بررسی میزان فقدان ژن گلوتاتیون اس – ترانسفراز T1 و M1 در افراد سالم و بیماران مبتلا به سرطان ریه

بی‌بی فاطمه حقیرالسادات [1] طاهره نظری [2] میثم امیدی [1] مصطفی عظیم‌زاده [1] دکتر محمدحسن شیخها [3]

[1] دانشجوی دکترای نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه تهران [2] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک پزشکی، [3] دانشیار گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی شهیدصدوقی یزد

مجله پزشکی هرمزگان سال هفدهم شماره پنجم آذر و دی ۹۲ صفحات ۳۹۳-۳۸۵

چکیده

مقدمه: *خانواده ژنی گلوتاتیون اس- ترانسفراز (GST) از آنزیم‌های متابولیکی مهم در سم‌زدایی مواد جهش‌زا و حذف کارسینوژنها می‌باشد. فقدان آللی ژنهای GST می‌تواند در جمعیت‌های مختلف با افزایش خطر انواع سرطان به خصوص مرتبط با مصرف سیگار همراه باشد. هدف از این مطالعه، تعیین میزان فقدان ژنهای GSTT1 و GSTM1 در افراد سالم و بیماران مبتلا به سرطان ریه و تعیین رابطه آن با افزایش خطر ابتلا به سرطان ریه می‌باشد.*

روش کار: در این مطالعه مورد – شاهد *استخراج DNA ازنمونه خون ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان ریه و ۷۰ فرد نرمال سالم با روش نمک زدایی (Salting out) انجام و با PCR حذف در ژن‌های GSTT1 و GSTM1 مورد بررسی قرار گرفت. از آزمونهای t و Chi-Square و آزمون دقیق فیشر جهت آنالیز داده ها استفاده شد.*

نتایج: *بر اساس نتایج بدست آمده، ۳ بیمار (۱۰٪) و یک شاهد (۱/٤٪) در هر دو ژن حذف، ۱۹ بیمار (۶۳/۳٪) و ٥۹ شاهد (۸٤/۳٪) هر دو ژن تیپ وحشی، ٥ بیمار (۱٦/۷٪) و ٥ شاهد (۷/۱٪) حذف GSTT1 – تیپ وحشی GSTM1 و ۹ بیمار (۳۰٪) و ۷ شاهد (۱۰٪) حذف GSTM1 – تیپ وحشی GSTT1 دارا بودند. مقایسه آماری میزان حذف ژن GSTM1 به طور معنی‌داری در بیماران بیش از گروه شاهد بود (P=۰/۰۱٦) و حذف حداقل یکی از ژنهای GSTT1 و GSTM1 در بیماران به طور معنی‌داری بیش از گروه شاهد بود (P=۰/۰۲۲).*

نتیجه‌گیری: *موتاسیون یا حذف ارثی در ژنهای GSTT1 و GSTM1 در ارتباط با تشدید عوارض کارسینوژنها بوده که اهمیت خاصی در افزایش خطر بروز سرطان ریه دارد و افرادی که دچار حذف حداقل یک ژن (به خصوص ژن GSTM1) و یا هر دو ژن می‌باشند، احتمال سرطان ریه درآنها بیشتر از افرادی است که هر دو ژن GST آنها نرمال باشد.*

کلیدواژه‌ها: *گلوتاتیون اس _ترانسفراز – GST T1-GST M1 – سرطان ریه*

نویسنده مسئول:
دکتر محمدحسن شیخها
گروه ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی شهیدصدوقی یزد
یزد – ایران
تلفن: ۷۳۸۷ ۳۵۷ ۹۱۳ ۹۸+
پست الکترونیکی:
sheikhha@ssu.ac.ir

دریافت مقاله: ۹۰/۱۱/۸ اصلاح نهایی: ۹۲/۲/۱۱ پذیرش مقاله: ۹۱/۳/۱۱

مقدمه:

سرطان ریه یکی از سرطان‌های رایج در سراسر جهان است که بیش از ۸۰٪ بیماران در کمتر از ٥ سال از زمان شناسایی بیماری جان خود را از دست می‌دهند. مرگ و میر ناشی از سرطان ریه مهمترین علت مرگ ناشی از انواع سرطان در آمریکا و سراسر دنیا است. به طوری که در سال ۲۰۱۰ مرگ و میر در دنیا در اثر سرطان ریه و نای به ۲۲۲٥۲۰ نفر (۱۱٦۷٥۰ مرد و ۱۰٥۷۷۰ زن) رسیده است که معادل ۷٥/۲ مرد به ازای هر ۱۰۰ هزار مرد و ٥۲/۳ زن به ازای هر ۱۰۰ هزار زن است و میانه سن افراد تشخیص داده شده ۷۱ سال می‌باشد (۱). از علل ابتلا به سرطان ریه می‌توان به اعتیاد به دخانیات، نارسایی در فرآیند ایمنی بدن و عوامل ژنتیکی (۲،۳) اشاره کرد. همچنین عواملی نظیر مصرف پیپ و سیگار برگ (٤) مواجه با دود سیگار (دود تحمیلی) در محیط زندگی (٥،٦)، کوکائین و ماری جوانا (۷). کارسینوژن‌های محیطی و شغلی (۸،۹) تماس شغلی با آسبست (۱۰): رادون (۱۱،۱۲) فاکتورهای تغذیه‌ای (۱۳،۱٤) اشاره کرد.

