مقاله پژوهشی

فصلنامهٔ بیماری‌های پستان ایران، سال هشتم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۴

مطالعه مارکرهای بافتی ER، Her-2 و CK5/6 و جهش‌های ژن $BRCA_2$ در مردان ایرانی مبتلا به سرطان پستان

سپیده کدخدا، عطیه ذریه زهرا، فرخنده بهجتی، حسین نجم‌آبادی، فاطمه آقاخانی مقدم، آزاده بدیعی: مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توان‌بخشی، تهران، ایران

فریدون سیرتی: موسسه سرطان، بخش جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

حسین افشین علوی: بخش پاتولوژی بیمارستان دی، تهران، ایران

مرتضی عطری: موسسه سرطان، بخش جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

رامش عمرانی‌پور: موسسه سرطان، بخش جراحی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

الهه کیهانی*: مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توان‌بخشی، تهران، ایران

Archive of SID

چکیده

مقدمه: سرطان پستان در مردان بیماری نادری است که در حدود ۱٪ از همه موارد سرطان پستان را به خود اختصاص می‌دهد. در بررسی متون مطالعه‌ای در رابطه با سرطان پستان مردان در ایران یافت نشد. به علت شیوع رو به افزایش آن توجه افزون‌تری در این زمینه مورد نیاز است. هدف از این مطالعه بررسی وجود جهش در ژن BRCA2 و تومور مارکر های ER، Her-2 و CK5/6 در بیماران مرد مبتلا به سرطان پستان به منظور نشر دانش و ایجاد انگیزه برای پژوهش در زمینه این بیماری است.

روش بررسی: در این مطالعه ۱۰ مرد ایرانی مبتلا به سرطان پستان بدون در نظر گرفتن زیر گروه بافت‌شناسی، سن و سابقه خانوادگی از بیمارستان‌های مهراد، دی و پارسیان انتخاب شدند. بلوک‌های پارافینه از مناطق تومورال برش‌گیری شدند و برش‌ها تحت رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای ER، Her-2 و CK5/6 قرار گرفتند. همچنین برش‌های لازم برای انجام رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین تهیه شد. برای تایید نتایج IHC برای بافت‌هایی که نتیجه Her-2 آنها(۲+)گشته بود تکنیک FISH انجام گرفت.

نمونه‌های خون بیماران تهیه و DNA آنها توسط روش Salting out استخراج و کیفیت آنها توسط اسپکتروفتومتری ارزیابی گردید. پرایمرهای مناسب برای انجام PCR مخصوص ژن BRCA2 طراحی و نمونه‌های DNA بیماران تحت شرایط مناسب دمایی PCR و الکتروفورز گردید و توسط روش سنجر (Sanger sequencing) توالی یابی شد.

یافته‌ها: نتیجه ER در ۸ بیمار مثبت و در ۲ نفر از بیماران منفی و نتیجه مارکرهای CK5/6 و Her-2 در تمام بیماران منفی گردید. تنها در یک بیمار جهش بی‌معنی (Non-sence mutation) در اگزون ۲۵ ژن BRCA2 شناسایی گردید. این جهش توسط سایت‌های معتبری همانند BIC، HGMD و Mutation taster تایید گشت.

نتیجه‌گیری: علی‌رغم تعداد کم بیماران در این مطالعه که بازتاب نادر بودن بیماری مذکور و با توجه به سایر مطالعات در دیگر کشورها می‌توان این گونه استنباط کرد که اکثر موارد سرطان پستان در مردان در زیرگروه Luminal A قرار می‌گیرد و از وضعیت تومور مارکرها نمی‌توان برای پیش‌گویی جهش در ژن BRCA2 استفاده کرد. انجام آموزش‌های همگانی لازم در زمینه تشخیص زود هنگام این سرطان در مردان و در نتیجه افزایش آگاهی آنها نسبت به این بیماری و همچنین ارتقا سطح کیفی روش‌های تشخیصی درکشور ضروری به نظر می‌رسد. همچنین پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های گسترده‌تری در راستای این مطالعه با تعداد نمونه بیشتر انجام پذیرد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان مردان (MBC)، BRCA2، ER، Her-2 و CK5/6.

* نشانی نویسنده پاسخگو: اوین-بلوار دانشجو-خیابان کودکیار-دانشگاه علوم بهزیستی و توان بخشی-مرکز تحقیقات ژنتیک- الهه کیهانی.
نشانی الکترونیک: ekeyhani1058@gmail.com

www.SID.ir

مقدمه

سرطان پستان در مردان MBC (Male Breast Cancer) بیماری نادری است که حدود ۱٪ از همه موارد سرطان پستان را به خود اختصاص می‌دهد (۱۰- ۱). طبق آمارهای موجود فراوانی این بیماری در طی سال‌های گذشته رو به افزایش نهاده است.

