اهمیت پروفایل‌های ژنی در شناسایی علت‌های مقاومت دارویی در سرطان

● پرستو مدرس
دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و تکنولوژی، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، بخش ژنتیک

● صادق ولیان بروجنی
استاد ژنتیک، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و تکنولوژی، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، بخش ژنتیک
svallian@sci.ui.ac.ir

❑ چکیده

مقاومت دارویی یکی از موانع اصلی درمان موفق سرطان و یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر افراد مبتلا می‌باشد. در دهه اخیر با گسترش تکنولوژی و ظهور تکنیک‌های با خروجی بالا گام‌های بلندی در جهت تعیین پروفایل ژنی بافت‌های سرطانی، شناسایی بیومارکرها برای پیش آگهی و پیش بینی نتیجه درمان و کمک به درمان موثرتر برداشته شده است. نظر به اهمیت کاربرد علم ژنتیک در توسعه علم پزشکی و ارتقاء رویکردهای درمانی، در این مقاله ضمن معرفی تکنولوژی میکرو آرایه و اهمیت آن در شناسایی گروه ژن‌های عملکردی مؤثر در بروز مقاومت دارویی، به اهمیت روش‌های متاآنالیز و سیستم بیولوژی نیز پرداخته می‌شود. ادغام متاآنالیز داده‌های میکروآری با سیستم بیولوژی منجر می‌گردد تا علاوه بر دستیابی به یافته‌های قابل اطمینان تر به لحاظ آماری، تصویر واقعی‌تری از روند حوادث سلولی به ویژه در سلول‌های سرطانی به دست آوریم. گسترش اطلاعات در زمینه علل ژنتیکی و مکانیسم‌های سلولی مقاومت دارویی سرطان، می‌توانند در طراحی استراتژی‌های درمانی جدید با نرخ مقاومت کمتر سودمند باشد.

کلمات کلیدی: مقاومت دارویی، سرطان، میکرو آرایه، پروفایل ژنی

❑ مقدمه

امروزه، علی رغم پیشرفت‌های چشمگیر در حوزه پزشکی و درمان سرطان با استفاده از شیمی درمانی، مقاومت دارویی یکی از مهم‌ترین و بزرگ‌ترین موانع در معالجه و کنترل طولانی مدت برخی از سرطان‌ها است. علیرغم پژوهش‌های بسیار در زمینه سرطان، همچنان این موضوع نامشخص است که چرا نحوه پاسخ دهی بیماران با یک نوع سرطان مشخص به درمان با داروهای شیمی درمانی یکسان، متفاوت است!؟ در بعضی افراد بهبودی کامل حاصل می‌شود، بعضی به صورت موقتی به درمان پاسخ می‌دهند و برخی اصلاً درمان نمی‌شوند! به نظر می‌رسد که عوامل مولکولی مختلفی نظیر متفاوت بودن زمینه ژنتیکی بیماران، تغییرات ژنتیکی سلول‌های سرطانی (برای مثال ناهنجاری ژنتیکی یا اختلال تنظیمی در ژن‌های درگیر در فرآیند مرگ سلولی یا بیان غیر نرمال انتقال دهنده‌های غشایی وابسته به ATP)، تغییرات اپی ژنتیکی و همچنین عوامل محیطی تومور، همگی در شکل گیری حکایت پیچیده مقاومت به داروهای شیمی درمانی (حتی در دفعات اولیه استفاده) نقش دارند [۱].

در سال‌های اخیر، گسترش اطلاعات و پیشرفت تکنولوژی‌های با خروجی بالا (high throughput)

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-07-30]

منجر به تولید حجم بی سابقه بالایی از داده‌های زیستی در سطوح متفاوت ژنومیک و ترنسکریپتومیک (داده‌های اُمیکس) شده است. داده‌های تولید شده در سطح ژنومی شامل داده‌های مربوط به تغییرات تعداد کُپی ژن‌ها، تغییرات الگوی متیلاسیون ژن‌ها و داده‌های مرتبط با انواع موتاسیون ها شامل موتاسیون های نقطه‌ای و موتاسیون‌های حذف و اضافه می‌باشند. در سطح ترنسکریپتومیک هم حجم انبوه داده‌های بیان ژنی و بیان miRNA موجود می‌باشند[۲،۳]. این سیل عظیم از داده‌ها منجر به درک بهتر ما از سرطان‌های بدخیم و شناسایی عوامل ژنتیکی و مکانیسم‌های درگیر در بروز مقاومت دارویی گردیده است. بدین ترتیب، دسترسی به این مجموعه داده وسیع ژنوم و کشف روش‌های تحلیل این داده‌ها فرصت بی نظیری برای پیش بینی صحیح عملکرد ژن در حجم وسیع و در شرایط مختلف و نیز کشف ویژگی‌های سلولی جدید از دیدگاه سیستمی برای محققان بیولوژیست فراهم می‌کند.

