

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

چکیده

زمینه و هدف: لوسمی حاد میلوئیدی، یک بیماری ژنتیکی می باشد که در اثر تغییر در مکانیسم های طبیعی سلول های پیش ساز خونی، مثل تکثیر و تمایز، ایجاد می شود. Mouse Double Minute 2 (MDM2)، آنکو پروتئینی با عملکرد E3 یوبی کوئیتین لیگازی است که تنظیم کننده منفی پروتئین P53 می باشد. پلی مورفیسم در جایگاه ۳۰۹ شناخته شده ترین پلی مورفیسم ژن MDM2 می باشد که جایگزینی نوکلئوتید G به جای نوکلئوتید T در این جایگاه باعث افزایش بیان ژن MDM2 می شود. افزایش سطح پروتئین MDM2 باعث کاهش فعالیت پروتئین P53 می شود 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 و ۱۱۵ نمونه خون افراد غیر بیمار در استان خوزستان مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج به دست آمده نشان می دهد که از نظر آماری همراهی معنا داری میان پلی مورفیسم ۳۰۹ ژن MDM2 و گروه بیماران AML وجود دارد. فراوانی ژنوتیپ های TT، TG و GG در این مطالعه در گروه بیمار به ترتیب ۱۵٪، ۴۱٪ و ۴۳٪ در گروه کنترل ۶۲٪، ۲۲٪ و ۱۴٪ به دست آمد با توجه به P-value ارائه شده برای هر سه ژنوتیپ (P: ۰/۰۰۱)، توزیع ژنوتیپی این پلی مورفیسم با بیماری AML همراهی 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 ابتلا به لوسمی حاد میلوئیدی در جمعیت استان خوزستان دارد.

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

۱- کارشناس ارشد گروه زیست شناسی.

۲- استادیار گروه زیست شناسی.

۳- استادیار گروه پاتولوژی.

۱ و ۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم،

دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.

*نویسنده مسؤل:

محمد محمدی؛ گروه زیست شناسی، دانشکده

علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۶۱۳۳۳۳۱۰۴۵

Email: mohamadi74@yahoo.com

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 سرطان های انسانی را شامل می شود (۳). لوسمی نوعی بیماری پیشرونده و بدخیم اعضای خون ساز بدن می باشد که با تکثیر و تکامل ناقص گلبول های سفید خون و پیش-سازهای آن در خون و مغز استخوان ایجاد می شود. این بیماری به طور معمول در گلبول های سفید خون آغاز می-شود و فرایند تکثیر، خونسازی و ایمنی طبیعی بدن را مختل می کند (۴). لوسمی را می توان براساس ویژگی سرعت پیشرفته بیماری به لوسمی حاد (Acute Leukemia) و لوسمی مزمن (Chronic leukemia) تقسیم بندی کرد و همچنین بر اساس سلول های درگیر به دو گروه لنفوتیدی و میلوئیدی تقسیم کرد (۵). چهار نوع کلی لوسمی شامل لوسمی حاد لنفوتیدی (AML)، لوسمی حاد میلوئیدی (ALL)، لوسمی مزمن لنفوتیدی (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 در مکانیسم های طبیعی مثل تکثیر و تمایز سلول های پیش ساز خونی است (۷).

لوسمی حاد میلوئیدی یک سرطان ناهمگن است که از طریق مکانیسم های مختلف پاتورژنی ایجاد می شود. بر همین اساس یک طبقه بندی به نام FAB انجام شد که در آن AML را به 8 زیر گروه M0-M7 تقسیم کردند که بر پایه شکل ظاهری بلاست سل ها و معیارهای مورفولوژی است و این تفاوت ها از طریق رنگ آمیزی 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 ابتدا به AML را به میزان 3 برابر افزایش می دهد (۹).

در سال های اخیر تلاش های زیادی برای معرفی مارکرهای مولکولی که بتوانند ماهیت تومورها را پیش بینی کنند و به عنوان فاکتور کمی تشخیصی و پیش آگهی در کنار روش های دقیق پاتولوژیکی به کار برده شوند در حال انجام است، و مارکرهایی مطالعه و معرفی شده اند اما مارکری که دارای حساسیت بالا بوده و بتواند اکثر انواع بیماری را پوشش دهد در دسترس نمی باشد. مارکرهای مولکولی به دلیل تعیین خصوصیات سلول ها از لحاظ مولکولی می توانند اطلاعات با ارزشی را حتی قبل از ایجاد تغییرات وسیع مورفولوژیکی در سلول ها 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، ژن ها یا پروتئین هایی 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 پروتئین MDM2 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 و ارتباط مستقیم P53 با MDM2 باعث یوبی کوئیتیناسیون و تجزیه P53 می شود. MDM2، آنکو پروتئینی از جنس فسفو پروتئین با عملکرد E3 یوبی کوئیتین لیگازی است که تنظیم کننده منفی قوی برای P53 محسوب می شود. شناخته شده ترین پلی مورفیسم ژن *mdm2* پلی مورفیسم ۳۰۹ این ژن است (۱۲). این پلی مورفیسم در جایگاه ۳۰۹ درون پروموتور

