بررسی ارتباط مولکولی جهش حذف 1100delC ژن CHEK2

و ابتلا به سرطان پستان

منیژه جلیلوند[1]، رضا نجفی‌پور[1]، محمد شکاری[2]، صفرعلی علی‌زاده[1]، نسرین کریمی[3]، مانا علومی[3*]

1- دپارتمان بیوشیمی و ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

2- دپارتمان ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

3- دپارتمان بیولوژی مولکولی، انستیتو پاستور ایران

نویسنده مسئول: مانا علومی3* دپارتمان بیولوژی مولکولی، انستیتو پاستور ایران

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی است که منجر به مرگ خانم‌های مبتلا می‌شود. فاکتورهای ژنتیکی نقش مهمی در بروز سرطان پستان دارند، از جمله این فاکتورهای ژنتیکی، ژن CHEK2(checkpoint kinase 2) است که به‌عنوان یک ژن سرکوبگر تومور نقش مهمی در ترمیم DNA آسیب‌دیده دارد. جهش در ژن CHEK2 سبب از دست رفتن این ویژگی می‌شود. یکی از جهش‌های ژن CHEK2، جهش حذف 1100delC است که در تعدادی از جمعیت‌های دنیا با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان ارتباط دارد. در این مطالعه ارتباط بین جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 و ریسک ابتلا به سرطان پستان در جمعیت زنان موردمطالعه ایرانی بررسی شد.

روش کار: در این مطالعه پس از بررسی و استخراج اطلاعات پاتولوژیکی بیماران بخش جراحی بیمارستان میلاد تهران، 38 زن مبتلا به سرطان پستان زیر 45 سال و 62 زن مبتلا به سرطان پستان بالای 45 سال به‌همراه 100 نفر گروه شاهد دارای شرایط سنی مشابه وارد مطالعه شدند. پس از اخذ فرم رضایت‌نامه و گرفتن 5 سی‌سی خون کامل و استخراج DNA، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 با روش Allelic-Specific PCR مورد بررسی و ارتباط آن با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در بیماران مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 در هیچ‌کدام از گروه بیماران خانم مبتلا به سرطان پستان و افراد شاهد در جمعیت موردمطالعه در این تحقیق مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر آشکار ساخت که ارتباط معناداری بین افزایش استعداد ابتلا به سرطان پستان و حامل بودن جهش حذف باز C اگزون 10 ژن CHEK2 در جمعیت موردمطالعه وجود نداشت.
کلمات کلیدی: سرطان پستان، CHEK2، جهش حذف 1100delC

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان زنان در سراسر جهان و اولین علت مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در بین زنان است. 23٪ از کل موارد جدید سرطان پستان و 14٪ از مرگ‌ومیر ناشی از سرطان مربوط به سرطان پستان است. بر اساس آمارهای سازمان جهانی بهداشت، از هر 8 تا 10 زن یک نفر دچار سرطان پستان می‌شود (1). در کشور ما ایران، آمارها نشان می‌دهند که از هر 10 تا 15 زن احتمال ابتلای یک نفر به سرطان پستان وجود دارد. سن بروز سرطان پستان در زنان ایران یک دهه کمتر از کشورهای توسعه‌یافته است (1). مطالعات قبلی در مورد سرطان پستان، میانگین سنی افراد مبتلا به سرطان پستان در ایران را 48 سال در مقابل 55 سال در کشورهای دیگر گزارش داده‌اند (2).

از نظر علت، سرطان پستان یک بیماری به‌شدت هتروژن است که در اثر تأثیر متقابل عوامل محیطی و وراثتی ایجاد می‌شود (1). در زمان بلوغ تحت اثر هورمون‌های استروژنی و به دنبال تکثیر اپی‌تلیوم پستان و ایجاد لوبول‌های پستان به‌صورت کلونال، چنانچه قبل از توسعه لوبول‌ها، یک سلول پیش‌ساز لوبولار جهش مستعد کننده سرطان را کسب کند، همه سلول‌های لوبول کامل، این جهش را کسب خواهند کرد که منجر به افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان می‌شود (3). مطالعات محققین نشان می‌دهند که این بیماری در خویشاوندان درجه یک فرد شاخص فراوانی بیشتری دارد که این موضوع نقش فاکتورهای ژنتیکی در بروز این سرطان را نشان می‌دهد (3). اکثر موارد سرطان پستان به‌صورت تک‌گیر دیده می‌شود، ولی بعضی موارد در اثر جهش ژن‌های بازدارنده تومور[1] رخ می‌دهند که در جلوگیری از سرطان پستان نقش مهمی دارند (1). این ژن‌ها مشتمل بر ATM[2]، TP53، CHEK2، BRAC1،NBS1(Nibrin) و BRAC2 هستند که در شماری از سرطان‌های پستان میزان بالایی از ناپایداری ژنومی (Genomic Instability) را نشان می‌دهند (1, 3, 4).

