مقـــاله تحقیقی

اطلاعات دموگرافیک و بالینی افراد مبتلا به سرطان ریه سلول غیر کوچک و ارتباط آن با نرخ جهش های ژن EGFR در جمعیت ایرانی

مهین یحیائی[1]، ایمان سلحشوری فر[2]، شیوا ایرانی[3]، سید محمد اکرمی[4*]

۱. دکترای تخصصی زیست شناسی گرایش سلولی و مولکولی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات.

۳. دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات.

۴. دانشیار گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نشانی نویسنده مسئول:

گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، خیابان پورسینا، تهران، ایران.

نشانی الکترونیک:

akramism@tums.ac.ir

چکیده

زمینه: جهش های ژن گیرنده فاکتور رشد اپیتلیالی (EGFR) عمدتاً در اگزون های ۱۸ تا ۲۱ مشاهده می گردد. بررسی موتاسیون‌ها در روند پاسخ به درمان بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول غیر کوچک (NSCLC) نسبت به داروهای مهارکننده تیروزین کینازی بسیار حائز اهمیت بوده و فراوانی جهش‌های ژن EGFR در بیماران مبتلا به NSCLC در مناطق جغرافیایی مختلف جهان متفاوت است. هدف مطالعه حاضر بررسی شایع ترین جهش‌های ژن EGFR بیماران مبتلا به سرطان ریه درجمعیت ایرانی می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه اگزون های ۱۸ تا ۲۱ ژن EGFR ۱۶۰ بیمار مبتلا به NSCLC مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ابتدا بر روی DNA استخراج شده از بلوک پارافینی، PCR و سپس تعیین توالی انجام و نتایج آنها مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت.

یافته ها: نسبت شیوع NSCLC بیماران مرد به زن حدود ۲ به ۱ بود و تفاوت چندانی از نظر سن در بیماران مرد و زن وجود نداشت (P=۰/۰۶۵) در حالی که در متغیر سیگار کشیدن اختلاف قابل ملاحظه ایی یافت شد (مردان ۷۷/۸٪ و زنان ۱۷/۳٪). میزان فراوانی برای جهش های اگزون های ۱۹ و ۲۱ ژن EGFR، برابر با ۱۰/۶۳٪ و برای اگزون‌های ۱۸ و ۲۰ هیچ جهشی مشاهده نشد. از طرفی زنان در مقایسه با مردان نسبت به جهش‌های EGFR حساس‌تر بوده (۱۷/۳٪ در مقابل ۷/۴٪) اما از نظر آماری مقادیر بدست آمده معنی دار نبود (P=۰/۰۹۷). در مطالعه حاضر ۳ جهش شامل حذف‌های (c.۲۲۳۵_۲۲۴۹del) و (c.۲۲۴۰_۲۲۵۷del) در اگزون ۱۹ و جهش نقطه ای (c.۲۵۷۳T>G) p.L۸۵۸R در اگزون ۲۱ به ترتیب با فراوانی۵۸/۸٪، ۲۳/۵٪ و ۱۱/۸٪ مشاهده شد. همچنین، یک جهش جایگزینی c.۲۲۵۳A>G برای اولین بار به عنوان یک جهش جدید یافت شد که نادرترین جهش با فراوانی ۵/۸٪ بود. نکته قابل توجه مشاهده یک رابطه منفی بین میزان موتاسیون در ژن EGFR و سیگاری بودن افراد مبتلا می‌باشد که با توجه به بررسی سایر مطالعات کشورهای مختلف می‌توان تنوع در قومیت افراد را به عنوان علت این یافته ها فرض کرد.

نتیجه گیری: وقوع جهش EGFR تا حد زیادی در بین بخش های مختلف ایران متفاوت است، که احتمالاً به دلیل تفاوت در قومیت، میزان مصرف سیگار و جنسیت بیماران می باشد.

واژگان کلیدی: گیرنده فاکتور رشد اپیتلیالی (EGFR)، سرطان ریه سلول غیر کوچک (NSCLC)، جهش های ژن، جمعیت ایرانی

مقدمه

بر اساس جامعه سرطان آمریکا، سرطان ریه دومین سرطان شایع و عامل اصلی مرگ و میر سرطان با حدود ۲۲۸۸۲۰ مورد جدید و تقریباً ۱۳۵۷۲۰ مرگ سالیانه در مردان و زنان است (۱، ۲). با توجه به این روند شمار افراد مبتلا تا سال ۲۰۳۰ به ۲/۸۹ میلیون مورد افزایش می‌یابد (۳). شایع ترین شکل سرطان ریه، NSCLC است که ۸۴ درصد از سرطان‌های ریه را با نرخ بقای متفاوت که خود وابسته به مرحله بیماری می‌باشد به خود اختصاص داده است (۴). در حال حاضر روش های مختلف درمانی با رویکرد ها و نحوه پاسخ دهی متفاوت وجود دارد (۴، ۵).

اطلاع از مسیرهای سیگنال‌دهی سلولی که در بقای سلول‌های سرطانی دخیل هستند به شناسایی اختلالات ژنتیکی در مسیر تومورزایی کمک کرده، در نتیجه در درمان هدفمند استفاده می‌شود (۶ ۷). یکی از ژن‌های درگیر در سرطان ریه گیرنده غشایی تیروزین کینازی فاکتور رشد اپیتلیالی (EGFR) می باشد که به طور طبیعی در بافت های نرمال بیان می شود اما در افراد مبتلا دارای جهش کسب عملکرد (افزایش فعالیت) شده که نسبت به داروهای شیمی درمانی حساسیت کمتری از خود نشان داده و سبب متاستاز به غدد لنفاوی می شوند (۸). از این رو شناخت موتاسیون های EGFR برای بهبود و افزایش بقای بیماران با استفاده از درمان‌های هدفمند حائز اهمیت می‌باشد (۹).

