

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

109210 - 2.24.19



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته ی سلولی ملکولی گرایش ژنتیک

مطالعه تنوعات ژنتیکی ژن CYP1A1 و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان ریه در جمعیت
اصفهان

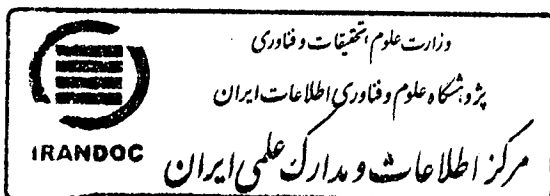
استاد راهنما:

دکتر مجید متولی باشی

پژوهشگر:

مریم بردبار

شهریور ماه ۱۳۸۹

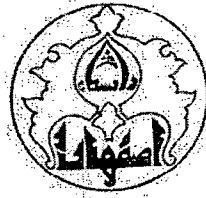


۱۵۹۵۱۲

۱۳۹۰/۳/۲۲

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات
و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه اصفهان است.

شوه نگارش پایان نامه
رعایت شده است.



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته ی زیست شناسی گرایش ژنتیک

خانم مریم بردبار تحت عنوان

مطالعه تنوعات ژنتیکی ژن CYP1A1 و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان ریه در جمعیت

اصفهان

در تاریخ ۸/۶/۸۹ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

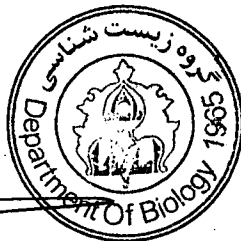
امضا
امضا
امضا

۱- استاد راهنمای پایان نامه دکتر مجید متولی باشی با مرتبه علمی استادیار

۲- استاد داور داخل گروه دکتر کامران قانیدی با مرتبه علمی استادیار

۳- استاد داور خارج گروه دکتر حمید میر محمد صادقی با مرتبه علمی دانشیار

امضای مدیر گروه



امضا

با سپاس از

استاد ارجمند جناب آقای دکتر مجید متولی باشی که در تمام مراحل انجام این تحقیق اینجانب را راهنمایی فرمودند.

استاد داور محترم داخل گروه جناب آقای دکتر کامران قائدی

استاد داور محترم خارج گروه جناب آقای دکتر میر محمد صادقی

اساتید گرامی بخش ژنتیک سرکار خانم دکتر زهره حجتی، جناب آقای دکتر صادق ولیان و جناب آقای دکتر منوچهر توسلی که در تمام مراحل تحصیل مرا از رهنمودهای پربارشان بهره مند گردانیدند.

هم اتاقی های عزیزم ژیلا، ناهید و فاطمه

و همکلاسی هایم خدیجه، زهرا، محبوبه، سمیه، مریم و حلیمه به پاس همراهی ها و مهربانی هایشان.

و با سپاس فراوان از

مادرم، پدرم، همسرم، خواهرم بیتا و برادرم بهروز به پاس حمایت های بی دریغ شان.

ریه اولین جایگاهی است که در معرض آلودگی‌های محیطی از جمله سموم شیمیایی و کارسینوژن‌ها قرار می‌گیرد. در نتیجه آنزیم‌هایی که در متابولیسم زنبیوتیک‌ها درگیر هستند و در سطح ریه بیان می‌شوند، نقش مهمی را در حفاظت از موجود زنده ایفا می‌کنند. در میان این آنزیم‌های متابولیسم کننده، زنبیوتیک‌ها (XMES)، سیتوکروم‌های P450 (CYPs)، از دسته آنزیم‌های فاز I به شمار می‌روند که مستقیماً توسط واکنش‌های اکسیداسیون موجب تغییر در سوبستراها می‌شوند. CYP1A1 یکی از آنزیم‌های اصلی سیتوکروم‌های P450 می‌باشد که اولین مرحله از متابولیسم کارسینوژن‌هایی مانند هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی را کاتالیز می‌کند. پلی‌مورفیسم‌های موجود در ژن CYP1A1 با خطر ابتلا به سرطان ریه خصوصاً در جمعیت‌های آسیایی در ارتباط هستند. m1 اولین موتاسیون مشخص شده در این ژن می‌باشد که در آن جانشینی T→C سبب ایجاد یک جایگاه جدید برای برش آنزیم محدوداثر MspI می‌گردد. در جمعیت ژاپن این موتاسیون به میزان بسیار زیادی در میان بیماران مشاهده شده است. در عین حال، گزارش‌هایی که از جمعیت سفیدپوستان به دست آمده است مؤید این یافته‌ها نمی‌باشد.

