دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هفدهم، شماره ۴، صفحه ۵۹۲ – ۵۸۲ (مهر و آبان ۱۳۹۳)

ISMJ 2014; 17(4): 582-592

تعیین فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم CYP ۲E۱*۵B در جمعیت عمومی جنوب غرب ایران

فاطمه زنگنه [۱]، امیر جلالی [۱*]، حمید گله‌داری [۲]، غزاله محمدزاده شهریاری [۲]، محمدطه جلالی [۳]، جواد محمدی‌اصل [۴]

[۱] گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، مرکز تحقیقات سم‌شناسی، دانشگاه جندی شاپور اهواز
[۲] گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۳] گروه بیوشیمی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه جندی شاپور اهواز
[۴] گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات سم‌شناسی، دانشگاه جندی شاپور اهواز

(دریافت مقاله: ۹۱/۷/۱۷- پذیرش مقاله: ۹۱/۳/۲)

چکیده

زمینه: سیتوکروم P۴۵۰۲E۱(CYP۲E۱) آنزیمی اصلی است که نقش عمده‌ای در فعال‌سازی و سمیت‌زدایی بسیاری از ژنوبیوتیک‌ها، سرطان‌زاها (کارسینوژن‌ها) و داروها ایفا می‌کند. بررسی انواع پلی‌مورفیسم در CYP۲E۱ به‌عنوان یک ضرورت اولیه خطر ابتلا به انواع سرطان در صورت تماس با ترکیبات کارسینوژن، یافته‌های متفاوتی داشته است. هدف از این بررسی تعیین فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم CYP۲E۱*۵B در جمعیت ایرانی و مقایسه با سایر جمعیت‌های دنیا بود.

مواد و روش‌ها: بررسی کنونی در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز انجام شد. در این پژوهش پلی‌مورفیسم CYP۲E۱*۵B (rs۳۸۱۳۸۶۷؛ G-۱۲۹۳C) در۲۰۰ نفر (۱۰۰ زن و ۱۰۰ مرد) از افراد مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر اهواز با روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری مجذور کای و معادله هاردی- واینبرگ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های (c۱/c۱) ۱A*، (c۱/c۲) ۵B*/ ۱A* و (c۲/c۲) ۵B*/۵B* به‌ترتیب ۳/۹۷ و ۰ درصد به‌دست آمد. فراوانی الل (c۱) ۱A* و (c۲) ۵B* نیز ۹۸/۵ و ۱/۵ درصد محاسبه شد. در نتایج حاصل از بررسی این پلی‌مورفیسم تفاوت معنی‌داری بین دو جنس مشاهده نشد (در این مطالعه، مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد).

نتیجه‌گیری: توزیع ژنوتیپی CYP۲E۱*۵ B با ترکیه و تعدادی از جمعیت‌های اروپایی شباهت داشت در حالی که اختلاف معنی‌دار با جمعیت‌های آسیای شرقی، آمریکایی و تعدادی از جمعیت‌های اروپایی مشاهده شد. جنسیت در توزیع اللی این پلی‌مورفیسم نقشی ندارد.

واژگان کلیدی: پلی‌مورفیسم، CYP۲E۱*۵B، ژنوتیپ، فراوانی‌های اللی، ایران

* اهواز، جاده گلستان، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

E-mail: amjalali@hotmail.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

مقدمه

آنزیم‌های سیتوکروم ۴۵۰، آنزیم‌های مونو اکسیژناز اصلی مسئول متابولیسم اغلب مواد آندوژن، داروها و سایر مواد شیمیائی در فاز اول هستند. این آنزیم‌ها در متابولیسم ترکیبات خارجی شامل داروها، افزودنی‌های غذایی، حلال‌های صنعتی و آلاینده‌های محیطی نقش دارند (۳-۱).

در برخی شرایط، این آنزیم‌ها مسئول فعال‌سازی متابولیک ترکیبات پیش سرطان‌زا (پروکارسینوژن) به ترکیبات سرطان‌زا (کارسینوژن) می‌باشند. بر همین اساس وجود پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی این آنزیم می‌تواند منجر به تغییر فعالیت آن در برابر ترکیبات سرطان‌زای شیمیائی و یا طبیعی شود. برای روشن شدن اهمیت تعیین پلی‌مورفیسم (فارماکوژنتیک)، بررسی‌های گوناگونی در مورد فارماکوژنتیک آنزیم‌های فاز اول متابولیسم کننده مواد سمی و داروئی انجام شده است. CYP۲E۱ نقش عمده در متابولیسم، فعال‌سازی (سمیت‌زائی) و سم‌زدایی برخی از ترکیبات با وزن مولکولی کم مانند اتانول (۶-۴)، استن، داروهایی مانند استامینوفن، ایزونیازید، بیهوش‌کننده‌های فلورینه و شماری از ترکیبات پروکارسینوژن مانند بنزن، NMDA[1]، استیرن، اورتان و اکریلونیتریل دارد و به‌همین علت در سم‌شناسی مورد توجه خاص قرار گرفته است. این سیتوکروم می‌تواند توسط اتانول، بنزن، پیریدین، ایزونیازید و نیز در برخی شرایط پاتوفیزیولوژیک همچون دیابت، چاقی و گرسنگی القا شود (۱، ۲ و ۹-۷).

