

Relationship between C3435T MDR1 Gene Polymorphism and Treatment Response in Breast Cancer Patients

Akbar Hedayatizadeh-Omran¹,
Reza Alizadeh-Navaei¹,
Ghasem Janbabaie²,
Omolbanin Amjadi³,
Nasim Babaei⁴,
Ghasem Rahmatpour Rokni⁵,
Gholamali Godazandeh⁶

¹ Assistant Professor, Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Associate Professor, Department of Hematology and Oncology, Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ MSc in Molecular and Cell biology, Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Medical Student, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Dermatology, Dermatology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁶ Associate Professor, Department of Surgery, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received August 1, 2018 Accepted December 19, 2018)

Abstract

Background and purpose: Breast cancer is the most common cancer in women. Most recently C3435T polymorphism of MDR1 gene is considered as one of the major causes of drug resistance in treatment of this disease. This study was conducted to investigate the relationship between C3435T MDR1 gene polymorphism and treatment response in breast cancer patients.

Materials and methods: In this longitudinal study, blood samples were collected from all cases and gene polymorphism was performed by PCR-RFLP method. Then, all patients underwent chemotherapy and patient response to treatment was evaluated. They were divided into two categories according to clinical response to treatment and lack of treatment response.

Results: This research included 152 women (mean age: 49.84±10.95 years) with breast cancer. The genotype found more frequently was CT (49.2%). Among the patients, 74.3% responded to treatments and in 25.7% there was no response to treatment. We found no significant differences between different genotypes in response to treatment (P=0.485).

Conclusion: There was no direct relationship between the response of breast cancer to treatment and C3435T polymorphism of MDR1 gene.

Keywords: breast cancer, MDR1 gene, gene polymorphism, C3435T

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 28 (169): 98-107 (Persian).

ارتباط پلی مورفیسم C3435T ژن MDR1 با پاسخ به درمان در
بیماران سرطان پستاناکبر هدایتی زاده عمران^۱رضا علیزاده نوایی^۱قاسم جان بابایی^۲ام البنین امجدی^۳نسیم بابایی^۴قاسم رحمت پور رکنی^۵غلامعلی گدازنده^۶

چکیده

سابقه و هدف: سرطان سینه شایع ترین سرطان زنان و دومین عامل مرگ و میر زنان به علت سرطان می باشد. یکی از علت های مطرح شده در خصوص مقاومت دارویی در درمان بیماری سرطان پستان، پلی مورفیسم C3435T ژن MDR1 می باشد. این مطالعه با هدف تعیین ارتباط این پلی مورفیسم با پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به سرطان پستان در استان مازندران انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه طولی ابتدا DNA ژنومیک افراد بیمار، با استفاده از روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. سپس بیماران طبق پروتکل شیمی درمانی تحت درمان قرار گرفتند و پاسخ بیماران به درمان طبق پروتکل درمانی ارزیابی شد و بیماران به ۲ دسته پاسخ بالینی به درمان و عدم پاسخ به درمان تقسیم شدند.

یافته ها: در این مطالعه ۱۵۲ زن مبتلا به سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفتند که میانگین سنی آن ها ۴۹/۸۴±۱۰/۹۵ سال بود. بیش ترین ژنوتیپ مشاهده شده، ژنوتیپ CT (۴۹/۲ درصد) بود. ۷۴/۳ درصد بیماران به درمان های انجام شده پاسخ داده بودند و در ۲۵/۷ درصد، پاسخ مشاهده نشد. در نهایت اختلاف معنی داری در پاسخ به درمان در ژنوتیپ های مختلف مشاهده نشد (p=۰/۴۸۵).

استنتاج: بین پاسخ به درمان سرطان سینه و پلی مورفیسم C3435T ژن MDR1، ارتباط مستقیمی وجود نداشت.

واژه های کلیدی: سرطان پستان، ژن MDR1، پلی مورفیسم ژنی، C3435T

مقدمه

سرطان پستان شایع ترین سرطان زنان و پس از سرطان ریه، دومین عامل مرگ و میر زنان به علت سرطان می باشد (۴،۳). این سرطان یک سوم از همه سرطان ها را

در جهان امروز بیش از ۲۰ میلیون نفر، از بیماری سرطان رنج می برند و در اکثر کشورها این بیماری دومین علت مرگ پس از حوادث قلبی عروقی محسوب می شود (۲،۱).

