مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۵، شماره ۱۰، دی ۱۳۹۶
صفحه: ۸۰۸-۸۰۰

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 25, No. 10, Jan 2018
Pages: 800-808

بررسی بیان ژن کدکننده P120- RasGTPase-activating protein در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد

اکرم سادات سید شریفی کاخکی[۱]، خدیجه عنصری*[۲]

چکیده

مقدمه: لوسمی میلوئیدی حاد، شایع‌ترین شکل لوسمی حاد در بزرگسالان بوده و تغییر بیان بسیاری از ژن‌ها در ایجاد این بیماری تاثیرگذار است. مسیر RAS، یکی از معمول‌ترین مسیرهایی است که در انواع سرطان‌ها دچار تغییر می‌شود. ژن RASA1 که در غیرفعال کردن RAS از طریق هیدرولیز GTP دخالت دارد، نقش کلیدی و مهمی در این مسیر بازی می کند. هدف از این مطالعه مورد-شاهدی، بررسی بیان ژن RASA1 در بیماران مبتلا به AML و مقایسه آن با گروه کنترل می‌باشد.

روش بررسی: برای این منظور، ۵۰ نمونه خون افراد مبتلا به AML مراجعه‌کننده به بیمارستان میرزا کوچک خان جنگلی و ۲۵ نمونه خون سالم از بیمارستان دکتر شریعتی، تهران، در سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری گردید. پس از استخراج RNA و سنتز cDNA، بیان ژن RASA1 با روش Real Time PCR و به روش محاسباتی $\Delta\Delta CT$ صورت گرفت. میزان بیان ژن در گروه مورد و شاهد بر مبنای آزمون آماری t و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ صورت گرفت و مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج حاکی از آن است که بیان ژن RASA1 در بیماران نسبت به افراد سالم، کاهش چشمگیری داشته و از لحاظ آماری نیز معنی‌دار بوده است (P=۰/۰۰۰۱). در حالیکه ارتباط معنی‌داری بین کاهش بیان ژن RASA1 بر حسب سن (P=۰/۵۷۱) و جنس (P=۰/۶۹۲) در بین افراد مورد مطالعه گزارش نشده است. ۳۳ (۶۶٪) بیماران نفر دارای گلبولهای سفید بیش از ۱۰ ($\times۱۰^{۹}$ /L) بوده و ۸۰ درصد بیماران هموگلوبین بیشتر از ۸۰٪ داشتند. همچنین بر اساس طبقه بندی FAB، بیشترین تعداد بیماران در گروه M2 قرار داشته و حداکثر بیماران تعداد پلاکت و بلاست کمتر از ۵۰٪ داشتند.

نتیجه‌گیری: بررسی میزان بیان ژن RASA1 می‌تواند به عنوان یک عامل تشخیصی استفاده شود و در تعیین پیش آگهی بیماران مبتلا به AML نقش مهمی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: ژن RASA1، لوسمی میلوئیدی حاد، Real time PCR

۱- کارشناس ارشد رشته ژنتیک، گروه زیست شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران
۲- دکترا ژنتیک مولکولی، گروه زیست شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۹۱۰۲۰۸۹۰، پست الکترونیکی: onsory@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۱۱

