ORIGINAL ARTICLE

Frequency Evaluation of Val432Leu (G4326C) Polymorphism of CYP1B1 Gene in a Healthy Population from Mazandaran Province, Iran

Nematollah Ahangar[1],
Somayeh Masoumi[2]

[1] Assistant Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center AND Department of Toxicology/Pharmacology, School of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] MSc Student, Department of Toxicology/Pharmacology, School of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 24, 2013; Accepted September 30, 2013)

Abstract

Background and purpose: CYP1B1 is involved in the metabolism of exogenous and endogenous substrates and plays a key role in hormone and xenobiotic induced carcinogenesis. Polymorphisms in CYP1B1 gene could result in modifications in its enzyme activity and are known to be associated with cancer susceptibility related to environmental toxins and hormone exposure. Moreover, the association of CYP1B1 polymorphisms with glaucoma has been reported. In the present study, we determined the frequency of Leu432Val (G4326C) polymorphism of this gene in a healthy population from Mazandaran province of Iran.

Materials and methods: A total of 150 unrelated healthy subjects from Mazandaran province, residing in Sari, coming for blood donating at Sari Blood Transfusion Center were enrolled. A total of 5 ml of peripheral blood was taken from individuals. Genomic DNA was extracted using DNG™ Plus Blood DNA kit. The polymerase chain reaction–restriction fragmentlength polymorphism method was used for the detection of G4326C single nucleotide polymorphism in each subject.

Results: The frequencies of the GG (Val/Val), CG (Leu /Val) and CC (Leu/Leu) genotypes were as 12%, 40.7% and 47.3%, respectively ($P < 0.05$). The frequency of G allele in Iranian population (Mazandaran province, Sari) was 32.3% and the frequency of C allele was 67.7%.

Conclusion: Results of the present study might be important in understanding the distribution of Leu432Val CYP1B1 polymorphism in the Mazandaran province of Iran. Moreover, these results could be helpful in predicting the risk of cancer and glaucoma.

Keywords: Cytochrome p450, CYP1B1, Iranian population, polymorphism, cancer

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(106): 20-8 (Persian).

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و سوم شماره ۱۰۶ آبان سال ۱۳۹۲ (۲۸-۲۰)

بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژنتیکی [G۴۳۲۶C] Val۴۳۲Leu ژن CYP۱B۱ در یک جمعیت سالم استان مازندران

نعمت‌الله آهنگر [۱]
سمیه معصومی [۲]

چکیده

سابقه و هدف: CYP۱B۱ (Cytochrome P۴۵۰ ۱B۱) در متابولیسم طیف وسیعی از سوبستراهای داخلی و خارجی دخیل است و نقش مهمی در سرطان‌زایی هورمون‌ها و زنوبیوتیک‌ها ایفا می‌کند. پلی مورفیسم‌ها در این ژن با افزایش ریسک ابتلا به سرطان ناشی از مواجهه با هورمون‌ها و سموم آلوده کننده محیطی مرتبط هستند. علاوه بر این، ارتباط میان پلی مورفیسم‌های این ژن و ابتلا به گلوکوم گزارش شده است. در مطالعه حاضر، پراکندگی پلی مورفیسم Val۴۳۲Leu (G۴۳۲۶C) این ژن در یک جمعیت سالم استان مازندران ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۵۰ داوطلب سالم غیر خویشاوند مقیم شهر ساری که در طی فاصله زمانی اردیبهشت الی شهریور ۱۳۹۱ برای اهدای خون به مرکز انتقال خون شهر ساری مراجعه کرده بودند، انتخاب شدند. ۵ میلی‌لیتر خون محیطی از هر فرد گرفته شد و DNA با استفاده از کیت DNG™ Plus، استخراج گردید. از روش PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism Method) جهت تعیین ژنوتیپ افراد در پلی مورفیسم G۴۳۲۶C استفاده شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ GG (Val/Val)، CG (Leu/Val) و CC (Leu/Leu) به ترتیب ۱۲ درصد ۴۰/۷ درصد و ۴۷/۳درصد به دست آمد ($P < ۰/۰۵$). بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، الل G با فراوانی ۳۲/۳ درصد و الل C با فراوانی ۶۷/۷ درصد در جمعیت مورد مطالعه در شهرستان ساری از استان مازندران مشاهده گردید.

استنتاج: نتایج مطالعه حاضر به درک پراکندگی توزیع پلی مورفیسم Val۴۳۲Leu از ژن CYP۱B۱ کمک می‌کند. همچنین این نتایج می‌توانند در پیش‌بینی خطر ابتلا به بیماری‌هایی مانند سرطان‌ها و گلوکوم در این جمعیت سودمند باشند.

واژه های کلیدی: Cytochrom P۴۵۰، CYP۱B۱، جمعیت ایرانی، پلی مورفیسم، سرطان

مقدمه

Cytochrom P۴۵۰ (CYP۴۵۰) یک خانواده منحصر به فرد از پروتئین‌های واجد Heme می‌باشد که اکسیژن‌دار کردن انواع مختلفی از ترکیبات دارای ساختار گوناگون را کاتالیز می‌کند. سوبستراهای این سیستم، آنزیمی شامل هر دو نوع ترکیبات درون‌زاد و برون‌زاد می‌باشد (۱). Cytochrom P۴۵۰ در متابولیسم داروها، آلودگی‌های محیطی و دیگر زنوبیوتیک‌ها، بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی و اکسیداسیون اسیدهای چرب به پیامبرهای سلولی شرکت می‌کند (۳-۱).