ژن CYP۲E۱ انسانی در ناحیه ۱۰q۲۴/۳-qter کروموزوم شماره ۱۰، شامل؛ ۱۱۴۱۳ جفت باز همراه با ۹ اگزون و ۸ اینترون، کد کننده یک پروتئین ۴۹۳ آمینواسیدی می‌باشد. بیشترین توزیع بافتی آن در کبد و به‌میزان کمتر در بافت‌های شش، کلیه، موکوس بینی، مغز، مغز استخوان و قلب بیان می‌شود. این ژن دارای ۱۳ آلل بوده که از این میان بیشترین بررسی‌ها بر روی CYP۲E۱*۵B (SNP C-۱۰۵۳T/G-۱۲۹۳C، Rsal/PstI RFLP rs۲۰۳۱۹۲۰/rs۳۸۱۳۸۶۷) انجام شده است (۱ و ۱۰). مطالعه و تعیین پلی‌مورفیسم اخیر به‌عنوان عامل فعال‌کننده و یا محافظت‌کننده در برابر تماس با ترکیبات زنوبیوتیک، دارویی و کارسینوژن ثابت شده اهمیت بیشتری دارد. این پلی‌مورفیسم در افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های حاصل از تماس با مواد شیمیایی و ایجاد انواع سرطان شامل سرطان دستگاه گوارش، سر و گردن، ریه، کلورکتال، دهان، مری و پستان نقش دارد (۸ ، ۱۵-۱۱).

بررسی‌های مختلف نشان دهنده اهمیت بررسی انواع ژنوتیپ SNP[2] سیتوکروم CYP۲E۱*۵B در ارزیابی سمیت دارویی و تماس شغلی محیطی با انواع ترکیبات کارسینوژن می‌باشد (۸). هدف این مطالعه تعیین فراوانی اللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم CYP۲E۱*۵B در جمعیت ایرانی جهت مقایسه با جمعیت‌های دیگر مطالعه شده می‌باشد. از آنجائی‌که اطلاعات چندانی در ارتباط با میزان خطر در مواجهه با مواد شیمیائی سرطان‌زا در کشور ما در دسترس نیست، یافته‌های این بررسی از این جهت نیز دارای اهمیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش که یک بررسی اپیدمیولوژیک تحلیلی می‌باشد، در فاصله زمانی فروردین تا بهمن ماه سال

[1] N-nitrosodimethylamine

[2] Single-Nucleotide Polymorphism

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

۱۳۹۰ در دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز اجرا شد. این بررسی بر روی ۲۰۰ نفر از افراد سالم مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های شهر اهواز در محدوده سنی ۸۴-۱ سال شامل ۱۰۰ زن (میانگین سنی ۱۹/۹۶±۴۰/۸۷ سال، محدوده سنی ۸۴-۳ سال) و ۱۰۰ مرد (میانگین سنی ۲۳/۳۴±۴۱/۵۹ سال، محدوده سنی ۷۹-۱ سال) انجام شد. از تمامی افراد در ابتدای مطالعه رضایت‌نامه آگاهانه اخذ شد.

جهت جلوگیری از لخته شدن خون تا زمان استخراج DNA، نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از افراد مورد پژوهش، در لوله‌های حاوی EDTA در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جداسازی DNA ژنومی از خون محیطی با استفاده از کیت استخراج DNA (DIAtom DNA Prep.- شرکت ژن فرآوران) از خون محیطی انجام شد. محل پلی‌مورفیسم ژن به‌طول ۵۷۶ جفت باز به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و با استفاده از پرایمرهای مستقیم 5′- ACCCCAATGGGTGTCTGTC -3′ و معکوس 5′-TCATTCTGTCTTCTAACTGGCAAT -3′ تکثیر شد.

واکنش PCR بر روی ۲۵ میکرولیتر حجم نهایی حاوی ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر باغلظت (۲۵Pm)، ۴ میکرولیتر ژنوم DNA استخراج شده با غلظت ۳۰۰- ۲۰۰ نانوگرم، ۲/۵ میکرولیتر بافر واکنش با غلظت ۱۰X، ۰/۵ میکرولیتر dNTP با غلظت (۱۰Mm)، ۱ میکرولیتر کلرید منیزیوم با غلظت ۵۰ میلی‌مول، ۱ واحد DNA Taq پلی‌مراز، و ۱۱/۸ میکرولیتر آب دیونیزه انجام شد. برنامه حرارتی PCR در دستگاه ترموسایکلر (Biorad®) بدین‌ترتیب انجام شد: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴°C به‌مدت ۳ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل در دمای°C ۹۴ جهت دناتوراسیون به‌مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۵۲°C جهت اتصال پرایمرها به‌مدت ۴۰ ثانیه، دمای ۷۲°C جهت طویل شدن به‌مدت ۳۰ ثانیه و پس از آن طویل شدن نهایی در دمای °C ۷۲ به‌مدت ۵ دقیقه انجام شد. بعد از انجام واکنش PCR و تأیید یک باند در موقعیت ۵۷۶ جفت باز که نشان‌دهنده تکثیر قطعه مورد نظر می‌باشد، ۱۰ میکرولیتر محصول PCR با ۱۰ واحد آنزیم محدودکننده PstI (Restriction enzyme) ساخت شرکت vivantis® مالزی با تکنیک چند شکلی طولی قطعات محدود شونده (RFLP) به‌مدت ۱۶ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در ادامه محصول RFLP بر روی ژل ۲ درصد آگارز الکتروفورز شد. در مورد محصولات PCR که توسط آنزیم PstI انکوباسیون شد، سه حالت بررسی شد (۱۳).