مقدمه

لوسمی میلوئیدی حاد (AML: Acute Myeloid Leukemia)، از لحاظ فنوتیپی و ژنوتیپی یک بیماری هتروژن است که با تجمع، تکثیر و مقاومت به آپوپتوز سلول‌های پیش ساز خونساز میلوئیدی و همچنین مهار تمایز آن‌ها در مغز استخوان و خون محیطی همراه می‌باشد. در این بیماری سلول‌های لوسمیک موجب اختلال در بلوغ سلول‌های پیش ساز نرمال رده میلوئید، اریتروئید و مگاکاریوسیتی می‌شوند (۱). لوسمی، پنجمین سرطان شایع در جهان و شایع‌ترین سرطان بعد از سرطان معده در ایران می‌باشد (۲,۳). AML، شایع‌ترین شکل لوسمی حاد در بالغین می‌باشد که ۰.۶٪ از کل سرطان‌ها را به خود اختصاص داده است. این نوع سرطان، از نوع بدخیمی‌هایی است که در صورت عدم درمان، سریعاً منجر به مرگ می شود. سالانه در اروپا تقریبا 18300 نفر مبتلا به این بیماری تشخیص داده می‌شوند (۴,۵). در سال ۲۰۱۳، تعداد تخمینی موارد AML جدید در ایالات متحده ۱۴۵۹۰ گزارش شده است (۴). بروز AML حدود ۳/۵ در هر ۱۰۰۰۰۰ فرد در سال بوده و شیوع آن در مردان بیشتر از زنان است (۶). بروز AML با افزایش سن افزایش می‌یابد و میانگین سن در زمان تشخیص ۶۷ سال گزارش شده است. از آنجاییکه قسمت عمده جمعیت ایران را محدوده سنی ۲۰-۴۰ سال تشکیل می‌دهد، بنابراین، بیشترین میزان بروز این نوع سرطان در این طیف سنی بوده و از آنجایی که این گروه بیشتر در معرض فاکتورهای خطر آفرین دیگر مانند عوامل محیطی، آلودگی صوتی و شیمیایی قرار دارند، خطر ابتلا به این بیماری نیز در آن‌ها افزایش می‌یابد (۲,۴). در اثر تغییرات ژنتیکی در سلول‌های پیش‌ساز خونی در این بیماری، رشد و تمایز طبیعی این سلول‌ها دچار تغییر شده و باعث تجمع تعداد زیادی از سلول‌های میلوئیدی غیر طبیعی و نابالغ در مغز استخوان و خون محیطی می‌گردد. این سلول‌ها قادر به تقسیم و تکثیر بوده اما توانایی تبدیل به سلول‌های خونساز بالغ را ندارند (۷). فعال شدن دائمی مسیرهای سیگنالینگ گیرنده‌های فاکتورهای رشد، باعث افزایش تکثیر سلولی، فرار از آپوپتوز و همچنین مهار تمایز می‌گردد. مسیر RAS، یکی از معمول‌ترین مسیرهایی است که در انواع سرطان‌های انسانی دچار تغییر می‌شود (۸). جهش‌هایی که منجر به فعال کردن ژن RAS می‌شود، در انواع مختلف سرطان‌های انسانی گزارش شده است. این جهش‌ها معمولاً RAS را به حالت ترکیب با GTP در می‌آورند که موجب فعال‌سازی مسیرهای پایین دست از جمله مسیر MAPK حتی در غیاب محرک خارج سلولی می‌گردد (۸). پروتئین‌های RAS، GTPase با وزن مولکولی کم هستند که علائم خارج سلولی را به داخل سلول انتقال داده و در ایجاد فرایندهای اساسی سلولی از جمله تکثیر، تمایز، بقا و رونویسی نقش دارند (۸). ایزوفرم‌های RAS از جمله H-RAS، K-RAS و N-RAS، همراه با دو تنظیم کننده کلیدی خود، فاکتور مبادله کننده نوکلئوتید گوانین (Guanin nucleotide exchange factors) (GEFs) و پروتئین فعال‌کننده GAPs (GTPase activating proteins)، سویچ‌های مولکولی هستند که در روشن و خاموش کردن RAS نقش اساسی را بازی می‌کنند. ژن مزبور که RASA1 نامیده میشود (RAS p21 GTPase activating protein 1)، در جایگاه 5q13.3 قرار دارد. این ژن کدکننده پروتئین فعال کننده p120-RasGTPase است که از ۱۰۴۷ اسیدآمینه تشکیل شده و اولین پروتئینی است که به عنوان RAS GAP شناسایی شده است (۹). این پروتئین باعث هیدرولیز GTP متصل به RAS شده و RAS را از حالت فعال خارج می‌کند. مبادله GDP برای GTP توسط GEF، باعث غیرفعال شدن RAS می‌گردد (۱۰). RAS GAPs به عنوان کلاسی از ژن‌های تومور سوپرسور می‌باشد که غیرفعال شدن چندین عضو از این خانواده، موجب فعال باقی ماندن بیش از حد RAS شده و در نتیجه مسیر پیام رسانی داخل سلولی ادامه یافته و باعث تومورزایی میگردد. شانزده ژن RAS GAP شناسایی شده که همگی دارای دمین RAS GAP بوده و در برهم کنش های پروتئین- پروتئین و پروتئین- لیپید شرکت دارند و با فسفوریله شدن توسط پروتئین کینازهای سلولی، نقش ضروری را در علامت‌دهی سلولی ایفا می‌کنند. وجود مجموعه مشخصی از دمین‌های

مدولار در پروتئین‌های RAS GAP مختلف نشان می‌دهد که فعالیت RAS GAP پیچیده بوده و به طور دقیقی تنظیم شده است. با این وجود، اطلاعات کمی در مورد عملکرد دقیق و تنظیم بسیاری از پروتئین‌های RAS GAP در فرایندهای نرمال یا سرطانی شدن سلول در دسترس می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی بیان ژن RASA1 در بیماران مبتلا به AML در جمعیت مورد مطالعه می باشد.