تداخلات زیان‌آور بین سموم آلوده کننده محیطی و DNA، ممکن است از طریق طیفی از مکانیسم‌های دفاع بیولوژیک تعدیل یابند که این مکانیسم‌ها شامل ترمیم DNA، کنترل نقاط تنظیم چرخه سلولی و آنزیم‌های پاک‌سازی زنوبیوتیک‌ها می‌باشند. پاک‌سازی زنوبیوتیک‌ها جهت حذف کارسینوژن‌ها دارای اهمیت است و به صورت اولیه به وسیله

مقاله حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی به شماره ۲۲۷-۹۰ مصوب دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد.

مولف مسئول: سمیه معصومی - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مرکز تحقیقات علوم دارویی. E-mail: masoumi_s_2012@ymail.com
۱. استادیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی/ داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی، گروه سم شناسی/ داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۶/۱۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۷/۳

هیدروکسیلاسیون انجام می‌شود و آنزیم‌های CYP۴۵۰ در هیدروکسیل‌دار کردن نقش مهمی دارند (۵-۲). CYP۱B۱ یکی از آنزیم‌های اصلی خانواده Cytochrom P۴۵۰ است. نقشه ژنی CYP۱B۱ روی کروموزوم شماره دو (۲۲-۲P۲۱) واقع شده است. ژن CYP۱B۱ دارای سه اگزون و دو اینترون می‌باشد که تنها دو اگزون آن رمزگردان است (۱). تنظیم بیان ژن CYP۱B۱ در سطوح مختلف رونویسی و بعد از رونویسی صورت می‌گیرد. تنظیم بیان این ژن در سطح رونویسی به وسیله فعال شدن توسط رسپتورهای هیدروکربن‌های آروماتیک انجام می‌شود و در این میان، عوامل رونویسی شبیه به رسپتورهای هسته‌ای عمل می‌کنند.

CYP۱B۱ در هیدروکسیل‌دار کردن ترکیبات پروکارسینوژن به کارسینوژن دخالت دارد (۵-۲). همچنین آنزیم اصلی در تشکیل ماده ژنوتوکسیک ۴-هیدروکسی استرادیول از استرادیول (E۲) است و در فعال‌سازی هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای و آمین‌های آروماتیک هتروسیکل شرکت می‌کند (۱۱-۶). این آنزیم به وسیله هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای نیز القا پذیر است. در سال‌های اخیر نشان داده شده است که E۲ در سلول‌های دارای رسپتور برای E۲ نیز می‌تواند باعث القای CYP۱B۱ شود (۵-۳).

CYP۱B۱ به طور ژنتیکی پلی مورفیک می‌باشد. تفاوت‌های بین فردی ناشی از گوناگونی ژنتیکی و سطوح بیان متفاوت این آنزیم ممکن است در تفاوت های فردی استعداد ابتلای به سرطان مؤثر باشند. ژن CYP۱B۱ انسانی در سلول‌های توموری به مقدار زیادی بیان می‌شود. از این‌رو، اهمیت این آنزیم در توسعه تومور و اثربخشی و سمیت داروهای ضد سرطانی که به طور اختصاصی توسط CYP۱B۱ متابولیزه می‌شوند، قابل ملاحظه خواهد بود. همان‌طور که اشاره شد، پاک‌سازی زنوبیوتیک‌ها جهت حذف کارسینوژن‌ها مهم است و به صورت اولیه به وسیله هیدروکسیلاسیون انجام می‌شود. فعالیت هیدروکسیلاسیون CYP۱B۱ از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است؛ زیرا کارسینوژن فعال شده باعث شکستگی در DNA تک رشته‌ای می‌شود که به موجب این آسیب، خطر جهش‌های ژنتیکی افزایش می‌یابد. CYP۱B۱ مسؤول هیدروکسیل‌دار کردن استرادیول [۴- OH Catechol estrogenemetabolits] است که حدس زده می‌شود آغاز کننده تومور پستانداران از طریق متابولیت‌های فعال [۴-OH quinines and semi quinines و ۳-OH] باشد (۱).

چهار پلی مورفیسم ژنتیکی CYP۱B۱ در موقعیت Asn۴۵۳Ser، Ala۱۱۹Ser، Leu۴۳۲Val و Arg۴۸Gly وجود دارند که همگی در نتیجه جانشینی اسید آمینه است و منجر به تغییر در فعالیت آنزیم می‌شوند (۱۶-۱۲). مطالعات مختلف نشان داده است که چهار واریته پلی مورفیک CYP۱B۱ فعالیت هیدروکسیلاسیون بیشتری نسبت به الل‌های نوع طبیعی دارند و همگی جهت بررسی استعداد ابتلا به سرطان مورد مطالعه هستند (۲۱-۱۷). از بین این چهار پلی مورفیسم، دو پلی مورفیسم Arg۴۸Gly و Leu۴۳۲Val بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. بررسی پلی مورفیسم Leu۴۳۲Val درکشورهایی همانند لهستان (۵)، جمعیت قفقازی (۲۲، ۱۸، ۱۰)، چین (۲۴، ۲۳)، سوئد (۲۱)، آمریکا (۲۵)، هند (۲۶) و اتیوپی (۲۷) صورت گرفته است. در پلی مورفیسم Leu۴۳۲Val، در حالت طبیعی در ناحیه ۴۳۲۶ از ژن CYP۱B۱ نوکلئوتید حاوی باز گوانین (G) وجود دارد که قرار گرفتن اسید آمینه والین (Val) را در زنجیر ساخت پروتئین کد می‌کند؛ در صورتی که در فرم جهش یافته، نوکلئوتید حاوی باز سیتوزین (C) در ناحیه ۴۳۲۶ جایگزین خواهد شد که منجر به کد کردن اسید آمینه لوسین (Leu) در زنجیر پروتئین می‌شود.

