بررسی جهش‌های اگزون‌های ۸ و ۱۷ ژن C-KIT در مبتلایان به لوسمی میلوئیدی حاد در ایران

***دکتر فرهاد ذاکر** I

محمد محمدزاده II

دکتر مهناز آقائی‌پور III

دکتر قاسم رستگار لاری IV

چکیده

زمینه و هدف: جهش در ژن C-KIT منجر به تکثیر بدون کنترل سلولهای لوسمیک شده و یک پیش‌آگهی بد را به همراه دارد. وجود حذف و اضافه شدن(deletion and insertion) اگزون ۸ که پنجمین دومن ایمونوگلوبولینی C-KIT را کد می‌کند و همچنین جهش نقطه‌ای(Point mutation) در اگزون ۱۷ که ناحیه تیروزین کینازی C-KIT را کد می‌کند، در لوسمی حاد میلوئیدی مورد اهمیت قرار دارند. هدف از این مطالعه، اجرائی کردن آزمایشات مولکولار برای تشخیص و غربالگری این جهش‌ها در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد بود.

روش بررسی: ۲۱۲ بیمار مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد از نظر جهش در ژن C-KIT مورد مطالعه مشاهده‌ای توصیفی قرار گرفتند و درصد بروز جهش گزارش شد. جهش اگزون ۸ در ژن C-KIT با انجام PCR(polymerase chain reaction) و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده انجام شد و بعد از حرکت باند حاصل از PCR روی ژل CSGE، وجود جهش بر روی این ژن بررسی گردید. در مورد جهش نقطه‌ای در اگزون ۱۷، ژن C-KIT، بعد از PCR روی DNA ژنومیک این بیماران، محصولات بیماران PCR شده با استفاده از آنزیم محدودالاثر ArtII و تکنیک RFLP مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها: جهش اگزون ۸ در ۱/۴٪ مبتلایان به لوسمی میلوئیدی حاد مورد مطالعه، مشاهده گردید که برای زیر گروه‌های مختلف، این نتایج متفاوت بود. همچنین ۴/۷٪ از بیماران مورد مطالعه هم، جهش نقطه‌ای D816 در اگزون ۱۷ را داشتند که توزیع آنها در زیر گروه‌های لوسمی میلوئیدی حاد یکسان نبود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که جهش‌های ژن C-KIT، درصد قابل توجهی از بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد(زیر گروه‌های M2، M4) در ایران را شامل می‌شود که می‌توان با تشخیص مولکولی این جهش‌ها، در مورد پروتکل درمانی صحیح تصمیم گرفت.

کلیدواژه‌ها: ۱ – لوسمی میلوئیدی حاد ۲ – موتاسیون‌های سی ـ کیت ۳ – واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ۴– پلی‌مورفیسم محدود طولی قطعات

مقدمه

پروتئین C-KIT، پذیرنده فاکتور سلول بنیادی (stem cell factor-Receptor = SCF-R) می‌باشد که توزیع وسیعی بر روی سلولهای پیش‌ساز خونسازی، ماست‌سل‌ها، ملانوسیت‌ها، سلولهای زایا و سلولهای پیش‌ساز دستگاه گوارش و نیز سایر بافتها دارد.

C-KIT گلیکوپروتئینی با ۱۴۵ کیلودالتون وزن، جزء خانواده III رسپتورهای تیروزین کیناز بوده و همانند سایر اعضای این خانواده دارای ۳ بخش مشخص است که شامل ۵ قطعه شبیه ایمونوگلوبولین در خارج سلول، قطعه کوتاه خلال غشایی و دومن سیتوپلاسمی با فعالیت تیروزین کینازی می‌باشد.[۱-۳] ژن C-KIT در بازوی بلند کروموزوم ۴، ناحیه ۱ و باندهای ۲ و ۱(4q11-q12) انسانی و در کروموزوم ۵ موشی قرار گرفته است. این ژن دارای ۲۱ اگزون و از بزرگ‌ترین ژنهای موجود در ژنوم انسان می‌باشد.[۴و ۵]

I) دانشیار و PhD هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران(*مؤلف مسؤول).

II) کارشناس ارشد هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران.

III) استادیار و متخصص پاتولوژی، سازمان انتقال خون ایران، تهران، ایران.

