

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

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

چکیده

زمینه: جهش های ژن گیرنده فاکتور رشد اپیتلیالی (EGFR) عمدتاً در آگزون های ۱۸ تا ۲۱ مشاهده می گردد. بررسی موتاسیون ها 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 جهش های ژن EGFR در بیماران مبتلا به NSCLC در مناطق جغرافیایی مختلف جهان متفاوت است. هدف مطالعه حاضر بررسی شایع ترین جهش های ژن EGFR بیماران مبتلا به سرطان ریه در جمعیت ایرانی می باشد.

روش کار: در این مطالعه آگزون های ۱۸ تا ۲۱ ژن EGFR 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 قرار گرفت.

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 ($P=0/065$) 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 آگزون های ۱۹ و ۲۱ ژن EGFR، برابر با ۱۰/۶۳٪ و برای آگزون های ۱۸ و ۲۰ هیچ جهشی مشاهده نشد. از طرفی زنان در مقایسه با مردان نسبت به جهش های EGFR حساس تر بوده (۱۷/۳٪ در مقابل ۷/۴٪) اما از نظر آماری مقادیر بدست آمده معنی دار نبود ($P=0/097$). در مطالعه حاضر ۳ جهش شامل حذف های (c.۲۲۳۵_۲۲۴۹del) و (c.۲۲۴۰_۲۲۵۷del) در آگزون ۱۹ و جهش نقطه ای (p.L858R) $c.2573T>G$ در آگزون ۲۱ به ترتیب با فراوانی ۵۸/۸٪، ۲۳/۵٪ و ۱۱/۸٪ مشاهده شد. همچنین، یک جهش جایگزینی $c.2253A>G$ 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 می باشد که با توجه به بررسی سایر مطالعات کشورهای مختلف می توان 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 (NS-CLC)، جهش های ژن، جمعیت ایرانی

مقدمه

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 پرسشنامه‌های پزشکی، مشخصات بالینی، اطلاعات پاتولوژی، دموگرافیک و درمانی بیماران بررسی گردید (جدول شماره ۱). تایید کفایت نمونه‌های بافتی و تشخیص بافت شناسی آدنوکارسینوما با رنگ آمیزی هماتوکسیلین/اوتوزین اسلایدها (H&E) و رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی انجام و توسط پاتولوژیست تعیین grade شد. نتیجه پاتولوژی همراه با یافته‌های بالینی و گزارش سی تی اسکن توسط آنکولوژیست 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 نمونه‌های 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-1000 DropND و ژل الکتروفورز مورد سنجش قرار گرفته و نمونه‌ها در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. توالی ژنومی EGFR از پایگاه داده www.ensembl.org بدست آمده و پرایمرهای اختصاصی برای اگزون‌های ۱۸، ۱۹، ۲۰ و ۲۱ (جدول شماره ۲) با استفاده از نرم افزار آنلاین پرایمر ۳ (<http://bioin-3.fo.ut.ee/primer/>) طراحی و در نهایت با استفاده از پایگاه داده NCBI-Primer blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>) اختصاصی بودن پرایمرها بررسی شد (۱۳، ۱۲، ۱۱). واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر Applied Biosystems, GeneAmp ۲۷۲۰, Singa-) (pore) تحت شرایط به شرح ذیل انجام و متعاقباً محصول PCR جهت تعیین توالی به روش سبگر 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 سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و طولیل شدن (extension) در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه.