روش بررسی

در این مطالعه مورد-شاهدی، که به صورت تصادفی صورت گرفته است، ۵۰ نمونه خونی از بیماران مبتلا به AML مراجعه کننده به بیمارستان میرزاکوچک خان جنگلی و ۲۵ خون متعلق به افراد سالم به عنوان کنترل از بیمارستان دکتر شریعتی، تهران در سال ۱۳۹۵ در لوله های حاوی EDTA جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید.

محدوده سنی بیماران بین ۳۲ تا ۷۴ سال و محدوده سنی افراد سالم بین ۳۱ تا ۷۸ سال بود. تشخیص نوع سرطان خون بر اساس طبقه‌بندی FAB با رنگ‌آمیزی رومانوسکی لام خون محیطی انجام گردید. آزمایش CBC برای بررسی خون محیطی بیماران به منظور اندازه گیری WBC، PLT، Hb و تعیین درصد بلاست بیماران به طور جداگانه صورت گرفت. یافته‌ها توسط نرم‌افزار SSPS 21 و Graphpad prism 5 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. رضایت‌نامه اخلاقی مطابق با قوانین بیمارستان و مرکز تحقیقات از بیماران گرفته شد و با کد ۲۹۸۳۰۵۰۳۹۴۲۰۰۱ به انجام این تحقیق اقدام گردید.

استخراج **RNA** و تهیه **cDNA**

از نمونه‌های جمع‌آوری شده، استخراج RNA توسط ترایزول صورت گرفت. به منظور اطمینان از کیفیت RNA استخراج شده، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. همچنین کیفیت RNAs توسط دستگاه نانودراپ بررسی شد. سنتز cDNA با استفاده از آنزیم ترانس کریپتاز معکوس و طبق مواد زیر که شامل ۱ میکرولیتر Random Hegzamer، 1 میکرولیتر پرایمر Oligi dT، ۱ میکرولیترdNTP، ۵ میکرولیتر RNA، ۵/. میکرولیتر آنزیم MMULV، ۲ میکرولیتر MMULV Buffer، ۹/۵ میکرولیتر DEPC به هر میکروتیوب افزوده شد. کل واکنش در حجم ۲۰ میکرولیتر در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه برای سنتز cDNA و سپس ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای غیرفعال کردن آنزیم انجام شد. در انتهای این مرحله کل cDNA تک رشته‌ای حاصل شد و با خاصیت RNase موجود در آنزیم ترانس کریپتاز معکوس، RNA حذف شد.

Real time PCR

پس از استخراج RNA و سنتز cDNA از نمونه های بیمار و سالم، بیان ژن RASA1 به وسیله Real time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. تست Real time PCR برای هر نمونه سه بار تکرار گردید تا نتایج به دست آمده از صحت و دقت بالایی برخوردار باشد. پرایمر اختصاصی برای دو ژن GAPDH (ژن رفرنس) و RASA1 با استفاده از نرم‌افزار Gene Runner طراحی شد (جدول ۱). دمای اتصال برای ژن RASA1 ۵۶ درجه سانتی گراد در نظر گرفته شد. اختصاصیت پرایمر و عدم آلودگی به DNA ژنومی توسط پیک منحنی ذوب اختصاصی (۸۲/۰۹ و ۷۴/۶۹ درجه سانتی‌گراد به ترتیب برای ژن‌های GAPDH وRASA1) مشخص گردید. در این تحقیق از Green SYBR به عنوان رنگ فلورسانت استفاده شده است. پس از واکنش، داده های خام به صورت Ct از دستگاه استخراج شد و اندازه‌گیری میزان بیان ژن RASA1 با روش $\Delta\Delta Ct$ انجام شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار Graphpad نمودار بیان ژن رسم گردید (نمودار ۱). سپس محاسبه Ct برای هر یک از آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 21) مورد آنالیز قرار گرفت. به منظور بررسی ارتباط بین پارامترهای کلینیکی بیماران مانند سن، جنس، شمارش سلول‌های سفید، هموگلوبین، پلاکت، بلاست و زیرگروه های FAB با بیان ژن RASA1 از آزمون t نمونه‌های مستقل استفاده شد.

