

نقش پلی مورفیسم‌های شایع ژن گلوکوتایون S- ترانسفراز در استعداد ابتلا به میوم رحمی

چکیده

دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۲۳ آنلاین: ۱۳۹۳/۱۱/۰۵

زمینه و هدف: میوم‌های رحمی شایعترین تومورهای جامد لگنی در زنان هستند که تقریباً ۲۵٪ زنان در سنین باروری به این بیماری مبتلا می‌باشند. آنزیم گلوکوتایون S- ترانسفراز در فرآیند حفاظت سلولی نقش داشته که نقص در آن می‌تواند با خطر ابتلا به بیماری در ارتباط باشد. بنابراین در پژوهش حاضر به بررسی نقش پلی مورفیسم‌های شایع ژن گلوکوتایون S- ترانسفراز (GSTT1, GSTM1) در استعداد ابتلا به میوم رحمی در جمعیت ایرانی پرداخته شد.

روش بررسی: مطالعه مورد- شاهدی حاضر از آبان ماه ۱۳۹۱ تا شهریور ۱۳۹۲ بر روی ۵۰ زن مبتلا به میوم رحمی و ۵۰ زن سالم در انستیتو پاستور ایران انجام گرفت. DNA ژنومیک از لکوسیت‌های خون محیطی به روش Salting out استخراج شد. پلی مورفیسم‌های GSTT1 و GSTM1 به وسیله تکنیک Gap-polymerase chain reaction (gap-PCR) ژنوتیپ شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه افراد مبتلا به میوم رحمی با دامنه سنی ۱۶-۴۹ سال و افراد سالم با دامنه سنی ۲۰-۳۹ سال مورد بررسی قرار گرفتند. یافته‌های به دست آمده نشان داد فراوانی ژنوتیپ‌های GSTT1 null و GSTM1 در بین گروه بیمار بیشتر از گروه سالم بود. (به ترتیب (P=۰/۰۰۹, CI: ۱/۴-۱۰/۸) و (P=۰/۰۱, CI: ۱/۳۵-۹/۳۷)). از سوی دیگر خطر ابتلا به میوم رحمی در افراد دارای ژنوتیپ null ترکیبی GSTT1/M1 در مقایسه با سایر افراد بیشتر بود (P=۰/۰۰۷, CI: ۲/۲۰-۱۶۷/۴۱).

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، بین پلی مورفیسم‌های ژن GSTT1 و GSTM1 و بروز بیماری میوم رحمی ارتباط معناداری مشاهده گردید. اگرچه انجام مطالعات با حجم نمونه بالاتر در سایر جمعیت‌ها و قومیت‌ها به منظور تایید نتایج حاصل در این پژوهش پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: مطالعات مورد- شاهدی، میوم، پلی مورفیسم، گلوکوتایون S- ترانسفراز، GSTT1, GSTM1، ایران.

سلوا سادات مصطفوی ده رئیس^۱
سید مهدی سادات آ، فاطمه داوری
تنها^۲، محمدرضا آقاصادقی^۲
گلناز بهرامعلی آ، مهدی صفرپور^۴
احمد ابراهیمی^{*۴}

۱- گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران. ۲- گروه هپاتیت و ایذز انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران. ۳- گروه زنان و مامایی بیمارستان زنان و مرکز تحقیقات باروری ولیعصر (عج)، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۴- مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

نویسنده مسئول: تهران، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۲۵۰۰
E-mail: ae35m@yahoo.com

مقدمه

می‌شود، که علایم کلینیکی آن اغلب در سنین ۳۰ تا ۴۰ سالگی نمایان می‌شوند^{۱,۲} گرچه میوم‌ها جزو تومورهای خوش خیم طبقه‌بندی شده و به ندرت باعث مرگ می‌شوند ولی دارای عوارضی همچون خونریزی‌های شدید قاعدگی، آنمی، درد و فشار در لگن، عملکرد غیرطبیعی شکم و مثانه، سقط، ناباروری، زایمان زودرس و عفونت پس از زایمان می‌باشند. از این رو فیروبیدها یکی از دلایل اصلی

میوم‌های رحمی (فیروبیدها یا میوم‌ها) جزو شایعترین تومورهای خوش خیم رحمی هستند که از سلول عضله صاف رحم به وجود می‌آیند.^{۱,۲} این تومورهای جامد لگنی علاوه بر عضله صاف، دارای ترکیبی از ماتریکس خارج سلولی شامل کلاژن، فیبرونکتین و پروتئوگلیکان نیز می‌باشند.^{۳-۵} شیوع لیومیوم‌ها بیش از ۷۰٪ برآورد

این حالت هیچ پروتیینی ساخته نمی‌شود که نتیجه آن فقدان فعالیت آنزیمی خواهد بود. بر مبنای مطالعات انجام شده، ۵۳٪ جمعیت سفید پوستان (قفقازی) دارای ژنوتیپ GSTM1 null می‌باشند و فراوانی آن در جمعیت آسیایی نیز مشابه جمعیت سفیدپوست است، اما در جمعیت آفریقایی-آمریکایی فراوانی کمتری از آن گزارش شده است (۲۷٪).