تعیین پروفایل ژنی سرطان با استفاده از تکنولوژی‌های جدید شامل روش‌های مبتنی بر تعیین توالی (sequencing)، ریز آرایه (Microarray)، بیوانفورماتیک و بررسی آن‌ها جهت شناسایی بیومارکرهای ژنتیکی حیاتی درگیر در تکامل مقاومت دارویی می‌تواند جهت پیش آگهی، پیش بینی نتیجه درمان و استفاده از پروتکل‌های درمانی اختصاصی و کارآمدتر مفید باشد و برای کاهش مرگ و میر ناشی از سرطان و افزایش بهبودی با کمترین میزان بازگشت مجدد بیماری از اهمیت زیادی برخوردار است [۴،۵].

تکنیک توالی یابی نسل بعدی (Next generation sequencing) روشی جذاب برای مطالعات ترانسکریپتومی سراسر ژنومی (genome-wide transcriptomic studies) است. پروژه ژنومی سرطان (TCGA) که در قالب پایگاه داده در دسترس پژوهشگران قرار گرفته، بیش از ۲۰۰۰۰ سرطان اولیه را به صورت مولکولی مورد بررسی قرار داده است. این پروژه فرصتی منحصر به فرد را مهیا کرده تا بتوان در مقیاس وسیع، جنبه‌های مختلف سرطان را هم در سطح بالینی و هم در سطح مولکولی، مورد بررسی قرار داد [۶].

علاوه بر آن، در بین تکنولوژی‌های بسیار پیشرفته اخیر، میکروآری DNA به میزان قابل توجهی در تحقیقات سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد. برخلاف روش‌های ژنتیکی قبلی، که تنها مطالعه یک ژن را میسر می‌نمود، این روش در یک تحول شگرف دانشمندان را قادر ساخت که در یک لحظه بیان هزاران ژن را به طور همزمان تحت مطالعه داشته باشند.

پروتئین‌ها واحدهای عملکردی سلول هستند و در اغلب موارد تغییر نابجای بیان آن‌ها منجر به بروز مقاومت دارویی و عدم پاسخ به درمان می‌گردد. پروتئین‌ها از طریق ترجمه mRNA های اختصاصی خود که از روی ژن‌های مربوطه رونویسی شده‌اند در سلول تولید می‌شوند. میزان mRNA رونویسی شده از یک ژن، با مقدار پروتئین ساخته شده از آن ژن در سیتوپلاسم سلول رابطه مستقیم دارد. بنابراین با اندازه‌گیری مقدار mRNA رونویسی شده از یک ژن می‌توان به طور غیر مستقیم بیان آن ژن و میزان پروتئین مربوطه را محاسبه کرد. تکنولوژی DNA میکروآری که برای اولین بار در سال ۱۹۹۶ توسط Schena ارائه شد طی سالیان متمادی فرصتی ارزشمند را برای محققان فراهم آورده تا بتوانند با اندازه گیری میزان mRNA تولیدی در هر سلول در یک زمان مشخص بیان اختصاصی ژن‌ها را سنجیده و مورد بررسی یا مقایسه قرار دهند [۷]. برای مثال بررسی سطوح بیانی ژن‌ها در نمونه‌های بافتی یا خونی بیمار یا سالم و یا مقایسه پروفایل بیانی افراد پاسخ دهنده به یک پروتکل دارویی در برابر افراد مقاوم به دارو.

در روش میکروآری DNA از چندین صفحه آزمایش مختلف به نام چیپ[1] استفاده می‌شود که در آن‌ها پروب هایی به طور منظم تعبیه شده است. در یک آزمایش میکروآری نمونه‌های از DNA مکمل یا RNA مکمل استخراج شده از نمونه مورد نظر، به پروب هیبرید می‌شود و میزان فراوانی هر هیبریداسیون

1-chip

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-07-30]

در نمونه به وسیله آشکار سازی اتوماتیک فلورسانت کمی سازی می‌شود. با توجه به انبوه داده‌های حاصله و ضرورت تحلیل درست آن‌ها، علم تحلیل این داده‌ها خود جزء جدا نشدنی و عمده این مطالعات گردیده است. یک پروفایل بیان ژنی اغلب بیانگر یک بردار از مقدار عددی است. سطوح بیانی داده نرمال سازی شده با مقادیر نزدیک صفر نشان دهنده این است که هیچ تغییری در سطح بیان پروب ها صورت نگرفته است در حالی که اعداد مثبت و منفی به ترتیب بیانگر افزایش و کاهش سطح بیان است. بعد از نرمال سازی فیلتر بیشتری قرار داده می‌شود مانند حذف پروب هایی که سطوح بیان آن‌ها در شرایط متنوع معنی دار نیستند.

