

مطالعه ارتباط لوسمی حاد لنفوئیدی و پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه ۳۰۹ (SNP309) پروموتور ژن MDM2 در بیماران مبتلا به ALL در استان خوزستان

محمد محمدی^{۱*}، الهام رستمی^۲، شهرام باقری^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۷/۰۵/۲۷ تاریخ پذیرش ۱۳۹۷/۰۸/۰۳

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: لوسمی نوعی بدخیمی بافت خون‌ساز بدن است که با تکثیر و تکامل ناقص سلول‌های سفید خون همراه می‌باشد. در لوسمی حاد لنفوئیدی (ALL) تعداد زیادی از لنفوسیت‌ها که هنوز به‌طور کامل تکامل نیافته‌اند، دچار اختلال شده و به‌طور فزاینده‌ای در خون محیطی و مغز استخوان یافت می‌شوند. MDM2 پروتئین‌کوژنی با فعالیت E3 یوبی کوئیتین لیگازی، تنظیم‌کننده منفی P53 می‌باشد. پلی مورفیسم در جایگاه ۳۰۹ پروموتور ژن MDM2 شناخته‌شده‌ترین پلی مورفیسم این ژن می‌باشد که جایگزینی نوکلئوتید T توسط G در این جایگاه منجر به افزایش بیان ژن MDM2 می‌شود. افزایش سطح پروتئین MDM2 باعث کاهش فعالیت پروتئین P53 می‌شود که نتیجه آن می‌تواند ایجاد سرطان باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط فراوانی جهش تک نوکلئوتیدی جایگاه ۳۰۹ در پروموتور ژن MDM2 و سرطان ALL در بیماران مبتلا به ALL در استان خوزستان می‌باشد.

مواد و روش کار: در مطالعه حاضر پلی مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 با استفاده از روش‌های PCR-RFLP و تعیین توالی در ۱۱۵ نمونه خون از بیماران مبتلا به ALL و ۱۱۵ نمونه خون افراد سالم در استان خوزستان مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که از نظر آماری همراهی معناداری میان پلی مورفیسم ۳۰۹ ژن MDM2 و گروه بیماران ALL وجود دارد. فراوانی ژنوتیپ‌های TT، TG و GG در این مطالعه در گروه بیمار به ترتیب ۱۰ درصد، ۴۲ درصد و ۴۸ درصد در گروه کنترل ۶۳ درصد، ۲۲ درصد و ۱۵ درصد به دست آمد. با توجه به P-value ارائه‌شده برای هر سه ژنوتیپ ($P=0/001$)، توزیع ژنوتیپی این پلی مورفیسم با بیماری ALL همراهی معنی‌دار نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری: پژوهش حاضر نشان می‌دهد که پلی مورفیسم پروموتور ژن MDM2 در جایگاه ۳۰۹ به‌تنهایی همراهی قابل‌استنادی با ابتلا به لوسمی حاد میلوئیدی در جمعیت استان خوزستان دارد.

کلیدواژه‌ها: لوسمی حاد لنفوئیدی، پلی مورفیسم، MDM2، P53

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و نهم، شماره نهم، ص ۶۸۶-۶۷۹، آذر ۱۳۹۷

آدرس مکاتبه: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز - دانشکده علوم - گروه زیست‌شناسی، تلفن: ۰۶۱۳۳۳۳۱۰۴۵

Email: Mohamadi74@yahoo.com

مقدمه

می‌کنند و باعث اختلال در تولید گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها می‌شوند. در اثر انباشته شدن این سلول‌های سرطانی در خارج از مغزاستخوان توده‌هایی در اندام‌های حیاتی بدن تشکیل شده که باعث نارسایی در عملکرد این اندام‌ها می‌شوند (۲). لوسمی بر اساس ویژگی سرعت پیشرفت بیماری به لوسمی حاد (Acute Leukemia) و لوسمی مزمن (Chronic leukemia) و بر اساس سلول‌های درگیر به دو گروه لنفوئیدی و میلوئیدی تقسیم می‌گردد (۳). بنابراین چهار نوع لوسمی، شامل لوسمی حاد

