مقاله پژوهشی

ارتباط پلی مورفیسم XRCC1 (rs25487) و آسیب‌پذیری افراد شاغل در صنایع شیمیایی نسبت به بنزن

نگار موسوی[۱]، فرزانه تفویضی[۱*]، یاسر منصوری[۲،۳]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران
۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران
۳- گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۹/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۲/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: بنزن به‌عنوان یک ترکیب سرطان‌زا، با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب آسیب به DNA می‌شود. اثرات بنزن در سیستم خونی گزارش شده است. به نظر می‌رسد ژن XRCC1 به‌عنوان یک ژن مهم در سیستم ترمیم بازهای آسیب‌دیده، در حساسیت افراد نسبت به بنزن تأثیرگذار باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs۲۵۴۸۷ در ژن XRCC1 و آسیب‌پذیری افراد شاغل در صنایع شیمیایی در برابر بنزن است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد شاهدی، ۶۰ فرد مورد و ۶۰ فرد شاهد که در مواجهه ۲ سال متوالی با بنزن بودند، موردبررسی قرار گرفتند. افرادی که هیچ تغییری در پارامترهای خونی نداشتند به‌عنوان گروه شاهد و افرادی که لنفوسیت خارج از محدوده طبیعی داشتند به‌عنوان گروه مورد انتخاب شدند. نمونه‌های خون از کارکنان صنایع شیمیایی جمع‌آوری شد. پلی مورفیسم ژنتیکی با روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم MSP1 تعیین گردید.

نتایج: اختلاف معنی‌داری بین فرکانس آللی A و G دیده نشد (P>۰/۰۵). ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم XRCC1 و حساسیت پذیری به بنزن و اختلالات لنفوسیتی مشاهده نگردید [OR:۱/۴۳ ،۰/۹۵٪IC (۰/۴۷-۴/۳۱)، p=۰/۵۲].

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد پلی مورفیسم rs۲۵۴۸۷ در ژن XRCC1 نقش عملکردی در حساسیت افراد نسبت به بنزن ندارد. البته با توجه به نقش ژن XRCC1 در پاسخ به آسیب‌های DNA ضرورت دارد سایر پلی مورفیسم‌های این ژن و پلی مورفیسم مورد هدف در این مطالعه، در سطح وسیع‌تر ارزیابی گردند.

کلمات کلیدی: پلی مورفیسم XRCC1، بنزن، PCR-RFLP

مقدمه

بنزن جزء ترکیبات آلی فرار است که اثرات سرطان‌زایی و سمی آن به اثبات رسیده است (۱). طبق مطالعات صورت گرفته، اثرات سمی بنزن بر روی سیستم خونی مکرراً گزارش شده است و نقش آن در اختلالاتی مانند لوسمی، آنمی، لوکوپنی، ترومبوستوپنی، آنمی آپلاستیک، لوسمی میلوئید حاد، لوسمی لنفوسیتیک حاد، سندرم مایلودیسپلاستیک و لنفومای غیرهوچکین دیده شده است (۶-۲).

بنزن از طریق تنفس جذب بدن می‌شود و در کبد تحت اثر آنزیم سیتوکروم P۴۵۰ منواکسیژناز به ترکیبات فنلی تبدیل و پس از رسیدن به مغز استخوان تحت اثر آنزیم میلوپراکسیداز به مشتقات فعال کینون تبدیل می‌گردد. فعال شدن هیدروکینون به‌واسطه آنزیم میلوپراکسیداز و همچنین اکسیداسیون بنزن با ایجاد گونه‌های اکسیژنی فعال مانند رادیکال‌های هیدروکسیل به‌صورت بالقوه می‌توانند باعث آسیب DNA در سلول‌های پیش ساز مغز و استخوان شوند (۷). سلول‌های انسان به‌منظور ترمیم آسیب اکسیداتیو DNA، دارای چندین مکانیسم ترمیم می‌باشند.

*نویسنده مسئول: فرزانه تفویضی، گروه زیست‌شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران
Email:farzanehtafvizi54@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-3595-5021

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2018.8.2.14.2]

یکی از این مکانیسم‌ها، سیستم ترمیم باز آسیب‌دیده (se Ba excision repair) است (۸).

ژن (XRCC1) ray repair cross complementing-X یکی از چندین ژنی است که در مسیر ترمیم باز آسیب‌دیده شرکت دارد. این سیستم، آسیب درونی NDA را که ناشی از هیدرولیز، استرس اکسیداتیو و آلکیلاسیون است را مورد هدف قرار می‌دهد (۹). با توجه به این موضوع که ژن XRCC1 درترمیم بازهای آسیب‌دیده نقش پراهمیتی را ایفا می‌کند، پلی مورفیسم در این ژن احتمال دارد بر عملکرد پروتئین تأثیر گذاشته و بازدهی عملکرد پروتئین را درترمیم آسیب DNA تحت تأثیر قرار دهد (۱۰).