ناپایداری DNA به علت تغییر در مسیرهای مولکولی تنظیم‌کننده تکثیر سلولی، تمایز، آپوپتوز و ترمیم DNA اتفاق می‌افتد (1). در عمل ژن‌های بازدارنده تومور معمولاً در سیگنالینگ سلولی که چرخه سلولی را کنترل می‌کند، مشارکت دارند یا در پاسخ به آسیب DNA از جمله شکست دورشته‌ای DNA، در عمل ترمیم آن دارای نقش هستند (5). ترمیم شکست‌های DNA دو رشته‌ای به‌وسیله نوترکیبی همساخت بدون خطا (Homologous Recombination)، با استفاده از شبکه‌ای از

پروتئین‌های دخیل نشانگان‌های سرطان پستان همانند ATM، TP53، CHEK2، NBS1(Nibrin)،BRCA1 و BRCA2 رخ می‌دهد.

1. Tumor suppressor genes
2. Ataxia telangiectasia mutated

این مسئله نشان می‌دهد که نقص در ترمیم شکست‌های DNA دو رشته‌ای می‌تواند با استعداد ژنتیکی ابتلا به سرطان پستان مرتبط باشد (1). تاریخچه خانوادگی سرطان پستان با سن شروع زودهنگام غیرمعمول در ارتباط است که علاوه بر سرطان پستان با سرطان تخمدان، تومورهای دوجانبه فراوان و گاهی سرطان پستان در مردان همراهی نشان می‌دهد (5).

ژن CHEK2 به‌عنوان یکی از ژن‌های سرکوبگر تومور نقش مهمی در ترمیم DNA و حفظ پایداری کروموزوم دارد (4). این ژن به طول 50 کیلو باز دارای 14 اگزون بر روی کروموزوم 22 در ناحیه 22q12.1 قرار دارد (4). ژن CHEK2، پروتئین هسته‌ای سرین/ ترئونین کیناز با نام CHEK2 (OMIM -604373) به طول 546 آمینواسید را کد می‌کند. فعال شدن این پروتئین در پاسخ به آسیب DNA مانع از ورود سلول به میتوز و بروز سرطان خواهد شد (6-8).

در پاسخ به آسیب DNA دو رشته‌ای یا آسیب‌های رونویسی، پروتئین کیناز 3056 رزیدویی ATM، با تغییر در کنفورماسیون کروماتین فعال می‌شود. زمانی که ATM فعال شد، سوبستراهای متعددی را از جمله پروتئین‌های P53، NBS1(Nibrin)، CHEK2 و BRCA1 را فسفریله و فعال می‌کند. CHEK2 یک کیناز میانجی است و وقتی‌که توسط ATM فسفریله و فعال شد، با انتقال پیام ATM سبب فسفریله و فعال شدن تعداد زیادی از سوبستراهای بالادست خود شامل تومور ساپرسور P53، پروتئین‌های خانواده CDC25 و سرین 988 ژن BRCA1می‌شود. این سوبستراها که در چرخه سلولی دخیل هستند و کیفیت ترمیم آسیب DNA را افزایش می‌دهند، سبب افزایش یکپارچگی و تمامیت ژنوم می‌شوند، بنابراین جهش در ژن CHEK2 سبب از دست رفتن این ویژگی و آسیب به DNA می‌گردد (4, 5, 9, 10).

جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 یکی از جهش‌های این ژن است که با حذف یک نوکلئوتید C در منطقه 1100 ژن CHEK2 همراه است، از نوع جهش‌های تغییر چارچوب است که ایجاد این جهش باعث تغییر عملکرد این ژن در مسیر ترمیم DNA می‌شود. تغییر عملکرد به دنبال این جهش سبب ایجاد کدون خاتمه در کدون 381 (381X) بدنبال حذف تک باز سیتوزین در موقعیت 1100 می‌شود. در ادامه پروتئین تولیدشده ناپایدار می‌گردد که نقص عملکرد کینازی ژن CHEK2 را به دنبال دارد

(11). مطالعات مختلفی در سراسر جهان به بررسی ارتباط بین جهش ژن CHEK2 و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان پرداخته است اما در خیلی از قومیت‌ها و جمعیت‌ها نیاز به این نوع مطالعات هنوز وجود دارد (18-12).

بر اساس جستجوهای صورت‌گرفته در سایت‌های NCBI، SID و Google به نظر می‌رسد تاکنون در جمعیت زنان ایرانی هیچ مطالعه‌ای در خصوص جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان انجام نشده است، لذا مطالعه حاضر به‌منظور بررسی این موضوع در جمعیت زنان ایرانی طراحی و اجرا شده است.

روش بررسی:

در این مطالعه مورد- شاهدی 100 بیمار خانم مبتلا به سرطان پستان بخش جراحی بیمارستان میلاد تهران که اطلاعات پاتولوژیکی مورد نظر شامل درجه توموری، مرحله توموری، سن و نتایج هیستوپاتولوژی از پرونده بالینی آن‌ها استخراج و ثبت گردیده بود، به همراه 100 نفر گروه کنترل سالم دارای شرایط سنی مشابه که عدم وجود تومور پستان در تمام آن‌ها با روش ماموگرافی تائید شده بود، وارد مطالعه شدند.