لوسمی نوعی بیماری پیش‌رونده و بدخیم اعضای خون‌ساز بدن است که با تکثیر و تکامل ناقص سلول‌های سفید خون و پیش‌سازهای آن در خون و مغز استخوان ایجاد می‌شود. این بیماری به‌طور معمول در سلول‌های سفید خون آغاز می‌شود و فرایند تکثیر، خون‌سازی و ایمنی طبیعی بدن را مختل می‌کند (۱). در لوسمی، مغزاستخوان تعداد زیادی گلبول سفید غیرعادی تولید می‌کند که این سلول‌های غیرعادی از تولید گلبول‌های سفید طبیعی جلوگیری

۱. استادیار بیوشیمی بالینی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران (نویسنده مسئول)

۲. دانشجو کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳. استادیار پاتولوژی، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

پلی‌مورفیسم جایگاه ۳۰۹ در پروموتور اینترونیک P2 ژن MDM2 شناخته‌شده‌ترین پلی‌مورفیسم این ژن است (۱۰). P53 برای فعال‌سازی رونویسی MDM2 از این ناحیه استفاده می‌کند (۱۱). در جایگاه ۳۰۹ جایگزینی نوکلئوتید T توسط نوکلئوتید G اتفاق می‌افتد که نتیجه این جایگزینی افزایش تمایل اتصال پروتئین تحریکی ۱ (SP1) (Stimulatory protein 1) به منطقه پروموتور دوم و افزایش بیان سطح پروتئین MDM2 می‌باشد. پروتئین MDM2 از طریق مسیر تجزیه، باعث کاهش فعالیت پروتئین P53، و در نتیجه موجب تسریع در تشکیل تومور و کاهش سن ابتلا به سرطان می‌شود (۱۲، ۱۳).

جایگزینی نوکلئوتید T توسط G در جایگاه ۳۰۹ منجر به تغییر در میزان بیان MDM2 می‌شود به طوری که در افراد دارای ژنوتیپ TT سطح بیان نرمال، در افراد با ژنوتیپ TG بیان افزایش می‌یابد و در حالت GG افزایش بیان شدیدتر می‌گردد. عملکرد پروتئین MDM2 مهار پروتئین P53 می‌باشد. در حالت معمول مقدار پروتئین P53 در سلول‌هایی که دچار آسیب می‌شوند افزایش می‌یابد که در صورت وجود آلل G در جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و افزایش مقدار پروتئین MDM2 مقدار پروتئین P53 کاهش می‌یابد که نتیجه آن عدم ترمیم آسیب سلولی می‌باشد (۱۴).

در مطالعه حاضر نقش حالت‌های مختلف جایگاه پلی‌مورفیسم ۳۰۹ در بیماران مبتلا به لوسمی حاد لنفوتیدی در استان خوزستان مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

پس از اخذ مجوز نمونه‌گیری و کد اخلاق به شماره IR.AJUMS.REC.1395.201 از دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز و تکمیل فرم رضایت‌نامه از بیمار، نمونه‌گیری از بیماران بیمارستان شفا اهواز بدون توجه به قومیت یا بومی بودن انجام شد. از نمونه خون ۱۱۵ نفر از بیماران مبتلا به ALL و ۱۱۵ نفر از افراد سالم بدون سابقه ALL با محدوده سنی ۱۰ تا ۷۰ سال و متوسط سنی ۳۸ سال DNA استخراج شد. استخراج DNA از ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه خون با روش Salting out انجام شد (۱۵). کیفیت DNA استخراج‌شده با کمک ژل الکتروفورز مشخص و غلظت آن با استفاده از نانودراپ اندازه‌گیری شد. سپس به کمک پرایمرهای رفت (-5') و برگشت (3'-GCGGGAGTTCAGGGTAAAGGTCACGG) و (3'-ACTCCTTTTACTGCAGTTTCGGAACG) قطعه ۲۱۳ جفت بازی حاوی جایگاه ۳۰۹ از ژن MDM2 با روش PCR تکثیر و اندازه قطعات حاصل با ژل آگارز ۱/۵ درصد تأیید گردید.