ژن XRCC1 با طول ۳۹ کیلوباز، واقع در موقعیت کروموزومی ۱۳/۳-۱۲/۲q۱۹ است. این ژن دارای ۱۷ اگزون و ۱۶ اینترون است (www.ncbi.nlm.nih.gov) که پروتئینی با ۶۳۳ اسیدآمینه کد می‌کند (۱۰).

بیش از ۳۰۰ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی کشف‌شده در ژن XRCC1 وجود دارد. از میان پلی مورفیسم‌های شناسایی‌شده در این ژن، تعدادی در ناحیه عملکردی قرار دارند که شایع‌ترین آن‌ها پلی مورفیسم rs۱۷۹۹۷۸۲(Trp۱۹۴Arg) در اگزون ۶ و rs ۲۵۴۸۹(His۲۸۸Arg) در اگزون ۹ و پلی مورفیسم rs ۲۵۴۸۷(Gln۳۹۹Arg) در اگزون ۱۰ منجر به جایگزینی غیر حفاظتی اسیدهای آمینه می‌شوند، لذا ظرفیت‌ترمیم را دستخوش تغییر قرار می‌دهند. گزارش‌های متعدد نشان داده است که این پلی مورفیسم‌ها ممکن است ریسک ابتلا به سرطان و بیماری‌های مختلف را تغییر دهند (۱۱، ۱۲).

یکی از پلی مورفیسم‌های ژن XRCC1 که مطالعات بسیار زیادی را در خصوص ارتباط بااستعداد ابتلا به سرطان در جمعیت‌های مختلف به خود اختصاص داده است، پلی مورفیسم rs ۲۵۴۸۷ است. در این پلی مورفیسم براثر جایگزینی A→G در اگزون ۱۰، اسیدآمینه آرژنین در موقعیت ۳۹۹ رشته پلی پپتیدی توسط گلوتامین جایگزین می‌شود (Arg۳۹۹Gln) (۱۰).

پلی مورفیسم rs ۲۵۴۸۷ از چند جهت حائز اهمیت است. این جایگزینی در ناحیه کد کننده ژن قرارگرفته است و اسیدآمینه آرژنین با بار مثبت توسط اسیدآمینه‌ای بدون بار (گلوتامین) جایگزین می‌شود. همچنین در مطالعات گذشته به ارتباط این پلی مورفیسم با سرطان‌های مختلف اشاره شده است.

علاوه بر عوامل محیطی، ژنتیک فرد و پلی مورفیسم‌های ژنتیکی نیز در ابتلا به بیماری‌های مختلف خصوصاً بیماری‌های شغلی نقش تعیین‌کننده‌ای دارند، ازآنجایی‌که پلی مورفیسم ذکرشده شایع و از اهمیت زیادی برخوردار است و با توجه به اینکه اثرات سرطان‌زایی بنزن روشن است، لذا با تشخیص به‌موقع افراد حساس و آسیب‌پذیر در برابر بنزن می‌توان از وقوع بسیاری از بیماری‌های شغلی در کشور پیشگیری نمود. در این مطالعه برای اولین بار در ایران، ارتباط بین پلی مورفیسم ژنتیکی XRCC1 (rs)۲۵۴۸۷ و آسیب‌پذیری افراد نسبت به بنزن و اختلالات اولیه لنفوسیت‌ها در افراد با مواجهه شغلی به آلاینده بنزن، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه‌گیری

در این مطالعه مورد-شاهدی بعد از اخذ مجوز از صنایع شیمیایی و کسب رضایت‌نامه از افراد واجد شرایط که علاقه‌مند به شرکت در این مطالعه بودند، نمونه خون و سرم از افرادی که ۲ سال متوالی در معرض بخارهای حاصل از بنزن بودند گرفته شد. اطلاعات دموگرافیک، سابقه کار، مصرف الکل، استعمال دخانیات، سابقه پزشکی، ژنتیکی و همچنین سابقه مواجهه با مواد شیمیایی این افراد از طریق پرسش‌نامه استاندارد جمع‌آوری شد و درصورتی‌که هر یک از افراد معیارهای ورود به مطالعه را نداشتند از مطالعه کنار گذاشته شدند. با توجه به معیارهای ورود به مطالعه [داشتن ۲ سال سابقه متوالی مواجهه با بنزن و همچنین عدم ابتلا به فشارخون بالا، دیابت، چربی خون بالا، BMI بالاتر از ۳۵، هموفیلی، کم‌خونی فقر آهن، تالاسمی مینور و نقص آنزیم (G6PD)]، افراد انتخاب گردیدند. از بین جمعیت ذکرشده طی بررسی‌های پی‌درپی، تغییرات هماتولوژیک افراد در مدت ۲ سال، ۶۰ نفر بدون وجود هیچ‌گونه اختلال خونی، به‌عنوان گروه شاهد و ۶۰ نفر که مقدار درصد لنفوسیت آن‌ها بالاتر از محدوده طبیعی ۴۸-۱۹ درصد بود، به‌عنوان گروه مورد انتخاب شدند. قابل‌ذکر است که افراد گروه شاهد ازنظر میزان مواجهه با بنزن، سن، جنس و BMI با گروه مورد، یکسان‌سازی شدند و تمامی افراد انتخاب‌شده در این مطالعه، غیر سیگاری بودند.

