بررسی مقایسه تعداد کپی DNA میتوکندری در گلبول‌های سفید خون محیطی افراد وابسته به مواد اپیوییدی و افراد سالم

کوروس دیوسالار[۱]، سارا حسامی[۲]، مجید محمودی[۱*]، نویدرضا گیاهی[۳]، فاطمه دیوسالار[٤]، محمد پوررنجبر[۵]، امین هنرمند[٦]

۱- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.
۲- گروه ژنتیک پزشکی، انستیتو کانسر، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- مرکز تحقیقات علوم پزشکی، بیمارستان اختر، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
٤- گروه بهداشت و درمان، بیمارستان خاتم‌الانبیا بافت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.
۵- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.
٦- گروه طب اورژانس، بیمارستان افضلی‌پور، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

*نویسنده مسئول: کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب.
تلفن: ۰۳٤۳-۲۲٦٤۱۸۰
E-mail: mahmoodim11@gmail.com

چکیده

دریافت: ۱٤۰۱/۰٤/۲۲ ویرایش: ۱٤۰۱/۰٤/۲۹ پذیرش: ۱٤۰۱/۰٦/۲۵ آنلاین: ۱٤۰۱/۰۷/۰۱

زمینه و هدف: افراد سوء مصرف‌کننده مواد اپیوییدی دست‌خوش ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها می‌باشند. در این مطالعه تعداد کپی DNA میتوکندری در گلبول‌های سفید خون محیطی یک گروه از افراد سوء مصرف‌کننده مواد اپیوییدی در مقایسه با افراد سالم بررسی شده است.

روش بررسی: در یک مطالعه مورد-شاهدی که از آذرماه ۱۳۹۷ تا اسفند ماه ۱۳۹۸ به طول انجامید. به میزان پنج ml خون محیطی ۳۲ فرد وابسته به تریاک، ۲٤ فرد وابسته به هرویین و ۲۵ فرد سالم جمع‌آوری گردید. افراد گروه‌های مورد به درمانگاه ترک مواد مخدر جهت ترک مواد مراجعه نمودند. جهت اندازه‌گیری تکثیر DNA میتوکندری از آزمون Real-Time PCR استفاده شد.

یافته‌ها: دو گروه مورد مطالعه و گروه کنترل از نظر شاخص‌های دموگرافیک همگون بوده و اختلاف آماری معناداری نداشتند. نتایج این بررسی نشان داد که میانگین تعداد کپی DNA میتوکندری در افراد سوء مصرف‌کننده تریاک بیشتر است نسبت به این میانگین در افراد گروه کنترل سالم (P=۰/۱۱).میانگین تعداد کپی DNA میتوکندری در افراد مصرف‌کننده هرویین هم بیشتر بود نسبت به این میانگین در افراد گروه کنترل (P=۰/۲۱).هرچند این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان‌دهنده افزایش تعداد کپی DNA میتوکندری در افراد سوء مصرف‌کننده مواد اپیوییدی است. با در نظر گرفتن اینکه تغییر در تعداد کپی DNA میتوکندری همراه با ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان می‌باشد، تحقیقات بیشتر با تعداد افراد شرکت‌کننده بیشتری مورد نیاز است که اثر سوء مصرف این مواد را بر ژنوم انسانی روشن نماید.

کلمات کلیدی: دی‌ان‌ای میتوکندری، سوء مصرف‌کننده مواد اپیوییدی، گلبول‌های سفید خون محیطی.

مقدمه

میتوکندری‌ها (Mitochondria) از جمله اندامک‌های اصلی و حیاتی سلول می‌باشند که در تمام یاخته‌های یوکاریوتیک‌ها وجود دارند. در هر سلول هسته‌دار، بستگی به نوع سلول، از چند صد تا هزار میتوکندری وجود دارد. وظیفه اصلی میتوکندری، عمل تنفس سلولی است علاوه بر آن، انرژی شیمیایی موجود در مواد غذای را با عمل فسفوریلاسیون اکسیداتیو به‌صورت پیوندهای پر انرژی فسفات

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-27]

(آدنورین تری‌فسفات) ذخیره می‌نماید.[۱] در اثر فسفوریلاسیون، گونه‌های فعال اکسیژنی داخل سلولی Reactive oxygen species (ROS) تولید می‌شوند.[۲] این اندامک‌ها در تمام سلول‌های دارای تنفس هوازی به‌جز در باکتری‌ها یافت می‌شوند. وظایف دیگر میتوکندری شامل است بر نقش آن در تمایز سلولی، تکثیر، مرگ سلولی و کنترل رشد سلولی می‌باشد.[۳]

