Archive of SID

(مقاله پژوهشی)

بررسی پلی مورفیسم پروموتور ژن MDM2(SNP309) در مبتلایان به لوسمی حاد میلوئیدی در استان خوزستان

الهام رستمی[۱]، محمد محمدی[۲*]، شهرام باقری[۳]

۱-کارشناس ارشد گروه زیست شناسی.
۲- استادیار گروه زیست شناسی.
۳-استادیار گروه پاتولوژی.

۱و۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۳-گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.

*نویسندهٔ مسؤول:
محمد محمدی؛گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۶۱۳۳۳۳۱۰۴۵
Email: mohamadi74@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: لوسمی حاد میلوئیدی ،یک بیماری ژنتیکی می باشد که در اثر تغییر درمکانیسم های طبیعی سلول های پیش ساز خونی، مثل تکثیر و تمایز، ایجاد می شود. Mouse Double Minute 2 (MDM2)، آنکوپروتئینی با عملکرد E3 یوبی کوئیتین لیگازی است که تنظیم کننده منفی پروتئین P53 می باشد. پلی‌مورفیسم در جایگاه ۳۰۹ شناخته شده‌ترین پلی‌مورفیسم ژن MDM2 می باشد که جایگزینی نوکلئوتید G به جای نوکلئوتید T در این جایگاه باعث افزایش بیان ژن MDM2 می‌شود. افزایش سطح پروتئین MDM2 باعث کاهش فعالیت پروتئین P53 می‌شود که نتیجه آن می تواند تشکیل تومور باشد.

روش بررسی: در این مطالعه ژنوتیپ های مختلف جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 با استفاده از روش های PCR-RFLP و تعیین توالی در ۹۱ نمونه خون از بیماران مبتلا به لوسمی حاد میلوئیدی و۱۱۵ نمونه خون افراد غیر بیمار در استان خوزستان مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که از نظر آماری همراهی معنا داری میان پلی مورفیسم ۳۰۹ ژن MDM2 و گروه بیماران AML وجود دارد. فراوانی ژنوتیپ های TT، TG وGG در این مطالعه در گروه بیمار به ترتیب ۱۵٪، ۴۱٪و ۴۳٪و در گروه کنترل ۶۲٪،۲۲و۱۴٪ به دست آمد با توجه به P-value ارائه شده برای هر سه ژنوتیپ (P: ۰/۰۰۱)، توزیع ژنوتیپی این پلی مورفیسم با بیماری AMLهمراهی معنی دار نشان می دهد.

نتیجه گیری: پژوهش حاضر نشان می دهد که پلی مورفیسم پروموتور ژن MDM2 در جایگاه ۳۰۹ به تنهایی همراهی قابل استنادی با ایتلا به لوسمی حاد میلوئیدی در جمعیت استان خوزستان دارد.

واژه های کلیدی: لوسمی، پلی مورفیسم، ژن MDM2.

دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۱۱/۲ دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۷/۲/۲۶ اعلام قبولی: ۱۳۹۷/۲/۳۰

