

فراوانی آلل ۴ ژن CYP2D6 و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان تخمدان در استان تهران

سید حسین هلالات^۱، خدیجه عنصری^{۲*}، زهرا حاجی مهدی نوری^۳

^۱ باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، پرند، ایران، ^۲ گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، پرند، ایران، ^۳ گروه زیست سلولی - مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سیرجان، سیرجان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۶/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/۱۱

چکیده

مقدمه و هدف: آنزیم CYP2D6، یکی از مهم‌ترین اعضا خانواده Cytochrome P450 است که نقش مهمی در متابولیسم بسیاری از داروها دارد. این ژن، هتروژنی آللی زیادی را نشان می‌دهد که باعث تغییرات بزرگ بین فردی در یک جمعیت می‌گردد، به طوری که افراد به سه گروه متابولیزه کننده شدید، متوسط و متابولیزه کننده ضعیف دارویی طبقه بندی می‌شوند. آلل ۴* ژن CYP2D6، یکی از شایع‌ترین آللهای پلی مورفیک ژن CYP2D6 می‌باشد که به دلیل تغییر نوکلئوتیدی G→A (G1934 A)، کاهش یا عدم فعالیت آنزیم مربوطه را به همراه دارد. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی آلل ۴* CYP2D6 بین افراد بیمار و کنترل و همچنین ارتباط این پلی مورفیسم با خطر ابتلا به سرطان تخمدان می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه که به روش مورد-شاهدی صورت گرفت، نمونه‌ها در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری گردید. استخراج DNA از بافت سرطانی نمونه‌های بیمار و خون گروه کنترل صورت گرفت. سپس به وسیله PCR-RFLP، فراوانی آلل ۴* CYP2D6 بین ۱۲۰ فرد بیمار مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی، تهران محاسبه و با ۱۲۵ فرد سالم به عنوان کنترل مراجعه کننده به همان مرکز مقایسه گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون رگرسیون لجستیک مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که شیوع افراد با متابولیسم ضعیف دارو (PM) بین گروه بیمار ۱۳/۳ درصد، متابولیزه کننده‌های شدید هتروزیگوت (HEM) ۲۳/۳ درصد و متابولیزه کننده‌های شدید هموزیگوت (EM) ۶۳/۳ درصد می‌باشد که نشان دهنده عدم ارتباط بین افراد HEM با خطر ابتلا به سرطان تخمدان می‌باشد (p=۰/۵۵، ۲/۸۵ - ۰/۵۶، OR=۱/۲۷، CL درصد). همچنین ارتباط مستقیمی بین PM و احتمال خطر نیز مشاهده نشده است (p=۰/۳۶، ۱/۳۸ - ۰/۴۱، OR=۰/۷۵، CL درصد).

نتیجه‌گیری: ارتباطی بین آلل ۴* CYP2D6 که نتیجه تغییر نوکلئوتیدی G1934→A می‌باشد با خطر ابتلا به سرطان تخمدان در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشده است.

واژه‌های کلیدی: آلل ۴* CYP2D6، پلی مورفیسم، سرطان تخمدان، PCR-RFLP.

*نویسنده مسئول: خدیجه عنصری، پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، گروه زیست شناسی

Email: onsory@gmail.com

مقدمه

سرطان سینه و یا سرطان تخمدان، رژیم غذایی، چاقی، در معرض سموم محیطی قرار گرفتن، نژاد، وضعیت آموزش و پرورش و بسیاری از عوامل ناشناخته دیگر (۸ و ۷). سرطان تخمدان اغلب به عنوان یک توده کیستی پیچیده در لگن ظاهر می‌شود. اگر چه سرطان تخمدان قاتل خاموش نامیده می‌شود، ولی بیش از ۸۰ درصد بیماران حتی وقتی هنوز بیماری به تخمدان محدود است، علایم بیماری را نشان می‌دهند، ولی این علایم با علایم بیماری‌های شایع دستگاه گوارش، ادراری - تناسلی و بیماری‌های زنان مشترک است به همین دلیل هنوز راهی برای تشخیص مفید و زودرس سرطان تخمدان به اثبات نرسیده است (۱۰ و ۹). بیماران در گروه‌های Well differentiated یا Grade I (سلول‌های سرطانی تفاوت اندکی با سلول‌های سالم دارند و رشد آهسته‌ای دارند) و یا به صورت Moderate differentiated یا Grade II (سلول‌های سرطانی شبیه سلول‌های سالم نیستند و رشد آنها کمی بیشتر از سلول‌های طبیعی است) و در آخر به صورت Poor differentiated یا Grade III (سلول‌های سرطانی تفاوت زیادی با سلول‌های طبیعی دارند و سرعت تکثیر بالایی دارند) قرار دارند.