این واحد سلولی دارای ژنوم‌های اختصاصی مستقل به خود می‌باشد. در واقع هر میتوکندری دارای ۱۰-۲ کپی از DNA اختصاص یه خود دارد که بدان DNA میتوکندری mitochondrial DNA (mtDNA) می‌نامند.[٤]

DNA میتوکندری زنجیره‌ای است به طول ۱٦/۵ کیلو دالتون، از دو رشته DNA تشکیل شده و به شکل حلقوی است.[۵] DNA میتوکندری نسبت به واکنش‌های هوازی حساس می‌باشد و در مقایسه با DNA هسته‌ای میزان موتاسیون بیشتری در آن صورت می‌گیرد.[٦]

ایجاد موتاسیون در ژنوم میتوکندری و یا کاهش تعداد کپی DNA در این اندامک باعث کاهش سنتز ATP از طریق فسفوریلاسیون اکسیداتیو و افزایش تولید ATP به طریق گلیکولیز که در داخل سیتوپلاسم سلول صورت می‌گیرد، خواهد شد.[۷] کاهش سنتز ATP به طریق فسفوریلاسیون اکسیداتیو همراه با افزایش تولید ATP به طریق گلیکولیز، معمولا منجر به اختلال در فعالیت میتوکندری و ایجاد کانسر خواهد شد.[۸]

چندین مطالعه، وابستگی افزایش تعداد کپی DNA میتوکندری را در گلبول‌های سفید خون با خطر ابتلا به سرطان‌های مختلف از جمله سرطان ریه، سرطان پانکراس، سرطان کلورکتال، گلیوما و کانسر پستان گزارش نموده‌اند.[۹و۱۰و۱۱و۱۲]

از طرفی خطر ابتلا به کانسر معده و کانسر کلیه همراه با کاهش تعداد کپی DNA میتوکندری گزارش شده است.[۱۳و۱٤] پژوهش کنونی با هدف بررسی اثر سوء مصرف مواد اپیوییدی بر تکثیر DNA میتوکندری انجام شد. در این مطالعه تعداد کپی DNA میتوکندری لنفوسیت‌های خون محیطی در افراد سوء مصرف‌کننده مواد اپیوییدی در مقایسه با تعداد کپی DNA میتوکندری لنفوسیت‌ها در افراد سالم با عدم سابقه مصرف سیگار و یا مصرف سوء مواد بررسی شد.

روش بررسی

۱- افراد مورد مطالعه و گروه کنترل: این بررسی به‌صورت یک مطالعه مورد-شاهد برروی نمونه‌های خون محیطی ۳۲ فرد وابسته به تریاک و ۲٤ فرد وابسته به هرویین که به مرکز درمان سوء مصرف مواد واقع در تهرانسر در غرب تهران مراجعه نمودند، انجام شد.این افراد بیش از دو سال مصرف‌کننده مداوم مواد اپیوییدی (به‌صورت تدخینی) بودند و تست TLC و Rapid در آن‌ها مثبت بود. نمونه‌گیری از افراد مورد مطالعه از آذر ماه ۱۳۹۷ تا اسفند ماه ۱۳۹۸، به طول انجامید.

معیارهای ورود و خروج افراد مورد مطالعه مطابق بود با معیارهای DSM-IV و تنها افرادی که وابسته به مصرف ترکیبات اپیوییدی بودند وارد مطالعه شدند. افرادی که به‌دلیل بیماری زمینه‌ای دارو مصرف می‌نمودند از مطالعه حذف شدند. جمعیت مورد و شاهد به گونه‌ای انتخاب شدند که دچار فقر مالی و به‌تبع آن دچار فقر بهداشتی و غذایی نباشند. رضایت‌نامه آگاهانه پیش از گرفتن نمونه خون اخذ گردید.

از افراد گروه مورد، یک پرسشنامه ساده شامل اطلاعات دموگرافیک و نوع ماده مصرفی، طریق مصرف مواد، آخرین تاریخ مصرف و مدت اعتیاد جمع‌آوری و با اختصاص یک کد به هر فرد و نمونه خون دریافتی از فرد آزمایش شونده توسط محققین قابل اعتماد گرفته شد. گروه کنترل هم متشکل از ۲۵ فرد سالم غیرسیگاری بدون سابقه مصرف مواد بودند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تصویب شد.

