SULT1A1 R213H gen polimorfizmi ile mide kanseri arasındaki ilişki

Relationship between gastric cancer and SULT1A1 R213H gene polymorphism

Sevim KARAKAŞ ÇELİK[1], Nurcan ARAS ATEŞ[2], Badel ARSLAN MAMUR[2], Mehmet Özgür TÜRKMENOĞLU[3]

Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, [1]Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak

Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, [2]Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, [3]Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Mersin

Giriş ve Amaç: *Ülkemizde gastrointestinal sistem kanserleri, akciğer kanserinden sonra en sık görülen kanserlerden birisidir. Mide kanseri ise gastrointestinal sistem kanserlerinin en sık rastlanılan tümörüdür. Yapılan çalışmalar, ksenobiyotik metabolizmasından sorumlu genlerdeki polimorfizmlerin bireylerin kanser riskini değiştirebileceği üzerine yoğunlaşmaktadır. Sülfotransferazlar, ksenobiyotik metabolize eden enzim grubunda bulunmakta olup, bu enzim grubu endojen ve eksojen kimyasalların detoksifikasyonu ve biyoaktivasyonunda rol oynamaktadırlar. Bu çalışmada SULT1A1 gen polimorfizmi ile mide kanseri arasında ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.* ***Gereç ve Yöntem:*** *SULT1A1 geni R213H polimorfizmi 59 mide kanseri hastası ve 80 kontrol bireyde polimeraz zincir reaksiyonu/restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.* ***Bulgular:*** *Kontrol grubu ile hasta grubunu oluşturan mide kanserli bireyler karşılaştırıldığında, SULT1A1 Arg/His genotipini taşımanın mide kanseri açısından koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (p=0.017). Ayrıca sigara içmeyen bireylerde Arg/His genotipinin koruyuculuk etkisinin daha da belirginleştiği dikkat çekmektedir.* ***Sonuç:*** *Sonuç olarak elde edilen bulgular SULT1A1 His polimorfizmini heterozigot taşıyan bireylerin mide kanseri patogenezinde rol oynayan karsinojenlere karşı daha iyi bir koruma sistemleri olduğunu göstermektedir.*

Anahtar kelimeler: *SULT1A1, polimorfizm, mide kanseri, sülfotransferaz, faz II*

Background and Aims: *After lung cancer, gastrointestinal cancer is one of the most common cancers in our country. Gastric cancer is the most common gastrointestinal cancer. Recent studies have been focused on polymorphisms in genes responsible for xenobiotic metabolism that may alter the risk of cancer. Sulfotransferases are in the group of xenobiotic metabolizing enzymes involved in the bioactivation and detoxification of endogenous and exogenous chemicals. In this study, we aimed to investigate the relationship between SULT1A1 gene polymorphisms and gastric cancer.* ***Material and Methods:*** *SULT1A1 R213H gene polymorphisms were determined in 59 gastric cancer patients and 80 control subjects by using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism.* ***Results:*** *Our results indicate that SULT1A1Arg/His genotype carriers have increased protection against gastric cancer compared with the control group. In addition, it is noteworthy that the protective effect of the Arg/His genotype is more pronounced in non-smoking individuals.* ***Conclusion:*** *These findings suggest that heterozygous individuals for the SULT1A1 R213H polymorphism have better protection against carcinogens that play a role in the pathogenesis of gastric cancer.*

Key words: *SULT1A1, polymorphism, gastric cancer, sulfotransferase, phase II*

GİRİŞ

20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren mide kanserinin mortalitesi ve insidansı tüm dünyada hızla düşmeye başlamış olmasına rağmen mide kanseri tüm kanserler arasında mortalite açısından akciğer kanserinden sonra ikinci sırayı almaktadır (1). Türkiye, Asya'nın bir bölümü ve Güney Amerika hala mide kanseri insidansının en yüksek olduğu bölgelerdir (2). Yapılan çalışmalar mide karsinogenezisinin multifaktöriyel bir mekanizma olduğunu göstermiş olup çok sayıda genetik değişimin birikmesi sonucu ortaya çıkmaktadır (3).

