

Polymorphisms of CYP1A1 Gene Variants m1 and m2 and Their Association with the Incidence of Cancer in West of Mazandaran Province, Iran

Saba Sadat Hosseini¹,
Shahrbanou Keyhanian²,
Ebrahim Vosoughi^{1,3},
Nematollah Ahangar⁴

¹ Doctor of Pharmacy, Student Research Committee, Ramsar Campus, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Associate Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran

³ Azerbaijan National Academy of Sciences, Genetic Resources Institute, Baku, Azerbaijan

⁴ Associate Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Department of Toxicology/Pharmacology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received January 27, 2018 ; Accepted July 10, 2018)

Abstract

Background and purpose: The aim of this study was to determine the genetic variability of *CYP1A1* m1 and m2 polymorphisms in cancer patients compared with healthy population in the west of Mazandaran province, Iran.

Materials and methods: A case-control study was carried out in 120 non-relative healthy volunteers (60 males and 60 females) and 84 non-relative patients (39 males and 46 females) with diagnosis of cancer, attending the Hematology/Oncology ward in Ramsar Imam Sajjad Hospital between July 2016 and December 2017. Peripheral blood samples (3ml) were taken from the participants and stored at -20°C. The PCR-RFLP method was used to determine the distribution of *CYP1A1* gene polymorphisms.

Results: Among the two gene variants m1 and m2, individuals with AG and GG genotypes of *CYP1A1* m2 polymorphism were found to have a significantly higher and increased risk for cancer (OR=3.94, 95%CI=2.05-7.57, P= 0.00, OR=9.46 , 95%CI=1.92-46.49, P= 0.00, respectively) and the TC genotype of *CYP1A1* m1 polymorphism also had a significantly higher and increased risk for cancer (OR= 2.6 , 95% CI = 1.4-4.6, P=0.00). The 'G' allele was detected to have a strong association with cancer (P<0.001). The 'C' allele also showed strong association with the incidence of cancer (P<0.001). Thus, both *CYP1A1* m1 and m2 polymorphisms showed an increased risk for cancer.

Conclusion: Our study suggested that the presence of 'C' allele of m1 polymorphism and 'G' allele of m2 polymorphism as the leading alleles that increase cancer susceptibility in the studied population.

Keywords: *CYP 1A1*, Iranian population, Mazandaran, polymorphism, PCR-RFLP

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (164): 57-68 (Persian).

* **Corresponding Author:** Nematollah Ahangar - Pharmaceutical Sciences Research Center and Department of Toxicology/Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: n.ahangar@mazums.ac.ir)

بررسی پلی مورفیسم های m1 و m2 ژن CYP1A1 و ارتباط آن با ابتلا به سرطان در غرب استان مازندران

صبا سادات حسینی^۱

شهربانو کیهانیان^۲

ابراهیم وثوقی^{۳،۱}

نعمت اله آهنگر^۴

چکیده

سابقه و هدف: این مطالعه با هدف بررسی پلی مورفیسم m1 و m2 ژن CYP1A1 در بیماران سرطانی و مقایسه آن با یک گروه سالم در غرب استان مازندران انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، در مجموع ۱۲۰ داوطلب سالم غیر خویشاوند (۶۰ مرد و ۶۰ زن) از غرب استان مازندران و ۸۴ بیمار غیر خویشاوند (۳۹ مرد و ۴۵ زن) مبتلا به سرطان بستری در بخش خون و انکولوژی بیمارستان امام سجاد رامسر در فاصله‌ی زمانی تیر ماه ۹۵ تا دی ماه ۹۶، وارد مطالعه شدند. از هر فرد ۳ میلی لیتر خون محیطی گرفته شد و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. در بررسی تعیین پراکنندگی پلی مورفیسم ژن CYP1A1 از روش PCR-RFLP استفاده شد.

یافته ها: طی بررسی‌های این مطالعه، ژنوتیپ‌های AG ($p=0/00$)، GG ($OR=3/94$) و TC ($p=0/00$) از پلی مورفیسم m2 ژن CYP1A1 منجر به افزایش ریسک ابتلا به سرطان شدند. ژنوتیپ TC از پلی مورفیسم m1 ژن CYP1A1 افزایش ریسک ابتلا به سرطان را نشان داد ($p=0/00$)، هر دو افزایش ریسک ابتلا به سرطان را نشان دادند. ($p < 0/001$)

استنتاج: مطالعه حاضر نشان داد که حضور آلل C از پلی مورفیسم m1 و آلل G از پلی مورفیسم m2 ژن CYP1A1 منجر به افزایش ریسک ابتلا به سرطان در جمعیت مورد مطالعه می‌شود.

واژه های کلیدی: CYP 1A1، جمعیت ایرانی، مازندران، پلی مورفیسم، PCR-RFLP

مقدمه

آنزیم‌ها تاثیر می‌گذارند که منجر به تفاوت‌های بین فردی در غلظت پلاسمایی داروها می‌گردد(۱). سیتوکروم p450 ها که یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های مرحله اول

سیستم آنزیمی متابولیزه کننده داروها در انسان Cytochrome p450 (cyp450) می‌باشد. ژنتیک، عادات غذایی و سایر عوامل محیطی و داروها بر فعالیت این

مؤلف مسئول: نعمت اله آهنگر - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: n.ahangar@mazums.ac.ir

۱. دکتر داروساز، کمیته تحقیقات دانشجویی، پردیس رامسر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، تنکابن، ایران

۳. محقق ژنتیک پزشکی - آکادمی ملی علوم آذربایجان - انستیتو تحقیقات و ذخایر ژنتیک، باکو، آذربایجان

۴. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی و گروه سم شناسی/فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۱۱/۱۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۴/۱۹

