مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره نهم ، شماره سی و سوم-زمستان ۱۳۹۷

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی اثر پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs137852595 موجود در ژن کدکننده گیرنده آندروژن بر مقاومت دارویی بیماران مبتلا به سرطان پروستات به داروی آنزالوتامید

مریم علیزاده، 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: این بررسی به‌منظور مطالعه تأثیر پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs137852595 موجود در ژن کدکننده گیرنده آندروژن بر مقاومت دارویی بیماران دارای سرطان پروستات به داروی آنزالوتامید طراحی شده است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات دارای مقاومت دارویی و ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات بدون مقاومت دارویی جهت انجام آنالیز ARMS-PCR استفاده شد و فراوانی آللی با استفاده از دو سرور Genepop و SISA انجام شد. در نهایت برهم‌کنش دارو و گیرنده با استفاده از روش داکینگ مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: بررسی نتایج نشان داد که فراوانی آللی پلی‌مورفیسم rs137852595 در گروه مقاوم به دارو برای آلل سالم (آلل C) برابر با ۰/۷۰ و برای آلل جهش یافته (آلل T) برابر ۰/۳۰ است. در گروه کنترل فراوانی آللی برای آلل سالم ۰/۹۲ و برای آلل جهش یافته ۰/۰۸ به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: بررسی نتایج به‌دست آمده نشان دهنده ارتباط معنادار بین وجود پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs137852595 و مقاومت دارویی است (P-Value = 0.005). به‌علاوه نتایج حاصل از روش داکینگ نشان داد که در افراد دارای این پلی‌مورفیسم، دارو به‌صورت صحیح به جایگاه فعال گیرنده آندروژن متصل نمی‌گردد و در نتیجه از میزان انرژی اتصال دارو به گیرنده آندروژن کاسته می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سرطان پروستات، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی، آنزالوتامید، مقاومت دارویی.

مقدمه

سرطان پروستات یک بیماری بسیار هتروژن است که تحت تأثیر عوامل متعدد ژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرد. این بیماری یکی از فراگیرترین انواع سرطان در مردان میان‌سال است که در سنین کم‌تر از ۵۰ سال به ندرت مشاهده می‌شود (۱۲). بررسی‌ها نشان می‌دهد که سرطان پروستات یک بیماری با پیشرفت بسیار آهسته است و اغلب محدود به غده پروستات است (۳۰). به‌طور معمول از تست آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) جهت تشخیص زود هنگام سرطان پروستات استفاده می‌شود که می‌تواند در بهبود و کنترل این بیماری نقش به سزایی داشته باشد (۱).

گیرنده آندروژن یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های دخیل در پیشرفت سرطان پروستات بوده و می‌تواند نقش مهمی در کنترل سرطان پروستات داشته باشد (۶). بررسی ژن کدکننده گیرنده آندروژن نشان می‌دهد که این ژن دارای هشت اگزون است (۹) و هدف بسیاری از داروهای کنترل سرطان از جمله آنزالوتامید است. آنزالوتامید یک آنتاگونیست گیرنده آندروژن است که با مهار آندروژن در بدن بر روی گیرنده آندروژن عمل می‌کند. این دارو در درمان سرطان پروستات متاستاز داده مقاوم به درمان همراه با داروی دوسه تاکسل به‌کار می‌رود (۲۶، ۲۵، ۲۲، ۱۰). بررسی Labrie در سال ۲۰۱۵ نشان داد که آنزالوتامید دارویی مهم در مهار گیرنده آندروژن بوده و

نویسنده مسئول:
گروه زیست شناسی،دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد
پست الکترونیکی: hoseinsazgar@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۵/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۱۷

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-28]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.4.8]

می‌توانند باعث کنترل سرطان پروستات در زمان طولانی و درمان سرطان پروستات قبل از متاستاز شود (۱۳). امروزه داکینگ یکی از مهم‌ترین و دقیق‌ترین روش‌ها برای به‌دست آوردن مکانیسم بر هم‌کنش بسیاری از داروها با گیرنده‌های پروتئینی است. اساس این روش جستجوی سطح پروتئین توسط لیگاند و جستجوی بهترین نقطه اتصال لیگاند و پروتئین بر مبنای پارامتر انرژی اتصال است (۱۸، ۱۷).

