Archive of SID

مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال ۶۲، شماره ۱۲، صفحات ۱۰۴۳ تا ۱۰۴۸، (۱۳۸۳)

جهش‌های ژن P53 در بیماری هوچکین

دکتر امیرحسین صدرزاده رفیعی (پزشک عمومی)، دکتر عیسی جهانزاد (استادیار)*، دکتر منوچهر کیهانی (استاد)، دکتر رضا رفیعی (پزشک عمومی) ، دکتر مسعود رحمانیان (پزشک عمومی) ، دکتر سعید حسینی‌اصل (دستیار)***، دکتر پروین مهدی‌پور (استاد)*****

* انستیتوکانسر، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
** بخش هماتولوژی انکولوژی، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
*** گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: جهشهای ژن P53 فراوانترین تغییرات ژنتیکی منفرد در سرطانهای انسان هستند. این جهش‌ها در تومورهای گوناگونی دیده می‌شوند ولی تا کنون نتایج متفاوتی در مورد فراوانی جهش های این ژن در بیماری هوچکین که شایعترین نوع لنفوم در بالغین جوان می‌باشد ذکر شده است.

مواد و روشها: در این مطالعه فراوانی جهش ژن P53 در بیماران مبتلا به بیماری هوچکین مراجعه کننده به بیمارستانهای امام خمینی، آراد و نفت در طی سالهای ۸۷ – ۱۳۷۰ مورد بررسی قرار گرفت. از روش microdissection جهت استخراج حداکثر تعداد سلولهای بدخیم Reed Sternberg (RS) از لامهای تهیه شده از بلوک‌های لنف نود بیماران و انجام PCR/SSCP ژن P53 (اگزون‌های ۸-۵) بر روی محصول DNA استخراج شده در ۴۰ بیمار مبتلا به بیماری هوچکین، استفاده گردید.

یافته‌ها: تعداد (شش) ٦ مورد shift (جابجایی) در ژل SSCP (۲ مورد در اگزون(exon) ۵، ۱ مورد در اگزون ٦، ۲ مورد در اگزون ۷ و یک مورد در اگزون ۸) در ۵ بیمار (۱۲/۵ %) از ٤٠ بیمار مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: از آنجا که فراوانی جهش ژن P53 در بیماران هوچکین زیاد نمی‌باشد، در بیماران هوچکین برخلاف بعضی دیگر از سرطانها از جمله سرطان پستان و کولون که رابطه بین این ژن با بیماری نشان داده شده است، ظهور این ژن را در این بیماری می‌توان اندک دانست.

مقدمه

بیماری هوچکین یک بدخیمی لنفوپرولیفراتیو است که در حدود یک درصد بدخیمی های تازه تشخیص داده شده در آمریکا را تشکیل می دهد. هر ساله درحدود ۷۵۰۰ مورد جدید در آمریکا تشخیص داده می‌شود .در بزرگسالان جوان شایع‌تر است. در کشورهای در حال توسعه دو پیک سنی یکی در دهه سوم و یکی بعد از پنجاه سالگی وجود دارد. دو قلوهای تک تخمی ۹۹ برابر افزایش در ریسک ابتلای همزمان به بیماری هوچکین را دارند که حمایت کننده نقش حساسیت ژنتیکی و یا پاسخ ایمنی غیرطبیعی در اتیولوژی بیماری هوچکین است

www.SID.ir

Archive of SID

(۱). برای تشخیص بیماری هوچکین وجود سلولهای Reed-Sternberg در محیط ساختاری- سلولی مناسب احتیاج است (۲). از نظر پاتولوژیک بیماری هوچکین توسط وجود یک سلول بزرگ دو هسته ای یا چند هسته‌ای (Reed-Sternberg) که عمدتا توسط پاسخ واکنشی خوش‌خیم میزبان احاطه شده است تشخیص داده می‌شود (۱). سلولهای RS احتمالا آپوپتوز را در لنفوسیت‌های احاطه کننده القا می‌کنند در حالیکه لنفوسیت‌های احاطه کننده نمی‌توانند آپوپتوز را در سلولهای RS القا کنند (۳).