آنزیم CYP2D6 که از آنزیم‌های سیتوکروم P450 است، یکی از مهم‌ترین عوامل در متابولیسم حدود ۲۵-۲۰ درصد داروها محسوب می‌گردد (۱۱). این آنزیم، یک پلی پپتید ۴۹۷ آمینواسیدی است و با این که درصد کمی از آنزیم‌های P450 کبدی را به خود اختصاص می‌دهد، ولی نقش بسیار مهمی در

سرطان تخمدان در رتبه هشتم سرطان‌های کشنده در جهان قرار دارد (۱). تعداد بیماران مبتلا به سرطان تخمدان در کل جهان در سال ۲۰۰۰، نزدیک به ۱۹۲۰۰۰ نفر و در سال ۲۰۰۸ به میزان ۲۰۰۰۰۰ نفر برآورد شده بود. این آمار نشان می‌دهد که سرطان تخمدان، ۴ درصد از کل سرطان‌های زنان را شامل شده و به عنوان ششمین سرطان شایع در میان زنان، رتبه‌بندی می‌شود (۲). مرگ و میر حدود ۱۴۰۰۰۰ نفر در میان بیماران مبتلا به سرطان تخمدان در سال ۲۰۰۸ نشان داده است که ۵۰ درصد در اثر این بیماری جان خود را از دست داده‌اند (۳ و ۲). بقا در سرطان تخمدان (در تمامی مراحل) حدود ۴۶ تخمین زده شده است (۲). در ایالات متحده آمریکا، سرطان تخمدان ۳ درصد از سرطان‌های زنان را به خود اختصاص می‌دهد (۴). هم‌چنین مرگ و میر بالای سرطان تخمدان باعث شده است که این سرطان را به عنوان پنجمین سرطان در زنان که منجر به مرگ در این کشور می‌شود، معرفی کنند (۵). در ایران سرطان تخمدان در رتبه نهم سرطان‌های شایع در میان زنان قرار دارد (۶). عوامل بسیاری در مناطق مختلف جهان شیوع سرطان تخمدان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳) عوامل اصلی خطر و محافظت از سرطان تخمدان که شیوع آن را در کشورهای مختلف تغییر می‌دهد عبارتند از تغذیه با شیر مادر، درمان ناباروری، هورمون درمانی، استفاده از وسایل و داروهای خوراکی پیشگیری از بارداری، سابقه خانوادگی

به سرطان تخمدان، بین ۱۲۰ فرد مبتلا به این بیماری صورت گرفت. نوع موتاسیون و پلی مورفیسم مربوطه بررسی گردید و با ۱۲۵ نمونه خونی از افراد سالم بدون سابقه ابتلا به سرطان مراجعه کننده به انتقال خون همان بیمارستان که در ویال‌های حاوی EDTA جمع‌آوری گردید، مورد مقایسه قرار گرفت. استخراج DNA به وسیله کیت استخراج DNA (Bioneer, Germany) صورت گرفت. دو گروه بیمار و کنترل از لحاظ سنی با یکدیگر همسان بودند. تمامی افراد شرکت کننده در مطالعه حاضر فرم رضایت جهت شرکت در این پژوهش را امضا کردند.

برای انجام واکنش PCR-RFLP^(۱) پرایمرهای اختصاصی مورد نظر 5'-GCTTCGCCAACCCTCCG-3' و 3'-R-5'-AAATCCTGCTCTCCGAGGC-3' به وسیله نرم‌افزار Perl Primer و سایت ۳ Primer طراحی گردید و سپس در سایت های Primer Blast و Nucleotide Blast عدم اتصال آن به مکان‌های دیگر ژنوم مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام PCR (Bio Rad, USA) از دستگاه ترموسایکلر و در ویال ۲۵ میکرولیتری شامل: آب مقطر، dNTP (با غلظت نهایی ۰/۲ میلی مولار، $MgCl_2$ (با غلظت نهایی ۱/۵ میلی مولار، بافر $10\times$ ، پرایمرهای پیشرو و پیرو (با غلظت نهایی ۰/۴ پیکومولار) و آنزیم (با غلظت نهایی ۰/۰۶ یونیت)، DNA الگو به Master اضافه گردید. با توجه به دمای ذوب (Tm) پرایمرها

متابولیسم مواد دارویی دارد (۱۲). جایگاه ژن CYP2D6 بر روی کروموزوم ۲۲q۱۳.۱ گزارش شده است (۱۳). پلی مورفیسم این ژن باعث متابولیسم ضعیف، متوسط و یا بیش از حد داروها به وسیله آنزیم CYP2D6 می‌گردد (۱۴). تغییر نوکلئوتیدی A به G در ژن کد کننده آلل B در اگزون ۴ و اینترون ۳ ژن CYP2D6 در بسیاری از نمونه‌های سرطانی حامل موتاسیون گزارش شده است (۱۵). وقتی در ژن کد کننده آنزیم CYP2D6 جهشی رخ می‌دهد، این آنزیم نمی‌تواند وظیفه خود را به درستی انجام دهد، در نتیجه مواد سمی در بدن تجمع می‌یابد و از طریق خون به بافت‌ها رفته که منجر به اختلال در عملکرد صحیح آنها شده و در نهایت منجر به سرطان می‌گردد. از طرف دیگر نیز ممکن است در اثر جهش در ژن CYP2D6، فعالیت این آنزیم افزایش یابد که در نتیجه آن متابولیت‌ها افزایش یافته و ممکن است منجر به تخریب DNA و ایجاد سلول‌های سرطانی شود (۱۶-۱۸). هدف از انجام این مطالعه، بررسی فراوانی آلل *۴ که منجر به تغییر نوکلئوتیدی G۱۹۳۴A در محل اتصال اگزون شماره ۴ و اینترون ۳ ژن CYP2D6 و ارتباط بین این پلی مورفیسم با خطر ابتلا به سرطان تخمدان در بیماران مورد مطالعه می‌باشد.

روش بررسی

این مطالعه به روش مورد-شاهدی، در جستجوی یافتن رابطه بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتید G۱۹۳۴A یا آلل *۴ در ژن CYP2D6 و خطر ابتلا

1- Polymerase Chain Reaction –Restriction Fragment Length Polymorphism

کنترل ۲۵-۶۹ سال با میانگین سنی ۴۷ سال و انحراف معیار $(SD \pm 10/63)$ تعیین شد. بیشترین تعداد بیماران ۴۹ نفر (۴۰/۸ درصد) در Stage II و بقیه در Stage I و Stage III بیماری طبقه‌بندی شدند. بیشترین تعداد افراد بیمار (۴۴/۱ درصد) در گروه Poor differentiated و فقط ۲۶ نفر (۲۱/۶ درصد) بیماران در گروه Well differentiated قرار داشتند (جدول ۱).

وجود موتاسیون در هر دو آلل این ژن که محل برشی برای آنزیم نداشتند (هموزیگوت AA)، به صورت یک باند ۳۳۴ جفت باز قابل رویت بود که فنوتیپ این افراد به صورت متابولیزه کننده ضعیف (Poor Metabolizer) PM گزارش می‌شود. هتروزیگوت AG که دارای جایگاه برش برای آنزیم می‌باشد به صورت یک باند ۳۳۴ جفت باز دیده می‌شود و دو باند ۲۳۰ و ۱۰۵ جفت باز که مربوط به رشته برش خورده DNA می‌باشد به صورت فنوتیپ متابولیزه کننده متوسط (Heterozygous Extensive Metabolizer) HEM نشان داده می‌شود. فنوتیپ افراد نرمال دارای هموزیگوت GG به صورت متابولیزه کننده طبیعی (Extensive Metabolizer) EM در نظر گرفته می‌شود (تصویر ۱).

در مطالعه حاضر درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در جمعیت بیمار برای ژنوتیپ‌های EM، HEM و PM به ترتیب ۷۶ نفر (۶۳/۳ درصد)، ۲۸ نفر (۲۳/۳ درصد) و ۱۶ نفر (۱۳/۳ درصد) و در گروه کنترل ۶۸ نفر (۵۴/۴ درصد) برای ژنوتیپ EM، ۳۳ نفر (۲۶/۴ درصد) برای HEM و ۲۴ نفر (۱۹/۲ درصد) برای ژنوتیپ PM

دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای بهینه انتخاب شد. برنامه دستگاه PCR شامل ۳۵ چرخه و شامل سه مرحله دناتوره شدن در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، واسرشت شدن در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد، دمای اتصال در ۵۵ درجه و گسترش یافتن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد هر یک به مدت ۶۰ ثانیه صورت گرفت. طول محصول PCR، ۳۳۵ جفت باز بود. محصولات PCR پس از انجام الکتروفورز در ژل ۲ درصد با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید مشاهده شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR ژن CYP2D6 به وسیله چهار واحد از آنزیم محدودالتر BstN1 (New England, Biolab) به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد برش آنزیمی قرار گرفت. برای اطمینان بیشتر از عملکرد صحیح آنزیم، ۱۰ درصد از محصولات PCR برای Sequencing ارسال نتایج خوانش توالی به وسیله نرم افزار Finch TV خوانده و با توالی مرجع در سایت EBI.UK.ir، انطباق داده شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری کای دو، رگرسیون لجستیک، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

سن افراد مبتلا به بیماری در افراد مورد مطالعه در گروه بیمار ۲۶ تا ۶۵ سال، میانگین سنی در آنها ۴۵/۵ سال، انحراف معیار و میانگین $(SD \pm 11/27)$ گزارش شد. همچنین افراد شرکت کننده در گروه

(HEM)، $OR=1/27$ ، $p=0/55$ ، $95\% CI$ ، $0/56-2/85$ ، $p=0/55$ و هموزیگوت موتانت (PM) $OR=0/75$ ، $95\% CI$ ، $0/36-1/38$ ، $p=0/41$ در این ژن مشاهده نشده است (جدول ۲).

می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که اختلاف فاحشی بین فراوانی ژنوتیپ‌ها در بین بیماران و کنترل در هر گروه وجود ندارد. در مقایسه با ژنوتیپ وحشی EM، اختلاف معنی‌داری بین پلی مورفیسم‌های هتروزیگوت

جداول و نمودارها

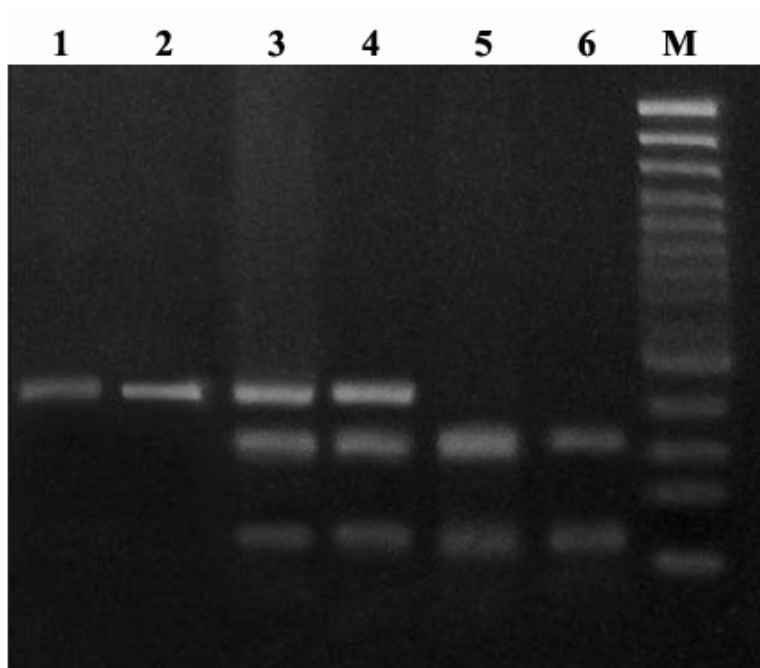
جدول ۱: اطلاعات مربوط به بیماران و افراد سالم

متغیر	بیماران	کنترل
تعداد	۱۲۰	۱۲۵
سن (سال)	۲۵-۶۶	۲۹-۷۰
میانگین ($\pm SD$)	$45/5 \pm 11/27$	$49/5 \pm 10/63$
مراحل بالینی		
i (درصد)	۳۸(۳۱/۶)	
ii (درصد)	۴۹(۴۰/۸)	
iii (درصد)	۲۲(۱۸/۳)	
iiii (درصد)	۱۱(۹/۱)	
درجه آسیب شناسی *		
خوب تمایز یافته (درصد)	۲۶(۲۱/۶)	
تمایز یافته متوسط (درصد)	۴۱(۳۴/۱)	
تمایز یافته ضعیف (درصد)	۵۳(۴۴/۱)	

جدول ۲: مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در دو گروه بیمار و کنترل

ژنوتیپ	بیماران (درصد)	کنترل (درصد)	OR (95% CI)	سطح معنی دار
EM	۷۶(۶۳/۳)	۶۸(۵۴/۴)	۱	
HEM	۲۸(۲۳/۳)	۳۳(۲۶/۴)	$1/27(2/85-0/56)$	۰/۵۵
PM	۱۶(۱۳/۳)	۲۴(۱۹/۲)	$0/75(1/38-0/41)$	۰/۳۶

OR: نسبت شانس، مقادیر $P < 0.05$ نشان دهنده وجود سطح معناداری می‌باشد.



تصویر ۱: آنالیز RFLP ژن CYP2D6 با استفاده از آنزیم BstN1.

ردیف ۱ و ۲ PM (۳۳۵ جفت باز)، ردیف ۳ و ۴ (۳۳۵، ۲۳۰ و ۱۰۵ جفت باز) HEM،

ردیف ۵ و ۶ (۲۳۰ و ۱۰۵ جفت باز) EM، M مارکر ۵۰ جفت باز

بحث

دارند (۲۰). بنابراین در افراد هتروزیگوت یا هموزیگوت برای آلل جهش یافته ژن CYP2D6، فعالیت این آنزیم ضعیف و یا بدون فعالیت است، در حالی که افرادی که حامل دو کپی از آلل وحشی ژن CYP2D6 هستند، فعالیت آنزیم در این افراد بیش تر از افرادی است که یک آلل و یا هیچ آلل وحشی از این ژن را ندارند. ژنوتیپ هموزیگوت وحشی ژن CYP2D6 کارسینوژن و متابولیت‌های ژنوتوکسیک بیش‌تری را متابولیزه می‌کند (۲۱). در نتیجه فعالیت بیشتر این آنزیم، سطح آسیب به DNA را افزایش می‌دهد که متعاقباً خطر بروز سرطان افزایش می‌یابد (۲۲). آلل CYP2D6*2، آلل نسبتاً شایعی در بین جمعیت آسیایی‌ها می‌باشد. وجود این

