

پلی مورفیسم کدون ۷۲ ژن P53 در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئید حاد در ایران

مهدی نیکبخت دستجردی^۱

چکیده

سابقه و هدف

وجود یک پلی مورفیسم شایع در کدون شماره ۷۲ ژن P53، با افزایش خطر ابتلا به سرطان‌های ریه، پروستات، سینه و کولورکتال همراه است. در این مطالعه این پلی مورفیسم را در نمونه‌های لوسمی میلوئید حاد از بیمارستان الزهراء شهر اصفهان بررسی نمودیم.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مورد شاهده، ۵۹ نمونه خون مبتلایان به لوسمی میلوئید حاد و ۵۹ نمونه سالم بررسی شدند. ژنوتیپ‌های کدون ۷۳ ژن P53 توسط روش Allel specific PCR تعیین شد. برای مقایسه توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف کدون ۷۲ در نمونه‌های سرطانی با توزیع فراوانی این سه ژنوتیپ در نمونه‌های شاهد از آزمون کای دو و نرم افزار SPSS ۱۱ استفاده شد.

یافته‌ها

محصول PCR برای آلل پرولین ۱۷۷ bp و برای آلل آرژنین ۱۴۱ bp بود. توزیع ژنوتیپ پلی مورفیسم P53 برای ژنوتیپ‌های آرژنین/آرژنین، آرژنین/پرولین و پرولین/پرولین در گروه شاهد به ترتیب ۱۱/۹٪، ۸۱/۴٪ و ۶/۸٪ و در گروه نمونه‌های لوسمی میلوئید حاد به ترتیب ۳۳/۹٪، ۶۱٪ و ۵/۱٪ بود. اختلاف معناداری بین توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه مشاهده شد (p=۰/۰۴).

نتیجه گیری

پلی مورفیسم کدون ۷۲ ژن P53 ممکن است یک فاکتور زمینه‌ساز ژنتیکی برای سرطان لوسمی میلوئید حاد در ایران محسوب شود.

کلمات کلیدی: ژن‌های TP53، لوسمی حاد میلوئید، پلی مورفیسم (ژنتیک)، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲

تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۲

۱- مؤلف مسئول: PhD آناتومی - دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان - خیابان هزار جریب - اصفهان - ایران - کدپستی: ۸۱۷۴۴۱۷۶

مقدمه

سرطان بعد از بیماری‌های قلبی - عروقی، دومین علت اصلی مرگ و میر در جهان می‌باشد (۱). سرطان‌های هماتولوژیک از دو رده اصلی سلول‌های خونی منشاء می‌گیرند که شامل رده سلولی میلوئید و لنفوئید می‌باشد. بر اساس طبقه‌بندی WHO، اصطلاح میلوئید شامل تمامی سلول‌های متعلق به رده‌های گرانولوسیتی (شامل نوتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل) منوسیت، ماکروفاژ، اریتروئید، مگاکاریوسیت و ماست سل می‌باشد. طبقه‌بندی WHO برای سرطان‌های میلوئید، به منظور تشخیص اولیه نمونه‌های خون محیطی یا مغز استخوان که مشکوک به سرطان‌های میلوئید هستند، پیش از شروع درمان، کاربرد دارد. درصد سلولی با فنوتیپ بلاست، معیاری برای طبقه‌بندی سرطان‌های میلوئید و قضاوت در مورد سرعت رشد آن‌ها محسوب می‌شود. از نظر WHO وجود حداقل ۲۰٪ سلول‌های بلاست در خون محیطی یا مغز استخوان به عنوان لوسمی میلوئید حاد (AML) در نظر گرفته می‌شود. با این وجود در برخی از ناهنجاری‌های ژنتیکی، تشخیص AML ممکن است بدون توجه به شمارش بلاست‌های خون محیطی یا مغز استخوان انجام پذیرد (۲).

شیوع سرطان‌های هماتولوژیک در کشورهای غربی رو به فزونی است. این نوع بدخیمی‌ها با توجه به ویژگی‌های بالینی و تغییرات ژنتیکی اکتسابی در آن‌ها، بیماری‌های ناهمگونی محسوب می‌شوند. به نظر می‌رسد عوامل متعددی از قبیل جهش‌های ژنی، تابش اشعه یونیزان و عوامل شیمیایی مثل بنزن در بروز این سرطان‌ها نقش ایفا می‌نمایند. این عوامل تاثیر کارسینوژنیک خود را با آسیب رساندن به DNA پروژنیتورهای خونی اعمال نموده و در نهایت منجر به بدخیمی می‌گردند. با این وجود در اغلب موارد وجود تفاوت‌های ژنتیکی می‌تواند عاملی برای خطر بالای ابتلا به سرطان باشد (۳).

