

بررسی رابطه پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی *T/C* در ژن *CYP1A1* با شروع بیماری و استعمال سیگار در بیماران مبتلا به سرطان ریه

مجید متولی باشی*، مریم بردبار، حلیمه رضایی

بخش ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان

چکیده

سابقه و هدف: پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی متعددی در ژن *CYP1A1* شناسایی شده است. گزارش شده است که آلل *C* در پلی مورفیسم ژنی *T/C* ژن *CYP1A1* با استعداد ابتلا به سرطان ریه در ارتباط است. به منظور بررسی نقش آن در کشور، این تحقیق با هدف تعیین رابطه فاکتور سیگار و پلی مورفیسم *C/T* در جایگاه *m1* انجام شد.

روش بررسی: مطالعه حاضر از نوع مورد-شاهدی انجام گرفت. پلی مورفیسم *T/C* در ۱۱۲ بیمار واجد سرطان ریه و ۱۲۰ نمونه کنترل بوسیله تکنیک *PCR-RFLP* تعیین ژنوتیپ گردید و نقش پلی مورفیسم *C/T* با شروع بیماری و استعمال سیگار با آزمون کای دو مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: آلل تایپ *T* در بیماران به میزان ۷۳/۷ درصد و در گروه کنترل ۹۲/۹ درصد بود ($P < 0.001$). ژنوتیپ *TT* در بیماران سیگاری ۶۶/۵ درصد و در افراد کنترل ۴۶/۳ درصد بود ($P = 0.098$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد افراد واجد آلل *C* مستقل از فاکتور سیگار می‌توانند استعداد ابتلا به سرطان ریه را در جمعیت اصفهان افزایش دهند. ولی تعیین آلل *C* بعنوان یک ریسک فاکتور بیولوژی نیاز به مطالعات گسترده‌تری دارد و تحقیقات بیشتری را توصیه می‌نماید.

واژگان کلیدی: سرطان ریه، *CYP1A1*، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی، سیگار.

مقدمه

انجمن سرطان آمریکا (ACS)، دو نوع اصلی سرطان ریه عبارتند از: سرطان ریه با سلول‌های کوچک (SCLC) و سرطان ریه با سلول‌های غیر کوچک (NSCLC). سرطان ریه نوع SCLC، ۲۵-۲۰ درصد از کل موارد سرطان ریه را در بر می‌گیرد و شامل سلول‌های سرطان ریه از نوع کوچک می‌باشد که در آن روند رشد و تکثیر تومور بسیار سریع بوده و در مدت زمان اندکی به سایر نقاط بدن متاستاز می‌دهد. نوع NSCLC در برگیرنده حدود ۸۰-۷۵ درصد از کل موارد سرطان ریه می‌شود که از نظر بافت شناسی به زیر گروه‌های کوچکتر تقسیم‌بندی می‌شود که با وجود تفاوت در خصوصیات بالینی، روند مشترکی در تشخیص و معالجه دارند (۴).

سرطان ریه در سراسر دنیا شایع‌ترین علت مرگ بیماران مبتلا به سرطان در هر دو جنس می‌باشد. سرطان ریه در مراحل اولیه هیچ نشانه‌ای ندارد و بیماران اغلب زمانی به پزشک مراجعه می‌کنند که بیماری در مراحل پیشرفته قرار دارد. به همین دلیل کشنده‌ترین سرطان انسان محسوب می‌شود. بیش از ۸۰ درصد مبتلایان به این بیماری در فاصله پنج سال از تشخیص بیماری جان خود را از دست می‌دهند (۱، ۲، ۳). بر اساس تقسیم‌بندی

آدرس نویسنده مسئول: اصفهان، بخش ژنتیک گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان، مجید متولی باشی

(e-mail: mbashi@sci.ui.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۰/۱۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۴/۳۰

یک معیار مهم به حساب می آید (۱۶). مطالعات گویای وجود پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی C/T در ناحیه ۳' غیر کد کننده (۶۲۳۵+) این ژن (۳) می باشد (۱۷). هدف مطالعه حاضر تعیین ارتباط بین جایابی تک نوکلئوتید تیمیدین و سیتوزین در ژن CYP1A1 با شروع سرطان ریه و همچنین فاکتور سیگار به عنوان مهمترین عامل محیطی مؤثر در سرطان ریه می باشد.