E-mail: reza_nava@yahoo.com

مؤلف مسئول: رضا علیزاده نوایی - ساری: میدان معلم، معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۱. استادیار، مرکز تحقیقات سرطان دستگاه گوارش، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشیار، گروه خونشناسی-آنکولوژی، مرکز تحقیقات سرطان گوارش، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. کارشناس ارشد بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات سرطان گوارش، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. استادیار، گروه درماتولوژی، مرکز تحقیقات پوست، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۶. دانشیار، گروه جراحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

* تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۶/۱۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۹/۲۸

در زنان تشکیل می‌دهد. این آمار در نژادهای مختلف متفاوت می‌باشد (۵، ۶). واضح‌ترین عامل خطر برای سرطان پستان جنس است (۷). قاعدگی زودرس و یائسگی دیررس نیز از جمله عوامل خطر می‌باشند (۵).

تماس با اشعه سبب تغییرات احتمالی سلول‌های پستان شده و احتمال بدخیم شدن این سلول‌ها را دوبرابر می‌کند. مصرف سیگار می‌تواند خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش دهد، به طوری که مصرف سیگار بیش‌تر و سن پایین‌تر شروع استفاده از سیگار رابطه مستقیم با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان دارد (۵، ۹، ۸). از مشکلات درمان بیماران مبتلا به سرطان پستان، مقاومت دارویی است به طوری که این بیماران نسبت به داروهای مختلف که مکانیسم‌های اثر متفاوتی دارند مقاوم شده و تقریباً تمامی بیماران پس از یک دوره درمان موفق، به تعداد زیادی از داروها مقاوم می‌شوند (۱۰، ۱۱). بروز مقاومت در سلول‌های سرطان پستان، برآیند عوامل مختلفی از جمله کارسینوژن‌های محیطی، عوامل مربوط به میزبان چون کینتیک، محصولات ثانویه و سرعت متابولیسم دارو در بدن بیمار و در نهایت مکانیسم‌های مولکولی درون سلولی دخیل در رشد و تکثیر سلول بوده و آبشارهای متعدد پیام‌رسانی رشد و تکثیر سلولی، مولکول‌های تنظیم‌کننده چرخه سلولی و در نهایت ژن‌های متأثر از مسیرهای رشد سیتوزولی و هسته‌ای از جمله مهم‌ترین عوامل هستند که می‌توانند در بروز پدیده مقاومت ایفای نقش کنند (۵، ۱۲). در این راستا مقاومت دارویی چندگانه (MDR)^۱ یکی از مهم‌ترین علل عود بیماری و دلیل عمده ناکارآمدی شیمی‌درمانی در سرطان است و مکانیسم‌های متفاوتی با MDR در ارتباط بوده که از آن جمله می‌توان به مواردی مانند: تغییر در نقاط بازرسی چرخه سلولی، جهش‌ها، ناکارآمدی مکانیسم‌های آپوپتوتیک، ترمیم سلول‌های آسیب دیده، پیام‌های بقای سلولی، پاسخ سلولی به استرس‌ها، تغییر غلظت آهن داخل سلولی و کاهش تجمع داروها اشاره

کرد (۱۳، ۱۴). در بین جهش‌ها امروزه آن‌چه که به عنوان یک عامل موثر در این مقاومت معرفی می‌شود، بروز پلی‌مورفیسم در ژن MDR1 می‌باشد. این ژن یک گلیکوپروتئین را بنام P-gp در سطح غشاء سلول رمزدهی می‌کند که در خروج مواد سمی از سلول و محافظت سلولی نقش دارد (۱۵). ژن MDR1 بر روی کروموزوم ۷ (7q21.12) قرار داشته و پلی‌مورفیسم C3435T در آگزون ۲۶ این ژن می‌تواند بر روی بیان ژن و کارکرد آن اثر گذاشته و در مقاومت دارویی نقش داشته باشد (۱۰). پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) در ژن MDR1 یکی از عواملی است که سبب تغییر عملکرد P-گلیکوپروتئین می‌شود و اولین بار این ارتباط توسط Hoffmeyer کشف شد (۱۶). تاکنون بیش از ۵۰ پلی‌مورفیسم نوکلئوتیدی در نواحی آگزون و اینترون این ژن شناسایی شده است (۱۷). از میان تمامی پلی‌مورفیسم‌های این ژن، پلی‌مورفیسم C3435T (rs1045642) در آگزون ۲۶ از اهمیت بیش‌تری برخوردار است (۱۸) که بر بیان و عملکرد ژن MDR1 تأثیر می‌گذارد (۱۹). افراد دارای ژنوتیپ TT یا CT با کاهش بیان و عملکرد P-گلیکوپروتئین در روده همراه می‌باشند که سبب دفع کم‌تر سوبستراهای ژن MDR1 از روده و افزایش غلظت سوبستراها در داخل سلول‌های اپی‌تلیال روده و پلاسما می‌شوند (۲۰، ۲۱). پلی‌مورفیسم C3435T یکی از مهم‌ترین پلی‌مورفیسم‌های نوکلئوتیدی است که نقش آن در تغییر فراهمی زیستی و مقاومت‌های دارویی مورد شناسایی قرار گرفته (۲۲، ۲۳) و در بسیاری از جمعیت‌های مختلف این ارتباط بررسی شده است (۲۴). با توجه به تأثیر تغییرات ژنتیکی، نژادی و جغرافیایی در زمینه سرطان (۲۵) و از آنجایی که مطالعات محدودی در این زمینه در شمال کشور انجام شده، این مطالعه با هدف تعیین ارتباط پلی‌مورفیسم C3435T ژن MDR1 با پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به سرطان پستان مراجعه‌کننده به کلینیک طبوبی (بزرگترین مرکز آکادمیک ریفرال استان مازندران) انجام شده است.

