خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۵ شماره ۳ پاییز ۹۷ (۲۳۴-۲۲۶)

مقاله پژوهشی

بیان ژن *P16* در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی مزمن

مینا برازنده رخ[۱]، نیکو نصوحی[۲]، مجتبی ملایی[۳]، پرویز فلاح[۴]

چکیده

سابقه و هدف

لوسمی میلوئیدی مزمن، یک اختلال کلونال سلول‌های بنیادی می‌باشد که علت آن اختلال درگیرنده تیروزین کینازی BCR-ABL است. ژن سرکوبگر تومور *P16* ، کنترل‌کننده چرخه سلولی است. غیرفعال شدن این ژن با تومورزایی، پاتوژنز و پیشروی لوسمی در ارتباط می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی بیان ژن *P16* در بیماران مبتلا به لوسمی میلوییدی مزمن بود تا با شناسایی تغییرات بیان این ژن بتوان نقش آن را در پاتوفیزیولوژی بیشتر این بیماری مشخص نمود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی، میزان بیان ژن *P16* در ۴۰ بیمار CML در فاز مزمن و ۸ فرد سالم به عنوان کنترل که به آزمایشگاه تشخیص طبی پیوند مراجعه کرده بودند، با روش Real Time PCR و نرم‌افزار آماری REST2009 بررسی شد.

یافته‌ها

ژن *P16* در بیماران CML در ۳۲ بیمار به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش بیان داشت و در ۸ بیمار به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش بیان داشت($p\leq ۰/۰۵$).

نتیجه گیری

با توجه به مطالعه‌های انجام شده، کاهش یا بیان بیش از حد این تومور سرکوبگر می‌تواند در مکانیسم مولکولی این بیماری نقش داشته باشد و در CML با پیشرفت این بیماری در ارتباط باشد، از این رو به مطالعه‌های بیشتری نیاز است تا عملکرد دقیق این مهارکننده تومور در سرطان مشخص شود.

کلمات کلیدی: **لوسمی میلوییدی مزمن، PCR ، سلول‌های بنیادی خونساز**

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۱۰
تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۳۰

۱- کارشناس ارشد ژنتیک ـ دانشکده علوم و فناوری نوین ـ واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی ـ تهران ـ ایران
۲- دکترای ژنتیک ـ استادیار دانشکده علوم و فناوری نوین ـ واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی ـ تهران ـ ایران
۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی ـ دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی البرز ـ کرج ـ ایران
۴- مؤلف مسئول: PhD هماتولوژی و بانک خون ـ استادیار دانشکده پیراپزشکی ـ دانشگاه علوم پزشکی البرز ـ کرج ـ ایران ـ کدپستی: ۳۱۴۷۷۳۴۵۶۸

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-14]

مقدمه

لوسمی میلوئیدی مزمن(Chronic Myelogenous Leukemia:CML)، یک اختلال کلونال سلول‌های بنیادی مغز استخوان است که در آن، سلول‌های گرانولوسیت بالغ (نوتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل) و پیش‌سازهای آن‌ها، گسترش می‌یابد. این نوع از اختلالات میلوپرولیفراتیو با ترانسلوکاسیون کروموزومی به نام کروموزوم فیلادلفیا همراه می‌باشد. پروتئین BCR-ABL به صورت مداوم فعالیت تیروزین کینازی دارد و به فعال‌سازی توسط سایر پروتئین‌های پیام‌رسانی سلولی، نیاز ندارد. به نوبه خود، BCR-ABL ، باعث فعالیت آبشاری پروتئین‌هایی می‌شود که در بالا بردن سرعت تقسیم و کنترل چرخه سلولی نقش دارند. علاوه بر این، پروتئین BCR-ABL باعث ناپایداری ژنومی و مستعد شدن فرد به دیگر اختلالات کروموزومی، می‌شود. فعالیت این پروتئین علت پاتوفیزیولوژیک بیماری لوسمی میلوئیدی مزمن می‌باشد(۱). این بیماری دارای سه مرحله پایدار، مزمن(CP : Chronic Phase)، تسریع شده (پیش رونده)(AP : Accelerated Phase) و بلاستیک(Blast BC : Crisis) می‌باشد. در بسیاری از بیماران، طول مرحله پایدار و مزمن بیماری ۴ سال است و پس از گذر از مرحله پیش‌رونده، وارد فاز بلاستیک می‌شوند. در سال ۲۰۱۴ این بیماری در مردان ۳٪ از انواع سرطان‌ها را به خود اختصاص داده است. در کشورهای غربی، CML حدود ۱۵٪ تا ۲۰٪ از لوسمی‌های بزرگسالان، ۱۴٪ از کل لوسمی‌ها(از جمله لوسمی‌های مربوط به کودکان) و ۲٪ از لوسمی‌های کودکان را تشکیل می‌دهد. میزان بقای ۵ ساله در این بیماران به علت کشف مهارکننده تیروزین کیناز BCR-ABL به میزان ۶۳٪ بین سال‌های ۲۰۰۳ تا ۲۰۱۱ افزایش یافته است(۲). فعالیت بیش از حد تیروزین کینازی BCR-ABL باعث فعال‌شدن مسیرهای سیگنال‌دهی و اختلالات تنظیمی در پروسه‌های مختلف سلولی می‌شود. مسیرهای پایین‌دست BCR-ABL با بقا و تکثیر سلولی، چرخه سلولی، تمایز سلولی و آپوپتوزیس در ارتباط می‌باشد(۴، ۳).

پروتئین P16 پروتئینی۱۵۶ اسید آمینه‌ای در گستره وسیعی از بافت‌ها و سلول‌ها بیان می‌شود. پروتئین P16 با اتصال به CDK4 مانع از برهمکنش آن با سیکلین D می‌شود و به عبور سلول از مرحله G1 چرخه سلولی کمک می‌کند. این پروتئین در اغلب سرطان‌ها غیر فعال می‌شود. هم‌چنین P16 تنظیم کننده مسیرهای کنترل چرخه سلولی مهمی از جمله P53 وRb است. مهار آن به واسطه حذف، جهش نقطه‌ای و یا متیلاسیون پروموتر رخ می‌دهد(۵).

در CML نقش *P16* در روند پیشروی این بیماری به درستی شناخته نشده است. اما در فاز بلاستیک این بیماری موتاسیون *P16* گزارش شده است(۶).

هدف از این مطالعه، بررسی بیان ژن *P16* در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی مزمن بود تا با شناسایی تغییرات بیان ژن و آنالیز تغییرات مولکولی دخیل در بدخیمی‌های سلولی بتوان از آن در تشخیص و درمان بیماری استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه از بیماران و افراد سالم:

در این مطالعه تجربی، از ۴۰ بیمار تازه تشخیص داده شده CML در فاز مزمن و از ۸ فرد سالم به عنوان کنترل، ۵ میلی‌لیتر خون محیطی همراه با ضد انعقاد EDTA از آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند جمع‌آوری شد. معیارهای انتخاب بیماران بر اساس یافته‌های مورفولوژیکی خون‌شناسی خاص لوسمی میلوئیدی مزمن (از جمله افزایش تعداد گلبول‌های سفید، افزایش رده میلوئیدی مانند پرومیلوسیت و نوتروفیل در خون محیطی) و هم چنین آزمایش مثبت PCR برای ترانسلوکاسیون کروموزوم ۹ و۲۲ بود. تمامی بیماران در فاز مزمن بودند و هیچ گونه دارویی مصرف نکرده بودند.معیار انتخاب افراد کنترل و سالم، نداشتن هیچ گونه بیماری از جمله بدخیمی‌های خونی و دیگر بدخیمی‌ها بود.

استخراج RNA :

به طور ثابت برای هر یک از نمونه‌های بیمار و کنترل، ۱۰۰ میکرولیتر از بافی‌کوت(لایه سفید مایل به خاکستری

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-14]

شامل گلبول‌های سفید) در یک میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس یک میلی‌لیتر RNX-PLUS به رسوب سلولی اضافه گردید و آن را کاملاً مخلوط کردیم تا تمامی سلول‌ها از کف پلیت کنده شدند. مخلوط به درون یک میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. به مخلوط سلولی ۳۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه شد، به مدت ۱ دقیقه به شدت تکان داده شد، سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. مخلوط حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد(در میکروسانتریفیوژ یخچال‌دار) با دور rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. با احتیاط و بدون مخلوط شدن فاز وسطی، مایع بی‌رنگ رویی به میکروتیوب RNase DNase free منتقل شد. سپس ۶۰۰ تا ۸۰۰ میکرولیتر، به آن اتانول ۱۰۰٪ سرد اضافه و پیپتاژ شد. ترکیب را به طور overnight در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری کردیم. محلول فوق به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد(در میکروسانتریفیوژ یخچال‌دار) با دور rpm ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. مایع‌رویی دور ریخته شد و به رسوب سفید رنگ، ۱ میلی‌لیتر از اتانل ۷۰٪ سرد اضافه گردید و به خوبی ورتکس شد تا رسوب از ته میکروتیوب جدا گردید. محلول مورد نظر مجدداً در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد(در میکروسانتریفیوژ یخچال‌دار) با دور rpm ۱۲۰۰۰ این بار به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. اتانول روی رسوب دور ریخته شد. رسوب در دمای اتاق قرار داده شد تا در حد امکان خشک شود. در مرحله آخر، رسوب در ۲۰ میکرولیتر آب RNase free کاملاً حل شد و نهایتاً محلول حاصل، جهت نگهداری، به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. سپس غلظت RNA استخراج شده با روش بیوفتومتری سنجیده شد.

ساخت cDNA:

بعد از اندازه‌گیری غلظت RNA با دستگاه اسپکتروفتومتری برای مراحل ساخت cDNA از کیت سیناژن استفاده شد. ساخت cDNA بر اساس دستورالعمل این کیت صورت گرفته است. ۲میکروگرم RNA تخلیص شده به همراه ۲۰ میکرولیتر از آغازگر راندوم هگزامر، ۶ میکرولیتر از RT-Buffer ، ۳ میکرولیتر از dNTP به همراه ۱ میکرولیتر آنزیم RT(Reverse Transcriptase) مورد رونویسی معکوس قرار گرفت. cDNA های ساخته شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بررسی بیان ژن با روش Real Time PCR :

سنجش میزان بیان ژن‌ها با روش Real Time PCR در دستگاه StepOne ABI شرکت بیوسیستم صورت گرفت. در این تحقیق ژن بتا دو میکروگلوبولین(*B2*) به عنوان ژن استاندارد و House keeping gene در نظر گرفته شد. رنگ فلورسنتی که برای Real Time PCR مورد استفاده قرار می‌گیرد سایبرگرین I است که رنگ متصل شونده به DNA دو رشته‌ای است. از RealQ Plus 2X Master Mix Green, high ROX شرکت آمپلیکون استفاده شد.

مواد مورد استفاده که برای هر واکنش مورد استفاده قرار گرفت بر این اساس است(جدول ۱):

جدول ۱: مواد مورد نیاز برای هر واکنش Real Time PCR

اجزای تشکیل‌دهنده	غلظت(میکرولیتر)
Master Mix	۶/۵
Primer	۱
cDNA	۱
DiH2O	تا حجم ۱۳ میکرولیتر

یک نمونه کنترل منفی با عنوان NTC (No Template Control) نیز تهیه شد که شامل تمامی مواد فوق به غیر از cDNA می‌باشد.

نمونه‌ها در دستگاه Real time PCR (ABI)، PCR شد (جداول ۲ و ۳).

بیان ژن *P16* در بیماران CML و نمونه‌های افراد سالم به دست آمده و نتایج در برنامه REST2009 تجزیه و تحلیل شد.

در روش ΔΔCt ، کارآیی PCR برای هر دو حالت و ژن House Keeping ، یکسان و ۱۰۰٪ در نظر گرفته می‌شود؛ سپس با استفاده از فرمول زیر نسبت بیان ژن در دو حالت بررسی می‌شود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-14]

$$\text{Fold change} = ۲^{-\Delta\Delta Ct}$$

نرم‌افزار REST 2009 یک الگوریتم مستقل است که به منظور آنالیز بیان ژن، نتایج خام حاصل از Real Time PCR را براساس روش‌های محاسبات تصادفی (Randomization) و خود راه‌انداز (Bootstrapping) مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌دهد. ضریب اطمینان (Confidense interval) حاصل از این آزمون‌ها قادر است معناداری آماری آزمون را محاسبه کرده انحراف از معیار آن‌ها را نیز اگرچه در بعضی از موارد بزرگ می‌شود، نشان دهد. نمودارهای ویشکرباکس (Wishker Box Plot) نتایج آنالیز هر ژن و پراکندگی این نتایج را نشان می‌دهند.

جدول ۲: برنامه زمانی برای واکنش Real Time PCR

مرحله	دما (سانتی‌گراد)	زمان	چرخه
فعال‌سازی آنزیم	۹۵	۳۰ ثانیه	۱
دناچوریشن	۹۵	۵ ثانیه	۴۰
آنیلینگ و اکستنشن	۶۰	۳۰ ثانیه	۴۰
برای رسم منحنی Melt افزایش دما از ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد.			

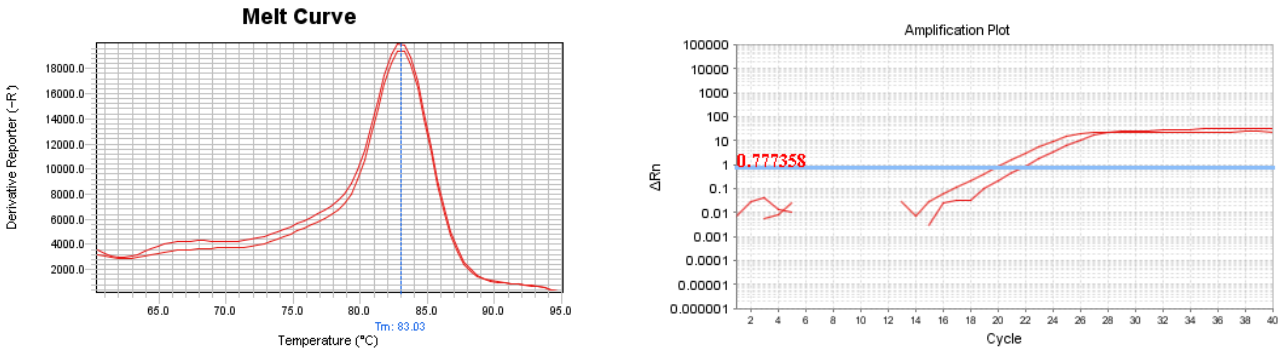
جدول ۳: توالی آغازگرها برای بررسی بیان ژن

ژن		توالی
B2M	جلوبرنده	ATGCCTGCCGTGTGAAC
	معکوس	ATCTTCAAACCTCCATGATG
P16	جلوبرنده	AAGGTCCCTCAGACATCC
	معکوس	TCGGTGACTGATGATCTAAG

یافته‌ها

در بررسی اختصاصیت محصول Real-time PCR از منحنی ذوب استفاده می‌شود که قله منحنی‌ها باید در راستای هم باشند(نمودار ۱).

نتایج Real Time PCR ، بیان ژن *P16* در بیماران نسبت به افراد سالم پس از آنالیز در برنامه REST2009 آمده است. بیان ژن *P16* در ۳۲ بیمارCML نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کاهش بیان و در ۸ بیمار نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش بیان را نشان داد (جداول ۴ و ۵، نمودارهای ۲ و ۳)($p\leq ۰/۰۵$). لازم به ذکر است که ژن *B2M* به عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شده است.

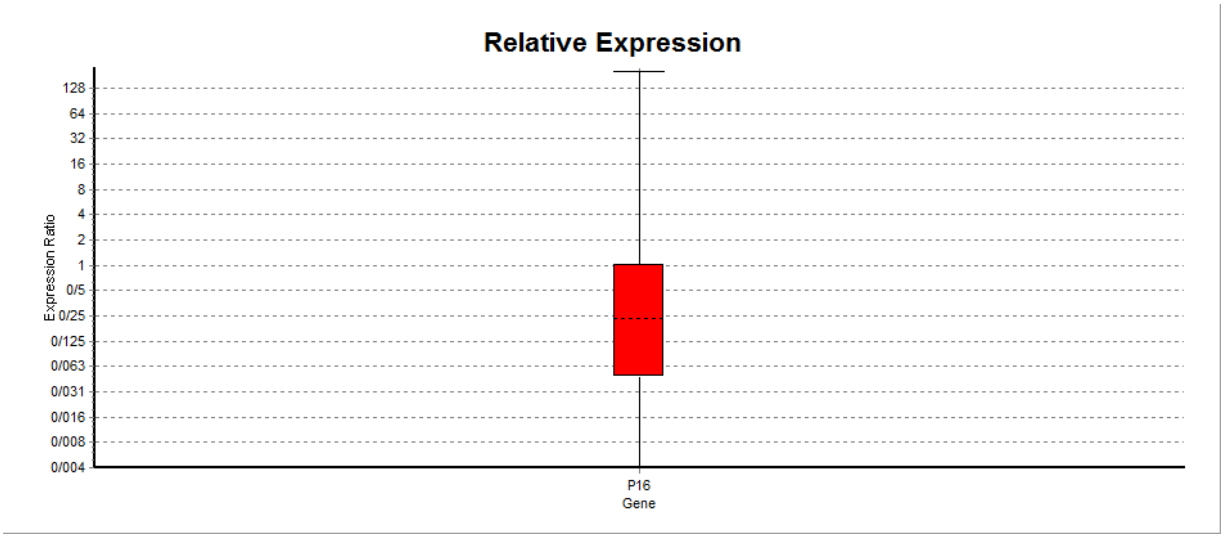


نمودار ۱: نمونه‌ای از منحنی‌های Real Time PCR برای ژن *P16*

جدول ۴: کاهش بیان ژن *P16* در ۳۲ بیمار

ژن	نوع	بازدهی واکنش	بیان	نتیجه
B2M	رفرانس	۱	۱	
P16	هدف	۱	۰/۲۴۸	کاهش

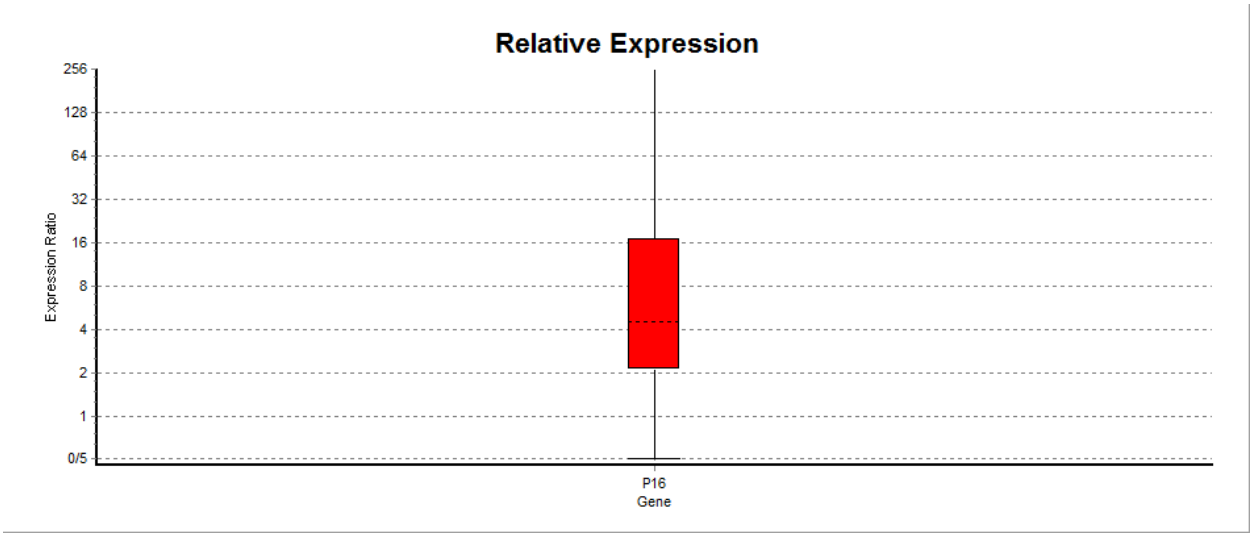
[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-14]



