

پلی مورفیسم G2677T/A ژن MDR1 در کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد

ندا مخبریان^۱، فروزنده محجوبی^۲، راضیه پوراحمد^۳

چکیده

سابقه و هدف

مهمترین علت مقاومت دارویی، پمپ‌های وابسته به ATP مانند MDR1 هستند که باعث خروج دارو از سلول‌ها می‌شوند. ژن MDR1 بسیار پلی مورفیک می‌باشد و به نظر می‌رسد این پلی مورفیسم‌ها بر روی بیان ژن و در نتیجه پاسخ به درمان مؤثر است. هدف از این مطالعه، بررسی پلی مورفیسم G2677T/A ژن MDR1 و ارتباط آن با پاسخ به درمان در کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی تحلیلی، پلی مورفیسم G2677T/A ژن MDR1 در ۴۴ کودک مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد و ۴۰ فرد سالم توسط روش ARMS-PCR و هم چنین ارتباط این پلی مورفیسم با پاسخ به درمان نیز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

۳۶/۴٪ بیماران ژنوتیپ TT، ۴۱٪ ژنوتیپ GT و ۱۳/۶٪ ژنوتیپ GG، ۴/۵٪ ژنوتیپ AG، ۲/۲۵٪ ژنوتیپ AT و ۲/۲۵٪ ژنوتیپ AA داشتند. در حالی که در افراد نرمال ۳۵٪ ژنوتیپ TT، ۳۷/۵٪ ژنوتیپ GT، ۴٪ ژنوتیپ GG، ۷/۷٪ ژنوتیپ AG، ۵٪ ژنوتیپ AT و ۵٪ ژنوتیپ AA دیده شد. گروه کنترل و بیماران از نظر فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ تفاوت معناداری با هم نداشتند. هم چنین بین دو گروه ژنوتیپ از نظر پاسخ به درمان نیز تفاوت معناداری دیده نشد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که بین پلی مورفیسم G2677T/A با پاسخ به درمان ارتباط وجود ندارد و نقش این پلی مورفیسم در بیان ژن MDR1 در لوسمی لنفوبلاستیک حاد کودکان و پاسخ به درمان مورد سؤال می‌باشد.

کلمات کلیدی: لوسمی لنفوبلاستیک حاد، مقاومت دارویی، پروتئین MDR1

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۳

۱- مؤلف مسؤول: کارشناس ارشد ژنتیک - مربی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود - میدان هفت تیر- شاهرود - ایران - کدپستی: ۳۶۱۴۷۷۳۹۵۵

۲- PhD ژنتیک - استادیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری - تهران - ایران