مواد و روش ها

در مطالعه مورد-شاهدی حاضر، به بررسی ۱۱۲ نمونه خون بیمار مبتلا به سرطان ریه (شامل ۵۴ فرد بیمار غیر سیگاری و ۵۸ فرد بیمار سیگاری) و ۱۲۰ نمونه خون فرد سالم به عنوان شاهد ضمن کسب اجازه و اطلاع رسانی پرداخته شد. نمونه های خون از بیماران و افراد سالم به عنوان گروه شاهد، از بیمارستان امید اصفهان بین سال های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۰ جمع آوری شد. افراد از لحاظ معیارهای مطالعه یعنی سن، جنس، استعمال دخانیات، روابط فامیلی در ازدواج، سابقه فامیلی از نظر سرطان ریه و وضعیت بیمار از نظر درجه پیشرفت بیماری مورد پرسش قرار گرفته و یکسان سازی شدند. در تحقیق حاضر بر اساس تقسیم بندی Mackdonal و Rami-Porta مطالعه بر روی بیمارانی صورت گرفت که مبتلا به سرطان ریه از نوع سلول های غیر کوچک بوده و در وضعیت متاستاز قرار داشتند (اصولاً بیماران سرطان ریه به دلیل متاستاز مورد تشخیص و شناسایی قرار می گیرند). در مورد وضعیت سیگاری بودن اطلاعات کاملی در رابطه با استعمال سیگار گذشته و حال، تعداد سیگارهای استعمال شده در روز و مدت زمان مصرف آن از افراد اخذ گردید و شاخص مصرف سیگار (S.I) برای تعریف افراد سیگاری، مصرف پنج سیگار در روز و به مدت زمان حداقل دو سال تعریف شد (۱۸، ۱۹). از آنجایی که سرطان ریه بیشتر در مردان و در سنین بالا مشاهده می گردد، بنابراین تلاش گردید افراد سالم به نحوی انتخاب گردید که توزیع سن و جنس در گروه مزبور با گروه بیمار تا حد ممکن مطابقت داشته باشد. نمونه های کنترل از افرادی انتخاب شدند که داوطلبانه و جهت تست روزمره به آزمایشگاه مراجعه و سابقه بیماری سرطان در خانواده آنها وجود نداشت. مقدار ۳ ml خون در آزمایشگاه بیمارستان امید اصفهان از افراد مبتلا و بیمار اخذ و به منظور جلوگیری از انعقاد خون به لوله های حاوی EDTA انتقال یافت. نمونه ها جهت مطالعات کوتاه مدت در یخچال و جهت مطالعات طولانی مدت در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. جهت استخراج DNA از

سرطان ریه بر اساس ویژگی های متفاوت آن از هنگام شروع تا مراحل پیشرفته سرطان به مراحل مختلفی تقسیم بندی می گردد. این تقسیم بندی اصطلاحاً با شاخص TNM صورت می گیرد که در این شاخص، سه فاکتور T: اندازه تومور (Primary Tomour)، N: وضعیت درگیری گره های لنفاوی (Lymph Nodes) و M: وضعیت متاستاز (Distant Metastasis)، در تشخیص مراحل مختلف سرطان ریه سنجیده می شود (۵).

