ORIGINAL ARTICLE

Frequency Evaluation of GSTM1 and GSTT1 Null Genotypes in a Healthy Population in Mazandaran Province

Hadis alidadi[1],
Mohammad Shokrzadeh[2],
Nematollah Ahangar[2]

[1] MSc in Toxicology, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Pharmaceutical Sciences Research Center, Associate Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received July 7, 2014 ; Accepted Jane 6, 2014)

Abstract

Background and purpose: Glutathion S-transferase (GSTs) are a family of detoxification phase II enzymes that catalyze the conjugation of carcinogenic and cytotoxic componds with glutathion. GSTs are polymorphic and deletion of GSTM1 and GSTT1 polymorphism is caused by lack of enzyme production that lead to loss of antioxidant activity. In this study, we examined the frequency of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in a healthy population in Mazandaran province.

Materials and methods: In this experimental study, 250 non-relative healthy subjects in Mazandaran province enrolled. They were residing in Sari and attended Sari Blood Transfusion Center for blood donation. A total of 5 ml peripheral blood was taken from individuals. Genomic DNA was extracted using DNG^{TM} Plus Blood DNA kit. The Multiplex- PCR method was used for the detection of genotypes in each subject.

Results: The subjects consisted of 210 men (84%) and 40 women (16%).The frequencies of the GSTM1 and GSTT1-null genotypes were 54 and 30%, respectively. For GSTM1 null genotype, the frequencies in women and men were 60% and 52.85%, respectively. While the frequencies of GSTT1 null genotype in women and men were 42.5% and 27.6%, respectively. In both regions, the frequency of null genotype was significantly higher in women ($p<0.05$).

Conclusion: The genotype frequencies of null GSTM1 and GSTT1 were found to be relatively high in Mazandaran province and this could possibly have a role in increasing the susceptibility to some cancers.

Keywords: Glutathion S-transferase (GSTs), GSTM1, GSTT1, polymorphism, cancer

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(119): 174-182 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۹ آذر سال ۱۳۹۳ (۱۸۲-۱۷۴)

بررسی فراوانی ژنوتیپ های حذف شده گلوتاتیون اس- ترانسفراز M1 و T1 در یک جمعیت سالم استان مازندران

حدیث علیدادی
محمد شکرزاده
نعمت اله آهنگر

چکیده

سابقه و هدف: گلوتاتیون اس ترانسفرازها (GSTs)خانواده‌ای از آنزیم‌های فاز II سم‌زدایی هستند و مسئول کاتالیز کردن ترکیبات کارسینوژنیک و سایتوتوکسیک از طریق کنژوگه کردن آن‌ها با گلوتاتیون می‌باشند. این آنزیم‌ها پلی‌مورفیک بوده و پلی‌مرفیسم‌های حذف شده GSTM1 و GSTT1 سبب عدم تولید آنزیم و در نتیجه عدم فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. در این مطالعه، ما فراوانی پلی‌مورفیسم‌های GSTM1 و GSTT1 را در یک جمعیت سالم استان مازندران مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها: ۲۵۰ داوطلب سالم غیر خویشاوند مازندرانی که در شهر ساری اقامت داشته و برای اهدا خون به سازمان انتقال خون مراجعه کرده بودند، وارد مطالعه از نوع توصیفی- تجربی شدند. ۵ سی سی نمونه خون محیطی از هر فرد گرفته شده و DNA با استفاده از کیت DNG^{TM} Plus استخراج گردید. بررسی پلی‌مورفیسم‌های GSTM1 و GSTT1 به روش Multiplex- PCR انجام گرفت.

یافته‌ها: نمونه‌های مورد بررسی شامل ۲۱۰ مرد(۸۴ درصد) و ۴۰ زن(۱۶ درصد) بودند. فراوانی ژنوتیپ‌های nullGSTM1 و GSTT1 به ترتیب ۵۴ و ۳۰ درصد به دست آمد که میزان حذف برای ژنوتیپ GSTM1 در خانم‌ها و آقایان به ترتیب ۶۰ و ۵۲/۸۵ درصد بود و برای حذف ژنوتیپ GSTT1 در خانم‌ها و آقایان به ترتیب ۴۲/۵ و ۲۷/۶ درصد بود. در هر دو ناحیه، فراوانی ژنوتیپ‌های حذف شده به طور معنی‌داری در خانم‌ها بالاتر از آقایان بود ($p<0/05$).

استنتاج: ژنوتیپ‌های حذف شده GSTM1 و GSTT1 در جمعیت استان مازندران شیوع نسبتاً بالایی داشته و می‌تواند عامل خطری برای ابتلا به برخی سرطان‌ها باشد.

