وزارة التعليم العالي والبحث العلميّ
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

دراسة نسجية وجزيئية لمريضات سرطان الثدي في ديالى

رسالة مقدمة
إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل
درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة
أشواق طالب حمادي الجبوري
بكالوريوس علوم الحياة 2003
جامعة ديالى

بإشراف
أ.د. عمار أحمد سلطان **أ.م.د. ذكرى عطا إبراهيم**

1442هـ 2020 م

Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Diyala
College of Education for Pure Science
Department of Biology

A Histological and Molecular Study of Breast Cancer Patients In Diyala

A thesis submitted to the
College of Education for pure Science/ University of Diyala in
Partial Fulfillment for the Requirements for the Degree of
Master of Science in Biology

By

Ashwaq Talib Hammadi Aljubory

B.Sc. Biology, 2003
Diyala University

Supervised by

Prof. Dr.
Ammar Ahmed Sultan

Assist. Prof. Dr
Thekra Atta Ibrahim

2020 A.D. 1442 A.H.

1- المقدمة Introduction:

يتألف الجسم البشري من عدد كبير من الخلايا المتنوعة والتي تنمو وتنقسم خلال فترة حياتها، إذ تتباين بحسب أصنافها إلى أَنْ تصل إلى نهاية عمرها ثم تموت بالتتابع. وتوفر هذه الخلايا في أثناء انقسامها خلايا بديلة لما تلف أو مات منها. إنَّ عملية النمو لا تحصل إلَّا عندما يحتاج الجسم لزيادة عدد الخلايا، إذ إنَّ عملية النمو محكومة بتوازن محدد بين إشارات تحفيز النمو وإشارات الإيقاف، وعند الحاجة لتعويض النقص في عدد الخلايا ينحرف التوازن باتجاه زيادة النمو (Macdonald، آخرون، 2004).

ومن الأمثلة على هذا الأسلوب هو تعويض الخلايا المتحطمة خلال شفاء الجروح أو تبديل النسيج، إذ يبدأ تمايز الخلايا وهو أول خطوة من خطوات عملية التكاثر وتتوقف حال اكتفاء الجسم والحصول على عدد الخلايا المطلوبة من الانقسام والتكاثر. ولكن في بعض الأحيان يتواصل الانقسام بصورة مستمرة وبكيفية عشوائية غير منظمة مسببة زيادة في أعداد الخلايا دون الحاجة لها مما يؤدي إلى فقدان السيطرة على عملية الانقسام، ومن ثم عملية النمو (American cancer tumor society، 2013).

هذه الخلايا الفائضة تتجمع في أنسجة الجسم مع بعضها على شكل كتل Mass تسمى بالورم Tumor وهذه الكتل في الثدي شائعة فواحدة من كل كتل في الثدي هي كتل سرطانية (خبيثة) والباقية لا تشكل خطرًا ولا مميتة، وهذه الكتل تكون على نوعين إما حميدة أو خبيثة أو ما يعرف بالسرطان.

إن الورم ممكن أن يحصل في نسيج معين ويتوقف عنده وعند ذلك يسمى بالنوع الحميد Benign Tumor أو من الممكن أن ينتشر Metastases نتيجة الهجوم على أنسجة أخرى من

أنسجة الجسم القريبة أو حتى البعيدة، وهذا ما يطلق عليه النوع الخبيث Malignant Tumor (مايك ديكسون، 2013 ، WHO، 2010).

توجد أنواع عديدة من السرطانات وأحد أهم هذه الأنواع هو سرطان الثدي إذ يعد من أكثر أنواع السرطانات شيوعًا بين النساء فهو يمثل مشكلة صحية كبيرة ويعتبر ثاني سبب رئيسي للوفيات في العالم اذا أودى بحياة 8.8 مليون شخص سنة 2015 (OMS، 2018).

إن اكتشاف مرض سرطان الثدي في مرحلة متأخرة تعتبر من المعوقات شائعة بسبب صعوبة الحصول على كشف والعلاج، إذ تصاب مليون امرأة بسرطان الثدي كل عام وأكثر من أربعين ألفًا منهن يمتن بسبب المرض (Ferlay وآخرون، 2015).

