مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۴۰/هفته چهارم مرداد ماه ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۳

بررسی پلی‌مورفیسم کدون شماره‌ی ۷۲ ژن P۵۳ در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئید مزمن در شهر اصفهان

دکتر مهدی نیکبخت دستجردی[۱]، فاطمه‌السادات میرابوطالبی[۲]، زینب ابراهیمی[۲]

مقاله کوتاه

چکیده

مقدمه: ژن P۵۳ به عنوان یک ژن مهار کننده‌ی تومور وظایف مهمی در حفظ ثبات ژنتیکی به عهده دارد. وجود یک پلی‌مورفیسم شایع در کدون شماره‌ی ۷۲ این ژن، با افزایش خطر ابتلا به سرطان‌های ریه، پروستات، سینه و کولورکتال مرتبط است. گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که شیوع ژنوتیپ‌های مختلف کدون ۷۲ در برخی از انواع سرطان‌ها، وابسته به نژاد است. در مطالعه‌ی حاضر، این پلی مورفیسم در نمونه‌های لوسمی میلوئید مزمن در شهر اصفهان بررسی شد.

روش‌ها: این مطالعه‌ی مورد- شاهدی، به منظور بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم کدون شماره‌ی ۷۲ ژن P۵۳ با افزایش خطر ابتلا به لوسمی میلوئید مزمن، انجام شد. ۴۱ نمونه‌ی خون افراد سالم به عنوان گروه شاهد و ۴۱ نمونه‌ی مغز استخوان از بیماران مبتلا به لوسمی میلوئید مزمن در شهر اصفهان مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از روش Allele specific PCR (Allele specific polymerase chain reaction)، پلی‌مورفیسم کدون شماره‌ی ۷۲ ژن P۵۳ تعیین شد. سپس اطلاعات حاصل، از طریق نرم‌افزار SPSS، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه‌ی توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف، کدون ۷۲ در نمونه‌های مبتلا به سرطان با توزیع فراوانی این سه ژنوتیپ در نمونه‌های شاهد، از آزمون χ^2 استفاده شد.

یافته‌ها: توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های آرژنین/آرژنین، آرژنین/پرولین و پرولین/پرولین در گروه شاهد به ترتیب ۴۳/۹، ۵۱/۲ و ۴/۹ درصد و در گروه مورد به ترتیب ۳۱/۷، ۴۶/۳ و ۲۲/۰ درصد بود. اختلاف معنی‌داری بین توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه مشاهده شد (P = ۰/۰۲۳).

نتیجه‌گیری: یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مشخص می‌کند که پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن P۵۳ ممکن است به عنوان یک عامل ژنتیکی در سرطان لوسمی میلوئید مزمن در اصفهان محسوب شود. با این وجود، مطالعات بیشتر جهت روشن شدن نقش این پلی‌مورفیسم در این سرطان لازم است.

واژگان کلیدی: لوسمی میلوئید مزمن، کدون، ژنوتیپ، پلی مورفیسم، ژن مهار کننده تومور

ارجاع: نیکبخت دستجردی مهدی، میرابوطالبی فاطمه‌السادات، ابراهیمی زینب. **بررسی پلی‌مورفیسم کدون شماره‌ی ۷۲ ژن P۵۳ در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئید مزمن در شهر اصفهان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۴۰): ۱۰۲۷-۱۰۱۹

مقدمه

لوسمی، دسته‌ای از بیماری‌های بدخیم سیستم خون‌ساز است که مغز استخوان، خون و دیگر اعضای بدن را درگیر می‌کند. انواع لوسمی بر اساس مورفولوژی سلول‌ها به دو نوع لنفوئیدی و میلوئیدی و از نظر کلینیکی به دو نوع حاد و مزمن تقسیم می‌شوند (۱). لوسمی لنفوسیتی مزمن (CLL یا Chronic lymphocytic leukemia)، رایج‌ترین نوع سرطان خون در بزرگسالان در کشورهای غربی هم از نظر بروز و هم شیوع می‌باشد و با تجمع

۱- دانشیار، گروه علوم تشریحی و زیست‌شناسی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مهدی نیکبخت دستجردی
Email: nikbakht@med.mui.ac.ir

لنفوسیت‌های بالغ B در خون، مغز استخوان، غدد لنفاوی و طحال، مشخص می‌شود (۳-۲). افزایش امید به زندگی در جمعیت غربی، به طور عمده منجر به افزایش تعداد بیماران مبتلا به سرطان در بیماران مسن می‌شود (بروز ۲۲ در هر ۱۰۰۰۰۰ هر سال در میان افراد مسن‌تر از ۶۵ سال) (۳).