لنفوتیدی (ALL)، لوسمی حاد میلوئیدی (AML)، لوسمی مزمن میلوئیدی (CLL) و لوسمی مزمن میلوئیدی (CML) وجود دارد (۴). در لوسمی حاد لنفوتیدی تعداد بسیار زیادی از لنفوسیت‌ها که هنوز به طور کامل تکامل نیافته‌اند دچار اختلال شده و به طور فزاینده‌ای در خون محیطی و مغز استخوان یافت می‌شوند. علاوه بر این، تجمع این یاخته‌ها در بافت‌های لنفاوی باعث بزرگ شدن این اندام‌ها می‌شود. ازدیاد لنفوسیت‌ها نیز منجر به کاهش تعداد سایر یاخته‌های خونی مانند گویچه‌های قرمز و پلاکت‌ها شده و این عدم تعادل یاخته‌های خونی منجر به کم‌خونی، خونریزی و عدم انعقاد خون می‌شود. مدت‌زمان بین شروع بیماری و گسترش دامنه آن بسیار سریع و کوتاه است. لوسمی حاد لنفوتیدی، شایع‌ترین نوع لوسمی در اطفال است که اغلب در کودکان بین سنین ۲ تا ۶ سال ظاهر می‌کند. گروه سنی دیگری که در مقابل این بیماری بیش از بقیه آسیب‌پذیر هستند، افراد بالای ۷۵ سال می‌باشند (۵، ۶).

لوسمی حاد لنفوتیدی توسط گروه فرانسوی - آمریکایی - بریتانیایی (FAB) بر اساس مشخصات مورفولوژی سلولی به زیرگروه‌هایی تقسیم‌بندی گردیده است. در این طبقه‌بندی ۷ معیار، اندازه سلول سرطانی، نسبت هسته به سیتوپلاسم، شکل هسته، مشخص بودن هستک‌ها، حضور گرانول‌های سیتوپلاسمی، میزان و حضور واکوئل‌های سیتوپلاسمی و خصوصیات کروماتین هسته را مدنظر قرار می‌دهند (۷).

مارکرهای مولکولی برای پیش‌بینی ماهیت تومورها، تشخیص و پیش‌آگهی در کنار روش‌های پاتولوژیکی می‌توانند مفید باشند. امروزه تلاش زیادی برای شناخت و معرفی مارکرهایی با حساسیت و ویژگی بالا در حال انجام می‌باشد. مارکرهای مولکولی می‌توانند اطلاعات با ارزشی را حتی قبل از ایجاد تغییرات وسیع مورفولوژیکی در سلول‌ها در اختیار پزشکان قرار داده و در پیش‌بینی رفتار آینده‌ی یک تومور مؤثر باشند. این مارکرها باید از نظر تکنیکی و تفسیر نتایج، ساده و سریع بوده و ویژگی و حساسیت بالایی داشته باشند. تومور مارکرها، ژن‌ها یا پروتئین‌هایی هستند که به نوعی در بروز و پیشروی سرطان دخیل هستند (۸).

ژن P53 یک ژن سرکوب‌کننده تومور می‌باشد. جهش در ژن TP53 باعث بی‌نظمی در رونویسی و ایجاد اختلال در فرایند تخریب از طریق پروتئین MDM2 و PTEN می‌شود. جهش در این ژن عملکردی به‌طور معمول در ایجاد لوسمی حاد میلوئیدی تأثیر می‌گذارد (۹). بر اساس مطالعات انجام شده معلوم گردید که MDM2 نقش مهمی در تنظیم سطح سلولی و فعالیت‌های P53 دارد به طوری که MDM2 باعث یوبی کوئیتینه شدن و تجزیه P53 می‌شود. MDM2، آنکوپروتئینی با عملکرد E3 یوبی کوئیتین لیگازی است که تنظیم‌کننده منفی قوی P53 محسوب می‌شود.