نمودار ۲: کاهش بیان ژن *P16* در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی مزمن(p≤ ۰/۰۵)

جدول ۵: افزایش بیان ژن *P16* در ۸ بیمار

ژن	نوع	بازدهی واکنش	بیان	نتیجه
B2M	رفرانس	۱	۱	
P16	هدف	۱	۷/۱۴۵	افزایش



نمودار ۳: افزایش بیان *P16* در بیماران مبتلا به لوسمی میلوییدی مزمن(*p≤ ۰/۰۵*)

بحث

در این مطالعه بررسی بیان ژن *P16* در ۴۰ بیمار با روش Real Time PCR انجام شد. مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن *P16* در ۳۲ بیمارCML نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کاهش و در ۸ بیمار نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش بیان داشته است.

CML، به عنوان سرطانی که با ناهنجاری ژنتیکی و کروموزومی فیلادلفیا همراه است، شناخته شده است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-14]

فعالیت پروتئین کیناز BCR-ABL علت پاتوفیزیولوژیک بیماری لوسمی میلوئیدی مزمن می‌باشد(۷). خاموش شدن یا حذف ژن‌های سرکوبگر تومور مانند *P16* و *P53* مرتبط با فنوتیپ بدخیم CML است. مطالعه‌های صورت گرفته توسط میر رشید و همکارانش ارتباط کاهش بیان این ژن با پیشروی CML را نشان می‌دهد(۸، ۷).

حذف ژن *P16* در انواعی از بدخیمی‌ها از جمله لوسمی‌های خاص دیده می‌شود که در مورد لوسمی‌ها بیشترین حذف ژنی در ALL(لوسمی لنفوبلاستیک حاد)(۳۰٪) با میزان قابل توجهی در T-ALL می‌باشد. میزان حذف در CLL (لوسمی لنفوییدی مزمن)، مالتیپل میلوما، AML (لوسمی میلوییدی حاد)، CML و MDS (سندرم میلودیسپلازی) بسیار پایین است(۱۲-۹).

طبق مطالعه‌های صورت گرفته توسط نسیف و همکاران، افزایش بیان ژن *P16* و *P14* در ۱۸بیمار در فاز مزمن CML و ۴بیمار در فاز بلاستیک CML نشان داده شده است(۱۳). این افزایش بیان با مطالعه‌های لی و همکارانش مطابقت دارد(۱۲). افزایش *P16* می‌تواند در به تاخیر انداختن پیشروی بیماری نقش داشته باشد. هم چنین افزایش بیان *P16* در لوسمی میلوییدی حاد نیز گزارش شده است(۱۳). اما افزایش بیان این ژن در CML بیشتر دیده می‌شود که این حالت ممکن است با پاتوفیزیولوژی این دو لوسمی مرتبط باشد. نتایج به دست آمده در دیگر لوسمی‌ها و تومورهای توپر به دلیل این که انواع جهش‌ها در CML خیلی کمتر از دیگر لوسمی‌ها رخ می‌دهد، متفاوت می‌باشد(۱۴). تانی گوشی و همکارانش بیان این ژن در چندین بدخیمی هماتولوژیک را بررسی کردند که از ۸ بیمار CML، در ۵ مورد افزایش بیان *P16* گزارش شده است. هم چنین در مطالعه دیگری که بر روی نمونه مغز استخوان افراد مبتلا به CML انجام شده، افزایش بیان این ژن گزارش شده است(۱۵، ۱۴). گزارش‌های چان هو دای نشان می‌دهد که *P16* در بیماری PV (پلی‌سایتمی‌ورا) افزایش بیان دارد که با مطالعه‌های لی و همکارانش مطابقت دارد(۱۶).

