في الثدي ولا يغزو الخلايا المجاورة ويمكن استئصاله والاحتفاظ بالثدي. وأن الغدد اللمفاوية في هذه المرحلة لا تحتوي على أي خلايا سرطانية.

2– سرطان الثدي المرحلة الأولى (Stage I)

وهي مرحلة مبكرة من سرطان الثدي فقد تصاب بها الأنسجة المجاورة وتعني هذه المرحلة أن السرطان لم يتجاوز الثدي وأن حجم الورم في هذه المرحلة هو اقل من (2 سم)، أما الغدد اللمفاوية فلا تحتوي على أي خلايا سرطانية.

3– سرطان الثدي المرحلة الثانية (Stage II)

وهي مرحلة مبكرة من سرطان الثدي ينتشر السرطان في العقد اللمفاوية تحت الإبط ، وأن حجم الورم يتراوح بين(2– 5 سم) ، أما الغدد اللمفاوية فأنها تحتوي على خلايا سرطانية تحت الإبط ، وان الورم في هذه المرحلة يكون غير منتشر خارج الثدي.

4– سرطان الثدي المرحلة الثالثة (Stage III)

ينتشر السرطان في هذه المرحلة وبكثرة في العقد اللمفاوية تحت الإبط إذ يكون السرطان في هذه المرحلة متقدماً موضعيا، حجم الورم في هذا المرحلة اكبر من (5سم)، أما الغدد اللمفاوية فأنها تحتوي على خلايا سرطانية تحت الإبط وملتصقة ببعضها البعض، والورم يكون غير منتشر خارج الثدي ويستدل على هذه المرحلة بواسطة وجود عقد في الجلد أو تقرحات جلدية في الثدي فضلاً عن وجود عقد ورمية تحت العضلات أو في منطقة الإبط .

5- سرطان الثدي المرحلة الرابعة(Stage I V)

في هذه المرحلة ينتشر السرطان من الثدي إلى الأعضاء البعيدة من الجسم كالعظام، الرئة، الكبد، الدماغ (Bensonوجماعته،2003 و Greene وجماعته،2002).

اما درجات سرطان الثدي فتقسم الى :-

1- **الدرجة الاولى(الدرجة المنخفضة) Grade 1 (low-grade)**

في هذه الدرجة تكون الخلايا السرطانية مشابهة والى حد كبير الخلايا الطبيعية و تنمو بشكل بطئ واحتمالات انتشارها قليلة

2- **الدرجة الثانية(الدرجة المعتدلة)Grade 2 (moderate- or intermediate-grade)**

في هذه الدرجة تبدو الخلايا السرطانية غير طبيعية ونموها أسرع من الدرجة الاولى

3- الدرجة الثالثة(الدرجة العالية)Grade 3 (high-grade)

في هذه الدرجة تظهر الخلايا السرطانية تغيرات كبيرة عن الخلايا الطبيعية وتميل الى النمو بشكل أسرع وغالباً ماتنتشر(Greeneوجماعته،2002)

2-2-7 أمراضية سرطان الثدي Pathology of Breast Cancer

اعتماداً على أمراضية سرطان الثدي ينقسم المرض إلى 3 مراحل حيث تعكس هذه المراحل مدى انتشار السرطان في الجسم والمراحل هي:

1- المرحلة المبكرة Early Stage

ينحصر سرطان الثدي في مراحله المبكرة في القنوات التي تنقل الحليب إلى الحلمة (Nipple) خلال الرضاعة (Breast Feeding) أو إلى الفصيصات (Lobules) ويسمى هذا النوع من السرطان السرطان غير المنتشر(Non invasive cancer or in situ carcinoma) (Alfonso وجماعته،2008)، وإن أغلب سرطانات الثدي الخبيثة غير المنتشرة هي قنوية (Tavassoliو Devilee ،2003)

2- مرحلة الانتشار Invasive Stage

أن سرطان الثدي في هذه المرحلة يشخص بواسطة انتشاره خلف القنوات (Ducts) أو الفصيصات (Lobules) والى المساحات المحيطية بنسيج الثدي، إذ أن حجم الورم يعد كعلامة مهمة على انتشار سرطان الثدي، ويشكل السرطان الخبيث المنتشر نسبة (79%) (Kumarوجماعته،2005).

3- مرحلة الانبثاث Metastasis Stage

إن السرطان في هذه المرحلة ينتشر إلى المناطق الأخرى من الجسم مثل العقد اللمفاوية المجاورة (Lymph nodes) وان أكثر المناطق الشائعة الانبثاث هي العظم (Bone) والكبد (Liver) والرئة (Lung) والدماغ (Brain) (Lacroix،2006).

8-2-2 تشخيص سرطان الثدي Diagnosis of Breast Cancer

1- فحص الثدي الذاتي Breast Self- Examination (BSE)

ويعرف أيضاً بالوعي الذاتي وفيه تفحص المرأة ثديها بصورة طبيعية وملاحظة التغيرات في الثديين أن أهمية هذا الفحص هو في الكشف المبكر عن سرطان الثدي وبالتالي تقليل من حالات الوفيات، وترتبط بعض العوامل الواقعية بصورة مباشرة مع الفحص الذاتي مثل العمر ومستوى التعلم والمستوى المعاشي (Noroziوجماعته،2010).

2- فحص الثدي بالأشعة السينية Mammography

أن أشعة الماموكرافي لها القدرة على كشف التكلسات والكتل الموجودة في الثدي، يعد فحص الأشعة السينية Mammography من الفحوصات المقبولة لأكثر نساء سرطان الثدي وتبلغ حساسية هذا الفحص نسبة (95.77%)، إنّ علاج سرطان الثدي يمكن أن يكون فعالاً في مراحله المبكرة عندما تظهر الأعراض والعلامات المرضية إذ يعمل هذا الفحص على الكشف فيما إذا كانت هناك أورام سرطانية أم لا وبالتالي يقلل من نسب الوفيات (Stoneوجماعته، 2007 و Humphrey وجماعته،2002).

3- تصوير الثدي بالموجات الفوق الصوتية أو السونار Ultra songography

تستخدم هذه الأشعة لمعرفة فيما إذا كانت الكتلة الموجودة في الثدي صلبة أو تحتوي على سوائل إذ تستخدم في هذا الفحص الموجات الفوق الصوتية (Stevenوجماعته،2008).

4- تصوير الثدي بالرنين المغناطيسي Breast Magnetic Resonance Imaging (MRI)

هذا الفحص هو مكمل لفحص الثدي بالأشعة السينية، يستخدم هذا الفحص في اكتشاف الورم السرطاني في الغدد اللمفاوية تحت الإبط وهو يظهر تفاصيل أكثر لنسيج الثدي الكثيف وهذا الفحص غير معتمد في الكشف المبكر لسرطان الثدي بشكل عام (Saslowوجماعته،2007).

5- الرشفة أو استئصال الأنسجة بالإبرة Fine- Needle Aspiration (FNA)

يجري هذا الفحص باستخدام إبرة دقيقة مع أمكانية المراقبة المباشرة لتوجيه الإبرة بواسطة التصوير بالأشعة الفوق الصوتية في حالة الأورام غير الواضحة أو العميقة حيث يتم سحب السوائل أو قليلا من نسيج الكتلة Mass بواسطة هذه الإبرة ليسهل فحص العينة مختبرياً (Pisanoوجماعته،2001).

6- المستقبلات الهرمونية الستيرودية Steroid Hormone Receptor

من المستقبلات الهرمونية الستيرودية مستقبل الاستروجين والبروجسترون واللذان يعرفان بتسميات مختلفة فيعرف الاستروجين Estrogen بـ ER- alpha و ER- beta، أما البروجستيرون Progesterone فيعرف باسم PR A و PR B (Weihuaوجماعته،2003) إن الهدف من تطبيق فحص (ER، PR) هو معرفة استجابة المريض للعلاج الهرموني، أن المرضى ذوي المستقبلات الهرمونية الموجبة تكون لديهم استجابة عالية للعلاج الهرموني مقارنةً مع الاستجابة الضعيفة في المرضى المفتقرين لهذه المستقبلات (Duffy،2005).

7- فحص المعلمات الورمية Tumor Marker Test

يعد سرطان الثدي والى حد بعيد السرطان الأكثر تكرارا في النساء في العالم ويمثل المرتبة الثالثة من بين أنواع السرطانات عند كلا الجنسين، في عدد من الحالات السرطانية يلعب مصل المعلمات الورمية دوراً مهماً في الكشف المبكر للأمراض الشائعة، حيث أوضحت عدد من الدراسات علاقة المعلمات الورمية Tumor Marker مع علاج وتقدم سرطان الثدي في مراحل مختلفة ، هناك عدد من المعلمات الورمية المعتمدة على المصل Serum وصفت لسرطان الثدي مثل CA15-3 (Clintonوجماعته،2003) و CA 27.29 (Frenetteوجماعته،1994) و Oncoprotein مثل HER-2 (Imotoوجماعته،2007) و P53 (Baloghوجماعته،2006). إن المعلمات الورمية Tumor marker تنتج أما بواسطة الورم نفسه أو بواسطة الأنسجة وذلك استجابة لوجود السرطان أو إلى حالات أخرى مثل الالتهابات Inflammation مثل هذه المعلمات الورمية توجد في مجموعة من السوائل والأنسجة والخلايا، تستخدم المعلمات الورمية لفحوصات مختلفة في عامة الناس وفي تشخيص الإعراض المرضية المختلفة فضلاً عن

ذلك يمكن أن تستخدم المعلمات الورمية في تخمين حجم الورم وتقدير مدى الاستجابة للعلاج (Bast وجماعته،2001). أن سرطان الثدي الخبيث Breast Carcinoma يرتبط مع المستضد المشفر بواسطة الجين البشري المعروف MUC-1gene إذ يعرف هذا الجين بتسميات عدة مثل milk mucin،6 MAM، CA15.3، CA27.29

إن مستضد CA27.29 يعرف كبروتين سكري Glycoprotein وزنه الجزيئي 450 -1300 KDa ويحتوي 20 حامض أميني (Hilgersوجماعته،1995)، في الخلايا السرطانية الخبيثة يتجمع CA27.29 على سطوح الخلايا وبكميات متزايدة وبالتالي ينعزل إلى تجمعات مما يجعله مفيد كمعلمات ورمية. (Bonوجماعته،1997)

8- الاختبارات الوراثية Genetic Tests

لقد نما الاهتمام بسرطان الثدي في الأونة الأخيرة وذلك باستخدام الاختبارات الجزيئية للمساعدة في التنبؤ المبكر للإصابة بهذا المرض. إذ أكدت معظم الدراسات الحديثة على وجود علاقة ايجابية بين زيادة تكرار الطفرات في جيني (BRCA1, BRCA2) ونسبة حدوث سرطان الثدي. هناك العديد من الاختبارات للكشف عن الطفرات في جيني (BRCA1, BRCA2) (Palmaوجماعته،2006)، واغلب هذه الطرق شيوعا هو البحث عن التغيرات في DNA جيني (BRCA1, BRCA2)، والتغيرات في البروتين المنتج بواسطة هذه الجينات وان مثل هذه الاختبارات تتم على عينة الدم Blood Sample إذ تجري عليها عدة اختبارات في المختبر، وقد أشارت الدراسات إلى أن الاختبارات الجينية لكشف سرطان الثدي تتم على:

أ- النساء اليهوديات وهن الأكثر تغيرا في جين BRCA.

ب-وجود مرض سرطان الثدي الوراثي في العائلة وخصوصا عند وجوده في أقارب الدرجة الأولى مثل (الأب، الأم ، الأخوات، الأخوة، والأبناء).

ت-وجود مرض سرطان الثدي في أقارب الدرجة الثانية (كالعمات، الخالات، أبناء الأخ وأبناء الأخت) (U. S. Preventive Services Task Force،2009).

9-2-2 العلاج Treatment

هنالك عدد من الطرق المستخدمة في علاج سرطان الثدي بالاعتماد على نوعه ومرحلته ومن أبرز هذه الطرق:-

1- العلاج الإشعاعي Radio therapy

في هذا النوع من العلاج يتم استخدام أشعة ذات طاقة عالية للقضاء على خلايا الورم السرطاني، أن نوع الأشعة المستخدمة في هذا النوع من العلاج هو النوع نفسه المستخدم في الأشعة العادية لكن بجرعات اكبر، يستخدم هذا النوع من العلاج كمكمل للعلاج الجراحي في حالة إزالة الورم الخبيث، كما يستخدم أيضاً عندما لا يتمكن التداخل الجراحي من الوصول إلى الورم وذلك بسبب وجود الورم في مناطق لا ينصح باستئصال الورم منها كما ويستخدم هذا العلاج أيضاً في حالات النساء المصابات بسرطان الثدي المنتشر. (Malmstromوجماعته،2003).

2- العلاج الكيميائي Chemotherapy

إن الهدف من استخدام العلاج الكيميائي هو وصوله إلى كل مناطق الجسم، إذ تصل المادة الكيميائية المستخدمة إلى خلايا الجسم جميعها عن طريق الدم للقضاء على الخلايا السرطانية، وفي اغلب الحالات يعالج سرطان الثدي بمجموعة من الأدوية التي تعطى أما عن طرق الفم أو بالحقن الوريدي أو العضلي، ومن العلاجات الكيميائية المستخدمة في تقليل خطر الإصابة بسرطان الثدي (Doxorubicin,Cytoxan,Fluorouracil) (Cuzickوجماعته،2003).

3- العلاج الهرموني Hormonal therapy

إن أورام سرطان الثدي لها علاقة بالهرمونات الأنثوية وخصوصا الاستروجين Estrogen لان هذا الهرمون يجعل بعض أنواع الخلايا السرطانية في الثدي تنمو إذا كان الورم السرطاني يحتوي على عدد كبير من مستقبلات هرمون الاستروجين والبروجسترون وكذلك فان العلاج بالهرمونات أو ما يمنع افرازها أو تأثيرها على الثدي من أول الطرق المستخدمة في علاج أورام الثدي، أن هذا العلاج له دور في النساء اللواتي يمتلكن مستقبلات للهرمونات في أورامهن وخصوصا (مستقبل الاستروجين والبروجسترون) إذ أن (70%) من حالات سرطان الثدي هي موجبة للمستقبل الاستروجيني ER receptor- positive ، كما أن هناك العديد من العلاجات الهرمونية التي استخدمت لعلاج سرطان الثدي المنتشر مثل (Toremifen، Megasterol، Tamoxifen) (Howellوجماعته،2005 و Singletary و Robb ،2004).

4- العلاج المناعي Immunotherapy

يعتمد هذا العلاج المصنع على طريقة عمل الجهاز المناعي وخصوصا فيما يتعلق بالطريقة التي يميز بها الخلايا الغريبة عن خلايا الجسم الطبيعية ومعاملتها كخلايا عدائية ومن ثم تدميرها، وان هذه العلاجات تشمل أستخدام أجسام مضادة أحادية الاستنساخ (أحادية النسيلة) Monoclonal antibody

therapy، أن الهدف من أستخدام العلاج المناعي هو للقضاء على الخلايا السرطانية ولفترات طويلة ومن دون تأثيرات مضادة على الأنسجة الطبيعية ويعد علاج Trastuzumab علاجاً مناعياً فعالاً في حالة أمراض سرطان الثدي الأولية والانبثاثية (Piccart- Gebhartوجماعته،2005).

5- العلاج الجراحي Surgical treatment

تعتبر الجراحة من الأركان الرئيسية في علاج سرطان الثدي، ومن الطرق الجراحية الشائعة في المعالجة هي استئصال الثدي الجداري (Mastectomy) إذ يكون الهدف من الجراحة إزالة الأورام النسيجية وكذلك إزالة العقد اللمفاوية (Winerوجماعته،2001).

2-2-10 الجهاز اللمفاوي ودوره في سرطان الثدي

يعد الجهاز اللمفاوي جهاز نقل باتجاه واحد مكون من الأوعية اللمفاوية (Lymphatic vessels) والأعضاء اللمفاوية (Lymphoid Organs)، أن وظيفة الأوعية اللمفاوية هي حمل السوائل وبروتينات البلازما الناضحه إلى الفراغات الاحشائية في الأنسجة ورجوعها إلى الجهاز الوعائي القلبي، أما الأعضاء اللمفاوية والتي منها نخاع العظم، العقد اللمفاوية (Lymph nodes)، الطحال (Spleen)، اللوزتين (Tonsils)، الغدد الزعترية (Thymus) فلها وظائف عدّه منها أنتاج الخلايا اللمفاوية وتوزيعها وحفظها (OlszewskiK،2003)

وقد أوضحت الدراسات أنه إذا كان الجهاز اللمفاوي تحت الإجهاد المزمن بسبب عائق يؤدي إلى عدم إمرار اللمف عبر فتحته (نقطة الاتصال اللمفاوية الوريدية) Lymphatic venous فسوف يؤدي ذلك إلى أن يسلك اللمف طريقاً جانبياً، أن حالة الانبثاث في العقد اللمفاوية تعد مؤشراً لحالة سرطانية خبيثة لدى المرضى (Alitalo،2005) إذ تعمل العقد اللمفاوية كمستودع للخلايا السرطانية وتوفر بيئة داعمة لحركة الخلايا السرطانية إلى الأعضاء البعيدة (Tammelaو Alitalo، 2010 و Joyce وPollard،2009).