سیتوکروم P450 آنزیمی است که در انسان به وسیله ژن CYP2D6 کد می‌شود. این ژن معمولاً در کبد و طحال بیان می‌شود و حدود هفتاد واریانت دارد که در متابولیسم ۲۵ درصد از داروهای بالینی نقش دارند. آنزیم‌های سیتوکروم CYP450 مواد کارسینوژن، داروها و ترکیب‌های وارد شده به بدن را متابولیزه کرده و طی فرآیند سم‌زدایی از بدن خارج می‌کنند. بدین ترتیب پلی مورفیسم در ژن CYP2D6 منجر به متابولیسم ضعیف ترکیبات سمی می‌شود (۱۹). از طرف دیگر آنزیم CYP2D6، توانایی فعال کردن پروکارسینوژن‌ها و متابولیت‌های ژنوتوکسیک را

آل با کاهش متابولیسم سوبستراهای مختلف CYP2D6 در ارتباط می‌باشد. جهش در آلل CYP2D6*2 شامل T CYP2D6*2 می‌باشد که این تغییرات در اگزون ۹ از ژن CYP2D6*2 می‌باشد. اجراف و همکاران، در مطالعه ۲۴۶ نفر سالم و ۳۱۴ بیمار مبتلا به سرطان سینه که در تونس زندگی می‌کردند، در پی آنالیز پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6 مشاهده کردند که ژنوتیپ هموزیگوت برای آلل وحشی این ژن در جمعیت زنان یائسه احتمال بروز سرطان سینه را افزایش می‌دهد (۲۳) (p=۰/۰۱). دجانگ و همکاران در آزمایش‌های خود در شمال هلند نیز به این نتیجه رسیدند که در افراد هموزیگوت برای آلل جهش یافته ژن CYP2D6، احتمال بروز سرطان سینه افزایش می‌یابد (۲۴).

نتایج به دست آمده در کشور پرتغال بر روی ۷۷ بیمار مبتلا به سرطان مثانه و ۱۹۱ فرد سالم آزمایش انجام دادند و مشاهده کردند که پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6 نقشی در توسعه سرطان مثانه ندارد (۲۵) (p=۰/۳۲). در مطالعه‌هایی که همین محقق بر روی ۱۰۰ مرد مبتلا به سرطان پروستات و ۱۰۰ مرد سالم در جمعیت شمال هندوستان انجام داده، مشاهده کردند که پلی‌مورفیسم CYP2D6 تأثیری در احتمال بروز سرطان پروستات در جمعیت مورد مطالعه ندارد (۲۶) (p=۰/۱۸). هیوون و همکاران در مطالعه‌هایی که بر روی ۱۲۲ نفر به عنوان شاهد و ۱۰۶ بیمار مبتلا به سرطان ریه درهلسنکی انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که ارتباط معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ PM با

بیماران مبتلا به سرطان ریه وجود دارد (۲۷) (p=۰/۰۵). آگوندرز و همکاران در پی مطالعه‌های خود در مادرید، نشان دادند که افراد هموزیگوت برای ژن عملکردی CYP2D6 بیش‌تر در معرض خطر ابتلا به سرطان کبد قرار دارند (۲۸) (p<۰/۰۵). لندن و همکاران در لس آنجلس، پس از انجام آزمایش‌هایی بر روی پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6 به این نتیجه رسیدند که ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن CYP2D6 و خطر بروز سرطان ریه وجود ندارد (۲۹) (p=۰/۳۶). کارجینویک و همکاران ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژن CYP2D6 با خطر ابتلا به سرطان سینه در ۱۴۹ نمونه بیمار و ۲۰۷ نمونه کنترل از بین خانم‌های فرانسوی-کانادایی مشاهده نکردند. در این مطالعه فراوانی ژنوتیپ EM برای گروه بیمار ۹۸/۶ درصد و برای کنترل ۹۶ درصد به دست آمد، در حالی که فراوانی ژنوتیپی PM برای گروه بیمار و شاهد به ترتیب ۱/۴ و ۴ درصد محاسبه گردید. با توجه به شیوع بالای ژنوتیپ طبیعی در جمعیت مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری میان ژن CYP2D6 و سرطان سینه مشاهده نگردید (۳۰) (p<۰/۰۵). از آنجایی که در این مطالعه علاوه بر تأثیر ژن CYP2D6 اثر سایر واریانت‌های سیتوکروم P450 به طور هم‌زمان مورد بررسی قرار گرفته می‌توان عدم اختلاف معنی‌داری این ژن را با سرطان سینه به اثرگذاری سایر واریانت‌ها بر روی ژن CYP2D6 دانست (۳۰). واریانت‌های سلول زاینده ژن CYP2D6 فعال که توانایی متابولیزه کردن سوبستراهای خاص