1. MDR: Multi Drug Resistance

مواد و روش ها

این مطالعه طولی بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان انجام شد. مبتلایان به کانسر پستان، بیماران مراجعه کننده به کلینیک طوبی (بزرگ ترین مرکز ریفرال فوق تخصصی استان مازندران) بودند که بیماری سرطان پستان در آن‌ها توسط پزشک فوق تخصص و با استفاده از تست‌های بالینی و یافته‌های پاتولوژی تایید شده بود. جهت بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن *MDR1* در پاسخ به درمان بیماران سرطان پستان، بیماران سرطانی به مدت حداقل ۱۸ ماه از ابتدای سال ۱۳۹۴ توسط انکولوژیست تحت پیگیری قرار گرفته و پاسخ به درمان آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس رفرنس‌های انکولوژی، بیمارانی که متاستاز به سایر قسمت‌های بدن، یا درگیری لوکال جدید و یا عود بیماری در آن‌ها ایجاد شده بود و یا بیمارانی که تحت جراحی کامل پستان قرار گرفته بودند و عود درگیری پستان سمت مقابل داشته و نیز در بیمارانی که تحت جراحی کامل قرار نگرفته بودند، عود و درگیری لوکال همان پستان و یا درگیری پستان مقابل در ماموگرافی داشته اند، به عنوان معیارهای عدم پاسخ در نظر گرفته شدند و سایر بیماران، به عنوان پاسخ مثبت به درمان در نظر گرفته شدند (۵). در این مطالعه از افراد مورد بررسی، حدود ۵ سی‌سی خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شد. نمونه‌های خون به آزمایشگاه مرکز جامع سرطان واقع در بیمارستان امام خمینی (ره) ساری منتقل و در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد. سپس استخراج DNA ژنومی (با استفاده از روش ستونی استخراج DNA و کیت دنازیست) انجام و کیفیت DNA با استفاده از بارگیری نمونه‌ها بر روی ژل الکتروفورز آگارز با مشاهده تک باند مربوطه و بررسی جذب‌های OD260/280 و هم چنین جذب OD260/230 از طریق اسپکتروفتومتری تایید شد. در این مطالعه یک جفت پرایمر الیگونوکلئوتیدی مطابق جدول شماره ۱ الیگونوکلئوتیدی طراحی و اختصاصیت آن در بانک اطلاعاتی NCBI تأیید شد.

جدول شماره ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

PCR product size	Primers sequence (5'→3')	rs name	Position	SNP
207 bp	TTGATGGCAAAGAAATAAAGC CTTACATTAGGCAGTGACTCG	rs1045642	87509329	C3435T

جهت تکثیر قطعه مورد نظر حدود ۲۰۰ نانوگرم از DNAهای استخراج شده، به همراه پرایمرها، DNA و آب عاری از نوکلئاز قرار گرفتند و تکثیر با استفاده از تکنیک RFLP-PCR بر اساس جدول شماره ۲ و با دمای اتصال ۵۶ درجه سانتیگراد انجام شد و سپس محصولات حاصل از تکثیر PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بارگذاری (تصویر شماره ۱) و پس از اطمینان از انجام PCR، محصولات تکثیر شده مورد هضم آنزیمی با آنزیم محدود کننده *MboI* قرار گرفت. برای انجام RFLP جهت هضم آنزیمی محصول تکثیری ۲۰۷ جفت بازی مورد نظر در ژن *MDR1*، از آنزیم محدود کننده *MboI* شرکت فرمنتاز (Thermo Scientific، لیتوانی) با کد #ER0811 و Lot:00424169 استفاده شد. مخلوط واکنش جهت هضم آنزیمی شامل ۰/۱ میکرولیتر آنزیم محدود کننده *MboI*، ۲ میکرولیتر بافر آنزیم، ۸ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز و ۱۰ میکرولیتر محصول PCR بود. مخلوط به دست آمده به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. جایگاه شناسایی و برش این آنزیم یک توالی ۴ جفت بازی (5'-GATC-3') می‌باشد. در افراد هموزیگوت Wild type با ژنوتایپ CC به دلیل وجود آلل C و جایگاه شناسایی آنزیم در قطعه تکثیری ۲۰۷ جفت بازی، محصول PCR شکسته شده و دو قطعه ۱۴۵ و ۶۲ جفت بازی ایجاد می‌شود. عدم وجود آلل C و حضور آلل T جایگاه شناسایی و برش آنزیم را از بین می‌برد؛ بنابراین آنزیم تاثیری در این قطعه نخواهد داشت و همان محصول ۲۰۷ جفت بازی در نمونه‌های هموزیگوت موتانت TT در ژل قابل رویت است. در صورت وجود هر دو آلل (فرد هتروزیگوت) سه باند ۱۴۵، ۶۲ و ۲۰۷ جفت بازی مربوط به رشته برش خورده و رشته برش نخورده در ژل الکتروفورز قابل مشاهده خواهد بود. در مرحله بعد محصولات حاصل از هضم