دود سیگار حامل حداقل ٦٠ نوع کارسینوژن گوناگون است که این مواد مهمترین آغازکننده‌های سرطان هستند که به عنوان مثال می‌توانند از طریق تغییر ژنتیک در ژن p53 اعمال اثر نمایند (١٥). سرطان ریه در افراد استفاده کننده از سیگار در مقایسه با غیرسیگاری‌ها ١٠ تا ٣٠ برابر در طول زندگی افزایش می‌یابد. در جمع یک فرد سیگاری در زندگی ٣٠ درصد شانس ابتلا به سرطان ریه را دارد در مقایسه این رقم در یک فرد غیرسیگاری به کمتر از ١٪ تقلیل پیدا می‌کند (١٥). این خطر با تعداد سیگار مصرف شده در طول زندگی بستگی دارد و با افزایش تعداد سیگار و سنوات مصرف آن در طول زندگی افزایش می‌یابد (١٦).

خانواده گلوتاتیون اس- ترانسفراز از آنزیم های متابولیکی، نقش مهمی را در متابولیسم و سم‌زدایی موتاژن‌ها و کارسینوژنها بازی می‌کنند. ژنهای GST، خانواده آنزیم‌های مرحله ٢ کدگذاری می‌کنند (با جرم مولکولی KD ٣٠-٢٣) که اتصال گلوتاتیون به انواع گسترده سوبستراهای هیدروفوبیک و الکتروفوبیک و کارسینوژنهایی مانند بنزوپیرن و رادیکالهای ROS را کاتالیز می‌کند (١٧). این آنزیم‌ها می‌توانند تا ١٠ درصد پروتئین‌های ماتریس درون سلولی اندام‌های مختلف پستانداران را تشکیل دهند (١٨). این خانواده ژنی شامل حداقل ٦ کلاس می‌باشند که دو کلاس GSTT1 و GSTM1 از همه مهمتر می‌باشند (١٩) و بیشترین تمایل در احتمال پیامدهای پلی‌مورفیسم GST روی پلی‌مورفیسم‌ها در لوکوس این ژنها که به ترتیب روی کروموزوم ٢٢ و کروموزوم ١ قرار دارند، تمرکز دارند. ایزوزیم‌هایGSTM1 محدوده وسیعی از واکنش‌های سمی و ترکیبات موتاژن را سم‌زدایی می‌کنند که شامل اپواکسیدها ناشی از فاز ١ متابولیکی در هیدروکربن‌های پلی‌سیلیک آروماتیک مانند بنز و پیرن و همچنین فرآورده‌های استرسهای اکسیداتیو مانند DNA هیدروپرا کسیداز و ٥- هیدروکسی متیل. بنابراین تصور می‌شود که افراد هموزیگوت با ژنوتیپ کاذب و حذف GSTM1 در ارتباط با افزایش حساسیت به سرطان و آسیب‌شناسی التهابی خواهند بود. GSTT1 نیز یک ژن کاندید ایجادکننده حساسیت به سرطان می‌باشند. که این ژن انواع کارسینوژنهای قوی مانند مونوهالومتانها (برای مثال متیل کلرید) و اتیل اکسیدها که در دود سیگار وجود داشته و به طور فراگیری به عنوان عوامل متیلاسیون، آفت‌کش‌ها، حلالهای صنعتی به کار گرفته می‌شود را متابولیزه می‌کند (٢٠).

لذا هدف این مطالعه که مورد تأیید کمیته اخلاق قرار گرفته است، بررسی پلی‌مورفیسم ژن‌های GSTT1 و GSTM1 در افراد سالم و مبتلا به سرطان ریه می‌باشد.

روش کار:

در این مطالعه موردی- شاهد ٣٠ بیمار از افراد مراجعه‌کننده به درمانگاه بیمارستان شهید صدوقی یزد که به تأیید متخصصین ریه و انکولوژی و پاتولوژی مبتلا به سرطان ریه بودند، به عنوان بیمار و ٧٠ نفر به عنوان شاهد که از نظر جنس و وضعیت استعمال دخانیات با بیماران هماهنگ بودند، از بین افراد سالم به تأیید متخصص انتخاب شدند. عوامل مختلفی از قبیل سن بروز بیماری، جنس، پیش‌آگهی و چگونگی پاسخ به درمان و تغییرات اندکس‌های خونی از پرونده بیمار استخراج شد وسپس هر دو گروه شاهد و مورد از نظر وجود پلی‌مورفیسم در ژن‌های GSTT1 و GSTM1 مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه مراحل تحقیق با رضایت افراد شرکت‌کننده در مطالعه صورت گرفته است.