ژن P53 یک ژن سرکوب کننده تومور است که روی کروموزوم 17P13.1 قرار گرفته است .جهشهای ژن P53 فراوانترین تغییرات ژنتیکی منفرد در سرطانهای انسان هستند. این جهش‌ها در تومورهای گوناگونی از جمله سرطانهای کولورکتال (٪۶۵-۶۰)و پستان (٪۳۰) و مثانه (٪۶۰-۴۰) و پوست (٪۶۰-۴۰) وریه (ادنو کارسینوما ٪۳۰- و سلول کوچک ٪۸۰) دیده می‌شوند. ژن P53 باعث القای آپوپتوز و توقف سلول در مرحله G1 چرخه سلولی در سلولهایی که DNA آنها آسیب دیده است میشود. این وقفه ایجاد شده در چرخه سلولی زمان کافی برای بازسازی اختلال ایجاد شده در DNA توسط موتاژن را در اختیار سلول قرار میدهد. در حقیقت P53 باعث القای مستقیم نسخه برداری از آنزیمهای ترمیم کننده DNA میشود. بنابراین اگر DNA ترمیم شود سلول اجازه می‌یابد که چرخه سلولی را کامل کند ودر غیر این صورت توسط ژن P53 به سمت آپوپتوز سوق داده میشود. نهایتاً این فرآیند سبب مرگ سلولهایی می‌گردد که خارج از ضوابط طبیعی رشد می‌نمایند. واضح است هرگونه موتاسیونی در ژن P53 که عملکرد آن را مختل کند القای آپوپتوزیس را در سلول‌های مورد اشاره مختل می‌کند(۵و۴). کاربرد مهم درمانی این بررسی آن است که بدانیم القاء آپوپتوزیس فرآیندی است که بسیاری از داروهای شیمی درمانی براساس آن عمل می‌نماید و سلولی که به .دلیل موتاسیون ژن P53 حساسیت خود را به آپوپتوزیس از دست داده باشد احتمالاً به القاء آپوپتوزیس ناشی از داروهای شیمی درمانی نیز پاسخ خوبی نخواهد داد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

در این مطالعه تعداد ۴۰ بلوک پاتولوژیک لنف نود پارافینه بیماران هوچکین مراجعه کننده به بیمارستانهای امام خمینی، آراد و نفت در طی سالهای ۷۸ -۱۳۷۰ به شکل تصادفی انتخاب شدند.

میکرودیسکسیون واستخراج DNA

نمونه بلوک‌های لنف نود تحت برش ۷ میکرونی قرار گرفته و بر روی لام آورده و رنگ آمیزی هموتوکسیلین خفیفی زده شد. برش ۳ میکرونی دیگری از همان لنف نود به منظور رنگ آمیزی هموتوکسین وائوزین جهت مبنایی برای یافتن ساده‌تر سلولهای ریداشترنبرگ (RS) تهیه شد. سپس توسط استاد محترم پاتولوژی به منظور بالا بردن درصد سلولهای بدخیم و سلولهای رید اشترنبرگ با روش میکرومنوپولاسیون و یا به عبارتی میکرودیسکسیون (micromanipulation or microdissection) با استفاده از سرنگ انسولین سلولهای رید اشتنبرگ و بدخیم لام‌ها زیر دید میکروسکوپ نوری جدا شده و سپس در داخل میکرویتوبی که دارای ماده نگهدارنده (مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلول استخراج که از ترکیب آب مقطر دیونیزه استریل با ترکیبات بافر (Tris - EDTA 0.9 m/l Triss HCL, PH=8.90) TE9 20 mmol/lit EDTA Nacl, Pr.k, 10 mmol/lit(پروتئنیاز K) 2mg/ml و Tween 20(50μlit/ml) تهیه شده بود) جهت استخراج DNA موجود در سلولهای بدخیم و RS هوچکین تهیه شده بود، ریخته شد. پس از سانتریفوژمیکروتیوبها به مدت یک دقیقه، به مدت ۲۴/ساعت در دمای ۳۷ ^{o}C در داخل گرم کننده به صورت معلق در آب جهت یکنواخت پخش کردن حرارت به میکروتیوب قرار داده شد. پس از آن میکروتیوب به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ ^{o}C به صورت معلق در ظرف آب مقطر حرارت داده شد پس از انجام این مراحل نمونه‌ها جهت انجام PCR حاضر می‌باشند.