برای مقایسه پروفایل‌های بیانی جفت ژن‌ها از روش‌های متنوعی همچون فاصله اقلیدسی و آنالیزهای آماری مانند آنالیز آماری LIMMA، آزمون تی (T-Test) و آزمون من-ویتنی (Mann-Whitney Test) بر روی لیست ژنی استفاده می‌گردد [۸]. با این کار با تفاوت معنی دار سطوح بیان ژن‌ها در بین دو یا تعداد بیشتری از شرایط مختلف مثل یک حالت بیماری خاص در مقابل حالت نرمال و شرایط غیر بیمار مشخص می‌شود. برای مثال نشان داده شده که افزایش بیان ژن HER2 با مقاومت دارویی به تاموکسیفن در بیماران مبتلا به سرطان پستان مرتبط است و بیمارانی که بیان ژن‌های HER1، HER2 و HER3 در آن‌ها افزایش یافته نرخ حیات پایین‌تری دارند. در مطالعه‌ای دیگر با استفاده از روش cDNA microarray و آنالیز RNA تداخل گر، علل ژنتیکی مقاومت به دوکسوروبیسین در سرطان سینه مورد بررسی گرفت. دوکسوروبیسین نوعی آنتی بیوتیک از گروه آنتراسیکلین‌ها، یکی از داروهای شیمی درمانی مورد استفاده در چندین سرطان مختلف است اما در برخی موارد، جمعیت‌های تحت درمان با مقاومت دارویی سلول‌ها مواجه می‌شوند. در این مطالعه محققان توانستند ژن‌هایی را غربالگری کنند که میزان حساسیت به داروی دوکسوروبیسن را در سلول‌های تومورزای سرطان سینه تنظیم می‌کنند. این ژن‌ها، با دو مسیر تکثیر سلولی و نیز توقف چرخه سلولی پس از قرار گرفتن در معرض دوکسوروبیسین مرتبط بودند. پژوهشگران دریافتند که استفاده از داروی دوکسوروبیسین بیان گروه متنوعی از ژن‌ها را به صورت وابسته به زمان تغییر می‌دهد. آن‌ها مشاهده کردند که پروفایل بیانی القا شده توسط داروی دوکسوروبیسن در سلول‌های سرطان سینه که به دارو مقاومت نشان می‌دادند متفاوت از سلول‌هایی بود که دارو روی آن‌ها اثرگذار بود. در نهایت پیشنهاد گردید که ژن‌های القا شده توسط دارو، که به طور مثبت یا منفی پاسخ سلول به دارو را تنظیم می‌کنند، می‌توانند در رویکردهای درمانی جدیدتر مورد هدف قرار گیرند [۵].