Doğada bulunan veya metabolize olan birçok bileşik DNA'ya entegre olabilmekte ve bu durum kansere yol açabilmektedir. İnsan kanserlerinin %80'inden fazlasına çevresel karsinojenlerin neden olduğu bildirilmektedir. Dolayısıyla bu zararlı bileşiklerin metabolizmasında yer alan enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin kansere yatkınlıkta bireylerarası farklılıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir (4).

Sülfotransferazlar, endojen ve eksojen bileşiklerin detoksifikasyonunda rol alan bir enzim grubu olup, detoksifikasyon ve biyoaktivasyonda rol oynamaktadırlar. İnsan aril sülfotransferaz (hum SULT1A1) enzimi karaciğer, gastrointestinal kanal, böbrek ve akciğer gibi değişik dokularda bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar bireyler arasında SULT1A1 aktivitesinin yüksek oranda (50 kata varan) varyasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu kişiler arasındaki varyasyonunun yüksek oranda SULT1A1 genindeki kodlanan bölgede 7. exonda yer alan G-A tek nükleotid

İletişim: Sevim KARAKAŞ ÇELİK
Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak
Tel: +90 372 261 32 21 • E-mail: sevimkarakas@hotmail.com

Geliş Tarihi: 14.08.2014 • **Kabul Tarihi:** 08.09.2014

değişiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. SULT1A1 genindeki tek nükleotidlik bu değişim sonucunda proteinde de 213. pozisyonda arginin/histidin (Arg/His) dönüşümü meydana gelmekte olup homozigot histidin (His/His), homozigot arjinin (Arg/Arg) ve heterozigot Arg/His olmak üzere 3 tip genotip tanımlanmıştır (5-8). SULT1A1 geni Arg/His dönüşümü sulfotransferaz enziminin azalması ve termal stabilitesinin düşmesi ile yaşam süresince karşı karşıya kalınan çevresel karsinojenlerin detoksifikasyon veya prokarsinojenlerin aktivasyonunda azalmaya yol açacaktır (9, 10). Ksenobiyotikleri metabolize eden enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizmin kişilerin kansere duyarlılığında da önemli rol oynadığı göz önünde bulundurularak, bu çalışmada mide kanserli hasta grubu ve birbiriyle akrabalık ilişkisi bulunmayan kontrol grubu, SULT1A1 gen polimorfizmi açısından karşılaştırılmış ve SULT1A1 gen polimorfizmi ile mide kanseri arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

SULT1A1 gen amplifikasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR, polymerase chain reaction) yöntemiyle F-5'-GTT GGC TCT GCA GGG TTT CTA GGA-3' ve R-5'CCC AAA CCC CCT GCT GGC CAG CAC CC-3' primerleri kullanılarak yapıldı. PCR ortamı her bir örnek için; 20-100 ng genomik DNA, 100 µm dNTP mix, 20 pmol primerlerin her birinden, 1 mM MgCl2, 1 mM 10 x PCR buffer (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) ve 1U Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) olacak şekilde 25 µl'lik reaksiyon hacminde hazırlandı. Amplifikasyon, otomatik bir thermal cycler (Techne Flexigene, Cambridge, UK) kullanılarak gerçekleştirildi. PCR koşulları; 1 döngü 95 °C 3 dak., 35 döngü 94 °C 30 saniye, 59 °C 45 sn, 72 °C 30 sn ve 1 döngü 72 °C 7 dak olacak şekilde gerçekleştirildi.

SULT1A1 geninin R213H polimorfizmi, HaeII restriksiyon enzimleri kullanılarak belirlenmiştir. PCR ürünleri (15µl) 2 saat 37 °C'de 5 ünite HaeII (MBI Fermentas) ile inkübasyona bırakıldı. Kesim sonucu elde edilen 168 bp ve 165 bp'lik bantlar GG, 333 bp, 168 bp ve 165 bp'lik bantlar AG, 333 bp'lik tek bant ise AA genotipi olarak değerlendirilmiştir.

SULT1A1 geni R213H polimorfizmi ile mide kanseri arasındaki ilişkiyi inceleyen analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 18 paket programda yapılmıştır.