در این مطالعه که به صورت کنترل-بیمار انجام گرفته است، فراوانی پلی‌مورفیسم‌های ژن CYP1A1 از جمله m1 و m3 در افراد تعیین شد و نقش این پلی‌مورفیسم‌ها در احتمال ابتلا به سرطان ریه سنجیده شد. به منظور مطالعه این پلی‌مورفیسم‌ها، DNA از نمونه خون کامل 232 نفر شامل 120 فرد سالم و 112 بیمار مبتلا به سرطان ریه به روش استاندارد استخراج شد. پرایمرهای اختصاصی بوسیله نرم افزار Oligo نسخه 6 با طول، دمای اتصال و درصد GC یکسان طراحی شد. موتاسیون‌های CYP1A1 بعد از PCR توسط تکنیک RFLP مشخص شد. در نهایت محصولات PCR هضم شده و هضم نشده توسط MspI بر روی ژل 1% آگارز بارگذاری شد و قطعات جدا شده با یکدیگر مقایسه شدند. بر اساس آنالیزهای آماری که توسط نرم افزار SPSS نسخه 15 انجام شد، آلل C در موتاسیون m1 در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان ریه می‌تواند باشد ($P < 0.05$). آلل C در موتاسیون m3 در هیچ یک از نمونه‌های سالم و بیمار مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: سرطان ریه، زنبیوتیک‌ها، CYP1A1، پلی‌مورفیسم

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فصل اول: مقدمه و مروری بر منابع
۱-۱	مقدمه..... ۱
۲-۱	آنزیم‌های متابولیسم کننده زنبیوتیک (XMEs)..... ۴
۱-۲-۱	مواد شیمیایی با منشأ درونی و بیرونی..... ۵
۲-۲-۱	آنزیم‌های فاز I..... ۶
۳-۲-۱	آنزیم‌های فاز II..... ۷
۱-۳-۲-۱	آنزیم‌های پلی‌مورفیک GST و NAT..... ۸
۴-۲-۱	آنزیم‌های فاز III..... ۹
۵-۲-۱	تنظیم بیان آنزیم‌های متابولیسم کننده زنبیوتیک..... ۱۰
۱-۵-۲-۱	تنظیم بیان <i>CYP1A2</i> و <i>CYP2A5</i> ۱۰
۳-۱	سرطان ریه..... ۱۱
۱-۳-۱	سرطان ریه در ارتباط با استعمال سیگار..... ۱۴
۲-۳-۱	سرطان ریه در ارتباط با پلی‌مورفیسم آنزیم‌های فاز I..... ۱۵
۴-۱	آنزیم‌های سیتوکروم P450 (CYP)..... ۱۶
۱-۴-۱	خانواده فرعی <i>CYP1A</i> ۲۱
۱-۱-۴-۱	مقایسه <i>CYP1A1</i> ، <i>CYP1A2</i> و <i>CYP1B1</i> در بافت‌های مختلف..... ۲۳
۲-۴-۱	<i>CYP1A1</i> ۲۴
۳-۴-۱	پلی‌مورفیسم‌های <i>CYP1A1</i> ۲۵

۲۶	۱-۳-۴-۱ پلی مورفیسیم m۱
۲۶	۲-۳-۴-۱ پلی مورفیسیم m۲
۲۷	۳-۳-۴-۱ پلی مورفیسیم m۳
۲۷	۴-۳-۴-۱ پلی مورفیسیم m۴
۲۸	۴-۴-۱ تنظیم بیان <i>CYP1A1</i>
۳۱	۵-۴-۱ الگوی بیان خارج کبدی <i>CYP1A1</i> همراه با بررسی اثر سیگار
۳۲	۶-۴-۱ جایگاه درون سلولی <i>CYP1A1</i>
۳۳	۷-۴-۱ مکانیسم فعال سازی پروکارسینوزن ها توسط <i>CYP1A1</i>
۳۵	۱-۷-۴-۱ بنزو-a-پیرن و سرطان ریه
۳۵	۵-۱ هدف مطالعه

