ORIGINAL ARTICLE

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

Akbar Hedayatizadeh-Omran[1],
Reza Alizadeh-Navaei[1],
Ghasem Janbabaei[2],
Omolbanin Amjadi[3],
Nasim Babaei[4],
Ghasem Rahmatpour Rokni[5],
Gholamali Godazandeh[6]

[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).

* **Corresponding Author: Reza Alizadeh-Navaei-** Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: reza_nava@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۶۹ بهمن سال ۱۳۹۷ (۱۰۷-۹۸)

ارتباط پلی مورفیسم C3435T ژن *MDR1* با پاسخ به درمان در بیماران سرطان پستان

اکبر هدایتی زاده عمران[۱]
رضا علیزاده نوایی[۱]
قاسم جان بابایی[۲]
ام البنین امجدی[۳]
نسیم بابایی[۴]
قاسم رحمت پور رکنی[۵]
غلامعلی گدازنده[۶]

چکیده

سابقه و هدف: سرطان سینه شایع‌ترین سرطان زنان و دومین عامل مرگ و میر زنان به علت سرطان می‌باشد. یکی از علت‌های مطرح شده در خصوص مقاومت دارویی در درمان بیماری سرطان پستان، پلی‌مورفیسم C3435T ژن MDR1 می‌باشد. این مطالعه با هدف تعیین ارتباط این پلی‌مورفیسم با پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به سرطان پستان در استان مازندران انجام شد.

مواد و روش‌ها: 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 قرارگرفتند 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.

یافته‌ها: در این مطالعه ۱۵۲ زن مبتلا به سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفتند که میانگین سنی آن‌ها ۱۰/۹۵±۴۹/۸۴ سال بود. بیش‌ترین ژنوتیپ مشاهده شده، ژنوتیپ CT (۴۹/۲ درصد) بود. ۷۴/۳ درصد بیماران به درمان‌های انجام شده پاسخ داده بودند و در ۲۵/۷ درصد، پاسخ مشاهده نشد. در نهایت اختلاف معنی‌داری در پاسخ به درمان در ژنوتیپ‌های 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

در جهان امروز بیش از ۲۰ میلیون نفر، از بیماری سرطان رنج می‌برند و در اکثر کشورها این بیماری دومین علت مرگ پس ازحوادث قلبی‌عروقی محسوب می‌شود(۲،۱). سرطان پستان شایع‌ترین سرطان زنان و پس از سرطان ریه، دومین عامل مرگ و میر زنان به علت سرطان می‌باشد(۴،۳). این سرطان یک سوم از همه سرطان‌ها را

مولف مسئول: رضا علیزاده نوایی– ساری: میدان معلم، معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران E-mail: reza_nava@yahoo.com
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

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]

