



ISMJ 2014; 17(4): 582-592

دوماهنامه طب 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)

تعیین فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم CYP2E1*5B در جمعیت عمومی جنوب غرب ایران

فاطمه زنگنه^۱، امیر جلالی^{۱*}، حمید گله داری^۲، غزاله محمدزاده شهریاری^۲،

محمدطه جلالی^۳، جواد محمدی اصل^۴

^۱ گروه فارماکولوژی و سم شناسی، مرکز تحقیقات سم شناسی، 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 سم شناسی، دانشگاه جندی شاپور اهواز

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

چکیده

زمینه: سیتوکروم CYP2E1 (P450CYP2E1) آنزیمی اصلی است که نقش عمده‌ای در فعال سازی و سمیت زدایی بسیاری از ژنوتوپیک‌ها، سرطان‌زاها (کارسینوژن‌ها) و داروها ایفا می‌کند. بررسی انواع پلی مورفیسم در CYP2E1 به عنوان 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 پلی مورفیسم CYP2E1*5B در جمعیت ایرانی و مقایسه با سایر جمعیت‌های دنیا بود.

مواد و روش‌ها: بررسی کنونی در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز انجام شد. در این پژوهش پلی مورفیسم CYP2E1*5B (rs3813867; G-1293C) در ۲۰۰ نفر (۱۰۰ زن و ۱۰۰ مرد) از افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر اهواز با روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های جمع آوری شده با استفاده از آزمون آماری مجذور کای و معادله هاردی-واینبرگ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های 1A (c1/c1)*، 1A (c1/c2)*5B و 5B (c2/c2)*5B به ترتیب ۳/۹۷ و ۰ درصد به دست آمد. فراوانی الل 1A (c1)* و 5B (c2)* نیز ۹۸/۵ و ۱/۵ درصد محاسبه شد. در نتایج حاصل از بررسی این پلی مورفیسم تفاوت معنی داری بین دو جنس مشاهده نشد (در این مطالعه، مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد).

نتیجه‌گیری: توزیع ژنوتیپی CYP2E1*5B با ترکیه و تعدادی از جمعیت‌های اروپایی شباهت داشت در حالی که اختلاف معنی دار با جمعیت‌های آسیای شرقی، آمریکایی و تعدادی از جمعیت‌های اروپایی مشاهده شد. جنسیت در توزیع اللی این پلی مورفیسم نقشی ندارد.

واژگان کلیدی: پلی مورفیسم، CYP2E1*5B، ژنوتیپ، فراوانی‌های اللی، ایران

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

E-mail: amjalali@hotmail.com

مقدمه

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

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 شیمیایی و یا طبیعی شود. برای روشن شدن اهمیت تعیین پلی‌مورفیسم (فارماکوژنتیک)، بررسی‌های گوناگونی در مورد فارماکوژنتیک آنزیم‌های فاز اول متابولیسم‌کننده مواد سمی و دارویی انجام شده است. CYP2E1 نقش عمده در متابولیسم، فعال‌سازی (سمیت‌زایی) و سم‌زدایی برخی از ترکیبات با وزن مولکولی کم مانند اتانول (۴-۶)، استن، داروهایی مانند استامینوفن، ایزونیاژید، بیهوش‌کننده‌های فلورینه و شماری از ترکیبات پروکارسینوژن مانند بنزن، NMDA^۱، استیرن، اورتان و اکریلونیتریل دارد و به‌همین علت در سم‌شناسی مورد توجه خاص قرار گرفته است. این سیتوکروم می‌تواند توسط اتانول، بنزن، پیریدین، ایزونیاژید و نیز در برخی شرایط پاتوفیزیولوژیک همچون دیابت، چاقی و گرسنگی القا شود (۱، ۲ و ۷-۹).

ژن CYP2E1 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 CYP2E1*5B (SNP rs۲۰۳۱۹۲۰/rs۳۸۱۳۸۶۷ RsaI/PstI RFLP انجام شده است (۱ و ۱۰). مطالعه و تعیین پلی‌مورفیسم اخیر به‌عنوان عامل فعال‌کننده و یا محافظت‌کننده در برابر تماس با ترکیبات زئونوتیک، 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، ۱۱-۱۵).