متاسفانه برخلاف سرطان پستان در زنان، مطالعات اندکی در مورد این سرطان در مردان انجام شده است. بنابراین نیاز برای مطالعه و پژوهش در مورد این بیماری به شدت احساس می‌شود. در ایران سن بروز سرطان پستان در مردان نسبت به جوامع غربی پایین‌تر است همانند سن بروز سرطان پستان در زنان ایرانی که تقریبا یک دهه کمتر از کشورهای توسعه یافته است (۱۱). سرطان پستان یک بیماری چند عاملی (Multifactorial) است که ژنتیک، عوامل هورمونی و تقابل بین اشخاص و محیط در ایجاد آن نقش دارند (۱۲). ناهنجاری‌های بالینی بر هم زننده تعادل در هورمون‌ها، سابقه خانوادگی سرطان پستان، شغل‌های خاص و قرار گرفتن در معرض عوامل محیطی مخرب و وجود جهش در ژن BRCA2 اصلی‌ترین عوامل در ایجاد سرطان پستان در مردان است (۹).

ژن‌های متعددی وجود دارند که استعداد ابتلا به سرطان پستان را بالا می‌برند (۱۳)، که از این میان ژن BRCA2 به عنوان عامل سرکوبگر تومور با موقعیت کروموزومی ۱۳q۱۲ در ترمیم آسیب‌های DNA از طریق نوترکیبی هومولوگ شرکت دارد (۱۴). ایجاد جهش در این ژن نه تنها افراد را مستعد ابتلا به سرطان پستان می‌کند بلکه می‌تواند موجب بدخیمی‌های دیگری همچون سرطان پروستات، پانکراس و ملانومای بدخیم گردد (۷،۱۵). جهش در این ژن دارای اهمیت بسیاری است زیرا باعث ابتلای افراد در سنین کمتر شده و موجب کاهش طول عمر آنان می‌گردد (۱۶).

طبق مقاله White و همکارانش در سال ۲۰۱۱ BRCA2 به عنوان قوی‌ترین ژن شناخته شده در ایجاد سرطان پستان می‌باشد به طوری که افراد با جهش در این ژن ریسک ۸۰٪ برای ابتلا به سرطان پستان دارند (۱۷).

همچنین در مقاله H. Giordano و همکارانش ذکر شده است که در مطالعات مختلف، فراوانی جهش BRCA1 در مردان مبتلا بین صفر تا ۴٪ است در حالی که فراوانی جهش BRCA2، ۴ تا ۱۶ درصد است. جهش در BRCA2 باعث ابتلای مردان در سنین جوان‌تر شده و منجر به حیات کمتر آنها می‌شود (۱۸).

تومور مارکرهای بافتی متعددی به عنوان عوامل پیش‌آگهی می‌توانند در این بیماری بیان شوند از جمله ER، Her-2 و CK5/6 (۱۹) که در این مطالعه به آنها پرداخته شده است.

هدف اصلی از انجام این مطالعه به عنوان اولین پژوهش در ایران در رابطه با MBC بررسی وجود جهش در ژن BRCA2 به عنوان مهم‌ترین ژن درگیر در این بیماری و ارتباط آنها با تومور مارکرهای هیستولوژیک مهمی از جمله ER، Her-2 و CK5/6 به منظور فهم و درک بهتر سرطان پستان مردان و تشویق و ترغیب محققین ایرانی برای انجام پژوهش‌های گسترده‌تر در این زمینه است.

مواد و روش‌ها

۱. جمع‌آوری نمونه:

در این مطالعه که از نوع مقطعی توصیفی می‌باشد، ۱۰ مرد ایرانی مبتلا به سرطان پستان بدون در نظر گرفتن زیر گروه بافت‌شناسی، سن و سابقه خانوادگی از بیمارستان‌های مهراد، دی و پارسیان انتخاب شدند.

رضایت‌نامه کتبی اخلاقی طبق آیین‌نامه اخلاق پزشکی دانشگاه علوم بهزیستی و توان بخشی از بیماران و همچنین نمونه خون (۵-۱۰cc) و بلوک پارافینه حاوی ناحیه تومورال تهیه گردید. به علاوه اطلاعات بالینی و آسیب‌شناسی آنها از جمله سن، سمت پستان درگیر، سایز تومور، نوع بافت شناسی تومور، وضعیت گره‌های لنفاوی، Stage و Grade تومور و سابقه خانوادگی سرطان نیز از مطب جراحان تهیه و پرونده و نمونه بافتی بیماران کدگذاری شدند. میانگین سنی بیماران ۵۲/۷ سال و متوسط اندازه تومور در آنان۲/۰۳ سانتی‌متر بود. تمام تومورها از نوع کارسینوم مهاجم مجرایی (Infiltrating Ductal Carcinoma) بود.

۲. PCR و Sequencing:

DNA ژنومی از خون بیماران با استفاده از روش salting out استخراج گردید. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با اندازه‌گیری غلظت و تراکم نوری در طول

Archive of SID
www.SID.ir

موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مدل Bio-photometer ارزیابی شد. برای ۲۷ اگزون ژن BRCA2 پرایمرهایی با استفاده از سایت UCSC Genome Browser و Primer3 طراحی و مناسب بودن آنها به وسیله سایت Oligo analyzer چک گردید. طول پرایمرها بین ۲۰ تا ۲۵ نوکلئوتید هستند. اگزون ۱۱ به ۹ قسمت و اگزون ۱۰ به ۳ قسمت به علت طویل بودن تقسیم شدند. دمای هیبریدیزاسیون و درصد GC پرایمرها تا حد امکان مشابه بودند. پرایمرهای مذکور سپس توسط آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شدند. سپس واکنش PCR به منظور تکثیر قطعات DNA در دماهای مناسب انجام گردید و برای صحت انجام PCR از الکتروفورز ژل آگاروز استفاده شد و سپس توسط Sanger sequencing تعیین توالی شده و نتایج آنها توسط نرم‌افزار Codon Code Aligner بررسی شد.