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه دومین عامل مرگ و میر در سراسر جهان سرطان می باشد. سرطان در ایران به عنوان سومین علت مرگ و میر بعد از بیماری های قلبی – عروقی و سوانح و حوادث،به شمار می آید(۱،۲). در حال حاضر علت بیش از ۱۲ درصد از مرگ و میرها در کل جهان سرطان است. در ایران به عنوان یک کشور در حال توسعه سرطان در حال افزایش است. سرطان خون از نوع لوسمی حدود ۸٪ کل سرطان‌های انسانی را شامل می شود(۳). لوسمی نوعی بیماری پیشرونده و بدخیم اعضای خون‌ساز بدن می باشد که با تکثیر و تکامل ناقص گلبول های سفید خون و پیش-سازهای آن در خون و مغز استخوان ایجاد می‌شود. این بیماری به طور معمول درگلبول های سفید خون آغاز می-شود و فرایند تکثیر، خونسازی و ایمنی طبیعی بدن را مختل می‌کند(۴). لوسمی را می‌توان براساس ویژگی سرعت پیشرفته بیماری به لوسمی حاد(Acute Leukemia)و لوسمی مزمن(Chronic leukemia) تقسیم‌بندی کرد و همچنین بر اساس سلول‌های درگیر به دو گروه لنفوئیدی و میلوئیدی تقسیم کرد(۵). چهار نوع کلی لوسمی شامل لوسمی حاد لنفوئیدی(AML)، لوسمی حاد میلوئیدی (ALL)، لوسمی مزمن لنفوئیدی(CLL) و لوسمی مزمن میلوئیدی (CML) وجود دارد(۶). لوسمی حاد میلوئیدی شایع ترین لوسمی حاد بین بزرگسالان است که یک اختلال بسیار ناهمگن ژنتیکی است که ناشی از تغییر درمکانیسم های طبیعی مثل تکثیر وتمایز سلول های پیش ساز خونی است(۷).

لوسمی حاد میلوئیدی یک سرطان ناهمگن است که از طریق مکانیسم های مختلف پاتوژنی ایجاد می شود .بر همین اساس یک طبقه بندی به نام FAB انجام شد که در آن AML را به 8 زیر گروهM0-M7 تقسیم کردند که بر پایه شکل ظاهری بلاست سل ها و معیارهای مورفولوژی است و این تفاوت ها از طریق رنگ امیزی سلول ها با رنگ های هیستوشیمی مثل میلوپراکسیداز، سودان سیاه و ...تایید می شود(۸).

تماس با برخی داروها مانند داروهای الکیله کننده، اشعه یونیزان، بنزن و شیمی درمانی سیتوتوکسیک میتواند باعث بروز AML شود. دود سیگار رایجترین منبع بنزن است و استعمال آن ابتلا به AML را به میزان 3 برابر افزایش می دهد (۹).

در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی برای معرفی مارکرهای مولکولی که بتوانند ماهیت تومورها را پیش بینی کنند و به عنوان فاکتور کمکی تشخیصی و پیش‌آگهی در کنار روش‌های دقیق پاتولوژیکی به کار برده شوند در حال انجام است، و مارکرهایی مطالعه و معرفی شده‌اند اما مارکری که دارای حساسیت بالا بوده و بتواند اکثر انواع بیماری را پوشش دهد در دسترس نمی‌باشد. مارکرهای مولکولی به دلیل تعیین خصوصیات سلول‌ها از لحاظ مولکولی می‌توانند اطلاعات با ارزشی را حتی قبل از ایجاد تغییرات وسیع مورفولوژیکی در سلول‌ها در اختیار پزشکان قرار داده و در پیش بینی رفتار آینده ی یک تومور موثر باشند. این مارکرها باید از نظر تکنیکی و تفسیر نتایج، ساده و سریع بوده و حساسیت بالایی داشته باشند. تومور مارکر-ها، ژن‌ها یا پروتئین‌هایی هستند که به نوعی در بروز و پیشروی سرطان دخیل هستند(۱۰).

P53 یک ژن سرکوب کننده توموری می باشد که جهش در آن باعث بی نظمی در رونویسی و ایجاد اختلال در فرایند تخریب از طریق پروتئینMDM2 و PTEN می شود. جهش در این ژن عملکردی به طور معمول در ایجاد لوسمی حاد میلوئیدی تاثیر می گذارد(۱۱). براساس مطالعات انجام شده، MDM2 نقش مهمی در تنظیم سطح سلولی و فعالیت های P53 دارد وارتباط مستقیم P53 با MDM2 باعث یوبی کوئیتیناسیون و تجزیه P53 می شود. MDM2، آنکوپروتئینی از جنس فسفو پروتئین با عملکرد E3 یوبی کوئیتین لیگازی است که تنظیم کننده منفی قوی برای P53 محسوب می شود. شناخته شده‌ترین پلی‌مورفیسم ژن *mdm2* پلی‌مورفیسم ۳۰۹ این ژن است (۱۲) .این پلی‌مورفیسم در جایگاه ۳۰۹ درون پروموتور

