Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 13:06 +0430 on Monday September 16th 2019

مقاله پژوهشی

مطالعه ارتباط لوسمی حاد لنفوئیدی و پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه ۳۰۹ (SNP309) پروموتر 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 پروتوآنکوژنی با فعالیت E3 یوبی کوئیتین لیگازی، تنظیم‌کننده منفی P53 می‌باشد. پلی‌مورفیسم در جایگاه ۳۰۹ پروموتر ژن MDM2 شناخته‌شده‌ترین پلی‌مورفیسم 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 پروتیئن P53 می‌شود که نتیجه آن می‌تواند ایجاد سرطان باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط فراوانی جهش تک نوکلئوتیدی جایگاه ۳۰۹ در پروموتر ژن MDM2 و سرطان ALL در بیماران مبتلا به ALL در استان خوزستان می‌باشد.

مواد و روش کار: در مطالعه حاضر پلی‌مورفیسم 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 ازنظر آماری همراهی معناداری میان پلی‌مورفیسم ۳۰۹ ژن MDM2 و گروه بیماران ALL وجود دارد. فراوانی ژنوتیپ‌های TT، TG وGG در این مطالعه در گروه بیمار به ترتیب ۱۰ درصد، ۴۲ درصدو ۴۸ درصدو در گروه کنترل ۶۳ درصد، ۲۲ درصد و ۱۵ درصد به دست آمد. با توجه به P-value ارائه‌شده برای هر سه ژنوتیپ (P=۰/۰۰۱)، توزیع ژنوتیپی این پلی‌مورفیسم با بیماری ALL همراهی معنی‌دار نشان می‌دهد.

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

کلیدواژه‌ها: لوسمی حاد لنفوئیدی، پلی‌مورفیسم، 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

لوسمی نوعی بیماری پیش‌رونده و بدخیم اعضای خون‌ساز بدن است که با تکثیر و تکامل ناقص سلول‌های سفید خون و پیش سازهای آن در خون و مغز استخوان ایجاد می‌شود. این بیماری به‌طورمعمول 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 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 تشکیل‌شده 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

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

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

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

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 13:06 +0430 on Monday September 16th 2019

لنفوئیدی(ALL)، لوسمی حاد میلوئیدی (AML)، لوسمی مزمن لنفوئیدی(CLL) و لوسمی مزمن میلوئیدی (CML) وجود دارد(۴). در لوسمی حاد لنفوئیدی تعداد بسیار زیادی از لنفوسیت‌ها که هنوز به‌طور کامل تکامل نیافته‌اند دچار اختلال شده و به‌طور 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 حادلنفوئیدی، شایع‌ترین نوع لوسمی در اطفال است که اغلب در کودکان بین سنین ۲ تا ۶ سال تظاهر می‌کند. گروه سنی دیگری که در مقابل این بیماری بیش از بقیه آسیب‌پذیر هستند، افراد بالای ۷۵ سال می‌باشند(۵، ۶).

لوسمی حاد لنفوئیدی 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 ازنظر 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 به‌طورمعمول 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 به‌طوری‌که 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. 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 (Stimulatory protein 1) (SP1) به منطقه پروموتور دوم و افزایش بیان سطح پروتئین MDM2 می‌باشد. پروتئین MDM2 از طریق مسیر تجزیه، باعث کاهش فعالیت پروتیئن 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 به‌طوری‌که 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 لنفوئیدی در استان خوزستان موردبررسی 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 الکتروفروز مشخص و غلظت آن با استفاده از نانودراپ اندازه‌گیری شد. سپس به کمک پرایمرهای رفت (F: 5'-GCGGGAGTTCAGGGTAAAGGTCACGG-3') و برگشت (R: 5'-ACTCCTTTTACTGCAGTTTCGGAACG-3') 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.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 13:06 +0430 on Monday September 16th 2019

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 هرکدام از پرایمرهای رفت‌وبرگشت با غلظت ۵۰ پیکومولار انجام شد.

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

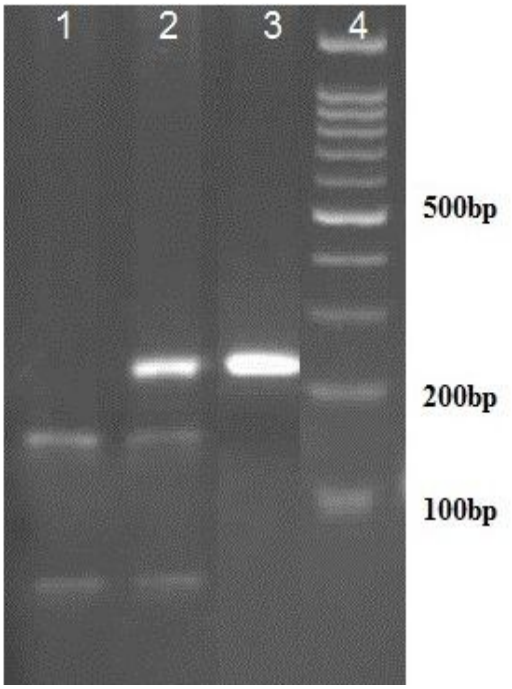
جدول (۱): برنامه مراحل انجام PCR

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

محصول حاصل از PCR توسط آنزیم محدودالاثر MSPA1I مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. بدین منظور ۱۲ میکرولیتر از محصول PCR، ۰/۲ میکرولیترآنزیم MSPA1I، ۲ میکرولیتربافر NEBuffer 4 (1X)، 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 به‌دست‌آمده، ۱۰ نمونه از هرکدام از ژنوتیپ‌های مختلف تعیین توالی شدند. اطلاعات به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS(Ver21) مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه ژنوتیپ‌های به‌دست‌آمده 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