۲- اندازه‌گیری تکثیر DNA میتوکندری با آزمون کمی Real-Time PCR: مقدار پنج ml از خون وریدی از هر داوطلب شرکت‌کننده گرفته شد. در ابتدا تمام DNA گلبول‌های سفید خون محیطی، شامل DNA هسته‌ای و DNA متوکندری از نمونه خون هر کدام از افراد مصرف‌کننده مواد اپیوییدی و یا افراد گروه کنترل سالم براساس روش Salting out استخراج شد.[۱۵]

سپس غلظت و خلوص DNA با روش UV-Spectrophotometry تعیین گردید. نمونه‌های DNA در فریزر ۲۰ °C- نگهداری شدند. اندازه‌گیری تعداد کپی DNA میتوکندری از DNA استخراج شده از هر نمونه با بکارگیری روش Quantitative Real-Time PCR و با استفاده از دستگاه Rotor-Gene Q (Qiagen) و مسترمیکس سایبرگرین (Premix Ex Taq II kit, Takara, Japan) انجام شد.

در این آزمون طبق روش شرح داده شده اندازه‌گیری کمیت تعداد کپی DNA با بکارگیری دو عدد ژن،یکی ژن میتوکندری،

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-27]

دی‌هیدروژنز dehydrogenase subunit1 (ND1 gene-) و دیگری ژن هسته‌ای human globulin nuclear (HGB) انجام شد.[۱۶]

ابتدا پریمرهای لازم را (forward primer و reverse primer) جهت این دو عدد ژن انتخاب و سفارش داده شد. پس از تکثیر با روش کمی Real-Time PCR تعداد کپی DNA تکثیریافته را برای هر کدام از نمونه‌های DNA افراد و برای هر کدام از این دو ژن تعیین نمودیم و سپس نسبت تعداد DNA ژن میتوکندی (ND1 gene-) به تعداد DNA ژن هسته‌ای (HGB) را برای هر نمونه خون به‌دست آوردیم.

این نسبت و یا عدد به‌دست آمده متناسب خواهد بود با تعداد کپی DNA تکثیریافته ژن میتوکندی و سپس میانگین این نسبت برای هر گروه، افراد مصرف‌کننده و یا گروه افراد سالم محاسبه شد.

روش‌های آماری: آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS software, version 16 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) صورت گرفت. میانگین همراه با انحراف معیار هر یک از گروه‌ها محاسبه شد. از Student's t test جهت بررسی تفاوت معنادار بین گروه سوء مصرف کننده تریاک در مقایسه با گروه افراد سالم، همین‌طور بین دو گروه مصرف‌کننده هرویین و گروه افراد سالم و مقایسه دو گروه سوء مصرف‌کننده تریاک و مصرف‌کننده هرویین استفاده شد. سطح معناداری در این گروه ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

جهت تعیین تعداد کپی DNA میتوکندری از روش Real-time quantitative PCR استفاده شد. همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده، میانگین تعداد کپی DNA میتوکندری در افراد سوء مصرف‌کننده تریاک معادل ۸٤/۰٦±٥٦/۸۲ می‌باشد که بیشتر است نسبت به این میانگین در افراد گروه کنترل که معادل ٦٥/۰٤±۳۰/۱۱ است (P=۰/۱۱).

میانگین تعداد کپی DNA میتوکندری در افراد مصرف‌کننده هرویین معادل ۷٥/۹٤±٥۷/۷۱ می‌باشدکه آن هم بیشتر از نسبت به این میانگین در افراد گروه کنترل که معادل ٦٥/۰٤±۳۰/۱۱ است (P=۰/۲۱). هر چند این دو اختلاف از نظر آماری معنادار نبود. همین‌طور تفاوت معنادار بین گروه سوء مصرف‌کننده تریاک و گروه مصرف‌کننده هرویین مشاهده نشد (P=۰/۲۲). سپس بررسی شد که آیا تعداد کپی DNA میتوکندری با در نظر گرفتن فاکتورهایی از قبیل طریق مصرف مواد اپیوییدی (تدخینی و یا خوراکی)، سن افراد مصرف‌کننده، نوع مواد اپیوییدی و مقدار مصرف در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری دارد. در هیچ یک از موارد ذکره شده تفاوت معناداری در میانگین تعداد کپی DNA میتوکندری در افراد سوء مصرف‌کننده مواد اپیوییدی در مقایسه با گروه کنترل سالم مشاهده نشد.