لوسمی میلوئیدی مزمن (CML یا Chronic myeloid leukemia)، یک اختلال میلوپرولیفراتیو از سلول‌های بنیادی خون‌ساز است که از انتقال متعادل بین بازوهای بلند کروموزوم‌های ۹ و ۲۲ ناشی می‌شود. این بیماری، به سه مرحله‌ی مزمن، شتاب گیرنده (Accelerated) و بلاستیک (Blastic) تقسیم می‌شود و زمینه‌ی بیماری از یک مرحله‌ی به نسبت خوش‌خیم مزمن و از طریق مرحله‌ی شتاب به مرحله‌ی بلاستیک پیشرفت می‌کند (۴). در سال ۲۰۱۰ در ایالات متحده‌ی امریکا، حدود ۴۸۷۰ مورد جدید CML گزارش شده است و متوسط سن تشخیص در اروپا ۶۰-۵۷ سال می‌باشد.

سرطان، یکی از نتایج جهش در ژن مهار کننده‌ی تومور است که منجر به رشد کنترل نشده‌ی سلولی و در نهایت، متاستاز به بافت‌های نزدیک است و به عنوان یکی از علل مرگ در جهان و همچنین یکی از مشکلات بهداشت عمومی در سراسر جهان مطرح می‌باشد. مطالعات قبلی، عوامل خطر بسیاری برای توسعه‌ی سرطان از جمله سیگار، الکل، عفونت‌های میکروبی و قرار گرفتن در معرض تابش اشعه را معرفی می‌کند. علاوه بر این، مطالعات نشان می‌دهد که عوامل زیست محیطی با نفوذ و تأثیر بر ژن‌ها، به صورت قابل توجهی به توسعه‌ی سرطان کمک می‌کنند.

به تازگی، مطالعات مرتبط با ژنوم دیدگاه جدیدی نسبت به اساس ژنتیکی از چند سرطان فراهم آورده است. بنابراین، پیش‌بینی می‌شود شناسایی پلی‌مورفیسم ژنتیکی مرتبط با سرطان، ممکن است تشخیص زودهنگام و استراتژی‌های درمانی این بیماری علاج ناپذیر را بهبود بخشد (۵).

ژن P۵۳ به عنوان مهم‌ترین ژن مهار کننده‌ی تومور بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ قرار دارد (۱۷p۱۳). این ژن، نقش محوری در توقف چرخه‌ی سلولی، اصلاح DNA، القای آپوپتوز و در نتیجه، محافظت از یکپارچگی ژنوم در پاسخ به استرس سلولی ایفا می‌کند (۶-۵).

P۵۳ ممکن است غیر فعال شود یا از طریق جهش در ژن P۵۳ در سرطان‌های انسانی، منجر به بیان نابه‌جا از پروتئین و عملکرد ضعیف در مسیر سرکوب تومور شود که این امر، ایجاد سرطان یا پیشرفت تومور را به دنبال دارد. در مطالعات آزمایشگاهی نشان داده شده است که بیان مختلف ژن P۵۳ با انواع مختلف از سرطان مرتبط است و علاوه بر نقش آن در سرکوب تومور، بیان نابه‌جای ژن P۵۳ نقش مهمی در آنژیوژنز دارد (۵).

جهش در ژن P۵۳ حداقل در ۵۰ درصد سرطان‌ها رخ می‌دهد و بیش از ۹۰ درصد از این جهش‌ها، منجر به از بین بردن توانایی پروتئین P۵۳ در اتصال به DNA می‌شود. جهش P۵۳ در ۳۷-۴ درصد از بیماران مبتلا به CLL یافت شده است که با مقاومت به شیمی درمانی و کاهش قابل توجه در میانگین بقا مرتبط است (۹-۷). اثرات سودمند شیمی درمانی در درمان سرطان‌ها، اغلب از طریق القای آپوپتوزیس و یا اختلال در روند متابولیک چرخه‌ی سلولی می‌باشد.

بنابراین، تومورهایی که آپوپتوزیس را نشان می‌دهند، نسبت به شیمی درمانی حساس‌تر هستند و پیش‌آگهی بهتری دارند (۱۰). در سال‌های اخیر، پژوهش‌های فراوانی در مورد ارتباط سرطان با پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (Single nucleotide polymorphism یا SNP) انجام شده است که وجود تفاوت‌های فردی برای مستعد شدن برای ابتلا به نئوپلاسم‌های خاص را توضیح می‌دهد (۱۷-۱۱).