www.SID.ir

Archive of SID

اینترونیک P2 ژن *mdm2* قرار دارد. این ناحیه معمولا توسط P53 برای فعال‌سازی رونویسی ژن *mdm2* مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱۳). جایگزینی نوکلئوتید G به جای نوکلئوتید T در جایگاه ۳۰۹ باعث افزایش تمایل اتصال پروتئین تحریکی۱ (SP1) (Stimulatory protein 1) به منطقه پروموتور دوم و افزایش سطح بیان پروتئین MDM2 می گردد که باعث افزایش تجزیه پروتیئن P53، ودر نتیجه موجب تسریع در شکل‌گیری تومور و پایین آمدن سن ابتلا به سرطان می‌شود (۱۴و۱۵).

هرگاه ژنوتیپ فرد در جایگاه ۳۰۹ TT باشد، در سلول بیان پایه ای از ژن *mdm2* وجود دارد ولی در افراد با ژنوتیپTG ، آلل G باعث افزایش بیان ژن *mdm2* می گردد و این افزایش بیان در حالت GG شدیدتر می‌باشد. با توجه به اثر ممانعت کننده MDM2 بر روی P53 افزایش بیان MDM2 باعث کاهش در مقدار پروتئین P53 در صدمات سلولی می‌گردد. در حالت معمول مقدار پروتئین P53 در صورت بروز صدمات سلولی افزایش می‌یابد که درصورت وجود آلل G در جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و افزایش مقدار پروتئین MDM2 مقدار پروتئین P53 کاهش می‌یابد (۱۶). ما در مطالعه حاضر سعی نموده ایم نقش حالت های مختلف این جایگاه پلی مورفیسم را در بیماران مبتلا به لوسمی حاد میلوئیدی در استان خوزستان بررسی نماییم.

روش بررسی

استخراج DNA از نمونه خون ۹۱ نفر از بیماران مبتلا به AML و ۱۱۵ نفر از افراد سالم بدون سابقه AML در استان خوزستان با محدوده سنی۱۰ تا ۷۰ سال انجام شد. به منظور استخراج DNA از ۵۰۰میکرولیتر از نمونه خون با روش Salting out ، DNA استخراج و با کمک ژل الکتروفروز کیفیت و با استفاده از نانودراپ غلظت آن اندازه گیری شد. پس از استخراج DNA، قطعه ۲۱۳ جفت بازی حاوی جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 با روش PCR تکثیر واندازه قطعه حاصل با ژل آگارز ۱/۵ درصد تایید گردید. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر باترکیب ۱۲ میکرولیتر PCR 2X Master Mix و ۱۰میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر، یک میکرولیتر DNA و یک میکرولیتر از هرکدام از پرایمر های رفت و برگشت با توالی زیر انجام شد.

توالی پرایمرهای رفت و برگشت عبارتند از:

F: GCGGGAGTTCAGGGTAAAGGTCACGG

R: ACTCCTTTTACTGCAGTTTCGGAACG

PCR به تعداد ۳۵ سیکل با شرایط بهینه زیر انجام گردید:

مرحله اول :واسرشت اولیه با دمای ۹۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه

مرحله دوم: ۳۵ سیکل هر سیکل شامل مراحل a،b وc به ترتیب:

a– Denaturation : با دمای ۹۵ درجه به مدت ۱ دقیقه

b-Annealing : با دمای ۶۸ درجه به مدت ۱ دقیقه

c-Extension : با دمای ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه

مرحله سوم: Extension نهایی با دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه

محصول حاصل از PCR توسط آنزیم محدودالاثر MSPA1l جهت تعیین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه ۳۰۹ مورد هضم آنزیمی قرار گرفت بدین منظور۶ میکرولیتر ازمحصول PCR ،۰/۱ میکرولیترآنزیم MSPA1l ،یک میکرولیتربافر(NEBuffer 4 (1X ، ۳ میکرولیترddH2O آب مقطر دوبار تقطیر به حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر مخلوط و به مدت ۲ ساعت در دمای۳۷ درجه آنکوبه گردید. محصول حاصل از هضم آنزیمی پس از توقف هضم بر روی ژل آگارز ۳٪ مورد ارزیابی قرار گرفت.برای تایید ژنوتیپ های به دست آمده نمونه های دارای الگوبندی مختلف تعیین توالی شدند. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS(Ver21) مورد

www.SID.ir

Archive of SID

تجزیه وتحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه سه ژنوتیپ مختلف در جایگاه ۳۰۹ منطقه پروموتوری ژن MDM2 در نمونه های سرطانی با توزیع فراوانی این سه ژنوتیپ در نمونه های کنترل از آزمون مجذور کای استفاده شد. نسبت شانس و سطح اطمینان ۹۵٪ برای تعیین رابطه بین متغیر وابسته و مستقل محاسبه شد.

یافته‌ها

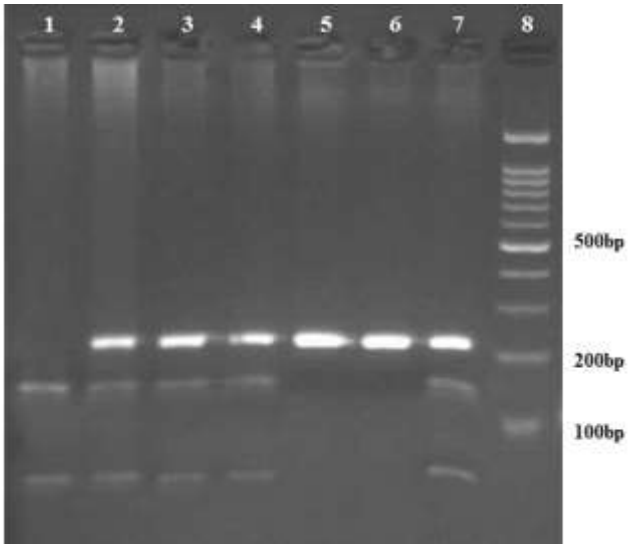
در این پژوهش استخراج DNA روی خون ۹۱ بیمار مبتلا به سرطان AML و۱۱۵ فرد سالم صورت گرفت. محصول PCR با استفاده از آنزیم MspA1I در دمای C ۳۷ مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. مدت تاثیر آنزیم برروی نمونه‌ها ۲ ساعت در نظر گرفته شد تا هضم کامل آنزیمی صورت گیرد. بعد از گذشت این مدت زمان مخلوط واکنش مورد نظر در روی ژل آگارز ۳٪ بار گذاری شد و محصول هضم آنزیمی مشاهده گردید. در صورتی که برای نمونه مورد برر سی در موقعیت باز ۳۰۹ منطقه پروموتوری ژن MDM2 از هر دو کروموزوم جایگاه برش آنزیمی MspA1I وجود نداشته باشد (جایگاه مورد مطالعه فاقد آلل G باشد)، محصول PCR فا قد برش بوده و فقط قطعه ۲۱۳ جفت بازی بر روی ژل‌ها مشاهده می‌شود پس ژنوتیپ نمونه مورد نظر TT می باشد. اما اگر فقط یکی از دو کروموزوم حاوی جایگاه برش با شد، پس از الکتروفورز محصول حا صل از برش، قطعات ۲۱۳، ۱۶۳ و۵۰ جفت بازی را روی ژل نشان خواهند داد (ژنوتیپ TG).چنانچه اگر هردو کروموزوم حاوی جایگاه برش آنزیم MspA1I باشد، قطعات ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی روی ژل مشاهده خواهد شد (ژنوتیپ GG).

