View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Repository of Research and Investigative Information

مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره بیستم، شمارهٔ ۷، تیر ۱۳۹۷، صفحه ۳۲-۲۸

بررسی جهش‌های اگزون 11-A ژن BRCA1 در زنان مبتلاء به سرطان پستان در جمعیت شمال غرب ایران

محمدعلی حسین پور فیضی (PhD)[۱]، سولماز دیانتی (MSc)[۲]، اکبر ثمیر (MSc)[۳]، نرگس دستمالچی (MSc)[۴]، ناصر پولادی (PhD)[۵*]

۱-گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اهر، اهر، ایران
۳-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور ری، ری، ایران
۴-گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۵-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

دریافت: ۹۶/۶/۳۰، اصلاح: ۹۶/۱۲/۱۵، پذیرش: ۹۷/۱/۶

خلاصه

سابقه و هدف: سرطان پستان رایج‌ترین سرطان در زنان است که با تغییرات ژنتیکی مانند جهش در ژن‌های سرطان‌زا و ژن‌های سرکوب‌گر تومور مرتبط می باشد. از مهم‌ترین ژن‌های سرکوب‌گر تومور درگیر در سرطان پستان، ژن BRCA1 می‌باشد. جهش در این ژن، رویداد شایعی در سرطان پستان انسانی می‌باشد. هدف از تحقیق حاضر، بررسی جهش‌های اگزون BRCA1 11-A در زنان مبتلاء به سرطان پستان در جمعیت شمال غرب ایران می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی، از ۴۰ بیمار مبتلاء به سرطان پستان که سن تشخیص چهل سال و پایین‌تر دارند، نمونه خونی دریافت و اگزون 11-A ژن BRCA1 با استفاده از روش‌های PCR و توالی یابی مستقیم برای شناسایی جهش‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج توالی یابی با استفاده از نرم افزار Chromas بررسی گردید.

یافته ها: در مطالعه حاضر، یک جهش غیر مترادف (nonsynonymous) به عنوان جهش جدید ژن BRCA1 و برای اولین بار گزارش گردید: جهش Ala584Thr نیز در دو نمونه مشاهده شد. جهش‌های کدون ۶۹۴ (Ser694Ser) شیوع بیشتری (۵۲/۵٪) نشان داد. سایر جهش‌ها در کدون‌های ۶۹۳، ۳۵۶، ۴۸۶، ۵۵۰ و ۶۲۸ مشاهده گردید.

نتیجه گیری: براساس نتایج این مطالعه جهش‌ها و پلی‌مورفیسم‌های اگزون ۱۱ ژن BRCA1 برای بار اول در جمعیت شمال‌غرب ایران مشاهده شد. یک مورد جهش جدید نیز در اگزون 11-A ژن BRCA1 مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، BRCA1، اگزون 11-A، جهش.

مقدمه

سرطان پستان به عنوان فراوان‌ترین و مهلک‌ترین بدخیمی زنان شناخته شده است، به طوری که حدود ۱۶٪ از مرگ و میرهای ناشی از سرطان را در سراسر جهان در بر می‌گیرد(۱). این بیماری در همه کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه و توسعه نیافته هر ساله علت تعداد زیادی از مرگ و میرها در بین زنان است (۲). سرطان پستان به دو صورت ارثی و غیر ارثی بروز می‌کند که اکثر موارد ابتلاء به این بیماری از نوع غیر ارثی و بدون سابقه خانوادگی سرطان پستان هستند (۳). دو گروه از ژن‌های مستعد کننده نوع ارثی با رخداد بالای خانوادگی سرطان پستان شامل ژن‌های مستعد کننده با خطر بالا و خطر متوسط تا پایین شناخته شده‌اند. *BRCA1* جزء ژن‌های مستعد کننده با خطر بالا برای سرطان پستان محسوب می‌شود (۴). ژن *BRCA1* جزء ژن‌های مراقب ژنوم بوده و در فرآیند تعمیر آسیب DNA نقش دارد. بنابراین، عدم فعالیت این ژن منتهی به ناپایداری ژنومی می‌گردد. *BRCA1* به عنوان یک ژن سرکوب کننده تومور بر روی کروموزوم 17 q 21 واقع شده که با طول حدود ۱۰۰ کیلوباز دارای ۲۳ اگزون بوده و ۱۸۶۳ آمینواسید را کد می‌کند. اگزون ۱۱ بخش میانی پروتئین BRCA1 را کد می‌کند که می‌تواند با پروتئین Rad51 برهم کنش و با این مکانیسم در تعمیر DNA نقش داشته باشد. اکثر افراد مستعد به سرطان پستان با میزان خطر بالا دارای جهش در ژن *BRCA1* هستند (۵). در یک مطالعه مروری Nematzadeh و همکاران در مروری بر ۱۳ مطالعه در زمینه جهش‌های ژن *BRCA1* انجام شد، نشان داد که در مجموع ۱۰۰ جهش در ژن *BRCA1* در این ۱۳ مطالعه گزارش گردیده است، که از بین این ۱۰۰ جهش گزارش شده،۲۰ مورد مربوط به جهش‌های اگزون ۱۱ ژن *BRCA1* می‌باشد (۶). Akbari و همکاران در سال ۲۰۱۳ جهش های ژن BRCA1 را گزارش کرده اند (۷). به دلیل اینکه رخداد جهش‌ها به شدت وابسته به موقعیت جغرافیایی جمعیت و قومیت مورد مطالعه می‌باشد و تعداد جهش‌های شناسایی شده در *BRCA1* رو به افزایش است و نیز به دلیل اینکه