یک پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در اگزون ۴ از ژن P۵۳ منجر به ایجاد دو آلل آرژنین و پرولین می‌شود. این پلی‌مورفیسم، بسته به نژاد و عرض جغرافیایی متفاوت است (۸، ۶، ۲). هر فرد، یک ژنوتیپ P۵۳ را به ارث می‌برد که می‌تواند هتروزیگوت (Arg/Pro) و یا هموزیگوت برای هر دو آلل آرژنین یا پرولین باشد. توانایی هموزیگوت Arg/Arg در القای آپوپتوز، در مقایسه با حضور آلل پرولین، ۱۵ برابر گزارش شده است (۷).

گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که میزان بروز سرطان‌های مختلف از جمله سرطان‌های سینه (۱۹-۱۸)، ریه (۲۰-۱۹)، پروستات (۲۱، ۱۷)، کولورکتال (۲۴-۲۲، ۱۶)، پوست (۲۵)، لوسمی (۲۷-۲۶، ۸، ۶) و سایر بیماری‌ها مثل اندومتریوز (۲۸) با درصد فراوانی این سه ژنوتیپ ارتباط دارد. تنوع در آلل‌های کد کننده‌ی اسیدهای آمینه‌ی آرژنین و پرولین، باعث ایجاد تغییر در ساختمان پروتئین P۵۳ و به دنبال آن تغییر در عملکرد این پروتئین می‌گردد (۲۴). تحقیقات اخیر بیان می‌کنند که پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ روی عملکرد ژن P۵۳ تأثیر دارد و نشان می‌دهند که پروتئین دارای پرولین، نسبت به پروتئین دارای آرژنین، توانایی کمتری برای القای آپوپتوز دارد. بر همین اساس، پاسخ‌دهی این ژنوتیپ‌ها به داروهای شیمی درمانی متفاوت گزارش شده است (۱۶).

در لوسمی، آلل پرولین کدون ۷۲ در ژن P۵۳، خطر ابتلا به CML را افزایش می‌دهد؛ در حالی که آلل آرژنین با افزایش خطر ابتلا به CLL همراه است (۶).

با توجه به این که این پلی مورفیسم، وابسته به موقعیت جغرافیایی و نژادی است و فراوانی برخی از سرطان‌ها از جمله لوسمی با آن مرتبط است و پاسخ‌دهی این ژنوتیپ به داروهای شیمی درمانی متفاوت گزارش شده است، هدف از این مطالعه، بررسی این پلی‌مورفیسم در نمونه‌های لوسمی مزمن و مقایسه‌ی آن با نمونه‌های سالم در شهر اصفهان می‌باشد.

روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها: ۱۰۰ نمونه‌ی مبتلا به سرطان شامل نمونه‌های مغز استخوان بیماران لوسمی مزمن که در قالب بلوک‌های پارافینی بودند، از آرشیو بیمارستان سیدالشهدا (ع) اصفهان جمع‌آوری گردید و نمونه‌های شاهد از خون افرادی که جهت آزمایش خون به بیمارستان الزهرا (س) مراجعه کرده بودند، به عنوان گروه شاهد جمع‌آوری شد و پس از تأیید سالم بودن گروه شاهد با مطالعه‌ی میکروسکوپی خون محیطی و تأیید پاتولوژی نمونه‌های مغز استخوان توسط پاتوژیست، در مجموع ۴۱ نمونه‌ی مبتلا به سرطان و ۴۱ نمونه‌ی خونی گروه شاهد وارد مطالعه گردید.

استخراج DNA از بلوک‌های پارافینی و نمونه‌های خونی: بعد از تأیید تشخیص پاتولوژی سه یا پنج قطعه از برش‌های بافتی به ضخامت ۱۵-۱۰ میکرومتر در میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری شد. به منظور پارافین‌زدایی، به هر یک از تیوب‌ها

۵۰۰ میکرولیتر گزیلن اضافه شد و در بن‌ماری به مدت ۲ ساعت در درجه‌ی حرارت ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس سانتریفوژ در ۱۸۰۰۰ X g به مدت ۵ دقیقه انجام شد و بار دیگر با اضافه نمودن ۵۰۰ میکرولیتر گزیلن مرحله‌ی پارافین‌زدایی تکرار گردید.

در مرحله‌ی بعد، با استفاده از High pure PCR Template Preparation Kit، DNA از بافت‌ها استخراج گردید. DNA استخراج شده در تیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری شد و به فریزر در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل گردید.

بعد از تطابق افراد سالم از نظر سن و جنس با نمونه‌های مبتلا به سرطان، حدود ۱ میلی‌لیتر از خون محیطی آن‌ها جمع‌آوری شد و ۲۰۰ میکرولیتر از آن جهت استخراج DNA با استفاده از High Pure PCR Template Preparation Kit، استفاده گردید.