بررسی‌های مختلف نشان دهنده اهمیت بررسی انواع ژنوتیپ SNP^۲ سیتوکروم CYP2E1*5B در ارزیابی سمیت دارویی و تماس شغلی محیطی با انواع ترکیبات کارسینوژن می‌باشد (۸). هدف این مطالعه تعیین فراوانی اللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم CYP2E1*5B در جمعیت ایرانی جهت مقایسه با جمعیت‌های دیگر مطالعه شده می‌باشد. از آنجائی‌که اطلاعات چندانی در ارتباط با میزان خطر در مواجهه با مواد شیمیایی 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

^۲ Single-Nucleotide Polymorphism

^۱ N-nitrosodimethylamine

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 ۱-۸۴ سال شامل ۱۰۰ زن (میانگین سنی $40/87 \pm 19/96$ سال، محدوده سنی ۳-۸۴ سال) و ۱۰۰ مرد (میانگین سنی $41/59 \pm 23/34$ سال، محدوده سنی ۱-۷۹ 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 (DIAatom DNA Prep- شرکت ژن فراوران) از خون محیطی انجام شد. محل پلی‌مورفیسم ژن به طول ۵۷۶ جفت باز به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (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 منیزیم با غلظت ۵۰ میلی‌مول، ۱ واحد DNA Taq پلی‌مراز، و ۱۱/۸ میکرولیتر آب دیونیزه انجام شد. برنامه حرارتی PCR در دستگاه ترموسایکلر (Biorad®) بدین ترتیب انجام شد: دناتوراسیون اولیه در دمای 94°C به مدت ۳ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل در دمای 94°C جهت دناتوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه، دمای 52°C جهت اتصال پرایمرها

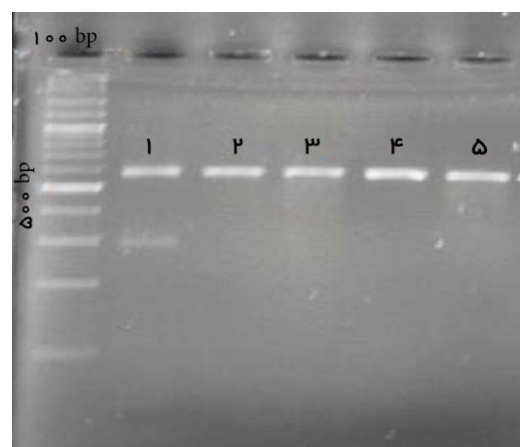
به مدت ۴۰ ثانیه، دمای 72°C جهت طولیل شدن به مدت ۳۰ ثانیه و پس از آن طولیل شدن نهایی در دمای 72°C به مدت ۵ دقیقه انجام شد. بعد از انجام واکنش PCR و تأیید یک باند در موقعیت ۵۷۶ جفت باز که نشان‌دهنده تکثیر قطعه مورد نظر می‌باشد، ۱۰ میکرولیتر محصول PCR با ۱۰ واحد آنزیم محدودکننده PstI (Restriction enzyme) ساخت شرکت vivantis® مالزی با تکنیک چند شکلی طولی قطعات محدود شونده (RFLP) به مدت 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* می‌باشد.

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 (c۱/c۲) *CYP۲E۱*۱A/۵B 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 (c۱/c۲) *CYP۲E۱*۱A/۵B است (تصویر ۱).

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



تصویر (۱) الکتروفورس محصول RFLP بر روی ژل آگاروز ۲/۵ درصد. شماره ۱ هتروزیگوت C1/C2 با ۳ باند ۵۷۶، ۲۹۴ و ۲۸۲ جفت بازی که به دلیل فاصله کم بازی دو باند قادر به تفکیک نبوده‌اند. شماره ۲ تا ۵ هموزیگوت C1/C1 با باند ۵۷۶ جفت باز می‌باشد.