BULGULAR

Mide kanserinin sülfotransferaz SULT1A1 R213H polimorfizmi ve sigara ile ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmada mide kanserlilerin %42.4'ü sigara kullanırken, %57.6'sı ise sigara kullanmayan bireylerden oluşmaktadır. Kontrol grubunun ise %25'i sigara kullanırken, %75'i sigara kullanmayan bireylerden oluşmaktadır. Sigara içen bireyler, sigara içmeyen bireylere göre 2.2 kat daha fazla hastalık riski taşımaktadır ve bu sonuç istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (Tablo 1).

SULT1A1 R213H polimorfizmi genotiplerine ait bulgular incelendiğinde; 80 bireyden oluşan kontrol grubunda 5 birey AA, 31 birey AG, 44 birey GG genotipine sahipken mide kanserli 59 hastadan oluşan hasta grubunda ise 6 bireyin AA, 10 bireyin AG ve 43 bireyin de GG genotipine sahip olduğu belirlendi (Tablo 2).

SULT1A1 R213H polimorfizmi alel ve genotiplerinin hastalıkla ilişkisi "çoklu lojistik regresyon analizi" ile incelendiğinde; kontrol ve hasta grubundaki AA, AG ve GG genotipine sahip bireyler birbirleriyle kıyaslandığında mide kanseri açısından AG genotipinin koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu polimorfizme ait alel frekanslarında ise hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (p=0.192).

Kontrol grubu ve mide kanserli bireylerde SULT1A1

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması, cinsiyet, sigara kullanımı ve tümör tipi açısından dağılımı

	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	p değeri	OR ‡95% CI
Toplam	80 (100)	59 (100)		
Yaş ortalaması±SD	54.16±11.2	57.88±10.6	0.56	
Cinsiyet				
Erkek	38 (47.5)	38 (64.4)		
Kadın	42 (52.5)	21 (35.6)	0.59	2.0 (1.0-3.9)
Sigara kullanma				
İçmiyor	60 (75.0)	34 (57.6)		
İçiyor	20 (25.0)	25 (42.4)	0.43	2.2 (1.07- 4.54)

OR: Odds ratio, CI: Confidence interval

Tablo 2. SULT1A1 R213H polimorfizminin genotip ve alel dağılımları

	Kontrol (N= 80)	Mide Kanseri (N=59)		
	n (%)	n (%)	OR ‡	95% CI
Genotip				
GG	44 (55.0)	43 (72.9)	1 (reference)	
AA	5 (6.3)	6 (10.2)	1.2	0.34-4.32
AG	**31 (38.8)**	**10 (16.9)**	**0.33**	**0.14-0.75**
Alel				
G	118 (74.2)	96 (81.4)	1 (reference)	
A	41 (25.8)	22 (18.6)	0.66	0.36-1.18

OR: Odds ratio, CI: Confidence interval

Tablo 3. Kontrol ve hasta gruplarındaki bireylerin sigara durumuna göre SULT1A1 R213H polimorfizminin genotip dağılımları

SULT1A1 R213H polimorfizmi		Kontrol	Hasta	P	OR
		Sigara İçmeyen	Sigara İçmeyen		
		Sigara İçen	Sigara İçen		
	GG	31 (51.7)	25 (73.5)	0.75	Reference
	Arg/Arg N (%)	13 (65.0)	18 (72.0)	0.03	Reference
	AA	3 (5.0)	3 (8.8)		1.2 (0.2-6.6)
	His/His N (%)	2 (10.0)	3 (12.0)		1.08 (0.1-7.4)
	AG	**26 (43.3)**	**6 (17.6)**		**0.2 (0.1-0.8)**
	Arg/His N (%)	5 (25.0)	4 (16.0)		0.5 (0.1-2.5)

OR: Odds ratio

R213H polimorfizminin genotip sıklıklarının sigara kullanım durumuna göre dağılımı Tablo 3'te verilmiştir. Sigara kullanımı ile SULT1A1 R213H polimorfizminin genotip oranları ve mide kanseri arasındaki ilişki incelendiğinde; sigara içmeyen hastalarda AG genotipinin koruyucu etkisi olduğu görülmektedir (p=0.03).