یکی دیگر از ژنهای کاندید مرتبط با میوم رحمی ژن GSTT1 نام دارد که در ناحیه 22q11.23 واقع شده است. توالی پروتیینی کد شده توسط این دو ژن، به میزان ۵۵٪ باهم همولوگ هستند. ژن GSTT1 دارای دو آلل عملکردی (تیپ وحشی) و آلل غیر عملکردی (null) است. ژنوتیپ GSTT1*0 نتیجه حذف هموزیگوت ژن GSTT1 است و در این حالت، فعالیت آنزیم GSTT1 به طور کامل از دست خواهد رفت.^{۱۲}

این مطالعه جهت تعیین توزیع پلی مورفیسم‌های GSTT1/M1 null و ارتباط آن با خطر ابتلا به میوم رحمی در جمعیت ایرانی به منظور ارزیابی خطرات ارایه شده توسط این ژنوتیپ‌ها در رشد میوم رحمی بوده است.

روش بررسی

این مطالعه مورد-شاهدی از آبان ماه ۱۳۹۱ تا شهریور ۱۳۹۲ در افراد بیمار مراجعه‌کننده به بیمارستان زنان تهران، در مجموع ۱۰۰ نفر به‌عنوان گروه مورد و شاهد انتخاب شده و از نظر پلی مورفیسم‌های GSTT1 و GSTM1 مورد بررسی قرار گرفتند. افراد گروه مورد شامل ۵۰ نفر بیمار مبتلا به میوم رحمی، که تحت عمل جراحی هیستکتومی و میومکتومی قرار گرفته بودند. همچنین ۵۰ فرد سالم به‌عنوان گروه شاهد پس از دو مرحله غربالگری انتخاب شدند. افراد گروه شاهد فاقد هر گونه سابقه ابتلا به میوم رحمی در خود فرد و یا بستگان درجه اول و دوم بوده و وجود میوم رحمی به وسیله سونوگرافی در این افراد رد گردید.

مشارکت کلیه افراد در پژوهش حاضر بر اساس آیین‌نامه مصوب انستیتو پاستور ایران و با کسب رضایت آگاهانه از افراد صورت گرفت. از همه شرکت‌کنندگان ۵ ml خون از رگ محیطی گرفته و در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA، ریخته شد. سپس نمونه‌ها با

جراحی در زنان به شمار می‌روند که بیش از ۲۰۰ هزار مورد میومکتومی یا هیستکتومی در سال را شامل می‌شوند.^۶

علیرغم شیوع بالای این بیماری، علت اصلی ایجاد میوم‌های رحمی همچنان ناشناخته باقی مانده است. اگرچه بر اساس مطالعات صورت گرفته این توده‌های خوش‌خیم رحمی از واکنش پیچیده‌ای بین ژن‌ها، هورمون‌ها، فاکتورهای رشد و محیط به‌وجود می‌آیند.^۷ نتایج مطالعات مختلف انجام شده نشان‌دهنده نقش استروژن در رشد و پیشرفت لیومیوم‌ها است^{۸،۹} و این در حالی است که تعداد زیادی از سلول‌های عضله رحم موجود در لیومیوم دارای گیرنده‌های استروژن آلفا و بتا هستند.^{۱۰} از سوی دیگر استروژن‌ها از یک سو به عنوان هورمون محرک تقسیم سلولی و از سوی دیگر به عنوان پروکارسینوژن عمل می‌کنند که منجر به القا ژنوتوکسیتی می‌شود.^{۱۱}

از جمله آنزیم‌هایی که در متابولیسم استروژن دخیل هستند، می‌توان به سیتوکروم P450، کتکول-O - متیل ترانسفراز (COMT) و گلوکوتایون S - ترانسفراز (GST) اشاره نمود که این آنزیم‌ها نقش مهمی در دفع کتکول استروژن‌ها (CEs) ایفا می‌کنند.^{۱۲} بیان ژن گلوکوتایون S - ترانسفراز (GSTs, EC:2.5.1.18) منجر به ساخته شدن آنزیم‌های متعدد با عملکردهای گوناگون می‌شود که به‌طور عمده کاتالیز کردن ترکیبات کارسینوژنیک و سایتوتوکسیک از طریق کونژوگه کردن آنها با گلوکوتایون از جمله مهمترین وظایف آنها می‌باشد. از آنجا که بسیاری مواد سمی و مضر از طریق کونژوگه شدن با گلوکوتایون غیرفعال می‌شوند، کاهش یا نقص در عملکرد GST می‌تواند باعث حساس شدن بافت‌های بدن به مواد سمی و کارسینوژن‌ها شود.^{۱۳}