فصل دوم: مواد و روش ها

۳۸	۱-۲-۱- مواد و وسایل مورد استفاده
۳۸	۱-۱-۲- مواد
۴۰	۲-۱-۲- وسایل و دستگاه ها
۴۱	۲- روش ها
۴۱	۱-۲-۲- تهیه محلول ها
۴۱	۱-۱-۲-۲- تهیه Tris-HCl
۴۱	۲-۱-۲-۲- تهیه اتیلن دی آمینو تترا استیک اسید (EDTA)
۴۲	۲-۱-۲-۲- تهیه Tris-HCl-EDTA (TE)

عنوان	صفحه
۴-۱-۲-۲ محلول کلرور سدیم ۶ مولار (NaCl, 6M)	۴۲
۵-۱-۲-۲ تهیه بافر TBE	۴۲
۶-۱-۲-۲ تهیه اتیدیوم بروماید	۴۳
۲-۲-۲ روش تهیه ژل آگارز ۱٪	۴۴
۳-۲-۲ تهیه لودینگ بافر	۴۴
۴-۲-۲ جمع‌آوری نمونه‌های خون	۴۵
۵-۲-۲ استخراج DNA از خون	۴۶
۶-۲-۲ DNA مارکر	۴۸
۳-۲ تکنیک‌ها	۴۸
۱-۳-۲ الکتروفورز	۴۸
۲-۲-۳ طراحی و آماده‌سازی پرایمرها	۴۹
۳-۳-۲ تکنیک PCR	۵۰
۱-۳-۳-۲ روش انجام تکنیک PCR	۵۱
۴-۳-۲ تکنیک RFLP-PCR	۵۲
۴-۲ آنالیز آماری	۵۵
۱-۴-۲ محاسبه فراوانی آله‌ها	۵۵
۲-۴-۲ آزمون χ^2	۵۶
۳-۴-۲ استفاده از SPSS	۵۷
۵-۲ استفاده از نرم افزار Image J	۵۸

فصل سوم: نتایج و مشاهدات

۱-۳ نمونه‌گیری	۵۹
۲-۳ تخلیص DNA	۵۹
۳-۳ بررسی پلی مورفیسم‌های m_1 و m_3	۶۱
۱-۳-۳ ایجاد شرایط بهینه در تکنیک PCR	۶۲
۱-۱-۳-۳ بهینه سازی دمای اتصال	۶۲
۱-۳-۳- بهینه سازی غلظت $MgCl_2$	۶۳
۲-۳-۳ هضم آنزیمی محصول PCR	۶۶
۳-۳-۳ بررسی نتایج RFLP-PCR و عملکرد هضم آنزیمی پلی مورفیسم T/C در جایگاه m_1 ژن CYP1A1	
توسط نرم‌افزار Image J	۶۸
۴-۳ آنالیزهای آماری	۷۰
۱-۴-۳ تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم T/C ژن CYP1A1 در افراد کنترل و بیمار	۷۰
۲-۴-۳ مقایسه درصد فراوانی آلل در جمعیت بیمار و کنترل	۷۱
۲-۱-۴-۳ مقایسه حالات مختلف ژنوتیپی در افراد کنترل و بیمار	۷۲
۵-۳ طرح و کلیات آنالیزهای آماری	۷۳
۱-۵-۳ کلیات آنالیزهای پلی مورفیسم T/C	۷۳
۲-۵-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C در جایگاه m_1 با ریسک ابتلا به سرطان ریه	۷۴
۳-۵-۳ مقایسه حالات مختلف ژنوتیپی پلی مورفیسم T/C (m_1) در مردان بیمار در مقایسه با زنان بیمار مبتلا به سرطان ریه	۷۵

۴-۵-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C در جایگاه m۱ با ریسک ابتلا به سرطان ریه در بین گروه‌های جنسی در مقایسه با گروه کنترل.....	۷۷
۱-۴-۵-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C در جایگاه m۱ با ریسک ابتلا به سرطان ریه در مردان بیمار.....	۷۷
۲-۴-۵-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C در جایگاه m۱ با ریسک ابتلا به سرطان ریه در زنان بیمار.....	۷۸
۵-۵-۳ مقایسه فراوانی افراد سیگاری بین دو گروه بیمار و کنترل.....	۷۸
۶-۵-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C در جایگاه m۱ با ریسک ابتلا به سرطان ریه در بین افراد بیمار سیگاری و غیر سیگاری.....	۷۹
۷-۵-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C در جایگاه m۱ با ریسک ابتلا به سرطان ریه در بین گروه‌های سنی.....	۸۰

فصل چهارم: نتایج و بحث

۱-۴ بحث.....	۸۲
۲-۴ ارتباط فراوانی پلی مورفیسم T/C در جایگاه‌های m۱ و m۳ ژن <i>CYP1A1</i> با سرطان ریه.....	۸۶
۳-۴ ارتباط فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم T/C در جایگاه m۱ ژن <i>CYP1A1</i> با گروه‌های جنسی.....	۸۷
۴-۴ ارتباط فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم T/C جایگاه m۱ ژن <i>CYP1A1</i> با سرطان ریه همراه با بررسی اثر فاکتور سیگار.....	۸۸
۵-۴ ارتباط پلی مورفیسم T/C در جایگاه m۱ با ریسک ابتلا به سرطان ریه بین گروه‌های سنی.....	۸۹
۶-۴ نتیجه گیری کلی و پیشنهادات برای مطالعات آینده.....	۸۹
پیوست ها.....	۹۱
منابع و ماخذ.....	۹۲

فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱ ایجاد ژنهای تخصصی تر XME در گونه‌های مختلف توسط اثر موتاسیون‌ها بر روی ژن مادر	۴.....
شکل ۱-۱ طرحی از واکنش‌های فاز I و II و تولید محصولات هیدروفیل از ترکیبات چربی‌دوست	۷.....
شکل ۱-۳ طرحی شماتیک از پروتئین‌های MRP	۹.....
شکل ۱-۴ نمایش درخت فیلوژنتیکی سیتوکروم P450	۱۷.....
شکل ۱-۵ پتانسیل اکسیداسیون احیای اجزای مختلف در سیستم سیتوکروم P450	۲۰.....
شکل ۱-۶ ساختمان تیپیک جایگاه فعال در آنزیم‌های سیتوکروم P450	۲۱.....
شکل ۱-۷ ساختمان تیپیک جایگاه فعال در آنزیم‌های سیتوکروم P450	۲۲.....
شکل ۱-۸ گیرنده سیتوزولی Ahr ، واسطه فعال‌سازی ژن آنزیم‌های متابولیسم کننده در فاز I و II	۲۹.....
شکل ۱-۹ - فعال‌سازی متابولیکی بنزو-a-پیرن توسط CYP1A1	۳۵.....
شکل ۱-۱۰ مکانیسم مولکولی سرطان‌زایی ۱ بنزو-a-پیرن	۳۶.....
شکل ۱-۲ شناساگر DNA	۴۸.....
شکل ۲-۲ حالت‌های مختلف مورد انتظار پس از برش آنزیمی در دو جایگاه پلی‌مورفیسم بر روی یک توالی	محصول PCR
	۵۴.....
شکل ۲-۳ جایگاه شناسایی آنزیم و قطعات ایجاد شده	۵۵.....
شکل ۱-۳ ژل الکتروفورز تعدادی از نمونه‌های DNA ژنومی تخلیص شده	۶۱.....
شکل ۲-۳ بهینه‌سازی محصولات PCR از نظر دمای اتصال	۶۴.....
شکل ۳-۳ بهینه‌سازی محصولات PCR از نظر غلظت MgCl ₂	۶۵.....
شکل ۴-۳ PCR سایر نمونه‌ها با شرایط بهینه	۶۶.....
شکل ۵-۳ RFLP-PCR جهت بررسی پلی‌مورفیسم T/C در دو آلل m _۱ و m _۳	۶۷.....
شکل ۶-۳ بارگذاری تعدادی از نمونه‌های بیمار	۶۸.....
شکل ۷-۳ بررسی و مقایسه شدت باند های تشکیل شده روی ژل آگارز توسط نرم افزار ImageJ	۶۹.....
شکل ۱-۴ نمایش عناصر تنظیمی پس از نسخه‌برداری در نواحی mRNA - UTR یوکاریوتی	۸۳.....

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
نمودار ۱-۳ نمودار درصد فراوانی آللی پلی مورفیسم T/C (m) ژن <i>CYP1A1</i> در افراد کنترل و بیمار. ۷۲	
نمودار ۲-۳ نمودار درصد فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم T/C ژن <i>CYP1A1</i> در افراد کنترل و بیمار ... ۷۳	
نمودار ۳-۳ نمودار درصد فراوانی حالات مختلف ژنوتیپی در زنان بیمار و مردان بیمار..... ۷۵	

فهرست جدولها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱ فراوانی افراد در هر کدام از انواع سرطان ریه.....	۱۳
جدول ۲-۱ شاخص TNM در مراحل مختلف سرطان ریه.....	۱۴
جدول ۱-۲ فهرست مواد مورد استفاده و شرکت هایی که اجناس مورد نظر از آنها تهیه گردید.....	۳۸
جدول ۲-۲ فهرست وسایل و دستگاه های مورد استفاده در مطالعه حاضر.....	۴۰
جدول ۳-۲ ترکیبات لازم برای ساخت بافر TBE 10X.....	۴۳
جدول ۴-۲ ترکیب بافر A.....	۴۶
جدول ۵-۲ ترکیب بافر B.....	۴۶
جدول ۶-۲ توالی پرایمرها و ویژگی آن ها.....	۵۰
جدول ۷-۲ مواد و میزان بهینه شده جهت انجام PCR.....	۵۱
جدول ۸-۲ برنامه بهینه شده PCR.....	۵۲
جدول ۹-۲ مواد مورد نیاز برای هضم آنزیمی DNA تکثیر یافته جهت بررسی دو پلی مورفیسم m۱ و m۲.....	۵۳
جدول ۱-۳ غلظت ترکیبات موجود در محلول PCR جهت بررسی شرایط بهینه دمایی توسط ژل الکتروفورز.....	۶۳
جدول ۲-۳ فراوانی آلی و ژنوتیپی پلی مورفیسم T/C (m۱) در افراد بیمار و کنترل.....	۷۲
جدول ۳-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C (m۱) با خطر ابتلا به سرطان ریه.....	۷۴
جدول ۴-۳ فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم T/C (m۱) در مردان و زنان بیمار.....	۷۵

- جدول ۳-۵ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C (m1) با ریسک ابتلا به سرطان ریه در زنان و مردان بیمار. ۷۶
- جدول ۳-۶ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C (m1) با ریسک ابتلا به سرطان ریه در مردان بیمار..... ۷۷
- جدول ۳-۷ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C (m1) با ریسک ابتلا به سرطان ریه در زنان بیمار..... ۷۸
- جدول ۳-۸ درصد فراوانی افراد سیگاری و غیر سیگاری در گروه های کنترل و بیمار ۷۹
- جدول ۳-۹ مقایسه حالات مختلف ژنوتیپی پلی مورفیسم m1 و آنالیز ارتباط آن ها با ریسک ابتلا به سرطان ریه در بیماران سیگاری و غیرسیگاری..... ۷۹
- جدول ۳-۱۰ درصد فراوانی حالات مختلف ژنوتیپی در بیماران بالای ۶۰ سال و بیماران زیر ۶۰ سال . ۸۰
- جدول ۳-۱۱ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C در آلل m1 با ریسک ابتلا به سرطان ریه در بین گروه های سنی ۶۰ و بالای ۶۰ در مقایسه با افراد زیر ۶۰ سال ۸۱

فصل اول

مقدمه و مروری بر منابع

۱-۱ مقدمه

زنوبیوتیک یک کلمه عمومی است که معمولاً به یک ماده با منشأ خارجی^۱ که وارد بدن می‌گردد اطلاق می‌گردد (Gonzalez و Nebert ۱۹۹۰). زنوبیوتیک به طور معمول در بدن وجود ندارد و تولید نمی‌شود ولی در موارد غلظت‌های بالاتر از حد معمول یک ماده طبیعی با منشأ درونی^۲ در بدن نیز به کار برده می‌شود. داروها، به خصوص آنتی بیوتیک‌ها در انسان زنوبیوتیک هستند چون بدن انسان خود قادر به تولید آن نمی‌باشد و همچنین بخشی از رژیم غذایی معمول نیز به شمار نمی‌روند (Brodie و همکاران ۲۰۰۲).

زنوبیوتیک‌ها در بدن موجودات زنده، فعالانه بوسیله واکنش‌های آنزیمی متابولیسم می‌شوند. این آنزیم‌ها در مجموع آنزیم‌های متابولیسم کننده زنوبیوتیک^۳ (XMEs) نامیده می‌شوند (Gonzalez و Nebert ۱۹۸۷).

یکی از قدیمی‌ترین خانواده‌های XME، سیتوکروم P450 (CYP) می‌باشد که احتمالاً منشأ پیدایش اولیه آن به ۲/۵ بیلیون سال پیش در موجودات اولیه بر می‌گردد. اما به نظر می‌رسد ایجاد تنوع در آن دسته از آنزیم‌های P450 که مسئول متابولیسم زنوبیوتیک‌ها هستند، به ۵۰۰-۴۰۰ میلیون سال پیش مربوط می‌شود (Gonzalez

¹ Exogenous

² Endogenous

³ Xenobiotic metabolizing enzymes

(۱۹۹۲). دانشمندان بر این باور هستند که در آن زمان، تنوع در آنزیم‌ها به دلیل نیاز به متابولیسم و سم‌زدایی ترکیبات شیمیائی گوناگون موجود در گیاهان و به شرح زیر بوجود آمده است:

در طی تکامل، جانوران از آب به خشکی مهاجرت کرده و همزمان با آن به استفاده از گیاهان به عنوان رژیم غذایی پرداختند. در نتیجه گیاهان برای محافظت از خود سموم گیاهی را تولید کردند. این سموم گیاهی راهی برای مقابله و دفع حیوانات به عنوان یک دشمن به شمار می‌آمد. در حیوانات سازگاری جالبی با این سموم بوجود آمد که از طریق پیدایش یک سیستم شامل آنزیم‌های مختلف CYP برای متابولیسم انواع سموم گیاهی بود. در طی تکامل ژن‌های CYP به خانواده‌ها و زیر خانواده‌های زیادی تقسیم شده‌اند که این امر به نوبه خود به دلیل تنوع زیاد در سموم موجود در رژیم غذایی و محیط اطراف جانوران بوده است (Gonzalez و Nebert ۱۹۹۰، Gonzalez و Gelboin ۱۹۹۴).

امروزه خانواده‌های ویژه‌ای از XME در حیوانات، گیاهان و باکتری‌ها یافت شده است. تحت فشار انتخاب طبیعی و با ایجاد و تجمع انواع موتاسیون‌ها، حذف شدگی‌ها، مضاعف شدگی‌ها و دیگر تغییرات، خانواده‌های CYP، تنوعات قابل توجهی را در بین گونه‌ها و حتی بین افراد یک گونه به دست آوردند. به طور مثال حدود ۴۰ درصد از ژن‌های CYP انسانی به صورت پلی‌مورفیک تشخیص داده شده‌اند (Ingelman-Sundberg ۱۹۹۹).

آنزیم‌های CYP، ذرات با منشأ درونی و خارجی قابل حل در چربی را متابولیسم کرده و به متابولیت‌های غیر فعال تبدیل می‌کنند (سم‌زدایی^۱)، در عین حال در بعضی موارد محصولات فعال نیز تشکیل می‌شوند (Kalow و همکاران ۱۹۹۹ a). همچنین اغلب ترکیبات دارویی بوسیله آنزیم‌های CYP متابولیسم می‌شوند که این مطلب، خود سبب گشوده شدن دریچه جدیدی از تحقیقات در زمینه ژنتیک دارویی شده است که در این زمینه بر روی وجود، عملکرد و پی‌آمد پلی‌مورفیسم‌های موجود در آنزیم‌های متابولیسم‌کننده زئوبیوتیک‌ها تمرکز شده است (Kalow و همکاران ۱۹۹۹ b). وجود تنوعات ژنتیکی بین فردی می‌تواند در مبحث اثر دارو بر ساختمان موجودات زنده^۲ مؤثر و بحث برانگیز باشد (Boddy و Ratain ۱۹۹۷).

خانواده آنزیمی CYP بسیار پلی‌مورفیک می‌باشد و زمینه مطالعه بسیاری از محققین قرار گرفته است. در این میان CYP1A1 و CYP2D6 دارای جایگاه ویژه‌ای در مطالعات می‌باشند و پلی‌مورفیسم‌های ژنی متعددی

¹ . Detoxification

² Pharmacodynamics

برای آن‌ها شناسایی شده که تأثیر این پلی‌مورفیسم‌ها بر روی فعالیت آنزیمی و اهمیت آن‌ها در دارو درمانی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (Meyer و همکاران ۱۹۹۷ و Kalow ۱۹۹۷).

از آنجایی که اهمیت و نقش آنزیم‌های CYP در سم‌زدائی و فعالیت متابولیکی تعداد زیادی از ترکیبات شیمیایی خارجی ثابت شده است، این فرضیه منطقی به نظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم‌های آنزیم‌های CYP توسط تنوع در سم‌زدایی در مکانیسم سرطان‌زایی مواد شیمیایی^۱ و به خصوص سرطان ریه در ارتباط باشند (Raunio و Pelkonen ۱۹۹۵).

تحقیقات نشان داده است که سرطان ریه عمدتاً در اثر استعمال سیگار ایجاد می‌شود. سیگار حاوی کارسینوژن‌هایی مانند PAH^۲ و NNK^۳ است که بوسیله آنزیم‌های CYP فعال می‌شوند (Gonzalez ۱۹۹۷ و Hecht ۱۹۹۸). سطح بیان و فعالیت‌های کاتالیتیکی سیتوکروم P450 در ریه و تعادل متابولیکی آن می‌تواند به عنوان یک فاکتور مهم تعیین کننده و اساسی در سرطان ریه عمل کند (London و همکاران ۱۹۹۵، Hung و همکاران ۲۰۰۳ و Alexandrov و همکاران ۲۰۰۲).

از این رو در تحقیق حاضر بر روی ژن *CYP1A1* و تأثیر پلی‌مورفیسم‌های آن بر روی احتمال ابتلا به سرطان ریه تمرکز شده است. این ژن دارای پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی متعددی می‌باشد که برخی از آن‌ها به جهت تأثیر بر روی میزان فعالیت کاتالیتیکی آنزیم از درجه اهمیت بیشتری برخوردارند (Kwajiri و همکاران ۱۹۹۰، Hayashi و همکاران ۱۹۹۱ و Tefre و همکاران ۱۹۹۱).

فرکانس آلل‌های پلی‌مورف در جمعیت‌های مختلف بررسی گردیده که به دلیل اختلافات نژادی، متفاوت گزارش شده است. به عنوان مثال آلل‌های m1 و m2 در میان آسیایی‌ها در مقایسه با جمعیت‌های آمریکائی - آفریقایی و افراد سفید پوست، فرکانس بالاتری داشته و اهمیت بیشتری دارند (Garte و همکاران ۱۹۹۸).

۱-۲ آنزیم‌های متابولیسم کننده زنبویوتیک (XMEs)

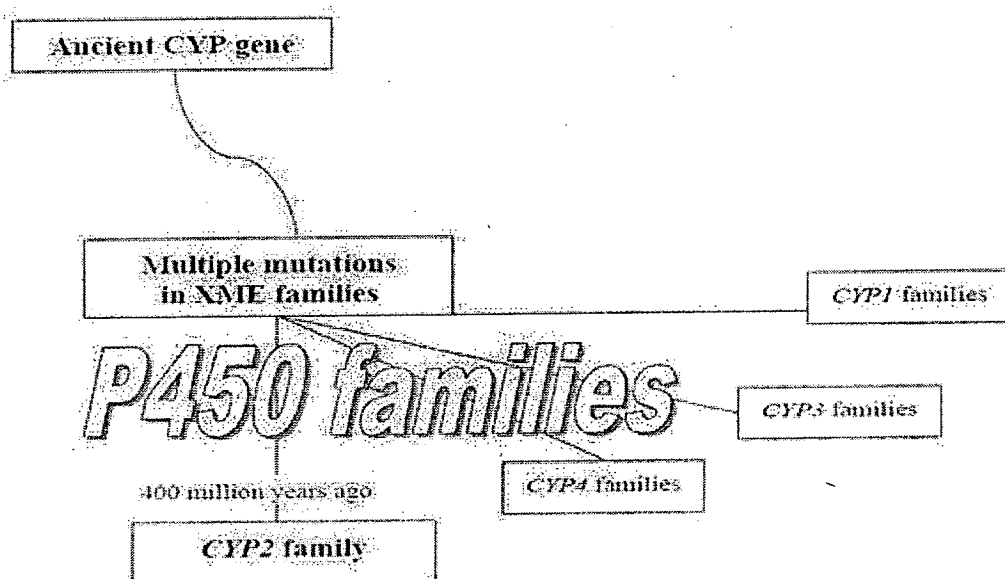
آنزیم‌های متابولیسم کننده زنبویوتیک در تمام موجودات یافت می‌شوند که حتی شامل میکروارگانیزم‌های بسیار ابتدایی و باکتری‌های حقیقی نیز می‌شوند (Gonzalez و Nebert ۱۹۸۷). همانطور که اشاره گردید خانواده‌های XME در حیوانات، به تدریج برای سازگاری با انواع سموم دستخوش تنوع و تغییرات زیادی شدند

¹ Chemical carcinogenesis

² polycyclic aromatic hydrocarbon

³ Nicotine-derived nitrosamine ketone (NNK), or 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)butanone

و به دنبال آن در نتیجه فشار انتخاب طبیعی ژنهای تخصصی تر XME در گونه‌های مختلف نمایان شدند (شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱- ایجاد ژنهای تخصصی تر XME در گونه‌های مختلف توسط اثر موتاسیون‌ها بر روی ژن مادر؛ سیتوکروم P450 (بعنوان مهمترین دسته از XMEها) (Yang و Hong ۱۹۹۷).

در نتیجه این انتخاب و ایجاد تنوع مداوم، در موجودات پیچیده و پیشرفته تر مانند انسان، تقریباً هر ترکیبی بوسیله یک یا تعداد بیشتری از XMEها متابولیسیم می‌شوند (Negishi و همکاران ۱۹۹۶).

در انسان بیش از ۲۰ خانواده XME یافت شده است که در مقایسه با دیگر گونه‌ها واجد بیشترین تعداد است (Nelson و همکاران ۱۹۹۳ و Nebert و همکاران ۲۰۰۰).

عملکرد اصلی XMEها متابولیسیم تعداد زیادی از ترکیبات با منشأ درونی و خارجی است. این ترکیبات از انواع بسیار آبدوست تا شدیداً چربی دوست متغیر می‌باشند. XMEها در بیوترانسفورماسیون^۱ عناصر با منشأ خارجی

^۱ Biotransformation

مانند محلول‌ها، پروکارسینوژن‌ها^۱ و داروها و همچنین در سنتز و تجزیه^۲ چندین هورمون استروئیدی و ترکیبات کوچک مولکول با منشأ درونی شرکت دارند (Guengerich و Shimada ۱۹۹۱ و Lewis ۲۰۰۰). متابولیسم مواد معمولاً منجر به غیر فعال شدن ترکیبات اولیه می‌شود، اما گاهی اوقات متابولیت‌های ایجاد شده، نسبت به ترکیبات اولیه خود سمیت بیشتری دارند (فعال سازی متابولیکی^۳) (Nebert ۱۹۹۷). متابولیسم زئوبیوتیک‌ها اغلب در سه فاز رخ می‌دهد (Guengerich ۲۰۰۱ و Nebert و همکاران ۲۰۰۰ و Nelson و همکاران ۲۰۰۳ و Schlichting و همکاران ۲۰۰۰):

فاز I: واکنش‌های عملکردی^۴

فاز II: واکنش‌های همزمان^۵

فاز III: تغییر و ترشح بیشتر

۱-۲-۱ مواد شیمیایی با منشأ درونی و بیرونی

ترکیبات با منشأ داخلی عبارتند از (Gonzalez و Nebert ۱۹۹۰، Gonzalez ۱۹۹۲ و Strecker و Wolf ۱۹۹۲ و Nelson و همکاران ۱۹۹۶):

- استروئیدها که در عملکردهای متفاوتی از لقاح گرفته تا تولید انسولین شرکت دارند.

- پروستاگلندین‌ها^۶

- اسیدهای صفراوی

ترکیبات با منشأ خارجی توسط استنشاق، بلعیدن و یا از طریق پوست به درون بدن نفوذ می‌کنند. این ترکیبات شامل سموم گوناگون، کارسینوژنهای متعدد و مواد جهش‌زا مانند رادون در محیط‌های بسته و عوامل مربوط به محیط شغلی مانند آزبست^۷ و ترکیبات PAH در محیط اطراف و ... می‌باشند (Ruano-Ravina و همکاران ۲۰۰۳).

¹ Procarcinogens

² Degradation

³ Metabolic activation

⁴ Functionalisation reactions

⁵ Conjugation reactions

⁶ Prostaglandins

⁷ Asbestos