ژن P53 به عنوان مهم‌ترین ژن مهارکننده تومور، بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ قرار دارد (۱۷p۱۳) و از ۱۱ اگزون و ۱۰ اینترون تشکیل شده است که حاوی ۲۰ کیلو باز می‌باشد. این ژن پروتئین P53 را کد می‌کند که یک فسفوپروتئین هسته‌ای است و از ۳۹۳ اسید آمینه تشکیل

تشکیل شده است (۵، ۴). ژن P53 یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های مهار در رشد سلول‌های طبیعی و تقسیم سلولی می‌باشد. زمانی که DNA آسیب می‌بیند، ژن P53 از طریق اتصال به DNA، تحریک و بیان ژن‌های زیر دست (down stream) که نقش مهار بر رشد و یا تهاجم سلولی دارند را باعث می‌شود (۶). یکی دیگر از اعمال ژن P53 در پاسخ به استرس‌هایی که وارد سلول می‌شود، تنظیم چرخه سلولی و القاء آپوپتوزیس است که با فعال کردن مکانیسم‌های بیوشیمیایی، نهایتاً مرگ فیزیولوژیک سلول را به دنبال دارد. اثرات سودمند شیمی درمانی در درمان سرطان‌ها غالباً از طریق القاء آپوپتوزیس و یا اختلال در روند متابولیک چرخه سلولی می‌باشد. بنابراین تومورهایی که آپوپتوزیس را نشان می‌دهند، نسبت به شیمی درمانی حساس‌ترند و پیش‌آگهی بهتری دارند (۷).

اخیراً مطالب زیادی در مورد ارتباط بیماری‌های خاص از جمله سرطان با پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP = Single Nucleotide Polymorphism) بیان شده است و وجود تفاوت‌های فردی برای مستعد شدن در برابر نئوپلاسم‌های خاص را توضیح می‌دهد. اهمیت ارتباط SNPs با خطر افزایش ابتلا به سرطان‌های مختلف در گروه‌های نژادی متفاوت گزارش شده است (۸). مشخص شده که کدون ۷۲ اگزون شماره ۴ ژن P53 دارای پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی شایعی است که در نتیجه آن ممکن است دو آلل ایجاد شود، یکی آرژانتین با توالی CGC و دیگری پرولین با توالی CCC. با توجه به امکان وجود این دو آلل، سه ژنوتیپ مختلف ممکن است ایجاد شود که عبارتند از آرژنین/آرژنین، پرولین/آرژنین و پرولین/پرولین (۶). این دو آلل از لحاظ ساختمانی و عملکرد با هم متفاوت هستند و قابلیت‌های متفاوتی برای ظهور سرطان دارند (۹). گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که میزان بروز سرطان‌های مختلف از جمله سرطان‌های سینه، ریه، پروستات، کولورکتال، پوست، لوسمی و سایر بیماری‌ها مثل اندومتريوز با درصد فراوانی این سه ژنوتیپ ارتباط دارد (۲۳-۸). تنوع در آلل‌های کدکننده اسیدهای آمینه آرژنین و پرولین باعث ایجاد تغییر در ساختمان پروتئین P53 و به دنبال آن تغییر در عملکرد این پروتئین

میلی لیتری جمع آوری شدند. به منظور پارافین زدایی، به هر یک از تیوب ها ۵۰۰ میکرولیتر گزین اضافه شد و در بن ماری به مدت ۲ ساعت در درجه حرارت ۵۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد.

سپس سانتریفوژ در ۱۸۰۰۰ Xg به مدت ۵ دقیقه انجام شده و مجدداً با اضافه نمودن ۵۰۰ میکرولیتر گزین، مرحله پارافین زدایی تکرار گردید. پس از پارافین زدایی، آبدهی نمونه ها توسط الکل های نزولی انجام گرفت. در مرحله بعد با استفاده از (رُوش - آلمان) high pure PCR template preparation kit، DNA از بافت ها استخراج گردید. DNA استخراج شده در تیوب های ۱/۵ میلی لیتری جمع آوری شد و به یخچال در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد منتقل گردید.

