Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 32, No. 3, Autumn 2022 **ORIGINAL ARTICLE**

# Evaluation of *BRAF-V600E* gene mutation in colon tissue of patients with colorectal cancer in Iran

***Kobra Farahani[1], Behzad Poopak[2], Mostafa Ebadi[3], Bostan Roudi[3]***
*[1] Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran*
*[2] Associate Professor, Department of Hematology, School of Paramedical Sciences, Tehran Medical Sciences,Islamic Azad University,Tehran,Iran*
*[3] Assistant Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran*

## Abstract

**Background**: Colorectal cancer is one of the most common types of cancer and the cause of death of a large number of patients and requires investigating the causes of the disease and adopting targeted therapies. Considering the diagnostic, therapeutic, and prognostic significance of genetic markers, in the present study *BRAF-V600E* gene mutation was evaluated in tissue samples of colorectal cancer patients in Iran.
**Materials and methods**: In this study, 43 paraffin samples of colonic tissue were collected from patients with colorectal cancer and 5 tumor margin samples were collected as control. DNA was extracted after determining the percentage of tumor cells. *BRAF-V600E* mutation was evaluated using specific primers for mutant and normal alleles by Allele-specific PCR and also sequencing was done on samples with mutations.
**Results**: Mean age of the patients was 53.5 years (minimum 20 and maximum 81 years) and *BRAF-V600E* mutation was detected in 4 samples (9.3%). Sequencing was performed on samples in which the *BRAF-V600E* mutation was detected. Comparison of PCR results with sequencing also showed 100% agreement. In 69.77% of the samples, the tumor percentage was equal to or more than 50% and in 30.23% of the samples, the tumor percentage was less than 50%.
**Conclusion**: Considering the diagnostic value of *BRAF-V600E* gene mutation in the development of treatment methods in patients with colorectal cancer, it seems that the evaluation of this mutation is a positive point in accelerating the recovery process and determining the prognosis and can be a suitable therapeutic target for patients with this mutation.
**Keywords**: *BRAF-V600E, Colorectal cancer, Mutation, Iran.*

**Cited as:** Farahani K, Poopak B, Ebadi M, Roudi B. Evaluation of BRAF-V600E gene mutation in colon tissue of patients with colorectal cancer in Iran. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 32(3): **303-310.**

**Correspondence to:** Behzad Poopak
***Tel:*** *+98 9121196422*
***E-mail:*** bpoopak@gmail.com
**ORCID ID:** 0000-0002-3576-767X
**Received:** 29 Jun 2022; **Accepted:** 3 Sep 2022

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-12-29 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.3.12.1 ]
[ DOI: 10.52547/iau.32.3.303 ]

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، صفحات ۳۰۳ تا ۳۱۰

Original Article

# ارزیابی جهش ژن *BRAF-V600E* در بافت کولون بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال در ایران

**کبرا فراهانی[۱]، بهزاد پوپک[۲]، مصطفی عبادی[۳]، بستان رودی[۳]**

[۱] گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
[۲] دانشیار، گروه هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاداسلامی ، تهران، ایران
[۳] استادیار، گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

## چکیده

**سابقه و هدف**: *سرطان کولورکتال یکی از شایع‌ترین انواع سرطان و علت مرگ و میر تعداد بالایی از بیماران است و نیاز به بررسی علل ایجاد بیماری و اتخاذ روش های هدفمند درمانی دارد. با توجه به اهمیت تشخیصی، درمانی و پیش آگهی دهنده مارکرهای ژنتیکی، در مطالعه حاضر ارزیابی جهش ژن BRAF-V600E در نمونه های بافتی بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال در ایران انجام شد.*

**روش بررسی**: *در این مطالعه ۴۳ نمونه پارافینه بافت کولون از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و ۵ نمونه حاشیه تومور به عنوان کنترل جمع آوری و استخراج DNA آن پس از مشخص شدن درصد سلول‌های توموری (درصدی از سطح برش سلول‌های بافت کولون) انجام شد. جهش BRAF-V600E با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای آلل های جهش یافته و طبیعی به روش Allele specific PCR بررسی شد و بر روی نمونه های دارای جهش توالی یابی انجام شد.*

**یافته‌ها**: *میانگین سنی بیماران ۵۳/۵ سال (حداقل۲۰ و حداکثر ۸۱ سال) و جهش BRAF-V600E در ۴ مورد از نمونه‌ها تشخیص داده شد (۹/۳ ٪). بر روی نمونه‌هایی که در آنها جهش BRAF-V600E تشخیص داده شد، توالی یابی انجام شد. مقایسه نتایج PCR با توالی یابی مطابقت ۱۰۰ درصدی را نشان داد. در ۶۹/۷۷ ٪ نمونه‌ها درصد توموری مساوی یا بیش از ۵۰٪ و در ۳۰/۲۳ ٪ نمونه‌ها درصد توموری کمتر از ۵۰٪ گزارش شد.*