شناخته شده که چهار فرم آن متداول تر است و پراکندگی این ایزوفرم‌ها در اقوام و نژادهای مختلف متفاوت می‌باشد. پلی مورفیسم m1 که به پلی مورفیسم Msp1 نیز شناخته می‌شود، در ناحیه غیر کدکننده UTR^{3'} در نوکلئوتید ۳۸۰۱+ واقع شده که در این پلی مورفیسم باز تیمین به سیتوزین تبدیل می‌شود. پلی مورفیسم m2 نیز که با نام BsrD1 نیز مشهور است، در نوکلئوتید شماره ۲۴۵۵+ اگزون شماره ۷ قرار دارد که در این پلی مورفیسم باز آدنین به گوانین تبدیل شده و در نتیجه در کدون شماره ۴۶۲ اسید آمینه ایزولوسین به والین تبدیل می‌شود. این جهش در جایگاه فعال آنزیمی یعنی محل اتصال گروه هم قرار دارد و باعث می‌شود که این فرم ژنی نسبت به فرم‌های دیگر طول عمر و فعالیت بیشتری داشته باشند. m3 در ناحیه غیر کدکننده ۳' در نوکلئوتید ۳۲۰۵ می‌باشد که باز تیمین به سیتوزین تبدیل می‌گردد، در نهایت m4 در نوکلئوتید ۲۴۵۳ است که باز سیتوزین به آدنین تبدیل شده و در کدون ۴۶۱ اسید آمینه ترئونین به آسپارات تبدیل می‌شود (۶). پراکندگی پلی مورفیسم‌های فوق در نژادهای مختلف متفاوت است و ژنوتیپ‌های متفاوت می‌توانند عملکرد آنزیم را تغییر دهند. گزارشات نشان می‌دهند که در میان آسیایی‌ها پلی مورفیسم‌های m1 و m2 رایج‌ترین اشکال پلی مورفیسم این ژن هستند (۷). فراوانی آلل‌های m1 و m2 که به عنوان آلل‌های دارای خطر بیش‌تر شناخته می‌شوند هشت تا هجده بار در جمعیت آسیایی بیش‌تر از جمعیت قفقازی می‌باشد. مطالعات زیادی جهت نشان دادن ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ژن *CYP1A1* با بیماری‌های مختلف مثل دیابت، سرطان سینه، سرطان پروستات، سرطان ریه، تومور سلول‌های کلیوی و ... در کشورهای همانند چین، هند، ژاپن، برزیل و ترکیه صورت گرفته است و در این بررسی‌ها نتایج متفاوتی از ارتباط بین این پلی مورفیسم‌ها با استعداد ابتلا به سرطان حاصل شده است (۸-۱۱). در کشور ایران مطالعاتی در مورد ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ژن *CYP1A1* و برخی

سم‌زدایی شناخته می‌شوند، جزء خانواده بزرگ آنزیمی پروتئین‌های واجد گروه هم می‌باشند. این آنزیم‌ها که در موجودات مختلف از باکتری تا انسان یافت می‌شوند، وظیفه اصلی اکسیداسیون ترکیباتی نظیر سموم، چربی‌ها و هورمون‌های استروئیدی را عهده‌دار می‌باشند. این آنزیم‌ها در کنار وظیفه اصلی خود که سم‌زدایی است، گاه با تغییراتی که روی مواد سرطان‌زا اعمال می‌کنند موجب فعال شدن آن‌ها می‌گردند. مطالعات نشان داده است که در انسان ۱۸ خانواده ژنی، ۴۳ زیر خانواده، ۵۹ ژن و ۳۳ ژن کاذب برای این آنزیم‌ها وجود دارد (۲). تداخلات زیان‌آور بین سموم آلوده‌کننده محیطی و DNA ممکن است از طریق طیفی از مکانیسم‌های دفاع بیولوژیکی تعدیل یابند که این مکانیسم‌ها شامل ترمیم DNA، کنترل نقاط تنظیم چرخه سلولی و آنزیم‌های پاک‌سازی زنبیوتیک‌ها می‌باشند. پاک‌سازی زنبیوتیک‌ها جهت حذف کارسینوژن‌ها دارای اهمیت است و به صورت اولیه به وسیله هیدروکسیلاسیون انجام می‌گردد. آنزیم‌های سیتوکروم p450 در هیدروکسیل‌دار کردن نقش مهمی دارند (۳-۵). ژن *CYP1A1* که به نام هیدروکربن هیدروکسیلاز هم شناخته می‌شود یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های سیتوکروم p450 می‌باشد. این ژن روی کروموزوم شماره ۵ انسان در کنار ژن کدکننده آنزیم مانوز فسفات ایزومراز در موقعیت 22-24q 15 قرار دارد. این ژن به طول ۵۸۱۰ جفت باز دارای ۷ اگزون و ۶ اینترون می‌باشد. ترجمه این ژن از اگزون ۲ شروع شده و پروتئینی با ۵۱۲ آمینواسید حاصل می‌شود. این آنزیم در بافت‌های غیر کبدی نظیر شش‌ها، معده، روده کوچک، پروستات، پستان و تخمدان بیان بالایی دارد. رونویسی این ژن تحت تاثیر عوامل ژنتیکی، پلی مورفیسم ژن‌های ساختاری و تنظیمی و عوامل محیطی تنظیم می‌شود. اتصال ترکیبات خارجی و آلاینده‌های محیطی از جمله بنزوپیرن و هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای به گیرنده‌های آریل هیدروکربن موجب تحریک رونویسی این ژن می‌شود. پلی مورفیسم‌های متعددی برای این ژن

5'TTCCACCCGTTGCAGCAGGATAGC3' و پرایمر Reverse با توالی 5'CTGTCTCCCTCTGGTTACAGGAAG3' برای پلی مورفیسم m2 (BsrD1) در کنار DNA استخراج شده استفاده شد. برنامه زمانی و دمایی دستگاه ترموسایکلر (BIO-RAD, USA) T100 در مراحل Initial denaturation, Final extension, Extension, Annealing, Denaturation برای پلی مورفیسم m1 به ترتیب ۵ دقیقه و ۹۴ درجه سانتی گراد، ۰:۴۵ ثانیه و ۹۴ درجه سانتی گراد، ۱ دقیقه و ۶۱ درجه سانتی گراد، ۰:۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد در ۳۰ سیکل و برای پلی مورفیسم m2 به ترتیب ۵ دقیقه و ۹۴ درجه سانتی گراد، ۰:۴۵ ثانیه و ۹۴ درجه سانتی گراد، ۱ دقیقه و ۶۳ درجه سانتی گراد، ۰:۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد در ۳۰ سیکل تنظیم شد. محصول PCR توسط دو آنزیم محدودکننده به نام های Msp1 و BsrD1 به ترتیب در نواحی ۳۴۰ و ۲۰۴ برش داده شد. محصول حاصل از فرایند RFLP، در ژل آگارز ۲/۵ درصد حاوی ۰/۷ میکرولیتر safe stain بارگذاری و در نهایت باندهای جدا شده بر اساس وزن مولکولی، توسط uv trans-illuminator مشاهده شد (۱۴).

