

بررسی مقاومت دارویی به درمان با داروی انزالوتامید در افراد مبتلا به سرطان پروستات و مطالعه تأثیر پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs137852574 در ایجاد این مقاومت دارویی در جمعیت انسانی استان اصفهان

بیتا کاویانی، حسین سازگار*، نوشا ضیاء جهرمی، فرزانه محمدی فارسانی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی نقش پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs137852574 موجود در ژن کد کننده گیرنده آندروژن بر مقاومت دارویی بیماران دارای سرطان پروستات به داروی انزالوتامید است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از آنالیز ARMS-PCR بر روی ژن کد کننده گیرنده آندروژن در ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات دارای مقاومت به دارو و ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات بدون مقاومت دارویی انجام گرفت. نمونه‌های خون از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های امید و الزهرا استان اصفهان گرفته شد.

یافته‌ها: فراوانی آللی در rs137852574 برای آلل‌های T و G در گروه مقاوم به دارو برابر با ۰/۷۲، ۰/۲۸ و در گروه غیر مقاوم به دارو برابر ۰/۸۸، ۰/۱۲ می‌باشد. به علاوه، بررسی میزان هتروزیگوسیتی نشان داد که مارکر در تعادل هاردی واینبرگ قرار دارد.

بحث: نتایج این مطالعه نشان داد ارتباط معناداری بین مقاومت دارویی و وجود پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs137852574 وجود دارد (P-Value = 0.039). به علاوه نتایج حاصل از تکنیک داکینگ نشان می‌دهد در افراد دارای این پلی مورفیسم اتصال صحیح دارو به جایگاه فعال گیرنده آندروژن صورت نمی‌پذیرد.

نتیجه‌گیری: وجود پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی می‌تواند باعث ایجاد مقاومت‌های دارویی در افراد مبتلا به سرطان پروستات گردد. در نتیجه بررسی وجود این پلی مورفیسم‌ها می‌تواند در تجویز داروی مناسب در این بیماران تأثیرگذار باشد.

واژه‌های کلیدی: مقاومت دارویی، سرطان پروستات، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی، داکینگ

مقدمه

پروستات غده‌ای در سیستم تناسلی و بزرگ‌ترین غده ضمیمه مردان است. رشد آن قبل از تولد می‌باشد و تا زمانی که فرد به بلوغ برسد، رشد آن توسط هورمون‌های مردانه (آندروژن) تحریک و ادامه می‌یابد (۱۴). سرطان پروستات یک بیماری چند عاملی است که عوامل ژنتیکی و محیطی در ایجاد آن نقش دارند. سرطان پروستات در میان تمامی انواع سرطان‌هایی که سبب مرگ در مردان می‌گردند، در رتبه دوم قرار

نویسنده مسئول : گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه

آزاد اسلامی، واحد شهرکرد

پست الکترونیکی: hoseinsazgar@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۱

دارد. همچنین در میان مردان ۴۵ ساله سرطان پروستات پنجمین عامل مرگ و میر است (۲۵). در بیش‌تر موارد سرطان پروستات به آرامی پیشرفت می‌کند و در ابتدا محدود به غده پروستات است و در سایر قسمت‌های بدن پخش نمی‌شود، در صورتی‌که بعضی از انواع سرطان پروستات به آهستگی پیشرفت کرده و به درمان خاصی نیاز ندارد. سایر انواع سرطان پروستات شدید بوده و به سرعت در بدن پخش می‌شوند (۳۴). تشخیص زود هنگام سرطان پروستات از طریق تست‌های خونی و به واسطه بررسی آنتی‌ژن اختصاصی پروستات می‌باشد که می‌تواند به کاهش نرخ مرگ و میر این سرطان کمک کند (۱). از پروتئین‌های مهم در بروز و پیشرفت سرطان پروستات گیرنده آندروژن است که ژن آن روی کروموزوم Xq11-12 واقع شده است و مهار آن نقش مهمی در کنترل سرطان پروستات دارد (۸). این ژن چهار موتیف عملکردی را کد می‌کند که شامل دومین انتهای