این خانواده آنزیمی از هفت زیر گروه تشکیل یافته است که یکی از خوشه‌های ژنی مطرح در آن با نام GSTM بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱ در ناحیه 1p13.3 واقع شده است. کلاس GSTμ شامل ژن‌های GSTM1-5 می‌باشد که به صورت پشت سرهم در یک خوشه ژنی به طول تقریبی ۱۰۰ kb، بر روی کروموزوم ۱ قرار گرفته‌اند. در این میان ژن GSTM1 پلی‌مورف بوده و از چهار آلل GSTM1/0، GSTM1/A، GSTM1/B، و GSTM1*1×2 تشکیل یافته است. آلل GSTM1/0 در اثر حذف ژنی به وجود می‌آید که در نتیجه آن، یک آلل غیر عملکردی ایجاد می‌شود. در صورتی که این حذف به صورت هموزیگوت باشد، ژنوتیپ فرد GSTM1 null بوده و در

بازی، مربوط به پلی مورفیسم مورد نظر و همچنین در تمامی ستون‌ها یک باند ۱۰۲ جفت بازی مربوط به کنترل داخلی PCR، مشاهده گردید (شکل ۱). نتایج به دست آمده نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار فراوانی ژنوتیپ GSTT1 null در گروه مورد (۴۲٪) در مقایسه با گروه شاهد (۱۴٪) بود (نمودار ۱).

از سوی دیگر نتایج به دست آمده حاکی از وجود ارتباط معنادار بین حضور ژنوتیپ GSTT1 null و خطر ابتلا به میوم رحمی بود. بر این اساس ژنوتیپ GSTT1 null شانس ابتلا به میوم رحمی را در مقایسه با افراد از گروه پایه (Present) به میزان ۳/۹۲ برابر افزایش می‌داد. (CI: ۱/۴-۱۰/۸، P=۰/۰۰۹، (جدول ۲).

در خصوص پلی مورفیسم GSTM1 یک باند ۲۶۷ جفت بازی، مربوط به پلی مورفیسم مورد نظر و همچنین در تمامی ستون‌ها یک باند ۱۰۲ جفت بازی مربوط به کنترل داخلی PCR، مشاهده گردید (شکل ۲). نتایج به دست آمده از بررسی ژنوتیپ GSTM1 در دو گروه مورد و شاهد نیز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار میان فراوانی ژنوتیپ null و Present در این دو گروه بود (P=۰/۰۱). این نتایج نشان داد که ژنوتیپ null دارای بیشترین فراوانی در هر دو گروه مورد (۵۸٪) و شاهد (۸۲٪) بود (نمودار ۲). بر مبنای نتایج به دست آمده شانس ابتلا به میوم رحمی در افراد دارای ژنوتیپ null GSTM1، ۳/۵۶ برابر بیشتر از گروه پایه (افراد دارای ژنوتیپ present) بود (CI: ۱/۳۵-۹/۳۷، P=۰/۰۱، (جدول ۲).

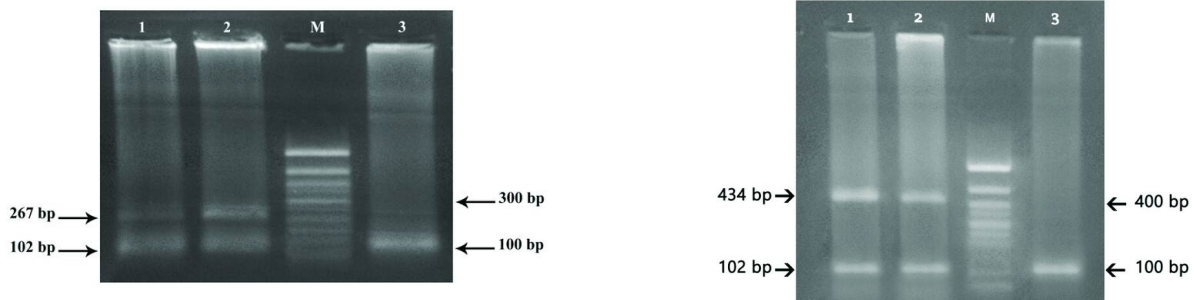
در رابطه با ژنوتیپ ترکیبی GSTT1 و GSTM1 نتایج نشان دهنده وجود اختلاف معنادار در فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه مورد و شاهد بود. بر این اساس ژنوتیپ Both present دارای بیشترین فراوانی (۷۰٪) و ژنوتیپ Both null دارای کمترین فراوانی (۲٪) در گروه شاهد بود. این در حالی است که در گروه مورد بیشترین فراوانی (۴۰٪) متعلق به ژنوتیپ One null و کمترین فراوانی (۱۱٪) متعلق به ژنوتیپ Both present بود. از سوی دیگر آنالیز آماری انجام نشان داد که شانس ابتلا به میوم رحمی در افراد دارای ژنوتیپ One null در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ Both present به میزان ۲/۶ برابر بیشتر بود (CI: ۱/۰۵-۶/۲۸، P=۰/۰۰۳). این در حالی بود که حضور ژنوتیپ Both null خطر ابتلا به بیماری را به میزان ۱۹/۲۳ برابر در افراد دارای این ژنوتیپ در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ Both null افزایش می‌داد (CI: ۱۶۷/۴۱-۲/۲۰، P=۰/۰۰۷).