۳- PhD ژنتیک - استادیار دانشگاه شهرکرد - شهرکرد - ایران

مقدمه

لوسمی لنفوبلاستیک حاد، شایع‌ترین نوع لوسمی در کودکان است (۱). بروز سالانه این نوع لوسمی بیش از ۴۰۰ مورد در هر یک میلیون کودک است (۲). طبق تحقیقات انجام شده در ایران، این نوع لوسمی بیشترین درصد را در بین کل سرطان‌های کودکان زیر ۱۵ سال شامل می‌شود (۳). یکی از مشکلات درمان بیماران مبتلا به سرطان، مقاومت دارویی است به طوری که این بیماران نسبت به داروهای مختلف که مکانیسم اثر متفاوتی دارند مقاوم می‌شوند (۴). مکانیسم‌های متعددی در ایجاد مقاومت دارویی نقش دارند که از آن جمله می‌توان به خروج دارو از سلول به کمک پمپ‌های وابسته به ATP، تغییر در ژن‌ها و پروتئین‌های کنترل‌کننده آپوپتوز (مانند P53)، فعال شدن مسیرهای دخیل در ترمیم DNA، ختنی شدن داروها در درون سلول و تغییر در توبولین و میکروتوبول‌ها اشاره کرد (۵). پروتئین‌های (ABC transporter = ATP Binding Cassette transporter) به ATP باند شده و با استفاده از انرژی آن بسیاری از مواد را از طریق غشای پلاسمایی و هم‌چنین غشاهای درون سلولی مانند رتیکولوم اندوپلاسمیک پراکسیزوم و میتوکندری منتقل می‌کنند (۶). در انسان ۴۸ ژن ABC transporter وجود دارد که این ژن‌ها بر اساس تشابه اسیدهای آمینه و سازماندهی دومین‌هایشان، به هفت زیر گروه تقسیم می‌شوند (۷). p-گلیکوپروتئین (P-glycoprotein) با وزن مولکولی ۱۷۰ کیلو دالتون، عمومی‌ترین ABC transporter روی غشا است که توسط ژن MDR1 که بر روی کروموزوم ۷ قرار دارد، کددهی می‌شود. عملکرد اصلی این پروتئین، خروج مواد سمی از سلول و محافظت سلول در برابر مواد سمی است. علاوه بر آن تعدادی مواد هیدروفوبیک و داروهای ضد سرطان مانند اتوپوزاید، داکسوروبیسین و وین‌بلاستین را نیز به خارج از سلول انتقال می‌دهد (۸). ژن MDR1 با ۲۸ اگزون و طول ۱۲۰ کیلو باز بر روی کروموزوم شماره ۷ قرار دارد (7q21.12). تاکنون حدود ۵۰ نوع چند شکلی (Polymorphism (SNP)) در این ژن گزارش شده است که از آن میان به نظر می‌رسد پلی مورفیسم G2677T/A در اگزون ۲۶ بر بیان ژن MDR1 و در نتیجه بر مقاومت

دارویی و پاسخ به درمان مؤثر می‌باشد (۹-۱۲). چون شیمی درمانی، یکی از درمان‌های مهم و جدی در کنترل لوسمی است، بنابراین بررسی علت‌یابی عدم موفقیت شیمی درمانی و تعیین مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با آن در بیماران مبتلا از اهمیت بالایی برخوردار است. در نهایت می‌توان از این نتایج برای پایه‌گذاری مارکر ژنتیکی جهت ارزیابی بیماران در زمان درمان و پس از درمان استفاده کرد و با استفاده از مولکول‌های دارویی ساده جهت منحرف کردن فعالیت این ژن‌ها در بیمارانی که در معرض مقاومت دارویی هستند، به درمان هر چه بهتر این بیماران در آینده کمک نمود. در این مطالعه فراوانی آلل‌های مختلف پلی مورفیسم G2677T/A در کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد و ارتباط آن با پاسخ به درمان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی تحلیلی، بعد از اخذ رضایت‌نامه کتبی، از ۴۴ کودک مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد (۴۵٪ دختر، ۵۵٪ پسر با میانگین سنی ۶/۷۲ سال) و ۴۰ فرد سالم (۶۵٪ دختر و ۳۵٪ پسر با میانگین سنی ۱۱/۴۶ سال) به عنوان گروه کنترل نمونه خون محیطی در لوله‌های حاوی EDTA گرفته شد. DNA نمونه خون محیطی بیماران و گروه کنترل توسط کیت ژن فناوری استخراج گردید و لوله‌های حاوی DNA تا زمان انجام واکنش PCR در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده با روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵٪ انجام گردید. برای تشخیص پلی مورفیسم G2677T/A در اگزون ۲۶، از روش ARMS PCR در ۲ مرحله و ۸ آغازگر استفاده شد (جدول ۱). در مرحله اول واکنش PCR، برای تعیین ژنوتیپ‌های TT، AT، AA با حجم نهایی ۲۵ μL شامل DNA حدود ۱۵-۵۰ ng، Taq DNA polymerase به میزان ۰/۵ μL، بافر ۱ x به میزان ۲/۵ μL، dNTPs به میزان ۰/۴ mM، MgCl₂ به میزان ۱/۵ mM و ۰/۵ μL از هر آغازگر (2677F1، 2677R1، AG2677F1، TG2677R1) انجام شد. شرایط دمایی ARMS PCR در مرحله اول عبارت بود