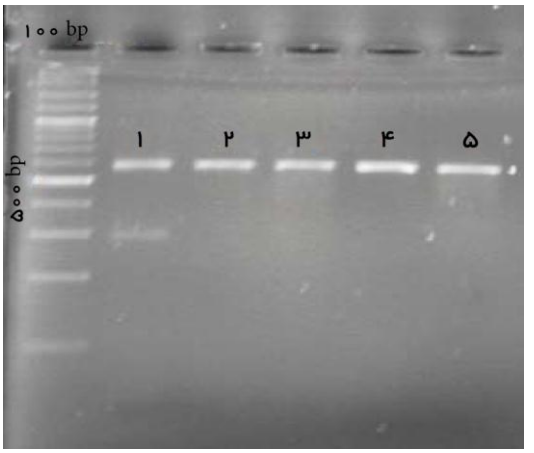
۱-وجود آلل نرمال یا تیپ وحشی (c۱) در هر دو رشته DNA که در این صورت با توجه به توالی آنزیم سایت برش در هیچ یک از دو رشته وجود ندارد. در این حالت پس از الکتروفورز محصول RFLP بر روی ژل یک باند ۵۷۶ جفت بازی قابل رؤیت است که نشان‌دهنده ژنوتیپ (c۱/c۱) CYP۱A/*۱A*.

۲-حالت دیگر وجود یک سایت برش در یکی از دو رشته است که در این صورت پس از الکتروفورز بر روی ژل آگاروز یک باند ۵۷۶ جفت بازی مربوط به رشته برش نخورده (الل c۱) و دو باند ۲۸۲ و ۲۹۴ جفت بازی (الل c۲)، مربوط به رشته برش خورده DNA قابل شناسایی است که بیانگر ژنوتیپ هتروزیگوت CYP۲E۱*۱A/*۵B(c۱/c۲) می‌باشد.

۳) در صورت وجود سایت برش آنزیم PstI در هر دو رشته، دو باند ۲۸۲ و ۲۹۴ جفت بازی ایجاد می‌شود که نشان‌دهنده ژنوتیپ نادر CYP۲E۱*۱A/*۵B(c۱/c۲) است (تصویر ۱).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

به‌منظور تأیید کامل یافته‌های به‌دست آمده ۴ نمونه دارای الل تغییر یافته و نرمال به‌صورت تصادفی انتخاب شد و جهت تعیین توالی به آزمایشگاه نرجس اهواز فرستاده شد که در پایان یافته‌ها مؤید صحت تکنیک RFLP بود.



تصویر ۱) الکتروفورز محصول RFLP برروی ژل آگاروز ۲/۵ درصد. شماره ۱ هتروزیگوت c۱/c۲ با ۳ باند ۵۷۶، ۲۸۲ و ۲۹۴ جفت بازی که به‌دلیل فاصله کم بازی دو باند قادر به تفکیک نبوده‌اند. شماره ۲ تا ۵ هموزیگوت c۱/c۱ با باند ۵۷۶ جفت باز می‌باشد.

از افراد سالم مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، برای وارد شدن در این مطالعه سئوال شد. تمام بیماران یک پرسشنامه تهیه شده را پر و از آن‌ها رضایت‌نامه کتبی گرفته شد. نمونه‌های خون و DNA با کد شماره‌گزاری و نام مراجعین فقط در نزد مجری مسئول، به‌صورت محرمانه بایگانی شد. در صورت اعلام انصراف از ادامه همکاری، نمونه فرد از طرح خارج می‌شد. هیچ‌گونه هزینه‌ای برای انجام این آزمایشات از بیماران دریافت نشد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری مجذور کای و معادله هاردی- واینبرگ تجزیه و تحلیل شدند. احتمال P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

جدول ۱ نشان‌دهنده توزیع ژنوتیپی و فراوانی آلل‌های c۱ و c۲ است. درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در کل جمعیت مورد مطالعه برای ژنوتیپ‌های هموزیگوت تیپ وحشی *۱A/*۱A(c۱/c۱) و هتروزیگوت *۱A/*۵B(c۱/c۲) به‌ترتیب ۹۷ و ۳ درصد مشاهده شد. در صورتی که ژنوتیپ هموزیگوت تغییریافته *۵B(c۲/c۲) (Homozygote mutated variant genotype) در جمعیت مورد بررسی دیده نشد. درصد فراوانی آللی در کل جمعیت مورد بررسی ۹۸/۵ برای آلل *۱A(c۱) و ۱/۵ درصد برای آلل *۵B(c۲) به‌دست آمد. فراوانی ژنوتیپی مورد انتظار توسط معادله هاردی- واینبرگ محاسبه شد که بنابر آن تمام فراوانی‌های ژنوتیپی از تعادل پیروی کرده‌اند (جدول ۱).