حفظ زنجیره سرد و ایمنی زیستی جهت انجام آزمایشات ژنتیکی به انستیتو پاستور ایران منتقل شد. در مرحله بعدی میزان ۵ cc خون از هر فرد گرفته شد و در لوله‌های مخصوص، حاوی ماده ضد انعقاد EDTA، ریخته و تحت شرایط حفظ زنجیره سرد و ایمنی زیستی به انستیتو پاستور ایران منتقل شد. استخراج DNA ژنومی، از نمونه‌های خون محیطی افراد بیمار و گروه کنترل، با استفاده از روش Salting out (رسوب دهی به وسیله نمک) انجام شد. DNA های استخراج شده در دمای ۲۰ °C تا زمان استفاده نگهداری شدند.

بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده به روش الکتروفورز و با استفاده از ژل آگارز ۲٪ صورت گرفت. جهت بررسی ژنوتیپ GSTT1 و GSTM1 برای حذف‌های ژنی در دو گروه مورد و شاهد، از روش Gap-polymerase chain reaction (gap-PCR) با سه پرایمر متشکل از یک پرایمر GSTT1، یک پرایمر GSTM1 و یک پرایمر β -Globin (CinnaGen Co., Tehran, Iran) به منظور تایید تکثیر استفاده شد (جدول ۱). واکنش PCR در میکروتیوب‌های ۰/۲ ml با حجم نهایی ۱۵ μ l انجام شد. واکنش PCR برای ۳۰ سیکل در دستگاه ترموسایکلر مطابق جدول ۲ و ۳ اجرا گردید. محصول PCR روی ژل آگارز ۲٪ با ولتاژ ۹۵ ولت و مدت زمان ۴۵ دقیقه جداسازی و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید انجام گرفت. برای مطالعه بین دو گروه مورد و شاهد از Fisher's exact test استفاده شد. آنالیز چند متغیری با استفاده از مدل رگرسیون لجستیک، جهت بدست آوردن نسبت شانس (Odd Ratio) تعدیل شده به سن در بین گروه‌های مورد و شاهد تجزیه و تحلیل شدند. معنادار بودن داده‌ها بر اساس P کمتر از ۰/۰۵ قابل ذکر است که داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۸ (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) مورد آنالیز قرار گرفتند.

یافته‌ها

در این مطالعه ۵۰ زن مبتلا به میوم رحمی با دامنه سنی ۱۶-۴۹ (میانگین سنی ۳۲/۵ سال) و ۵۰ نفر از زنان بدون میوم رحمی با دامنه سنی ۲۰-۳۹ (میانگین سنی ۲۸ سال) سال به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به نتایج مشاهده شده در الکتروفورز محصول gap-PCR، بر روی ژل آگارز ۲٪، ژنوتیپ هر فرد برای پلی مورفیسم GSTT1 مشخص شد که یک باند ۴۳۴ جفت



شکل ۲: تصویر انتخابی الکتروفورز محصولات gap-PCR مربوط به تکثیر ژنهای GSTM1 و β -globin بر روی ژل آگارز ۲٪. ردیف M نشان‌دهنده مارکر ۵۰bp (Bioron) جهت تشخیص طول قطعات تکثیر شده، استفاده شده است. چاهک ۳ مربوط به تکثیر قطعه ۱۰۲ bp ژن β -globin به عنوان کنترل داخلی است که نشان‌دهنده فقدان ژن GSTM1 (حذف هموزیگوت) می‌باشد. چاهک‌های ۱ و ۲ مربوط به تکثیر قطعات ۲۶۷ و ۱۰۲ جفت بازی از ژنهای GSTM1 و β -globin است و مربوط به نمونه DNA افرادی است که حذف هموزیگوت ژن GSTM1 در آنها رخ نداده است.