معیار انتخاب این تعداد نمونه بر اساس مطالعات مشابه پیشین بود (12-11)، اطلاعات پاتولوژیکی کامل بیماران مورد مطالعه توسط پاتولوژیست به تأیید رسیده بود. نمونه‌های بیماران در محدوده زمانی تیرماه سال 1390 لغایت تیرماه 1392 به مدت دو سال جمع‌آوری شدند.

ابتدا از بیماران و افراد شاهد پس از دریافت رضایت‌نامه، 5 سی‌سی خون کامل محیـــطی در لوله خلأ حاوی K2-EDTA گرفته شد. DNA نمونه خون‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA (Qiagen; USA) جداسازی شد. DNA استخراج‌شده نمونه‌ها تا موقع مصرف در فریزر 80- نگهداری گردیـد. واکنـــش Allelic-Specific PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی استفاده شده در مطالعه پیشین انجام شد (16).

در افراد نرمال پرایمرهای پیشرو (Forward) و پسرو (Reverse) با تکثیر قطعه هدف در اگزون 10، قطعه 537bp را تکثیر می‌کنند. در افراد بیمار حامل این جهش، پرایمر پیشرو (Forward) با پرایمر جهش‌زا (Mutant) ایجاد محصول 200bp می‌نماید (جدول شماره 1).

هر واکنش Allelic-Specific PCR شامل 5 پیکومول از هر یک از پرایمرها، 0/2 واحد از آنزیم Taq پلیمراز، 8 میکرومولار دزاکسی نوکلئوتید تری‌فسفات (dNTP)، 2/5 میکرولیتر بافر PCR (10X)، 1/5 میکرومولار کلرید منیزیم (MgCl2) و 20-

50 نانوگرم DNA بود که با ddH2O به حجم نهایی 25µl می‌رسید. شرایط واکنش Allelic-Specific PCR در جدول شماره 2 آمده است.

جدول شماره 1- توالی پرایمرهای مورداستفاده در بررسی جهش حذف 1100delC ژن CHEK2

Sequence	Exon on request	Detected fragment	Results
Forward(CHEK2ex10f):5'-GCA AAA TTA AAT GTC CTA ACT TGC-3'	Exon10	537bp	**Negative**
Reverse(CHEK2ex10r):5'-GGC ATG GTG GTG TGC ATC-3'	Exon10		
Forward(CHEK2ex10f):5'- GCA AAA TTA AAT GTC CTA ACT TGC -3'	Exon10	200bp	**Positive**
Reverse(CHEK2delCr):5'-TGG AGT GCC CAA AAT CAT A-3'	Exon10		

جدول شماره 2- شرایط دمایی واکنش Allelic-Specific PCR جهش 1100delC

مرحله	دما °C	مدت	تعداد
1	94	10Denaturation دقیقه	1
2	94	25Denaturation ثانیه.	29
	50-58(52)	30Annealing. ثانیه.	
	72	35 Extension ثانیه.	
3	72	5Final Extension دقیقه	1

پس از انجام واکنش Allelic-Specific PCR، محصول PCR با اســـتفاده از ژل آگارز 1/5 درصد و رنگ ژل‌رد (Gel Red; UK) الکتروفورز گردید. در ژل الکتروفورز محصول PCR با اندازه‌های 537 و 200 بازی ردیابی می‌شدند. نتایج بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 17.0 و Epi- Info 3.5.4 و تست آماری کای‌اسکوئر و آزمون فیشر مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت و P-values کوچک‌تر از 0/05 به‌عنوان نتایج معنی‌دار منظور شدند.

یافته‌ها:

تعداد 100 بیمار خانم با تشخیص سرطان پستان که مارکرهای ER، PR، Ki67 و HER2 در آن‌ها اندازه‌گیری شده بود وارد مطالعه شدند. میانگین سنی بیماران 10/64±48/06 بود. 58 نفر از خانم‌های بیمار و 32 نفر از خانم‌های شاهد دارای سابقه خانوادگی سرطان پستان بودند. 4 نفر از خانم‌های بیمار و 5 نفر از خانم‌های شاهد موردمطالعه مجرد بودند. 96٪ بیماران واجد توموری با تشخیص کارسینومای مجرایی تهاجمی[1] بودند که 73٪ داکتال کارسینوما و 23٪ داکتال کارسینومای NOS[2] بودند و 4٪ واجد توموری با تشخیص کارسینومای لپکی[3] تهاجمی بودند.

1. Invasive Ductal Carcinoma
2. NOS (Not Otherwise Specified)
3. Invasive Lobular Carcinoma

نتایج بررسی هیستوپاتولوژیکی انواع کارسینوم در بیماران خانم زیر 45 سال و بالای 45 سال معنی‌دار نبود (جدول 3). نتایج بررسی درجه (Grade) و مرحله (Stage) نمونه‌های پاتولوژیک بیماران خانم زیر 45 سال و بالای 45 سال به ترتیب در نمودارهای شماره 1 و 2 قید شده‌اند. مرحله توموری IIA شایع‌ترین مرحله در میان تومورها بود (جدول 3). اختلاف بین دو گروه نیز معنی‌دار نیست. همچنین نتایج بررسی درجه و مرحله نمونه‌های پاتولوژیک بیماران خانم زیر 45 سال و بالای 45 سال به ترتیب در نمودارهای شماره 1 و 2 قید شده‌اند.