TARTIŞMA

Mide kanserinin sülfotransferaz SULT1A1 R213H polimorfizmi ile ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmada, mide kanseri açısından AG genotipinin koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Bundan önce mide kanseri ile SULT1A1 R213H polimorfizmi arasındaki ilişki Tayvan ve İtalya popülasyonlarında incelenmiş olup elde edilen veriler oldukça çelişkilidir. Tayvan popülasyonunda yapılan çalışmada mide kanseri ile SULT1A1 gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunamazken İtalya'da yapılan çalışmada His/His genotipini taşıyanlarda mide kanseri riskinin anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir (11,12).

Bunun yanı sıra SULT1A1 R213H polimorfizmi ile kolorektal kanser arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalara da baktığımızda elde edilen verilen birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Bamber ve ark. kolorektal kanser riskinin His/His varyant alelini taşıyanlarda arttığını göstermekle birlikte (13) Tiemersma ve ark. ise Arg/Arg genotipini taşıyanlarda kolorektal kanser riskinin arttığını tespit etmişlerdir (14). Ancak diğer çalışmalarda kolorektal kanser ile SULT1A1 genotipleri arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (15-17).

Sülfonasyon çok çeşitli ksenobiyotikler ve endojen komponentler için önemli bir detoksifikasyon mekanizmasıdır. Ancak bunun yanı sıra diyetle alınan veya çevresel mutajenlerin biyoaktivasyonundan da sorumludur (18,19). Bu nedenle His mutasyonunu taşımak sülfonasyonun yaygın olduğu dokularda kanserleşme açısından koruyucu bir etki yapabileceği gibi bu mutasyonu taşıyanlarda kanser riskinin artmasına da yol açabilecektir. Ayrıca toplumlar arasında beslenme şekillerindeki ve yaşam tarzlarındaki farklılıklar nedeni ile maruz kalınan çevresel kontaminantlar da farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle de yapılan çalışmalarda elde edilen veriler farklılık göstermektedir.

Bizim çalışmamızda ise mide kanseri ile SULT1A1 R213H polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen diğer iki çalışmadan farklı olarak Arg/His genotipini taşımanın mide kanseri açısından koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Mutasyonu heterezigot taşıyanların Arg/Arg homozigot (yüksek enzim aktivitesi) bireylere oranla mide kanserine yakalanma riskindeki azalma biyotransformasyonla prokarsinojen maddeleri daha karsinojen aktif maddelere metabolize etme hızlarındaki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca His/His (yavaş enzim aktivitesi) homozigotlara oranla mide kanseri riskindeki azalmanın nedeni ise Arg/His alelini taşıyanlarda detoksifikasyonun His/His alelini taşıyanlara oranla daha etkili olması olabilir. Yani mutasyonu heterozigot olarak taşıyan bireyler homozigot yabanıl veya mutant alel taşıyıcılarına oranla daha az biyotransformasyon ve daha etkin detoksifikasyon yaptıklarından mutasyonu heterozigot taşımak koruyucu etki göstermektedir. Ayrıca sigara içmeyen bireylerde Arg/His genotipinin koruyuculuk etkisinin daha da belirginleştiği ancak sigara içenlerde koruyucu etki göstermemesi de bizim hipotezimizi doğrulamaktadır. Sigara içmeyen bireyler sigara dumanı ile polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve arilaminler gibi potansiyel karsinojenlere daha az miktarda maruz kaldığından, prekarsinojenlerin biyotransformasyonundaki etkinliği daha anlamlı olacaktır. Ancak sigara içen bireyler daha güçlü bir detoksifikasyon mekanizmasına ihtiyaç duyacaklardır. Bu nedenle de biyotrasnformasyon hızına bakılmaksızın detoksifikasyondaki azalma onlar için olumsuz bir etki yapacaktır.