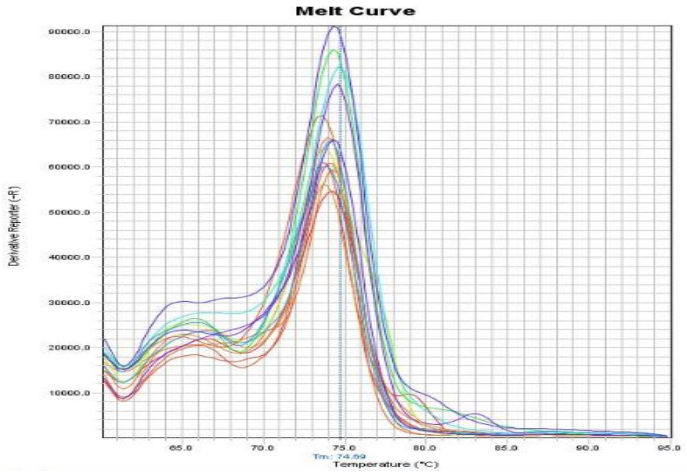
جدول ۱: مشخصات پرایمرهای اختصاصی RASA1 و ژن مرجع

Primer	Sequences 5´→3´	Tm (°C)	Amplicon Size (bp)
RASA1-F	GATGGGAGGCCGGTATTAT	58.68	149
RASA1-R	AGATTTCCTTGCCATCCACT	58.59	
GAPDH-F	ATGGAGAAGGCTGGGGCT	62.05	124
GAPDH-R	ATCTTGAGGCTGTTGTCATACTTCTC	61.62	

نتایج

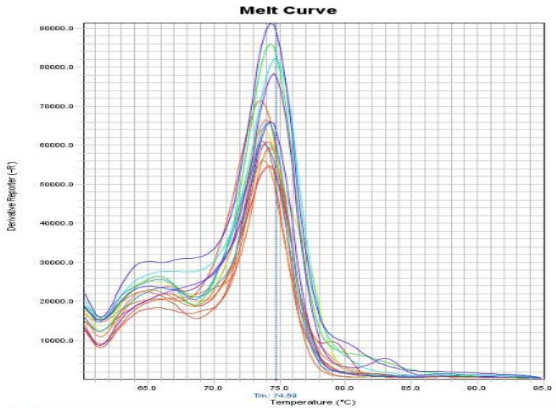
به منظور بررسی اختصاصیت پرایمرها و رنگ فلورسانس (SYBER Green) و اطمینان از تکثیر قطعات اختصاصی و بررسی عدم وجود قطعات غیر اختصاصی در محصول PCR، نمودار منحنی ذوب برای ژن RASA1 (نمودار ۲)، توسط دستگاه Real Time PCR رسم گردید که این تاییدی بر اتصال صحیح پرایمرهای RASA1 است و محصول PCR به دست آمده دقیقاً برای ژن مورد نظر می‌باشد.

اطلاعات دموگرافیک افراد شرکت کننده در جدول ۲ و مشخصات خون شناسی بیماران در جدول (۳) آورده شده است. محدوده سنی بیماران بین ۳۲ تا ۷۴ سال و میانگین سنی ۵۳ سال می‌باشد و محدوده سنی افراد سالم بین ۳۱ تا ۷۸ سال و میانگین سنی ۵۴/۵ سال می‌باشد. انحراف معیار سن برای بیماران (±SD 9.81) و برای نمونه‌های سالم (±SD ۱۰/۳) است. تفاوت معنی‌داری بین میانگین بیان ژن RASA1 بر حسب سن (P=۰/۵۷۱) و جنس (P=۰/۶۹۲) افراد مورد مطالعه مشاهده نشد. در بین بیماران ۳۳ (۶۶٪) دارای گلبول‌های سفید بیش از ۱۰ ($\times 10^9$/L) بوده و بیشترین تعداد بیماران هموگلوبین بیشتر از ۸۰٪ داشتند. همچنین حداکثر بیماران تعداد پلاکت و بلاست کمتر از ۵۰٪ داشتند. بر اساس طبقه بندی FAB، بیشترین تعداد بیماران در گروه M2 قرار داشتند.

