

# بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم در ژن CYP3A5 با سرطان مثانه در شهر تهران

مصطفی بختیاری طبر<sup>۱</sup>، خدیجه عنصری<sup>۲</sup>، پژمان شادپور<sup>۳</sup>، محمد ظفرمند<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، پرند، ایران، <sup>۲</sup>گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، پرند، ایران، <sup>۳</sup>گروه ارولوژی مرکز فوق تخصصی شهید هاشمی نژاد، مرکز تحقیقات مدیریت بیمارستان، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۰

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۲/۶

## چکیده

**زمینه و هدف:** آنزیم CYP3A باعث تبدیل تعداد بسیار زیادی از زنبیوتیک‌ها شامل داروها و کارسینوژن‌ها به مواد غیر سمی می‌گردد. CYP3A5 مهم‌ترین آنزیم کبدی است که در ریه، معده و کلیه‌ها نیز یافت می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی تغییر نوکلئوتیدی A به G در ژن CYP3A5 و نقش این نوع پلی‌مورفیسم در بیماران مبتلا به سرطان مثانه مراجعه کننده به مرکز درمانی بین سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۹۲ بود.

**روش بررسی:** این مطالعه مورد-شاهد، روی ۱۱۳ بیمار مبتلا به سرطان مثانه و همان تعداد افراد سالم در شرایط سنی یکسان، مراجعه کننده به بیمارستان هاشمی‌نژاد صورت گرفت. ابتدا با روش مولکولی PCR ژن CYP3A5 تکثیر یافت و سپس برش آنزیمی به وسیله آنزیم محدودالتر Ssp I صورت گرفت. سپس قطعات حاصله بر روی ژل آگارز مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون رگرسیون لجستیک مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

**یافته‌ها:** شیوع آلل موتانت CYP3A5\*3 در افراد کنترل و بیمار، نسبت به آلل وحشی CYP3A5\*1 بیشتر بود، به طوری که فراوانی این آلل در گروه کنترل (۷۵/۲ درصد) و بیمار (۷۹/۶ درصد) بسیار بیشتر از آلل وحشی بود که حاکی از آن است که شیوع این آلل موتانت در بین جمعیت مورد مطالعه بالا می‌باشد ( $p = ۰/۶۲$ ,  $CI = ۰/۹۷ - ۳/۴۶$ ,  $OR = ۱/۸۳$ ). همچنین فراوانی آلل وحشی و جهش یافته در بین زنان بیشتر از مردان مشاهده شده است. رابطه معنی‌داری بین هیچ یک از ژنوتیپ‌ها با مرحله و درجه بیماری مشاهده نشد ( $p > ۰/۰۵$ ).

**نتیجه‌گیری:** ارتباط معنی‌داری بین آلل موتانت ژن CYP3A5 با خطر ابتلا به سرطان مثانه در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشد.

**واژه‌های کلیدی:** ژن CYP3A5، پلی‌مورفیسم، سرطان مثانه، هضم آنزیمی.

\* نویسنده مسئول: خدیجه عنصری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، پرند، ایران.

Email: onsoy@gmail.com

## مقدمه

سرطان مثانه دومین سرطان شایع دستگاه ادراری- تناسلی و ۹۰ درصد کلیه تومورهای سرطانی را تشکیل می‌دهد (۱). این نوع سرطان چهارمین سرطان خطرناک در آقایان و دهمین سرطان در خانم‌ها در دنیای غرب محسوب می‌شود (۲). خطر ابتلا به سرطان مثانه در آقایان بیشتر است (۳). دلیل این فزونی نه تنها به خاطر مصرف سیگار و آلودگی‌های صنعتی محیط کار، بلکه فاکتورهای خطرناک دیگری نیز می‌باشد که در ایجاد این بیماری دخیل می‌باشند (۴). تحقیقات به خوبی نشان داده شده است که علاوه بر فاکتورهای فیزیولوژیکی و عوامل محیطی، آنزیم‌های متابولیزه کننده داروها نیز تأثیر بسزایی در ایجاد سرطان مثانه دارند. ژن‌های مهم کدکننده این آنزیم‌ها، نقش مهمی در دفع مواد ناشی از متابولیت‌های داروها در کبد دارند، به همین دلیل هر گونه تغییر در توالی این ژن‌ها، به عنوان یک عامل مهم در روند ایجاد سرطان در افراد مستعد تلقی می‌شود. ژن‌های کدکننده‌ی خانواده CYP شامل؛ آنزیم‌های متابولیزه کننده‌ی زنبیوتیک‌ها، هورمون‌های استروئیدی، ویتامین‌ها و هورمون‌های جنسی می‌باشد (۵-۷). آنزیم‌های Cytochrome P450 انسانی نقش مهمی در متابولیسم داروها و مواد شیمیایی محیطی ایفا می‌کنند و هر گونه تغییر در ساختار این ژن‌ها مانع انجام عملکرد صحیح آنها شده و خطر ابتلا به انواع سرطان‌ها را افزایش می‌دهد. این ژن‌ها بسیار پلی مورفیک بوده و تغییر در یک نوکلئوتید (SNP) در آنها باعث تغییر در عملکرد آنزیم‌های مربوطه می‌گردد (۸). مطالعاتی که بر روی ژنهای درگیر در