2-2-11 سرطان الثدي المبكر الحدوث Early- Onset Breast Cancer

إن الطفرات في جيني سرطان الثدي الأول والثاني (BRCA1, BRCA2) تساهم في حدوث سرطان الثدي المبكر الحدوث في مناطق ومجموعات عرقية مختلفة، فعلى الرغم من كثرة حالات الإصابة في اليهود الاشكناز إلا أن الدراسات الحديثة التي أجريت في شمال أمريكا، والمملكة المتحدة، واسبانيا، وهولندا، وألمانيا أوضحت بان الطفرات في جيني سرطان الثدي الأول والثاني (BRCA1, BRCA2)

كانت سائدة بين مرضى سرطان الثدي المبكر الحدوث وبنسبة تتراوح (5− 10%) (De Leon Matsudaوجماعته،2002)

وأشارت المصادر إلى أن هناك اختلافات حقيقية في نسب الإصابة بين المرضى ذو الأصول العرقية والاثنية إذ أن الدراسات أظهرت فرص وجود طفرات مرضية في جيني (BRCA1, BRCA2) في مرضى سرطان الثدي المبكر الحدوث (Hamannوجماعته،2003) يزداد بزيادة أعداد الأقرباء (الدرجة الأولى) والمصابين بمرض سرطان الثدي وبالتالي فان تكرار طفرات الحذف Deletion Mutation في المرضى ذوي التاريخ الوراثي الموجب يكون أقوى مقارنا مع المرضى الذين لا يمتلكون أي تاريخ وراثي مع المرض، أن اغلب حالات سرطان الثدي المبكر الحدوث والتي تحمل طفرات في جيني (BRCA1, BRCA2) هي وراثية ولكن قد تكون هناك حالات شائعة (غير وراثية) Sporadic في الأفراد الذين هم من دون أي تاريخ وراثي موجب مع مرض سرطان الثدي. وهذا يعني أن سرطان الثدي لا يقتصر على العائلة ذوات التاريخ الموجب مع سرطان الثدي ولكن أيضاً يشمل النساء المصابات بسرطان الثدي من دون أي تاريخ وراثي مع هذا المرض (Choiوجماعته،2004).

2-2-12 سرطان الثدي في الذكور Breast cancer in males

سرطان الثدي يحصل في الرجال مثلما يحدث في النساء ولكن بشكل يكاد أن يكون نادراً وبنسبة (1%) من كل أنواع السرطانات في الذكور، إذ تسبب الطفرات في جين (BRCA2) عامل خطورة قوياً للإصابة بسرطان الثدي في الذكور، أن الذكور الذين يمتلكون طفرات في جين (BRCA2) هم الأكثر خطورة من ناحية الإصابة بسرطان الثدي وبنسبة (10%) ففي دراسة أجريت في فلندا أظهرت أن حوالي (12%) من سرطان الثدي الذكري كان بسبب حدوث طفرات في جين (BRCA2) (Syrjakoskiوجماعته،2004)

أن الطفرات في جين (BRCA1) يمكن أن تسبب سرطان الثدي في الذكور ولكن الخطر يكون اقل مقارنة مع الطفرات في جين (BRCA2)، كما أن سرطان الثدي يحدث في الرجال بعمر (60 سنة) إذا كانوا يمتلكون تاريخاً وراثياً مع سرطان الثدي، ومن الأسباب الأخرى لحدوث سرطان الثدي في الرجال هي تغيرات هرمونية وخصوصا في هرموني الاستروجين Estrogen والتستستيرون Testosterone (Weissوجماعته،2005).

الفَصْلُ الثَّالِثُ

المواد وطرائق العمل

المواد وطرائق العمل Materials & methods

1-3 المواد

1-1-3 الأجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة

جدول (3−1) يوضح الأجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة في الدراسة

ت	اسم الجهاز أو المستلزم		الشركة المصنعة والمنشأ
1	حافظة مبردة لنقل العينات		صنع محلي
2	الكابينة المعقمة	Laminar flow cabinet	Jeiotech (Korea)
3	حمام مائي	Water bath	Labtech (Korea)
4	جهاز النبذ المركزي	Centrifuge	Hereaus (Germany)
5	جهاز النبذ المركزي المبرد	Cooling Centrifuge	Hettich (Germany)
6	ميزان الكتروني حساس	Electrical sensitive balance	Sartorius(Germany)
7	محراك مغناطيسي	Magnetic stirrer	Labtech (Korea)
8	جهاز تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل	Thermal cycler DAN incubator	Cleaver scientific (USA)
9	جهاز الترحيل الكهربائي	Gel electrophoresis apparatus	Cleaver scientific (USA)
10	جهاز التوثيق الفوتوغرافي	Photo documentation system	Cleaver scientific (USA)
11	مجهز الطاقة الكهربائية المستمر	Electrophoresis constant power supply	Cleaver scientific (USA)
12	جهاز مطياف الأشعة الفوق البنفسجية	UV light transillminator	Cleaver scientific (USA)
13	مازج	Vortex	Dubuque (USA)
14	مجمدة	Freezer	Thalhemet (Japan)
15	ماصات أوتوماتيكية	Automatic Micropipettes	Bio Basic (Canada)
16	جهاز تسو التحليلي	TOSOH AIA-360 System Analyzers	TOSOH Corporation (Japan)
17	أنابيب مانعة للتخثر EDTA	EDTA coated tube	AFMA (Jordan)
18	زجاجيات مختلفة	Pyrex	Volac (England)
19	محقنه طبية	Medical Syringe	Jordan
20	أنابيب ابندروف	Eppendrofs tubes	Qrenier (Germany)
21	تبات	Pipets tips	Nunclon(Denmark)

TOSOH Bioscience (Japan)	Sample Cups	عينة كاسية	22

2−1−3 المواد الكيميائية Chemical materials

جدول (3-2) يوضح المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة.

الشركة المصنعة والمنشأ	اسم المادة الكيميائية		ت
Promega (USA)	Wizard Genomic DNA Purification Kits (cat. A1120)	عدة استخلاص DNA	1
BIO BASIC (Canada)	Agarose	أكاروز	2
BIO BASIC (Canada)	10X TBE Buffer Solution	محلول بفر منظم	3
Bioneer (Korea)	DNA ladder Marker(100-2000 bp)	معلمات الحجم	4
Bioneer (Korea)	Bromo phenol blue	صبغة برومو فينول الزرقاء	5
Bioneer (Korea)	Primers	بوادئ	6
Bioneer (Korea)	PCR PreMix	ماستر مكس	7
BIO BASIC (Canada)	Ethidium Bromide	بروميد الاثيديوم	8
BIO BASIC (Canada)	Isopropanol	أيزوبروبانول	9
Scharlau (Spain)	Absolute Methanol	كحول مثيلي مطلق	10
Aquarama (Canada)	Deionized water	ماء مزال الأيون	11
TOSOH Corporation (Japan)	AIA–PACK Wash concentrate	محلول الغسل المركز	12
TOSOH Corporation (Japan)	AIA–PACK 27.29 Sample Diluting Solution	محلول تخفيف عينة 27.29	13
TOSOH Corporation (Japan)	AIA–PACK Detector Standardization Test Cup	عبوةأختباركأسيه قياسية كاشفة	14
TOSOH Corporation (Japan)	AIA –PACK Diluent Concentrate	محلول التخفيف المركز	15
TOSOH Corporation (Japan)	Substrate Solution	محلول المادة الفعالة	16

2-3 طرائق العمل Methods

3–2–1 جمع العينات

تم جمع العينات من مراجعات العيادة التخصصية للكشف المبكر لسرطان الثدي في مستشفى الحسين (ع) التعليمي في محافظة كربلاء. شملت الدراسة (69) مريضة مراجعة للعيادة، إذ قسمت العينات بالاعتماد على تاريخ المرض عند العائلة إلى (29) مريضة مصابة بسرطان الثدي الشائع Sporadic Breast Cancer و(40) مريضة مصابة بسرطان الثدي الوراثي Hereditary Breast Cancer وتمت مقارنتها مع (30) أمراه من الأصحاء وللفترة 28 من تشرين الثاني2011 لغاية 30 كانون الأول 2012، وتم استثناء النساء المعالجات بالعلاج الكيميائي أو الإشعاعي.

3–2–2 جمع المعلومات

جمعت المعلومات من المرضى وكذلك مجموعة السيطرة اعتمادا على استمارة خاصة تم أعدادها لبيان بعض المعلومات المرتبطة بالعينات، إذ تمت دراسة تأثير العوامل التالية على نسب الإصابة بسرطان الثدي وهذه العوامل هي : العمر ،محل السكن ،الحالة الزوجية ،عدد الأطفال ، وجود أمراض سرطانية في العائلة ،حالة الرضاعة ، الوزن ، صلة القرابة بين الوالدين ، التدخين

استمارة استبيان

1. **رقم العينة:**
2. **العمر:**
3. **الحالة الزوجية:**
4. **صلة القرابة بين الوالدين:**
5. **حالة الرضاعة:**
6. **الوزن:**
7. **عدد الأطفال:**
8. **وجود أمراض سرطانية في العائلة:**

3-2-3 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 إذ 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 إذ تم أجراء هذا الفحص في مختبر المناعة لمستشفى الحسين (ع) التعليمي.

4-2-3 اختبار المعلمات الورمية الخاصة بسرطان الثدي Tumor marker(CA 27.29) Test

يستخدم هذا الاختبار فقط للكشف عن القياسات الكمية لمستضد سرطان الثدي CA 27.29 في مصل الإنسان ويتم هذا الاختبار بواسطة استخدام جهاز تسو التحليلي TOSOH AIA-360 System Analyzers'

1-4-2-3 مكونات اختبار CA 27.29 Test

يتكون هذا الاختبار من المكونات التالية:

1-عبوة محلول تخفيف العينة AIA- PACK 27.29 Sample Diluting Solution

2-عبوة مسحوق الغسل المركز AIA- PACK Wash Concentrate

3-عبوة اختبار كأسيه قياسية كاشفة AIA-PACK Detector Standardization Test Cup

4- عبوة مسحوق التخفيف المركز AIA- PACK Diluent Concentrate

2-4-2-3 طريقة عمل اختبار CA 27.29 Procedure of CA 27.29 Test

*** تحضير المادة الفعالة Reagent preparation**

1- محلول المادة الفعالة Substrate Solution

يُحضر بواسطة إضافة (100 ml) من AIA-PACK Substrate Reconstituent II إلى (100 ml) مادة AIA-PACK Reagent II ومن ثم مزجهما بقوة لإذابة المادة الصلبة.

2- محلول الغسل Wash Solution

تم إضافة (960 ml) من الماء المقطر distal water إلى (40 ml) من عبوة مسحوق الغسل المركز AIA-PACK Wash concentrate

3- محلول التخفيف Diluent Solution

يحضر بواسطة أضافة (980 ml) من الماء المقطر Distal water إلى (20 ml) من عبوة مسحوق التخفيف المركز AIA-PACK Diluent Solution.

4- أضُيف (50µl) من المصل إلى أنبوبة حجم (5ml) حاوية على (1000µl) من مادة AIA-PACK 27.29 Sample Diluting Solution

5- تم خلط المزيج جيدا بواسطة المازج Vortex، إذ تم سحب (500 µl) من هذا المزيج ووضُعت في أنابيب كأسية Sample cups

6- وضُعت هذه الأنابيب الكاسية في جهاز تسو التحليليTOSOH AIA-360 System Analyzers ، بعد ذلك يتم وضع أنبوبة اختبار كأسية قياسية كاشفة AIA-PACK Detector Standardization Test Cup تحت كل أنبوبة كأسية والحاوية على المصل ومحلول تخفيف العينة.

7- تتكون أنابيب الاختبار القياسية الكاشفة AIA-PACK Detector Standardization Test Cup من مجموعة من الأوعية البلاستكية تحتوي على أثني عشر عقدة مغناطيسية متبلورة مغطاة بمستضد CA27.29 المُستحصلة من الأجسام المضادة الأحادية المجاميع و (100µl) من مادة مضاد CA27.29 للفئران والمقترنة بمادة القاعدي فوسفاتيز البقري bovine alkaline phosphataes مع مادة أزيد الصوديوم sodium azide كمادة حافظة.

8- عند وضع محلول المادة الفعالة substrate solution في جهاز تسو التحليلي يحصل تفاعل بينها وبين المادة الأنزيمية المرتبطة والموجودة بشكل مسحوق في أنابيب الاختبار الكاسية القياسية الكاشفة، وان هذا التفاعل يساعد على جذب المستضد نحو الضد ونتيجة لهذا التفاعل يحصل ضوء مشع فكلما كانت شدة الضوء عالية كان تركيز المستضد عالٍ.

9- تبقى العينات في جهاز تسو التحليلي لمدة (40 دقيقة) إذ تظهر النتائج على شكل قراءات مدون فيها رقم وتاريخ العينة ونتيجة الاختبار، يتم ضرب نتيجة كل عينة بعامل التخفيف dilution factor وقدره (21).

10- يتم مقارنة الرقم المستخرج بعد ضربه بعامل التخفيف بالمعدل الطبيعي لاختبار CA 27.29 والذي هو Range ≤ 23 U/ML

3-2-5 التوصيف الجزيئي

تم استخلاص الحامض النووي الـ DNA من عينات الدم للعينات المشمولة بالدراسة لغرض أجراء الفحص الجزيئي للطفرات المشمولة بالدراسة

3-2-5-1 استخلاص الـ DNA

*** مكونات عدة استخلاص إلـ DNA Isolation Kit Components**

Componentsالمكونات	الكمية Amount/مل
1- محلول تحليل الخلايا Cell lysis Solution	(500)
2- محلول تحليل النواة Nucleic lysis solution	(250)
3- محلول ترسيب البروتين Protein precipitation solution	(125)
4- محلول إعادة هدرجة إلـ DNA Rehydration solution DNA	(100)

*** طريقة استخلاص الـ DNA Protocol Isolation DNA**

تم استخلاص الـ DNA من الدم بحسب تعليمات عدة (Kit) لشركة Promega (الطرد المركزي كان بسرعة 15000 دورة/ دقيقة وبدرجة حرارة الغرفة)

1- أضيف (300 µl) من الدم إلى ابندروف حاوية على (900 µl) من محلول Cell lysis solution ومزج الخليط بلطف وترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة (10 دقيقة) لتحليل الخلايا.

2- نبذت الأنابيب لمدة دقيقة واحدة.

3- أهمل الرائق بلطف من دون أتلاف الطبقة البيضاء ثم رُجّت الأنابيب لتعليق المكونات الخلوية.

4- أضيف (300 µl) من محلول Nucleic lysis solution ومزجت المحتويات بالماصة الدقيقة ثم حضن الخليط بدرجة حرارة (37^o) لمدة ساعة مع الرج.

5- أضيف (1.5 µl) من Rnase وحضن الخليط بدرجة حرارة (37^o) لمدة 15 دقيقة لتحليل RNA.

6- وضعت الأنابيب في الثلج لمدة 5 دقائق ثم أضيف لها (100 µl) من protein precipitation solution ثم رجت الأنابيب بلطف.

7- نبذت الأنابيب لمدة 3 دقائق.

8- نقل الرائق إلى أنابيب حاوية على (300 µl) من الايزوبروبانول Isopropanol ثم مزج الخليط بلطف لمشاهدة خيوط الـ DNA.

9- نبذت الأنابيب لمدة 3 دقائق.

10- أهمل الايزوبروبانول بلطف Isopropanol وأضيف (300 µl) من الايثانول Ethanol (70%) إلى إل DNA المتمركز على جدران الأنبوبة ثم رجت الأنابيب لغسل الـ DNA.

11- نبذت الأنابيب لمدة 3 دقائق.

12- تم إزالة الايثانول Ethanol بلطف ثم قلبت الأنابيب على ورق نشاف لتجفيفها لمدة 15 دقيقة.

13- أضيف (100 µl) DNA Rehydration solution ثم حضنت الأنابيب في حمام مائي بدرجة حرارة (65^o) لمدة ساعة مع الرج.

14- حفظت الأنابيب بدرجة حرارة (-20°) في المجمدة Freezer.

3-2-5 -2 ترحيل الـ DNA على هلام الأكاروز Agarose Gel Electrophoresis

بعد استخلاص الـ DNA اعتمدت طريقة Sambrook وجماعته(1989) للتأكد من وجود الـ DNA المستخلص من الدم

*** مواد الترحيل الكهربائي Reagents of Gel Electrophoresis**

1- أكاروز Agarose
2- محلول بفر المنظم 10 X TBE buffer solution
3- صبغة برومو فينول الزرقاء Bromophenol Blue
4- بروميد الاثديوم Ethidium Bromide
5- معلمات الحجم DNA ladder Marker (100- 2000 bp)

*** خطوات الترحيل الكهربائي Protocol of Gel Electrophoresis**

- **تحضير هلام الأكاروز**

1- تم إذابة (0.8غم) من الأكاروز في (100 مل) من 1 X TBE بواسطة تسخين المزيج إلى درجة الغليان باستخدام الحمام المائي إلى أن تم إذابة كل دقائق الجل إذ يبدو المزيج صافي من دون أي دقائق عالقة من المسحوق .
2- تم إضافة (2 µl) من بروميد ألاثيديوم Ethidium Bromide إلى سائل الأكاروز
3- حرك سائل الأكاروز لكي يمتزج ولتجنب حدوث فقاعات
4- صب المزيج في صفيحة ألإسناد وبعد غمس المشط comb قرب أحدى نهايتي الصفيحة
5- ترك المزيج ليتصلب في درجة حرارة الغرفة
6- تم إزالة المشط بهدوء وكذلك مساند الصفيحة
7- وضعت الصفيحة في مسندها في وحدة الترحيل الكهربائي ثم غطيت ببفر الترحيل 1X TBE حيث تم تغطية الهلام.