سپس غلظت DNA استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به صورت کمی تعیین گردید.

روش Allele specific PCR (Allele specific polymerase chain reaction): با استفاده از ۳۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA، ۱ واحد تک پلیمراز، ۱/۵ میلی‌مول منیزیوم کلراید و ۲۰۰ میکرومول از هر یک از dATP (Deoxyadenosine triphosphate)، dCTP (Deoxycytidine triphosphate)، dTTP (Deoxythymidine triphosphate)، dGTP (Deoxyguanosine triphosphate) و ۲ میکروگرم از هر یک از زوج پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین و آرژنین در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت. توالی پرایمرهای اختصاصی از مطالعات قبلی به دست آمد (۲۷، ۲۵-۲۴).

توالی پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین به شرح زیر می‌باشند:

F: GCCAGAGGCTGCTCCCCC
R: CGTGCAAGTCACAGACTT

توالی پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر آرژنین به شرح زیر می‌باشند:

F: TCCCCCTTGCCGTCCCAA
R: CTGGTGCAGGGGCCACGC

تنظیم دستگاه ترموسایکلر برای تکثیر توالی پلی‌مورفیک کدون ۷۲ ژن P۵۳ شامل مراحل زیر بود:

الف- Denaturation ابتدایی در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه.

ب- ۳۵ سیکل شامل Denaturation در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، Annealing در دمای ۵۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای تکثیر پرولین و در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای تکثیر آرژنین و Extension در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه.

ج- Extension نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه.

بعد از اتمام کار محصول PCR تا زمان الکتروفورز در یخچال نگهداری شد.

ژل الکتروفورز: حدود ۵ میکرولیتر از محصول واکنش همراه با ۱ میکرولیتر Loading dye در ژل آگارز ۲ درصد در بافر TBE ×۰/۵ الکتروفورز شد و روی یک UV Transluminator (Ultraviolet Transluminator) مشاهده گردید.

اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version20 SPSS Inc., Chicago, IL)، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه‌ی توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف کدون ۷۲ در

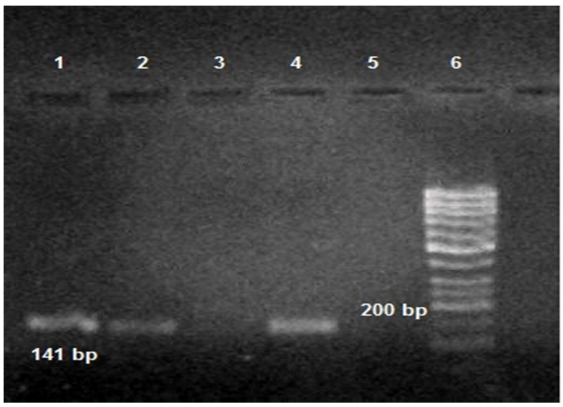
نمونه‌های سرطانی، با توزیع فراوانی این سه ژنوتیپ در نمونه‌های شاهد از آزمون χ^2 استفاده شد. $P < ۰/۰۵۰$ معنی‌دار تلقی گردید. با استفاده از نرم‌افزار GenePop، تعادل Hardy–Weinberg از طریق محاسبه‌ی مقدار P مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

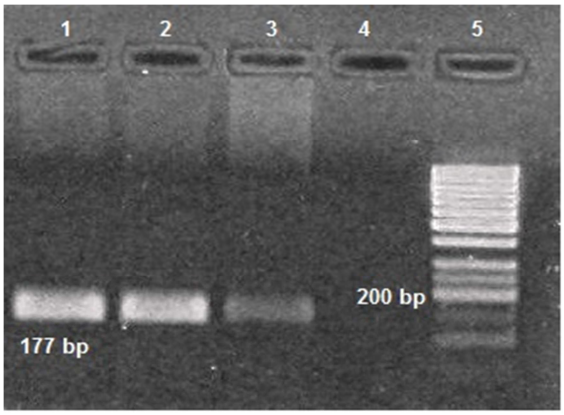
برای انجام این مطالعه، ۴۱ نمونه‌ی مبتلا به سرطان (مورد) و ۴۱ نمونه‌ی خونی افراد سالم (شاهد) جمع‌آوری شد. DNA استخراج شده از بافت‌های مورد، دارای غلظت و کیفیت مناسب بود و به طور موفقیت‌آمیز، به روش PCR تکثیر یافتند. ۴۱ نمونه‌ی DNA استخراج شده از خون افراد سالم (شاهد) نیز همگی دارای غلظت و کیفیت مناسب بودند و به طور موفقیت‌آمیز به روش PCR تکثیر یافتند.