شکل ۱: تصویر انتخابی الکتروفورز محصولات gap-PCR مربوط به تکثیر ژنهای GSTT1 و β -globin بر روی ژل آگارز ۲٪. ردیف M نشان‌دهنده مارکر ۵۰bp (Bioron) جهت تشخیص طول قطعات تکثیر شده، استفاده شده است. چاهک‌های ۱ و ۲ مربوط به قطعات ۴۳۴ و ۱۰۲ از ژن GSTT1 و β -globin می‌باشند و مربوط به نمونه DNA افرادی است که حذف هموزیگوت ژن GSTT1 در آنها رخ نداده است. چاهک ۳ مربوط به تکثیر قطعه ۱۰۲ bp است که نشان‌دهنده فقدان ژن GSTT1 (حذف هموزیگوت) می‌باشد.

جدول ۱: ویژگی‌های پرایمرهای مورد استفاده در واکنش gap-PCR

لوکوس	طول محصول (bp) PCR	نام پرایمر	توالی پرایمر (5' to 3')
GSTM1	۲۶۷	GSTM1-F GSTM1-R	TACTTGATTGATGGGGCTCAC CTGGATTGTAGCAGATCATGC
GSTT1	۴۳۴	GSTT1-F GSTT1-R	CTTACTGGTCCTCACATCTC CAGGGCATCAGCTTGTGCTTT
β -gol*	۱۰۲	β -gol-F β -gol-R	GTGCACCTGACTCCTGAGGAG CCTTGATACCAACCTGAACAG

جدول ۲: مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های GSTT1/M1 در گروه بیمار و سالم

OR** (CI %۹۵***)	P*	تعداد (%)		ژنوتیپ
		کنترل	بیماران	
۳/۹۲(۱/۴-۱۰/۸) ۱/۰۰(reference)	۰/۰۰۹	۷(۱۴)	۲۱(۴۲)	GSTT1 Null
		۴۳(۸۶)	۲۹(۵۸)	Present
۳/۵۶(۱/۳۵-۹/۳۷) ۱/۰۰(reference)	۰/۰۱	۹(۱۸)	۲۱(۴۲)	GSTM1 Null
		۴۱(۸۲)	۲۹(۵۸)	Present
۲/۶(۱/۰۵-۶/۸۲) ۱۹/۲۳(۲/۲۰-۱۶۷/۴۱) ۱/۰۰(reference)	۰/۰۳ ۰/۰۰۷	۱۴(۲۸)	۲۰(۴۰)	GSTT1/M1 One null
		۱(۲)	۱۱(۲۲)	Both null
		۳۵(۷۰)	۱۹(۳۸)	Both present

*آزمون آماری: Chi-square و P<۰/۰۵ معنادار بود.

OR= odd ratio, *CI= confidence interval, ****Reference Category (Odds ratio: 1.00)

بحث

null در افراد مبتلا به سرطان پستان و گروه کنترل مشاهده نشد.^{۲۰} از سوی دیگر نتایج این مطالعه نشان می‌داد که ژنوتیپ GSTM1 null یک فاکتور خطر برای ابتلا به میوم رحمی است، اگرچه ریسک خطر آن نسبت به ژنوتیپ GSTT1 null کمتر است. در مطالعه Kim و همکارانش ارتباط معناداری بین ژنوتیپ GSTM1 null و خطر ابتلا به سرطان گردن رحم گزارش شد.^{۱۵} نتایج مطالعات Baranova و همکارانش نیز نشان‌دهنده وجود یک ارتباط معنادار میان این ژنوتیپ و بیماری اندومتریوز بود.^{۱۹}

از سوی دیگر Hashemi و همکارانش ژنوتیپ GSTM1 null را به عنوان یکی از فاکتورهای خطر برای پیشگویی سرطان سینه معرفی کردند.^{۲۰} Baxter و همکارانش بین ال GSTM1 null و سرطان تخمدان ارتباط معناداری را گزارش نمودند به‌طوری‌که فراوانی ژنوتیپ GSTM1 null در افراد مبتلا به سرطان تخمدان بیشتر از گروه کنترل است.^{۲۱} Lin و همکارانش نیز بین ژنوتیپ GSTM1 null و اندومتریوز نتیجه مشابهی با نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر را گزارش نمودند.^{۱۶} با وجود مطالعات متعدد انجام شده که حاکی از ارتباط میان این پلی‌مورفیسم و خطر ابتلا به میوم رحمی است، نتایج برخی از مطالعات بیانگر نتایج متفاوتی است. به عنوان مثال در مطالعه de Oliveira و همکارانش ارتباطی بین GSTM1 null در افراد مبتلا به میوم رحمی و گروه کنترل گزارش نشد.^{۱۸}