- **تحميل الـ DNA والترحيل الكهربائي DNA loading & Electrophoresis**

مزج (10 µl) من الـ DNA مع (3 µl) من صبغة البروموفينول الزرقاء Bromophenol Blue إذ حملت العينات في الحفر المفردة من الجل. تم ترحيل العينات على طاقة كهربائية مقدارها (70 فولت) ولمدة ساعة، إذ تم الترحيل من الكاثود (-) إلى ألانود (+)، ثم تم استخدام جهاز مطياف الاشعة فوق

البنفسجية UV light transillminator لغرض مشاهدة حزم الـ DNA، وان الحزم الملونة بصبغة برومايد الاثيديوم صورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوعرافي Photo documentation system.

3-2-5-3 التوصيف الجزيئي للطفرات المدروسة

- **اختيار البوادئ**

تم اختيار البوادئ Primers وكما موضح في الجدول رقم (3-3) لغرض أجراء الكشف الجزيئي على الطفرات المدروسة (Chan وجماعته ، 1999 و Fattahi وجماعته،2009 و Mehdipour وجماعته ،2066 و Rassiوجماعته ، 2008).

جدول رقم (3-3) 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′

- **تخفيف البوادئ Primers Dilution**

جُهزت البوادئ جميعها من شركة Bioneer Company/ Korea كمسحوق Lyophilized product بتراكيز مختلفة، تم تحضير محلول الخزين Stock solution ومحلول العمل Working solution بحسب تعليمات شركة Bioneer. حُضر محلول الخزين وذلك بإضافة الماء المزال الأيون Deionized water للحصول على التركيز النهائي للعالق (100 picomols/ µl). أما محلول العمل Working solution فقد تم تحضيره بواسطة سحب (10 µl) من محلول الخزين (100 picomols/ µl) وتخفيفه بـ (90 µl) من الماء المزال الأيون للحصول على التركيز النهائي لمحلول العمل والذي هو (10 picomols/ µl) .

4-5-2-3 تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل لجيني سرطان الثدي الأول والثاني
Polymerase Chain Reaction (PCR) for BRCA1&BRCA2 genes

يوضح الجدول رقم (3−4) المواد المستخدمة في الكشف الجزيئي باستخدام تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل للعينات المدروسة

جدول رقم(3-4) يوضح المواد المستخدمة في تفاعل أنزيم البلمره المتسلسل

Component	Reaction size 20 reaction
Taq DNA polymerase Each: d NTP(d ATP ,d CTP,d GTP, d TTP) Tris- Hcl (PH 9.0) Kcl Mgcl2 Stabilizer and tracking dye Template DNA Primer H2O	1 U 250 µ M 10 mM 30 mM 1.5 mM 5-10 ng 5-10 pmole 17 µl

بعد ذلك تم مزج المواد بواسطة المازج Vortex ثم نُقلت ألأنابيب إلى جهاز إلـ PCR، وتوضح الجداول التالية البرامج المستخدمة في الكشف الجزيئي باستخدام تقنية إلـ PCR بحسب نوع الطفرات المدروسة

جدول رقم (3−5) 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 (3−6) 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 (3−7) 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	-	

3-2-5-5 تحميل ناتج تفاعل البلمره المتسلسل والترحيل الكهربائي
Loading PCR product & Electrophoresis

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

3-2-6 التحليل الإحصائي

لغرض تحليل النتائج إحصائيا، تم استخدام برنامج التحليل الإحصائيStatistical Analysis System (SAS) 6.12 V /2001 حيث تم اعتماد مستوى المعنوية ($P\leq 0.01$) و($P\geq0.05$) لتحديد الفروقات الإحصائية والمعنوية للنتائج.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

النتائج والمناقشة Results & Discussion

4-1 جمع المعلومات

من خلال جمع البيانات لـ (69) مريضة مصابة بسرطان الثدي طبقا لاستمارة مُعدة لهذا الغرض وذلك لدراسة تأثير بعض العوامل المهمة على نسب الإصابة بسرطان الثدي في النساء ومن هذه العوامل ما يلي:

4-1-1 الحالة الزوجية

عند دراسة نتائج جمع المعلومات لمعرفة تأثير الحالة الزوجية على نسب الإصابة بسرطان الثدي، تبين أن أعلى نسبة اصابة بسرطان الثدي الشائع كانت لدى النساء المتزوجات و بنسبة 25 (86.20%) واقلها في العازبات وبنسبة 4 (13.79%)، أما في حالة سرطان الثدي الوراثي فكانت أعلى نسبة إصابة بالمرض 37 (92.50%) من المتزوجات واقل نسبة إصابة في النساء العازبات وبنسبة 3 (7.50%)، وقد أظهر التحليل الإحصائي فرقاً معنوياً عالياً ($P\leq0.01$) بين المعدلات العامة للإصابة بالمرض فكانت المتزوجات أعلى معدل إصابة (89.35) بالمرض مقارنة بالعازبات إذ بلغ (10.64)، ولم تكن هناك فروقاً معنوية بين معدلات الإصابة بين نوعي سرطان الثدي (الشائع والوراثي) عند مستوى معنوية ($P\geq0.05$) وهذا ما أشار إليه جدول (4−1).

ومن خلال ملاحظة هذه النتائج نجد أن هناك أسباب عدّه تعد من العوامل المساعدة لحدوث سرطان الثدي لدى المتزوجات، وأولها استخدام موانع الحمل الفموية والتي لها علاقة قوية بسرطان الثدي (Veronesiوجماعته،2005)، ولقد أشار Althuisوجماعته(2003) إلى أن تأثير هذه الموانع على سرطان الثدي يعتمد على عدة عوامل منها: تاريخ أنتاجها ووقت البدء بأخذها بعد الطمث وبعد ولادة الطفل الأول بالإضافة إلى نوعها، وان هذه العوامل يجب أن تأخذ بالحسبان وذلك لعلاقتها بالتخمين بحدوث سرطان الثدي، أما Jernstrom وجماعته(2005) فقد أكد أن استخدام هذه الموانع لأكثر من (10) سنوات يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي، وثاني هذه الأسباب قلة الولادات (انعدام الإنجاب) إذ تعّد من العوامل المرتبطة أيضاً مع خطر الإصابة بسرطان الثدي فقد أشارت دراسات Nicholsوجماعته(2005) وHolmbergوجماعته (2005) إلى أن ولادة المرأة لطفلها الأول بعد سن الثلاثين يكون مرتبطاً مع خطر الإصابة بسرطان الثدي، كما أن الإجهاض يرتبط بخطر الإصابة بسرطان الثدي (Lanfranchi،2005).

جدول (4- 1) تأثير الحالة الزوجية على نسبة الإصابة بسرطان الثدي لدى النساء

المتغيرات	المرضى				المعدل العام لنسبة الإصابة في الحالة الزوجية	مستوى المعنوية للفئات
الحالة الزوجية	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الوراثي			
	العدد	نسبة الإصابة%	العدد	نسبة الإصابة%		
متزوجة	25	%86.20	37	%92.50	3.12±89.35 A	P=0.0001
عزباء	4	%13.79	3	%7.50	1.45 ± 10.64 B	
المعدل العام لنسبة الإصابة في المعاملات	16.26 ± 49.9 A		19.14 ± 50 A			
مستوى المعنوية بالمعاملات	P=0.998					

- المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة لا تختلف معنويا.

-القيم تمثل النسب المئوية ± الخطأ القياسي.

2-1-4 الرضاعة

يتضح من جدول (4−2) تأثير الرضاعة الطبيعية على نسب الإصابة بسرطان الثدي إذ أن 3 (10.34%) من النساء المرضعات كن أقل إصابة بسرطان الثدي الشائع مقارنةً بـ 26 (89.65%) من النساء غير مرضعات واللواتي كن أكثر إصابة بالمرض نفسه، في حين أن 31 (77.50%) من النساء الغير مرضعات كن أعلى إصابة بسرطان الثدي الوراثي عند مقارنتها مع اقل إصابة ظهرت لدى النساء المرضعات وبنسبة 9 (22.50%)، كما أتضح من نتائج الجدول نفسه بان هناك فروق عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) بين النساء المرضعات وغير المرضعات وبمعدلات اصابة (2.77±16.4) للمرضعات و (4.0±83.5) لغير المرضعات، ولم يظهر فرق معنوي في معدلات الإصابة بسرطان الثدي الشائع مقارنةً بسرطان الثدي الوراثي.

تعد الرضاعة الطبيعية احد العوامل الوقائية من خطر الإصابة بسرطان الثدي (Vona-Davis وRose، 2009) إذ تقلل الرضاعة الطبيعية من خطر الإصابة بسرطان الثدي بنسبة (4.3%) لكل 12 شهر أضافية من الرضاعة، كما أشار Phippsوجماعته(2008) إلى أن الفترة القصيرة من الرضاعة الطبيعية تساهم في زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي بمرور الوقت، في حين تلعب الفترات الطويلة من الرضاعة الطبيعية دوراً مهماً في تقليل خطر الإصابة بأورام الثدي القنوية، وتقليل تمايز أنسجة الثدي وانخفاض مستويات الاستروجين في حين بينَ Whiteman

وجماعته(2008) و Yangو Jacobsen (2004) إلى عدم وجود أي علاقة واضحة بين الرضاعة الطبيعية وبين الإصابة بسرطان الثدي، كما لا يوجد أي تأثير وقائي للرضاعة الطبيعية من الإصابة بسرطان الثدي.

جدول (4-2) يوضح تأثير الرضاعة الطبيعية على نسبة الإصابة بسرطان الثدي في النساء

المتغيرات	المرضى				المعدل العام لنسبة الإصابة في الحالة الرضاعة	مستوى المعنوية بلفئات
حالة الرضاعة	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الوراثي			
	العدد	نسبة الإصابة%	العدد	نسبة الإصابة%		
ترضع	3	%10.34	9	%22.50	2.77±16.4 B	P= 0.0001
لا ترضع	26	%89.65	31	%77.50	4.0±83.5 A	
المعدل العام لنسبة الإصابة في المعاملات	17.8±49.9 A		12.4±50 A			
مستوى المعنوي بلمعاملات	P=0.9992					

- المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة لا تختلف معنويا.
-القيم تمثل النسب المئوية ± الخطأ القياسي.

3-1-4 صلة القرابة بين الوالدين

يتضح من جدول (4–3) تأثير صلة القرابة بين الوالدين على نسب الإصابة بسرطان الثدي حيث ان أعلى نسبة إصابة 15 (51.70%) بسرطان الثدي الشائع كانت في النساء اللواتي لم تكن هناك أي قرابة تربط أبويهن مقارنة بـ 14 (48.20%) من النساء اللواتي تربط أبويهن صلة قرابة وهن الأقل نسبة أصابه بالمرض نفسه، في حين أن 24 (60%) من النساء اللواتي تربط آباؤهن قرابة كن الأعلى نسبة إصابة بسرطان الثدي الوراثي عند مقارنتها مع اقل نسبة إصابة 16 (40%) في النساء اللواتي لم يكن بين أبويهن أي قرابة تذكر، ولم تكن لصلة القرابة من الناحية الإحصائية أي تأثير معنوي ($P\geq0.05$) على معدلات الإصابة بين نوعي سرطان الثدي (الشائع والوراثي)، وكذلك على معدلات الإصابة في حالة القرابة وانعدامها بين الوالدين.

أشار Morrow وGradishar (2002) إلى أن (5– 10%) من كل سرطانات الثدي هي مسببة بواسطة العوامل الوراثية، وأنّ النساء التي تحمل أي من الجينات المتأثرة تمتلك خطر بحدود (10– 30) مرة لتطور سرطان الثدي مقارنةً بالنساء السليمات (Foulkes،2008)، في حين أكد

Lux وجماعته(2006) أن الطفرات في جيني (BRCA1, BRCA2) وجدت في (30– 40%) من مرضى سرطان الثدي الوراثي وتشكل (3– 4%) من كل حالات سرطان الثدي، وأن النساء اللاتي تحمل طفرات في جيني (BRCA1, BRCA2) تمتلك خطراً للإصابة بسرطان الثدي والذي يقدر بأكثر من (80– 90%)، ولقد أشار Clemons وGoss (2001) إلى أن كل حالات سرطان الثدي الغير متوارثة تسمى بسرطان الثدي الشائع ويمثل اغلب حالات سرطان الثدي وان اغلب عوامل الخطورة في سرطان الثدي الشائع هي هرمونية، وان نتائج الدراسة الحالية تظهر بأن صلة القرابة لم يكن لها أي تأثير في معدل الإصابة بسرطان الثدي أي لم تكن احد أسباب الإصابة بسرطان الثدي ولكن قد تكون الإصابة بسرطان الثدي بسب عوامل أخرى إذ أشارت دراسات Andersوجماعته (2009) إلى تأثير عدد من العوامل على نسب الإصابة بسرطان الثدي منها (العمر، الطمث المبكر، انقطاع الطمث المتأخر والتدخين)، تناول الكحول، العوامل الهرمونية، الولادة بعد سن الثلاثين، قلة الإنجاب، انعدام الرضاعة الطبيعية، العوامل البيئية، التلوث، قلة النشاط الرياضي، السمنة، سوء التغذية، العّرق وعوامل أخرى غير معروفة(Pruitt وجماعته، 2009 وGray،2009 وJohnوجماعته،2005)

جدول (4-3) يوضح تأثير صبة القرابةبلوالدين عى نسبة الإصابة بسرطان الثدي في النساء

المتغيرات	المرضى				المعدل العام لنسبة الإصابة في متغير صبة القرابةبلوالدين	مستوى المعنوية بلفئات
صبة القرابةبلوالدين	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الوراثي			
	العدد	نسبة الإصابة%	العدد	نسبة الإصابة%		
اقارب	14	%48.20	24	%60	3.21±54.13 A	P=0.101
غرباء	15	%51.70	16	%40	2.86±45.86 A	
المعدل العام لنسبة الاصابة في المعاملات	1.38 ± 49.9 A		4.84±50 A			
مستوى المعنوية بلمعاملات	P=0.999					

-المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة لا تختف معنويا.
-القيم تمثل النسب المئوية ± الخطأ القياسي.

4-1-4 عدد الأطفال

اوضحت النتائج إنّ الإصابة بسرطان الثدي الشائع كانت اعلى ما يمكن في النساء المنجبات لخمسة اطفال فأكثر وبنسبة 13 (52%) مقارنة بالنساء اللواتي ينجبن (1−4) أطفال وبنسبة 9 (36%) واقلها في النسوة اللواتي لا يمتلكن أطفال والبالغة 3 (12%)، بينما كانت 22 (59.45%) هي أعلى نسبة إصابة بسرطان الثدي الوراثي في مجموعة النساء المنجبات من (1−4) أطفال واقل نسبة إصابة 10 (27.02%) في حالة النساء المنجبات لخمسة اطفال فأكثر في حين سُجلت أقل نسبة إصابة بالمرض نفسه عند النساء غير المنجبات وبنسبة 5 (13.50%)، ولم تظهر أي تأثيرات معنوية لمتغير عدد الاطفال على معدلات الإصابة بسرطان الثدي الشائع والوراثي في حين ظهرت فروقات عالية المعنوية في معدلات الإصابة بين النساء المنجبات (47.72±5.29) وبين النساء العديمات الإنجاب (12.75±0.49) ولم تظهر فروقات معنوية تذكر في معدلات الإصابة بالنسبة لقلة او كثرة عدد الاطفال في النساء وهذا ما تبين من بيانات جدول (4−4)

لقد أكدت عدد من الدراسات على دور وأهمية الإنجاب (Parity) في الإصابة بسرطان الثدي حيث أشار Maوجماعته(2006) و Phippsوجماعته(2008) وButt وجماعته(2009)إلى أن زيادة الولادات أو عدد الأطفال يقلل من خطر الإصابة بسرطان الثدي، وقد أشارت دراسات أخرى TravisوKey (2003)وHuoوجماعته(2008)وLotfiوجماعته (2008) أن الثدي إثناء الحمل يمر بتغيرات كبيرة تتضمن تمايزاً في الأنسجة الطلائية للثدي وتأخيراً لدورة الاباضة وتقليلاً في مستويات الاستروجين وزيادة أنتاج البرولاكتين والذي يقلل من تعرض النساء إلى الاستروجين وهذا بدوره يمنع البدء بنمو خلايا سرطان الثدي، بينما أشار Shindeوجماعته(2010) إلى أن كثرة الولادات تزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي إذا اقترنت هذه الحالة بفترة رضاعة طبيعية قصيرة حيث تعتبر الرضاعة الطبيعية من العوامل الوقائية من سرطان الثدي، كما أشار Albrektsenوجماعته(1994) إلى أن تعدد الولادات وإنجاب أكثر من (5 أطفال) يكون مرتبطاً مع خطر الإصابة بسرطان الثدي بنسبة (0.46%)، ومما تقدم نجد أن نتائج الدراسة الحالية لا تتفق مع عدد من النتائج المذكورة أعلاه وهذا قد يعود إلى صغر حجم العينة للنساء غير المنجبات، حيث بلغ (8) مقارنة بـ (54) امرأة منجبة مما أثر وبشكل واضح على نسب الإصابة بسرطان الثدي عند النساء المشمولات بالدراسة .