در تحقیقات گذشته بیان و فعالیت بیش از حد ژن EGFR را در ۸۹٪-۲۵٪ از NSCLC گزارش کرده اند که اغلب ناشی از انواع مختلف جهش های موجود در اگزون های ۱۸، ۱۹ و ۲۱ یا تکثیر کل ژن می باشد (۹). این جهش ها سبب فعال شدن مسیرهای انتقال سیگنال صرف نظر از وجود لیگاندهای خارج سلولی شده و متعاقبا منجر به تکثیر سلولی یا فعالیت های ضد آپوپتوز میگردد. حدود ۱۰ درصد از بیماران دارای جهش در مرحله پیشرفته NSCLC، به درمان هدفمند مهارکننده های تیروزین کینازی پاسخ می دهند (۱۰). سه نسل از مهارکننده های تیروزین کینازی EGFR در حال حاضر برای درمان در بالین مورد استفاده قرار می گیرند که نتایج بدست آمده از نظر اثر بخشی و ایمنی در مقایسه با درمان های عمومی و استاندارد شیمی درمانی کاملا متمایز است. گیرندگان داروهای هدفمند به شکل های متفاوتی نسبت به درمان مهار کننده های تیروزین کینازی ازجمله ارلوتینیب (Tarceva) و جفیتینیب (Iressa) پاسخ می دهند که می تواند دلیلی بر متفاوت بودن افراد از نظر قومیت، جنسیت و سیگار کشیدن آن ها باشد (۷). مطالعه حاضر جهت ارزیابی فراوانی موتاسیون های اگزون های ۱۸، ۱۹، ۲۰ و ۲۱ ژن EGFR در جمعیت ایرانی تعریف شده است.

روش کار

۱. نمونه گیری

در این مطالعه نمونه‌های بافت تومورال ۱۶۰ بیمار مبتلا به NS-CLC (تومور با منشأ اولیه ریه) از مراکز تخصصی پاتولوژی و جراحی سرطان از آذر ۱۳۹۱ تا فروردین ۱۳۹۵ جمع آوری و پرسشنامه های پزشکی، مشخصات بالینی، اطلاعات پاتولوژی، دموگرافیک و درمانی بیماران بررسی گردید (جدول شماره ۱). تایید کفایت نمونه های بافتی و تشخیص بافت شناسی آدنوکارسینوما با رنگ آمیزی هماتوکسیلین/ائوزین اسلایدها (H&E) و رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی انجام و توسط پاتولوژیست تعیین grade شد. نتیجه پاتولوژی همراه با یافته های بالینی و گزارش سی تی اسکن توسط آنکواوژیست مورد بررسی و مرحله یا Stage بیماران مشخص شد. سپس بافت بلوک پارافینی دارای تومورهای اولیه ریه توسط میکروتوم برش خورده و با استفاده از زایلن، پارافین زدایی و استخراج DNA از بافت انجام گردید. نمونه کنترل مطالعه، شامل نمونه های بافتی با نتایج پاتولوژی منفی از نظر بدخیمی بود.

۲. استخراج DNA، واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) و تعیین توالی

جهت استخراج بافت تومورال از FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit استفاده شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده توسط طیف سنج Nan-oDropND-۱۰۰۰ و ژل الکتروفورز مورد سنجش قرارگرفته و نمونه‌ها در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. توالی ژنومی EGFR از پایگاه داده www.ensemble.org بدست آمده و پرایمرهای اختصاصی برای اگزون های ۱۸، ۱۹، ۲۰ و ۲۱ (جدول شماره ۲) با استفاده از نرم افزار آنلاین پرایمر ۳ (http://bioin-fo.ut.ee/primer/۳) طراحی و در نهایت با استفاده از پایگاه داده NCBI-Primer blast (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) اختصاصی بودن پرایمر ها بررسی شد (۱۳،۱۲،۱۱). واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystems, GeneAmp ۲۷۲۰, Singa-pore) تحت شرایط به شرح ذیل انجام و متعاقبا محصول PCR جهت تعیین توالی به روش سنگر سکانس به خارج از کشور (برای افزایش کیفیت در خوانش سکانس) ارسال شد:

- دناتوره سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه
- ۳۵ سیکل شامل ۳ مرحله دناتوره سازی در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، annealing در دمای ۶۱ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طویل شدن (extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه.

● طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۷ دقیقه.

