Archive of SID

بررسی ارتباط بین پلی مرفیسمهای ژن MRP1 (T825C, G2168A, C2217T, G2268A, G-260C, A-275G, G1299T, G816A) با بیان آن در بیماران مبتلا به لوسمی حاد و مقاوم به شیمی درمانی

شهره رضوانی[۱]، فروزنده محجوبی[۱*]، مریم منتظری[۱] و کامران علی مقدم[۲]

[۱] تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، گروه ژنتیک پزشکی

[۲] تهران، بیمارستان شریعتی، مرکز تحقیقات خون و انکولوژی

تاریخ دریافت: ۸۷/۹/۳ تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۱۱

چکیده

بسیاری از سرطانها در طی درمان با داروهای شیمی درمانی نسبت به اثرات درمانی داروهای مصرفی مقاوم می شوند که به این مقاومت اصطلاحاً MDR (Multidrug Resistance) گفته می شود. از مهمترین دلایل مقاومت به دارو، بیان بالای پروتئینهای غشایی وابسته به ATP ، از دسته خانواده بزرگ ناقلین غشایی ATP Binding Cassette (ABC Transporter) است. یکی از این پروتئینها Multidrug Resistance Protein 1 (MRP1) می باشد. افزایش بیان ژن MRP1 در بسیاری از رده های سلولهای سرطانی مقاوم به دارو و نیزدر بعضی از سرطانها ثابت شده است. دو مکانیسم مطرح برای افزایش بیان ژن MRP1 شامل افزایش تعداد کپی این ژن و نیز وجود پلی مرفیسمهایی در این ژن می باشد. افزایش بیان ژن MRP1 در بیماران ایرانی لوکمیک مقاوم به درمان ثابت شده اما در هیچیک از این بیماران افزایش تعداد کپی ژن دیده نشده است. در این تحقیق ارتباط بین پلی مرفیسمهای ژنMRP1 وافزایش سطح بیان این ژن در گروهی از بیماران مبتلا به لوسمی حاد و مقاوم به درمان مورد مطالعه قرار گرفت. سطح بیان ژن MRP1، با روشReal-Time RT PCR کمّی و با استفاده از RNA استخراج شده از خون محیطی ۱۱۱ بیمار مبتلا به لوسمی حاد (۵۲ بیمار AML و ۵۹ بیمار ALL) تعیین و با نوع پاسخ به شیمی درمانی مقایسه شد. از بین بیماران فوق،۲٤ بیمار افزایش بیان این ژن را داشتند که در این دسته از بیماران و تعدادی ازافراد سالم پلی مرفیسمهای ژنMRP1 (G-260C,A-275G,G816A,T825C,G2168A,C2217T,G1299T,G2268A) با استفاده از متدSSCP و Sequencing بررسی شدند. نتایج نشان داد که افزایش سطح بیان ژنMRP1 با بروز مقاومت به شیمی درمانی ارتباط معنی داری دارد ولی هیچیک ازاین پلی مرفیسمها موجب افزایش بیان این ژن درگروه بیماران مقاوم به درمان نشدند. بنابراین احتمالاً عامل دیگری منجر به افزایش بیان این ژن در بیماران فوق می شود.

واژه‌های کلیدی: پلی مرفیسم، MRP1، MDR

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ٤٤٥٨٠٣٨٩ ، پست الکترونیکی: frouz@nigeb.ac.ir

مقدمه

مقاومت دارویی چند گانه نسبت به داروهای مختلف ضد سرطان یکی از مشکلات اساسی و عمده در درمان سرطان از جمله سرطان حاد خون می باشد. در این نوع مقاومت بیمار به طور همزمان به تعداد زیادی از داروهای شیمی درمانی که از نظر ساختار و عملکرد ارتباطی با هم ندارند مقاوم می شود (۱). داروهای سایتوتوکسیکی که اغلب به فراوانی در پدیده مقاومت چند دارویی حضور دارند عبارتنداز: محصولات طبیعی آمفی پاتیک و هیدروفوبیک

www.SID.ir

Archive of SID

مثل Taxanes (مانند Vinca – (Docetaxel,Paclitaxel Alkaloids (مانند (Vinblastine,Vincristine – Anthracyclines (مانند Doxorubicin,) - Daunorubicin Epipodophyllotoxins (مانند (Etoposide, Topotecan و Mitomycin C (۲).