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می دهد که استعمال دخانیات به عنوان فاکتور خطر اصلی در ایجاد سرطان نقش دارد و افراد سیگاری ۳ برابر بیشتر از افراد غیر سیگاری در معرض خطر ابتلا به سرطان ریه قرار دارند و از طرفی ۵۰ درصد مرگ ناشی از سرطان ریه به دلیل استعمال سیگار می باشد (۸-۶). دود حاصل از سوختن تنباکو در سیگار برای افراد سیگاری و همچنین برای افرادی که در معرض دود سیگار قرار دارند دارای بیش از ۴۰۰۰ ترکیب است که حاوی ۵۰ کارسینوژن می باشد. مطالعات نشان داده است که سه دسته اصلی کارسینوژن ها در سرطان هایی که در ارتباط با استعمال سیگار هستند، نقش مهمی دارند که عبارتند از: هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک (PAH)، نیتروز آمین های ویژه تنباکو (TSNA) و آمین های آروماتیک (۹). متابولیسم بسیاری از کارسینوژن های شیمیایی در انسان در سه فاز مشخص رخ می دهد. کارسینوژن ها اثر خود را فقط بعد از تبدیل به حدواسطه هایی که از لحاظ متابولیسمی فعال اند، اعمال می کنند. مرحله تبدیل شدن به این حدواسطه های فعال متابولیسمی در فاز I رخ می دهد. حدواسطه های متابولیسمی قادر هستند به DNA باند شده و ایجاد موتاسیون و سرطان کنند (۱۰، ۱۱). PAH ها دسته بزرگی از پروکارسینوژن های موجود در تنباکو می باشند و خطر ابتلا به سرطان ریه با آنها در ارتباط است (۱۲، ۱۳). CYP1A1 آنزیم کلیدی واکنش های فاز I به شمار می رود و واکنش های مهمی را در مرحله اول متابولیسم کارسینوژن ها و فعال سازی متابولیسمی هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک از جمله PAH های موجود در سیگار کاتالیز می کند و در نهایت آنها را به فرم های متصل به DNA تبدیل می کند. پلی مورفیسم های متعددی در ژن CYP1A1 شناسایی شده اند که با تأثیر بر روی فعالیت آنزیم نقش مهمی در متابولیسم کارسینوژن های محیطی و در نتیجه بر روی خطر ابتلا به سرطان ریه دارند (۱۴، ۱۵). CYP1A1 به طور اساسی یک آنزیم خارج کبدی است و به میزان خیلی کم در کبد انسان بیان می شود. علاوه بر این بلافاصله بعد از قرار گرفتن در معرض محرک به عنوان مثال دود سیگار، بیان این آنزیم در ریه، کلیه، پوست، جفت و لنفوسیت القاء می گردد. میزان بیان CYP1A1 در تشخیص احتمال ابتلای فرد به سرطان ریه

خون تام، از روش نمکی میلر با مقداری دستکاری و تغییرات استفاده گردید (۲۰). به منظور اندازه‌گیری مقدار، خلوص و غلظت DNA، استخراج شده از دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده شد.

طراحی و آماده سازی پرایمرها

پرایمرها با کمک نرم‌افزار "Oligo نسخه ۶" و همچنین بانک‌های اطلاعاتی طراحی گردید. بدین منظور نخست از طریق بانک‌های اطلاعاتی NCBI و ENSEMBL توالی‌های موجود در ژن *CYP1A1* با توجه به محل پلی‌مورفیسم به دست آمد. سپس توالی‌های هدف به نرم‌افزار ویژه طراحی پرایمر وارد شدند. از میان پرایمرهای ارائه شده توسط نرم‌افزار، یک جفت که قابلیت بهتری نسبت به سایرین داشت انتخاب گردید. جهت اطمینان از عدم هیبریداسیون پرایمرهای انتخاب شده با نقطه دیگری از ژنوم انسان، عملیات بلست از طریق پایگاه اطلاعاتی NCBI انجام گردید. پرایمرهای طراحی شده هر کدام ۲۷ نوکلئوتید طول ۴۴ درصد واجد GC بوده که در جدول زیر توالی آنها ذکر شده است.

توالی پرایمرهای رفت و برگشت

پرایمر رفت	5'-ACAGAGGTAGTCTCACTGCTTGAACCTA-3'
پرایمر برگشت	5'-GATTAGGAGTCTGTCTCATGCCTGTGA-3'

تکثیر نمونه ها به وسیله PCR

تکثیر ناحیه مورد نظر با استفاده از پرایمرهای طراحی شده و آنزیم Taq DNA Polymerase نوترکیب ساخت شرکت CinnaGen با غلظت ۵ واحد در هر μl انجام شد. مواد و میزان بهینه شده جهت انجام PCR در $25 \mu\text{l}$ میکرولیتر مخلوط واکنش در هر میکروتیوب شامل $2/5 \mu\text{l}$ بافر PCR، $1/25 \mu\text{l}$ MgCl_2 ، $0/5 \mu\text{l}$ dNTP mix (۲۵ پیکو مول)، پرایمر رفت، $2 \mu\text{l}$ (۲۵ پیکو مول) پرایمر برگشت، $2 \mu\text{l}$ DNA الگو، $14/95 \mu\text{l}$ آب دوبار تقطیر و $0/3 \mu\text{l}$ Taq DNA Polymerase بود. تکثیر DNA در دستگاه ترموسایکلر مدل Ependroff با شرایط زیر انجام شد:

دنا توره اولیه به مدت زمان ۳ دقیقه و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، با تعداد ۳۲ سیکل: دنا توره بعدی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال پرایمر به مدت ۴۰ ثانیه در دمای ۶۵/۷ درجه سانتی‌گراد، تکثیر به مدت ۷۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و سپس تکثیر نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت.