تتميز الخلايا السرطانية في نسيج الثدي بأَنَّها ذات قدرة على الانتشار والغزو السريع للأنسجة المحيطة بها ومن ثم تنتشر إلى بقية أنسجة الجسم، ويحدث هذا المرض بصورة خاصة في النساء ويصيب الرجال ولكن بنسبة أقل حيث يصيب نسيج الثدي، ولاسِيَّمَا القنوات الناقلة للحليب والفصيصات (Ho وآخرون، 2009).

ويعدّ المركز الوطني العراقي لبحوث السرطان INCRC سرطان الثدي هو النوع الأكثر شيوعًا لدى النساء في العراق حيث يمثل 1–3% من سرطانات النساء المسجلة في العراق (INCRC، 2013).

يشكل سرطان الثدي الوراثي حوالي 5–10% من مجموع حالات الإصابة، إذ إن الطفرات في جين BRACA1 وBRACA2 هي الطفرات الأكثر صلة من ناحية التغيرات في الجين والمسؤولة عن زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي (Veltman وآخرون، 2008).

تكمن مهمة الجينات في التغيرات التي تحدث في الحامض النووي الذي يغير من محتوى ووظيفة الجينوم مضيفًا تسلسلات جديدة تغير من نمط التعبير الجيني في الخلايا -محدثة تغير في مسار وعمل هذه الخلايا وبالتالي نمو الخلايا بطريقة غير مسيطر عليها لتتراكم هذه التغيرات في الخلايا السرطانية منتجة عيوب في إستقرار الجينوم الذي يؤدي الى زيادة معدلات الطفرات وإلى تغيرات كروموسومية (العارضي، 2020).

إن تعدد الأشكال الجينية وحدوث الطفرات كان لها دور مهم في إحداث الإصابة، فقد بينت أن من بين 3–5% من حالات سرطان الثدي تكون ذات صلة مع التغيرات في جينات BRACA1 و BRACA2 (Dolinsky، 2002).

تختلف معدلات الإصابة بسرطان الثدي إختلافا كبيرًا، وتوجد أعلى المعدلات في العالم المتقدم وأقل المعدلات في أفريقيا وآسيا . (Alwan، 2010).

إن العوامل المسببة لسرطان الثدي غير معروفة، لكن هناك عوامل عدة التي تسمى عوامل خطورة التي قد تؤدي دور مهم في زيادة نسبة الإصابة أهمها التدخين الذي يعد من مسببات السرطانات في الإنسان إذ إن هنالك علاقة بين التدخين وتوسع قنوات الحليب بين النساء المصابات بسرطان الثدي من المدخنات وغير المدخنات (Tawfeeq، 2014).

أيضًا كان لعامل العمر دورًا مهمًا في زيادة خطورة الاصابة بمرض سرطان الثدي إذ يزداد سرطان الثدي مع تقدم العمر ونادرًا ما يحدث في سن العشرين وفي أغلب الأحيان تحدث الإصابة بعد سن اليأس لدى النساء (Hayes، 2013).

إن للتغير في المؤشرات الدموية لمرضى سرطان الثدي تأثيرًا مباشرًا على خطر زيادة الإصابة بمرض سرطان الثدي من خلال الإنخفاض ما بين المعلمات الدموية وبالتالي حدوث خلل

في الجهاز المناعي وحصول الإصابة في مرضى السرطان على فترات منتظمة أثناء العلاج الكيميائي (Olufemi وآخرون، 2013).

أهداف الدراسة Aims of Study:

بالنظر إلى أهمية سرطان الثدي الذي يعد من السرطانات التي يصعب تحمله بسبب أعراضه الجانبية وطول وصعوبة فترة علاجه ولقلة الدراسات التي تناولت سرطان الثدي، ولاسِيَّمَا في محافظة ديالى وعدم وجود معلومات أو بيانات كافية عن الإصابة بالمرض والأعمار الأكثر إصابة والأنواع الأكثر انتشارًا من السرطان الثدي لذلك ارتأينا في هذه الدراسة لتحديد الأهداف الآتية:

1. الكشف عن نسبة انتشار مرض سرطان الثدي.
2. التعرف على التركيب النسجي لغدة الثدي.
3. التعرف على التغيرات النسجية لغدة الثدي التي يسببها مرض سرطان الثدي.
4. دراسة بعض أنواع السرطان الثدي.
5. الكشف الجزيئي عن انواع الطفرات النقطية والتغايرات الموجودة في جينBRCA1 المسببة لمرض سرطان الثدي باستخدام تقنية تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل وباستخدام تقنية إيجاد التتابع النيوكليوتيدي Sequencing technique.
6. الكشف عن بعض التغيرات الحاصلة في عدد من المكونات الدموية المرافقة لمرض سرطان الثدي في دم النساء المصابات بالمرض ومقارنتها مع النساء السليمات بوصفها مجاميع سيطرة.