۳. تحلیل آماری

طبق مطالعات گذشته و بررسی های انجام شده مطالعه حاضر بر روی جهش های اصلی (driver) ژن های دخیل در ایجاد سرطان ریه انجام و جهت بررسی آماری از نرم افزار SPSS ver.19(IBM Corp., Armonk, NY, USA) استفاده شد. تفاوت بین گروه‌ها از نظر متغیرهای کمی و دسته بندی به ترتیب با استفاده از آزمون های t-test و Chi-Squared(x^2) ارزیابی شد. تمام آزمایش ها دو طرفه بوده و $P < ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

۱. بررسی داده های مورد مطالعه

جدول شماره ۱ شامل اطلاعات پاتولوژی، دموگرافیک و درمانی ۱۶۰ بیمار NSCLC با میانگین سنی (۱۲/۳ ±) ۶۰/۴۳ سال می باشد که تمامی بیماران در مرحله پایانی بیماری (مرحله۴) تشخیص داده شده‌اند. از بین بیماران، ۱۰۸ مورد (۶۷/۵٪) مرد بودند و ۹۳ مورد (۵۸/۱٪) در طول زندگی خود سیگار (±مواد مخدر) مصرف نموده‌اند. ۳۴ بیمار (۲۱/۳٪) تحت درمان داروهای هدفمند مهارکننده های تیروزین کینازی قرار گرفته اند و میانگین میزان بقا (۱۱/۸۷±) ۱۴/۰۶ ماه بوده و ۹۱ نفر (۵۶/۹٪) تا زمان مطالعه زنده مانده اند.

توزیع سن، میزان بقا و مصرف سیگار بین بیماران مرد و زن در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. میانگین سنی بیماران مرد و زن به ترتیب (۱۲/۲۱ ±) ۶۱/۶۲ و (۱۱/۳۶ ±) ۵۷/۹۶ سال (P ۰/۰۶۵ =) و میزان بقا به ترتیب (۱۱/۸۰ ±) ۱۴/۵۱ و (۱۲/۰۹ ±) ۱۳/۱۲ ماه (P = ۰/۴۹۳) می باشد (جدول شماره ۳-الف). از نظر مصرف سیگار ۷۷/۸٪ از مردان و ۱۷/۳٪ از زنان مصرف کننده بودند (OR (۹۵٪ CI) = ۱۶/۷۲ (۷/۱۵-۳۹/۱۱); $P < ۰/۰۰۱$) (جدول شماره ۳-ب). علی رغم نبودن اختلاف معنی دار

جدول شماره ۱: اطلاعات پاتولوژی، دموگرافیک و درمانی بیماران

متغیرها	زیر گروه	(٪) فراوانی
سن (سال)	(انحراف معیار ±) میانگین	٦٠/٤٣ (± ١٢/٣)
جنسیت	مرد	١٠٨ (٦٧/٥)
	زن	٥٢ (٣٢/٥)
(مواد مخدر ±) سیگاری	بله	٩٣ (٥٨/١)
	خیر	٦٧ (٤١/٩)
درمان با مهارکننده های تیروزین کینازی	بله	٣٤ (٢١/٣)
	خیر	١٢٦ (٧٨/٨)
میزان بقا (ماه)	(انحراف معیار ±) میانگین	١٤/٠٦ (± ١١/٨٧)
وضعیت بقا	زنده ماندن	٩١ (٥٦/٩)
	مرگ	٦٩ (٤٣/١)

جدول شماره ۲: توالی پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه

Genes	Primer type	Primer sequence
Exon 18	F	CAA GTG CCG TGT CCT GGC ACC CAA GC
	R	CCA AAC ACT CAG TGA AAC AAA GAG
Exon 19	F	CAGCAATATCAGCCTTAGGTGC
	R	AGCAGGGTCTAGAGCAGAGCAG
Exon 20	F	CCATGAGTACGTATTTTGAAACTC
	R	CATATCCCCATGGCAAACTCTTGC
Exon 21	F	CTA ACG TTC GCC AGC CAT AAG TCC
	R	GCT GCG AGC TCA CCC AGA ATG TCT GG

F: forward primer, R: reverse primer

جدول شماره ۳: توزیع سن، مدت بقا، و مصرف سیگار بین بیماران و ارتباط سیگار کشیدن با مدت زمان بقا

الف) تفاوت های بین بیماران مرد و زن در متغیرهای سن و میزان بقا					
متغیر	زیر گروه	تعداد بیماران	میانگین	انحراف معیار	P-Value
سن	مرد	۱۰۸	۶۱/۶۲	۱۲/۲۱	۰/۰۶۵
	زن	۵۲	۵۷/۹۶	۱۱/۳۶	
میزان بقا	مرد	۱۰۸	۱۴/۵۱	۱۱/۸۰	۰/۴۹۳
	زن	۵۲	۱۳/۱۲	۱۲/۰۹	
ب) ارتباط بین جنسیت و مصرف سیگار (± مواد مخدر) در بیماران					
جنسیت	(٪) تعداد سیگاری	(٪) تعداد غیر سیگاری	OR (CI ٪ ۹۵)		P-Value
مرد	۸۴ (۷۷/۸)	۲۴ (۲۲/۲)	۱۶/۷۲ (۷/۳۹-۱۵/۱۱)		< ۰/۰۰۱*
زن	۹ (۱۷/۳)	۴۳ (۸۲/۷)			
پ) تفاوت های بین همه بیماران و همچنین بین بیماران مرد و زن در متغیر سیگار کشیدن					
همه بیماران					
متغیر	زیر گروه	تعداد بیماران	میانگین	انحراف معیار	P-Value
مصرف سیگار (± مواد مخدر)	بله	۹۳	۱۵/۵۴	۱۲/۳۷	۰/۰۵۸
	خیر	۶۷	۱۲/۰۰	۱۰/۹۱	
بیماران مرد					
متغیر	زیر گروه	تعداد بیماران	میانگین	انحراف معیار	P-Value
مصرف سیگار (± مواد مخدر)	بله	۸۹	۱۰/۳۲	۶/۲۱	۰/۰۱۲*
	خیر	۱۹	۱۵/۴۰	۱۲/۵۲	
بیماران زن					
متغیر	زیر گروه	تعداد بیماران	میانگین	انحراف معیار	P-Value
مصرف سیگار (± مواد مخدر)	بله	۴	۱۳/۱۹	۱۰/۵۳	۰/۸۸۳
	خیر	۴۸	۱۳/۱۹	۱۲/۳۰	
د) ارتباط بین سیگار کشیدن و میزان بقا در همه بیماران					
مصرف سیگار	(٪) تعداد زنده ها	(٪) تعداد مرده ها	OR (CI ٪ ۹۵)		P-Value
بله	۴۲ (۴۵/۲)	۵۱ (۵۴/۸)	۳/۳۰ (۱/۶-۶۷/۶۷)		< ۰/۰۰۱*
خیر	۴۹ (۷۳/۱)	۱۸ (۲۶/۹)			