PCR

به منظور انجام PCR بر روی اگزونهای ۸ -۵ ژن P53(۹۰٪ جهش‌های ژن P_{53} در نئوپلاسم‌های انسانی

www.SID.ir

Archive of SID

دراگزون‌های ۵-۸ صورت می‌گیرند (۵). روش انجام کار به این صورت بود که ابتدا در داخل هر میکروتیوب ۰/۵ میلی‌لیتری، ۲۲ میکرولیتر مخلوط واکنشی master PCR) (mix ریخته و به آن ۱ میکرولیتر از آغازگر رقیق شده forward و reverse مربوط به اگزونهای مورد نظر (اگزون‌های ۵ تا ۸ ژن P53 در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند) اضافه کردیم. سپس ۰/۲ میکرولیتر از آنزیم Taq DNA polymerase را به هر یک از تیوبها افزوده و ۲ میکرولیتر از DNA تخلیص شده ژنومی هر بیمار (حاصل روش استخراج DNA) به مخلوط واکنشی اضافه کرده. لازم به ذکر است که به دلیل حساسیت بالای پرایمرها و Taq DNA polymerase به حرارت، تمامی این مراحل درداخل یخ و در درجه حرارت پائین صورت می‌گیرد و پس از انجام هرکدام از مراحل فوق سانتریفوژ به مدت ۳۰ تا ٦۰ ثانیه صورت پذیرفته در انتها به هر کدام از میکروتیوبها جهت جلوگیری از تبخیر حاصل حرارت بالای ناشی از واکنش PCR دو قطره mineral oil اضافه کردیم. نمونه‌ها سپس تحت سانتریفوژ به مدت ۲ دقیقه قرار گرفتند و در دستگاه PCR یا به عبارتی دستگاه چرخه‌های حرارتی مواد قرار گرفته تا واکنش زنجیره‌ای پلیمراز طبق برنامه داده شده که جهت انجام آن به شکل ۵ سیکل (مرحله واسرشتی DNA به مدت ۲ دقیقه و دمای ^{o}C ۹٤، مرحله اتصال آغازگر به مدت ۱ دقیقه و دمای ^{o}C ۵۸ و مرحله پلیمریزاسیون یا تکثیر DNA به مدت ۱ دقیقه و دمای ^{o}C ۷۲) و پس از آن ۳۰ سیکل (مرحله واسرشتی DNA به مدت ۱ دقیقه و دمای ^{o}C ۹٤، مرحله اتصال آغازگر به مدت ۱ دقیقه و دمای ^{o}C ۵۸ و مرحله تکثیر DNA به مدت ۱ دقیقه و دمای ^{o}C ۷۲) صورت پذیرند. در کلیه آزمایشات از نمونه‌های کنترل مثبت و منفی با استفاده از DNA یک فرد طبیعی جهت کنترل مثبت و نمونه فاقد DNA جهت کنترل منفی استفاده گردید.

الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز

محصول تکثیر شده حاصل واکنش PCR برای تأیید اندازه قطعه مورد نظر و اختصاصی بودن آن روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شدند. بدین منظور ۵ میکرولیتر از محصول PCR را با ۳ میکرولیتر بافر بارگذاری مخلوط کرده و در داخل چاهک‌های ژل قرار دادیم. باید توجه داشت که حتماً در ژل از نشانگر (DNA molecular weight marker) که شاخص تعیین اندازه مولکولی DNA می‌باشد استفاده گردد. سپس دستگاه مولد برق را روی ولتاژ ۹۰ تنظیم کرده و نمونه‌ها را الکتروفورز کردیم. جهت تهیه ژل الکتروفورز از محلول پودر آگارز با TBE با غلظت 5X (PH=8.3) و اتیدیوم بروماید ۳۰ % استفاده گردید. پس از نزدیک به ۲۰ دقیقه که قطعات PCR,DNA شده بر روی ژل حرکت کردند باندهای DNA را با استفاده از نور UV قابل مشاهده بوده و محصول PCR پس از اطمینان از حصول نتیجه دلخواه آن جهت انجام بررسی (Single Strand Conformational Polymorphism) SSCP آماده می‌باشند.