جدول شماره 3- یافته‌های کلینیکوپاتولوژیک در 100 بیمار موردمطالعه سرطان پستان

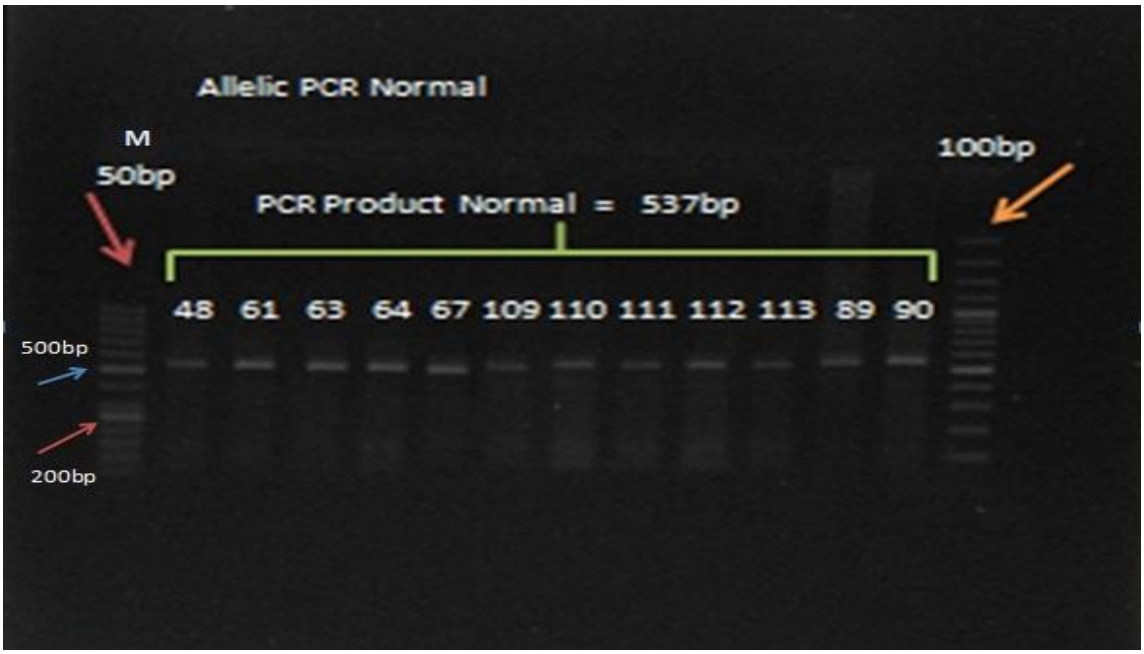
	سرطان پستان قبل از 45 سالگی			سرطان پستان بعد از 45 سالگی		
	تعداد	درصد	P value	تعداد	درصد	P value
هیستولوژی سرطان پستان						
داکتال کارسینوم	34	89/4	0/56	39	62/9	0/63
NOS داکتال کارسینوم	3	7/8	0/13	20	32/3	0/60
لوبولار کارسینوم	1	2/6	0/58	3	4/8	0/54
درجه بدخیمی (grade)						
I	2	5/3	0/53	2	3/2	0/58
II	11	28/9	0/65	11	17/7	0/73
III	25	65/8	0/80	49	79/3	0/88

مرحله بدخیمی(stage)						
Ia	6	15/7	0/87	9	14/6	0/87
Ib	0	0	0	2	3/2	0/50
IIa	17	44/7	0/87	33	53/2	0/93
IIb	9	23/6	0/30	4	6/5	0/35
IIIa	3	7/8	0/44	8	12/9	0/93
IIIb	1	2/6	0/69	2	3/2	0/63
IIIc	2	5/2	0/53	2	3/2	0/58
IVa	0	0	0	2	3/2	0/50
بروز گیرنده استروژنی (ER)						
+	19	50	0/98	34	54	0/99
-	19	50	0/98	28	46	0/99
بروز گیرنده پروژسترونی (PR)						
+	15	39	0/79	31	50	0/87
-	23	61	0/83	31	50	0/88
بروزKi67						
+	26	68	0/92	11	17	0/97
-	12	32	0/98	51	83	0/97
بروز Her2/neu						
+	5	13	0/83		50	0/90
-	33	87	0/63		12	0/71

همچنین نتایج استخراج‌شده بررسی بیومارکرهای بیماران خانم مبتلا به سرطان پستان در جدول شماره 3 ذکر گردیده است. بیومارکر ER در گروه زیر 45 سال 19 مورد (50٪) مثبت بود و در گروه بالای 45 سال 34 مورد (54٪) مثبت بود (جدول 3) که اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نیست. بروز PR نیز در گروه زیر 45 سال 15 مورد (39٪) و در گروه بالای 45 سال 31 مورد (50٪) بود (جدول 3) که اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نیست. در مورد ki-67 نیز در گروه زیر 45 سال 26 مورد (68٪) مثبت و در گروه بالای 45 سال 50 مورد (80٪) مثبت بود (جدول 3) که اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نبود. در مورد Her2/neu نیز در

گروه زیر 45 سال 33 مورد (87٪) منفی و 5 مورد مثبت (13٪) بودند. در گروه بالای 45 سال 51 مورد (83٪) منفی و 11 مورد (17٪) مثبت بودند (جدول 3) که اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نبود.