**نتیجه‌گیری**: *با توجه به ارزش تشخیصی جهش ژن BRAF-V600E در پیشرفت روش های درمانی در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال به نظر می‌رسد ارزیابی این جهش نقطه مثبتی در تسریع روند بهبود بیماران و تعیین پیش آگهی است و می‌تواند هدف درمانی مناسبی برای بیماران دارای این جهش باشد.*

***واژگان کلیدی:*** *BRAF-V600E، سرطان کولورکتال، جهش، ایران.*

## مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC) ناشی از رشد و تکثیر بی رویه سلول‌های توموری و بدخیم در روده بزرگ و رکتوم است که طبق گزارشات WHO، پس از سرطان‌های پستان و ریه، سومین سرطان شایع در دنیاست (۱). این نوع سرطان ۱۰ ٪ از کل موارد جدید ابتلا به سرطان در سال ۲۰۲۰ را به خود اختصاص داده و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان است، به طوری که ۹/۴ ٪ از کل مرگ ناشی از سرطان را تشکیل می‌دهد (۱). در ایران نیز سرطان کولورکتال رتبه سوم را در بین شایع‌ترین سرطان ها دارد و ۹/۱ ٪ از کل آمار ابتلای جدید به سرطان در سال ۲۰۲۰ را به خود اختصاص

**آدرس نویسنده مسئول**: تهران، گروه هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی، بهزاد پوپک (**email**: bpoopak@gmail.com)
**ORCID ID:** 0000-0002-3576-767X
**تاریخ دریافت مقاله**: ۱۴۰۱/۴/۸
**تاریخ پذیرش مقاله**: ۱۴۰۱/۶/۱۲

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-12-29 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.3.12.1 ]
[ DOI: 10.52547/iau.32.3.303 ]

داده است (۲). سرطان کولورکتال(CRC) ۱۳ درصد از مرگ و میر ناشی از سرطان در مردان و ۱۰ درصد در زنان یا به طور متوسط ۱۰۱۰ مرگ در سال است (۳).

مطالعات نشان می‌دهند که در زمان تشخیص اولیه، بیش از یک چهارم از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال (CRC) متاستاتیک هستند و تقریبا نیمی از افرادی که کاندید جراحی اولیه تومور هستند، متاستاز می‌دهند و میزان بقای ۵ ساله بیماری، ۱۴ درصد است (۴).

چندین مسیر ژنتیکی تعریف شده وجود دارد که در طول آنها CRC پراکنده می‌تواند ایجاد شود که با مدل‌های متمایز بی ثباتی ژنتیکی و اپی ژنتیکی مشخص می‌شود (۵، ۶).

مطالعات نشان می‌دهند که حدود ۱۰ درصد از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال زمینه ارثی دارند که برخی از این نواقص ژنتیکی قابل شناسایی هستند و به دو دسته بیماری‌های پولیپوز (پولیپوز همراه با MUTYH، پولیپوز آدنوماتوز آشنا، سندرم کاودن و سندرم پوتز-جگرز) و غیرپولیپوز مانند سندرم لینچ تقسیم می‌شوند. سایر موارد، سرطان‌های کولورکتال خانوادگی است که تا ۲۵ درصد از کل موارد ابتلا را به خود اختصاص می‌دهند (۷).

بررسی اختلالات ژنتیکی سبب شونده نشان داده است که طیف وسیعی از تغییرات مولکولی در بروز این بیماری دخیل هستند (۸). تغییرات مولکولی و جهش‌های شناسایی شده عمدتا منجر به تغییر در میزان بیان پروتوانکوژن‌هایی از قبیل *SOX9*، *IGF2*، *GNAS*، *ERBB2*، *PIK3CA*، *BRAF*، *NRAS* و *KRAS* و ژن‌های سرکوب کننده تومور مانند، *SMAD4*، *PTEN*، *TP53* و *APC* می‌شوند (۹). این تغییرات معمولا مسیرهای اصلی پیام رسان درون سلولی شامل MTOR، AKT، MAPK، PI3K، RAF و RAS را درگیر می‌کنند که در تکثیر، چسبندگی، رگ‌زایی، مهاجرت و بقاء سلول‌ها موثرند (۱۰). فعال شدن این مسیرها در سرطان کولورکتال عمدتا با جهش در ژن‌های*PIK3CA*، *BRAF*، *NRAS* و *KRAS* مرتبط است که این جهش‌ها امروزه به عنوان بیومارکرهای تشخیص، پیش آگهی و درمان سرطان کولورکتال (CRC) مطرح هستند (۱۱، ۷). با توجه به اینکه سرطان کولورکتال پیش‌آگهی ضعیفی دارد، برای تعیین نوع درمان و اثر بخشی آن ارزیابی بیومارکرها ضروری است و در تعیین پیش آگهی نیز موثر است. یکی از مهم‌ترین این بیومارکرها *BRAF V600E* است (۱۲، ۷).