متابولیسم داروها از جمله CYP3A5 انجام شده، نشان می‌دهد که پلی مورفیسم در این ژن خطر ابتلا به سرطان‌های پروستات، سینه، سر و گردن، کبد، ریه و معده را در افراد افزایش می‌دهد (۹). آنزیم CYP3A5 مهم‌ترین آنزیم کبدی بوده و بیش از ۵۰ درصد mRNAهای موجود در کبد را به خود اختصاص می‌دهد که در نتیجه پلی مورفیسم در ژن CYP3A5، خطر ابتلا افراد به سرطان را افزایش میدهد. وجود پلی مورفیسم در نوکلئوتید rs776746 که باعث تبدیل A به G در جایگاه ۶۹۸۶ (A6986G) این ژن می‌شود، باعث تبدیل آلل وحشی (CYP3A5\*1) به آلل موتانت (CYP3A5\*3) در اینترون ۳ میشود که با ایجاد یک جایگاه برش، mRNA حاصله ناپایدار گشته و سریعتر از mRNA حاصل از آلل وحشی تخریب و تجزیه می‌گردد. با ایجاد تغییر در چهارچوب خواندن این ژن در هنگام ترجمه، یک پروتئین غیرفعال تولید می‌گردد (۱۰). بدین ترتیب با ایجاد موتاسیون در ژن مربوطه، مواد سمی در بدن تجمع بافت‌ها و از طریق خون به بافت‌های بدن رفته و با ایجاد اختلال در فرایند عملکرد سلولها، باعث ایجاد سرطان می‌گردد (۱۱). هدف از انجام این تحقیق، بررسی ارتباط بین خطر ابتلا به سرطان مثانه در حاملین ژنوتیپ موتانت ژن CYP3A5 در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان هاشمی‌نژاد شهر تهران بود.

## روش بررسی

این مطالعه مورد- شاهد (Case-control)، ۱۱۳ بیمار مبتلا به سرطان مثانه پذیرش شده در بیمارستان هاشمی‌نژاد در بین سالهای ۹۱-۹۲ به

مدت ۲۴ ساعت در ۴- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و DNA حاصل نگهداری شد.

تکنیک PCR جهت تکثیر ژن مورد نظر با اضافه نمودن آب مقطر، dNTP با غلظت نهایی ۰/۲mM،  $MgCl_2$  با غلظت نهایی ۱/۵mM، بافر واکنش ۱۰X PCR پرایمرهای پیشرو و پیرو با غلظت نهایی ۱/۴pM، واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و یک میکرولیتر نمونه DNA بیمار صورت پذیرفت. توالی پرایمرهای اختصاصی ژن CYP3A5 عبارتند از

3'-CATCAGTTAGTAGACAGATG-F-5' و

3'-GGTCCAAACAGGGAAGAAATA-R-5'

مراحل PCR شامل دمای اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۵۴ درجه سانتی-گراد به عنوان دمای اتصال پرایمر به مدت ۶۰ ثانیه و سپس دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد جهت طویل سازی به مدت ۶۰ ثانیه بود. دمای نهایی طویل سازی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. سپس محصولات PCR ژن CYP3A5 به طول ۲۹۳ جفت باز به وسیله آنزیم محدودالتر (تاکارا، ژاپن) Ssp I در دمای ۳۷ درجه به مدت ۱ ساعت مورد برش آنزیمی قرار گرفت. محصول PCR نوع وحشی ژن CYP3A5 که به CYP3A5\*1 معروف می‌باشد، در اثر برش آنزیمی، قطعاتی به طول ۲۰، ۱۲۵ و ۱۴۸ جفت باز ایجاد میکند و از برش آنزیمی نوع موتانت این ژن یعنی آلل CYP3A5\*3، قطعاتی به طول ۱۲۵ و ۱۶۸ جفت باز حاصل می‌شود.