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 سلول ها را دوبرابر می کند. مصرف سیگار می‌تواند خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش دهد، به‌طوری‌که مصرف سیگار بیش‌تر و سن پایین‌تر شروع استفاده از سیگار رابطه مستقیم با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان دارد(۹،۸،۵). 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 ازیک دوره درمان موفق، به تعداد زیادی ازداروها مقاوم می‌شوند(۱۱،۱۰). 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 پیام رسانی رشد و تکثیر سلولی، مولکول‌های تنظیم کننده چرخه سلولی و در نهایت ژن‌های متاثر از مسیرهای رشد سیتوزولی و هسته ای از جمله مهم ترین عواملی هستند که می‌توانند در بروز پدیده مقاومت ایفای نقش کنند(۱۲،۵). در این راستا مقاومت دارویی چندگانه (*MDR*)[1] یکی از مهم‌ترین علل عود بیماری و دلیل عمده ناکارآمدی شیمی درمانی در سرطان است ومکانیسم‌های 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(۱۴،۱۳). 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 درسطح غشاء سلول رمزدهی می‌کند که در خروج مواد سمی ازسلول و محافظت سلولی نقش دارد(۱۵). ژن *MDR1* بر روی کروموزوم ۷ (7q21.12) قرار داشته و پلی‌مورفیسم C3435T در اگزون 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 اگزون و اینترون این ژن شناسایی شده است(۱۷). از میان تمامی پلی‌مورفیسم‌های این ژن، پلی‌مورفیسم C3435T (rs1045642) در اگزون 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 می باشند که سبب دفع کم‌تر سوبستراهای ژن *MDR1* از روده و افزایش غلظت سوبستراها در داخل سلول‌های اپی‌تلیال روده و پلاسما می‌شوند(۲۱،۲۰). پلی‌مورفیسم C3435T یکی از مهم‌ترین پلی‌مورفیسم‌های نوکلئوتیدی است که نقش آن در تغییر فراهمی زیستی و مقاومت‌های دارویی مورد شناسایی قرارگرفته(۲۳،۲۲) و در بسیاری از جمعیت‌های مختلف این ارتباط بررسی شده است(۲۴). با توجه به تاثیر تغییرات ژنتیکی ، نژادی و جغرافیایی در زمینه سرطان(۲۵) و از آن‌جایی‌که 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 طوبی (بزرگترین مرکز آکادمیک ریفرال استان مازندران) انجام شده است.

1. *MDR*: Multi Drug Resistance

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]

مواد و روش ها

این مطالعه طولی بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان انجام شد. مبتلایان به کانسر پستان، بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک طوبی (بزرگ‌ترین 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 پلی‌مورفیسم 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 آن ها 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 بیمارانی‌که تحت جراحی کامل پستان قرارگرفته 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 هم‌چنین جذب OD260/230 از طریق اسپکتروفتومتری تایید شد. دراین 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 *Mbo*I قرار گرفت. برای انجام RFLP جهت هضم آنزیمی محصول تکثیری ۲۰۷ جفت بازی مورد نظر در ژن *MDR*1، از آنزیم محدودکننده *Mbo*I شرکت فرمنتاز (Thermo Scientific، لیتوانی) با کد #ER0811 و Lot:00424169 استفاده شد. مخلوط واکنش جهت هضم آنزیمی شامل ۰/۱ میکرولیتر آنزیم محدودکننده *Mbo*I ، ۲ میکرولیتر بافر آنزیم، ۸ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز و ۱۰ میکرولیتر محصول PCR بود. مخلوط به‌دست 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 جفت‌بازی 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

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]

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 (ºC)	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

داده‌های جمع‌آوری شده توسط نسخه ۱۹ نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. رابطه فراوانی ژنوتیپی و پاسخ به درمان ازطریق آزمون مربع کای محاسبه شد. به منظور بررسی تاثیر سن افراد در پاسخ درمانی بر حسب ژنوتیپ از رگرسیون لجستیک استفاده شد. مقادیر p کم‌تر از ۰/۰۵ به عنوان معنی‌داری 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، ۱۰/۹۵±۴۹/۸۴ 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 (Triple negative) بودند. اندازه تومور قبل از شروع درمان نیز در ۴۷/۷ درصد افراد، کم‌تر 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، بیش‌ترین 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

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

جدول شماره ۵ پاسخ به درمان در ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم C3435T ژن *MDR1* را نشان می‌دهد. 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.

جدول شماره ۴: مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم C3435T ژن *MDR1* براساس سن

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

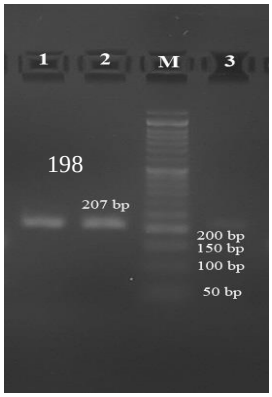
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]

جدول شماره ۵: مقایسه پاسخ به درمان در ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم C3435T ژن *MDR1*