در Allele specific PCR، در نمونه‌هایی با ژنوتیپ آرژنین/آرژنین فقط با پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر آرژنین، باندی با اندازه‌ی ۱۴۱ bp (شکل ۱) و در نمونه‌های با ژنوتیپ پرولین/پرولین، فقط با پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین باندی با اندازه‌ی ۱۷۷ bp ایجاد شد (شکل ۲). در حالی که در نمونه‌های با ژنوتیپ آرژنین/پرولین با هر دو دسته‌ی این پرایمرها، باند تشکیل گردید.

توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف کدون ۷۲ ژن P۵۳ در ۴۱ نمونه‌ی مبتلا به سرطان و ۴۱ نمونه‌ی خونی شاهد در جدول (۱) آمده است. اختلاف بین توزیع فراوانی ژنوتیپ پرولین/پرولین کدون ۷۲ ژن P۵۳ در نمونه‌های مورد با نمونه‌های خونی شاهد، معنی‌دار بود ($P = ۰/۰۲۳$)؛ به طوری که ابتلا به CML (Chronic myeloid leukemia) در افراد دارای ژنوتیپ پرولین/پرولین، پنج برابر سایر افراد بود. پس از تعیین ژنوتیپ‌ها و درصد هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی با استفاده از نرم‌افزار GenePop، مشاهده گردید که برای جمعیت مورد مطالعه، $P > ۰/۰۵۰$ است که بیانگر وجود تعادل Hardy–Weinberg می‌باشد.



شکل ۱. نمونه‌های با ژنوتیپ آرژنین/آرژنین فقط با پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر آرژنین، باندی با اندازه‌ی pb ۱۴۱ تشکیل داده‌اند. نمونه‌های شماره‌ی ۱، ۲ و ۴ دارای باند، نمونه‌ی شماره‌ی ۳ فاقد باند، نمونه‌ی شماره‌ی ۵ شاهد منفی و نمونه‌ی شماره‌ی ۶ نشانگر.
bp: Base pairs



شکل ۲. نمونه‌های با ژنوتیپ پرولین/پرولین فقط با پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین باندی با اندازه‌ی bp ۱۷۷ ایجاد نمودند. نمونه‌های شماره‌ی ۳-۱ دارای باند، نمونه‌ی شماره‌ی ۴ شاهد منفی، نمونه‌ی شماره‌ی ۵ نشانگر.
bp: Base pairs

جدول ۱. توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف کدون ۷۲ در نمونه‌های مورد و شاهد

ژنوتیپ	گروه مورد تعداد (درصد)	گروه شاهد تعداد (درصد)	OR (CI ٪۹۵)	مقدار P
آرژنین/آرژنین	۱۳ (۳۱/۷)	۱۸ (۴۳/۹)	۵/۰ (۱/۱-۲۷/۲)	۰/۰۲۳
آرژنین/پرولین	۱۹ (۴۶/۳)	۲۱ (۵۱/۲)		
پرولین/پرولین	۹ (۲۲/۰)	۲ (۴/۹)		

OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

بحث

سرطان یکی از نتایج جهش در ژن مهار کننده‌ی تومور است که منجر به رشد کنترل نشده‌ی سلول و در نهایت، متاستاز به سایر بافت‌ها می‌شود (۵). ژن P۵۳ به عنوان یک ژن سرکوب کننده‌ی تومور (واقع در کروموزوم ۱۷p۱۳) نقش محوری در جلوگیری از ایجاد تومور با القای آپوپتوز، پیری و یا توقف چرخه‌ی سلولی در پاسخ به تنش‌های سلولی ایفا می‌کند (۹، ۶). کدون ۷۲ در اگزون شماره‌ی ۴ ژن P۵۳، دارای پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی شایعی است که منجر به ایجاد دو آلل آرژنین و پرولین می‌شود که رفتار بیولوژیکی و بیوشیمیایی P۵۳ را در شرایط آزمایشگاهی تغییر می‌دهد.

آلل آرژنین، توانایی ژن P۵۳ را در القای آپوپتوز افزایش می‌دهد؛ در حالی که پروتئین دارای پرولین، توانایی کمتری نسبت به آرژنین دارد (۸-۷، ۲).