▣ این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی سولماز دیانتی دانشجوی رشته ژنتیک مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر ناصر پولادی
آدرس: تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی. تلفن: ۰۴۱-۳۱۴۵۲۰۹۹
E-mail: N.pouladi@azaruniv.edu

سرطان پستان به عنوان نخستین سرطان شناسایی شده در بین زنان ایرانی نیز محسوب می‌گردد (۵)، هدف از تحقیق حاضر، بررسی جهش‌های اگزون BRCA1 11-A در زنان مبتلاء به سرطان پستان در جمعیت شمال غرب ایران می‌باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه توصیفی (descriptive) در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه تبریز طی سال‌های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵ انجام شد.

انتخاب نمونه ها: بیماران از میان مراجعه کنندگان به بیمارستان‌های نورنجات و امام رضا (ع) شهر تبریز براساس ویژگی‌های شاخص از جمله نوع تومور پستان، سن تشخیص سرطان پستان و جنسیت انتخاب شدند. ۴۰ خانم مبتلاء به تومور بدخیم پستانی با سن تشخیص چهل سال و پایین‌تر برای بررسی انتخاب گردید. اکثر بیماران (۹۶٪) مبتلاء به کاسینومای تهاجمی مجرایی پستان (invasive ductal carcinoma) و مابقی بیماران (۴٪) مبتلاء به کارسینومای تهاجمی لوبولی پستان (invasive lobular carcinoma) بودند. نمونه‌گیری با کسب رضایت آگاهانه از بیماران انجام گرفت.

استخراج DNA و بررسی جهش: DNA ژنومی با به کارگیری روش استاندارد نمک اشباع (salting-out) از نمونه‌های خونی بیماران استخراج گردید (۸) و برای بررسی جهش‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

تکثیر DNA (PCR) و توالی یابی مستقیم (direct sequencing): اگزون ۱۱ ژن *BRCA1* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی این اگزون با روش PCR تکثیر گردید(جدول ۱). هر واکنش PCR حاوی ۱/۵ میکرولیتر DNA ژنومی، ۰/۵ میکرولیتر دزاکسی نوکلئوتید تری فسفات (dNTPs)، ۰/۹ میکرولیتر کلرید منیزیم ($MgCl_2$)، ۰/۷ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرهای رفت (forward) و برگشت (reverse)، ۰/۱۵ میکرولیتر Tag پلیمراز، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X و ۱۸/۹۵میکرولیتر آب دو بار تقطیر (مواد مصرفی تهیه شده از شرکت سیناژن تهران) در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. برنامه PCR به صورت زیر بود: ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه دناتوراسیون اولیه بود. ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه دناتوراسیون انجام شد. ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه دمای انیلینگ (اتصال پرایمرها) در نظر گرفته شد. دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای مرحله گسترش تنظیم گردید. ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه برای ۳۵ چرخه، مرحله گسترش نهایی انجام شد. محصولات PCR با الکتروفورز ژل آگارز دو درصد مشاهده گردید، سپس محصولات PCR برای توالی‌یابی به شرکت پیشگام تهران فرستاده شدند و نتایج حاصل از توالی‌یابی با توالی‌های ثبت شده در NCBI بلست (basic local alignment search tool; blast) گردید و با استفاده از نرم افزار Chromas مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای PCR نمونه های سرطان پستان