(Triple negative) بودند. اندازه تومور قبل از شروع درمان نیز در ۴۷/۷ درصد افراد، کم تر از ۳۰mm بود.

در جدول شماره ۴ فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسم C3435T ژن MDR1 بر اساس سن نشان داده شده است که براساس آن، در افراد زیر ۵۹ سال، بیش ترین ژنوتیپ مشاهده شده، CT بود و کمترین ژنوتیپ، CC بود، در حالی که در افراد ۶۰ سال و بالاتر، ژنوتیپ CC بیش از سایر ژنوتیپ ها بود.

جدول شماره ۳: مشخصات بالینی و پاتولوژیک بیماران مبتلا به سرطان سینه

فراوانی		متغیر	تعداد (نفر)	درصد
تعداد	درصد			
۷۱/۷	۱۰۹	داکتال		
۱۵/۸	۲۴	لوبولار		
۱۲/۵	۱۹	سایر موارد		
۴۸	۷۳	بله		
۲۱/۱	۳۲	خیر		
۳۰/۹	۴۷	نامشخص		
۴۴/۱	۶۷	بله		
۲۵	۳۸	خیر		
۳۰/۹	۴۷	نامشخص		
۴۷/۴	۷۲	۳۰ و کمتر		
۱۷/۸	۲۷	۳۱-۴۰		
۶/۵	۱۰	۴۱-۴۹	اندازه تومور قبل از شروع درمان (mm)	
۱۰/۵	۱۶	۵۰ و بیشتر		
۱۷/۸	۲۷	نامشخص		
۵۲/۶	۸۰	مثبت		
۱۹/۷	۳۰	منفی	مارکر Her2/neu	
۲۷/۶	۴۲	نامشخص		
۶۱/۲	۹۳	مثبت		
۰	۰	منفی	مارکر Ki-67	
۳۸/۸	۵۹	نامشخص		

جدول شماره ۵ پاسخ به درمان در ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم C3435T ژن MDR1 را نشان می دهد. در مجموع از بین ۱۵۲ بیمار مورد بررسی، ۱۰۸ بیمار (۷۱/۱ درصد) به درمان های انجام شده پاسخ داده بودند و در ۴۴ بیمار (۲۸/۹ درصد)، پاسخ مشاهده نشد.

آنزیمی بر روی ژل آگارز ۳ درصد (تصویر شماره ۲) بارگذاری شد و در میدان الکتریکی با ولتاژ ۵۰ ولت به مدت ۵۰ دقیقه قرار گرفت.

جدول شماره ۲: برنامه PCR با پرایمرهای MDR1 با دمای اتصال ۵۶ درجه سانتیگراد

Cycle number	Time	Temperature (°C)	Stages
۱	۵ min	۹۴	Initial denaturation
	۳۰ s	۹۴	Denaturation
۴۰	۳۰ s	۵۶	Annealing
	۳۰ s	۷۲	Elongation
۱	۵ min	۷۲	Final elongation