استخراج DNA ژنومی:

از تمام افراد مورد مطالعه پنج میلی‌لیتر خون محیطی دریافت شد و نمونه‌های خون به لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA منتقل شد و تا زمان استخراج DNA در دمای ٢٠- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از تمام نمونه‌های خون استخراج DNA با روش soulting out انجام گرفت. بررسی کیفی و کمی DNA استخراج شده به روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز با استفاده از ژل آگاروز انجام گرفت.

انجام واکنش زنجیره‌ای پلی مراز(Multiplex PCR):

برای تشخیص فقدان هموزیگوت در ژن‌های GSTT1 و GSTM1 با روش Multiplex PCR سه جفت پرایمر که شامل یک جفت پرایمر GSTM1 و یک جفت پرایمر GSTT1 و یک جفت پرایمر B-Globin برای تأیید PCR و تشخیص ژنوتیپ نول ژن‌های GSTT1 و GSTM1 به عنوان ژن کنترل (Houskeeping gene) استفاده شد.

انجام واکنش زنجیره‌ای پلی مراز(Multiplex PCR):

یک جفت پرایمر B-Globin با توالی زیر طراحی شد:

F: CAACTTCATCCACGTTCACC و R: GAAGAGCCAAGGACAGGTAC

این پرایمرها یک توالی ۲٦۸ جفت بازی از ژن B-Globin را تکثیر کرد. یک جفت پرایمر gstm1 با توالی زیر طراحی شد:

R: GTTGGGCTCAAATATACGGTGG و F: GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC

این پرایمر توالی نوکلئوتیدی به طول ۲۱۹ جفت باز از ژن gstm1 را تکثیر کرد. همچنین یک جفت پرایمر gstt1 با توالی زیر استفاده شد:

F: TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC و R: TCACCGATCATGGCCAGCA

این پرایمرها توالی نوکلئوتیدی به طول ٤۸۰ جفت نوکلئوتید از ژن gstt1 را تکثیر کرد.

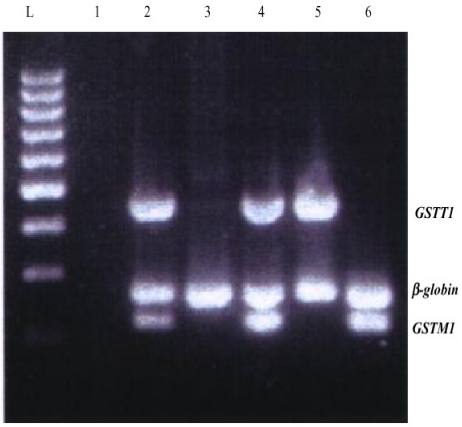
واکنش PCR در میکروتیوب‌های ۰/۲ml با بافر10X PCR:

واکنش PCR با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل موارد زیر بود : کلرید منیزیم (MgCl2)MgCl2 با غلظت نهایی ۰/۳ میلی مولار، مخلوط dNTP(0.1mM) به مقدار ۰/۲µl و هر یک از پرایمرهای GSTT1 وGSTM1 و B-Globin به مقدار ۰/۳µl و آنزیم Taq DNA Polymerase به میزان ۱ واحد و بافر مخصوص واکنش با غلظت ۱ برابر نهایی و و ۲µl نمونه DNA به اضافه آب مقطر تا حجم نهایی ۲۰µl انجام شد. باقیمانده حجم ترکیب واکنش تا ۲۰ میکرولیتر با آب دو بار تقطیر جبران شد.

برنامه ترمال سایکلر جهت تکثیر DNA واکنش PCR برای ۳۵ چرخه در دستگاه ترموسایکلر اجرا شد که شامل ۳ دقیقه دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد، سپس ۳۵ سیکل دمایی شامل ۱ دقیقه دمای ۹٤ درجه سانتیگراد، ۱ دقیقه دمای ٦۲ درجه سانتیگراد و ۱ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی گراد بود و در نهایت ۱۰ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتیگراد برای تکمیل تکثیر قطعات احتمالی ناقص در نظر گرفته شد.

الکترو فورز ژل آگارز:

محصولات PCR روی ژل آگارز ۲/۵٪ با ولتاژ ۱۱۰ ولت و ۱۲۰ دقیقه جداسازی و رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم برماید (۱۳g/ml) انجام گرفت. قطعات مربوط به تکثیر ژن B-Globin دارای طول ۲٦۸ جفت بازی بودند و قطعات DNA حاصل از تکثیر ژن GSTT1 و GSTM1 به ترتیب ۲۱۹ و ٤۸۰ جفت باز طول دارند (شکل ۱). فقدان GSTM1 و GSTT1 (در حضور محصول PCR، بتاگلوبین) بیانگر فقدان ژنوتیپ برای هر کدام است. نمونه‌های مثبت برای هر PCR۳ محصولات نوع وحشی را ایجاد می‌کند. ستون ۱، کنترل منفی بوده و L مارکر وزن مولکولی است (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- محصولات PCR مولتی پلکس از GSTT1 و GSTM1 و بتاگلوبین (کنترل مثبت) بر روی ژل آگاروز ۲/۵٪

داده‌هایی نظیر سن، نژاد، تاریخچه و سابقه سیگار کشیدن در طول زندگی و نیز تعداد نخ سیگار در روز، مدت زمان سیگار کشیدن، سن شروع سیگار کشیدن با استفاده از پرسشنامه دریافت شد.