الکتروفورز

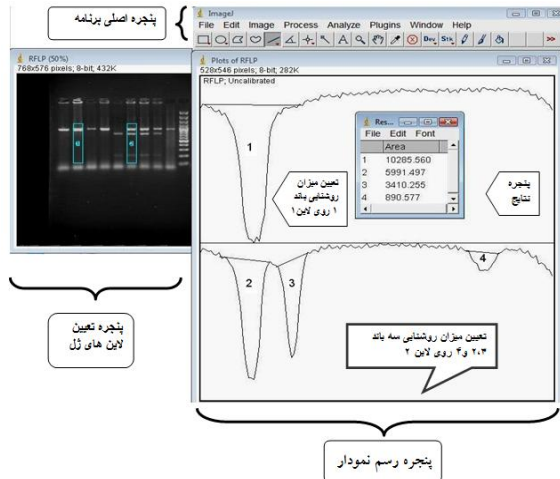
میزان ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید بارگذاری شد. ژل الکتروفورز با ولتاژ ثابت ۵۶۷ و جریان متغیر به مدت ۹۰ دقیقه انجام پذیرفت. در نهایت برای بررسی نتایج PCR از ژل با استفاده از دستگاه عکس برداری ژل داکيومنت تصویر برداری شد و مورد بررسی قرار گرفت.

تکنیک RFLP-PCR

جهت تعیین ژنوتیپ افراد بیمار مبتلا به سرطان و افراد سالم به عنوان شاهد محصولات به دست آمده از PCR تحت برش آنزیم محدودالثر *MspI* قرار گرفت. در تحقیق حاضر، مواد لازم با مقادیر بهینه طبق پروتکل پیشنهادی جهت هضم آنزیمی در یک میکروتیوب به یکدیگر اضافه و سپس به مدت ۱۶ ساعت در دمای بهینه فعالیت آنزیم (۳۷ درجه سانتی‌گراد) در بن ماری انکوبه گردید. در حضور نوکلئوتید C در ناحیه پلی مورفیسم، آنزیم توالی ۶ بازی 3'-CT/CCGGG-۵' را شناسایی کرده و آن را از ناحیه دومین باز C از سمت ۵' برش می‌دهد. در نهایت محصولات PCR بدون هضم آنزیمی، محصولات هضم آنزیمی و مارکر ۱۰۰ bp روی ژل ۱ درصد آگارز بارگذاری شدند و بدین ترتیب قطعات حاصل از برش توسط تکنیک الکتروفورز از یکدیگر جدا شدند. قطعه ۹۳۰ جفت بازی محصول PCR توسط *MspI* (که در جایگاه پلی مورفیسم آلل C دارای جایگاه تشخیص است) مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. حاصل برش، دو قطعه ۷۲۰ و ۲۱۰ جفت بازی برای آلل C است. آلل T مورد شناسایی قرار نگرفته و تحت برش قرار نمی‌گیرد.

استفاده از نرم افزار ImageJ

در راستای اثبات هضم کامل آنزیمی، تعداد و شدت باندهای تشکیل شده توسط تکنیک الکتروفورز در دو مسیر بارگیری قطعات ایجاد شده توسط هضم آنزیمی و محصولات PCR یک نمونه (فرد) که به یک میزان بارگیری شده بودند توسط نرم افزار ImageJ با یکدیگر مقایسه و بررسی شدند. عکس ژل به برنامه وارد، پس زمینه آن حذف و مسیرهای بارگیری انتخاب شد. پس از شماره گذاری مسیرهای مورد نظر برای بررسی در پنجره رسم نمودار، نمودارهای مسیرهای بارگیری بر اساس میزان تاریکی توسط نرم افزار رسم گردید. با انتخاب سطح زیر نمودار برای هر یک از منحنی‌های زنگوله‌ای در پنجره نتایج، مساحت آن سطح محاسبه شد. مقایسه مجموع مساحت‌های سطح زیر نمودارها در حالتی که محصولات PCR تحت برش آنزیمی قرار گرفته بودند با مساحت سطح زیر نمودار در مسیر