جدول ۱) مقایسه فراوانی ژنوتیپ و آلل‌های مختلف پلی‌مورفیسم CYP۲E۱*۵B بررسی شده در جمعیت ایرانی

پلی‌مورفیسم CYP۲E۱*۵B	ژنوتیپ	فراوانی مشاهده شده ٪ (تعداد)	فراوانی مورد انتظار در معادله هاردی-واینبرگ	نوع آلل	فراوانی مشاهده شده٪ (تعداد)
هموزیگوت نرمال	*۱A/۱A(c۱/c۱)	۹۷ (۱۹۴)	۹۷/۰۲	*۱A(c۱)	۹۸/۹۵ (۳۸۸)
هتروزیگوت	*۱A/*۵B(c۱/c۱)	۳. (۶)	۲/۹۵	*۵B(c۲)	۱/۵ (۱۲)
هموزیگوت تغییر یافته			۰/۰۲		
کل		۲۰۰			۴۰۰

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

جدول ۲ نشان‌دهنده توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی در بین زن و مرد است که تفاوت معنی‌داری از نظر جنسیت در بین دو گروه مشاهده نشد. همان‌گونه در جدول ۲ مشاهده می‌شود مهم‌ترین و فراوان‌ترین ژنوتیپ در هر دو جنس زن و مرد ایرانی، *۱A/*۱A(c۱/c۱) می‌باشد که فراوانی آن در جنس زن و مرد به‌ترتیب ۹۶ و ۹۸ درصد مشاهده شد. فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت *۱A/*۵B(c۱/c۲)در دو جنس زن و مرد ایرانی، به‌ترتیب ۴ و ۲ درصد مشاهده شد. ژنوتیپ هموزیگوت تغییریافته *۵B/*۵B(c۲/c۲) در هیچ یک از دو جنس ایرانی مشاهده نشد.

جدول ۲) مقایسه فراوانی ژنوتیپ و آلل‌های مختلف پلی‌مورفیسم CYP۲E۱*۵B در بین زن و مرد

جنس	فراوانی ژنوتیپی			تعداد	فراوانی آلل		P.value
	*۱A/*۱A (c۱/c۱)	*۱A/*۵B (c۱/c۲)	*۵B/*۵B(c۲/c۲)		*۱A(c۱)	*۵B(c۲)	
زن	۹۶	۴	۰	۱۰۰	۹۸	۲	NS
مرد	۹۸	۲	۰	۱۰۰	۹۹	۱	

NS نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در فراوانی‌های ژنوتیپی وجود ندارد.

بحث

CYP۲E۱ تقریباً حدود ۷ درصد از ایزوفرم‌های سیتوکروم P۴۵۰ را تشکیل می‌دهد. این سیتوکروم دارای پیش سازهای اختصاصی می‌باشد و توسط ترکیبات کارسینوژن و سم قابل القاء است. بر همین اساس ب این سیتوکروم اهمیت بالائی در پزشکی و سم‌شناسی محیطی و صنعتی دارد. این سیتوکروم همچنین نقش مهمی در متابولیسم داروها و بسیاری از ژنوبیوتیک‌ها با وزن مولکولی کم را به‌عهده دارد. ژن CYP۲E۱ دارای چندین پلی‌مورفیسم می‌باشد که این پلی‌مورفیسم‌ها موجب افزایش حساسیت و استعداد ژنتیکی ایجاد سرطان در مواجهه با مواد سمی و کارسینوژن می‌شود (۱). اختلافات میان فردی در پاسخ دارویی و متابولیسم ترکیبات زنوبیوتیک با این سیتوکروم ثابت شده است (۲). برخی از این پلی‌مورفیسم‌ها می‌توانند فاکتورهای خطر و استعداد ابتلا به بیماری‌هایی چون سرطان و واکنش‌های مضر دارویی (ADRs) باشند. این مطلب اهمیت پلی‌مورفیسم‌های ژنی محصولات کدشونده (آنزیم‌های متابولیزکننده) ترکیبات زنوبیوتیک از جمله سیتوکروم P۴۵۰ را در سمیت ناشی از داروها و مواد شیمیایی را نشان می‌دهد (۱، ۱۰ و ۱۶).

با وجود مطالعات اخیر بر روی انواع پلی‌مورفیسم‌های این سیتوکروم، نقش پلی‌مورفیسم CYP ۲E۱*۵B در ایجاد استعداد فردی ابتلا به سرطان در مواجهه با انواع ترکیبات کارسینوژن شناخته‌شده مانند وینیل کلرید (۲) در جمعیت‌های مختلف مورد بحث است.

از بین ۲۰۰ نفر از افراد مورد مطالعه، ۹۷ درصد دارای ژنوتیپ هموزیگوت (c۱/c۱) و ۳ درصد ژنوتیپ هتروزیگوت (c۱/c۲) بودند و هیچ فردی با ژنوتیپ هموزیگوت تغییریافته (c۲/c۲) مشاهده نشد.

بنابر ارزیابی‌های انجام‌شده، فراوانی الل تغییریافته (c۲) در آسیای شرقی ۳۶-۲۳ درصد و در سفیدپوستان ۸-۲ درصد گزارش شده است (۱).

یافته‌های این بررسی نبود تفاوت معنی‌دار در توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی بین زن و مرد را نشان می‌دهد.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

این مطالعه همانند بسیاری از مطالعات دیگر نشان‌دهنده عدم تفاوت و استعداد ژنتیکی جنسیتی در القاء انواع بیماری مانند سرطان در تماس با انواع مواد شیمیائی می‌باشد (۱، ۶، ۱۷ و ۳۱).