بنابراین، افراد دارای ژنوتیپ‌های جهش یافته (Leu/Val) CG و (Leu/Leu) CC فعالیت هیدروکسیلاسیون بیشتری نسبت به افراد دارای ژنوتیپ (Val/Val) GG خواهند داشت (۲۷، ۲). در بعضی از مطالعات اشاره شده است که جایگزینی الل G توسط الل C، می‌تواند با افزایش خطر ابتلا به انواع سرطان‌ها از قبیل سرطان ریه (۱۶، ۱)، سرطان پروستات (۲) و سرطان سینه (۲۵-۱۸) و ناهنجاری استخوان (۲۱) در ارتباط باشد. با توجه به نقش گفته شده برای CYP۱B۱ در تبدیل ترکیبات بالقوه پروکارسینوژن به

کارسینوژن و نیز بیان بالای این ژن در سلول‌های توموری و اهمیت آن در بحث سرطان و از طرف دیگر، شیوع بالای سرطان‌ها در جمعیت استان مازندران، به نظر می‌رسد که بتوان با انجام آزمایش‌های ژنتیکی و ارزیابی پلی مورفیسم‌های مهم از ژن‌های آنزیم‌های متابولیزه کننده سموم و داروها در جمعیت‌های سالم، خطر ابتلا افراد به سرطان را مورد بررسی قرار داد.

همچنین انجام این تحقیقات بر روی بیماران سرطانی و ارزیابی ارتباط بین پلی مورفیسم در ژن‌های فوق با هر کدام از انواع سرطان نیز می‌تواند راهنمایی در جهت پیشگیری، درمان و کاهش سمیت داروهای مورد استفاده باشد. هدف از انجام مطالعه حاضر این بود که برای اولین بار، پلی مورفیسم Leu۴۳۲Val از ژن CYP۱B۱ را در یک جمعیت سالم از مردم این استان (شهر ساری) مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه

در این تحقیق توصیفی- تحلیلی، تعداد ۱۵۰ داوطلب سالم غیر خویشاوند (۱۳۹ مرد و ۱۱ زن، میانگین سنی ۱۰/۰۹ ± ۳۶/۲۹ سال) مازندرانی، مقیم شهر ساری که در طی فاصله زمانی اردیبهشت الی شهریور ۱۳۹۱ برای اهدای خون به مرکز انتقال خون شهر ساری مراجعه کرده بودند، انتخاب شدند. کلیه داوطلبان قبل از ورود به مطالعه، فرم رضایت‌نامه استاندارد تدوین شده را امضا کردند. نمونه‌گیری از افراد و تکمیل فرم ثبت اطلاعات با در نظر گرفتن شرایط بومی بودن، نداشتن سوابق بیماری مزمن (مانند سرطان، دیابت، فشار خون بالا، نارسایی قلبی، مولتیپل اسکلروزیس، افسردگی و ...) و سالم بودن از هر گونه بیماری با نظارت پزشک به انجام رسید. ۵ میلی‌لیتر خون محیطی از هر فرد گرفته شد.

استخراج DNA، توالی پرایمرها و واکنش PCR

استخراج DNA ژنومیک از لنفوسیت نمونه‌های خون محیطی با استفاده از کیت DNG™ Plus (سیناکلون، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. واکنش PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) برای شناسایی پلی مورفیسم نوکلئوتیدی G۴۳۲۶C به کار برده شد. پرایمرهای استفاده شده در واکنش PCR به شرح زیر است:

Forwrd: ۵′-CACTGCCAA CACCTCTGTCT-۳′

Reverse: ۵′- GCAGGCTCA TTTGGGTTG-۳′

مخلوط واکنش PCR شامل ۳ µl DNA استخراج شده، ۰/۲ mM dNTP، ۱/۵ mM $MgCl_2$، ۱ U Taq DNA polymerase، ۳ µl ۱۰x PCR Buffer، ۰/۷ µl از هر یک از پرایمرها بود و در نهایت، با اضافه کردن آب مقطر استریل حجم نهایی ۳۰ µl به دست آمد. برنامه PCR در دستگاه ترمو سایکلر عبارت از ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد تک رشته‌ای شدن اولیه، سپس ۳۵ سیکل دمایی شامل ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد تک رشته‌ای شدن کلی، ۳۰ ثانیه در ۵۶ درجه سانتی‌گراد اتصال آغازگر، ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد سنتز DNA و در نهایت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد تکمیل سنتز DNA بود. سپس قطعات تکثیر شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد و با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید زیر نور UV (Ulteraviolet) مورد مشاهده قرار گرفتند (۲۸).

تعیین ژنوتیپ

تعیین ژنوتیپ به روش PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism) صورت گرفت. به محصولات PCR، ۲ IU آنزیم محدود کننده Eco۵۷I اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت انکوبه شد. سپس قطعات جدا شده با ژل آگارز ۲/۵ درصد و با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید زیر نور UV مورد مشاهده قرار گرفتند. قطعات به دست آمده در ژنوتیپ هموزیگوت CC، ۱۰۷ و ۱۸۷ جفت باز، ژنوتیپ هموزیگوت GG ۲۹۴ جفت باز (بدون هضم آنزیمی) و ژنوتیپ هتروزیگوت CG ۲۹۴، ۱۰۷و ۱۸۷ جفت باز بودند. نمونه‌ای از هر کدام از ژنوتیپ‌های مورد

نظر همراه با محصول PCR بر روی ژل الکتروفورز در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است.