عوامل متعددی در بروز این پدیده نقش دارند که از جمله آنها می توان به کاهش میزان دارو در داخل سلول، غیر فعال شدن آپوپتوزیس، فعال شدن مسیرهای دخیل در ترمیم DNA و خنثی شدن داروها در درون سلول اشاره کرد اما مهمترین دلیل این پدیده را می توان فعال شدن بیش از اندازه گروهی از ژنها دانست که پروتئین حاصل از آنها با دارا بودن خاصیت پمپی موجب خروج دارو از سلول می گردند. این پروتئینها که تحت عنوان ABC-transporters شناخته می شوند دارای گروههای متعددی هستند. خانواده Multidrug Resistance Protein (MRPیاABCC) دسته بزرگی از این پروتئینها می باشد و دارای ۹ زیر خانواده بوده که تاکنون ۷ عضو آن بخوبی شناخته شده اند. بسیاری از اعضای خانوادهMRP قابلیت انتقال داروها را دارا می باشند و احتمالاً نقش مهمی در مقاومت به دارو بر عهده دارند. یکی از شناخته شده ترین و معروف ترین جزء این خانواده MRP1 (NCBI-EF419769) می باشد (۳). سوبستراهای طبیعی MRP1، داروهای هیدروفوبیک آنیونی و خنثی و نیز ترکیبات این داروها با گلوتاتیون، سولفات و گلوکورونات می باشند. طبق گزارشات، این سوبستراها نقش فعال کننده در انتقال این داروها داشته و یا اینکه به عنوان یک سوبسترای هم انتقالی عمل می کنند (٤).

افزایش بیان ژنMRP1 در بسیاری ازرده های سلولی در in vitro مشخص شده و می تواند اساس فنوتیپ مقاومت دارویی درvivo in نیز باشد (۵). افزایش بیان می تواند ناشی از افزایش تعداد کپی ژن باشد و در بسیاری از رده های سلولی که مقاومت دارویی را نشان دادند، افزایش تعداد کپی ژن MRP1 (Gene Amplification) مشخص گردیده است.

در این تحقیق ما افزایش بیان ژن MRP1 با Real-Time PCR در بیماران لوکمیک مقاوم به درمان ثابت گردیده با توجه به اینکه در هیچکدام از بیماران افزایش تعداد کپی ژن MRP1 مشاهده نشد (٦ و ۷) مکانیسم مطرح دیگر جهت افزایش بیان ژن می تواند وجود پلی مرفیسمها باشد.

پلی مرفیسمها می توانند سبب تغییر سطح بیان ژن گردند (۸، ۹ و ۱۰). بر طبق تحقیقات صورت گرفته، پلی مرفیسمهای ژنMRP1 می توانند روی بیان آن تأثیر داشته باشند (۱۱، ۱۲، ۱۳ و ١٤).

دراین تحقیق نیز هدف بررسی نقش تعدادی از پلی مرفیسمهای شناخته شده ژنMRP1 بر روی افزایش بیان آن در بیماران لوکمیک مقاوم به درمان بود.

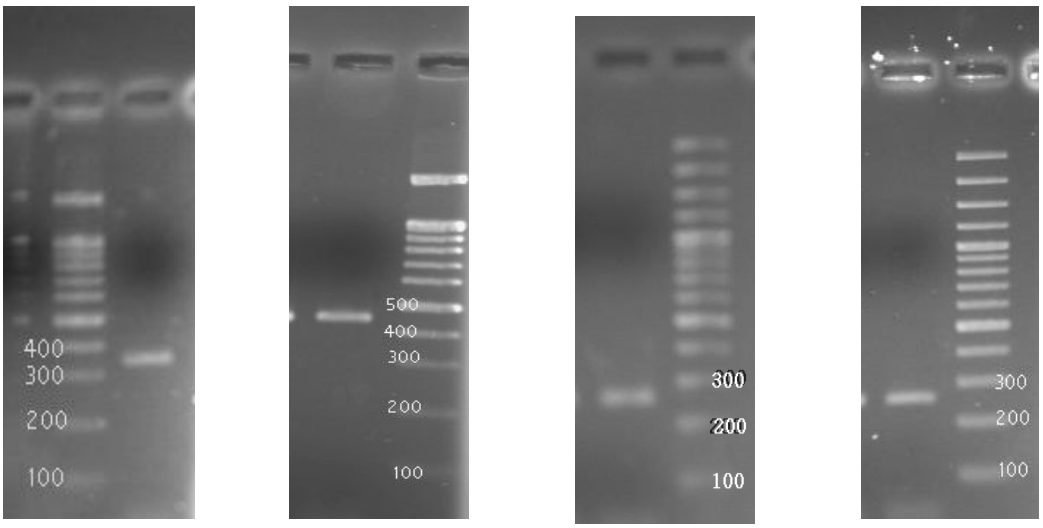
در صورت یافتن ارتباط بین بعضی پلی مرفیسمهای این ژن با مقاومت دارویی، احتمال وقوع مقاومت به شیمی درمانی قابل پیش بینی می شود. در این صورت با تشخیص به موقع مقاومت دارویی می توان درمان را به سمت داروهایی سوق داد که این نوع مقاومت در آنها بی اثر است و بدین وسیله می توان سطح درمان را ارتقاء بخشید و کیفیت زندگی و طول عمر بیماران را نیز افزایش داد.