آنالیز آماری

اطلاعات به دست آمده، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ به طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به منظور مقایسه توالی آلل ها و ژنوتیپ ها در افراد مورد مطالعه از آزمون مربع کای و نسبت شانز Odds Ratio) با محدوده اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه ۸۴ نفر از افراد مبتلا به انواع سرطان مراجعه کننده به بیمارستان امام سجاد (ع) شهرستان رامسر و ۱۲۰ نفر از افراد سالم ساکن غرب استان مازندران مورد ارزیابی قرار گرفتند که مشخصات دموگرافیک آن ها در جدول شماره ۱ آورده شده است.

از انواع سرطان ها از جمله سرطان مری و لوکمی صورت گرفته است (۱۳، ۱۲). این مطالعه برای نخستین بار با هدف بررسی و مقایسه ارتباط پلی مورفیسم های m1 و m2 از ژن CYP1A1 با ابتلا به سرطان در مردم ساکن غرب استان مازندران انجام پذیرفت.

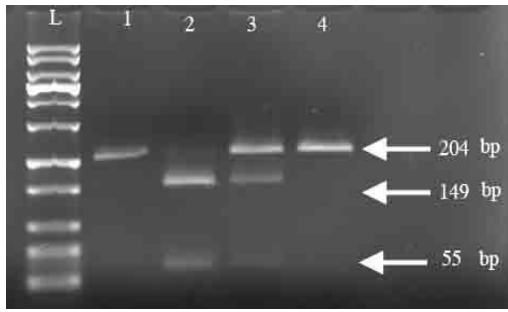
مواد و روش ها

نمونه های مورد مطالعه

در این مطالعه مورد-شاهدی، نمونه گیری از ۱۲۰ داوطلب سالم (۶۰ مرد و ۶۰ زن، بدون سابقه ابتلا به هر نوع بیماری مزمن و بدخیمی، بیماری های خود ایمنی، بیماری های اندوکراین) غیر خویشاوند غرب استان مازندران و ۸۴ بیمار مبتلا به سرطان (۳۹ مرد و ۴۶ زن) غیر خویشاوند بستری در بخش خون و انکولوژی بیمارستان امام سجاد (ع) رامسر جهت شیمی درمانی در فاصله زمانی تیر ۱۳۹۵ تا دی ۱۳۹۶ انجام شد. اخذ نمونه از بیماران فوق با ارائه توضیحات کامل در خصوص مطالعه و کسب رضایت کتبی از ایشان بابت شرکت در مطالعه صورت گرفت. حدود ۳ میلی لیتر خون محیطی از هر فرد گرفته و در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد خون EDTA ریخته شده و با استفاده از باکس یخ به آزمایشگاه منتقل و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد جهت تعیین وضعیت ژنتیکی نگهداری شد.

استخراج DNA توالی پرایمرها و واکنش PCR

DNA ژنومی از ۸۰۰ میکرو لیتر خون کامل استخراج گردید. پس از استخراج، نمونه های DNA در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. تعیین ژنوتیپ، به روش PCR-RFLP صورت گرفت. در روند PCR، از پرایمرهای (سینا کلون، ایران) Forward با توالی 5'CAGTGAAGAGGTGTAGCCGCT3' و پرایمر Reverse با توالی 5'TAGGAGTCTTGT CTCATGCCT3' برای پلی مورفیسم m1 (Msp1) و از پرایمر Forward با توالی



تصویر شماره ۲: نتایج پلی مورفیسم (m2) ژن *CYP1A1* بر روی ژل آگارز، 50 bp DNA Ladder، چاهک ۱: محصول PCR بدون مواجهه با آنزیم محدود کننده (204 bp)، چاهک ۲: ژنوتیپ AA، چاهک ۳: ژنوتیپ AG، چاهک ۴: ژنوتیپ GG.

جدول شماره ۲: درصد فراوانی بیماران بر حسب نوع سرطان

ردیف	نوع سرطان	تعداد (درصد)
۱	پستان	۲۱ (۲۵/۰)
۲	روده	۱۹ (۲۲/۶)
۳	لنفوم	۱۲ (۱۴/۳)
۴	معده	۹ (۱۰/۷)
۵	ریه	۷ (۸/۳)
۶	لوسمی مزمن لنفوئیدی	۶ (۷/۱)
۷	مولتیپل میلوما	۶ (۷/۱)
۸	تخمدان	۲ (۲/۴)
۹	لوسمی حاد لنفوئیدی	۲ (۲/۴)
	کل	۸۴ (۱۰۰/۰)

جدول شماره ۳: میزان فراوانی ژنوتیپ ها در نمونه های سالم

ژنوتیپ	تعداد (درصد)
AA	۹۷ (۸۰/۸)
AG	۲۱ (۱۷/۵)
GG	۲ (۱/۷)
مجموع	۱۲۰ (۱۰۰/۰)
TT	۷۵ (۵۲/۹)
TC	۴۱ (۴۳/۱)
CC	۴ (۳/۹)
مجموع	۱۲۰ (۱۰۰/۰)

جدول شماره ۴: میزان فراوانی ژنوتیپ ها در بیماران سرطانی

پلی مورفیسم	ژنوتیپ	تعداد (درصد)
m2	AA	۴۱ (۴۸/۸)
	AG	۳۵ (۴۱/۷)
	GG	۸ (۹/۵)
m1	مجموع	۸۴ (۱۰۰/۰)
	CC	۴ (۴/۸)
	TC	۴۷ (۵۶/۰)
	TT	۳۳ (۳۹/۳)
	مجموع	۸۴ (۱۰۰/۰)

جدول شماره ۱: وضعیت دموگرافیک نمونه های سالم و بیمار مورد مطالعه

سالم	n=۱۲۰	بیمار	n=۸۴
جنسیت	مرد ۶۰	مرد ۳۸	
	زن ۶۰	زن ۴۶	

انجام واکنش PCR با استفاده از پرایمر های ذکر شده و شرایط مذکور در دستگاه ترموسایکلر سبب ایجاد باند با اندازه ۳۴۰ و ۲۰۴ جفت باز به ترتیب برای پلی مورفیسم های m1 و m2 ژن *CYP1A1* گردید. تصاویر مربوط به نتایج هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم های *Msp1* و *Bsr1* به ترتیب در تصاویر شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است.