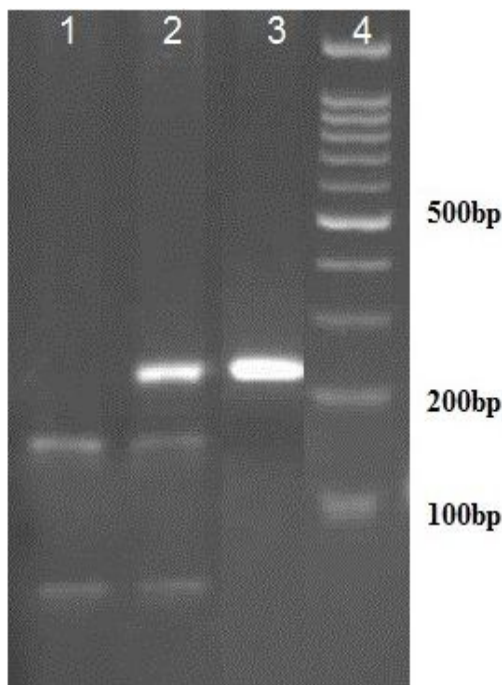
PCR به تعداد ۳۵ سیکل با شرایط بهینه مطابق جدول (۱) انجام گردید:

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر با ترکیب ۱۲ میکرولیتر PCR 2X Master Mix و ۱۰ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر، یک میکرولیتر DNA با غلظت یک میکروگرم و یک میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت با غلظت ۵۰ پیکومولار انجام شد.

جدول (۱): برنامه مراحل انجام PCR

زمان	دما	مراحل/تعداد سیکل
۱۰ دقیقه	۹۵ درجه	primary Denaturation ۱ / ۱
۱ دقیقه	۹۵ درجه	Denaturation
۱ دقیقه	۶۸ درجه	Annealing ۳۵ / ۲
۱ دقیقه	۷۲ درجه	Extension
۱۰ دقیقه	۷۲ درجه	Final Extension ۱ / ۳

(TG). چنانچه هردو کروموزوم حاوی جایگاه برش آنزیم باشد، قطعات ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی روی ژل مشاهده خواهد شد (ژنوتیپ GG) (شکل ۱).



شکل (۱): الکتروفورز محصول حاصل از برش آنزیم

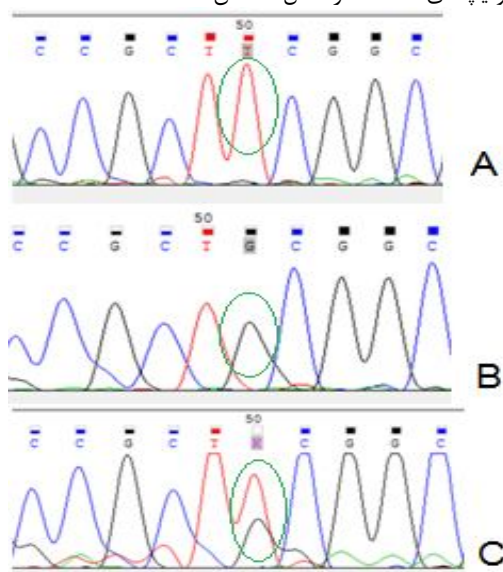
MspAII روی ژل آگارز ۳ درصد، از چپ به راست: چاهک ۱ ژنوتیپ GG حاوی قطعات ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی، چاهک ۲ ژنوتیپ TG حاوی قطعات ۲۱۳، ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی، چاهک ۳ ژنوتیپ TT، قطعه ۲۱۳ جفت بازی را نشان می‌دهد. چاهک ۴ مارکر وزن مولکولی می‌باشد.

محصول حاصل از PCR توسط آنزیم محدودالایتر MspAII مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. بدین منظور ۱۲ میکرولیتر از محصول PCR، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم MspAII، ۲ میکرولیتر بافر NEBuffer (1X)، ۴، ۶ میکرولیتر ddH2O به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر مخلوط و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ آنکوبه گردید. سپس محصول حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۳ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تأیید ژنوتیپ‌های به دست آمده، ۱۰ نمونه از هر کدام از ژنوتیپ‌های مختلف تعیین توالی شدند. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Ver21) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه ژنوتیپ‌های به دست آمده در نمونه‌های سرطانی با توزیع فراوانی این ژنوتیپ‌ها در نمونه‌های کنترل از آزمون مجذور کای استفاده شد. نسبت شانس و سطح اطمینان ۹۵ درصد برای تعیین رابطه بین متغیر وابسته و مستقل محاسبه شد.