بر اساس این یافته، تعدادی از مطالعات برای ایجاد ارتباط بین پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ در ژن P۵۳ و خطر ابتلا به انواع خاصی از سرطان انجام شده است. جهش در ژن P۵۳، با پیشرفت بیماری و کاهش بقا در بسیاری از سرطان‌های انسانی از جمله لوسمی میلوئیدی مزمن، مولتیپل میلوم، سرطان پستان، سرطان معده و آدنوکارسینوم کولون و سرطان ریه مرتبط است (۱۰).

یک مطالعه از سرطان ریه نشان داد که پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ یک عامل خطر برای پیشرفت سرطان ریه است و تومورهای با ژنوتیپ پرولین/پرولین، بروز جهش‌های نقطه‌ای در ژن P۵۳ را افزایش می‌دهد که نشان دهنده‌ی پیش‌آگهی ضعیف می‌باشد (۱۱).

برخی از محققین، شواهدی موافق نقش پیش‌آگهی جهش ژنی P۵۳ در بیماران مبتلا به CLL ارایه کرده‌اند (۱۲، ۷، ۲). هر چند که توسط برخی از محققین رد شده است (۱۳).

مطالعه‌ی Dong و همکاران، نشان می‌دهد که جهش در بیماران CLL با حضور آلل پرولین در کدون۷۲ ژن P۵۳ به صورت قابل توجهی در مقایسه با ژنوتیپ‌های دیگر بالاتر است و از طرف دیگر، نشان می‌دهد که حذف ژن P۵۳ با پیش‌آگهی ضعیف CLL، پیشرفت بیماری طی ۲-۱ سال و مقاومت به شیمی درمانی و جهش ژن P۵۳ و تجمع هسته‌ای پروتئین P۵۳ با مرحله‌ی بالاتر تومور و کاهش میزان بقا در چند سرطان از جمله CLL همراه است (۷).

در این مطالعه، از طریق تجزیه و تحلیل ۴۱ نمونه‌ی مبتلا به سرطان CML و مقایسه‌ی آن با ۴۱ نمونه‌ی خون افراد سالم در شهر اصفهان، ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن P۵۳ و CML مشاهده شد؛ به طوری که ابتلای افراد دارای ژنوتیپ پرولین/پرولین

به CML، پنج برابر سایر افراد بود.

در مطالعات مورد- شاهدی انجام گرفته در ایتالیا (۲۶) و چین (۶) نیز ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ پرولین/پرولین و خطر ابتلا به CML مشاهده شد؛ در حالی که چنین ارتباطی در کشور برزیل دیده نشد (۲۷).

فراوانی‌های آللی در جمعیت‌های گوناگون متفاوت گزارش شده است. بر طبق گزارش‌های ارایه شده، جمعیت آمریکای لاتین، ایالات متحده‌ی امریکا و اروپا، میزان بالایی از آلل آرژنین را نسبت به آلل پرولین بروز می‌دهند که در مقایسه با آن، در جمعیت‌های آفریقایی و آسیایی، فراوانی آلل آرژنین کمتر است (۳۱-۲۸). بنابراین با وجود این یافته‌های متفاوت، بررسی نقش پلی‌مورفیسم ژن P۵۳ در CML نیاز به مطالعات گسترده‌تری دارد.