جمع آوری نمونه و طراحی پرایمرها

در این پژوهش ۵۰ نمونه خون بیمار مبتلا به سرطان پروستات دارای مقاومت به دارو و ۵۰ نمونه خون بیمار مبتلا به سرطان پروستات بدون مقاومت دارویی گرفته شد. نمونه های خون از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان های امید و الزهرا استان اصفهان پس از اخذ رضایت نامه کتبی و با رعایت نکات اخلاقی گرفته شد. هم چنین به علت وجود پلی مورفیسم در ژن وابسته به جنس، بررسی تعادل هاردی واینبرگ و تعیین درجه هتروزیگوتی به واسطه نمونه گیری خون از جمعیت زنان صورت گرفت. در این راستا تعداد ۲۵ نمونه زن به صورت تصادفی انتخاب و مورد بررسی قرار گرفت. پرایمرها توسط سرور PRIMER1 طراحی شد (۴). سپس توسط نرم افزار GeneRunner این پرایمرها از نظر دمایی اتصال و تشکیل دایمر کنترل شدند (۳۰) و به منظور بررسی اختصاصیت و عدم اتصال آن با قسمت های دیگر ژنوم از برنامه BLAST استفاده گردید (۱۰). در جدول (۱) مشخصه های پرایمرهای مورد استفاده آورده شده است.

آنالیز ARMS-PCR

در این پژوهش از تکنیک ARMS-PCR استفاده شد (۱۸). برای انجام آنالیز ARMS-PCR دو آنالیز PCR با استفاده از یک DNA الگو در دو ویال جداگانه تحت شرایط ذکر شده در جدول (۲) و با استفاده از مقادیر ذکر شده در جدول (۳) انجام شد که یکی از آن ها حاوی پرایمر جهش یافته و دیگری حاوی پرایمر طبیعی بود. در هر واکنش پرایمرهای مشترک به همراهی یکی از دو پرایمر اختصاصی آلل مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت نتایج حاصل از تکنیک ARMS-PCR بر روی ژل آگارز مشاهده شد.

آمینی، دومین متصل شونده به DNA، ناحیه لولا و یک دومین اتصال به لیگاند می باشد (۱۱). گیرنده آندروژن هدف بسیاری از داروهای کنترل سرطان از جمله انزالوتامید است. انزالوتامید یک داروی نسل دوم مهار کننده آندروژن است که با مهار آندروژن در بدن بر روی گیرنده آندروژن عمل می کند. انزالوتامید در درمان سرطان پروستات متاستاز داده شده مقاوم به درمان با داروی دوسه تاکسل به کار می رود (۲۸، ۲۴، ۱۲). یکی از روش های بیوانفورماتیکی مناسب جهت بررسی اثر جهش ها و پلی مورفیسم ها بر روی قدرت اتصال لیگاند به پروتئین استفاده از تکنیک داکینگ می باشد. در این روش اتصال های قابل چرخش در لیگاندها بررسی شده و در نتیجه آن انرژی اتصال لیگاند در جایگاه های مختلف گیرنده و هم چنین برای حالت های مختلف چرخش پیوندهای لیگاند محاسبه می گردد. اساس تئوری کار بر مبنای محاسبه بارهای جزئی و حالت های چرخش برای لیگاند بوده و از طرفی در اطراف گیرنده، شبکه ای طراحی شده که در هر نقطه از این شبکه انرژی اتصال لیگاند محاسبه می گردد. در نهایت اتصال لیگاند در نقاط مختلف این شبکه مقایسه شده و جایگاه دارای بهترین انرژی اتصال به عنوان بهترین جایگاه برای اتصال لیگاند معرفی می گردد (۲۰، ۱۹). در سال ۲۰۱۶ باستو و همکارانش با طراحی داروهای بیکالوتامید و انزالوتامید و شبیه سازی این داروها و با استفاده از داکینگ و دینامیک مولکولی به مطالعه جایگاه این دو دارو در گیرنده آندروژن پرداختند. نتایج نشان داد که این دو ساختار در گیرنده آندروژن به طور تقریب در یک موقعیت قرار دارند (۲).