مواد و روشها

سطح بیان ژنMRP1 با Real-Time RT- PCR در ۱۱۱ بیمار لوکمیک مورد مطالعه قرار گرفت. دسته ای از این بیماران پس از درمان با داروهای شیمی درمانی دچار عود مجدد بیماری شده بودند که از این بیماران ٢٤ مورد مقاوم به درمان شناخته شدند و سطح بیان بالایی از این ژن را داشتند (٦ و ۷). جهت بررسی SNP از خون محیطی این ٢٤ بیمارمقاوم به درمان استفاده شد. DNA ژنومی با استفاده از کیت Nucleose- DNA Prep از گلبولهای سفید خون محیطی بیماران استخراج شد.

www.SID.ir

Archive of SID



د ج ب الف

شکل۱-نتیجه الکتروفورز محصول واکنشهای PCR : پروموتر به طول bp ۲۵۰(الف) - اگزون۱۷به طول bp ۲۷۵(ب) - اگزون ۱۰ به طول bp ٤۳۵(ج) - اگزون۸ به طول bp ۳۵۰ (د) در همه موارد نشانگر مولکولی bp۱۰۰ بود.

مکان قرارگیری پلی مرفیسمهای بررسی شده به ترتیب زیر می باشد:

G816A,T825C در اگزون۸ * G1299T در اگزون۱۰ *
G2268A,G2168A,C2217T در اگزون۱۷- G-260C,A *
275G در پروموتر

از آنجا که پلی مرفیسمهای مورد نظر در چهار منطقه از ژن پراکنده بودند چهار جفت پرایمر برای تکثیر DNA ژنومی لازم بود که براساس توالی ژنومی ژن MRP1 که درGenBank ثبت شده بود،طراحی شدند. توالی پرایمرها، مقدار ترکیبات واکنش و برنامه PCR برای اگزونهای ۱۷،۱۰،۸ و پروموتر ژنMRP1 به ترتیب زیر بود:

اگزون ۸:

توالی پرایمر رفت:

5´CTGTGGTAGGGGGCTGCATC 3´

توالی پرایمر برگشت:

5CTGAAAGATCAAAGCCAAGGAGGG 3

اگزون ۱۰:

توالی پرایمر رفت:5´ TCCTGGGCAGACAGATAG 3´

توالی پرایمر برگشت:5´TGAACCACAGCCGGAACT 3´

اگزون۱۷:

توالی پرایمر رفت:

5CACCTCGTTCTCCATTTGCAACT 3´

توالی پرایمر برگشت:

5CGGCAACAGCTGACTGATTCAG 3´

پروموتور:

توالی پرایمر رفت: TCACTCAACCTCTCTGCAC ´
5´3

توالی پرایمر برگشت: CAGATCCTCCAAGGCTTAG´
5´3

مواد واکنش دهنده درPCR عبارت بودند از: ۱/۵واحد آنزیم تک پلیمراز(نوترکیبRoche)،۲۰۰میکرومولاراز هرdNTP (Roche)، ۱/۵ میلی مولار MgCl2، ۷ پیکومولاراز هر کدام از پرایمرها ، ۲۰۰ نانوگرمDNA الگو، بافر ۱۰X و ۱۰ درصد DMSO در حجم ۲۵ میکرولیتر.

www.SID.ir

Archive of SID

شرایط واکنش PCR برای تکثیراگزون ۸ شامل واسرشت سازی اولیه دردمای ۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه سپس واسرشت سازی در دمای ۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال ۵۸ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه و دمای طویل شدن ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، به تعداد ۳۵ دور و در انتها طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه.