توزیع آلل ها و ژنوتیپ های مختلف جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 در گروه کنترل وبیمار در جداول ۱و۲ نشان داده شده است.تفاوت معنی داری در توزیع ژنوتیپی وآللی در دوگروه مورد بررسی دیده می شود.پس از بررسی آماری مشخص شد که اختلاف معنی‌داری بین فراوانی آللی گروه کنترل و بیمار وجود دارد. P-value برابر۰/۰۰۱ بود و نشان می‌دهد که بین پلی‌مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و بیماری AML هم از نظر آللی همراهی وجود دارد جدول ۱.

با سطح مرجع قرار دادن ژنوتیپ TTفراوانی ژنوتیپی بین گروه‌های کنترل و بیمار مقایسه شد و اطلاعات آن در جدول۲ آمده است. فراوانی ژنوتیپ-های TT، TG و GGدر این مطالعه در گروه بیمار به ترتیب ۱۶٪، ۴۰٪و ۴۴٪و در گروه کنترل ۶۳٪،۲۲٪و۱۵٪ به دست آمد جدول ۲. نتایج نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین فراوانی-های ژنوتیپی گروه کنترل و بیمار وجود دارد. P-value برابر ۰/۰۰۱ بود و نشان می‌دهد که بین پلی‌مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و بیماری AML از نظر ژنوتیپی همراهی وجود دارد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: الکتروفورز محصول حاصل از برش آنزیم MspA1I روی ژل آگارز ۳٪، از چپ به راست: چاهک ۱ ژنوتیپ GG حاوی قطعات ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی، چاهک ۲، ۳، ۴ و ۷ ژنوتیپTG حاوی قطعات ۲۱۳، ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی، چاهک ۵ و۶ ژنوتیپ TT، قطعه ۲۱۳ جفت بازی را نشان می‌دهد. چاهک ۸ مارکر وزن مولکولی می باشد.

جدول ۱: توزیع فراوانی آللی در گروه کنترل وبیماران AML

فراوانی آللی	بیمار	کنترل	OR	CI 95%	P-value
T	۹۶ (٪۳۸)	۱۷۰ (٪۷۳)	–	–	
G	۱۱۶ (٪۶۲)	۶۰ (٪۲۷)	۲/۰۹	۱/۶۳–۲/۶۹	۰/۰۰۱
کل	۲۲۲	۲۳۰			

جدول۲: توزیع فراوانی ژنوتیپی در گروه کنترل وبیماران AML

فراوانی ژنوتیپی N%	بیمار N	کنترل N	کل N	OR(CI 95%)	P-value
TT	۱۵ (٪۱۶)	۷۲ (٪۶۳)	۸۴ (٪۳۹/۵)	–	
TG	۳۶ (٪۴۰)	۲۶ (٪۲۲)	۷۴ (٪۳۱)	۶/۶۴ (۳/۱۳۶–۱۴/۰۸)	۰/۰۰۱
GG	۴۰ (٪۴۴)	۱۷ (٪۱۵)	۷۲ (٪۲۹/۵)	۱۱/۲۹ (۵/۱۰۱–۲۵/۰۱)	۰/۰۰۱
کل N	۹۱ (٪۱۰۰)	۱۱۵ (٪۱۰۰)			

بحث و نتیجه گیری

مطالعات انجام گرفته بر روی حالت های مختلف یک جایگاه ژنی پیشنهاد می کنند که عواملی مانند پلی مورفیسم های ژنتیکی ممکن است بیان کننده تفاوت های فردی در حساسیت افراد به سرطان، بروز زودرس و پیشرفت سرطان و حتی مقاومت‌های دارویی باشند.