IV) استادیار و PhD هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-16]

SCF با اتصال به C-KIT موجب فعال شدن C-KIT و پیامدهی در جهت تکثیر سلولی می‌شود ولی در لوسمی حاد میلوئیدی (AML=Acute myeloid leukemia) به دو صورت عامل پیامدهی برای تکثیر بیش از حد می‌گردد: اول اینکه در AML و بویژه در نوع M2 و M4، جهش در ASP816 (در اگزون ۱۷) و یا ASP419(در اگزون ۸) C-KIT رخ داده و باعث فعال شدن خودبخودی C-KIT می‌گردد و دومین حالت ناشی از بروز سطحی زیاد (Overexpression) C-KIT در AML است که C-KIT در ۹۰-۸۰٪ از بلاست‌ها بروز می‌یابد[۶ و ۷] و به دلیل حضور فراوان فاکتور سلول بنیادی بر سطح سلولهای استرومال مغز استخوان، موجب فعال شدن C-KITها و تکثیر سلولی بیش از حد می‌شود.[۸]

امروزه مهار کننده‌های تیروزین کینازی فراوانی ساخته شده‌اند که از این میان تنها imatinib توانسته است مجوز استفاده بالینی را بگیرد[۹] ولی نکته مهم این است که از میان جهش‌های درگیر کننده C-KIT، جهش اگزون ۱۷ مقاوم به imatinib است[۱۰] هر چند که مهار کننده دیگری بنام PKC412 توانسته است جهش‌های اگزون ۱۷ را مهار نماید ولی هنوز استفاده بالینی ندارد.[۱۰] بطور کلی درمان کانسرها با داروی واحد، منجر به مقاومت می‌گردد[۱۱] و از طرفی تحقیقات نشان می‌دهد که جهش اگزون ۸ C-KIT موجب افزایش میزان عود(relapse rate) در افراد مبتلا به AML می‌شود[۱۲] که در صورت جهش C-KIT، باید هر چه سریع‌تر از مهارکننده‌های آن(در کنار داروهای دیگر برای سایر عوامل) استفاده کرد. زیر گروه‌های AML شامل M2 و M4 دارای پروگنوز مطلوبی هستند[۱۳] ولی در اثر جهش‌های ۸۱۶ و یا اگزون ۸ C-KIT پروگنوز نامطلوب خواهد شد؛ لذا تعیین پروگنوز، از کاربردهای تعیین این دو موتاسیون خواهد بود.[۱۴]

با توجه به گفته‌های فوق و اینکه تا کنون مطالعه‌ای بر روی این جهش‌ها در بیماران مبتلا به AML در ایران انجام نشده است، هدف از انجام این مطالعه طراحی روشهایی برای غربالگری جهش‌های فعالسازی C-KIT و اجرائی کردن روشهای تشخیص مولکولار این جهش‌ها و بررسی فراوانی بروز آنها در میان افراد مبتلا به AML در زیر گروه‌های مختلف FAB(French American British) بود.

روش بررسی

نمونه‌های خونی تعداد ۲۵۰ نفر از مبتلایان بزرگسال به لوسمی میلوئیدی حاد با زیرگروه‌های مختلف طبقه‌بندی FAB، از بخش خون بیمارستان‌های دکتر شریعتی و مرکز فلوسیتومتری سازمان انتقال خون تهیه شد تا جهت تخلیص DNA و بررسی‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرد. تشخیص این لوسمی‌ها براساس مورفولوژی، سیتوشیمیایی و نیز فلوسیتومتری توسط متخصصین آزمایشگاه‌ها تأیید شده بود. نوع مطالعه مشاهده‌ای توصیفی بود و درصد بروز جهش گزارش شد. جهت استخراج، از روش پروتئیناز K و فنل استفاده شد.[۱۵] لوله‌های حاوی خون تا زمان تخلیص DNA در فریزر نگهداری شدند.

