



## بررسی پلی مورفیسم Pro198Leu ژن GPX1 به عنوان فاکتور خطر در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

زیور صالحی<sup>۱\*</sup>، فاطمه حسینی<sup>۱</sup>، فرزاد عجمیان<sup>۱</sup>، حمید سعیدی ساعدی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

<sup>۲</sup> گروه رادیوتراپی و آنکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

(دریافت مقاله: ۹۴/۲/۲۷ - پذیرش مقاله: ۹۴/۵/۱)

### چکیده

**زمینه:** استرس اکسیداتیو شرایطی است که در آن تعادل بین گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و آنتی‌اکسیدان‌ها مختل می‌شود. گلوپروتئین پراکسیداز ۱ (GPX-1)، به عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدان ROS را طی یک فرایند متوالی از میان می‌برد. یکی از پلی‌مورفیسم‌های عملکردی ژن GPX1، پلی‌مورفیسم Pro198Leu می‌باشد. هدف از این مطالعه، ارزیابی ارتباط پلی‌مورفیسم Pro198Leu ژن GPX-1 با سرطان کولورکتال می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مورد - شاهدهی، ۱۳۰ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال و ۱۷۰ فرد سالم با یکدیگر مقایسه شدند. DNA ژنومی از لوکوسیت‌های خون محیطی استخراج شد. تعیین ژنوتیپ DNA در پلی‌مورفیسم GPX-1 Pro198Leu توسط تکنیک RFLP-PCR انجام گرفت. بررسی‌های آماری با استفاده از آزمون مربع کای ( $\chi^2$ ) صورت پذیرفت.

**یافته‌ها:** فراوانی‌های ژنوتیپی GPX1 در گروه کنترل شامل ۶۴ درصد ژنوتیپ CC، ۲۴ درصد ژنوتیپ CT، ۱۲ درصد ژنوتیپ TT و در افراد بیمار شامل ۶۰ درصد ژنوتیپ CC، ۳۰ درصد ژنوتیپ CT، ۱۲ درصد ژنوتیپ TT بود. فراوانی آلل C در گروه بیمار و کنترل به ترتیب شامل ۰/۷۶ و ۰/۷۵ و فراوانی آلل T به ترتیب شامل ۰/۲۴ و ۰/۲۵ بود. بر اساس نتایج به دست آمده، تفاوت معنی‌داری در توزیع ژنوتیپی و آللی GPX-1 بین گروه کنترل و بیمار وجود نداشت ( $P=0/2$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که پلی‌مورفیسم Pro198Leu ژن GPX1 به عنوان فاکتور خطر برای سرطان کولورکتال مطرح نمی‌باشد. گرچه جهت اثبات این نتایج، مطالعات در جمعیت‌های بزرگ‌تر لازم است صورت گیرد.

**واژگان کلیدی:** سرطان کولورکتال، GPX-1، ROS، پلی‌مورفیسم ژنی

\*گیلان، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

## مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC)، در مردان به عنوان سومین سرطان شایع (پس از سرطان‌های ریه و پروستات) و در زنان دومین سرطان رایج (پس از سرطان سینه) به شمار می‌رود (۱). CRC یک بیماری چند عاملی می‌باشد که عوامل محیطی و ژنتیکی در ایجاد یا توسعه آن نقش دارند (۲). کنترل برخی از عوامل محیطی، از جمله مصرف دخانیات، رژیم غذایی نامناسب، فعالیت بدنی و حتی مصرف الکل می‌تواند به کاهش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ کمک نماید (۳). در سال‌های اخیر، گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) مانند OH، H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>، O<sub>2</sub> به عنوان یکی از فاکتورهای خطر مهم در توسعه سرطان مطرح شده است. تشکیل ROS یک فرایند طبیعی حاصل از واکنش‌های بیوشیمیایی بدن است (۴ و ۵). ROS در بدن به صورت اندوژن و اگزوژن تولید می‌شود. از منابع اصلی اندوژن می‌توان به میتوکندری، متابولیسم سیتوکروم P450، پراکسی زوم، میکروزوم، فعال شدن سلول‌های التهابی، سیستم مونواکسیژناز و نیتریک اکساید سنتاز اشاره نمود.