اگرچه تاکنون مطالعه‌های بسیاری برای بررسی نقش پلی-مورفیسم‌های مختلف در مقاومت دارویی گیرنده آندروژن انجام گرفته است. اما تا به امروز تأثیر بسیاری از پلی‌مورفیسم-های موجود در ژن این گیرنده در مقاومت دارویی مشخص نشده است. در این راستا به بررسی نقش پلی‌مورفیسم rs137852595 در ایجاد مقاومت دارویی افراد دارای سرطان پروستات پرداخته شده‌است. در ابتدا به آنالیز ژنی نمونه‌ها 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 مطالعه‌ها با استفاده از آنالیزهای آماری ارزیابی شدند.

روش کار

جمع‌آوری نمونه‌ها و طراحی پرایمرها

در این مطالعه به‌منظور انجام آنالیز ARMS-PCR پس اخذ رضایت‌نامه کتبی، تعداد ۵۰ نمونه خون از بیماران مبتلا به سرطان پروستات مقاوم به درمان با داروی آنزالوتامید و ۵۰ نمونه خون از بیماران مبتلا به سرطان پروستات بدون مقاومت دارویی جمع‌آوری شد. این نمونه‌ها از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های امید و الزهرای استان اصفهان جمع‌آوری گردید. هم‌چنین به‌علت حضور پلی‌مورفیسم در ژن وابسته به جنس، جهت تعیین فراوانی آللی و درجه هتروزیگوستی از ۲۵ نمونه زن به‌صورت تصادفی استفاده و نتایج آن مورد بررسی قرار گرفت. پس از استخراج DNA از نمونه‌های خون، پرایمرهای مورد نیاز جهت انجام آنالیز ARMS-PCR توسط سرور PRIMER1 طراحی شدند (۴) و سپس توسط نرم‌افزار Gene Runner از نظر دمای اتصال و تشکیل دایمر مورد بررسی قرار گرفتند (۲۷). در نهایت به‌منظور بررسی عملکرد گزینشی این پرایمرها و عدم اتصال آن‌ها با قسمت‌های دیگر ژنوم از برنامه BLAST استفاده شد (۸). مشخصه‌های پرایمر مورد استفاده برای انجام آنالیز ARMS-PCR در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱. پرایمرهای طراحی شده برای پلی‌مورفیسم (rs137852595) C/T

	توالی(5´ _ 3´)	اندازه محصول (bp)
پرایمر پیشرو خارجی	GAATGTCCTGGAAGCCATTGA GCCAGGT	۲۳۹
پرایمر معکوس خارجی	AGAAAAGCACCAGACATGGT GGCTGGTC	۲۳۹
پرایمر پیشرو داخلی C	AGCCTCAATGAACTGGGAGA GAGACCGC	۱۵۵
پرایمر پیشرو داخلی T	AGCCTCAATGAACTGGGAGA GAGACCGT	۱۵۵

شرایط دمایی بهینه برای تکثیر DNA ژنومی از طریق دستگاه ترموسایکلر به‌صورت ۵ دقیقه تحت دمای ۹۴ درجه سیلسیوس به‌منظور واسرشت رشته، ۳۵ چرخه به‌مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سیلسیوس، ۳۰ ثانیه در دمای ۶۳ درجه سیلسیوس جهت اتصال پرایمرها، ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سیلسیوس و در نهایت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سیلسیوس به‌منظور گسترش نهایی رشته بود. شرایط واکنش ARMS-PCR برای مارکر rs137852595 بعد از بهینه سازی طبق جدول (۲) است.