واژه های کلیدی: گلوتاتیون اس ترانسفراز(GSTs)،GSTM1، GSTT1، پلی مورفیسم، سرطان

مقدمه

گلوتاتیون اس ترانسفرازها (GSTs) خانواده‌ای از آنزیم‌های فاز II سم‌زدایی هستند و مسئول کاتالیز کردن ترکیبات کارسینوژنیک و سایتوتوکسیک از طریق کنژوگه کردن آن‌ها با گلوتاتیون می‌باشند(۲،۱). سوبستراهای GST شامل پره‌کارسینوژن‌ها مثل هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی، داروهای

مولف مسئول: نعمت الله آهنگر- ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات علوم دارویی E-mail:dr.n.ahangar@gmail.com
۱. کارشناس ارشد سم شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشیار، گروه سم شناسی/داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۳/۴/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۷/۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۱۰/۱۶

فارماکولوژیکی شامل پاراستامول، داروهای شیمی‌درمانی و رادیکال‌های تولید شده در روند استرس اکسیداتیو هستند(۳). GST ها در سنتز پروتئین‌های مختلف، تولید هورمون‌های استروئیدی، انتقال لیگاندهای هیدروفوبیک، بیان ژن، آپوپتوز، سم‌زدایی سلولی و سیگنالینگ بیولوژیکی مختلف درگیرند(۴). GST های انسانی از سه خانواده اصلی تشکیل شده‌اند: سیتوزولی، میتوکندریایی و میکروزومی. ابرخانواده GST سیتوزولی انسانی حاوی حداقل شانزده ژن هستند که به هشت کلاس تقسیم شده‌اند: α - μ - κ - ω - π- σ-θ و ζ که به ترتیب ژن‌های GSTA- GSTM- GSTK- GSTO- GSTP- GSTS- GSTT و GSTZ را کد می‌کنند که هر کدام شامل یک یا چند ایزوفرم هستند(۷-۵).

در کلاس GSTT و GSTM، ژن‌های GSTT1 و GSTM1 پلی مورفیسم‌های حذف را نشان می‌دهند. هموزیگوت بودن ($GSTM1^*0/^*0$) و ($GSTT1^*0/^*0$) منجر به عدم فعالیت آنزیم می‌شود(۱). ژن GSTT1 (عضو کلاس θ) روی کروموزوم 22q11.23 قرار گرفته است. ۸۱۴۶ جفت باز دارد و شامل ۵ اگزون و ۴ اینترون است. GSTT1 در کنژوگه و سم‌زدایی زنوبیوتیک‌هایی مثل برمودی‌کلرومتان، اتیلن‌دی‌بروماید، متیل‌کلراید و اتیلن‌اکسید وآفت‌کش‌ها خیلی فعال است. ژن GSTT1 دو الل عملکردی ($T1^*A,T1^*B$) و یک الل غیرعملکردی ($T1^*O$) دارد. هموزیگوت بودن برای الل غیرعملکردی ژن GSTT1 (ژنوتیپ null) باعث فقدان فعالیت آنزیمی GSTT1 می‌شود(۹-۷). حدود ۶۰ درصد از آسیایی‌ها، ۴۰ درصد از آفریقایی‌ها و ۲۰ درصد از سفیدپوست‌ها این آنزیم را بیان نمی‌کنند(۱۰).