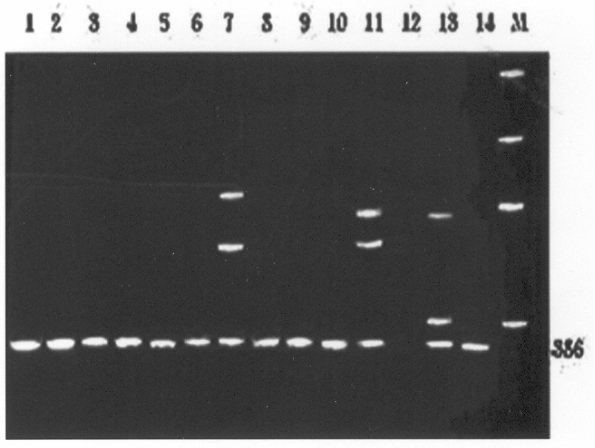
از میان این نمونه‌ها، ۲۱۲ نمونه که دارای OD(Optical density) مناسب جهت PCR بودند، انتخاب شدند. برای تشخیص جهش در اگزون ۸، از روش غربالگری CSGE (conformational sensitive Gel electrophoresis) استفاده شد.[۱۶] به این ترتیب که ابتدا با استفاده از پرایمرهای مستقیم، '5'-TTC TGC CCT TTG AAC TTG CT-3 و معکوس، '5'-AAA CTA GAA GCC ACA TGG AAA-3 برنامه PCR بصورت زیر انجام شد؛ دناچوراسیون initial یک دوره به مدت ۵ دقیقه در حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد و ۳۵ سیکل تکراری که هر سیکل شامل (دناچوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، annealing به مدت ۱ دقیقه در ۵۸ درجه سانتی‌گراد و elongation به مدت ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و نهایتاً Final elongation به مدت ۶ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. محصولات PCR حاصله تا دمای ۹۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شدند تا دناتوره گردند و سپس با کاهش دما به ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، در صورت وجود جهش، هترودوبلکس‌ها تشکیل شدند. سپس محصولات در ژل ۱۰٪ CSGE شامل ۹۹ به ۱ از اکریلامید به(fluka) BAP (biscaryloylpiperazine) ۱۰٪ اتیلن گلیکول(sigma)، ۱۵٪ فرمامایید(fluka) و ۰/۵X از بافر TTE(Tris Taurine EDTA) (۱X TTE= ۸۹ میلی‌مولار تریس، ۲۸/۵ میلی‌مولار تورین و ۰/۲ میلی‌مولار EDTA)، الکتروفورز در مرحله بعد با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-16]

شدند و نتایج عکسبرداری شد. در مورد جهش نقطه‌ای D816 با استفاده از پرایمرهای مستقیم 5'-TGT ATT CAC AGA GAC TTG GCA-3' و معکوس 5'-TAA TTA GAA TCA TTC TTG ACG-3' برنامه PCR بصورت زیر انجام شد؛ دناچوراسیون initial یک دوره به مدت ۴ دقیقه در حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد و سی‌وپنج سیکل تکراری که هر سیکل شامل(دناچوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، annealing به مدت ۳۰ ثانیه در ۴۵ درجه سانتی‌گراد و elongation به مدت ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و نهایتاً final elongation به مدت ۶ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس برای یافتن جهش نقطه‌ای D816 براساس تکنیک RFLP(Restriction fragment length polymorphysm) و با استفاده از آنزیم AaTII(Biolabs) محصول PCR به مدت ۱۶ ساعت در انکوباتور، گذاشته و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد.[۱۸] پس از رنگ‌آمیزی در اتیدیوم برماید و سپس شستشو با آب مقطر، وضعیت ژل بررسی شد و نمونه‌ها، مورد مطالعه و عکسبرداری قرار داده شدند.