شرایط واکنش PCR برای تکثیراگزون ۱۰ شامل واسرشت سازی اولیه در دمای ۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه سپس واسرشت سازی در دمای ۹٤ درجه سانتی گراد به مدت۵۰ ثانیه، دمای اتصال ۵٦ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه و دمای طویل شدن ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، بتعداد ۳۵ دور و در انتها طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه.

شرایط واکنش PCR برای تکثیر اگزون ۱۷ و پروموتر شامل واسرشت سازی اولیه دردمای ۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه سپس واسرشت سازی در دمای ۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال ۵۷ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه و دمای طویل شدن ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، به تعداد ۳۵ دور و در انتها طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه.

سپس محصولات PCR روی ژل آگارز۱/۵ درصد الکتروفورزشدند و باندهای مورد نظر پدیدار گشتند. در مرحله بعدی محصولات PCR بر روی ژل آکریل آمید با متد SSCP مورد مطالعه قرارگرفتند. برای انجام SSCP ابتدا محصولات PCR با بافر مخصوص بارگذاری (loading) مخلوط شده (فرمامید۹۵ درصد، NaOH ۱۰ CC، گزیلن سیانول ۰/۲۵ درصد، بروموفنل بلو ۰/۲۵ درصد) و در دمای۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه گذاشته شدند تا رشته ها واسرشته (دناتور) شوند سپس بلافاصله توسط یخ سرد شدند بعد از آن نمونه های آماده شده بر روی ژل آکریلامید که از قبل تهیه شده بود منتقل شدند. این ژل حاوی آکریلامید – بیس آکریلامید (به نسبت ۳۹ به ۱)، TBE 0/5X و گلیسرول ۵ درصد می باشد. برای قطعات DNA به طول ٤۳۵ bp از ژل ٦ درصد، برای قطعات به طول ۳۵۰bp از ژل ۸ درصد و برای قطعات به طول ۲۵۰bp و ۲۷۵bp از ژل ۱۰ درصد استفاده شد. سپس ژل در دمای٤ درجه سانتی گراد با ولتاژ ۲۰۰ ولت برای مدت ۲۰ ساعت الکتروفورز شد. پس از آن ژل با نیترات نقره رنگ آمیزی شد و باندهای DNA قابل مشاهده گردیدند.

موارد مشکوک که الگوی باندی متفاوتی داشتند جهت تعیین توالی فرستاده شدند ونتایج آن با توالیهای ثبت شده از ژنMRP1 در GenBank با استفاده از برنامه Sequencher Navigator و Chromas مقایسه و بررسی شدند.

نتایج

همان طور که در شکل ۱ ملاحظه می شود، الکتروفورز محصول واکنشهای PCR روی ژل آگارز۱/۵درصد، تکثیر قطعات مورد نظر را به طولهای: ۳۵۰bp * ٤۳۵bp * ۲۷۵bp * ۲۵۰bp به ترتیب برای اگزونهای ۸-۱۰-۱۷ و پروموتر نشان داد.

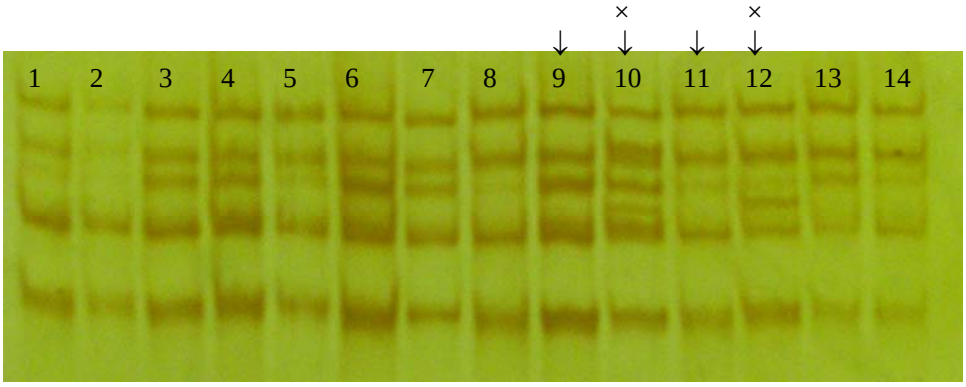
سپس بر روی محصولات PCR تکنیک SSCP صورت گرفت که نمونه هایی ازآن در شکلهای ۲ الی۵ آمده است. نمونه های مشکوک با فلش مشخص شده اند و مواردی که در آن SNP دیده شد با ضربدر مشخص گردیده است.