آنالیز آماری

اطلاعات به دست آمده، توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای آنالیز داده‌ها از آزمون χ^2 استفاده شد. $P < ۰/۰۵$ به عنوان حداقل سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

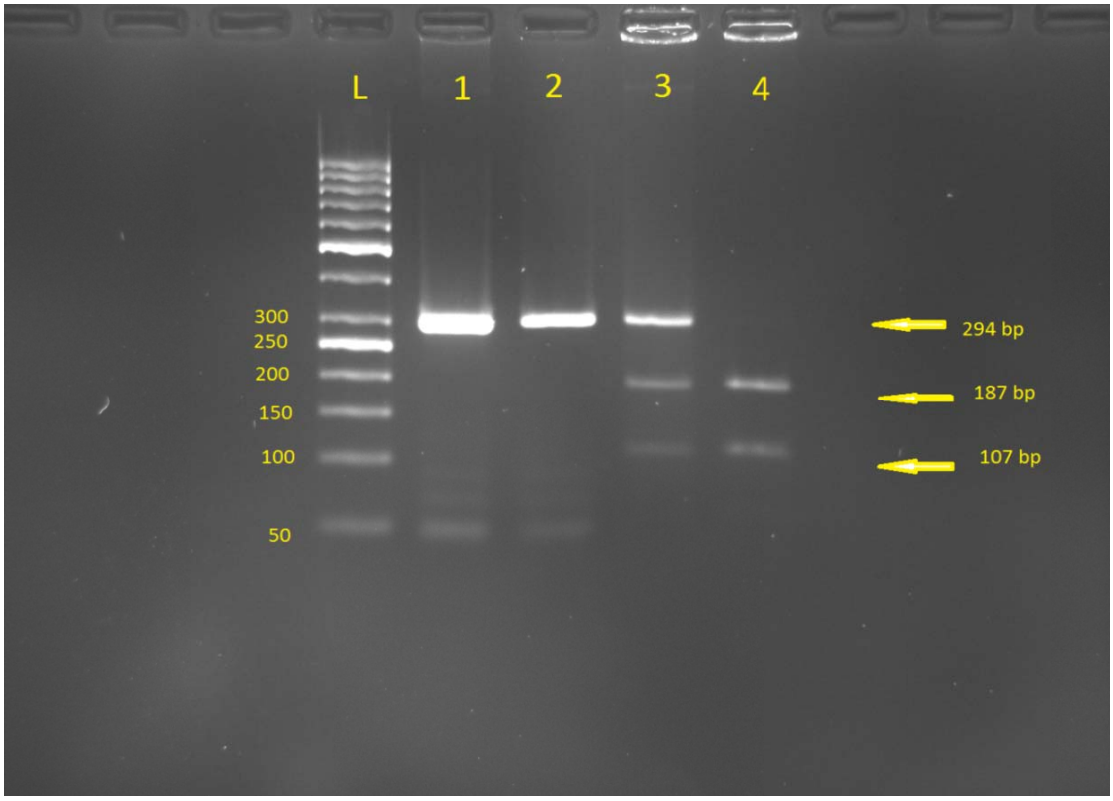
توزیع فراوانی الل‌ها و ژنوتیپ‌های به دست آمده و قیاس آن‌ها با دیگر جمعیت‌ها

فراوانی الل‌ها و ژنوتیپ‌های هموزیگوت و هتروزیگوت در این مطالعه در قانون Hardy-Weinberg صدق می‌کند. فراوانی الل نوع طبیعی (G) که کد کننده اسید آمینه والین می‌باشد، ۳۲/۳ درصد و فراوانی الل نوع جهش یافته (C) که کد کننده اسید آمینه لوسین می‌باشد، ۶۷/۷ درصد به دست آمد. فراوانی ژنوتیپ‌های GG، CG و CC به ترتیب ۱۲، ۴۰/۷ و ۴۷/۳ درصد بود که از نظر آماری معنی‌دار بودند ($P < ۰/۰۵$). نتایج آماری به دست آمده در جدول شماره ۱ ارایه شده است.

بحث

در مطالعه حاضر، فراوانی پلی مورفیسم ۴۳۲۶C/G ژن CYP۱B۱ در یک نمونه از جمعیت استان مازندران (شهر ساری) مورد مطالعه قرار گرفته است.

مشخص شده است که آنزیم CYP۱B۱ نقش مهمی در استعداد ایجاد کارسینوژن‌های وابسته به هورمون‌ها یا زنوبیوتیک‌ها دارد. مطالعات عملی مختلف نشان می‌دهند که SNP (Single-nucleotide polymorphism)های مختلف ژن CYP۱B۱، ویژگی‌های کاتالیتیکی و فعالیت آنزیماتیکی آن را تغییر می‌دهند (۲۲-۱۷).



تصویر شماره ۱: نتایج پلی مورفیسم G۴۳۲۶C ژن CYP۱B۱ بر روی ژل آگارز. L: 50 bp DNA ladder، چاهک ۱: محصول PCR بدون مواجهه با آنزیم محدود کننده (۲۹۴ bp)، چاهک ۲: ژنوتیپ هموزیگوت GG، چاهک ۳: ژنوتیپ هتروزیگوت GC، چاهک ۴: ژنوتیپ هموزیگوت CC.

جدول شماره ۱:توزیع ژنوتیپی و اللی پلی مورفیسم G۴۳۲۶ C ژن CYP۱B۱ در شهر ساری

پلی مورفیسم G۴۳۲۶C ژن CYP۱B۱	فراوانی (٪)	محدوده اطمینان ۹۵٪
ژنوتیپ		
GG	۱۲/۰	۶/۴۰–۱۷/۶۰
GC	۴۰/۷	۳۲/۸۴–۴۸/۵۶
CC	۴۷/۳	۳۹/۳۲–۵۵/۲۸
الل		
G	۳۲/۳	۲۷/۰۲–۳۷/۳۰
C	۶۷/۷	۶۲/۰۰–۷۲/۶۵
مقدار P	۰/۰۵ >	۰/۰۵ >