نام پرایمر	توالی پرایمر (`5>3`)
پرایمر رفت[1] ۱	ACCTCCAAGGTGTATGAAGTATG
پرایمر برگشت[2] ۱	TGGTAGAAGACTTCCTCCTCAG
پرایمر رفت ۲	ATGAGCTTTAATATGTAAAAGTG
پرایمر برگشت ۲	TTTGTTAACTTCAGCTCTGGG

[1]Forward, [2]Reverse

یافته ها

در این مطالعه اکثر جهش‌های شناسایی شده در ژن *BRCA1* از نوع جهش‌های بد معنی (missense substitution) بود (جدول ۲). یک جهش جدید مشاهده شده در این مطالعه عبارت است از: Ala584Thr. در دو خانم مبتلاء به کارسینومای تهاجمی مجاری پستان با سن تشخیص ۳۴ و ۳۹ سال، جهش جدید مذکور شناسایی گردید که تا به حال در مقالات گزارش نشده است. جهش‌های کدون ۶۹۴ (Ser694Ser) شیوع بیشتری (۵۲/۵٪) در نمونه‌های بررسی شده نشان داد. جهش بد معنی Gln356Arg در ۱۲/۵ درصد از بیماران مورد مطالعه دارای جهش‌های ژن *BRCA1* مشاهده شد. در دو بیماری که جهش Arg584Arg وجود داشت، جهش بد معنی Ser694Ser نیز مشاهده گردید. چهار جهش با اثر پاتوژنیک در سه نفر از بیماران شناسایی گردید که شامل: جهش‌های بد معنی Phe486Leu، Asn550His و Ser628Arg و Asp693Thy می باشد. کروماتوگرام مربوط به جهش‌های شناسایی شده در شکل شماره ۱ نشان داده شده است. تعداد نمونه‌های دارای جهش براساس شماره کدون در شکل شماره ۲ آورده شده است. ۴۷/۵٪ جهش‌های شن‌اس‌ای‌ی ش‌ده از نوع غیرمترادف و ۵۲/۵٪ از نوع مترادف بودند. جابه جایی‌های تک نوکلئوتیدی مشاهده شده شامل: a>g، g>a، t>c، c>t (Transition)، a>c، t>g، g>t (Transversion) بود که به ترتیب درصد فراوانی مربوط به هر واریانت ۱۲/۵، ۲/۵، ۲/۵، ۵۲/۵، ۲/۵، ۲/۵، ۲/۵ درصد محاسبه گردید.

جدول ۲. جهش های اگزون ۱۱ ژن *BRCA1* در بیماران مبتلاء به سرطان پستان جمعیت شمال غرب ایران

شماره نمونه	شماره کدون	کدون طبیعی	کدون جهش‌یافته	اسیدآمینه طبیعی	اسیدآمینه جهش‌یافته
۱۷،۳۱،۲۳۵،۲۳۶،۳۱۵	۳۵۶	CAG	CGG	Gln	Arg
۲۸۹	۴۸۶	TTT	CTT	Phe	Leu
۲۸۹	۵۵۰	AAT	CAT	Asn	His
۳۴۸ و۲۴۳	۵۸۴	GCT	ACT	Ala	Thr
۲۳۸	۶۲۸	AGT	AGG	Ser	Arg
۱۴۲	۶۹۳	GAC	TAC	Asp	Thy
۴۸،۷۹،۹۲،۱۰۹،۱۱۳،۱۲۶،۱۴۲،۱۵۵،۲۳۵،۲۳۸،۲۴۳ ۲۵۹،۲۷۲،۲۷۴،۲۹۴،۳۰۱،۳۰۷،۳۱۹،۳۲۶،۳۴۸،۳۵۴	۶۹۴	AGC	AGT	Ser	Ser

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه یک جهش غیر مترادف (nonsynonymous) به عنوان جهش جدید ژن BRCA1 و برای اولین بار گزارش گردید. به دلیل اینکه نوع ارثی سرطان پستان اغلب در بیمارانی با درگیری دو طرفه پستان‌ها و سن تشخیص زود هنگام (۹) دیده می‌شود، این معیارها برای انتخاب بیماران در مطالعه حاضر مورد توجه قرار گرفت. به این دلیل که ژن *BRCA1* با داشتن ۲۳ اگزون در حدود ۸۰ کیلو باز از DNA ژنومی گسترده شده است، بنابراین، جهش‌های آن گسترده و وسیع خواهد بود. بنا به این دلیل، بررسی جهش‌ها با استفاده از روش توالی یابی مستقیم به مناطق کد کننده و اگزونی این ژن محدود می‌شود (۹).