یافته‌ها

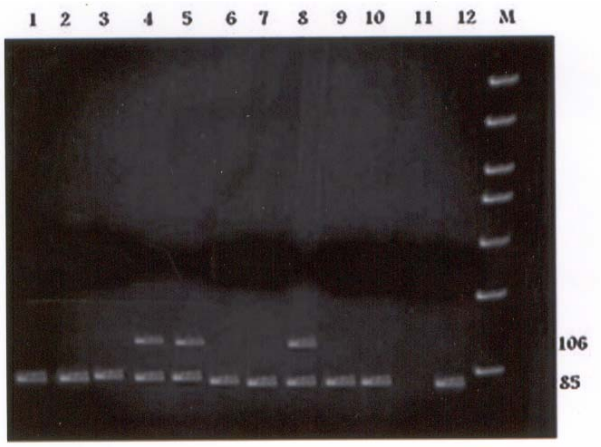
از ۲۱۲ بیمار مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد مورد بررسی در این مطالعه، ۳ بیمار جهش در اگزون ۸ داشتند. در روش CSGE، جفت شدن قطعات مختلف با یکدیگر و ایجاد حباب بین ۲ رشته در ناحیه دارای جهش، موجب حرکت متفاوت قطعات و ایجاد باندهایی متعدد می‌شود که شرایط دناتوره کننده ژل CSGE نیز به این حرکت متفاوت کمک می‌کند. به همین دلیل همانطوری که در شکل شماره ۱ دیده می‌شود، در ردیفهای ۷، ۱۱و ۱۳ به ترتیب مربوط به بیماران M4، M2 و M4، ۳ باند متفاوت دیده می‌شود ولی در سایر ردیف‌ها که اگزون ۸، از نوع وحشی است تنها یک باند اصلی را می‌توان یافت. صحت اندازه این باند اصلی(۳۸۶ جفت‌باز) در مقایسه با مارکر(M) آشکار می‌شود. ردیف ۱۲ مربوط به کنترل منفی است که فاقد DNA بوده و لذا هیچ باندی دیده نمی‌شود.



شکل شماره ۱– مشاهده جهش اگزون ۸ در ژن C-KIT در ژل CSGE در زیر گروه‌های مختلف بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد؛ بیماران در ردیف‌های ۷، ۱۱و ۱۳ دارای جهش هتروزیگوت هستند.

از ۲۱۲ بیمار مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد مورد بررسی در این مطالعه، ۱۰ نفر جهش نقطه‌ای D816 داشتند. آنزیم Aat II توالی '5...GACGTC...3' را شناسایی می‌کند که در نوع وحشی C-KIT حضور داشته و لذا محصول ۱۰۶ جفت بازی در اثر آنزیم Aat II، به ۲ قطعه ۸۵ و ۲۱ جفت باز شکسته می‌شود. ولی در صورت جهش در D816 قطعه مربوط شکسته نشده و به اندازه ۱۰۶ جفت باز باقی می‌ماند. شکل شماره ۲ نمونه‌ای از اشکال ژلهای بررسی جهش D816 می‌باشد؛ در این شکل ردیف‌های ۱، ۲، ۳، ۶، ۷، ۹، ۱۰و ۱۲ مربوط به بیماران فاقد جهش D816 می‌باشند که در مقایسه با مارکر، باند ۸۵ جفت‌بازی دیده می‌شود و باند ۲۱ جفت بازی نیز از ژل خارج شده است و حضور باند ۸۵ جفت بازی بطور ضمنی بیانگر حضور باند ۲۱ جفت‌بازی نیز می‌باشد. ردیف ۱۱ مربوط به کنترل منفی است که فاقد DNA بوده و لذا هیچ باندی دیده نمی‌شود. در ردیفهای ۴، ۵و ۸، جهش در D816 رخ داده و لذا در اثر تغییر توالی ناحیه شکست آنزیم، قطعه ۱۰۶ جفت‌بازی شکسته نشده و دیده می‌شود. حضور باند ۸۵ جفت‌بازی، دلیل حضور کلون‌های نرمال و یا هتروزیگوت بودن است که در این بیماران رخ می‌دهند.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-16]



شکل شماره ۲- مشاهده جهش D816 در ژن C-KIT در زیرگروه‌های مختلف بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد؛ بیماران در ردیف‌های ۴، ۵و ۸ دارای جهش هستند.

بطور کلی همانطور که در جدول شماره ۱ دیده می‌شود، از ۲۱۲ بیمار مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد مورد بررسی در این مطالعه، ۳ بیمار(۱/۴٪) جهش اگزون ۸ و تعداد ۱۰ بیمار(۴/۷٪) جهش نقطه‌ای D816 در ژن C-KIT داشتند که در جدول زیر توزیع این جهش‌ها در زیر گروه‌های مختلف طبقه‌بندی FAB مشخص می‌باشد.

جدول شماره ۱- توزیع جهش‌های C-KIT در لوسمی میلوئیدی حاد

نوع FAB	جهش D816	جهش اگزون ۸	مجموع جهش در C-KIT	حجم نمونه
M0	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۶
M1	۱(٪۳/۷)	۰(٪۰)	۱(٪۳/۷)	۲۷
M2	۸(٪۹/۸)	۱(٪۱/۲)	۸(٪۹/۸)	۸۱
M3	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۲۵
M4	۱(٪۱/۸)	۲(٪۳/۷)	۳(٪۵/۵)	۵۴
M5	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۱۲
M6	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۶
M7	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۱
TOTAL	۱۰(٪۴/۷)	۳(٪۱/۴)	۱۲(٪۵/۶)	۲۱۲

همانطوری که در جدول مذکور مشاهده می‌شود، یکی از نمونه‌های M2 همزمان جهش در اگزون ۸ و D816 داشت.