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 روش‌های مختلف درمانی با رویکرد‌ها 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) می‌باشد که به طور طبیعی در بافت‌های نرمال بیان می‌شود 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 می‌شوند (۸). از این رو شناخت موتاسیون‌های 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 ۲۵-۸۹٪ از NSCLC گزارش کرده اند که اغلب ناشی از انواع مختلف جهش‌های موجود در اگزون‌های ۱۸، ۱۹ و ۲۱ یا تکثیر کل ژن می‌باشد (۹). این جهش‌ها سبب فعال شدن مسیرهای انتقال سیگنال صرف نظر از وجود لیگاند‌های خارج سلولی شده و متعاقباً منجر به تکثیر سلولی یا فعالیت‌های ضد آپوپتوز می‌گردد. حدود ۱۰ درصد از بیماران دارای جهش در مرحله پیشرفته NSCLC، به درمان هدفمند مهارکننده‌های تیروزین کینازی پاسخ می‌دهند (۱۰). سه نسل از مهارکننده‌های تیروزین کینازی EGFR در حال حاضر برای درمان در بالین مورد استفاده قرار می‌گیرند که نتایج بدست آمده از نظر اثر بخشی و ایمنی در مقایسه با درمان‌های عمومی و استاندارد شیمی درمانی کاملاً متمایز است. گیرندگان داروهای هدفمند به شکل‌های متفاوتی نسبت به درمان مهارکننده‌های تیروزین کینازی از جمله ارلوتینیب (Tarceva) و جفتینیب (Iressa) پاسخ می‌دهند که می‌تواند دلیلی بر متفاوت بودن افراد از نظر قومیت، جنسیت و سیگار کشیدن آن‌ها باشد (۷). مطالعه حاضر جهت ارزیابی فراوانی موتاسیون‌های اگزون‌های ۱۸، ۱۹، ۲۰ و ۲۱ ژن EGFR در جمعیت ایرانی تعریف شده است.

● طولی 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 گروه ها از نظر متغیرهای کمی و دسته بندی به ترتیب با استفاده از آزمون های t-test و Chi-Squared (x²) 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 (جدول شماره ۱)

جدول شماره ۱: اطلاعات پاتولوژی، دموگرافیک و درمانی بیماران

متغیرها	زیر گروه	فراوانی (%)
سن (سال)	(انحراف معیار ±) میانگین	۶۵/۴۳ (± ۱۲/۳)
جنسیت	مرد	۱۰۸ (۶۷/۵)
	زن	۵۲ (۳۲/۵)
مواد مخدر (±) سیگاری	بله	۹۳ (۵۸/۱)
	خیر	۶۷ (۴۱/۹)
	بله	۳۴ (۲۱/۳)
	خیر	۱۳۶ (۷۸/۸)
میزان بقا (ماه)	(انحراف معیار ±) میانگین	۱۴/۰۶ (± ۱۱/۸۷)
	زنده ماندن	۹۱ (۵۶/۹)
وضعیت بقا	مرگ	۶۹ (۴۳/۱)

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	CCATGAGTACGTATTTTGA AACTC
	R	CATATCCCCATGGCAA AACTCTTGC
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 (۹۵% CI)	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 (۹۵% CI)	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.

در بیماران بدون سابقه مصرف سیگار ۲۶/۹٪ می باشد
 $P = ۰/۰۰۱$; $(۱/۶۷ - ۶/۶۷)$; $OR (۹۵\%CI) = ۳/۳۰$

۲. جهش های EGFR

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

مابین میزان بقا و مصرف سیگار در کل بیماران و بیماران زن (به ترتیب $P = ۰/۰۵۸$ و $P = ۰/۸۸۳$)، اختلاف قابل ملاحظه ای 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

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

در اگزون ۱۹، سه جهش شامل: (۱) Del c.۲۲۳۵_۲۲۴۹ GGAATTAAGAGAAGC در ۱۰ بیمار (۶/۵٪)، (۲) c.۲۲۴۰_۲۲۵۷De1TAAGAGAAGCAA- 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 اگزون‌های مورد مطالعه EGFR نسبت به مردان مشاهده شد، اگرچه از نظر آماری معنی‌دار نبود (P = ۰/۰۹۷). یک نتیجه جالب در مطالعه صورت گرفته ارتباط معکوس معنادار بین سیگار کشیدن و کاهش نرخ جهش در اگزون‌های مورد مطالعه ژن EGFR در بیماران NSCLC بود (OR (۹۵٪ CI) = ۰/۱۳)