فرکانس پلی‌مورفیسم CYP۲E۱ همانند اغلب آنزیم‌های متابولیز کننده دارای اختلاف در میان جمعیت‌ها و نژادهای مختلف است. بر همین اساس توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی جمعیت ایرانی این مطالعه با سایر جمعیت‌ها مقایسه شد. همان‌گونه که در جدول ۳ دیده می‌شود فراوانی ژنوتیپی **CYP ۲E۱*۵B** جمعیت ایرانی مشابه با جمعیت‌های ترکیه، آلمان، انگلیس، هند، فرانسه و لهستان بوده و اختلاف معنی‌داری را با جمعیت‌های سوئد، شیلی، برزیل، ایتالیا، سفید پوستان آمریکا، جمعیت آمریکایی- آفریقایی و آمریکایی- مکزیکی، چین، ژاپن، تایلند و اسپانیا نشان می‌دهد (۱، ۶، ۱۷ و ۳۱).

جدول ۳) بررسی مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف CYP ۲E۱*۵B این مطالعه با سایر جمعیت‌های مختلف بررسی شده

جمعیت	تعداد	فراوانی ژنوتیپی CYP ۲E۱*۵B(٪)			P.value	نویسنده سال
		*۱A/*۱A (c۱/c۱)	*۱A/*۵B (c۱/c۲)	*۵B/*۵B(c۲/c۲)		
سوئد	۱۴۸	۹۰	۹	۱	<۰/۰۰۰۱	Persson et al,1993(17)
ترکیه	۲۰۶	۹۶/۱۲	۳/۸۸	۰	NS	UIusoy et al,2007(1)
ایتالیا*	۲۴۵	۹۳/۰۶	۶/۱۲	۰/۴	۰/۰۳۷۴	Boccia et al,2008(18)
آلمان	۲۹۷	۹۴/۹	۳/۴	۰/۷	NS	Neuhaus et al,2004(19)
شیلی*	۱۴۸	۷۱	۲۷	۲	<۰/۰۰۰۱	Quinones et al,2001(20)
برزیل*	۱۴۵	۷۲/۴۱	۱۱/۰۳	۰	<۰/۰۰۰۱	Olivieri et al,2009(21)
انگلیس	۱۵۵	۹۶/۸	۳/۲	۰	NS	Yang et al,2001(6)
هند	۳۵۰	۹۸	۲	۰	NS	Ruwali et al,2009(22)
امریکای سفید*	۱۲۲۶	۹۲/۷	۷/۰۱	۰/۲۴	۰/۰۱۸۲	Li et al,2005(23)
امریکای مکزیکی*	۹۲	۷۰/۶	۲۸/۳	۱/۱	<۰/۰۰۰۱	Wu et al,1997(24)
امریکای افریقایی*	۱۱۴	۸۶/۸	۱۲/۳	۰/۹	<۰/۰۰۰۱	Wu et al,1997(24)
چین*	۱۲۲	۵۱/۶	۴۳/۵	۴/۹	<۰/۰۰۰۱	Persson et al,1999(25)
ژاپن*	۲۴۱	۶۶/۶	۲۹/۰۴	۲/۹	<۰/۰۰۰۱	Sugimura et al,2006(26)
تایوان*	۲۳۱	۵۸	۳۵/۱	۶/۹	<۰/۰۰۰۱	Wang et al,1999(27)
تایلند*	۲۹۷	۶۳/۶	۳۴/۶۸	۱/۶۸	<۰/۰۰۰۱	Kongruttanachok
فرانسه	۱۷۲	۹۵/۳	۴/۶	۰	NS	al,2001(28)
اسپانیا*	۲۰۰	۸۹/۵	۱۰/۵	۰	۰/۰۰۰۸	Bouchardy et al,2000(29)
لهستان	۳۱۶	۹۶/۵	۵/۶	۰	NS	González et al,1998(30)
ایران (این مطالعه)	۲۰۰	۹۸	۳	۰		Gajecka et al,2005(31)

*نشان‌دهنده معنی‌دار فراوانی ژنوتیپ با جمعیت ایرانی بررسی شده است.

NS: نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار فراوانی ژنوتیپ با جمعیت ایرانی بررسی شده است.

این تفاوت‌ها می‌تواند نشان‌دهنده اثرات محیط و رژیم غذائی در توزیع انواع پلی‌مورفیسم مشاهده شده در CYP۲E۱ باشد. پیشنهاد می‌شود با توجه به پایین بودن تعداد افراد مورد بررسی در این مطالعه، مطالعات بعدی با تعداد نمونه بیشتر جهت دستیابی به نتایج دقیق‌تر انجام شود، همچنین اختلافات قومیتی (عرب و غیرعرب) و مطالعه بر روی جمعیت کارگران شاغل در مناطق مختلف صنعتی با توجه به اثر این پلی‌مورفیسم در تولید متابولیت‌های سمی از آلاینده‌ها مورد بررسی قرار گیرد. همچنین انجام مطالعات

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

همراهی این SNP با بیماری‌های القا شده توسط مواد شیمیایی و بیماری‌هایی نظیر کبدالکلی و غیر الکلی ضروری به‌نظر می‌رسد.