به نظر می‌رسد مکانیسم پیری سلول و توقف چرخه سلولی با مسیرهای P16Ink4a/RB و P14ARF/P53 در ارتباط باشد. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که افزایش پیری سلول در موش و در بافت‌های پوستی و کلیوی انسان به طور قابل توجهی با افزایش بیان ژن *P16* در ارتباط است(۱۸، ۱۷). علاوه بر نقش *P16* در تنظیم چرخه سلولی، این پروتئین در دیگر پروسه‌های سلولی از جمله آپوپتوز، تهاجم سلولی و آنژیوژنز نیز نقش دارد که این فعالیت‌ها ممکن است با افزایش بیان آن در سرطان مرتبط باشد(۱۹).

در دیگر سرطان‌ها نیز تومور ساپرسور *P16* بیان متفاوتی را از خود نشان داده است، گزارش‌های جدید حاکی از این است که عدم بیان *P16* با کاهش سطح رسپتورهای استروژنی و مقاومت درمانی در سرطان پستان مرتبط است(۲۰). بیان بیش از حد این ژن در تومورهای انسانی می‌تواند نشان‌دهنده دو وضعیت اصلی باشد: ۱- بیان بیش از حد در ضایعات خوش‌خیم یا پیش بدخیم ۲- بیان بیش از حد در ضایعات بدخیم که افزایش بیان آن به نظر می‌رسد به دلیل مکانیسم توقف تکثیر سلولی به واسطه شکست مسیر RB یا رتینو پلاستوما(عفونت، جهش و یا خاموش شدن ژن *RB* و ...) باشد(۱۹).

هم چنین بیان این ژن از طریق فعال کردن ژن‌های دیگر که در رگ‌زایی نقش دارند، اهمیت بیشتری دارد، چون یکی از فاکتورهایی که در فرآیند تسریع تومور نقش دارد، دسترسی بافت مهاجم به تغذیه خونی است که *P16* این شرایط را فراهم می‌کند. در گزارش دیگری که در سال ۲۰۱۶ منتشر شده است، بین افزایش بیان ژن‌های *P16* و *P14* ، عود بیماری و پیش‌آگهی بد بیماری ارتباط وجود دارد(۲۱).

بررسی بیان ژن *P16* نتایج متفاوتی را نشان داده است. در چندین نوع تومور کاهش بیان و در مواردی افزایش بیان داشته است(۲۷-۲۲). افزایش بیان این ژن در سرطان‌های کولورکتال و کارسینوم سلول پایه(Basal Cell Carcinoma) مشاهده شده است(۳۰-۲۸). سرطان‌های پانکراس نمونه‌ای از تومورهایی هستند که در ۹۸٪ از آن‌ها کاهش عملکرد *P16* رخ می‌دهد(۳۳-۳۱). در سال ۲۰۰۳ مطالعه مینامی و همکارانش نشان دادند که *P16* به طور قابل توجهی در خونسازی، گسترش تمایز و آپوپتوز

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-14]

سلول‌های اریتروئیدی نقش دارد، از این رو نقش این ژن در خونسازی حائز اهمیت می‌باشد(۳۴).

با توجه به مطالعه‌های انجام شده، کاهش یا بیان بیش از حد این تومور سرکوبگر می‌تواند در مکانیسم مولکولی این بیماری نقش داشته باشد و در CML با پیشرفت این بیماری در ارتباط می‌باشد، از این رو به مطالعه‌های بیشتری نیاز است تا مکانیسم و عملکرد دقیق این مهارکننده تومور در سرطان مشخص شود. پیشنهاد می‌شود در جامعه آماری وسیع‌تری و در فازهای پیشرفته‌تر این بیماری، بیان این ژن بررسی شود و هم چنین بیان این ژن در افراد تحت درمان با داروهای مهارکننده تیروزین کینازی نیز بررسی گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به داده‌های کسب شده، می‌توان نتیجه گرفت که ژن *P16* در لوسمی میلوئیدی مزمن نسبت به گروه کنترل در برخی بیماران کاهش و در برخی افزاش بیان داشت که می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که تغییرات بیان آن با پاتوفیزیولژی و فاز بیماری در ارتباط می‌باشد. هم چنین به مطالعه‌های دیگری نیاز است تا با مشخص کردن تغییرات بیان در تمام فازهای این بیماری نقش دقیق این ژن را مشخص نمود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب پروژه پایان‌نامه در آزمایشگاه تحقیقات دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی البرز انجام شده است که بدین وسیله از آن‌ها قدردانی می‌شود. هم چنین از آزمایشگاه تشخیص طبی و تخصصی پیوند به خاظر کمک در جمع‌آوری نمونه‌ها تشکر می‌شود.