ب- نمونه های خونی:

بعد از matching افراد سالم از نظر سن و جنس با نمونه های سرطانی، حدود ۱ میلی لیتر از خون محیطی آن ها جمع آوری شد و ۲۰۰ میکرولیتر از آن جهت استخراج DNA با استفاده از high pure PCR template preparation kit (رُوش، آلمان)، به کار رفت.

تعیین غلظت DNA:

در این مرحله غلظت DNA استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر یا از طریق load ۵ میکرولیتر از محلول DNA استخراج شده بر روی ژل آگاروز ۰.۵٪ تعیین گردید.

تکثیر توالی پلی مورفیک کدون ۷۲ ژن P53 توسط PCR:

PCR از طریق استفاده از ۳۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA، ۱ واحد تک پلیمراز، ۱/۵ میلی مول $MgCl_2$ و ۲۰۰ میکرومول از هر یک از dATP، dCTP، dTTP، dGTP و ۲ میکرومول از هر یک از زوج آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین و آرژنین در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت (۲۴).

توالی آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین عبارتند از:

می گردد (۱۷). تحقیقات اخیر بیان می کنند که پلی مورفیکسم کدون ۷۲ روی فانکشن ژن P53 تاثیر دارد و نشان می دهد که پروتئین دارای پرولین، توانایی بیشتری در القاء توقف چرخه سلولی و بر عکس قدرت کمتری برای القای آپوپتوز نسبت به پروتئین دارای آرژنین دارد. بر همین اساس پاسخ دهی این ژنوتیپ ها به داروهای شیمی درمانی متفاوت گزارش شده است (۷).

با توجه به این که این پلی مورفیکسم وابسته به موقعیت جغرافیایی و نژادی است و فراوانی برخی از سرطان های انسانی از جمله سرطان خون با آن مرتبط است، پاسخ دهی این ژنوتیپ به داروهای شیمی درمانی متفاوت گزارش شده است. هدف از این مطالعه بررسی این پلی مورفیکسم در نمونه های لوسمی میلوئید حاد و مقایسه آن با نمونه های سالم در شهر اصفهان بود.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه ها:

در یک مطالعه مورد - شاهدی، نمونه های سرطانی بالغ بر ۱۰۰ نمونه بلوک پارافینی به عنوان مورد و نمونه های خونی از خون افراد فاقد سرطان از بیمارستان الزهرا به عنوان گروه شاهد جمع آوری شد. قبل از نمونه گیری، از کلیه افراد فاقد سرطان جهت گرفتن خون رضایت نامه کتبی اخذ شد. نمونه های خونی از افرادی گرفته شد که از نظر سن و جنس با نمونه های سرطانی match شده بودند. از بین نمونه های سرطانی مربوط به سال های قبل که به صورت بلوک های پارافینی در آرشیو پاتولوژی بیمارستان موجود بودند، پس از ثبت اطلاعات دموگرافیک و تایید تشخیص پاتولوژی، ۵۹ نمونه که از کیفیت بهتری برخوردار بودند، برای انجام مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

استخراج DNA:

الف- بلوک های پارافینی:

بعد از تایید تشخیص پاتولوژی، سه تا پنج قطعه از برش های بلوک پارافینی مربوط به هریک از نمونه های AML به ضخامت ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر در میکروتیوپ ۱/۵

یافته‌ها

نتایج دموگرافیک:

برای انجام این مطالعه ۵۹ نمونه سرطانی و ۵۹ نمونه خونی افراد سالم جمع‌آوری شد (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج دموگرافیک ۵۹ نمونه AML

نمونه‌های AML	
جنس	تعداد (درصد)
مرد	۳۸ (۶۴)
زن	۲۱ (۳۶)
میانگین سنی (دامنه)	۳۷ (۳-۷۵)

نتایج استخراج DNA از نمونه‌ها:

DNA استخراج شده از نمونه‌های سرطانی و نمونه خونی افراد سالم دارای غلظت و کیفیت مناسب بوده و به طور موفقیت‌آمیزی توسط PCR تکثیر یافتند. ۵۹ نمونه DNA استخراج شده از خون افراد سالم نیز همگی دارای غلظت و کیفیت مناسب بوده و به طور موفقیت‌آمیزی توسط PCR تکثیر یافتند.