لوسمی حاد میلوئیدی (AML) عموماً در بزرگسالان دیده می‌شود و بروز آن با افزایش سن بیشتر می‌گردد. میزان بروز آن در بزرگسالان زیر ۶۵ سال ۱/۸ در هر صد هزار است در حالی که این رقم برای افراد بالای ۶۵ سال به ۱۷/۹ در هر صد هزار می‌رسد. حدود ۳۰٪ از افرادی که

www.SID.ir

Archive of SID

به AML مبتلا می‌شوند در محدوده سنی ۱۸ تا ۶۰ سال قرار دارند(۱۷،۱۸).

افزایش سطوح پروتئین MDM2 در سلول به وسیله مکانیسم های مختلفی باعث پیشبرد تشکیل تومور در سلول ها می شود. بنابراین هر گونه تغییری اعم از جهش یا پلی مورفیسم که در ساختار ژن روی دهد و باعث افزایش بیان پروتئین آن گردد، می تواند به عنوان عاملی مهم در سرطان زایی مطرح باشد. از آنجایی که اکثرا بیان بالای پروتئین MDM2 در سلول ها به دلیل ترجمه رونوشت های مربوط به منطقه تحت کنترل پروموتر P2 می باشد، پلی مورفیسم های موجود در منطقه P2 بیشترین تاثیر را در بیان بالای پروتئین و افزایش خطر ابتلا به سرطان دارند.چندین جایگاه پلی‌مورفیسمی در منطقه پروموتری P2 شناسایی شده‌اند ازجمله می توان به جایگاه پلی‌مورفیسمی T/A 344 و T/G 309 و وG/C 285 اشاره نمود. در جایگاه ۳۰۹ جایگزینی نوکلئوتید G به جای نوکلئوتید T دیده می‌شود که این جایگزینی باعث افزایش تمایل اتصالی پروتئین تحریکی ۱ (SP1) به منطقه پروموتور دوم شده و باعث افزایش سطح بیان پروتئین MDM2 می‌شود. با توجه به متفاوت بودن سابقه ژنتیکی (اثر بنیادی) جمعیت ها، مطالعه روی جایگاه های پلی مورفیسمی مختلف، نتایج متفاوتی را می تواند به دنبال داشته باشد(۱۹ و ۲۰).

مطالعاتی که توسط Phillips و همکاران در سال ۲۰۱۰ با عنوان بررسی پلی مورفیسم MDM2 به عنوان یک فاکتور خطر برای بیماری AML انجام شد، نشان داد که افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت GG باافزایش خطر ابتلا به AML همراه هستند(۲۱).

Yan و همکاران(۲۰۱۴) یک مطالعه متا آنالیز برای بررسی رابطه بین پلی مورفیسم SNP 309 ژن MDM2 و ابتلا به لوسمی انجام دادند. نتایج کلی نشان داد که رابطه معنی داری بین پلی مورفیسم SNP 309 ژن و ابتلا به لوسمی از نوع AML وجود دارد (۲۲).

همچنین نتایج حاصل از مطالعه ای که Anuradha و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مورد نقش پلی مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 در پیشرفت بیماری AML انجام دادند ،نشان دهنده همراهی ژنوتیپ GG با افزایش خطر ابتلا به AML بود(۲۳).

نتایج حاصل از مطالعه Elis و همکاران (۲۰۰۸)، در جمعیت انگلستان نشان داد ارتباط معنا داری بین پلی مورفیسم SNP 309 در ژن MDM2 و بروز AML وجود ندارد(۲۴).