Summary

This study designed in Diyala governorate to study some histological changes and determine the most prevalent type of women with breast cancer, and to study some molecular variables that included determining the polymorphism of the BRCA1 gene for the site rs8176316 and a number of mutations in the nucleotide sequence of the BRCA1 gene, in addition to studying some blood indicators that included measuring The percentage of red blood cells, white blood cells, hemoglobin, platelets and white blood cells.

This study was conducted on a group of patients with breast cancer reviews of the Cancer Cancer Center at Baquba Teaching Hospital in Diyala Governorate for the period from 1/10/2019 to 14/1/2020 as this study included 100 samples that were divided into 50 women with breast cancer Their ages ranged between 30-70 years and 50 women without the disease as a control group. Women with breast cancer were diagnosed by medical staff with the help of FNA biopsy and Mammography.

The results from this study showed that Invasive ductal carcinoma is the most common and widespread 80% of the rest of the species, while the less prevalent type was the tube type at 2%. The results related to the histological aspect of the study showed that the invasive ductal cancer cells are characterized by a dark pigment nucleus of different shapes and sizes that differ from each other and are multi-nucleic and have an irregular arrangement also dense collagen fibers can be observed inside the stroma which adds hardness to the affected breast tissue, as it was noted the spread of small-sized lymphocytes with cancerous cells scattered in the breast tissue, the study also showed that cancer cells may appear clustered with each other in groups in multiple places where they are in the form of nests separated from each other by connective tissue.

The results of this study showed the second type of invasive lobular breast cancer if the cancerous cells are characterized by their small size and regularity

and are loosely cohesive in a similar way to the Indian file. The proliferation of collagen fibers and fibroblast cells is also observed. The histological examination of women with breast cancer, the type of lobular carcinoma in the Lobular carcinoma in situ site, showed that the alveolar breast is full and expanding with cancerous cells characterized by their smallness, regularity, and division in mono, non-coherent and equally spaced, and slightly larger than normal cells.

The histological examination of women with breast cancer, the type of Lobular carcinoma in situ, showed that the alveolar breast is full and expanding with cancerous cells characterized by their smallness, regularity, and division, loosely coherent and equally spaced, and slightly larger than normal cells. The results showed that duct carcinoma in situ cancer was found by 4% of the samples examined in the current study.

Cancer cells in this type were distinguished by their presence inside the cannula and were not able to leak through the walls of these cannula to the stroma. It was also noticed that there was an infiltration of inflammatory cells between the cannula.

The study showed the carcinoma tubular type of breast cancer, where it was found by 2% of the samples examined in the current study, and the characteristic of this type is that the majority of the tubules are open and consisting of a single layer of epithelial cells containing a clear lumen.

The results of the study showed that the age of women with breast cancer at the age group (40-49) is the highest proportion of the disease, as it reached (42%) among the other age groups of women with a significant difference at the probability level $P \leq 0.05$. As for the genetic condition, the study found no There is a relationship between family history and the occurrence of breast cancer, and a significant difference under the probability level $P < 0.05$. The results also showed that there was a significant difference at $P \leq 0.01$ level between breast cancer and

smoking, as the percentage of all women with non-smoking disease was 74%, while 26% of women affected had a relationship between smoking and disease.

As for the molecular study, where the genetic variation of the BRCA1 gene was detected by using the technique of sequencing the nucleotide sequence and its relationship to breast cancer, the results of the study showed that the BRCA1 gene at the site rs8176316 is a risk factor causing the disease because of the presence of the GG and GT genotype for the patient group at a rate of 68.57% and 25.71% and their respective mechanisms. G and T increased by 81.14% and 18.57%, respectively, and the results also showed that the most common types of mutation associated with the BRCA1 gene are the type of deletion and replacement of women with breast cancer.

Results for blood indicators showed a statistically significant difference when the group of women with breast cancer was compared with the control group for white blood cells, red blood cells and basal cells at P>0.05 probability level, except for hemoclopene, platelets, monocytes, acid and lymphocytes There was no statistically significant significant difference at the probability level P> 0.05 when comparing the group of women with breast cancer with the control group.