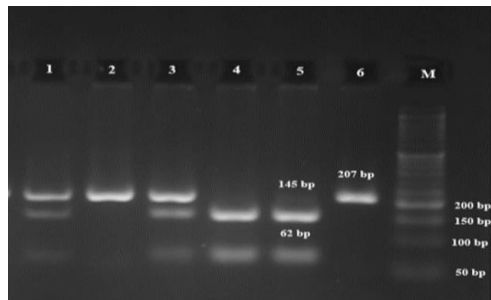
داده های جمع آوری شده توسط نسخه ۱۹ نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. رابطه فراوانی ژنوتیپی و پاسخ به درمان از طریق آزمون مربع کای محاسبه شد. به منظور بررسی تاثیر سن افراد در پاسخ درمانی بر حسب ژنوتیپ از رگرسیون لجستیک استفاده شد. مقادیر p کم تر از ۰/۰۵ به عنوان معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه ۱۵۲ زن مبتلا به سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفتند میانگین سنی زنان مبتلا به سرطان سینه، ۴۹/۸۴±۱۰/۹۵ سال بود. جدول شماره ۳ مشخصات بالینی و پاتولوژیک بیماران مبتلا به سرطان سینه را نشان می دهد که براساس آن، سرطان در ۷۱/۷ درصد بیماران از نوع داکتال و ۱۵/۸ درصد از نوع لوبولار بود، ۴۸ درصد گیرنده استروژن و ۴۴/۱ درصد گیرنده پروژسترون داشتند. از ۹۵ بیماری که هر سه مارکر استروژن، پروژسترون و HER2 در آن ها ارزیابی شده بود ۸ مورد (۸/۴ درصد) فاکتور سه گانه منفی

جدول شماره ۴: مقایسه فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسم C3435T ژن MDR1 براساس سن

سطح معنی داری	کل	گروه سنی						ژنوتیپ	گروه
		۶۰ سال و بالاتر		۵۱-۵۹ سال		۵۰ سال و کمتر			
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد		
	۲۷/۶	۴۲	۳۰/۳	۱۰	۳۳/۳	۱۵	۲۳	۱۷	TT
	۴۸/۷	۷۴	۳۰/۳	۱۰	۴۴/۴	۲۰	۵۹/۵	۴۴	CT
۰/۰۳۹	۲۳/۷	۳۶	۳۹/۴	۱۳	۲۲/۲	۱۰	۱۷/۶	۱۳	CC
	۱۰۰	۱۵۲	۱۰۰	۳۳	۱۰۰	۴۵	۱۰۰	۷۴	مجموع



تصویر شماره ۲: نتایج RFLP و قطعات حاصل از هضم آنزیمی با آنزیم *MboI* بر روی ژل آگارز ۳ درصد، چاهک M (50 bp) Ladder؛ چاهک های ۱ و ۳ نمونه های هتروزیگوت با ژنوتایپ CT، چاهک های ۲ و ۶ نمونه های هموزیگوت با ژنوتایپ TT و چاهک های ۴ و ۵ نمونه های هموزیگوت با ژنوتایپ CC

بحث

براساس نتایج مطالعه حاضر، در مجموع از بین بیماران مورد بررسی، ۷۱ درصد به درمان های انجام شده پاسخ داده بودند و در ۲۹ درصد بیماران، پاسخ درمانی مشاهده نشد و در نهایت براساس محاسبات آماری انجام شده، اختلاف معنی داری در پاسخ به درمان در ژنوتیپ های مختلف مشاهده نشد.

در مطالعه Chang و همکاران در کره، با تحقیق بر روی بیماران مبتلا به سرطان سینه دریافتند که میان پلی مورفیسم C3435T و پاسخ به درمان ارتباط معنی داری وجود ندارد (۲۶).

همچنین در مطالعه Rodrigues در برزیل نیز، بین پاسخ بالینی و این پلی مورفیسم ارتباطی یافت نشد (۲۷). که هر دوی این مطالعات با مطالعه حاضر همسو بودند. در مطالعه طاهری و همکاران در تهران، بین پلی مورفیسم C3435T ژن *MDR1* با پاسخ به درمان ارتباطی وجود نداشت و این مطالعه بیان کرد که نقش این پلی مورفیسم در بیان ژن *MDR1* در سرطان سینه مورد سوال می باشد این در حالی است که در مطالعه Thabet و همکاران در مصر، ژنوتیپ CC به شکل معناداری با بقای کلی کمتری همراه بود (۲۹).

در مطالعه Buda و همکاران در ایتالیا نیز، بقای عمر ژنوتیپ های CC در مقایسه با سایر ژنوتیپ به شکل

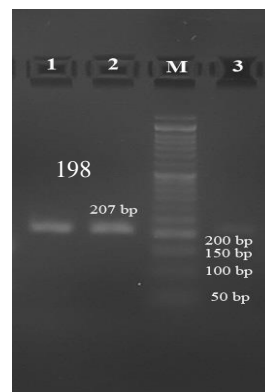
جدول شماره ۵: مقایسه پاسخ به درمان در ژنوتیپ های مختلف پلی

مورفیسم *MDR1* ژن C3435T

ژنوتیپ	پاسخ به درمان			
	بله		خیر	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
TT	۳۲	۷۶/۲	۱۰	۲۳/۸
CT	۵۳	۷۱/۶	۲۱	۲۸/۴
CC	۲۳	۶۳/۹	۱۳	۳۶/۱
مجموع	۱۰۸	۱۰۰	۴۴	۱۰۰