برای مقایسه فراوانی ژنوتیپ نول و مثبت GSTT1 و GSTM1 بین دو گروه شاهد و بیمار از آزمونهای t، مربع کای و تست دقیق فیشر استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹ انجام گردید. سطح معنی‌دار P کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج:

تعداد ۳۰ نمونه بیمار سزطان ریه با میانگین سنی ۱۱/٦±۵۹/۳۷ سال و تعداد ۷۰ نفر گروه شاهد با میانگین سنی ۱٦/۷±٤۱/۳٦ سال که از شهر یزد وارد مطالعه شده‌اند، مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

میزان حذف ژن GSTT1 در گروه بیمار ۱٦/۷ درصد (۵) نفر و در گروه سالم میزان حذف ژن GSTT1 ۷/۱ درصد بود. با استفاده از آزمون مربع کای رابطه معنی‌داری بین دو متغیر فوق‌الذکر مشاهده نشد. اما میزان حذف ژن GSTM1 در گروه بیمار ۳۰ درصد (۹ نفر) و در گروه سالم ۱۰ درصد (۷ نفر) بود که با استفاده از آزمون مربع کای رابطه معنی‌داری بین دو متغیر فوق‌الذکر وجود داشت (P=۰/۰۱٦) (جدول شماره ۱).

در خصوص نتایج مربوط به حذف هر دو ژن، مشاهده شد که در گروه بیمار ۱۰ درصد (۳ نفر) و در گروه شاهد میزان حذف هر دو ژن ۱/٤ درصد (۱ نفر) می‌باشد و از نظر اینکه حداقل در یکی از ژنها حذف وجود داشته، در گروه بیمار ۲٦/۷ درصد (۸ نفر) و در گروه شاهد ۱٤/۳ درصد (۱۰ نفر) بود و از نظر اینکه هر دو ژن وجود داشته باشند، در گروه بیمار ٦۳/۳ درصد (۱۹ نفر) و گروه شاهد ۸٤/۳ درصد (۵۹) بود. با استفاده از آزمون مربع کای رابطه معنی‌داری بین متغیرهای فوق‌الذکر مشاهده گردید (P=۰/۰۳۳) (جدول شماره ۱).

میزان حذف ژن GSTT1 در گروه بیمار سیگاری ۳۰/۸ درصد (٤ نفر) و در گروه شاهد سیگاری ۰ درصد (۰ نفر) مشاهده شد. با استفاده از آزمون مربع کای رابطه معنی‌داری بین دو متغیر فوق‌الذکر وجود نداشت. اما میزان حذف ژن GSTM1 در افراد بیمار سیگاری ۳۸/۵ درصد (۵ نفر) و در گروه شاهد سیگاری صفر بود که رابطه معنی‌داری بین دو متغیر فوق‌الذکر وجود نداشت (جدول شماره ۲). در نتایج مربوط به حذف هر دو ژن مشاهده شد که میزان حذف هر دو ژن GSTT1 و GSTM1 از گروه بیمار سیگاری ۱۵/٤ درصد (۲ نفر) و گروه شاهد سیگاری صفر می‌باشد و حذف حداقل یکی از ژنها در گروه بیمار سیگاری ۳۸/۵ درصد (۵ نفر) و در گروه شاهد سیگاری صفر و از نظر این که دارای دو ژن می‌باشند، در گروه بیمار سیگاری ٤٦/۲ درصد (٦ نفر) و در گروه شاهد سیگاری ۱۰۰ درصد (۹ نفر) مشاهده شد. با استفاده از آزمون مربع کای رابطه معنی‌داری بین متغیرهای فوق‌الذکر وجود دارد (P=۰/۰۲) (جدول شماره ۲).

در این تحقیق، از نظر مصرف سیگار، بودن گروه بیمار ٤۳/۳ درصد (۱۳ نفر) و گروه شاهد ۱۲/۹درصد (۹ نفر) شیگاری بودند که با استفاده از آزمون کای اسکوئر و آزمون دقیق فیشر رابطه معنی‌داری بین سیگاری بودن و بیماری مشاهده شد (P=۰/۰۰۱).