در حالی که بسیاری از نتایج بیانگر همراهی معنی دار پلی مورفیسم SNP 309 با بیماری AML در جوامع مختلف بوده، اما عکس مسئله نیز در برخی از مطالعات به چشم می خورد که این ناهمخوانی های مشاهده شده، ناشی از تفاوت در فراوانی آللی مربوط به پس زمینه ژنتیکی جمعیت های مختلف می باشد.در نتیجه ژن MDM2 در میان گر وه های نژادی مختلف، درجات خطر ژنتیکی متفاوتی را نشان می‌دهد. همچنین با توجه به این که ریسک ابتلا به بیماری AML تحت تاثیر آمیزه ای از عوامل ژنتیکی ومحیطی می باشد، عوامل مرتبط با میزبان(سن، جنس..) و عوامل محیطی(مواد شیمیایی وداروها، داروهای ضد نئوپلاسم ..) از جمله عواملی هستند که در میان جمعیت ها، در ایجاد نتایج متفاوت در برخی از مطالعات همراهی نقش دارند. طبق نتایج ارائه شده در مطالعه حاضر، اختلاف معنا داری میان توزیع ژنوتیپ های پلی مورفیسم SNP 309 با جمعیت بیمار AML و کنترل در استان خوزستان مشاهده می شود، با بررسی دقیق تر و مقایسه ژنوتیپ ها، ژنوتیپ GG اختلاف معنا داری بین این دو گروه نشان می دهد و نسبت بخت و فاصله اطمینان نشان دهنده ریسک خطر بالا ی این ژنوتیپ برای بیماری AML می باشد باتوجه به افزایش فراوانی آلل GG در افراد بیمار نسبت به افراد کنترل در این مطالعه، می توان بیان کرد که این پلی مورفیسم در شکل گیری بیماری در این جمعیت نقش دارد و می توان از آن به عنوان یک مارکر پیش آگهی بالقوه استفاده کرد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1-del Pilar Díaz, María, et al. "Cancer incidence pattern in Cordoba, Argentina." European Journal of Cancer Prevention 18.4 (2009): 259-266.

2-Mousavi, Seyed Mohsen, et al. "Cancer incidence and mortality in Iran." Annals of Oncology 20.3 (2009): 556-563.

3-Babaei, Mehdi, et al. "Cancer occurrence in Semnan Province, Iran: results of a population-based cancer registry." Asian Pac J Cancer Prev 6.2 (2005): 159-64.

4-Valbuena JR, Herling M, Admirand JH, Padula A, Jones D, Medeiros LJ. T-cell prolymphocytic leukemia involving extramedullary sites. Am J Clin Pathol 2005; 123:456.

5-Robin O, Mervin C. Hematology and immunology. 1st Ed. Philadelphia: Saunders; 2008

6-Jadidi, R., et al., "Parents a dead end life": The main experiences of parents of children with leukemia. Iranian journal of nursing and midwifery research, 2014. 19(6): p. 600.

7-Schlenk, R.F., Post-remission therapy for acute myeloid leukemia. haematologica, 2014. 99(11): p. 1663.

8-Lowenberg, B., J.R. Downing, and A. Burnett, Acute myeloid leukemia. New England Journal of

Medicine, 1999. 341(14): p. 1051-1062

9-Estey, E. and H. Döhner, Acute myeloid leukaemia. The Lancet, 2006. 368(9550): p. 1894-1907.

10-K. Ding et al., 2006, Structure-based design of spiro-oxindoles as potent, specific small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 interaction, J. Med. Chem. 49, pp. 3432-3435.

11-8.Longo, D. L., et al., Acute myeloid leukaemia. New England Journal of Medicine, 2015. 373(12): p. 1136-1152.

12-Iwakuma, Tomoo, and Guillermina Lozano. "MDM2, an introduction." Molecular Cancer Research 1.14 (2003): 993-1000.

13-Paulin FE, O'Neill M, McGregor G, Cassidy A, Ashfield A, Ali CW, Munro AJ, Baker L, Purdie CA, Lane DP, Thompson AM. MDM2 SNP309 is associated with high grade node positive breast tumours and is in linkage disequilibrium with a novel MDM2 intron polymorphism. BMC Cancer. 2008 Oct 1;8:281

14-Bond GL, Hirshfield KM, Kirchhoff T, Alexe G, Bond EE, et al. (2006) MDM2 SNP309 accelerates tumor formation in a gender-specific and hormonedependent manner. Cancer Res 66: 5104–5110.

15-Bond GL, Menin C, Bertorelle R, Alhorpuro P, Aaltonen LA, et al. (2006) MDM2 SNP309 Accelerates colorectal tumour formation in women. J Med Genet 43(12): 950–952.