ژن GSTM1 (عضو کلاس μ) به طول ۱۲۹۵۰bp بر روی کروموزوم 1p13.3 قرار گرفته و شامل ۸ اگزون و ۷ اینترون می‌باشد و بسیار پلی‌مورفیک می‌باشد. این ژن به طور طبیعی دارای دو فرم اللی فعال به نام‌های $GSTM1^*A$ و $GSTM1^*B$ است که ژنوتیپ‌های حاصل از آن‌ها ژنوتیپ‌هایی فعال هستند(۱۲،۱۱). ژن GSTM1 در سم‌زدایی هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی و دیگر موتاژن‌ها درگیر است(۳). پلی‌مورفیسم از نوع حذف وسیع و گسترده‌ای در این ژن وجود دارد که سبب ایجاد الل $GSTM1^*0$ یا Null می‌شود که الل غیرفعال است. چنان‌چه فردی برای الل null هموزیگوت ($GSTM1^*0/^*0$) باشد، در این حالت هیچ‌گونه mRNA یا محصول پروتئینی به واسطه حذف وسیع تولید نمی‌شود و لذا دارای هیچ گونه فعالیت آنزیمی نمی‌باشد(۱۳). ژنوتیپ nullGSTM1 در ۱۰ تا ۶۰ درصد افراد مختلف وجود دارد که دارای محدوده فراوانی ۵۰ درصد در سفیدپوستان و آسیایی‌ها و ۲۵ درصد در آفریقایی‌ها می‌باشد(۱۱). پلی‌مورفیسم‌های حذف شده GSTM1 و GSTT1 نقش مهمی را در مواجهه با عوامل مختلف حساسیت به انواع سرطان‌ها بازی می‌کنند(۱). از این رو، مطالعات بسیاری روی پلی‌مورفیسم‌های GSTT1 و GSTM1 در کشورهای مختلفی همانند ایران- استان فارس(۱۴)، ترکیه(۱۵)، افغانستان(۷)، برزیل(۳)، تونس(۱)، نیجریه(۸) و مصر(۱۶) صورت گرفته است. از آن‌جایی که پراکندگی پلی‌مرفیسم‌های ژنتیکی در بین نژادهای مختلف جمعیتی متفاوت است و نیز مطالعه پراکندگی پلی‌مرفیسم‌های ژن GST تا کنون در استان مازندران صورت نپذیرفته است، بر آن شدیم پراکندگی پلی‌مورفیسم‌های حذف شده ژن‌های GSTM1 و GSTT1 در یک جمعیت سالم استان مازندران را مورد بررسی قرار دهیم تا با دست یابی به اطلاعات پراکندگی این پلی‌مرفیسم‌ها اساس و پایه‌ای برای ارزیابی‌های بالینی و ژنتیکی تفاوت‌های مشاهده شده در ابتلا به برخی سرطان‌ها و نیز سمیت یا عوارض داروهای سوبسترا برای آنزیم‌های GST در استان مازندران ایجاد گردد.

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه

در این مطالعه که از نوع توصیفی- تجربی می‌باشد، نمونه‌های خونی از ۲۵۰ داوطلب سالم غیرخویشاوند (۲۱۰ مرد و ۴۰ زن) که در طی فاصله زمانی مهر تا آذر ۱۳۹۲ به سازمان انتقال خون شهر ساری مراجعه کرده بودند، جمع آوری شد. نمونه‌گیری از افراد و تکمیل فرم ثبت اطلاعات با در نظر گرفتن شرایط بومی بودن، نداشتن سوابق بیماری مزمن (سرطان، دیابت، نارسایی قلبی، فشار خون بالا، ایدز، هپاتیت و ...) و سالم بودن از هر گونه بیماری با نظارت پزشک در محل سازمان انتقال خون به انجام رسید. ضمن این که اخذ نمونه از افراد با رضایت کتبی از ایشان صورت گرفت. مقدار ml ۵ خون محیطی از هر فرد گرفته و در فریزر $-۲۰^{\circ}C$ نگهداری شد.

استخراج DNA، توالی پرایمرها و واکنش PCR

استخراج DNA از نمونه‌های خون محیطی با استفاده از کیت DNG™ Plus (سیناکلون، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. واکنش PCR-Multiplex (Polymerase chain reaction-Multiplex) برای شناسایی پلی‌مورفیسم‌های GSTT1 و GSTM1 به کار برده شد. پرایمرهای استفاده شده (سیناکلون، ایران) در واکنش PCR به شرح زیر است:

GSTM1 Forward primer: 5' GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC 3'

GSTM1 Reverse primer : 5' GTTGGGCTCAAATATACGGTGG 3'

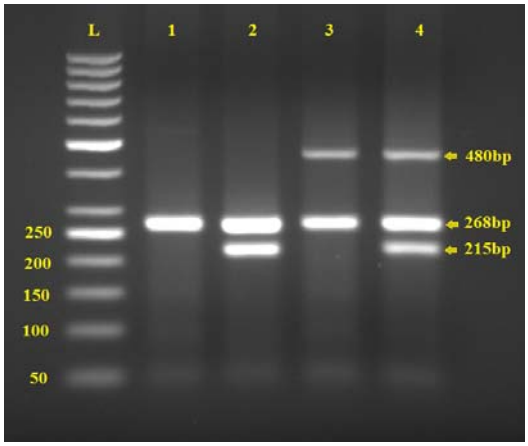
GSTT1 Forward primer : 5' TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC 3

GSTT1 Reverse primer : 5' TCACCGGATCATGGCCAGCA 3'

BG Forward primer : 5' CAACTTCATCCACGTTCACC 3'