Sonuç olarak; bu çalışmada, Arg/His genotipini taşımanın mide kanseri açısından koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir ve sigara içmeyen bireylerde Arg/His genotipinin koruyuculuk etkisinin daha da belirginleştiği gösterilmiştir. Mide kanserin ortaya çıkmasından pek çok faktör sorumludur. Her toplumun demografik, sosyoekonomik, psikofizyolojik, kültürel ve beslenme şekillerine bağlı olarak maruz kaldığı karsinojenik maddeler de değişiklik göstermektedir. Bu nedenle farklı etnik toplumlarda yapılacak ve çevresel karsinojenlere maruziyetin de içinde bulunduğu kombine çalışmalar SULT1A1 R213H polimorfizminin mide kanseri üzerindeki etkisini aydınlatmakta oldukça faydalı olacaktır. Ayrıca ksenobiyotik metabolizmasında görevli farklı genlerdeki polimorfizmlerle yapılacak olan kombine bir çalışma, daha anlamlı sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. New Engl J Med. 1995;333:32-41.
2. Eser S, Yakut C, Özdemir R, et al. Cancer incidence rates in Turkey in 2006: a detailed registry based estimation. Asian Pac J Cancer Prev 2010;11:1731-9.
3. Zabaleta J. Multifactorial etiology of gastric cancer. Methods Mol Biol 2012;863:411-35.
4. Herceg Z, Vaissière T. Epigenetic mechanisms and cancer: an interface between the environment and the genome. Epigenetics 2011;6:804-19.
5. Dooley TP. Molecular Biology Of The Human Phenol Sulfotransferase Gene Family. J Exp Zool 1998;230:223-82.
6. James MO, Ambadapadi S. Interactions of cytosolic sulfotransferases with xenobiotics. Drug Metab Rev 2013;45:401-14.
7. Kodama S, Negishi M. Sulfotransferase genes: regulation by nuclear receptors in response to xeno/endo-biotics. Drug Metab Rev 2013;45:441-9.
8. Su CM, Chen MC, Lin IC, et al. Association between the SULT1A1 Arg213His polymorphism and the risk of bladder cancer: a meta-analysis. Tumour Biol 2014;35:7147-53.
9. Nagar S, Walther S, Blanchard RL. Sulfotransferase (SULT) 1A1 polymorphic variants *1, *2, and *3 are associated with altered enzymatic activity, cellular phenotype, and protein degradation. Mol Pharmacol 2006;69:2084-92.
10. Coughtrie MW. Sulphation catalysed by the human cytosolic sulphotransferases: chemical defence or molecular terrorism? Hum Exp Toxicol 1996;15:547-55.
11. Peng CT, Chen JC, Yeh KT, et al. The relationship among the polymorphisms of SULT1A1, 1A2 and different types of cancers in Taiwanese. Int J Mol Med 2003;11:85-9.
12. Boccia S, Persiani R, La Torre G, et al. Sulfotransferase 1A1 polymorphism and gastric cancer risk: a pilot case-control study. Cancer Lett 2005;229:235-43.
13. Bamber DE, Fryer AA, Strange RC ve ark. Phenol sulphotransferase SULT1A1*1 genotype is associated with reduced risk of colorectal cancer. Pharmacogenetics 2001;11:679-85.
14. Tiemersma EW, Bunschoten A, Kok FJ, et al. Effect of SULT1A1 cigarette smoking colorectal adenomas. Int J Cancer 2003;108:97-103.
15. Wong CF, Liyou N, Leggett B, et al. Association of the SULT1A1 R213H polymorphism with colon cancer. Clin Exp Pharmacol Physiol 2002;29:754-8.
16. Moreno V, Glatt H, Guino E, et al. Polymorphisms in sulfotransferases SULT1A1 and SULT1A2 are not related to colorectal cancer. Int J Cancer 2005;113:683-6.
17. Nowell S, Coles B, Sinha R ve ark. Analysis of total meat intake and exposure to individual heterocyclic amines in a case-control study of colorectal cancer: contribution of metabolic variation to risk. Mutat Res 2002;506-507:175-85.
18. Negishi M, Pedersen LG, Petrotchenko E ve ark. Structure and function of sulfotransferases. Arch Biochem Biophys 2001;390:149-57.
19. Leyh TS, Cook I, Wang T. Structure, dynamics and selectivity in the sulfotransferase family. Drug Metab Rev 2013;45:423-30.