



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 گله‌داری^۲، غزاله محمدزاده شهریاری^۲،

محمدطه جلالی^۳، جواد محمدی اصل^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 $CYP2E1^*5B$ (rs3813867) آنزیمی اصلی است که نقش عمده‌ای در فعال‌سازی و سمیت‌زدایی بسیاری از ژنوتیپ‌ها، سرطان‌زاها (کارسینوژن‌ها) و داروها ایفا می‌کند. بررسی انواع پلی مورفیسم در $CYP2E1$ 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 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 جندی‌شاپور اهواز انجام شد. در این پژوهش پلی مورفیسم $CYP2E1^*5B$ (rs3813867; G-1293C) در ۲۰۰ 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 $C1/C1$ $1A^*$ ، $C1/C2$ $5B^*$ $1A^*$ و $C2/C2$ $5B^*$ $5B^*$ به ترتیب ۳/۹۷ و ۰ درصد به دست آمد. فراوانی الل $C1$ ($1A^*$) و $C2$ ($5B^*$) نیز ۹۸/۵ و ۱/۵ درصد محاسبه شد. در نتایج حاصل از بررسی این پلی مورفیسم تفاوت معنی‌داری بین دو جنس مشاهده نشد (در این مطالعه، مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد).

نتیجه‌گیری: توزیع ژنوتیپی $CYP2E1^*5B$ 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 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

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، کدکننده 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 rs۲۰۵۳T/G-۱۲۹۳C، RFLP RsaI/PstI rs۳۸۱۳۸۶۷/rs۲۰۳۱۹۲۰) انجام شده است (۱ و ۱۰). مطالعه و تعیین پلی‌مورفیسم اخیر به‌عنوان عامل فعال‌کننده و یا محافظت‌کننده در برابر تماس با ترکیبات زئوپیوتیک، 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

به مدت ۴۰ ثانیه، دمای 72°C جهت طویل شدن به مدت ۳۰ ثانیه و پس از آن طویل شدن نهایی در دمای 72°C به مدت ۵ دقیقه انجام شد. بعد از انجام واکنش PCR و تأیید یک بانده در موقعیت ۵۷۶ جفت باز که نشان دهنده تکثیر قطعه مورد نظر می باشد، 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 37°C درجه سانتی گراد 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 بانده ۵۷۶ جفت بازی قابل رؤیت است که نشان دهنده ژنوتیپ (c۱/c۱) *CYP1A/1A* می باشد.

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 بانده ۵۷۶ جفت بازی مربوط به رشته برش نخورده (الل c۱) و دو بانده ۲۸۲ و ۲۹۴ جفت بازی (الل c۲)، مربوط به رشته برش خورده DNA قابل شناسایی است که بیانگر ژنوتیپ هتروزیگوت (c۱/c۲) *CYP2E1/1A/5B* می باشد.

۳- در صورت وجود سایت برش آنزیم PstI در هر دو رشته، دو بانده ۲۸۲ و ۲۹۴ جفت بازی ایجاد می شود که نشان دهنده ژنوتیپ نادر (c۱/c۲) *CYP2E1/1A/5B* است (تصویر ۱).

۱۳۹۰ در دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز اجرا شد. این بررسی بر روی ۲۰۰ نفر از افراد سالم مراجعه کننده به آزمایشگاه های 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 رضایت نامه آگاهانه اخذ شد.

جهت جلوگیری از لخته شدن خون تا زمان استخراج DNA، نمونه های خون جمع آوری شده از افراد مورد پژوهش، در لوله های حاوی EDTA در فریزر -20°C درجه سانتی گراد نگهداری شدند. جداسازی DNA ژنومی از خون محیطی با استفاده از کیت استخراج DNA (DIAtom DNA Prep.- شرکت ژن فراوران) از خون محیطی انجام شد. محل پلی مورفیسم ژن به طول ۵۷۶ جفت باز به وسیله واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) و با استفاده از پرایمرهای مستقیم 5'- ACCCCAATGGGTGTCTGTC و معکوس 3'- TCATTCTGTCTTCTAACTGGCAAT-3' تکثیر شد.

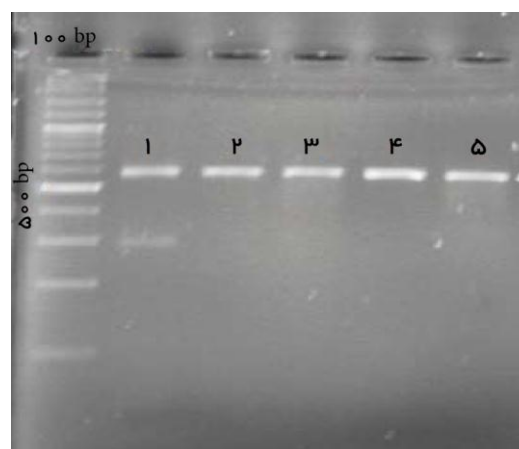
واکنش PCR بر روی ۲۵ میکرولیتر حجم نهایی حاوی ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر باغلظت (۲۵Pm)، ۴ میکرولیتر ژنوم DNA استخراج شده با غلظت ۳۰۰-۲۰۰ نانوگرم، ۲/۵ میکرولیتر بافر واکنش با غلظت ۱۰X، ۰/۵ میکرولیتر dNTP با غلظت (۱۰Mm)، ۱ میکرولیتر کلرید منیزیم با غلظت ۵۰ میلی مول، ۱ واحد DNA Taq پلی مراز، و ۱۱/۸ میکرولیتر 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

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 $5B(c2/c2)$ (Homozygote mutated variant genotype) در 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).