تاکنون مطالعه های بسیاری در جهت بررسی نقش پلی مورفیسم های مختلف در مقاومت دارویی گیرنده آندروژن انجام گرفته است. اما با این وجود تأثیر بسیاری از پلی مورفیسم های موجود در ژن این گیرنده در مقاومت دارویی مشخص نشده است. در این راستا به بررسی نقش پلی مورفیسم rs137852574، در مقاومت دارویی افراد دارای سرطان پروستات پرداخته شد. بدین منظور ابتدا به آنالیز ژنی نمونه ها با استفاده از تکنیک ARMS-PCR پرداخته شد. سپس مکانیسم ایجاد مقاومت دارویی با استفاده از آنالیزهای بیوانفورماتیکی مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت صحت مطالعه ها با استفاده از آنالیز های آماری مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش کار

جدول ۱. پرایمر طراحی شده برای انجام آنالیز ARMS-PCR

	Sequence (5' _ 3')	Tm	Product size
Forward Outer	CTCAGTGACTCCATGG AGACCATTCT	64.04	462
Reverse Outer	TGCAGAGGAGTAGTG CAGAGTTAT	61.12	---
Forward Inner (T Allele)	TTCTCCCTCTTATTGT TCCCTACAGGTG	63.20	272
Forward Inner (G Allele)	TTCTCCCTCTTATTGT TCCCTACAGGTG	63.69	272

جدول ۲. برنامه بهینه شده PCR

Stage	Temperature	Time	Cycle
Primary denaturation	94	5 min	1
Denaturation	94	30 Sec	30
Annealing	50	35 Sec	
Extension	72	40 Sec	
Final Extension	72	5 min	1

دایکینگ

در این مطالعه برای انجام محاسبات دایکینگ از نرم افزار AutoDock 4.2 و برای آماده سازی پارامترهای اولیه از MglTools 1.5.6 استفاده شد (۲۱). الگوریتم ژنتیک لامارک برای جستجوی سطح گیرنده مورد استفاده قرار گرفت. در هر یک از مدهای دایکینگ تعداد ۲۰۰ اجرا گذاشته شد که در آن فاکتور جمعیت اولیه در جستجو بر پایه الگوریتم ژنتیک برابر با ۱۵۰ بود و در مجموع ۲۷ هزار ساختار برای محاسبات ساخته شد. برای محاسبه شبکه انرژی در اطراف ریسپتور اندازه شبکه به صورتی تعیین شد که جایگاه فعال ریسپتور در داخل آن قرار بگیرد. در این راستا شبکه ای دارای ابعاد ۶۰×۶۰×۶۰ با فاصله ۰/۳۷۵ آنگستروم برای هر دو نقطه در اطراف ریسپتور طراحی شده و انرژی تمامی نقاط درون این شبکه محاسبه شد. در نهایت نمای اتصال لیگاند به گیرنده و اتصال های هیدروژنی و هیدروفوبی توسط نرم افزار لیگ پلات نمایش داده شد (۳۲). برای آماده سازی ساختار گیرنده آندروژن، کمپلکس ساختار جهش یافته گیرنده آندروژن با لیگاند بیکالوتامید با کد دسترسی (PDB:1z95) از پایگاه اطلاعاتی پروتئین PDB (www.pdb.org) دریافت شد. سپس ساختار بیکالوتامید از کمپلکس خارج شده و فایل pdb گیرنده بدون لیگاند ذخیره شد. در ادامه با استفاده از وب سرور Rosetta backrub (۱۶) جهش در اسید آمینه شماره ۷۴۱ حذف شد و ساختار طبیعی گیرنده آندروژن با تبدیل اسید آمینه جهش یافته لوسین به تربیتوفان به دست آمد. همچنین با جهش در اسید آمینه ایزولوسین ۸۶۹ و تبدیل آن به متیونین ساختار پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی به شماره rs137852574 مدل سازی شد. ساختار سه بعدی داروی انزالوتامید با استفاده از وب سرور DrugBank با آدرس اینترنتی (www.drugbank.ca) به دست آمده و برای انجام دایکینگ مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

