جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسي فراواني جهش در اگزون ۲ ژن BRCA1 در بيماران مبتلا به سرطان سينه و بستگان سالم آنان در اهواز

حمید گله داری*[۱]، علی محمد فروغ مند*، ایران رشیدی گلرویه، بهناز اندشتی***،**
علی فرخی*، غلامرضا فاضلی***، حسین نظاری***، عبدالرحمن راسخ****

چکیده

هدف: سرطان سینه یکی از رایج ترین سرطان ها در زنان می باشد و در این میان، از هر دوازده زن یک نفر قبل از رسیدن به سن ۷۰ سالگی به این سرطان مبتلا می شود. از این تعداد فقط بخش کوچکی (تقریبا" ۵ تا ۱۰ درصد) در اثر جهش های اتوزومال غالب به این بیماری مبتلا می شوند. در دو ژن کشف شده BRCA1 – BRCA2 جهش هائی از نوع آتوزومی غالب در بیماران مبتلا به سرطان سینه مشاهده شده است. یهودیان اشکنازی با ریسک ابتلای بالا به این نوع سرطان، از ناقلین جهش در اگزون ۲ ژن BRCA1 (185delAG) و اگزون ۱۱ ژن BRCA1 (6174delT) می باشند. غربالگری این جهش ها در جمعیت های قومی غیر از اشکنازی ها می تواند درجهت تشخیص افراد در معرض خطر کاربرد داشته باشد.هدف مطالعه حاضر بررسی فراوانی های جهش های رایج در اگزون ۲ ژنBRCA1 در بیماران ایرانی (اهواز) می باشد.

روش بررسی: در این بررسی تعداد ۳۸ نمونه خونی از بیماران و ۳۲ نمونه ازبستگان سالم آنان از بخش پاتولوژی بیمارستان شفاء اهواز جمع آوری و غربالگری جهش های احتمالی در اگزون ۲ ژن BRCA1 (منطقه داغ و مستعد به جهش) با استفاده از روش SSCP[۱] مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها:نتایج نشانگر وجود جهش در چهار مورد (۱۰/۵ درصد) از کل ۳۸ بیمار می باشد.

تیجه گیری: نتیجه نهایی نشانگر وجود جهش در چهار مورد(۱۰/۵ درصد) ازکل تعداد ۳۸ نفر بیمار بود.

کلید واژه گان: سرطان سینه ، غربالگری جهش ، BRCA1 ، SSCP

مقدمه

سرطان سینه دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان کشورهای شرقی است. در آمریکا به تنهایی هر ساله بیش از ۱۸۰۰۰۰ مورد جدید تشخیص داده می شود. علیرغم پیشرفت های چشمگیری که در تشخیص و درمان سرطان ایجاد شده، تقریبا"۲۵درصد بیماران مبتلا به سرطان سینه بر اثر این عارضه جان خود را از دست می‌دهند(۱). پیشرفت در روشهای درمانی به شناسایی ژن‌ها و مسیرهای بیوشیمیایی که در ایجاد تومور نقش دارند، نیاز دارد. بیش از ۷۰درصد سرطانهای سینه پیچیده و هتروژن می باشند(۲).

1-Single Strand Conformational Analysis (Polymorphism)

*استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم ، دانشگاه شهید چمران اهواز
** دانشیار، مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
***کارشناس ژنتیک
****استاد گروه آمار ، دانشگاه شهید چمران اهواز
۱- نویسنده مسؤل

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

دریافت مقاله:۱۳۸۴/۱/۲۸ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۵/۱/۲ اعلام قبولی: ۱۳۸۵/۴/۲۴

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

علی رغم این هتروژنئیتی، همه موارد با هایپرپلازی در بافت اپیتلیال آغاز می شود که به کارسینومای مهاجم و نهایتا" به حالت تهاجمی و دست اندازی بدور منجر می شود(۷). تغییرات ژنتیکی زیادی در سرطان های سینه گزارش شده، ولی چالش اصلی شناسائی تغییرات ژنتیکی در آغاز تومورزایی و تغییراتی است که به صورت اتفاقی و تک مورد ایجاد می شوند(۸).