سرطان پستان یک بیماری چند عاملی است که در نتیجه برهم‌کنش‌های بین تعدادی از فاکتورهای مستعدکننده از جمله ژنوتیپ در یک یا بیش از یک لوکوس و عوامل محیطی به وجود می‌آید. بنابراین، این بیماری ممکن است بیشتر تحت تأثیر سایر عوامل مستعد کننده در مقایسه با جهش‌های *BRCA1* به وجود بیاید (۹). به دلیل وجود این فاکتورهای مستعد کننده، در ۲۵٪ از بیماران مورد بررسی در مطالعه حاضر جهشی مشاهده نگردید. اگزون ۱۱ شامل ۶۰٪ از توالی کد کننده ژن *BRCA1* می‌باشد (۹) و در مطالعه حاضر در اگزون 11-A این ژن هفت واریانت متفاوت شناسایی شد که در بین آنها یک جهش جدید (Ala584Thr) در این منطقه وجود داشت. مطالعات جمعیتی بیشتری برای شناسایی اثر این جهش مورد نیاز است. در مطالعه حاضر، جهش کدون ۶۹۴ بالاترین درصد فراوانی را در بین نمونه‌های دارای جهش به خود اختصاص داده است. این واریانت قبلاً توسط مژگان Dodova و همکاران (۱۰) و همین‌طور در مطالعه Rajasekaran (۱۱) و همکاران گزارش شده است. بعد از کدون ۶۹۴، واریانت کدون ۳۵۶ بیش‌ترین فراوانی را در نمونه‌های بررسی شده به خود اختصاص داده است، به‌طوری‌که در ۱۲/۵٪ از نمونه‌ها مشاهده شده و قبلاً در مطالعه‌ای از کشور هند توسط Rajasekaran (۱۱) و همکاران و در مطالعه‌ای دیگر از کشور انگلستان توسط Baynes و همکاران (۱۲) در ژن *BRCA1* گزارش گردیده است. یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابق با گزارش قبلی است. تمام بیماران بررسی شده در مطالعه‌ی Jalkh و همکاران مبتلاء به نوع تهاجمی مجرایی سرطان پستان بوده و همگی در سنین زیر ۵۵ سال قرار داشتند. در آزمایش‌های in vitro مشخص شده است که جهش در کدون ۳۵۶ باعث از دست رفتن عملکرد پروتئین BRCA1 می‌شود (۱۳). جهش کدون ۵۸۴ که در مطالعه حاضر در دو نمونه (۵٪ نمونه‌ها) مشاهده گردید و منجر به تغییر آمینواسیدی آلانین (Ala) به ترئونین (Thr) می‌شود تابحال گزارش نگردیده است. تغییرات کدون‌های ۴۸۶، ۵۵۰، ۶۲۸ و ۶۹۳ هر کدام در یک نمونه مشاهده شد که تغییرات مربوط به کدون‌های ۴۸۶ و ۵۵۰ هر دو در یک نمونه سرطان پستان مشاهده گردید. جهش کدون ۴۸۶ (c.1456T>C) در مطالعه Jalkh و همکاران (۱۴) در بررسی بیماران مبتلاء به سرطان پستان ارثی (familial) گزارش گردیده است. واریانت کدون ۵۵۰ گزارش شده در این مطالعه (c.1648A>C) نیز قبلاً در مطالعه‌ی بیماران بلغاری مبتلاء به سرطان پستان توسط Rajasekaran و همکاران (۱۱) مشاهده و گزارش شده است. واریانت کدون ۶۲۸ (c.1884T>G) و۶۹۳ (c.2077G>T) که در مطالعه حاضر هرکدام در ۲/۵ درصد از نمونه‌ها مشاهده شده است، هر دو در مطالعه Figueiredo و همکاران (۱۴) گزارش گردیده است که بیماران در سنین زیر ۵۵ بودند و بیماران دارای جهش‌های ژن *BRCA1* میانگین سنی چهل سال داشتند. در کدون ۶۹۳ قبلاً تغییر نوکلئوتیدی متفاوتی (c.2077G>A) در مطالعه Figueiredo و همکاران (۱۴) گزارش شده است که منجر به تبدیل آسپارتیک اسید به آسپاراژین شده است، درحالیکه در بررسی حاضر، جهش کدون ۶۹۳ (c.2077G>T) منجر به تبدیل آسپارتیک اسید به تیروزین می‌گردد. در میان واریانت‌های تعیین شده یک مورد از آنها تحت عنوان مترادف بوده که عبارت از (Ser694Ser) است. در این حالت یک جایگزینی تک نوکلئوتیدی تغییری در نوع اسید آمینه ایجاد نمی‌کند، چون بیشتر آمینو اسیدها دارای چندین توالی آنتی کدونی هستند و در نتیجه تغییری در ساختار پروتئین ایجاد نمی‌کنند. این تغییرات ژنتیکی بر روی زنجیره پروتئینی مربوط تأثیر نمی‌گذارند و به عنوان جهش‌های خنثی (neutral) (۱۲) محسوب می‌گردند. تاکنون هیچ اثر پاتوژنیکی در ارتباط با این گونه تغییرات گزارش نشده است (۹).