بعد از فرستادن نمونه های مشکوک برای تعیین توالی، نتایج حاصل از آن با برنامه نرم افزاری (version2.33) Chromas و Sequencher (version4.2) بررسی شدند.

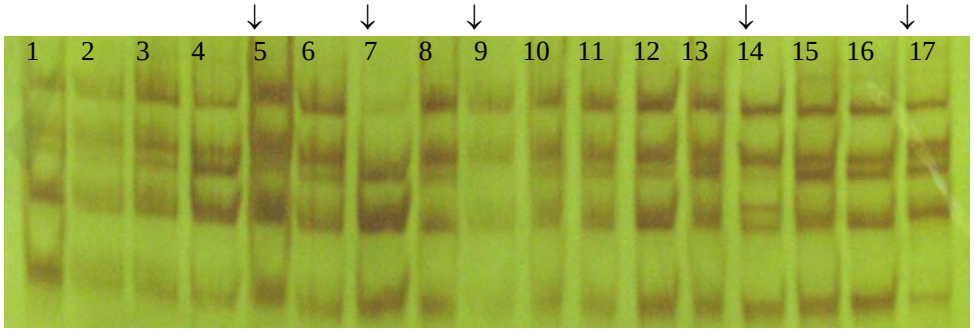
بعد از بررسی و آنالیز نتایج تعیین توالی ، هیچ کدام ازپلی مرفیسمهای مورد نظر در نمونه ها یافت نشد ولی یکSNP در موقعیت G2343A در اگزون۱۷دو نمونه بیمار دیده شد (شکل٦).

www.SID.ir

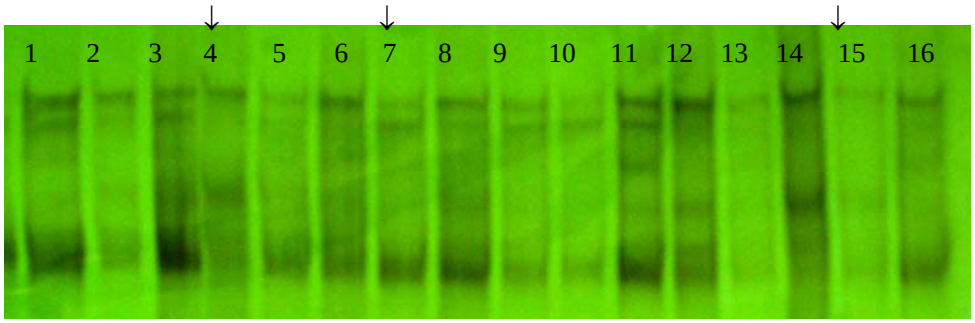
Archive of SID



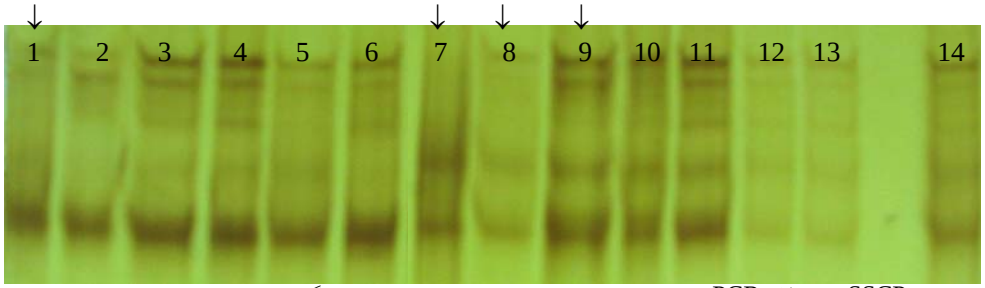
شکل۲- نمونه ای ازSSCP محصولات PCR اگزون۱۷. نمونه هایی که با فلش مشخص شده اند الگوی باندی متفاوتی با سایر نمونه ها داشتند و برای تعیین توالی انتخاب شدند.پس از بررسی نتایج تعیین توالی، دو مورد که با علامت ضرب در مشخص شده اند دارای یک پلی مرفیسم بودند.



شکل۳–نمونه ای ازSSCP محصولاتPCR اگزون ۸. نمونه هایی که با فلش مشخص شده اند الگوی باندی متفاوتی با سایر نمونه ها داشتند و برای تعیین توالی انتخاب شدند..