جدول۲. مواد و مقادیر مورد نیاز برای یک PCR به حجم ۲۵ میکرولیتر

ماده	مقدار	غلظت
Taq DNA polymerase	۰/۲۵	۱/۲۵ u/ µl
Baffer PCR(10X)	۲/۵	۱ X
MgcL2 (50mM)	۰/۷۵	۱/۵ Mm
dNTP (10mM)	۰/۵	۰/۲ Mm
Primer (Mix F& R100PMol/ µl)	۲/۵ µl	۱۰ Pmol
Primer F Inner	۲ µl	۱۰ Pmol
DNA Tempelat	۲ µl	۲ µg
Deionised dH_2O	۱۴/۵µl	-

آنالیز ARMS-PCR

آنالیز ARMS-PCR شامل دو واکنش PCR است که با استفاده از یک DNA الگو در دو ویال جداگانه انجام می‌شود. یکی از واکنش‌ها حاوی پرایمر جهش یافته و دیگری حاوی پرایمر طبیعی است (۱۶). برای بررسی وجود پلی‌مورفیسم در هر واکنش، پرایمرهای مشترک به‌همراه یکی از دو پرایمر اختصاصی آلل مورد استفاده قرار گرفته و نتایج حاصل از تکنیک ARMS-PCR بر روی ژل آگارز مشاهده می‌شود.

داکینگ

در این مطالعه از نرم‌افزار AutoDock 4.2 و MGLTools 1.5.6 برای انجام محاسبات داکینگ استفاده شد (۱۹). در

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-28]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.4.8]

تمامی محاسبات از الگوریتم ژنتیک لامارکی برای جستجوی بهترین محل اتصال دارو به سطح گیرنده استفاده شد. برای هر یک از ساختارهای طبیعی و جهش یافته تعداد ۲۰۰ اجرا گذاشته شد که در هر اجرا فاکتور جمعیت اولیه در جستجو برابر با ۱۵۰ بود و در مجموع ۲۷ هزار ساختار برای محاسبات ساخته شد. جهت بررسی برهمکنش‌های الکتروستاتیک از مدل بار جزئی گستیگر استفاده شد و جستجو بر روی سطح گیرنده در شبکه‌ای به ابعاد ۶۰×۶۰ ×۶۰ انجام گرفت. در نهایت نتایج بهترین نقطه اتصال داروی آنزالوتامید بر روی سطح گیرنده در گیرنده طبیعی و جهش یافته مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مقایسه این برهم‌کنش به‌صورت شماتیک توسط نرم‌افزار لیگ پلات نمایش داده شد (۲۹).

آماده سازی ساختار گیرنده آندروژن

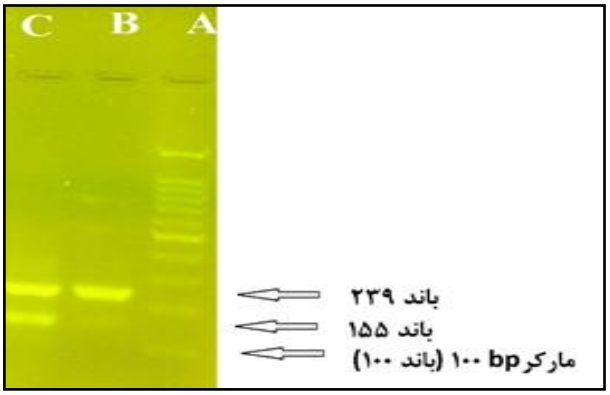
جهت آماده‌سازی ساختار سه بعدی گیرنده آندروژن از ساختار کمپلکس گیرنده جهش یافته آندروژن با داروی بیکالوتامید با کد دسترسی 1Z95 از پایگاه اطلاعاتی پروتئین PDB (www.pdb.org) استفاده شد. در این ساختار سه بعدی ابتدا ساختار بیکالوتامید از کمپلکس خارج و در ادامه با استفاده از وب سرور RosettaBackrub (۱۴) جهش در اسید آمینه شماره ۷۴۱ حذف شد و هم‌چنین با ایجاد جهش در اسید آمینه لوسین ۷۱۳ و تبدیل آن به فنیل‌آلانین ساختار پلی-مورفیسم با شماره rs137852595 طراحی گردید. هم‌چنین ساختار داروی آنزالوتامید با استفاده از وب سرور DrugBank (www. drugbank.ca) به‌دست آمد و برای انجام داکینگ مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