۳. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H& E):

توسط تکنیسین آسیب‌شناسی در مرکز تحقیقات ژنتیک دانشگاه علوم بهزیستی و توان بخشی، مراحل پروسس بافتی، قالب‌گیری و تهیه بلوک‌های پارافینی انجام شده و به وسیله میکروتوم، برش‌هایی به ضخامت ۴ میکرون از هر کدام تهیه گردید. برای تایید وجود بافت تومورال در مقاطع بافتی، برش‌هایی به منظور انجام رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین تهیه گردید و کیفیت برش‌ها قبل و بعد از تشخیص و درجه‌بندی تومور، مورد ارزیابی قرار گرفت. برای رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین در ابتدا ۱ ساعت لام‌ها را در فور می‌گذاریم. سپس آنها را به ترتیب در ۳ ظرف گزیلل هر کدام ۵ دقیقه گذاشته و اجازه می‌دهیم تا خشک شود و بعد از آن در ۳ ظرف الکل ۹۶ قرار می‌دهیم. سپس حدود ۱ تا ۲ دقیقه شست و شو می‌دهیم. در مرحله بعد لام را در هماتوکسیلین به مدت ۷ دقیقه، اسید الکل ۲ ثانیه، سدیم استات ۱ ثانیه و ائوزین ۲ تا ۳ دقیقه گذاشته و بین این مراحل شست و شو را نیز انجام می‌دهیم. در نهایت آنها را در ۳ ظرف الکل ۹۶ هرکدام چند ثانیه قرار داده و خشک می‌کنیم و چند قطره گزیلل و در آخر لامل را روی لام می‌چسبانیم.

۴. رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی (IHC):

نمونه‌هایی که از نظر بدخیمی تایید شدند، به وسیله آنتی‌بادی‌های زیر و به روش IHC رنگ‌آمیزی شدند:

۱- Ab-ER: ارزیابی وضعیت گیرنده هورمونی استروژن ERدر نمونه‌های پستان (شرکت Dako دانمارک).

۲-Ab-Her-2-: ارزیابی افزایش میزان بیان پروتئین Her-2 در نمونه‌های پستان (شرکت Dako دانمارک).

۳- Ab-CK5/6: ارزیابی وضعیت پروتئین CK5/6 در نمونه‌های پستان (شرکت Dako دانمارک).

نحوه رنگ‌آمیزی منطبق بر دستورالعمل شرکت سازنده آنتی‌بادی‌ها بود.

تکنیک ایمونوهیستوشیمی یا IHC روشی برای نشان دادن حضور یا موقعیت پروتئین‌ها در برش‌های بافتی است. رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی به وسیله آنتی‌بادی‌هایی انجام می‌شود که قادر به شناسایی پروتئین‌های هدف می‌باشند.

تقسیم‌بندی ساب تایپ‌های مختلف سرطان پستان بر مبنای تکنیک IHC به صورت زیر است:

۱. Luminal A (ER و PR مثبت و Her2 منفی).

۲. Luminal B (ER و PR مثبت و Her2 مثبت).

۳. Her2 enriched (ER و PR منفی و Her2 مثبت).

۴. Basal like (ER ، PR و Her2 منفی و CK5/6 مثبت) (۲۰).

با توجه به منفی بودن تومور مارکرهای ER ، PR و Her2 در دسته چهارم این ساب تایپ به عنوان Triple negative نیز نام‌گذاری می‌شود (۲۱).

این تکنیک بر روی نمونه‌هایی با ضخامت ۴ میکرومتر انجام گرفت. پس از انکوباسیون در دمای ۶۰ درجه، اسلایدها دپارافینه و آب‌دهی شدند که این کار با استفاده از گزیلن و اتانل انجام شد. سپس فعالیت آنزیم پروکسیداز داخلی توسط هیدروژن پروکسیداز ۵٪ در متانل به مدت ۱۵ دقیقه مسدود گشت. در مرحله بعد به منظور بازیابی آنتی‌ژن از Tris/EDTA با PH=9 استفاده شد. این کار موجب از بین رفتن پل‌های متیلن و دردسترس قرار گرفتن آنتی‌ژن‌ها برای اتصال به آنتی‌بادی می‌شود و به دنبال آن بافت‌ها با آنتی‌بادی‌های ER، Her-2 و CK5/6 به میزان ۱۰۰ میکرولیتر انکوبه شدند. آنتی‌بادی ثانویه نیز به میزان ۱۰۰ میکرولیتر استفاده شد. با استفاده از محلول DAB chromogen رنگ‌ها رویت شده و سپس اسلایدها در هماتوکسیلین به مدت ۳۰ ثانیه قرار گرفتند و با استفاده از گزیلن (Xylene) و اتانل

Archive of SID

www.SID.ir

دهیدراته شدند. در مرحله آخر نیز مخلوط چسب و گزیلن به همراه لامل روی اسلایدها قرار داده شد و نتیجه کار زیر میکروسکوپ مشاهده شد.