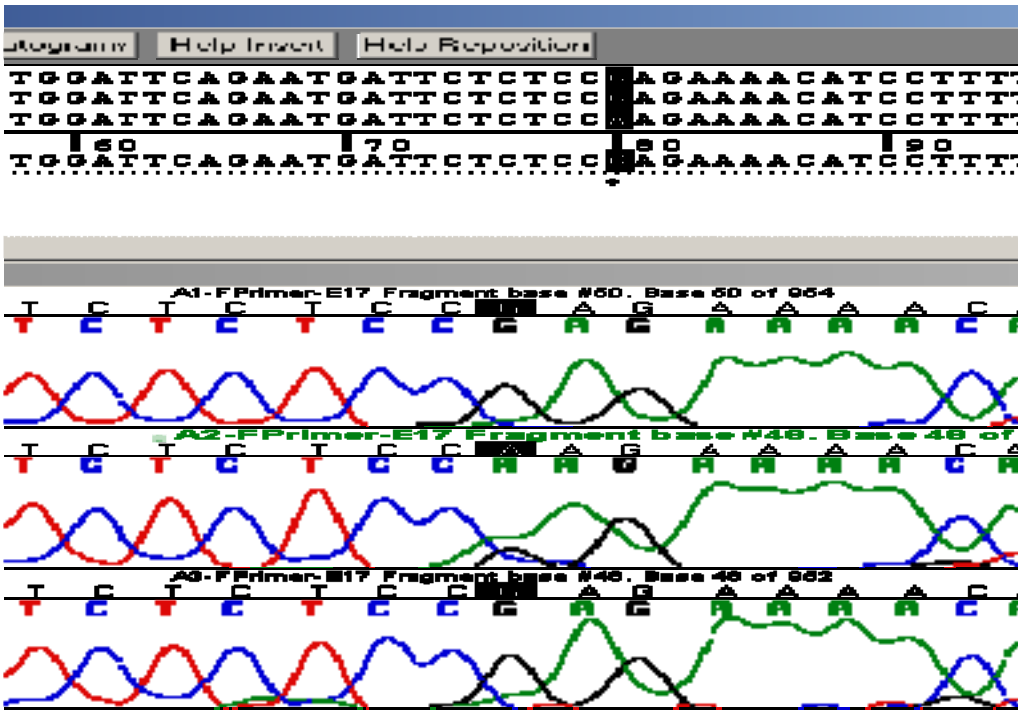
شکل٤– نمونه ای ازSSCP محصولاتPCR اگزون۱۰. نمونه هایی که با فلش مشخص شده اند الگوی باندی متفاوتی با سایر نمونه ها داشتند و برای تعیین توالی انتخاب شدند.



شکل۵–نمونه ای ازSSCP محصولاتPCR پروموتر. نمونه هایی که با فلش مشخص شده اند الگوی باندی متفاوتی با سایر نمونه ها داشتند و برای تعیین توالی انتخاب شدند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٦- قسمتی از نتیجه تعیین توالی که SNP در آن دیده شد.این SNP در موقیت G2343A در اگزون ۱۷ دو نمونه بیمار دیده شد

بحث

اساس ژنتیکی مقاومت دارویی به طور گسترده در شرایط in vivo و in vitro مورد مطالعه قرار گرفته است. نظرات متنوعی در زمینه عامل ایجاد کننده و گسترش دهنده مقاومت دارویی در سلول های سرطانی وجود دارد. فرضیه رایج در این زمینه، فرضیه جهش ژنی– مقاومت دارویی (gene mutation-drug resistance) می باشد. بر طبق این فرضیه جهش در ژنهای عامل ایجاد مقاومت دارویی موجب ایجاد تغییرات در ساختار رونوشت یا پایدارتر شدن آن شده و در نهایت با فعال تر شدن این پروتئینها، فنوتیپ مقاومت پدید می آید. با این حال فرضیه جهش ژنی – مقاومت دارویی قادر به توجیه نرخ بالای پیدایش مقاومت دارویی در سلولهای سرطانی نیست.