در ژنوتیپ ترکیبی GSTM1، GSTT1، نتایج به‌دست آمده نشان می‌داد که حضور همزمان هر دو ژنوتیپ GSTT1 null و GSTM1 null نسبت به حضور یکی از این دو ژنوتیپ، خطر ابتلا به میوم رحمی با شدت بیشتری افزایش می‌دهد به‌طوری‌که شانس ابتلا به میوم رحمی در افراد دارای ژنوتیپ Both null در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها، ۱۹/۲۳ برابر بیشتر است. در مطالعه Kim و همکارانش نیز نشان داده شد که خطر ابتلا به سرطان گردن رحم در حاملان هر دو ژنوتیپ GSTT1/M1 null، ۱۷/۸ برابر بیشتر از گروه کنترل می‌باشد.^{۱۵} در مطالعه‌ای دیگر که Al-Badran و همکارانش در سال ۲۰۱۱ بر روی اثر ترکیبی ژنوتیپ‌های GSTT1 و GSTM1 بر روی سرطان اندومترال انجام شد، نتایج به‌دست آمده نشان میداد که خطر ابتلا به سرطان در حضور هر دو ژنوتیپ null در حدود سه برابر افزایش می‌یابد. یافته‌های آن‌ها نشان داد که ژنوتیپ GSTM1 null بیشتر در تومورهای با درجه سه مشاهده می‌شود و در همراهی با ژن

میوم‌های رحمی از شایعترین تومورهای خوش‌خیم رحمی در زنان در سنین باروری می‌باشند، که می‌توانند از هر لایه‌ای در رحم ناشی شده و به آناتومی و عملکرد رحم آسیب زده^۴ که منجر به خونریزی‌های غیرطبیعی رحمی و هیستریکتومی می‌شوند.^۶ اگرچه اتیولوژی این بیماری همچنان ناشناخته باقی‌مانده است، با این حال مطالعات انجام شده نشان‌دهنده ارتباط میوم رحمی با استروژن و فاکتورهای تاثیرگذار بر ترشح این هورمون است. از جمله این فاکتورها می‌توان به ژن‌های مرتبط با سنتز هورمون‌های استروئیدی و ژن‌های درگیر در مسیر سیگنال‌دهی هورمون‌های استروئیدی اشاره کرد.^۷ یکی از ژن‌های مطرح در این زمینه ژن گلوٲاتایون S- ترانسفراز است که در متابولیت استروژن نقشی مهم ایفا می‌کند. محصول نهایی این ژن با نام گلوٲاتایون S- ترانسفراز نقش مهمی در سم‌زدایی ترکیبات الکتروفیلی اندوژنوز و اگزوژنوز و مواد سرطان‌زا ایفا می‌کند.^{۱۲} مطالعات فراوان انجام شده بر روی این ژن حاکی از ارتباط میان پلی‌مورفیسم‌های شناخته شده بر روی این ژن و خطر ابتلا به بیماری‌های ژنوکولوژیک از جمله اندومتریوز، سرطان پستان، سرطان اندومتریال، سرطان گردن رحم و سرطان تخمدان می‌باشد.^{۱۵-۲۲} که از جمله مهمترین پلی‌مورفیسم‌های شناخته شده بر روی این ژن می‌توان به GSTM1 و GSTT1 اشاره کرد. نتایج مطالعه حاضر که بر روی اقوام مختلف ایرانی انجام شد نشان‌دهنده ارتباط معناداری بین ژنوتیپ GSTT1 null و خطر ابتلا به میوم رحمی بود. بر این اساس ژنوتیپ GSTT1 null خطر ابتلا به میوم رحمی را ۳/۹۲ برابر افزایش می‌داد. از این رو می‌توان ژنوتیپ GSTT1 null را به عنوان یک فاکتور خطر جهت پیشگویی ابتلا به میوم رحمی در جمعیت ایرانی در نظر گرفت. Kim و همکارانش نیز نشان دادند که بین این ژنوتیپ و سرطان گردن رحم ارتباط معناداری وجود دارد.^{۱۵} در مطالعه صورت گرفته توسط Lin و همکارانش نیز نشان داده شد که فراوانی ژنوتیپ GSTT1 null در افراد مبتلا به اندومتریوز نسبت به گروه کنترل بیشتر است.^{۱۶} همچنین Al-Badran و همکارانش نشان دادند که خطر سرطان اندومتریال در افراد با ژنوتیپ GSTT1 null، ۵/۷ برابر نسبت به افراد سالم بیشتر است. با این وجود در مطالعه انجام شده توسط Hashemi و همکارانش اختلاف معناداری میان GSTT1

و میوم رحمی الزامی است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که وجود این پلی مورفیسیم‌ها نقش مهمی در ایجاد بیماری میوم رحمی دارند بنابراین با توجه به شیوع بالای میوم رحمی و اثرات و عوارض جدی این تومور خوش خیم بر روی سلامت زنان، شناخت ساز و کار ژنتیکی این بیماری می‌تواند در طراحی تست‌های غربالگری، تشخیص کلینیکی، درمان و ارایه الگوی توارثی راه‌گشا باشد.