این آنزیم، مهم‌ترین آنزیم متابولیزکننده ترکیب اول سرطان‌زای شناخته شده شیمیائی دنیا، بنزن می‌باشد، بنابراین پلی‌مورفیسم این آنزیم می‌تواند نقش مهمی در استعداد ژنتیکی به سمیت خونی و لوکمی ناشی از تماس با بنزن باشد. بنزن ترکیبی است که در صنایع مختلف پتروشیمی و نفتی و نیز صنایع دیگر تولیدی، کاربرد گسترده دارد. CYP۲E۱ در تولید متابولیت‌های سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک بنزن در کبد نقش مهمی دارد (۳۲ و ۳۳). در یک مطالعه هدفمند، ارتباط پلی‌مورفیسم CYP۲E۱ با میزان دفع ادراری دو متابولیت اختصاصی بنزن، ترانس، ترانس موکونیک اسید (TMA) و S-فنیل مرکاپتوریک اسید (SPMA) بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که در مواجهه اندک با بنزن، دفع ادراری TMA و SPMA با پلی‌مورفیسم CYP۲E۱ ارتباط معنی‌داری ندارد. ظاهراً جنسیت، مصرف سیگار، عادات غذائی و نیز نوع زندگی تأثیر بیشتری بر میزان متابولیسیم بنزن در مواجهه با مقادیر اندک آن دارد (۳۴).

نتایج مطالعه اخیر بر تشخیص بیومارکرهای ژنتیکی آسیب در صورت تماس بالا با بنزن و سایر ترکیبات مشابه تأکید دارد.

برخی از مطالعات هدفمند اخیر بر روی تفاوت فراوانی آلل CYP۲E۱*۵ B در جمعیت‌ها استوار است. فراوانی این آلل در جمعیت اروپائی در حدود ۵ درصد گزارش شده است. ارتباط میان این نوع پلی‌مورفیسم ژنتیکی با میزان بیان و در نتیجه متابولیسم ترکیبات شیمیائی به‌خوبی نشان داده شده است (۳۵ و ۳۶).

بررسی‌های بیشتر بر روی این ارتباط، بر روی جمعیت‌های دیگر به ویژه شرق دور ادامه دارد. در یک بررسی مشخص شد که میزان دفع ادراری ترکیب سرطان‌زا شناخته شده استیرن در افراد با ژنوتیپ هتروزیگوت ۱A/*۵B(c۱/c۲)* در مقایسه با ژنوتیپ هموزیگوت تیپ وحشی ۱A/*۱A(c۱/c۱)* کمتر می‌باشد. این یافته به خوبی نشان‌دهنده تفاوت دفع ادراری ترکیب سرطان‌زا شناخته شده استیرن، در افراد با ژنوتیپ هتروزیگوت می‌باشد (۳۷). از آنجائی‌که ژنوتیپ هموزیگوت تغییریافته ۵B/*۵B(c۲/c۲)* در جمعیت ایرانی دیده نشد، می‌توان نتیجه گرفت که جمعیت ایرانی قادر به متابولیسم و دفع ادراری این ترکیب سرطان‌زا می‌باشند.

به‌نظر می‌رسد که افراد با آلل c۲ دارای فعالیت آنزیمی بیشتر برای فعال کردن ترکیبات کارسینوژن و ایجاد سرطان در مقایسه با افراد بدون این آلل هستند. این تفاوت در سرطان دستگاه گوارش نشان داده شده است (۳۸). این مطالعه در ارزیابی آینده نقش انواع پلی‌مورفیسم CYP۲E۱ در افراد مبتلا به سرطان جمعیت ایرانی، سودمند می‌باشد.

جمعیت منطقه جنوب غرب، دارای تنوع ژنتیکی و شامل گروه‌های مختلف جمعیتی به‌ویژه لر، فارس و همچنین عرب می‌باشد. با توجه به تفاوت پلی‌مورفیسم این سیتوکروم در جمعیت‌های مختلف، این مطالعه بر روی یک جمعیت ۲۰۰ نفری از گروه‌های جمعیتی و قومی مختلف منطقه انجام شد.

بر همین اساس یافته‌های بررسی پیش رو به‌عنوان معیار مناسب جامعه ایرانی محسوب می‌شود. هدف اصلی این مطالعه، تلاش برای ارزیابی دقیق از فراوانی پلی‌مورفیسم در یک جمعیت می‌باشد. مطالعات جمعیتی به این شکل می‌تواند در ارزیابی حساسیت جمعیت‌های مختلف به

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

بیماری‌های همراه با پلی‌مورفیسم CYP۲E۱ و تعیین ضرورت طراحی پروتکل‌های درمانی و سم‌شناسی کاهنده آسیب، مفید باشد (۳۹). اما برای دستیابی به ارزیابی دقیق‌تر از ارتباط میان انواع پلی‌مورفیسم CYP۲E۱ با انواع سرطان‌ها مخصوصاً سرطان در کارگران صنایع مختلف مواجه و افزایش توان آماری مطالعه، جامعه آماری بزرگتر و یا مطالعات مورد-شاهدی پیشنهاد شود.

سپاس و قدردانی

نتایج این طرح بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد سم‌شناسی انجام شده در مرکز تحقیقات سم‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز است. هزینه انجام طرح توسط معاونت پژوهشی دانشگاه جندی شاپور اهواز پرداخت شده است. از کلیه کارشناسان گروه ژنتیک دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز و نیز آزمایشگاه‌های تشخیص طبی اهواز قدردانی می‌شود.