از افراد سالم مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، برای وارد شدن در این مطالعه سؤال شد. تمام بیماران یک پرسشنامه تهیه شده را پر و از آن‌ها رضایت‌نامه کتبی گرفته شد. نمونه‌های خون و DNA با کد شماره‌گذاری و نام مراجعین فقط در نزد مجری مسئول، به صورت 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 C1 و C2 است. درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در کل جمعیت مورد مطالعه برای ژنوتیپ‌های هموزیگوت تیپ وحشی (*1A/*1A(C1/C1) و هتروزیگوت (*1A/*5B(C1/C2) به ترتیب ۹۷ و ۳ درصد مشاهده شد. در صورتی که ژنوتیپ هموزیگوت تغییر یافته (*5B(C2/C2) جمعیت مورد بررسی دیده نشد. درصد فراوانی آلی در کل جمعیت مورد بررسی ۹۸/۵ برای آلل (*1A(C1 و ۱/۵ درصد برای آلل (*5B(C2 به دست 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 پلی مورفیسم CYP2E1*5B بررسی شده در جمعیت ایرانی

پلی مورفیسم CYP2E1*5B	ژنوتیپ	فراوانی مشاهده شده % (تعداد)	فراوانی مورد انتظار در معادله هاردی-واینبرگ	نوع آلل	فراوانی مشاهده شده % (تعداد)
هموزیگوت نرمال	*1A/1A(C1/C1)	۹۷ (۱۹۴)	۹۷/۰۲	*1A(C1)	۹۸/۹۵ (۳۸۸)
هتروزیگوت	*1A/*5B(C1/C1)	۳ (۶)	۲/۹۵	*5B(C2)	۱/۵ (۱۲)
هموزیگوت تغییر یافته			۰/۰۲		
کل		۲۰۰			۴۰۰

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، $1A/1A(c1/c1)$ می‌باشد که فراوانی آن در جنس

زن و مرد به‌ترتیب ۹۶ و ۹۸ درصد مشاهده شد. فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت $1A/5B(c1/c2)$ در دو جنس زن و مرد ایرانی، به‌ترتیب ۴ و ۲ درصد مشاهده شد. ژنوتیپ هموزیگوت تغییر یافته $5B/5B(c2/c2)$ در هیچ یک از دو جنس ایرانی مشاهده نشد.

جدول ۲) مقایسه فراوانی ژنوتیپ و آلل‌های مختلف پلی‌مورفیسم $CYP2E1*5B$ در بین زن و مرد

جنس	فراوانی ژنوتیپی		تعداد	فراوانی آلل		P.value
	$1A/1A(c1/c1)$	$1A/5B(c1/c2)$		$5B/5B(c2/c2)$	$5B/1A(c1/c2)$	
زن	۹۶	۴	۱۰۰	۹۸	۲	NS
مرد	۹۸	۲	۱۰۰	۹۹	۱	

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

بحث

$CYP2E1$ تقریباً حدود ۷ درصد از ایزوفرم‌های سیتوکروم $P450$ را تشکیل می‌دهد. این سیتوکروم دارای پیش سازهای اختصاصی می‌باشد و توسط ترکیبات کارسینوژن و سم قابل‌القاء 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 $CYP2E1$ 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 زنبوبیوتیک 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 زنبوبیوتیک از جمله سیتوکروم $P450$ 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 $CYP2E1*5B$ 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 $(c1/c1)$ و ۳ درصد ژنوتیپ هتروزیگوت $(c1/c2)$ بودند و هیچ فردی با ژنوتیپ هموزیگوت تغییر یافته $(c2/c2)$ مشاهده نشد. بنابر ارزیابی‌های انجام‌شده، فراوانی آلل تغییر یافته $(c2)$ 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.

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

فرکانس پلی‌مورفسم CYP2E1 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 2E1*5B 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-مکزیک، چین، ژاپن، تایلند و اسپانیا نشان می‌دهد (۱، ۶، ۱۷ و ۳۱).