نتایج Allele specific PCR:

محصول PCR برای آلل پرولین ۱۷۷ bp و برای آلل آرژنین ۱۴۱ bp بود (شکل‌های ۱ و ۲). در نمونه‌های با ژنوتیپ آرژنین/آرژنین فقط با آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر آرژنین، باندی با اندازه ۱۴۱ bp و در نمونه‌های با ژنوتیپ پرولین/پرولین فقط با آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین، باندی با اندازه ۱۷۷ bp ایجاد شد. در حالی که در نمونه‌های با ژنوتیپ آرژنین/پرولین با هر دو دسته این آغازگرها باند تشکیل گردید. توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف کدون ۷۲ ژن P53 در ۵۹ نمونه سرطانی و ۵۹ نمونه خونی افراد فاقد سرطان در جدول ۲ ارائه شده است. اختلاف بین توزیع فراوانی ژنوتیپ آرژنین/آرژنین کدون ۷۲ ژن P53 در نمونه‌های سرطانی با نمونه‌های خونی افراد فاقد سرطان معنادار بود به طوری که احتمال ابتلای افراد دارای ژنوتیپ آرژنین/آرژنین، به AML، بیش از سه برابر سایر افراد بود ($p=0/04$).

F: GCCAGAGGCTGCTCCCCC

R: CGTGCAAGTCACAGACTT

توالی آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر آرژنین عبارتند از:

F: TCCCCCTTGCCGTCCCAA

R: CTGGTGCAGGGGCCACGC

تنظیم دستگاه ترموسایکلر برای تکثیر توالی پلی مورفیک کدون ۷۲ ژن P53 به ترتیب زیر انجام گرفت:

مرحله اول: دناتوراسیون ابتدایی با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه

مرحله دوم: که ۳۵ سیکل و شامل سه بخش زیر بود:

الف- دناتوراسیون با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه

ب- آنیلینگ با دمای ۵۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای تکثیر پرولین و با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای تکثیر آرژنین

ج- اکستنشن با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه

مرحله سوم: اکستنشن نهایی با دمای ۷۲ درجه 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 آگاروز ۲٪ در بافر TBE × ۵/۰ الکتروفورز شده و روی یک UV Transluminator مشاهده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها:

اطلاعات به دست آمده از طریق نرم‌افزار SPSS ۱۱، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف کدون ۷۲ در نمونه‌های سرطانی با توزیع فراوانی این سه ژنوتیپ در نمونه‌های شاهد از کای دو استفاده شد. p-value کوچکتر از ۰/۰۵ معنادار تلقی گردید.

جدول ۲: توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف کدون ۷۲ در ۴۹ نمونه سرطانی و ۴۹ نمونه خونی افراد فاقد سرطان به عنوان گروه شاهد. اختلاف بین توزیع فراوانی ژنوتیپ آرژنین/آرژنین کدون ۷۲ P53 در نمونه‌های سرطانی با نمونه‌های خونی افراد فاقد سرطان معنادار می‌باشد (۰/۰۴). $p=$ احتمال ابتلای افراد دارای ژنوتیپ آرژنین/آرژنین، با فاصله اطمینان ۹۵٪ به AML، بیش از سه برابر سایر افراد بود (OR= ۳/۸۱).

ژنوتیپ	گروه بیماران سرطانی		OR (CI %۹۵)	p-value
	تعداد(درصد)	گروه شاهد تعداد(درصد)		
آرژنین/آرژنین	۲۰ (۳۳/۹)	۷ (۱۱/۹)	۳/۸۱ (۱/۶۴-۹/۹۰)	۰/۰۴
آرژنین/پرولین	۳۶ (۶۱)	۴۸ (۸۱/۴)		
پرولین/پرولین	۹ (۵/۱)	۴ (۶/۸)		