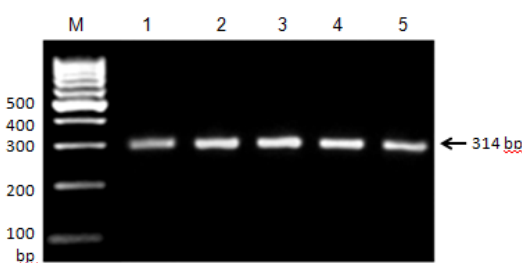
منابع اگزوژن ROS شامل عوامل زیست محیطی و زنبیوتیک‌ها (یون‌های فلزی، پرتوها و باریتورات‌ها) می‌باشد (۵). در یک سلول طبیعی بین تشکیل و حذف رادیکال‌های آزاد تعادل وجود دارد. با این وجود، این تعادل می‌تواند نسبت به شکل‌گیری بیشتر رادیکال‌های آزاد و یا کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها تغییر جهت یابد. این وضعیت تحت عنوان استرس اکسیداتیو نامیده می‌شود. بدن در شرایط استرس اکسیداتیو دچار آسیب‌های سلولی شدیدی می‌شود که این صدمات در توسعه

بیماری‌های مختلف از جمله سرطان دخیل می‌باشد (۶). با این وجود سلول از انواع مکانیسم‌های دفاعی جهت خنثی نمودن اثرات مضر رادیکال‌های آزاد استفاده می‌کند. سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های دفاعی بدن در برابر استرس اکسیداتیو می‌باشند (۷). این سیستم‌ها در بدن شامل عوامل آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشد. از آن جمله می‌توان به ویتامین E، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز اشاره نمود (۸). گلووتاتیون پراکسیداز (GPX) به عنوان آنزیم کلیدی در تجزیه H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و هیدروپراکسیدها با استفاده از گلووتاتیون احیا شده (GSH) به شمار می‌رود. آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز ۱ (GPX1) به عنوان بخشی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان درون سلولی است که با تجزیه هیدروپراکسیدها به آب موجب کاهش اثرات مضر آن در سلول می‌شود (۹). همچنین GPX1 فراوان‌ترین و فراگیرترین ایزوفرم داخل سلولی است که جایگاه ژن کد کننده‌ای آن، 3p21.3 است (۱۰ و ۱۱). این ژن دارای جایگاه‌های پلی‌مورفیک متعددی است (۱۲). در مجموع ۳۸ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) در این ژن شناسایی شده است (۹). از شایع‌ترین پلی‌مورفیسم‌های نواحی کد کننده این ژن که باعث تغییر آمینواسیدی و تغییر عملکرد پروتئین می‌شود، جابه‌جایی تک نوکلئوتیدی آلل C با T در نوکلئوتید شماره ۵۹۴ ژن است که باعث تغییر آمینواسید پرولین به لوسین در کدون ۱۹۸ پروتئین می‌شود (۱۲ و ۱۳).

راتناسینگ (Ratnasinghe) و همکاران او پیشنهاد کردند که این تغییر آمینواسیدی ممکن است موجب تغییر شکل بسیار عمیقی در ساختار دوم و سوم

پرایمرهای شرکت کننده در PCR توسط نرم افزار Oligo ویرایش ۷/۵۷ طراحی گردید. توالی پرایمرها به صورت 5'GTGTGCCCTACGCAGGTA3' و 5'CACACAGTTCTGCTGACACC3' به ترتیب برای پرایمرهای رفت (Forward) و برگشت (Reverse) بود. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز جهت تکثیر در حجم ۲۵ میکرولیتر دارای ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۷۵ میلی‌مولار MgCl<sub>2</sub>، ۰/۵ میلی‌مولار dNTP، ۱ پیکومول از هر پرایمر، ۳۰ نانوگرم از DNA ژنومی و ۰/۳ واحد آنزیم Taq پلی‌مراز انجام شد.

شرایط تکثیر در دستگاه ترموسایکلر نیز به این صورت انجام گرفت که در ابتدا مخلوط واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه گرم شد تا دو رشته DNA از هم جدا شوند. سپس ۳۰ چرخه برنامه تغییرات دمایی به صورت ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه جهت واسرشته‌سازی دو رشته سازی دو رشته DNA، ۶۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه جهت اتصال پرایمر به DNA و ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه برای طویل شدن انجام شد. پس به منظور بسط نهایی، مخلوط واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه قرار داده شد. جهت اطمینان، محصول PCR با طولی معادل ۳۱۴ جفت باز، بر روی آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز و با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی گردید (شکل ۱).



