

## عدم ارتباط میان پلی مورفیسم rs9340799 ژن Estrogen receptor alpha (ESR1) و استعداد ابتلا به اندومتريوز در زنان ایرانی

### چکیده

دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۰۹ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۰۸ آنلاین: ۱۳۹۳/۱۲/۰۵

ریحانه اسدی<sup>۱</sup>

پریسا محمدی نژاد<sup>۱</sup>، فاطمه داوری تنها<sup>۲</sup>  
مهدی صفرپور<sup>۳</sup>، احمد ابراهیمی<sup>۳\*</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران. ۲- گروه زنان و مامایی، بیمارستان زنان و مرکز تحقیقات باروری ولیعصر، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ۳- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات جاقی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

**زمینه و هدف:** با توجه به اهمیت ویژه مسیرهای هورمونی به ویژه استروژن و نقش آن در ابتلا به بیماری اندومتريوز، به نظر می‌رسد هرگونه تغییر در ژن‌ها و جایگاه‌های ژنی مرتبط با این مسیرهای هورمونی می‌تواند دارای اهمیت به‌سزایی در ایجاد، شناسایی و تشخیص زودرس اندومتريوز باشند. از این رو مطالعه حاضر به بررسی اهمیت پلی مورفیسم rs9340799 ژن ESR1 به‌عنوان یکی از مهمترین ژن‌های شناخته شده مرتبط با ترشح استروژن در جمعیت زنان ایرانی و ارتباط آن با اندومتريوز پرداخته است.

**روش بررسی:** مطالعه مورد- شاهدی حاضر از دی ماه ۱۳۹۱ تا شهریور ۱۳۹۲ بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به اندومتريوز و ۱۰۰ فرد سالم در بیمارستان جامع زنان محب یاس تهران انجام گرفت. پس از استخراج DNA از لکوسیت‌های خون محیطی به روش نمک اشیاع شده و کیفیت سنجی آن، پلی مورفیسم rs9340799 به روش Amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction (ARMS-PCR) تعیین ژنوتیپ شد. سپس آنالیز وابستگی فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها با بیماری در مقایسه با کنترل با استفاده از نرم‌افزار PLINK انجام شد.

**یافته‌ها:** بر مبنای نتایج به‌دست آمده ژنوتیپ AG شایعترین ژنوتیپ در گروه بیماران (۵۲٪) و گروه شاهد (۴۸٪) بود، اگرچه شایعترین آلل در گروه بیماران آلل A (۵۷٪) و در گروه شاهد آلل G (۵۲٪) بود. از سوی دیگر یافته‌های به‌دست آمده نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در فراوانی آللی و ژنوتیپی در دو گروه بیماران و گروه شاهد بود (به ترتیب  $P=0/07$  و  $P=0/17$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پلی مورفیسم (rs9340799) ژن ESR1 با خطر ابتلا به اندومتريوز در جمعیت ایران مرتبط نمی‌باشد. اگرچه انجام مطالعات بیشتر با حجم نمونه بالاتر در سایر جمعیت‌ها و قومیت‌ها به منظور تایید نتایج حاصل در این پژوهش ضروری است.

**کلمات کلیدی:** مطالعه مورد- شاهدی، اندومتريوز، ژن گیرنده استروژن آلفا، پلی مورفیسم، rs9340799 ایران.

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

تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۵۰۰  
E-mail: ae35m@yahoo.com

### مقدمه

از حفره رحم به ویژه لوله‌های فالوپ، تخمدان‌ها یا لگنچه تعریف کرد.<sup>۱</sup> اگرچه علائم بیماری متفاوت است اما رایج‌ترین آنها شامل درد لگنچه‌ای، پیرودهای دردناک و گاهی ناباروری است.<sup>۲</sup> نتایج مطالعات فراوان انجام شده در چند دهه گذشته، حاکی از آن است که فاکتورهای فراوانی همچون هورمون، فاکتورهای ایمونولوژیکی،

اندومتريوز یک بیماری خوش‌خیم و مربوط به زنان است که ۵-۱۰ درصد زنان جهان در سنین باروری به آن مبتلا می‌شوند.<sup>۱</sup> اندومتريوز را می‌توان به‌صورت وجود بافت طبیعی اندومتر در خارج

کننده به بیمارستان جامع زنان محب یاس تهران از دی ۱۳۹۱ تا شهریور ۱۳۹۲، در مجموع ۱۰۰ زن بیمار با تشخیص قطعی اندومتريوز به عنوان گروه مورد و ۱۰۰ زن سالم به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. معیار ورود به مطالعه تشخیص اندومتريوز با کمک لاپاراسکوپی و تست های تشخیصی مکمل توسط متخصص زنان و زایمان بود که انتخاب گروه مورد بر مبنای آن انجام گرفت. انتخاب گروه کنترل نیز از میان سایر مراجعین که فاقد معیارهای ذکر شده برای گروه مورد بودند انجام پذیرفت. به منظور ایجاد همگنی در دو گروه مورد و شاهد سعی شد تا بیماران و گروه شاهد از نظر سن، قومیت و وضعیت جسمانی دارای خصوصیات مشابه باشند.

از همه شرکت کنندگان در این پژوهش رضایت نامه کتبی دریافت شد. پس از استخراج DNA از لکوسیت های خون محیطی به روش نمک اشباع شده و کیفیت XbaI سنجی آن، پلی مورفیسم rs9340799 به روش Amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction (ARMS-PCR) تعیین ژنوتیپ شد پس از آن واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)، برای آغازگرها بهینه سازی شد. برای هر نمونه، دو تیوپ حاوی پرایمرهای نرمال و موتانت به صورت مجزا به همراه یک پرایمر مربوط به کنترل داخلی در حجم نهایی ۱۲/۵ µl تهیه شد (جدول ۱). محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۸٪ با ولتاژ ۹۵ ولت و مدت زمان ۴۵ دقیقه جداسازی و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید انجام گرفت.

مقایسه ی فراوانی الی و ژنوتیپی در دو گروه مورد و شاهد و همچنین بررسی تعادل هاردی واینبرگ برای فراوانی ژنوتیپ ها به وسیله ی Chi-square test بررسی شد. آنالیزهای آماری به کمک PLINK software version 1.07 (Boston, MA, USA) انجام و سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## یافته ها

پس از انجام PCR به روش ARMS، مشاهده قطعه ای به طول ۱۶۴ جفت باز بیانگر حضور آل A و G بود که بر مبنای آن ژنوتیپ هر فرد تعیین شد. از سوی دیگر مشاهده قطعه ای به طول ۳۶۸ جفت باز به عنوان قطعه کنترل نشان دهنده انجام واکنش PCR و نشان دهنده صحت نتایج به دست آمده بود (شکل ۱).

عوامل محیطی و وراثت در بروز این بیماری نقش دارند.<sup>۴</sup> بر این اساس اندومتريوز یک بیماری پلی ژنیک بوده و مولتی فاکتوریال بوده که بر همکنش ژن ها از یک سو و برهمکنش عوامل ژنتیکی و محیطی از سوی دیگر بر بروز آن موثر می باشد.<sup>۵</sup> تاکنون ژن های متعددی در ارتباط با این بیماری شناسایی شده اند، اگرچه از میان آنها ژن های گیرنده های هورمون های جنسی از اهمیت بیشتری در این زمینه برخوردار می باشند. از آنجا که زنان به طور عمده در سنین باروری به این بیماری مبتلا می شوند و بعد از یائسگی و برداشتن تخمدان ها میزان ابتلا به آن کاهش می یابد از این رو به نظر می رسد این بیماری با استروژن مرتبط باشد.

با توجه به آنکه پیام رسانی سلولی استروژن ها توسط گیرنده استروژن یعنی ESR1 صورت می گیرد از این رو می توان از این ژن به عنوان یکی از ژن های کاندید مرتبط با اندومتريوز نام برد. این ژن بر روی ناحیه کروموزومی 6q25.1 قرار داشته<sup>۶</sup> و طول آن حدود ۴۵۰ کیلو باز می باشد. این ژن کد کننده پروتیین گیرنده استروژن آلفا می باشد که این محصول ژنی موجب تحریک رشد سلول های اندومتر می شود.<sup>۷</sup>

نتایج به دست آمده از مطالعات همبستگی ژنوم (GWAS) حاکی از وجود ارتباط میان پلی مورفیسم های متعدد و شانسی ابتلا به این بیماری می باشد.<sup>۸-۱۰</sup> از این رو و با در نظر گرفتن این نکته که ESR1 گیرنده عمده در رحم بزرگسالان است و قسمت بیشتر اثرات استروژن از طریق این گیرنده اعمال می شود،<sup>۱۱</sup> از این روی می توان پلی مورفیسم rs9340799 که محل اتصال یک پروتیین فعال کننده به نام AP-4 می باشد را به عنوان یکی از پلی مورفیسم های کاندید مرتبط با بروز اندومتريوز معرفی نمود.<sup>۱۳ و ۱۲</sup>

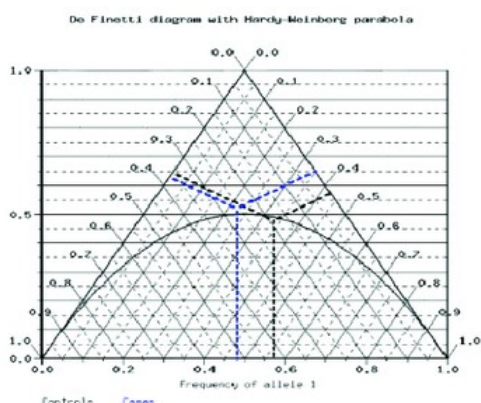
از سوی دیگر با توجه به عدم مطالعه این پلی مورفیسم به عنوان یکی از مهمترین پلی مورفیسم های کاندید مرتبط با اندومتريوز، پژوهش حاضر به بررسی فراوانی پلی مورفیسم rs9340799 ژن ESR1 در جمعیت زنان ایرانی و ارتباط آن با اندومتريوز به منظور شناسایی و تشخیص زودرس آن پرداخت.

## روش بررسی

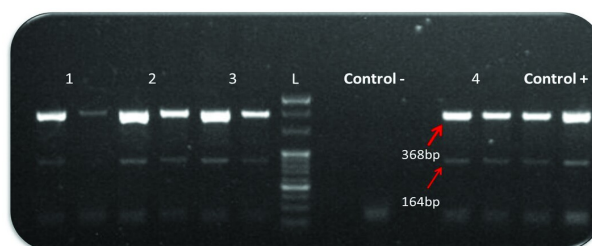
در این مطالعه مورد- شاهدی (Case-control)، از افراد مراجعه

بررسی فراوانی آللی در گروه بیماران و شاهد نشان داد که فراوانی نسبی آلل (G, A) در گروه بیماران و شاهد به ترتیب عبارت بود از (۰/۵۷ و ۰/۴۳) و (۰/۴۸ و ۰/۵۲) (جدول ۲). بر مبنای این نتایج آلل A دارای بیشترین فراوانی در گروه بیماران (۰/۵۷) و آلل G دارای بیشترین فراوانی (۰/۵۲) در گروه شاهد بود، اگرچه اختلاف معناداری

با توجه به یافته‌های به دست آمده در این مطالعه، توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم rs9340799 در هر دو گروه کنترل (P=۰/۱۲۴) و شاهد (P=۰/۲۰۴) از تعادل هاردی واینبرگ (Hardy-Weinberg Equilibrium, HWE) پیروی می‌کرد (شکل ۲) که بیانگر مناسب بودن انتخاب و نمونه‌گیری اولیه در این طرح بود. در این پژوهش



شکل ۲: مقایسه فراوانی ژنوتیپی و تعادل هاردی واینبرگ در دو گروه مورد و شاهد



شکل ۱: الکتروفورز محصولات ARMS-PCR با طول قطعات ۱۶۴ و ۳۶۸ جفت باز حاصل تکثیر اختصاصی پلی مورفیسم rs9340799 بر روی ژل آگارز ۱/۱٪. ردیف ۱: فرد هموزیگوس AA، ردیف ۲: فرد هتروزیگوس AG، ردیف ۳: فرد همزیگوس GG، L: مارکر ۵۰ جفت بازی

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر آلل نرمال و موتانت پلی مورفیسم rs9340799

تعداد باز (bp)	Tm	توالی (۵' - ۳')	نام پرایمر
۲۱	۵۹/۸	CAGGGTTATGTGGCAATGACG	Common Forward
۲۱	۶۰/۳	ATTACCTCTTGCCGCTCTGTTGC	Common Reverse
۲۰	۵۷/۳	CCAATGCTCATCCCAAGTCT	Normal
۲۰	۵۹/۴	CCAATGCTCATCCCAAGTCC	Mutant

جدول ۲: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی آلل‌های A و G در افراد بیمار و شاهد

OR** (CI /۹۵)***	P*	گروه تحت مطالعه			آلل
		مجموع	گروه شاهد	گروه بیمار	
۱/۴۳(۰/۹۶-۲/۱۳)	۰/۰۷	۲۱۰	۹۶(۰/۴۸)	۱۱۴(۰/۵۷)	A
۱/۰۰ (رفرانس)****		۱۹۰	۱۰۴(۰/۵۲)	۸۶(۰/۴۳)	G
		۴۰۰	۲۰۰	۲۰۰	مجموع

داده‌های جدول بر اساس تعداد (درصد) گزارش شد. نسبت شانس (Odds Ratio) بر مبنای Chi-square test محاسبه و P<۰/۰۵ از نظر آماری معنادار محسوب شد.

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

جدول ۳: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی ژنوتیپ‌های مشاهده شده در دو گروه مورد و شاهد

OR** (CI /۹۵)***	P*	مجموع	گروه تحت مطالعه		ژنوتیپ
			گروه بیمار	گروه شاهد	
۲/۰۵(۰/۹۲-۴/۷۵)	۰/۰۷	۵۵	۳۳ (۳۳٪)	۲۲ (۲۲٪)	AA
۱/۶۲(۰/۸۳-۳/۱۶)	۰/۱۵	۱۰۰	۴۸ (۴۸٪)	۵۲ (۵۲٪)	AG
۱/۰۰ (رفرانس)****		۴۵	۱۹ (۱۹٪)	۲۶ (۲۶٪)	GG
		۲۰۰	۱۰۰	۱۰۰	مجموع

داده‌های جدول بر اساس تعداد (درصد) گزارش شد.

نسبت شانس (Odds Ratio) بر مبنای آزمون Chi-square محاسبه و  $P < ۰/۰۵$  از نظر آماری معنادار محسوب شد.

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

می‌شود.<sup>۱۶-۱۴</sup> در مطالعات فراوان انجام شده ارتباط میان پلی مورفیسم‌های ژن ESR $\alpha$  و برخی از بیماری‌ها مانند سرطان سینه، آلزایمر، سرطان پروستات گزارش شده است.<sup>۱۷</sup> در مطالعه حاضر ارتباط بین ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم (rs9340799) ژن ESR $\alpha$  و اندومتريوز بررسی شده است. در پژوهشی توسط Xie و همکاران، ارتباط بین ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم (rs9340799) و اندومتريوز مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج حاصل نشان‌دهنده وجود ارتباط معنادار میان این پلی مورفیسم و استعداد ابتلا به اندومتريوز بود.<sup>۱۸</sup> هر چند نتایج به دست آمده توسط Wang و همکارانش، بیانگر عدم وجود ارتباط معنادار میان این پلی مورفیسم و استعداد ابتلا به اندومتريوز بود.<sup>۱۹</sup>

در ادامه این تحقیقات، Renner, Kim و همکارانشان به نتایج مشابهی دست یافتند که تمامی آنها بیانگر عدم وجود ارتباط میان ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم (rs9340799) ESR $\alpha$  و اندومتريوز بود.<sup>۲۱ و ۲۰</sup> نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مبنی بر عدم ارتباط میان ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs9340799 و اندومتريوز، برابر با نتایج به دست آمده در اکثر مطالعات انجام شده در این زمینه بود. اگرچه عدم انطباق نتایج به دست آمده در مقایسه با برخی مطالعات انجام شده را می‌توان به تفاوت پیش‌زمینه‌های قومی و نژادی افراد شرکت‌کننده در این مطالعه با سایر جمعیت‌ها نسبت داد. هر چند نقش عوامل محیطی و میانکنش میان ژن و محیط نیز می‌تواند در بروز این تفاوت‌ها موثر باشد. بروز ژنوتیپ‌های متفاوت

در فراوانی آلی در دو گروه مورد و شاهد مشاهده نشد ( $P=۰/۰۷$ ). بر مبنای این نتایج فراوانی ژنوتیپ نرمال، هتروزیگوت و موتانت (AA, AG, GG) در گروه بیماران و شاهد به ترتیب (۲۶٪، ۵۲٪ و ۲۲٪) و (۱۹٪، ۴۸٪ و ۳۳٪) بود.

بر این اساس ژنوتیپ AG دارای بیشترین فراوانی در هر دو گروه مورد و شاهد بود. (جدول ۳). مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های (AA, AG, GG) در دو گروه مورد و شاهد به کمک Chi-square test نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنادار ( $P=۰/۰۷$ ) در فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف بین بیماران و گروه شاهد بود. این نتایج حاکی از عدم وجود ارتباط معنادار میان پلی مورفیسم rs9340799 ژن ESR $\alpha$  و استعداد ابتلا به اندومتريوز در جمعیت مورد مطالعه بود.

## بحث

پیام‌رسانی سلولی استروژن‌ها از طریق دو گیرنده استروژن یعنی گیرنده استروژن آلفا (ESR $\alpha$ ) و گیرنده استروژن بتا (ESR $\beta$ ) صورت می‌گیرد. هر دو گیرنده استروژن متعلق به خانواده‌ای از فاکتورهای رونویسی به نام خانواده گیرنده هسته‌ای (NR) می‌باشند که در اندومتر بیان می‌شوند ولی میزان بیان آنها در فازهای قاعدگی متفاوت است. در مجموع میزان ESR $\alpha$  نسبت به ESR $\beta$  در اندومتر بیشتر است و قسمت اعظم اثرات استروژن همچون تحریک پرولیفراسیون و همچنین تحریک بیان گیرنده پروژسترون توسط این گیرنده اعمال

عوامل محیطی را در ادامه به دنبال داشته باشد. نتیجه این تحقیقات و جمع‌بندی یافته‌های به‌دست آمده در هر یک از آنها می‌تواند در نهایت منجر به شناسایی واریانت‌های ژنتیکی مرتبط با اندومتریوز شود که به نوبه خود می‌تواند امکان تشخیص زود هنگام بیماری در افراد مستعد، پیشگیری و درمان هر چه موثر تر افراد مبتلا به این بیماری را در مراکز درمانی و بیمارستانی فراهم آورد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم ژن  $ESR\alpha$  (rs9340799) با خطر ابتلا به اندومتریوز در زنان مبتلای ایرانی" مصوب در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۲ و کد ۶۶۸۵ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی اجرا شده است.

در جمعیت‌های مختلف ممکن است به پیش زمینه‌های قومی و نژادی آن جمعیت وابسته باشد. علاوه بر این، فاکتورهای محیطی نیز ممکن است نقش مهمی در پاتوژنز این بیماری ایفا کند. میانگنش‌های بین دو ژن نیز ممکن است به تفاوت در جمعیت‌های مختلف و یا میان افراد یک گروه نژادی کمک کند. با توجه به چند عاملی بودن و برهم کنش ژن‌های مختلف و همچنین تاثیر عوامل محیطی و ژنی در بروز این بیماری و نیز تفاوت‌هایی که از این لحاظ در جمعیت‌های مختلف وجود دارد، تحقیق حاضر که در یک جمعیت ایرانی انجام شده است به‌عنوان پایه‌ای در جهت شناخت مبانی مولکولی اندومتریوز در جامعه ایران مطرح بوده و می‌تواند بررسی‌های گسترده‌تر و بررسی نقش واریانت‌های ژنتیکی دیگر و همچنین نقش

## References

- Sayasneh A, Tsivos D, Crawford R. Endometriosis and ovarian cancer: a systematic review. *ISRN Obstet Gynecol* 2011;2011:140310.
- Al-Jefout M. Brief update on endometriosis treatment. *Middle East Fertil Soc J* 2011;16(3):167-74.
- Berkley KJ, Rapkin AJ, Papka RE. The pains of endometriosis. *Science* 2005;308(5728):1587-9.
- Stefansson H, Geirsson RT, Steinthorsdottir V, Jonsson H, Manolescu A, Kong A, et al. Genetic factors contribute to the risk of developing endometriosis. *Hum Reprod* 2002;17(3):555-9.
- Hansen KA, Eyster KM. Genetics and genomics of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol* 2010;53(2):403-12.
- Ding Y, Chen ZF, Lin RY, Wang XF, Ding JB, Ai XZ, et al. Relationship between endometriosis and glutathione S-transferase M1, T1 genes of the Uyghurs and Hans in Xinjiang. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2004;39(2):101-4.
- Kos M, Reid G, Denger S, Gannon F. Minireview: genomic organization of the human ERalpha gene promoter region. *Mol Endocrinol* 2001;15(12):2057-63.
- Uno S, Zembutsu H, Hirasawa A, Takahashi A, Kubo M, Akahane T, et al. A genome-wide association study identifies genetic variants in the CDKN2BAS locus associated with endometriosis in Japanese. *Nat Genet* 2010;42(8):707-10.
- Painter JN, Anderson CA, Nyholt DR, Macgregor S, Lin J, Lee SH, et al. Genome-wide association study identifies a locus at 7p15.2 associated with endometriosis. *Nat Genet* 2011;43(1):51-4.
- Nyholt DR, Low SK, Anderson CA, Painter JN, Uno S, Morris AP, et al. Genome-wide association meta-analysis identifies new endometriosis risk loci. *Nat Genet* 2012;44(12):1355-9.
- Vivacqua A, Bonfiglio D, Recchia AG, Musti AM, Picard D, Andò S, et al. The G protein-coupled receptor GPR30 mediates the proliferative effects induced by 17beta-estradiol and hydroxytamoxifen in endometrial cancer cells. *Mol Endocrinol* 2006;20(3):631-46.
- Paskulin DD, Cunha-Filho JS, Paskulin LD, Souza CA, Ashton-Prolla P. ESR1 rs9340799 is associated with endometriosis-related infertility and in vitro fertilization failure. *Dis Markers* 2013;35(6):907-13.
- Trabert B, Schwartz SM, Peters U, De Roos AJ, Chen C, Scholes D, et al. Genetic variation in the sex hormone metabolic pathway and endometriosis risk: an evaluation of candidate genes. *Fertil Steril* 2011;96(6):1401-06.e3.
- Kitawaki J, Kado N, Ishihara H, Koshiba H, Kitaoka Y, Honjo H. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002;83(1-5):149-55.
- Takahashi K, Nagata H, Kitao M. Clinical usefulness of determination of estradiol level in the menstrual blood for patients with endometriosis. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1989;41(11):1849-50.
- Razzi S, Fava A, Sartini A, De Simone S, Cobellis L, Petraglia F. Treatment of severe recurrent endometriosis with an aromatase inhibitor in a young ovariectomized woman. *BJOG* 2004;111(2):182-4.
- Hsieh YY, Wang YK, Chang CC, Lin CS. Estrogen receptor alpha-351 XbaI\*G and -397 PvuII\*C-related genotypes and alleles are associated with higher susceptibilities of endometriosis and leiomyoma. *Mol Hum Reprod* 2007;13(2):117-22.
- Xie J, Wang S, He B, Pan Y, Li Y, Zeng Q, et al. Association of estrogen receptor alpha and interleukin-10 gene polymorphisms with endometriosis in a Chinese population. *Fertil Steril* 2009;92(1):54-60.
- Wang Z, Yoshida S, Negoro K, Kennedy S, Barlow D, Maruo T. Polymorphisms in the estrogen receptor beta gene but not estrogen receptor alpha gene affect the risk of developing endometriosis in a Japanese population. *Fertil Steril* 2004;81(6):1650-6.
- Kim SH, Choi YM, Jun JK, Kim SH, Kim JG, Moon SY. Estrogen receptor dinucleotide repeat polymorphism is associated with minimal or mild endometriosis. *Fertil Steril* 2005;84(3):774-7.
- Renner SP, Strick R, Oppelt P, Fasching PA, Engel S, Baumann R, et al. Evaluation of clinical parameters and estrogen receptor alpha gene polymorphisms for patients with endometriosis. *Reproduction* 2006;131(1):153-61.

## The -351A>G genetic polymorphism in the estrogen receptor alpha gene and risk of endometriosis: a case-control study

Reihaneh Asadi M.Sc.<sup>1</sup>  
 Parisa Mohamadynejad Ph.D.<sup>1</sup>  
 Fatemeh Davari Tanha M.D.<sup>2</sup>  
 Mahdi Safarpour M.Sc.<sup>3</sup>  
 Ahmad Ebrahimi Ph.D.<sup>3\*</sup>

1- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

2- Department of Obstetrics & Gynecology, and Reproductive Endocrinology, Vali-e-asr Reproductive Health Center, Tehran, University of Medical Science, Tehran, Iran.

3- Cellular and Molecular Research Center, Obesity Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

\* Corresponding author: Cellular and Molecular Research Center, Obesity Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, No. 24, Parvaneh St, Yemen St, Chamran Expressway, Tehran, Iran.  
 Tel: +98- 21- 22432500  
 E-mail: ae35m@yahoo.com

### Abstract

Received: 30 Nov. 2014 Accepted: 28 Jan. 2015 Available online: 24 Feb. 2015

**Background:** The major issue to address in endometriosis etiology is to identify the genetic changes in the disease and their occurrence in different populations. Uncovering these genetic changes may be important in developing potential biomarkers for early diagnosis and prognosis of endometriosis. Among all endometriosis susceptibility genes studied before, convincing association has been found with variants in the estrogen receptor alpha (ESR1) gene and this disease; however, the contributions of these genetic variants in different populations and ethnic groups are not similar. Accordingly, this study was carried out to replicate the previous findings to assess whether this polymorphism is associated with endometriosis in Iranian women.

**Methods:** A case-control study was designed to determine the possible association between ESR1-351A>G variant and occurrence of endometriosis. The study group consisted of 100 subjects diagnosed with endometriosis as case group and 100 fertile women without endometriosis as controls recruited from subjects referred to the Tehran Women's General Hospital between January to September 2013. All subjects were genotyped for this marker using amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction (ARMS-PCR). Association of risk allele (G) with endometriosis was assessed using PLINK software after age adjustment.

**Results:** The results showed that the genotype frequencies were in Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) in both case (F=0.04, P:0.67) and control (F=0.02, P:0.83) groups. In addition, there were no significant differences between case and control groups in terms of genotype frequencies (P=0.17). Moreover, the results indicated that the presence of risk allele (G) did not significantly increase risk of endometriosis (OR: 1.43, 95%CI: 0.96-2.13, P=0.07).

**Conclusion:** The results do not support the previous findings of an association between -351A>G genetic polymorphism in ESR1 gene and endometriosis. Therefore, comprehensive genetic approaches including linkage analyses and family-based tests, together with a number of replication studies with large sample size, are needed to make conclusive claims about the role of this genetic polymorphism in susceptibility to endometriosis.

**Keywords:** case-control studies, endometriosis, estrogen receptor alpha, Iran, rs9340799, single nucleotide polymorphism.