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 بروی ژل آگاروز ۲/۵ درصد. شماره ۱ هتروزیگوت $1A/5B(c1/c1)$ با باند ۲۸۲، ۲۹۴ و ۵۷۶ جفت بازی که به‌دلیل فاصله کم بازی دو باند قادر به تفکیک نبوده‌اند. شماره ۲ تا ۵ هموزیگوت $1A/1A(c1/c1)$ 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، به‌صورت محرمانه بایگانی شد. در صورت اعلام انصراف از ادامه همکاری، نمونه فرد از طرح

جدول (۱) مقایسه فراوانی ژنوتیپ و آلل‌های مختلف پلی مورفیسم $CYP2E1^*5B$ بررسی شده در جمعیت ایرانی

فراوانی مشاهده شده % (تعداد)	نوع آلل	فراوانی مورد انتظار در معادله هاردی-واینبرگ	فراوانی مشاهده شده % (تعداد)	ژنوتیپ	پلی مورفیسم $CYP2E1^*5B$
۹۸/۵ (۳۸۸)	$1A(c1)$	۹۷/۰۲	۹۷ (۱۹۴)	$1A/1A(c1/c1)$	هموزیگوت نرمال
۱/۵ (۱۲)	$5B(c2)$	۲/۹۵	۳ (۶)	$1A/5B(c1/c1)$	هتروزیگوت
		۰/۰۲			هموزیگوت تغییر یافته
۴۰۰			۲۰۰		کل

زن و مرد به ترتیب ۹۶ و ۹۸ درصد مشاهده شد. فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت (C1/C2)*5B/1A در دو جنس زن و مرد ایرانی، به ترتیب ۴ و ۲ درصد مشاهده شد. ژنوتیپ هموزیگوت تغییر یافته (C2/C2)*5B/5B در هیچ یک از دو جنس ایرانی مشاهده نشد.

جدول ۲ نشان دهنده توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی در بین زن و مرد است که تفاوت معنی داری از نظر جنسیت در بین دو گروه مشاهده نشد. همان گونه در جدول ۲ مشاهده می شود مهم ترین و فراوان ترین ژنوتیپ در هر دو جنس زن و مرد ایرانی، (C1/C1)*1A/1A می باشد که فراوانی آن در جنس

جدول ۲) مقایسه فراوانی ژنوتیپ و آلل های مختلف پلی مورفیسم CYP2E1*5B در بین زن و مرد

P.value	فراوانی آلل		تعداد	فراوانی ژنوتیپی			جنس
	*5B(C2)	*1A(C1)		*5B/*5B(C2/C2)	*1A/*5B (C1/C2)	*1A/*1A (C1/C1)	
NS	۲	۹۸	۱۰۰	۰	۴	۹۶	زن
	۱	۹۹	۱۰۰	۰	۲	۹۸	مرد

NS نشان می دهد که اختلاف معنی داری در فراوانی های ژنوتیپی وجود ندارد.

بحث

پلی مورفیسم های ژنی محصولات کدشونده (آنزیم های متابولیزکننده) ترکیبات زنبیوتیک از جمله سیتوکروم P450 را در سمیت ناشی از داروها و مواد شیمیایی را نشان می دهد (۱، ۱۰ و ۱۶).

با وجود مطالعات اخیر بر روی انواع پلی مورفیسم های این سیتوکروم، نقش پلی مورفیسم CYP 2E1*5B در ایجاد استعداد فردی ابتلا به سرطان در مواجهه با انواع ترکیبات کارسینوژن شناخته شده مانند وینیل کلرید (۲) در جمعیت های 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 ارزیابی های انجام شده، فراوانی الل تغییر یافته (C2) در آسیای شرقی ۳۶-۲۳ درصد و در سفیدپوستان ۸-۲ درصد گزارش شده است (۱). یافته های این بررسی نبود تفاوت معنی دار در توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی بین زن و مرد را نشان می دهد.