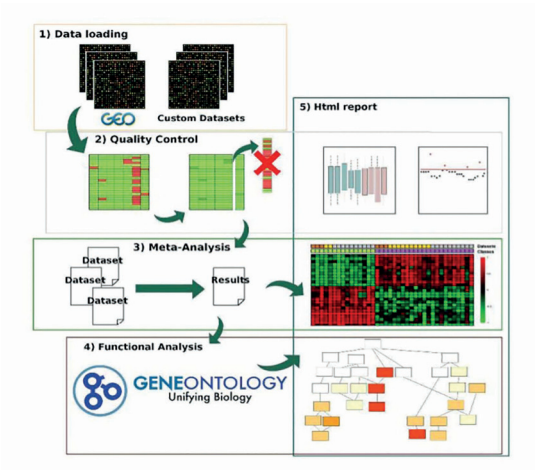
علاوه بر رویکرد شناسایی ژن‌هایی با بیان متفاوت در حالت‌های مختلف بیولوژیکی، رویکرد دیگر شناسایی ژن‌هایی است که به طور متفاوتی هم بیان هستند (مانند یک گروه از ژن‌ها که با هم در بافت پاسخ دهنده به درمان بیان می‌شوند اما در بافت توموری مقاوم به درمان هم بیان نیستند) که ممکن است بیانگر سیستم تنظیمی باشد که بافت توموری تخریب یا متوقف شده است. شبکه‌هایی که با این روش از داده میکروواری ایجاد می‌شوند اغلب به عنوان شبکه‌های هم‌بیانی ژن مطرح می‌شوند و کمک می‌کنند به شناسایی ژن‌ها و گروه‌هایی از ژن‌ها که الگوهای بیان مشابهی را در بین شرایط تجربی متفاوت نشان می‌دهند. قالب‌های شبکه‌ای امکان کشف تغییرات ارتباطات شبکه رونویسی را در حالت‌های بیماری، شناسایی ژن‌هایی که عضوی از یک مسیر مشابه یا تحت کنترل برنامه تنظیم رونویسی مشابهی در عملکرد ویژه‌ای از سلول می‌باشند و یا با هم تشکیل کمپلکس پروتئینی می‌دهند را فراهم می‌کند. هدف نهایی این مطالعات تعیین بیومارکرها و هدف‌های درمانی خاصی برای هر زیر گونه از سرطان است [۹]. پایگاه داده Oncomine حاوی هزاران داده میکروواری‌های مختلف است که در طیف وسیعی از انواع سرطان‌ها مورد آزمایش قرار گرفته‌اند [۱۰].

همزمان با تکامل تکنولوژی میکروواری روش‌های متاآنالیز تلاش دارد تا با جمع آوری و تجزیه و تحلیل مجموعه‌ای از داده پژوهشی که دارای هدف مشترکی هستند پیش بینی قوی‌تر و قابل اعتمادتری را نسبت به آن‌ها که بر اساس مجموعه داده‌های تنها ساخته می‌شوند ایجاد می‌کند. بدیهی است در روش‌های متاآنالیز با ترکیب داده‌های بیانی چند مطالعه، به علت تعداد بالاتر نمونه‌ها، دامنه تغییرات

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-07-30]

و احتمالات کمتر می‌شود و معنی داری یافته‌های آماری افزایش می‌یابد. GEO و Array Express پایگاه‌های داده مناسبی هستند که مجموعه داده‌های خام و نیز پردازش شده بیان ژن‌ها در بافت‌های مختلف را در دسترس عموم قرار می‌دهند. از این رو این دو منبع بزرگ داده‌های ژنومیکس و ترانس کریپتومیکس اغلب با هدف مقایسه الگوهای بیان ژنی در سلول‌های متفاوت و انجام متاآنالیز مورد استفاده قرار گیرند [۱۱].

علاوه بر یافتن ژن‌های تغییر بیان یافته و فاکتورهای پیش‌بینی کننده نتیجه درمان، شناسایی مسیرهای سیگنال‌دهی شبکه‌های پروتئینی و تنظیمی درگیر در بروز مقاومت دارویی در انتخاب روش درمانی مطلوب نقش موثری دارند. از این رو، با توجه به این که حیات و نحوه فعالیت هر سلول به بر هم کنش‌های مولکولی درون سلولی و ارتباطات شبکه‌های مختلف زیستی وابسته است امروزه استفاده از زیست شناسی سامانه‌ها (یا سیستم بیولوژی) بسیار کمک کننده خواهد بود. هدف سیستم بیولوژی یافتن ارتباط‌های اجزای یک مکانیسم پیچیده تنظیمی، شبکه‌ها و بخش‌های یک سیستم زیستی است. بنابراین، سیستم بیولوژی با پیش بینی ساز و کارهای اجزای عملیاتی سلول و ترسیم گراف‌ها و شبکه تعامل بین پروتئین‌ها بر اساس مطالعات پژوهشی انجام شده، درک بهتری از مسیرهای سیگنال دهی اختصاصی دخیل در یک فرآیند بیولوژیکی مثل مقاومت دارویی، مسیرهای هماهنگ کننده و شبکه‌های تنظیمی را ارائه می‌دهد. برخی از پایگاه‌ها داده زیستی که اغلب برای این منظور مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل GO،KEGG یا MAPP Gen می‌باشند. VisAnt و cytoscape نیز نرم افزارهای تکامل یافته‌ای هستند که برای تصویرسازی و آنالیز شبکه‌های زیستی، جهت مدل سازی اینترکشن های ژنتیکی، کشف جایگاه اتصال فاکتور رونویسی و نقش اینترکشن پروتئین‌ها به کاربرده می‌شوند. به عبارت دیگر این روش‌ها، شکاف موجود میان ژن‌های منفرد و مکانیسم بروز یک اتفاق زیستی همچون مقاومت دارویی را از طریق بررسی ارتباط میان ژن‌های با بیان تغییر یافته (DEGs)[۲] پر می‌کنند [۱۲].