جدول (4-4) يوضح تأثير عدد الأطفال على نسبة الإصابة بسرطان الثدي في النساء المتزوجات

المتغيرات	المرضى				المعدل العام لنسبة الإصابة لمتغير عدد الاطفال	مستوى المعنوية بلفئات
	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الوراثي			
عدد الأطفال	العدد	نسبة الإصابة%	العدد	نسبة الإصابة%		
لا يوجد أطفال	3	%12	5	%13.50	0.49 ±12.75 B	P=0.0003
1-4 أطفال	9	%36	22	%59.45	5.29± 47.72 A	
5 أطفال فأكثر	13	%52	10	%27.02	5.63±39.51 A	
المعدل العام لنسبة الإصابة في المعاملات	5.83 ±33.3 A		6.83±33.32 A			
مستوى المعنوية بلمعاملات	P=0.998					

-المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة لا تختلف معنويا.
-القيم تمثل النسب المئوية ± الخطأ القياسي.

4-1-5 العمر

أشارت نتائج جدول (4–5) إلى اختلاف نسبة الإصابة باختلاف العمر، إذ سجلت الفئة العمرية المحصورة بين (30–40) سنة أعلى نسبة إصابة بمرض سرطان الثدي إذ بلغت 14 (35%)، في حين مثلت نسب الإصابة 11 (27.50%) الفئة العمرية التي تليها والمحصورة بين (41– 50 سنة)، أما الفئات العمرية الأقل من (30 سنة) والأكثر من (60 سنة) فكانت الأقل نسبة إصابة إذ بلغت 6 (15%) و 3 (7.50%) على التوالي، ويتضح من نتائج التحليل الإحصائي بأن هناك فروق عالية المعنوية بين الفئات المذكورة أنفاً، إذ كانت الفئة العمرية من (30– 40 سنة) أكثر إصابة بالمرض وبمعدل (31.12 ±1.92) واقل معدل إصابة (7.19 ±0.38) كان في النساء التي تجاوزت أعمارهن (60 سنة)، أما النساء اللواتي تنحصر أعمارهن بين (41– 50 سنة) فكن الأعلى معدل أصابة (27.37 ±0.83) مقارنة بالنساء ذوات الفئة العمرية (اقل من 30 سنة) والفئة العمرية بين (51– 60 سنة) إذ بلغت (21.29 ±2.87) و (12.67 ±1.10) على التوالي، ولم يظهر أي فرق معنوي (P≥0.05) بين معدلات الإصابة بسرطان الثدي الشائع وسرطان الثدي

الوراثي. اتفقت نتائج هذه الدراسة مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى وجود ارتباط وثيق لحدوث سرطان الثدي بالعمر، إذ تزداد نسبة الإصابة بهذا المرض بسرعة في إثناء فترة الحيض ثم تقل نسبة الإصابة بهذا المرض بعد عمر 50 سنة (Key،2002)، وقد أشار Hulkaو Moorman (2001) إلى أن سرطان الثدي يكون قليل الحدوث قبل عمر (25 سنة) في حين يزداد معدل حدوثه إلى الضعف في عمر (45 سنة)، كما أكد Demوجماعته(2008) أن سرطان الثدي قد يحدث في الأعمار الأقل من (30 سنة) ولكن يزداد حدوثه في عمر (30 سنة) إلى أن يصبح في ذروته في عمر (44– 50 سنة)

تلعب العوامل الهرمونية دوراً كبيراً في نسب الإصابة بسرطان الثدي في الفئات العمرية المختلفة، فبلوغ المرأة مبكراً أي قبل (12 سنة) وانقطاع الطمث لديها متأخرا إلى ما بعد (55 سنة) يزيد خطر الإصابة بسرطان الثدي لديها إذ يزداد التعرض لمستويات عالية من هرمون الاستروجين، بينما يقلل البلوغ في سن متأخر، وانقطاع الطمث مبكرا من خطر الإصابة بسرطان الثدي

(Dalingوجماعته،2001 و Phippsوجماعته،2008) .

جدول (4-5) يوضح تأثير العمر على نسبة الاصابة بسرطان الثدي في النساء

المتغيرات	المرضى				المعدل العام لنسبة الإصابة في الفئات العمرية	مستوى المعنوية بالفئات
الفئات العمرية/ سنوات	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الوراثي			
	العدد	نسبة الإصابة%	العدد	نسبة الإصابة%		
اقل من 30	8	%27.50	6	%15	2.87 ±21.29 B	P=0.0001
40-30	8	%27.50	14	%35	1.92±31.12 A	
50-41	8	%27.50	11	%27.50	0.83±27.37 A	
60-51	3	%10.30	6	%15	1.10±12.67 C	
أكثر من 60	2	%6.80	3	%7.50	0.38±7.19 D	
المعدل العام لنسبة الإصابة في المعاملات	2.50±19.80 A		2.65±20 A			
مستوى المعنوية بالمعاملات	P=0.928					

-المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة لا تختلف معنويا.
-القيم تمثل النسب المئوية ± الخطأ القياسي.

4-1-6 الوزن

اتضح من النتائج الموجودة في جدول (4–6) أن هناك اختلاف نسبي للإصابة بمرض سرطان الثدي باختلاف الوزن إذ كانت أعلى نسبة إصابة بسرطان الثدي الشائع في الفئة الوزنية (71–80 كغم) إذ بلغت 11 (37.93%) وأقل نسبة إصابة 1 (3.44%) للفئة الوزنية (≤50 كغم)، أما النساء المصابات بسرطان الثدي الوراثي فقد كانت أعلى نسبة إصابة في الفئة الوزنية لأكثر من (81 كغم) حيث بلغت 9 (22.50%) مقارنة بأقل نسبة سجلت في هذه المجموعة والتي بلغت 1 (2.50%) للفئات الوزنية (61– 70 كغم) و (71– 80 كغم)، وأظهرت النتائج الإحصائية إلى عدم وجود علاقة معنوية بين الفئات الوزنية المذكورة عند مستوى معنوية، وعلى العكس من ذلك ظهرت فروق عالية المعنوية في معدلات الإصابة بمرض سرطان الثدي بنوعيه، إذ كان سرطان الثدي الشائع الأعلى معدل إصابة من سرطان الثدي الوراثي عند اعتماد التوزيع على أساس الوزن.

تعد السمنة من عوامل الخطورة المهمة لعدد من السرطانات من بينها سرطان الثدي والبروستات والقولون وبطانة الرحم (Vainioو Bianchini، 2002)، وقد أشار الباحث Hall وجماعته(2002) إلى انه لا يوجد ارتباط أو يكون الارتباط ضعيف بين السمنة وبين خطر الإصابة بسرطان الثدي، بينما ذكرت أغلب الدراسات التي قام بها Keyوجماعته(2003) و Van den Brandtوجماعته (2000) بأن الزيادة في وزن الجسم مرتبط مع زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي، أن السمنة الفائضة في النساء المسنات (بعد سن انقطاع الطمث) من أسباب الإصابة بسرطان الثدي(Boyatpatiوجماعته،2004) والسبب في ذلك لأنه بعد انقطاع الطمث تتوقف المبايض عن أنتاج الاستروجين وبذلك تكون الأنسجة الشحمية (Adipose Tissues) هي المصدر الأساسي للاستروجين ولذلك فان النساء البدينات يتعرضن إلى مستويات عالية من الاستروجين، في حين ذكر Weiderpassوجماعته(2004) ان في النساء اليافعات (قبل سن اليأس) ينتج هرمون الاستروجين بشكل رئيسي من المبايض وليس من الأنسجة الدهنية ولذلك تشير الدراسات إلى عدم وجود ارتباط بين السمنة وبين الوزن عند النساء اليافعات المصابات بسرطان الثدي(Tehard وChapelon–Clavel 2006) وقد أشارت الدراسات إلى أن النساء ذات التاريخ الوراثي مع سرطان الثدي والتي تحمل طفرات في جين (BRCA) فان زيادة الوزن تكون من عوامل الخطورة بينما فقدان الوزن يخفف من خطر الإصابة بمرض سرطان الثدي (Kotsopoulosوجماعته ،2005) وتعلل نتائج الدراسة الحالية بأن معدل الإصابة بسرطان الثدي الشائع أعلى من سرطان الثدي الوراثي إلى إن اغلب عوامل الخطورة في سرطان الثدي الشائع كانت هرمونية وان السمنة

تسبب تغيرات هرمونية في النساء في سن اليأس ولان اغلب حالات سرطان الثدي هي شائعة كما أشار Clemonsو Goss (2001) بينما عامل الخطورة الأول في سرطان الثدي الوراثي هو بسبب الطفرات المتوارثة في جين (BRCA) (Narodو Foulkes 2004).

جدول (4-6) يوضح تأثير الوزن على نسبة الإصابة بسرطان الثدي في النساء

المتغيرات	المرضى				المعدل العام لنسبة الإصابة في الفئات الوزنية	مستوى المعنوية بالفئات
الفئات الوزنية/ كغم	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الوراثي			
	العدد	نسبة الإصابة%	العدد	نسبة الإصابة%		
50≥	1	%3.44	4	%10	1.51±6.72 B	P=0.05
60-51	8	%27.50	3	%7.50	4.50±17.50 A B	
70-61	5	%17.24	1	%2.50	3.34±9.87 A B	
80-71	11	%37.93	1	%2.50	7.94±20.21 A	
81 فأكثر	4	%13.79	9	%22.50	2.08±18.14 A B	
المعدل العام لنسبة الإصابة في المعاملات	3.18±19.98 A		1.98±9.0 B			
مستوى المعنوية بالمعاملات	P=0.0039					

- المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة لا تختلف معنويا.

-القيم تمثل النسب المئوية ± الخطأ القياسي.

2-4 المعلمات الورمية CA 27.29

تمت دراسة معدلات المعلمات الورمية (CA 27.29) لجميع المريضات المصابات بسرطان الثدي وعينات مجموعة السيطرة وفي ضوء النتائج المبينة في الجدول (4–7) يتضح أن أعلى معدل للمعلمات الورمية في مجموعة سرطان الثدي الشائع بلغ 29 (1.03±22.2) ثم تلتها مجموعة سرطان الثدي الوراثي بمعدل 40 (21.82 ±1.25) في حين ظهر اقل معدل للمعلمات الورمية 30 (16.1 ±0.89) في النساء السليمات، ويتبين من التحليل الإحصائي بأن هناك فروقات عالية المعنوية(P≤0.01) بين مجموعتي سرطان الثدي (الشائع والوراثي) وبين مجموعة الأصحاء.

جدول (4-7) يوضح معدلات المعلمات الورمية حسب المجاميع المدروسة

المعدل العام للمعلمات الورمية	المرضى				مجموعة السيطرة	
	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الوراثي			
	العدد	المعدل العام	العدد	المعدل العام	العدد	المعدل العام
	29	1.03±22.22 A	40	1.25±21.82 A	30	0.89±16.10 B
مستوى المعنوية	P=0.01					

-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 معنويا.

4-2-1 تأثير بعض المتغيرات (الحالة الزوجية –حالة الرضاعة –صلة القرابة) على المعلمات الورمية لدى النساء المصابات بسرطان الثدي والنساء السليمات

كشفت النتائج الموضحة في جدول (4–8) أن (22.52 ±1.12) يمثل معدل المعلمات الورمية بسرطان الثدي الشائع عند المتزوجات، في حين بلغ معدل المعلمات الورمية للعازبات (20.30 ±2.76)، أما في حالة سرطان الثدي الوراثي فابلغ أعلى معدل للمعلمات الورمية في المتزوجات (22.58 ±1.26)، بينما كان اقل معدل للمعلمات الورمية (18.70 ±1.23) في غير المتزوجات، أما في مجموعة السيطرة فأن (15.47 ±1.04) معدل المعلمات الورمية في المتزوجات بينما بلغ معدل المعلمات الورمية في العازبات (12.30 ±1.09)، وقد أظهر التحليل الإحصائي وجود فروق عالية المعنوية بين مجموعتي سرطان الثدي (الشائع– الوراثي) وبين مجموعة السيطرة للمتزوجات والعازبات، في حين لم يكن هناك أي تأثير معنوي للحالة الزوجية على المعلمات الورمية،

كما أشارت نتائج الجدول نفسه إلى وجود اختلافات بين معدلات المعلمات الورمية بين مجموعة السيطرة وبين مجموعتي سرطان الثدي الشائع والوراثي والخاص بحالة الرضاعة، إذ بلغ معدل المعلمات الورمية للنساء المرضعات في مجموعة سرطان الثدي الشائع (18.30 ±3.68)، أما في النساء غير المرضعات فبلغ معدل المعلمات الورمية (22.67 ±1.06)، في حين أن

(3.09 ±21.83) معدل المعلمات الورمية للنساء المرضعات المصابات بسرطان الثدي الوراثي، بينما بلغ معدل المعلمات الورمية في النساء غير المرضعات (21 ±1.38)، أما في مجموعة السيطرة فقد بلغ أعلى معدل للمعلمات الورمية في النساء غير المرضعات (16.61 ±1.09) بينما بلغ اقل معدل للمعلمات الورمية في النساء المرضعات (14.90 ±1.55)، أما من الناحية الإحصائية فلم تظهر أي علاقة معنوية (P≥ 0.05) في المعدل العام لمعلمات الأورام في النساء المرضعات عن غير المرضعات، في حين ظهر اختلاف عالٍ المعنوية بين النساء السليمات وبين النساء المصابات بسرطان الثدي الشائع وسرطان الثدي الوراثي.

واتضح من نتائج الجدول ذاته فيما يخص صلة القرابة بين الوالدين للنساء المشمولات في الدراسة أن أعلى معدل للمعلمات الورمية بسرطان الثدي الشائع في النساء اللواتي تربط أبويهن صلة قرابة (1.34±23.55)، بينما بلغ اقل معدل (20.98 ±1.53) للمعلمات الورمية في النساء اللواتي لا توجد أي قرابة بين أبويهن، أما بالنسبة لمجموعة سرطان الثدي الوراثي فقد بلغ معدل المعلمات الورمية في النساء ذوات صلة القرابة بين الوالدين (20.69 ±1.62)، بينما بلغ معدل المعلمات الورمية في النساء اللواتي لم تظهر أي صلة للقرابة بين أبويهن (23.51 ±1.96)، أما في مجموعة السيطرة فان (18 ±1.19) معدل المعلمات الورمية في النساء اللواتي تربط والديهن صلة القرابة، بينما بلغ معدل المعلمات الورمية (15.43 ±1.11) في النساء اللواتي لا توجد أي قرابة بين أبويهن، وقد اتضح من النتائج الإحصائية أن هناك فروقات عالية المعنوية في المعدل العام للمعلمات الورمية في مجموعتي السرطان الشائع والوراثي ومجموعة السيطرة، في حين لم تختلف معنويا المعدلات الورمية لصلة القرابة بين الوالدين سواءاً كانوا (أقارباً أم غرباء) عن بعضهما

أكدت الدراسات Kumarوجماعته (2006) و D'haeseleer(2006) إن المعلمات الورمية (Tumor markers) هي مؤشر لحالة مرضية وهي مواد ظاهرة مصنعة بواسطة الورم (Tumor) فعندما تتحول الخلايا من الحالة الطبيعية إلى الحالة الورمية فأن هذه التغيرات تحدث ضمن الخلايا أو على سطوحها إذ تنمو هذه الخلايا الورمية وتتضاعف وبالتالي يزداد البعض من موادها في أنسجة الورم أو ينتشر إلى مجرى الدم مما يجعلها مفيدة كعلامة ورمية، توجد المعلمات الورمية في الخلايا، الأنسجة، الدم، المصل، البلازما، الحليب، الإدرار وتكون أما بروتينات، أنزيمات، هرمونات، وهي تنتج من الورم نفسه أو من الأنسجة وذلك استجابة لوجود السرطان أو إلى حالات أخرى مثل الالتهابات Inflammation وبالتالي تكون مرتفعة في حالات الإصابة بالسرطان، لقد أشارت الدراسات التي قام بها Srinivasوجماعته(2001) و Daar و Aluwihare(2000) إلى ان بعض المعلمات الورمية ترتفع دائماً عند الإصابة ببعض أنواع السرطان ولذلك تكون هذه المعلمات الورمية محددة لحالات مرضية معينة بينما يكون معظمها

موجود في مستويات منخفضة في الأشخاص الأصحاء، تستخدم المعلمات الورمية في تشخيص الإعراض المرضية المختلفة فضلاً عن ذلك يمكن أن تستخدم المعلمات الورمية في تخمين حجم الورم وتقدير مدى الاستجابة للعلاج(Bastوجماعته ، 2001)

لقد وجد Clintonوجماعته(2003) أن المعلم الورمي الخاص بسرطان الثدي (CA27.29) له علاقة مع علاج سرطان الثدي وتقدمه في مراحله المختلفة، إذ يكون مرتفعاً مع سرطان الثدي الخبيث وورم الثدي الحميد، سرطان المبيض، سرطان الرئة، تشمع الكبد، والتهاب الكبد، يستخدم المعلم الورمي (CA27.29) في الكشف عن مرض سرطان الثدي المنتقل إذ يكون هذا المستضد السرطاني حساساً ومحدداً لأمراض سرطان الثدي المنتقل بنسبة (85.50%)، كما أن ارتفاع مستواه يساعد في الكشف عن عودة المرض بعد العلاج، إذ يزداد بعد أخذ العلاج الكيميائي، أن هذا المعلم الورمي يفتقر إلى الحساسية والدقة في الكشف المبكر عن سرطان الثدي كما انه لا يميز بين المرضى المصابين بسرطان الثدي في مراحله المبكرة عن المرضى المصابين بورم الثدي الحميد Einarssonوجماعته(2000) و Houوجماعته(1999)، بينما أشارت الدراسات Martin وجماعته(2006)و Molinaوجماعته(2005) إلى ان المستضد السرطاني (CA27.29) يستخدم في التنبؤ والكشف عن المراحل المبكرة لسرطان الثدي، إذ يكون هذا المعلم الورمي الأكثر تحديداً للكشف عن سرطان الثدي في كل مراحله.