16-Onat OE, Tez M, Ozcelik T, et al. MDM2 T309G polymorphism is associated with bladder cancer. Anticancer Res, 2006, 26: 3473–3475

17-Olivier M, Eeles R, Hollstein M, Khan MA, Harris CC, Hainaut P. (2002). The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users Hum Mutat 19, 607–614.

18-Phang BH, Linn YC, Li H, Sabapathy K. (2008). MDM2 SNP309 G alleldecreases risk but does not affect onset age or survival of Chinese leukaemia patients. Eur JCancer 44, 760–766.

19-Terry, Kathryn, et al. "MDM2 SNP309 is associated with endometrial cancer risk." Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers 17.4 (2008): 983-986.

20-Knappskog, Stian, et al. "MDM2 Promoter SNP344T> a (rs1196333) status does Not affect cancer risk." PLoS One 7.4 (2012): e36263.

21-Phillips, Christine L., et al. "MDM2 polymorphism increases susceptibility to childhood acute myeloid leukemia: a report from the Children's Oncology Group." Pediatric blood & cancer 55.2 (2010): 248-253

22-Yan, Yu-Lan, et al. "Association between the MDM2 T309G polymorphism and leukemia risk: a metaanalysis." Asian Pac J Cancer Prev 15.16 (2014): 6767-72.

23-Cingeetham, Anuradha, et al. "Role of the MDM2 Promoter Polymorphism (-309T> G) in Acute Myeloid Leukemia Development." Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 16.7 (2015): 2707-2712.

24-Ellis, Nathan A., et al. "MDM2 SNP309 and TP53 Arg72Pro interact to alter therapy-related acute myeloid leukemia susceptibility." Blood 112.3 (2008): 741-749.

www.SID.ir

Archive of SID

Investigation of MDM2 Gene Promoter Polymorphism (SNP309) in Patients with Acute Myeloid Leukemia in Khuzestan Province

Elham Rostami[1], Mohamad Mohamadi[1*], Shahram Bagheri[2]

1-Master of Biology.
2-Assistant Professor of Biology.
3-Assistant Professor of Biology.

1,2-Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3-Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

**Corresponding author:*
Mohammad Mohammadi; Department of Biology, Faculty of Science, ShahidChamran University of Ahvaz, Ahvaz,Iran.
Tel: +986133331045
Email: mohamadi74@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Acute myeloid disease is a genetic disorder resulting from a change in the natural mechanisms of the blood precursor cells such as proliferation and differentiation. Mouse Double Minute 2 (MDM2) is an oncoprotein with E3 ubiquitin ligase activity that acts as a potent negative regulator for P53. The most well-known MDM2 gene polymorphism is *SNP309* polymorphism. Substitution of G nucleotide instead of the T at 309 position increases the expression level of the MDM2 gene. Increasing the MDM2 level decrease the activity of p53 which can lead to cancer.

Subjects and Methods: This study was performed on 91 AML blood samples and 115 control blood samples in Khuzestan province. Different genotypes of 309 position of MDM2 genes were determined using PCR-RFLP and Sequeing method.

Results: The results show that there is statistically significant association between MDM2 SNP309 polymorphism and AML.

Conclusion: In this study the frequency of TT, TG, and GG genotypes was 15%, 41% and 43% in AML group and 62%, 22% and 14% in control group respectively. The genotypic distribution of this polymorphism may be strongly associated with AML.

Key words: Leukemia, Polymorphism, MDM2 gene.

►*Please cite this paper as:*
Rostami E, Mohamadi M, Bagheri Sh. Investigation of MDM2 Gene Promoter Polymorphism (SNP309) in Patients with Acute Myeloid Leukemia in Khuzestan Province. Jundishapur Sci Med J 2018; 17(2):187-194.

Received: Jan 22, 2018 **Revised: May 16, 2018** **Accepted: May 20, 2018**

www.SID.ir