در سالهای اخیر با پیشرفت روشهای تشخیصی، امکان تشخیص زود رس سرطان سینه فراهم شده است(۶) و با شناسائی تومور در مراحل اولیه، کاهش چشمگیری در مرگ و میر حاصل از سرطان سینه به نسبت دهه های اخیر دیده می شود(۹) . شناسائی تومورهای پستان در مراحل اولیه راه جدیدی را پیش روی محققین باز کرده و مسائل جدیدی را در کارهای کلینیکی ایجاد کرده است. درک ما از پاتوفیزیولوژی بعضی از این توده های سلولی بلافاصله با پیدایش آن آغاز می شود.

تکنولوژی های پیشرفته اخیر مثل SAGE[1] و DNA micro array این امکان را فراهم ساخته تا به یک نمای جامع از بیان ژنها در کارسینومای سینه در تمامی مراحل دست یابیم(۱۰). کاربرد این تکنیک های جدید در کنار شناسایی توالی ژنوم انسان، امکان شناسایی و پیش بینی ریسک خطر، پیشگیری از ابتلاء به سرطان و درمان آنرا فراهم کرده است(۶).

بطور کل سرطان نتیجه ترکیبی از فاکتورهای مختلف شامل جهش های ارثی و عوامل محیطی است. مقدار مشخصی از موارد ابتلاء به سرطان سینه یعنی حدود ۱۰درصد را می‌توان به جهش های ارثی نسبت داد که این جهش ها غالبا" در دو ژن BRCA1 و BRCA2 و بر اساس بررسی های شجره ای در بین فامیل های مبتلا شناسایی شده است(۱و۵). در همین رابطه در بعضی از جمعیت ها رایج بودن جهش هائی خاص گزارش شده است. علاوه بر این، جهش هائی در لایه ژرمینال در ژن های Chk/MLH1[2] MSH, P53, ATM KB-1, PTEN و BACH-1 نیز در موارد ابتلاء به سرطان سینه گزارش شده است (۱۱، ۱۰، ۹، ۸، ۷). اما این جهش ها نسبت به جهش ها در دو ژن BRCA1 و BRCA2خیلی محدود می باشند (۱۱). طبق نتایج منتشر شده بیشترین جهش ها در اگزون های ۲و۲۰ در ژن BRCA1 در نوع وراثتی سرطان سینه مشاهده شده اند (۹و۶ و۳). اگر چه بخش اعظم تومورها در زنان از موارد غیر ارثی است، اما اساس مولکولی این سرطان های غیر ارثی هنوز ناشناخته است(۸ و۷).

روش بررسی

بیماران: در این تحقیق ۷۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. از این تعداد ۳۸ مورد بیمار و ۳۲ مورد دیگر بستگان سالم بیمار می باشند. از ۳۸ نمونه بیمار تنها یک نمونه مربوط به مردی ۴۶ ساله و بقیه نمونه ها مربوط به زنان ۲۵ تا ۵۵ سال می باشند که حدود ۳۰ درصد کل مراجعین مبتلا به سرطان ساال ۱۳۸۲ به بخش پاتولوژی بیمارستان شفاء اهواز را تشکیل می دهد. طبق بررسی های علت شناسی عواملی از قبیل سن ، شغل ، وضعیت تاهل و تعداد زایمان می توانند در سن بروز و پیدایش سرطان پستان در خانم ها موثر باشند. اگر چه در این بررسی حضور و یا عدم حضور جهش مورد توجه بوده ولی اطلاعات ارائه شده در جدول شماره یک می تواند برای تحقیقات تکمیلی قابل توجه باشد.

1- Serial Analysis Of Gene Expression

جدول ۱: اطلاعات شخصی ۳۸ بیمار که در این تحقیق بررسی شده اند. بیماران بصورت تصادفی و از بین مراجعین به بخش سرطان بیمارستان شفاء اهواز و طی یک دوره شش ماهه انتخاب شده اند.

مشخصات بیماران		درصد
سن	۳۰ تا ۴۰ سال	۳۱/۵
	۴۰ تا ۵۰ سال	٤٨/٥
	۵۱ سال به بالا	۲۰
تعداد بچه	بدون بچه	۵/۷۱
	یک تا چهار بچه	٤٥/٧
	بیش از چهار بچه	٤٨/٥
شغل	خانه دار	۶۰
	کارمند	۴۰
وضعیت تاهل	مجرد	۸/۵
	متاهل	۹۱/۵
تغذیه کودکان	با شیر مادر	۶۰
	با شیر خشک	۴۰

جمع آوری نمونه های خونی: نمونه خون وریدی از طریق مرکز رادیوتراپی و شیمی درمانی بیمارستان شفاء اهواز بصورت تصادفی و طی یک دوره شش ماهه جمع آوری گردید.