شکل ۱. مراحل انجام متاآنالیز داده‌های میکروواری و تعیین عملکرد ژنی توسط سیستم بیولوژی

با توجه به مطالب ارائه شده، ظهور تکنولوژی تولید داده‌ها در حجم وسیع را می‌توان تحولی مهم در تشخیص و درمان بیماری‌ها به ویژه سرطان و پیش بینی نتیجه درمان و علت مقاومت به درمان تلقی نمود. فواید بی شمار بهره مندی از این تکنولوژی در تمامی جنبه‌های مختلف مطالعات سرطان از جمله طبقه بندی سرطان، مطالعه مسیرهای بیوشیمیایی درگیر، شناسایی اهداف بالقوه برای رویکردهای درمانی جدید، مکانیسم‌های عملکرد داروها و پیش بینی پاسخ به داروها به اثبات رسیده است. در حال حاضر با توجه با این که ژنوم انسان به طور کامل تعیین توالی شده و در دسترس می‌باشد، بررسی کامل نسخه برداری در سلول‌های نرمال و سرطانی و یا سلول‌های سرطانی حساس و مقاوم به دارو امکان پذیر شده است و همراه با تکامل همزمان ابزارهای ضروری انفورماتیک و آنالیز داده‌ها جهت تبدیل و تفسیر آن‌ها، نحوه نگرش به سرطان دستخوش تحولی شگرف گردیده است. از این رو، آنالیز میکروواری نمونه‌های سرطانی، امکان شناسایی ژن‌های حیاتی که بیشترین ارتباط با مقاومت به داروهای بالینی دارند را فراهم نموده و از این اطلاعات می‌توان برای طراحی رویکردهای درمانی جدیدتر و غلبه بر مقاومت دارویی استفاده کرد.

1-Differentially expressed genes

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-07-30]

References

1- Housman G, Byler S, Heerboth S, Lapinska K, Longacre M, Snyder N, et al. Drug resistance in cancer: an overview. Cancers. 2014;6(3):1769-92.

2- Cho WC. Omics approaches in cancer research. An omics perspective on cancer research: Springer; 2010. p. 1-9.

3- Cowell JK, Hawthorn L. The application of microarray technology to the analysis of the cancer genome. Current Molecular Medicine. 2007;7(1):103-20.

4- Du ZH, Bi FF, Wang L, Yang Q. Next-generation sequencing unravels extensive genetic alteration in recurrent ovarian cancer and unique genetic changes in drug-resistant recurrent ovarian cancer. Molecular genetics & genomic medicine. 2018;6(4):638-47.

5- Sears C, Armstrong SA. Microarrays to identify new therapeutic strategies for cancer. Advances in cancer research. 2006;96:51-74.

6- Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. Contemporary oncology. 2015;19(1A):A68.

7- Schena M, Shalon D, Heller R, Chai A, Brown PO, Davis RW. Parallel human genome analysis: microarray-based expression monitoring of 1000 genes. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1996;93(20):10614-9.

8- Nadon R, Shoemaker J. Statistical issues with microarrays: processing and analysis. TRENDS in Genetics. 200.71-265: (5)18;2.

9- Yuan J, Tan L, Yin Z, Tao K, Wang G, Shi W, et al. Bioinformatics analysis identifies potential chemoresistance-associated genes across multiple types of cancer. Oncol Lett. 2019;18(3):2576-83. doi: 10.3892/ol.2019.10533.

10- Rhodes DR, Yu J, Shanker K, Deshpande N, Varambally R, Ghosh D, et al. ONCOMINE: a cancer microarray database and integrated data-mining platform. Neoplasia. 2004;6(1):1-6. Epub 2004/04/08. doi: 10.1016/s1476-5586(04)80047-2. PubMed PMID: 15068665; PubMed Central PMCID: PMCPMC1635162.

11- Edgar R, Barrett T. NCBI GEO standards and services for microarray data. Nature biotechnology. 2006;24(12):1471-2.

12- Werner HM, Mills GB, Ram PT. Cancer systems biology: a peek into the future of patient care? Nature reviews Clinical oncology. 2014;11(3):167.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-07-30]