بحوث علمية

المورثات المقاومة للعلاج وإعطاب الـ«دنا» كوسائل ممكنة للتعرف على مدى استجابة مرضى سرطان الدم للعلاج الكيميائي

تعد مقاومة مرضى السرطان للعلاج الكيميائي من أهم التحديات التي واجهت العلماء نحو بحث أسباب فشل هذا العلاج ، وقد أظهرت بعض الدراسات الحديثة أن السبب يكمن في آلية التعبير الجيني لبعض المورثات التي تعمل على مقاومة الأدوية مثل المورث (م د ر ١)، والمورث (م ر ب ١- ٩)، وذلك بإنتاج بروتينات تقوم بطرح الدواء من داخل الخلية إلى خارجها.

وبما أن مرض السرطان يعد من الأمراض الخطيرة على صحة الإنسان ، فقد اتجهت جهود الباحثين إلى الاستفادة من تلك الدراسات على حالات السرطان، وعليه فقد قامت **مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية** بدعم وتمويل البحث رقم أت-٢٢-٢٧ ، وقام بتنفيذه **د. سفيان بن محمد العسولي** كباحث رئيس، **ود. محمد حسن محمد قاري** كباحث مشارك، وتم تنفيذ البحث بكلية الطب جامعة الملك عبد العزيز بجدة.

أهداف الدراسة

تهدف الدراسة لما يلي :

١- تقييم التعبير الوراثي للمورثات المقاومة للعقاقير المتعددة، مثل:(MDR1)، وآلية إنتاجها للبروتين عند المرضى المصابين بأمراض الدم المختلفة في وقت التشخيص، أو الشفاء، أو بعد الانتكاسة.

٢- ربط مستوى التعبير الوراثي للمورث (MDR1) بمدى استجابة المريض للعلاج.

٣- تقييم مدى الضرر من حيث تكسر الحمض النووي في خلايا المرضى المصابين بسرطان ابيضاض الدم (الليوكيميا) في مراحل مختلفة من هذا المرض، وربط ذلك مع نتائج العلاج.

٤- تحليل قدرة خلايا المرضى المصابين بسرطان الدم على إصلاح تكسر الحمض النووي الناجم عن العلاج الكيميائي.

آلية الدراسة

تم في هذه الدراسة جمع ١٠٠ عينة دم من ٥٩ مريضا بأنواع مختلفة من سرطان الدم لمعرفة ما إذا كان زيادة نشاط بعض المورثات هو السبب في فشل العلاج ، حيث جمعت العينات كالتالي :

- ٣٣ عينة من مرضى يعانون من ابيضاض دم لمفاوي حاد.
- ٢٩ عينة من مرض يعانون من ابيضاض نقوي حاد.
- ٦ عينات من مرضى ابيضاض نقوي مزمن.
- ٨ عينات من مرضى ابيضاض لمفاوي حاد.
- عينتان من مريضين لمفوما لا هودجكن.
- ٣ عينات من مرضى يعانون ورما نقويا متعدداً.
- عينتان من مريضين يعانيان من لمفوما بيركت.
- عينة من مريض يعاني التهاب خلايا لانجرهان.
- عينتان من مريضين يعانيان من مرض فقر الدم (الأنيميا).
- ١٢ عينة من مرضى يعانون من مرض المايلوما المتعددة.
- عينتان من مريضتين يعانيان من مرض التكاثر النقوي المزمن.

تم فحص بروتينات (م د ر١) ، (م ر ب) في الـ١٠٠عينة بواسطة تقنيات المناعة الكيميائية

النسيجيه باستخدام مستضدات وحيدة النسيلة الخاص بـ (م د ر١)، وبروتينات (م ر ب ٢،٣،٥). كما تم أيضاً فحص ٦٣ عينة بواسطة تقنية الانسياب الخلوي للتعرف على وجود البروتين (م در١)، (م ر ب ١،٢،٣،٥). كما تم استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل، والاستنساخ العكسي لمعايرة التعبير عن رنا الرسول (mRNA) للمورثات المسؤولة عن مقاومة المرض، بالإضافة إلى استخدام تقنية الرحلان الكهربائي (Electrophoresis) في فحص درجة التكسر للدنا.