* P-Values < ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شده است.

مابین میزان بقا و مصرف سیگار در کل بیماران و بیماران زن (به ترتیب P=۰/۰۵۸ و P=۰/۸۸۳)، اختلاف قابل ملاحظه ایی بین میزان بقا و مصرف سیگار در مردان (P=۰/۰۱۲) مشاهده شد (جدول شماره ۳-پ). در جدول شماره ۳-د رابطه بین سیگار کشیدن و میزان بقا در کل بیماران نشان داده شده است. علاوه بر این، ۵۴/۸٪ از بیماران با سابقه مثبت از نظر مصرف سیگار فوت کردند این در حالی است که میزان مرگ و میر در بیماران بدون سابقه مصرف سیگار ۲۶/۹٪ می باشد (OR (۹۵٪CI) = ۳/۳۰ (۱/۶۷- ۶/۶۷); P = ۰/۰۰۱)

۲. جهش های EGFR

در مطالعه حاضر، به بررسی کلیه جهش ها در اگزون‌های ۱۸ الی ۲۱ ژن EGFR در ۱۶۰ بیمار ایرانی در مرحله ۴ بیماری پرداخته شد. در اگزون های ۱۸ و ۲۰ هیچ جهشی یافت نشد ولی انواع مختلفی

از جهش ها در اگزون‌های ۱۹ و ۲۱ شناسایی شد (جدول شماره ۴- الف) (شکل شماره ۱ و ۲).

در اگزون ۱۹، سه جهش شامل: ۱) c.۲۲۳۵_۲۲۴۹ Del GGAATTAAGAGAAGC در ۱۰ بیمار (۶/۵٪)، ۲) c.۲۲۴۰_۲۲۵۷DelTAAGAGAAGCAA-CATCTC در ۴ بیمار (۲/۵٪) و ۳) c.۲۲۵۳A > G در یک بیمار (۰/۶٪) و در اگزون ۲۱ تنها یک جهش c.۲۵۷۳T > G(p.L۸۵۸R در ۲ بیمار (۱/۳٪) مشاهده شد. مطابق جدول شماره ۴-ب در زنان مبتلا به NSCLC افزایش جزئی فراوانی جهش در اگزون های مورد مطالعه EGFR نسبت به مردان مشاهده شد، اگرچه از نظر آماری معنی دار نبود (P = ۰/۰۹۷). یک نتیجه جالب در مطالعه صورت گرفته ارتباط معکوس معنادار بین سیگار کشیدن و کاهش نرخ جهش در اگزون های مورد مطالعه ژن EGFR در بیماران NSCLC بود (OR (۹۵٪ CI) = ۰/۱۳؛ P =۰/۰۰۲ (۰/۴۶- ۰/۰۴-) (جدول شماره ۴-پ).

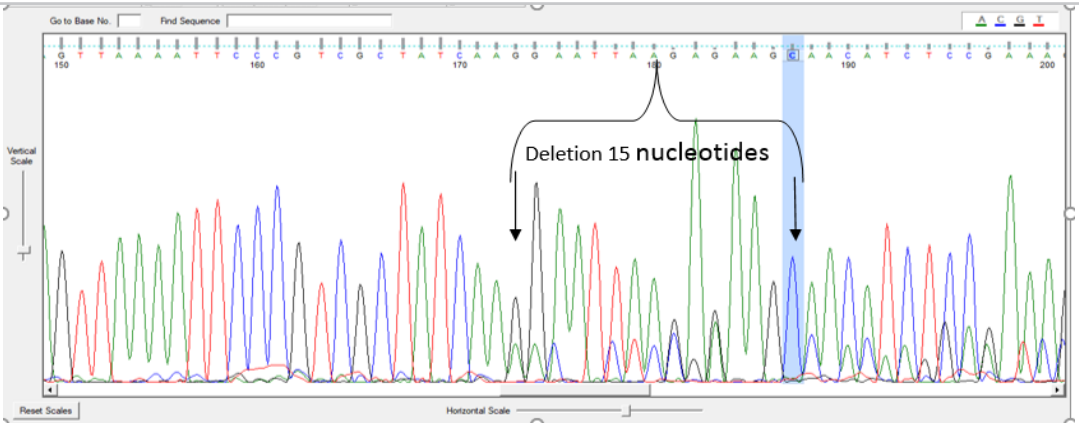
بحث

میزان بروز مرگ و میر سرطان ریه در مناطق مختلف جغرافیایی به طور قابل توجهی متفاوت است. سرطان ریه چهارمین و یکی از شایع ترین سرطان ها و دومین عامل مرگ و میر سرطان بعد از سرطان معده در ایران است (۱۴). اکثر بیماران NSCLC در ابتدای تشخیص دارای متاستاز یا پلورال افیوژن هستند (۱۵). تشخیص بیماری سرطان در مراحل آخر، جراحی یا مقاومت به شیمی درمانی سیستمیک سبب تغییر رویکرد درمان به سمت داروهای هدفمند به تنهایی یا در ترکیب با شیمی درمانی شده است. یکی از ژن های مورد هدف این داروها EGFR است. این ژن به عنوان یک انکوژن حیاتی در جنبه های مختلف تومورزایی NSCLC از جمله تکثیر، رگزایی، متاستاز، مهار آپوپتوز و مقاومت شیمیایی در بیماران

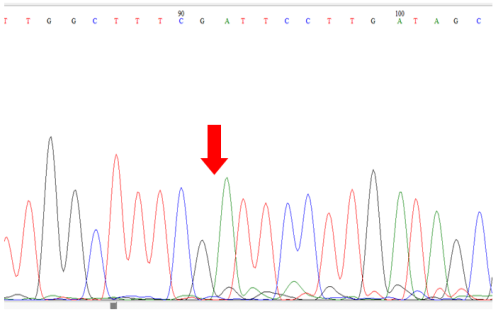
جدول شماره ۴: فراوانی جهش های EGFR ، و ارتباط آنها با متغیرهای جنسیت و سیگار کشیدن

الف) فراوانی جهش در چهار اگزون مورد مطالعه شامل اگزون های ۱۸، ۱۹، ۲۰ و ۲۱				
انواع جهش در اگزون ۱۸	**فراوانی**	**درصد**	**درصد اطمینان**	**درصد تجمعی**
بدون جهش	۱۶۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
انواع جهش در اگزون ۱۹	**فراوانی**	**درصد**	**درصد معتبر**	**درصد تجمعی**
بدون جهش	۱۴۵	۹۰/۶	۹۰/۶	۹۰/۶
c.۲۲۴۰_۲۲۵۷ del TAAGAGAAGCAACATCTC	۴	۲/۵	۲/۵	۹۳/۱
c.۲۲۳۵_ ۲۲۴۹del GGAATTAAGAGAAGC	۱۰	۶/۳	۶/۳	۹۹/۴
c.۲۲۵۳A>G	۱	۰/۶	۰/۶	۱۰۰
انواع جهش در اگزون ۲۰	**فراوانی**	**درصد**	**درصد اطمینان**	**درصد تجمعی**
بدون جهش	۱۶۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
انواع جهش در اگزون ۲۱	**فراوانی**	**درصد**	**درصد اطمینان**	**درصد تجمعی**
بدون جهش	۱۵۸	۹۸/۷	۹۸/۷	۹۸/۷
۲۵۷۳T>G, p.L۸۵۸R.c	۲	۱/۳	۱/۳	۱۰۰
ب) توزیع جهش *EGFR* بین بیماران مرد و زن				
جنسیت	**جهش یافته (٪)**	**بدون جهش (٪)**	**OR (CI ٪ ۹۵)**	**P-Value**
مرد	۸ (۷/۴)	۱۰۰ (۹۲/۶)	۲/۶۱ (۰/۷-۹۵/۲۴)	۰/۰۹۷
زن	۹ (۱۷/۳)	۴۳ (۸۲/۷)		
پ) ارتباط بین سیگار کشیدن و میزان جهش *EGFR*				
سیگار کشیدن (± مواد مخدر)	**جهش یافته (٪)**	**بدون جهش (٪)**	**OR (CI ٪ ۹۵)**	**P-Value**
بله	۳ (۳/۲)	۹۰ (۹۶/۸)	۰/۱۳ (۰/۰-۰۴/۴۶)	۰/۰۰۲*
خیر	۱۴ (۲۰/۹)	۵۳ (۷۹/۱)		

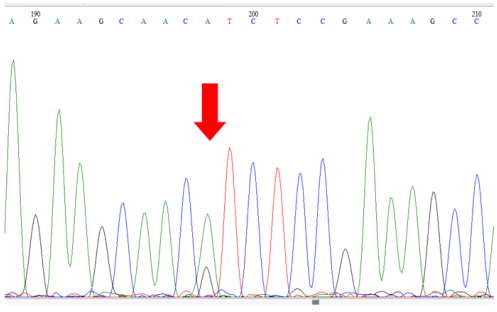
* P-Values < 0.05 از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شده است.



(۱)



(۲)

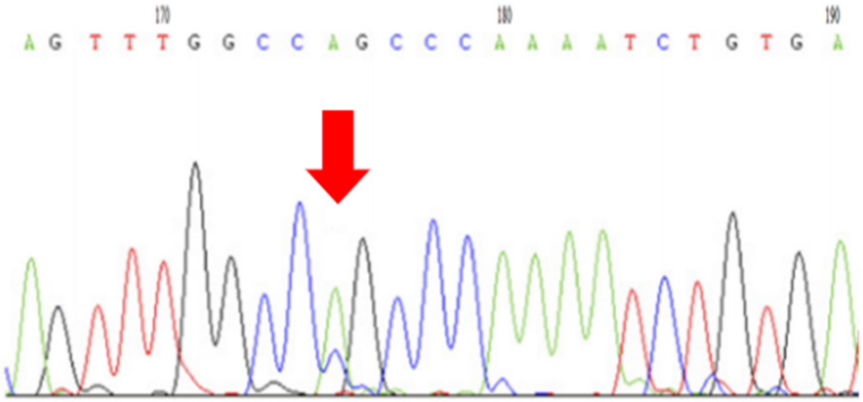


(۳)