استخراج DNA

جهت استخراج DNA ژنومی از خون جمع‌آوری‌شده از کیت-

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2018.8.2.14.2]

(number Cat:۱۰۱-۱۰۶) lGeneAl شرکت Exgene Cell SV استفاده گردید. به‌منظور بررسی کیفیت DNAهای استخراج‌شده، از ژل آگارز ۲٪ رنگ‌آمیزی شده با safe DNA stain (شرکت سیناژن) استفاده شد. تعیین کمیت DNA با استفاده از دستگاه نانودراپ و اندازه‌گیری میزان جذب نوری در ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر صورت گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز

تکثیر قطعه ۶۱۵ جفت بازی که پلی مورفیسم rs۲۵۴۸۷ (Arg۳۹۹Gln) در ژن XRCC1 را دربردارد توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) انجام شد. میزان ویژگی و کیفیت پرایمر انتخاب‌شده از طریق برنامه BLAST و GeneRunner بررسی و از شرکت پیشگام تهیه گردید. توالی پرایمرهای انتخابی شامل Forward:۵'-TTG TGC TTT CTC TGT GTC CA-'۳ و Reverse: ۵'- TA TGA TTC CTT AGC TCC TCC -'۳ است.

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰µ شامل: ۱۰µ بافر آمپلیکون (Cat number:180301-50)، ۱µ پرایمر Forward و ۱µ پرایمر Reverse (۵pM)، ۱µ از DNA استخراج‌شده و ۷µ آب مقطر استریل، تهیه گردید. تکثیر DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر به‌صورت ۳۸ سیکل در نظر گرفته شد که شامل دمای واسرشت اولیه دو رشته DNA در ۹۵°c به مدت ۲ دقیقه و سپس در طی ۳۸ چرخه دمای ۹۵°c به مدت ۲۰ ثانیه برای مرحله واسرشتی، دمای ۶۴°c به‌منظور اتصال پرایمر به مدت ۲۰ ثانیه و سپس دمای ۷۲°c به مدت ۲۰ ثانیه به‌منظور گسترش پرایمر، نهایتاً دمای ۷۲°c به مدت ۳ دقیقه به‌منظور گسترش نهایی صورت گرفت. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲/۵٪ در تانک الکتروفورز حاوی بافر TAE با ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه موردبررسی کیفی قرار گرفتند.

واکنش Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP):

در مرحله بعد به‌منظور تعیین ژنوتیپ از روش RFLP استفاده گردید. با توجه به پلی مورفیسم موجود در قطعه موردنظر، آنزیم محدودکننده MSPI از سایت NEBCutter انتخاب شد. آنزیم موردنظر از شرکت ندای فن (Cat number:R0106S) تهیه گردید. روش استفاده به‌کاررفته برای انجام RFLP در این جایگاه در جدول ۱ ارائه شده است. سپس محلول در دمای ۳۷°c به مدت ۱ ساعت انکوبه شد و به‌منظور غیرفعال‌سازی آنزیم، مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۵°c قرار گرفت. قطعات حاصل از شکست این آنزیم روی ژل آگارز ۲/۵٪ همراه ۴µl از ladder 100bp (TMExcelBand DM2300) الکتروفورز شد.

جدول ۱- پروتکل هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم MSPI

مواد واکنش	مقدار بر حسب µl
آنزیم MSPI	۰/۳
بافر ۱۰X	۲
آب مقطر دیونیزه	۷/۷
محصول PCR	۱۰

آنالیز آماری

توزیع ژنوتیپی، فراوانی آللی و مدل‌های ژنتیکی در دو گروه با استفاده از فراوانی و درصد همچنین نسبت شانس و فاصله اطمینان ۹۵ درصد آن نمایش داده شد. بین دو گروه با کمک آزمون کای دو مورد مقایسه قرار گرفت. کلیه محاسبات با کمک نرم‌افزار IBM SPSS نسخه ۲۱ (IBM SPSS Inc. Chicagi Ill) انجام گردید و مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

تمامی افراد انتخاب‌شده در گروه مورد و شاهد مذکر و غیر سیگاری بودند و شرکت‌کنندگان در مطالعه ازنظر سن و IBM با استفاده از آزمون تی تست موردبررسی قرار گرفتند و تفاوت معناداری در هیچ‌کدام از موارد بین دو گروه مورد و شاهد وجود نداشت. نتایج در جدول ۲ ارائه شده است.