بحث

در این مطالعه ۲۱۲ فرد مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد، برای یافتن میزان بروز جهش اگزون ۸ و جهش نقطه‌ای اگزون ۱۷، D816 ژن C-KIT مورد مطالعه قرار گرفتند. در بیماران مورد مطالعه، جهش اگزون ۸ در ۱/۲٪ از موارد M2 و ۳/۷٪ از موارد M4 و در ۱/۴٪(۳ مورد) از کل موارد لوسمی میلوئیدی حاد رخ داده است. این جهش باعث حذف و اضافه شدن نوکلئوتید در ژن می‌شود که تمایل رسپتور مربوطه به پلیمریزاسیون بیش‌تر می‌گردد.[۱۹]

جهش دیگر در این مطالعه جهش D816 اگزون ۱۷ ژن C-KIT بود که بیش‌ترین جهش از نظر فراوانی است که در ژن C-KIT اتفاق می‌افتد. این جهش یک جهش نقطه‌ای است که در آن اسید آمینه اسید آسپارتیک در موقعیت ۸۱۶(D816) با اسید آمینه‌های دیگری از قبیل تیروزین، والین و... جایگزین می‌شود که این استخلاف منجر به ایجاد لوپ فعال‌سازی (activation Loop) می‌گردد.[۲۰و ۲۱]

از ۲۱۲ بیمار مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد مورد مطالعه، جهش D816 در ۳/۷٪ از موارد M1، ۹/۸٪ از موارد M2 و ۱/۸٪ از موارد M4 و در ۴/۷٪(۱۰ مورد) از کل موارد مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد رخ داده بود، در حالی که در مطالعه‌ای توسط Schnittger و همکاران درصد وقوع این جهش به ترتیب ۰/۹٪، ۳/۱٪، ۱/۸٪ و ۱/۷٪ بوده است.[۲۲] در مطالعات دیگر، بیش‌ترین شیوع موتاسیون‌های C-KIT در لوسمی‌های AML تایپ‌های M2 و M4 مرتبط با ترانسلوکاسیون‌های t(8;21) و inv(16) گزارش شده است که مطالعه حاضر هم مؤید آن می‌باشد.[۱۲، ۲۳و ۲۴] ضمناً در مطالعه حاضر جهش D816 در موارد M2 و M1، بیش‌تر از متوسط گزارش شده تاکنون می‌باشد. همانطوری که در مطالعات دیگر هم ذکر شده است، زمینه قومی متفاوت می‌تواند دلیل محکم بر این تفاوت‌ها باشد.[۲۲] البته باید افزود که تمامی موارد مثبت جهش‌ها در این مطالعه چند بار تکرار شده‌اند و به این ترتیب احتمال اشکالات تکنیکی و موارد مثبت کاذب فوق‌العاده پایین آمده‌اند. هر چند مطالعه دقیقی در مورد پروگنوز، WBC و بلاست‌های خون محیطی و میزان پاسخ به دارو در لوسمی‌های ایران در دست نیست ولی شواهد حاکی از نامطلوب بودن پروگنوز، زیادی عود و کاهش بقاء در لوسمی‌های ایران می‌باشد که بخشی از آن

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-16]

احتمالاً مرتبط با موتاسیون‌های C-KIT است. نهایتاً، چون یک بیمار M2 همزمان جهش اگزون ۸ و D816 را داشت؛ لذا تعداد ۱۲ نفر از ۲۱۲ بیمار(۵/۶٪) جهش در C-KIT را داشتند که در گزارشات متفاوت، جهش‌های C-KIT در بیماران مبتلا به AML تا ۵٪ تعیین شده است.[۶و ۲۵]

از محدودیت‌های این مطالعه، تکنیک CSGE بود که برای غربالگری موتاسیون‌ها بکار می‌رود و حساسیت آن ۹۰٪ می‌باشد؛ لذا در صورت نیاز به مطالعات تکمیلی، روشهای دیگری هم مورد نیاز است که انجام آنها به یک مطالعه جامع‌تری نیازمند می‌باشد.