References:

1- Cortes J, Quintás-Cardama A, Kantarjian HM. Monitoring molecular response in chronic myeloid leukemia. Cancer 2011; 117(6): 1113-22.
2- Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, *et al*. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. CA Cancer J Clin 2016; 66(4): 271-89.
3- Warsch W, Walz C, Sexl V. JAK of all trades: JAK2-STAT5 as novel therapeutic targets in BCR-ABL1+ chronic myeloid leukemia. Blood 2013; 122(13): 2167-75.
4- Samanta A, Perazzona B, Chakraborty S, Sun X, Modi H, Bhatia R, *et al*. Janus kinase 2 regulates Bcr-Abl signaling in chronic myeloid leukemia. Leukemia 2011; 25(3): 463-72.
5- Carrasco Salas P, Fernández L, Vela M, Bueno D, González B, Valentín J, *et al*. The role of CDKN2A/B deletions in pediatric acute lymphoblastic leukemia. Pediatr Hematol Oncol 2016; 33(7-8): 415-22.
6- Cividin M, Ayrault O, Sorel N, Séité P, Brizard F, Blanchet O, *et al*. Expression of the cell cycle regulators p14ARF and *p16*INK4a in chronic myeloid leukemia. Leuk Res 2006; 30(10): 1273-8.
7- Thomas RK, Baker AC, Debiasi RM, Winckler W, Laframboise T, Lin WM, *et al*. High-throughput oncogene mutation profiling in human cancer. Nat Genet 2007; 39(3): 347-51.
8- Imtiyaz A, Rashid M, Sameer G, Jamsheed J, Mariyam Z. Inactivation of *P16* (INK4a) Gene by Promoter Hypermethylation is Associated with Disease Progression in Chronic Myelogenous Leukaemia. J Carcinogene Mutagene 2013; 4: 141.
9- Rocco JW, Sidransky D. *p16*(MTS-1/CDKN2/INK4a) in cancer progression. Exp Cell Res 2001; 264(1): 42-55.
10- Drexler HG. Review of alterations of the cyclin-dependent kinase inhibitor INK4 family genes p15, *p16*, *p18* and *p19* in human leukemia-lymphoma cells. Leukemia 1998; 12(6): 845-59.
11- Ferrando AA, Neuberg DS, Staunton J, Loh ML, Huard C, Raimondi SC, *et al*. Gene expression signatures define novel oncogenic pathways in T cell acute lymphoblastic leukemia. Cancer Cell 2002; 1(1): 75-87.
12- Lee YK, Park JY, Kang HJ, Cho HC. Overexpression of *p16*INK4A and p14ARF in haematological malignancies. Int J Lab Hematol 2003; 25(4): 233-7.
13- Nasif KA, El-Gezawy EM, Sedeek OB, Aly SM. Concomitant Overexpression of *P16* INK 4 A and P14 ARF in Chronic Myeloid Leukaemia. Med J Cairo Univ 2009; 77(4): 143-50.
14- Krug U, Ganser A, Koeffler HP. Tumor suppressor genes in normal and malignant hematopoiesis. Oncogene 2002; 21(21): 3475-95.
15- Taniguchi T, Chikatsu N, Takahashi S, Fujita A, Uchimaru K, Asano S, *et al*. Expression of *p16* INK4A and p14 ARF in hematological malignancies. Leukemia 1999; 13(11): 1760-9.
16- Dai C, Krantz SB. Increased expression of the INK4a/ARF locus in polycythemia vera. Blood 2001; 97(11): 3424-32.
17- Zindy F, Quelle DE, Roussel MF, Sherr CJ. Expression of the *p16*INK4a tumor suppressor versus other INK4 family members during mouse

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-14]