اطلاعات توسط نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای ارتباط بین ژنوتیپها و

همراه نمونه‌ی خونی که از ۱۱۳ فرد سالم به عنوان کنترل از بخش انتقال خون همان بیمارستان جمع-آوری شده بود مورد تحقیق قرار گرفتند. برای این منظور، بافت‌های تازه در لوله‌های حاوی آب مقطر و خون افراد سالم در لوله‌های محتوی EDTA به آزمایشگاه انتقال داده شدند. نوع موتاسیون و پلی‌مورفیسم مربوطه بررسی و با ۱۱۳ فرد سالم مورد مقایسه قرار گرفت. تمامی افراد شرکت کننده در این پژوهش فرمی را تحت عنوان رضایت نامه امضاء کردند.

استخراج DNA از نمونه‌ها به وسیله روش فنل-کلروفرم صورت گرفت. بدین ترتیب که به قطعه نازکی از بافت ۵۰۰ میکرو لیتر از بافر TE اضافه و هموژنایز شد. برای استخراج DNA به ۵۰۰ میکرولیتر از خون، بافر لیز کننده گلبول قرمز اضافه شد. با عمل پیپتاژ گلبول‌های قرمز لیز شدند. پس از سانتریفیوژ به مدت ۲ دقیقه با دور ۷۰۰۰ دور در دقیقه، محتویات میکروتیوپ خالی شد و ۴۰۰ میکرولیتر بافر لیز کننده غشا هسته اضافه گردید. بعد از پیپتاژ رسوب با بافر حل شد و غشا هسته لیز و DNA خارج گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر NaCl اشباع و ۶۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آن اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه با دور ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. دو فاز تشکیل شد که مایع رویی که حاوی DNA بود به میکروتیوپ تمیز انتقال داده شد و به آن ۸۰۰ میکرولیتر اتانول مطلق سرد اضافه و پیپتاژ شد. یک دقیقه با ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ کرده شد و مایع رویی دور ریخته شد. سپس ۵۰ میکرولیتر بافر TE به آن اضافه شد و به

(Grade I) یا به صورت Well differentiated (به خوبی تمایز یافته) بودند و ۳۹ درصد به صورت Poor differentiated (تمایز یافته ضعیف) و یا در درجه سوم (Grade III) بیماری قرار داشتند. بیشترین مبتلایان دارای درجه اول (Grade I) بیماری در سن ۶۱ تا ۷۰ سالگی زندگی خود بودند، در حالی که افراد ۷۱ تا ۸۰ سال بیشترین تعداد بیمارانی بودند که دارای درجه سوم (Grade III) بیماری بودند.

آنالیز PCR-RFLP این ژن بر روی ۱۱۳ فرد مبتلا به سرطان مثانه و ۱۱۳ فرد سالم نشان داد که تعداد مبتلایان به سرطان مثانه حامل آلل ژن CYP3A5 (۶/۷۹ درصد) در مقایسه با افراد کنترل (۲/۷۵ درصد) بیشتر است. ولی ارتباط مستقیم و معنی داری بین خطر ابتلا به سرطان مثانه در حاملین ژنوتیپ CYP3A5\*3 مشاهده نشده است (OR=1.28, 95%CI: 0.68-2.41, P=0.42) (جدول ۲). در این مطالعه هیچ مورد هتروزیگوتی مشاهده نشده است. همچنین ارتباط معنی داری بین درجه Grade و مرحله Stage بیماری با پلی مورفیسم مورد مطالعه در این جمعیت سرطانی گزارش نشده است ( $p > 0.05$ ).

سرطان مثانه، OR (Odds Ratio) و CI (Confidence Interval) مورد محاسبه قرار گرفتند.  $p < 0.05$  به عنوان مشخصه ارتباط مثبت بین ژنوتیپها با سرطان مثانه در نظر گرفته شد.