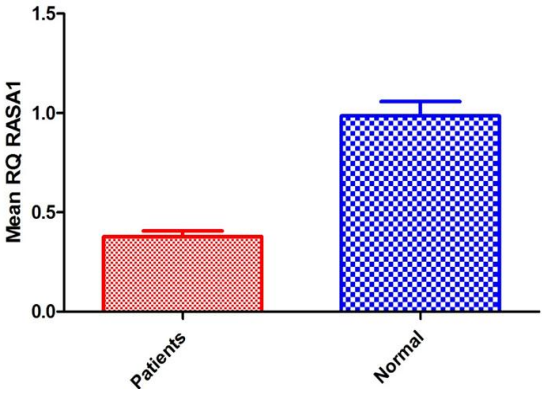


نمودار ۱: مقایسه میانگین بیان ژن RASA1 در افراد بیمار و سالم

با بررسی نتایج مشخص شد که بیان ژن RASA1 در افراد بیمار به طور میانگین ۲/۶۱ برابر، نسبت به افراد نرمال کاهش داشته است و این کاهش بیان از لحاظ آماری نیز معنی‌دار بوده است (P=۰/۰۰۰۱) (نمودار ۳).



نمودار ۲: منحنی ذوب RASA1



نمودار ۳: مقایسه میانگین بیان ژن RASA1 در افراد بیمار و سالم

جدول ۲: اطلاعات دموگرافیک افراد شرکت کننده

متغیر	بیماران (٪)	افرادسالم (٪)	*P-value*
تعداد	۵۰	۲۵	
سن (سال)	۳۲-۷۴	۳۱-۷۸	۰/۵۷۱
Mean (±SD)	۵۳ (±۹/۸۱)	۵۴/۵ (۱۰±/۰۳)	
جنس			
زن	(٪۳۴)۱۷	(٪۳۲) ۸	۰/۶۹۲
مرد	(٪۶۶) ۳۳	(٪۶۸) ۱۷	
میزان بیان ژن (Mean ± SEM)	۰/۳۷۷±۰/۰۲۸	۰/۹۸۵±۰/۰۷۱	۰/ ۰۰۰۱

جدول ۳: متغیرهای بالینی بیماران

متغیر های بالینی بیماران	تعداد بیماران (٪)
سلول‌های سفید ($\times۱۰^{۹}$/L)	
≤۱۰	(٪۶۶) ۳۳
>۱۰	(٪۳۴)۱۷
هموگلوبین (g/dl)	
≤۸۰	(٪۸۰) ۴۰
>۸۰	(٪۲۰) ۱۰
پلاکت ($\times۱۰^{۹}$/L)	
≤۵۰	(٪۴۴) ۲۲
>۵۰	(٪۵۶) ۲۸
پلاست مغز استخوان	
≤۵۰	(٪۴۰) ۲۰
>۵۰	(٪۶۰) ۳۰
دسته بندی بر اساس FAB*	
M1	(٪۴) ۲
M2	(٪۳۲) ۱۶
M3	(٪۲۶) ۱۳
M4	(٪۱۶) ۸
M5	(٪۱۴) ۷
M6	(٪۲) ۱
M7	(٪۶) ۳