در جدول شماره ۲ میزان فراوانی بیماران بر حسب نوع سرطان مشخص شده است که سرطان پستان ۲۵/۰ درصد، سرطان روده ۲۲/۶ درصد، لنفوم هوچکین و غیر هوچکین ۱۴/۳ درصد، سرطان معده ۱۰/۷ درصد، سرطان ریه ۸/۳ درصد، لوسمی مزمن لنفوئیدی و مولتیپل میلوما هر کدام ۷/۱ درصد، سرطان تخمدان و لوسمی حاد لنفوئیدی هر کدام ۲/۴ درصد می باشند.

در جدول شماره ۳ و ۴ به ترتیب به درصد فراوانی ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم m1 و m2 ژن *CYP1A1* در افراد سالم و بیماران سرطانی شرکت کننده در مطالعه حاضر اشاره شده است.



تصویر شماره ۱: نتایج پلی مورفیسم (m1) ژن *CYP1A1* بر روی ژل آگارز، 50 bp DNA Ladder: L، چاهک ۱: محصول PCR بدون مواجهه با آنزیم محدود کننده (340 bp)، چاهک ۲: ژنوتیپ TT، چاهک ۳: ژنوتیپ TC، چاهک ۴: ژنوتیپ CC.

افرادی که ژنوتیپ AA دارند به ترتیب ۳/۹۴ و ۹/۴۶ برابر ریسک بیش تری دارند. در هر دو مورد این اختلاف از نظر آماری معنی دار است ($p < 0.001$).

جدول شماره ۷: توزیع فراوانی ژنوتیپ ها در پلی مورفیسیم m2 (A>G)

آلل	بیمار n=۸۴	کنترل n=۱۲۰	OR	۹۵ درصد CI	سطح معنی داری
AA	۴۱	۹۷	(۰/۷)		
AG	۳۵	۲۱	۳/۹۴	۲/۰۵-۷/۵۷	۰/۰۰
GG	۸	۲	۹/۴۶	۱/۹۳-۴۶/۴۹	۰/۰۰
مجموع	۸۴	۱۲۰			

در جدول شماره ۸ در دو گروه نرمال و بیمار، فراوانی آلل ها برای بررسی ریسک ابتلا به سرطان در پلی مورفیسیم m2 ژن CYP1A1 توسط هر آلل مجزا (G,A) بررسی شد. آلل G در بیماران بیش تر از افراد سالم مشاهده شد. افراد واجد آلل G به میزان ۳/۷۵ برابر از خطر بیش تری در ابتلا به سرطان برخوردار هستند ($p < 0.001$).

جدول شماره ۸: توزیع فراوانی آلل ها در پلی مورفیسیم m2 (A>G)

آلل	بیمار n=۸۴	کنترل n=۱۲۰	OR	۹۵ درصد CI	سطح معنی داری
A	۱۱۷	۲۱۵	۳/۷۵	۲/۲۱-۶/۳۶	۰/۰۰
G	۵۱	۲۵			

بحث

ارزیابی نقش پلی مورفیسیم های m1 و m2 ژن CYP1A1 به عنوان عوامل خطر در ابتلا به سرطان های مختلف در یک نمونه از جمعیت غرب استان مازندران به عنوان هدف اصلی در این مطالعه انتخاب گردید.

ژن CYP1A1 در بازوی بلند ۲۲ تا ۲۴ روی کروموزوم شماره ۱۵ قرار دارد و متعلق به خانواده آنزیم های سیتوکروم p450 است که در مرحله اول متابولیسم زنبویوتیک ها نقش دارند. سوبستراهای اصلی ژن CYP1A1 می توانند بسیاری از عوامل سرطان زای زیست محیطی از جمله آلکالوئیدها یا آمین های معروف به هتروسیکلیک باشند. هورمون هایی مثل استروژن یا تستوسترون و بعضی از داروها در طی فاز اول از راه CYP1A1 متابولیزه

طبق جدول شماره ۵ بر اساس آزمون نسبت شانس (Odds Ratio) افراد واجد ژنوتیپ های TC و CC میزان ریسک بالاتری در ابتلا به سرطان نسبت به ژنوتیپ TT دارند. به عبارت دیگر افرادی که ژنوتیپ TC و CC دارند نسبت به افرادی که ژنوتیپ TT دارند به ترتیب ۲/۶ و ۲/۲ برابر ریسک بیش تری دارند. در مورد ژنوتیپ TC این اختلاف معنی دار است ($p < 0.001$), ولی در مورد ژنوتیپ CC این اختلاف معنادار نیست ($p = 0.26$).

جدول شماره ۵: توزیع فراوانی ژنوتیپ ها در پلی مورفیسیم (T>C)

ژنوتیپ	بیمار n=۸۴	کنترل n=۱۲۰	OR	۹۵ درصد CI	سطح معنی داری
TT	۳۳	۷۵	(۰/۷)		
TC	۴۷	۴۱	۲/۶۰	۴/۶۸-۱/۴۵	۰/۰۰۱
CC	۴	۴	۲/۲۷	۰/۵۴-۹/۶۴	۰/۲۶
مجموع	۸۴	۱۲۰			

در جدول شماره ۶ در دو گروه نرمال و بیمار، فراوانی آلل ها برای بررسی ریسک ابتلا به سرطان در پلی مورفیسیم m1 ژن CYP1A1 توسط هر آلل مجزا (C,T) بررسی شد. آلل C در بیماران بیش تر از افراد سالم مشاهده گردید. به عبارت دیگر افرادی که آلل C دارند به میزان ۱/۸۹ برابر خطر بیش تری برای ابتلا به سرطان دارند که این اختلاف معنی دار است ($p < 0.001$).