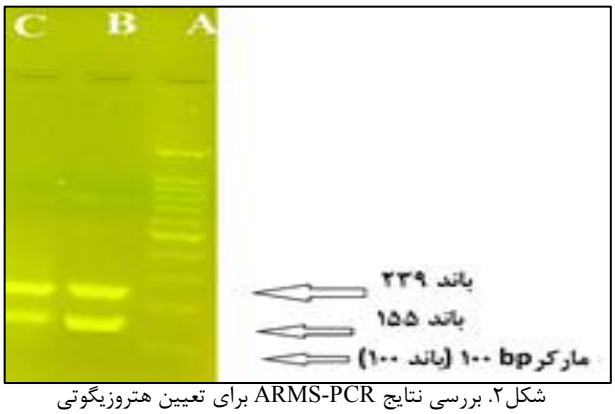
جهت بررسی تعادل هاردی واینبرگ، تعیین فراوانی آللی و برآورد درجه هتروزیگوتی از سرور Genepop (۲۳) استفاده شد. به‌علاوه بررسی میزان اطلاع‌دهندگی rs137852595 با استفاده از فاکتور ظرفیت اطلاعاتی چندشکلی (PIC) انجام شد. در ادامه جهت بررسی تعادل هاردی واینبرگ از آزمون دقیق فیشر استفاده شد. در نهایت بررسی ارتباط وجود پلی-مورفیسم rs137852595 و مقاومت دارویی در بیماران مبتلا به سرطان پروستات با استفاده از آزمون دقیق فیشر و به واسطه سرور SISA بررسی گردید (۲۸).

یافته‌ها

نتایج به‌دست آمده از آنالیز ARMS-PCR بر روی نمونه‌های خون مردان دارای پلی‌مورفیسم و افراد سالم باندهایی مطابق با شکل (۱) را نشان داد. در این آنالیز باند (bp) ۲۳۹ در هر دو گروه سالم و جهش یافته مشترک بود در حالی که وجود باند (bp) ۱۵۵، سالم و یا جهش یافته بودن ژن گیرنده آندروژن را در فرد نشان می‌داد. پس از بررسی نتایج ARMS-PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد، بررسی فراوانی‌ها برای rs137852595 نشان داد که در گروه مقاوم به دارو ۱۵ نفر دارای جهش بوده در حالی‌که در گروه فاقد مقاومت دارویی تنها ۴ نفر دارای جهش هستند. به‌علاوه بررسی نتایج به‌دست آمده از آنالیز ARMS-PCR برای تعیین هتروزیگوتی در زنان نشان داد که در از میان ۲۵ نفر جمعیت زنان، برای rs137852595، تعداد ۲۰ نفر هموزیگوت سالم، ۱ نفر هموزیگوت بیمار و ۴ نفر هتروزیگوت بودند. در تفسیر باندهای مشاهده شده بر روی ژل آگارز در نمونه‌های زن هتروزیگوت و سالم می‌توان به این نکته اشاره کرد که در زنان هتروزیگوت بر خلاف مردان برای هر دو چاهک دارای آلل سالم و جهش یافته، باند مشاهده می‌شود، شکل (۲).



شکل ۱. بررسی نتایج ARMS-PCR پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs137852595 در مردان. چاهک A: مارکر bp ۱۰۰، چاهک B: پرایمر پیش‌رو و معکوس خارجی و هم‌چنین پرایمر پیش‌رو داخلی سالم، چاهک C: پرایمر پیش‌رو و معکوس خارجی و هم‌چنین پرایمر پیش‌رو داخلی جهش یافته



شکل۲. بررسی نتایج ARMS-PCR برای تعیین هتروزیگوتی

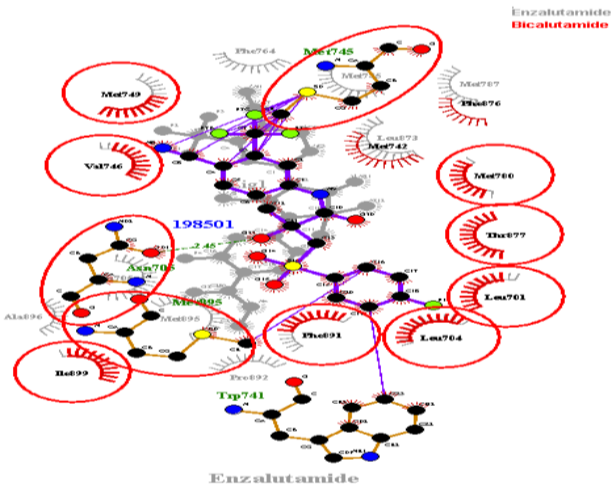
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-28]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.4.8]

rs137852595 در زنان. چاهک A: مارکر bp ۱۰۰، چاهک B: پرایمر پیش‌رو و معکوس خارجی و هم‌چنین پرایمر پیش‌رو داخلی سالم، چاهک C: پرایمر پیش‌رو و معکوس خارجی و هم‌چنین پرایمر پیش‌رو داخلی جهش یافته برای زنان هتروزیگوت