شکل ۲. بررسی و مقایسه شدت باندهای تشکیل شده روی ژل آگارز توسط نرم افزار ImageJ به منظور تایید هضم کامل آنزیمی. همانطور که در پنجره نتایج مشخص است، جمع مساحت های زیر منحنی های ۲، ۳ و ۴ (سه باند موجود در مسیر بارگیری ۲؛ قطعات تولید شده توسط هضم آنزیمی محصول PCR) با مساحت مربوط به زیر منحنی ۱ (تنها باند در مسیر بارگیری ۱؛ محصول PCR بدون هضم آنزیمی) برابر است. هر دو این مسیرها بر اساس غلظت برابر از یک نمونه واحد بارگذاری شده اند.

سطح زیر منحنی محصول PCR با سطوح زیر منحنی های هضم آنزیمی (سه باند ایجاد شده در اثر هضم آنزیمی) تقریباً برابر به دست آمد که خود گویای هضم کامل آنزیم می باشد ($10285.560 + 9991.497 + 3410.255 + 890.577 = 15977.889$). به منظور بررسی توزیع آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم T/C در جایگاه ml در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل، تحلیل آماری و قیاسی میان افراد سالم و بیمار انجام شد و آزمون کای دو نشان داد که این اختلاف به لحاظ آماری معنی دار است ($P < 0.001$). نتایج گویای افزایش ۴/۷ برابری خطر بیماری برای آلل C می باشد. علاوه بر این افرادی که واجد حداقل یک آلل C می باشند، خطر ۵ برابری نسبت به افراد فاقد آلل C یعنی افراد TT می باشند (جدول ۱).

به منظور بررسی ارتباط استعمال دخانیات (سیگار) با حالت های مختلف ژنوتیپی پلی مورفیسم مورد مطالعه در افراد بیمار سیگاری و غیر سیگاری، توزیع ژنوتیپ ها مورد ارزیابی قرار گرفت که در جدول ۲ ارائه شده است. همان گونه که مشاهده می شود از نظر آماری ارتباط حالت سیگاری و توزیع ژنوتیپی با بیماری معنی دار نیست ($P < 0.98$).

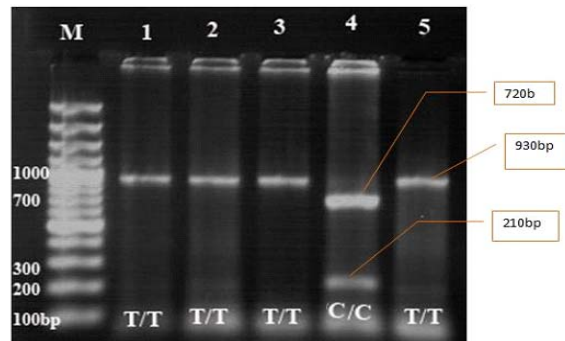
محصولات PCR (بدون هضم آنزیمی) و برابر بودن آن ها هضم کامل آنزیمی اثبات گردید.

تحلیل آماری

به منظور بررسی اختلاف میان توزیع ژنوتیپی در گروه های مختلف افراد بیمار و کنترل، در تحقیق حاضر پس از اخذ ۲۳۲ نمونه خون و جمع آوری اطلاعات آماری افراد در فرم های مخصوص از آزمون مربع کای بهره گرفته شد. نسبت افزاینده (OR) با فاصله اطمینان ۹۵٪ برای تخمین ارتباط میان پلی مورفیسم T/C ژن CYP1A1 و ریسک ابتلا به سرطان ریه به همراه بررسی اثر فاکتور سیگار مورد استفاده قرار گرفت. در کلیه محاسبات سطح احتمال $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار فرض گردید. بررسی تحلیل های آماری از طریق نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ انجام گرفت.