بحث

آسیب و یا صدمه میتوکندری که شامل موتاسیون در DNA میتوکندری و یا اختلال در تعداد کپی‌های DNA میتوکندری می‌باشد در بعضی از کانسرها شامل کانسر معده، کانسر کلیه و کانسر مخاط رحم تشخیص داده شده که دال بر آن است که تشخیص صدمه در DNA میتوکندری با بروز کانسر ارتباط دارد ولی هنوز چگونگی این ارتباط مشخص نیست.[۱۷و۱۸و۱۹]

جدول ۱: خصوصیات افراد وابسته به مواد اپیوییدی و افراد گروه کنترل سالم شرکت‌کننده در این مطالعه

گروه‌ها	مرد	زن	میانگین±انحراف معیار	٪۹٥CI	P*
افراد وابسته به تریاک	۳۱	۱	۳۸/۱٦±۱۰/۳۹	(۳٤/٤۱-٤۱/۹)	۰/٤۱٥
افراد وابسته به هرویین	۲٤	۰	۳۷/۸±۸/۱٦	(۳٤/٤۱-۳۰/۲)	۰/٤۱٥
افراد گروه کنترل سالم	۲٤	۱	۳٤/۹±۱۰/۲۳	(۳۰/۳۹-٦٦/۱)	
مجموع	۷۹	۲	۳۷/۰۲±۹/۷۲	(۳٤/۳۹-۸۷/۱۷)	

CI: confidence interval

*آزمون آماری Student's t test، مقادیر معنادار P<۰/۰٥

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-27]

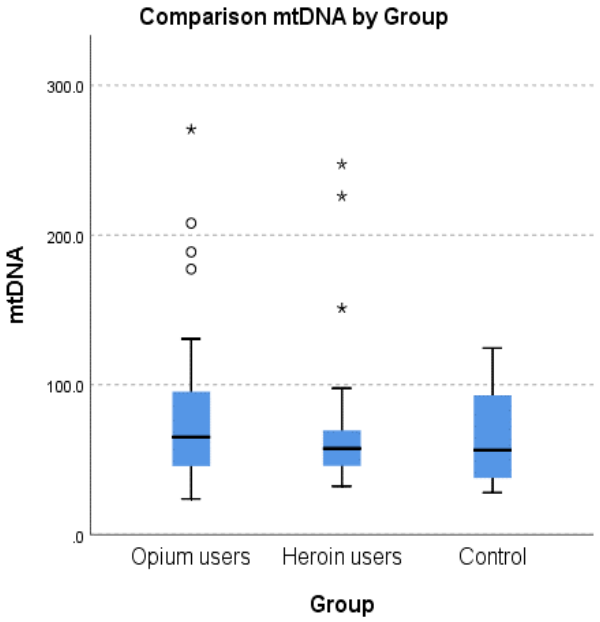
در این مطالعه تعداد نسبی DNA میتوکندری در گلبول‌های سفید خون محیطی یک گروه از افراد سوء مصرف‌کننده مواد اپیوییدی در مقایسه با آن در افراد سالم گروه کنترل با بکارگیری روش Quantitative Real time PCR بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین تعداد کپی DNA میتوکندری در افراد سوء مصرف‌کننده مواد اپیوییدی بیشتر است نسبت به این میانگین در افراد سالم. مطالعات بسیار محدودی در مورد اثر مواد اپیوییدی بر DNA میتوکندری صورت گرفته است. (نمودار ۱)

در یک مطالعه که توسط Sadakierska-Chudy و همکارانش انجام گرفته، نشان داده‌اند که مصرف کوکایین در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی باعث افزایش تعداد کپی DNA میتوکندری در سلول‌های خونی آن‌ها می‌گردد.[۲۰]