اتصال آنزالوتامید به گیرنده آندروژن طبیعی

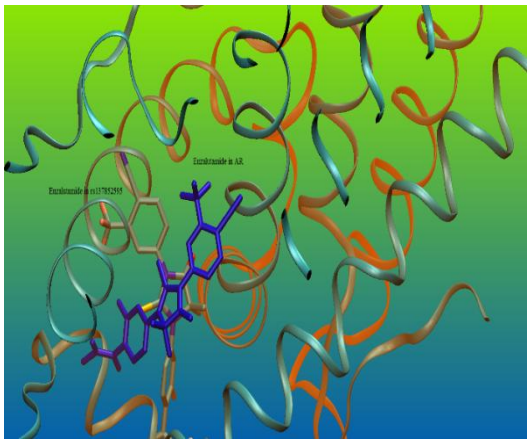
بررسی نتایج داکینگ آنزالوتامید با گیرنده آندروژن طبیعی و مقایسه آن با کمپلکس گیرنده آندروژن و بیکالوتامید نشان می‌دهد که این دو دارو دارای جایگاه اتصال مشابهی بر روی سطح گیرنده آندروژن بوده و بنابراین می‌توانند با مکانیسم مشابهی با این گیرنده برهم‌کنش داشته باشند. به‌علاوه این دو دارو دارای ساختار سه بعدی بسیار مشابهی بوده که این مشابهت ساختاری می‌تواند توجیه مناسبی برای عملکرد مشابه این دو دارو در درمان بیماران مبتلا به سرطان پروستات باشد (۲۱). مقایسه برهم‌کنش‌های داروهای آنزالوتامید و بیکالوتامید با گیرنده آندروژن بیان‌گر نقش کلیدی اسید آمینه‌های موجود در جایگاه فعال گیرنده آندروژن مانند اسید آمینه‌های لوسین ۷۰۴، متیونین ۷۴۵، متیونین ۸۹۵، آسپارژین ۷۰۵ و در اتصال دارو به گیرنده است، شکل (۳).



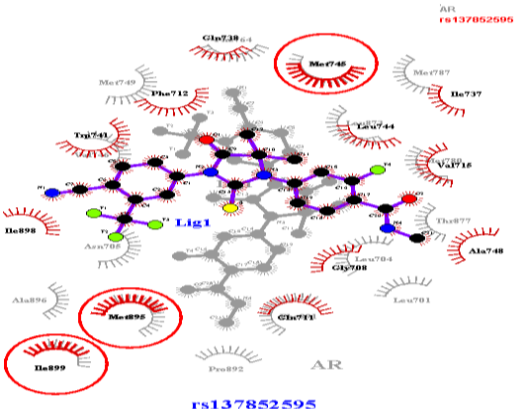
شکل ۳. مقایسه برهم‌کنش داروهای آنزالوتامید و بیکالوتامید با گیرنده آندروژن طبیعی. در این مقایسه برهم‌کنش‌های مشترک در هر دو ساختار طبیعی و جهش یافته با رسم دایره‌های قرمز رنگ متمایز شده‌اند.