۵. ارزیابی ژن Her-2 توسط تکنیک FISH:

این روش بر پایه شمارش تعداد کپی‌های ژن Her-2 بر روی کروموزوم شماره ۱۷، استوار بوده و شمارش کپی‌های ژنی با استفاده از پروب‌های فلورسنت امکان‌پذیر است. در این مطالعه بر طبق گایدلاین ASCO/CAP 2007، بر روی نمونه‌هایی که در آزمون ایمونوهیستوشیمی Her-2، به عنوان موارد مبهم (score+2) تشخیص داده شده بودند به عنوان تست تکمیلی انجام پذیرفت (۲۲).

پس از انتخاب ناحیه تومورال متعاقب مطابقت دادن با اسلایدهای هماتوکسیلین و ائوزین برش بافتی به ضخامت ۳ µ از بلوک پارافینه تهیه شد، منطقه مورد نظر بافت انتخاب و مراحل زیر انجام شد:

۱. دپارافینه کردن با قرار دادن اسلاید به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و سپس غوطه ور کردن در Xylene و آب‌دهی در اتانول ۱۰۰، ۸۵ و ۷۰ درجه و شستن آن با dH2O.

۲. آماده‌سازی اسلایدها با غوطه‌ور کردن در محلول HCL ۰.۲ مولار به مدت ۲۰ دقیقه، شست و شو با dH2O به مدت ۳ دقیقه، سپس محلول سدیم ایزوتیوسیانات ۸٪ در dH2O در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه و در نهایت 2X SSC به مدت ۳ دقیقه.

۳. این مرحله با تیمار کردن اسلاید در محلول حاوی ۰.۰۲۵٪ پپسین در ۰.۰۱ مولار HCL در دمای ۳۷ درجه به مدت ۳۰ دقیقه و خنثی کردن آن با dH2O ۱ دقیقه و 2X SSC به مدت ۵ دقیقه و آب‌گیری در اتانل‌های ۷۰، ۸۵ و ۱۰۰ درجه هر کدام ۱ دقیقه به پایان رسید.

۴. مرحله هیبریدازیسیون با ریختن ۱۰ میکرولیتر پروب بر روی اسلاید و قرار دادن لامل بر روی آن و اضافه کردن چسب Fixogum به دور آن و قرار دادن اسلاید در دمای ۸۰ درجه به مدت ۵ دقیقه و در نهایت قرار دادن اسلاید در ۳۷ درجه به مدت ۱۸ ساعت انجام شد.

۵. مرحله پس از هیبریدازیسیون شامل برداشتن لامل و غوطه‌ور کردن اسلایدها در مخلوط ۱۰۰ میلی لیتر 0.4X SSC و ۳۰۰ لامبدا Tween 20 به مدت ۲ دقیقه و سپس مخلوط ۱۰۰ میلی‌لیتر 2X SSC و ۱۰۰ لامبدا Tween 20 به مدت ۱ دقیقه و دهیدراته کردن در اتانول‌های ۷۰، ۸۵ و ۱۰۰ درجه هرکدام به مدت ۱ دقیقه و در آخر افزودن ۱۵ میکرولیتر DAPI جهت رنگ‌آمیزی پس زمینه و گذاشتن لامل و مشاهده زیر میکروسکوپ.

طبق گایدلاین ASCO/CAP منتشر شده در سال 2007 روش تفسیر نتایج FISH به شرح زیر است:

مثبت: نسبتHer-2/CEN17 بیشتر از ۲.۲ باشد.

مبهم: نسبتHer-2/CEN17 بین ۱.۸-۲.۲ باشد که در این صورت FISH یا IHC تکرار می‌شود.

منفی: نسبتHer-2/CEN17 کمتر از ۱.۸ باشد (۲۲).

یافته‌ها

- یافته‌های تکنیک IHC :

یافته‌های تکنیک IHC تومور مارکرهای ER، Her-2 و CK5/6 در جدول زیر مشخص شده است:

طبق جدول مذکور نتیجه تکنیک IHC تومور مارکر ER برای ۲ نفر از بیماران به صورت منفی و ۸ نفر به صورت مثبت (شکل ۱ قسمت الف و ب) و نتیجه این تکنیک برای Her-2 ۳ بیمار به صورت صفر، ۳ بیمار به صورت ۱+ و ۳ بیمار دیگر به صورت ۲+ مشاهده شد و هیچ مورد ۳+ مشخص نگردید (شکل ۲ قسمت ب و شکل ۳ قسمت الف). همچنین تومور مارکر CK5/6 برای تمام بیماران به صورت منفی گزارش گردید (شکل ۴ قسمت ب).

به‌علت این‌که بلوک پارافینه یکی از بیماران محتوای چربی بالایی داشت آزمایش‌های بافتی لازم برای تومور مارکرهای Her-2 و CK5/6 بر روی آن امکان پذیر نبودو این مورد از مطالعه حذف گردید.