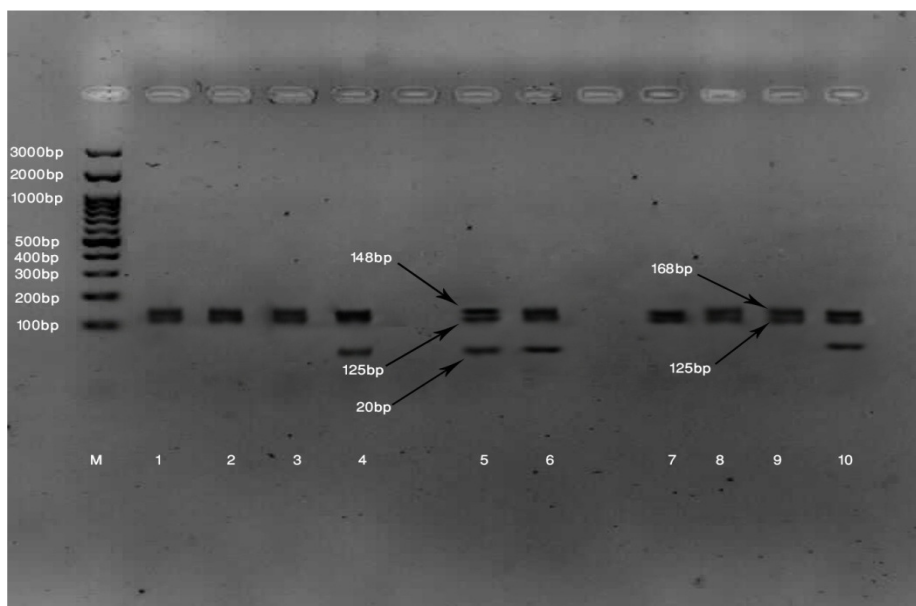
## یافته‌ها

میانگین سنی و انحراف معیار در بیماران (۴۸/۲±۹/۷۳) و در افراد کنترل (۴۹/۱±۱/۴۹) می‌باشد. محدوده سنی در بیماران بین ۳۰ تا ۷۱ سال و در بین گروه کنترل بین ۳۰ تا ۸۵ بوده است. بیشترین مبتلایان به سرطان مثانه در گروه بیماران را مردان و در گروه کنترل را زنان به خود اختصاص داده‌اند. بیشترین (۶/۴۸ درصد) مبتلایان به سرطان مثانه در مرحله دوم (Stage II) بیماری قرار داشتند. بیشترین مبتلایان که در مرحله اول و دوم (Stage I و II) بیماری قرار داشتند در سن ۷۱ تا ۸۰ سالگی زندگی خود بودند. همچنین افراد ۶۱ تا ۷۰ سال بیشترین تعداد بیمارانی بودند که در مرحله سوم (Stage III) بیماری به سر می‌بردند. بیشترین تعداد مبتلایان (۵۹ درصد) دارای درجه یک

جدول ۱: اطلاعات مربوط به بیماران و افراد سالم جهت بررسی پلی مورفیسم ژن CYP3A5

متغیرها	بیماران (درصد)	کنترل (درصد)
سن (سال)	۳۰-۷۱	۳۰-۸۵
Mean (±SD)	۴۸/۲۲ (±۹/۷۳)	۶۴/۳ (±۱۰/۴۹)
جنس		
مرد	۹۷ (۸۵/۸)	۵۱ (۴۵/۱)
زن	۱۶ (۱۴/۱)	۶۲ (۵۴/۸)
مرحله		
۱	۳۶ (۳۱/۸)	
۲	۵۵ (۴۸/۶)	
۳	۲۲ (۱۹/۴)	
درجه*		
Well differentiated	۶۷ (۵۹/۳)	
Moderate Differentiated	۱ (۹/۰)	
Poor Differentiated	۴۵ (۳۹/۸)	

\*Well and moderate differentiated (low grade; <7) and poor differentiated (high grade; ≥7).



تصویر ۱: آنالیز ژن RFLP ژن CYP3A5. M به عنوان مارکر (۱۰۰ جفت بازی)، ردیف ۱-۳

و ۷-۹ آلل موتانت (۱۶۸ و ۱۲۵ جفت بازی)، ردیف ۴-۶ و ۱۰ آلل وحشی

(۱۲۵ و ۱۴۸ و ۲۰ جفت بازی).

جدول ۲: توزیع آلل ها بین افراد بیمار و کنترل

ژنوتیپ	بیماران (درصد)	کنترل (درصد)	<sup>a</sup> OR (95% CI)	سطح معنی داری
CYP3A5*1	۲۳ (۲۰/۳)	۲۸ (۲۴/۷)	۱/۰۰	
CYP3A5*3	۹۰ (۷۹/۹)	۸۵ (۷۵/۲)	۱/۲۸(۰/۸۶-۲/۴۱)	۰/۴۲

<sup>a</sup>OR, odds ratio; CI, Confidence Interval.