پس از انجام Allelic-Specific PCR برای کلیه نمونه‌های بیمار و شاهد و الکتروفورز محصول PCR، کلیه نمونه‌ها دارای باندهای 537bp بود و محصول PCR دارای باند 200bp در هیچ‌کدام از نمونه‌های بیمار و شاهد مشاهده نشد (شکل شماره 1).



شکل 1- محصول PCR نشان‌دهنده هموزیگوت نرمال: قطعه 537bp (48-90) پرایمر اختصاصی جهش 1100delC
M: DNA Ladder 50bp - CHEK2

بحث و نتیجه‌گیری

در تمام دنیا سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان زنان است (19, 20). در حدود 23٪ از موارد مرگ‌ومیر ناشی از سرطان، به دلیل سرطان پستان است (21). سالانه 35000 مورد مرگ بر اثر سرطان پستان در دنیا اتفاق می‌افتد. سرطان پستان با شیوع بیش از 1 میلیون مورد جدید در سال، حدود 23٪ از کل موارد جدید ابتلا به سرطان را شامل می‌شود (20, 22). برطبق مستندات انجمن سرطان آمریکا، از سال 1990 به بعد، مرگ حاصل از سرطان پستان رو به کاهش است و این امر به دلیل تشخیص سریع‌تر و درمان بهتر است. هم‌چنین 8/6٪ از کل موارد سرطان در زنان و مردان و 19٪ از تمام موارد سرطان در زنان سرطان پستان است (21, 22). میانگین سن تشخیص سرطان پستان در کشورهای غربی 56 سال و در ایران 45 سال است.

مطالعات نشان دادند که میزان بروز سرطان در ایران در حدود 51000 مورد در سال است. در مجموع میزان بروز سرطان پستان در ایران پایین‌تر از اروپا و ایالات متحده برآورد شده است (3-1, 22).

جهش در ژن CHEK2 در تعدادی از قومیت‌ها و جمعیت‌ها، با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط بوده است (4, 8, 9, 16, 25-23) یکی از جهش‌های ژن CHEK2، جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 است که در تعدادی از جمعیت‌های دنیا سبب افزایش ریسک ابتلا به سرطان سینه می‌گردد (16, 26). در این مطالعه جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 در هیچ‌کدام از دو گروه بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد شاهد یافت نشد. یافته‌های این مطالعه، اولین گزارش از بررسی ارتباط بین جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 و ریسک افزایش ابتلا به سرطان پستان در ایران می‌باشد.

برخلاف مطالعات صورت‌گرفته در سایر نقاط که جهش 1100delC ژن CHEK2 به‌عنوان جهش افزایش‌دهنده ریسک ابتلا به سرطان پستان مطرح است، در این مطالعه با بررسی ژنوتایپ خانم‌های بیمار و سالم جهت جهش 1100delC، هیچکدام حامل این جهش نبوده که به نظر می‌رسد بین حامل بودن ژن CHEK2 و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در جمعیت موردمطالعه ایرانی مشابه سایر کشورهای آسیایی، هیچ ارتباطی وجود ندارد. البته در مطالعه‌ای بر روی سل لاین پانکراتیت در چین با جهش 1100delC و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پانکراتیت ارتباط مشاهده شد (27). طبق بررسی‌های بعمل‌آمده، جهش 1100delC تاکنون در جمعیت کشورهای آسیایی گزارش نشده است. در مطالعات صورت‌گرفته در کشورهای آسیایی شامل کره (28)، چین (29)، ژاپن (30) و کشورهای جنوبی شبه‌قاره هند (31)، جهش 1100delC با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان ارتباط ندارد. در مطالعه صورت‌گرفته در کشور همسایه ایران، ترکیه خانم‌های با یا بدون سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان پستان حامل جهش 1100delC، دارای افزایش ریسک دوبرابری ابتلا به سرطان پستان هستند و عدم وجود این جهش در جمعیت موردمطالعه اثر محافظتی در پیشگیری از ابتلا به سرطان پستان دارد (32).

در بررسیی که در اروپا و آمریکای شمالی انجام شد ارتباط مشابهی از شیوع ریسک تقریباً دوبرابری ابتلا به سرطان پستان در افراد حامل جهش 11oodelC مشاهده شد (33). بالاترین شیوع جهش 1100delC در بین بیماران مبتلا به سرطان پستان در کشور فنلاند (6/8٪) یافت شده است (34). در سوئد این جهش با فراوانی 5/1٪ سبب ابتلا به سرطان پستان زودرس می‌گردد؛ به عبارتی افراد حامل این جهش 12 سال زودتر نسبت به افراد سالم شانس ابتلا به سرطان پستان دارند (18). البته فراوانی این جهش در جمعیت نیویورک کمتر گزارش شده است (35). درکشورهای هلند، انگلستان و آلمان این جهش با فراوانی کمتری گزارش شده است (8, 36).