- یافته‌های تکنیک FISH:

طبق یافته های مذکور، نتایج IHC مارکر Her-2 متعلق به ۳ نفر از بیماران به صورت ۲+ گردید که برای تایید آن از تکنیک FISH استفاده شد که نتایج آن به شرح زیر است: (جدول ۱)

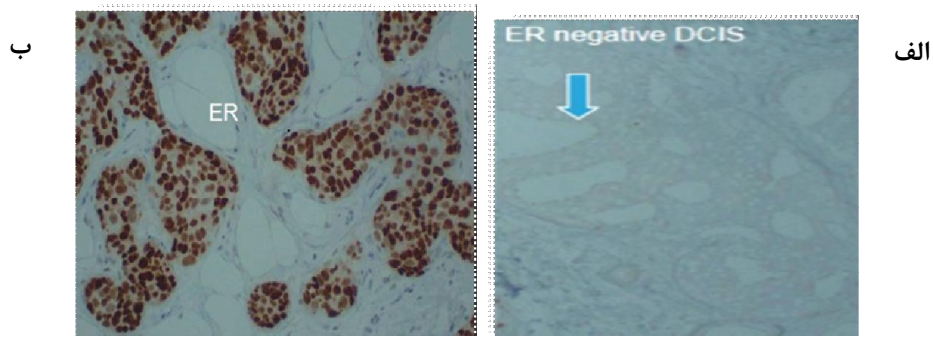
به طور میانگین نسبت Her-2/ CEN-17 در این ۳ بیمار ۱/۱ است پس فزون‌سازی (amplification) مارکر Her-2 در این بیماران منفی است (شکل ۳ قسمت ب).

Archive of SID

www.SID.ir

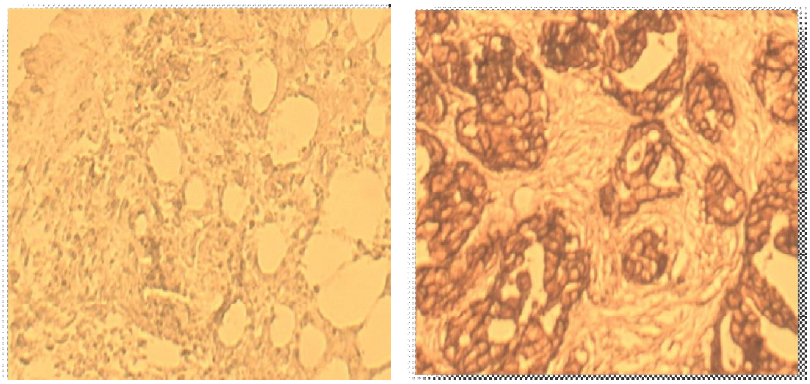
جدول ۱: خلاصه نتایج مارکرهای بافتی در بیماران

تومور مارکرهای بافتی	CK5/6	ER	Her-2			
			۰	۱	۲	۳
مثبت	۰	۸	۳	۳	۳	۰
منفی	۹	۲			FISH	



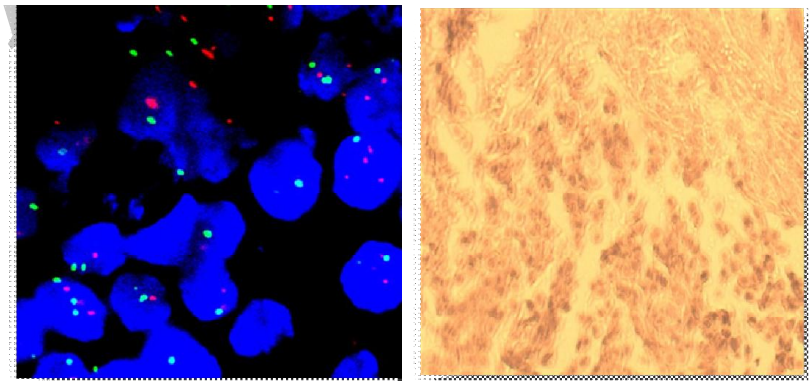
ب الف

شکل ۱: رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی مارکرER: الف) کنترل منفی ب) نمونه مثبت



ب الف

شکل ۲: رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی مارکرHER-2: الف) کنترل مثبت ب) نمونه منفی



ب الف

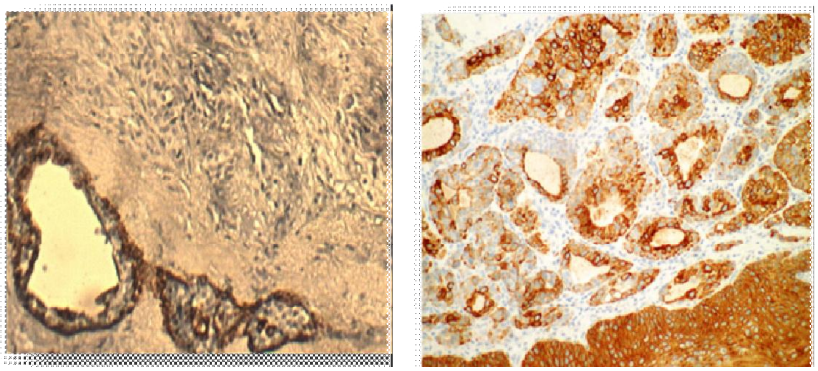
شکل ۳: رنگ آمیزی آیمینو هیستوشیمی و تکنیک FISH برای مارکر HER-2