مکانیسم دوم مطرح دراین زمینه، آنیوپلوئیدی (Aneuploidy) یا تغییرات کروموزومی در سلولهای سرطانی است. در این حالت تغییرات کروموزومی موجب پدید آمدن مقاومت می گردد. جور شدن نامناسب کروموزومهای نرمال می تواند تعداد کپی هزاران ژن موجود در آن را بطور همزمان تغییر دهد. تغییر همزمان تعداد کپی این ژنها در نهایت منجر به پیدایش فنوتیپهای پیچیده ای همچون مقاومت دارویی می شود. در واقع تغییرات کروموزومی که موجب تقویت ژنی و در پی آن افزایش بیان ژنهای مقاومت می شوند در بسیاری از رده های سلولی مقاوم دیده شده است. از دیگر سو هرگاه ژنهای ABC- transporter به جای دیگری در ژنوم منتقل شوند، ممکن است در کنار پروموترهای فعال قرار گرفته و افزایش بیان پیدا کنند. بنابراین تغییرات کروموزومی می تواند با افزایش تعداد کپی ژنهای مقاومت و یا با تغییر در

www.SID.ir

Archive of SID

کنترل بیان ژنها موجب پدید آمدن مقاومت دارویی شود (۱۵ و ۱٦).

بر اساس مطالعه صورت گرفته بر روی بیماران ایرانی، در هیچ کدام از بیماران، چه آنهایی که بیان MRP1 در آنها نرمال بود و چه آنهایی که افزایش بیان MRP1 داشتند، افزایش تعداد کپی ژن MRP1 دیده نشد. این پدیده نشان می دهد که هر چند در برخی از بیماران افزایش بیان MRP1 دیده می شود، اما این افزایش بیان ناشی از افزایش تعداد کپی ژن MRP1 در سطح ژنوم نیست (۷).

علت دیگر تغییر در بیان ژنها می تواند وجود پلی مرفیسم در ژن مربوطه باشد. بررسی پلی مرفیسمهای ژنMRP1 و ارتباط دادن آن با بیان این ژن در لوسمی کار بسیار جدیدی است که بتازگی مورد توجه قرار گرفته و در ایران هم برای اولین بار انجام شده است . در واقع نظر بر این است که شاید وجود پلی مرفیسمهای خاصی در این ژن روی میزان بیان آن تأثیر داشته باشند. دراین بررسی پلی مرفیسمهای :

G816A, T825C, G2168A, G2268A,G1299A C2217T, G-260C, A-275G, که در مواردی به عنوان عاملی در افزایش بیان ژنMRP1 در رده های سلولی ویا بیماران سرطانی عنوان شده اند در ۲٤ بیمار لوکمیک ایرانی که مقاوم به شیمی درمانی بودند و افزایش بیان ژنMRP1 با Real Time PCR در آنها مشخص شده است بررسی کردیم. هیچ کدام از این پلی مرفیسمها در بیماران یافت نشد ولی دردو بیمار پلی مرفیسم G2343A در اگزون ۱۷ دیده شد که تاکنون گزارش نشده است . مجموعاً به نظر می رسد که در بیماران ایرانی وجود پلی مرفیسم خاصی موجب افزایش بیان ژن MRP1 و در نتیجه مقاومت به درمان نمی شود. پلی مرفیسم G2343A نیاز به بررسی بیشتری دارد وباید میزان فراوانی آن در جمعیت ایرانی سالم و افراد بیمار کنترل شود تا بتوان ارتباط آن با افزایش بیان ژنMRP1 وایجاد مقاومت دارویی را نشان داد.

منابع

1- Liscovitch, M. and Y. Lavie (2002). "Cancer multidrug resistance: a review of recent drug discovery research. IDrugs 5(4): 349-55

2- Kuwano M, Toh S and et al. (1999) Multidrug resistance-associated protein subfamily transporters and drug resistance. Biochim Biophys Acta, 1461: 359-76.

3- Polgar O and S.E. Bates(2005) ABC transporters in the balance: is there a role in multidrug resistance?Biochemical Society Transactions 33, part1:241-245.

4-Borst P, Evers R, Kool M, Wijnholds J(1999) The multidrug resistance protein family. Biochemica et Biophysica Acta 1461: 347-57.

5- Breuninger, L. M., S. Paul, et al (1995) Expression of multidrug resistance- associated protein in NIH/3T3 cells confers multidrug resistance associated with increased drug efflux and altered intracellular drug distribution. Cancer Res 55(22): 5342-7.

6- Akbari S, Mahjoubi F, and et al (2007)The role of Multidrug Resistance- Associated Protein 1 (MRP1) expression in Iranian pediatric acute leukemia patients: impact on treatment outcome. Modern Genetics Journal 2(2): 67-73.