بررسی‌های مختلف حاکی است چهار پلی مورفیسم در ژن CYP۱B۱ در محل کدون‌های (CYP۱B۱*۲) Arg۴۸Gly، (CYP۱B۱*۲) Ala۱۱۹Ser، (CYP۱B۱*۳) Leu۴۳۲Val و (CYP۱B۱*۴) Asn۴۵۳Ser فعالیت هیدروکسیلاسیون بیشتری نسبت به انواع طبیعی دارند (۳۰، ۲۸). همچنین مشخص شده است که پلی مورفیسم در محل کدون‌های (CYP۱B۱*۲) Ala۱۱۹Ser و (CYP۱B۱*۳) Leu۴۳۲Val منجر به افزایش فعالیت آنزیم تا ۲ الی ۴ برابر آنزیم نوع طبیعی می‌شود (۲۸). بیان CYP۱B۱ در بافت رحم، به طور ویژه مسؤول تبدیل داروی تاموکسیفن به متابولیت ژنوتوکسیک آلفا-هیدروکسی تاموکسیفن شناخته می‌شود که تشکیل DNA adducts از عواقب کارسینوژنیسیته این ترکیب است و علت اصلی افزایش ریسک سرطان اندومتر ناشی از مصرف تاموکسیفن می‌باشد (۲۹، ۲۶).

همچنین مطالعات دیگر بیان می‌کنند که CYP۱B۱ در متابولیسم فلوتامایِد (یک آنتاگونیست گیرنده تستوسترون و مورد کاربرد در درمان سرطان پروستات) دخیل می‌باشد که ممکن است به پاسخ‌های توموری متفاوت در درمان با این دارو بینجامد (۳۰، ۲۶). فراوانی پلی مورفیسم (CYP۱B۱*۳) Leu۴۳۲Val در میان جمعیت اتیوپی نسبت به جمعیت سفید پوستان (۳۱، ۲۷) و جمعیت ژاپن (۳۲، ۲۶) بیشتر می‌باشد. در مطالعه حاضر، فراوانی پلی مورفیسم CYP۱B۱*۳ در جمعیت شهر ساری از استان مازندران (۴۷/۳ درصد) با فراوانی گزارش شده در میان جمعیت شمالی هند (۴۸/۸ درصد) و جمعیت اتیوپی (۵۳ درصد) و جمعیت سفید پوستان (۴۳ درصد) مشابه می‌باشد، اما بسیار کمتر از فراوانی مشاهده شده در میان جمعیت آفریقایی- آمریکایی (۷۵ درصد) و بسیار بیشتر از فراوانی مشاهده شده در میان جمعیت چینی (۱۷ درصد) می‌باشد (۳۳، ۲۶).

گزارش شده است که پلی مورفیسم‌های (CYP۱B۱*۲) Ala۱۱۹Ser و (CYP۱B۱*۳) Leu۴۳۲Val ممکن است با افزایش سرطان اندومتریال به وسیله افزایش بیان رسپتورهای ERα و ERβ مرتبط باشد. یک مطالعه بر روی جمعیت اتیوپی و آفریقایی- آمریکایی، خطر افزایش یافته‌ای از استعداد ابتلا به سرطان اندومتریال در اشخاص هموزیگوت پلی مورفیسم نوع طبیعی Leu۴۳۲Val را نشان می‌دهد (۳۴، ۲۶). نشان داده شده است که هر دو ژنوتیپ هموزیگوت و هتروزیگوت از پلی مورفیسم Leu۴۳۲Val با خطر افزایش یافته سرطان سینه به اندازه سرطان تخمدان مرتبط است (۳۶، ۳۵، ۲۶، ۲۲). ارتباط پلی مورفیسم Ala۱۱۹Ser و Leu۴۳۲Val با خطر افزایش یافته سرطان پروستات در میان جمعیت ژاپن گزارش شده است (۳۸، ۳۷، ۲۶).

یک مطالعه مورد- شاهد در میان جمعیت شمال هند، از افزایش خطر ابتلا به سرطان پروستات در ژنوتیپ موتانت هموزیگوت CYP۱B۱*۳ گزارش می‌دهد؛ در حالی که هیچ ارتباط مهمی با افزایش خطر در میان جمعیت هتروزیگوت مشاهده نشده است (۳۹، ۲۶).

جمعیت انسانی در معرض خطر سرطان به طور عمده متشکل از گروه‌هایی است که مواجهه بالایی با کارسینوژن‌ها دارند و همچنین گروه‌هایی که دارای ژن‌های مستعد پلی مورفیسم به ویژه ژن‌های درگیر در متابولسیم کارسینوژن‌ها و ترمیم DNA هستند (۴۰، ۲۶). CYP۱B۱ یک آنزیم شناخته شده است که نقش کلیدی در فعال‌سازی طیف گسترده‌ای از پروکارسینوژن‌ها مانند تنباکو دارد که مرتبط با هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای مانند benzo[α]pyrene می‌باشد (۴۱، ۲۶). فعال‌سازی متابولیکی این ترکیبات می‌تواند نقش مهمی در پیشرفت کارسینوژنیک

سرطان‌های مرتبط با دود سیگار مانند سرطان دهان، ریه، گردن و سر داشته باشد (۴۲، ۲۶).

ژنوتیپ موتانت هموزیگوت CYP۱B۱*۳ به طور قابل توجهی با خطر افزایش یافته سرطان ریه در میان افراد سیگاری مرتبط است (۴۳، ۲۶). علاوه بر افزایش خطر و استعداد ابتلا به انواع سرطان‌های مرتبط با ژن CYP۱B۱، در مواردی ارتباط بین POAG (Primary open-angle glaucomas) و PACG (Primary angle-closure glaucomas) با ژن CYP۱B۱ توسط چندین مطالعه گزارش شده است. گلوکوم منجر به کوری غیر قابل برگشت می‌شود و بعد از آب مروارید، دومین دلیل ایجاد کوری در میان ۶۶ میلیون نفر در سراسر جهان می‌باشد (۴۵، ۴۴، ۲۶).