References:

1.Ulusoy G, Arinc E, Adali O. Genotype and allele frequencies of polymorphic CYP2E1 in the Turkish population. Arch Toxicol 2007; 81: 711-8.
2.Tang K, Li X, Xing Q, et al. Genetic polymorphism analysis of cytochrome P4502E1 (CYP2E1) in Chinese Han populations from four different geographic areas of Mainland China. Genomics 2010; 95: 224-9.
3.Lieber CS. Cytochrome P-4502E1: its physiological and pathological role. Physiol Rev 1997; 77: 517-44.
4.Roberts BJ, Song BJ, Soh Y, et al. Ethanol induces CYP2E1 by protein stabilization. Role of ubiquitin conjugation in the rapid degradation of CYP2E1. J Biol Chem 1995; 270: 29632-5.
5.Kim KW, Shinetugs B, Heo kH, et al. Polymorphisms of alcohol metabolizing enzyme and cytochrome P4502E1 genes in Mongolian population. Genes Genomics 2009; 31: 377-85.
6.Yang B, O'Reilly DA, Demaine AG, et al. Study of polymorphisms in the CYP2E1 gene in patients with alcoholic pancreatitis. Alcohol 2001; 23: 91-7.
7.Thier R, Lewalter J, Selinski S, et al. Possible impact of human CYP2E1 polymorphisms on the metabolism of acrylonitrile. Toxicol Lett 2002; 128: 249-55.
8.Niu Y, Yuan H, Leng W, et al. CYP2E1 Rsa I/Pst I polymorphism and esophageal cancer risk: a meta- analysis based on 1,088 cases and 2,238 controls. Med Oncol 2011; 28: 182-7.
9.Coura RdS, Marques CdFtS, Koifman RJ, et al. CYP1A1 and CYP2E1 polymorphism frequencies in a large Brazilian population. Genet Mol Biol 2007; 30: 1-5.
10.Bolt HM, Roos PH, Thier R. The cytochrome P-450 isoenzyme CYP2E1 in the biological processing of industrial chemicals: consequences for occupational and environmental medicine. Int Arch Occup Environ Health 2003; 76: 174-85.
11.Wang Y, Yang H, Li L, et al. Association between CYP2E1 genetic polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. Eur J Cancer 2010; 46: 758-64.
12.Wu SH, Tsai SM, Hou MF, et al. Interaction of genetic polymorphisms in cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase M1 to breast cancer in Taiwanese woman without smoking and drinking habits. Breast Cancer Res Treat 2006; 100: 93-8.
13.Niu Y, Hu Y, Wu M, et al. CYP2E1 Rsa I/Pst I polymorphism contributes to oral cancer susceptibility: a meta-analysis. Mol Biol Rep 2012; 39: 607-12.
14.Lu D, Yu X, Du Y. Meta-analyses of the effect of cytochrome P450 2E1 gene polymorphism on the risk of head and neck cancer. Mol Biol Rep 2011; 38: 2409-16.
15.Zhou GW, Hu J, Li Q. CYP2E1 Pst I/RsaI polymorphism and colorectal cancer risk: A meta-analysis. World J Gastroenterol 2010; 16: 2949-53.
16.Liu S, Park JY, Schantz SP, et al. Elucidation of CYP2E1 5' regulatory RsaI/Pstl allelic variants and their role in risk for oral cancer. Oral Oncol 2001; 37: 437-45.
17.Persson I, Johansson I, Bergling H, et al.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