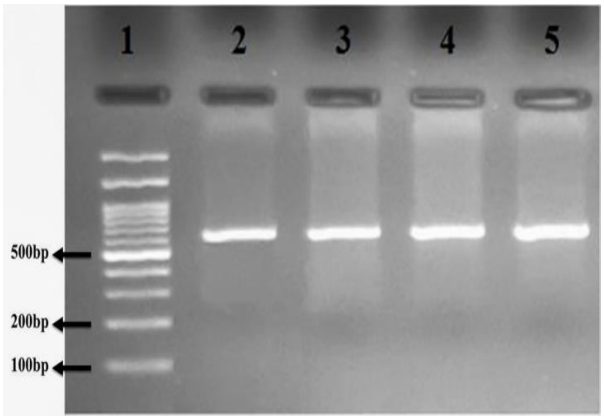
جدول ۲- میانگین سن و BMI در دو گروه مورد و شاهد

متغیر	گروه شاهد (تعداد:۶۰)	گروه مورد (تعداد:۶۰)	*P*-value
سن (میانگین±استاندارد)	۳۳/۶±۵/۹	۳۴/۶±۵/۸	۰/۳۵
BMI (میانگین±استاندارد)	۲۵/۵±۳/۱	۲۶/۱±۳/۵	۰/۲۵

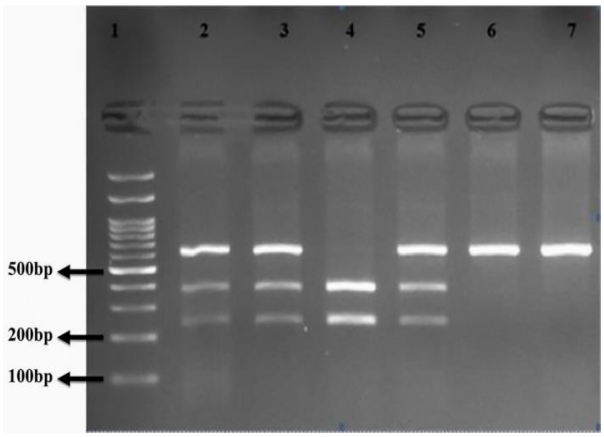
[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2018.8.2.14.2]

طی واکنش RFLP، افراد هموزیگوت (Gln/Gln) A/A) یک قطعه ۶۱۵ جفت بازی، افراد هتروزیگوت (Arg/Gln) A/G) سه قطعه ۶۱۵، ۳۷۷ و ۲۳۸ جفت بازی و افراد هموزیگوت G/G (Arg/Arg) براثر هضم آنزیمی دو قطعه ۲۳۸ و ۳۷۷ جفت بازی ایجاد می‌کنند. تکثیر قطعه موردمطالعه و بارگذاری آن روی ژل آگارز در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج هضم آنزیمی MSPI به همراه ladder 100bp بر روی ژل آگارز ۲/۵٪ در شکل ۲ نشان داده شده است.

فراوانی ژنوتیپی و آللی در بین گروه مورد و شاهد محاسبه گردید و تفاوت معناداری بین دو گروه مشاهده نشد. جدول ۳



شکل ۱- بارگذاری محصول PCR ژن XRCC1 بر روی ژل آگارز ۲/۵٪. ستون ۱: ladder 100bp، ستون ۲، ۳، ۴ و ۵: محصول PCR ژن XRCC1 به طول ۶۱۵ جفت باز



شکل ۲- نتایج RFLP بر روی ژل آگارز. ستون ۱: ladder 100bp، ستون ۲، ۳ و ۵: هتروزیگوت G/A، ستون ۶ و ۷: هموزیگوت A/A، ستون ۴: هموزیگوت G/G

مقایسه فراوانی ژنوتیپی و آللی با استفاده از آزمون کای دو را در دو گروه مورد و شاهد نشان می‌دهد. همچنین در هیچ‌کدام از مدل‌های غالب، مغلوب و افزایشی اختلاف معنی‌داری بین پلی مورفیسم ژنتیکی و آسیب‌پذیری در برابر بنزن دیده نشد.

بحث

بنزن به‌عنوان یک ماده سمی و سرطان‌زا شناخته می‌شود و هیچ غلظتی برای مواجهه با بنزن به‌عنوان غلظت ایمن و بی‌خطر وجود ندارد (۱۳). مکانیسم‌های مولکولی دخیل در نحوه تأثیرگذاری این ماده بر روی بدن تا حدودی مشخص‌شده است. به نظر می‌رسد تولید گونه‌های اکسیژن فعال براثر اکسیداسیون بنزن در بدن مشهودترین علت سمیت این ماده است. گونه‌های اکسیژن فعال برای سلول خطرناک هستند و باعث آسیب DNA می‌شوند، لذا کارآمد بودن سیستم ترمیم DNA در سلول می‌تواند نقش قابل‌توجهی در اثرات مخرب بنزن در افرادی که در مواجهه با آن قرار دارند، داشته باشد. یکی از ژن‌های درگیر در سیستم ترمیم DNA سلول، ژن XRCC1 است که محصول آن در مسیر Base excision Repair (BER) ایفای نقش می‌کند. محصول ژن XRCC1 یک پروتئین چهارچوب (scaffold) مرکزی در سیستم BER است، بنابراین تصور می‌شود که یک عنصر حیاتی در حساسیت افراد در برابر بنزن باشد (۱۴). پلی مورفیسم rs25487 در قسمت کد کننده این ژن واقع‌شده است و باعث یکجانشینی بد معنی در محصول این ژن می‌شود و اسیدآمینه‌ای متفاوت در محصول پروتئینی این ژن ایجاد می‌شود. پلی مورفیسم ذکرشده دقیقاً در دومین برهمکنش کننده این پروتئین واقع‌شده است و ممکن است بر روی بازدهی و عملکرد آن تأثیر گذاشته و بنابراین حساسیت افراد مختلف را در برابر بنزن تغییر دهد (۱۵).