نتیجه‌گیری

جهش‌های C-KIT در درصد قابل توجهی از زیرگروه‌های M2 و M4 از بیماران مبتلا به AML مثبت می‌باشد و به پزشکان پیشنهاد می‌شود حداقل در مورد تایپ‌های M2 و M4، موتاسیون‌های فوق بررسی شوند و با توجه به پروگنوز بد این جهش‌ها و مقاومت داروئی، پیگیری و درمان مناسب صورت گیرد.

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران در قالب طرح تحقیقاتی(شماره ثبت: ۶۰۴) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین آن مرکز و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران به جهت انجام آزمایشات و سازمان انتقال خون ایران و بیمارستان شریعتی به جهت تأمین نمونه‌های لازم، ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

1- Broudy VC. Sterm Cell Factor and Hematopoiesis. Blood 1997; 90: 1345-64.

2- Akin C, Metcalfe DD. The biology of Kit in disease and the application of pharmacogenetics. J Allerg Clinic Immun 2004; 114(1): 13-19.

3- Gari Goodeve A, Wilson G, Winship P, Langabeer S, Linch D, et al. C-KIT proto-oncogene exon 8 in-frame deletion plus insertion mutations in acute myeloid leukaemia. Br J Haematol 1999; 105: 894-900.

4- Spritz RA, Giebel LB, Holmes SA. Dominant negative and loss of function mutations of the c-kit (mast/sterm cell growth factor receptor) proto-oncogene in human piebaldism. Am J Hum Genet 1992; 50(2): 261-9.

5- Ogawa M, Matsuzaki Y, Nishikawa S, Hayashi SI, Kunisada T, Sudo T, et al. Expression and Function of c-kit in Hemopoietic Progenitor Cells. J Exp Med 1991; 174: 63-71.

6- Beghini AP, Peterlongo CB, Ripamonti L, Larizza R, Cairoli E. C-kit mutation in core binding factor leukemias. Blood 2000; 95: 726-7.

7- Pardanani A, Tefferi A. Imatinib targets other than bcr/abland their clinical relevance in myeloid disorders. Blood 2004; 104: 1931-8.

8- Adleigh M, DeAngelo DJ, Griffin JD, Stone RM. After chronic myelogenous leukemia: tyrosinekinase inhibitors in other hematologic malignancies. Blood 2005; 105: 22-28.

9- Fabbro D, Ruetz S, Buchdunger E, Cowan-Jacob SW, Fendrich G, Liebetanz J, et al. Protein kinases as targets for anticancer agents: from inhibitors to useful drugs. Pharm Therap 2003; 93: 79-98.

10- Frost MJ, Ferrao PT, Hughes TP, Ashman LK. Juxtamembrane mutant V560G kit is more sensitive to imatinib(STI571) compared with wild-type c-kit whereas the kinase domain mutant D816V kit is resistant. Mol Cancer Therap 2002; 1: 1115-24.

11- Sattler M, Salgia R. Targeting c-kit mutation: basic science to novel therapies. Leuk Res 2004; 28sl: sll-s20.

12- Care RS, Salgia R. Incidence and prognosis of c-kit and Flt-3 mutation in CBF leukemias. Br J Haematol 2003; 121: 775-7.

13- Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al. Hematology basic principles and practice. 4 th ed. Elsevier: Churchill Livingstone; 2005. p. 1059-61 and 1086-91.

14- Reilly JT. Receptor tyrosine kinases normal and malignant haematopoiesis. Blood Rev 2003; 17: 241-8.

15- Sambrook J, Russell D. Molecular cloning, a laboratory manual. 3 th ed. New York: Cold spring harbor laboratory press; 2001. p. 64-8.

16- Ganguly A, Rock MJ, Prockop DJ. Conformation-sensitive gel electrophoresis for rapid detection of single-base differences in double-stranded PCR products and DNA fragments: Evidence for solvent-induced bends in DNA heteroduplexes. Proc Natl Acad Sci 1992; 90: 10325-9.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-16]

17- Rapley EA, Hockley S, Warren W, Johnson L, Huddart R, Crockford G, et al. Somatic mutations of KIT in familial testicular germ cell tumours. Br J Cancer 2004; 90: 2397-401.