یافته ها

ژنوتیپ افراد در گروه بیماران مبتلا به سرطان ریه (سیگاری و غیر سیگاری) به همراه افراد کنترل مورد شناسایی قرار گرفت (شکل ۱).



شکل ۱- RFLP-PCR جهت بررسی پلی مورفیسم T/C. در چاهک M، Ladder (100bp) و در چاهک های ۱ تا ۳، محصولات هضم آنزیمی تعدادی از نمونه های کنترل و در دو چاهک بعدی محصولات هضم آنزیمی نمونه های بیمار به صورت تصادفی بارگذاری و ژنوتیپ آنها تعیین شده است. باند اصلی (محصول PCR) طبق مقایسه محل قرارگیری باندها با مارکر و مطابق انتظار ۹۳۰bp می باشد. در نمونه ۴ باند اصلی توسط آنزیم به قطعات ۷۲۰ و ۲۱۰ جفت بازی شکسته شده که نشان دهنده ژنوتیپ CC در آلل ml در فرد مزبور است.

جهت تست نمودن عملکرد آنزیم و هضم کامل و شناسایی کلیه محل های مورد شناسایی توسط آنزیم، شدت نور ایجاد شده در باندها و قطعات ایجاد شده توسط هضم آنزیمی با باند ایجاد شده توسط محصولات PCR یک فرد (هترو زیگوت) با استفاده از نرم افزار ImageJ مقایسه و مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۲).

جدول ۱- فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم T/C (m1) در افراد بیمار و کنترل*

نسبت شانس	کنترل		بیمار		آلل/ژنوتیپ	(m1)
	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)		
۴/۷ [†]	۲۲۳(۹۲/۹)	۱۶۵(۷۳/۷)	۱۶۵(۷۳/۷)	۵۹(۲۶/۳)	T	آلوتایپ پلی مورفیسم T/C
۵ [‡]	۱۰۵(۸۷/۵)	۶۳(۵۶/۳)	۶۳(۵۶/۳)	۳۹(۳۴/۸)	TT	ژنوتیپ پلی مورفیسم T/C
		۱۳(۱۰/۸)	۱۰(۸/۹)	۲(۱/۷)	TC	
					CC	

* ارزش P در هر دو گروه معنی دار بود (P<0.0001)

† آلل T مرجع بوده است و فاصله اطمینان ۹۵٪ بین اعداد ۸/۳۴۳-۲/۶۲۷ محاسبه گردید.

‡ ژنوتیپ های CC+CT در مقابل TT سنجیده شده است. فاصله اطمینان ۹۵٪ بین اعداد ۱۰۵۰۶-۲/۸۲۲ محاسبه گردید.

جدول ۲- توزیع افراد مورد بررسی بر حسب ژنوتیپ پلی مورفیسم m1 به تفکیک مصرف سیگار افراد مبتلا به سرطان ریه*

ژنوتیپ	بیماران سیگاری		بیماران غیرسیگاری		جمع
	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	
ژنوتیپ	۳۸(۶۵/۵)	۲۵(۴۶/۳)	۲۵(۴۶/۳)	۵۴(۱۰۰)	TT
پلی مورفیسم T/C	۱۵(۲۵/۹)	۵(۹/۳)	۲۴(۴۴/۴)	۵۴(۱۰۰)	TC
	۵(۸/۶)				CC
	۵۸(۱۰۰)				جمع

* P-Value = ۰/۰۹۸

بحث

تحقیق نشان داد که مبتلایان به سرطان ریه در مواجهه بیشتری از نظر آلل ژنوتیپ C و نیز TC بوده اند و همین طور در بیماران سرطانی سیگاری در مواجهه بیشتری از ژنوتیپ TT بوده اند. از آنجایی که نوع سلول های غیر کوچک سرطان ریه در بین بیماران شایع تر بوده و اغلب بیماران در شرایط بحرانی و حاد بیماری (متاستاز) به پزشک مراجعه می کنند، لذا در تحقیق حاضر، مطالعه بر روی بیماران صورت گرفت که مبتلا به سرطان ریه از نوع سلول های غیر کوچک بوده و در وضعیت متاستازی قرار داشتند. در سال ۱۹۹۰ برای اولین بار در ژاپن، Kawajiri و همکاران به بررسی اثر پلی مورفیسم m1 در ژن CYP1A1 بر