این جهش در بیماران مبتلا به سرطان پستان خانوادگی و افراد سالم در جمعیت اسپانیا مشاهده نشد (37). در خانواده‌های لهستانی نشان داده شده است که نزدیک به نصف از افراد مبتلا به سرطان پستان که حامل جهش 1100delC هستند، همچنین سرطان کولورکتال دارند (38). نتایج فوق به وجود ارتباط قوی بین جهش 1100delC و افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان دلالت دارد، لذا در بعضی از جمعیت‌های اروپایی عنوان شده است که می‌توان آنالیز جهش 1100delC را به‌عنوان یک مارکر افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در جمعیت مبتلایان به سرطان پستان قبل از آنالیز کل ژنوم مطرح نمود (16)، اما با توجه عدم‌مشاهده جهش 1100delC در جمعیت موردمطالعه ایران و همچنین عدم‌مشاهده این جهش در کشورهای آسیایی، این نکته به ذهن می‌آید که جهش حذف 1100delC در افراد مبتلا به سرطان پستان در اقوام آسیایی وجود ندارد که این مطالعه تائیدکننده مطالعات پیشین صورت گرفته در آسیا است.

با توجه به بررسی مطالعات گذشته، در ارزیابی اطلاعات پاتولوژیکی و زیست‌شناسی مولکولی بیماران مبتلا به سرطان پستان، تومورهای مرتبط با جهش BRCA1 ویژگی‌های تهاجمی شامل بروز زودرس، درجه بالای تومور، گیرنده استروژن (ER) و گیرنده پروژسترون (PR) منفی و سرعت تکثیر بالا را نشان می‌دهند (39, 40)، همچنین در مطالعات پیشین بین مرحله بالا و درجه پایین و سایز تومور و بروز سرطان پستان در سنین پایین ارتباط مشاهده شده است (41, 42). در بحث بیومارکرها هم بروز HER2/neu و ki-67 در بیماران مبتلا، ارتباطی با بروز سرطان پستان زودرس ندارد اما گیرنده‌های استروژن و پروژسترون مثبت با بروز سرطان پستان در سنین بالا مرتبط نشان داده شده‌اند (41-44).

با بررسی عوامل پاتولوژیک چنین استنباط می‌گردد که ویژگی‌های تهاجمی، شامل بروز زودرس، درجه و مرحله بالای تومور، محتوای وابستگی هورمونی سرطان پستان همانند گیرنده استروژن (ER) و گیرنده پروژسترون (PR) منفی و سرعت تکثیر بالای تومورها قبل و بعد از سن باروری، ارتباطی با افزایش استعداد ابتلا به سرطان پستان در حاملین جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 در خانم‌های ایرانی مبتلا به سرطان پستان ندارد. همچنین در بررسی نتایج پاتولوژیکی بیماران این مطالعه بین عوامل درجه هیستولوژیک پایین و مرحله توموری بالا با بروز سرطان پستان در سنین پایین ارتباطی مشاهده نشد.

با توجه به عدم وجود اختلاف معنادار در مشخصات پاتولوژیکی و سن بیماران در جمعیت موردمطالعه ایران، به‌نوعی شاید بتوان گفت بین عوامل هیستوپاتولوژیک مبتلایان سرطان پستان در هر یک از این دو گروه سنی زیر 45 سال و بالای 45 سال و حامل بودن جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 ارتباطی وجود ندارد و این حذف بزرگ به‌عنوان عامل مستعد کننده افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در هیچکدام از دو گروه موردمطالعه یافت نشد.

از محدودیت‌های این مطالعه تعداد پایین نمونه‌های موردمطالعه بود که امکان دارد افزایش تعداد نمونه‌های موردمطالعه، احتمال یافتن جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 را به‌عنوان فاکتور افزایش‌دهنده ریسک ابتلا به سرطان سینه بالا ببرد.

از محدودیت‌های دیگر مطالعه حاضر فراوانی کمتر بیماران مبتلا به سرطان پستان دوطرفه (10 از 100) است که امکان دارد با افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان به دلیل این حذف ژنی مرتبط باشد. در مطالعه موردبررسی این ارتباط در مورد جهش 1100delC مشاهده شده است (17). اگرچه ممکن است افزایش تعداد نمونه‌های موردمطالعه، احتمال یافتن جهش حذف 5395bp ژن CHEK2 را به‌عنوان فاکتور افزایش‌دهنده ریسک ابتلا به سرطان سینه بالا ببرد، اما شاید این جهش در بعضی از قومیت‌های ایرانی اساساً وجود نداشته باشد، بااین‌وجود شاید انجام مطالعه مشابه با تعداد نمونه بیشتر بتواند مفید و گامی در جهت تشخیص سریع‌تر بیماران مبتلا به سرطان پستان به دلیل جهش حذف 1100delC ژن CHEK2 باشد. البته با توجه به سایر مطالعات صورت‌گرفته در آسیا و نبود ارتباط بین این جهش و افزایش ابتلا به سرطان پستان شاید بتوان به‌نوعی گفت که هیچ‌گونه ارتباطی در جمعیت‌های آسیایی مبتلا به سرطان پستان و این جهش نیست.