*FAB: French American British

بحث

ژن RASA1 متعلق به یک خانواده با چهار پروتئین همولوگ می‌باشد که دارای دمین GTPase بوده و نقش کلیدی در غیرفعال کردن RAS به عهده دارد. شواهد نشان می‌دهند که RAS GAPs دیگر، مانند DAB2IP، RASAL2 و احتمالاً RASA1، IQGAP2 و RASAL1 به عنوان بازدارنده‌های تومور ایفای نقش می‌کنند. عملکرد نادرست RAS GAPs در سلول‌های سرطانی نشان دهنده نقش آنها در رشد تومور و ایجاد حالت متاستازی می‌باشد (۱۱). علاوه بر دمین RAS GAP، P120 حاوی دمین‌های SH2، SH3، PH و C2 نیز هست که گمان می‌رود این چهار دمین در هدف‌گذاری P120 برای غشاهای سلولی نقش داشته باشند. نتایج مطالعات نشان‌دهنده ارتباط بین P120 با تیروزین کینازها می‌باشد. برای مثال، دمین SH2 باعث اتصال P120 به گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی فسفوریله شده، گیرنده فاکتور رشد پلاکت‌ها و گیرنده‌های انسولینی که غیرفعال‌سازی RAS در مسیرهای علامت‌دهی مربوطه را ارتقا می‌دهند، هستند (۱۲). در سال ۲۰۱۵ تحقیقی بر روی بیان ژن RASA1 روی بافت هپاتوسلولار در شرایط هیپوکسی صورت گرفت و نتایج حاصله از Real time PCR و Western Blot نشان داد که بیان ژن RASA1 در این بافت سرطانی کاهش یافته است (۱۳). افزایش هیپرپلازی بر اثر مهار RASA1، در نتیجه تکثیر نامنظم سلول‌های اندوتلیال لنفاوی صورت گرفته است و در این بررسی، RASA1 بعنوان یک تنظیم کننده مهم رشد عروق لنفاوی و مورد نیاز برای یکپارچگی عروق لنفاوی معرفی گردید (۱۴). بنابراین، مهار RASA1 باعث تحریک آنژیوژنز می‌شود. این ژن نه تنها در تمایز، تکثیر، مهاجرت سلولی و سرطان عملکرد مهمی دارد، بلکه در سازمان‌دهی اسکلت سلولی نیز ایفای نقش می کند (۱۵). در غیاب RASA1، تبدیل GTP متصل به RAS به فرم غیر فعال آن یعنی GDP، مهار می‌گردد، بدین ترتیب، RAS فعال با انواع تومورها در ارتباط بوده و ایجاد موتاسیون در این ژن در سرطانی شدن بسیاری از سلول‌ها نقش دارد (۱۶). اما پاسخ این سوال اساسی که دلیل وجود این همه RAS GAPs چیست، هنوز به خوبی مشخص نشده است.

در این بررسی مورد- شاهدی (case-control) که از ۵۰ بیمار مبتلا به AML و ۲۵ فرد سالم استفاده شده است، به بررسی بیان ژن RASA1 در این دو گروه پرداخته شد. نتایج نشان می‌دهد که بیان ژن RASA1 به طور قابل توجهی در بیماران مورد مطالعه در مقایسه با گروه سالم کاهش داشته است (P=۰/۰۰۰۱) در نتیجه با مهار و غیرفعال شدن RASA1، بیان ژن RAS افزایش یافته و تکثیر سلولی ادامه یافته که منجر به سرطانی شدن سلول‌ها شده است. ژن RASA1 در همه بافت‌ها بیان شده و در مهار فاکتور تبادلی نوکلئوتید گوانین، فاکتور رشد مشتق از پلاکت، انسولین و عامل محرک کلونی نقش مهمی ایفا می‌کند. اختلال و جهش در ژن RASA1 باعث آنژیوژنیک غیرعادی و ناهنجاری مویرگی- شریانی می‌شود که نمی‌تواند به وسیله RAS GAPs دیگر جبران شود. ژن RASA1 به عنوان یک ژن سرکوبگر تومور نقش مهمی بر روی تکثیر سلولی داشته و به عنوان یک فاکتور ضد آپوپتوز باعث کنترل رشد سلولی می‌گردد. در بررسی که در سال ۲۰۱۵، توسط Sun صورت گرفت، مشاهده شد که کاهش بیان RASA1 موجب فعال کردن مسیر RAS/MAPK شده است (۱۷). مطالعات Zhang و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داد که با کاهش بیان ژن RASA1 در سلول‌های سرطانی دهانه رحم، مهاجرت سلول‌های سرطانی و متاستاز صورت گرفته است (۱۸). ژن RASA1 باعث فعال شدن RAS می‌شود که انتقال دهنده اپیتلیال- مزانشیمی RAS باعث ترویج مهاجرت سلولی میگردد و مهار این ژن یک استراتژی مهم برای جلوگیری از مهاجرت سلول‌های سرطانی می‌باشد (۱۸). این ژن به عنوان تنظیم کننده در آنژیوژنز عروق خونی، در واکنش به تومورها یا عوامل رشد رگزایی ایفای نقش می‌کند، بطوریکه مهار بیان این ژن باعث تحریک آنژیوژنز می‌گردد (۱۳). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ توسط Lapinski صورت گرفت، نشان داده شد که مهار این ژن موجب اختلال در سیستم عروق