جدول ۱: توالی آغازگرهای مورد استفاده برای ARMS-PCR

نام	توالی آغازگر	طول	محصول
2677F1	5'GAAAATAGAAGCATGAGTTGGAAGA3'	۲۵ جفت باز	۴۴۷ جفت باز
2677R1	5'CTGGCTTTGCTACTTTCTGTAAGTTT3'	۲۶ جفت باز	۴۴۷ جفت باز
A2677F1	5'CACTGAAAGATAAGAAAGAACTAGAAGCTA3'	۳۰ جفت باز	۲۱۶ جفت باز
T2677R1	5'TATTTAGTTTGACTCACCTTCCCTGA3'	۲۶ جفت باز	۲۸۷ جفت باز
2677F2	5'TCAGAAAATAGAAGCATGAGTTGTGA3'	۲۶ جفت باز	۴۵۳ جفت باز
2677R2	5'GAACTGGCTTTGCTACTTTCTGTAAG3'	۲۶ جفت باز	۴۵۳ جفت باز
G2677F2	5'CACTGAAAGATAAGAAAGAACTAGAAGATG3'	۳۰ جفت باز	۲۱۹ جفت باز
T2677R2	5'TATTTAGTTTGACTCACCTTCCCGGA3'	۲۶ جفت باز	۲۹۰ جفت باز

از: مرحله واسرشت اولیه (Denaturation) ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه (یک سیکل)، مرحله واسرشت ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال (Annealing) ۵۷ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله طویل سازی (Extension) ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه (مرحله ۲ تا ۴، ۳۵ سیکل تکرار شد)، مرحله طویل سازی نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه (یک سیکل). در مرحله دوم برای تعیین ژنوتیپ‌های TT، GT، GG از مخلوط PCR به حجم نهایی ۲۵ μ L شامل DNA حدود ۵۰-۱۵ ng، Taq DNA polymerase به میزان ۰/۵ μ L، بافر ۱ x به میزان ۲/۵ μ L، dNTPs به میزان ۰/۴ mM، $MgCl_2$ به میزان ۱/۵ mM و ۰/۵ μ L از هر آغازگر (2677F2، 2677R2، G2677F2، TG2677R2) استفاده شد. شرایط دمایی ARMS PCR در مرحله دوم عبارت بود از: مرحله واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه (یک سیکل)، مرحله واسرشت ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله طویل سازی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه (مرحله ۲ تا ۴، ۳۵ سیکل تکرار شد)، مرحله طویل سازی نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه (یک سیکل).

پس از تکثیر قطعات، الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ انجام شد و سپس با استفاده از اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شد.

محصولات حاصل از ARMS-PCR در مرحله اول عبارتند از قطعات ۲۸۷ جفت باز، ۴۴۷ جفت باز برای ژنوتیپ TT، قطعات ۲۱۶ جفت باز، ۴۴۷ جفت باز، ۲۸۷ جفت باز برای ژنوتیپ AT و قطعات ۴۴۷ جفت باز، ۲۱۶ جفت باز برای ژنوتیپ AA و در مرحله دوم قطعات عبارتند از: قطعات ۲۹۰ جفت باز و ۴۵۳ جفت باز برای ژنوتیپ TT، قطعات ۲۱۹ جفت باز، ۴۵۳ جفت باز و ۲۹۰ جفت باز برای ژنوتیپ GT و قطعات ۴۵۳ جفت باز و ۲۱۹ جفت باز برای ژنوتیپ GG. از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ برای ثبت داده ها و آنالیز آماری استفاده شد. برای بررسی فراوانی ژنوتیپ و اختلاف آن در گروه کنترل و بیمار و هم چنین بررسی رابطه ژنوتیپ با پاسخ به درمان از آزمون های کای دو و دقیق فیشر استفاده گردید. حدود اطمینان در تمامی آزمایش ها ۹۵٪ در نظر گرفته شد و $p < ۰/۰۵$ معنادار محسوب شد.