Genetic polymorphism of cytochrome P4502E1 in a Swedish population. Relationship to incidence of lung cancer. FEBS Lett 1993; 319: 207-11.
18.Boccia S, Cadoni G, Sayed-Tabatabaei FA, et al. CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 exons 3 and 4, and NAT2 polymorphisms, smoking, consumption of alcohol and fruit and vegetables and risk of head and neck cancer. J Cancer Res Clin Oncol 2008; 134: 93-100.
19.Neuhaus T, Ko YD, Lorenzen K, et al. Association of cytochrome P450 2E1 polymorphisms and head and neck squamous cell cancer. Toxicol Lett 2004; 151: 273-82.
20.Quiñones L, Lucas D, Godoy J, et al. CYP1A1, CYP2E1 and GSTM1 genetic polymorphisms. The effect of single and combined genotypes on lung cancer susceptibility in Chilean people. Cancer Lett 2001; 174: 35-44.
21.Olivieri EHR, da Silva SD, Mendonca FF, et al. CYP1A2*1C, CYP2E1*5B, and GSTM1 polymorphisms are predictors of risk and poor outcome in head and neck squamous cell carcinoma patients. Oral Oncol 2009; 45: e73-e9.
22.Ruwali M, Khan AJ, Shah PP, et al. Cytochrome P450 2E1 and head and neck cancer: interaction with genetic and environmental risk factors. Environ Mol Mutagen 2009; 50: 473-82.
23.Li G, Liu Z, Sturgis EM, et al. CYP2E1 G1532C, NQO1 Pro187Ser, and CYP1B1 Val432Leu polymorphisms are not associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14: 1034-6.
24.Wu X, Shi H, Jiang H, et al. Associations between cytochrome P4502E1 genotype, mutagen sensitivity, cigarette smoking and susceptibility to lung cancer. Carcinogenesis 1997; 18: 967-73.
25.Persson I, Johansson I, Lou YC, et al. Genetic polymorphism of xenobiotic metabolizing enzymes among Chinese lung cancer patients. Int J Cancer 1999; 81: 325-9.
26.Sugimura T, Kumimoto H, Tohnai I, et al. Gene-environment interaction involved in oral carcinogenesis: molecular epidemiological study for metabolic and DNA repair gene polymorphisms. J Oral Pathol Med 2006; 35: 11-8.
27.Wang SL, Lee H, Chen KW, et al. Cytochrome P4502E1 genetic polymorphisms and lung cancer in a Taiwanese population. Lung Cancer 1999; 26: 27-34.
28.Kongruttanachok N, Sukdikul S, Setavarin S, et al. Cytochrome P450 2E1 polymorphism and nasopharyngeal carcinoma development in Thailand: a correlative study. BMC Cancer 2001; 1: 4.
29.Bouchardy C, Hirvonen A, Coutelle C, et al. Role of alcohol dehydrogenase 3 and cytochrome P- 4502E1 genotypes in susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. Int J Cancer 2000; 87: 734-40.
30.Gonzalez MV, Alvarez V, Pello MF, et al. Genetic polymorphism of N-acetyltransferase-2, glutathione S-transferase-M1, and cytochromes P450IIE1 and P450IID6 in the susceptibility to head and neck cancer. J Clin Pathol 1998; 51: 294-8.
31.Gajecka M, Rydzanicz M, Jaskula-Sztul R, et al. CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, NAT2, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms or their combinations are associated with the increased risk of the laryngea squamous cell carcinoma. Mutat Res 2005;574:112-23.
32.Bernauer U, Vieth B, Ellrich R, et al. CYP2E1-dependent benzene toxicity: the role of extrahepatic benzene metabolism. Arch Toxicol 1999; 73: 189-96.
33.Seaton MJ, Schlosser PM, Bond JA, et al. Benzene metabolism by human liver microsomes in relation to cytochrome P450 2E1 activity. Carcinogenesis 1994; 15: 1799-806.
34.Verdina A, Galati R, Falasca G, et al. Metabolic polymorphisms and urinary biomarkers in subjects with low benzene exposure. J Toxicol Env Health 2001; 64: 607-18.
35.Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5' flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. J Biochem 1991; 110: 559-65.
36.Kim RB, Yamazaki H, Chiba K, et al. In vivo and in vitro characterization of CYP2E1 activity in Japanese and Caucasians. J Pharmacol Exp Ther 1996; 279: 4-11.
37.Prieto-Catello, Cardona A, Marhuenda D, et al. Use of the CYP2E1genotype and phenotype for the biological monitoring of occupational exposure to styrene. Toxicol Letter 2010; 192: 34-9.
38.Hung HC, Chuang J, Chien Y C, et al. Genetic polymorphisms of CYP2E1, GSTM1,

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

and GSTT1; environmental factors and risk of oral cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1997; 6: 901-5.
39.Chaleshtary JS, Moradi MT, Farrokhi E, et al. Study of P53 gene mutations in promoter and exons 2-4 and 9-11 in patient with gastric cancer by PCR-SSCP in Chaharmahal Va Bakhtiari province. ISMJ 2011; 14: 220-9.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]

ISMJ 2014; 17(4): 582-592

Original Article

Genotype and allelic frequencies of CYP2E1*5B polymorphism in the southwest population of Iran

F. Zanganeh [1], A. Jalali [1*], H. Galehdari [2], Gh. Mohammadzadeh Shahriary [2], MT. Jalali [3], J. Mohammadi-Asl [4]

[1]*Department of Pharmacology and Toxicology, Toxicology Research Center, Ahvaz Jundishapur University, Ahvaz, IRAN*
[2]*Department of Genetic, School of Sciences, Ahvaz Shahid Chamran University, Ahvaz, IRAN*
[3]*Department of Biochemistry, School of Paramedicine, Ahvaz Jundishapur University, Ahvaz, IRAN*
[4]*Department of Genetic, Toxicology Research Center, Ahvaz Jundishapur University, Ahvaz, IRAN*

(Received 8 Nov, 2011 Accepted 22 May, 2012)

Abstract

Background: Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) is a main enzyme which plays a major role in activating and detoxifying many xenobiotics, carcinogens and drugs. Available studies suggest that CYP2E1 single nucleotide polymorphisms (SNPs) are involved in the risk of developing certain cancers after exposure to carcinogens. The purpose of the present study was to assess genotype and allele frequencies of polymorphic CYP2E1*5B in the Iranian population.

Material and Methods: This study was performed on 200 healthy individuals (female: 100, male: 100) in medical laboratories of Ahvaz during 2011. The CYP2E1 *5B (rs3813867; G-1293C) assessment was carried out using PCR-RFLP method. The data were analyzed with κ^2 and hardy-Weinberg Equation statistically methods.

Results: The frequency of *1A/*1A (c1/c1), *1A/*5B (c1/c2) and *5B/*5B (c2/c2) genotypes was computed 97, 3 and 0 percent, respectively. The frequency of *1A (c1) and *5B (c2) alleles was computed 98.5 and 1.5 percent, respectively. No statistically significant difference was between two genders ($p>0.05$).

Conclusion: The genotype distribution and allele frequencies of CYP2E1*5B polymorphism were similar to Turkish and some of the European populations. However, there are significant interethnic differences when the Iranian population is compared with the Eastern Asian, American and some of the European populations. The allelic distribution of this polymorphism did not vary with gender.

Keywords: polymorphism, CYP2E1*5B, genotype, allele frequencies, IRAN

*****Address for correspondence*: Department of Pharmacology and Toxicology, Toxicology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical sciences, Ahvaz, IRAN; E-mail: amjalali@hotmail.com

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-10-12]