*BRAF* از تنظیم کننده‌های مسیر MAPK در پایین دست ژن *KRAS* است که به عنوان بیومارکر تشخیصی و هدف درمانی مناسب برای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال (CRC) در نظر گرفته می‌شود (۱۳، ۷). جایگاه ژن *BRAF* بر روی بازوی بلند کروموزوم ۷ قرار دارد و پروتئین B-raf را که سرین-ترئونین کینازی پروتوانکوژنیک و یکی از اجزای مسیر RAS-RAF-MEK-MAPK است، کد می‌کند (۱۱، ۱۰). پروتوانکوژن *BRAF* از ۱۸ اگزون تشکیل شده است (۷). شایع‌ترین جهش این ژن، تغییر باز T به A است که درکدون ۶۰۰ از اگزون ۱۵ اتفاق می‌افتد و منجر به جایگزینی گلوتامیک اسید به جای والین می‌شود. جهش در پروتوانکوژن *BRAF* در انواع مختلف سرطان‌ها دیده می‌شود و در سرطان کولورکتال میزان آن ۶/۵ ٪ است (۱۴، ۱۰). همچنین نشان داده شده است که تومورهای دارای جهش*BRAF* به مهارکننده های فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR) پاسخ نمی‌دهند (۱۶، ۱۵). بنابراین، آگاهی از وضعیت جهش *BRAF* در سرطان کولورکتال می‌تواند گزینه‌های درمانی را راهنمایی کند.

امروزه مطالعات برای ارزیابی تغییرات مولکولی در این بیماری گسترش یافته است تا بتوان با تعیین میزان شیوع و اهمیت آنها راهکارهای درمانی اختصاصی و هدفمند برای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال تعیین کرد (۱۰، ۱۴، ۱۷، ۱۸). هدف از این مطالعه بررسی میزان فراوانی جهش در پروتوانکوژن *BRAF* در سرطان کولورکتال در جمعیت ایرانی بود.

## مواد و روشها

### انتخاب نمونه

در این مطالعه ۴۳ نمونه بافت پارافینه مبتلا به سرطان کولورکتال قبل از درمان در بازه سنی ۲۰ تا ۸۱ سال از بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه مرجع و زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد دامغان با کد اخلاق IR.IAU.DAMGHAN.REC. 1400.020 و تحت معیارهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) و رضایت بیماران جمع‌آوری شد. ۵ نمونه بافت حاشیه تومور به عنوان کنترل از همان نمونه‌های بیماران جمع آوری شد.

### آماده سازی نمونه

نمونه‌ها پس از جمع آوری در بخش پاتولوژی مورد ارزیابی قرارگرفتند و محل درگیری با سلول‌های توموری و درصد آنها مشخص شد. ۴۳ نمونه توموری به همراه ۵ نمونه از حاشیه اطراف بافت توموری بیماران به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. پس از پارافین زدایی براساس کیت ( QIAampDNA

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-12-29 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.3.12.1 ]
[ DOI: 10.52547/iau.32.3.303 ]

FFPE Tissue Kit) از کمپانی آلمان، استخراج DNA برای نمونه ها انجام شد. سپس DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری Biophotometer Pluse (Eppendorf, Germany) از نظر کمی مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای ارزیابی ژن هدف، ابتدا پرایمرها با استفاده از نرم افزار AlleleID ورژن ۷/۶۰ از شرکت Premier Biosoft international و برای بررسی ترمودینامیک پرایمرها از نرم افزار(GeneRunner (version:6.5.5/Beta و در نهایت از سایت NCBI برای تایید محل اتصال پرایمرها استفاده شد. سپس پرایمرها (جدول ۱ ) (۱۹) از کمپانی متابیون سفارش داده شدند. جهت افتراق بین آلل جهش یافته و طبیعی، پرایمرها به گونه‌ای طراحی شده‌اند که فرد با آلل طبیعی باید یک باند با پرایمرهای طبیعی و فرد جهش یافته باید دو باند یکی با پرایمرهای طبیعی و یکی با پرایمرهای جهش یافته بدهد.

**جدول ۱.** توالی پرایمرهای مورد استفاده در بررسی جهش *BRAF-V600E* به روش Allele specific PCR

| توالی پرایمر | انواع پرایمر |
|---|---|
| 5′-TAG GTG ATT TTG GTC TAG CTA CCG A-3′ | *BRAF* Mu Forward |
| 5′-TAG GTG ATT TTG GTC TAG CTA CCG T-3′ | *BRAF* WT Forward |
| 5′-GTA ACT CAG CAG CAT CTC AGG G-3′ | WT & *BRAF* Mu Reverse |

Mu: Mutant ؛WT: Wild Type

### انجام PCR (Polymerase Chain Reaction)

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) طبق جدول ۲ برای هر نمونه دومیکروتیوب در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر برای آلل های نرمال و موتانت با مسترمیکس از کمپانی Addbio (کشور کره) و پرایمرها انجام شد.

**جدول ۲.** مواد و حجم های استفاده شده

| نام ماده | حجم | حجم |
|---|---|---|
| Master Mix 2x | ۱۰ میکرولیتر | ۱۰ میکرولیتر |
| Forward Primer WT | ۱میکرولیتر | -------- |
| Forward Primer Mu | -------- | ۱میکرولیتر |
| Reverse Primer | ۱میکرولیتر | ۱میکرولیتر |
| DNA الگو | ۲میکرولیتر | ۲میکرولیتر |
| آب مقطر | ۶ میکرولیتر | ۶ میکرولیتر |

واکنش حرارتی نمونه های مورد نظر طی ۳ مرحله به صورت زیر انجام پذیرفت: مرحله اول، دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه ومرحله دوم به طور متناوب در ۳۵ سیکل جهت دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و اتصال و گسترش در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله سوم گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

پس از انجام واکنش PCR روی ۴۳ نمونه و ۵ نمونه کنترل حاشیه بافت توموری، الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ ٪ برای بررسی محصول نهایی انجام شد و وجود یا عدم وجود جهش بر اساس باندهای مشاهده شده برای نمونه ها مشخص شد (طول قطعه تکثیر شده برای آلل های جهش یافته و طبیعی ۱۴۸ جفت باز است). از آنجا که بیماران جهش یافته، جهش *BRAF V600E* را به صورت هتروزیگوت دریافت می‌کنند، تنها در صورتی یک فرد را حامل جهش در نظر می‌گیریم که هر دو باند، آلل جهش یافته و آلل طبیعی به طور هم زمان در نمونه مورد ارزیابی، قابل مشاهده باشد. در این مطالعه برای تأیید ۴ نمونه مثبت و همچنین یک نمونه کنترل، نمونه‌ها برای توالی یابی به شرکت کدون ارسال شدند. پس از خوانش حاصل از توالی‌یابی توسط شرکت کدون، آنالیز بیوانفورماتیک به منظور بررسی کیفیت توالی نمونه‌ها و سپس بررسی جهش توسط نرم افزار CLC Genomics Workbench، ورژن ۵,۶,۳ انجام شد. نمونه کنترل حاشیه بافت نمونه‌های توموری که در آنها جهش *BRAF V600E* وجود نداشت و مشخصات نمونه‌های کنترل در جدول ۳ آورده شده است.

تحلیل داده‌ها و مشخصات پاتولوژی از قبیل سن، جنس، درصد درگیری توموری (۲۳-۲۰) با استفاده از نرم افزار آماری توسط GraphPad PrismV.8.0.1 انجام شد و از آزمون t-test استفاده شد. P<۰/۰۵ معنی‌داری در نظر گرفته شد.

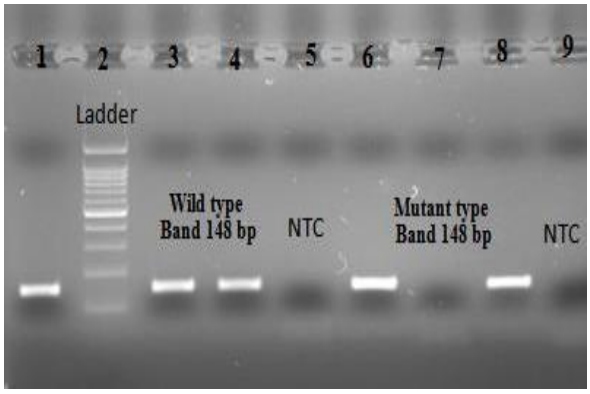
**جدول ۳.** مشخصات نمونه‌های حاشیه تومور استفاده شده در تومور

| شماره نمونه حاشیه تومور | جنسیت | سن |
|---|---|---|
| ۱ | مرد | ۶۰ |
| ۲ | مرد | ۵۵ |
| ۳ | زن | ۶۲ |
| ۴ | زن | ۵۶ |
| ۵ | مرد | ۵۷ |

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-12-29 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.3.12.1 ]
[ DOI: 10.52547/iau.32.3.303 ]

## یافته‌ها

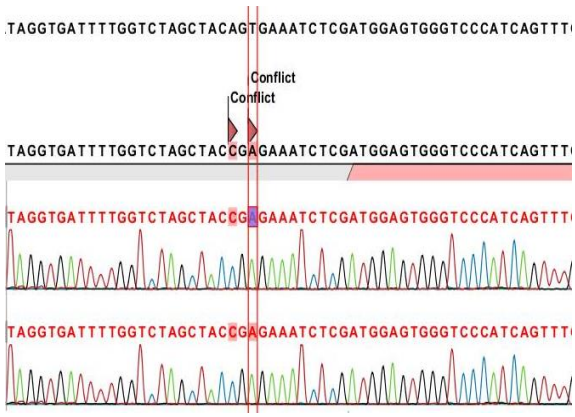
از ۴۳ نمونه مربوط به بافت پارافینه بیماران مبتلا به CRC، ۴ نمونه از نظرجهش *BRAF V600E* مثبت تشخیص داده شدند و ۵ نمونه حاشیه تومور به عنوان کنترل فاقد جهش تشخیص داده شدند. در شکل ۱ نتیجه الکتروفورز PCR ژن *BRAF* در دو نمونه جهش یافته و یک نمونه کنترل نشان داده شده است.




**شکل ۱.** الکتروفورز محصول نهایی PCR روی ژل آگارز و بررسی وضعیت جهش *BRAFV600E*.

چاهک‌های (۱، ۶) و (۴، ۸ ) مربوط به بیمارانی است که به علت دارا بودن هر دو آلل جهش یافته و طبیعی به طور همزمان (۱۴۸ جفت باز در هر دوالل) از نظر جهش *BRAF* مثبت هستند. همچنین چاهک (۳ و۷) مربوط به نمونه کنترل به علت دارا بودن فقط آلل طبیعی فاقد جهش و چاهک ۵ و ۹ مربوط به نمونه فاقد DNA است و چاهک ۲ مارکر مولکولی (۱۰۰ جفت باز) از کمپانی Thermo Fisher Scientific است.

در شکل ۲ گراف حاصل از توالی‌یابی یک نمونه بیمار مثبت جهش یافته *BRAFV600E* است که جهش تیمین به آدنین در کدون ۶۰۰ از اگزون ۱۲ مشخص شد. توالی حاضر با توالی ژن مرجع با کد NM_004333.6 مقایسه شده است.




**شکل۲.** نتایج تعیین توالی با پرایمرهای فوروارد و ریورس جهش یافته، تغییرات نوکلئوتیدی T به A (کد ژن مرجع: NM_004333.6)

در شکل ۳ گراف حاصل از توالی‌یابی یک نمونه کنترل فاقد جهش *BRAFV600E* است.

**شکل۳.** نتایج تعیین توالی با پرایمرهای فوروارد و ریورس ، فاقد تغییرات نوکلئوتیدی T به A در نمونه کنترل (کد ژن مرجع: NM_004333.6)

نتایج بررسی و ردیابی جهش *BRAF V600E* در بیماران مبتلا به CRC در جدول ۴ آمده است.

## بحث

اگرچه با پیشرفت روش‌های درمانی چون شیمی درمانی، درمان‌های هدفمند و تکنیک‌های جراحی، بقای بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال در دو دهه گذشته بهبود یافته است، اما تعداد کمی از بیماران پاسخ ضعیفی به درمان نشان می‌دهند و پیش آگهی آنان همچنان ضعیف است (۲۴). به علاوه مطالعات نشان می‌دهند که با توجه به ویژگی‌های ژنومی و مولکولی، زیرگونه‌های مولکولی مختلفی از سرطان کولورکتال وجود دارد و زیرگروه دارای جهش *BRAF*، تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای از نظر بالینی و درمانی دارند (۷). با توجه به شیوع بالای سرطان کولورکتال و اهمیت بیومارکرهای مولکولی در تشخیص و تعیین پیش آگهی بیماران و کمک به درمان هدفمند بیماری، تحقیقات متعددی توسط دانشمندان ایرانی و خارجی تا به امروز انجام گرفته است. Nan Li و همکارانش در سال ۲۰۱۷ بر روی جهش های*BRAF* مطالعاتی انجام دادند که نشان داد جهش مذکور در تعدادی از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال رخ می‌دهد که این جهش باعث پاسخ ضعیف و بقای پایین‌تری در این بیماران می‌گردد (۱۸). Garcia و همکارانش نیز در سال ۲۰۲۰ با بررسی تعدادی بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال فراوانی جهش در ژن *BRAF*

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-12-29 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.3.12.1 ]
[ DOI: 10.52547/iau.32.3.303 ]

**جدول ۴.** نتایج بررسی و ردیابی جهش *BRAF V600E* در بیماران سرطان کولورکتال

| | کل | نرمال | جهش یافته | درصد جهش | درصد افراد | P-value | Mean ±SD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تعداد افراد | ۴۳ | ۳۹ | ۴ | ۹/۳ | ۱۰۰ | - | - |
| جنسیت | | | | | | ۰/۰۱۸ | ۱۷/۵۰ ± ۷/۷۷ |
| مرد | ۲۴ | ۲۱ | ۳ | ۶/۹۸ | ۵۵/۸ | | |
| زن | ۱۹ | ۱۸ | ۱ | ۲/۳۳ | ۴۴/۲ | | |
| سن | | | | | | ۰/۱۹۳ | ۵۰/۱۷۰ ± ۰/۷۰۷ |
| ۵۰ > سال | ۱۶ | ۱۴ | ۲ | ۱۲/۵ | ۳۷/۲۱ | | |
| ۵۰ < سال | ۲۷ | ۲۵ | ۲ | ۷/۴ | ۶۲/۷۹ | | |
| درصددرگیری سلول های توموری | | | | | | ۰/۳۴۴ | ۱۷/۵۰± ۱۴/۸۵ |
| ۵۰> درصد | ۱۳ | ۱۰ | ۳ | ۲۳/۰۷ | ۳۰/۲۳ | | |
| ۵۰< درصد | ۳۰ | ۲۹ | ۱ | ۳/۳۳ | ۶۹/۷۷ | | |

را گزارش کردند (۲۴). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۱ که Grothey و همکارانش بر روی بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال انجام دادند، نشان داده شد که همانند بسیاری از بدخیمی‌ها، سرطان کولورکتال نیز یک بیماری هتروژن با زیرگونه‌هایی است که با تغییرات ژنتیکی، مشخص می‌شوند. رایج‌ترین اختلال مولکولی جهش در ژن *BRAF* با جایگزینی V600E بود که در تعدادی از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال متاستاتیک شناسایی شدند (۱۳). Lievere و همکارانش نیز به طور مشابهی در سال ۲۰۲۰ جهش *BRAF-V600E* را در برخی از بیماران مبتلا به سرطان‌های کولورکتال مشاهده کرده بودند و نشان دادند که این جهش اغلب در بیماران مبتلا به بدخیمی در قسمت کولون است و با پیش آگهی ضعیفی در مرحله موضعی یا متاستاتیک همراه است (۱۴). جهش مذکور در مطالعات مختلف در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال در رنج ۱۰-۶/۱ درصد گزارش شده است (۱۳،۱۴،۱۸،۲۴). در سرطان تیروئید، جهش‌های *BRAF* ژن‌های ریزمحیط را تنظیم می‌کنند و به طور بالقوه تهاجم تومور را افزایش می‌دهند. فراوانی جهش‌های *BRAF* در ملانوما زیاد است (۴۴ ٪) و در سرطان‌های تیروئید، کولورکتال (۲۵) و تخمدان کمتر است (به ترتیب ۸، ۶، ۵ درصد) (۲۶). در ایران نیز تحقیقاتی در رابطه با جهش‌های *BRAF* گزارش شده است. در سال ۲۰۲۱ فاطمه شیخ سفلا و همکارانش به بررسی مطالعه مقطعی برای ارزیابی جهش‌های *KRAS* و *BRAF* با روش‌های Reverse Dot Blot، PCR-RFLP و PCR اختصاصی آلل در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال پرداختند. آنها مشاهده کردند ۱۰٪ بیماران دارای ژن جهش یافته *BRAF* هستند (۲۷). در سال ۲۰۲۰ اقای یاری و همکارانش به بررسی جهش *BRAF* در سرطان کولورکتال با استفاده از داده‌های متاآنالیز پرداختند. آنها پس از بررسی مشاهده کردند جهش *BRAFV600E* که به دلیل جانشینی (c.1799T>A) رخ می‌دهد یکی از شایع‌ترین تغییرات ژنتیکی در سرطان کولورکتال است که منجر به فعال سازی مسیر MAPK می‌شود که سیگنال‌های رشد سلولی را به فعالیت رونویسی ژن‌های تنظیم کننده در چرخه سلولی تعدیل می‌کند. آنها همچنین مشاهده کردند توزیع جهش‌های *BRAF* به طور قابل توجهی در سراسر دنیا (۱٪ تا ۲۵٪) متفاوت است. در مطالعه آقای یاری شیوع جهش‌های *BRAFV600E* در افراد ایرانی ۳/۲ ٪ بود که با یافته‌های قبلی مطالعات آسیایی (۱/۱٪ تا ۴/۹٪) مطابقت داشت. متارگرسیون نشان داده است که محل مطالعه و میانگین سن احتمالاً به سطوح بالای ناهمگنی کمک می‌کند و این تفاوت‌ها در فراوانی جهش‌ها ممکن است تحت تأثیر نژاد، توزیع جغرافیایی، سبک زندگی و سایر متغیرهای مطالعه مانند میانگین سنی باشد (۲۸). از دیگر مطالعات جهش *BRAF V600E* در سرطان کولورکتال می‌توان به مطالعات صورت گرفته توسط زینلیان و همکارانش در سال ۲۰۲۱ (۲۹) و در سال‌های قبل‌تر جوادی و همکارانش در سال ۲۰۱۴ اشاره کرد (۳۰). زینلیان و همکارانش در تحقیقات خود اعلام کردند شیوع این جهش در مناطق مختلف کشور (در جنوب غرب کشور ۳۷ مورد از ۸۰ مورد (۴۶,۲٪)، در شمال غرب ایران، بدون وجود جهش در ۳۰ مورد و در جنوب ایران نیز بدون جهش از ۱۰۰ مورد) (۳۰) متفاوت است. آنها همچنین اعلام کردند اکثر تومورهای کولورکتال با *BRAF* جهش یافته، ویژگی‌های بالینی پاتولوژیک مشخصی مانند سن بالاتر در هنگام تشخیص، محل

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-12-29 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.3.12.1 ]
[ DOI: 10.52547/iau.32.3.303 ]

بیشتر سمت چپ و مرحله پاتولوژیک پیشرفته (حدود یک سوم در مراحل اولیه و دو سوم در مراحل پیشرفته) در تشخیص را نشان می‌دهند (۲۹). همان‌طور که مشاهده شد بر این اساس، جهش‌های *BRAF* می‌توانند به عنوان پیش بینی کننده پاسخ درمانی، به ویژه در CRCهای متاستاتیک استفاده شوند. جهش *BRAF V600E* نشانگر پیش آگهی در CRC است که نرخ عود بالاتر و بقای کوتاه‌تری را پیش‌بینی می‌کند (۲۹).

در این مطالعه به بررسی نمونه‌های بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال در ایران پرداخته شد. بر اساس این مطالعه از میان ۴۳ بیمار، ۴ مورد (۹/۳ ٪) جهش *BRAF V600E* مشاهده شد. از این میان ۶/۹۸٪ جهش‌ها در مردان و ۲/۳۳٪ در خانم‌ها به ثبت رسید. همان طور که در مطالعات دیگر دانشمندان مشاهده شد، هرچه مرحله پاتولوژیک پیشرفته‌تر باشد، درصد درگیری سلول‌های توموری با این جهش بیشتر می‌شود. در مطالعه حاضر نیز ۶۹/۷۷٪ از بیماران در مراحل پیشرفته بودند و تنها ۳۰/۲۳ ٪ بیماران در مراحل اولیه بیماری تشخیص داده شده بودند. همچنین مقایسه نتایج PCR با توالی یابی مطابقت ۱۰۰ درصدی را نشان داد. تشخیص به موقع پزشک و آگاهی بیمار از وجود این جهش در این سرطان حائز اهمیت است. معمولا دو سوم از بیماران در مراحل پایانی تشخیص داده می‌شوند و این تشخیص دیرهنگام، می‌تواند میزان مرگ و میر نسبتاً بالا را در بیماران ایجاد کند. بنابراین، جهت بهبود بقای بیماران با اجرای برنامه‌های غربالگری منظم، یک فرآیند ضروری مرتبط با سلامتی امری مهم است (۲۹).

ایران کشوری پهناور با اقوام مختلف است؛ پس با توجه به شیوع بالای سرطان کولورکتال و اهمیت بیومارکرهای مولکولی در تشخیص و تعیین پیش آگهی بیماران و در جهت روند درمان هدفمند بیماران کولورکتال، کاهش اثرات نامطلوب درمان و جلوگیری از اتلاف منابع، برآورد میزان دقیق کلی جهش *BRAF* در بیماران ایرانی از نظر پیش آگهی و بقاء حائز اهمیت است. همچنین مطالعات بیشتری با تعداد بیماران بیشتری از شهرهای مختلف و ارزیابی سایر جهش‌های *BRAF* برای دقیق‌تر شدن آن پیشنهاد می‌شود.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان و آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند و تمامی بیمارانی که نمونه خود را در اختیار این مطالعه قرار داده اند کمال تشکر را داریم.

## *REFERENCES*

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin 2021;71:209-49.

2. Vardanjani HM, Haghdoost A, Bagheri-Lankarani K, Hadipour M. Estimation and Projection of Prevalence of Colorectal Cancer in Iran, 2015-2020. Adv Biomed Res 2018;7:20.

3. National Cancer Registry Ireland | Essential information on cancer in Ireland [Internet]. Avaiable from: https://www.ncri.ie/ [cited 29 January 2020].

4. Maajani K, Khodadost M, Fattahi A, Shahrestanaki E, Pirouzi A, Khalili F, et al. Survival Rate of Colorectal Cancer in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis. Asian Pac J Cancer Prev 2019;20:13-21.

5. Arnold CN, Goel A, Blum HE, Boland CR. Molecular pathogenesis of colorectal cancer: implications for molecular diagnosis. Cancer 2005;104:2035-47.

6. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. Histopathology 2007;50:113-30.

7. Molina-Cerrillo J, San Román M, Pozas J, Alonso-Gordoa T, Pozas M, Conde E, et al. BRAF Mutated Colorectal Cancer: New Treatment Approaches. Cancers (Basel) 2020;12:1571.

8. Baltruškevičienė E, Mickys U, Žvirblis T, Stulpinas R, Pipirienė Želvienė T, Aleknavičius E. Significance of KRAS, NRAS, BRAF and PIK3CA mutations in metastatic colorectal cancer patients receiving Bevacizumab: a single institution experience. Acta Med Litu 2016;23:24-34.

9. Bhalla A, Zulfiqar M, Bluth MH. Molecular Diagnostics in Colorectal Carcinoma: Advances and Applications for 2018. Clin Lab Med 2018;38:311-42

10. Vacante M, Borzì AM, Basile F, Biondi A. Biomarkers in colorectal cancer: Current clinical utility and future perspectives. World J Clin Cases 2018;6:869-81.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-12-29 ]

[ DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.3.12.1 ]

[ DOI: 10.52547/iau.32.3.303 ]

11. Guo F, Gong H, Zhao H, Chen J, Zhang Y, Zhang L, et al. Mutation status and prognostic values of KRAS, NRAS, BRAF and PIK3CA in 353 Chinese colorectal cancer patients. Sci Rep 2018;8:6076.

12. Li ZN, Zhao L, Yu LF, Wei MJ. *BRAF* and *KRAS* mutations in metastatic colorectal cancer: future perspectives for personalized therapy. Gastroenterol Rep (Oxf) 2020;8:192-205.

13. Grothey A, Fakih M, Tabernero J. Management of BRAF-mutant metastatic colorectal cancer: a review of treatment options and evidence-based guidelines. Ann Oncol 2021;32:959-67.

14. Lièvre A, de la Fouchardière C, Samalin E, Benoist S, Phelip JM, André T, et al. BRAF V600E-mutant colorectal cancers: Where are we? Bull Cancer 2020;107:881-95. [In French]

15. Shahjehan F, Kamatham S, Chandrasekharan C, Kasi PM. Binimetinib, encorafenib and cetuximab (BEACON Trial) combination therapy for patients with BRAF V600E-mutant metastatic colorectal cancer. Drugs Today (Barc) 2019;55:683-693.

16. Souglakos J, Philips J, Wang R, Marwah S, Silver M, Tzardi M, et al. Prognostic and predictive value of common mutations for treatment response and survival in patients with metastatic colorectal cancer. Br J Cancer 2009; 101:465-72.

17. Ducreux M, Chamseddine A, Laurent-Puig P, Smolenschi C, Hollebecque A, Dartigues P, et al. Molecular targeted therapy of *BRAF*-mutant colorectal cancer. Ther Adv Med Oncol 2019;11:1758835919856494.

18. Sanz-Garcia E, Argiles G, Elez E, Tabernero J. BRAF mutant colorectal cancer: prognosis, treatment, and new perspectives. Ann Oncol 2017;28:2648-57.

19. Poopak B, Rastan H, Rabieipoor S, Safari N, Madani Esfahani T, Jahangirpoor MA, et al . Evaluating The Diagnostic Value Of Braf – V600e Mutation Detection In Iranian Patients With Hairy Cell Leukemia. Studies in Medical Sciences 2016; 26 :881-88.

20. Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, Grody W, Cushman-Vokoun AM, Funkhouser WK, et al. Molecular biomarkers for the evaluation of colorectal cancer. Am J Clin Pathol 2017;147:221-260.

21. Bartley AN, Hamilton SR, Alsabeh R, Ambinder EP, Berman M, Collins E, et al. Template for reporting results of biomarker testing of specimens from patients with carcinoma of the colon and rectum. Arch Pathol Lab Med 2014;138:166-70.

22. Bartley AN, Hamilton SR, Alsabeh R, Ambinder EP, Berman M, Collins E, et al. Members of the Cancer Biomarker Reporting Workgroup, College of American Pathologists. Template for reporting results of biomarker testing of specimens from patients with carcinoma of the colon and rectum. Arch Pathol Lab Med 2014;138:166-70.

23. Baskovich BW, Schneider F, Baras A, Birdsong GG, Fitzgibbons PL, Khoury JD, et al. Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Non-Small Cell Carcinoma of the Lung. USA: College of American Pathologists (CAP); 2021.

24. Garcia-Carbonero N, Martinez-Useros J, Li W, Orta A, Perez N, Carames C, et al. *KRAS* and *BRAF* Mutations as Prognostic and Predictive Biomarkers for Standard Chemotherapy Response in Metastatic Colorectal Cancer: A Single Institutional Study. Cells 2020;9:219.

25. Kopetz S, Grothey A, Yaeger R, Van Cutsem E, Desai J, Yoshino T, et al. Encorafenib, Binimetinib, and Cetuximab in *BRAF* V600E-Mutated Colorectal Cancer. N Engl J Med 2019;381:1632-43.

26. Janku F, Lee JJ, Tsimberidou AM, Hong DS, Naing A, Falchook GS, et al. PIK3CA mutations frequently coexist with RAS and BRAF mutations in patients with advanced cancers. PLoS One 2011;6:e22769.

27. Sheikhsofla F, Poopak B, Firuzyar S, Roudbari F, Ghadiany M. A Cross-Sectional Study for Evaluation of KRAS and BRAF Mutations by Reverse Dot Blot, PCR-RFLP, and Allele-Specific PCR Methods Among Patients with Colorectal Cancer. Avicenna J Med Biotechnol 2021;13:183-91.

28. Yari A, Afzali A, Aalipour M, Nakheai M, Zahedi MJ. KRAS and BRAF mutations in Iranian colorectal cancer patients: A systematic review and meta-analysis. Caspian J Intern Med 2020;11:355-69.

29. Zeinalian M, Emami MH, Pourreza MR, Tabatabaiefar MA, Hashemzadeh-Chaleshtori, M. Somatic BRAF V600E Mutation in Familial Colorectal Cancer Type X: A New Study in Central Iran. Jentashapir Journal of Cellular and Molecular Biology 2021;12: 183-91.

30. Javadi F, Geramizadeh B, Mirzai M. BRAF gene mutation analysis in colorectal cancer in south of Iran. Iranian Journal of Colorectal Research 2014; 2: 22-27.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-12-29 ]

[ DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.3.12.1 ]

[ DOI: 10.52547/iau.32.3.303 ]