بررسی آماری نتایج به دست آمده به واسطه بررسی فراوانی آلی، درجه هتروزیگوتی، آنالیز فاکتور PIC و بررسی تعادل هاردی واینبرگ صورت پذیرفت. برای به دست آوردن فراوانی آلی، تعیین میزان هتروزیگوتی و بررسی تعادل هاردی واینبرگ از سرور GeNePop (۲۶) استفاده شد. به علاوه بررسی میزان اطلاع دهنده rs137852574 با استفاده از فاکتور ظرفیت اطلاعاتی چندشکلی (PIC) انجام شد. فاکتور PIC یکی از مهم ترین شاخص های اطلاع دهنده در پلی-مورفیسم های دارای تعادل هاردی واینبرگ می باشد. در این مطالعه بررسی آماری فاکتور PIC با استفاده از نرم افزار Powermarker نسخه ۳/۲۵ استفاده شد (۱۷). برای بررسی تعادل هاردی واینبرگ به طور معمول از دو روش آزمون خی دو و آزمون دقیق فیشر استفاده می گردد که در این مطالعه به علت کوچکی نمونه و وجود آلل نادر استفاده از آزمون خی دو می تواند با خطای آماری همراه باشد (۵، ۳۳). بنابراین جهت بررسی تعادل هاردی واینبرگ از آزمون دقیق فیشر استفاده شد. در نهایت بررسی ارتباط وجود پلی مورفیسم rs137852574 و مقاومت دارویی در بیماران مبتلا به سرطان پروستات با استفاده از آزمون دقیق فیشر و به واسطه سرور SISA مورد بررسی قرار گرفت (۳۱).

جدول ۳. مواد و مقادیر مورد نیاز برای یک PCR به حجم ۲۵ میکرولیتر

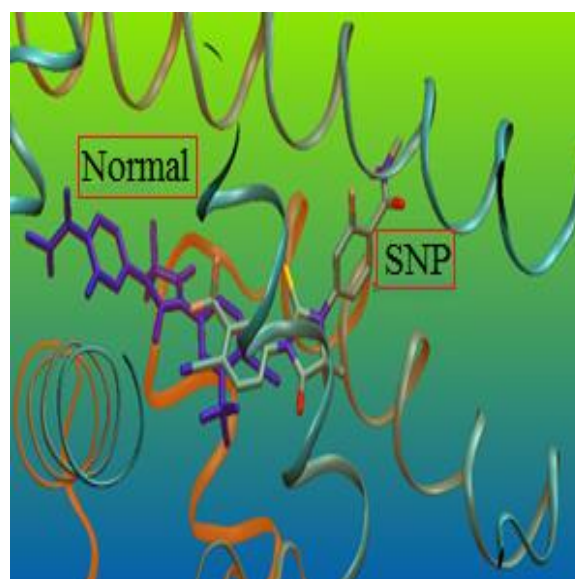
ماده	مقدار	غلظت در واکنش
Taq DNA polymerase	0.25	1.25 u/ µl
Buffer PCR(10X)	2.5	1X
MgCL2 (50mM)	0.75	1.5 mM
dNTP (10mM)	0.5	0.2 Mm
Primer (Mix F& R 100PMol/ µl)	2.5 µl	10 pmol
Primer F Inner	2 µl	10 pmol
DNA Tempelat	2 µl	2 µg
Deionised dH ₂ O	14.5 µl	-

جدول ۴. نتایج داکینگ انزالتامید و گیرنده ی آندروژن طبیعی و جهش یافته

ساختر	Unbond Energy	Torsional Energy	Internal Energy	Intermolecular Energy	$\Delta G_{\text{Binding}}$ Kcal/mol
AR	-0.35	1.19	-0.35	-2.33	-2.13
rs137852574	-0.58	1.19	-0.58	2.7	2.9

اتصال انزالتامید به گیرنده آندروژن جهش یافته

نتایج داکینگ انزالتامید با گیرنده آندروژن جهش یافته حاکی از تغییر محل اتصال انزالتامید به گیرنده آندروژن و در نتیجه مقاومت گیرنده آندروژن جهش یافته rs137852574 به داروی انزالتامید می باشد. در شکل (۳) برهم کنش داروی انزالتامید با گیرنده آندروژن جهش یافته rs137852574 مورد بررسی قرار گرفته است. بررسی نتایج داکینگ حاکی از آن است که با تغییر جایگاه اتصال انزالتامید در گیرنده ی آندروژن جهش یافته، اسید آمینه های درگیر در برهم کنش با انزالتامید تغییر می کنند و مشابهت کمی در الگوی پراکنش اسید آمینه های درگیر در گیرنده آندروژن طبیعی و گیرنده آندروژن جهش یافته وجود دارد. در نهایت مقایسه ساختار سه بعدی اتصال دارو به گیرنده طبیعی و جهش یافته نشان از جابه جایی کامل موقعیت دارو در حالت جهش یافته دارد (شکل ۴).