یافته ها

فراوانی آلل و ژنوتیپ در بیماران و گروه کنترل محاسبه و مقایسه گردید. فراوانی آلل A، T، G در کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد به ترتیب عبارت بود از ۵۸٪، ۵/۶٪ و ۳۶/۴٪ و در گروه کنترل این فراوانی برابر با ۵۶/۲۵٪، ۱۱/۲۵٪ و ۳۲/۵٪ بود. دو گروه از نظر فراوانی آلل A، T، G اختلاف معناداری نشان ندادند. ژنوتیپ TT در ۱۶ نفر (۳۶/۴٪)، ژنوتیپ GT در ۱۸

جدول ۲: فراوانی ژنوتیپ پلی مورفیسم G2677T/A ژن MDR1 در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد و گروه کنترل

ژنوتیپ	TT تعداد (درصد)	GT تعداد (درصد)	GG تعداد (درصد)	AG تعداد (درصد)	AT تعداد (درصد)	AA تعداد (درصد)
مبتلا به سرطان	۱۶ (۳۶/۴)	۱۸ (۴۱)	۶ (۱۳/۶)	۲ (۴/۵)	۱ (۲/۲۵)	۱ (۲/۲۵)
کنترل	۱۴ (۳۵)	۱۵ (۳۷/۵)	۴ (۱۰)	۳ (۷/۵)	۲ (۵)	۲ (۵)
p-value	۰/۸۹۶	۰/۷۴۹	۰/۴۳۲	۰/۴۵۴	۰/۴۶۴	۰/۴۶۴

جدول ۳: فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم G2677T/A ژن MDR1 در بیماران پاسخ‌دهنده به درمان و گروه مقاوم به درمان

ژنوتیپ	TT تعداد (درصد)	GT تعداد (درصد)	GG تعداد (درصد)	AG تعداد (درصد)	AT تعداد (درصد)	AA تعداد (درصد)
پاسخ‌دهنده	۱۲ (۳۶/۴)	۱۴ (۴۲/۵)	۴ (۱۲/۱)	۱ (۳)	۱ (۳)	۱ (۳)
غیر پاسخ‌دهنده	۴ (۳۶/۴)	۴ (۳۶/۴)	۲ (۱۸/۲)	۱ (۹)	۰ (۰)	۰ (۰)
p-value	۰/۶۳۵	۰/۵۰۴	۰/۴۷۳	۰/۴۴۲	۰/۷۵	۰/۷۵۰

بیماری شده باشند. از ۴۴ بیمار ۱۱ نفر (۲۵٪) به درمان پاسخ نداده بودند و ۳۳ نفر (۷۵٪) پاسخ داده بودند. بین گروه پاسخ‌دهنده به درمان و آن‌هایی که به درمان پاسخ نداده بودند، از نظر فراوانی ژنوتیپ اختلاف آماری معناداری دیده نشد (جدول ۳).

بحث

مقاومت دارویی چند گانه نسبت به داروهای مختلف ضد سرطان یکی از مشکلات اساسی در درمان سرطان‌ها از جمله لوسمی است (۱۴، ۱۳). علی‌رغم پیشرفت در درمان بیماران مبتلا به لوسمی، در بین ۶۰٪ تا ۸۰٪ بیماران لوسمی لنفوبلاستیک حاد که تقریباً درمان نسبی می‌یابند، علی‌رغم موفقیت شیمی درمانی در مراحل آغازین فقط در ۱۰٪ تا ۲۰٪ بیماران لوسمی لنفوبلاستیک حاد، سرطان کاملاً از بین می‌رود در ما بقی موارد، بعد از کسب یک بهبودی نسبی با شیمی درمانی، سرطان دوباره عود می‌کند (۱۵). چون شیمی درمانی، یکی از درمان‌های مهم و جدی در کنترل لوسمی است، بنابراین بررسی علت‌یابی عدم موفقیت شیمی درمانی و تعیین مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با آن در بیماران مبتلا، از اهمیت بالایی برخوردار است. یکی از مکانیسم‌های مقاومت دارویی، خروج دارو از سلول توسط پمپ‌های وابسته به ATP است و MDR1

نفر (۴۱٪)، ژنوتیپ GG در ۶ نفر (۱۳/۶٪)، ژنوتیپ AG در ۲ نفر (۴/۵٪)، ژنوتیپ AT در ۱ نفر (۲/۲۵٪) و ژنوتیپ AA در ۱ نفر (۲/۲۵٪) از بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد مشاهده شد. فراوانی ژنوتیپ C1236T ژن MDR1 در گروه کنترل عبارت بود از، ژنوتیپ TT در ۱۴ نفر (۳۵٪)، ژنوتیپ GT در ۱۵ نفر (۳۷/۵٪)، ژنوتیپ GG در ۴ نفر (۱۰٪)، ژنوتیپ AG در ۳ نفر (۷/۵٪)، ژنوتیپ AT در ۲ نفر (۵٪) و ژنوتیپ AA در ۲ نفر (۵٪). بین بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد و گروه کنترل از نظر فراوانی ژنوتیپی اختلاف معناداری دیده نشد (جدول ۲).