در این تحقیق، میزان حذف ژن GSTT1 و GSTM1 در گروه مورد برحسب مرحله بیماری محاسبه شد که بیشترین حذف GSTT1 در مرحله IV بیماری و بیشترین حذف GSTM1 در مرحله IIIB بیماری مشاهده شد. ولی با توجه به تعداد کم بیماران در هر گروهف از نظر آماری این تغییرات قابل استناد نبود. در ضمن با توجه به آنکه تعدادی از بیماران هنوز در حال درمان بودند، لذا بررسی میزان حذف ژنی بر اساس نتیجه درمان قابل انجام نگردید.

جدول شماره ۱- توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های ژن‌های GSTT1 و GSTM1 در گروه بیمار و گروه شاهد در حالت کلی

ژن	ژنوتیپ	تعداد مورد (درصد)	تعداد شاهد (درصد)	مقدار X^2	P-value
GSTT1	حذف (null)	۵ (٪۱۶/۷)	۵ (٪۷/۱)	۲/۱۱	۰/۱۳۸
	حضور (presence)	۲۵ (٪۸۳/۳)	٦۵ (٪۹۲/۹)		
GSTM1	حذف (null)	۹ (٪۳۰)	۷ (٪۱۰)	٦/۲۵	۰/۰۱٦
	حضور (presence)	۲۱ (۹٪۷۰)	٦۳ (٪۹۰)		
GSTT1 و GSTM1	حذف هر دو ژن	۳ (٪۱۰)	۱ (٪۱/٤)	٦/۸۲	۰/۰۳۳
	حذف حداقل یکی از ژنها	۸ (٪۲٦/۷)	۱۰ (٪۱٤/۳)		
	وجود هر دو ژن	۱۹ (٪٦۳/۳)	۵۹ (٪۸٤/۳)		

جدول شماره ۲- توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های ژن‌های GSTT1 و GSTM1 در گروه بیمار و گروه شاهد در افراد سیگاری

ژن	ژنوتیپ	تعداد مورد (درصد)	تعداد شاهد (درصد)	مقدار X^2	P-value
GSTT1	حذف (null)	٤ (٪۳۰/۸)	۰ (٪۰)	۳/۳۸	۰/۰۹۸
	حضور (presence)	۹ (٪٦۹/۲)	۹ (٪۱۰۰)		
GSTM1	حذف (null)	۵ (٪۳۸/۵)	۰ (٪۰)	٤/٤۸	۰/۰٤۹
	حضور (presence)	۸ (٪٦۱/۵)	۹ (٪۱۰۰)		
GSTT1 و GSTM1	حذف هر دو ژن	۲ (٪۱۵/٤)	۰ (٪۰)	۷/۱	۰/۰۲۹
	حذف حداقل یکی از ژنها	۵ (٪۳۸/۵)	۰ (٪۰)		
	وجود هر دو ژن	٦ (٪٤٦/۲)	۹ (٪۱۰۰)		

جدول شماره ۳- توزیع فراوانی سیگاری بودن گروه بیمار و شاهد

سیگاری بودن	گروه: مورد		شاهد		کل		نتیجه آزمون
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
خیر	۱۷	۵٦/۷	٦۱	۸۷/۱	۷۸	۷۸	X^2=۱۱/۳٦
بلی	۱۳	٤۳/۳	۹	۱۲/۹	۲۲	۲۲	P-value=۰/۰۰۱
کل	۳۰	۱۰۰	۷۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	

بحث و نتیجه‌گیری:

از مطالعات انجام شده در جمعیت‌های مختلف سراسر دنیا، نتایج مختلفی از لحاظ تأثیر پلی مورفیسم ژن‌های GSTT1 و GSTM1 بر روی افزایش خطر ابتلا به سرطان ریه بدست آمده است. به طوری که در بعضی تحقیقات روی جمعیت‌ها، هیچ کدام تأثیر معنی‌داری نداشتند اما در بعضی هر دو تأثیر معنی‌داری داشتند، در بعضی تحقیقات فقدان یکی از ژن مورد نظر تأثیر معنی‌دار دارد و در بعضی دیگر که اثر سیگار نیز مورد توجه قرار داده شده، افزایش معنی‌داری در خطر افزایش سرطان ریه با مصرف بیشتر سیگار یافت شد. این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت در بیماران مورد بررسی و روش مطالعه و تعداد بیماران و اختلاف نژادی و وجود پلی‌مورفیسم‌های مختلف در افراد باشد که منجر به تفاوت توانایی در سم‌زدایی مواد می‌شود (۲۱،۲۲).

در این مطالعه، حذف در ژن GSTT1 افزایش معنی‌داری در خطر ابتلا به سرطان ریه ایجاد نکرد. همچنین با در نظر گرفتن اثر مصرف سیگار، حذف این ژن افزایش معنی‌داری در ابتلا به سرطان ریه نداشت. این نتایج تأییدکننده نتایج تحقیقات پیشین افرادی چون Nazar-Stewart و همکاران (۲۳)، Honma و همکاران (۲٤)، Lee و همکاران (۲۵)، Altinisik و همکاران (۲٦)

بود. اما در برخی از مطالعات دیگر، در جمعیت‌های مختلف، حذف این ژن در افزایش خطر ابتلا به سرطان ریه مؤثر تشخیص داده شده است، مانند: Chan-Yeung و همکاران (OR=1.69) (۲۷)، Hosgood و همکاران (OR=1.49) (۲۸)، Wanga و همکاران (OR=1.36) (۲۹).

در چندین مطالعه دیگر نیز در بین افراد بدون سابقه مصرف سیگار تأثیری مشاهده نشد اما با مصرف سیگار خطر ابتلا به سرطان ریه افزایش یافت مانند: Schneider و همکاران (OR= 158.49) (۳۰)، Altinisik و همکاران (۲۲).

در مورد ژن GSTM1 در حالت بررسی کلی، رابطه معنی‌داری (P=۰/۰۱٦) یافت شد که با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان گفت که حذف ژن GSTM1 در جمعیت مورد بررسی ما، افزایش معنی‌داری در خطر سرطان ریه دارد. این پدیده در حالت بررسی افراد سیگاری نیز مشاهده شد و افزایش معنی‌داری در اثر مصرف سیگار و حذف این ژن در سرطان ریه مشاهده می‌شود (P=۰/۰٤۹). اما در برخی از مطالعات فقدان این ژن بی‌تأثیر تشخیص داده شده بود. مانند مطالعه Honma و همکاران (۲۳)، Altinisik و همکاران (۲۵). اما بعضی نتایج نیز نتایج این مطالعه را تأیید می‌کرد. مانند مطالعه Nazar-Stewart و همکاران (OR=1.27)(۲۲)، Schneider و همکاران (OR= 112.08) (۲۹)، Hosgood و همکاران (OR=1.31) (۲۷)، Shi و همکاران (OR=1.54) (۳۰)، Carlsten و همکاران (OR=1.22) (۳۱)، Lee و همکاران (OR=1.36) (۲٤).

حذف همزمان هر دو ژن نیز تأثیر معنی‌داری در افزایش خطر ابتلا به سرطان ریه دارد (P=۰/۰۳۳) و این افزایش خطر در وضعیتی که مصرف سیگار نیز در نظر گرفته شده بود، بیشتر بود (P=۰/۰۲). به عبارت دیگر می‌توان گفت که حذف هر دو ژن تأثیر معنی‌داری در ابتلا به سرطان ریه دارد و این خطر در افرادی که مصرف سیگار دارند نیز بیشتر است. اما در تحقیقات Chan-Yeung و همکاران (۲٦)، López-Cima و همکاران (۳۱)،Atinkaya و همکاران (۳۲) حذف همزمان دو ژن تأثیر معنی‌داری نداشت. در اکثر تحقیقات حذف همزمان این دو ژن را در نظر نگرفته بودند و یا معنی‌دار شناخته نشده است. با توجه به نتایج مطالعه ما، به نظر می‌رسد حذف همزمان دو ژن GSTT1 و GSTM1 تأثیر معنی‌دار در خطر ابتلا به سرطان ریه به خصوص در حالتی که فرد سیگار مصرف کند، دارد.

نتایج مطالعه اخیر بیانگر این است که در مرحله اول درصد سیگاری‌ها در این است افرادی که در معرض دود سیگار قرار بگیرند بین افراد مبتلا به سرطان ریه به طور معنی‌داری بیشتر از این درصد در افراد شاهد است که این نتیجه تأییدکننده نتایج بسیاری از مطالعات مشابه و باور عمومی است. مبنی بر اینکه سیگار می‌تواند باعث بروز سرطان ریه شود. ازآنجا که مکانیسم عمل ژنهای GST خنثی نمودن اثرات مضر سیگار است، لذا نتایج فوق تأییدکننده بسیار آسیب‌پذیرتر از افراد دیگر بوده و شانس بروز سرطان ریه درآنها بیشتر است.

با وجود محدودیتهای دیگر تفسیر نتایج باید با احتیاط بیشتری صورت گیرد. یکی از این محدودیتها حجم آماری کوچک است که از قطعیت نتایج می‌کاهد. محدودیت دیگر نادیده گرفتن عواملی است که ممکن است در ابتلا به سرطان ریه اثر داشته باشد. برای مثال اثر فقدان ژن GST بر احتمال ابتلا به سرطان ریه ممکن است تحت تأثیر عوامل دیگری نظیر سن و جنس قرار گیرد. در حالی که این تحقیق با توجه به فراوانی بیشتر افراد سیگاری در مردهای جامعه تنها جنس مذکر وارد مطالعه شده است. میانگین سنی ۱۱/٦±۵۹/۳۷ سال در گروه بیمار و میانگین سنی ۱٦/۷±٤۱/۳٦ سال در گروه شاهد، ممکن است از ایرادات وارد بر مطالعه باشد. بنابراین انجام مطالعات بیشتر با حجم آماری بزرگتر، وجود تطابق سنی در آینده پیشنهاد می‌شود.

این مطالعه می‌تواند شروعی باشد برای مطالعات گسترده تر در جهت تأیید یافته‌های حاضر مبنی بر ارتباط حذف ژنهای GST با بروز سرطان ریه به خصوص در افراد سیگاری. البته همانطور که مطالعات بسیاری منجمله مطالعه حاضر نشان داده است، مصرف سیگار به عنوان عامل خطر اصلی جهت بروز سرطان ریه در نظر گرفته می‌شود.. در صورت تکمیل مطالعه فوق، انجام آزمایشات PCR جهت بررسی حذف ژنهای GSTM1 و GSTT1 به خصوص در افراد در معرض خطر می‌تواند به عنوان یک آزمایش تشخیصی جهت نشان دادن خطرپذیری بالای افراد مطرح شده باشد. به طوری که افرادی که در معرض دود سیگار و یا مواد شیمیایی هستند، در صورت انجام آزمایش فوق و

تشخیص حذف ژنی، به طور جدی نسبت به تغییر روش زندگی خود اقدام نمایند.

References منابع

1. Howlader N, Noone AM, Krapcho M. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008, National Cancer Institute. Bethesda, Maryland.
2. Wald NJ, Watt HC. Prospective study of effect of switching from cigarettes to pipes or cigars on mortality from three smoking related diseases. *BMJ*. 1997;314:1860-1863.
3. Lubin JH, Richter BS, Blot WJ. Lung cancer risk with cigar and pipe use. *J Natl Cancer Inst*. 1984;73:377-381.
4. Col GL. Detecting lung cancer as a cause of hemoptysis in a patient with a normal radiography. *Chest*. 1997;3:877-884.
5. Strauss GM, Rathore R. Text book of Pulmonary Disease. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins Press; 2004.
6. Osnn K, Lowery JT, Schell MJ. Small cell lung cancer in women: risk associated with smoking. prior respiratory disease, and occupation. *Lung Cancer*. 2000;28:1-10.
7. Hecht SS. Cigarette smoking and lung cancer: chemical mechanisms and approaches to prevention. *Lancet Oncology*. 2002;3:461-469.
8. Alborg AJ, Young RC. Murray and Nadel's Text book of respiratory medicine: Philadelphia; 2005: 1348.
9. Harris JE, Thun MJ, Mondul AM, Calle EE. Cigarette tar yields in relation to mortality from lung cancer in the cancer prevention study II prospective cohort, 1982-8. *BMJ*. 2004;328:372.
10. Peto R, Darby S, Deo H, Silcocf P, Whitley E, Doll R. Smoking, smoking cessation, and lung cancer in the UK since 1950: combination of national statistics with two case-control studies. *BMJ*. 2000;321:323-329.
11. Iribarren C, Tekawa IS, Sidney S. Friedman GD. Effect of cigar smoking on the risk of cardiovascular disease, chronic obstructive pulmonary disease, and cancer in men. *N Eng J Med*. 1999;340:1773-1780.
12. Boffetta P, Pershagen G, Jöckel KH, Farastiere F, Gaborieau V, Heinrich J, et al. Cigar and pipe smoking and lung cancer risk: A multicenter studv from Europe. *J Nai Cancer Inst*. 1999;91:697-701.
13. Copas Jfs, Shi JQ. Reanalysis of epidemiological evidence on lung cancer and passive smoking. *BMJ*. 2000;320:417-418.
14. Bennett WJ, Alavanja MC, Blomeke B, Vähäkangas KH, Castrén K, Welsh JA, et al. Environmental tobacco smoke, genetic susceptibility, and risk of lung cancer in never-smoking women. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91:2009-2014.
15. Hooss A, Hepp HH, Kaul S, Ahlert T, Bastert G, Wallwiener D. Telomerase activity correlat with tumor aggressiveness and reflects therapy effect in breast cancer. *Int J Cancer*. 1998;79:8-12.
16. Lane DP. Cancer P53 gurdian of the genome. *Nature*. 1992;358:15-16.
17. Magnani C, Leporaii M. Mortality from lung cancer and population risk attributable to asbestos in an asbestos cement manufacturing town in Italy. *Occup Environ Med*. 1998:55:111-114.
18. Boyer TD. The glutathione S-transferases: an update. *Hepatology*. 1989;9:486–496.
19. Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ*. 2005;330:223.
20. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR: Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2005;45:51-88.

21. Zienolddiny S, Campa D, Lind H, Ryberg D, Skaug V, Stangeland LB, et al. A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and risk of non-small cell lung cancer in smokers. *Carcinogenesis*. 2008;29:1164–1169.

22. Altinisik J, Balta ZB, Aydin G, Ulutin T, Buyru N. Investigation of glutathione S-transferase M1 and T1 deletions in lung cancer. *Mol Biol Rep*. 2009;37:263-267.