در نهایت براساس محاسبات آماری انجام شده، اختلاف معنی داری در پاسخ به درمان در ژنوتیپ های مختلف مشاهده نشد ($p=0/485$)، با این حال فراوانی پاسخ به درمان، در ژنوتیپ CC نسبت به ژنوتیپ های دیگر کم تر بود. با استفاده از رگرسیون لجستیک پاسخ درمانی برای ژنوتیپ TT/CT در مقایسه با ژنوتیپ CC در گروه سنی ۵۱ تا ۵۹ سال ۱/۶۶ برابر ($CI95\%=0/71-3/85$) و در گروه سنی بالای ۶۰ سال ۱/۴۵ برابر ($CI95\%=0/55-3/8$) گروه سنی زیر ۵۰ سال بود که این ارتباط از نظر آماری معنی دار نبود (به ترتیب $P=0/237$ و $p=0/451$ برای گروه سنی ۵۱ تا ۵۹ سال و بالای ۶۰ سال در مقایسه با زیر ۵۰ سال).

تصاویر شماره ۱ و ۲ نتایج محصولات حاصل از تکثیر PCR ژن *MDR1* را بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بارگذاری (تصویر شماره ۱) و هضم آنزیمی آنزیم محدود کننده *MboI* بر روی ژل آگارز ۳ درصد (تصویر شماره ۲) را نشان می دهد.



تصویر شماره ۱: الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد؛ چاهک M (Ladder: 50 bp)، چاهک ۱، ۲ و ۳: محصول PCR با اندازه ۲۰۷ جفت باز

پلی مورفیسم C3435T با افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه همراه نیست (۳۴). بنابراین به نظر می‌رسد که این ارتباط ممکن است در برخی از جوامع معنی‌دار شود. ممکن است تفاوت‌های نژادی و ژنتیکی بین این جوامع در این امر دخیل باشد و یا این که مسائل پیچیده‌تری به خصوص در سرطان سینه مطرح باشند که نیازمند مطالعات بیش‌تری است، زیرا ارتباط این پلی مورفیسم با ابتلا به سایر انواع سرطان‌ها نیز همچنان نامشخص می‌باشد (۳۵). از محدودیت‌های مطالعه حاضر، می‌توان به کوتاه بودن مدت پیگیری اشاره نمود که با افزایش مدت پیگیری می‌توان اثرات طولانی مدت را نیز مشخص کرد.

به عنوان نتیجه‌گیری از این مطالعات چنین برداشت می‌شود که ارتباط بین پلی مورفیسم ژن *MDR1* و پاسخ به درمان بیماران سرطان سینه، در برخی مطالعات رد شده و در برخی دیگر به اشکال گوناگونی نشان داده شده است، حال آن که در مطالعه حاضر نیز این ارتباط برقرار نشد. بنابراین توصیه می‌شود که در مطالعات آینده، بررسی‌های بیش‌تر با در نظر گرفتن سایر جنبه‌های موثر، صورت گیرد. در نهایت توصیه می‌شود که مطالعاتی در حجم نمونه و جمعیت بزرگ‌تر انجام شود. طراحی مطالعات و کارآزمایی‌های بالینی مشتمل بر داروهایی که سوبسترای *P-گلیکوپروتئین* هستند، با رویکرد تعیین ژنوتیپ در ناحیه 3435 ژن *MDR1* و اندازه‌گیری غلظت سرمی داروی مورد نظر و ارزیابی اثر بخشی بالینی و عوارض آن می‌تواند در افزایش موفقیت‌های درمانی، کاهش عوارض و در نهایت کاهش هزینه‌های درمانی، دستاوردهای قابل توجهی را به همراه داشته باشد.