18- Looijenga LHJ, Leeuw H, Oorschot MV, VanGurp R, Stoop H, Gillis AJM, et al. Sterm Cell Factor Receptor(c-KIT) codon 816 Mutations Predict development of bilateral testicular germ-cell tumore. Cancer Res 2003; 63: 7674-8.

19- Kohl TM, Schnittger S, Ellwart JW, Hiddemann W, Spiekermann K. KIT exon 8 mutations associated with core-binding factor(CBF)-acute myeloid leukemia(AML) cause hyperactivation of the receptor in response to stem cell factor. Blood 2005; 105: 3319-21.

20- Hashimoto K, Matsumura I, Tsujimura T, Kim DK, Ogihara H, Ikeda, et al. H.Necessity of tyrosine 719 and phosphatidylinositol 3'-kinase-mediated signal pathway in constitutive activation and oncogenic potential of c-kit receptor tyrosine kinase with the Asp 814 Val mutation. Blood 2003; 101: 1094-102.

21- Roskoski R. Structure and regulation of Kit protein-tyrosine kinase- The stem cell factor receptor. Bioch Bioph Res Commun 2005; 2128: 1307-15.

22- Schnittger S, Kohl TM, Haferlach T, Kern W, Hiddemann W, Spiekermann K, et al. KIT-D816 mutations in AML1-ETO-positive AML are associated with impaired event-free and overall survival. Blood 2006; 107(5): 1791-9.

23- Cairoli R, Beghini A, Grillo G, Nadali G, Elice F, Ripamonti CB, et al. Prognostic impact of c-KIT mutations in core binding factor leukemias. An Italian retrospective study. Blood 2006; 107: 3463-8.

24- Goeman BF, Zwaan CM, Miller M, Zimmermann M, Harlow A, Meshinchi S, et al. Mutations in KIT and RAS are frequenct events in pediatric core-binding factor acute myeloid leukemia. Leukemia 2005; 19: 1536-42.

25- Mrzek K, Bloomfield CD. Chromsome abberations gene mutations and expression changes and prognosis in adult AML. Hematology 2006; First edition: 169-177.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-16]

Study of Mutations in c-kit Exons 8&17 in Iranian Patients with Acute Myeloid Leukemia

F.Zaker, PhD [I] ***M.Mohammadzadeh,MSc*** [II] ***M.Aghaeepoor,MD*** [III]
Gh.Rastegar Lari, PhD [IV]

Abstract

Background & Aim: Mutations in c-kit gene cause autonomously proliferation of leukemic cells with an unfavorable prognosis.These mutations including exon 8 deletion and insertion in the fifth extracellular Ig-like domain and exon 17 point mutation in tyrosine kinase domain of c-kit receptors are important in acute myeloid leukemia. The aim of this study was to set up molecular diagnosis and screening of these mutations in AML patients.

Patients and Method: This observational descriptive study of mutations in c-kit receptors was done on 212 patients with AML. Exon 8 mutations were analyzed by PCR method with specific primers.Then, PCR products were run in 10% CSGE and the results were documented. We also studied exon 17 point mutations with RFLP technique and using AatII enzyme on PCR products of these patients.

Results: Exon 8 mutations were seen in 1.4% of AML patients; though, the results were different in different subtypes. Also, 4.7% of the patients showed D816 (exon 17) mutations with different findings in the subtypes of AML .

Conclusion: This study revealed that c-kit mutations constitute a significant percentage of AML (M2&M4 subtypes) cases in Iran. Thus, molecular diagnosis of these mutations could help to select a better treatment.

Key Words: **1)AML(Acute Myeloid Leukemia)** **2)C-Kit Mutations** **3)PCR (Polymerase Chain Reaction)** **4)RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)**

I) *Associate Professor of Hematology. Faculty of Paramedical Sciences. Cellular and Molecular Research Center. Shahid Hemmat Expressway. Shahid Chamran Crossroads. Iran University of Medical Sciences and Health Services .Tehran, Iran. (* Corresponding Author)*
II) *MSc in Hematology. Faculty of Paramedical Sciences. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*
III) *Assistant Professor of Pathology. Iran Blood Transfusion Organization. Tehran, Iran.*
IV) *Assistant Professor of Hematology. Faculty of Paramedical Sciences. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-16]