مطالعاتی که درگذشته انجام‌شده نتایج ناهمگنی را در رابطه با تأثیر بنزن بر روی پارامترهای خونی گزارش کرده‌اند. برخی از مطالعات تأثیر مواجهه با بنزن را هم در دوزهای بالا و هم پایین روی پارامترهای خونی تائید می‌کنند (۱۶-۱۹) و این در حالی است که برخی مطالعات با بررسی تأثیرات دوز بالای بنزن و دوز پایین آن، هیچ‌گونه اثری بر روی پارامترهای خونی مشاهده نکرده‌اند (۲۰-۲۲).

در غلظت‌های متفاوتی از بنزن، عوارض هماتولوژیک می‌توانند به‌صورت‌های مختلفی تغییر کند و همان‌طور که بیش از این گفته شد، تغییرات ژنتیکی افراد ممکن است یک عامل

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2018.8.2.14.2]

جدول ۳- مقایسه فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم XRCC1 در گروه مورد و شاهد

ژنوتیپ	تعداد شاهد (درصد)	تعداد مورد (درصد)	*P*.value	OR (CI 95%)
GG	۲۸ (۴۶/۷)	۲۲ (۳۶/۷)	....	۱
GA	۲۴ (۴۰)	۲۹ (۴۸/۳)	۰/۲۲	۱/۵۳ (۰/۷-۳/۳۴)
AA	۸ (۱۳/۳)	۹ (۱۵)	۰/۵۲	۱/۴۳ (۰/۴۷-۴/۳۱)
مدل غالب				
GG	۲۸ (۴۶/۷)	۲۲(۳۶/۷)	۰/۲۳	۱/۵۵ (۰/۷۴-۳/۲۱)
GA+AA	۳۲ (۵۳/۳)	۳۸ (۶۳/۳)		
مدل مغلوب				
AA	۸ (۱۳/۳)	۹ (۱۵)	۰/۷۹	۰/۸۷ (۰/۳۱-۲/۴۳)
GG+GA	۵۲ (۸۶/۷)	۵۱ (۸۵)		
مدل افزایشی				
GA	۲۴ (۴۰)	۲۹ (۴۸/۳)	۰/۳۵	۰/۷۱ (۰/۳۴-۱/۴۶)
GG+AA	۳۶ (۶۰)	۳۱ (۵۱/۷)		
فراوانی آللی				
G	۸۰ (۶۶/۷)	۷۳ (۶۰/۸)	.....	۱
A	۴۰ (۳۳/۳)	۴۷ (۳۹/۲)	۰/۳۴	۱/۲۸ (۰/۷۶-۲/۱۸)

تعیین‌کننده در حساسیت و تأثیرپذیری افراد از مواد سمی مثل بنزن باشد.

از این رو در این مطالعه، برای اولین بار در جمعیت ایرانی، به بررسی همراهی پلی مورفیسم XRCC1 Arg399Gln در دو گروه از افرادی که در معرض غلظت مشخصی از بنزن بوده‌اند که گروه شاهد تغییرات خونی را نشان نداده‌اند، درحالی‌که گروه مورد تعداد لنفوسیت‌های خارج از محدوده طبیعی داشتند، پرداخته شده است.

در مطالعه حاضر تفاوت معناداری در ژنوتیپ‌های مختلف این پلی مورفیسم بین گروه مورد و شاهد مشاهده نگردید.

در سال ۲۰۰۵ Zhang و همکاران، در چین با بررسی پلی مورفیسم‌های چند ژن ازجمله XRCC1، در افرادی که با غلظت مشخصی از بنزن مواجه بودند، ارتباطی بین پلی مورفیسم XRCC1 Arg399Gln و مسمومیت با بنزن مشاهده نکردند. اگرچه پلی مورفیسم‌های دیگر در این ژن (Arg194Trp) (Arg280His) ارتباط معناداری را نشان دادند (۲۳).

در سال ۲۰۰۷ J Xu و همکاران هیچ همبستگی بین پلی مورفیسم‌های ژن XRCC1 و تغییر در توانایی‌ترمیم DNA در ۸۰ بیماری که از مسمومیت مزمن بنزن رنج می‌بردند، گزارش نکردند (۲۴).

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲ در ایتالیا به بررسی ارتباط پلی مورفیسم XRCC1 Arg399Gln و اثرات بنزن پرداخته شد و میزان تشکیل میکرونوکلئوس به‌عنوان یک بیومارکر از تأثیرات بیولوژیکی زودهنگام بنزن مورد ارزیابی قرار گرفت، هیچ ارتباطی بین پلی مورفیسم rs25487 و اثرگذاری بنزن گزارش نشد (۲۵).