معنی‌داری کم‌تر بود (۳۰). البته در مطالعه حاضر نیز فراوانی پاسخ به درمان، در ژنوتیپ *CC* نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر کم‌تر بود. با این حال نتایج مطالعات دیگر نیز با این مطالعات متناقض می‌باشد، به گونه‌ای که در مطالعه *Cizmarikova* و همکاران در اسلواکی، در نهایت بهبود قابل توجه درمانی در ژنوتیپ *CC* مشاهده شد (۳۱). هم‌چنین در مطالعه *Li* و همکاران در چین بیان شد که بیماران دارای ژنوتیپ *CC*، پاسخ به درمان بهتری دارند (۳۲). در مطالعه *Kafka* و همکاران در آلمان نیز نتیجه دیگری رقم خورد و بیان شد که بین ژنوتیپ *TT* در پلی مورفیسم C3435T و پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به سرطان سینه، ارتباط آماری معنی‌داری وجود دارد و این ژنوتیپ پاسخ بهتری ارائه می‌کند. این مطالعه بیان کرد که پلی مورفیسم C3435T ژن *MDR-1* ممکن است تاثیرات مستقیمی بر روی مقاومت شیمیایی درمانی ایجاد کرده و می‌تواند اطلاعات مفیدی را برای فردی شدن درمان فراهم کند (۳۳). براساس نتایج مطالعه حاضر، بیش‌ترین ژنوتیپ مشاهده شده پلی مورفیسم‌های مختلف C3435T، ژنوتیپ *CT* با میزان ۴۹ درصد در زنان مبتلا به سرطان بودند. در مطالعه طاهری و همکاران در تهران نیز، بیش‌ترین ژنوتیپ مشاهده شده در بیماران، ژنوتیپ *CT* (۵۶ درصد) و سپس *TT* و *CC* بود (۲۸) که مشابه مطالعه حاضر بود. هم‌چنین در مطالعه *Thabet* و همکاران در مصر (۲۹) و مطالعه *Rodrigues* و همکاران در برزیل (۲۷) نیز، همانند این مطالعه بیش‌ترین ژنوتیپ مشاهده شده *CT* بود اما در مطالعه *Tazzite* و همکاران در مراکش، ژنوتیپ *CC* بیش‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها مشاهده شد (۵۰ درصد). این مطالعه بیان کرد که

References

- Omar SA, Khatib OMN. Cancer magnitude, Challenges and Control in the Eastern Mediterranean region. *East Mediterr Health J* 2007; 13(6): 1486-1496.
- Janbabaei G, Hedayatizadeh-Omran A, Alizadeh-Navaei R, Moradi S, Omrani-Nava V, Rashidi Alashti M, et al. An epidemiological study of patients with breast cancer in Northern Iran, between 2006 and 2015. *WCRJ* 2016; 3(4): e803.

3. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast Cancer Statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2014; 64(1): 52-62.
4. Haghghi F, Mohamadifard M, Naseh GH, Hashem K, Saadatjoo SA. Prevalence of breast cancer among women over 30 years in Birjand between 2009 and 2010. *J Birjand Univ Med Sci* 2013; 20(1): 68-76.(Persian).
5. Kasper D, Fauci A, Hauser SL, Longo D, Jameson JL, Loscalzo J. *Harrison's principles of internal medicine*. 19th ed. New York: McGraw-Hill; 2015.
6. Oeffinger KC, Fontham ET, Etzioni R, Herzig A, Michaelson JS, Shih YC. Breast cancer screening for women at average risk: 2015 guideline update from the American Cancer Society. *JAMA* 2015; 314(15): 1599-1614.
7. Lacroix M. Significance, detection and markers of disseminated breast cancer cells. *Endocr Relat Cancer* 2006; 13(4): 1033-1067.
8. Hassey Dow K. *Pocket guide to breast cancer*. 3rd ed. Burlington, Massachusetts: Jones and Bartlet Learning; 2006.
9. American Institute for Cancer Prevention, Policy and Action for Cancer Prevention. World Cancer Research Fund, <http://www.dietandcancerreport.org>, 2014.
10. Taheri M, MahJoubi F, Omranipour R, Fereidini F. Investigation of C3435T Polymorphism in *MDR1* Gene of Breast Cancer Patients. *Zahedan J Res Med Sci* 2009; 11(3): 9-15 (Persian).
11. Burger H, Foekens JA, Look MP, Meijer-van Gelder ME, Klijn JG, Wiemer EA, et al. RNA Expression of breast cancer resistance protein, lung resistance-related protein, multidrug resistance-associated proteins 1 and 2, and multidrug resistance gene 1 in breast cancer: correlation with chemotherapeutic response. *Clin Cancer Res* 2003; 9(2): 827-836.
12. Velaga R, Sugimoto M. Future Paradigm of Breast Cancer Resistance and Treatment, in *Resistance to Targeted Therapies in Breast Cancer*. 2017; Springer. 155-178.
13. Swerts K, De Moerloose B, Dhooge C, Laureys G, Benoit Y, Philippé J. Prognostic significance of multidrug resistance-related proteins in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Cancer* 2006; 42(3): 295-309.
14. Bakos E, Homolya L. Portrait of multifaceted transporter, the multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1/ABCC1). *Pflügers Arch* 2007; 453(5): 621-641.
15. van der Deen M, de Vries EG, Timens W, Scheper RJ, Timmer-Bosscha H, Postma DS. ATP-binding cassette (ABC) transporters in normal and; pathological lung. *Respir Res* 2005; 6: 59.
16. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, Johné A. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(7): 3473-3478.
17. Saito S, Iida A, Sekine A, Miura Y, Ogawa C, Kawauchi S. Three hundred twenty-six genetic variations in genes encoding nine members of ATP-binding cassette, subfamily B (ABCB/*MDR*/TAP), in the Japanese population. *Journal of Human Genetics* 2002. 47(1): p. 38-50.
18. Taheri M, Mahjoubi F, Omranipour R. Effect of *MDR1* polymorphism on multidrug resistance expression in breast cancer patients. *J Hum Genet* 2002; 47(1): 38-50.
19. Dong Q, Xu B, Tan Y, Liu Z, Tian L, Zhang B, et al. The genetic variability of *MDR1*