سرطان ریه پرداختند و ارتباط آماری میان این پلی مورفیسم با خطر ابتلا به سرطان ریه گزارش نمودند (۲۱). سپس دانشمندان متعددی به مطالعه این پلی مورفیسم و سرطان پرداختند ولی در جمعیت سفید پوستان اروپایی و آمریکایی و سیاهپوستان آفریقایی-آمریکایی، این یافته تأیید نشد (۲۲، ۲۳) در سفید پوستان آمریکایی فقط در یک مطالعه افزایش پلی مورفیسم m1 در میان مبتلایان به سرطان ریه گزارش شده است (OR=1/۵) (۲۴). در مقابل، گزارشهای متعددی در جمعیت های آسیایی از جمله چین (۸) و هند (۲۵) مؤید گزارش های Kawajiri در ژاپن گردید. جالب توجه است که در چین در سال ۱۹۹۷، Persson و همکاران به آنالیز پلی مورفیسم m1 در ۷۶ مورد مبتلا به سرطان ریه و ۱۲۲ فرد سالم پرداختند و هیچ ارتباط قابل توجهی بین پلی مورفیسم با بیماری پیدا نکردند (۲۶) در حالی که Song و همکاران در سال ۲۰۰۱ در چین با بررسی بر روی جمعیت بزرگتر بیماران (۲۱۷ مورد مبتلا)، یافته هایی گزارش کردند که در مغایرت با ادعای Persson بود (۸). نتایج مطالعه حاضر گویای ریسک فاکتور بیش از ۵ برابری پلی مورفیسم m1 برای سرطان ریه مطابق اکثر برسی های انجام گرفته کشورهای آسیایی می باشد. تفاوت مطالعات آمریکایی - اروپایی با بررسی های آسیایی به نظر می تواند به دلیل نحوه سبک زندگی، فاکتورهای محیطی متفاوت و تنوعات و اختلافات ژنتیکی باشد. در هند Shah و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که بیماران سیگاری واجد ژنوتیپ های هتروزایگوت T/C و هموزایگوت CC در مقایسه با افراد سیگاری واجد ژنوتیپ TT، ۶ برابر بیشتر در خطر ابتلا به سرطان ریه قرار دارند (۲۵). این یافته در مغایرت با نتیجه به دست آمده از تحقیق حاضر بوده و بیانگر برهمکنش عوامل موجود در سیگار به عنوان فاکتورهای محیطی با عوامل ژنتیکی در راستای تاثیر بر روند و بروز سرطان ریه می باشد.

تقدیر و تشکر

کلیه مراحل تحقیقاتی این مطالعه در آزمایشگاه تحقیقاتی ژنتیک دانشگاه اصفهان انجام گرفته است. لذا از حمایت های مالی معاونت های تحصیلات تکمیلی و پژوهشی دانشگاه اصفهان و همچنین از بیمارستان امید اصفهان به خاطر در اختیار قرار دادن نمونه های خون و اطلاعات پزشکی صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می گردد.

REFERENCES

- 1- Hong YS, Chang JH, Kwon OJ, Ham YA, Choi JH. Polymorphism of the CYP1A1 and glutathione-S-transferase gene in Korean lung cancer patients. Exp Mol Med 1998; 30: 192-8.
- 2- Hung RJ, Boffetta P, Brockmoller J, Butkiewicz D, Cascorbi I, Clapper ML, et al. CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms and lung cancer risk in Caucasian non-smokers: a pooled analysis. Carcinogenesis 2003; 24: 875-82.
- 3- Schwartz AG, Prysak GM, Bock CH. The molecular epidemiology of lung cancer. Carcinogenesis 2007; 28: 507-18.