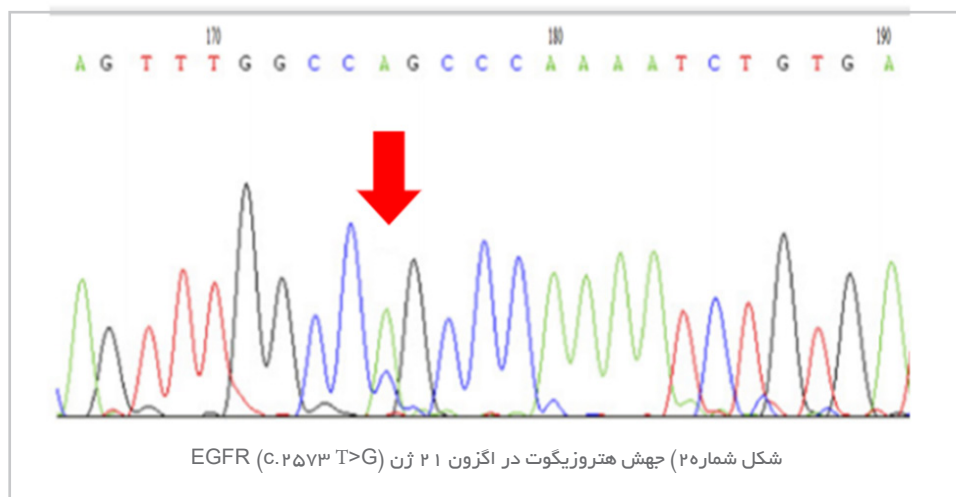
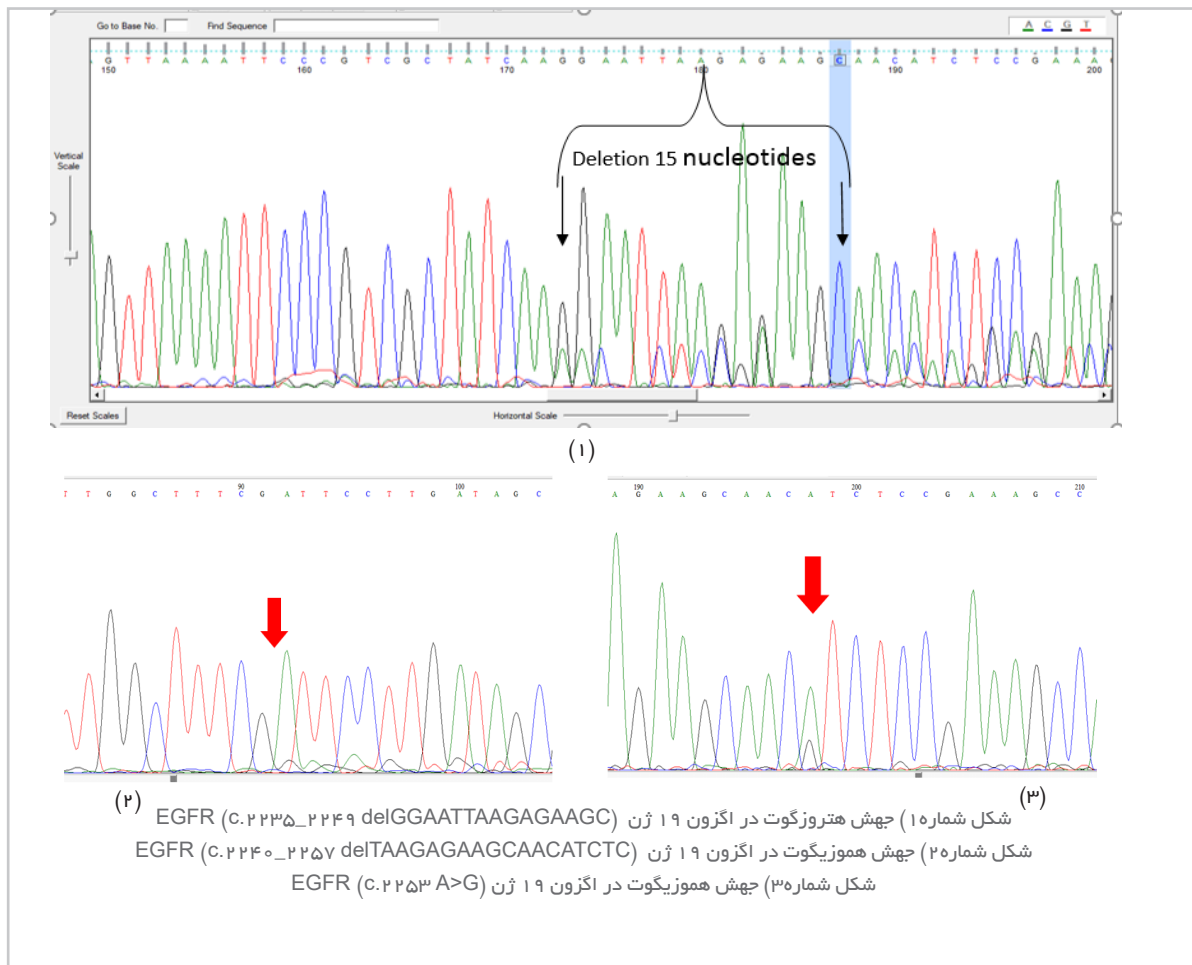
بحث