ارتباط پلی مورفیسم‌های ژن CYP۱B۱ در محل کدون‌های Ala۱۱۹Ser، Arg۴۸Gly و Leu۴۳۲Val با گلوکوم در میان هر دو جمعیت شرقی و جنوبی هند گزارش شده است (۴۸-۴۶، ۲۶). در ایران چیت‌سازیان و همکاران به بررسی جهش‌های موجود در ژن CYP ۱B۱، در مبتلایان به گلوکوم مادرزادی در جمعیت ایران پرداختند که ارتباط پلی مورفیسم‌های ژن CYP۱B۱ در محل کدون‌های Arg۴۸Gly، Ala۱۱۹Ser و Leu۴۳۲Val با گلوکوم در ۵۲ درصد از بیماران تحت مطالعه مشخص شده است (۴۹).

نتایج حاصل از تحقیق حاضر حاکی است که تنها ۱۲ درصد از افراد مورد بررسی دارای فرم طبیعی (ژنوتیپ GG) هستند و ۴۰ درصد دارای ژنوتیپ موتانت هتروزیگوت و ۴۸ درصد دارای ژنوتیپ موتانت هموزیگوت می‌باشند. به عبارت دیگر، در ۸۸ درصد افراد مورد بررسی، فعالیت آنزیم CYP۱B۱ بالاتر از حد طبیعی است و از این تعداد، بیش از ۵۰ درصد دارای فرم موتانت هموزیگوت هستند. با توجه به توضیحات ارایه شده در بخش‌های فوق و نتایج حاصل از مطالعات دیگر، می‌توان گفت جمعیت مازندران و شهر ساری به دلیل تغییرات پلی مورفیک در CYP۱B۱، دارای فعالیت بیشتری از این آنزیم است؛ طبیعی است که مواجهه بیشتری با عوامل کارسینوژن فعال شده، اندوژن و اگزوژن خواهند داشت.

از طرف دیگر، استان مازندران به دلیل شرایط اقلیمی و وجود بستر مناسب آب و هوایی برای عمل‌آوری محصولات گوناگون کشاورزی و باغی، به شکل ناخواسته و به دلیل عدم رعایت استانداردهای لازم در استفاده از سموم آفت‌کش و نیز کودهای شیمیایی، در معرض سطوح بالایی از این سموم و ترکیبات قرار دارد. چه این که این ترکیبات با آلودگی مزارع، باغات، رودخانه‌ها و دریا وارد چرخه آب و غذای ساکنین استان می‌گردد و می‌تواند به عنوان یک عامل خطر مهم ابتلا به سرطان‌ها باشد.

بنابراین با عنایت به این دو مورد، شاید بتوان بخشی از علل شیوع بالای سرطان‌ها در نوار شمالی کشور را توجیه کرد. به نظر می‌رسد که بتوان با انجام آزمایش‌های ژنتیکی و ارزیابی پلی مورفیسم‌های مهم از ژن‌های آنزیم‌های متابولیزه کننده سموم و داروها مانند آنزیم‌های CYP۴۵۰، NAT (N-acetyltransferase)، GST (Glutathione S-transferases)، UDPGT (Uridine diphosphate glucuronyltransferase) و غیره در جمعیت‌های سالم، خطر ابتلای افراد به سرطان را مورد بررسی قرار داد. همچنین انجام این تحقیقات بر روی بیماران سرطانی و ارزیابی ارتباط بین پلی مورفیسم در ژن‌های فوق با هر کدام از انواع سرطان نیز می‌تواند راهنمایی در جهت پیشگیری، درمان و کاهش سمیت داروهای مورد استفاده باشد.

از آن جایی که تاکنون هیچ مطالعه‌ای از فراوانی پلی مورفیسم ژنتیکی ژن CYP۱B۱ در میان جمعیت سالم در ایران گزارش نشده است، نتایج این مطالعه می‌تواند نقش مهمی در شناخت توزیع گوناگونی پلی مورفیسم ژنتیکی ژن CYP۱B۱ و خطر ابتلا به انواع سرطان در میان جمعیت سالم ایرانی (استان مازندران، شهر ساری) داشته باشد. همچنین به نظر می‌رسد که پلی مورفیسم‌های افزاینده فعالیت CYP۱B۱ در افزایش خطر ابتلا به گلوکوم نیز نقش دارند. انجام مطالعات بیشتر بر روی این بیماران می‌تواند راهگشایی در تشخیص ژنتیکی زمینه ابتلا به این علت مهم نابینایی باشد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل بخشی از نتایج پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد سم‌شناسی خانم سمیه معصومی و طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از دکتر علیرضا رستمیان و دکتر حسینعلی اسماعیلی، پزشکان محترم سازمان انتقال خون شهر ساری، به جهت همکاری در معاینه داوطلبان و اخذ نمونه خونی، اعلام می دارند. از دکتر بهرام کاظمی نیز به دلیل همفکری در این تحقیق قدردانی می‌شود.