در نتیجه، ما گرچه یک جهش جدید در ژن *BRCA1* در جمعیت منطقه شمال‌غرب ایران گزارش کردیم، طبق بررسی‌های انجام گرفته، هیچ کدام از نواقص ژنی شناسایی شده در این مطالعه، در بررسی‌های انجام شده در سایر استان‌های ایران گزارش نشده‌اند. هر چند، تعدادی از این جهش‌ها قبلاً در بیماران برخی از سایر نقاط جهان گزارش شده‌اند. این مطالعه برای نشان دادن جهش‌های احتمالی در ژن‌های درگیر در سرطان پستان و حتی ژن *BRCA1* در منطقه شمال‌غرب ایران کافی نیست و بنابراین، یک مطالعه هم گروهی (Cohort) گسترده می‌تواند شناسایی جهش‌های مرتبط با *BRCA1* و *BRCA2* را در این جمعیت تسهیل نماید.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاههای آزاد اهر،تبریز و شهید مدنی آذربایجان و از تمامی بیماران شرکت کننده در مطالعه حاضر به خاطر حضور داوطلبانه ایشان در تحقیق حاضر و از پرسنل محترم دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، تقدیر و تشکر می گردد.

Investigation of Mutations of Exon 11-A of BRCA1 Gene in Women with Breast Cancer in the Northwest of Iran

M.A. Hosseinpourfeizi (PhD)[1], S. Dianati (MSc) [2], A. Samir (MSc)[3], N. Dastmalchi (MSc)[4], N. Pouladi (PhD)[5*]

1.Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, I.R.Iran
2.Department of Biology, Faculty of Sciences, Azad University of Ahar, Ahar, I.R.Iran
3.Department of Biology, Faculty of Sciences, Payam-Noor University of Rey, Rey, I.R.Iran
4.Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, I.R.Iran
5.Department of Biology, Faculty of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(7); July 2018; PP: 28-32
Received: Sept 21st 2017, Revised: Mar 6th 2018, Accepted: Mar 26th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Breast cancer is the most common cancer in women, which is associated with genetic changes such as mutations in carcinogenic genes and tumor suppressor genes. One of the most important tumor suppressor genes involved in breast cancer is the BRCA1 gene. The mutation in this gene is a common occurrence in human breast cancer. The purpose of this study is to investigate the mutations of exon 11-A of BRCA1 gene in women with breast cancer in the northwest of Iran.

METHODS: In this descriptive study, blood sample were collected form 40 patients with breast cancer whose cancer was diagnosed before the age of 40 years and the exon 11-A of BRCA1 gene was examined using PCR and direct sequencing methods to detect mutations. Sequencing results were analyzed using Chromas software.