در مطالعه دیگری که توسط Ebrahimi و همکارانش انجام گرفته، تعداد کپی DNA میتوکندری در سه گروه افراد شامل ٤٥ نفر از افراد مصرف‌کننده تریاک و ٤٧ نفر مصرف‌کننده تریاک و سیگار در مقایسه با ۷۲ نفر افراد سالم بدون سابقه مصرف سیگار و یا مصرف مواد دیگر بررسی شدند. نتایج آن‌ها نشان داد که تعداد کپی DNA میتوکندری در هر دو گروه مصرف‌کننده تریاک و مصرف‌کننده تریاک توام با سیگار به‌طور معناداری نسبت به گروه افراد سالم بیشتر است.[۱۶] در حالی‌که در مطالعه دیگری که توسط Feng و همکارش در افراد وابسته به هرویین انجام شده، نشان داده شده که سوء مصرف این ماده باعث کاهش تعداد کپی DNA میتوکندری در سلول‌های خونی آن‌ها می‌شود.[۲۱]

براساس گزارشات، دود تریاک که توسط سوء مصرف‌کننده تریاک استنشاق می‌گردد حاوی ترکیبات حلقوی هیدروکربن (PAH) polycyclic aromatic hydrocarbons می‌باشد که سرطان‌زایی این ترکیبات به اثبات رسیده است.[۲۲]

در یک مطالعه که توسط Pavanello و همکارانش انجام شده، آن‌ها تعداد کپی DNA میتوکندری لوکسیت‌های خون محیطی ٤٦ آشپز مرد غیرسیگاری که مواجه با گازهای متصاعد شده از oven که حاوی ترکیبات هیدروکربن PAH می‌باشد را بررسی نمودند و مشاهده نمودند که تعداد DNA میتوکندری در این افراد به‌طور معناداری از افراد مشابه و سالم غیرسیگاری بیشتر است.این محققین به تاثیرات سوء ترکیبات هیدروکربن PAH بر ژنوم انسانی که همراه با افزایش تعداد کپی DNA میتوکندری می‌باشد، پی بردند.[۲۳]



نمودار ۱: میانگین تعداد کپی DNA میتوکندری در گروه افراد سوء مصرف‌کننده تریاک و گروه افراد مصرف‌کننده هرویین در مقایسه با گروه کنترل سالم. از آزمون کمی Real-Time PCR جهت اندازه‌گیری تعداد کپی DNA میتوکندری استفاده شد.

ترکیبات هیدروکربن PAH از قبیل بنزوالفاپرین (Benzo (alpha]pyrene در طبیعت یافت می‌شوند و از جمله آلاینده‌های سرطان‌زا می‌باشند که طبق بعضی از گزارشات اثرات سوء آن‌ها بیشتر به‌علت تاثیر بر سیستم ایمنی میزبان خصوصا سلول‌های دفاعی این سیستم از جمله ماکروفاژها می‌باشند.[۲٤] علاوه بر این، مطالعات معدودی انجام شده دال بر اینکه تغییر در تعداد کپی DNA میتوکندری همراه با ابتلا به بعضی از بیماری‌ها از جمله سرطان می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط He و همکارانش انجام شده، آن‌ها تعداد کپی DNA میتوکندری را در لوکوسیت‌های خونی ۱٤۳ بیمار مبتلا به ضایعات دهانی پیش از بدخیم شدن در مقایسه با ۳۵۷ فرد سالم که از نظر سن، جنس و نژاد با افراد گروه بیمار تطبیق داده شده بودند را مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه مذکور نشان داد که میانگین تعداد کپی DNA میتوکندری در گروه بیماران به‌طور معناداری بیش از میانگین مذکور در گروه افراد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-27]

سالم می‌باشد. آن‌ها نتیجه گرفتند که خطر ابتلا به ضایعات دهانی بدخیم در بیماران همراه است با افزایش تعداد کپی DNA میتوکندری در آن‌ها.[۲۵]

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میانگین تعداد کپی DNA میتوکندری در گلبول‌های سفید خون محیطی افراد سوء مصرف‌کننده مواد اپیوییدی بیشتر است نسبت به این میانگین در افراد سالم. با در نظر گرفتن اینکه نقش اصلی میتوکندری‌ها در تنفس سلولی است و از طرفی تغییر در تعداد کپی DNA میتوکندری همراه با ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان می‌باشد، مطالعات بیشتر با تعداد افراد شرکت‌کننده بیشتری مورد نیاز است که تاییدی بر سوء مصرف این مواد بر ژنوم انسانی باشد. (جدول ۲)

جدول ۲: میانگین همراه با انحراف معیار تعداد کپی DNA میتوکندری در افراد وابسته به مواد اپیوییدی و افراد گروه کنترل سالم شرکت‌کننده در این مطالعه

گروه‌ها	تعداد	میانگین±انحراف معیار	P*
افراد وابسته به تریاک	۳۲	۸٤/۰٦±٥٦/۸۲	۰/۱۱
افراد وابسته به هرویین	۲۲	۷٥/۹٤±٥۷/۷۱	۰/۲۱
افراد گروه کنترل سالم	۲٥	٦٥/۰۳±۳۰/۱۱	
مجموع	۷۹	۷٥/٦٥±٥۰/۰٥	

*آزمون آماری Student's t test، مقادیر معنادار P<۰/۰۵

References

1. Hatefi Y. The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. *Annu Rev Biochem* 1985;54:1015-69.
2. Lee HC, Wei YH. Mitochondrial biogenesis and mitochondrial DNA maintenance of mammalian cells under oxidative stress. *Int J Biochem Cell Biol* 2005;37(4):822-34.
3. Chandhok G, Lazarou M, Neumann B. Structure, function, and regulation of mitofusin-2 in health and disease. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2018;93(2):933-49.
4. Clay Montier LL, Deng JJ, Bai Y. Number matters: control of mammalian mitochondrial DNA copy number. *J Genet Genomics* 2009;36(3):125-31.
5. Kiefel BR, Gilson PR, Beech PL. Cell biology of mitochondrial dynamics. *Int Rev Cytol* 2006;254:151-213.
6. Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet* 2005;6(5):389-402.
7. Shadel GS. Expression and maintenance of mitochondrial DNA: new insights into human disease pathology. *Am J Pathol* 2008;172(6):1445-56.
8. Qian W, Van Houten B. Alterations in bioenergetics due to changes in mitochondrial DNA copy number. *Methods* 2010;51(4):452-7.
9. Lynch SM, Weinstein SJ, Virtamo J, Lan Q, Liu CS, Cheng WL, et al. Mitochondrial DNA copy number and pancreatic cancer in the alpha-tocopherol beta-carotene cancer prevention study. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011;4(11):1912-9.
10. Qu F, Liu X, Zhou F, Yang H, Bao G, He X, et al. Association between mitochondrial DNA content in leukocytes and colorectal cancer risk: a case-control analysis. *Cancer* 2011;117(14):3148-55.
11. Shen J, Song R, Lu Z, Zhao H. Mitochondrial DNA copy number in whole blood and glioma risk: A case control study. *Mol Carcinog* 2016;55(12):2089-94.
12. Lemnrau A, Brook MN, Fletcher O, Coulson P, Tomczyk K, Jones M, et al. Mitochondrial DNA Copy Number in Peripheral Blood Cells and Risk of Developing Breast Cancer. *Cancer Res* 2015;75(14):2844-50.
13. Wu CW, Yin PH, Hung WY, Li AF, Li SH, Chi CW, et al. Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial DNA depletion in gastric cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2005;44(1):19-28.
14. Xing J, Chen M, Wood CG, Lin J, Spitz MR, Ma J, et al. Mitochondrial DNA content: its genetic heritability and association with renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2008;100(15):1104-12.
15. Suguna S, Nandal D, Kamble S, Bharatha A, Kunkulol R. Genomic DNA isolation from human whole blood samples by non enzymatic salting out method. *Int J pharm pharm sci* 2014;6(6):198-9.
16. Ebrahimi E, Akhavan MH, Akrami R, Mahmoodi M, Hesami S, Hashemi M, et al. Association between mitochondrial DNA content and opium exposure. *J Biochem Mol Toxicol* 2020;34(10):e22559.
17. Liao LM, Baccarelli A, Shu XO, Gao YT, Ji BT, Yang G, et al. Mitochondrial DNA copy number and risk of gastric cancer: a report from the Shanghai Women's Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20(9):1944-9.
18. Hofmann JN, Hosgood III HD, Liu C-S, Chow W-H, Shuch B, Cheng W-L, et al. A nested case–control study of leukocyte mitochondrial DNA copy number and renal cell carcinoma in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial. *Carcinogenesis* 2014;35(5):1028-31.
19. Sun Y, Zhang L, Ho SS, Wu X, Gu J. Lower mitochondrial DNA copy number in peripheral blood leukocytes increases the risk of endometrial cancer. *Mol Carcinog* 2016;55(6):1111-7.
20. Sadakierska-Chudy A, Kotarska A, Frankowska M, Jastrzębska J, Wydra K, Miszkiel J, et al. The Alterations in Mitochondrial DNA Copy Number and Nuclear-Encoded Mitochondrial Genes in Rat