شکل ۱) محصولات PCR برای ژن GPX-1 بر روی ژل آگارز ۲ درصد. باندهای روشن در ردیف ۱ تا ۵ نمایانگر قطعات تکثیر شده از نمونه‌های گوناگون و باندهای ردیف M مربوط به مارکر ۱۰۰ bp هستند.

پروتئین شود، به دلیل اینکه پرولین تنها آمینواسید فاقد گروه آمین آزاد و غیرقابل جایگزین روی اتم کربن α بوده و حضور آن منجر به پیچ خوردگی منحصر به فردی در ساختار پپتیدها می‌شود (۱۴). از این رو این تبادل آمینواسیدی ممکن است روی فعالیت اتالیزوری این آنزیم تأثیر گذاشته و در نهایت باعث تغییر تعادل استرس اکسیداتیو و خطر ابتلا به بیماری‌های مرتبط با آن گردد. تاکنون اهمیت این جایگاه پلی‌مورفیک در برخی از بیماری‌ها از جمله سرطان‌های ریه و پستان مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱۵ و ۱۶).

بنابراین با توجه به اهمیت این جایگاه پلی‌مورفیک Pro198Leu و تأثیر آن بر عملکرد آنزیم GPX1 و میزان اتصال آن به سوپسترا، در این مطالعه به بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم شایع Pro198Leu ژن GPX1 با سرطان کولورکتال پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی که در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه گیلان انجام شد، شامل ۱۷۰ فرد سالم به عنوان گروه شاهد و ۱۳۰ مورد بیمار مراجعه کننده به بیمارستان رازی شهر رشت بود که پس از کولونوسکوپی و تأیید بررسی‌های پاتولوژیکی سرطان کولورکتال در آنها تشخیص داده شد. از این افراد پس از تکمیل فرم رضایت‌نامه کتبی مقدار ۱ میلی‌لیتر نمونه خون تهیه شد. نمونه‌ها پس از انتقال به میکروتیوپ‌ها در دمای ۲۰- درجه یخچال نگهداری شدند. جهت استخراج DNA ژنومی از خون، از کیت Gpp Solution (شرکت ژن پژوهان پویا) استفاده شد. تعیین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم Pro198Leu ژن GPX1 به روش PCR-RFLP انجام گرفت. توالی جفت

فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم Pro198Leu ژن GPX1 در جدول ۱ نشان داده شده است. در مجموع از ۱۳۰ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال به ترتیب ۷۸ نفر (۶۰ درصد) دارای ژنوتیپ CC، ۴۰ نفر (۳۰ درصد) دارای ژنوتیپ CT، ۱۲ مورد (۱۰ درصد) دارای ژنوتیپ TT بوده‌اند. در گروه شاهد به ترتیب ۱۱۰ مورد (۶۴ درصد) برای ژنوتیپ CC، ۴۰ نفر (۲۴ درصد) دارای ژنوتیپ CT، ۲۰ نفر (۱۲ درصد) دارای ژنوتیپ TT بودند. در دو گروه مورد بررسی فراوان‌ترین ژنوتیپ، CC بود. در هر دو گروه فراوان‌ترین آلل، C بود (۰/۷۵ در بیماران، ۰/۷۶ در گروه کنترل). بنابراین اختلاف معناداری در توزیع ژنوتیپی و آللی هر دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

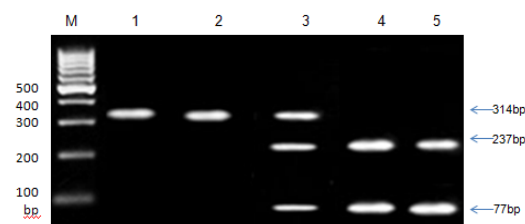
جدول ۱) فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی در GPX1

P.value	فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی در GPX1		ژنوتیپ
	بیمار (%)	کنترل (%)	
۰/۵	۰/۶۰ (۷۸)	۰/۶۴ (۱۱۰)	CC
	۰/۳۰ (۴۰)	۰/۲۴ (۴۰)	CT
	۰/۱۲ (۱۲)	۰/۱۲ (۲۰)	TT
۰/۲	۰/۷۵	۰/۷۶	C
	۰/۲۵	۰/۲۴	T