BG Reverse primer : 5' GAAGAGCCAAGGACAGGTAC 3

مخلوط واکنش PCR شامل ۳ µl از DNA استخراج شده، ۰/۲ mM از dNTP، ۱/۵ mM از MgCl2، ۱ واحد Taq DNA polymerase، ۲/۵ µl ۱۰x PCR Buffer، ۷ µl از هر کدام از پرایمرها بود و در نهایت با اضافه کردن آب مقطر استریل حجم نهایی ۳۰ µl به دست آمد. برنامه PCR در دستگاه ترموسایکلر عبارت بود از ۵ دقیقه در دمای ۹۴ سانتیگراد تک رشته‌ای شدن، سپس ۳۵ سیکل دمایی شامل ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد تک رشته‌ای شدن کلی، ۳۰ ثانیه در ۵۶ درجه سانتی‌گراد اتصال آغازگر، ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد سنتز DNA و در نهایت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد تکمیل سنتز DNA. سپس قطعات تکثیر شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد و با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید زیر نور UV مورد مشاهده قرار گرفتند(۱). طول محصول ۲۱۵، ۴۸۰ و ۲۶۸ جفت باز به ترتیب برای GSTM1، GSTT1 و β-globin بودند (تصویر شماره ۱). از ژن β-globin به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. فقدان محصول PCR برای GSTM1 و GSTT1 در حضور باند β-globin نشان‌دهنده ژنوتیپ null برای GSTM1 و GSTT1 بود.



تصویر شماره ۱: تشخیص ژنوتیپ‌های GSTT1 و GSTM1 با استفاده از Multiplex-PCR. L: DNA Ladder; 50 bp چاهک ۱: ژنوتیپ‌های nullGSTT1 و GSTM1. β-globin به عنوان کنترل مثبت (۲۶۸ bp) ; چاهک ۲: ژنوتیپ‌های غیر nullGSTM1 (bp ۲۱۵) و ;nullGSTT1 چاهک ۳: ژنوتیپ‌های غیر nullGSTT1 (bp ۴۸۰) و ;nullGSTM1 چاهک ۴: ژنوتیپ های غیر nullGSTT1 و GSTM1 (باندهای bp ۴۸۰ و ۲۱۵).

آنالیز آماری

اطلاعات به دست آمده توسط نرم افزار SPSS (version 20) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌ها در افراد مورد مطالعه از آزمون Fisher's exact probability استفاده شد. $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

تعداد نمونه ها و فراوانی ژنوتیپ‌های GSTT1 و GSTM1 در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

از بین ۲۵۰ داوطلب مورد بررسی، ۲۱۰ نفر مرد (۸۴ درصد) و ۴۰ نفر زن (۱۶ درصد) بودند. بر اساس آنالیز آماری انجام شده، درجمعیت مورد بررسی فراوانی های ژنوتیپ‌های nullGSTT1 و GSTM1 به ترتیب ۳۰ و ۵۴ درصد می باشد. ۱۸/۴درصد نیز هر دو ایزوآنزیم ژنوتیپ null را دارا هستند. از نظر تفکیک جنسیتی برای پراکندگی این دو پلی مرفیسم، میزان حذف برای ژنوتیپ GSTM1 در خانم‌ها و آقایان به ترتیب ۶۰ و ۵۲/۸۵ درصد بود. برای ژنوتیپ حذف شده ژن GSTT1 نیز پراکندگی در خانم‌ها و آقایان به ترتیب ۴۲/۵ و ۲۷/۶ درصد به دست آمد. بین خانم‌ها و آقایان در هر دو ایزوآنزیم بررسی شده تفاوت معنی‌داری از نظر فراوانی ژنوتیپ null وجود دارد ($p <۰/۰۵$).

جدول شماره ۱: فراوانی ژنوتیپ های GSTM1 و GSTT1 در جمعیت مازندران (شهر ساری)

ژنوتیپ	نمونه تعداد (درصد)	زن تعداد (درصد)	مرد تعداد (درصد)
GSTM1			
تعداد نمونه	۲۵۰	۴۰	۲۱۰
Null	۱۳۵ (۵۴)	۲۴ (۶۰)	۱۱۱ (۵۲/۸۵)
Non-Null	۱۱۵ (۴۶)	۱۶ (۴۰)	۹۹ (۴۷/۱۴)
GSTT1			
تعداد نمونه	۲۵۰	۴۰	۲۱۰
Null	۷۵ (۳۰)	۱۷ (۴۲/۵)	۵۸ (۲۷/۶)
Non-Null	۱۷۵ (۷۰)	۲۳ (۵۷/۵)	۱۵۲ (۷۲/۴)
GSTM1/GSTT1			
تعداد نمونه	۲۵۰	۴۰	۲۱۰
Null	۴۶ (۱۸/۴)	۱۱ (۲۷/۵)	۳۵ (۱۶/۶)