نتیجه‌گیری نهایی این که پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن P۵۳ ممکن است به عنوان یک عامل ژنتیکی در سرطان لوسمی میلوئید مزمن در اصفهان محسوب شود. با این وجود، مطالعات بیشتر جهت روشن شدن نقش این پلی‌مورفیسم در این سرطان لازم است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح پژوهشی با کد ۲۸۹۰۲۸ مصوب شورای طرح‌های تحقیقاتی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. از کلیه‌ی کارکنان محترم آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی که ما را در انجام این طرح یاری رساندند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Yan YL, Han F, Tan WM, Wu CP, Qin X. Association between the MDM2 T309G polymorphism and leukemia risk: a meta-analysis. Asian Pac J Cancer Prev 2014; 15(16): 6767-72.
2. Kochethu G, Delgado J, Pepper C, Starczynski J, Hooper L, Krishnan S, et al. Two germ line polymorphisms of the tumour suppressor gene p53 may influence the biology of chronic lymphocytic leukaemia. Leuk Res 2006; 30(9): 1113-8.
3. van den Broek EC, Kater AP, van de Schans SA, Karim-Kos HE, Janssen-Heijnen ML, Peters WG, et al. Chronic lymphocytic leukaemia in the Netherlands: trends in incidence, treatment and survival, 1989-2008. Eur J Cancer 2012; 48(6): 889-95.
4. Liu YC, Hsiao HH, Yang WC, Liu TC, Chang CS, Yang MY, et al. MDM2 promoter polymorphism and p53 codon 72 polymorphism in chronic myeloid leukemia: the association between MDM2 promoter genotype and disease susceptibility, age of onset, and blast-free survival in chronic phase patients receiving imatinib. Mol Carcinog 2014; 53(12): 951-9.
5. Mandal RK, Yadav SS, Panda AK. No evidence of correlation between p53 codon 72 G > C gene polymorphism and cancer risk in Indian population: a meta-analysis. Tumour Biol 2014; 35(9): 8607-13.
6. Xiong X, Wang M, Wang L, Liu J, Zhao X, Tian Z, et al. Risk of MDM2 SNP309 alone or in combination with the p53 codon 72 polymorphism in acute myeloid leukemia. Leuk Res 2009; 33(11): 1454-8.
7. Dong HJ, Fang C, Wang L, Fan L, Xu J, Wu JZ, et al. TP53 Pro72 allele potentially increases the poor prognostic significance of TP53 mutation in chronic lymphocytic leukemia. Med Oncol 2014; 31(4): 908.
8. Majid A, Richards T, Dusanjh P, Kennedy DB, Miall F, Gesk S, et al. TP53 codon 72 polymorphism in patients with chronic lymphocytic leukaemia: identification of a subgroup with mutated IGHV genes and poor clinical outcome. Br J Haematol 2011; 153(4): 533-5.
9. Wang C, Wang X. The role of TP53 network in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. Int J Clin Exp Pathol 2013; 6(7): 1223-9.
10. Barnabas N, Shurafa M, Van Dyke DL, Wolman

SR, Clark D, Worsham MJ. Significance of p53 mutations in patients with chronic lymphocytic leukemia: a sequential study of 30 patients. Cancer 2001; 91(2): 285-93.
11. Hu Y, McDermott MP, Ahrendt SA. The p53 codon 72 proline allele is associated with p53 gene mutations in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2005; 11(7): 2502-9.
12. Bloehdorn J, Langer Ch, Dohner H, Zenz T, Stilgenbauer S. P53 and microRNAs in chronic lymphocytic leukemia. Journal of Nucleic Acids Investigation 2010; 2: e8.
13. Lahiri O, Harris S, Packham G, Howell M. p53 pathway gene single nucleotide polymorphisms and chronic lymphocytic leukemia. Cancer Genet Cytogenet 2007; 179(1): 36-44.
14. Chang FH, Tzeng DS, Lee TM, Chen TC, Hsu LS, Lung FW. Mutations in the p53 tumor suppressor gene in colorectal cancer in Taiwan. Kaohsiung J Med Sci 2003; 19(4): 151-8.
15. Santos AM, Sousa H, Portela C, Pereira D, Pinto D, Catarino R, et al. TP53 and P21 polymorphisms: response to cisplatinum/paclitaxel-based chemotherapy in ovarian cancer. Biochem Biophys Res Commun 2006; 340(1): 256-62.
16. Cao Z, Song JH, Park YK, Maeng EJ, Nam SW, Lee JY, et al. The p53 codon 72 polymorphism and susceptibility to colorectal cancer in Korean patients. Neoplasma 2009; 56(2): 114-8.
17. Zhang J, Zhuo WL, Zheng Y, Zhang YS. Polymorphisms of TP53 codon 72 with prostate carcinoma risk: a meta-analysis. Med Oncol 2010; 27(2): 540-6.
18. Aoki MN, da Silva do Amaral Herrera AC, Amarante MK, do Val Carneiro JL, Fungaro MH, Watanabe MA. CCR5 and p53 codon 72 gene polymorphisms: implications in breast cancer development. Int J Mol Med 2009; 23(3): 429-35.
19. Mahasneh AA, Abdel-Hafiz SS. Polymorphism of p53 gene in Jordanian population and possible associations with breast cancer and lung adenocarcinoma. Saudi Med J 2004; 25(11): 1568-73.
20. Fan R, Wu MT, Miller D, Wain JC, Kelsey KT, Wiencke JK, et al. The p53 codon 72 polymorphism and lung cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000; 9(10): 1037-42.
21. Suzuki K, Matsui H, Ohtake N, Nakata S, Takei T, Nakazato H, et al. A p53 codon 72 polymorphism associated with prostate cancer development and progression in Japanese. J Biomed Sci 2003; 10(4): 430-5.
22. Dastjerdi MN. TP53 codon 72 polymorphism and P53 protein expression in colorectal cancer specimens in Isfahan. Acta Med Iran 2011; 49(2): 71-7.
23. Nikbakht Dastjerdi M, Mirmohammad Sadeghi H. TP53 codon 72 heterozygosity may promote microsatellite instability in sporadic colorectal cancer. Cell J Yakhteh 2010; 12(1): 25-32.
24. Nikbahkt Dastjerdi M, Salehi M, Mohajeri MR, Morsali F, Mirmohammad Sadeghi H, Esfandiary E. Evidence for an association of TP53 codon 72 polymorphism with sporadic colorectal cancer risk in Isfahan. J Res Med Sci 2008; 13(6): 317-23.
25. Nikbakht Dastjerdi M, Hasanzadeh M, Talebi A, Akbari M. Investigation of P53 codon 72 polymorphism in patients with nonmelanoma skin cancers in Isfahan. J Isfahan Med Sch 2011; 29(141): 679-84. [In Persian].
26. Bergamaschi G, Merante S, Orlandi E, Galli A, Bernasconi P, Cazzola M. TP53 codon 72 polymorphism in patients with chronic myeloid leukemia. Haematologica 2004; 89(7): 868-9.
27. Hamu CS, Oliveira MVP, Silva AMTC, Cruz AD. Codon 72 polymorphism of the TP53 gene in patients suspected to have CML. Rev Bras Hematol Hemoter 2007; 29(4): 346-50.
28. Nikbakht Dastjerdi M, Eslami Farsani B, Abutorabi R, Salehi R, Sanei MH. Analysis of TP53 codon 72 gene polymorphism in patients with endometriosis in Isfahan. J Isfahan Med Sch 2011; 29(157): 1327-34. [In Persian].
29. Beckman G, Birgander R, Sjalander A, Saha N, Holmberg PA, Kivela A, et al. Is p53 polymorphism maintained by natural selection? Hum Hered 1994; 44(5): 266-70.
30. Lu XM, Zhang YM, Lin RY, Liang XH, Zhang YL, Wang X, et al. p53 polymorphism in human papillomavirus-associated Kazakh's esophageal cancer in Xinjiang, China. World J Gastroenterol 2004; 10(19): 2775-8.
31. Nikbakht Dastjerdi M. Investigation of p53 codon 72 polymorphism in patients with acute myeloid leukemia in Iran. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2015; 12(1): 13-23.