شاخص بیماری نشان‌دهنده فاز بیماری از نظر پاسخ به دارو است. بر این اساس بیماران به دو گروه پاسخ‌دهنده به درمان و غیر پاسخ‌دهنده به درمان طبقه‌بندی شدند. گروه پاسخ‌دهنده به درمان به بیمارانی اطلاق می‌شود که پس از دریافت دارو، به مدت ۶ ماه هیچ‌گونه عود بیماری در آن‌ها گزارش نشده باشد. هم چنین تعداد سلول‌های بلاست مغز استخوان در آن‌ها کمتر از ۵٪، تعداد نوتروفیل‌ها بیش از $10^9 \times 10^6$ و تعداد پلاکت‌ها بیش از $10^6 \times 10^6$ بوده و هیچ نشانی از سلول‌های لوسمی در سایر نواحی بدن گزارش نشده باشد. گروه غیر پاسخ‌دهنده شامل بیمارانی است که در طی ۶ ماه پس از دریافت دارو دچار عود

شناخته شده‌ترین آن‌هاست. ژن *MDR1* بسیار پلی‌مورفیک است و این پلی‌مورفیسم می‌تواند روی بیان ژن و توالی اسیدهای آمینه در پروتئین‌ها و کارکرد آن‌ها اثر بگذارد (۱۰). در تحقیق حاضر هدف بررسی فراوانی پلی‌مورفیسم *G2677T/A* ژن *MDR1* در کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد بود و هم‌چنین ارتباط این پلی‌مورفیسم و پاسخ به درمان مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق اختلاف آماری معناداری از نظر پلی‌مورفیسم *G2677T/A* بین گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد. بین پلی‌مورفیسم *G2677T/A* و پاسخ به درمان نیز ارتباط آماری معناداری پیدا نشد. کوین اورپاما و همکاران نیز هیچ اختلاف آماری معناداری از نظر فراوانی پلی‌مورفیسم *G2677T/A* در دو گروه بیمار و سالم نیافتند (۱۶). وندرهولت و همکاران نشان دادند که واریانت‌های آللی مختلف *MDR1* با عملکرد این پروتئین همراه نبوده و هیچ گونه ارتباطی با مقاومت به درمان ندارد (۱۷). مشابه این یافته‌ها در مطالعه‌های سایر محققین بر روی بیماران مبتلا به سرطان‌های دیگر نیز گزارش شده است (۱۸). در حالی که گرین و همکاران نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ *G2677T/A* با مقاومت به درمان ارتباط داشته به گونه‌ای که بیماران لوسمی با ژنوتیپ *2677G/G* بقای کمتری نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها دارند (۱۹). در این رابطه ونگ و همکارانش در یک مطالعه متا آنالیز نشان دادند که این پلی‌مورفیسم با خطر در بروز برخی سرطان‌ها همراه بوده است (۲۰). شایع‌ترین پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی، *G2677T* است و منجر به تعویض اسید آمینه آلانین (Ala) به سرین (Ser) می‌شود که در ناحیه داخل غشایی قرار دارد. موتاسیون *2677G>T/A*، منجر به یکی از دو تغییر آمینو اسیدی می‌شود که باهم متفاوت هستند. *G2677T* که در آن اسید آمینه سرین جایگزین آلانین می‌شود و فراوانی بیشتری نسبت به پلی‌مورفیسم *G2677A* دارد که در آن ترئونین جایگزین آلانین می‌شود. در این نوع پلی‌مورفیسم، تغییر نوکلئوتیدی باعث تبدیل شدن یک اسید آمینه به یک نوع دیگر می‌شود. این تغییر نوکلئوتیدی باعث توقف