میزان بروز مرگ و میر سرطان ریه در مناطق مختلف جغرافیایی به طور قابل توجهی متفاوت است. سرطان ریه چهارمین و یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها 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 شیمی‌درمانی سیستمیک سبب تغییر رویکرد درمان به سمت داروهای هدفمند به تنهایی یا در ترکیب با شیمی‌درمانی شده است. یکی از ژن‌های مورد هدف این داروها EGFR است. این ژن به عنوان یک انکوژن حیاتی در جنبه‌های مختلف تومورزایی NSCLC از جمله تکثیر، رگرایی، متاستاز، مهار آپوپتوز و مقاومت شیمیایی در بیماران

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

الف) فراوانی جهش در چهار اگزون مورد مطالعه شامل اگزون‌های 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				
بدون جهش	۱۴۵	۹۰/۶	۹۰/۶	۹۰/۶
c.۲۲۴۰_۲۲۵۷ del TAAGAGAAGCAACATCTC	۴	۲/۵	۲/۵	۹۳/۱
c.۲۲۳۵_۲۲۴۹ del GGAATTAAGAGAAGC	۱۰	۶/۳	۶/۳	۹۹/۴
c.۲۲۵۳A>G	۱	۰/۶	۰/۶	۱۰۰
انواع جهش در اگزون ۲۰				
بدون جهش	۱۶۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
انواع جهش در اگزون ۲۱				
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 (۹۵٪ CI)	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 (۹۵٪ CI)	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 معنی‌دار در نظر گرفته شده است.



عمل کرده است (۱۶). مهار کننده های فعالیت تیروزین کینازی ژن EGFR 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

جهش های ژن EGFR به عنوان یک اصل مهم قبل از شروع به درمان بوده همچنین پاسخ بالینی بیماران به مهار کننده های 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 شامل ۱۲٪ اقیانوسیه، ۱۵٪ اروپا، ۲۱٪

عمل کرده است (۱۶). مهار کننده های فعالیت تیروزین کینازی ژن EGFR 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

آفریقا، ۲۲٪ آمریکای شمالی، ۳۶٪ آمریکای جنوبی، ۲۶٪ هند و ۴۰٪ شرق آسیا می‌باشد (۱۸، ۲۴-۲۱). در ایران به دلیل داشتن قومیت‌ها و نژادهای مختلف بروز جهش‌های EGFR در بیماران NSCLC محتمل‌تر بوده (۱۹) لذا ارزیابی فراوانی این جهش‌ها در ایران ضروری می‌باشد.