الف) IHC برای مارکر HER-2:score 2

ب)FISH

www.SID.ir

الف ب



شکل ۴: رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی مارکر CK5/6 الف) کنترل مثبت ب)نمونه منفی

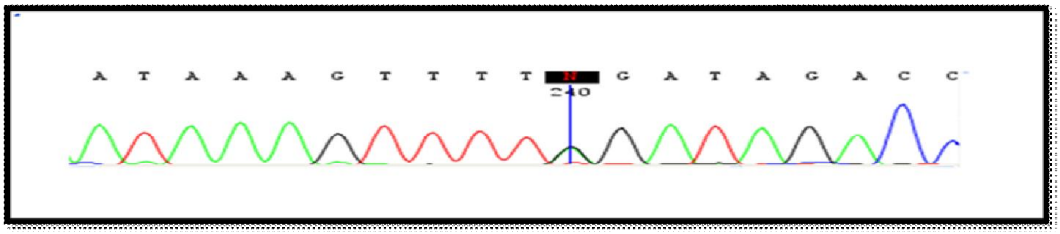
نتیجه Sanger sequencing:

پلی‌مورفیسم‌ها و واریانت‌های به‌دست آمده از بررسی ۲۷ اگزون ژن BRCA2 در ۱۰ بیمار مورد نظر در جدول ۲ آمده است:

از بین ۱۰ بیمار مورد مطالعه، تنها در یک نفر، جهشی از نوع non-sense در اگزون ۲۵ در موقعیت ۹۳۱۷ (c.9317G>A) ژن BRCA2 یافت گردید (شکل ۵) که منجر به تبدیل آمینو اسید تریپتوفان به رمز پایان می‌شود (Trp3106Ter) و باعث خاتمه نابالغ یا زودرس ترجمه زنجیره پپتیدی می‌گردد. در نتیجه زنجیره پروتئینی کوتاه شده و فعالیت زیستی طبیعی خود را حفظ نکرده و کارکرد پروتئین از بین می‌رود.

جدول۲: واریانت‌ها و پلی‌مورفیسم‌های ژن BRCA2 در ۱۰ بیمار مرد مبتلا به سرطان پستان

واریانت ها	اگزون	تغییر بازی	فراوانی n = 10 (100%)
rs1799943	2	G>A	0.20
rs766173	10	A>C	0.40
rs1801439	10	A>G	0.40
rs144848	10	A>C	0.30
rs1801499	11	T>C	0.40
rs1801406	11	A>G	0.20
rs1799944	11	A>G	0.40
rs543304	11	T>C	0.50
rs206075	11	A>G	100
rs80358755	11	G>A	0.10
rs206076	11	G>C	100
rs169547	14	T>C	100
rs1799955	14	A>G	0.20
rs80359157	23	C>T	0.10



شکل ۵: جهش c.9317G>A در اگزون ۲۵ ژن BRCA2

Archive of SID
www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر وجود جهش در ژن BRCA2 و ارتباط آنها با تومور مارکرهای ER، Her-2 و CK5/6 در ۱۰ بیمار مرد ایرانی مبتلا به سرطان پستان بررسی شد.

نتیجه آزمایش‌های ایمونوهیستوشیمی ER در ۲ نفر از بیماران و نتیجه مارکرهای CK5/6 و Her-2 در تمام بیماران منفی گردید. تنها در یک بیمار جهش بی‌معنی در اگزون ۲۵ ژن BRCA2 شناسایی گردید. این جهش از طریق سایت‌های معتبری هم چون BIC، HGMD و Mutation taster تایید شد. با توجه به وضعیت تومور مارکرهای بافتی، اکثر موارد سرطان پستان در این مردان در زیرگروه Luminal A قرار می‌گیرند و از وضعیت تومور مارکرها نیز نمی‌توان برای پیش‌گویی جهش در ژن BRCA2 استفاده کرد.

در سال ۲۰۱۱ در آلمان پژوهشی توسط Robert Kornegoor و همکارانش بر روی ۱۳۴ مرد مبتلا به سرطان پستان توسط تکنیک IHC برای تومور مارکرهای ER، PR، Her-2 و CK5/6 صورت گرفت که نشان داد LuminalA به عنوان شایع‌ترین گروه و در حدود ۷۵٪ موارد را تشکیل می‌دهد. همچنین گروه Luminal B ۲۱٪ موارد و ۴٪ باقیمانده در گروه Basal قرار داشتند و تنها یک مورد در دسته Triple negative قرار داشت و هیچ مورد Her-2 مثبتی مشاهده نشد. به طور کلی اکثر تومورها از نوع LuminalA و Luminal B بوده در حالی که تومورهای Basal، Triple negative و Her-2 مثبت نادر بودند (۲۳).