### بحث

نامیده می‌شود، به طوری که حداکثر مبتلایان در دهه هفتم زندگی خود به سر می‌برند(۱۳). لوکوس CYP3A دارای چهار ژن مهم به نام‌های CYP3A4، CYP3A5، CYP3A7 و CYP3A43 می‌باشد که هر ژن شامل ۱۳ اگزون بوده و بر روی کروموزوم 7q21-22.1 قرار دارند (۱۴). آنزیمهای CYP450 قادر به

سرطان مثانه یکی از مهم‌ترین سرطان‌های شایع در جهان غرب محسوب می‌گردد(۱۲). شیوع سرطان مثانه در مردان سه برابر زنان است. در ۸۰ درصد موارد این نوع سرطان در افراد با سنین ۵۰-۷۹ سال مشاهده شده است و بیماری افراد میانسال

عوامل محیطی بر روی میزان بیان ژن مورد بررسی قرار گرفت. بدین ترتیب که اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های متابولیزه کننده داروها در بیماری‌زایی سرطان مثانه می‌تواند به عنوان شاخصی برای تشخیص روند و پیشروی این نوع سرطان مورد استفاده قرار گیرد (۱۷). با تحقیق‌هایی که فیگروا بر روی ژن‌های متابولیزه کننده‌ی داروها انجام داد نشان داد که تغییر در این گونه ژن‌ها باعث افزایش خطر ابتلا به سرطان مثانه می‌گردد (۱۹). نتایج حاصله از ارتباط بین پلی‌مورفیسم در ژن CYP3A5 و خطر ابتلا به سرطان مثانه نشان می‌دهد که افراد دارای آلل 3\* ژن CYP3A5، گرایش به افزایش خطر ابتلا به سرطان مثانه را نشان ندادند. در سال ۲۰۰۱، کوئل و همکاران گزارش دادند که بیان ژن CYP3A5 در کبد ۵۰ درصد از افراد مورد مطالعه آمریکایی-آفریقایی وجود داشت در حالی که فقط یک سوم این آنزیم در کبد قفقازی‌ها اندازه‌گیری شده است (۲۰). گوتز و همکاران کوشیدند تا به نقش وجود آلل CYP3A5\*3 در بیماران حامل این ژنوتیپ پی ببرند، ولی آنها رابطه مستقیمی بین خطر ابتلا به سرطان و وجود این آلل پیدا نکردند (۲۱). در ادامه بررسی این رابطه، توکر و همکاران در بیماران به رابطه مستقیمی بین این آلل و ابتلا افراد به سرطان سینه پی بردند (۱۰). در حالی که در مطالعه‌های انجام شده به وسیله جین نشان داده شد که با وجود حداقل یک آلل CYP3A5\*1، مقدار این آنزیم در پلاسما بیشتر بوده و افراد در خطر ابتلای کمتری به سرطان سینه قرار داشته‌اند (۲۲). به همین دلیل تعدادی از مطالعه‌ها

متابولیزم بیش از صد نوع متفاوت از مواد خارجی (Exogenous) و داخلی (Endogenous) می‌باشند (۱۵). مواد سمی به وسیله آنزیم‌های درگیر در فعالیت سم زدائی از بدن دفع می‌گردند. این در حالی است که آنزیم‌ها با غلظت مناسب تولید شده و در دفع سم حاصله از مواد فعالیت نمایند (۱۶). کارسینوژن‌ها منبع اصلی تولید اکسیژن و اکنش‌گر بوده که باعث آسیب به DNA و تخریب سیستم ایمنی و همچنین تخریب سیستم ترمیمی و آنزیم‌های متابولیکی نقاط کنترلی در چرخه سلولی می‌گردد. در صورت عدم فعالیت مناسب سیستم ترمیمی در بدن، تخریب حاصله از مواد خارجی و همچنین موتاژن‌های حاصل در سلول‌های داخل بدن باعث آسیب و تخریب ژنوم می‌گردد. تحقیقات نشان داده است که سطح پروتئین CYP3A5 در افراد حامل آلل CYP3A5\*1 سه برابر بیشتر از افراد دارای آلل CYP3A5\*3 می‌باشد. افرادی که دارای ژنوتیپ CYP3A5\*1 می‌باشند، میزان بالایی از این پروتئین را بیان می‌کنند، در حالی که وجود ژنوتیپ CYP3A5\*3، باعث ایجاد یک جایگاه برش و در نتیجه تولید یک پروتئین غیر عملکردی می‌شود (۱۰). تحقیقاتی که به روش ایمونوهیستوشیمی به وسیله موری انجام گرفته است، نشان می‌دهد که میزان بیان آنزیم کدکننده به وسیله ژن CYP3A، ۶۸ درصد بوده که نسبت به افراد سالم و همچنین دیگر ژن‌های مورد مطالعه بیشتر می‌باشد و این نشان‌دهنده افزایش فعالیت این ژن در سرطان مثانه می‌باشد (۱۷). در مطالعه دیگری که به وسیله برنچ و همکاران صورت گرفت تأثیر