- C3435T polymorphisms in four Southern Chinese populations. *Biomed Pharmacother* 2009; 63(9): 658-662.
20. Saitoh A, Singh KK, Powell CA, Fenton T, Fletcher CV, Brundage R, et al. An *MDR1*-3435 variant is associated with higher plasma nelfinavir levels and more rapid virologic response in HIV-1 infected children. *Aids* 2005; 19(4): 371-380.
 21. Komoto C, Nakamura T, Sakaeda T, Kroetz DL, Yamada T, Omatsu H, et al. *MDR1* haplotype frequencies in Japanese and Caucasian, and in Japanese patients with colorectal cancer and esophageal cancer. *Drug Metab Pharmacokinet* 2006; 21(2): 126-132.
 22. Turgut S, Turgut G, Atalay EO. Genotype and allele frequency of human multidrug resistance (*MDR1*) gene C3435T polymorphism in Denizli province of Turkey. *Mol Biol Rep* 2006; 33(4): 295-300.
 23. Morita N, Yasumori T, Nakayama K. Human *MDR1* polymorphism: G2677T/A and C3435T have no effect on *MDR1* transport activities. *Biochem Pharmacol* 2003; 65(11): 1843-1852.
 24. Sakaeda T. *MDR1* genotype-related pharmacokinetics: fact or fiction? *Drug Metab Pharmacokinet* 2005; 20(6): 391-414.
 25. Hedayatzadeh-Omran A, Rafiei A, Alizadeh-Navaei R, Tehrani M, Valadan R, Moradzadeh K, et al. Role of HER2 in Brain Metastasis of Breast Cancer: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16(4): 1431-1434.
 26. Chang H, Rha Sy, Jeung Hc, Im CK, Ahn JB, Kwon WS et al. Association of the ABCB1 gene polymorphisms 2677G>T/A and 3435C>T with clinical outcomes of paclitaxel monotherapy in metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol*. 2009. 20(2): 272-277.
 27. Rodrigues FF, Santos RE, Melo MB, Silva MA, Oliveira AL, Rozenowicz RL, et al. Correlation of polymorphism C3435T of the *MDR-1* gene and the response of primary chemotherapy in women with locally advanced breast cancer. *Genet Mol Res* 2008; 7(1): 177-183.
 28. Taheri M, Mahjoubi F, Omranipour R, Fereidouni F. Investigation of C3435T Polymorphism in *MDR1* Gene of Breast Cancer Patients. *ZJRMS* 2009; 11(3): 9-15 (Persian).
 29. Thabet G, Salem S, Gammal M, Radwan E. *MDR1* (C3435T) polymorphism: Impact on therapeutic outcome in breast cancer. *Egypt J Labor Med* 2013; 9: 24-33.
 30. Buda G, Maggini V, Galimberti S, Martino A, Giuliani N, Morabito F, et al. *MDR1* polymorphism influences the outcome of multiple myeloma patients. *Br J Heamatol* 2007; 137(5): 454-456.
 31. Cizmarikova M, Wagnerova M, Schonova L, Habalova V, Kohut A, Linkova A et al. *MDR1* (C3435T) polymorphism: relation to the risk of breast cancer and therapeutic outcome. *Pharmacogenomics J* 2010; 10(1): 62-69.
 32. Li Y, Yan PW, Huang XE, Li CG. *MDR1* gene C3435T polymorphism is associated with clinical outcomes in gastric cancer patients treated with postoperative adjuvant chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12(9): 2405-2409.
 33. Kafka A, Sauer G, Jaeger C, Grundmann R, Kreienberg R, Zeillinger R, et al. Polymorphism C3435T of the *MDR-1* gene predicts response to preoperative chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Int J Oncol* 2003; 22(5): 1117-1121.
 34. Tazzite A, Kassogue Y, Diakité B, Jouhadi H, Dehbi H, Benider A, et al. Association

between ABCB1 C3435T polymorphism and breast cancer risk: a Moroccan case-control study and meta-analysis. *BMC Genet* 2016; 17(1): 126.

35. Urayama KY, Wiencke JK, Buffler PL, Wiemels JL. The role of *MDR1* gene polymorphisms in the genetic susceptibility to childhood leukemia. *Annal Epidemi* 2002; 12: 497.