FINDING: In the present study, a nonsynonymous mutation was reported as a new mutation of BRCA1 gene for the first time: Ala584Thr mutation was also observed in two samples. The mutations of codon 694 (Ser694Ser) showed a higher incidence (52.5%). Other mutations were observed in codons 693, 356, 486, 550 and 628.

CONCLUSION: Based on the results of this study, mutations and polymorphisms of exon 11 of BRCA1 gene were observed for the first time in the northwestern population of Iran. One new case of mutation was observed in exon 11-A of BRCA1 gene.

KEY WORDS: *Breast cancer, BRCA1, Exon 11-A, mutation.*

Please cite this article as follows:

Hosseinpourfeizi MA, Dianati S, Samir A, Dastmalchi N, Pouladi N. Investigation of Mutations of Exon 11-A of BRCA1 Gene in Women with Breast Cancer in the Northwest of Iran. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(7): 28-32.

[*]**Corresponding Author: N. Pouladi (PhD)**
Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R.Iran
Tel: +98 41 31452099
E-mail: N.pouladi@azaruniv.edu

References

1.Ariad S, Milk N, Bolotin A, Gopas J, Sion-Vardy N, Benharoch D. Measles virus antigens in breast cancer. Anticancer Res. 2011;31(3):913-20.

2.Anderson BO, Jakesz R. Breast cancer issues in developing countries: an overview of the Breast Health Global Initiative. World J Surg. 2008;32(12):2578-85.

3.Rachel E, David J, Craig D, Darrell L. Breast Cancer in the Personal Genomics Era. Curr Genomics. 2010;11(3):146-61.

4.Palacios J, Robles-Frías MJ, Castilla MA, López-García MA, Benítez J. The molecular pathology of hereditary breast cancer. Pathobiol. 2008;75(2):85-94.

5.Sadr-Nabavi A, Dastpak M, Homaei-Shandiz F, Bahrami AR, Bidkhori HR, Raeesolmohaddeseen M. Analysis of novel mutations in BRCA1 in Iranian families with breast cancer. Hereditas. 2014;151(2-3):38-42.

6.Neamatzadeh H, Shiryazdi SM, Kalantar. SM. BRCA1 and BRCA2 mutations in Iranian breast cancer patients: A systematic review. J Res Med Sci. 2015;20:284-93.

7.Mohammad Taghi Akbari, Masoud Garshasbi, Mojgan Ataei. ۲۰۱۳. Search for genes that cause familial breast cancer in a number of Iranian families. Ministry of Science, Research and Technology - Tarbiat Modares University - Faculty of Medical Sciences.

8.Bartlett JMS. Ovarian cancer: methods and protocols. 1st ed. New Jersey: Springer Press; 2000. Available From: https://www.springer.com/us/book/9781627035460.

9.Anczuków O, Buisson M, Salles MJ, Triboulet S, Longy M, Lidereau R, et al. Unclassified variants identified in BRCA1 exon 11: Consequences on splicing. Genes Chromosomes Cancer. 2008;47(5):418-26.

10.Dodova RI, Mitkova AV, Dacheva DR, Hadjo LB, Vlahova AI, -Hadjieva MS, et al. Spectrum and frequencies of BRCA1/2 mutations in Bulgarian high risk breast cancer patients. BMC Cancer. 2015;15:523.

11.Rajasekaran R, Sudandiradoss C, Doss CG, Sethumadhavan R. Identification and in silico analysis of functional SNPs of the BRCA1 gene. Genomics. 2007;90(4):447-52.

12.Baynes C, Healey CS, Pooley KA, Scollen S, Luben RN, Thompson DJ, et al. Common variants in the ATM, BRCA1, BRCA2, CHEK2 and TP53 cancer susceptibility genes are unlikely to increase breast cancer risk. Breast Cancer Res. 2007;9(2):27.

13.Jalkh N, Nassar-Slaba J, Chouery E, Salem N, Uhrchammer N, Golmard L, et al. Prevalance of BRCA1 and BRCA2 mutations in familial breast cancer patients in Lebanon. Hered Cancer Clin Pract. 2012;10(1):7.

14.Figueiredo JC, Brooks JD, Conti DV, Poynter JN, Teraoka SN, Malone KE, et al. Risk of contralateral breast cancer associated with common variants in BRCA1 and BRCA2: potential modifying effect of BRCA1/BRCA2 mutation carrier status. Breast Cancer Res Treat 2011;127(3):819-29.