شکل شماره۱) جهش هتروزگوت در اگزون ۱۹ ژن EGFR (c.۲۲۳۵_۲۲۴۹ delGGAATTAAGAGAAGC)

شکل شماره۲) جهش هموزیگوت در اگزون ۱۹ ژن EGFR (c.۲۲۴۰_۲۲۵۷ delTAAGAGAAGCAACATCTC)

شکل شماره۳) جهش هموزیگوت در اگزون ۱۹ ژن EGFR (c.۲۲۵۳ A>G)



شکل شماره۴) جهش هتروزیگوت در اگزون ۲۱ ژن EGFR (c.۲۵۷۳ T>G)

عمل کرده است (۱۶). مهار کننده های فعالیت تیروزین کینازی ژنEGFR به شکل آنتی بادی مونوکلونال، به عنوان درمان ترجیحی و استاندارد در بیماران تبدیل شده است. درمان بیماران مبتلا به NSCLC پیشرفته دارای جهش در ژن EGFR نسبت به اثر دارو بسیار موفق می باشد (۱۶). بنابراین بررسی و غربال‌گری جهش‌های ژن EGFR به عنوان یک اصل مهم قبل از شروع به درمان بوده همچنین پاسخ بالینی بیماران به مهارکننده‌های تیروزین کینازی بسیار حائز اهمیت می باشد (۱۷). در سراسر جهان جهش های مختلف EGFR در بیماران NSCLC به دلیل تفاوت های نژادی ثبت شده است که شامل۱۲٪ اقیانوسیه، ۱۵٪ اروپا، ۲۱٪

آفریقا،۲۲٪ آمریکای شمالی، ۳۶٪ آمریکای جنوبی، ۲۶٪ هند و ۴۰٪ شرق آسیا می‌باشد (۱۸، ۲۴-۲۱). در ایران به دلیل داشتن قومیت ها و نژادهای مختلف بروز جهش های EGFR در بیماران NSCLC محتمل تر بوده (۱۹) لذا ارزیابی فراوانی این جهش ها در ایران ضروری می باشد.

در مطالعه حاضر به بررسی جهش‌های سوماتیک EGFR درجامعه بیماران ایرانی NSCLC و بدست آوردن ارتباط معنی‌دار بین سیگار کشیدن افراد مبتلا و میزان بروز جهش ها پرداخته شده است. مطابق نتایج بدست آمده فراوانی جهش‌های EGFR۱۰/۶۳٪، در اگزون های ۱۹ و ۲۱ بود در حالی که هیچ جهشی در اگزون های ۱۸ و ۲۰ مشاهده نگردید. ۸۸/۴٪ از جهش ها در اگزون ۱۹ و۱۱/۶٪ در اگزون ۲۱ بود، در حالی که Basi و همکاران جهش‌های EGFR را به طور کامل در اگزون های ۱۹ و ۲۱ بیماران ایرانی مبتلا به آدنوکارسینوم ریه با فراوانی۶۰٪ در اگزون ۲۱ و ۴۰٪ در اگزون ۱۹ نشان داده اند (۱۹). جهش حذفی (c.۲۲۳۵-۲۲۴۹ del) با فراوانی ۵۸/۸٪، جهش حذفی (c.۲۲۴۰-۲۲۵۷ del) با فراوانی ۲۳/۵٪ و یک جهش جدید جایگزینی (c.۲۲۵۳A>G) با فراوانی۵/۸٪ در اگزون ۱۹ و جهش جایگزینی (c.۲۵۷۳T>G) L۸۵۸R) با فراوانی ۱۱/۸٪ در اگزون ۲۱ در این مطالعه یافت گردید. مشابه نتایج ما، یک حذف در اگزون ۱۹ به عنوان شایع ترین جهش EGFR گزارش شد که تا ۷۱/۴٪ از کل جهش ها را در بیماران آدنوکارسینوم ریه (شیراز، ایران) شامل می‌شود (۲۰). در بررسی های ما، دو جهش مقاوم به درمان مهارکننده های تیروزین کینازی (exon ۲۰ in-serts and T۷۹۰M) مشاهده نگردید که با دو مطالعه قبلی انجام شده در ایران مطابقت دارد (۱۹، ۲۰). تحقیقات قبلی اهمیت جنسیت و وضعیت سیگار کشیدن را به عنوان پیش‌بینی‌کننده‌های بالینی در بیماران NSCLC نشان داده است و در این مطالعه مشخص گردید بیماران زن نسبت به جهش EGFR مستعدتر هستند. این یافته مشابه بسیاری از یافته های قبلی گزارش شده در سایر مکان‌های جغرافیایی از جمله در جمعیت‌های آسیایی با فراوانی ۶۰٪ زنان و ۳۷٪ مردان، کشورهای اروپایی با ۲۲٪ زنان و ۹٪ مردان، آمریکای شمالی با ۲۸٪ زنان و ۱۹٪ مردان، آفریقا با ۴۸٪ زنان و۸٪ مردان می باشد و در ایران این فراوانی در زنان۳۰٪ و در مردان۲۶/۷٪ گزارش شده است (۱۸، ۲۲، ۲۳، ۲۵). ما به طور جالب توجهی فراوانی بیشتری از جهش های EGFR را در افراد غیر سیگاری در مقایسه با بیماران سیگاری مشاهده کردیم (۲۰/۹٪ در مقابل ۳/۲٪)، به این معنی که یک ارتباط معکوس (اثر محافظتی) بین سیگار کشیدن و جهش های رخ داده در ژن EGFR وجود دارد (۰/۰۴-۰/۴۶); p=۰/۰۰۲) (OR (۹۵ ٪ CI) = ۰/۱۳ که این داده‌ها با یافته‌های گروه محمدزاده مطابقت داشتند، اگرچه نتیجه آنها از نظر آماری معنی‌دار نبود (۲۰). مشابه با یافته‌های ما، در یک بررسی سیستماتیک افزایش قابل توجهی از جهش EGFR در افراد غیرسیگاری مبتلا به NSCLC در مقایسه با بیماران سیگاری نشان داده شده، که در آن فراوانی جهش‌های ارزیابی شده در افراد غیرسیگاری ۶۴٪ در مقابل ۳۳٪ در افراد سیگاری در منطقه آسیا و اقیانوسیه، و همچنین ۳۵٪ در افراد غیر سیگاری و ۸٪ در افراد سیگاری در اروپا گزارش شده است (۱۸). جالب توجه است که جهش‌های EGFR و K-rasبه طور مستقل در مسیر سیگنال‌دهی EGFR اثرگذار بوده و بر خلاف ارتباط معکوس بین سیگار کشیدن و جهش های EGFR ارتباط مثبت قوی بین سیگار کشیدن و جهش های K-ras وجود دارد (۲۶، ۲۷).