- 4- Macdonald F, Ford CHJ, Casson AG, Editors. Molecular biology of cancer. 2nd edition. New York: Bios Scientific Publishers 2005; 101-104.
- 5- Rami-Porta R, Crowley JJ, Goldstraw P. The revised TNM staging system for lung cancer. Ann Thorac Cardiovasc Surg 2009;15: 4-9.
- 6- Doll R, Hill AB. A study of the etiology of carcinoma of the lung, Br Med J 1952; 2: 1271-86.
- 7- Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. J Natl Cancer Inst 1999; 91: 1194-210.
- 8- Song N, Tan W, Xing D, Lin D. CYP 1A1 polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case-control study in China. Carcinogenesis 2001; 22: 11-6.
- 9- Bartsch H, Nair U, Risch A, Rojas M, Wikman H, Alexandrov K. Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000; 9: 3-28.
- 10-Gonzalez FJ. The role of carcinogen-metabolizing enzyme polymorphisms in cancer susceptibility, Reprod Toxicol 1997; 11: 397-412.
- 11-Kiyohara C, Ohno Y. Role of metabolic polymorphisms in lung carcinogenesis. Nippon Koshu Eisei Zasshi 1999; 46: 241-49.
- 12-Smith LE, Denissenko MF, Bennett WP, Li H, Amin S, Tang M, et al. Targeting of lung cancer mutational hotspots by polycyclic aromatic hydrocarbons. J Natl Cancer Inst 2000; 92: 803-11.
- 13-Androutsopoulos VP, Tsatsakis AM, Spandidos DA. Cytochrome P450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and prevention. BMC Cancer 2009; 9:187.
- 14-Xu X, Kelsey KT, Wiencke JK, Wain JC, Christiani DC. Cytochrome P450 CYP1A1 MspI polymorphism and lung cancer susceptibility. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1996; 5: 687-92.
- 15-Smith GB, Harper PA, Wong JM, Lam MS, Reid KR, Petsikas D, et al. Human lung microsomal cytochrome P4501A1 (CYP1A1) activities: impact of smoking status and CYP1A1, aryl hydrocarbon receptor, and glutathione S-transferase M1 genetic polymorphisms. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2001; 10: 839-53.
- 16-Thum T, Erpenbeck VJ, Moeller J, Hohlfeld JM, Krug N, Borlak J. Expression of xenobiotic metabolizing enzymes in different lung compartments of smokers and nonsmokers. Environ Health Perspect 2006; 114: 1655-61.
- 17-Babu KA, Reddy NG, Deendayal M, Kennedy S, Shivaji S . GSTM1, GSTT1 and CYP1A1 detoxification gene polymorphisms and their relationship with advanced stages of endometriosis in South Indian women. Pharmacogenet Genomics 2005; 15:167-72.
- 18-Zhang J, Xia J, Fang S, Li Y, Wang R, Guo W, et al. The functional SNP in the matrix metalloproteinase-3 promoter modifies susceptibility and lymphatic metastasis in esophageal squamous cell carcinoma but not in gastric cardiac adenocarcinoma, Carcinogenesis 2004; 12: 2519-24.
- 19-Fang S, Jin X, Wang R, Li Y, Guo W, Wang N, et al. Polymorphism in the MMP1 and MMP3 promoter and non-small lung carcinoma in north china. Carcinogenesis 2005; 6: 481-86.
- 20-Miller SA, Dybes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16: 1215.
- 21-Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Yoshii A, Shinoda N, Watanabe J. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P4501A1 gene. FEBS Lett 1990;263: 131-3.
- 22-Ishibe N, Wiencke JK, Zuo ZF, McMillan A, Spitz M, Kelsey KT. Susceptibility to lung cancer in light smokers associated with CYP1A1 polymorphisms in Mexican- and African-Americans. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1997; 6: 1075-80.
- 23-Badr G, Al-Sadoon MK, Abdel-Maksoud MA, Rabah DM, El-Toni AM. Cellular and Molecular Mechanisms Underlie the Anti-Tumor Activities Cancer Cell Types. PLoS One 2012; 7:e51661.
- 24-Garcia-Closas M, Kelsey KT, Wiencke JK, Xu X, Wain JC, Christiani DC. A case-control study of cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferase M1, cigarette smoking and lung cancer susceptibility (Massachusetts, United States). Cancer Causes Control 1997; 8: 544-53.
- 25-Shah PP, Saurabh K, Pant MC, Mathur N, Parmar D. Evidence for increased cytochrome P450 1A1 expression in blood lymphocytes of lung cancer patients. Mutat Res 2009; 670: 74-78.
- 26-Persson I, Johansson I, Lou YC, Yue QY, Duan LS, Bertilsson L, et al. Genetic polymorphism of xenobiotic metabolizing enzymes among Chinese lung cancer patients. Int J Cancer 1999; 81: 325-29.