جدول (4- 8) يوضح تأثير الحالة الزوجية، حالة الرضاعة ، صبة القرابةبلوالدين عى المبعمات الورمية لدى النساء

المتغيرات		المعدل العام	مجموعة المرضى		مجموعة السيطرة
			السرطان الشائع	السرطان الوراثي	
الحالة الزوجية	متزوجة	0.77±20.58 A	1.12±22.52 A	1.26±22.58 A	1.04±15.47 B
	عزباء	1.33±17.73 A	2.76±20.3 A	1.23±18.70 A	1.09±12.33 B
مستوى المعنوية		P= 0.3438	P=0.0006		
حالة الرضاعة	ترضع	1.61±18.21 A	3.68±18.30 A	3.09±21.83 A	1.55±14.90 B
	لا ترضع	0.76±20.09 A	1.06±22.67 A	1.38±21 A	1.09±16.61 B
مستوى المعنوية		P =0.3872	P =0.0007		

صبة القرابة	أقارب	0.98±21.09 A	1.34±23.55 A	1.62±20.69 A	1.19±18 B
	غرباء	0.98±19.97 A	1.53±20.98 A	1.96±23.51 A	1.11±15.43 B
مستوى المعنوية		P=0.8318	P=0.0007		

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

2-2-4 تأثير بعض المتغيرات (العمر- الوزن- عدد الأطفال) على المعلمات الورمية في النساء

من خلال دراسة تأثير العمر، الوزن، عدد الأطفال على المعلمات الورمية وعلاقتها بسرطان الثدي، أوضح الجدول (4-9) أن الفئات العمرية (41- 50 سنة) و (أكثر من 60 سنة) هي الأعلى معدل للمعلمات الورمية بسرطان الثدي الشائع إذ بلغتا (20.10 ±1.66) و (24.80 ± 3.20) على التوالي، بينما بلغ أقل معدل للمعلمات الورمية (20.10 ±1.66) في الفئة العمرية (الأقل من 30 سنة)، في حين أن (22.51 ±2.60) معدل المعلمات الورمية في النساء المحصورة أعمارهن بين (30- 40 سنة) بينما بلغ معدل المعلمات الورمية للفئة العمرية (51- 60 سنة) (21.80 ±4.11)، أما مجموعة مرضى سرطان الثدي الوراثي فقد بلغ أعلى معدل للمعلمات الورمية في النساء ذوات الفئات العمرية (30- 40 سنة) و (41- 50 سنة) إذ بلغ (23.07 ±2.43) و (23.05 ±2.32) على التوالي، بينما بلغ معدل المعلمات الورمية (22.06 ±3.35) في النساء ذوات الفئة العمرية (الأقل 30 سنة)، وان (22.51 ±1.52) معدل المعلمات الورمية في النساء المحصورة أعمارهن بين (51- 60 سنة)، أما اقل معدل للمعلمات الورمية (21 ±1.00) في النساء التي تجاوزت أعمارهن (60 سنة)، أما في مجموعة السيطرة فقد ظهر أن أعلى معدل للمعلمات الورمية في الفئة العمرية (41- 50 سنة) إذ بلغ (19 ±2.22)، بينما بلغ أقل معدل للمعلمات الورمية (31.81 ±1.39) في النساء ذوات الفئة العمرية (30- 40 سنة)، في حين بلغت معدلات المعلمات الورمية للنساء ذوات الفئات العمرية (الأقل من 30 سنة) و (51- 60 سنة) (17.12 ±1.34) و (16.33 ±2.19) على التوالي، أما الفئة العمرية (الأكثر من 60 سنة) فقد بلغ معدل المعلمات الورمية فيها (14.90 ±3.89)، وقد تبين من نتائج التحليل الإحصائي إلى عدم وجود أي تأثير معنوي للفئات العمرية على المعدل العام للمعلمات الورمية في حين كانت هناك فروقاً عالية المعنوية ($P\leq0.01$) في المعدل العام للمعلمات الورمية بين مجموعتي المرض (الشائع والوراثي) ومجموعة السيطرة.

وفيما يخص تأثير الوزن على المعلمات الورمية في النساء أتضح أن أعلى معدل للمعلمات الورمية في مجموعة سرطان الثدي الشائع كان في الفئة الوزنية (71– 80 كغم) إذ بلغ (23.90 ± 1.54) ثم تلتها الفئة الوزنية (81 كغم فأكثر) إذ بلغ معدل المعلمات الورمية فيها (22.27 ±2.73)، بينما كانت النساء ذوات الفئة الوزنية (≤ 50 كغم) هي الأقل معدل للمعلمات الورمية (16.91 ± 1.99)، في حين بلغت معدلات المعلمات الورمية (21.08 ±3.58) و (20.87 ±1.88) في الفئات الوزنية (61– 70 كغم) و (51– 60 كغم) على التوالي، أما في مجموعة سرطان الثدي الوراثي فقد بلغ اقل معدل للمعلمات الورمية (16.91 ±1.99) في الفئة الوزنية (≤50 كغم)، بينما بلغ أعلى معدل للمعلمات الورمية في النساء ذوات الفئة الوزنية (71– 80 كغم) (22.17 ±1.36)، وان (18.59 ±1.13) معدل المعلمات الورمية في الفئة الوزنية (51–- 60 كغم)، بينما بلغت معدلات المعلمات الورمية للنساء ذوات الفئات الوزنية (61– 70 كغم) و (81 كغم فأكثر) (20.48 ±1.69) و (21.60 ±1.70) على التوالي، أما في مجموعة السيطرة فقد كان اقل معدل للمعلمات الورمية في النساء ذوات الفئة الوزنية (≤50 كغم) إذ بلغت (0) في حين بلغ أعلى معدل للمعلمات الورمية (18.44 ±1.80) في الفئة الوزنية (71– 80 كغم)، وقد بلغ معدل المعلمات الورمية للفئة الوزنية (61– 70 كغم) (16.84 ±1.31)، بينما بلغ معدل هذه المعلمات (14.20± 2.11) في الفئة الوزنية (81 كغم فأكثر) وان (13.54 ±2.17) معدل المعلمات الورمية للنساء ذوات الفئة الوزنية (51– 60 كغم)، إحصائيا لم يختلف معنوياً (P≥0.05) المعدل العام للمعلمات الورمية للنساء باختلاف الفئات الوزنية في حين اختلفت معنويا مجموعة النساء السليمات عن مجموعة النساء المصابات بسرطان الثدي الشائع والوراثي عند مستوى معنوية (P≤0.01).

وقد أظهرت نتائج الجدول ذاته فيما يخص عدد الأطفال أن أعلى معدل للمعلمات الورمية بسرطان الثدي الشائع (24.73 ± 2.37) في حالة النساء غير المنجبات، بينما بلغ معدل المعلمات الورمية (23.28 ±2.38) في النساء المنجبات (1– 4 أطفال)، في حين بلغ اقل معدل (21.47 ± 1.34) للمعلمات الورمية في النساء المنجبات (أكثر من 5 أطفال)، أما في مجموعة سرطان الثدي الوراثي فقد بلغ اقل معدل للمعلمات الورمية في النساء المنجبات (أكثر من 5 أطفال) (21.08 ±2.53)، وأعلى معدل للمعلمات الورمية في النساء غير المنجبات (24.64 ±5.31)، وان (22.80 ±1.43) معدل المعلمات الورمية في النساء المنجبات (1– 4 أطفال)، أما في مجموعة السيطرة فظهر أن أعلى معدل للمعلمات الورمية (20 ±1.12) في النساء غير المنجبات، في حين بلغ معدل المعلمات الورمية في النساء المنجبات (أكثر من 5 أطفال) (16.93± 1.81)، وان (15.12 ±1.17) اقل معدل للمعلمات الورمية في النساء المنجبات (1– 4 أطفال)، وقد تبين من نتائج التحليل الإحصائي أن هناك فروقات عالية المعنوية (P≤0.01) بين مجموع السيطرة وبين مجموعتي

سرطان الثدي الشائع والوراثي، في حين لم يختلف معنوياً المعدل العام للمعلمات الورمية في حالة النساء المنجبات لطفل واحد أو أكثر عن اللواتي لم ينجبن.

جدول (4−9) يوضح تأثير الفئات العمرية، الفئات الوزنية، عدد الأطفال على المعلمات الورمية في النساء المصابات بسرطان الثدي

المتغيرات / الفئات العمرية/ سنوات	المعدل العام	مجموعة المرضى: السرطان الشائع	مجموعة المرضى: السرطان الوراثي	مجموعة السيطرة
اقل من 30	1.21±19.76 A	1.66±20.10 A	3.35±22.06 A	1.34±17.12 B
40-30	1.04±20.04 A	2.60±22.51 A	2.43±23.07 A	1.39±13.81 B
50-41	1.37±22.28 A	2.47±24.81 A	2.32±23.05 A	2.22±19 B
60-51	1.45±19.90 A	4.11±21.80 A	1.52±22.51 A	2.19±16.33 B
أكثر من 60	1.20±20.23 A	3.20±24.80 A	1.00±21 A	3.89±14.90 B
مستوى المعنوية	P=0.5497	P =0.0021		
الفئات الوزنية/ كغم				
50 ≤	4.04±15.63 B	1.10±20 A	1.99±16.91 A	0 B
60-51	1.76±18.64 A B	1.88±20.87 A	1.13±18.59 A	2.17±13.54 B
70-61	1.26±18.99 A B	3.58±21.08 A	1.69±20.48 A	1.31±16.84 B
80-71	1.55±22.88 A	1.54±23.90 A	1.36±22.17 A	1.80±18.44 B
81 كيو	1.23±19.55 AB	2.73±22.27 A	1.70±21.60 A	2.11±14.20 B
مستوى المعنوية	P=0.1055	P=0.0002		
عدد الأطفال				

1.12 ±20 B	5.31±24.64 A	2.37±24.73 A	2.91±24.86 A	لا يوجد أطفال
1.17±15.12 B	1.43±22.80 A	2.38±23.28 A	1.03±20.28 A	1-4 أطفال
1.81±16.93 B	2.53±21.08 A	1.34±21.47 A	1.10±19.97 A	5 أطفال فأكثر
P=0.0003			P=0.4549	مستوى المعنوية

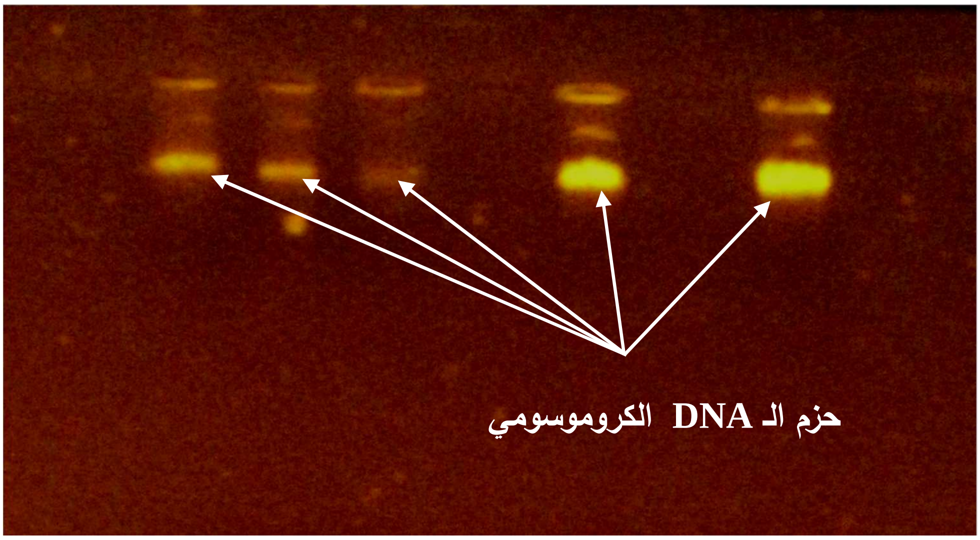
-المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة ضمن العمود الواحد بالنسبة للمتغيرات لا تختلف معنويا.

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

3-4 التوصيف الجزيئي

1-3-4 استخلاص الـ DNA الكرموسومي

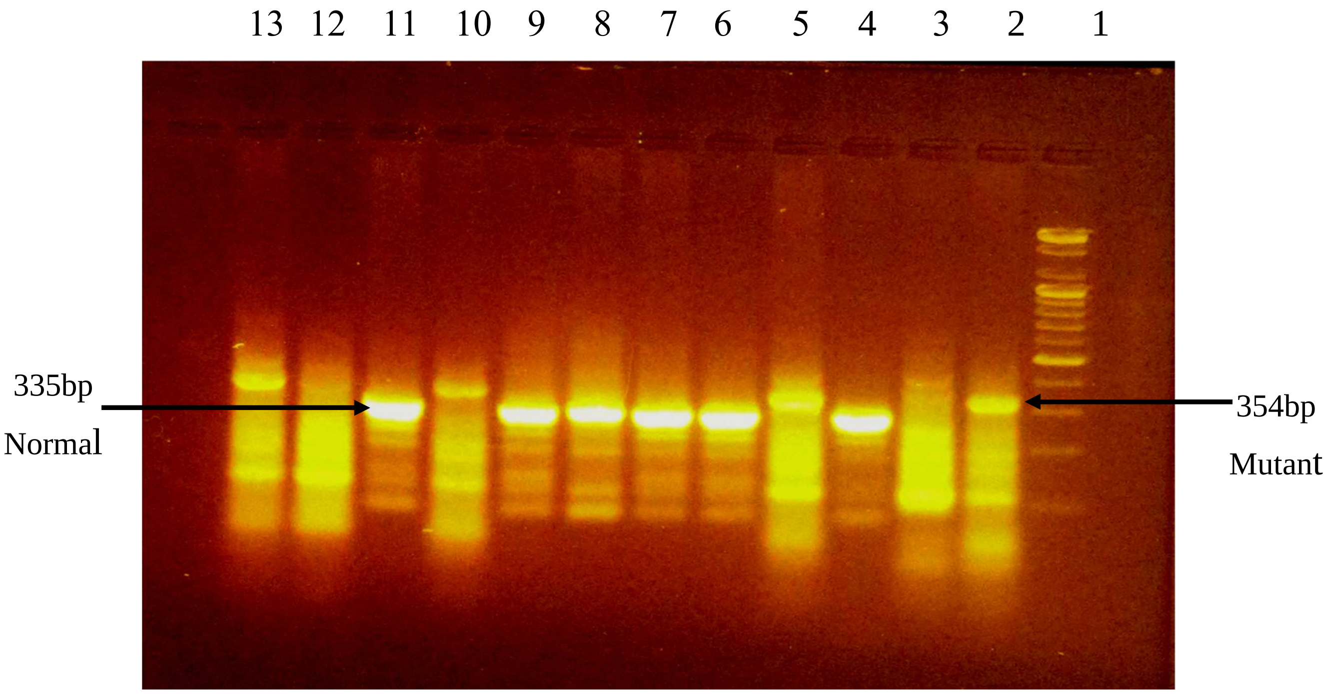
تم استخلاص الـ DNA من عينات الدم لعينات الدراسة جميعها، وتم أجراء الترحيل الكهربائي للتأكد من وجود حزم الـ DNA الكرموسومي على هلام الاكاروز وبتركيز (0.8 %) عند 70 فولت ولمدة ساعة ومشاهدتها تحت جهاز الاشعة فوق البنفسجية بعد صبغها بالاثيديوم برومايد، إذ أظهرت النتائج شكل (4-1)، وجود حزم الـ DNA الكرموسومي في معظم العينات المستخلصة وتمت أعادة عملية الاستخلاص للعينات التي لم تظهر نواتج لحزم الـ DNA الكرموسومي.



شكل (4-1) يوضح الترحيل الكهربائي لحزم الـ DNA الكروموسومي على 0.8% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة بعد صبغها بصبغة بروميد الاثيديوم

2-3-4 التوصيف الجزيئي للطفرات المدروسة

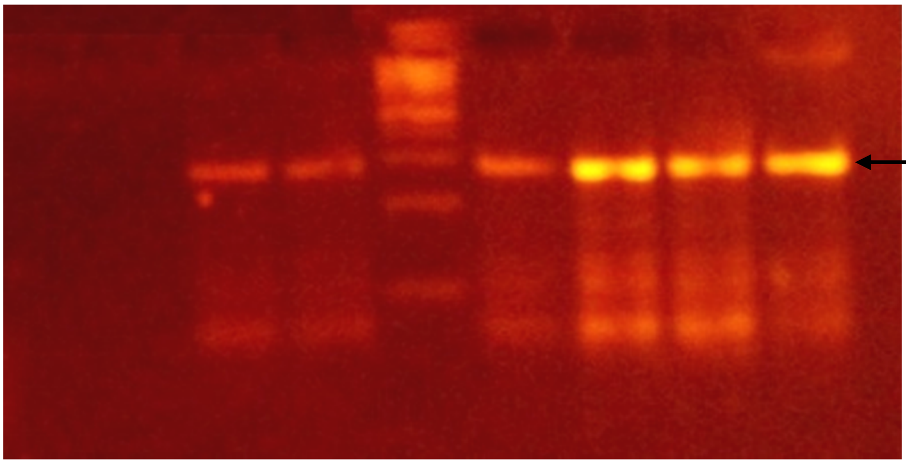
تم أجراء التوصيف الجزيئي باستخدام تقنية PCR لثلاث طفرات وراثية شُملت بالدراسة هي 6174 del T ، 5382 ins C, 185 del AG والموجودة على الجينين المثبطين للأورام (Tumor suppressors genes) وهما BRCA1, BRCA2، إذ يوضح الشكل (4−2) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة (185 del AG) باستخدام 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف حيث يمثل العمود الأول الدليل الحجمي (Size marker) بحجم (100− 2000) زوج قاعدة، بينما تظهر الأعمدة (2، 5، 10، 13) 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 العمودان (3، 12) أية حزم لنواتج PCR لهذه العينات.