References

1. Xu W, Zhou Y, Hang X, Shen D. Current evidence on the relationship between CYP1B1 polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. Mol Biol Rep 2012; 39(3): 2821-9.
2. Pastina I, Giovannetti E, Chioni A, Sissung TM, Crea F, Orlandini C, et al. Cytochrome 450 1B1 (CYP1B1) polymorphisms associated with response to docetaxel in Castration-Resistant Prostate Cancer (CRPC) patients. BMC Cancer 2010; 10: 511.
3. Trubicka J, Grabowska-Klujszo E, Suchy J, Masojc B, Serrano-Fernandez P, Kurzawski G, et al. Variant alleles of the CYP1B1 gene are associated with colorectal cancer susceptibility. BMC Cancer 2010; 10: 420.
4. Okobia MN, Bunker CH, Garte SJ, Zmuda JM, Ezeome ER, Anyanwu SN, et al. Cytochrome P450 1B1 Val432Leu polymorphism and breast cancer risk in Nigerian women: a case control study. Infect Agent Cancer 2009; 4(Suppl 1): S12.
5. Matyjasik J, Cybulski C, Masojc B, Jakubowska A, Serrano-Fernandez P, Gorski B, et al. CYP1B1 and predisposition to breast cancer in Poland. Breast Cancer Res Treat 2007; 106(3): 383-8.
6. Purnapatre K, Khattar SK, Saini KS. Cytochrome P450s in the development of target-based anticancer drugs. Cancer Lett 2008; 259(1): 1-15.
7. Helmig S, Hadzaad B, Dohrel J, Schneider J. Relative quantification of Cytochrome P450 1B1 gene expression in peripheral leukocytes using lightcycler. Cancer Genomics Proteomics 2009; 6(1): 13-7.
8. Tsuchiya Y, Nakajima M, Yokoi T. Cytochrome P450-mediated metabolism of estrogens and its regulation in human. Cancer Lett 2005; 227(2): 115-24.
9. Cho YJ, Hur SE, Lee JY, Song IO, Moon HS, Koong MK, et al. Single nucleotide polymorphisms and haplotypes of the genes encoding the CYP1B1 in Korean women: no association with advanced endometriosis. J Assist Reprod Genet 2007; 24(7): 271-7.
10. Beuten J, Gelfond JA, Byrne JJ, Balic I, Crandall AC, Johnson-Pais TL, et al. CYP1B1 variants are associated with prostate cancer in non-Hispanic and Hispanic Caucasians. Carcinogenesis 2008; 29(9): 1751-7.
11. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. Pharmacol Ther 2013; 138(1): 103-41.
12. Nebert DW, Ingelman-Sundberg M, Daly AK. Genetic epidemiology of environmental toxicity and cancer susceptibility: human allelic polymorphisms in drug-metabolizing enzyme genes, their functional importance, and nomenclature issues. Drug Metab Rev 1999; 31(2): 467-87.
13. Hanna IH, Dawling S, Roodi N, Guengerich FP, Parl FF. Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) pharmacogenetics: association of polymorphisms with functional differences in estrogen hydroxylation activity. Cancer Res 2000; 60(13): 3440-4.
14. Shimada T, Hayes CL, Yamazaki H, Amin S, Hecht SS, Guengerich FP, et al. Activation of chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P-450 1B1. Cancer Res 1996; 56(13): 2979-84.
15. Shimada T, Watanabe J, Kawajiri K, Sutter TR, Guengerich FP, Gillam EM, et al. Catalytic properties of polymorphic human cytochrome P450 1B1 variants. Carcinogenesis 1999; 20(8): 1607-13.
16. Chen B, Qiu LX, Li Y, Xu W, Wang XL, Zhao WH, et al. The CYP1B1 Leu432Val polymorphism contributes to lung cancer risk: evidence from 6501 subjects. Lung Cancer 2010; 70(3): 247-52.
17. Kocabas NA, Sardas S, Cholerton S, Daly AK, Karakaya AE. Cytochrome P450 CYP1B1 and catechol O-methyltransferase (COMT) genetic polymorphisms and breast cancer susceptibility in a Turkish population. Arch Toxicol 2002; 76(11): 643-9.
18. Bailey LR, Roodi N, Dupont WD, Parl FF. Association of cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) polymorphism with steroid receptor status in breast cancer. Cancer Res 1998; 58(22): 5038-41.