نتائج الدراسة

أظهرت نتائج الدراسة أنه يوجد واحد أو أكثر من هذه البروتينات المسببة لمقاومة المرض للعلاج الكيميائي بنسبة ٥,٩٪ من عينات المرضى حديثي التشخيص. بصفة عامة. والذين لم يتلقوا العلاج، وبنسبة ١٤,٣٪ من عينات المرضى المنتكسين. بالإضافة إلى ذلك فقد أظهرت نتائج فحص عينات مرضى اللمفوما الحاد عدم وجود هذه البروتينات في المرضى المشخصين حديثاً والذين لم يعالجوا. أما المرضى الذين تم شفاؤهم فقد وجد هذا البروتين في عينة واحدة، في حين وجد هذا البروتين في ٧ حالات من المرضى الذين تم علاجهم.

أما عند فحص عينات المرض النقوي الحاد، فقد وجد البروتين في عينتين فقط لمرضى حديثي التشخيص، وفي عينتين ممن تم شفاؤهم، وفي أربعة عينات ممن انتكست حالتهم الصحية. أما في حالة المرض النقوي المزمن، فقد لوحظ عدم وجود البروتين في خلايا المرضى الجدد أو الذين تم شفاؤهم .كما اتضح في حالة المرض النقوي الحاد أن هذا البروتين لا يوجد في المرضى الجدد ، في حين ظهر البروتين في عينتين لكل من الذين شفوا والمنتكسين. أما عند فحص عينات المرض النقوي المتعدد فقد ظهر هذا البروتين في عينة واحدة من بين عشرة حالات تماثلت للشفاء. وبتحليل مربع كاي(X^2)اتضح عدم وجود علاقة بين نتائج المناعة الكيميائية النسيجية والحالة المرضية (ب =< ٠,٠٥). أما عند استخدام تقنية الانسياب الخلوي ومستضدات وحيدة النسيلة فقد وجد أن هناك واحدا أو أكثر من البروتينات في ٢٥٪من العينات حديثة التشخيص، و في ٧١٪من العينات المتماثة للشفاء، وفي ٤٠٪ من عينات المنتكسين. كما وجد أن هناك علاقة يعتد بها بين حالة المرض و نتائج الانسياب الخلوي (ب =< ٠,٠٥)

أما عند استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل، والاستنساخ العكسي لمعايرة التعبير عن رنا الرسول لكل من (م د ر١) ، (م ر ب ١-٥) وكذلك إنزيم توبوايزوميريز٢أ، في وجود مورث بيتا اكتين كضابط ، في دراسة ٢٧ عينة من مرضى ابيضاض الدم بالإضافة إلى ثمانية أصحاء، فقد وجد أن تعبير رنا الرسول للمورثات (م ر ب ١-٥) للعينات غير المعالجة ، والعينات المتماثلة للشفاء، وعينات الانتكاسة، هي: ٨,١٤٪، ٠,٣٧٪ ، ٦,٥٥٪ بالترتيب. كما كانت نسبة تعبير (م ر ب ١)، (م ر ب٢)، (م ر ب ٣)، (م ر ب ٤) ، (م ر ب ٥) ، هي :٥,٨٪، ٦,٢٩٪، ٤,٧٪، ٦,٢٩٪، ٢,٢٢٪ على التوالي. في حين أنه لم يوجد (م د ر١)، والتوبوايزوميريز٢أ، في أي من عينات المرضى أو العينات الضابطة، في حين وجد (م رب٣) في ثلاث من العينات الضابطة.

أظهرت نتائج فحص درجة تكسر الدنا في ٩٨ عينة باستخدام تقنية الرحلان الكهربائي وحيد الخلية (الشهاب)، أن المرضى المعالجين والذين تماثلوا للشفاء يعانون من نسبة تكسر دنا عالية ، مقارنة بالمرضى المنتكسين الذين كان في خلاياهم تكسير الدنا أقل بكثير، حيث وجد أن عزم ذنب الشهاب في عينات المتماثلين للشفاء هو(١٠,٢)، بينما عند المنتكسين يساوي (٠,٢٩). وعند تحليل مربع كاي اتضح أن هناك علاقة معتدة بين نتائج فحص الشهاب و الحالة المرضية ، كما اتضح أنه لا توجد علاقة بين عمر وجنس المريض في أي من التحاليل سابقة الذكر.

لوحظ كذلك أن قدرة خلايا المرضى المنتكسين أكبر بكثير على إصلاح تكسير الدنا المستحدث مقارنة بالخلايا العادية أو خلايا المرضى الذين هم في حالة شفاء أو ممن لم يعالجوا.