جهت بررسی وجود جهش در ٤۰ نمونه PCR شده بر روی اگزون‌های ۵ -۸ ژن P53 لنف نودهای بیماران مبتلا به هوچکین (سلولهای بدخیم وربد اشترنبرگ)، ٤۰ نمونه را به صورت جداگانه برای هر اگزون خاص روی ژل SSCP برده و آنها را تحت بررسی قرار دادیم. روش کار برای بردن روی ژل SSCP به این شکل بوده است:

قبل از ورود کردن نمونه‌ها، ابتدا باید محصول PCR را با بافر بارگذاری SSCP مخلوط نمائیم. بدین منظور متناسب با شدت انجام PCR (شدت باند مشاهده شده برای هر نمونه)، مقدار μl ۷ -۳ از محصول PCR را با μl ۵ بافر SSCP مخلوط کرده، بعد از یک سانتریفوژ سریع روی هر یک از تیوبها μl ۲۰ روغن معدنی ریخته و نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد واسرشته گردید. نمونه‌های واسرشت شده سریعاً در یخ قرار داده شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد گذاشته شد تا حتی‌الامکان از اتصال مجدد DNAهای تک رشته‌ای به یکدیگر جلوگیری شود.

بستن تانک و قالب‌گیری ژل SSCP

ابتدا شیشه ها، شانه‌ها و فاصله گذارها را با محلول آب گرم و پاک کننده ملایم به خوبی شسته و با آب معمولی خوب آبکشی می‌کنیم. سپس آنها را با آب مقطر شسته و آبکشی کرده و دقت می‌کنیم که لبه‌های شیشه‌ها را بگیریم تا چربی دست به آنها منتقل نشود. در مرحله بعد شیشه‌ها با اتانل آغشته، خشک و نهایتاً به یکدیگر بسته می‌شوند.

www.SID.ir

Archive of SID

در هنگام بستن شیشه‌های ژل باید بسیار دقت نمود، تا بعد از ریختن ژل، این ماده به بیرون از شیشه‌ها نشت نکند. بعد از بستن ژل، محلول ژل را مطابق روش ذکر شده، آماده نموده و به آرامی و به نحوی که حبابی وارد ژل نشود در بین فضای دو شیشه ریخته و سپس شانه را در محل موردنظر قرار میدهیم. بعد از گذشت حدود ٤٥ دقیقه، هنگامی که ژل پلیمریزه شد نشانه را بیرون کشیده و آن را به تانک الکتروفورز بسته و محفظه بالا و پایین تانک را توسط بافر TBE ۰/٦ X پر می‌کنیم چاهک‌های ژل باید توسط بافر TBE ۰/٦ X و سرنگ برای خارج کردن اکریل آمید اضافی به آرامی شسته شوند. سپس رادیاتور آب سرد را بسته و آن را به سیستم آب چرخان وصل می‌کنیم.

وارد کردن نمونه‌های DNA و الکتروفورز

بعداز واسرشت کردن نمونه‌ها، آنها را به داخل چاهک‌های ژل ریخته و کنار آنها یک شاخص وزن مولکولی DNA و یک نمونه غیر واسرشته را نیز وارد چاهکهای ژل کردیم. در این بررسی پس از وارد کردن نمونه‌ها درون ژل و در شرایطی که بافر TBE ۰/٦ X قسمت بالا و پایین ژل را پوشانیده، شروع به الکتروفورز نمودیم. ولتاژ ثابت ۷۰ کیلو ولت و به مدت ۲۰ ساعت در این پژوهش برای الکتروفورز استفاده گردید. در طول این زمان رادیاتور آب سرد دمای ٤درجه سانتیگراد با سطح خارجی ژل در تماس بود تا دمای ژل را یکنواخت نگه دارد. بعد از گذشت زمان مورد نظر و زمانی که گزایلن سیانول به کار گرفته شده در بافر بارگذاری SSCP حدود $\frac{۲}{۳}$ طول ژل را طی کرد، ژل ما آماده رنگ‌آمیزی بود.