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

References:

1. Noori DM, Tabarestani S. Molecular Genetics, Diagnosis and Treatment of Breast Cancer: Review Article. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences 2010;17:74-87.
2. Dvarnia B, Mehdipour P, Atri M, al e. The Association between BRAC1 expression and Breast Cancer tumor genesis. Journal of Ardabil university of medicine Scienes. 2012;12(2):132-9.
3. Keshavarzi F, Javadi G, Nafisi N, al e. Identification of BRCA1 and BRCA2 mutations in a number of Iranian patients with early onest breast cancer or a breast cancer family history. Breast disease Journal. 2009;2(2):15-24.
4. Nevanlinna H, Bartek J. The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility. Oncogene 2006;25:5912-9.
5. Strachan T, Read A. Human molecular genetics. BIOS Scientific. Oxford; 1996.
6. Moore KL, Dalley AF, Agur AM. Clinically oriented anatomy: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
7. Liu C, Wang Y, Wang Q-S, Wang Y-J. The CHEK2 I157T variant and breast cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis. Asian Pac J cancer prev. 2012;13(4):1355-60.

8. Consortium CBCC-C. CHEK2 1100delC and Susceptibility to Breast Cancer:ACollaborative Analysis Involving 10,860 Breast Cancer Cases and 9,065 Controls from 10 studies. AmJHumGenet. 2004;74:1175-82.
9. Desrichard A, Bidet Y, Uhrhammer N, Bignon Y-J. CHEK2 contribution to hereditary breast cancer in non-BRCA families. Breast Cancer Res. 2011;13(6):R119.
10. Chen L, Nievera CJ, Lee AY-L, Wu X. Cell cycle-dependent complex formation of BRCA1· CtIP· MRN is important for DNA double-strand break repair. Journal of Biological Chemistry. 2008;283(12):7713-20.
11. Cybulski C, Wokołorczyk D, Huzarski T, Byrski T, Gronwald J, Górski B, et al. A large germline deletion in the Chek2 kinase gene is associated with an increased risk of prostate cancer. Journal of medical genetics. 2006;43(11):863-6.
12. Mohelnikova-Duchonova B, Havranek O, Hlavata I, Foretova L, Kleibl Z, Pohlreich P, et al. CHEK2 gene alterations in the forkhead-associated domain, 1100delC and del5395 do not modify the risk of sporadic pancreatic cancer. Cancer epidemiology. 2010;34(5):656-8.
13. ElAmrani A, Moumad K, Attaleb M, Benhassou M, Försti A, Ennaji MM, et al. Absence of CHEK2 1100delC, R145W and I157T Mutations in Breast Cancer in a Moroccan Population. Journal of Cancer Research and Treatment. 2014;2(1):6-9.
14. Bayram S, Akkız H, Topaktaş M. CHK2 1100delC, IVS2+ 1G> A and I157T mutations are not present in hepatocellular cancer cases from a Turkish population. Gene. 2013;512(2):232-6.
15. Bayram S, Topaktaş M, Akkız H, Bekar A, Akgöllü E. CHEK2 1100delC, IVS2+ 1G> A and I157T mutations are not present in colorectal cancer cases from Turkish population. Cancer epidemiology. 2012;36(5):453-7.
16. Rashid M, AJakubowska, al e. German population with infrequent CHEK2 1100delC and minor association with early-onset and familial breast cancer. European Journal of Cancer. 2005;41:2896-903.
17. Iniesta MD, Gorin MA, Chien L-C, Thomas SM, Milliron KJ, Douglas JA, et al. Absence of CHEK2* 1100delC mutation in families with hereditary breast cancer in North America. Cancer genetics and cytogenetics. 2010;202(2):136-40.
18. Margolin S, Eiberg H, Lindblom A, Bisgaard ML. CHEK2 1100delC is prevalent in Swedish early onset familial breast cancer. BMC cancer. 2007;7(1):163.
19. Parkin DM. International variation. Oncogene. 2004;23(38):6329-40.
20. Stewart S, King J, Thompson T, Friedman C, Wingo P. A cancer mortality surveillance United States, 1990-2000. MMWRSurveill Summer. 2004;53(SS03):101-8.
21. Habibi A. Epidemiological aspects of cancer in Iran. Int Surg. 1985;70(2):105-8.
22. Sajadi A, Nouraie M, Mohagheghi M, Mousavi-Jarrahi A, Malekezadeh R, Parkin D. Cancer occurrence in Iran in 2002,an international perspective. Asian Pac J Cancer Prev. 2005;6(3):359-63.
23. Cybulski C, Wokołorczyk D, Huzarski T, Byrski T, Gronwald J, Górski B, et al. A deletion in CHEK2 of 5,395 bp predisposes to breast cancer in Poland. Breast cancer research and treatment. 2007;102(1):119-22.
24. Cybulski C, Górski B, Huzarski T, Byrski T, Gronwald J, Dębniak T, et al. CHEK2-positive breast cancers in young Polish women. Clinical cancer research. 2006;12(16):4832-5.