نشان داد که ممکن است CYP3A5 نقش کوچکی در متابولیسم سوبسترهای سلولی داشته باشد (۲۶-۲۳). پلی مورفیسم در CYP3A5 و ایجاد ژنوتیپ CYP3A5\*3 در افراد مبتلا به سرطان خون در جمعیت چین نشان دهنده ارتباط مستقیم بین پلی مورفیسم در این ژن و ابتلا افراد به این بیماری می باشد (۲۷). در مطالعه های انجام شده دیگری، زنان قفقازی در مقایسه با زنان آمریکایی-آفریقایی، ۲۶ برابر بیشتر حامل این آلل بودند (۲۱). در حالی که در مطالعه ای که به وسیله وگمن بر روی زنان سوئدی مبتلا به سرطان سینه انجام گرفته ارتباط مستقیمی بین آلل \*1 این ژن و ابتلا افراد به سرطان سینه مشاهده شده است (۲۸). هم چنین مطالعه های انجام شده بر روی جمعیت آفریقایی جنوبی نیز نشان دهنده رابطه مستقیمی بین سرطان پروستات با این آلل می باشد (۲۹). این ارتباط بین پلی مورفیسم در ژن CYP3A5\*1 و افراد مورد مطالعه در آفریقایی جنوبی نیز گزارش شده است. در مطالعه ای که بر روی جمعیت شمال هندوستان صورت گرفته است، افراد از نظر فعالیت آنزیم وحشی CYP3A5، به دو دسته با فعالیت کم و فعالیت بالای این آنزیم گروه بندی شدند. گروه با فعالیت بالای آنزیم، بیشتر افراد حامل ژنوتیپ CYP3A5\*1 بودند، در حالی که بیشترین حاملین (۵۷ درصد) آلل CYP3A5\*3 در گروه فعالیت کم آنزیم قرار داشتند و تفاوت بین آلل نرمال و موتانت از نظر آماری نیز کاملاً قابل ملاحظه بود (۳۰). بنابراین، تغییرات پلی مورفیک در این ژن باعث تغییرات بین فردی در افراد مختلف جمعیت

می گردد. بررسی انجام شده در جمعیت مورد مطالعه نشان می دهد که فراوانی آلل موتانت CYP3A5 (۷۹/۸ درصد) می باشد که بسیار نزدیک به فراوانی این آلل در جمعیت های ژاپنی (۷۶/۸ درصد) و چینی (۷۷/۸ درصد) و کمتر از قفقازی های هلندی (۹۱/۷ درصد) و بیشتر (۴۷/۵ درصد) از آفریقایی-آمریکایی می باشد (۳۱). در مطالعه دیگری که بر روی جمعیت ایرانی صورت گرفت نیز نشان دهنده فراوانی بالای (۹۰ درصد) ژنوتیپ CYP3A5\*3 می باشد که به فراوانی آن در جمعیت چینی و ژاپنی (۷۰ درصد) بسیار نزدیک می باشد (۳۲). رابطه معنی داری بین خطر ابتلا به سرطان مثانه و ژنوتیپ CYP3A5\*3 در جمعیت ایرانی مورد مطالعه مشاهده نشده است و با مطالعاتی که به رابطه این آلل در مبتلایان به سرطان های کبد، معده و کلورکتال پرداختند همخوانی دارد (۳۱). در حالی که در یک مطالعه که بر روی مردان سفید مبتلا به سرطان پروستات صورت گرفت، نشان دهنده رابطه معنی داری بین وجود ژنوتیپ CYP3A5\*1 با این بیماری می باشد (۲۹). در مطالعه ای که گارسا و همکاران انجام دادند نشان داده شده است که فراوانی این آلل در بین اروپایی ها بسیار بالا (۹۴ درصد) و در بین جمعیت آفریقایی بسیار پایین می باشد (۳۳). هم چنین در مطالعه ای که بین ۲۷۹ کودک مبتلا به سرطان خون و وجود این پلی مورفیسم و خطر ابتلا به این بیماری انجام گرفت نیز رابطه معنی داری مشاهده نشده است (۱). نتایج نشان دهنده این است که فراوانی متفاوت ژنوتیپ CYP3A5\*3 در جمعیت های

مختلف و ارتباط آن با ابتلا به سرطان‌های مختلف بسیار پلی مورفیک می‌باشد. این اولین مطالعه در رابطه با ارتباط بین پلی مورفیسم در ژن CYP3A5 با سرطان مثانه است که بر روی جمعیت تهران صورت گرفته است. یکی از محدودیت‌های این تحقیق، حجم کم نمونه‌های مورد مطالعه بود. بنابراین، در مطالعه‌های بعدی نیاز به بررسی تأثیر این نوع پلی مورفیسم با این نوع سرطان و یا انواع سرطان‌ها با استفاده از تعداد نمونه‌های بیشتر ضروری به نظر می‌رسد.