development and aging. Oncogene 1997; 15(2): 203-11.
18- Ressler S, Bartkova J, Niederegger H, Bartek J, Scharffetter-Kochanek K, Jansen-Dürr P, *et al*. *p16*INK4A is a robust *in vivo* biomarker of cellular aging in human skin. Aging Cell 2006; 5(5): 379-89.
19- Romagosa C, Simonetti S, Lopez-Vicente L, Mazo A, Lleonart ME, Castellvi J, *et al*. *p16*Ink4a overexpression in cancer: a tumor suppressor gene associated with senescence and high-grade tumors. Oncogene 2011; 30(18): 2087-97.
20- Arima Y, Hayashi N, Hayashi H, Sasaki M, Kai K, Sugihara E, *et al*. Loss of *p16* expression is associated with the stem cell characteristics of surface markers and therapeutic resistance in estrogen receptor-negative breast cancer. Int J Cancer 2012; 130(11): 2568-79.
21- Golmohammadi R, Elyasi H, Golmohammadi M. Relationship between *P16* Expression and Breast Cancer Using Histology and Immunohistochemistry. J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(149): 181-6. [Article in Farsi]
22- Brambilla E, Gazzeri S, Moro D, Lantuejoul S, Veyrenc S, Brambilla C. Alterations of Rb pathway (Rb-*p16*INK4-cyclin D1) in preinvasive bronchial lesions. Clin Cancer Res 1999; 5(2): 243-50.
23- Brambilla E, Moro D, Gazzeri S, Brambilla C. Alterations of expression of Rb, *p16*INK4A and cyclin D1 in non-small cell lung carcinoma and their clinical significance. J Pathol 1999; 188(4): 351-60.
24- Ayhan S, Isisag A, Saruc M, Nese N, Demir MA, Kucukmetin NT. The role of pRB, *p16* and cyclin D1 in colonic carcinogenesis. Hepatogastroenterology 2010; 57(98): 251-6.
25- Angiero F, Berenzi A, Benetti A, Rossi E, Del Sordo R, Sidoni A, *et al*. Expression of *p16*, p53 and Ki-67 proteins in the progression of epithelial dysplasia of the oral cavity. Anticancer Res 2008; 28(5A): 2535-9.
26- Buajeeb W, Poomsawat S, Punyasingh J, Sanguansin S. Expression of *p16* in oral cancer and premalignant lesions. J Oral Pathol Med 2009; 38(1): 104-8.
27- Zhao P, Mao X, Talbot IC. Aberrant cytological localization of *p16* and CDK4 in colorectal epithelia in the normal adenoma carcinoma sequence. World journal of gastroenterology: World J Gastroenterol 2006; 12(39): 6391-6.
28- Horrée N, van Diest PJ, Sie-Go DM, Heintz AP. The invasive front in endometrial carcinoma: higher proliferation and associated derailment of cell cycle regulators. Hum Pathol 2007; 38(8): 1232-8.
29- Svensson S, Nilsson K, Ringberg A, Landberg G. Invade or proliferate? Two contrasting events in malignant behavior governed by *p16*INK4a and an intact Rb pathway illustrated by a model system of basal cell carcinoma. Cancer Res 2003; 63(8): 1737-42.
30- Natarajan E, Saeb M, Crum CP, Woo SB, McKee PH, Rheinwald JG. Co-expression of *p16* INK4A and laminin 5 γ2 by microinvasive and superficial squamous cell carcinomas *in vivo* and by migrating wound and senescent keratinocytes in culture. Am J Pathol 2003; 163(2): 477-91.
31- Fukushima N, Sato N, Ueki T, Rosty C, Walter KM, Wilentz RE, *et al*. Aberrant methylation of preproenkephalin and *p16* genes in pancreatic intraepithelial neoplasia and pancreatic ductal adenocarcinoma. Am J Pathol 2002; 160(5): 1573-81.
32- Bardeesy N, Aguirre AJ, Chu GC, Cheng KH, Lopez LV, Hezel AF, *et al*. Both *p16*Ink4a and the *p19*Arf-p53 pathway constrain progression of pancreatic adenocarcinoma in the mouse. Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103(15): 5947-52.
33- Moore PS, Orlandini S, Zamboni G, Capelli P, Rigaud G, Falconi M, *et al*. Pancreatic tumours: molecular pathways implicated in ductal cancer are involved in ampullary but not in exocrine nonductal or endocrine tumorigenesis. Br J Cancer 2001; 84(2): 253-62.
34- Minami R, Muta K, Umemura T, Motomura S, Abe Y, Nishimura J, *et al*. *p16* INK4a induces differentiation and apoptosis in erythroid lineage cells. Exp Hematol 2003; 31(5): 355-62.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-14]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2018; 15(3): 226-234

Original Article

The evaluation of *P16* in chronic myeloid leukemia patients

Barazandeh-Rokh M.[1], Nasoohi N.[1], Molaei M.[2], Fallah P.[2]

[1]Faculty of Advanced Sciences and Technology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University (IAUPS), Tehran, Iran
[2]Allied-Health Faculty, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

Abstract

Background and Objectives

Chronic Myeloid Leukemia (CML) is a clonal disorder of the hematopoietic stem cell caused by the BCR-ABL receptor tyrosinkinase. The tumour suppressor gene of *P16* plays the key role in the cell cycle control. The inactivation of this gene is associated with tumorgenesis, pathogenesis and progression of leukemia. The aim of this study was to evaluate the expression of *P16* gene in patients with chronic myeloid leukemia for the identification of the gene expression changes so that the role of the gene in diagnosis and treatment of the disease could be determined.

Materials and Methods

In this descriptive study, the expression of *P16* gene in 40 CML patients in chronic phase and 8 healthy subjects as the control all in Payvand Medical Laboratory was examined by Real Time PCR technique. Results were analyzed using the Relative Expression Software Tool (REST2009).

Results

P16 gene expression was significantly down-regulated in 32 patients ($p \leq 0.05$), and up-regulated in 8 patients ($p \leq 0.05$) compared to the control group.

Conclusions

In conclusion, downregulation or upregulation of *P16* may be of importance in the biology of CML.Other studies are also required to elucidate the exact function of this tumor suppressor in cancer.

Key words: Myeloid Leukemia، Chronic, PCR, Hematopoietic Stem Cells

Received: 1 Sep 2017
Accepted: 20 May 2018

Correspondence: Fallah P., PhD of Hematology & Blood Banking. Allied-Health Faculty, Alborz University of Medical Sciences.
Postal Code: 3147734568, Karaj, Iran. Tel: (+9826) 34349800; Fax: (+9826) 34349802
E-mail: *parvizfallah@gmail.com*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-14]