شکل ۴. مقایسه ساختار سه بعدی به دست آمده از داکینگ انزالتامید با آندروژن طبیعی (Normal) و آندروژن جهش یافته (SNP). در شکل ساختار انزالتامید در داکینگ با آندروژن طبیعی با رنگ بنفش متمایز شده است.

مقایسه انرژی اتصال انزالتامید به گیرنده آندروژن طبیعی و جهش یافته

نتایج داکینگ انزالتامید به گیرنده آندروژن طبیعی و جهش یافته در جدول (۴) نمایش داده شده است. این نتایج نشان می دهد که جهش در ساختار گیرنده آندروژن با افزایش دافعه بین مولکولی (به میزان ۵/۰۳ کیلو کالری برمول) موجب مثبت شدن انرژی اتصال انزالتامید به گیرنده آندروژن می گردد. بنابراین ایجاد جهش از لحاظ ترمودینامیکی فرآیند اتصال انزالتامید به گیرنده آندروژن را نامطلوب می سازد. همین امر موجب کاهش اتصال و در نتیجه مقاومت دارویی گیرنده آندروژن جهش یافته مورد بحث به داروی انزالتامید می گردد.

بحث

مطالعه های انجام شده بر روی پلی مورفیسم های ژنتیکی در گیرنده آندروژن پیشنهاد می کند که این پلی مورفیسم ها می توانند در تشخیص زود هنگام (۹)، پیشرفت (۲۲) و مقاومت دارویی (۱۱، ۷) در سرطان پروستات نقش داشته باشند. بر اساس مطالعه های اخیر جهش در گیرنده آندروژن می تواند باعث مقاومت دارویی نسبت به انزالتامید شود. برای مثال، وقتی جهش F۸۷۶L در گیرنده آندروژن رخ دهد، انزالتامید به عنوان یک آگونیست تشخیص داده می شود و بدین ترتیب مقاومت دارویی در محیط داخل بدن رخ می دهد (۱۳). در سال ۲۰۱۲ اسپر و همکاران در مطالعه های خود روی ژن گیرنده آندروژن دریافتند که بیماران مبتلا به سرطان پروستات مقاوم به درمان که تحت درمان با داروی انزالتامید قرار گرفته اند بعد از شیمی درمانی شانس بقای آنها تا ۳۷ درصد افزایش خواهد یافت (۲۹). به علاوه در سال ۲۰۱۵ لاری دریافت انزالتامید و ابیراترون هیدروکسیلاز دو داروی مهم در مهار گیرنده های آندروژنی هستند و می توانند باعث کنترل سرطان پروستات در دراز مدت و درمان سرطان پروستات قبل از متاستاز شوند (۱۵).

(آل G) ۰/۲۸ و برای آلل سالم (آل T) ۰/۷۲ و در گروه غیر مقاوم، فراوانی آللی برای آلل جهش یافته ۰/۱۲ و برای آلل سالم ۰/۸۸ می باشد. به علت حضور پلی مورفیسم rs137852574 در ژن وابسته به جنس، برای بررسی تعادل هاردی واینبرگ از جمعیت زنان استفاده شد. در این راستا تعداد ۲۵ نمونه زن به صورت تصادفی انتخاب و مورد بررسی قرار گرفت. در جمعیت زنان فراوانی آللی برای آلل سالم برابر ۰/۸۲ و برای آلل جهش یافته برابر ۰/۱۸ به دست آمد. بررسی تعادل هاردی واینبرگ با استفاده از آزمون دقیق فیشر نشان داد که مقدار P-Value در این جمعیت برابر (۰/۱۴= Value P) می باشد. این در حالی است که وجود P-Value بزرگتر از ۰/۰۵ بیانگر وجود تعادل هاردی واینبرگ برای این پلی مورفیسم در جمعیت اصفهان می باشد. به علاوه بررسی میزان هتروزیگوسیتی برای پلی مورفیسم rs137852574 نشان داد که میزان هتروزیگوسیتی برای این پلی مورفیسم برابر با ۲۰ درصد می باشد که از میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار کم تر است (جدول ۵).