سپاسگزاری: این تحقیق حاصل نتایج بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک (دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر) بوده که در انستیتو پاستور ایران به انجام رسیده است و نویسندگان از کلیه همکاران و پرسنل گرامی بیمارستان فوق تخصصی زنان و زایمان میرزا کوچک خان و آزمایشگاه ژنتیک پارسه که در مراحل مختلف انجام تحقیق ما را یاری داده‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

GSTT1 null این ارتباط قوی‌تر می‌گردد. ^{۱۷} Hur و همکارانش نشان دادند که ارتباطی میان پلی مورفیسیم‌های ژن گلوکوتایون S- ترانسفراز در حالت جداگانه و ترکیبی با بیماری اندومتریوز ارتباطی وجود ندارد. ^{۲۲} علیرغم مطالعات انجام شده در این زمینه، نتایج به دست آمده در رابطه با نقش این پلی مورفیسیم‌ها و استعداد ابتلا به میوم رحمی در جمعیت‌های گوناگون نشان‌دهنده نتایج متناقضی است که رسیدن به نتیجه قطعی در این زمینه را با تردید مواجه می‌سازد. ^{۱۸} این تفاوت در بیان پلی مورفیسیم‌ها می‌تواند ناشی از فرایندها و واکنش‌های متعدد آنزیمی، تفاوت در طبقه‌بندی بیماری‌ها، گوناگونی نژادها، ناپایداری‌های محیطی و غیره باشد. از این رو انجام مطالعات بیشتر در این زمینه و در جمعیت‌های گوناگون به منظور رسیدن به پاسخی روشن در رابطه با ارتباط میان پلی مورفیسیم‌های GSTM1 و GSTT1

References

- Ciarmela P, Islam MS, Reis FM, Gray PC, Bloise E, Petraglia F, et al. Growth factors and myometrium: biological effects in uterine fibroid and possible clinical implications. *Hum Reprod Update* 2011;17(6):772-90.
- Islam MS, Protic O, Stortoni P, Grechi G, Lamanna P, Petraglia F, et al. Complex networks of multiple factors in the pathogenesis of uterine leiomyoma. *Fertil Steril* 2013;100(1):178-93.
- Lynch AM, Morton CC. Uterus: Leiomyoma. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol* 2008;12(1):68-73.
- Medikare V, Kandukuri LR, Ananthapur V, Deenadayal M, Nallari P. The genetic bases of uterine fibroids; a review. *J Reprod Infertil* 2011;12(3):181-91.
- Parker WH. Etiology, symptomatology, and diagnosis of uterine myomas. *Fertil Steril* 2007;87(4):725-36.
- McGuire MM, Yatsenko A, Hoffner L, Jones M, Surti U, Rajkovic A. Whole exome sequencing in a random sample of North American women with leiomyomas identifies MED12 mutations in majority of uterine leiomyomas. *PLoS One* 2012;7(3):e33251.
- Hsieh YY, Tsai FJ, Chang CC, Tsai CH, Lin CC, Yeh LS. Cytochrome P450c17a (CYP17) gene polymorphism is not associated with leiomyoma susceptibility. *Genet Mol Biol* 2002;25(4):361-4.
- Lethaby A, Vollenhoven B. Fibroids (uterine myomatosis, leiomyomas). *Am Fam Physician* 2005;71(9):1753-6.
- Walker CL, Stewart EA. Uterine fibroids: the elephant in the room. *Science* 2005;308(5728):1589-92.
- Jakimiuk AJ, Bogusiewicz M, Tarkowski R, Dziduch P, Adamiak A, Wróbel A, et al. Estrogen receptor alpha and beta expression in uterine leiomyomas from premenopausal women. *Fertil Steril* 2004;82 Suppl 3:1244-9.
- Liehr JG. Is estradiol a genotoxic mutagenic carcinogen? *Endocr Rev* 2000;21(1):40-54.
- Doherty JA, Weiss NS, Freeman RJ, Dightman DA, Thornton PJ, Houck JR, et al. Genetic factors in catechol estrogen metabolism in relation to the risk of endometrial cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(2):357-66.
- Jaitovitch-Groisman I, Fotouhi-Ardakani N, Schecter RL, Woo A, Alaoui-Jamali MA, Batist G. Modulation of glutathione S-transferase alpha by hepatitis B virus and the chemopreventive drug oltipraz. *J Biol Chem* 2000;275(43):33395-403.
- Parl FF. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. *Cancer Lett* 2005;221(2):123-9.
- Kim JW, Lee CG, Park YG, Kim KS, Kim IK, Sohn YW, et al. Combined analysis of germline polymorphisms of p53, GSTM1, GSTT1, CYP1A1, and CYP2E1: relation to the incidence rate of cervical carcinoma. *Cancer* 2000;88(9):2082-91.
- Lin J, Zhang X, Qian Y, Ye Y, Shi Y, Xu K, et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes and endometriosis risk: a case-controlled study. *Chin Med J (Engl)* 2003;116(5):777-80.
- Al-Badran A. Genetic polymorphisms of GSTM1 and GSTT1 genes and endometrial cancer in Basrah, South of Iraq. *J Basrah Res* 2011;37(5):33-6.
- de Oliveira E, de Aquino Castro R, Vieira Gomes MT, Cotrim Guerreiro da Silva ID, Baracat EC, Rodrigues de Lima G, et al. Role of glutathione S-transferase (GSTM1) gene polymorphism in development of uterine fibroids. *Fertil Steril* 2009;91(4 Suppl):1496-8.
- Baranova H, Canis M, Ivaschenko T, Albuissou E, Bothorishvilli R, Baranov V, et al. Possible involvement of arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1 genes in the development of endometriosis. *Mol Hum Reprod* 1999;5(7):636-41.
- Hashemi M, Eskandari-Nasab E, Fazaeli A, Taheri M, Rezaei H, Mashhadi M, et al. Association between polymorphisms of glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and breast cancer risk in a sample Iranian population. *Biomark Med* 2012;6(6):797-803.
- Baxter SW, Thomas EJ, Campbell IG. GSTM1 null polymorphism and susceptibility to endometriosis and ovarian cancer. *Carcinogenesis* 2001;22(1):63-5.
- Hur SE, Lee JY, Moon HS, Chung HW. Polymorphisms of the genes encoding the GSTM1, GSTT1 and GSTP1 in Korean women: no association with endometriosis. *Mol Hum Reprod* 2005;11(1):15-9.