درصد تایید 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 و یک میکرولیتر از هر کدام از پرایمر های رفت و برگشت با توالی زیر انجام شد.

توالی پرایمرهای رفت و برگشت عبارتند از:

F:
GCGGGAGTTCAGGGTAAAGGTCAC
GG

R:
ACTCCTTTTACTGCAGTTTCGGAAC
G

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, c و به ترتیب:

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

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

Extension-c : 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 محدودالانتر MSPA11 جهت تعیین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه ۳۰۹ مورد هضم آنزیمی قرار گرفت بدین منظور ۶ میکرولیتر از محصول PCR، ۰/۱ میکرولیتر آنزیم MSPA11، یک میکرولیتر بفر (1X) NEBuffer 4، ۳ میکرولیتر ddH2O آب مقطر دوبار تقطیر به حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر مخلوط و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ 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

ایترونیك P2 ژن *mdm2* قرار دارد. این ناحیه معمولاً توسط P53 برای فعال سازی رونویسی ژن *mdm2* مورد استفاده قرار می گیرد (۱۳). جایگزینی نوکلئوتید G به جای نوکلئوتید T در جایگاه ۳۰۹ باعث افزایش تمایل اتصال پروتئین تحریکی ۱ (SP1) (Stimulatory protein 1) به منطقه پروموتور دوم و افزایش سطح بیان پروتئین MDM2 می گردد که باعث افزایش تجزیه پروتئین P53 و در نتیجه موجب تسریع در شکل گیری تومور و پایین آمدن سن ابتلا به سرطان می شود (۱۴ و ۱۵).

هرگاه ژنوتیپ فرد در جایگاه ۳۰۹ TT باشد، در سلول بیان پایه ای از ژن *mdm2* وجود دارد ولی در افراد با ژنوتیپ TG، آلل G باعث افزایش بیان ژن *mdm2* می گردد و این افزایش بیان در حالت GG شدیدتر می باشد. با توجه به اثر ممانعت کننده MDM2 بر روی P53 افزایش بیان MDM2 باعث کاهش در مقدار پروتئین P53 در صدمات سلولی می گردد. در حالت معمول مقدار پروتئین P53 در صورت بروز صدمات سلولی افزایش می یابد که در صورت وجود آلل G در جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و افزایش مقدار پروتئین MDM2 مقدار پروتئین P53 کاهش می یابد (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 سنی ۱۰ تا ۷۰ سال انجام شد. به منظور استخراج DNA از ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه خون با روش Salting out، DNA استخراج و با کمک ژل الکتروفورز 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 و اندازه قطعه حاصل با ژل آگارز ۱/۵

خواهند داد (ژنوتیپ TG). چنانچه اگر هر دو کروموزوم حاوی جایگاه برش آنزیم MspAII باشد، قطعات ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی روی ژل مشاهده خواهد شد (ژنوتیپ GG).

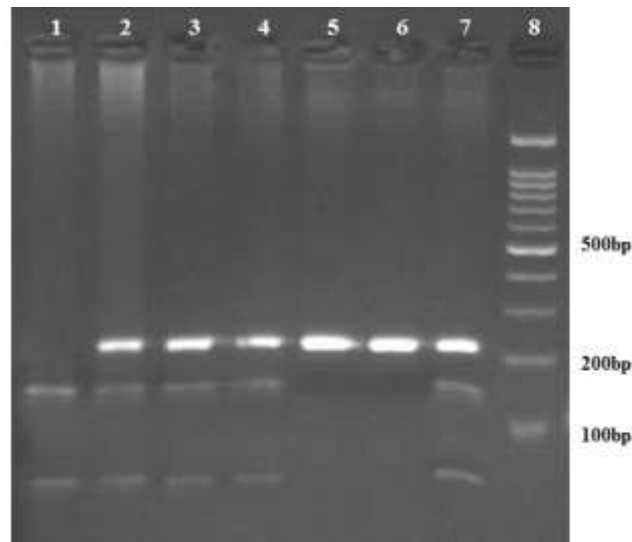
توزیع آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 در گروه کنترل و بیمار در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری در توزیع ژنوتیپی و آللی در دو گروه مورد بررسی دیده می‌شود. پس از بررسی آماری مشخص شد که اختلاف معنی‌داری بین فراوانی آللی گروه کنترل و بیمار وجود دارد. P-value برابر ۰/۰۰۱ بود و نشان می‌دهد که بین پلی مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و بیماری AML هم از نظر آللی همراهی وجود دارد جدول ۱.