لنفاوی و افزایش هیپرپلازی می‌شود (۱۴). هیپوکسی از ویژگی‌های سلول‌های سرطانی است و مقاومت تومورهای هیپوکسیک به درمان به خوبی اثبات شده است (۱۹). در این شرایط سلول‌های توموری در حال رشد به علت کاهش خون رسانی دچار محرومیت از اکسیژن می‌شوند. بر خلاف تصور، در این شرایط، سلول‌های هیپوکسیک توموری، قابلیت رشد و تکثیر خود را حفظ می‌کنند و در مقابل درمان‌های رایج از جمله شیمی درمانی و پرتودرمانی مقاومت می‌کنند و این سلول ها رفتارهای تهاجمی و متاستیک از خود بروز می‌دهند (۲۰). از آنجاییکه هیپوکسی موجب پیشرفت تومور و مقاومت به درمان می‌شود و در این شرایط بافت‌های سرطانی با پیشرفت متاستاز و رگزایی همراه می‌باشند و با توجه به اینکه رگزایی برای رشد و متاستاز تومور لازم است، بنابراین شناخت عوامل ضد رگزایی در درمان سرطان از اهمیت بالایی برخوردار است (۲۱).

نتیجه گیری

ژن RASA1 می‌تواند یک هدف مفید برای دستکاری عاملی چون تنظیم رشد عروق لنفاوی در شرایط بیماری باشد. از طرفی، در سرطان، پیشگیری از کاهش بیان ژن RASA1 در سلول‌های اندوتلیال لنفاوی، ممکن است برای مهار رگزایی لنفوم مورد نیاز باشد و می‌تواند موجب کاهش متاستاز تومور شود.

سپاسگزاری

این تحقیق نتیجه پایان نامه دانشجویی در دانشگاه آزاد واحد پرند می‌باشد و نویسندگان از پرسنل محترم بیمارستان که در ارائه اطلاعات و جمع آوری نمونه ها همکاری نمودند نهایت سپاسگزاری و امتنان را دارند.

References:

1- Ston RM, O'Donnell MR, Sekeres MA. ***Acute myeloid leukemia***. Hematology Am Soc Hematol Educ program 2004; 98-117.

2- Zand AM, Imani S, Sa'adati M, Borna H, Ziaei R, Honari H. ***Effect of age, gender and blood group on blood cancer types***. Kowsar M J 2010; 15(2): 111-4.

3- Salehi M, Gohari MR, Vahabi N, Zayeri F, Yahyazadeh SH, Kafashian MR. ***Comparison of Artificial Neural Network and Cox Regression Models in Survival Prediction of Breast Cancer Patients***. JIUMS 2013; 21(2): 120-8.

4- Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. ***Estimating the world cancer burden: Globocan 2000***. Int J Cancer. 200;94(2):153-6.

5- Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB. ***Cancer incidence in five continents. Volume VIII.*** IARC Sci Publ; 2002; 155; 1-781.

6- Fauci AS, Hauser SL, Kasper DL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. ***PART 7 Oncology and Hematology, Harrison's Principles of Internal Medicine***. 19th ed. Condemantra; 2015.P 678-87.

7- Steffen B, Muller-Tidow C, Schwable J, Berdel WE, Serve H. ***The molecular pathogenesis of acute myeloid leukemia***. Crit Rev Oncol Hematol 2005; 56(2): 195-221.

8- Karnoub AE, Weinberg RA. ***Ras oncogenes: split personalities***. Nat Rev Mol Cell Biol 2008; 9(7): 517-31.

9- Wooderchak-Donahue W, Stevenson DA, McDonald J, Grimmer JF, Gedge F, Bayrak-Toydemir P. ***RASA1 analysis: Clinical and molecular findings in a series of consecutive cases***. Eur J Med Genet 2012; 55(2): 91-5.

10-Bos JL, Rehmann H, Wittinghofer A. ***GEFs and GAPs: critical elements in the control of small G proteins***. Cell 2007; 129(5): 865–77.

11-Agazie YM, Hayman MJ. ***Molecular mechanism for a role of SHP2 in epidermal growth factor receptor signaling.*** Mol Cell Biol 2003; 23(21): 7875–86.

12- Cooper JA, Kashishian A. ***In vivo binding properties of SH2 domains from GTPase-activating protein and phosphatidylinositol 3- kinase***. Mol Cell Biol 1993; 13(3): 1737–45.