یافته‌ها

در این تحقیق پس از استخراج DNA و انجام PCR، محصول حاصل با استفاده از آنزیم MspAII مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. چنانچه برای نمونه مورد بررسی در موقعیت باز ۳۰۹ منطقه پروموتوری ژن MDM2 از هر دو کروموزوم جایگاه برش آنزیمی MspAII وجود نداشته باشد (جایگاه مورد مطالعه فاقد آلل G باشد)، فقط قطعه ۲۱۳ جفت بازی بر روی ژل مشاهده می‌شود پس ژنوتیپ نمونه مورد نظر TT می‌باشد. اما اگر فقط یکی از دو کروموزوم حاوی جایگاه برش باشد، محصول حاصل از هضم آنزیمی حاوی قطعات ۲۱۳، ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی بر روی ژل می‌باشد (ژنوتیپ

نتیجه تعیین توالی تعدادی از افراد با ژنوتیپ‌های مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل (۲): نتیجه تعیین توالی تعدادی از افراد با ژنوتیپ‌های مختلف. (A) ژنوتیپ TT، (B) ژنوتیپ GG و (C) ژنوتیپ TG را نشان می‌دهد.

فراوانی آللی گروه کنترل و بیمار وجود دارد. P-value برابر $0/001$ بود و نشان می‌دهد که بین پلی مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و بیماری ALL از نظر آللی هم همراهی وجود دارد (جدول ۲).

توزیع آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 در گروه کنترل و بیمار در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری در توزیع ژنوتیپی و آللی در دو گروه مورد بررسی مشاهده می‌شود. نتایج آماری نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین

جدول (۲): توزیع فراوانی آللی در گروه کنترل و بیماران ALL

P-value	CI 95%	OR	کنترل	بیمار	فراوانی آللی
-	-	-	۱۷۰ (/۷۳)	۶۶ (/۳۶)	T
$0/001$	۲/۰۳-۳/۲۶	۲/۵۷	۶۰ (/۲۷)	۱۵۸ (/۶۴)	G
			۲۳۰	۲۲۴	کل

نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین فراوانی‌های ژنوتیپی گروه کنترل و بیمار وجود دارد. P-value برابر $0/001$ بود و نشان می‌دهد که بین پلی مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و بیماری ALL از نظر ژنوتیپی همراهی وجود دارد.

با سطح مرجع قرار دادن ژنوتیپ TT فراوانی ژنوتیپی بین گروه‌های کنترل و بیمار مقایسه شد و اطلاعات آن در جدول ۲ آمده است. فراوانی ژنوتیپ‌های TT، TG و GG در این مطالعه در گروه بیمار به ترتیب ۱۰ درصد، ۴۲ درصد و ۴۸ درصد و در گروه کنترل ۶۳ درصد، ۲۲ درصد و ۱۵ درصد به دست آمد. نتایج جدول ۲ نتایج

جدول (۳): توزیع فراوانی ژنوتیپی در گروه کنترل و بیماران ALL

P-value	OR(CI 95%)	کل N	کنترل N	بیمار N	فراوانی ژنوتیپی %
-	-	۸۴ (/۳۶/۵)	۷۲ (/۶۳)	۱۲ (/۱۰)	TT
$0/001$	۱۱/۰۷ (۵/۰۱-۲۴/۰۵)	۷۴ (/۳۲)	۲۶ (/۲۲)	۴۸ (/۴۲)	TG
$0/001$	۱۸/۰۶ (۷/۹۵-۴۵/۰۳)	۷۲ (/۳۱/۵)	۱۷ (/۱۵)	۵۵ (/۴۸)	GG
			۱۱۵ (/۱۰۰)	۱۱۵ (/۱۰۰)	کل N