مطالعه‌های انجام شده در دیگر جمعیت‌ها هم‌خوانی دارد، به طوری که زافرا-کرس در مطالعه خود بر روی زنان مبتلا به سرطان سینه در اسپانیا نشان داد که فقط ۱۵/۶٪ از بیماران حامل آلل خطر می‌باشند (۳۳). مطالعه گوتز بر روی بیماران مبتلا به سرطان سینه و کلورکتال نشان دهنده عدم ارتباط معنی‌داری بین آلل ۴ ژن CYP2D6 با بیماری می‌باشد (۳۴). بیماران سرطانی اندونزیایی نیز وابستگی مثبتی بین این پلی مورفیسم و دیگر تغییرات آلی در این ژن با افزایش خطر ابتلا به این بیماری نشان ندادند (۳۵). در بررسی که در سال ۲۰۱۰ بر روی بیماران مبتلا به سرطان سینه در بین زنان بریتانیای کبیر صورت گرفت نیز نشان دهنده عدم ارتباط معنی‌دار بین ژن CYP2D6*4 و این بیماری می‌باشد (۳۶). مطالعه‌ی بر روی کودکان افریقایی - آمریکایی مبتلا به کم‌خونی داسی شکل نیز ارتباطی بین حاملین این پلی مورفیسم در ابتلا افراد به بیماری گزارش نکرد (۳۷). بنابراین مطالعه حاضر با مطالعه انجام شده نشان دهنده عدم وجود ارتباط مستقیم این نوع پلی‌مورفیسم به عنوان یک مارکر اصلی در ابتلا افراد به این نوع سرطان می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاکی از آن است که پلی مورفیسم در این ناحیه از ژن رابطه معنی‌داری در ابتلا افراد به سرطان تخمدان در جمعیت مورد مطالعه نداشته است. تحقیق‌های انجام شده برای یافتن رابطه بین پلی‌مورفیسم در ژن CYP2D6 و ابتلا افراد به انواع

را برعهده دارد در گسترش سرطان‌های مختلف نقش دارد. در سال ۲۰۰۰، اما و همکاران موتاسیون‌های ژن CYP2D6 و ارتباط آن با سرطان تخمدان را مورد بررسی قرار دادند، مقایسه فراوانی جهش ژرم لاین روی ۲۵۸ نمونه دارای سرطان تخمدان و ۲۳۱ نمونه کنترل تفاوت معنی‌داری بین دو گروه بیمار و شاهد نشان نداد ($p > 0.05$). نتایج به طور کلی حاکی از شیوع پایین آلل جهش یافته در افراد دارای ژنوتیپ HEM و PM و شیوع بالای آلل طبیعی در افراد دارای ژنوتیپ EM در دو گروه بیمار و شاهد می‌باشد. این مقایسه نشان داد که پلی مورفیسم‌های ژن CYP2D6 با سرطان تخمدان در ارتباط نمی‌باشد (۳۱). در مطالعه بری پلی‌مورفیسم‌های ژن CYP2D6 و اثر داروی تاموکسیفن را روی ۱۹۰ زن آمریکایی مبتلا به سرطان سینه و ۱۶ نمونه کنترل مورد بررسی قرار داد. درصد تعادل هاردی واینبرگ در این مطالعه نشان داد که درصد ژنوتیپ EM بیش از دو برابر در صد فراوانی ژنوتیپ PM در گروه بیمار می‌باشد، در نهایت مشخص شد که از نظر آماری بین ژن CYP2D6 رابطه معنی‌داری با ابتلا به سرطان سینه وجود دارد، اما این رابطه بسیار ضعیف بود. بنابراین به این نتیجه رسیدند که در مطالعه بعدی علاوه بر درصد تعادل هاردی - واینبرگ از آنالیز آماری دقیق‌تری استفاده کنند (۳۲). در بررسی انجام شده بین ۱۲۰ زن مبتلا به سرطان تخمدان و ۱۲۵ فرد سالم از جمعیت ایرانی، نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین آلل ۴ ژن CYP2D6 و سرطان تخمدان وجود ندارد. مطالعه حاضر با دیگر

سرطانها از جمله سرطان تخمدان در جمعیت‌های مختلف با یکدیگر تفاوت داشته و نشان دهنده اهمیت این ژن می‌باشد. یکی از محدودیت‌های این تحقیق حجم کم نمونه‌های مورد مطالعه می‌باشد. بنابراین، در مطالعه‌های بعدی نیاز به بررسی تأثیر این نوع پلی‌مورفیسم با انواع سرطان‌ها و یا ارتباط انواع پلی‌مورفیسم‌های دیگر با سرطان تخمدان با استفاده از تعداد نمونه‌های بیشتر ضروری به نظر می‌رسد.

تقدیر و تشکر

از ستاد مرکزی باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان به دلیل حمایت و پشتیبانی مالی این پروژه نهایت امتنان و سپاسگزاری را داریم.