## بحث

در این مطالعه مورد - شاهدی، به بررسی ارتباط بین سرطان کولورکتال و یکی از شایع‌ترین پلی مورفیسم‌های ژن GPX1، پلی مورفیسم Pro198Leu پرداخته شد. با توجه به میزان فراوانی‌های آللی ( $\chi^2=1.3$ ,  $P=0.2$ ) و ژنوتیپی ( $\chi^2=1.41$ ,  $P=0.5$ ) در دو گروه کنترل و بیمار، مشخص شد که تفاوت معنی‌داری از نظر این فراوانی‌ها بین این دو گروه وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). نتایج حاصل از

به منظور بررسی جایگاه پلی مورفیک Pro198Leu، محصول PCR تحت اثر آنزیم ApaI (محصول شرکت فرمتاز) در دمای ۳۷ درجه به مدت یک ساعت انکوبه شد. سپس محصولات به دست آمده بر روی آگارز ۲/۵ درصد و با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید. الگوهای باندهای حاصل در شکل ۲ نشان داده شده است. در نهایت اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری MedCalc ویرایش ۱۲/۱ مورد تحلیل آماری قرار گرفت. جهت ارزیابی توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف کدون ۱۹۸ در نمونه‌های بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال با توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های گروه شاهد از آزمون مربع کای استفاده شد و  $P < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.



شکل ۲) محصولات RFLP برای ژن GPX-1 بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد. دو باند ۳۱۴bp در نمونه ۱ و ۲ بیانگر ژنوتیپ Pro/Pro، باندهای ۳۱۴bp و ۲۳۷bp در نمونه ۳ نمایانگر ژنوتیپ Pro/Leu می‌باشد و باندهای ۲۳۷bp و ۷۷bp مربوط به ژنوتیپ Leu/Leu می‌باشد. ردیف M مربوط به مارکر ۱۰۰bp است.

## یافته‌ها

در این پژوهش ۳۰۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفتند که از این بین ۱۳۰ نمونه (۶۵ مرد و ۶۵ زن) مربوط به سرطان کولورکتال و ۱۷۰ نمونه (۷۰ مرد و ۱۰۰ زن) مربوط به افراد سالم در گروه شاهد بود. بازه سنی بیماران و گروه شاهد از ۴۰ تا ۸۰ سال بود. اختلاف معناداری در خصوص سن و جنس در دو گروه بیمار و شاهد وجود نداشت ( $P > 0.05$ ).

این مطالعه پیشنهاد می‌کند که احتمالاً پلی‌مورفیسم Pro198Leu ژن GPX1 با سرطان کولورکتال مرتبط نمی‌باشد.

سرطان یک اختلال چند عاملی است. مطالعات منفردی نقش گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) را در روند شروع و پیشرفت سرطان نشان داده‌اند (۴). سطح پایین ROS در بدن به عنوان یک واسطه‌گر در اکثر فرایندهای سلولی از جمله تمایز، پیشرفت چرخه سلولی یا توقف رشد، آپوپتوز و ایمنی سلول ضروری می‌باشد. در مقابل، حذف نادرست یا افزایش میزان آن منجر به استرس اکسیداتیو خواهد شد (۱۷). GPX1 به عنوان یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با کاهش سطح ROS، سلول را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند (۱۸). این آنزیم حاوی عنصر کمیاب سلنیوم است که به عنوان بخش مهمی از جایگاه فعال آنزیم محسوب می‌شود (۱۱). ثابت شده است که سلنیوم موجب افزایش بیان GPX-1 و افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی سلول و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو داخل سلولی می‌شود (۱۹).

پلی‌مورفیسم Pro198Leu (C/T) که در دومین اگزون ژن GPX1 قرار گرفته است، با جایگزینی آمینواسید پرولین توسط لوسین موجب تغییر ساختار دو بعدی و سه بعدی پروتئین می‌شود (۱۴). همچنین این جایگزینی می‌تواند روی فعالیت کاتالیزوری و تمایل آنزیم به سوبسترا نیز تأثیر گذارد (۱۵). به طوری که واریانت حامل آلل لوسین باعث کاهش فعالیت آنزیم شده و در نتیجه، این کاهش عملکرد با خطر توسعه یا ابتلا به بیماری‌های مختلف ناشی از استرس اکسیداتیو در ارتباط می‌باشد. تاکنون مطالعات متعددی در خصوص اهمیت این جایگاه پلی‌مورفیک Pro198Leu در ژن GPX1 صورت گرفته است. بررسی‌های انجام گرفته در سال‌های اخیر

نشان داده‌اند که بین این پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن GPX1 و خطر ابتلا به برخی بیماری‌ها من جمله سرطان‌های سینه (۱۰)، مثانه (۱۹) و ریه (۱۴) ارتباط وجود دارد.