شكل (4-2) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 185 del AG على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف بعد صبغها بصبغة بروميد الاثيديوم

تبين نتائج الدراسة للتوصيف الجزيئي للطفرة **(185 del AG)** باستخدام تقنية PCR وكما موضح في الشكل (4−3) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة (185 del AG) باستخدام 2% هلام

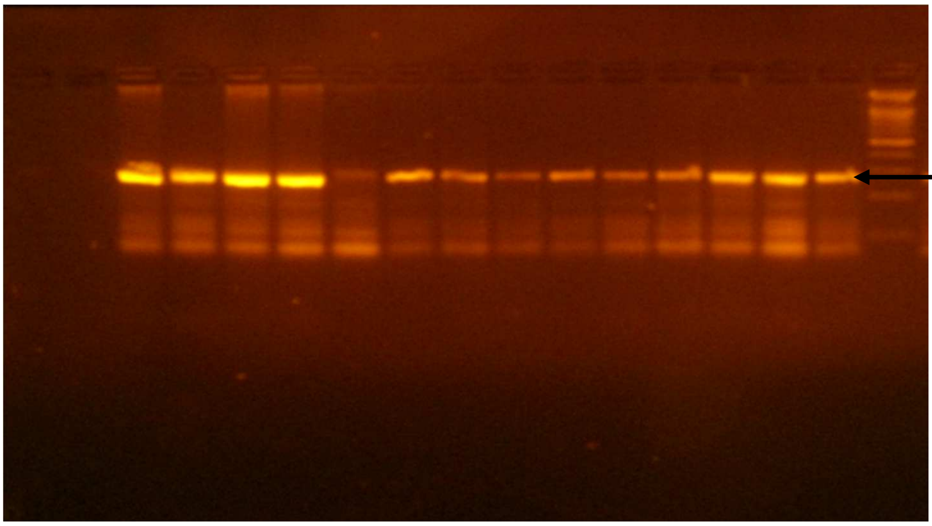
الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف إذ تظهر الأعمدة (1،2، 3، 4، 6، 7) العينات الطبيعية للطفرة المدروسة بحجم 335 زوج قاعدة، بينما يمثل العمود الخامس الدليل الحجمي (Size marker) بحجم (100– 2000) زوج قاعدة



شكل (4-3) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 185 del AG على 2%هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف بعد صبغها بصبغة بروميد الاثيديوم

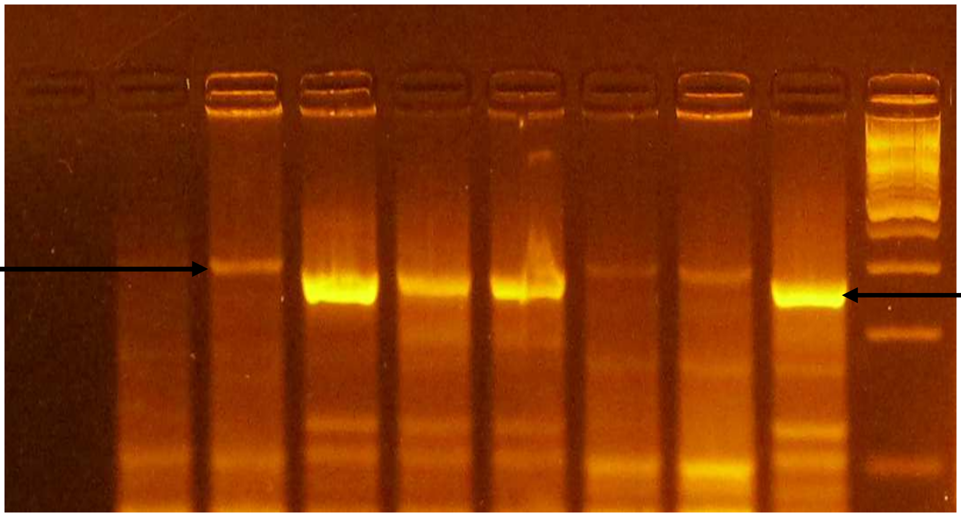
لقد أظهرت نتائج التوصيف الجزيئي للطفرة (5382 ins C) باستخدام تقنية PCR والموضحة بالشكل رقم (4- 4) نتائج الترحيل الكهربائي لنواتج PCR على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف، إذ يمثل العمود الأول حزم الدليل الحجمي التي تتراوح من 100–

2000 زوج قاعدة، أما الأعمدة من 2 إلى 15 فتحتوي على الحزم بحجم 271 زوج قاعدة والتي تمثل العينات السالبة أو الطبيعية للطفرة المدروسة.



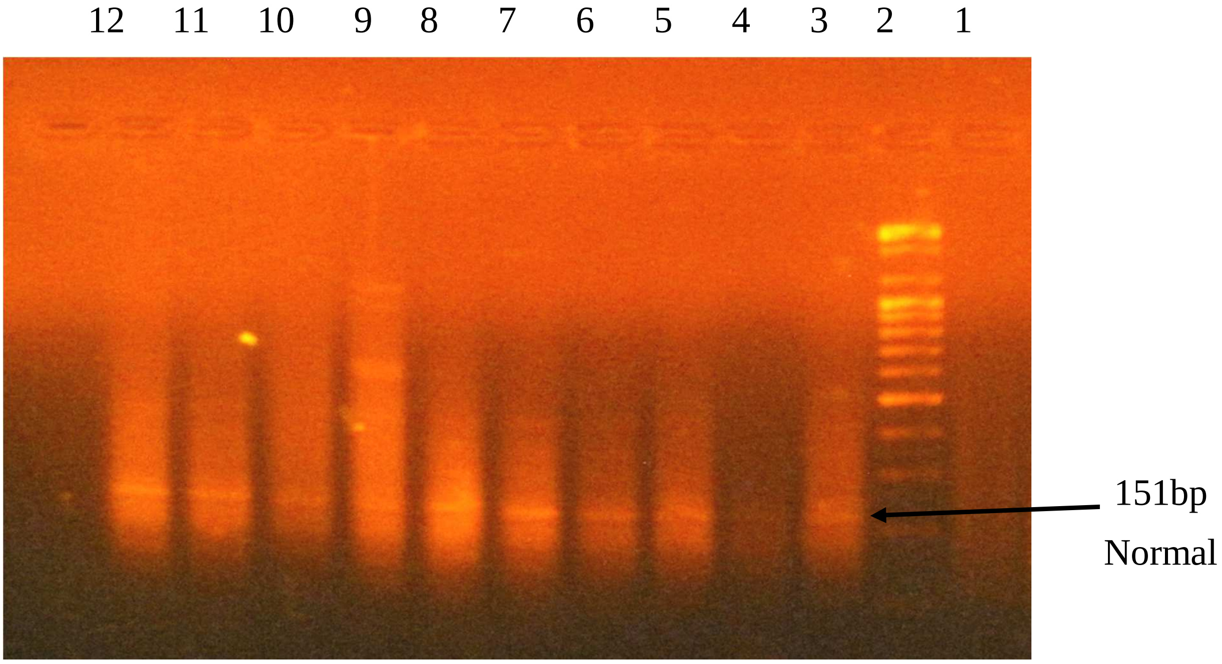
شكل (4-4) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 5382 ins C على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف بعد صبغها بصبغة بروميد الاثيديوم

أظهرت نتائج الدراسة للتوصيف الجزيئي للطفرة (5382 ins C) باستخدام تقنية PCR إذ يوضح الشكل (4- 5) نتائج الترحيل الكهربائي لنواتج PCR على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف إذ يمثل العمود الأول الدليل الحجمي (100– 2000) زوج قاعدة، 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.



شكل (4-5) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 5382 ins C على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف بعد صبغها بصبغة بروميد الاثيديوم

تبين من نتائج التوصيف الجزيئي للطفرة (6174 del T) باستخدام تقنية PCR إذ يوضح الشكل رقم (4–6) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR باستخدام 2% جل الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف، إذ يمثل العمود الأول الدليل الحجمي (100– 2000) زوج قاعدة، أما الأعمدة من 2 إلى 12 فهي تمثل العينات الطبيعية للطفرة المدروسة وبحجم 151 زوج قاعدة.



شكل (4–6) يوضح الترحيل الكهربائي لنواتج PCR للطفرة 6174 del T على 2% هلام الأكاروز عند 70 فولت ولمدة ساعة ونصف بعد صبغها بصبغة بروميد الاثيديوم

3-3-4 نتائج الطفرات المدروسة

يتبين من نتائج الجدول (4−10) 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 إصابة (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 التي قام بها WoosterوWeber(2003)و Antonion و Easton (2006) أن الطفرات مسؤولة عن (5%) من كل حالات سرطان الثدي الشائع، واقل من (20%) من كل حالات الإصابة بسرطان الثدي الوراثي، إذ تكون نسبة الإصابة بالطفرات في الحالات الوراثية أعلى وبمعدل طفرتين في جين (BRCA1) وطفرة واحدة في جين (BRCA2) (Faschingوجماعته،2007)، 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 (Lee،2008)، ووجد Yazici وجماعته(2000) إن أعداد الطفرات المذكورة أنفاً ونسب الإصابة بها يختلف أيضا باختلاف المجاميع العرقية والمناطق الجغرافية، إذ تكون 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 إصابة من الطفرتين (6174 del T، 5382 ins C) 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)، بينما أشارت دراسات Mehdipourوجماعته(2006)و SzaboوKing (1997) إلى 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 Rassiوجماعته(2008) 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 تعد كمؤشر لحدوث سرطان الثدي الوراثي، بينما أشار Fattahi وجماعته(2009) 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 (4-10) 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 (4−11) والذي يوضح معدلات المعلمات الورمية بحسب 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) 1.36±21.94 1.03±22.22 1.03±22.22) على التوالي. أما في حالة سرطان الثدي الوراثي فقد بلغ أعلى معدل للمعلمات الورمية للحالات الموجبة في الطفرة (185 del AG) إذ بلغ (3.29±21.33) 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) (1.25±21.35) 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 .

جدول (4-11) يوضح معدلات المعلمات الورمية حسب الطفرات المدروسة

الطفرات المدروسة	المرضى				مجموعة السيطرة	
	سرطان الثدي الشائع		سرطان الثدي الوراثي			
	+	-	+	-	+	-
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 بلمعاملات،الطفرات	P=0.01		P=0.903			

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

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

1-أظهرت الدراسة وجود تأثير لمتغيرات العمر، الحالة الزوجية، حالة الرضاعة، عدد الأطفال، محل السكن، التدخين على نسب الإصابة بسرطان الثدي بنوعية الشائع والوراثي في حين لم تظهر صلة القرابة بين الوالدين أي تأثير، بينما أثر عامل الوزن معنوياً على نسب الإصابة بسرطان الثدي الشائع مقارنة بسرطان الثدي الوراثي .

2-تكون معدلات المعلمات الورمية CA 27.29 مرتفعة في حالة الإصابة بمرض سرطان الثدي بنوعية الشائع والوراثي مقارنة بمجموعة السيطرة، كما لايمكن استخدام هذا الاختبار في التميز بين نوعي سرطان الثدي الشائع والوراثي .

3-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 .

التوصيات

1- اعتماد التشخيص المبكر لمرض سرطان الثدي والذي يعد من أهم طرق الوقاية منه وتخفيض معدلات الوفيات الناتجة عنه

2- اعتماد الفحص الجزيئي بشكل دوري في فحص الجينات للمراجعات إلى مركز الكشف المبكر في المستشفيات العراقية وذلك للكشف المبكر عن وجود خلل في الجينات الرئيسية المسببة لسرطان الثدي

3- إيجاد دراسات مماثلة لتشخيص الأنواع الأخرى من الطفرات الموجودة في جيني BRCA1,BRCA2 أو في جينات أخرى وباستخدام تقنيات جزيئية مختلفة

4- تبني وزارة الصحة العراقية برنامج مسح للطفرات المؤهبة للإصابة بسرطان الثدي ضمن العوائل العراقية التي تزداد فيها معدلات الإصابة بالمرض .

5- أجراء الفحص الدوري للنساء لغرض تسجيل أية علامات غير طبيعية في الثدي لما له من أهمية في التشخيص المبكر للمرض.

المصـــادر

المصادر References

أولا: المصادر العربية

1- مجلس السرطان العراقي/ وزارة الصحة العراقية .2007.
2- مجلس السرطان العراقي/ وزارة الصحة العراقية .2008.

ثانيا: المصادر الاجنبية

A

Al- Azzawi, SN. (2006). "Depleted uranium radioactive contamination in Iraq"; .Global Research., 1: 4.

Albrektsen, g.; Heuch, I.; Tretli, S.; Kvale, g. (1994). Breast cancer incidence before age 55 in relation to parity and age at first and last births: a prospective study of one million Norwegian women. Epidemiology., 5(6): 604-611.

Alfonso, N.;and Bouwman, D. (2008). Lobular carcinoma in situ.Eur J Cancer Prev., 17(4): 6-312. Review. Ann Intern Med ., 148: 337- 347.

Alitalo,K.; Tammela, T.; Petrova, TV. (2005). Lymphangiogenesis in development and human disease. Nature., 438:946-953.

Althuis, M. D.; Brogan, D. R.; Coates, R. J.; Daling, J. R.; Gammon, M. D. (2003). Hormonal content and potency of oral contraceptives and breast cancer risk among young women. Br .J .Cancer., 88: 50-57.

Anders, C.K.; Johnson, R.;Litton, J. (2009). Breast cancer before age 40 years. Semin Oncol., 36 (3): 237-249.

Antoniou, A.C.; and Easton, D.F. (2006). Risk prediction models for familial breast cancer. Future oncology., 2(2): 257-274.

B

Balogh, GA.; Mailo, DA.; Corte, MM. (2006). Mutant p53 protein in serum could be used as a molecular marker in human breast cancer. Int. J .Oncol .,28(4): 995-1002

Bartek, J.; Lukas, C.; Lukas, J. (2004). Checking on DNA damage in S phase. Nat Rev Mol Cell Biol., 5:792–804.

Baselga, J.; Perez, E.; Pienkowski, T.; and Bell, R. (2006).Adjuvant trastuzumab: a milestone in the treatment of her-2-positive early breast cancer.The Oncologist.,11(l1):4–12.

Bast, Rc. Jr.; Rardin, P.; And Hayes,DF. (2001). "Update of recommendations for use of tumor marker in Breast and colorectal cancer"; Clinical practice guidelines of the American Society of Clinical On Cology. J. Clin Oncol .,19: 1865- 1878.

Bell, D.W.; Kim, S.H.; Godwin, A.K.; Schiripo, T.A.; Harris, P.L.; Haserlat, S.M.; Wahrer, D.C.; Haiman, C.A.; Daly, M.B.; Niendorf, K.B.; Smith, M.R.; Sgroi, D.C.; Garber, J.E.; Olopade, O.I.; Le Marchand, L.; Henderson, B.E.; Altshuler, D.; Haber, D.A.; and Freedman, M.L. (2007).

Genetic and functional analysis of CHEK2 (CHK2) variants in multiethnic cohorts. Int .J. Cancer., 121: 2661-2667.

Benson, J. R.; Weaver, D. L.; Mittra, I.; and Hayashi, M. (2003). The TNM staging system and breast cancer. Lancet Oncol., 4: 56-60 .

Bijker, N.; Peterse, JL.; Duchateau, L. (2007). Risk factors for recurrence and metastasis after breast-conserving therapy for ductal carcinoma-in-situ: analysis of European Organization for Research and Treatment of Cancer Trial 10853. J Clin Oncol., 19(8):2263-2271.

Blagosklonny, MV. (2005). Molecular theory of cancer. Cancer Biol Ther 4:621–627.

Boffetta, P. (2004). Epidemiology of environmental and occupational cancer. Oncogene., 23: 6392-6403. Review.

Bon, G.G.; Von Mensolorff- ponilly, S.; Kenemas, P. ;Van Kamp, G. J.; Verstraeten, R. A.; Hilgers, J.; Meijer, S.; and Vermorken, J. B. (1997). Clinical and technical evalution of Acs BR serum assay of Muc1 gene derived glycoprotein in breast cancer and comparison with CA 15-3 assays. Clini. Chem., 43: 585- 593.

Boron, W.; and Boulpaep, E. L. (2003) Textbook of Medical Physiology.

Bourgaize, D.; Jewell, T. and Buiser, R. (2000). Biotechnology, Demytifiny the Concepts. 4th ed. McGraw-Hill. New York., 313-335.

Boyapati,SM.; Shu, XO.; Gao, YT.; Dai, Q.; Yu, H.; Cheng, JR.; Jin, F.; Zheng, W. (2004). Correlation of blood sex steroid hormones with body size, body fat distribution, and other known risk factors for breast cancer in post-menopausal Chinese women. Cancer Causes Control.,15: 305-311.

Bradbury, AR.; and Olopade, OI. (2007). Genetic susceptibility to breast cancer. Rev Endocr Metab Disord., 8:225–267.