در نهایت، یافته های ما مرگ و میر بالاتری را در افراد سیگاری NSCLC در مقایسه با بیماران غیرسیگاری نشان داد (۵۴/۸ ٪ در مقابل ۲۶/۹٪) (۱/۶۷-۶/۶۷); p=۰/۰۰۱) (OR=۳/۳۰ که مشابه کارهای قبلی است (۲۸، ۲۹). به طور کلی می توان نتیجه گرفت سیگار کشیدن ارتباط مستقیم با ایجاد جهش در ژن‌هایی با پیش‌آگهی بدتر داشته و بیماران غیرسیگاری دستیابی بیشتری به درمان‌های هدفمند جدید جهش های ژن EGFR دارند. فراوانی جهش‌های EGFR در جمعیت ایرانی با قومیت فارس دارای NS-CLC کمتر از آمریکای جنوبی و شمالی، آسیا-اقیانوسیه، هند و اغلب کشورهای اروپایی بوده و بیشتر از اتریش و استرالیا و تقریباً برابر با فنلاند، نروژ، سوئد، یونان و آلمان می باشد (۳۹-۳۰).

نتیجه گیری

پیشنهاد می گردد آنالیز جهش EGFR به عنوان تست ارجح برای انتخاب گزینه های درمانی در نظر گرفته شود چراکه تعیین جهش EGFR دارای مزایای فراوانی در پیش آگهی و پیش بینی بقای بیمار می باشد. علاوه بر این، پیشنهاد می‌گردد تعیین جهش در جمعیت‌هایی با قومیت‌های مختلف و حتی در همه زیرجمعیت‌های یک کشور با قومیت کلی یکسان انجام گیرد، اما حائز اهمیت است که این کار با اعمال نرخ متغیر سیگار کشیدن به دلیل تأثیر آن بر توزیع جهش‌های EGFR صورت پذیرد.

تقدیر و تشکر

از همکاری و مساعدت آقایان دکتر حمزه سلمانی و رضا رئوفیان نهایت تشکر و قدرانی را داشته و تعالی روز افزون آنان را از خداوند منان مسئلت می نماییم.

منابع

1. Siegel RL, Miller KD, et al. Colorectal cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2020; 70(3):145-164.

2. Weir HK, Thompson TD, Soman A, et al. The past, present, and future of cancer incidence in the United States: 1975 through 2020. Cancer. 2015; 121(11):1827-37.

3. Bade BC, Cruz CSD. Lung cancer 2020: epidemiology, etiology, and prevention. Clin Chest Med. 2020; 41(1):1-24.

4. Howlader N, Forjaz G, Mooradian MJ, et al. The effect of advances in lung-cancer treatment on population mortality. N Engl J Med. 2020; 383(7):640-649.

5. Chiang AC, Herbst RS. Frontline immunotherapy for NSCLC-the tale of the tail. Nat Rev Clin Oncol. 2020; 17(2):73-74.

6. Majem M, Juan O, Insa A, et al. SEOM clinical guidelines for the treatment of non-small cell lung cancer. Clin Transl Oncol. 2019; 21(1):3-17.

7. Hensing T, Chawla A, Batra R, et al. A personalized treatment for lung cancer: molecular pathways, targeted therapies, and genomic characterization. Adv Exp Med Biol. 2014; 799:85-117.

8. Sequist LV, Lynch T J. EGFR tyrosine kinase inhibitors in lung cancer: an evolving story. Annu Rev Med. 2008; 59:429-42.

9. Kobayashi K, Hagiwara K. Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation and personalized therapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). Target Oncol. 2013; 8(1):27-33.

10. Salmani H, Yahyaei M, et al. Evaluation of epidermal growth factor receptor gene mutations in an Iranian population with non-small cell lung carcinoma. Iran J Public Health. 2022; 51(2):450-459.

11. Zerbino DR, Achuthan P, Akanni W, et al. Ensembl 2018. Nucleic Acids Res. 2017; 46(1):754-761.

12. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, et al. Primer3-new capabilities and interfaces. Nucleic Acids Res. 2012; 40(15):e115.

13. Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, et al. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. BMC Bioinformatics. 2012;13:134.