نتایج به دست آمده از این مطالعات نشان دادند که واریانت‌های حامل آلل لوسین در مقایسه با آلل پرولین به طور قابل توجهی در گروه بیماران بیشتر بوده و احتمالاً آلل لوسین به عنوان یک فاکتور خطر برای ابتلا به این بیماری‌ها مطرح می‌باشد. اما بر پایه نتایج به دست آمده از این مطالعه مورد - شاهدهی، تفاوت معنی‌داری در خصوص فراوانی‌های آللی میان دو گروه بیمار و شاهد وجود نداشت و فراوان‌ترین آلل در هر دو گروه آلل پرولین بود. در ضمن، هانسن (Hansen) و همکاران آن نیز در سال ۲۰۰۵، نشان دادند که پلی‌مورفیسم Pro198Leu با خطر ابتلا به آدنوم یا آدنوکارسینوم کولورکتال در ارتباط نمی‌باشد (۲۰). در سال ۲۰۱۱، مطالعه مورد - شاهدهی توسط تاکاتا (Takata) و همکاران به منظور بررسی همراهی پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی ژن GPX1 در سرطان کولورکتال صورت گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که پلی‌مورفیسم Pro198Leu با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال در ارتباط نمی‌باشد (۲۱).

### نتیجه‌گیری

به طور کلی، نتایج به دست آمده از این مطالعه از ارتباط بین پلی‌مورفیسم Pro198Leu ژن GPX1 و سرطان کولورکتال در جمعیت نواحی شمال ایران حمایت نمی‌کند، اگر چه به دلیل کوچک بودن اندازه جمعیت مورد مطالعه و همچنین احتمالاً تأثیر تفاوت‌های نژادی بر ارزیابی‌های حاصل از این تحقیق، نیاز به بررسی‌های جدید در جمعیت‌های بزرگ و نژادهای دیگر نیز

معاونت پژوهشی دانشگاه گیلان که زمینه لازم جهت انجام امور تحقیقاتی این پروژه را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می‌کنیم.

### تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

می‌باشد. به علاوه با توجه به نقش عوامل دیگری مانند تغذیه، محیط زیست و ژنتیک که می‌توانند بیان و فعالیت آنزیم GPX1 را تحت تأثیر قرار دهند، نقش این عوامل نیز می‌تواند به منظور دستیابی به نتایج دقیق‌تر در بررسی‌ها به کار برده شوند.

### سپاس و قدردانی

از کلیه عزیزانی که ما را در انجام این کار تحقیقاتی یاری نمودند تقدیر و تشکر می‌نماییم. همچنین از

## References:

- Roper J, Hung KE. Molecular Mechanisms of Colorectal Carcinogenesis. *Molecular Pathogenesis of Colorectal Cancer* 2013; 2: 25-54.
- Schneider KA. Counseling about cancer: Strategies for genetic counseling. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Wiley, 2011, 3-4.
- Bazensky I, Shoobridge-Moran C, Yoder LH. Colorectal cancer: An overview of the epidemiology, risk factors, and screening guidelines. *Medsurg Nurs* 2007; 16: 46-51.
- Mahmood NA. Oxidative Stress and antioxidant status in colorectal cancer and healthy subject. *Iraqi J Cancer Med Gen* 2010; 3: 1-6.
- Buonocore G, Perrone S, Tataranno ML. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. *Semin Fetal Neonatal Med* 2010; 15: 186-90.
- Shinde A, Ganu J, Naik P. Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress: A review. *JDAS* 2012; 1: 63-6.
- Held P. An introduction to reactive oxygen species. *Tech Resources-App Guides* 2012; 802: 5-9.
- Kassab-Chekir A, Laradi S, Ferchichi S, et al. Oxidant, antioxidant status and metabolic data in patients with beta-thalassemia. *Clin Chim Acta* 2003; 338: 79-86.
- Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 1957-97.
- Hamanishi T, Furuta H, Kato H, et al. Functional variants in the glutathione peroxidase-1 (GPx-1) gene are associated with increased intima-media thickness of carotid arteries and risk of macrovascular diseases in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2004; 53: 2455-60.
- Arthur JR. The glutathione peroxidases. *Cell Moll Life Sci* 2000; 57: 1825-35.
- Mlakar SJ, Osredkar J, Prezelj J, et al. The antioxidant enzyme GPX1 gene polymorphisms are associated with low BMD and increased bone turnover markers. *Dis Markers* 2010; 29: 71-80.
- Cardoso BR, Ong TP, Jacob-Fiho W, et al. Glutathione peroxidase1 Pro198Leu polymorphism in Brazilian Alzheimer's disease patients: relations to the enzyme activity and to selenium status. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2012; 5: 72-80.
- Ratnasinghe D, Tangrea JA, Andersen MR, et al. Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. *Cancer Res* 2000; 60: 6381-3.
- Zheikova TV, Golubenko MV, Buikin SV, et al. The glutathione peroxidase 1 (GPX1) single nucleotide polymorphism Pro198 Leu: association with life span and coronary artery disease. *Mol Biol* 2012; 46: 433-7.
- Hu YJ, Diamond AM. Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. *Cancer Res* 2003; 63: 3347-51.
- Hristozov D, Gadjeva V, Vlaykova T, et al.