بحث

مطالعات گسترده حاکی از این است که پلی‌مرفیسم‌های حذف شده ژن GSTM1 و GSTT1 باعث عدم فعالیت آنزیم می‌شود و افرادی که دارای حذف ژن می‌باشند، فعالیت سم‌زدایی کم‌تری دارند. از این رو، فقدان الل‌ها در GSTM1 و GSTT1 به عنوان عامل خطر ژنتیکی در انواع سرطان‌ها در جمعیت‌های مختلف پیشنهاد شده است(۱۶). با توجه به نقش محافظتی آنزیم‌های GST از یک طرف و نیز شیوع بالای سرطان‌ها در استان مازندران، در این مطالعه فراوانی پلی‌مورفیسم‌های حذف شده ژن‌های GSTM1 و GSTT1 در یک نمونه از جمعیت استان مازندران (شهر ساری) مورد مطالعه قرار گرفته و نتایج آن با سایر جمعیت‌ها مقایسه شده است.

در یک بررسی سعادت و همکاران به بررسی فراوانی ژنوتیپ‌های حذف شده GSTM1 و GSTT1 در استان فارس، شهر شیراز با تعداد ۲۳۶ نمونه پرداختند که در قیاس با جمعیت مورد مطالعه ما فراوانی کم‌تری را گزارش کردند(۱۴). ترکمان و همکاران در مطالعه پلی‌مورفیسم‌های GSTM1 و GSTT1 در جمعیت سالم تهران، با تعداد ۱۷۰ نمونه، فراوانی حذف GSTM1 و GSTT1 را به ترتیب ۴۴/۷ و ۲۱/۲ درصد اعلام کردند که کم‌تر از فراوانی جمعیت مورد مطالعه ما می‌باشد(۱۷). بر اساس جدول شماره ۲ فراوانی ژنوتیپ nullGSTM1 در جمعیت مورد مطالعه ما از کشورهای آسیایی (به جز تایوان)، کشورهای اروپایی (به جز دانمارک) و برزیل بیش‌تر و از تایوان کم تر و مشابه تونس و دانمارک است. هم‌چنین در مورد فراوانی ژنوتیپ nullGSTT1 نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر از کشورهای اروپایی و آفریقایی بیش‌تر و از چین، ژاپن و کره کم‌تر است. گزارش شده است که پلی‌مورفیسم‌های حذف GSTM1 و GSTT1 ممکن است با افزایش خطر سرطان سینه مرتبط باشد. مطالعات انجام شده بر روی جمعیت برزیل و پاکستان، خطر افزایش یافته‌ای از استعداد ابتلا به سرطان سینه در

اشخاص هموزیگوت پلی‌مورفیسم GSTM1 و GSTT1 را نشان می‌دهد(۱۹،۱۸). نشان داده شده است که ژنوتیپ هموزیگوت GSTM1 و GSTT1 به همان اندازه با سرطان ریه نیز مرتبط است(۲۲،۹-۲۰).

در مطالعه‌ای که Unal و همکاران در ترکیه انجام دادند، ادعا کردند که ژنوتیپ حذف GSTM1 و GSTT1 با خطر افزایش توسعه بیماری گلوکوم زاویه باز اولیه ارتباط دارد(۲۳).

دیگر مطالعات انجام‌گرفته در جمعیت‌های مختلف، پلی‌مورفیسم‌های هموزیگوت GSTM1 و GSTT1 را با پیشرفت‌های سرطان‌پروستات(۲۴)، مثانه(۲۷،۶-۲۵)، پوست(۱۶)، هپاتیت(۲۹،۲۸) و بیماری‌های عروق کرونر(۳۰)، دیابت نوع ۲ (۳۱)، هایپرتنشن(۳۲) مرتبط دانسته‌اند. جمعیت انسانی در معرض خطر سرطان به طور عمده متشکل از گروه‌هایی است که مواجهه بالایی با کارسینوژن‌ها دارند و هم چنین گروه‌هایی که دارای ژن‌های مستعد پلی‌مورفیسم به ویژه ژن‌های درگیر در متابولسیم کارسینوژن‌ها هستند(۳۳).

جدول شماره ۲: توزیع ژنوتیپ های Null GSTM1 و GSTT1 استان مازندران شهر ساری با دیگر جمعیت ها