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه پروتئین MDM2 یک تنظیم‌کننده پروتئین P53 می‌باشد لذا افزایش بیان آن در سلول به وسیله مکانیسم‌های مختلفی باعث پیشبرد تشکیل تومور می‌شود. بنابراین هرگونه تغییری اعم از جهش یا پلی‌مورفیسم که در ژن MDM2 روی دهد و باعث افزایش بیان پروتئین آن گردد، می‌تواند به‌عنوان عاملی مهم در سرطان‌زایی مطرح باشد. از آنجایی که اکثراً بیان بالای پروتئین MDM2 در سلول‌ها به دلیل ترجمه رونوشت‌های مربوط به منطقه تحت کنترل پروموتور P2 می‌باشد، پلی‌مورفیسم‌های موجود در منطقه P2 بیشترین تأثیر را در بیان بالای پروتئین و افزایش خطر ابتلا به سرطان دارند. جایگاه‌های پلی‌مورفیسمی متعددی از جمله 344 T/A، 309 T/G و G/C285 در منطقه پروموتوری P2 شناسایی شده‌اند (۱۶). جایگزینی نوکلئوتید T توسط G در جایگاه ۳۰۹ باعث افزایش تمایل اتصال پروتئین تحریکی ۱ (SP1) به منطقه پروموتور دوم شده و باعث افزایش سطح بیان پروتئین MDM2 می‌شود (۱۷).

با توجه به تفاوت در سابقه ژنتیکی جمعیت‌ها، مطالعه روی جایگاه‌های پلی‌مورفیسمی مختلف نتایج متفاوتی را می‌تواند به دنبال داشته باشد. بررسی‌های مختلف پلی‌مورفیسم در یک جایگاه ژنی پیشنهاد می‌کنند که پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی ممکن است نشان‌دهنده تفاوت‌های فردی در حساسیت افراد به سرطان، بروز زودرس و پیشرفت سرطان و حتی مقاومت‌های دارویی باشند (۱).

لوسمی حاد لنفوئیدی شایع‌ترین نوع لوسمی در کودکان است. این نوع لوسمی بیش از چهل مورد در یک میلیون کودک در سال مشاهده می‌شود (۲). ۸۰ درصد موارد ALL در کودکان و ۲۰ درصد موارد آن در بالغین اتفاق می‌افتد و بیماری در جنس مذکر بیشتر از مؤنث است. این بیماری در بالغین از پیش‌آگهی خوبی برخوردار نیست، علی‌رغم پیشرفت‌های قابل توجه در درمان، این بیماری در بزرگسالان از مرگ‌ومیر بالایی برخوردار است. در مطالعات مختلف میزان آن ۲۵ درصد تا ۴۰ درصد ذکر شده است. طبق تحقیقات انجام شده در ایران، این نوع لوسمی بیشترین درصد را در بین کل سرطان‌های کودکان زیر ۱۵ سال شامل می‌شود (۱۸).

نتایج مطالعه Chen و همکاران (۲۰۱۳)، نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و

پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن P53 و خطر ابتلا به ALL در بزرگسالان وجود دارد (۱۹). بررسی Do و همکاران (۲۰۰۹)، نشان داد پلی‌مورفیسم MDM2 309 T>G، همراهی معنی‌داری با پیشرفت ALL در بزرگسالان دارد (۲۰). همچنین مطالعه Yan و همکاران (۲۰۱۴)، در بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم SNP 309 ژن MDM2 و خطر ابتلا به لوسمی ALL رابطه معنی‌داری را نشان داد که نتایج پژوهش حاضر با این مطالعات هم‌خوانی دارد (۲۱). باین‌وجود مطالعه‌ای که توسط Phang و همکاران در سال ۲۰۱۳ در کشور سنگاپور در مورد ارتباط بین پلی‌مورفیسم آلل MDM2 SNP 309 G با خطر ابتلا به لوسمی انجام دادند نشان دادند ارتباط معنی‌داری بین این پلی‌مورفیسم و خطر ابتلا به ALL وجود ندارد (۲۲).