CYP2E1 تقریباً حدود ۷ درصد از ایزوفرم های سیتوکروم P450 را تشکیل می دهد. این سیتوکروم دارای پیش سازهای اختصاصی می باشد و توسط ترکیبات کارسینوژن و سم قابل القاء است. بر همین اساس ب این سیتوکروم اهمیت بالائی در پزشکی و سم شناسی محیطی و صنعتی دارد. این سیتوکروم همچنین نقش مهمی در متابولیسم داروها و بسیاری از ژنوبیوتیک ها با وزن مولکولی کم را به عهده دارد. ژن CYP2E1 دارای چندین پلی مورفیسم می باشد که این پلی مورفیسم ها موجب افزایش حساسیت و استعداد ژنتیکی ایجاد سرطان در مواجهه با مواد سمی و کارسینوژن می شود (۱). اختلافات میان فردی در پاسخ دارویی و متابولیسم ترکیبات زنبیوتیک با این سیتوکروم ثابت شده است (۲). برخی از این پلی مورفیسم ها می توانند فاکتورهای خطر و استعداد ابتلا به بیماری هایی چون سرطان و واکنش های مضر دارویی (ADRs) باشند. این مطلب اهمیت

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).

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 پلی مورفیسیم CYP 2E1 همانند اغلب آنزیم‌های متابولیز کننده دارای اختلاف در میان جمعیت‌ها و نژادهای مختلف است. بر همین اساس توزیع فراوانی ژنوتیپی و آلی جمعیت ایرانی این

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

نویسنده سال	P.value	فراوانی ژنوتیپی CYP 2E1*5B (%)			تعداد	جمعیت
		*5B/*5B (c1/c1)	*1A/*5B (c1/c2)	*1A/*1A (c1/c1)		
Persson et al,1993(17)	<0/0001	۱	۹	۹۰	۱۴۸	سوئد
UIusoy et al,2007(1)	NS	۰	۳/۸۸	۹۶/۱۲	۲۰۶	ترکیه
Boccia et al,2008(18)	0/0374	0/4	۶/۱۲	۹۳/۰۶	۲۴۵	ایتالیا*
Neuhaus et al,2004(19)	NS	0/7	۳/۴	۹۴/۹	۲۹۷	آلمان
Quinones et al,2001(20)	<0/0001	۲	۲۷	۷۱	۱۴۸	شیلی*
Olivieri et al,2009(21)	<0/0001	۰	۱۱/۰۳	۷۲/۴۱	۱۴۵	برزیل*
Yang et al,2001(6)	NS	۰	۳/۲	۹۶/۸	۱۵۵	انگلیس
Ruwali et al,2009(22)	NS	۰	۲	۹۸	۳۵۰	هند
Li et al,2005(23)	0/0182	0/24	۷/۰۱	۹۲/۷	۱۲۲۶	امریکای سفید*
Wu et al,1997(24)	<0/0001	۱/۱	۲۸/۳	۷۰/۶	۹۲	امریکای مکزیک*
Wu et al,1997(24)	<0/0001	0/9	۱۲/۳	۸۶/۸	۱۱۴	امریکای افریقایی*
Persson et al,1999(25)	<0/0001	۴/۹	۴۳/۵	۵۱/۶	۱۲۲	چین*
Sugimura et al,2006(26)	<0/0001	۲/۹	۲۹/۰۴	۶۶/۶	۲۴۱	ژاپن*
Wang et al,1999(27)	<0/0001	۶/۹	۳۵/۱	۵۸	۲۳۱	تایوان*
Kongruttanachok al,2001(28)	<0/0001	۱/۶۸	۳۴/۶۸	۶۳/۶	۲۹۷	تایلند*
Bouchardy et al,2000(29)	0/0008	۰	۴/۶	۹۵/۳	۱۷۲	فرانسه
González et al,1998(30)	NS	۰	۱۰/۵	۸۹/۵	۲۰۰	اسپانیا*
Gajicka et al,2005(31)	NS	۰	۵/۶	۹۶/۵	۳۱۶	لهستان
		۰	۳	۹۸	۲۰۰	ایران (این مطالعه)

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

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

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 پلی مورفیسیم در تولید متابولیت‌های سمی از آلاینده‌ها مورد بررسی قرار گیرد. همچنین انجام مطالعات

این تفاوت‌ها می‌تواند نشان‌دهنده اثرات محیط و رژیم غذایی در توزیع انواع پلی مورفیسیم مشاهده شده در CYP 2E1 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

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 ($1A/5B(c1/c2)$) در مقایسه با ژنوتیپ هموزیگوت تیپ وحشی ($1A/1A(c1/c1)$) 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 ($5B/5B(c2/c2)$) 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

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).

سیاس و قدردانی

نتایج این طرح بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد سم شناسی انجام شده در مرکز تحقیقات سم شناسی 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 پلی مورفیسم CYP2E1 و تعیین ضرورت طراحی پروتکل‌های درمانی و سم شناسی کاهنده آسیب، مفید باشد (۳۹). اما برای دستیابی به ارزیابی دقیق‌تر از ارتباط میان انواع پلی مورفیسم 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, Tohna 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