جدول ۵. میزان هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای پلی مورفیسم rs137852574

هموزیگوسیتی		هتروزیگوسیتی	
مشاهده شده	مورد انتظار	مشاهده شده	مورد انتظار
۰/۲۰	۰/۳۰۱	۰/۸۰	۰/۶۹۹

از سوی دیگر با توجه به وجود تعادل هاردی واینبرگ مقدار PIC برای پلی مورفیسم rs137852574 مورد بررسی قرار گرفت. بررسی مقدار PIC نشان می دهد که حداکثر مقدار PIC برای پلی مورفیسم های دو آللی حداکثر برابر با ۰/۳۷۵ می باشد. این در حالی است که مقادیر PIC بزرگتر از ۰/۲۵ به عنوان یک شاخص مناسب برای گویا بودن پلی مورفیسم در نظر گرفته می شود (۳).

در مطالعه حاضر مقدار PIC برای پلی مورفیسم rs137852574 برابر با ۰/۲۵۱۶ است که بیانگر اطلاع دهنده بالایی این پلی مورفیسم می باشد. در نهایت بررسی ارتباط مقاومت دارویی و وجود پلی مورفیسم با استفاده از آزمون دقیق فیشر در سطح اطمینان ۹۵ درصد نشان داد که در گروه مقاوم به دارو فراوانی آللی برای آلل جهش یافته به صورت معناداری افزایش پیدا می کند (P- Value= ۰/۰۳۹) و در نتیجه می توان بیان داشت ارتباط معناداری میان مقاومت دارویی و وجود پلی مورفیسم rs137852574 وجود دارد.

در سال ۱۹۴۰ مشخص گردید که مسدود کردن مسیر سیگنال رسانی ژن گیرنده آندروژن، یک راه درمانی برای سرطان پروستات می باشد که از طریق جراحی یا به شکل نیمه ای می تواند صورت بگیرد. بررسی های متعددی نیز نشان داده است که جهش های مختلف این ژن می توانند سبب بروز مقاومت به داروهای مختلف گردند. در این راستا ساساکی و همکارانش در سال ۲۰۰۳ اظهار داشتند که پلی مورفیسم تک و کلو تیدی واقع در کدون ۲۱۱ که در بین تکرارهای CAG و GGN در اگزون شماره یک ژن گیرنده آندروژن قرار دارد و وسط آنزیم محدود کننده StuI قابل شناسایی است، در ایجاد سرطان پروستات نقش بسزایی دارد (۲۷). هم چنین گوتلیب و همکارانش در سال ۲۰۱۲ اظهار داشتند گرچه جهش های نیرنده آندروژن در سرطان پروستات در دامنه های عمکردی مختلف شناسایی شده اند، اما به ندرت در مناطق ۵' و مناطق ۳' ترجمه نشده (UTRs) به چشم می خورند. بسیاری از این جهش ها از نوع جهش های جایگزینی تک نوکلئوتیدی هستند که ۵۱ درصد از این جهش ها در مناطق مربوط به دومین متصل شونده به DNA، ۴۱ درصد در مناطق مربوط به دومین انتهای آمینی و ۷ درصد در دومین اتصال به لیگاند رخ می دهد (۶). به علاوه در سال ۲۰۱۵ پنینگ دریافت که سرطان پروستات پیشرفته مقاوم به اخته که در اثر بیان بیش از اندازه ژن گیرنده آندروژن ایجاد می گردد، می تواند با داروی زالوتامید و ابیراترون استات کنترل شود اما این کنترل در سورتی ممکن خواهد بود که بیماران دارای پلی مورفیسم تک و کلو تیدی در ژن این گیرنده نباشند، چرا که این پلی مورفیسم ها باعث مقاومت دارویی شده و نمی توان نتیجه مطلوب را مشاهده کرد (۲۳). در نهایت در سال ۲۰۱۵ هوانگ همکاران روی پلی مورفیسم های ژن آندروژن کار کردند. آن ها چندین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی را پیدا کردند که در تشخیص زود هنگام سرطان پروستات مؤثر است. از جمله این پلی مورفیسم ها می توان به rs7201637، rs4243229 و rs1693464 اشاره کرد (۹). با توجه به اهمیت موضوع، این مطالعه با هدف بررسی نقش پلی مورفیسم rs137852574 در مقاومت دارویی گیرنده آندروژن در سرطان پروستات طراحی گردید.