REFERENCES

1. Lurie G, Wilkens LR, Thompson PJ, McDuffie KE, Carney ME, Terada KY, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms. *Biomarkers Prev* 2007; 16(12): 2566-71.
2. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2012; 62(1): 10-29.
3. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: Globocan 2008. *Int J Cancer* 2010; 127(12): 2893-917.
4. Arab M, Khayamzadeh M, Tehranian A, Tabatabaeefar M, Hosseini M, Anbiaee R, et al. Incidence rate of ovarian cancer in Iran in comparison with developed countries. *Indian J Cancer* 2010; 47(3): 322-7.
5. Clarke-Pearson DL. Clinical practice. Screening for ovarian cancer. *N Engl J Med* 2009; 361(2): 170-7.
6. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61(4): 212-36.
7. Yavari P, Sadrolhefazi B, Mohagheghi MA, Madani H, Mosavizadeh A, Nahvijou A, et al. An epidemiological analysis of cancer data in an Iranian hospital during the last three decades. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9(1): 145-50.
8. Skírnisdóttir I, Garmo H, Wilander E, Holmberg L. Borderline ovarian tumors in Sweden 1960-2005: trends in incidence and age at diagnosis compared to ovarian cancer. *Int J Cancer* 2008; 123(8): 1897-901.
9. Shu XO, Brinton LA, Gao YT, Yuan JM. Population-based case-control study of ovarian cancer in Shanghai. *Cancer Res* 1989; 49(13): 3670-4.
10. Goff BA, Mandel L, Muntz HG, Melancon CH. Ovarian carcinoma diagnosis. *Cancer* 2000; 89(10): 2068-75.
11. Zebrowski BK, Liu W, Ramirez K, Akagi Y, Mills GB, Ellis LM. Markedly elevated levels of vascular endothelial growth factor in malignant ascites. *Ann Surg Oncol* 1999; 6(4): 373-8.
12. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol* 2004; 25: 193-200.
13. Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004; 369: 23-37.
14. Heim MH, Meyer UA. Evolution of a highly polymorphic human cytochrome P450 gene cluster. *CYP2D6 Genomics* 1992; 14: 49-58.
15. Mura C, Panserat S, Vincent-Viry M, Galteau M, Jacqz-Aigrain E, Krishnamoorthy R. DNA haplotype 103, dependency of debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D6) expression among extensive metabolisers. *Hum Genet* 1993; 92(4): 367-72.
16. Dale Smith C, Moss J, Gough A, Spurr N, Wolf C. Molecular genetic analysis of the cytochrome p450 debrisoquine hydroxylase locus and association with cancer susceptibility. *Environ Health Perspect* 1992; 98: 107-12.
17. Gough A, Dale Smith C, Howell S, Wolf C, Bryant S, Spurr N. Localization of the CYP2D gene locus to human chromosome 22q13.1 by polymerase chain reaction. *In situ hybridization and linkage analysis. Genomics* 1993; 15(2): 430-2.
18. Hoffman D, Castonguay A, Rivenson A, Hecht S. Comparative carcinogenicity and metabolism of 4-(methylnitrosamino-1-(3-pyridyl)-1-butanone and N-nitrosornicotine in Syrian golden hamsters. *Cancer Res* 1981; 41(6): 2386-93.
19. Bouchardx C, Benhamou S, Daxer P. The effect of tobacco on lung cancer risk depends on CYP2D6 activity. *Cancer Res* 1996; 56(2): 251-3.
20. Tucker AN, Tkaczuk KA, Lewis LM, Tomic D, Lim CK, Flaws JA. Polymorphisms in cytochrome P 450 3A5 (CYP3A5) may be associated with race and tumor characteristics, but not metabolism and side effects of tamoxifen in breast cancer patients. *Cancer Lett* 2005; 10; 217(1): 61-72.
21. Wegman P, Vainikka L, Stal O, Nordenskjold B, Skoog L, Rutqvist LE, Wingren S. Genotype of metabolic enzymes and the benefit of tamoxifen in postmenopausal breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2005; 7: R284-90.
22. Agundez JA. Cytochrome P450 gene polymorphism and cancer. *Curr Drug Metab* 2004; 5: 211-24.
23. Achraf KH. Implication of xenobiotic metabolizing enzyme gene (CYP2E1, CYP2C19, CYP2D6, mEH and NAT2) Polymorphisms in Breast Carcinoma. *BMC Cancer* 2008; 18; 8: 109.