در سال ۲۰۱۲، Zhang J و همکاران با مطالعه ۴۵۹ فرد که مواجهه شغلی با بنزن داشتند و ۸۸ فردی که در معرض بنزن نبودند، هیچ ارتباطی بین پلی مورفیسم‌های ژن XRCC1 و فراوانی تشکیل میکرونوکلئوس مشاهده نکردند (۲۶).

در سال ۲۰۱۶، اثرات بنزوپیرن به‌عنوان یک کارسینوژنز در ۲۸۱ فرد داوطلب موردبررسی قرار گرفت. یکی از پلی مورفیسم‌های مورد هدف در این مطالعه XRCC1 Arg399Gln

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2018.8.2.14.2]

بود. طبق نتایج گزارش‌شده، این پلی مورفیسم در توانایی و قدرت سیستم ترمیم BER تأثیری نداشت (۲۷). با توجه به اینکه آسیب ناشی از بنزن نیز توسط سیستم BER مورد شناسایی و ترمیم قرار می‌گیرد، نتایج مطالعه ذکرشده در راستای شواهد مطالعه حاضر است و به نظر می‌رسد پلی مورفیسم (rs25487) XRCC1 دارای نقش عملکردی در سیستم BER نیست.

آخرین شواهدی که در این زمینه منتشرشده است، در سال ۲۰۱۷ بر روی کارکنان معدن زغال‌سنگ است. در این مطالعه به بررسی ارتباط پلی مورفیسم چند ژن ازجمله (rs25487) XRCC1 و تأثیرات سمی مواد مضر و تشعشعات یونیزه کننده بین ۱۴۳ کارگر معدن و ۱۲۷ فرد سالمی که در معرض نبودند، بر روی لنفوسیت‌ها، موردبررسی قرار گرفت. هیچ‌گونه ارتباطی بین پلی مورفیسم (rs25487) XRCC1 و آسیب DNA در کارکنان معدن مشاهده نشد (۲۸).

با کنار هم گذاشتن نتایج مطالعه حاضر و بررسی‌های گذشته در این زمینه، به نظر می‌رسد درعین‌حال که نمی‌توان نقش ژن XRCC1 در حساسیت و مقاومت افراد در برابر بنزن را نقض کرد، اما همه پلی مورفیسم‌های این ژن لزوماً در تفاوت‌های اشخاص در پاسخ به بنزن، تأثیرگذار نیستند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، می‌توان گفت که پلی مورفیسم XRCC1 Arg399Gln در آسیب‌پذیری افراد در برابر بنزن ایفای نقش نمی‌کند.

مطالعه دیگری که در این زمینه توسط پینگ ژو و همکاران در سال ۲۰۱۵ در چین انجام شد، به بررسی ارتباط چندین پلی مورفیسم ازجمله XRCC1 Arg399Gln و ریسک ابتلا به مسمومیت مزمن بنزن پرداختند. در این مطالعه افزایش معناداری در ریسک آسیب‌پذیری افراد ناقل ژنوتیپ AA در مواجهه با بنزن نسبت به افراد ناقل ژنوتیپ GG، گزارش شد (۲۹).

یک توضیح احتمالی برای این نتایج مختلف این است که افراد شرکت‌کننده در مطالعات ممکن است به دلیل موقعیت جغرافیایی مختلف، پیش‌زمینه ژنتیکی متفاوتی داشته باشند. علاوه بر این حجم نمونه و نسبت افراد تشکیل‌دهنده آن، می‌تواند تا حدودی این تناقض را توضیح دهد. باید توجه داشت که فرکانس آللی وابسته به جمعیت موردمطالعه، قابل‌تغییر است و ازآنجایی‌که پلی مورفیسم در سطح جمعیت بررسی می‌شود، لازم است که در مطالعات مختلف، فرکانس آللی در سطح جمعیت را در نظر داشته باشیم. با توجه به مقالاتی که به بررسی ارتباط پلی مورفیسم XRCC1 Arg399Gln با خطر ابتلا به بیماری‌های مختلف در ایران پرداخته‌اند، فرکانس آللی G بالا و فرکانس آللی A پایین است (۳۰)، لذا پایین بودن فرکانس آللی می‌تواند دلیلی برای پیدا نشدن ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم و ریسک آسیب‌پذیری در مواجهه با بنزن باشد.

ازآنجایی‌که تعداد مقالات در ارتباط با این موضوع در جمعیت ایرانی بسیار اندک است و برهمکنش بین پلی مورفیسم‌های ژنتیکی و اثرات زیست‌محیطی پیچیده هستند، برای پاسخ به تأثیرگذاری پلی مورفیسم‌های ژن XRCC1 در حساسیت افراد به بنزن نیاز به مطالعات بیشتر و در سطح وسیع‌تری است.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر ارتباطی بین پلی مورفیسم XRCC1 Arg399Gln در گروه مورد و شاهد مشاهده نگردید که هم‌راستا با نتایج اکثریت مطالعات گذشته در جمعیت‌های غیر ایرانی است. اگرچه نتایج یکسان نیست، همچنان باید توجه داشت که پلی مورفیسم‌های ژن XRCC1 به‌صورت بالقوه می‌توانند یک بیومارکر برای پیش‌بینی حساسیت به اثرات بنزن باشند و احتیاج است که سایر پلی مورفیسم‌های ژن XRCC1 و همچنین پلی مورفیسم مورد هدف در این مطالعه، در سطح گسترده‌تری در جمعیت ایرانی بررسی شود.

