

ارتباط بین پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val ژن گلو تاتیون S- ترانسفراز P1 (GSTP1) و خطر ابتلا به لیومیوم رحمی در جمعیت ایرانی

چکیده

دریافت: ۱۳۹۳/۰۱/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۶/۳۰ آنلاین: ۱۳۹۳/۰۸/۲۰

زمینه و هدف: لیومیوم‌های رحمی شایع‌ترین تومور خوش‌خیم رحمی در زنان می‌باشد که تقریباً ۴۰-۲۰ درصد زنان در سن باروری به این بیماری مبتلا می‌باشند. استروژن نقش مهمی در پاتوژنز لیومیوما ایفا می‌کند. از جمله ژن‌های درگیر در بیوسنتز استروژن گلو تاتیون S- ترانسفراز می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val و خطر ابتلا به لیومیوم رحمی در جمعیت ایرانی بود.

روش بررسی: این مطالعه مورد-شاهدی از آبان ۱۳۹۱ تا شهریور ۱۳۹۲ روی ۵۰ زن مبتلا به لیومیوم رحمی و ۵۰ زن سالم در انستیتو پاستور ایران انجام گرفت. مولکول DNA ژنومیک این افراد از لکوسیت‌های خون محیطی به روش استاندارد فنل-کلروفورم استخراج شد. پس از استخراج DNA، پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val به وسیله تکنیک استاندارد فنل-کلروفورم استخراج شد. پس از استخراج DNA، پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val به وسیله تکنیک Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction (ARMS-PCR) تعیین ژنوتیپ گردیدند. بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم ایزولوسین/والین و شانس ابتلا به بیماری به کمک نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۸ انجام شد.

یافته‌ها: آنالیز داده‌های به دست آمده در مورد پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val نشان داد که وجود اختلاف معنادار در فراوانی ژنوتیپی در دو گروه مورد و شاهد بود ($P < 0.0001$). بر مبنای نتایج به دست آمده حضور آلل والین شانس ابتلا به میوم رحمی در حاملین این آلل را در مقایسه با افراد غیرحامل به‌طور تقریبی به میزان سه برابر افزایش می‌داد. ($OR: 3.34, CI: (1.82-6.15)$) برابر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val با خطر ابتلا به بیماری لیومیوم رحمی در جمعیت ایران ارتباط دارد. اگرچه انجام مطالعات بیشتر با حجم نمونه بالاتر در سایر جمعیت‌ها و قومیت‌ها به منظور تایید نتایج حاصل در این تحقیق ضروری است.

کلمات کلیدی: لیومیوم رحمی، GST، پلی مورفیسم ایزولوسین/والین، ایران.

سلوا سادات مصطفوی ده رئیس^۱
سید مهدی سادات^۲، فاطمه داوری
تنها^۳، محمدرضا آقاصادقی^۴، مهدی
صفریپور^۴، پریناز عباسی رنجبر^۵، احمد
ابراهیمی^{*۴}

۱- گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران. ۲- گروه هپاتیت و ایدز انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران. ۳- گروه زنان و مامایی بیمارستان زنان و مرکز تحقیقات باروری ولیعصر، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۴- مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات جافی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. ۵- گروه سلولی مولکولی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

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

مقدمه

منوپوز و ۸۴٪ در زنان منوپوز که تحت هیستروکتومی قرار گرفتند، مشخص شده است.^۴ این تومورها شایع‌ترین علت هیستروکتومی و جراحی رحمی به شمار می‌روند.^۵ همچنین لیومیوم رحمی علت یک سوم موارد بستری به دلیل خونریزی غیرطبیعی رحمی و علت شایع بی‌نظمی‌های قاعدگی، درد لگن و دیگر علائمی است که به‌طور

لیومیوم رحم (فیبروئیدها یا میوم‌ها) از شایع‌ترین انواع تومورهای خوش‌خیم لگنی است که شیوع ۴۰-۲۰ درصدی در زنان سنین باروری دارد.^{۱-۳} در بررسی‌های پاتولوژیک شیوع ۷۳٪ در زنان پره

(اگزون ۶) و جایگزینی A>G در موقعیت باز ۳۱۳ (اگزون ۵) می‌باشند. این تغییرات به ترتیب باعث جایگزینی والین به جای آلانین در کدون ۱۱۴ و جایگزینی والین به جای ایزولوسین در کدون شماره ۱۰۵ می‌شوند. مطالعات ژنتیکی یک بیماری چند عاملی مانند لیومیوما، با توجه به عدم اطمینان در ویژگی پلی‌ژنی مشکل می‌باشد. با توجه به جایگاه روش‌های تشخیص مولکولی در آینده بیماری‌های مرتبط با زنان، شناخت انواع ژن‌های دخیل در آن الزامی است. این مطالعه جهت بررسی ارتباط پلی مورفیسم GSTP1Ile105Val (dpSNP:rs1695) در مبتلایان به میوم رحم در جمعیت ایرانی صورت گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه مورد-شاهدی (case-control) از افراد بیمار مراجعه‌کننده به بیمارستان زنان تهران، در مجموع ۱۰۰ نفر به‌عنوان گروه مورد و شاهد انتخاب شده و از نظر پلی مورفیسم GSTP1 مورد بررسی قرار گرفتند. افراد گروه مورد شامل ۵۰ نفر بیمار مبتلا به میوم رحمی، که تحت عمل جراحی هیستریکتومی 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 حفظ زنجیره سرد و ایمنی زیستی جهت انجام آزمایشات ژنتیکی به انستیتو پاستور ایران منتقل شد. استخراج DNA ژنومی، با استفاده از روش استاندارد فنل-کلورفرم^{۱۵} انجام شد. سپس DNA های استخراج شده در دمای ۲۰°C تا زمان استفاده نگهداری شدند. در این مرحله با استفاده از روش‌های الکتروفورز و دستگاه پیکودراپ نسبت به سنجش کیفیت و کمیت DNA استخراج شده اقدام گردید. به‌منظور تشخیص پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) Ile105val در ژن GSTP1 از تکنیک Amplification Refractory Mutation System

جدی روی کیفیت زندگی زنان تاثیر گذاشته و با اختلالات تولید مثلی نظیر ناباروری، سقط‌های مکرر و پیامدهای نامطلوب پره‌ناتال همراه هستند.^{۱۰} در حال حاضر دو تئوری شامل فرضیه هورمونی و ژنتیکی در مورد علت لیومیوم رحم و همچنین فاکتورهای خطر متعددی از جمله سن، سابقه خانوادگی، نژاد و وزن برای آن مطرح شده است.^۶ مطالعات مختلف نشان داده‌اند که رشد و پیشرفت لیومیوم وابسته به استروژن است.^{۹،۱۷} استروژن از یک سو به عنوان هورمون محرک تقسیم سلولی عمل کرده و از سوی دیگر از طریق فرآیندهای متابولیسمی به عنوان یک پروکارسینوزن سبب القا ژنوتوکسیسیته می‌شود.^{۱۱} از جمله آنزیم‌هایی که در متابولیسم استروژن دخیل هستند، می‌توان به سیتوکروم P450، کاتکول-O-متیل ترانسفراز (COMT) و گلو تاتیون S- ترانسفراز (GST) اشاره نمود. این آنزیم‌ها نقش مهمی در دفع کاتکول استروژن‌ها (CEs) ایفا می‌کنند.^{۱۱} به دلیل آنکه مواد سمی و مضر از طریق کونژوگه شدن با گلو تاتیون غیرفعال می‌شوند، کاهش یا نقص در عملکرد GST می‌تواند باعث حساس شدن بافت‌های بدن به مواد سمی و کارسینوزن‌ها شود.^{۱۲}

علاوه بر عوامل هورمونی، مطالعات اخیر نقش عوامل ژنتیکی در ابتلا به این بیماری را مطرح می‌نمایند. در همین راستا به تازگی پلی مورفیسم‌های ژنی متعددی گزارش شده‌اند که در میان این تغییرات ژنتیکی، پلی مورفیسم‌های درگیر در بیوسنتز و سیگنال دهی هورمون‌های استروئیدی ممکن است نشانگرهای ژنتیکی مفیدی برای تشخیص بیماری‌های مرتبط با هورمون باشند.^{۱۳}

از جمله ژن‌های کاندید در بروز لیومیوم رحمی می‌توان به خانواده‌ی ژنی گلو تاتیون S- ترانسفراز Pi اشاره کرد که تنها دارای یک عضو به نام GSTP1 می‌باشد. این ژن که بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۱ (11q13.2) قرار گرفته، کدکننده‌ی آنزیمی است که نقش مهمی در سم‌زدایی داشته و اتصال GSH به ترکیبات الکتروفیلیک و هیدروفوبیک را سرعت می‌بخشد. تاکنون پلی مورفیسم‌های متعددی بر روی این ژن شناسایی شده‌اند. پلی مورفیسم‌های گوناگون این ژن بر روی پروسه‌ی سم‌زدایی تاثیر می‌گذارند و در استعداد ابتلا به سرطان و سایر بیماری‌ها نقش دارند.^{۱۴} دو پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی شایع در ژن GSTP1 که بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند جا به جایی C>T در موقعیت باز ۳۴۱

$P < 0.05$ به عنوان مقدار معنادار شدن آنالیزهای آماری در نظر گرفته شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۹ مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه میانگین سنی بیماران ۳۲/۵ سال (۱۶-۴۹) و میانگین سنی افراد گروه کنترل ۲۸ سال (۲۰-۳۹) بود. نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین سن افراد مورد مطالعه در گروه کنترل و بیمار بود ($P=0.003$). با توجه به اطلاعات دموگرافیک در بیماران به عنوان جمعیت در دسترس، فراوانی در قومیت ترک ۱۶ (۳۲٪)، لر ۵ (۱۰٪)، فارس ۲۷ (۵۴٪) و کرد ۲ (۴٪) گزارش گردید. فراوانی گروه خونی A مثبت (۳۸٪) در افراد بیمار بیشتر از سایر گروه‌های خونی مشاهده گردید. تعداد فراوانی انواع میوم در موقعیت اینترامورال ۲۰ (۴۰٪)، سرروزال ۱۳ (۲۶٪)، موکوزال ۳ (۶٪) و در حالت‌های ترکیبی ۱۴ (۲۸٪) بود.

با توجه به ژنوتیپ هر فرد برای پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val در ژن GST و نتایج مشاهده شده در الکتروفورز محصول ARMS-PCR، بر روی ژل آگارز ۲٪، مشخص شد که هر نمونه بسته به

Polymerase Chain Reaction (ARMS-PCR) استفاده شد که در آن از چهار پرایمر استفاده گردید. برای طراحی پرایمرها، ابتدا توالی ژن‌های تحت مطالعه از سایت GeneBank به دست آمد، سپس با استفاده از نرم‌افزار Primer-BLAST (Primer-BLAST و Hastings Software Inc., Hastings, NY, USA)، پرایمرهای مناسب برای ژن GSTP1 طراحی گردید. ترتیب نوکلئوتیدهای پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه ارایه شد (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) برای آغازگرها بهینه‌سازی گردید. برای هر نمونه، دو تیوپ حاوی پرایمرهای نرمال و موتانت به‌صورت مجزا به همراه یک پرایمر مربوط به کنترل داخلی انتخاب شده و در حجم نهایی ۱۵ μ l انجام شد. واکنش PCR برای ۳۰ سیکل در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) اجرا شد. محصول PCR روی ژل آگارز ۲٪ با ولتاژ ۹۵ ولت و مدت زمان ۴۵ دقیقه جداسازی و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید انجام گردید. برای مطالعه فراوانی ژنتیکی و الی بین دو گروه بیمار و سالم از آزمون Fisher's exact tests استفاده شد. آنالیز چند متغیره با استفاده از مدل رگرسیون لجستیک، جهت به‌دست آوردن نسبت شانسی (Odd Ratio) تعدیل شده با سن در بین گروه‌های بیمار و کنترل تجزیه و تحلیل شدند.

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

نام پرایمر	توالی پرایمر (5' to 3')	محصول (bp)	دمای اتصال (°C)
GSTP1 Ile105Val	RN ACATAGTTGGTGTAGATGAGGGTGAT RM ACATAGTTGGTGTAGATGAGGGTGAC	۲۲۶	۶۳
Internal control	F TCCTCTCCCCTCCTCCA RC CTGCAGGTGTGTCTGTCC	۴۰۱	۶۳

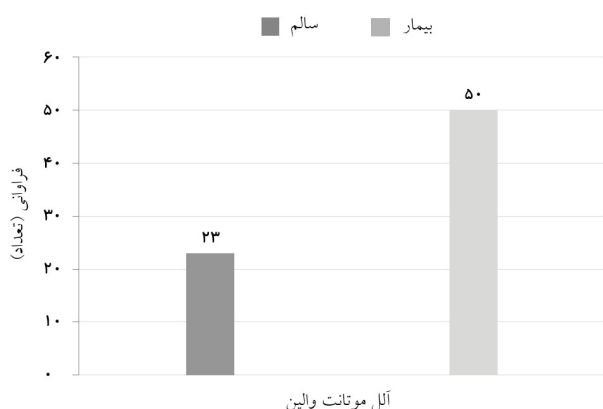
*توالی آغازگر برای تعیین ژنوتایپ و کنترل داخلی به‌صورت مشترک استفاده شد.

جدول ۲: فراوانی الی پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val ژن GST

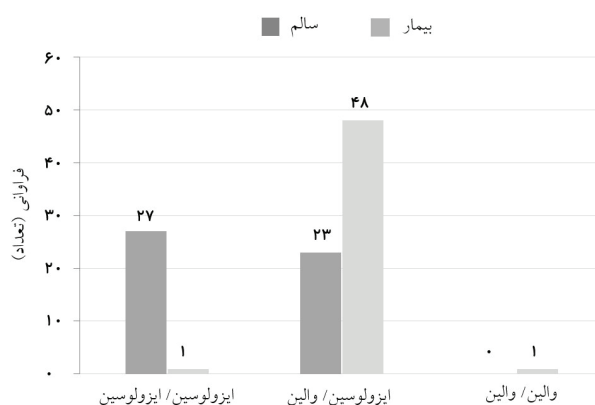
ال	تعداد (درصد)	P*	OR** (CI/۹۵***)
والین	۷۳ (۳۶/۵)	<0.0001	۳/۳۴ (۱/۱۸۲-۶/۱۵)
ایزولوسین	۱۲۷ (۶۳/۵)		۱/۰۰ (reference)****

*آزمون آماری: χ^2 و $P < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

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



نمودار ۲: فراوانی الی پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val مربوط به ژن GST بین بیماران مبتلا به میوم رحمی و افراد سالم



نمودار ۱: فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم GSTP1 Ile105Val مربوط به ژن GST بین بیماران مبتلا به میوم رحمی و افراد سالم

مشخص شده است. آنزیم‌های فاز I (سیتوکروم P450) با افزودن گروه‌های عاملی به پروکارسینوژن‌ها عمل خود را انجام می‌دهند.^{۱۶} آنزیم‌های فاز II شامل گلو تاتیون S- ترانسفراز و N- استیل ترانسفراز این متابولیت‌های فعال شده کارسینوژن را سم زدایی می‌کنند.^{۱۷،۱۸} نقش‌های متفاوتی برای پلی مورفیسم ژنتیکی GSTM1، GSTT1 و GSTP1 در افزایش خطر بروز سرطان‌های ریه، مثانه، معده، کلورکتال، پوست، خون و سرطان‌های مرتبط با زنان از جمله پستان، گردن رحم، اندومتریوز نشان داده شده است.^{۱۹،۲۰}

در مطالعه حاضر ژنوتیپ هتروزیگوت ایزولوسین / والین در کدون ۱۰۵ از ۴۶٪ در گروه کنترل به ۹۶٪ در افراد بیمار افزایش نشان داد که این افزایش با $P < 0.0001$ معنادار شد. معنادار نبودن ژنوتیپ هموزیگوت موتانت والین / والین، به علت کم بودن شیوع آن در میان جمعیت مورد مطالعه است.

Chan و همکارانش نشان دادند که بیماران حامل ال والین ۲/۰۳ بیشتر در معرض خطر ابتلا به سرطان اندومتريال می‌باشند ($P < 0.01$). همچنین مطالعه آنها نشان داد که فراوانی ال‌های ایزولوسین / والین در بین بیماران سرطانی نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معناداری می‌باشد ($P < 0.01$). در این مطالعه نیز حضور آل والین شانس ابتلا به بیماری در گروه بیماران به میزان ۳/۳۴ برابر گروه شاهد بود.^{۲۱} در مطالعه حاضر مشاهده شد که حاملین ال والین ۳/۳۹ برابر شانس

ژنوتایپ فرد، یک باند ۲۲۶ جفت‌بازی، مربوط به پلی مورفیسم مورد نظر در یک یا هر دو محصول PCR مربوط به آن نمونه مشاهده گردید و همچنین در تمامی ستون‌ها یک باند ۴۰۱ جفت‌بازی مربوط به کنترل داخلی PCR، مشاهده شد. توزیع فراوانی ژنوتیپی و الی GSTP1 در نمودار ۱ و ۲ نشان داده شده است. بر اساس آنالیز انجام شده بر مبنای فراوانی ژنوتیپ GSTP1 در دو گروه مورد و شاهد، ارتباط معناداری بین ژنوتیپ Ile/Val و خطر ابتلا به لیومیوم رحمی در گروه مورد نسبت به گروه شاهد (Ile/Ile) مشاهده گردید ($P < 0.0001$ ، OR: ۵۸/۸، CI: ۷/۱۹-۵۰۰).

در این مطالعه فراوانی نسبی ال موتانت والین که مرتبط با بیماری است در افراد بیمار بیشتر از گروه شاهد بود (۵۰ به ۲۳ درصد) و حاملین ال والین ۳/۳۹ برابر شانس بیشتری برای ابتلا به میوم رحمی داشتند (جدول ۲).

بحث

میوم رحمی یک بیماری چند عاملی است و نتایج مطالعاتی که تا کنون در ارتباط با آن صورت گرفته‌اند، عوامل مختلفی از قبیل، عوامل محیطی، هورمون‌ها، فاکتورهای رشد، سایتوکین‌ها و اختلالات ژنتیک را در بروز بیماری موثر می‌دانند.^{۱۱} برهمکنش ژن‌ها با کارسینوژن‌ها به وسیله آنزیم‌های فاز I و فاز II متابولیزه کننده کارسینوژن‌ها به خوبی

ارتباط پلی‌مورفیسم‌های GST و ریسک میوم رحمی نیازمند انجام مطالعات بیشتر در نژادهای مختلف و با استفاده از تعداد نمونه‌های بیشتری است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که وجود پلی‌مورفیسم GSTP1 Ile105Val ژن گلوپاتینون S- ترانسفراز در ایجاد و پیشرفت بیماری میوم رحمی نقش دارد و می‌توان از آن به‌عنوان یک مارکر در تشخیص زود هنگام بیماری و شناسایی افراد مستعد در کنار بررسی سایر ژن‌ها استفاده نمود تا در صورت شروع بیماری در گام‌های اول با به‌کارگیری داروهای مناسب نسبت به درمان بیماران اقدام نمود.

سپاسگزار می‌باشم: این مطالعه 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 زنان تهران و آزمایشگاه ژنتیک پارسه که در مراحل مختلف انجام پژوهش ما را یاری داده‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

بیشتری برای ابتلا به میوم رحمی دارند. Hashemi و همکاران نشان دادند که ژنوتیپ‌های هتروزیگوت ایزولوسین / والین و هموزیگوت والین / والین GSTP1 با خطر بروز سرطان پستان همراه هستند (P<۰/۰۰۰۱).^{۲۲} در مطالعه حاضر مشاهده شد که ژنوتیپ هتروزیگوت ایزولوسین / والین با خطر بروز میوم رحمی همراه است (P<۰/۰۰۰۱). این در حالی است که Hur و همکارانش ارتباط معناداری میان اندومتریوز و پلی‌مورفیسم GSTP1 نشان ندادند.^{۲۳} در مطالعه حاضر نیز میان ژنوتیپ هموزیگوت والین / والین و میوم رحمی ارتباط معناداری مشاهده نگردید. مطالعات متعددی برای تعیین نقش پلی‌مورفیسم‌های خاص و خطر ایجاد انواع سرطان‌ها انجام شده و نتایج متفاوتی در این گونه مطالعات گزارش شده است. این تفاوت در بیان پلی‌مورفیسم‌ها ممکن است ناشی از فرایندها و واکنش‌های متعدد آنزیم، تفاوت در طبقه‌بندی بیماری‌ها، نژاد، ناپایداری‌های محیطی و غیره باشد.^{۱۹-۲۳} از آنجایی که آنزیم‌های GST دارای سوبستراهای مشترکی می‌باشند و کار همدیگر را پوشش می‌دهند بنابراین روشن شدن

References

- Hillard PJA. General gynecology: Benign disease of the female reproductive tract symptoms and sign. In: Berek JS, editor. Novak's Gynecology. 13th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2002. p. 351-420.
- Schwartz SM, Marshall LM, Baird DD. Epidemiologic contributions to understanding the etiology of uterine leiomyomata. *Environ Health Perspect* 2000;108 Suppl 5:821-7.
- Wallach EE, Vlahos NF. Uterine myomas: an overview of development, clinical features, and management. *Obstet Gynecol* 2004;104(2):393-406.
- 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.
- Farquhar CM1, Steiner CA. Hysterectomy rates in the United States 1990-1997. *Obstet Gynecol* 2002;99(2):229-34.
- Stewart EA. Uterine fibroids. *Lancet* 2001;357(9252):293-8.
- Lethaby A, Vollenhoven B. Fibroids (uterine myomatosis, leiomyomas). *Clin Evid* (Online) 2011;2011.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Parl FF. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. *Cancer Lett* 2005;221(2):123-9.
- Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd ed. New York, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
- Townsend DM, Tew KD. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* 2003;22(47):7369-75.
- Rajnee S, Choudhary B, Binawara K. Short review of pathophysiology of catechol estrogen. *Pak J Physiol* 2010;6(2):60-2.
- Yager JD. Endogenous estrogens as carcinogens through metabolic activation. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2000;(27):67-73.

19. Saadat I, Saadat M. The glutathione S-transferase mu polymorphism and susceptibility to acute lymphocytic leukemia. *Cancer Lett* 2000;158(1):43-5.
20. Spurdle AB, Webb PM, Purdie DM, Chen X, Green A, Chenevix-Trench G. Polymorphisms at the glutathione S-transferase GSTM1, GSTT1 and GSTP1 loci: risk of ovarian cancer by histological subtype. *Carcinogenesis* 2001;22(1):67-72.
21. Chan QK, Khoo US, Ngan HY, Yang CQ, Xue WC, Chan KY, et al. Single nucleotide polymorphism of pi-class glutathione S-transferase and susceptibility to endometrial carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005;11(8):2981-5.
22. 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.
23. 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.

Association of Glutathione S-transferase P1 gene polymorphism and uterine leiomyoma in Iranian population

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
Mahdi Safarpour M.Sc.⁴
Parinaz Abbasi Ranjbar M.Sc.⁵
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.

5- Department of Cellular and Molecular Biology, University of Guilan, Rasht, Iran.

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

Abstract

Received: 10 Apr. 2014 Accepted: 21 Sep. 2014 Available online: 11 Nov. 2014

Background: Uterine leiomyoma is one of the most common benign smooth muscle tumors occurring in 20-40% of women worldwide in their reproductive years. Recent studies revealed that estrogen plays an important role in the pathogenesis of uterine leiomyoma. Since, Glutathione s-transferase (GST) gene families are involved in the biosynthesis of estrogen, the prior probability that variants at this locus are associated with uterine leiomyoma is likely to be above the null. Therefore, this study was carried out to examine whether GSTP1 Ile105Val polymorphism is associated with increased risk of uterine leiomyoma in Iranian population.

Methods: In this case-control study, 50 women diagnosed with uterine leiomyoma and 50 healthy controls were recruited from subjects referred to the Pasteur Institute of Iran from November 2012 to September 2013. The genomic DNA was extracted from peripheral blood leucocytes using the standard phenol-chloroform method and subsequently the GSTP1 polymorphism was genotyped using amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR). Logistic regression analysis was applied to estimate odds ratios and 95% confidence intervals after age adjustment using the SPSS statistical software package, version 18.0.

Results: The results showed significant differences between case and control groups in terms of genotype frequency ($P < 0.0001$). In addition, the results indicated that the presence of the valine allele significantly increased risk of uterine leiomyoma about three times more in individuals carrying the mutant allele compared to control group (Odds Ratio: 3.34; 95%CI: 1.82-6.15; $P < 0.0001$).

Conclusion: To our knowledge, this is the first study performed in Iranian population assessing the association between GSTP1 Ile105Val polymorphism and risk of uterine leiomyoma. However, further extensive researches with a large number of samples from different populations and ethnicities are required to validate the results obtained in this study.

Keywords: GSTP1, Ile105Val polymorphism, Iran, Uterine leiomyoma.