درحالی‌که بسیاری از نتایج بیانگر همراهی معنی‌دار پلی‌مورفیسم SNP 309 با بیماری ALL در جوامع مختلف بوده، اما عکس مسئله نیز در برخی از مطالعات به چشم می‌خورد که این ناهم‌خوانی‌های مشاهده‌شده، ناشی از تفاوت در فراوانی آللی مربوط به پس‌زمینه ژنتیکی جمعیت‌های مختلف می‌باشد (۲۲). در نتیجه ژن MDM2 در میان گروه‌های نژادی مختلف، درجات خطر ژنتیکی متفاوتی را نشان می‌دهد. همچنین با توجه به این که ریسک ابتلا به بیماری ALL تحت تأثیر آمیزه‌ای از عوامل ژنتیکی و محیطی می‌باشد، عوامل مرتبط با میزبان (سن، جنس...) و عوامل محیطی (مواد شیمیایی و داروها) از جمله عواملی هستند که در میان جمعیت‌ها در ایجاد نتایج متفاوت در برخی از مطالعات همراهی نقش دارند. طبق نتایج ارائه‌شده در مطالعه حاضر، اختلاف معناداری میان توزیع ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم SNP 309 با جمعیت بیمار ALL و کنترل استان خوزستان مشاهده می‌شود، با بررسی دقیق‌تر و مقایسه ژنوتیپ‌ها، ژنوتیپ GG اختلاف معناداری بین این دو گروه نشان می‌دهد و نسبت بخت و فاصله اطمینان نشان‌دهنده ریسک خطر بالای این ژنوتیپ برای بیماری ALL می‌باشد. با توجه به افزایش فراوانی آلل GG در افراد بیمار نسبت به افراد کنترل در این مطالعه، می‌توان بیان کرد که این پلی‌مورفیسم در شکل‌گیری بیماری در این جمعیت نقش دارد و می‌توان از آن به‌عنوان یک مارکر پیش‌آگهی بالقوه استفاده کرد.

References:

- Valbuena JR, Herling M, Admirand JH, Padula A, Jones D, Medeiros LJ. T-cell prolymphocytic

leukemia involving extramedullary sites. Am J Clin Pathol 2005;123(3):456-64.

2. Davis AS, Viera AJ, Mead MD. Leukemia: An overview for primary care. *Am Fam Physician* 2014;89(9):731-8.
3. Park M-T, Lee S-J. Cell cycle and cancer. *J Biochemis Molecular Biol* 2003;36(1):60-5.
4. Kim E, Giese A, Deppert W. Wild-type p53 in cancer cells: when a guardian turns into a blackguard. *Biochem Pharmacol* 2009;77(1):11-20.
5. Hoffbrand A. Non-Hodgkin's lymphoma In: *Essential Hematology*. AV Hoffbrand, PAH Moss, and JE Pettit. Blackwell, Publisher, Massachusetts, USA; 2006.
6. Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, Henze G, Schrauder A, Gadner H, et al. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia* 2010;24(2):265.
7. Chiaretti S, Zini G, Bassan R. Diagnosis and subclassification of acute lymphoblastic leukemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2014;6(1).
8. Ding K, Lu Y, Nikolovska-Coleska Z, Wang G, Qiu S, Shangary S, et al. Structure-based design of spiro-oxindoles as potent, specific small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 interaction. *J Med Chem* 2006;49(12):3432-5.
9. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2015;373(12):1136-52.
10. Iwakuma T, Lozano G. MDM2, an introduction. *Mol Cancer Res* 2003;1(14):993-1000.
11. Paulin FE, O'Neill M, McGregor G, Cassidy A, Ashfield A, Ali CW, et al. MDM2 SNP309 is associated with high grade node positive breast tumours and is in linkage disequilibrium with a novel MDM2 intron 1 polymorphism. *BMC Cance* 2008;8(1):281.
12. Bond GL, Hirshfield KM, Kirchhoff T, Alexe G, Bond EE, Robins H, et al. MDM2 SNP309 accelerates tumor formation in a gender-specific and hormone-dependent manner. *Cancer Res* 2006;66(10):5104-10.
13. Bond GL, Menin C, Bertorelle R, Alhopuro P, Aaltonen LA, Levine AJ. MDM2 SNP309 accelerates colorectal tumour formation in women. *J Med Gen* 2006;43(12):950-2.
14. Onat OE, Tez M, Ozçelik T, Törüner GA. MDM2 T309G polymorphism is associated with bladder cancer. *Anticancer Res* 2006;26(5A):3473-5.
15. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16(3):1215.
16. Terry K, McGrath M, Lee I-M, Buring J, De Vivo I. MDM2 SNP309 is associated with endometrial cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17(4):983-6.
17. Knappskog S, Gansmo LB, Romundstad P, Bjørnslett M, Trovik J, Sommerfelt-Pettersen J, et al. MDM2 promoter SNP344T> A (rs1196333) status does not affect cancer risk. *PLoS One* 2012;7(4):e36263.
18. Pui C-H, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2004;350(15):1535-48.
19. Chen J, Zhu B, Chen J, Li Y. Genetic variations in MDM2 and P53 genes confer risk for adult acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. *DNA Cell Biol* 2013;32(7):414-9.
20. Do TN, Ucisik-Akkaya E, Davis CF, Morrison BA, Dorak MT. TP53 R72P and MDM2 SNP309 polymorphisms in modification of childhood acute lymphoblastic leukemia susceptibility. *Cancer Genet Cytogenet* 2009;195(1):31-6.
21. Yan Y-L, Han F, Tan W-M, Wu C-P, Qin X. Association between the MDM2 T309G polymorphism and leukemia risk: a metaanalysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15(16):6767-72.