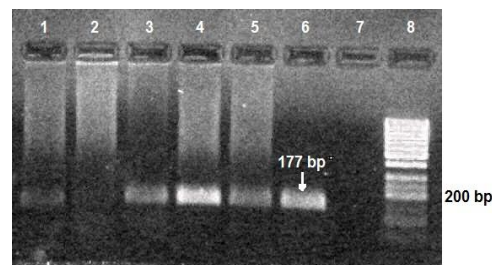
OR: Odds Ratio
CI: Confidence Interval

بحث

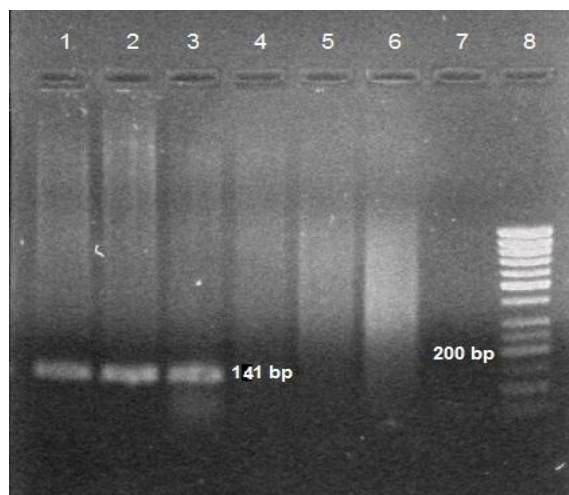
مشخص شده است که پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن P53 به عنوان یک فاکتور خطر در برخی از انواع سرطان‌های انسانی نقش ایفا می‌کند. استوری و همکارانش نشان دادند که در سرطان گردن رحم مرتبط با HPV (Human papilloma-virus)، بیان بیش از اندازه پروتئین هموزیگوت آرژنین P53 وجود دارد و مشخص نمودند که افراد هموزیگوت آرژنین P53، هفت برابر از سایر ژنوتیپ‌ها، برای ابتلا به سرطان گردن رحم مرتبط با HPV، مستعدتر می‌باشند (۲۵). این یافته توسط دو مطالعه دیگر نیز تایید شده است، هر چند که توسط برخی از محققین رد شده است (۲۶-۳۰). تنوع بین آزمایشگاه‌ها در تعیین توالی P53 ممکن است مسؤول اختلاف در یافته‌ها باشد (۳۱). در مطالعه‌های دیگر احتمال ابتلا به سرطان‌های مثانه و کاردیا در ژنوتیپ هموزیگوت آرژنین P53 بیش از سایر ژنوتیپ‌ها گزارش شده است (۳۲، ۳۳).

از طرف دیگر نشان داده شده است افرادی که دارای ژنوتیپ هموزیگوت پرولین P53 هستند، احتمال بیشتری برای ابتلا به سرطان پستان، ریه و پروستات دارند (۳۴، ۱۴، ۱۲).

گزارش شده است که فراوانی موتاسیون در ژن P53 دارای آلل آرژنین بیش از ژن P53 دارای آلل پرولین است. از طرف دیگر نوع پرولین‌دار باعث القاء توقف چرخه سلولی در مرحله G₁ می‌شود (۳۵). مطالعه‌های دیگر نشان داده است پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن P53 بر روی ظرفیت ترمیم DNA این پروتئین مؤثر است به طوری که سلول‌های بیان‌کننده نوع پرولین‌دار پروتئین P53 در مقایسه



شکل ۱: نمونه‌های با ژنوتیپ پرولین/پرولین فقط با آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین، باندی با اندازه ۱۷۷ bp ایجاد نموده‌اند. نمونه‌های شماره ۱ و ۳-۶ دارای باند؛ نمونه شماره ۲ فاقد باند؛ شماره ۷ کنترل منفی؛ شماره ۸: مارکر ۵۰ تایی



شکل ۲: نمونه‌های با ژنوتیپ آرژنین/آرژنین فقط با آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر آرژنین باندی با اندازه ۱۴۱ bp تشکیل داده‌اند. نمونه‌های شماره ۳-۶ دارای باند؛ نمونه‌های شماره ۱-۴ فاقد باند؛ شماره ۷ کنترل منفی و شماره ۸: مارکر ۵۰ تایی.

با نوع آرژنین دار این پروتئین، به طور مؤثرتری چندین ژن هدف وابسته به P53 را که در امر ترمیم DNA نقش دارند، فعال می نمایند (۳۶). هم چنین گزارش شده است که پلی مورفیسیم کدون ۷۲ ژن P53 می تواند بر روی بیان این ژن تأثیرگذار باشد زیرا جابه جایی نوکلئوتید در ناحیه transactivation ژن اتفاق می افتد (۳۷). هم چنین کدون ۷۲ ژن P53 در ناحیه هیدروفوبیک پروتئین واقع و دارای فعالیت هایی است که در امر مهار رشد سلولی ضروری می باشد (۳۸).

در این مطالعه از طریق تجزیه و تحلیل ۵۹ نمونه سرطانی AML و مقایسه آن با ۵۹ نمونه خونی افراد سالم در شهر اصفهان، ارتباط معناداری بین پلی مورفیسیم کدون ۷۲ ژن P53 و AML مشاهده شد به طوری که افراد دارای ژنوتیپ آرژنین/آرژنین احتمال ابتلای آن ها به AML بیش از سه برابر سایر افراد بود. این نتایج ممکن است مبین این مطلب باشد که موتاسیون بالای گزارش شده برای نوع آرژنین دار پروتئین ممکن است باعث ناپایداری پروتئین و فقدان فعالین مهارکنندگی آن شده و منجر به ایجاد بدخیمی میلوئید گردد. البته در این مطالعه موتاسیون های ژن P53 بررسی نشده که لازم است در مطالعه های آتی مورد توجه قرار گیرد. به علاوه نوع آرژنین دار پروتئین نقش کمتری در فعال سازی ژن های ترمیم کننده DNA نسبت به نوع پرولین دار، ایفاء می نماید (۳۶). در مطالعه های مورد - شاهدی انجام گرفته در ایتالیا و چین نیز ارتباط معناداری بین پلی مورفیسیم کدون ۷۲ ژن P53 و خطر ابتلا به لوسمی مشاهده شده در حالی که چنین ارتباطی در کشور برزیل مشاهده نشد (۲۲، ۲۱، ۱۹). در مطالعه انجام شده در هند نیز ارتباط معناداری بین ژنوتیپ آرژنین با ایجاد AML به دست آمد. به علاوه، نشان داده شد که پیش آگهی بیماران با ژنوتیپ پرولین ضعیف تر است (۳۹).

به نظر می رسد که نوع آرژنین دار پروتئین، تمایل بیشتری برای داشتن موتاسیون داراست و بنابراین در شروع بیماری AML نقش دارد در حالی که نوع پرولین دار آن کارایی کمتری در القاء آپوپتوز داشته و بنابراین باعث پیشرفت بیماری و عدم پاسخ دهی به داروهای شیمی درمانی می گردد.

فراوانی های آللی در جمعیت های گوناگون متفاوت گزارش شده است. بر طبق گزارش های ارایه شده، جمعیت آمریکای لاتین، ایالات متحده و اروپا میزان بالایی از آلل آرژنین را نسبت به آلل پرولین بروز می دهند که در مقایسه با آن در جمعیت های آفریقایی و آسیایی فراوانی آلل آرژنین کمتر است (۴۳-۴۰). بنابراین با وجود این یافته های متفاوت، بررسی نقش پلی مورفیسیم ژن P53 در ایجاد AML نیاز به مطالعه های گسترده تری دارد. در مطالعه حاضر عوامل زمینه ساز بالقوه از قبیل کشیدن سیگار، عادات زندگی و ابتلا به ویروس HPV کنترل نشد. این ها موارد مهمی هستند که در مطالعه های آینده برای ارزیابی پلی مورفیسیم P53 بایستی مورد بررسی قرار گیرند.

نتیجه گیری

یافته های مطالعه حاضر مشخص می کند که پلی مورفیسیم کدون ۷۲ ژن P53 می تواند به عنوان یک فاکتور زمینه ساز ژنتیکی برای ایجاد سرطان لوسمی میلوئید حاد در ایران محسوب شود. با این وجود مطالعه های بیشتر جهت روشن شدن نقش این پلی مورفیسیم در ایجاد این سرطان لازم است.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی به جهت تصویب این طرح پژوهشی و کلیه پرسنل محترم آزمایشگاه مرکزی دانشکده پزشکی تشکر و قدردانی به عمل می آید.

References :

- 1- Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Robbins Basic Pathology. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p. 174.
- 2- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, *et al.* The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114(5): 937-51.
- 3- Weng Y, Lu L, Yuan G, Guo J, Zhang Z, Xie X, *et al.* P53 codon 72 polymorphism and hematological cancer risk: an update meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7(9): e45820.
- 4- Hofseth LJ, Hussain SP, Harris CC. p53: 25 years after its discovery. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25(4): 177-81.
- 5- Wang SP, Wang WL, Chang YL, Wu CT, Chao YC, Kao SH, *et al.* p53 controls cancer cell invasion by inducing the MDM2-mediated degradation of Slug. *Nat Cell Biol* 2009; 11(6): 694-704.
- 6- 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.
- 7- Santos AM, Sousa H, Portela C, Pereira D, Pinto D, Catarino R, *et al.* TP53 and P21 polymorphisms: response to cisplatin/paclitaxel-based chemotherapy in ovarian cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 340(1): 256-62.
- 8- 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.
- 9- Zhang J, Zhuo WL, Zheng Y, Zhang YS. Polymorphisms of TP53 codon 72 with prostate carcinoma risk: a meta-analysis. *Med Oncol* 2009; 27(2): 540-6.
- 10- 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.
- 11- Faghani M, Nikbahkt M, Salehi M, Rabbani M, Talebi A, Soleimani B, *et al.* Study of p53 polymorphism at codon 72 in patients of breast cancer in Isfahan. *J Isfahan Med* 2007; 25(84): 679-85.
- 12- 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.
- 13- Zhou C, Chen H, Wang A. P53 codon 72 polymorphism and lung cancer risk: evidence from 27,958 subjects. *Tumour Biol* 2013; 34(5): 2961-9.
- 14- 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.
- 15- Dastjerdi MN. TP53 codon 72 polymorphism and P53 protein expression in colorectal cancer specimen in Isfahan. *Acta Med Iran* 2011; 49(2): 71-7.
- 16- Nikbahkt Dastjerdi M, Mirmohammad Sadeghi H. TP53 codon 72 heterozygosity may promote microsatellite instability in sporadic colorectal cancer. *Yakhteh* 2010; 12(1): 25-32.
- 17- 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. *JRMS* 2008; 13(6): 317-23.
- 18- Nikbahkt 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 School* 2011; 29(141): 679-84. [Article in Farsi]
- 19- 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.
- 20- 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.
- 21- Majid A, Richards T, Dusanj 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.
- 22- Hamú CS, Oliveira MVP, Silva AMTC, Silva CC, Cruz AD. Codon 72 polymorphism of the TP53 gene in patients suspected to have CML. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2007; 29(4): 346-50. [Article in Portuguese]
- 23- Nikbahkt Dastjerdi M, Eslami B, Abutorabi R. Association of TP53 gene codon 72 polymorphism with endometriosis risk in Isfahan. *Iran J Reprod Med* 2013; 11(6): 473-8.
- 24- Hildesheim A, Schiffman M, Brinton LA, Fraumeni JF Jr, Herrero R, Bratti MC, *et al.* p53 polymorphism and risk of cervical cancer. *Nature* 1998; 396(6711): 531-2.
- 25- Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, *et al.* Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature* 1998; 393(6682): 229-31.
- 26- Zehbe I, Voglino G, Wilander E, Genta F, Tommasino M. Codon 72 polymorphism of p53 and its association with cervical cancer. *Lancet* 1999; 354(9174): 218-9.
- 27- Agorastos T, Lambropoulos AF, Constantinidis TC, Kotsis A, Bontis JN. p53 codon 72 polymorphism and risk of intra-epithelial and invasive cervical neoplasia in Greek women. *Eur J Cancer Prev* 2000; 9(2): 113-8.
- 28- Helland A, Langerod A, Johnsen H, Olsen AO, Skovlund E, Borresen-Dale AL. p53 polymorphism and risk of cervical cancer. *Nature* 1998; 396(6711): 530-1.
- 29- Josefsson AM, Magnusson PK, Ylitalo N, Quarforth-Tubbin P, Ponten J, Adami HO, *et al.* p53 polymorphism and risk of cervical cancer. *Nature* 1998; 396(6711): 531.
- 30- Lanham S, Campbell I, Watt P, Gornall R. p53 polymorphism and risk of cervical cancer. *Lancet* 1998; 352(9140): 1631.

- 31- Makni H, Franco EL, Kaiano J, Villa LL, Labrecque S, Dudley R, *et al.* P53 polymorphism in codon 72 and risk of human papillomavirus-induced cervical cancer: effect of inter-laboratory variation. *Int J Cancer* 2000; 87(4): 528-33.
- 32- Soultzis N, Sourvinos G, Dokianakis DN, Spandidos DA. p53 codon 72 polymorphism and its association with bladder cancer. *Cancer Lett* 2002; 179(2): 175-83.
- 33- Zhang ZW, Newcomb P, Hollowood A, Feakins R, Moorghen M, Storey A, *et al.* Age-associated increase of codon 72 Arginine p53 frequency in gastric cardia and non-cardia adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9(6): 2151-6.
- 34- Dunning AM, Healey CS, Pharoah PD, Teare MD, Ponder BA, Easton DF. A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8(10): 843-54.
- 35- Marin MC, Jost CA, Brooks LA, Irwin MS, O'Nions J, Tidy JA, *et al.* A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behavior. *Nat Genet* 2000; 25(1): 47-54.
- 36- Siddique MM, Balram C, Fiszler-Maliszewska L, Aggarwal A, Tan A, Tan P, *et al.* Evidence for selective expression of the pP53 codon 72 polymorphs: implications in cancer development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(9): 2245-52.
- 37- Muller PA, Vousden KH. Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities. *Cancer Cell* 2014; 25(3): 304-17.
- 38- Muller PA, Vousden KH. p53 mutations in cancer. *Nat Cell Biol* 2013; 15(1): 2-8.
- 39- Dunna NR, Vure S, Sailaja K, Surekha D, Raghunadharao D, Rajappa S, *et al.* TP53 codon 72 polymorphism and risk of acute leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(1): 347-50.
- 40- Beckman G, Birgander R, Sjölander A, Saha N, Holmberg PA, Kivelä A, *et al.* Is p53 polymorphism maintained by natural selection? *Hum Hered* 1994; 44(5): 266-70.
- 41- Ojeda JM, Ampuero S, Rojas P, Prado R, Allende JE, Barton SA, *et al.* p53 codon 72 polymorphism and risk of cervical cancer. *Biol Res* 2003; 36(2): 279-83.
- 42- Zhu ZZ, Cong WM, Liu SF, Dong H, Zhu GS, Wu MC. Homozygosity for Pro of p53 Arg72Pro as a potential risk factor for hepatocellular carcinoma in Chinese population. *World J Gastroenterol* 2005; 11(2): 289-92.
- 43- 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.

Original Article

Investigation of *p53* codon 72 polymorphism in patients with acute myeloid leukemia in Iran

Nikbakht Dastjerdi M.¹

¹*School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran*

Abstract

Background and Objectives

A common polymorphism at codon 72 in the *p53* gene has been associated with the increased risk for lung, oral, prostate, breast and colorectal cancers. We studied this polymorphism in acute myeloid leukemia specimen from Alzahra Hospital in Isfahan city.

Materials and Methods

In the present case-control study, 59 whole blood specimen from normal people and 59 acute myeloid leukemia specimen were analyzed. *p53* codon 72 genotypes were identified using allele-specific PCR. Chi-square test was used for the comparison of the frequency distribution of three genotypes of codon 72 in cases and control specimen.

Results

Resulting PCR products were either 177bp for proline allele or 141bp for arginine allele. The genotype distribution for *p53* polymorphism showed 11.9%, 81.4%, and 6.8% for the Arg/Arg, Arg/Pro, and Pro/Pro genotypes in control samples and 33.9%, 61%, and 5.1% in acute myeloid leukemia specimen, respectively. The differences in the distribution of *p53* codon 72 polymorphism between the cases and controls were statistically significant ($p = 0.04$).

Conclusions

Deferasirox is relatively more effective than deferoxamine in reducing iron content of the liver and heart. Moreover, deferasirox is more effective in reducing cardiac iron content relative to liver iron content.

Key words: *TP53* Genes, Acute Myeloid Leukemia, Polymorphism(Genetic), Iran

Received: 22 Apr 2014

Accepted: 24 Sep 2014

Correspondence: Nikbakht Dastjerdi M., PhD of Anatomy. Associate Professor of School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences.

Postal Code: 81744176, Isfahan, Iran. Tel: (+98311) 37922403; Fax: (+98311) 37922517

E-mail: nikbakht@med.mui.ac.ir