تشکر و قدردانی

از گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، جهت همکاری در اجرای این مطالعه صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد. کد اخلاق این مقاله IR.FUMS.REC.1395.115 می باشد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2018.8.2.14.2]

References

1. Rodriguez B, Yang Y, Guliaev AB, Chenna A, Hang B. Benzene-derived N 2-(4-hydroxyphenyl)-deoxyguanosine adduct: UvrABC incision and its conformation in DNA. Toxicology letters. 2010;193(1):26-32.
2. Rappaport SM, Kim S, Lan Q, Li G, Vermeulen R, Waidyanatha S, et al. Human benzene metabolism following occupational and environmental exposures. Chemico-biological interactions. 2010;184(1):189-95.
3. Moro AM, Brucker N, Charão MF, Sauer E, Freitas F, Durgante J, et al. Early hematological and immunological alterations in gasoline station attendants exposed to benzene. Environmental research. 2015;137:349-56.
4. Carbonari D, Mansi A, Proietto AR, Paci E, Bonanni RC, Gherardi M, et al. Influence of genetic polymorphisms of styrene-metabolizing enzymes on the levels of urinary biomarkers of styrene exposure. Toxicology letters. 2015;233(2):156-62.
5. Barbieri A, Violante FS, Sabatini L, Graziosi F, Mattioli S. Urinary biomarkers and low-level environmental benzene concentration: assessing occupational and general exposure. Chemosphere. 2008;74(1):64-9.
6. Zhang L, McHale CM, Rothman N, Li G, Ji Z, Vermeulen R, et al. Systems biology of human benzene exposure. Chemico-biological interactions. 2010;184(1):86-93.
7. Ross D. Metabolic basis of benzene toxicity. European Journal of Haematology. 1996;57(S60):111-8.
8. Wu F, Zhang Z, Wan J, Gu S, Liu W, Jin X, et al. Genetic polymorphisms in hMTH1, hOGG1 and hMYH and risk of chronic benzene poisoning in a Chinese occupational population. Toxicology and applied pharmacology. 2008;233(3):447-53.
9. Krokan HE, Bjørås M. Base excision repair. Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2013;5(4):a012583.
10. Duarte MC, Colombo J, Rossit ARB, Caetano A, Borim AA, Wornrath D, et al. Polymorphisms of DNA repair genes XRCC1 and XRCC3, interaction with environmental exposure and risk of chronic gastritis and gastric cancer. World journal of gastroenterology: WJG. 2005;11(42):6593.
11. Xing D, Qi J, Miao X, Lu W, Tan W, Lin D. Polymorphisms of DNA repair genes XRCC1 and XPD and their associations with risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. International journal of cancer. 2002;100(5):600-5.
12. Zheng L-r, Wang X-f, Zhou D-x, Zhang J, Huo Y-w, Tian H. Association between XRCC1 single-nucleotide polymorphisms and infertility with idiopathic azoospermia in northern Chinese Han males. Reproductive biomedicine online. 2012;25(4):402-7.
13. Mehlman MA. Dangerous properties of petroleum-refining products: Carcinogenicity of motor fuels (Gasoline). Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis. 1990;10(5):399-408.
14. Leng S, Cheng J, Zhang L, Niu Y, Dai Y, Pan Z, et al. The association of XRCC1 haplotypes and chromosomal damage levels in peripheral blood lymphocyte among coke-oven workers. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers. 2005;14(5):1295-301.
15. Stern MC, Umbach DM, van Gils CH, Lunn RM, Taylor JA. DNA repair gene XRCC1 polymorphisms, smoking, and bladder cancer risk. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers. 2001;10(2):125-31.
16. Avogbe PH, Ayi-Fanou L, Cachon B, Chabi N, Debende A, Dewaele D, et al. Hematological changes among Beninese motor-bike taxi drivers exposed to benzene by urban air pollution. African Journal of Environmental Science and Technology. 2011;5(7):464-72.
17. Lee CR, Yoo CI, Lee JH, Kim S-R, Kim Y. Hematological changes of children exposed to volatile organic compounds containing low levels of benzene. Science of the Total Environment. 2002;299(1):237-45.
18. Qu Q, Shore R, Li G, Jin X, Chi Chen L, Cohen B, et al. Hematological changes among Chinese workers with a broad range of benzene exposures. American journal of industrial medicine. 2002;42(4):275-85.
19. Schnatter AR, Kerzic PJ, Zhou Y, Chen M, Nicolich MJ, Lavelle K, et al. Peripheral blood effects in benzene-exposed workers. Chemico-biological interactions. 2010;184(1):174-81.
20. Swaen GM, van Amelsvoort L, Twisk JJ, Verstraeten E, Slootweg R, Collins JJ, et al. Low level occupational benzene exposure and hematological parameters. Chemico-biological interactions. 2010;184(1):94-100.
21. Zamanipour S, Mortazavi Y, Kaviani S. Occupational exposure to Benzene and its hematological consequences. Journal of Zanjan university of medical sciences and health services. 2002;39(10):13-19.
22. Tsai SP, Fox EE, Ransdell JD, Wendt JK, Waddell LC, Donnelly RP. A hematology surveillance study of petrochemical workers exposed to benzene. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2004. 40(1):67-73.
23. Zhang Z, Wan J, Jin X, Jin T, Shen H, Lu D, et al. Genetic polymorphisms in XRCC1, APE1, ADPRT, XRCC2, and XRCC3 and risk of chronic benzene poisoning in a Chinese occupational population. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers. 2005; 14(11 Pt 1):2614-9.
24. Xu J, Yang M, Huang H, Wang Q. Association between genetic polymorphisms of DNA repair genes XRCC1, XPD, XRCC3 and the capacity of DNA repair induce by benzene. Wei sheng yan jiu (Journal of hygiene research). 2007;36(5):529-32.
25. Angelini S, Maffei F, Bermejo JL, Ravegnini G, L'Insalata D, Cantelli-Forti G, et al. Environmental exposure to benzene, micronucleus formation and polymorphisms in DNA-repair genes: a pilot study. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2012;743(1):99-104.