جدول ۳) بررسی مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف CYP 2E1*5B این مطالعه با سایر جمعیت‌های مختلف بررسی شده

جمعیت	تعداد	فراوانی ژنوتیپی CYP 2E1*5B (%)			P.value	نویسنده سال
		*1A/*1A (c1/c1)	*1A/*5B (c1/c2)	*5B/*5B (c2/c2)		
سوئد	۱۴۸	۹۰	۹	۱	<۰/۰۰۰۱	Persson et al,1993(17)
ترکیه	۲۰۶	۹۶/۱۲	۳/۸۸	۰	NS	Ulusoy 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 مکزیک*	۹۲	۷۰/۶	۲۸/۳	۱/۱	<۰/۰۰۰۱	Wu et al,1997(24)
امریکای آفریقایی*	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 al,2001(28)
فرانسه	۱۷۲	۹۵/۳	۴/۶	۰	NS	Bouchardy et al,2000(29)
اسپانیا*	۲۰۰	۸۹/۵	۱۰/۵	۰	۰/۰۰۰۸	González et al,1998(30)
لهستان	۳۱۶	۹۶/۵	۵/۶	۰	NS	Gajicka et al,2005(31)
ایران (این مطالعه)	۲۰۰	۹۸	۳	۰		

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

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

این تفاوت‌ها می‌تواند نشان‌دهنده اثرات محیط و رژیم غذایی در توزیع انواع پلی‌مورفسم مشاهده شده در CYP2E1 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 پلی‌مورفسم در تولید متابولیت‌های سمی از آلاینده‌ها مورد بررسی قرار گیرد. همچنین انجام مطالعات

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

این آنزیم، مهم‌ترین آنزیم متابولیزکننده ترکیب اول سرطان‌زای شناخته شده شیمیایی 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. CYP2E1 در تولید متابولیت‌های سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک بنزن در کبد نقش مهمی دارد (۳۲ و ۳۳). در یک مطالعه هدفمند، ارتباط پلی‌مورفیسم CYP2E1 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 CYP2E1 ارتباط معنی‌داری ندارد. ظاهراً جنسیت، مصرف سیگار، عادات غذایی و نیز نوع زندگی تأثیر بیشتری بر میزان متابولیسم 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 B*5 CYP2E1 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 شیمیایی 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 (C1/C2)*5B/C1/A*1 در مقایسه با ژنوتیپ هموزیگوت تیپ وحشی (C1/C1)*1A/A*1 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 تغییر یافته (C2/C2)*5B/C2/A*1 در جمعیت ایرانی دیده نشد، می‌توان نتیجه گرفت که جمعیت ایرانی قادر به متابولیسم و دفع ادراری این ترکیب سرطان‌زا می‌باشند.

به نظر می‌رسد که افراد با آلل C2 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 CYP2E1 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

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.

بیماری‌های همراه با پلی‌مورفیسم CYP2E1 و تعیین ضرورت طراحی پروتکل‌های درمانی و سم‌شناسی کاهنده آسیب، مفید باشد (۳۹). اما برای دستیابی به ارزیابی دقیق‌تر از ارتباط میان انواع پلی‌مورفیسم CYP2E1 با انواع سرطان‌ها مخصوصاً سرطان در کارگران صنایع مختلف مواجهه و افزایش توان آماری مطالعه، جامعه آماری بزرگتر و یا مطالعات مورد-شاهدی پیشنهاد شود.

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/PstI 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.

- 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 laryngeal 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 CYP2E1 genotype 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,

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.

Original Article

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

F. Zanganeh¹, A. Jalali^{1*}, H. Galehdari²,
Gh. Mohammadzadeh Shahriary², MT. Jalali³, J. Mohammadi-Asl⁴

¹Department of Pharmacology and Toxicology, Toxicology Research Center, Ahvaz Jundishapur University, Ahvaz, IRAN

²Department of Genetic, School of Sciences, Ahvaz Shahid Chamran University, Ahvaz, IRAN

³Department of Biochemistry, School of Paramedicine, Ahvaz Jundishapur University, Ahvaz, IRAN

⁴Department 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 χ^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