اتصال آنزالوتامید به گیرنده آندروژن جهش یافته

نتایج داکینگ آنزالوتامید با گیرنده آندروژن جهش یافته نشان می‌دهد که با ایجاد جهش در گیرنده آندروژن محل اتصال آنزالوتامید به گیرنده آندروژن تغییر کرده و در نتیجه موجب مقاومت گیرنده آندروژن جهش یافته rs137852595 به داروی آنزالوتامید است، شکل (۴). هم‌چنین مقایسه نتایج داکینگ داروی آنزالوتامید به گیرنده طبیعی و جهش یافته نشان می‌دهد که با تغییر جایگاه اتصال آنزالوتامید در گیرنده آندروژن جهش یافته، اسید آمینه‌های درگیر در برهم‌کنش با آنزالوتامید تغییر می‌کنند و مشابهت کمی در الگوی پراکنش اسید آمینه‌های درگیر در گیرنده آندروژن طبیعی و گیرنده آندروژن جهش یافته وجود دارد، شکل (۵).



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



شکل۵. مقایسه آندروژن جهش یافته (rs137852595) با ساختار سالم. برهم‌کنش آنزالوتامید با گیرنده آندورژن طبیعی با رنگ خاکستری و برهم-کنش با گیرنده جهش یافته با رنگ قرمز نمایش داده است.

در نهایت مقایسه میزان انرژی اتصال داروی آنزالوتامید به گیرنده نشان می‌دهد که جهش در ساختار گیرنده آندروژن موجب مثبت شدن انرژی اتصال آنزالوتامید به گیرنده آندروژن به میزان ۴/۷۳ کیلوکالری می‌گردد. بنابراین ایجاد جهش فرآیند اتصال آنزالوتامید به گیرنده آندروژن را نامطلوب می-سازد و باعث کاهش اتصال و در نتیجه مقاومت دارویی گیرنده جهش یافته به داروی آنزالوتامید می‌گردد، جدول (۳).

بحث

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-28]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.4.8]