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 ۱۶٪، ۴۰٪ و ۴۴٪ و در گروه کنترل ۶۳٪، ۲۲٪ و ۱۵٪ به دست آمد جدول ۲. نتایج نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین فراوانی‌های ژنوتیپی گروه کنترل و بیمار وجود دارد. P-value برابر ۰/۰۰۱ بود و نشان می‌دهد که بین پلی مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و بیماری AML از نظر ژنوتیپی همراهی وجود دارد.

تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه سه ژنوتیپ مختلف در جایگاه ۳۰۹ منطقه پروموتوری ژن MDM2 در نمونه‌های سرطانی با توزیع فراوانی این سه ژنوتیپ در نمونه‌های 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 و ۱۱۵ فرد سالم صورت گرفت. محصول PCR با استفاده از آنزیم MspAII در دمای ۳۷ C مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. مدت تاثیر آنزیم بر روی 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 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)، محصول PCR فاقد برش بوده و فقط قطعه ۲۱۳ جفت بازی بر روی ژل‌ها مشاهده می‌شود پس ژنوتیپ نمونه مورد نظر TT می‌باشد. اما اگر فقط یکی از دو کروموزوم حاوی جایگاه برش باشد، پس از الکتروفورز محصول حاصل از برش، قطعات ۲۱۳، ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی را روی ژل نشان



شکل ۱: الکتروفورز محصول حاصل از برش آنزیم *MspAII* روی ژل آگارز ۰.۳٪، از چپ به راست: چاهک ۱ ژنوتیپ **GG** حاوی قطعات ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی، چاهک ۲، ۳، ۴، ۷ ژنوتیپ **TG** حاوی قطعات ۲۱۳، ۱۶۳ و ۵۰ جفت بازی، چاهک ۵ و ۶ ژنوتیپ **TT**، قطعه ۲۱۳ جفت بازی را نشان می‌دهد. چاهک ۸ مارکر وزن مولکولی می‌باشد.

جدول ۱: توزیع فراوانی آللی در گروه کنترل و بیماران **AML**

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

جدول ۲: توزیع فراوانی ژنوتیپی در گروه کنترل و بیماران **AML**

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

بحث و نتیجه گیری

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

مطالعات انجام گرفته بر روی حالت های مختلف یک جایگاه ژنی پیشنهاد می‌کنند 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 مقاومت های دارویی باشند.

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 و ه های نژادی مختلف، درجات خطر ژنتیکی متفاوتی را نشان می دهد. همچنین با توجه به این که ریسک ابتلا به بیماری AML تحت تاثیر آمیزه ای از عوامل ژنتیکی و محیطی می باشد، عوامل مرتبط با میزبان (سن، جنس...) و عوامل محیطی (مواد شیمیایی و داروها، 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 بالای این ژنوتیپ برای بیماری AML می باشد با توجه 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.

به AML مبتلا می شوند 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 اکثر بیان بالای پروتئین MDM2 در سلول ها به دلیل ترجمه رونوشت های مربوط به منطقه تحت کنترل پروموتور 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 پلی مورفیسمی در منطقه پروموتوری P2 شناسایی شده اند از جمله می توان به جایگاه پلی مورفیسمی 344 T/A و 309 T/G و 285 G/C اشاره نمود. در جایگاه ۳۰۹ جایگزینی نوکلئوتید G به جای نوکلئوتید T دیده می شود که این جایگزینی باعث افزایش تمایل اتصالی پروتئین تحریکی ۱ (SP1) به منطقه پروموتور دوم شده و باعث افزایش سطح بیان پروتئین MDM2 می شود. 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 با افزایش 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).

- 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 allele decreases risk but does not affect onset age or survival of Chinese leukaemia patients. *Eur J Cancer* 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.

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

Elham Rostami¹, Mohamad Mohamadi^{1*}, Shahram Bagheri²

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, Shahid Chamran 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 Sequencing 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, Mohammadi 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