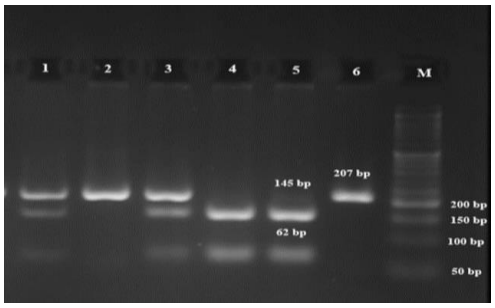
ژنوتیپ	پاسخ به درمان				سطح معنی داری
	بله		خیر		
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
TT	۳۲	۷۶/۲	۱۰	۲۳/۸	۰/۴۸۵
CT	۵۳	۷۱/۶	۲۱	۲۸/۴	
CC	۲۳	۶۳/۹	۱۳	۳۶/۱	
مجموع	۱۰۸	۱۰۰	۴۴	۱۰۰	

در نهایت براساس محاسبات آماری انجام شده، اختلاف معنی داری در پاسخ به درمان در ژنوتیپ های مختلف مشاهده نشد (p=۰/۴۸۵)، 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%=۰/۷۱-۳/۸۵) و در گروه سنی بالای ۶۰ سال ۱/۴۵ برابر (CI95%=۰/۵۵-۳/۸) گروه سنی زیر ۵۰ سال بود که این ارتباط از نظر آماری معنی دار نبود (به ترتیب P=۰/۲۳۷ و p=۰/۴۵۱ برای گروه سنی ۵۱ تا ۵۹ سال و بالای ۶۰ سال در مقایسه با زیر ۵۰ سال).

تصاویر شماره ۱و۲ 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 *Mbo*I 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



تصویر شماره ۲: نتایج RFLP و قطعات حاصل از هضم آنزیمی با آنزیم *Mbo*I بر روی ژل آگارز ۳ درصد، چاهک M (Ladder: 50 bp)؛ چاهک های ۱و ۳ نمونه های هتروزیگوت با ژنوتایپ CT، چاهک های ۲ و ۶ نمونه های هموزیگوت با ژنوتایپ TTو 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 درمان‌های انجام شده پاسخ داده بودند و در ۲۹ درصد بیماران، پاسخ درمانی مشاهده نشد و در نهایت براساس محاسبات آماری انجام شده، اختلاف معنی‌داری در پاسخ به درمان در ژنوتیپ‌های مختلف مشاهده نشد.

در مطالعه Chang و همکاران در کره، با تحقیق بر روی بیماران مبتلا به سرطان سینه دریافتند که میان پلی‌مورفیسم C3435T و پاسخ به درمان ارتباط معنی‌داری 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 وهمکاران در تهران، بین پلی‌مورفیسم C3435T ژن *MDR1* با پاسخ به درمان ارتباطی وجود نداشت و این مطالعه بیان کرد که نقش این پلی‌مورفیسم در بیان ژنMDR1 درسرطان سینه مورد سوال می‌باشد این درحالی 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 ژنوتیپ‌های CC در مقایسه با سایر ژنوتیپ به شکل

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]

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، درنهایت 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 پلی‌مورفیسم 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 پلی‌مورفیسم 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 پلی‌مورفیسم‌های 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. هم چنین 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 ژنوتیپ ها مشاهده شد (۵۰ درصد). این مطالعه بیان کرد که پلی‌مورفیسم 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 این‌که 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 نتیجه گیری از این مطالعات چنین برداشت می‌شود که ارتباط بین پلی‌مورفیسم 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.

References

1. Omar SA, Khatib OMN. Cancer magnitude, Challenges and Control in the Eastern Mediterranean negion. East Mediterr Health J 2007; 13(6): 1486-1496.
2. 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.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]

3. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast Cancer Statistics, 2013. CA Cancer J Clin 2014; 64(1): 52-62.
4. Haghighi 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, Johne 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*

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]

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. Hedayatizadeh-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

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]

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.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-25]