کشور	تعداد نمونه	GSTT1 (درصد)	GSTM1 (درصد)	منبع
آسیا ایران(شهر ساری)	۲۵۰	۵۴	۳۰	مطالعه حاضر
ایران(شهر شیراز)	۲۳۶	۳۷/۷	۳۱/۸	(۱۴)
ایران(شهر تهران)	۱۷۰	۴۴/۷	۲۱/۲	(۱۷)
چین	۱۱۹	۵۰/۴	۴۵/۴	(۱)
ژاپن	۱۵۰	۵۱/۳	۵۴	(۱)
کره	۱۸۹	۵۳	۴۲	(۱۴)
هند	۳۷۰	۳۳	۱۸/۴	(۱)
اروپا اتریش	۱۶۶	۴۹	۲۰	(۱۴)
آلمان	۶۲۲	۴۷/۳	۱۸/۵	(۱)
دانمارک	۴۴۱	۵۴	۱۵	(۱۴)
فرانسه	۷۹۸	۵۱	۱۶	(۱۴)
ترکیه	۱۳۳	۵۱/۹	۱۷/۳	(۱۵)
اسپانیا	۱۹۲	۴۹/۴	۱۹/۲	(۱۵)
یونان	۲۳۶	۳۸	۱۱	(۱۵)
هلند	۴۷۰	۵۲	۲۰	(۱۴)
سوئد	۳۲۹	۵۳	۱۰	(۱۴)
آفریقا تونس	۱۵۴	۵۳/۹	۲۷/۹	(۱)
آمریکای جنوبی(برزیل)	۵۹۱	۴۲/۱	۲۵/۴	(۳)

نتایج حاصل از تحقیق حاضر حاکیست که ۵۴ درصد از افراد مورد بررسی دارای ژنوتیپ null GSTM1 و ۳۰ درصد دارای ژنوتیپ null GSTT1 هستند که در مورد GSTM1 این نسبت بالاتر از بررسی‌های صورت گرفته در شیراز و نیز تهران می‌باشد. در خصوص GSTT1 نتایج این مطالعه با شیراز تفاوت چندانی نداشته اما از تهران بالاتر است. با توجه به توضیحات ارائه شده در بخش‌های فوق و نتایج حاصل از مطالعات دیگر می‌توان گفت جمعیت مازندران و شهر ساری به دلیل تغییرات پلی‌مورفیک در آنزیم GST دارای فعالیت کم‌تری از این آنزیم بوده، طبعاً مواجهه بیش تری با عوامل کارسینوژن فعال شده اندوژن و اگزوژن خواهند داشت. از طرف دیگر خطه شمالی کشور از جمله استان مازندران به دلیل شرایط اقلیمی و وجود بستر مناسب آب و هوایی برای عمل‌آوری محصولات گوناگون کشاورزی و باغی، به شکل ناخواسته و به دلیل عدم رعایت استانداردهای لازم در استفاده از سموم آفت کش و نیز کودهای شیمیایی در معرض سطوح بالایی از این سموم و ترکیبات قرار دارد. چه این که این ترکیبات با آلودگی مزارع، باغات، رودخانه‌ها و دریا وارد چرخه آب و غذای ساکنین استان گردیده، می‌تواند به عنوان یک ریسک فاکتور مهم ابتلا به سرطان‌ها مد نظر باشد. بنابراین با عنایت به دو مورد مذکور شاید بتوان بخشی از علل شیوع بالای سرطان‌ها در نوار شمالی کشور را توجیه کرد. هم‌چنین در بررسی نتایج تحقیق حاضر ژنوتیپ null در در هر دو ایزوآنزیم، در خانم ها از شیوع بالاتری به نسبت آقایان برخوردار است که شاید نشان دهنده خطر بیش تر ابتلا خانم‌ها در این استان به برخی سرطان‌ها و سایر بیماری‌های با منشا استرس اکسیداتیو باشد. ضمن این که در دو بررسی دیگری که به تازگی توسط ما بر روی دو پلی‌مرفیسم و ژن دیگر مستعدکننده سرطان در مازندران به انجام رسیده، نتایج به دست آمده حاکی از شیوع بالاتر این پلی مرفیسم‌ها در جمعیت مازندران نسبت به سایر جمعیت‌ها بوده و زنگ خطری برای مردم این استان در ابتلا به سرطان‌ها می‌باشد(۳۴،۳۳). با توجه به گزارشات اخیر داخلی، ایران

از بیش‌ترین رشد ابتلا به سرطان در دنیا برخوردار است و انجام تحقیقات گسترده علمی با لحاظ نمودن بررسی عوامل محیطی و ژنتیکی مستعدکننده کشور ما به سرطان از اولویت خاصی برخوردار است. به نظر می رسد که بتوان با انجام آزمایشات ژنتیکی و ارزیابی پلی مرفیسم‌های مهم از ژن‌های آنزیم‌های متابولیزه کننده سموم و داروها مانند آنزیم‌های CYP450، NAT (N–استیل ترانسفراز)، UDPGT (یوریدین دی فسفات گلوکورونوزیل ترانسفراز) و ... در کشور ریسک ابتلا افراد به سرطان‌ها را مورد بررسی قرار داد. هم‌چنین انجام این تحقیقات بر روی بیماران سرطانی و ارزیابی ارتباط بین پلی مرفیسم در ژن‌های فوق با هر کدام از انواع سرطان نیز می تواند راهنمایی در جهت پیشگیری و درمان این بیماری مزمن و آزار دهنده باشد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به تعداد کم‌تر خانم‌های داوطلب شرکت در تحقیق اشاره نمود. با توجه به این که درصد هر دو پلی مرفیسم حذف شده مورد بررسی در این تحقیق در خانم‌ها بالاتر بود، اگر بتوان شرایط را برای مشارکت بیش تر خانم ها در تحقیقات آتی بر روی این پلی مرفیسم‌ها فراهم کرد، قطعاً نتایج با ارزش‌تری حاصل خواهد گردید.

سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل بخشی از نتایج پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد سم‌شناسی خانم حدیث علیدادی و طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از دکتر علیرضا رستمیان، پزشک محترم سازمان انتقال خون شهر ساری، به جهت همکاری در معاینه داوطلبان و اخذ نمونه خونی اعلام می‌دارند.

References

1. Ben Salah G, Kallabi F, Maatoug S, Mkaouar-Rebai E, Fourati A, Fakhfakh F, et al. Polymorphisms of glutathione S-transferases M1, T1, P1 and A1 genes in the Tunisian population: An intra and interethnic comparative approach. Gene 2012; 498(2): 317-322.
2. Song K, Yi J, Shen X, Cai Y. Genetic Polymorphisms of Glutathione S-Transferase Genes GSTM1, GSTT1 and Risk of Hepatocellular Carcinoma. PLoS One 2012; 7(11): 48924.
3. Rossini A, Rapozo DC, Amorim LM, Macedo JM, Medina R, Neto JF, et al. Frequencies of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms in a Brazilian population. Genet Mol Res 2002; 1(3): 233-240.
4. Nafissi S, Saadat I, Saadat M. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase Z1 in an Iranian population. Mol Biol Rep 2011; 38(5): 3391-3394.
5. Landi S. Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. Mutat Res 2000; 463(3): 247-283.
6. Safarinejad MR, Safarinejad S, Shafiei N, Safarinejad S. Association of genetic polymorphism of glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with bladder cancer susceptibility. Urol Oncol 2011; 31(7): 1193-1203.
7. Saify KH, Saadat I, Saadat M. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase T1 (GSTT1) and M1 (GSTM1) in selected populations of Afghanistan. Mol Biol Rep 2012; 39(8): 7855-7859.
8. Ebeshi BUO, Bolaji O, Masimirembwa CM. Glutathione-S-transferase (M1 and T1) polymorphisms in Nigerian populations. J

Med Genet Genomics 2011; 3(4): 56-60.

9. Wang Y, Yang H, Li L, Wang H. Glutathione S-transferase T1 gene deletion polymorphism and lung cancer risk in Chinese population: A meta-analysis. Cancer Epidemiol 2010; 34(5): 593-597.
10. Sweeney C, Nazar-Stewart V, Stapleton PL, Eaton DL, Vaughan TL. Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 Polymorphisms and Survival among Lung Cancer Patients. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003; 12(6): 527-533.
11. Ahmadi R, Salehi Z, Zahiri Z, Faraji Saravani M. Analysis of GSTM1 Polymorphism and Abortion in Guilan Province. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 23(1): 234-241.
12. De Martino M, Klatte T, Schatzl G, Remzi M, Waldert M, Haitel A, et al. Renal Cell Carcinoma Fuhrman Grade and Histological Subtype Correlate With Complete Polymorphic Deletion of Glutathione S-Transferase M1 Gene. J Urol 2010; 183(3): 878-883.
13. Ford JG, Li Y, Osullivan MM, Demopoulos R, Garte S, Taioli E, et al Glutathione S-transferase M1 polymorphism and lung cancer risk in African-Americans. Carcinogenesis 2000; 21(11): 1971-1975.
14. Saadat M, Farhud DD, Saadat I. Frequency of Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and GSTT1 Null Genotypes in Fars Population (South of Iran). Iranian Journal of Public Health 2001; 30(1-2): 83-86.
15. Ada AO, Suzen SH, Iscan M. Polymorphisms of cytocrome P450 1A1, Glutathione S-transferases M1 and T1 in a Turkish population. Toxicol Ltte 2004; 151(1): 311-315.
16. Abdel-Rahman SZ, Soliman AS, Bondy ML, Wu X, El-Badawy SA, Mahgoub KG, et al. Polymorphism of glutathione S-transferase loci GSTM1 and GSTT1 and susceptibility to colorectal cancer in Egypt. Cancer Lett 1999; 142(1): 97-104.
17. Torkaman-Boutorabi A, Hoormand M, Naghdi N, Bakhshayesh M, Milanian I. Genotype and allele frequencies of N-acetyltransferase 2 and glutathion s-transferase in the iranian population. Clin Exp Pharmacol Physiol 2007; 34(11): 1207-1211.
18. Nosheen M, Malik FA, Kayani MA. Lack of Influence of glutathione S-transferase gene deletions in Sporadic breast Cancer in Pakistan. Asian Pac J Cancer Prev 2011; 12(7): 1749-1752.
19. Oliveira AL, Rodrigues FF, Santos RE, Aoki T, Rocha MN, Longui CA, et al. GSTT1, GSTM1, and GSTP1 polymorphisms and chemotherapy response in locally advanced breast cancer. Genet Mol Res 2010; 9(2): 1045-1053.
20. Ada AO, Kunak SC, Hancer F, Soydas E, Alpar S, Gulhan M, et al. Association between GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and lung cancer risk in a Turkish population. Mol Biol Rep 2012; 39(5): 5985-5993.
21. Haghirolsadat BF, Nazari T, Omidi M, Azimzadeh M, Sheikhha MH. Investigating the rate of glutathione S-transferase T1 and M1 genes deletion in patients with lung cancer. Hormozgan Univ Med Sci 2013; 17(5): 385-393.
22. Zhang H, Wu X, Xiao Y, Chen M, Li Z, Wei X, et al. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase M1 and T1, and evaluation of oxidative stress in patients with non-small cell lung cancer. Eur J Med Res 2014; 19(1): 67.