Journal of Isfahan Medical School Received: 19.02.2015

Vol. 33, No. 340, 4th Week, August 2015 Accepted: 24.06.2015

Investigating the p53 Codon 72 Polymorphism in Patients with Chronic Myeloid Leukemia in Isfahan, Iran

Mehdi Nikbakht-Dastjerdi PhD[1], Fatemehsadat Mirabutalebi[2], Zeinab Ebrahimi[2]

Short Communication

Abstract

Background: The p53 tumor suppressor gene plays important roles in genomic stability. A common polymorphism at codon 72 in the p53 gene has been associated with increased risk for lung, oral, prostate, breast and colorectal cancers. Several reports have noted racial differences in the prevalence of p53 genotypes at the codon 72 in certain cancer types. We studied this polymorphism in patients with chronic myeloid leukemia in Isfahan, Iran.

Methods: We undertook a case-control study to examine the possible associations of the TP53 variants Arg4Pro at codon 72 with the risk of chronic myeloid leukemia. 41 whole blood specimens from healthy people as controls and 41 bone marrow specimens from patients with chronic myeloid leukemia from the city of Isfahan were analyzed. p53 codon 72 genotypes were identified using allele-specific polymerase chain reaction. The gathered data were analyzed using chi-squared test.

Findings: The genotype distribution for p53 polymorphism was 43.9, 51.2 and 4.9 percent for the Arg/Arg, Arg/Pro and Pro/Pro genotypes, respectively in control samples; and, 31.7, 46.3 and 22 percent for mentioned genotypes, respectively in chronic myeloid leukemia specimens. The differences in the distribution of p53 codon 72 polymorphism between the cases and controls were statistically significant (P = 0.023).

Conclusion: The findings of the present study indicate that p53 codon 72 polymorphism may be a genetic factor in chronic leukemia development in Isfahan. However, further studies are needed in order to elucidate the role of p53 codon72 polymorphism in chronic myeloid leukemia.

Keywords: Chronic myeloid leukemia, Codon, Genotype, Polymorphism, P53-tumor suppressor gene

Citation: Nikbakht-Dastjerdi M, Mirabutalebi F, Ebrahimi Z. **Investigating the p53 Codon 72 Polymorphism in Patients with Chronic Myeloid Leukemia in Isfahan, Iran.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(340): 1019-27

1- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Student of Medicine, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mehdi Nikbakht-Dastjerdi PhD, Email: nikbakht@med.mui.ac.ir