Bray, F.; McCarron, P.; and Parkin, D. M.(2004). The changing global atterns of female breast cancer incidence and mortality. Breast Cancer Res., 6: 229-239.

Butt, S.; Borgquist, S.; Anagnostaki, L.; Landberg, G.; and Manjer, J. (2009). Parity and age at first childbirth in relation to the risk of different breast cancer subgroups. International Journal of Cancer., 125(8): 1926-1934.

C

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

Choi, D. H.; Lee, M. H.; Bale, A. E.; Carter, D.; and Haffty, B. G. (2004). Incidence of BRCA1 and BRCA2 mutations in young Korean breast cancer patients. J. Clin Oncol., 22: 1638-1645.

Chung,M.A . (2004). Optimal surgical treatment of invasive lobular carcinoma of the breast. Ann Surg Oncol.,4:545-550.

Clemons, M ;and Goss, P. (2001). Estrogen and the risk of breast cancer.N Engl J Med.,344: 276-278.

Clinton, SR.; Beason, KL.; Bryant, S.; Johnson, JT.; Jackson, M.; Wilson, C.; Holifield, K.; Vincent, C.; Hall, M. (2003). A comparative study of four serological tumor markers for the detection of breast cancer. Biomed Sci Instrum., 39: 408-414 .

Cokkinides, V.; Bandi, P.; Seigel, R.; Ward, E. M.; and Thun, M. J. (2007). Cancer prevention and early detection facts and figures 2008. Atlanta, GA: American Cancer Society. [Electronic Version]. 29-36.

Coombs, NJ.; Cronin, KA.; Taylor, RJ.; Freedman,AN.; Boyages, J. (2010). The impact of changes in hormone therapy on breast cancer incidence in the US population. Cancer Causes Control. Jan., 21(1):83-90.

Cuzick, J.; Powles, T.; Veronesi, U. (2003). Overview of the main outcomes in breast-cancer prevention trials. Lancet ., 361:296–300.

D

Daar, AS., and Aluwihare, A. (2000). Surgery of advanced disease and late presentation. In P.Morris and W. Wood (Eds), Oxford Textbook of Surgery 2Oxford University Press.

D’haeseleer, P. (2006). How does DNA sequence motif discovery work? Nat. Biotechnol., 24: 959-961.

Daling, J. R.; Malone, K. E.; Doody, D. R.; Johnson, L. G.; Gralow, J. R. (2001). Relation of body mass index to tumor markers and survival among young women with invasive ductal breast carcinoma. Cancer., 92: 720-279.

De Leon Matsuda, M. L.; Liede, A.; Kwan, E.; Mapua, C. A.; Cutiongco, E. M.; Tan, A.; Borg, A.; and Narod, S. A. (2002). BRCA1 and BRCA2

mutations among breast cancer patients from the Philippines. Int. J. Cancer., 98: 596-603.
Debies, MT.; and Welch, DR. (2004). Genetic basis of human breast cancer metastasis. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2001., 6:441- 451.
Dem, A.; Traoré, B.; Dieng, MM.; Ouajdi, T.; Lalani, MT.; Diop, M.; Dangou, JM .;and Touré,P . (2008). Gynaecological and breast cancers at the Dakar Cancer Institute. Cah. Sant., 18(1): 25-29.
Duffy, MJ. (2005). "Predictive Markers in breast and other cancers; Clin chem., 51: 494- 503.
Dumitrescu, R. G.; and Cotarla, I. (2005). Understanding breast cancer risk – where do we stand in 2005? J Cell Mol Med .,9: 208-221..

E

Einarsson, R.; Lindman, H.; Bergh, J.(2000). Use of TPS and CA15-3 assays for monitoring chemotherapy in metastatic breast cancer patients. *Anticancer Res*.,20: 5089-5093.
El-Wakeel, H.; and Umpleby, HC. (2003). Systematic review of fibroadenoma as a risk factor for breast cancer. Breast .,12:302–307.

F

Fasching, PA.; Bani, MR.; Nestle-Kramling, C.(2007). Evaluation of mathematical models for breast cancer risk assessment in routine clinical use. Eur J Cancer Prev.,16(3):216–224.

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.
Ferlay, J. ;Shin, HR.;Bray,F. (2010). GLOBOCAN 2008, Cancer incidence and Mortality Worlwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet].; Available from: http://globocan.iarc.fr.

Foulkes, WD. (2008). Inherited susceptibili ty to common cancers. N Engl. J.

Med., 359(20): 2143-2153.

Frenette,PS.; Thirlwell,MP.; Trudeau, M.; Thomson,DM.; Joseph,L.; Shuster, JS. (1994). The diagnostic value of CA 27-29, CA 15-3, mucin-like carcinoma antigen, carcinoembryonic antigen and CA 19-9 in breast and gastrointestinal malignancies. Tumour Biol., 15(5): 54-247.

G

Gasco, M.; Yulug, IG.; Crook, T.(2003). TP53 mutations in familial breast cancer: functional aspects. Hum Mutat.,21:301-306 .

Gerber, B.; Muller, H.; Reimer, T.; Krause, A.; and Friese, K. (2003). Nutrition and lifestyle factors on the risk of developing breast cancer. Breast Cancer Res Treat., 79: 265-276.

Ghafoor, A.; Jemal, A.; Ward, E.; Cokkinides, V.; Smith, R.; Thun, MJ. (2003). Trends in breastcancer by race and ethnicity. CA: A Cancer Journal for Clinicians., 53:342.

GLOBOCAN.(2002). estimates: http://www/dep.iarc.fr/ accessed 5 November 2008.

Gray, J. (2009). State of the evidence: the connection between breast cancer and the environment. Int J Occup Environ Health. 15(1): 43-78.

Greene, FL.; Page, DL.; Fleming, ID. (2002). American Joint Committee on Cancer (AJCC) cancer staging manual. 6th edition. New York: Springer-Verlag.

Gudmundsdottir, K.and Ashworth, A. (2006). The roles of BRCA1 and BRCA2 and associated proteins in the maintenance of genomic stability. Oncogene., 25:5864–5874.

H

Ha, M.; Mabuchi, K.; Sigurdson, A. J.;Freedman, D. M.; Linet, M. S.; Doody, M. M.; and Hauptmann, M. (2007). Smoking cigarettes before first childbirth and risk of breast cancer. Am. J. Epidemiol., 166: 55-61.

Hall, I.J.; Newman, B.; Millikan, RC. (2002). Body size and breast cancer risk in black women and white women: The Carolina Breast Cancer Study.

Am. J. Epidemiol., 151:754–764.
Hamajima, N.; and Hirose, K . (2002). Alcohol, tobacco and breast ancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. Br. J. Cancer., 87(11): 1234-1245.
Hamann, U.; Liu, X.; Bungardt, N.; Ulmer, H. U.; Bastert, G.; and Sinn, H. P. (2003). Similar contributions of BRCA1 and BRCA2 germline mutations to earlyonset breast cancer in Germany. Eur. J. Hum Genet., 11: 464-467.

Hanahan, D.; and Weinberg, RA. (2000). The hallmarks of cancer. Cell 100: 57–70.

Hanby, AM.;and Hughes, TA. (2008). In Situ and invasive lobular neoplasia of the breast. Histopathology.,52(1):58-66. Review.
Hemant, Singhal.; Manjit, Singh. Gohel. ; Kanchan, Kaur .;Simon, Thomson; (2009). "Breast Cancer Evaluation (Mid).
Herynk, MH.;and Fuqua, SA. (2004). Estrogen receptor mutations in human disease. Endocr Rev., 25:869–898.
Hilgers, J.; Von Mensdoff- Pouilly, S.; Verstraeten, A. A.; and Kenemans, P. (1995).Quantitation of polymorphic epithelial Mucin; "a Challenge for biochemists and immunologists". Second. J. Clin Lab Invest 55Suppl.,221:81-86.
Holmberg, E.; Anderson, H.; Lundell, M.; and Karlsson, P. (2005). The impact of reproductive factors on breast cancer risk--the feasibility of using Swedish population-based registers to account for the effect of confounding in cohort studies. Cancer Causes and Control., 16: 235-243.
Holst, F.; Stahl, PR.; and Ruiz, C. (2007). Estrogen receptor alpha (ESR1) gene amplification is frequent in breast cancer. Nat Genet., 39:655–660 .

Hou, MF.; Tsai, LY.; Tsai, SM. (1999). Evaluation of serum CA27.29, CA15-3 and CEA in patients with breast cancer. *Kaohsiung* .J. *Med Sci*.,15: 520-258.

Howell, A.; Pippen, J.; Elledge, RM. (2005). Fulvestrant versus anastrozole for the treatment of advanced breast carcinoma: a prospectively planned combined survival analysis of two multicenter trials. Cancer., 104(2):236–239. [PubMed Abstract]
Hulka, BS.; and Moorman, PG. (2001). Breast cancer: hormones and other risk factors. Maturitas, 38(1):103-113. discussion

Humphrey, L.; Helfand, M.; Chan, BKS. (2002). Breast cancer screening: a summary of the evidence. Systematic Evidence Review. (Prepared by the Oregon Evidence-based Practice Center for the Agency for Healthcare Research and Quality.) Rockville, MD Available at http://www.ahrq.gov/clinic/3rduspstf/breastcancer/brcansum.pdf .

Huo, D.; Adebamowo, CA.; Ogundiran,TO.; Akang, EE.; Campbell, O.; Adenipekun, A. (2008). Parity and breastfeeding are protective against breast cancer in Nigerian women. Br .J. Cancer., 98(5): 992-996.

Huusko, P.; Paakkonen, K.; Launonen,V. (1998). Evidence of founder mutations in Finnish BRCA1 and BRCA2 families. Am. J. Hum Genet., 62:1544–1548.

I

Imoto, S.; Wada, N.; Hasebe, T.; Ochiai, A.; Kitoh, T. (2007). Serum c-erbB-2 protein is a useful marker for monitoring tumor recurrence of the breast. Int. J. Cancer., 120(2): 357-361.

Isabelle, M.; Stone, N.; Barr, H.; Vipond, M.; Shepherd, N.; and Rogers, K. (2008). Lymph nodepathology using optical spectroscopy in cancer diagnostics. Spectroscopy., 22: 97-104.

J

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.

Jernstrom, H.; Loman, N.; Johannsson, O. T.; Borg, A.; and Olsson, H. (2005). Impact of teenage oral contraceptive use in a population-based series of early-onset breast cancer cases who have undergone BRCA mutation testing. Eur. J. Cancer., 41: 2312-2320.

John, E.M.; Phipps,AI.; Davis,A.; and Koo,J. (2005). Migration history, acculturation, and breast cancer risk in Hispanicwomen. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.,14(12): 2905-2913.

John,E.M.; Phipps,AI.;Knight,JA.; Milne, RL.; Dite, GS.; Hopper, JL.; Andrulis ,IL.; Southey, M.; Giles, GG.; West, DW.; Whittemore, AS. (2007).'Medical radiation exposure and Breast Cancer risk: findings from

the Breast Cancer Family Registry 'Int .J.Cancer.,121:386-394.
Joyce, JA.; and Pollard, JW . (2009). Microenvironmental regulation of metastasis. Nat Rev Cancer .,9:239-252.

K

Kamangar, F.; Dores, G. M.; and Anderson, W. F. (2006). Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. JClin Oncol., 24: 2137-2150.
Kenemans, P.; Verstraeten, RA.; Verheijen,RH. (2004).Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer.Maturitas., 49(1):34-43. Review.
Kerlikowske, K.; Cook, AJ.; Buist, DS.; Cummings, SR.; Vachon, C.; Vacek, P.; Miglioretti,DL. (2010). Breast cancer risk by breast density, menopause, and postmenopausal hormone therapy use. J. Clin Oncol., 28:3830-3837.
Key, T. (2002). Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. J. Natl Cancer Inst., 94(8): 606-616.
Key, TJ.; Appleby,PN.; Reeves, GK. (2003). Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women. J .Natl Cancer Inst., 95:1218–1226.
Kotsopoulos, J.; Olopadoo,I.; Ghadirian, P.; Lubinski,J.; Lynch,H.; Isaacs, C.; Weber, B.; Kim-Sing, C.; Ainsworth, P.; Foulkes, W.; Eisen, A.; Sun, P.; and Narod, S.(2005). Changes in body weight and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers, 7: 833-843.
Kreeger, PK.; and Lauffenburger,DA. (2010).Cancer systems biology: a network modeling perspective. Carcinogenesis., 31:2-8
Kufe, D.W.; Pollock, R.E.; Weichsdbaum, R.R.; Bast Robert,C.Jr.; Gansler, T.S.; Holland, J.F. (2003). Cancer Medicine, 6edition., 2400
Kumar, S.; Mohan, A.; Guleria, R. (2006). Biomarkers in cancer screening, research and detection: present and future: a review. Biomarkers., 11: 385-405.
Kumar, V.; Abbas, A. K.; and Fausto, N. (2005). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Elsevier Inc., Philadelphia.
Kumar, V.; Cotran, R.S. and Robbins, S.L. (2003). Robbins Basic Pathology. 7th ed., Saunders an Imprint of Elsevier Science.

L

Lacroix,M. (2006). "Significance, detection and Markeres of disseminated breast cancer cell Endocrine- related cancer; 13 (4): 1033- 1067. Doi: 10, 1677/ ER- 06-0001; PMID. 17158753.

Lanfranchi, A. (2005). "The Science, Studies and Sociology of the Abortion Breast Cancer Link," Issues in Law and Medicine., 21: 95–108.

Lee, E.Y. (2008). Promotion of BRCA1-associated triple-negative breast cancer by ovarian hormones. Current opinion in obstetrics and gynecology., 20(1): 68-73.

Leopold, L.; Berger, M.; Cheng, S.; Giles, E. and Estey, E.(2003). Comparative efficacy and safety of Gemtuzamab Ozogamicin monotherapy and high-dose cytarabine combination therapy in patients with acute myeloid leukemia in first relapse. Clin. Adv. Hematol. Oncol., 14: 220-225.

Levran, O.; Attwooll, C.; Henry, R.T.; Milton, K.L.; Neveling, K.; Rio, P.; Batish, S.D.; Kalb, R.;Velleuer, E.; Barral, S.; Ott, J.; Petrini, J.; Schindler, D.; Hanenberg, H.; and Auerbach, A.D. (2005). The BRCA1-interacting helicase BRIP1 is deficient in Fanconi anemia. Nat Genet., 37: 931-933.

Li, C.; Malone, K. E.; Porter, P. L.; and Daling, J. R. (2003). Epidemiologic and molecular risk factors for contralateral breast cancer among young women. British Journal of Cancer., 89: 513-518.

Linggi, B.;and Carpenter, G.(2006).ErbB receptors: New insights on mechanisms and biology. Trends Cell Biol., 16:649–656.

Liu, W.; Bulgaru, A.; Haigentz, M.; SteinMani, S. (2003) The BCL2-family of proteindrugs: the next generation of therapeutics.Anticancer Agents.,3: 217-223.

Lotfi, S.MH.; Charkhatti, M.; Shorbairi, S. (2008). Breast risk factors in an Urban area of Yazad city – IRNA,2006.Acta Medical Iranica., 46: 258-264.

Lux , MP.; Fasching, PA.; Beckmann, MW. (2006). Hereditary breast and ovarian cancer: review and future perspectives. J. Mol. Med., 84(1):16–28.

M

Ma, H.; Bernstein, L.; Pike, MC.; Ursin, g. (2006). Reproductive factors and breast cancer risk according to joint estrogen and progesterone receptor status: a meta-analysis of epidemiological studies. Breast Cancer Res., 8(4): 43.

Makin, G.;and Dive,C. (2003). Recent advances in understanding apoptosis: new therapeutic opportunities in cancer chemotherapy. Trends Mol Med., 9: 251-255.

Malmstrom, P.; Holmberg, L.; Anderson, H.; Mattsson, J.; Jonsson, P. E. (2003). Breast conservation surgery, with and without radiotherapy, in women with lymph node-negative breast cancer: a randomised clinical trial in a population with access to public mammography screening. Eur. J. Cancer., 39: 1690-1697.

Martin, A.; Corte, MD.; Alvarez, AM. (2006). Prognostic value of preoperative serum CA 15.3 levels in breast cancer. Anticancer Res 26: 3965-3971.

McPherson, K.; Steel, CM.; Dixon, JM. (2000). Breast cancerepidemiology, risk factors, and genetics., BM.J.,(321): 624–628.

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

Michels, K. B.; Xue, F.; Colditz, G. A.; and Willett, W. C. (2007). Induced and spontaneous abortion and incidence of breast cancer among young women: a prospective cohort study. Arch Intern Med., 167: 814-820.

Michels, K. B.;and Ekbom, A. (2004). Caloric restriction and incidence of breast cancer. Jama., 291: 1226-1230.

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.

Molina ,R.; Barak ,V.; van Dalen, A.(2005). Tumor markers in breast cancer- European Group on Tumor Markers recommendations. Tumour Biol., 26: 281-293.

Monninkhof, E. M.; Elias, S. G.; Vlems, F. A.; van der Tweel, I.; Schuit, A. J.; Voskuil, D. W.; and van Leeuwen, F. E. (2007). Physical activity and breast cancer: a systematic review. Epidemiology .,18: 137-157.

Morrow ,M.; and Gradishar, W. (2002). Breast cancer. BM.J., 324 (7334): 4–410.

N

Noroozi, A.; Jomand,T.; Tahmasebi, R. (2010). Determinants of Breast Self-Examination Performance Among Iranian Women, An Application of the Health Belief Model. J. Cancer Educ.

Narod, SA;and Foulkes, WD. (2004). BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. Nat Rev Cancer.,4(9): 665–676.