25. Steven A, Henry T. CHEK2 Mutation and Hereditary Breast Cancer. Journal of Clinical Oncology. 2007;25:6-7.
26. Bąk A, Janiszewska H, Junkiert-Czarnecka A, Heise M, Pilarska-Deltow M, Laskowski R, et al. A risk of breast cancer in women-carriers of constitutional CHEK2 gene mutations, originating from the North-Central Poland. Hereditary cancer in clinical practice. 2014;12(1):10.
27. Ndawula Jr C, Yang X, Gong X, Jin J. CHK21100delC, I157T, IVS2+ IG> A, BRCA1 and BRCA2 Mutation Analysis in JF305: A Pancreatic Cancer Cell Line. Journal of Biosciences and Medicines. 2014;2(01):58.
28. Choi DH, Cho DY, Lee MH, Park HS, Ahn SH, Son BH, et al. The CHEK2 1100delC mutation is not present in Korean patients with breast cancer cases tested for BRCA1 and BRCA2 mutation. Breast cancer research and treatment. 2008;112(3):569-73.
29. Song C, Hu Z, Yuan W, Di G, Shen Z, Huang W, et al. CHEK2 c. 1100delC may not contribute to genetic background of hereditary breast cancer from Shanghai of China]. Zhonghua yi xue yi chuan xue za zhi= Zhonghua yixue yichuanxue zazhi= Chinese journal of medical genetics. 2006;23(4):443-5.
30. Bell DW, Kim SH, Godwin AK, Schiripo TA, Harris PL, Haserlat SM, et al. Genetic and functional analysis of CHEK2 (CHK2) variants in multiethnic cohorts. International Journal of Cancer. 2007;121(12):2661-7.
31. Rajkumar T, Soumittra N, Nancy NK, Swaminathan R, Sridevi V, Shanta V. BRCA1, BRCA2 and CHEK2 (1100 del C) germline mutations in hereditary breast and ovarian cancer families in South India. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2003;4(3):203-8.
32. Domagala P, Wokolorczyk D, Cybulski C, Huzarski T, Lubinski J, Domagala W. Different CHEK2 germline mutations are associated with distinct immunophenotypic molecular subtypes of breast cancer. Breast cancer research and treatment. 2012;132(3):937-45.
33. Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Klijn J, Wasielewski M, de Snoo A, Oldenburg R, et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2* 1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. Nature genetics. 2002;31(1):55-9.
34. Vahteristo P, Bartkova J, Eerola H, Syrjäkoski K, Ojala S, Kilpivaara O, et al. A CHEK2 genetic variant contributing to a substantial fraction of familial breast cancer. The American Journal of Human Genetics. 2002;71(2):432-8.
35. Offit K, Pierce H, Kirchhoff T, Kolachana P, Rapaport B, Gregersen P, et al. Frequency of CHEK2* 1100delC in New York breast cancer cases and controls. BMC medical genetics. 2003;4(1):1.
36. Meijers-Heijboer H, Wasielewski M, Wagner A, Hollestelle A, Elstrodt F, van den Bos R, et al. The CHEK2 1100delC mutation identifies families with a hereditary breast and colorectal cancer phenotype. The American Journal of Human Genetics. 2003;72(5):1308-14.
37. Osorio A, Rodríguez-López R, Díez O, de la Hoya M, Ignacio Martínez J, Vega A, et al. The breast cancer low-penetrance allele 1100delC in the CHEK2 gene is not present in Spanish familial breast cancer population. International journal of cancer. 2004;108(1):54-6.
38. Myszka A, Karpinski P, Slezak R, Czemarmazowicz H, Stembalska A, Gil J, et al. Irrelevance of CHEK2 variants to diagnosis of breast/ovarian cancer predisposition in Polish cohort. Journal of applied genetics. 2011;52(2):185-91.

39. Oldenburg R, Meijers-Heijboer H, Cornelisse C, Devilee P. Genetic susceptibility for breast cancer: how many more genes to be found? Critical reviews in oncology/hematology. 2007;63(2):125-49.
40. Chappuis PO, Nethercot V, Foulkes WD, editors. Clinico–pathological characteristics of BRCA1-and BRCA2-related breast cancer. Seminars in surgical oncology; 2000: Wiley Online Library.
41. Sidoni A, Cavalier A, Bellezza G, Scheibel M, Bucciarelli E. Breast cancer in young women: clinicopathological features and biological specificity. Breast cancer research and treatment. 2003;12(4):247-50.
42. Hung H, Neven P, Drijkoningen M, Paridaens R, Wildiers H, Limbergen V, et al. Hormone receptors do not predict the Her2/neu status in all age groups of women with an operable breast cancer. Annals of oncology. 2005;16:1755-61.
43. Zheng W, Zhen J, Ma L, Meng F, Huang L, Ma D. Comparison of Her-2/neu, Er and PCNA expression in premenopausal and postmenopausal patients with breast carcinoma. APMIS. 2005;113(3):175-81.
44. Kadivar M, Rezaee M, Jadidfard R, Joulaee A. Evaluation of Histopathology and Biologic Markers in Premenopausal (under 40 years) and Postmenopausal (over 60 years) Women with Breast Cancer in Hazrat-e-Rasoul and Atieh Hospitals. Iran universtiy of Medical Sciences. 2010;72(17):49-57.