در مطالعه حاضر به بررسی جهش‌های سوماتیک EGFR در جامعه بیماران ایرانی NSCLC و بدست آوردن ارتباط معنی‌دار بین سیگار کشیدن افراد مبتلا و میزان بروز جهش‌ها پرداخته شده است. مطابق نتایج بدست آمده فراوانی جهش‌های EGFR ۱۰/۶۳٪، در اگزون‌های ۱۹ و ۲۱ بود در حالی که هیچ جهشی در اگزون‌های ۱۸ و ۲۰ مشاهده نگردید. ۸۸/۴٪ از جهش‌ها در اگزون ۱۹ و ۱۱/۶٪ در اگزون ۲۱ بود، در حالی که Bas1 و همکاران جهش‌های EGFR را به طور کامل در اگزون‌های ۱۹ و ۲۱ بیماران ایرانی مبتلا به آدنوکارسینوم ریه با فراوانی ۶۰٪ در اگزون ۲۱ و ۴۰٪ در اگزون ۱۹ نشان داده‌اند (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 فراوانی ۵/۸٪ 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 شایع‌ترین جهش EGFR گزارش شد که تا ۷۱/۴٪ از کل جهش‌ها را در بیماران آدنوکارسینوم ریه (شیراز، ایران) شامل می‌شود (۲۰). در بررسی‌های ما، دو جهش مقاوم به درمان مهارکننده‌های تیروزین کینازی (exon ۲۰ in-) serts and Tv۹۰M) 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 یافته‌های 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 و ۸٪ مردان می‌باشد و در ایران این فراوانی در زنان ۳۰٪ و در مردان ۲۶/۷٪ گزارش شده است (۱۸، ۲۲، ۲۳، ۲۵). ما به طور جالب توجهی فراوانی بیشتری از جهش‌های 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 جهش‌های رخ داده در ژن EGFR وجود دارد (OR (۹۵٪ CI) = ۰/۱۳ (۰/۰۴-۰/۴۶); p=۰/۰۰۲) که این داده‌ها با یافته‌های گروه محمدمزاده 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-ras به طور مستقل در مسیر سیگنال‌دهی EGFR اثرگذار بوده و بر خلاف ارتباط معکوس بین سیگار کشیدن و جهش‌های EGFR ارتباط مثبت قوی بین سیگار کشیدن و جهش‌های K-ras وجود دارد (۲۶، ۲۷).

در نهایت، یافته‌های ما مرگ و میر بالاتری را در افراد سیگاری NSCLC در مقایسه با بیماران غیرسیگاری نشان داد (۵۴/۸٪ در مقابل ۲۶/۹٪) (OR=۳/۳۰ (۱/۶۷-۶/۶۷); p=۰/۰۰۱) که مشابه کارهای قبلی است (۲۸، ۲۹). به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت سیگار کشیدن ارتباط مستقیم با ایجاد جهش در ژن‌هایی با پیش‌آگهی بدتر داشته و بیماران غیرسیگاری دستیابی بیشتری به درمان‌های هدفمند جدید جهش‌های 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 می‌باشد (۳۹-۳۰).

نتیجه گیری

پیشنهاد می‌گردد آنالیز جهش EGFR به عنوان تست ارجح برای انتخاب گزینه‌های درمانی در نظر گرفته شود چراکه تعیین جهش EGFR دارای مزایای فراوانی در پیش‌آگهی و پیش‌بینی بقای بیمار می‌باشد. 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 می‌نماییم.

- Siegel RL, Miller KD, et al. Colorectal cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2020; 70(3):145-164.
- 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.
- Bade BC, Cruz CSD. Lung cancer 2020: epidemiology, etiology, and prevention. *Clin Chest Med.* 2020; 41(1):1-24.
- 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.
- Chiang AC, Herbst RS. Frontline immunotherapy for NSCLC-the tale of the tail. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020; 17(2):73-74.
- 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.
- 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.
- Sequist LV, Lynch T J. EGFR tyrosine kinase inhibitors in lung cancer: an evolving story. *Annu Rev Med.* 2008; 59:429-42.
- 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.
- 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.
- Zerbino DR, Achuthan P, Akanni W, et al. Ensembl 2018. *Nucleic Acids Res.* 2017; 46(1):754-761.
- Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, et al. Primer3-new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res.* 2012; 40(15):e115.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Melosky B. Review of EGFR TKIs in metastatic NSCLC, including ongoing trials. *Front Oncol.* 2014; 4:244.
- 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.
- Basi A, Khaledi F, Niya MHK, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in lung adenocarcinomas: A single center study from Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018; 19(1):111-114.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Sriram KB, Tan ME, Savarimuthu SM, et al. Screening for activating EGFR mutations in surgically resected non-small cell lung cancer. *Eur Respir J.* 2011; 38(4):903-10.
- 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.
- 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.
- Isaksson S, Bendahl P-O, Salomonsson A, et al. Detecting EGFR alterations in clinical specimens-pitfalls and necessities. *Virchows Arch.* 2013; 463(6):755-64.
- Chatziandreu I, Tsioli P, Sakellariou S, et al. Comprehensive molecular analysis of NSCLC; clinicopathological associations. *PLoS One.* 2015; 10(7): e0133859.
- 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.
- 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.
- 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.
- Zimmer S, Kahl P, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer influence downstream Akt, MAPK and Stat3 signaling. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2009; 135(5):723-30.