جدول شماره ۶: توزیع فراوانی آلل ها در پلی مورفیسیم m1 (T>C)

آلل	بیمار n=۸۴	کنترل n=۱۲۰	OR	۹۵ درصد CI	سطح معنی داری
T	۱۱۳	۱۹۱	۱/۸۹	۱/۲۱-۲/۹۷	۰/۰۰
C	۵۵	۴۹			

جدول شماره ۷ نشان می دهد که بر اساس آزمون نسبت شانس (Odds Ratio) افراد واجد ژنوتیپ های AG و GG میزان ریسک بالاتری برای ابتلا به سرطان نسبت به ژنوتیپ AA دارند. درصد افرادی که ژنوتیپ AG و GG دارند در افراد بیمار بیشتر از افراد سالم می باشد. افرادی که ژنوتیپ AG و GG دارند نسبت به

می‌شوند. پلی مورفیسیم‌های موجود در این ژن ممکن است روی اثر بخشی متابولیسم توسط این ژن موثر باشند. پلی مورفیسیم‌های تک ژنی (SNP) متعددی درون ژن *CYP1A1* تا به حال مشاهده شده است (۱۴). یکی از این تغییرات که در مطالعات گذشته نشان داده شده است، پلی مورفیسیم m1 است که شامل کدون شماره ۳۸۰۱ و تغییر C>T می‌باشد (۱۵). این پلی مورفیسیم تاثیری بر القای آنزیم *CYP1A1* ندارد اما فعالیت میکروزومی آنزیم را افزایش می‌دهد. در مطالعه حاضر، پس از بررسی فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسیم *CYP1A1* m1 بین گروه‌های مورد مطالعه که شامل ۸۴ بیمار سرطانی و ۱۲۰ فرد سالم بود، مشخص شد که درصد افرادی که ژنوتیپ TC دارند در گروه بیماران سرطانی (۵۶ درصد) بیش‌تر از گروه افراد سالم (۳۴ درصد) می‌باشد. افرادی که ژنوتیپ TC و CC دارند نسبت به افرادی که ژنوتیپ TT دارند به ترتیب ۲/۶ و ۲/۲۶ برابر با ریسک بالاتری مواجه هستند و در مورد ژنوتیپ TC این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است. همچنین درصد آلل C در گروه بیمار (۳۳ درصد) بیش‌تر از افراد سالم (۲۱ درصد) مشاهده شد و این آلل به میزان ۱/۸۹ برابر و به طور معنی‌دار در مقایسه با آلل T به عنوان عامل خطر ابتلا به سرطان نشان داده شد. از طرفی تغییر A>G که در کدون شماره ۴۶۲ منجر به جایگزینی اسید آمینه ایزولوسین به والین (Ile462Val, m2) در نزدیکی جایگاه اتصال به هم پروتئین شده، این تغییر سبب القای پذیری قابل ملاحظه آنزیم *CYP1A1* و افزایش فعالیت عوامل کارسینوژن می‌شود (۱۶). در مطالعات گذشته پلی مورفیسیم تک نوکلئوتیدی *CYP1A1* Ile462Val به عنوان یک ریسک فاکتور در پیشرفت سرطان‌های گوناگونی از جمله پروستات، ریه، دهان، تخمدان، مثانه و غیره نشان داده شده است (۱۷-۱۹). مطالعه حاضر با نتایج یافته‌های قبلی در مورد ژنوتیپ‌های AG و GG منطبق می‌باشد و درصد آلل G در گروه بیمار (۳۱ درصد) بیش‌تر از افراد سالم

(۱۰ درصد) مشاهده شد که نشان می‌دهد این آلل می‌تواند به عنوان ریسک سرطان در جامعه مورد مطالعه باشد. بر خلاف نتایج حاصل از مطالعه حاضر، در بررسی پلی مورفیسیم ژن *CYP1A1* که در جمعیت هندی انجام شده بود حضور آلل C را به عنوان ریسک در ابتلا به سرطان دهانه رحم نشان نداد، اما در این مطالعه آلل G به عنوان ریسک فاکتور نشان داده شد (۱۶). همچنین نتایج یک متاآنالیز پیشنهاد می‌کند که پلی مورفیسیم‌های ژن *CYP1A1* (m1 و m2) با میزان ابتلا به سرطان در میان آسیایی‌ها مرتبط می‌باشد (۲۰). مطالعه‌ای که در مورد پلی مورفیسیم m2 ژن *CYP1A1* و ارتباط آن با سرطان پروستات در یک جمعیت پاکستانی انجام شد نشان داد که همانند مطالعه حاضر آلل G منجر به افزایش ریسک ایجاد تومور بدخیم پروستات می‌شود (۲۱).

در مطالعه‌ای دیگر که به ارتباط بین پلی مورفیسیم‌های *CYP1A1* و خطر ابتلا به سرطان پروستات در یک جمعیت در کشور ترکیه پرداخته بود، بر خلاف مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسیم‌های m1 و m2 ژن *CYP1A1* و سرطان پروستات نشان نداد (۲۲). نتایج ارزیابی یک مطالعه متاآنالیز دیگر نیز حاکی از این بود که ارتباطی بین ابتلا به سرطان مثانه و پلی مورفیسیم‌های m1 و m2 ژن *CYP1A1* وجود ندارد (۲۳).