همچنین Mariana Aşchie و همکارانش در سال ۲۰۱۳ مطالعه‌ای در ارتباط با ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیکی و حیات ۳۵ مرد مبتلا به primary invasive breast carcinoma مرتبط با زیرگروه‌های مولکولی انجام دادند. آنها نیز تومور مارکرهای ER، PR، Her-2 و CK5/6 را بررسی کرده و در نهایت مشخص شد که ۶۵.۷٪ تومورها از نوع LuminalA و ۲۸.۶٪ موارد از نوع Luminal B بودند. ۵.۷٪ موارد از نوع triple negative بوده و هیچ مورد Her-2 مشاهده نشد. بنابراین به طور کلی تومورهای LuminalA رایج‌ترین نوع را تشکیل می‌دهند. همچنین سطوح بالای ER و PR ثبت شد که پیش‌بینی‌کننده پاسخ بهتر به هورمون درمانی می‌باشد. نکته مهم در این مطالعه سن بالای بیماران و Stage پیشرفته تومور بود که به نیاز برای انجام برنامه‌های غربالگری و آموزش افراد جامعه برای تشخیص بیماری در مراحل ابتدایی تاکید دارد (۲۴).

در سال ۲۰۱۲، Siddhartha Deb و همکارانش در استرالیا مطالعه مشابهی با مطالعه ما انجام دادند. آنها ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیکی و وضعیت جهش در ژن‌های BRCA1 و BRCA2 را در مجموعه بزرگی از بیماران مرد مبتلا به سرطان پستان (۶۰ نفر) با سابقه خانوادگی مثبت بررسی کردند. در مقایسه با FBC درصد بالاتری از افراد دارای جهش در ژن BRCA2 و تعداد کمتری دارای جهش در ژن BRCA1 بودند و هیچ ارتباطی بین جهش با سن شروع بیماری، حیات مختص بیماری و دیگر ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیکی وجود نداشت. همانند مطالعه ما اکثر تومورها از نوع Luminal (۸۹.۷٪) بوده و انواع Her-2 و Basal به ندرت دیده شدند (به ترتیب ۸.۶ و ۱.۷٪) (۲۵).

علی‌رغم نادر بودن سرطان پستان در مردان، نرخ روز افزون بروز آن به خصوص در طی ۲۵ سال اخیر در مناطق مختلف دنیا و اثرات مخربی که در ابعاد مختلف زندگی آنان به خصوص آثار سوء روانی ایجاد می‌کند، توجه بیشتری در مورد این بیماری را ایجاب می‌کند.

به نظر می‌رسد انجام آموزش‌های همگانی لازم و فرهنگ‌سازی در حد امکان با هدف غربالگری به موقع و ممانعت از عواقب سوء بیماری‌های پیشرفته، انجام مداخلات و ارتقای روش‌های تشخیصی و درمانی در مورد این بیماری برای تامین سلامت جسمی و روانی مردان در دوره‌های مختلف زندگی، در کشور بسیار ضروری است. برخلاف اینکه آگاهی بیماران و توصیه‌های لازم در مورد سرطان پستان در زنان، روز به روز رو به رشد است، این مسئله در مورد مردان صدق نمی‌کند، چرا که اطلاع رسانی درمورد این بیماری به اندازه سرطان پستان در زنان انجام نمی‌گیرد و این در حالی است که مثل تمامی سرطان‌ها، سرطان پستان مردان هر چه زودتر تشخیص داده شود امکان استفاده بیمار از نتایج درمانی بهتر است.

سلامت مردان موضوعی است که موجب استحکام و تقویت سلامت نیروی کار جامعه بوده و منجر به توسعه و پیشرفت کشور خواهدشد. مردان نسبت به زنان به میزان بیشتری در معرض فاکتورهای خطر محیطی و شغلی هستند و عادات غلطی مانند مصرف سیگار، الکل، اعتیاد و

Archive of SID

www.SID.ir

استرس‌های شغلی در آنها بیشتر است. از سوی دیگر مردان کمتر به پزشک مراجعه نموده و مراجعه به پزشک را به دلایل مختلف تا بروز مراحل پیشرفته بیماری به تأخیر می‌اندازند. متاسفانه در بسیاری از موارد مردان به دلیل احساس خجالت از طلب کمک زمانی به پزشک مراجعه می‌کنند که به دلیل متاستاز و درگیری نقاط دیگر بدن شانس زنده ماندن به میزان زیادی کاهش یافته است که بر این مساله عواملی هم چون وضعیت اقتصادی، فرهنگی و دیگر مسایل اثرگذار است. لازم به ذکر است دشوارترین بخش پژوهش حاضر بخش نمونه‌گیری بود چرا که علاوه بر کمیاب بودن بیماری و برخی از بیماران حاضر به همکاری و دادن نمونه برای اجرای طرح نبودند.

با توجه به این که این مطالعه اولین پژوهش در رابطه با سرطان پستان مردان در ایران می‌باشد و هم‌زمان به بررسی ویژگی‌های هیستولوژیک و بررسی ژن BRCA2 به عنوان مهم‌ترین عامل تاثیرگذار در این بیماری می‌پردازد و با توجه به کم بودن تعداد بیماران در این مطالعه که ممکن است پوشش‌دهنده وضعیت تمام مبتلایان مرد نباشد پیشنهاد می‌گردد پژوهش‌های دیگری در راستای این مطالعه با تعداد نمونه بیشتر و با استفاده از سایر تومور مارکرها و ژن‌ها انجام پذیرد.