The effect of glutathione S-transferase gene polymorphisms on susceptibility to uterine myoma

Abstract

Received: 11 Oct. 2014 Accepted: 14 Dec. 2014 Available online: 25 Jan. 2015

Salva Sadat Mostafavi Dehraisi M.Sc.¹
Seyed Mehdi Sadat Ph.D.²
Fatemeh Davari Tanha M.D.³
Mohammad Reza Aghasadeghi Ph.D.²
Golnaz Bahramali M.Sc.²
Mahdi Safarpour M.Sc.⁴
Ahmad Ebrahimi Ph.D.^{4*}

1- Department of Genetic, Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, Iran.

2- Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

3- Department of Obstetrics, Gynecologist, and Reproductive Endocrinology, Valiasr Reproductive Health Center, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran.

4- Cellular and Molecular Research Center, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Cellular and Molecular Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 22432500
E-mail: ae35m@yahoo.com

Background: Uterine myomas are benign tumors of the uterus and the most common solid pelvic tumors causing symptoms in approximately 25% of women in their reproductive years. However, its etiology and pathogenesis remain obscure; there is increasing evidence that endometriosis is inherited as a complex genetic trait. Recent studies indicated the involvement of glutathione S-transferase M1 (GSTM1) gene in the pathogenesis of this disease and current investigations are devoted to the other members of phase II detoxification system genes such as glutathione S-transferase T1 (GSTT1). Therefore, current study was carried out to investigate the distribution of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in Iranian population in order to estimate possible impact of null-alleles of each gene in development of this disease.

Methods: In this study, 50 patients with endometriosis diagnosed by both pathology and laparoscopic findings according to the revised American Fertility Society classification of endometriosis were recruited from subjects referred to the Pasteur Institute of Iran between November 2012 to September 2013. Accordingly, controls (n=50) were subjects without any of aforementioned gynecologic conditions. The genomic DNA was extracted from peripheral blood leucocytes using the salting out method and GSTM1 and GSTT1 genotyping for gene deletions were carried out using Gap-polymerase chain re-action. Logistic regression analysis was applied to assess whether there was any significant risk increase between the case group with higher null genotypes compared to control group. The level of statistical significance was set at 0.05 and all analyses were conducted using the SPSS version 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Results: There was significant evidence that the distribution of the GSTM1 and GSTT1 genotypes differed between the patients and the controls with an allelic odds ratio (OR) of 3.56 (95%CI: 1.35-9.37, P=0.01) and 3.92 (95%CI: 1.4-10; P=0.009) respectively. Data analysis also revealed that individuals with both GSTM1 and GSTT1 null genotypes (-/-) had higher risk to develop the disease in comparison to the people with the both present (+/+) genotype (OR:19.23, P=0.007).

Conclusion: The findings suggest that the GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms are associated with the development of endometriosis in Iranian women which is in agreement with previous results obtained in other populations. However, the ethnic variations of polymorphisms should be evaluated in detail and differences should be incorporated into investigations of susceptibility variants for this disease.

Keywords: case-control studies, glutathione S-transferase, GSTT1, GSTM1, Iran, myoma, polymorphism.