در مطالعه‌ای که در غرب استان مازندران، شهرستان تنکابن بر روی نمونه‌های سالم در مورد فراوانی پلی مورفیسیم‌های m1 و m2 ژن *CYP1A1* انجام شد همانند مطالعه حاضر بیانگر این بوده است که فراوانی ژنوتیپ‌های TT و TC از پلی مورفیسیم m1 ژن *CYP1A1* در جمعیت مورد مطالعه بیش‌تر است و ژنوتیپ‌های AA و AG از پلی مورفیسیم m2 ژن *CYP1A1* نیز فراوانی بیش‌تری داشتند (۱۴). در بررسی ارتباط پلی مورفیسیم‌های ژن *CYP1A1* و ابتلا به سرطان پستان در استان مازندران، همانند مطالعه حاضر به این نتیجه رسیدند که فقط ژنوتیپ‌های TT و TC از پلی مورفیسیم

دادند، به این نتیجه رسیدند که پلی مورفیسیم های ژنتیکی آنزیم های بیوترانسفورماسیون احتمالاً نقش مهمی در گسترش بدخیمی های لنفوئیدی دارند (۲۹).

در مطالعه ای دیگر آنالیز ایمونوهیستوشیمیایی نمونه های بافت ریه که از بیماران سرطان ریه به دست آمد نشان داد، ایجاد bulky DNA adducts به طور چشمگیری با بیان پروتئین CYP1A1 مربوط است و این نتایج پیشنهاد می دهد که مواجهه محیطی بالا با هیدروکربن های آروماتیک، با بیان و القا پذیری پروتئین CYP1A1، در تشکیل DNA-adduct نقش مهم ایفا می نماید. سایر فاکتورها همانند، مواجهه با هیدروکربن های آروماتیک، فعالیت آنزیمی فاز II متابولیسم، فرایندهای ترمیم DNA و ترمیم سلولی، می تواند میزان DNA adducts را تحت تاثیر قرار دهد (۳۰). با توجه به مطالعات بی شمار صورت گرفته، می توان گفت که در مطالعات زیادی همبستگی معنی دار بین پلی مورفیسیم m1 ژن CYP1A1 و سرطان ریه وجود داشته است هر چند برخی مطالعات بین این دو ارتباطی نیافتند. به طور کلی موضوع واضح که در اکثر مطالعات بیان می گردد این است که بین وجود آلل موتانت C (چه به صورت هموزیگوت یا هتروزیگوت) و ریسک ابتلا به سرطان ریه ارتباطی تنگاتنگ وجود دارد. به طور کلی، با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، پیشنهاد می گردد که حضور آلل C از m1 و آلل G از m2 می تواند به عنوان یک ریسک فاکتور در ابتلا به سرطان در جمعیت ایرانی غرب استان مازندران عمل کند. از آنجایی که مطالعه حاضر اولین مطالعه موردی شاهدهی از فراوانی پلی مورفیسیم ژنتیکی ژن CYP1A1 در غرب استان مازندران است، نتایج این مطالعه می تواند نقش مهمی در شناخت توزیع گوناگونی پلی مورفیسیم ژنتیکی و خطر ابتلا به انواع سرطان در میان جمعیت سالم استان مازندران داشته باشد. همین طور باید متذکر شد که طراحی مطالعه به خصوص تعداد نمونه ها (تعداد افراد بیمار و سالم) می تواند با بالا بردن قدرت آزمون آماری نقش کلیدی

m1 ژن CYP1A1 ریسک ابتلا به سرطان پستان را افزایش داده است در صورتی که ژنوتیپ CC ارتباط معنی داری با این سرطان نشان نداد (۲۴).

هوانگ و همکاران طی مطالعه ای از نوع متاآنالیز که بر روی ارتباط بین سرطان تخمدان و پلی مورفیسیم های Msp1 و Ile/Val ژن CYP1A1 انجام دادند، متوجه شدند که افرادی که دارای پلی مورفیسیم Ile462val هستند، افزایش ریسک پیشرفت سرطان تخمدان را نشان می دهند (۲۵). شین و همکاران طی مطالعه ای ارتباط بین دو پلی مورفیسیم CYP1A1 (Msp1 و Ile462val) و سرطان سینه را در یک جمعیت کره ای مورد بررسی قرار دادند و متوجه شدند که پلی مورفیسیم CYP1A1/Msp1 می تواند منجر به ایجاد سرطان سینه شود (۲۶).

گانگ و همکاران طی یک مطالعه متاآنالیز که بر روی ارتباط بین پلی مورفیسیم های CYP1A1 و سرطان مری انجام دادند متوجه شدند که ارتباط معنی داری بین CYP1A1 Ile/Val و سرطان مری وجود دارد و همچنین متوجه شدند که این ارتباط در جمعیت های آسیایی و قفقازی وجود دارد، با این وجود ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسیم CYP1A1/Msp1 و سرطان مری در این مطالعه مشاهده نشد (۲۷).

در مطالعه ای که شن و همکاران در مورد ارتباط بین پلی مورفیسیم های CYP1A1 و GSTM1 و کشیدن سیگار و احتمال ایجاد سرطان معده انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که افرادی که پلی مورفیسیم CYP1A1 Val و GSTM1 را داشته و سیگار می کشند ریسک ابتلا به سرطان معده بالاتری دارند ولی باید بررسی بیش تری و در جمعیت های وسیع تری صورت گیرد (۲۸). مطالعات نشان می دهند که مواجهه با کارسینوژن های محیطی منجر به افزایش معنی دار ریسک لنفوم غیر هوچکین می شوند. سارمانا و همکاران مطالعه ای در مورد این که آیا ارتباطی بین پلی مورفیسیم های CYP1A1، CYP2E1، اپوکسید هیدرولاز، گلو تاتیون S ترانسفراز (GSTM1، T1، P1) و بدخیمی های لنفوئیدی وجود دارد یا نه انجام