ریبوزوم، تاخیر در حرکت tRNA و در نتیجه باعث تغییر تاخوردگی پروتئین می‌شود. این جایگاه توقف در ناحیه‌ای قبل از ناحیه بین غشایی دومین نهم و دومین دهم پروتئین P-گلیکوپروتئین رخ می‌دهد. این تغییر در موقعیت ۸۹۳، روی فعالیت آدنوزین تری فسفاتازی ناشی از ورود دارو مؤثر است. تاخوردگی هم‌زمان دو دومین با فعالیت آدنوزین تری فسفاتازی *MDR1* برای عملکرد پروتئین ضروری است. باید توجه داشت که بیان و عملکرد *MDR* علاوه بر پلی‌مورفیسم، به عوامل دیگری مانند تقویت ژنی و دمتیلاسیون پروموتور نیز بستگی دارد. با توجه به نتایج مطالعه‌های انجام شده، نقش این پلی‌مورفیسم در بیان ژن *MDR1* و پاسخ به درمان هنوز مورد سؤال است. لذا به نظر می‌رسد علاوه بر بررسی بیشتر و مطالعه حجم نمونه بیشتر باید جنبه‌های دیگر مانند تقویت ژنی نیز در این بیماران مورد بررسی قرار بگیرد. سؤال‌های زیادی در ارتباط با سازوکارهای مقاومت سلول‌های سرطانی به شیمی درمانی باید پاسخ داده شود و بررسی‌های بیشتری در مورد شناخت سازوکارهای مقاومت چند دارویی در آزمایش‌های بالینی باید صورت پذیرد. بنابراین واضح است که هنوز درک بهتری از سازوکارهای دخیل در مقاومت دارویی به منظور تکوین استراتژی‌های درمانی جدید لازم می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه بین گروه کنترل و بیماران از نظر فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ تفاوت معناداری وجود نداشت. هم‌چنین بین بیماران پاسخ دهنده به درمان و بیماران مقاوم به درمان از نظر فراوانی ژنوتیپ تفاوت معناداری دیده نشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از پرسنل محترم مرکز هماتولوژی و انکولوژی بیمارستان کودکان مفید و پرسنل محترم آزمایشگاه ژنتیک پزشکی پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک جهت همکاری صمیمانه در انجام تحقیق قدردانی می‌گردد.

References:

- 1- National Cancer Institute. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008. Available from: http://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2008/.
- 2- WHO. Incidence of childhood leukemia; 2009. Available from: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/97016/4.1.-Incidence-of-childhood-leukaemia-EDITED_layouted.pdf.
- 3- Mousavi SM, Pourfeizi AA, Dastgiri S. Childhood cancer in Iran. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010; 32(5): 376-82.
- 4- Longley DB, Johnston PG. Molecular mechanisms of drug resistance. *J Pathol* 2005; 205(2): 275-92.
- 5- Gpttes,am MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(1): 48-58.
- 6- Gottesman MM. Mechanisms of cancer drug resistance . *Annu Rev Med* 2002; 53 :615-27.
- 7- Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res* 2001; 42(7): 1007-17.
- 8- 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.
- 9- Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, Sauna ZE, Calcagno AM, Ambudkar SV, *et al.* A "silent" polymorphism in the *MDR1* gene changes substrate specificity. *Science*. 2007; 315(5811): 525-8.
- 10- Fung KL, Gottesman MM. A synonymous polymorphism in a common *MDR1* (ABCB1) haplotype shapes protein function. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1794(5): 860-71.
- 11- Xing Q, Gao R, Li H, Feng G, Xu M, Duan S, *et al.* Polymorphisms of the ABCB1 gene are associated with the therapeutic response to risperidone in Chinese schizophrenia patients. *Pharmacogenomics* 2006; 7(7): 987-93.
- 12- Gréen H1, Falk IJ, Lotfi K, Paul E, Hermansson M, Rosenquist R, *et al.* Association of ABCB1 polymorphisms with survival and in vitro cytotoxicity in de novo acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Pharmacogenomics J* 2012; 12(2): 111-8.
- 13- Stavrovskaya A. Cellular mechanisms of multidrug resistance of tumor cells. *Biochemistry (Mosc)* 2000; 65(1): 95-106.
- 14- Löwenberg B, Sonneveld P. Resistance to chemotherapy in acute leukemia. *Curr Opin Oncol* 1998; 10(1): 31-5.
- 15- Schiffer CA. Acute myeloid leukemia in adults. In: Holland JF, Frei E, Bast RC, Kufe DW, Morton DL, Weichselbaum RR. *Cancer Medicine*. Philadelphia, PA: Lea & Febiger; 1993. p. 1907-17.
- 16- Urayama KY, Wiencke JK, Buffler PA, Chokkalingam AP, Metayer C, Wiemels JL. *MDR1* Gene variants, indoor insecticide exposure, and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16(6): 1172-7.
- 17- van der Holt B, Van den Heuvel-Eibrink MM, Van Schaik RH, van der Heiden IP, Wiemer EA, Vossebel PJ, *et al.* ABCB1 gene polymorphisms are not associated with treatment outcome in elderly acute myeloid leukemia patients. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80(5): 427-39.
- 18- Kurzawski M1, Drożdżik M, Suchy J, Kurzawski G, Białecka M, Górnik W, *et al.* Polymorphism in the P-glycoprotein drug transporter *MDR1* gene in colon cancer patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; 61(5-6): 389-94.
- 19- Green H, Falk J, Lotfi K, Paul E, Hermansson H, Rosenquist R, *et al.* Association of ABCB1 polymorphisms with survival and in vitro cytotoxicity in de novo acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Pharmacogenomics J* 2010; 12(2): 111-8.
- 20- Wang LH, Song YB, Zheng WL, Jianq L, Ma WL. The association between polymorphism in the *MDR1* gene and risk of cancer /a systematic review and pooled analysis of 52 casa control studies. *Cancer Cell Int* 2013; 13(1): 46.

Original Article

Investigation of G2677T/A polymorphism in *MDR1* gene of childhood acute lymphoblastic leukemia

Mokhberian N.¹, Mahjoubi F.², Pourahmad R.³

¹Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran

²National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran

³Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Abstract

Background and Objectives

The important reason of drug resistance is ATP dependent pumps such as *MDR1* that extrudes drugs from the cell. *MDR1* is highly polymorphic. It seems that polymorphisms influence the gene expression and response to treatment. The aim of this study was to investigate G2677T/A polymorphism of the *MDR1* gene and its association with the response of treatment in childhood acute lymphoblastic leukemia.

Materials and Methods

In this descriptive study, G2677T/A polymorphism of *MDR1* was investigated in 44 children with acute lymphoblastic leukemia and 40 healthy individuals by the ARMS-PCR technique. The association of this polymorphism with response to treatment was also investigated.

Results

In the patient group, the frequencies of genotypes were 36.4% for TT, 41% for GT, 13.6% for GG, 4.5% for AG, 2.25% for AT and 2.25% for AA whereas in the control group the frequencies were 35%, 37.5%, 10%, 7.5%, 5%, and 5% for TT, GT, GG, AG, AT, and AA, respectively. There was no significant difference in the frequencies of G2677T/A polymorphism between patients and the healthy group. Neither was there any significant difference between the frequency rates of G2677T/A polymorphism of *MDR1* in the responder and the non responder.

Conclusions

It seems that there is no correlation between G2677T/A polymorphism of *MDR1* gene and response to treatment. So the role of G2677T/A polymorphism in the gene expression of *MDR1* in childhood acute lymphoblastic leukemia and response to treatment is still controversial.

Key words: Acute Lymphoblastic Leukemia, Drug Resistance, Lymphoblastic, *MDR1* Protein

Received: 12 Oct 2013

Accepted: 24 Dec 2013

Correspondence: Mokhberian N., MSc of Genetics, Instructor of Shahroud University of Medical Sciences.
Postal Code: 3614773955, Shahroud, Iran. Tel: (+98273) 3394800 ; Fax: (+98273) 3394800
E-mail: n_mokhberian@yahoo.com