23. Nazar-Stewart V, Vaughan TL, Stapleton P, Van Loo J, Nicol-Blades B, Eaton DL. A population-based study of glutathione S-transferase M1, T1 and P1 genotypes and risk for lung cancer. *Lung Cancer*. 2003;40:247-258.

24. Honma HN, De Capitani EM, Perroud MW, Barbeiro AS, Toro IF, Costa DB, et al. Influence of p53 codon 72 exon 4, GSTM1, GSTT1 and GSTP1*B polymorphisms in lung cancer risk in a Brazilian population. *Lung Cancer*. 2008;61:152-162.

25. Lee KM, Kang D, Clapper ML, Ingelman Sundberg M, Ono-Kihara M, Kiyohara C, et al. CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 Polymorphisms, Smoking, and Lung Cancer Risk in a Pooled Analysis among Asian Populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17:1120-1126.

26. Altinisik J, Balta ZB, Aydin G, Ulutin T, Buyru N. Investigation of glutathione S-transferase M1 and T1 deletions in lung cancer. *Mol Biol Rep*. 2009;37:263-267.

27. Chan-Yeung M, Tan-Un KC, Ip MS, Tsang KW, Ho SP, Ho JC, et al. Lung cancer susceptibility and polymorphisms of glutathione-S-transferase genes in Hong Kong. *Lung Cancer*. 2004;45:155-160.

28. Hosgood HD 3rd, Berndt SI, Lan Q. GST genotypes and lung cancer susceptibility in Asian populations with indoor air pollution exposures: A meta-analysis. *Mutat Res*. 2007;636:134-143.

29. Wanga Y, Yangb H, Lia L, Wang H. Glutathione S-transferase T1 gene deletion polymorphism and lung cancer risk in Chinese population: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol*. 2010;34:593-597.

30. Schneider J, Bernges U, Philipp M, Woitowitz HJ. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking. *Cancer Lett*. 2004;208:65-74.

31. López-Cima MF, Alvarez-Avellón SM, Pascual T, Fernández-Somoano A, Tardón A. Genetic polymorphisms in CYP1A1, GSTM1, GSTP1 and GSTT1 metabolic gens and risk of long cancer in Asturias. *BMC Cancer*. 2012;433.doi:10.1186/1471.

32. Atinkaya C, Taspinar M, Sakiragaoglu O, Oz G, Yazici U, Oztuna D, et al. The effect of CYP1A1, GSTT1 and GSTM1 polymorphisms on the risk of lung cancer: a case-control study. *Hum Exp Toxicol*. 2012;31:1074-1080.

Investigating the rate of glutathione S-transferase T1 and M1 genes deletion in patients with lung cancer

F. Haghirasadat, PhD Student [1] T. Nazari, MSc Student [2] M. Omodi, PhD Student [1] M. Azimzadeh, PhD Student [1] M.H. Sheikhha, PhD [3]

PhD Student of Nanobiotechnology [1], Tehran University, Tehran, Iran. MSc Student of Medical Genetics [2], Associate Professor Department of Genetics [3], Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

(Received 28 Jan, 2012 Accepted 31 May, 2012)

ABSTRACT

Introduction: Glutathione S-tarnsferases (GST) gene family is one of the enzymes which is responsible for detoxifying mutagens and Carcinogens chemicals. People with null genotype of GSTM1 and GSTT1 genes are at higher risk of developing cancer, especially those who are related to smoking. The goal of this study was investigating the rate of glutathione S-transferase T1 and M1 genes deletion and their role in patients with lung cancer.

Methods: In this case-control study, DNA extraction with salting out method was carried out upon 70 healthy controls and 30 patients with lung cancer. For determining deletions, a multiplex PCR was performed for GSTT1, GSTM1 and beta-globin as a control gene. Statistical analysis was done by Pearson's chi-square test and Fisher's exact test.

Results: Out of 30 patients and 70 controls: 3 (10%) cases and one (1.4%) control were double null genotype; while in 19 (63.3%) patients and 59 (84.3%) controls, none of the genes were deleted. In 5 (16.7%) cases and 5 (7.1%) controls GSTT1 were deleted and in 9 (30%) cases and 7 (10%) controls GSTM1 was deleted. Statistical analysis showed that GSTM1 deletion is significantly higher in patients in comparison to the controls (P=0.018). Deletion of at least one of the GSTM1 or GSTT1 genes was significantly higher in patients group compar to the controls (P=0.033).

Conclusion: Deletion in glutathione S-transferse genes was related to detoxifying carcinogenes and this could have been related to the development of lung cancer; and in people with at least one deletion or both, the risk of lung cancer was more (especially GSTM1) comparing with those who have two wild type genotypes of these two genes.

Correspondence:
M.H. Sheikhha, PhD.
Genetic Department, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences.
Yazd, Iran
Tel:+98 913 357 7287
Email:
sheikhha@yahoo.com

Key words: glutathione S-transferse - GSTM1 - GSTT1 - Lung Cancer