جهت مطالعه فراوانی آللی، بررسی بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات و مصرف کننده داروی انزالوتامید صورت پذیرفت و فراوانی این پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی فراوانی آللی در این افراد نشان داد که در گروه مقاوم به دارو، فراوانی آللی برای آلل جهش یافته

علاوه بر کار آزمایشگاهی ارزیابی های تئوری با استفاده از تکنیک داکینگ نشان می دهد که وجود پلی مورفیسم در گیرنده آندروژن می تواند باعث عدم اتصال دارو به جایگاه مناسب و در نتیجه کم شدن قدرت اتصال دارو به گیرنده گردد. در این حالت انرژی اتصال دارو به گیرنده از $2/13$ - کیلو کالری برمول برای آندروژن طبیعی به $2/9$ + کیلو کالری برمول برای rs137852574 افزایش می یابد.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه مبین وجود ارتباط معنادار بین مقاومت دارویی گیرنده آندروژن و پلی مورفیسم rs137852574 است که وجود تعادل هاردی واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه نشان از صحت اطلاعات به دست آمده دارد. به علاوه نتایج تئوری درک صحیحی از ماهیت اتصال دارو به گیرنده آندروژن، اسید آمینه های درگیر در واکنش و مکانیسم ایجاد مقاومت دارویی به دست می دهد. در نهایت خصوصیت های ژنتیکی پلی مورفیسم های ذکر شده از جمله درجه هتروزیگوسیتی مورد بررسی قرار گرفته است که می تواند برای مطالعه های بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد و تحت حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد شهرکرد می باشد. بدین وسیله نویسندگان از تمام افرادی که در جمع آوری نمونه های خون در این پژوهش یاری رساندند کمال تشکر و قدردانی را می نمایند.