19. De Vio I, Hankinson SE, Li L, Colditz GA, Hunter DJ. Association of CYP1B1 polymorphisms and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002; 11(5): 489-92.
20. Ahsan H, Chen Y, Whittemore AS, Kibriya MG, Gurvich I, Senie RT, et al. A family-based genetic association study of variants in estrogen-metabolism genes COMT and CYP1B1 and breast cancer risk. Breast Cancer Res Treat 2004; 85(2): 121-31.
21. Rylander-Rudqvist T, Wedren S, Granath F, Humphreys K, Ahlberg S, Weiderpass E, et al. Cytochrome P450 1B1 gene polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. Carcinogenesis 2003; 24(9): 1533-9.
22. Zheng W, Xie DW, Jin F, Cheng JR, Dai Q, Wen WQ, et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450-1B1 and risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000; 9(2): 147-50.
23. Jiao H, Liu C, Guo W, Peng L, Chen Y, Martin FL. Association of CYP1B1 Polymorphisms with Breast Cancer: A Case-Control Study in the Han Population in Ningxia Hui Autonomous Region, P. R. China. Biomark Insights 2010; 5: 21-7.
24. Wen W, Cai Q, Shu XO, Cheng JR, Parl F, Pierce L, et al. Cytochrome P450 1B1 and catechol-O-methyltransferase genetic polymorphisms and breast cancer risk in Chinese women: results from the shanghai breast cancer study and a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14(2): 329-35.
25. Napoli N, Rini GB, Serber D, Giri T, Yarramaneni J, Bucchieri S, et al. The Val432Leu polymorphism of the CYP1B1 gene is associated with differences in estrogen metabolism and bone density. Bone 2009; 44(3): 442-8.
26. Kumar V, Singh S, Ahmed RS, Banerjee BD, Ahmed T, Pasha ST. Frequency of common CYP1B1 polymorphic variations in Delhi population of Northern India. Environ Toxicol Pharmacol 2009; 28(3): 392-6.
27. Aklillu E, Oscarson M, Hidestrand M, Leidvik B, Otter C, Ingelman-Sundberg M. Functional analysis of six different polymorphic CYP1B1 enzyme variants found in an Ethiopian population. Mol Pharmacol 2002; 61(3): 586-94.
28. Sasaki M, Tanaka Y, Kaneuchi M, Sakuragi N, Dahiya R. CYP1B1 gene polymorphisms have higher risk for endometrial cancer, and positive correlations with estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta expressions. Cancer Res 2003; 63(14): 3913-8.
29. Rochat B, Morsman JM, Murray GI, Figg WD, McLeod HL. Human CYP1B1 and anticancer agent metabolism: mechanism for tumor-specific drug inactivation? J Pharmacol Exp Ther 2001; 296(2): 537-41.
30. Sharma M, Shubert DE, Sharma M, Lewis J, McGarrigle BP, Bofinger DP, et al. Biotransformation of tamoxifen in a human endometrial explant culture model. Chem Biol Interact 2003; 146(3): 237-49.
31. Stoilov I, Akarsu AN, Sarfarazi M. Identification of three different truncating mutations in cytochrome P4501B1 (CYP1B1) as the principal cause of primary congenital glaucoma (Buphthalmos) in families linked to the GLC3A locus on chromosome 2p21. Hum Mol Genet 1997; 6(4): 641-7.
32. Inoue K, Asao T, Shimada T. Ethnic-related differences in the frequency distribution of genetic polymorphisms in the CYP1A1 and CYP1B1 genes in Japanese and Caucasian populations. Xenobiotica 2000; 30(3): 285-95.
33. Tang YM, Green BL, Chen GF, Thompson PA, Lang NP, Shinde A, et al. Human CYP1B1 Leu432Val gene polymorphism: ethnic distribution in African-Americans, Caucasians and Chinese; oestradiol hydroxylase activity; and distribution in prostate cancer cases and controls. Pharmacogenetics 2000; 10(9): 761-6.
34. Doherty JA, Weiss NS, Freeman RJ, Dightman DA, Thornton PJ, Houck JR, et al. Genetic factors in catechol estrogen metabolism in relation to the risk of endometrial cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14(2): 357-66.
35. Listgarten J, Damaraju S, Poulin B, Cook L, Dufour J, Driga A, et al. Predictive models for breast cancer susceptibility from multiple single nucleotide polymorphisms. Clin Cancer Res 2004; 10(8): 2725-37.
36. Goodman MT, McDuffie K, Kolonel LN, Terada K, Donlon TA, Wilkens LR, et al. Case-control study of ovarian cancer and polymorphisms in genes involved in catecholestrogen formation and metabolism. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2001; 10(3): 209-16.
37. Tanaka Y, Sasaki M, Kaneuchi M, Shiina H, Igawa M, Dahiya R. Polymorphisms of the CYP1B1 gene have higher risk for prostate cancer. Biochem Biophys Res Commun 2002; 296(4): 820-6.
38. Fukatsu T, Hirokawa Y, Araki T, Hioki T, Murata T, Suzuki H, et al. Genetic polymorphisms of hormone-related genes and prostate cancer risk in the Japanese population. Anticancer Res 2004; 24(4): 2431-7.
39. Sobti RC, Onsory K, Al-Badran AI, Kaur P, Watanabe M, Krishan A, et al. CYP17, SRD5A2, CYP1B1, and CYP2D6 gene polymorphisms with prostate cancer risk in North Indian population. DNA Cell Biol 2006; 25(5): 287-94.
40. Caporaso N, Goldstein A. Cancer genes: single and susceptibility: exposing the difference. Pharmacogenetics 1995; 5(2): 59-63.
41. Nebert DW, Dalton TP, Okey AB, Gonzalez FJ.

Role of aryl hydrocarbon receptor-mediated induction of the CYP1 enzymes in environmental toxicity and cancer. J Biol Chem 2004; 279(23): 23847-50.
42. Hecht SS. Cigarette smoking and lung cancer: chemical mechanisms and approaches to prevention. Lancet Oncol 2002; 3(8): 461-9.
43. Wenzlaff AS, Cote ML, Bock CH, Land SJ, Santer SK, Schwartz DR, et al. CYP1A1 and CYP1B1 polymorphisms and risk of lung cancer among never smokers: a population-based study. Carcinogenesis 2005; 26(12): 2207-12.
44. Gong G, Kosoko-Lasaki O, Haynatzki GR, Wilson MR. Genetic dissection of myocilin glaucoma. Hum Mol Genet 2004; 13(Spec No 1): R91-102.
45. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. Br J Ophthalmol 1996; 80(5): 389-93.
46. Acharya M, Mookherjee S, Bhattacharjee A, Bandyopadhyay AK, Daulat Thakur SK, Bhaduri G, et al. Primary role of CYP1B1 in Indian juvenile-onset POAG patients. Mol Vis 2006; 12: 399-404.
47. Bhattacharjee A, Banerjee D, Mookherjee S, Acharya M, Banerjee A, Ray A, et al. Leu432Val polymorphism in CYP1B1 as a susceptible factor towards predisposition to primary open-angle glaucoma. Mol Vis 2008; 14: 841-50.
48. Kumar A, Basavaraj MG, Gupta SK, Qamar I, Ali AM, Bajaj V, et al. Role of CYP1B1, MYOC, OPTN, and OPTC genes in adult-onset primary open-angle glaucoma: predominance of CYP1B1 mutations in Indian patients. Mol Vis 2007; 13: 667-76.
49. Chitsazian F, Tusi BK, Elahi E, Saroei HA, Sanati MH, Yazdani S, et al. CYP1B1 mutation profile of Iranian primary congenital glaucoma patients and associated haplotypes. J Mol Diagn 2007; 9(3): 382-93.