7-Golalipour M, Mahjoubi F and et al. (2007) Gene dosage is not responsible for the upregulation of MRP1 gene expression in adult leukemia patients. Arc. Med. Res. Apr, 38: 297-304.

8-Barkurs,Shastry(2003)SNP and haplotypes genetic markers for disease and drug response. Internal Journal of molecular medicine11:379-382.

9- Chiharu Nishioka ,Toshiyoki Sakaeda , Takao Tamura(2004) MDR1,MRP1 and MRP2 genotypes and in vitro chemosensitivity in Japanese patients with colorectal adenocarcinomas. Kobe J.Med.Sic50:181-188.

10-Lockhart A.Craig,Rommel G.Tirona and Richard B.Kim(2003) Pharmacogenetics of ATP-binding cassette transporters in cancer and

11-Moriya Yuka,Tsutomu Nakamura, Masanori Horinouchi, Tamura (2002) Effects of polymorphisms of MDR1, MRP1, MRP2 Genes on their mRNA expression levels in Duodenal Entrocytes of healthy Japanese subjects.BIOL PHARM 25:1356-1359.

www.SID.ir

Archive of SID

12-Obata H,Yahata T,Quan J ,Sekine M ,Tanaka K(2006) Association between single nucleotide polymorphisms of drug resistance-associated genes and response to chemotherapy in advanced ovarian cancer.Anticancer Research26 (3B): 2227-2232.

13- Sisodiya S.M.,W.R Lin, B.N. Harding, M.V. Squier, M Thom (2002) Drug resistance proteins in epilepsy :expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy.BRAIN J 125:22-31.

14- Wang Zihua,Puiltoon Sew,Helen Ambrose,Stephen Ryan,Sammuel S –Chong (2006) Nucleotide sequence analysis of the MRP1gene in four populations suggest negative selection on its coding region.BMC GENOMICS 7:111-128.

15-Doubre H., D. Cesari et al (2005) Multidrug resistance-associated protein (MRP1) is , overexpressed in DNA aneuploid carcinomatous cells in non-small cell lung cancer. Int J Cancer 113(4): 568-74.

16-Duesberg Peter , Reinhard Stindl and Ruediger Hehlmann(2001)Origin of multidrug resistance in cells with and without multidrug resistance genes:Chromosome reassortments catalyzed by aneuploidy.PNAS 98 (20): 11283–11288.

www.SID.ir

Archive of SID

Study of the Possible Correlation between MRP1 Gene Polymorphisms (C2217T, G2168A, T825C, G816A, G1299, G-260C, A-275G, G2268A) and its mRNA Expression in Acute Leukemic Patients with MDR Phenotype

Rezvani S. [1], Mahjoubi F.[1], Montazeri M.[1], and Alimoghaddam K.[2]

[1] Clinical Genetics Dept., National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, I.R. of IRAN

[2] Hematology, Oncology and Stem Cell Research Center, Medical Sciences,University of Tehran, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

Many cancer cells during the chemotherapy procedure become resistance to several drugs the phenomenon which is called multidrug resistance (MDR). One of the important mechanisms responsible for MDR is the over expression of ABC transporter genes. One of the most extensively studied genes involved in MDR is multidrug resistance protein 1 (MRP1). Over expression of this gene has been detected in many cell lines and cancer cells with MDR phenotype. Two known mechanism inducing over expression of this gene is gene amplification and the presence of SNPs. We have shown that the over expression of this gene is associated with the MDR in Iranian leukemic patients. However, MRP1 gene amplification could not be identified in any of those patients. We aimed to investigate the possible association between the expression level of MRP1 and occurrence of MDR in leukemic patients. Furthermore, we wished to test the hypothesis that MRP1 polymorphisms would be predictive of MDR in patients with acute leukemia. mRNA level of MRP1 was determined in 111 patients with acute leukemia (including 52 patients with AML and 59 patients with ALL) by quantitative real time RT–PCR and compared to the type of response to chemotherapy. We typed G816A, T825C, G2168A, C2217T, G2268A, G1299T,G-260C, A-275G MRP1 polymorphisms in 24 patients classified as drug-resistant and normal control. We found that high expression of MRP1 was associated with MDR phenotype in both AML and ALL patients. There was no effect of a particular genotype on the expression level of the MRP1 gene. This could show the lack of dependency of any of these genotypes on the chemosensivity in this group of patients.

Keywords: MRP1, MDR, Polymorphism

www.SID.ir