روش رنگ آمیزی نیترات نقره

پس از انجام الکتروفورز ژل SSCP آنرا از داخل شیشه‌های تانک باز کرده و به آرامی داخل تشک مخصوص رنگ آمیزی قرار دادیم و در حالیکه تشک مخصوص رنگ آمیزی روی روتاتور به آرامی در حال چرخش است محلولهای اتانل ۱۰ درصد ،اسید استیک ۰/۵ درصد، نیترات نقره ۰/۱ درصد، فرمالدئید ۰/٤ درصد هیدروکلسید سدیم ۱/۵ درصد و بی کربنات سدیم ۰/۷۵ درصد را با آب مقطر دیونیزه مخلوط کرده و پس از حدود ۱۵ دقیقه رنگ آمیزی کامل می- شود. در این هنگام ژل قابل مطالعه است و باتوجه مقایسه نمونه‌های مورد نظر و کنترل طبیعی به ارزیابی باندهای بدست آمده پرداختیم.

www.SID.ir

یافته‌ها

پس از انجام SSCP/PCR ژن P53 (اگزون‌های ۸ -۵) در بیماران مبتلا به هوچکین مورد بررسی در این مطالعه نتایج زیر حاصل گردید:

تعداد (شش) ٦ مورد، shift (جابجایی) در ژل SSCP (۲ مورد در exon ۵، ۱ مورد در exon ٦، ۲ مورد در اگزون (exon) ۷ و یک مورد در اگزون ۸) در ۵ بیمار (۱۲/۵ %) از ٤۰ بیماربه بیماری هوچکین مشاهده گردید.(یکی از این ۵ بیمار در دو اگزون ۷ و ۸ شیفت و جابجایی را در ژلSSCP نشان داده بوده است.)

بحث

آقای Axel Roel و همکاران در سال ۱۹۹۹ در کشور آلمان بر روی ۸ بیمار مبتلا به هوچکین ژن P_{53} را ازنظر وجود جهش در آگزونهای 5-8 مورد بررسی قرار دادند. (۹۰٪ جهش‌های ژن P_{53} در نئوپلاسم‌های انسانی دراگزون های۵-۸ صورت می‌گیرند). آنها برای تشخیص موتاسیون‌های ویژه سلولی رید اشتنبرگ مورد بحث سلول‌های هوچکین – رید اشتنبرگ (H-Rs) را از برش‌های بافتی منجمد (frozen-section) از نمونه‌های بیوپسی بیماران هوچکینی به روش micromanipulation جدا کردند. آگزونهای۸-۵ ژن P_{53} از این سلول‌های منفرد تکثیر و سکانس‌بندی (sequenced) گردید. باتوجه به اینکه ژن P_{53} علاوه بر متوقف کردن سلول‌ها در فاز G_1 سیکل سلولی، آپوپتوزیس را هم می‌تواند القا کند برای دریافتن اینکه غیر فعال شدن پروتئین P53 ممکن است یکی از رویدادهای انکوژنیک باشد که پیش‌سازهای H-RS را به آپوپتوز مقاوم می‌کند، آنها فرکانس‌بندی ژنوم P53 را از H-Rs منفرد ۸ بیمار مبتلا به هوچکین با استفاده از روش ترکیبی micromanipulation و PCR Single آنالیز کردند. موتاسیون‌های P53 در سلول‌های RS هیچکدام از ۸ بیمار

Archive of SID

آنالیز شده یافت نشد. آنها به این نتیجه رسیدند که جهت ژن P53 حتی اگر وجود داشته باشد خیلی به‌ندرت در پاتوژنز بیماری هوچکین دخیل است (۵).

آقای Karnelow و همکاران درسال ۱۹۹٦ در کالیفرنیای آمریکا روی ۲۳ بیمار هوچکین مطالعاتی را با روش PCR و SSCP و DNA sequencing برای جهش در اگزونهای ۸-۵ ژن P53 انجام دادند و هفت جهش در ٦ بیمار یافتند ارتباط واضحی بین وجود جهش P53 و میزان بیان پروتئین P53 که در همه بیماران بیان شده بود، وجود نداشت (۶).