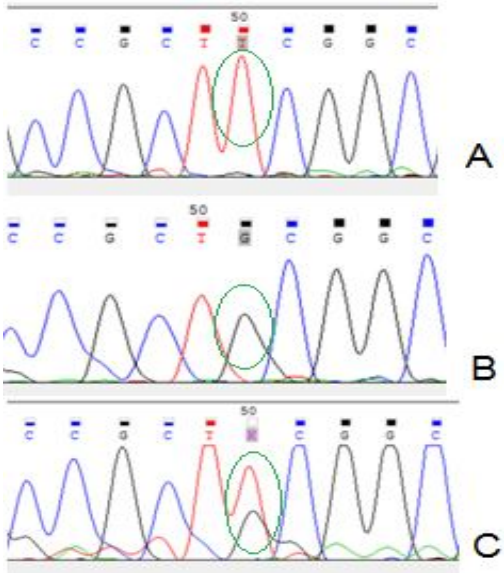
در این تحقیق پس از استخراج DNA و انجام PCR، محصول حاصل با استفاده از آنزیم MspA1I مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. چنانچه برای نمونه موردبررسی در موقعیت باز ۳۰۹ منطقه پروموتوری ژن MDM2 از هر دو کروموزوم جایگاه برش آنزیمی MspA1I وجود نداشته باشد (جایگاه موردمطالعه فاقد آلل G باشد)، فقط قطعه ۲۱۳ جفت بازی بر روی ژل مشاهده می‌شود پس ژنوتیپ نمونه موردنظر 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 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 MspA1I 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.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 13:06 +0430 on Monday September 16th 2019

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) زنوتیپ TT، (B) ژنوتیپ GG و (C) ژنوتیپ TG را نشان می‌دهد.

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 موردبررسی مشاهده می‌شود. نتایج آماری نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین فراوانی آللی گروه کنترل و بیمار وجود دارد.P-value برابر ۰/۰۰۱ بود و نشان می‌دهد که بین پلی‌مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و بیماری ALL ازنظر آللی هم همراهی وجود دارد (جدول ۲).

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

فراوانی آللی	بیمار	کنترل	OR	CI 95%	P-value
T	۶۶ (٪۳۶)	۱۷۰ (٪۷۳)	-	-	
G	۱۵۸ (٪۶۴)	۶۰ (٪۲۷)	۲/۵۷	۲/۰۳-۳/۲۶	۰/۰۰۱
کل	۲۲۴	۲۳۰			

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 ژنوتیپ-های TT، TG وGG در این مطالعه در گروه بیمار به ترتیب ۱۰ درصد، ۴۲ درصدو ۴۸ درصد و در گروه کنترل ۶۳ درصد، ۲۲ درصد و ۱۵ درصد به دست آمد. نتایج 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 پلی‌مورفیسم جایگاه ۳۰۹ ژن MDM2 و بیماری ALL ازنظر ژنوتیپی همراهی وجود دارد.

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

فراوانی ژنوتیپی N%	بیمار N	کنترل N	کل N	OR(CI 95%)	P-value
TT	۱۲ (٪۱۰)	۷۲ (٪۶۳)	۸۴ (٪۳۶/۵)	-	
TG	۴۸ (٪۴۲)	۲۶ (٪۲۲)	۷۴ (٪۳۲)	۱۱/۰۷ (۵/۰۱-۲۴/۰۵)	۰/۰۰۱
GG	۵۵ (٪۴۸)	۱۷ (٪۱۵)	۷۲ (٪۳۱/۵)	۱۸/۰۶ (۷/۹۵-۴۵/۰۳)	۰/۰۰۱
کل N	۱۱۵ (٪۱۰۰)	۱۱۵ (٪۱۰۰)			

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 13:06 +0430 on Monday September 16th 2019

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه پروتئین MDM2 یک تنظیم‌کننده پروتئین P53 می‌باشد لذا افزایش بیان آن در سلول به‌وسیله 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. ازآنجایی‌که اکثراً بیان بالای پروتئین MDM2 در سلول‌ها به دلیل ترجمه رونوشت‌های مربوط به منطقه تحت کنترل پروموتر P2 می‌باشد، پلی‌مورفیسم‌های موجود در منطقه P2 بیشترین تأثیر را در بیان بالای پروتئین و افزایش خطر ابتلا به سرطان دارند .جایگاه‌های پلی‌مورفیسمی متعددی ازجمله T/A 344، T/G 309 و G/C۲۸۵ در منطقه پروموتری P2 شناسایی شده‌اند(۱۶). جایگزینی نوکلئوتید T توسط G در جایگاه ۳۰۹ باعث افزایش تمایل اتصالی پروتئین تحریکی ۱ (SP1) به منطقه پروموتر 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، ۱۷).

لوسمی حاد لنفوئیدی شایع‌ترین نوع لوسمی در کودکان است. این نوع لوسمی بیش از چهل مـورد 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 قابل‌توجه 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). بااین‌وجود 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 این‌که 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) ازجمله 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 بیمارALL 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:

1. 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.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 13:06 +0430 on Monday September 16th 2019

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.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 13:06 +0430 on Monday September 16th 2019

Original Article

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

Mohammad Mohammadi[1], Elham Rostami[2], Shahram Baghery[3]*

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

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 13:06 +0430 on Monday September 16th 2019

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*