References

1. Petrocca S, Latorre M, Cosenza G, Bocchetti T, Cavallini M, Distefano D, et al. Male breast cancer: a case report and review of the literature. Chir Ital 2005; 57(3): 365-71.
2. Dogo D, Gali B.M, Ali N, Nggada H.A. Male breast cancer in north eastern Nigeria. Nigeria Journal of Clinical Practice 2006; 9(2): 139-41.
3. Jamal Sh, Mamoon N, Mushtaq S, Luqman M. Carcinoma of the Male Breast: a Study of 141 cases from Northern Pakistan. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 2006; 7: 119-21
4. Ioka A, Tsukuma H, Ajiki W, Oshima A. Survival of Male Breast Cancer Patients: A Population-Based Study in Osaka, Japan. Jpn J Clin Oncol 2006; 36(11): 699-703.
5. B Contractor K, Kaur K, S Rodrigues G, M Kulkarni D and Singhal H. Male breast cancer: is the scenario changing. World Journal of Surgical Oncology 2008; 6(58):1-11.
6. Thalib L, Hall P. Survival of male breast cancer patients: Populationbased cohort study. Cancer Sci 2008; 100(2): 292-5.
7. Ottini L, Palli D, Rizzo S, Federico M, Bazan V, Russo A. Male breast cancer. Critical Reviews in Oncology/Hematology 2010; 73: 141-55.
8. White J, Kearins O, Dodwell D, Horgan K, M Hanby A, Speirs V. Male breast carcinoma: increased awareness Needed. Bio Med Central 2011; 13(219):1-7.
9. Landero J, Touloei KH, P. Glick B. Invasive ductal breast carcinoma underneath a lipoma in a male patient. The Journal of Clinical and Aesthetic Dermathology 2012; 5: 33–7.
10. Kornegoor R, HJ Verschuur-Maes A, Buerger H, CH Hogenes M, C de Bruin P, J Oudejans J, et al. Molecular subtyping of male breast cancer by immunohistochemistry. Modern Pathology 2012; 25: 398-404.
11. Salehi A, Zeraati H, Mohammad K, Mahmoudi M, Talei AR, Ghaderi A, et al. Survival of Male Breast Cancer in Fars, South of Iran. Iranian Red Crescent Medical Journal 2011; 13(2):99-105.
12. Johnson KC, Pan S, Mao Y ,Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. Risk factors for male breast cancer in Canada, 1994-97. Eur J Cancer Prev 2002; 11(3):253-63.
13. de Jong M M, Nolte I M, te Meerman GJ, van der Graaf W T A, Oosterwijk J C, Kleibeuker J H, et al. Genes other than BRCA1 and BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. J Med Genet 2002; 39:225–42.

Archive of SID
www.SID.ir

14. N Powell S, A Kachnic L. Roles of BRCA1 and BRCA2 in homologous recombination, DNA replication fidelity and the cellular response to ionizing radiation. Nature Publishing Group 2003; 22 :5784–91.

15. H Giordano SH. A review of the diagnosis and management of male breast cancer. The Oncologist 2005; 10:471-9.

16. Mirmalek SA, Elhamkani F. Male Breast Cancer. Iranian Journal of Surgery 2007; 15(1): 20-37.

17. White J, Kearins O, Dodwell D, Horgan K, M Hanby A, Speirs V. Male breast carcinoma: increased awareness Needed. Breast Cancer Research 2011; 13:219.

18. H Giordano SH. A Review of the Diagnosis and Management of Male Breast Cancer. The Oncologist 2005; 10:471-9.

19. Paredes J, Albergaria A, Carvalho S, C Schmitt F. "Basal-like" Breast Carcinomas: Identification by P-cadherin, P63 and EGFR Basal Cytokeratins Expression. Applied Cancer Research 2006; 26(2):41-55.

20. Ge Y, Sneige N, A Eltorky M, Wang ZH, Lin E, Gong Y, et al. Immunohistochemical characterization of subtypes of male breast carcinoma. Breast Cancer Research 2009; 11:R28.

21. CU Cheang M, Voduc D, Bajdik CH, Leung S, McKinney S, K Chia S, et al. Basal-LikeBreastCancerDefinedby Five Biomarkers Has Superior PrognosticValue thanTriple-Negative Phenotype. Clin Cancer Res 2008; 14(5).

22. C Wolff A, H.Hammond M, G Hicks D, Dowsett M, M McShane L, H Allison K, et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor. Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. Journal of clinical oncology 2013.

23. Kornegoor R, HJ Verschuur-Maes A, Buerger H, CH Hogenes M, C de Bruin P, J Oudejans J, et al. Molecular subtyping of male breast cancer by immunohistochemistry. Modern Pathology 2012; 25: 398- 404.

24. Aşchie M, Bălţătescu GI, Mitroi A. Clinico-pathological and molecular subtypes of male breast carcinoma according to immunohistochemistry. Romanian Journal of Morphology & Embryology 2013; 54: 749-55.

25. Deb S, Jene N, kConFab investigators, B Fox S. Genotypic and phenotypic analysis of familial male breast cancer shows under representation of the Her-2 and basal subtypes in BRCA-associated Carcinomas. Bio Med Central 2012; 12(510):1-13.

Archive of SID

www.SID.ir