آقای C Zader M و همکاران در سال ۱۹۹٤ در استکهلم سوئد ۱۵ مورد بیماری هوچکین و ۱۲ مورد از بیماران مبتلا به لنفوم Bcell شبیه به هوچکین را ازنظر بیان محصول ژن P53 (با روش ایمونوهیستوشیمی) مورد بررسی قرار دادند. P53 مثبت در سلولهای RS و مشتقات آنها در ٦٤٪ بیماران مبتلا به HD و ۲۵٪ مواردلنفوم Bcell شبیه به هوچکین دیده شد (۷).

آقای Xerril و همکاران در سال ۱۹۹٤ در مارسی فرانسه بروی ٤۹ بیمار مبتلا به هوچکین انجام دادند و براساس آنالیزهای آماری هیچگونه ارتباط قابل توجهی بین P53 مثبت رنگ گرفته(با روش ایمونوهیستوشیمی) و staging کلینیکال، علائم B و احتمال عود و یا بقاء بدون بیماری دیده نشد. نتیجه اینکه بیان P53 یک پدیده شایع در بیماری هوچکین بدون توجه به subtype هیستولوژیک است ولی هیچگونه اثر نامطلوب قابل توجهی ایجاد نکرده است (۸).

آقای Trumper LH و همکاران در ۱۹۹۳ در کانادا روی ۷ بیمار هوچکین با روش RT-PCR بررسی انجام دادند که درنتیجه آن در یکی از بیماران موتاسیون در CDNA، P53 در کدون ۲٤٦ و سکانسهای اگزونهای ۵ تا ۸ دیده شد (۹).

Lauritzen AF و همکارانش در سال ۱۹۹۳ در کشور دانمارک ۵۲ بیمار هوچکینی را ازلحاظ بیان پروتئین P53 مورد بررسی قرار دادند از ۵۲ بیمار هوچکینی، ۳ نفر از آنها nodular lymphocyte predominant، ۳۳ نفر nodular sclerosis و ۱٦ نفر mixed cellularity بودند نتایج کلی آنها نشان داد که پروتئین P53 در سلولهای هوچکین و Reed Sternberg در ۸۲٪ از موارد nodular sclerosis و در ۹٤٪ از موارد mixed cellularity وجود دارد ولی هیچ یک از موارد nodular lymphocytic predominant وجود پروتئین P53 مشاهده نشد. آنها پیشنهاد کردند که موتاسیونهای ژن P53 و ازدست دادن عملکرد طبیعی P53 در بیماری هوچکین شایع است و ممکن است در پاتوژنز این بیماری دخیل باشد (۱۰).

اقایGUPTA RK وهمکاران در سال ۱۹۹۳ در انگلستان نشان دادند که تا ٦۰٪ سلولهایRS با CM-1 یک انتی بادی anti-p53 واکنش می‌دهد.اما آیا این زیاده از حد بیان شدن پروتئین p53 ارتباطی با اختلال DNA هم دارند یا نه چیزی نیست که بشود فقط با ایمنوهیستو شیمی به آن رسید. به همین منظور آنها ٦ بیمار مبتلا به هوچکین را باPCR وSSCP وسپس sequencing مورد بررسی قرار دادند. در یک رده سلولی موتاسیون نقطه ای در اگزونهای ۵و۸ مربوط به p53 مشاهده شد .sequencing نیز این مساله را تایید کرد (۱۱).