استخراج DNA از نمونه ها: استخراج DNA از خون طبق دستورالعمل کیت High pure از شرکت Roche انجام گرفت. در هر استخراج مقدار ۲۰۰ میکرولیتر خون استفاده شد.واکنش زنجیره ای پلیمرازی (PCR): حدود ۵۰ نانوگرم از هر نمونه DNA استخراج شده در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. در برنامه PCR سه مرحله حرارتی در ۳۵ سیکل و در حجم ۲۵ میکرولیتر اعمال شد. در جدول شماره ۲ شرایط واکنش و همچنین غلظت پارامترهای استفاده شده قید گردیده است. دو پرایمر استفاده شده به ترتیب دارای ترادفهای 5-TATCTGCTCTTCGGGTTG-3و 5-TAGCTCTTCAACAAGTGAC-3بوده محصولی با طول ۲۵۰ جفت باز به کمک آنها تکثیر گردید. محصولات PCR جهت تائید بر روی ژل آگاروز۲ درصد الکتروفورز شدند.

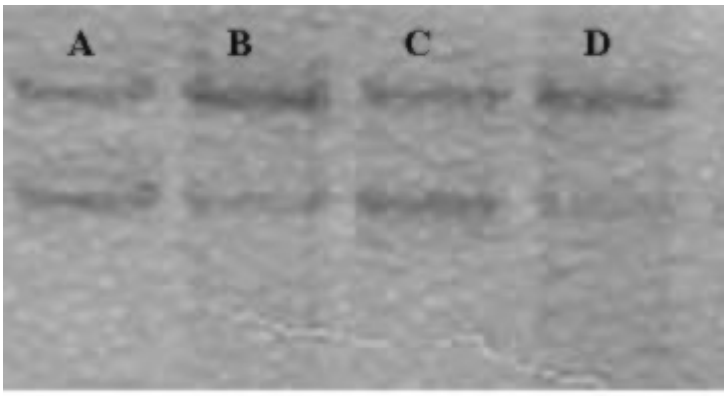
جدول ۲ : ویژگی های واکنش PCR در تکثیر اگزون ۲ ژن BRCA1

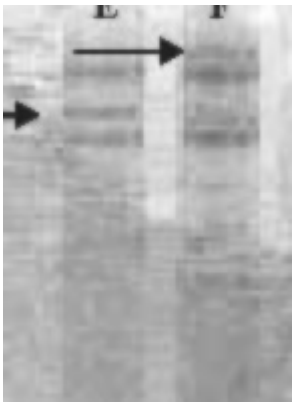
پروفیل حرارتی واکنش زنجیره ای پلیمرازی	dNTP	200 uM
	10x PCR Buffer	2.5 ul
مرحله واسرشت الگو ۳۰ ثانیه	$MgCl_2$	1.5 mM
مرحله اتصال پرایمر ۳۰ ثانیه	DNA Template	50 ng
مرحله تطویل زنجیر ۳۰ ثانیه	Each primer	25 pmol
	Taq. Polymerase	2 units
	Total volume	25ul

روش SSCP جهت غربالگری جهش ها: برای این منظـور ابتدا ژل پلی اکریل آمید ۱۲ درصد با۵ درصـد گلیسـرول و سیصد میکرولیتر محلول ده درصدی آمونیوم پرسـولفات بـه همـراه ۳۰ میکرولیتـر TEMED سـاخته شـد. سـپس ۴ میکرولیتر محصول PCR را با ۴ میکرولیتر بـافر حـاوی ۹۵ درصد فرمامید-۱۰ میلی مولار سود، و۱۰ میلـی مـولار بـرم فنول آبی و گزیلن سیانول مخلوط کرده وبه مـدت ۵ دقیقـه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد حرارت داده سپس بر روی یخ گذاشته و سریعا" به ژل انتقال داده شد. نمونه ها بمـدت ۱۵ تـا۲۰ سـاعت در دمـای محـیط و بـا ولتـاژ ۳۰۰ ولـت الکتروفورز[1] شدند. در خاتمـه ژل بـا کمـک روش نیتـرات نقره رنگ آمیزی و نهایتا" در دستگاه ژل خشک کن[2] خشک شد.

یافته ها

بطورکل از ۳۸ نمونه بیماران درچهار مورد جهش در اگزون ۲ ژن BRCA1 مشاهده شـد. در هرچهـارمورد تشـخیص داده شده، جهش ها مربوط به خانم هایی بود کـه در زمـان نمونه گیری تحت شیمی و پرتو درمانی بـوده وپـیش از آن ماستکتو می شده بودند. در شکل شـماره یـک نمونـه ای از جهش ها بر روی ژل پلی اکریل آمید نشان داده شده اسـت. در یکی از خانم ها سرطان دو طرفه و در بقیه فقط در یکی از سینه ها تومـور تشـخیص داده شـده بـود. در ۳۲ نمونـه بستگان سالم بیمار فقط دریک خانم ۲۷ ساله جهش مشاهده شد. مادر بزرگ این شخص قبلا" درسن ۵۷ سـالگی در اثـر عوارض سرطان سینه فوت شده بود . در جـدول شـماره ۳ مشخصات افراد دارای جهش آورده شده است.





شکل ۱: تصویر ژل ۱۲ درصدی پلی اکریل آمید به همراه ۵ درصد گلیسرول جهت تقویت ساختار های تک رشته ای.
فلاشها نمایانگر DNA تک رشته ای می باشند. جایگاه دو تک رشته ای در همه نمونه ها ثابت است اما در نمونه E و F منحصرا تـک رشته‌های مضاعفی دیده می شود که دلالت بر موتاسیون در نمونه های قید شده می باشد .A ,B ,C ,D محصول PCR فاقـد جهـش می‌باشند.

1- Electrophoresis Tank from Hybaid
2-Gel Dryer from Hybaid

جدول۳ : مشخصات فردی و بالینی افراد دارای جهش

ردیف	سن	نسبت	مرحله بیماری	نوع سرطان سینه
۱	۵۳ ساله	بیمار	جراحی – شیمی و پرتو درمانی	دو طرفه
۲	۵۰ ساله	بیمار	جراحی – شیمی و پرتو درمانی	یکطرفه
۳	۴۹ ساله	بیمار	جراحی – شیمی و پرتو درمانی	یکطرفه
۴	۴۷ ساله	بیمار	جراحی – شیمی و پرتو درمانی	یکطرفه
۵	۲۷ ساله	نوه بیمار	سالم	–

بحث

ژن BRCA1 در سال ۱۹۹۰ شناسایی و نقشه برداری و در سال ۱۹۹۴ کلون گردید(۱). ماهیت مهار کنندگی تومور از آن جهت به BRCA1 نسبت داده می شود که تومور زایی در افراد دارای جهش ژرمینال، نیازمند غیر فعال شدن جهش آلل دیگر است. بسیاری از مطالعات اپیدمیولوژیک ژنتیکی دلالت بر آن دارند که افراد دارای جهش BRCA1، ریسک سرطانی حدود ۹۰درصد دارند(۱۲). علاوه بر این مشخص شده است که جهش در BRCA1، علاوه بر سرطان سینه خطر بروز سرطان تخمدان را در زنان و سرطان پروستات را در مردان بالا می برد(۱۳). تحقیقات در جهت تعیین عملکرد BRCA1 نشان داده که این ژن حداقل در دو فرایند سلولی ترمیم و تنظیم رونویسی دخیل است که البته بررسی های بیشتر در مورد ژن هایی است که به نوعی در ترمیم DNA نقش دارند(۱۴).

بررسی‌های بیشتر نشان داد که نقص یا از دست رفتن BRCA1 منجر به نقص در ترمیم آسیب وارد شده به DNA، تکثیر سانتروزوم، توقف سیکل سلولی، نقص در رشد، افزایش مرگ سلولی، ناپایداری ژنتیکی وتومورزایی می شود(۱۵). سرطان سینه را می توان به سه دسته تقسیم کرد. دسته اول که ۱۰ درصد از سرطان های سینه را در خانمها به خود اختصاص می دهد، نوع وراثتی با الگوی آتوزوم غالب است که از شاخصه های آن بروز تومور در سنین پایین و تجمع افراد مبتلا به سرطان سینه و تخمدان در یک خانواده است(۱۶). دسته دوم نوع فامیلی است که با بروز کمتر نسبت به گروه اول و تحت تاثیرعوامل ژنتیکی و محیطی ایجاد می شود و ۲۰ درصد از تومورهای سینه را در بر می‌گیرد (۱۶). دسته سوم که در ۷۰ درصد سرطانهای سینه دیده می شود از نوع تک گیر[1] می باشد. در این نوع سرطان خطر برای همه خانم ها بدون سابقه فامیلی یکسان می باشد. اینگونه تومورها احتمالاً دراثر عوامل محیطی از قبیل هورمون درمانی و تغذیه نامناسب پدید می آیند (۱۸و۷). جالب توجه است که عوامل محیطی دیگری مانند تعداد بارداری و تغذیه کودک با شیر مادرخطر ابتلا به این نوع سرطان را در خانم ها کاهش می دهد(۱۸) ، اما اکثر بیماران بررسی شده در این تحقیق بیش از چهار فرزند داشته و حداقل بمدت یک سال کودک خود را با شیر مادر تغذیه کرده اند (جدول شماره یک). این موضوع می‌تواند دلالت بر تاثیر بیشتر عوامل ژنتیکی در بروز سرطان در جمعیت بیماران این تحقیق داشته باشد.

1 -Sporadic

در این تحقیق نتایج بدست آمده از بررسی بیماران با استفاده از روش SSCP نشان می دهد که در۱۰/۵ درصد نمونه ها، جهش در اگزون ۲ ژن BRCA1 وجود دارد که این درصد بدست آمده با فراوانی های سرطان سینه از نوع ارثی مطابقت دارد. البته باتوجه به محدود بودن نقاط آزمایش شده فراوانی جهش در بیماران می تواند احتمالاً به کمک روش های دقیقتر مانند تعیین ترادف مستقیم[1] با هدف غربالگری جهش در تمامی طول ژن افزایش یابد.

این نتایج می تواند اهمیت مطالعات اصولی را روشن نماید زیرا در مطالعات قبلی در ایران (۱۹و۲۰) گزارشی در مورد وجود جهش در اگزون ۲ ژن BRCA1 منتشر نشده است و در گزارش یاسائی و همکاران (۲۱) در ۸۳ بیمار مورد بررسی، در دو مورد جهش تغییر قالب مشاهده گردید که با توجه به تنوع جمعیتی ایران احتمالاً فراوانی ها و مشاهده یا عدم مشاهده جهش خاصی نمی تواند برای مناطق مختلف کشور قابل تعمیم باشد.(۲۲).

در مجموع قضاوت در مورد اینکه این افراد دارای سرطان سینه از نوع ارثی یا فامیلی هستند کار دشواریست چرا که به استثناء یک مورد شجره نامه دقیقی از بقیه بیماران وجود نداشته و دیگر اینکه نمونه گیری از همه بستگان نزدیک نیز امکان پذیر نبوده است. از طرفی در این بررسی همه نقاط ژن غربالگری نشده اند. یادآوری می شود که هر چند موتاسیون ها در تمامی ۲۴ اگزون این ژن و بصورت پراکنده مشاهده شده اما جهش غالب بر روی اگزون ۲ گزارش شده است که در اثر حذف بازهای آدنین و گوانین در کدون ۱۸۵ بوجود می آید و به همین دلیل این منطقه از ژن را منطقه داغ و مستعد به جهش می نامند(۱۸). به همین دلیل در بررسی انجام شده بر روی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شفاء اهواز شناسایی جهش ها متمرکز بر اگزون ۲ شده بود. بنابراین مطالعات تکمیلی بر روی بیماران و بستگان بیمار بررسی شده امری ضروری بنظر می رسد. به هر حال نتایج در مقایسه با بررسی‌های قبلی انجام شده در ایران نشان دهنده وجود قابل توجه جهش ژرمیناال در اگزون ۲ ژن BRCA1 در جمعیت بیمار اهواز می‌باشد(۲۲).

لازم بذکر است که بیمارانی که جهش دریکی از دو نسخه ژن BRCA1 را از طریق سلولهای ژرمینال به ارث برده، الزاماً در بافت اپیتلیال سینه دارای جهش در هر دو آلل این ژن می باشند. این نتیجه به نوبه خود دارای اهمیت زیادی است زیرا نزدیکان درجه یک بیماران بالقوه مستعد به این بیماری هستند و تشخیص های مولکولی تنها راه پیشگیری و اقدام به موقع قبل از تشکیل تومور بنظر می رسد(۹).