13- Du C, Weng X, Hu W, Lv Z, Xiao H, Ding C, et al. ***Hypoxia-inducible MiR-182 promotes angiogenesis by targeting RASA1 in hepatocellular carcinoma***. J Exp Clin Cancer Res 2015; 34: 67.

14- Lapinski PE, Kwon S, Lubeck BA, Wilkinson JE, Srinivasan RS, Sevick-Muraca E, et al. ***RASA1 maintains the lymphatic vasculature in a quiescent functional state in mice***. J Clin Invest 2012; 122(2): 733-47.

15- de Wijn RS, Oduber CEU, Breugem CC, Alders M, Hennekam RCM, van der Horst CMAM. ***Phenotypic variability in a family with capillary malformations caused by a mutation in the RASA1 gene***. Eur J of Med Genet 2012; 55(3): 191-5.

16- Boon LM, Mulliken JB, Vikkula M. ***RASA1: variable phenotype with capillary and arteriovenous malformations.*** Curr Opin Genet Dev 2005; 15(3): 265–9.

17- Sun D, Wang C, Long S, Ma Y, Guo Y, Huang Z, et al. ***C/EBP-β-activated microRNA-223 promotes tumour growth through targetingRASA1 in human colorectal cancer***. Br J Cancer 2015; 112(9):1491-500.

18- Zhang L, Zhan X, Yan D, Wang Z. ***Circulating MicroRNA-21 Is Involved in Lymph Node Metastasis in Cervical Cancer by Targeting RASA1***. Int J Gynecol Cancer 2016; 26(5): 810-6.

19- Koch CJ, Evans SM. ***Optimizing hypoxia detection and treatment strategies***. Semin Nucl Med 2015; 45(2): 163-176.

20- Hockel M, Vaupel P. ***Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects.*** J Natl Cancer Inst 2001; 93(4): 266-76.

21- Du C, Weng X, Hu W, Lv Z, Xiao H, Ding C, et al. ***Hypoxia-inducible MiR-182 promotes angiogenesis by targeting RASA1 in hepatocellular carcinoma***. J Exp Clin Cancer Res 2015; 34(1): 67.

Investigation of gene coding for P-120 RasGTPase-activating protein in acute myeloid leukemia

Akram Sadat Seyed Sharifi Kakhki [1], Khadijeh Onsory [*2]

[1] Biology Department, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran
[2] Molecular Genetics, Biology Department, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran

Received: 26 Apr 2017 **Accepted:** 1 Jun 2017

Abstract

Introduction: Acute myeloid leukemia (AML) is the most common form of acute leukemia in adults and changing many genes expression are related to this disease. RAS pathway is one of the most common pathways, which may dysregulate in variety of cancers. RASA1 gene plays an important role in RAS inactivation through GTP hydrolysis. The purpose of the case-control study was to investigate the RASA1 gene expression in the patients with AML and compares it with the control group.

Methods: For this purpose, blood samples were collected from 50 patients with AML admitted to Mirza Kuchak Khan Jangali Hospital and 25 healthy people from Dr. Shariati Hospital, Tehran in 1395. RNA was extracted and after cDNA synthesis, the expression of RASA1 gene was evaluated using Real time PCR (ΔΔCT computational). Statistical analysis was performed SPSS (version 21) software and the values of $P<0.05$ was considered to be significant.

Results: The results indicated a decreased RASA1 gene expression among the patients compared to the control group and it statistically was significant (P= 0.0001). No significant association was observed between age (P= 0.571) and sex (P= 0.692) among the studied population. Most of the patients (66%) had WBC more than 10 (10^9/L) and 80% of them showed HGB more than 80 (g/dl). According to FAB subtype, most of the patients occupied M2 group and high number of AML patients had PLT and Blasts more than 50%.

Conclusion: Evaluation of RASA1 gene expression, therefore, can be used as diagnostic agents and also can have a role in prognostic of patients with AML.

Keywords: RASA1 gene, Acute Myeloid Leukemia, Real time PCR

This paper should be cited as:
Seyed Sharifi Kakhki AS, Onsory Kh. **Investigation of gene coding for P-120 RasGTPase-activating protein in acute myeloid leukemia.** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2018; 25(10): 800-8.

***Corresponding author: Tel: 09191020890, email: onsori@gmail.com**