نمونه‌های بیشتر و به طور اختصاصی هر سرطان مورد بررسی قرار گیرد تا بتوانیم با قطعیت بگوییم که آیا به طور اختصاصی ژنوتیپ‌های مورد نظر برای یک سرطان به خصوص در منطقه‌ی غرب استان مازندران عامل خطر محسوب می‌شود یا جزء عوامل خطر محسوب نمی‌گردد. از جمله محدودیت‌های مطالعه حاضر کم بودن تعداد نمونه‌های یک نوع سرطان خاص در یک بازه‌ی زمانی کوتاه بوده است که در نهایت تصمیم بر این شد که تمام بیماران سرطانی مراجعه‌کننده به مراکز درمانی غرب استان مازندران در بازه‌ی زمانی مورد نظر مورد بررسی قرار گیرند. در ابتدا قرار بود مطالعه حاضر فقط بر روی یک نوع سرطان خاص انجام شود، اما بدلیل محدودیت‌های مختلف از جمله کم بودن تعداد نمونه‌های مورد مراجعه و نیز در برخی موارد عدم رضایت بیمار به شرکت در مطالعه، مانع جمع‌آوری تعداد قابل قبول نمونه شد و لذا تصمیم بر این شد که ریسک ابتلا به سرطان در تمام بیماران مبتلا به سرطان بررسی شود و در مطالعات بعدی و بدون محدودیت زمانی بتوان کار را بر روی گروه خاصی از بیماران سرطانی مانند سرطان سینه، روده، معده و ... ادامه داد.

سپاسگزاری

این تحقیق حاصل نتایج پایان نامه دکترای داروسازی خانم صیاسادات حسینی، مصوب پردیس خودگردان رامسر، با کد طرح ۲۴۳۷ بوده است. نویسندگان مقاله مراتب سپاس و قدردانی خویش را از امور پژوهشی پردیس خودگردان رامسر اعلام می‌دارند. همچنین از پرسنل محترم بخش آنکولوژی بیمارستان امام سجاد (ع) رامسر نیز به جهت مساعدت در انجام طرح قدردانی می‌گردد.

ایفا کند. در مطالعات گذشته نشان داده شد که اثر پلی‌مورفیسم *CYP1A1 m2* فقط در گروه‌های بزرگ ظاهر می‌گردد و اهمیت آلل‌های جزئی نادر، در جوامع بزرگ، بهتر و دقیق‌تر مشخص خواهد شد. از این رو، بهتر است در مطالعات آینده پلی‌مورفیسم *CYP1A1 m2* در مقیاس بزرگ‌تری برای حمایت/رد نقش آن در سرطان در جمعیت ایرانی بررسی شود. پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی، پایه و اساس وارثه‌های مشاهده شده فراوان در فعالیت آنزیم‌های متابولیزه‌کننده در میان نژادهای انسانی مختلف است. بنابراین بدون شک نیاز برای دانستن دانش توزیع آلل‌هایی با ریسک بالا از ژن‌های متابولیزه‌کننده در جمعیت‌های نژادی مختلف وجود دارد. خطه شمالی کشور ایران از جمله 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. همچنین این ترکیبات با آلودگی مزارع، باغات، رودخانه‌ها و دریا وارد چرخه آب و غذای ساکنین استان گردیده و می‌تواند به عنوان یک ریسک فاکتور مهم ابتلا به سرطان‌ها مد نظر باشد. بنابراین با عنایت به دو مورد مذکور شاید بتوان بخشی از علل شیوع بالای سرطان‌ها در نوار شمالی کشور را توجیه کرد. لذا انجام مطالعات بررسی ژنتیکی جمعیت ساکن و آگاهی از نقش عوامل ژنتیکی و پلی‌مورفیسم‌ها در افزایش ریسک ابتلا به سرطان از اهمیت زیادی برخوردار است. کما اینکه پیش‌تر نیز به ارزیابی‌هایی از این دست در استان مازندران پرداخته شده است (۳۴-۳۱).

در نهایت برای بیان جزئیات بیشتر، نیاز است که

References

1. Jerdi MC, Daali Y, Oestreicher MK, Cherkaui S, Dayer P.A simplified analytical method

for a phenotyping cocktail of major CYP 450 biotransformation routes. J Pharm Biomed

- Anal 2004; 35(5): 1203-1212.
2. Xu W, Zhou Y, Hang X and Shen D. Current evidence on the relationship between *CYP1A1* polymorphism and lung cancer risk: a meta-analysis. *Mol Bio Rep* 2012; 39(3): 2821-2829.
 3. Pastina I, Giavannetti E, Chioni A, Sissung TM, Crea F, Orlandini C. Cytochrome 450 1B1(*CYP1B1*) polymorphisms associated with response to the docetaxel in Castration-Resistant Prostat Cancer (CRPC) patients. *BMC cancer* 2010; 511(10): 1471-2407.
 4. Pumatre K, Khattar SK, Saini KS. Cytochrome P450s in the development of target-based anticancer drugs. *Cancer Lett* 2008; 259(1): 1-15.
 5. Bailly LR, Roodi N, Dupont WD and Parl F. Association of cytochrome P450 1B1 (*CYP1B1*) Polymorphism with steroid receptor status in breast cancer. *Cancer Res* 1998; 58(22): 38-41.
 6. Tsuchiya Y, Nakajima M, Yokoi T. Cytochrome P450-mediated metabolism of estrogens and its regulation in human. *Cancer Lett* 2005; 227(2): 115-124.
 7. Cho YJ, Hur SE, Lee JY, Song IO, Moon SH, Koong MK, et al. Single nucleotide polymorphisms and haplotypes of the genes encoding the *CYP1B1* in korean woman: No associatin with advanced endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 2007; 24(7): 271-277.
 8. Kumar V, Singh S, Yadav CS, Ahmed RS, Gupta S, Pasha ST, et al. CYP 1A1 and CYP 3A4 polymorphic variations in Delhi population of Northern India. *Environ Toxicol Pharmacol* 2010; 29(2): 126-130.
 9. Ada AO, Suzen SH, Iscan M. Polymorphism of cytochrome P450 1A1, glutathione S. transferases M1 and T1 in a Turkish population. *Toxicol Lett* 2004; 151(1): 311-315.
 10. Huang FM, Chen Hc, Khan MA, Yang FL, Wan XX, Xu AH, et al. CYP 2A6, CYP 1A1 and CYP 2D6 polymorphisms in lung cancer patients from central south china. *Med Oncol* 2013; 521(30): 21-33.
 11. Nie Q, Yang XN, An SJ, Zhang XC, Yang JJ, Zhong WZ, et al. CYP 1A1*2A polymorphism as a predictor of clinical outcome in advanced lung cancer patients treated with EGFR-TKI and its combined effects with EGFR intron 1(CA)_n polymorphism. *Eur J Cancer*. 2011; 47(13): 1962-1970.
 12. Sepehr A, Kamangar F, Abnet CC, Fahimi S, Pourshams A, Poustchi H, et al. Genetic polymorphisms in three Iranian populatins with different risk of esophageal cancer, an ecologic comparison. *Cancer Lett* 2004; 213(2): 195-202.
 13. Razmkhah F, Pazhakh V, Zaker F, Atashrazm F, Sheikhi M. Frequency of CYP 1A1*2C polymorphisms in patients with leukemia in the iranian population. *Lab Med* 2011; 42(4): 220-223.
 14. Ahangar N, Alizadeh B, Tousi A. Frequency Evaluation of T6235C (m1) and A4889G (m2) polymorphisms of *CYP1A1* Gene in a Healthy population from the west of Mazandaran provience, Iran. *Cell Mol Bio* 2016; 62(7): 90-96.
 15. Abbas M, Shrivastav K, Imran M, Banerjee M. Association of *CYP1B1* gene variants rs464903 (T>C) and rs1048943 (A>G) with cervical cancer in North Indian population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 176(14): 68-74.
 16. Jain V, Ratre YK, Amle D, Mishra PK, Patra PK. Polymorphism of *CYP1B1* gene variants rs4646903 and rs1048943 relation to the incidence of cervical cancer in Chhattisgarh. *Environ Toxicol Pharmacol* 2017; 52: 188-192.
 17. Gil J, Gaj P, Misiak B, Ostrowski J, Karpinski P, Jarczyńska A, Kielan W, Sasiadek MM. *CYP1B1* Ile462Val polymorphism and