Nevidjon, B.M. and Sowers, K.W. (2000). A Nurse's Guide to Cancer Care, Lippincott.

Nichols, H. B.; Trentham-Dietz, A.; Love, R. R.; Hampton, J. M.; Hoang Anh, P. T.;Allred, D. C.;Mohsin, S. K. (2005). Differences in breast cancer risk factors by tumor marker subtypes among premenopausal Vietnamese and Chinese women. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention., 14, 41-47.

O

Oldenburg, R. A.; Meijers-Heijboer, H.; Cornelisse, C. J.; and Devilee, P. (2007). Genetic susceptibility for breast cancer: How many more genes to be found? Crit Rev Oncol Hematol., 63: 125-149.

Olszewski, W. (2003). The lymphatic system in body homeostasis: physiological conditions. Lymphat Res Biol., 1 (1): 11-21.

P

Palma, M.; Ristori, E.; Ricevuto, E.; Giannini, G.; Gulino,A. (2006). BRCA1 and BRCA2: The genetic testing and the current management options for mutation carriers. Critical Reviews in Oncology/Hematology ., 57(1):1–23.

Pant, K .;and Dutta,U. (2008). Understanding and management of male breast cancer: a critical review. Med Oncol., 25: 294-298 .

Parkin, D. M. (2004). International variation. Oncogene., 23: 6329-6340.

Parkin, D. M.; Bray, F.; Ferlay, J.; and Pisani, P. (2005). Global cancer statistics,2002. CA Cancer. J. Clin .,55: 108-174.

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.

Peggy, Proter. (2008). "Westerizing women's risks? Breast cancer in lower. Income countries engl j med; www.nejm.org., 3: 358.

Pharoah, P. D.; Dunning, A. M.; Ponder, B. A.;and Easton, D. F. (2004). Association studies for finding cancer-susceptibility genetic variants. Nat Rev Cancer., 4: 850-860.

Phipps, A. I.; Malone, K. E.; Porter, P. L.; Daling, J. R.; and Li, C. I. (2008). Reproductive and hormonal risk factors for postmenopausal luminal HER-2-overexpressing, and triplenegative breast cancer. Cancer., 113(7): 1521-1526.

Piccart-Gebhart, M. J.; Procter, M.; Leyland-Jones, B.; Goldhirsch, A.; Untch, M. (2005). Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. N Engl. J. Med., 353: 1659-1672.

Pisano, ED.; Fajardo, LL.; Caudry, DJ. (2001). Fine-needle aspiration biopsy of nonpalpable breast lesions in a multicenter clinical trial: results from the radiologic diagnostic oncology group V. Radiology.,219(3):785-792.

Prentice, RL.; Caan, B.; Chlebowski, RT. (2006). "Low- fat dietary pattern and risk of Invasive breast cancer"; The women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary modification Trial. Journal of the American Medical Assiociation., 295 (6): 629- 642.

Pruitt, S.L.;Shim,M.J.;Mullen,P.D.;Vernon,S.W.; and Amick,B.C. (2009). Association of area socioeconomic status and breast, cervical, and colorectal cancer screening: a systematic review. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 18(10): 2579-2599.

R

Rahman, N.; Seal, S.; Thompson, D.; Kelly, P.; Renwick, A.; Elliott, A.; Reid, S.; Spanova, K.; Barfoot, R.; Chagtai, T.; Jayatilake, H.; McGuffog, L.;Hanks, S.; Evans, D.G.; Eccles, D.; Easton, D.F.; and Stratton, M.R. (2007). PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. Nat Genet., 39:165-167.

Rao, NY.; Zhou, J.; Zhao, L.(2008). BRCA1 and BRCA2 deleterious mutation in 219 Han Chinese hereditary breast cancer patients. Chin Oncol., 5 :370-375.

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

Reeves, G. K.; Pirie, K.; Beral, V.; Green, J.; Spencer, E. (2007). Cancer incidence and mortality in relation to body mass index in the Million Women Study: cohort study. Bmj

Reid, S.; Schindler, D.; Hanenberg, H.; Barker, K.; Hanks, S.; Kalb, R.; Neveling, K.; Kelly, P.; Seal, S.;Freund, M.; Wurm, M.; Batish, S.D.; Lach, F.P.; Yetgin, S.; Neitzel, H.; Ariffin, H.; Tischkowitz, M.; Mathew, C.G.; Auerbach, A.D.; and Rahman, N. (2007). Biallelic mutations in PALB2 cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer. Nat Genet .,39: 162-164.

Rinaldi, S.; Key, T. J.; Peeters, P. H.; Lahmann, P. H.; Lukanova, A. (2006). Anthropometric measures, endogenous sex steroids and breast cancer risk in postmenopausal women: a study within the EPIC cohort. Int. J. Cancer., 118: 2832-2839.

Rosai, J. ed. (2004). Chapter 20. Breast. In: Rosai and Ackerman’s Surgical Pathology, Ninth Edition. Philadelphia: Mosby:1763–1876.

S

Sambrook,J. ; Fritsch,E.F.; and Maniatis,T. (1989). Molecular cloning: A laboratory manual . 2nd edition, Cold spring harbor laboratory press,cold spring Harbor, New York

Santen, RJ.; and Mansel, R. (2005). Benign breast disorders. N Engl. J .Med., 353:275–285.

SAS (2001). SAS/STAT“ user ”Guide for personal compaters, release 6.12 SAS institute Inc, Cary, N.C., USA.

Saslow, D.; Boetes, C.; Burke, W. (2007) American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. CA Cancer. J .Clin.,57 (2):75-89.

Seal, S.; Thompson, D.; Renwick, A.; Elliott, A.; Kelly, P.; Barfoot, R.; Chagtai, T.; Jayatilake, H.; Ahmed, M.,;Spanova, K.; North, B.;

McGuffog, L.; Evans, D.G.; Eccles, D.; Easton, D.F.; Stratton, M.R.; and Rahman, N. (2006). Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. Nat Genet., 38: 1239-1241.

Shaaban, A.M.; O'Neill, P.A.; Davies, M.P.; Sibson, R.; West, C.R.; Smith, P.H. and Foster, C.S. (2003).Declining estrogen receptor-beta expression defines malignant progression of human breast neoplasia. Am. J. Surg Pathol., 27(12):1502-1512.

Shannon, C.; and Smith, I.E. (2003). Breast cancer in adolescents and young women. Eur . J. Cancer., 39(18): 2632-2642.

Shinde, S. S.; Forman, M. R.; Kuerer, H. M.; Yan, K.; Peintinger, F.; Hunt, K. K.; Hortobagyi, G. N. (2010). Higher parity and shorter breastfeeding duration: Association with triple-negative phenotype of breast cancer. Cancer., 116(21): 4933-4943.Abstract

Singletary ,SE.;and Robb, GL. (2004). Hortobagyi GN. Advanced Therapy of Breast Disease. Philadelphia (Pennsylvania): B.C. Decker.

Srinivas, PR.; Srivastava, S.; Hanash, S.; Wright, G. (2001). Proteomics in early detection of cancer.Clinical Chem ., 47(10): 1901-1911.

Steven, Perlmuter.; Ben, Y. Young .; Joseph. P. Dipietro.; Paul, R. Fisher.; Ajay, Malhotra.; Sheri, L. Ford.; Barbara, Lavson. (2008). "Breast Cancer Ultrasongography.

Stone, N.; Baker, R.; Rogers, K.; Parker, A. W.; and Matousek, P. (2007). Subsurface probing of calcifications with spatially offset Raman spectroscopy (SORS): future possibilities for the diagnosis of breast cancer. Analyst., 132: 899-905.

Stratton, M.R.; and Rahman, N. (2008). The emerging landscape of breast cancer susceptibility. Nature genetics., 40(1): 17-22

Stratton, MR.; Campbell, PJ.; and Futreal,PA. (2009). The cancer genome. Nature .,458(7239):719–724.

Suzuki, R.; Rylander-Rudqvist, T.; Ye, W.; Saji, S.; and Wolk, A. (2006). Body weight and postmenopausal breast cancer risk defined by estrogen and progesterone receptor status among Swedish women: A prospective cohort study. Int .J. Cancer., 119: 1683-1689.

Svenska, Bröstcancergruppen. (2011). Nationella riktlinjer för behandling av bröstcancer.[2011-03-19]; Available from: http://www.swebcg.se.

Syrjäkoski, K.; Kuukasjärvi, T.; Waltering, K.; Haraldsson, K.; Auvinen, A.; Borg, Å.; Kainu, T.; Kallioniemi, OP.;and Koivisto, PA.(2004).BRCA2

mutations in 154 finnish male breast cancer patients. Neoplasia., 6(5): 541–545.

Szabo C.I.;and King, M.C.(1997). Population genetics of BRCA1 and BRCA2 // Amer. J. Hum. Genet. ,60:. 1013–1020.

T

Tamimi, RM.; Bgrne, C.; Colditz, GA.; Hankinson, SE. (2007).‟Endogenous hormone levels; mammographic density, and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women″;. J. Natl cancer Inst 99: 1178-1187.

Tammela, T.;and Alitalo, K. (2010). Lymphangiogenesis: molecular mechanisms and future promise. Cell .,140:460-476.

Tavassoli, F.A.; and Devilee, P. (2003). Pathology and Genetics - Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press, Lyon

Tehard, B.; and Clavel-Chapelon,F. (2006).Several anthropometric measurements and breast cancer risk: results of the E3N cohort study. Int. J. Obes., 30:156–163

Thomas, DB.; Gao, DL; Ray, RM. (2002). "Randomized trial of breast self-examination in shanghai"; Final result,. J. Natl Cancer Inst; 94 (19): 57-1445; PMID. 12359854.

Thompson, D.; and Easton, D. (2004). The genetic epidemiology of breast cancer genes. J Mammary Gland Biol Neoplasia., 9: 221-236.

Tice, JA; Cummings, SR.; Smith-Bindman, R.; Ichikawa, L.; Barlow, WE.; Kerlikowske ,K.(2008). Using clinical factors and mammographic breast density to estimate breast cancer risk: development and validation of a new predictive model. Ann Intern Med., 148:337-347.

Tischkowitz, M.D.; Hodgson, S.V.; and Fentiman, I.S. (2002). 19. Male breast cancer: aetiology, genetics and clinical management. Int. J. Clin Pract., 56: 750-754.

Travis, R.C.; and Key,T.J. (2003). Oestrogen exposure and breast cancer risk. Breast Cancer Res., 5(5): 239-247.

Turner, P.C.; Mclennan, A.G.; Bates, A.D. and White, M.R. (2000). Molecular Biology. 2nd ed. Bios, London.

U

U.S. Preventive Services Task Force. (2009). Genetic risk assessment and BRCA mutation testing for breast and ovarian cancer susceptibility. Retrieved April 20 from: http://www.ahrq.gov/clinic/ uspstf05/ brcagen /brcagenrs. htm.

V

Vainio,H.; and Bianchini, F. (2002). Weight control and physical activity. In: IARC handbooks of cancer prevention Vol 6. Lyon, France International Agency for Research on Cancer.

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.

van den Brandt, PA.; Spiegelman, D.; Yaun, SS. (2000). Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. Am .J. Epidemiol .,152:514–527.

Verhoog, LC.;Berns, EM.;Brekelmans, C T.;Seynaeve, C.;Meijers-Heijboer,EJ .;and Klijn, JG. (2000). Prognostic significance of germline BRCA2 mutations in hereditary breast cancer patients. J. Clin Oncol., 18(21 Suppl): 119-124.

Veronesi, U.; Boyle, P.; Goldhirsch, A.; Orecchia, R.; and Viale, G. (2005). Breast cancer. Lancet., 365: 1727-1741.

Vogelstein, B.; Lane, D.; Levine, AJ. (2000). Surfing the p53 network. Nature., 408:307-310 .

Vona-Davis, L.; and Rose, DP. (2009). The influence of socioeconomic disparities on breast cancer tumor biology and prognosis: a review. J. Womens Health (Larchmt).,18(6): 883-893.

W

Wahed, A.; Connelly, J.; Reese, T. (2004). E-cadherin expression in pleomorphic lobular carcinoma: an aid to differentiation from ductal carcinoma. Ann Diag Pathol x., 6:349-351.

Wang,Y.; Cortez,D.; Yazdi,P. (2000). BASC, a super complexBRCA1-associated proteins involved in the recognition andof aberrant DNA structures. Genes Dev .,14:927–939

Weiderpass, E.; Braaten, T.; Magnusson, C.; Kumle, M.; Vainio, H.; Lund, E.; Adami, HO. (2004). A prospective study of body size in different periods of life and risk of premenopausal breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.,13: 7-1121.

Weihua,Z.;Andersson,S.;Cheng,G.;Simpson, ER.;Warner,M.;and Gustafson, JA.(2003). Update on estrogen signaling. FEBS Lett.,546:17-24.

Weischer, M.; Bojesen, S. E.; Ellervik, C.; Tybjaerg-Hansen, A.; and Nordestgaard, B. G. (2008). CHEK2*1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analyses of 26,000 patient cases and 27,000 controls. J .Clin Oncol., 26: 542-548.

Weiss,JR.; Moysich, KB.; and Swede, H. (2005). Epidemiology of male breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev .,14(1): 20–26.

Whiteman, MK.; Hillis , SD.; Curtis, KM.; McDonald, JA.; Wingo, PA.; and Marchbanks, PA. (2004). Reproductive history and mortality after breast cancer diagnosis. Obstet gynecol.,104(1): 146-154.

WHO. (2011).Breast Cancer: prevention and control. Available from: http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index.html.

WHO.(2006).http://www.Who.int/mediacenter ctsheets/fs297/en/index.html.fact sheets No. 297. Caner.

Wiechmann, L.;and Kuerer,HM. (2008).The molecular journey from ductal carcinoma in situ to invasive breast cancer.Cancer.,112(10): 2130-2142. Review.

Winer, EP.; Morrow, M.; Osborne, CK.; Harris, JR. (2001). Cancer of the breast. In: Cancer: Principles and Practice of Oncology. eds. De Vita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins., 1264-1333.

Wooster, R.; and Weber, B.L. (2003). Breast and ovarian cancer. The New England journal of medicine., 348(23): 2339-2347.

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.

Wu, A. H.; Yu, M. C.; Tseng, C. C.; and Pike, M. C. (2008). Epidemiology of

soy exposures and breast cancer risk. Br. J. Cancer., 98: 9-14.

WWW.genetests.org, copy right University of Washington, Seattle

Y

Yang, L.; and Jacobsen, KH. A. (2008).systematic rof the association between breastfeeding andbreast cancer. J. Womens Health.,17(10): 1635-1645.

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.

Z

Zhang, J.(2003).Evolution by gene duplication an update. Trends in Ecology and Evolution., 18(6): 292-298.

Summary

The importance of this study is due to 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 and some of predisposing factors of breast cancer.

Blood sample of (69) breast cancer patients were collected from early detection unit in AL- Hussein teaching hospital in Holy Kerbala government, which compared with (30) apparently healthy women.

The distribution of the samples according to the some parameters were studied including : Age, Marital status, breast feeding status, number of children, weight, parent relationship, and cancer family history to evaluate the effects of these parameters on the prevalence rate of breast cancer .

The study revealed that there was no significant difference between sporadic and hereditary types of breast cancer and the age, marital status, breast feeding, number of children, parent relationship

Regarding to the marital status, the married women revealed higher incidence of sporadic and hereditary breast cancer were (86.2%) and (92.5%) respectively, while the lower incidence of both types were in unmarried women (13.7%) and (7.5%) respectively .

The results also revealed that the breast feeding women were the lowest incidences rate of sporadic (10.3%) and hereditary (22.5%) while the non breast feeding women were the higher incidence for both types (89.6%) and (77.5%) respectively.

Regarding to the parent relationship, the results revealed that the higher incidence rate of sporadic cases were (51.7%) with no relation between patients parents and (48.2%) with cousin parents, while in hereditary breast cancer were (60%) for cousin patients parents and (40%) for no-relation of patients parents.

Regarding to the number of children, the results showed that the women with (1-4 child) have the higher incidence of sporadic and hereditary were (36%) and (59.4%) respectively, while the lower percentage were

(12%) and (13.5%) in sporadic and hereditary cases of no- children's women respectively.

The results also revealed that the higher incidence of sporadic and hereditary breast cancer were (27.5%) and (35%) in (30-40),(< 30),(41-50) years old groups , while its (6.8%) in (more60) years old group for sporadic and (7.5%) in hereditary cases for the same age group.

The results of the effect of weight revealed that there were highly significant correlation between the weight and both types of breast cancer.

The CA27.29 tumor marker was adopted for detection of breast cancer, the statistical analysis revealed there is highly significant correlation ($P \leq 0.01$) between the tumor marker and both types of breast cancer in comparison to the control group, the results also showed no significant effects ($P \geq 0.05$) for the(age, marital status, breast feeding, number of children, weight, parent relationship) and the studied mutation on the means of tumor markers.

The DNA was extracted from blood samples using DNA extraction kits, 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) for patient group were (23.19%) , (5.8%) ,while (6174 del T)mutation is not recorded in both patient groups, 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.

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Kerbala

College of Education for Pure Sciences

The relationship between mutations of BRCA1,BRCA2 genes and some risk factors of breast cancer patients in the Kerbala province

A Thesis

Submitted to the council of College of Education for Pure Sciences University of Kerbala In Partial Fulfillment of the Requirements for the Master Degree in Biology / Zoology

By

Zainab Nizar Jwad

BSC in biology

Supervised by

Dr. Zuhair Mohammed Ali Jeddoa