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2018.8.2.14.2]

26. Zhang J, Lü J, Zhang C, Zhou L, Ye Y, Sun P, et al. Polymorphism of XRCC1 and chromosome damage in workers occupationally exposed to benzene. Zhonghua lao dong wei sheng zhi ye bing za zhi= Zhonghua laodong weisheng zhiyebing zazhi (Chinese journal of industrial hygiene and occupational diseases). 2012;30(6):423-7.
27. Xiao M, Xiao S, van der Straaten T, Xue P, Zhang G, Zheng X, et al. Genetic polymorphisms in 19q13. 3 genes associated with alteration of repair capacity to BPDE-DNA adducts in primary cultured lymphocytes. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2016;812:39-47.
28. Sinitsky MY, Minina VI, Asanov MA, Yuzhalin AE, Ponasenko AV, Druzhinin VG. Association of DNA repair gene polymorphisms with genotoxic stress in underground coal miners. Mutagenesis. 2017;32(5):501-9.
29. Xue P, Gao L, Xiao S, Zhang G, Xiao M, Zhang Q, et al. Genetic Polymorphisms in XRCC1, CD3EAP, PPP1R13L, XPB, XPC, and XPF and the Risk of Chronic Benzene Poisoning in a Chinese Occupational Population. PloS one. 2015;10(12):e0144458.
30. Salehian P, Hassani M, Naderi M, Pooladi A. Comparison of XRCC1Arg399Gln Polymorphism in Endometriosis and Healthy Women. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2015;5(20):119-25.

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2018.8.2.14.2]

Original Article

The Association Between Polymorphism XRCC1 (rs25487) and the Susceptibility of Chemical Industry Workers to Benzene

Mousavi N[1], Tafvizi F[1*], Mansoori Y[2, 3]

1. Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran
2. Noncommunicable Diseases Research Center, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
3. Department of Medical Genetics, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

Received: 15 Dec 2017 Accepted: 14 Mar 2018

Abstract

Background & Objective: Benzene, as a carcinogenic compound, can damage DNA by producing free oxygen radicals. Benzene effects have been reported in the blood system. It seems that XRCC1 gene, as a gene involved in the repair of damaged bases, plays a role in the sensitivity of individuals to benzene. The purpose of this study was to investigate the association between rs25487 polymorphism in XRCC1 gene and the susceptibility of chemical industry workers against benzene.
Material & Methods: In this case-control study, 60 cases and 60 controls who were exposed to benzene for 2 consecutive years were examined. People who did not have any changes in blood parameters were selected as the control group and those who have shown lymphocytes outside the normal range were considered as a case group. Blood samples were collected from chemical workers. Gene polymorphism was determined by RFLP-PCR using MSP1enzym.
Results: There was no significant difference between allelic frequencies A and G (P >0.05). No significant association was found between XRCC1 polymorphism and benzene susceptibility and lymphocytic abnormalities (OR: 1.43, 95% CI (0.47 - 4.31), P = 0.52).
Conclusion: It seems that rs25487 polymorphism in the XRCC1 gene does not play a role in the sensitivity of individuals to benzene. Of course, due to the role of XRCC1 gene in response to DNA damage, other polymorphisms of this gene and polymorphism that are targeted in this study are evaluated at a wider level.

Keywords: Polymorphism, XRCC1, Benzene, RFLP-PCR

***Corresponding Author: Farzaneh Tafvizi,** Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran
Email:farzanehtafvizi54@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-3595-5021

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2018.8.2.14.2]

Journal of Fasa University of Medical Sciences 8 (2018): 718-726