14. Rajai N, Ghanbari A, Yoosefi M, et al. National and subnational trends in incidence and mortality of lung cancer in Iran from 1990 to 2016. Asia Pac J Clin Oncol. 2020; 16(3):129-136.

15. Amin nasab A, Hatami M, Ahadi H. Effectiveness of cognitive-behavioral stress management treatment on cortisol levels and quality of life in patients with lung cancer. Iran J Medical Council. 2021; 39(2):94-101.

16. Rebuzzi SE, Alfieri R, La Monica S, et al. Combination of EGFR-TKIs and chemotherapy in advanced EGFR mutated NSCLC: Review of the literature and future perspectives. Crit Rev Oncol Hematol. 2020; 146:102820.

17. Melosky B. Review of EGFR TKIs in metastatic NSCLC, including ongoing trials. Front Oncol. 2014; 4:244.

18. Midha A, Dearden S, McCormack R. EGFR mutation incidence in non-small cell lung cancer of adenocarcinoma histology: a systematic review and global map by ethnicity (mutMapII). Am J Cancer Res. 2015; 5(9):2892-911.

19. Basi A, Khaledi F, Niya MHK, et al. Epidermalgrowth factor receptor mutations in lung adenocarcinomas: A single center study from Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 2018; 19(1):111-114.

20. Mohammadzadeh S, Jowkar Z, Mirzai M, et al. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Gene Mutation Analysis in Adenocarcinoma of Lung, the First Report from Iran. Iran J Pathol. 2019; 14(1):1-7.

21. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non–small cell lung cancer to gefitinib. N Engl J Med. 2004; 350(21):2129-39.

22. Sun P-L, Seol H, Lee HJ, et al. High incidence of EGFR mutations in Korean men smokers with no intratumoral heterogeneity of lung adenocarcinomas: correlation with histologic subtypes, EGFR/TTF-1 expressions, and clinical features. J Thorac Oncol. 2012; 7(2):323-30.

23. Unal OU, Oztop I, Calibasi G, et al. Relationship between epidermal growth factor receptor gene mutations and clinicopathological features in patients with non-small cell lung cancer in western Turkey. Asian Pac J Cancer Prev. 2013; 14(6):3705-9.

24. Gahr S, Stoehr R, Geissinger E, et al. EGFR mutational status in a large series of Caucasian European NSCLC patients: data from daily practice. Br J Cancer. 2013; 109(7):1821-8.

25. Zhang Y-L, Yuan J-Q, Wang K-F, et al. The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget. 2016; 7(48):78985-78993.

26. San Tam IY, Chung LP, Suen WS, et al. Distinct epidermal growth factor receptor and KRAS mutation patterns in non-small cell lung cancer patients with different tobacco exposure and clinicopathologic features. Clin Cancer Res. 2006; 12(5):1647-53.

27. Takamochi K, Oh S, Suzuki K. Differences in EGFR and KRAS mutation spectra in lung adenocarcinoma of never and heavy smokers. Oncol Lett. 2013; 6(5):1207–1212.

28. Lee SJ, Lee J, Park YS, et al. Impact of smoking on mortality of patients with non-small cell lung cancer. Thoracic cancer. 2014; 5(1):43-9.

29. Nia PS, Weyler J, Colpaert C, et al. Prognostic value of smoking status in operated non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2005; 47(3):351-9.

30. Schmid K, Oehl N, Wrba F, et al. EGFR/KRAS/BRAF mutations in primary lung adenocarcinomas and corresponding locoregional lymph node metastases. Clin Cancer Res. 2009; 15(14):4554-60.

31. Sriram KB, Tan ME, Savarimuthu SM, et al. Screening for activatingEGFR mutations in surgically resected non-small cell lung cancer. Eur Respir J. 2011; 38(4):903-10.

32. Mäki-Nevala S, Rönty M, Morel M, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in 510 Finnish non-small cell lung cancer patients. J Thorac Oncol. 2014; 9(6):886-91.

33. Helland A, Skaug HM, Kleinberg L, et al. EGFR gene alterations in a Norwegian cohort of lung cancer patients selected for surgery. J Thorac Oncol. 2011; 6(5):947-50.

34. Isaksson S, Bendahl P-O, Salomonsson A, et al. Detecting EGFR alterationsin clinical specimens-pitfalls and necessities. Virchows Arch. 2013; 463(6):755-64.

35. Chatziandreou I, Tsioli P, Sakellariou S, et al. Comprehensive molecular analysis of NSCLC; clinicopathological associations. PLoS One. 2015; 10(7): e0133859.

36. Boch C, Kollmeier J, et al. The frequency of EGFR and KRAS mutations in non-small cell lung cancer (NSCLC): routine screening data for central Europe from a cohort study. BMJ open. 2013; 3(4):e002560.

37. Reinmuth N, Jauch A, Xu EC, et al. Correlation of EGFR mutations with chromosomal alterations and expression of EGFR, ErbB3 and VEGF in tumor samples of lung adenocarcinoma patients. Lung Cancer. 2008; 62(2):193-201.

38. Schittenhelm MM, Kollmannsberger C, Oechsle K, et al. Molecular determinants of response to matuzumab in combination with paclitaxel for patients with advanced non-small cell lung cancer. Mol Cancer Ther. 2009; 8(3):481-9.

39. Zimmer S, Kahl P, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer influence downstreamAkt, MAPK and Stat3 signaling. J Cancer Res Clin Oncol. 2009; 135(5):723-30.