مطالعه‌های زیادی بر روی ژن گیرنده آندروژن صورت گرفته است. این مطالعه‌ها نشان می‌دهد که وجود پلی‌مورفیسم در ژن گیرنده آندروژن می‌تواند به‌صورت معناداری موجب افزایش احتمال ابتلا به سرطان پروستات گردد (۱۵). بر اساس مطالعه‌های اخیر جهش در گیرنده آندروژن می‌تواند باعث مقاومت دارویی نسبت به آنزالوتامید شود. برای مثال، وقتی جهش L876F در گیرنده آندروژن رخ دهد، آنزالوتامید به‌عنوان یک آگونیست تشخیص داده می‌شود و بدین ترتیب مقاومت دارویی در محیط داخل بدن رخ می‌دهد (۱۱). به‌طورکلی آنزالوتامید به‌عنوان یک آنتاگونیست گیرنده آندروژن با مهار آندروژن در بدن بر روی گیرنده آندروژن عمل می‌کند. آنزالوتامید در درمان سرطان پروستات متاستاز داده مقاوم به درمان با داروی دوسه تاکسل به کار می‌رود (۲۶، ۲۵، ۲۲، ۱۰). در سال ۲۰۱۲، Cabot و همکاران در مطالعه‌های خود روی ژن گیرنده آندروژن دریافتند که بیماران مبتلا به سرطان پروستات مقاوم به درمان که تحت درمان با داروی آنزالوتامید قرارگرفته‌اند بعد از شیمی‌درمانی شانس بقای آن‌ها تا ۳۷ درصد افزایش خواهد یافت (۳). Sasaki و همکارانش در سال ۲۰۰۳ اظهار داشتند که پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی واقع در کدون ۲۱۱ که در بین تکرارهای CAG و GGN در اگزون شماره یک ژن گیرنده آندروژن قرار دارد و توسط آنزیم محدودکننده StuI قابل شناسایی است، در ایجاد سرطان پروستات نقش بسزایی دارد (۲۴). هم‌چنین Gottlieb و همکارانش در سال ۲۰۱۲ اظهار داشتند گرچه جهش‌های گیرنده آندروژن در سرطان پروستات در دامنه‌های عمکردی مختلف شناسایی شده اند، اما به‌ندرت در مناطق ۵' و مناطق ۳' ترجمه نشده (UTRs) به چشم می‌خورند. بسیاری از این جهش‌ها از نوع جهش‌های جایگزینی تک نوکلئوتیدی هستند که ۵۱ درصد از این جهش‌ها در مناطق مربوط به دومین باند شونده به DNA (DBD)، ۴۱ درصد در مناطق مربوط به دومین انتهای آمینی (NTD) و ۷ درصد در دومین اتصال به لیگاند (LBD) رخ می‌دهد (۵). در سال ۲۰۱۳ Nadiminty و همکاران با آنالیز سطح بیان واریانت‌های متصل به گیرنده آندروژن بیان کردند که فعال شدن گیرنده آندروژن و واریانت‌هایش به واسطه NF-κB2/p52 می‌تواند باعث مقاومت دارویی در برابر آنزالوتامید شود (۲۰). در سال ۲۰۱۵ Huang و همکاران روی پلی‌مورفیسم‌های ژن آندروژن مطالعه کردند. آن‌ها چندین SNP را یافتند که در تشخیص زود هنگام سرطان پروستات مؤثر است. از جمله این SNPها rs7201637، rs4243229 و rs16934641 را می‌توان نام برد (۷). در سال ۲۰۱۶، Bassetto و همکارانش با طراحی داروهای بیکالوتامید و آنزالوتامید و شبیه‌سازی 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 به‌طور تقریب در یک موقعیت قرار دارند (۲). سرطان پروستات، در میان تمامی انواع سرطانی که سبب مرگ در مردان می گردند، در رتبه دوم قرار دارد. با این حال، در میان مردان ۴۵ ساله، سرطان پروستات پنجمین عامل مرگ و میر است (۲۲). با توجه به اهمیت موضوع این مطالعه با هدف بررسی نقش پلی‌مورفیسم rs137852595 در مقاومت دارویی گیرنده آندروژن در سرطان پروستات طراحی گردید. در این راستا بررسی روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان پروستات که داروی آنزالوتامید مصرف می کنند صورت گرفت و فراوانی این پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی مورد بررسی قرار گرفت. آنالیزهای جمعیتی برای rs137852595 در مردان مقاوم به دارو نشان داد که فراوانی آللی در این گروه برای آلل سالم برابر ۰/۷۰ و برای آلل جهش ۰/۳۰ است در حالی‌که این مقادیر برای گروه فاقد مقاومت دارویی برای آلل سالم ۰/۹۲ و برای آلل جهش یافته ۰/۰۸ به‌دست آمد. برای تعیین درجه هتروزیگوسیتی و بررسی وجود تعادل هاردی-وینبرگ در جمعیت مورد مطالعه فراوانی آللی برای این پلی-مورفیسم در جمعیت زنان محاسبه شد که برای rs137852595 آلل سالم برابر ۰/۸۸ و برای آلل جهش یافته برابر ۰/۱۲ به‌دست آمد. بررسی وجود تعادل هاردی-واینبرگ برای پلی‌مورفیسم rs137852595 در جمعیت استان اصفهان نشان داد که این پلی‌مورفیسم در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارد (P-Value = 0.28).

در مطالعه‌های آماری آنالیز PIC یکی از فاکتورهای مهم جهت بررسی، میزان بیان کنندگی یک مارکر است. در این مطالعه بررسی مقادیر پارامتر PIC نشان می‌دهد که مقدار PIC برای پلی‌مورفیسم rs137852595 برابر با ۰/۱۸۸۹ است که بیان‌گر اطلاع دهندگی پایین این پلی‌مورفیسم است.

در نهایت بررسی ارتباط مقاومت دارویی و وجود پلی‌مورفیسم با استفاده از آزمون دقیق فیشر در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که در گروه مقاوم به دارو فراوانی آللی برای آلل جهش یافته به‌صورت معناداری افزایش پیدا می‌کند (P-Value = 0.005) و در نتیجه می‌توان بیان داشت ارتباط معناداری میان مقاومت دارویی و وجود پلی-مورفیسم rs137852595 وجود دارد. به‌علاوه ارزیابی‌های تئوری با استفاده از تکنیک داکینگ نیز نشان داد

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-28]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.4.8]

جدول ۳. نتایج داکینگ آنزالوتامید و گیرنده آندروژن طبیعی و جهش یافته

ساختار	Unbond Energy	Torsional Energy	Internal Energy	Intermolecular Energy	$\Delta G_{Binding}$ Kcal/mol
AR	-۰/۳۵	۱/۱۹	-۰/۳۵	-۲/۳۳	-۲/۱۳
rs137852595	-۰/۹۷	۱/۱۹	-۰/۹۷	۲/۳	۲/۶۰