23. Unal M, Guven M, Devranoglu K, Ozaydın A, Batar B, Tamcelik N, et al. Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in a Turkish population. Br J Ophthalmol 2007; 91(4): 527-530.
24. Autrup JL, Thomassen LH, Oslen JH, Wolf H, Autrup H. Glutathione S-transferases as risk factors in prostate cancer. Eur J Cancer Prev 1999; 8(6): 525-532.
25. Abdel-Rahman SZ, Anwar WA, Abdel-Aal WE, Mostafa HM, Au WW. GSTM1 and GSTT1 genes are potential risk modifers for bladder cancer. Cancer Detect Prev 1998; 22(2): 129-138.
26. Anwar WA, Abdel-Rahman SZ, El-Zein RA, Mostafa HM, Au WW. Genetic polymorphism of GSTM1, CYP2E1 and CYP2D6 in Egyptian bladder cancer patients. Carcinogenesis 1996; 17(9): 1923-1929.
27. Bell DA, Taylor JA, Paulson DF, Robertson CN, Mohler JL, Lucier GW. Genetic risk and carcinogen exposure common inherited defect of carcinogen-metabolism gene Glutathione S-Transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer. J Natl Cancer Inst 1993; 85(14): 1159-1164.
28. Alidoust L, Zafarghandi M, Sendi H, Agah M, Alavian SM, Zali MR. Glutathione-S-transferase M1, T1 and P1 gene polymorphisms in type I autoimmune hepatitis: a case-control study. Indian J Gastroentero l2007; 26(2): 97-99.
29. Mohammadzadeh Ghobadloo SH, Yaghmaei B, Allameh A, Hassani P, Noorinayer B, Zali MR. Polymorphisms of glutathione S-transferase M1, T1, and P1 in patients with HBV-related liver cirrhosis, chronic hepatitis, and normal carriers. Clin Biochem 2005; 39(1): 46-49.
30. Nomani H, Mozafari H, Ghobadloo SM, Rahimi Z, Raygani AV, Rahim MA, et al. The association between GSTT1, M1, and P1 polymorphisms with coronary artery disease in Western Iran. Mol Cell Biochem 2011; 354(1-2): 181-187.
31. Moasser E, Kazemi-Nezhad SR, Saadat M, Azarpira N. Study of the association between glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1, GSTP1) polymorphisms with type II diabetes mellitus in southern of Iran. Mol Biol Rep2012; 39(12): 10187–10192.
32. Marinho C, Alho I, Arduıno D, Falcao LM, Bras-Nogueira J, Bicho M. GST M1/T1 and MTHFR polymorphisms as risk factors for hypertension. Biochem Biophys Res Commun 2006; 353(2): 344-350.
33. Ahangar N, Masoumi S. Frequency Evaluation of Val432Leu (G4326C) Polymorphism of CYP1B1 Gene in a Healthy Population from Mazandaran Province, Iran. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 23(106): 20-28.
34. Ahangar N, Keshavarz R. Frequency Evaluation of C3435T Polymorphism of the MDR1Gene in a Healthy Population in Mazandaran Province. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 23(107): 2-10.