#### نتیجه‌گیری

نتایج حاکی از آن است که پلی مورفیسم در این ناحیه از ژن رابطه معنی‌داری با خطر ابتلا افراد به سرطان مثانه در جمعیت مورد مطالعه نداشته است.

#### تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی (پایان نامه) که با حمایت مالی ستاد مرکزی باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان انجام گرفته است.



## REFERENCES

1. Van Schaik RH, Van der Heiden IP, Van den Anker JN, Lindemans J. CYP3A5 variant allele frequencies in Dutch Caucasians. *Clin Chem* 2002; 48: 1668-71.
2. Kirkali Z, Cham T, Manoharan M, Algaba F, Busch C, Cheng L, et al. Bladder cancer epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology* 2005; 66: 4-34.
3. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61(2): 69-90.
4. Sala M, Cordier S, Chang-Claude J, Donato F, Escolar A, Fernandez F, et al. Coffee consumption and bladder cancer in nonsmokers: a pooled analysis of case-control studies in European countries. *Cancer Causes Control* 2000; 11(10): 925-31.
5. Smith H, Stubbins MJ, Harries LW, Wolf CR. Molecular genetics of the human cytochrome P450 monooxygenase superfamily. *Xenobiotica* 1999; 28(12): 1129-65.
6. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Drug Deliv Rev* 2003; 54(10): 1271-94.
7. Finata C, Zaphiropoulos PG. The human cytochrome P450 3A locus. Gene evolution by capture of downstream exon. *Gene* 2001; 260(1-2): 13-23.
8. Guengerich FP. Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 1-17.
9. Agundez JA. Cytochrome P450 gene polymorphism and cancer. *Curr Drug Metab* 2004; 5(3): 211-24.
10. Tucker AN, Tkaczuk KA, Lewis LM, Tomic D, Lim CK, Flaws JA. Polymorphisms in cytochrome P4503A5 (CYP3A5) may be associated with race and tumor characteristics, but not metabolism and side effects of tamoxifen in breast cancer patients. *Cancer Lett* 2005; 217: 61-72.
11. Buetow KH, Edmonson MN, Cassidy AB. Reliable identification of large numbers of candidate SNPs from public EST data. *Nat Genet* 1999; 21: 323-5.
12. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29.
13. Linn JF, Sesterhenn I, Mostofi FK, Schoenberg M. The molecular characteristics of bladder cancer in young patients. *J Urol* 1998; 159(5): 1493-6.
14. Gellner K, Eiselt R, Hustert E, Arnold H, Koch I, Habrl M, et al. Genomic organization of the human CYP3A locus: identification of a new inducible CYP3A gene. *Pharmacogenetics* 2001; 11(2): 111-21.
15. Epe B. Role of endogenous oxidative DNA damage in carcinogenesis: what can we learn from repair-deficient mice?. *Biol Chem* 2002; 383: 467-75.
16. Brennan P, Bogillot O, Cordier S, Greiser E, Schill W, Vineis P, et al. Cigarette smoking and bladder cancer in men. A pooled analysis of 11 case-control studies. *Int J Cancer* 2000; 86(2): 289-94.
17. Murray GI, Taylor VE, McKay JA, Weaver RJ, Ewen SW, Melvin WT, et al. Expression of xenobiotic metabolizing enzymes in tumours of the urinary bladder. *Int J Exp Pathol* 1995; 76(4): 271-6.
18. Branch RA, Chern HD, Adedoyin A, Romkes-Sparks M, Lesnick TG, Persad R, et al. The procarcinogen hypothesis for bladder cancer: activities of individual drug metabolizing enzymes as risk factors. *Pharmacogenetics* 1995; Spec No: S97-102.
19. Figueroa JD, Malats N, Garcia-Closas M, Real FX, Silverman D, Kogevinas M, et al. Bladder cancer risk and genetic variation in AKR1C3 and other metabolizing genes. *Carcinogenesis* 2008; 29(10): 1955-62.
20. Kuehl P, Zhang J, Lin Y. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nature Genet* 2001; 27: 383-91.
21. Goetz MP, Rae JM, Suman VJ, Safgren SL, Ames MM, Visscher DW, et al. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J Clin Oncol* 2005; 23: 9312-8.
22. Jin Y, Desta Z, Stearns V, Ward B, Ho H, Lee KY, et al. CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 30-9.