که وجود جهش در ساختار گیرنده آندروژن باعث عدم اتصال دارو به جایگاه مناسب و در نتیجه کم شدن قدرت اتصال دارو به گیرنده می‌گردد. هم چنین تحلیل نتایج داکینگ انواع مختلف اسیدآمینه‌های درگیر در بر هم‌کنش دارو با گیرنده آندروژن مشخص نمود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه بررسی نقش پلی‌مورفیسم rs137852595 در مقاومت دارویی بیماران مبتلا به سرطان پروستات مقاوم به درمان با داروی آنزالوتامید نشان داد که ارتباط معناداری بین وجود این پلی‌مورفیسم و مقاومت دارویی به درمان با داروی آنزالوتامید وجود دارد که وجود تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه صحت اطلاعات به‌دست آمده را تأیید می‌کند. هم‌چنین نتایج به‌دست آمده از آنالیزهای بیوانفورماتیکی درک صحیحی از ماهیت اتصال دارو به گیرنده آندروژن به دست می‌دهد و می‌تواند مکانیسم عمل دارو، مقاومت دارویی و اسید آمینه‌های درگیر در واکنش را مورد مطالعه قرار دهد. به‌علاوه خصوصیت‌های ژنتیکی پلی‌مورفیسم ذکر شده از جمله درجه هتروزیگوسیتی و میزان بیان کنندگی مورد بررسی قرار گرفته است که می تواند برای مطالعه‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد و تحت حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد شهرکرد است. بدین وسیله نویسندگان از تمام افرادی که در جمع‌آوری نمونه در این پژوهش یاری رساندند کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-28]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.4.8]

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.Cabot RC, Harris NL, Rosenberg ES, Shepard J-AO, Cort AM, Ebeling SH, et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy, *N E J M*. 2012; 367(13); 1187-97.

4.Collins A, Ke X. Primer1: primer design web service for tetra-primer ARMS-PCR. *Open Bioinforma J. 2012;6:55-58.*

5.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.*

6.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.*

7.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.*

8.Johnson M, Zaretskaya I, Raytselis Y, Merezhuk Y, McGinnis S, Madden TL. NCBI BLAST: a better web interface. Nucleic acids research. 2008;36(suppl 2):W5-9.

9.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):1020-1929.*

10.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.*

11.Korpal 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.*

12.Kumar v, Majumder P. Prostate gland: structure, functions and regulation. *Int Urol Nephrol*, *1995; 27:231-243.*

13.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.*

14.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.*

15.Mansouri F. The role of the clinical and molecular assays in prostate cancer detection. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 2017; 10(6):11-15*

16.Medrano RF, de Oliveira CA. Guidelines for the tetra-primer ARMS–PCR technique development. *Mol Biotechnol. 2014;56(7):599-608.*

17.Morris GM, Goodsell DS, Pique ME, Lindstrom W, Huey R, Forli S, et al. AutoDock 4.2 User guide. 2011.

18.Morris GM. Huey R. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem. 2009;30:2785-2791.*

19.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.*

20.Nadiminty N, Tummala R, Liu C, Yang J, Lou W, Evans CP, et al. NF-κB2/p52 induces resistance to enzalutamide in prostate cancer: role of androgen receptor and its variants, *Molecular cancer therapeutics*. 2013;12(8):1629-37.

21.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.*

22.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).

23.Raymond M. GENEPOP (version 1.2.): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.. 1995;86:248-9.*

24.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.*

25.Scher HI, Beer TM, Higano CS, Taplin M, Efstathiou 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.*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-28]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.4.8]

26.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.*
27.Spruyt M, and F. Buquicchio. Gene Runner version 3.05. Website http://www. generunner.net/[accessed 10 2015] (1994).
28.Uitenbroek DG. SISA binomial. Southampton: DG Uitenbroek. *Retrieved January. 1997;1:2004.*
29.Wallace AC, Laskowski RA, Thornton JM. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. *Protein Eng. 1995;8(2): 127-134.*
30.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.*

.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-10-28]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.4.8]