منابع

1. Bartsch G, Horninger W, Klocker H. Decrease in prostate cancer mortality following introduction of prostate specific antigen screening in the federal state of Tyrol. *J Urol*, 2000;163(88): 417-424.
2. Bassetto M, Ferla S, Pertusati F, Kandil S, Westwell AD, Brancale A, McGuigan C. Design and synthesis of novel bicalutamide and enzalutamide derivatives as antiproliferative agents for the treatment of prostate cancer. *Eur J Med Chem*. 2016;118:230-43.
3. Chen H, He H, Zou Y, Chen W, Yu R, Liu X, Yang Y, Gao YM, Xu JL, Fan LM, Li Y. Development and application of a set of breeder-friendly SNP markers for genetic analyses and molecular breeding of rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*. 2011; 123(6):869.
4. Collins A, Ke X. Primer1: primer design web service for tetra-primer ARMS-PCR. *Open Bioinforma J*. 2012;6:55-58.
5. Engels WR. Exact tests for Hardy-Weinberg proportions. *Genetics*. 2009; 183(4): 1431-1441.
6. Gottlieb B, Beitel LK, Nadarajah A, Paliouras M, Trifiro M. The androgen receptor gene mutations database: 2012 update. *Human mutation*. 2012;33(5): 887-894.
7. Grasso CS, Wu YM, Robinson DR, Cao X, Dhanasekaran SM, Khan AP, Quist MJ, Jing X, Lonigro RJ, Brenner JC, Asangani IA. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature*. 2012;487(7406):239-243.
8. Holdcraft RW, Braun RE. Androgen receptor function is required in Sertoli cells for the terminal differentiation of haploid spermatids. *Development*, 2014; 131(2): 459-467.
9. Huang TY, Chien TM, Liu CC, Lee HY, Yu CC, Huang CY, Chang CF, Huang CH, Wu WJ, Bao BY, Huang SP. Prognostic significance of genetic polymorphisms in disease progression and survival in prostate cancer after androgen deprivation therapy. *Urol Sci*. 2015;26(2):81-84.
10. Johnson M, Zaretskaya I, Raytselis Y, Merezuk Y, McGinnis S, Madden TL. NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic acids research*. 2008;36(suppl 2):W5-9.
11. Joseph JD, Lu N, Qian J, Sensintaffar J, Shao G, Brigham D, et al. A Clinically Relevant Androgen Receptor Mutation Confers Resistance to Second-Generation Antiandrogens Enzalutamide and ARN-50. *Cancer Discov*, 2013;1, 3(9):1020-1029.
12. Kim TH., Jeong JW, Song JH, Lee KR, Ahn S, Ahn SH, et al. Pharmacokinetics of enzalutamide, an anti-prostate cancer drug, in rats. *Arch Pharm Res*, 2015; 38(11):2076-2082.
13. Korpai M, Korn JM, Gao X, Rakiec DP, Ruddy DA, Doshi S, Yuan J, Kovats SG, Kim S, Cooke VG, Monahan JE. An F876L mutation in androgen receptor confers genetic and phenotypic resistance to MDV3100 (enzalutamide). *Cancer Discov*. 2013;3(9):1030-1043.
14. Kumar v, Majumder P. Prostate gland: structure, functions and regulation. *Int Urol Nephrol*, 1995; 27:231-243.
15. Labrie F. Combined blockade of testicular and locally made androgens in prostate cancer: a highly significant medical progress based upon intracrinology. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015;145:144-156.
16. Lauck F, Smith CA, Friedland GF, Humphris EL, Kortemme T. RosettaBackrub—a web server for flexible backbone protein structure modeling and design. *Nucleic Acids Res*. 2010;38(suppl 2):W569-75.
17. Liu K, Muse SV. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*. 2005; 21(9):2128-2129.
18. Medrano RF, de Oliveira CA. Guidelines for the tetra-primer ARMS-PCR technique development. *Mol Biotechnol*. 2014;56(7):599-608.
19. Morris GM, Goodsell DS, Pique ME, Lindstrom W, Huey R, Forli S, et al. AutoDock 4.2 User guide. 2011.
20. Morris GM, Huey R. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem*. 2009;30:2785-2791.
21. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, Olson AJ. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem*. 2009; 30(16): 2785-2791.
22. Obinata D, Takada S, Takayama KI, Urano T, Ito A, Ashikari D, Fujiwara K, Yamada Y, Murata T, Kumagai J, Fujimura T. Abhydrolase domain containing 2, an androgen target gene, promotes prostate cancer cell proliferation and migration. *Eur. J. Cancer*. 2016; 57:39-49.
23. Penning T. Mechanisms of drug resistance that target the androgen axis in castration resistant prostate cancer (CRPC). *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*. 2015; 153(54): 105-113.
24. Penson DF, Armstrong AJ, Concepcion R, Agarwal N, Olsson C, Karsh L, et al. Enzalutamide versus bicalutamide in castration-resistant prostate cancer: the STRIVE trial. *J Clin Oncol*, 2016; 34(18):2098-2106.
25. Prostate Cancer Screening, A Decision Guide. The U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), (www.cdc.gov).
26. Raymond M. GENEPOP (version 1.2.): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*. 1995;86:248-9.
27. Sasaki M, Nomoto M, Yonezawa S, Nakagawa M, Sakuragi N, Fujimoto S, Carroll PR, Dahiya R. Distribution of a single nucleotide polymorphism on codon 211 of the androgen receptor gene and its correlation with human renal cell cancer in Japanese patients. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2004; 321(2):468-471.
28. Scher HI, Beer TM, Higano CS, Taplin M, Efsthathiou E, Anand A, Hung D, Hirmand M, Fleisher M. Antitumor activity of MDV3100 in a phase I/II study of castration-resistant prostate cancer (CRPC). *J Clin Oncol*. 2009;27(15S):5011.

29. Scher HI, Fizazi K, Saad F, Taplin ME, Sternberg CN, Miller K, de Wit R, Mulders P, Chi KN, Shore ND, Armstrong AJ. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med* 2012;367(13):1187-1197.
30. Spruyt M, and F. Buquicchio. Gene Runner version 3.05. Website [http://www. generunner.net/](http://www.generunner.net/)[accessed 10 2015] (1994).
31. Uitenbroek DG. SISA binomial. Southampton: DG Uitenbroek. Retrieved January. 1997;1:2004.
32. Wallace AC, Laskowski RA, Thornton JM. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. *Protein Eng.* 1995;8(2): 127-134.
33. Weir B.S. Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates Google Scholar. 1996.
34. Wolf A, Wender RC, Etzioni RB, Thompson IM, D'Amico AV, Volk RJ, et al. American Cancer Society guideline for the early detection of prostate cancer. *CA Cancer J Clin*, 2010; 60(2):70-79.