همانطور که مشاهده گردید از مجموع ٤۰ بیمار مورد بررسی قرار گرفته در مطالعه ۵ مورد (% ۱۲/۵) جابجایی (شیفت) در ژل SSCP را نشان داده بودند که با احتمال بیش از ۹۵ % می‌توان آنرا جهش ژن P53 در این بیماران به حساب آورد(میزان جهش‌یابی به طور کلی بیش از ۹۵ ٪ می‌باشد (۱۲) و در ۳۵ بیمار (۸۷/۵ ٪) هیچگونه شیفت و بالتبع جهشی مشاهده نگردید. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که جهش ژن P53 در بیماران هوچکین مسأله شایعی نبوده است وچهره و ویژگی مشخصه این بیماری بر خلاف بسیاری از بدخیمی های دیگر نمی باشد. این مسأله که همانطور در بالا دیده شد همراه با نتایج متفاوتی از سایر محققین همراه بوده است و عده‌ای جهش ژن P53 را ناشایع و گروهی دیگر نسبتاً شایع گزارش نموده بودند. هرچند که طبیعتاً برای به قطعیت رساندن این فرضیه لازم خواهد بود که از روشهای بسیار دقیقتری چون انجام Sequencing بر روی تمام نمونه‌ها و یا حداقل نمونه هایی که جابجایی مشکوک و یا قطعی در ژل SSCP دارند استفاده نمود و اگر هدف یافتن تمام جهش‌ها یا مشخص کردن قطعه ای از DNA فاقد جهش باشد نباید از SSCP به عنوان تنها روش جهش یابی استفاده کرد.همچنین این امکان وجود دارد که عده ای از جهشهای ژن P53 در اگزون های دیگر بررسی نشده قرار گرفته باشد هر چند که طبق مطالعات قبلی

www.SID.ir

Archive of SID

صورت گرفته این جهشها بسیار نادر می باشند (۵). از آنجا که فراوانی جهش ژن P53 در بیماران هوچکین زیاد نمی‌باشد، در بیماران هوچکین برخلاف بعضی دیگر از سرطانها از جمله سرطان پستان و کولون که رابطه بین این ژن با بیماری نشان داده شده است، ظهور این ژن را در این بیماری می‌توان اندک دانست.

تقدیر و تشکر

لازم است که قدردانی خود از تمامی بزرگوارانی که به شکلهای گوناگون سهم مهمی در انجام این طرح داشتند داشته باشیم:

دکتر مجید شهابی،دکتر امیررضا صادقی‌فر، آقای سعید هاشمی، آقای دکتر محمدی، دکتر کامران علی مقدم، دکتر احمدرضا شمشیری، آقای دکتر صادقی، دکتر غلامرضا توگه، آقای دکتر صفایی، خانم وزیری،آقای محمدباقر احدپور، کلیه کارمندان انستیتو کانسر، مرکز تحقیقات خون و سرطان بیمارستان شریعتی، کارمندان پاتولوژی‌های بیمارستان آراد، نفت، امام خمینی و درمانگاههای بیمارستانهای نفت و امام خمینی

منابع

1. Wintrob's clinical hematology:William &Wilkins,1999 : 2538,2539,2540.

2. Harrison principle of internal medicin:14th ed.Mc Grow &Hill,1998: 707,708.

3. Sibrand Poppema, et al Immune reaction in classical Hodgkin's lymphoma.Seminar in Hematology.1999. 36 (3): 253-259.

4. Robbin's pathologic basic of disease:6th ed.Saunders,1997: 153,155.

5. Manuel Montesinos-Romgen et al. mutation of the p53 gene is not a typical feature of hodgkin and reed-sternberg cell in hodgkin's disease. Blood. 1999. 94 (5):1755-1759.

6. Karrellow. et al. P53 mutation in Hodgkin's disease. lab Invest :1996. 75 (4) :519-527.

7. C. zader, M. et al. DNA content and expression of PCNA and P53 in hodgkin and Hodgkin's like B cell lymphoma .APMIS .1994.102(11):865-73.

8. Xerri, L. et al. expression of the P53 gene in Hodgkin's disease. dissociation between immunohistochemistry and clinicopathological data .Hum pathol .1994. 25 (5):245-263.

9. Trumper, LH. et al. Single cell analysis of hodgkin and Reed Sternberg. Blood. 1993. 81(11) : 3097-115.

10. Lauritzen, AF. et al. P53 protein expression in Hodgkin's disease .APMIS .1993. 101 (9): 33-38.

11. Gupta, PK. et al. P53 expression in Reed Sternberg cells of Hodgkin's disease .Leukemia .1993. 7(31)-3:531-533.

12. Supple Pasman ,PC. et al. P53 as a marker of the malignant cell in HD .Ann Oncol .1994. (5): 89-91.

www.SID.ir