23. Koch I, Weil R, Wolbold R, Brockmöller J, Husert E, Burk O, et al. Interindividual variability and tissue-specificity in the expression of cytochrome P450 3A mRNA. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 1108-14.
24. Shih PS, Huang JD. Pharmacokinetics of midazolam and 1'-hydroxymidazolam in Chinese with different CYP3A5 genotypes. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 1491-6.
25. Westlind-Johnsson A, Malmebo S, Johansson A, Otter C, Andersson TB, Johansson I, et al. Comparative analysis of CYP3A expression in human liver suggests only a minor role for CYP3A5 in drug metabolism. *Drug Metab Dispos* 2003; 31: 755-61.
26. Wang BS, Liu Z, Xu WX, Sun SL. CYP3A5\*3 polymorphism and cancer risk: a meta-analysis and meta-regression. *Tumour Biol* 2013; 34(4): 2357-66.
27. Wegman P, Elingarami S, Carstensen J, Stål O, Nordenskjöld B, Wingren S. Genetic variants of CYP3A5, CYP2D6, SULT1A1, UGT2B15 and tamoxifen response in postmenopausal patients with breast cancer. *Breast Cancer Research* 2007; 9: R7.
28. Fernandez P, De Beer PM, van der Merwe L, Heyns CF. Genetic variation in androgen metabolism genes and association with prostate cancer in south African men. *South African med J* 2010; 100(11): 741-5.
29. Chowbay B, Kumaraswamy S, Cheung YB, Zhou Q, Lee EJ. Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and the influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 89-95.
30. Van Schaik RH, deWildt SN, Brosens R, van Fessem M, van den Anker JN, Lindemans J. The CYP3A4\*3 allele: is it really rare?. *Clin Chem* 2001; 47: 1104-6.
31. Azarpira N, Aghdaie MH. Frequency of C3435 MDR1 and A6896G CYP3A5 Single Nucleotide Polymorphism in an Iranian Population and Comparison with other ethnic group. *Medical J of the Islamic Republic of Iran* 2006; 20(3): 131-6.
32. Gervasini G, García-Martín E, Ladero JM, Pizarro R, Sastre J, Martínez C, et al. Genetic variability in CYP3A4 and CYP3A5 in primary liver, gastric and colorectal cancer patients. *BMC Cancer* 2007; 7: 118-24.
33. Garsa AA, McLeod HL, Marsh S. CYP3A4 and CYP3A5 genotyping by Pyrosequencing. *BMC Medical Genetics* 2005; 6(19):1-5.

# Association Study of Polymorphism in CYP3A5 Gene with Bladder Cancer in Tehran

Bakhtiari Tajar M<sup>1</sup>, Onsory K<sup>2\*</sup>, Shadpoor P<sup>3</sup>, Zafarmand M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Young and Elite Researchers Club, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran, <sup>2</sup>Biology Department, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran, <sup>3</sup>Medical Department, Tehran University, Tehran, Iran

Received: 26 Apr 2015 Accepted: 1 Aug 2015

## Abstract

**Background & aim:** The CYP3A enzyme catalyzes the conversion of numerous numbers of xenobiotics and materials including carcinogens and drugs. The CYP3A5 is expressed polymorphically in human liver, but consistently in lung, colon, and kidney. The purpose of this study was to analysis the frequency of A→G transition mutation in CYP3A5 gene and to determine the role of this polymorphism in bladder cancer patients admitted to clinic center between 1991-1992 years.

**Methods:** In the present study, PCR-RFLP analysis of the gene was conducted on 113 bladder cancer patients and same number of age-matched controls admitted to Hashemi Nezhad Hospital. After amplifying the gene, digestion was performed using specific restriction enzyme and then fragments were investigated using agarose gel. Subsequently, the data was analyzed by the SPSS (version 19) using logistic regression.

**Results:** The incidence of CYP3A5\*3 allele was more in patients and control group compared with the wild type (CYP3A5\*1). It was 79.6% and 75.2% in patients and controls respectively which indicated that the mutant allele of CYP3A5\*3 was more in the studied population with an OR of 1.837 (95% CI=0.975-3.460, P=0.62). Also there was found that the frequency of both alleles were high in female compared with male. No association was found between genotypes with grade and stage of cancer in patients.

**Conclusions:** No significant association was observed between the risks of bladder cancer for individuals carrying the mutant allele of CYP3A5 gene.

**Key words:** CYP3A5 gene, polymorphism, Bladder cancer, PCR-RFLP.

---

**Corresponding Author:** Onsory K, Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran

**Email:** onsory@gmail.com

## Please cite this article as follows:

Bakhtiari Tajar M, Onsory K, Shadpoor P, Zafarmand M. Association Study of Polymorphism in CYP3A5 Gene with Bladder Cancer in Tehran. *Armaghane-danesh* 2015; 20 (6): 494-504.