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-27]

Brain Structures after Cocaine Self-Administration. *Mol Neurobiol* 2017;54(9):7460-70.
21. Feng J, Nestler EJ. Epigenetic mechanisms of drug addiction. *Curr Opin Neurobiol* 2013;23(4):521-8.
22. Baan R, Grosse Y, Straif K, Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, et al. A review of human carcinogens—part F: chemical agents and related occupations. *lancet Oncol* 2009;10(12):1143-4.–4.
23. Pavanello S, Dioni L, Hoxha M, Fedeli U, Mielzynska-Svach D, Baccarelli AA. Mitochondrial DNA copy number and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(10):1722-9.
24. Van Grevenynghe J, Rion S, Le Ferrec E, Le Vee M, Amiot L, Fauchet R, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit differentiation of human monocytes into macrophages. *J Immunol* 2003;170(5):2374-81.
25. He Y, Gong Y, Gu J, Lee JJ, Lippman SM, Wu X. Increased leukocyte mitochondrial DNA copy number is associated with oral premalignant lesions: an epidemiology study. *Carcinogenesis* 2014;35(8):1760-4.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-27]

TUMJ Tehran University Medical Journal, October 2022; Vol. 80, No. 7: 532-538 Original Article

Assessment of mitochondrial DNA copy number in peripheral blood leukocyte of opiate abusers and healthy individuals

Kouros Divsalar M.D.[1]
Sara Hesami M.D.[2]
Majid Mahmoodi Ph.D.[1*]
Navidreza Giahi M.D.[3]
Fatemeh Divsalar M.D.[4]
Mohammad Pour-Ranjbar M.D.[5]
Amin Honarmand M.D.[6]

1- Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
2- Department of Genetics, Cancer Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Medical Science Research Center, Akhtar Hospital, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4- Departement of Health and Treatment, Khatamol Anbia Hospital, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
5- Neuroscience Research Center, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
6-Departement of Emergency Medicine, Afzali-Pour Hospital, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

*Corresponding author: Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
Tel: +98-343-2264180
E-mail: mahmoodim11@gmail.com

Abstract

Received: 13 Jul. 2022 Revised: 20 Jul. 2022 Accepted: 16 Sep. 2022 Available online: 23 Sep. 2022

Background: Based on the studies, variation in the mitochondrial DNA (mtDNA) copy number in peripheral blood leukocytes is associated with increased susceptibility to diseases including cancer. Opiate abusers are at high risk for diseases. In this study, we measured the mtDNA copy number in peripheral blood leukocytes in a group of opiate abusers compared with those in healthy individuals.

Methods: In a case/control study, three groups were selected consisting of 32 opium abusers, 24 heroin addicts and 25 healthy individuals. The amount of 5 ml of whole blood was collected from each individual who participated in the study and stored at -20 centigrade. The sample collection was performed from November 2018 to February 2020. Case groups were recruited from the Methadone maintenance therapy center. Contro group had no history of drug use and cigarette smoking. DNA was extracted from the whole blood samples using the salting out method. The DNA from a mitochondrial gene, dehydrogenase subunit1 (-ND1 gene) and a nuclear gene, human globulin (HGB gene), were quantified by a real-time PCR-based method to measure the relative mtDNA copy number of each group number.

Results: There was no significant difference in demographic characterization between the three study groups, opium abusers, heroin addicts and healthy individuals. We found that opium users had a higher mean of mtDNA copy number than those in the healthy control group (P=0.11). Heroin addicts had also higher mean of mtDNA copy number than those in healthy group (P=0.21). The mean mtDNA copy number in opium abusers was higher than that in heroin addicts (P=0.22), although the difference was not statistically significant.

Conclusion: The results of this study indicated that mtDNA copy number increased in a group of opiate abusers. Considering that alteration of mtDNA copy number is associated with increased susceptibility to several diseases including cancer, further research on mtDNA copy number with a high number of volunteers of opiate addicts may clear the effect of opiate abuse on the human genome.

Keywords: mitochondrial DNA, opiate abusers, peripheral blood leukocytes.

Copyright © 2022 Divsalar et al. Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-27]