24. De Jong MM, Nolte IM, Te Meerman GJ, Van der Graaf WT, Oosterwijk JC, Kleibeuker JH, et al. Genes other than BRCA1 and BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. *J Med Genet* 2002; 39: 225-42.
25. Andrade FC, Corona LP, Lebrão ML, Duarte YA. Life expectancy with and without cognitive impairment among Brazilian older adults. *Arch Gerontol Geriatr* 2014; 58(2): 219-25.
26. Sobti RC, Onsory K, Al-Badran AI, Kaur P, Watanabe M, Krishan A, Mohan H. CYP17, SRD5A2, CYP1B1, and CYP2D6 gene polymorphisms with prostate cancer risk in North Indian population. *DNA Cell Biol* 2006; 25(5): 287-94.
27. Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila Karjalainen A, Pelkonen O, Vainio H. PCR-based CYP2D6 genotyping for Finnish lung cancer patients. *Pharmacogenetics* 1993; 3: 19-27.
28. Agundez JAG, Ledesma MC, Benitez J, Ladero JM, Redriguez-Lescure A, Diaz-Rubio E, et al. Short report: CYP2D6 genes and risk of liver cancer. *Lancet* 1995; 345: 830-1.
29. London SJ. Genetic polymorphism of CYP2D6 and lung cancer risk in African-Americans and Caucasians in Los Angeles County. *Carcinogenesis* 1997; 18(6): 1203-14.
30. Krajcinovic M, Ghadirian P, Richer C, Sinnott H, Gandini S, Perret C, et al. Genetic susceptibility to breast cancer in French-Canadians: role of carcinogen-metabolizing enzymes and gene-environment interactions. *Int J Cancer* 2001; 92(2): 220-5.
31. Bryan EJ, Thomas NA, Palmer K, Dawson E, Englefield P, Campbell IG. Refinement of an ovarian cancer tumor suppressor gene locus on chromosome arm 22q and mutation analysis of CYP2D6, SREBP2 and NAGA. *Int J Cancer* 2000; 87(6): 798-802.
32. Berry D. CYP2D6 genotyping and the use of tamoxifen in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105(17): 1267-9.
33. Zafra-Ceres M, de Haro T, Farez-Vidal E, Blancas I, Bandres F, de Dueñas EM, et al. Influence of CYP2D6 polymorphisms on serum levels of tamoxifen metabolites in Spanish women with breast cancer. *Int J Med Sci* 2013; 10(7): 932-7.
34. Goetz MP, Suman VJ, Hoskin TL, Gnant M, Filipits M, Safgren SL, et al. CYP2D6 metabolism and patient outcome in the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group trial (ABCSCG) 8. *Clin Cancer Res* 2013; 19(2): 500-7.
35. Perwitasari DA, Wessels JA, Van der Straaten RJ, Baak-Pablo RF, Mustofa M, Hakimi M, et al. Association of ABCB1, 5-HT3B receptor and CYP2D6 genetic polymorphisms with ondansetron and metoclopramide antiemetic response in Indonesian cancer patients treated with highly emetogenic chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2011; 41(10): 1168-76.
36. Abraham JE, Maranian MJ, Driver KE, Platte R, Kalmyrzaev B, Baynes C, et al. CYP2D6 gene variants: association with breast cancer specific survival in a cohort of breast cancer patients from the United Kingdom treated with adjuvant tamoxifen. *Breast Cancer Res* 2010; 12(4): R64.
37. Yee MM, Josephson C, Hill CE, Harrington R, Castillejo MI, Ramjit R, et al. Cytochrome P450 2D6 polymorphisms and predicted opioid metabolism in African American children with sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2013; 35(7): e301-5.

Frequency of *4 allele in CYP2D6 gene and its Association with Ovarian Cancer Risk in Tehran, Iran

Helalat SH¹, Onsory Kh^{2*}, Haji Mehdi Nouri Z³

¹Young and Elite Researchers Club, Islamic Azad University, Parand Branch, Parand, Iran, ²Department of Biology, Islamic Azad University, Parand Branch, Parand, Iran, ³Cellular and Molecular Biology, Islamic Azad University, Sirjan Branch, Sirjan, Iran

Received: 2 Sep 2015

Accepted: 30 Apr 2015

Abstract

Background & aim: CYP2D6 enzyme is one of the most important members of the cytochrome P450 superfamily which play an important role in the metabolism of many drugs. The CYP2D6 gene presents a high allele heterogeneity that significantly stimulated many changes between individuals in a population, so that classified into extensive, intermediate, or poor drug metabolizers. The CYP2D6*4 allele is the most common polymorphic allele of CYP2D6 gene which due to a nucleotide change of G→A (G1934→A), resulting in a reduced or lack of activity of CYP iso-enzyme. The aim of this study was to evaluate the frequency of CYP2D6*4 allele among patient and control groups and to find out the relationship of this polymorphism with the risk of ovarian cancer patients in Tehran.

Methods: In the present case-control study, samples were collected in tubes containing EDTA. DNA is extracted from cancer tissue and blood controls group were performed. The frequency of CYP2D6*4 allele was determined among 120 patients who were admitted to Imam Khomeini Hospital by PCR-RFLP method and then compared with 125 normal controls who visited the same center. The collected data were analyzed using logistic regression analysis.

Results: The results show that the prevalence of patients group with poor metabolism of drugs (PM) 13.3%, heterozygotes extensive metabolizer (HEM) 23.3% and extensive metabolizer (EM) was 63.3% respectively. The results indicated no significant association was seen between HEM and ovarian cancer risk (OR=1.27; CI 95% ; 2.85-0.56; P=0.55). Also no association was observed between PM and risk of this disease among the studied population (OR=0.75; CI 95%; 1.38-0.41; P= 0.36).

Conclusion: There was no meaningful association between CYP2D6*4 allele which results in variations of G1934→A genetic polymorphism and ovarian cancer has been observed in the study population.

Keywords: CYP2D6*4 allele, Polymorphism, Ovarian cancer, PCR-RFLP.

Corresponding author: Onsory KH, Department of Biology, Islamic Azad University, Parand Branch, Parand, Iran

Email: onsory@gmail.com

Please cite this article as follows:

Helalat SH, Onsory Kh, Haji Mehdi Nouri Z. Frequency of *4 allele in CYP2D6 gene and its Association with Ovarian Cancer Risk in Tehran, Iran. *Armaghane-danesh* 2016; 21 (1): 200-211.