22. Phang BH, Linn YC, Li H, Sabapathy K. MDM2
SNP309 G allele decreases risk but does not affect

onset age or survival of Chinese leukaemia
patients. *Eur J Cancer* 2008;44(5):760-6.

THE STUDY OF ACUTE LYMPHOID LEUKEMIA AND MDM2 GENE PROMOTER POLYMORPHISM (SNP309) IN PATIENTS IN KHUZESTAN PROVINCE

Mohammad Mohammadi^{1*}, Elham Rostami², Shahram Bagheri³

Received: 18 Aug, 2018; Accepted: 25 Oct, 2018

Abstract

Background & Aims: Leukemia is a type of malignancy of the hematopoietic tissue that accompanies the incomplete development and proliferation of white blood cells. In acute lymphoid leukemia (ALL), many lymphocytes that have not yet completely evolved, are impaired and increasingly found in peripheral blood and bone marrow. MDM2 is a proto-oncogene with E3 ubiquitin ligase activity that acts as a potent negative regulator for P53. Polymorphism in the position 309 of promoters of the MDM2 gene is the most widely known polymorphism of this gene, where the replacement of the T nucleotide by G at this site leads to increased expression of the MDM2 gene. Increasing the level of protein MDM2 reduces the activity of P53 proteins, which can result in cancer. The objective of the present study is to determine the relationship between the frequency of single nucleotide polymorphism at 309 in MDM2 promoter and ALL cancer in ALL patients in Khuzestan province.

Materials & Methods: In this study, polymorphism of 309 MDM2 genes was evaluated using PCR-RFLP and sequencing in 115 blood samples from all patients and 115 healthy blood samples in Khuzestan province.

Results: The results indicate that there was statistically significant association between 309 MDM2 polymorphisms and all patients. The frequency of TT, TG, and GG genotypes was 10%, 42% and 48% in all groups and 63%, 22% and 15% in the control group, respectively. With regard to the p-value presented for all three genotypes ($p=0.001$), there was a significant relationship between the genotypic distribution of this polymorphism with all disease.

Conclusion: The present study demonstrates that MDM2 promoter polymorphism at 309 position has a significant relationship with acute myeloid leukemia in Khuzestan province.

Keywords: Acute myeloid leukemia, Polymorphism, p53, MDM2

Address: Department of Biology, School of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Tel: +986133331045

Email: Mohamadi74@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2018; 29(9): 686 ISSN: 1027-3727

¹ Assistant Professor, Department of Biology, School of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran (Corresponding Author)

² MSc., Department of Biology, School of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

³ Assistant Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran