ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of GST-T1 Gene Polymorphism in Chronic Hepatitis B Infection

Saideh Shakuri Ghoshkhane[1],
Mohammad Shokrzadeh[2],
Tahereh Naji[3],
Vahid Hosseini[4],
Hamed Haghi Aminjan[5],
Ahad Alizadeh[6],
Tahoora Mousavi[7]

[1] MSc Student in Cell Molecular Biology, Islamic Azad University, Pharmaceutical Sciences Branch, Tehran, Iran
[2] Pharmaceutical Research Center, Department of Toxicology & Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Cell Molecular Biology, Islamic Azad University, Pharmaceutical Sciences Branch, Tehran, Iran
[4] Inflammatory Diseases of Upper Gastro Intestinal Tract Research center, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] PhD Student in Toxicology and Pharmacology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[6] PhD Student in Biostatistics, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[7] MSc in Microbiology, Cell Molecular Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received January 7, 2014 ; Accepted July 21, 2014)

Abstract

Background and purpose: Infection caused by hepatitis B virus is a major health problem and the most common known chronic infection. It has an important role in developing cirrhosis and hepatic cancer. Glutathione-s-transferase enzyme is one of the most important metabolic enzymes in cellular protection mechanisms such as: xenobiotic detoxification and metabolism and cells protection against harms caused by oxidative stress which prevents different diseases. This study aimed at determining the frequencies of GSTT1 polymorphisms in chronic hepatitis B infection.

Material and methods: In this case-control study, 100 chronic hepatitis B patients and 100 normal subjects from Mazandaran province were evaluated for GST T1 polymorphism. Both patient's and control's Genomic DNA was extracted from peripheral white blood cells according to Salting out method. Multiplex-PCR was done for detection of GST T1 gene polymorphism in both groups. Data was analyzed using SPSS V.18 and $P<0.05$ was considered significant.

Results: In present study, 200 people including 94 men and 106 women were examined. All subjects were from the same race and geographic area. Results showed an increase in the number of null GST T1 allele in patients (0.95% CL: 1.724 - 5.974, OR: 3.209, $P\leq0.001$).

Conclusion: GST T1 null allele was a factor leading to chronic hepatitis B and hepatic injuries in studied population in Mazandaran province.

Keywords: Polymorphism, GST T1, Multiplex PCR, Hepatitis B

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(115): 52-59 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۵ مرداد سال ۱۳۹۳ (۵۹-۵۲)

بررسی پلی مورفیسم آنزیم گلوتاتیون-s-ترانسفراز T1 (GST-T1) در افراد مبتلا به هپاتیت B مزمن

سعیده شکوری قوشخانه[۱]
محمد شکرزاده[۲]
طاهره ناجی[۳]
وحید حسینی[۴]
حامد حقی امین جان[۵]
احد علیزاده[۶]
طهورا موسوی[۷]

چکیده

سابقه و هدف: عفونت ایجاد شده توسط ویروس هپاتیت B از مشکلات عمده و شایع‌ترین عفونت مزمن شناخته شده است و نقش مهمی را در گسترش سیروز و سرطان کبدی ایفا می‌کند. آنزیم گلوتاتیون ترانسفراز یکی از آنزیم‌های متابولیکی مهم در مکانیسم‌های حفاظت سلولی از جمله سم‌زدایی و متابولیسم عوامل خارجی و حفاظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو است که منجر به جلوگیری از بیماری های مختلف می‌شود. از اینرو هدف از مطالعه انجام شده تعیین فراوانی پلی‌مورفیسم GSTT1 در ابتلا به هپاتیت B مزمن می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی، ۱۰۰ فرد مبتلا به هپاتیت B مزمن و ۱۰۰ فرد سالم مازندرانی، از نظر پلی‌مورفیسم GST T1 مورد ارزیابی قرار گرفتند. DNA ژنومی با استفاده از روش salting out (رسوب‌دهی توسط نمک) از سلول‌های سفید خون محیطی افراد بیمار و شاهد استخراج شد. با استفاده از روش Multiplex PCR، به بررسی ژنوتیپی ناحیه GST T1 در دو گروه پرداخته شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار spss v.18 انجام شد و p<۰/۰۵ معنادار در نظرگرفته شد.

یافته‌ها: در این مطالعه ۲۰۰ (۹۴ مرد و ۱۰۶ زن) نفر، که همگی از ناحیه جغرافیایی و نژاد یکسان انتخاب شده بودند مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان دهنده افزایش حذف GST T در افراد بیمار می‌باشد p≤۰/۰۰۱ (OR: ۳/۲۰۹، CL: ۱/۷۲۴-۵/۹۷۴ ۰/۹۵ درصد).

استنتاج: حذف GST T1 می‌تواند به عنوان یک عامل در ابتلای فرد به هپاتیت B مزمن و آسیب‌های کبدی ناشی از آن در جمعیت مازندران باشد.

واژه های کلیدی: پلی‌مورفیسم، GST T1، Multiplex PCR، هپاتیت B

مقدمه

آنزیم گلوتاتیون-s-ترانسفراز (GSTs)، یکی از آنزیم‌های متابولیکی فاز II می‌باشد که با استفاده از مسیر گلوتاتیون احیا نقش به‌سزایی در مکانیسم‌های محافظت سلولی از جمله سم‌زدایی مواد سرطان‌زا بر عهده

مولف مسئول: محمد شکرزاده- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، مرکز تحقیقات علوم دارویی E-mail: mslamuk@yahoo.com
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه ازاد اسلامی، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. استادیار، گروه سلولی و مولکولی، واحد علوم دارویی، دانشگاه ازاد اسلامی، تهران، ایران
۴. مرکز تحقیقات بیماری های التهابی دستگاه گوارش فوقانی، گروه گوارش، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. دانشجوی دکترای سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶. دانشجوی دکترای آمار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۷. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۱۰/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۱/۲۴ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۴/۳۰

دارد. علاوه بر آن در متابولیسم عوامل خارجی مانند: سرطان‌زاهای محیطی، عوامل شیمی- درمانی و حفاظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو نقش موثر ایفا می‌کند(۲،۱).

در انسان خانواده GSTs را می‌توان در سه گروه آنزیم‌های موجود در سیتوزول، میتوکندری و میکروزم مورد بررسی قرار داد. آنزیم‌های موجود در بخش سیتوزول به‌طور قابل توجهی در انتقال زیستی عوامل خارجی نقش دارند(۳،۱). این خانواده دارای ۱۶ ژن می‌باشد که به طور عمده در۸ کلاس μ، π، ξ، θ، α، δ، ω، κ قرار می‌گیرند(۵،۴،۱). بیش‌ترین میزان بیان آن‌ها در کبد پستانداران می‌باشد(۶). بین ایزوزیم‌های مختلف این آنزیم، ایزوزیم‌های P، A، M و T دارای بیش‌ترین پلی‌مورفیسم می‌باشند(۹-۷). اعضای خانواده GST کاندیداهای مهمی برای دخالت در حساسیت به وقوع فرم‌های گوناگون سرطان هستند زیرا آن‌ها توانایی افراد در متابولیزه کردن سرطان‌زاهای محیطی را تنظیم می‌کنند(۱۰-۱۲).

پلی‌مورفیسم‌های GSTs می‌توانند به واسطه تغییر در میزان و فعالیت آنزیم باعث حساس شدن بافت‌های بدن به مواد سمی و سرطان‌زاهای داخلی و خارجی شوند و در افزایش یا کاهش ابتلا افراد به انواع مختلفی از سرطان‌ها و بیماری‌ها نقش داشته باشند(۶). مطالعات زیادی ارتباط بین فقدان و عدم فعالیت این آنزیم با انواع مختلفی از سرطان‌ها مانند: سرطان مری(۱۳)، ریه(۱۴)، مثانه(۱۵)، دهان(۱۶)، پروستات(۱۷)، پستان(۱۸)، سرطان دهانه رحم(۳) و در بیماری‌های مختلف مانند ناباروری مردان(۷) و هپاتیت اتوایمیون(۱۹) را نشان می‌دهد. عضو GSTT1 از کلاس Theta این خانواده نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های مختلف ایفا می‌کند. حذف ژنی هموزیگوت در ناحیه $GSTT_1$، باعث عدم فعالیت GST θ و فقدان پروتئین‌های فعال در جمعیت مختلف می‌شود که این امر منجر به احتمال افزایش به بیماری‌های مختلف می‌گردد(۲۱،۲۰). طبق اعلام سازمان جهانی بهداشت (WHO)، دو میلیارد نفر در جهان به ویروس HBV آلوده هستند که در این بین ۳۵۰ تا ۴۰۰ میلیون نفر ناقل عفونت می‌باشند(۲۲). کشور ایران جزء مناطقی با شیوع متوسط محسوب می‌شود به گونه‌ای که می‌توان بیان نمود حدود ۳ درصد از جمعیت آن، HBV مثبت هستند و شیوع آن در مناطق مختلف کشور نیز متفاوت می‌باشد(۲۳). گسترش عفونت ایجاد شده توسط این بیماری با عارضه‌هایی همانند: هپاتیت مزمن، سیروز و سرطان هپاتوسلولار همراه است که در نهایت می‌تواند منجر به مرگ بیمار شود(۲۴).

هپاتیت B مزمن نقش مهمی در گسترش بیماری‌های کبدی ایفا می‌کند و ثابت شده است که احتمال سرطان هپاتوسلولار در میان افراد آلوده به هپاتیت B، نسبت به افراد غیر آلوده ۱۰۰ بار بیش‌تر است(۲۵). چندین مطالعه به بررسی نقش پلی‌مورفیسم‌های مختلف همانند GSTT1 در بیماری کبدی مرتبط با هپاتیت B و عوامل دیگر در جمعیت‌های مختلف صورت گرفته است. بر همین اساس به منظور بررسی ارتباط بین چند شکلی GSTT1 و بیماری کبدی مرتبط با هپاتیت B به منظور شناخت مسیر مولکولی مرتبط با عفونت هپاتیت B در جمعیت شمال ایران (مازندران) در بین بیماران با عفونت هپاتیت B در مقایسه با گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش مورد- شاهدی با هدف تعیین چند شکلی‌های گلوتاتیون -S- ترانسفراز T1 در بیماران مبتلا به هپاتیت B مراجعه‌کننده به کلینیک طوبی طراحی شده است. در ابتدا بر اساس نتایج آزمایشگاهی (تست‌های سرولوژیکی و الیزا) و با تایید پزشک متخصص و پس از دریافت رضایت آگاهانه از ۱۰۰ بیمار مبتلا به هپاتیت B شناخته شده، ۵ میلی‌لیتر خون محیطی گرفته شد و تا زمان استخراج DNA، در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. هم‌چنین ۱۰۰ فرد سالم دارای آنزیم

کبدی نرمال پس از هم‌سان‌سازی جنس و موقعیت مکانی به عنوان نمونه کنترل، در نظر گرفته شدند.

استخراج DNA

DNA ژنومی برای بررسی ژنتیکی با روش salting out (رسوب‌دهی توسط نمک) از لنفوسیت‌های خون محیطی صورت گرفت و پس از بررسی DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام PCR نگه‌داری شد.

واکنش PCR

در این مطالعه برای شناسایی ژنوتیپی از روش Multiplex PCR استفاده شد. به منظور شناخت نوع وجود یا عدم وجود تغییر در ناحیه مورد نظر از پرایمرهای مربوطه (جدول شماره۱) استفاده شد که در صورت وجود ناحیه مربوطه، قطعه‌هایی با طول ۴۵۹ جفت باز تکثیر گردید. از ژن Homo-sapiense آلبومین به عنوان نمونه کنترل استفاده شد. واکنش زنجیره‌ایی پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۱پیکومول از هر کدام از پرایمرهای مربوطه، ۲۰۰ میکرومول dNTPs، PCR بافر، ۲میلی‌مول MgCL2، ۳ واحد آنزیم DNA Polymerase Fermentase (Italy)Taq که با آب مقطر استریل به حجم ۲۵ میکرولیتر رسیده و تکثیر با استفاده از دستگاه *Bio-Rad* با برنامه دمایی واسرشته سازی اولیه در °۹۴C به مدت ۴ دقیقه، واسرشته‌سازی ثانویه °۹۴C به مدت ۴۰ ثانیه ، دمای °۶۰C برای اتصال پرایمرها به مدت ۴۵ ثانیه و دمای°۷۲C جهت گسترش پرایمرها به مدت ۴۰ ثانیه به تعداد ۳۰ سیکل جهت تکثیر و گسترش نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای °۷۲C صورت گرفت. محصول نهایی تکثیر یافته بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد در کنار نشان‌گر در محلول TBE به مدت ۵۰ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰ ولت در دمای آزمایشگاه انجام شد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید به وسیله دستگاه ترانس ایلومیناتور، بررسی و آشکارسازی باندها صورت گرفت.

جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای اختصاصی و طول قطعه تکثیر شده

ژن	شماره ژن بانک	پرایمر	دمای tm	طول قطعه های ایجاد شده
GST T1	NT-۰۱۱۵۲۰	F:TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC R:TCACCGGATCATGGCCAGCA	۶۰C°	۴۵۹ جفت باز
Albumin	NT-۰۲۲۷۷۸	F:GCCCTCTGCTAACAAGTCCTA R:GCCCTAAAAAGAAAATCGCCAATC	۶۰C°	۳۵۰ جفت باز

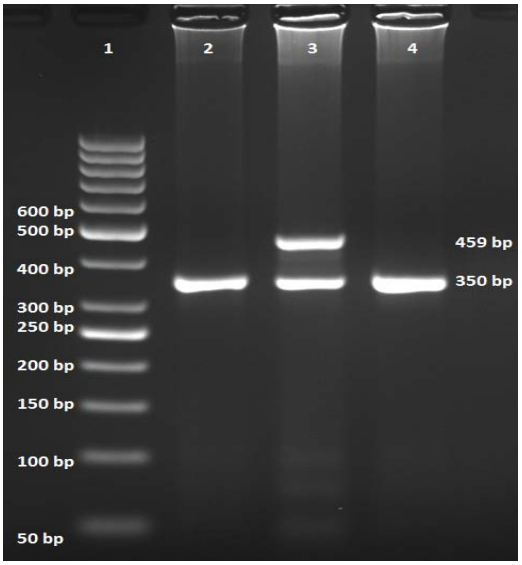
حضور یک باند روی ژل آگارز وجود یک یا دو کپی از ژن درنمونه DNA ژنومی را نشان می‌دهد. فقدان یک باند نشان دهنده آن می‌باشد که شخص برای آن آلل null هموزیگوت است(۲۷،۲۶).

آنالیز آماری

در این بررسی تحلیل‌های آماری به کار رفته برای محاسبه اثر ژنوتیپ‌ها در بروز بیماری شامل رگرسیون لجستیک می‌باشد به طوری که در این مطالعه اثر متغیرهای مداخله گر کنترل شده است. نرم افزار به کار رفته شامل SPSS ver 18 می‌باشد.

یافته ها

در این پژوهش مورد- شاهدی ۱۰۰ بیمارمبتلا به عفونت هپاتیت B و ۱۰۰ فرد سالم با آنزیم‌های کبدی طبیعی، از نظر چند شکلی در ژن GST T1 مورد بررسی قرارگرفتند. میانگین سنی افراد بیمار ۱۲/۲۷±۳۹/۶۱ بوده که کم‌ترین سن ۱۸ و بیش‌ترین سن ۶۸ سال بوده که نشان‌دهنده طیف گسترده سنی در این بیماری می باشد و تعداد افراد مرد و زن (۴۷ مرد و ۵۳ زن) تقریبا مشابه بوده و عدم تاثیرگذاری جنسیت را می‌رساند(p=۰/۷۲۳). در این بررسی حذف آللی ژن GST T1 به صورت هموزیگوت در گروه بیمار نسبت به گروه سالم بیش‌تر دیده شد که می‌تواند بیان‌گر احتمال خطر ابتلا به این عفونت باشد (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره۱: بررسی چند شکلی ژن GST T1 در مجاورت نشان‌گر (ردیف شماره۱)، حذف آللی GST T1 و ایجاد باند مربوط به آلبومین (ردیف شماره۲و۴)، باند مربوط به GST T1 و آلبومین (ردیف شماره۳)

هدف از رگرسیون لجستیک بررسی اثر متغیرهای جنس، سن و GST T1 بر روی بیماری با کنترل اثر مداخله گری هر یک می‌باشد. بررسی ارتباط بین GST T1 و بیماری، نشان‌دهنده ارتباط شدید معنادار می‌باشد به‌طوری‌که افرادی که دارای ژنوتیپ Null می‌باشند نسبت به افراد Non-Null 3.209 برابر بیش‌تر شانس ابتلا دارند. توزیع فراوانی ژنوتیپی در دو گروه بیمار و کنترل در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول شماره۲: توزیع فراوانی ژنوتیپ GST T1 در دو گروه بیماران مبتلا به هپاتیت B و سالم

چند شکلی	ژنوتیپ	بیماران تعداد (درصد)	شاهد تعداد (درصد)	سطح معنی‌داری	OR Adjust*	(95% CI)
GST T1	Non-Null	(۵۳)۵۳	(۷۸)۷۸			
	Null	(۴۷)۴۷	(۲۲)۲۲	<۰/۰۰۱	۳/۲۰۹	۱/۷۲۴-۵/۹۷۴

* مدل فوق نسبت به متغیرهای سن و جنس تعدیل شده است.

بحث

عفونت ایجاد شده توسط ویروس هپاتیت B از مشکلات بزرگ در سطح جهان و شایع‌ترین عفونت مزمن شناخته شده بشری است. به‌گونه‌ای که طیف وسیعی از افراد در گروه‌های سنی مختلف را در بر می‌گیرد(۲۶).

عفونت هپاتیت B در دو سطح حاد و مزمن قابل بررسی می‌باشد. بر اساس شواهد موجود هپاتیت مزمن یک فرآیند التهابی است به گونه‌ای که توسط عفونت پایدار HBV ایجاد می‌شود و سبب تخریب بافت کبدی می‌شود(۲۷). آسیب کبدی تحت تاثیر فاکتورهای گوناگون از قبیل: ژنوتیپ‌های ویروسی و میزبان، عفونت‌های ویروسی هم‌زمان مانند HIV و هم‌چنین فرآیندهای متقابل فاکتورهای ویروسی و ژنتیکی میزبان بستگی دارد(۲۸). آنزیم گلوتاتیون-S- ترانسفراز دارای نقش مهمی در مکانیسم‌های سم‌زدایی و حفاظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو دارد(۲،۱). چندین مطالعه ارتباط بین چند شکلی GST T1 و بیماری‌های کبدی مرتبط با عوامل گوناگون همانند HBV را گزارش دادند، هر چند در بین نژادهای مختلف نتایج متفاوت بوده است که یکی از دلایل آن می‌تواند نژادهای متفاوت و انتخاب افراد مختلف باشد(۲۸). در این مطالعه ارتباط بین چند شکلی ژن GST T1 به عنوان مولکول‌های موثر در حفاظت سلولی و جلوگیری‌کننده از آسیب سلولی به روش Multiplex PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. مطالعات نشان داده‌اند که چند شکلی‌های ژنی در ژن‌های گلوتاتیون-S- ترانسفراز با حساسیت‌های ژنتیکی به سرطان‌ها و بیماری‌های مختلف مرتبط می‌باشند(۲۹). در مطالعه‌ی که با استفاده از روش Multiplex PCR توسط Baclig و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در کشور فیلیپین انجام شد مشاهده کردند که حذف آللی GST M1 در بررسی چند شکلی ژن GST T1 و GST M1 بر روی افراد با عوارض کبدی مبتلا به هپاتیت B، با خطر افزایش بیماری‌های کبدی در این افراد مرتبط می‌باشد (OR:۱۷/۸۵، CL: ۷/۳۴-۴۳/۴۵ ۰/۹۵ درصد)، در حالی که حذف آللی GST T1 تاثیری روی بیماری ندارد(۳۰). در مطالعه انجام شده دیگر توسط Kandemir

و همکـارانش در سـال ۲۰۰۸ در کشـور ترکیـه کـه بـا اسـتفاده از روش Real Time PCR بـه بررسـی چنـد شکلی ژن GST T1 و GST M1 در افراد مبتلا به هپاتیت B صورت گرفت مشاهده کردند که حذف آللـی M1 و GST T1 به صورت هموزیگوت، شاخص مهمی درایـن افراد به آلودگی هپاتیـت B نمـی‌باشـد(۳۱) هـم‌چنـین در بررسـی انجـام شـده دیگـر توسـط Abd El-Moneim و همکـاران در سـال ۲۰۰۸ کـه در کشـور مصـر بـر روی افرادی بـا سـیروز کبـدی مـرتبط بـا هپاتیـت B مشـاهده کردند که حذف آللی M1 و GST T1 می‌تواند در افراد بیمار به عنوان یک عامل افـزایش دهنـده خطـر ابـتلا بـه سـرطان کبـدی باشـد(۳۲). در مطالعـه حاضـر مشـاهده می‌شود که حذف آلل GST T1 به صورت هموزیگوت در افراد آلوده به عفونت هپاتیت B بیش‌تر می‌باشـد کـه می‌تواند به عنوان یک شاخص ژنتیکـی در ابـتلا بـه ایـن عفونت باشد. هـم‌چنـین بـا توجـه بـه نقـش آنزیمـی کـه پروتئین‌های تولید شده توسط این ژن در سم‌زدایی مـواد دارند استنباط می‌شود که می‌تواند نقش تشـدیدکنندگی در آسیب کبدی و پیشرفت به سمت سرطان کبدی باشد و تغییرات ژنتیکی در ژن GSTها می‌تواند نقش مـوثر را در علـت شناسـی سـرطان کبـدی داشـته باشـد. پیشـنهاد می‌شود که مطالعات بیش‌تری در نژادهای متفاوت بـرای روشـن شـدن ارتبـاط بـین چنـد شـکلی‌هـای ژن GST و عفونت هپاتیتB صورت پذیرد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسـی ارشـد رشـته زیست شناسی- علـوم سـلولی و مولکـولی خـانم سـعیده شکوری قوشخانه مـی‌باشـد. بـدین‌وسـیله نویسـندگان از تمامی افراد شرکت‌کننـده در ایـن پـژوهش و هـم‌چنـین کارکنان بخش آزمایشگاه کلینیک طوبی نهایـت تشـکر و قدردانی را دارند.

References

1. Tatewaki N, Maekawa K, Katori N, Kurose K, Kaniwa N, Yamamoto N, et al. Genetic variations and haplotype structures of the glutathione S-transferase genes, GSTT1 and GSTM1, in a Japanese patient population. Drug MetabPharmacokinet 2009; 24(1): 118-126.
2. Li T, Zhao XP, Wang LY, Gao S, Zhao J, Fan YC, et al. Glutathione S-transferase P1 correlated with oxidative stress in hepatocellular carcinoma. Int J Med Sci 2013; 10(6): 683-690.
3. Gao LB, Pan XM, Li LJ, Liang WB, Bai P, Rao L, et al. Null genotypes of GSTM1 and GSTT1 contribute to risk of cervical neoplasia: an evidence-based meta-analysis. PLoS One 2011; 6(5): e20157.
4. Matakova T, Sivonova M, Halasova E, Mistuna D, Dzian A, Berzinec P, et al. Gene polymorphisms of biotransforming enzymes (GSTs) and their association with lung cancer in the Slovakian population. Eur J Med Res 2009; 14(Suppl 4): 275-279.
5. Goncalves MS, MouraNeto JP, Souza CL, Melo P, Reis MG. Evaluating glutathione S-transferase (GST) null genotypes (GSTT1 and GSTM1) as a potential biomarker of predisposition for developing leukopenia. Int J Lab Hematol 2010; 32(1 Pt 1): e49-56.
6. Vettriselvi V, Vijayalakshmi K, Solomon F, Paul D, Venkatachalam P. Genetic Variation of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 Genes in a South Indian Population. Asian Pacific J Cancer Prev 2006; 7: 325-328.
7. Mirfeizollahi A, Farivar Sh, Akhondi MM, Modarresi MH, Hodjat M, Sadeghi MR. GSTM1 and GSTP1 polymorphisms and glutathione S-transferase activity: Iranian

infertile men. Tehran University Medical Journal 2009; 66(12): 878-887.

8. Cho HJ, Lee SY, Ki CS, Kim JW. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms in the Korean population. J Korean Med Sci 2005; 20(6): 1089-1092.
9. Chirila DN, Popp RA, Balacescu O, Turdeanu NA, Constantea NA, Pop TR, et al. GST gene variants in synchronous colorectal cancers and synchronous association of colorectal cancers with other cancers. Chirurgia (Bucur) 2013; 108(3): 365-371.
10. Seidegård J, Guthenberg C, Pero RW, Mannervik B. The trans-stilbene oxide-active glutathione transferase in human mononuclear leucocytes is identical with the hepatic glutathione transferase mu. Biochem J 1987; 246(3): 783-785.
11. Seidegård J, Vorachek WR, Pero RW, Pearson WR Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. Proc Natl Acad Sci U S A. 1988; 85(19): 7293-7297.
12. Lafuente A, Pujol F, Carretero P, Villa JP, Cuchi A. Human glutathione S-transferase mu (GST mu) deficiency as a marker for the susceptibility to bladder and larynx cancer among smokers. Cancer Lett 1993; 68(1): 49-54.
13. Yi SM, Li GY. Null genotype of GSTT1 contributes to esophageal cancer risk in Asian populations: evidence from a meta-analysis. Asian Pac J Cancer Prev 2012; 13(10): 4967-4971.
14. Tamaki Y, Arai T, Sugimura H, Sasaki T, Honda M, Muroi Y, et al. Association between cancer risk and drug-metabolizing enzyme gene (CYP2A6, CYP2A13, CYP4B1, SULT1A1, GSTM1, and GSTT1) polymorphisms in cases of lung cancer in Japan. Drug Metab Pharmacokinet 2011; 26(5): 516-522.
15. Johns LE, Houlston RS. Glutathione S-transferasemu1 (GSTM1) status and bladder cancerrisk: a meta-analysis. Mutagenesis. 2000; 15(5): 399-404.
16. Nosheen M, AkhtarKayani M, Arshad Malik F, Mahjabeen I, Mehmood Baig R, Faryal R. Genetic Variations in Carcinogen Metabolizing Genes Associated with Oral Cancer in Pakistani Population. Asian Pacific J Cancer Prev 2011; 12: 491-495.
17. Mo Z, Gao Y, Cao Y, Gao F, Jian L. An updating meta-analysis of the GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and prostate cancer: a HuGE review. The Prostate 2009; 69(6): 662-688.
18. Sergentanis TN, Economopoulos KP. GSTT1 and GSTP1 polymorphisms and breast cancer risk: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 2010; 121(1): 195-202.
19. Alidoust L, Zafarghandy M, Agah MR, Sandy H, Zaly MR. Polymorphisms GSTs (GSTP1, GSTT1.GSTM1) Genes in patient's infection whit autoimmune hepatitis. Tehran University Medical Journal 2006; 30(2): 161-168.
20. Sprenger R, Schlagenhaufer R, Kerb R, Bruhn C, Brockmöller J, Roots I, et al. Characterization of the glutathioneS-transferase GSTT1 deletion: discrimination of all genotypes by polymerase chain reaction indicates a trimodular genotype-phenotype correlation. Pharmacogenetics 2000; 10(6): 557-565.
21. Fukagawa NK, Liang P, Li M, Ashikaga T, Reddy KR, Krawitt EL. Glutathione-S-Transferase M1 null genotype in autoimmune hepatitis. Dig Dis Sci 2001; 64(10): 2080-2083.

22. Al-Naamani K, Al-Maqbali A, Al-Sinani S. Characteristics of hepatitis B infection in a sample of omani patients. Sultan Qaboos University Medical Journal 2013; 13(3): 380-385.
23. Baniaghil S, Sarafnejad A, Amirzargar A, Khosravi F, Ansaripour B, Moradi B, et al. HLA-DRB, DQA and DQB allele frequencies in Iranian patients with chronic hepatitis B by PCR-SSP. Tehran University Medical Journal 2007; 64(11): 11-17.
24. Abe H, Seki N, Sugita T, Aida Y. Elevation in Serum Concentration of Bone-Specific Alkaline Phosphatase without Elevation in Serum Creatinine Concentration Secondary to Adefovir Dipivoxil Therapy in Chronic Hepatitis B Virus Infection (Article ID 739247). Hindawi Publishing Corporation 2013; 2013: 9.
25. Park BL, Kim YJ, Cheong HS, Lee SO, Han CS, Yoon JH, Park JH, et al. HDAC10 promoter polymorphism associated with development of HCC among chronic HBV patients. Biochem Biophys Res Commun 2007; 363(3): 776-781.
26. Kao JH. Role of viral factors in the natural course and therapy of chronic hepatitis B. Hepatol Int 2007; 1(4): 415-430.
27. Liang J, Jiang MJ, Deng X, Zhou XX. Efficacy and Safety of Telbivudine Compared to Entecavir among HbeAg+ Chronic Hepatitis B Patients: a Meta-Analysis Study. Hepat Mon 2013; 13(6): e7862.
28. Lafuente A, Pujol F, Carretero P, Villa JP, Cuchi A. Human glutathione S- transferase mu (GST mu) deficiency as a larynx cancer among smokers. Cancer Lett 1993; 68(1): 49-54.
29. Abdel-Rahman SZ, el-Zein RA, Anwar WA, Au WW. A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of GSTM1 and GSTT1 genes in population studies. Cancer Lett 1996; 107(2): 229-233.
30. Baclig MO, Alvarez MR, Lozada XM, Mapua CA, Lozano-Kuhne JP, Dimamay MP, et al. Association of glutathione S-transferase T1 and M1 genotypes with chronic liver diseases among Filipinos. Int J Mol Epidemiol Genet 2012; 3(2): 153-159.
31. Kandemir O, Tamer L, Tasdelen B. Effects of GSTT1, GSTM1 and GSTP1 gene polymorphism on the course of hepatitis B virus infection. Hepatogastroenterology 2008; 55(86-87): 1729-1733.
32. Abd El-Moneim E, Younis FA, Allam N, Gameel K, Osman M. Gene deletion of glutathione S-transferase M1 and T1 and risk factors of hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. The Egyptian Journal of Immunology/Egyptian Association of Immunologists 2008; 15(2): 125-134