- colorectal cancer risk in Polish patients. *Med Oncol* 2014; 31(1):72.
18. Sergentanis TN, Economopoulos KP, Choussein S, Vlahos NF. *Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1)* gene polymorphisms and ovarian cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012; 39(11): 9921-9930.
 19. Liu L, Wu G, Xue F, Li Y, Shi J, Han J, et al. Functional CYP1A1 genetic variants, alone and in combination with smoking: contribute to development of head and neck cancers. *Eur J Cancer*. 2013; 49(9): 2143-2151.
 20. Wu B, Liu K, Huang H, Yuan J, Yuan W, Wang S, Chen T, Zhao H and Yin Ch. MspI and Ile462Val Polymorphisms in CYP1A1 and Overall Cancer Risk: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2013; 8(12): e85166.
 21. Khan MH, Rashid H, Mansoor Q, Hameed A, Ismail M. Association of *rs1042522* polymorphism with increased risk of prostate Adenocarcinoma in the Pakistani Population and its HuGE Review. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(9): 3973-3980.
 22. Silig Y, Pinarbasi H, Gunes S, Ayan S, Bagci H, Cetinkaya O. Polymorphisms of CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and prostate cancer risk in Turkish population. *Cancer Invest* 2006; 24(1): 41-45.
 23. Lu Y, Zhang ZL, Xie L, Li TJ, He Y, Peng QL, et al. Lack of Association Between *CYP1A1* Polymorphisms and Risk of Bladder Cancer: a Meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(9): 4071-4077.
 24. Khalili Gh, Barzegar A, Nikbakhsh N, Pirsaraee ZA. Study of cytochrome P4501A1 (T3801C) single Nucleotide polymorphism in patients with breast cancer in mazandaran province-Northern Iran. *Res mol Med* 2015; 3(4): 17-22 (Persian).
 25. Huang M, Chen Q, Xiao J, Zhao X, Liu C. *CYP1A1* Ile462Val is a risk factor for ovarian cancer development. *Cytokine* 2012; 58(1): 73-78.
 26. Shin A, Kang D, Choi JY, Lee KM, Park SK, Noh DY, et al. Cytochrome P450 1A1 (*CYP1A1*) polymorphisms and breast cancer risk in Korean women. *Exp Mol Med* 2007; 39(3): 361-366.
 27. Gong FF, Lu SS, Hu CY, Qian ZZ, Feng F, Wu YL, et al. Cytochrome P450 1A1 (*CYP1A1*) polymorphism and susceptibility to esophageal cancer: an updated meta-analysis of 27 studies. *Tumour Biol*. 2014; 35(10):10351-10361.
 28. Shen J, Wang RT, Xu YC, Wang LW, Wang XR. Interaction models of *CYP1A1*, *GSTM1* polymorphisms and tobacco smoking in intestinal gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11(38): 6056-6060.
 29. Sarmanová J, Benesová K, Gut I, Nedelcheva-Kristensen V, Tynková L, Soucek P. Genetic polymorphisms of biotransformation enzymes in patients with Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas. *Hum Mol Genet* 2001; 10(12): 1265-1273.
 30. Alexandrov K, Cascorbi I, Rojas M, Bouvier G, Kriek E, Bartsch H. *CYP1B1* and *GSTM1* genotypes affect benzo[a]pyrene DNA adducts in smokers' lung: comparison with aromatic/hydrophobic adduct formation. *Carcinogenesis* 2002; 23(12): 1969-1977.
 31. Ahangar N, Masoumi S. Frequency Evaluation of Val432Leu (G4326C) Polymorphism of *CYP1B1* Gene in a Healthy Population from Mazandaran Province, Iran. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 23(106): 20-28 (Persian).
 32. Ahangar N, Keshavarz R. Frequency Evaluation of C3435T Polymorphism of the *MDR1* Gene in a Healthy Population in

- Mazandaran Province. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 23 (107): 2-10 (Persian).
33. Keshavarz-Maleki R, Ahangar N. Evaluation of G2677T/A polymorphism of *MDR1* gene by polymerase chain reaction in Mazandaran province, Iran. MAZUMS-PBR 2015; 1(2): 54-63 (Persian).
34. Alidadi H, Shokrzadeh M, Ahangar N. Frequency Evaluation of *GSTM1* and *GSTT1* Null Genotypes in a Healthy Population in Mazandaran Province. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(119): 174-182 (Persian).