بعنوان مثال مطالعات تکمیلی برای فرد ردیف ۵ درجدول شماره ۲ که یکی از بستگان بیمار(مادر بزرگ پدری وی دارای سرطان بوده است) می باشد، بسته به تشخیص نوع جهش، احتمال پیش آگهی برای تشخیص زود رس، پیشگیری و یا کاهش ریسک سرطان را امکان پذیر می‌سازد.

1– Direct Sequencing

منابع

1-Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science 1994; 266: 66–71.

2-Newman B, Millikan RC, King MC. Genetic epidemiology of breast and ovarian cancers. Epidemiol Rev1997;19: 69-79.

3-Roa BB, Boyd AA, Volcik K, Richards CS. Ashkenazi Jewish Population Frequencies for Common Mutations in Brca1 and Brca2. Nature Genetics 1996; 14: 185-7.

4-Tonin P. Frequency of Recurrent BRCA1 and BRCA2 Mutations in Ashkenazi Jewish Breast-Cancer Families. Nature Medicine 1996; 2: 1179-83.

5-Parkin DM. Epidemiology of cancer: global patterns and trends. Toxicol Lett 1998; 102-103:227-34.

6-Wooster R, et al. Identification of the Breast-Cancer Susceptibility Gene BRCA2. Nature 1995; 378:789-92.

7-Ritchie MD, Hahn LW, Roodi N, Bailey LR, Dupont WD, Parl FF, Moore JH. Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. Am J Hum Genet2001;69: 138-47.

8-Rebbeck TR, Couch FJ, Kant J, Calzone K, DeShano M, Peng Y, Chen K,Garber JE and Weber BL. Genetic heterogeneity in hereditary breast cancer: role of BRCA1 and BRCA2. Am J Hum Genet 1996;59:547-53.

9-Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL, Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. N Engl J Med 2002;346:1616-22.

10- Pollack JR, Sorlie T, Perou CM, Microarray analysis reveals a major direct role of DNA copy number alteration in the transcriptional program of human breast tumors. Proc Natl Acad Sci 2002;99:12963-8.

11- Petrakis, NL. Genetic factors in the etiology of breast cancer. Cancer 1997; 39: 2709-15.

12-Ford D, Easton DF, Peto J. Estimates of the gene frequency of BRCA1 and its contribution to breast and ovarian cancer incidence. Am J Hum Genet1995;57:1457-62.

13- Rebbeck TR, Levin AM, Eisen A. Breast cancer risk after bilateral prophylacticoophorectomy in BRCA1 mutation carriers.J Natl Cancer Inst 1999;91:1475-9.

14-Deng CX, Scott F. Role of the tumor suppressor gene Brca1 in genetic stability and mammary gland tumor formation. Oncogene 2000; 19: 1059–64.

15-Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. Nat Genet 2001; 27: 247–54.

16-Claus EB, Risch N, Thompson WD. Autosomal dominant inheritance of early-onset breast cancer. Implications for risk prediction. Cancer 1994;73:643-51.

17-Ligtenberg MJ, Hogervorst FB, Willems HW, Arts PJ, Brink G, Hageman S, et al . Characteristics of small breast and/or ovarian cancer families with germ line mutations in BRCA1 and BRCA2. Br J Cancer 1999;79:1475-8.

18-Seltzer MH, Plato CC Fox KM. Dermatoglyphics in the identification of women either with or at risk for breast cancer. Am J Med Genet 1990;37: 482-8.

19-Mehdipour P, Atri M, Pour-Farzad F. Detection of BRCA1 mutation in the Breast Cancer probands by non-radioactive PCR-SSCP method. Human mutations online 2000;Archives of Iranian Medicine 1999;2(2).

20-Ghaderi A. Germline BRCA1 mutations in Iranian women with breast cancer. Cancer Lett Apr 2001; 165(1):87-94.

21-Yassaee VR. Novel mutations in BRCA1 and BRCA2 in Iranian women with early-onset breast cancer. Breast Cancer Res 2002; 4:R6.

22-Moslehi R. Analysis of BRCA1 and BRCA2 mutations in an Iranian family with hereditary Breast and ovarian cancer syndrome. Am J Med Genet 2003; 117A:304-5.