- Evaluation of oxidative stress in patients with cancer. *Arch Physiol Biochem* 2001; 109: 331-6.
18. Paz-y-Miño C, Muñoz MJ, López-Cortés A, et al. Frequency of polymorphisms Pro198Leu in GPX1 gene and ile58Thre in MnSoD gene in the altitude Ecuadorian population with bladder cancer. *Oncol Res* 2010; 18: 395-400.
19. Ichimura Y, Habuchi T, Tsuchiya N, et al. Increased risk of bladder cancer associated with a glutathione peroxidase-1 codon 198 variant. *J Urol* 2004; 172: 728-32.
20. Hansen R, Saebø M, Skjelbred CF, et al. GPX1 Pro198Leu and OGG1 Ser326Cys polymorphisms and risk of development of colorectal adenomas and colorectal cancer. *Cancer lett* 2005; 229: 85-91.
21. Takata Y, Kristal AR, King IB, et al. Serum selenium, genetic variation in selenoenzymes, and risk of colorectal cancer: primary analysis from the Women's Health Initiative Observational Study and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20: 1822-30.

*Original Article*

## Study of Polymorphism Pro198Leu of GPX-1 gene as a risk factor in patients with colorectal cancer

Z. Salehi<sup>1\*</sup>, F. Hosseini<sup>1</sup>, F. Ajamian<sup>1</sup>, H. Saeidi Saedi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran

<sup>2</sup> Department of Radiotherapy and Oncology, Faculty of Medicine, University of Medical Sciences, Rasht, Iran

(Received 17 May, 2015      Accepted 23 Jul, 2015)

### *Abstract*

**Background:** Oxidative stress is a condition in which the balance is disrupted between reactive oxygen species (ROS) and antioxidant. Glutathione peroxidase 1 (GPX-1), as one of the antioxidant enzyme remove the ROS in a continuous process. One of the functional polymorphism of GPX1 gene is Pro198Leu polymorphism. The aim of this study was to study the association between GPX-1 Pro198Leu polymorphism with the risk of colorectal cancer.

**Materials & Methods:** in this case-control study, 130 patients with colorectal cancer were compared with 170 healthy subjects. Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes. Determination of DNA genotyping in GPX-1 Pro198Leu polymorphism were performed by the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The  $\chi^2$ -test was used for statistical analyses.

**Results:** The GPX1 genotype frequencies were 64% for CC, 24% for CT and 12% for TT in control group, and 60% for CC, 30% for CT and 12% for TT among the patients. The C allele frequency in cases and controls including 0.75 and 0.76 and T allele frequency was including 0.25 and 0.24. Based on these data, there was no significant differences in the GPX1 Pro198Leu genotypes and allele frequencies between cases and controls ( $P=0.2$ ).

**Conclusion:** The result of this study suggested that GPX-1 Pro198Leu polymorphism could not be a risk factor for colorectal cancer. However, studies in larger populations are needed in order to confirm the results.

**Key words:** Colorectal cancer, GPX-1, ROS, gene polymorphism

©Iran South Med J. All rights reserved.

*Cite this article as: Salehi Z, Hosseini F, Ajamian F, Saeidi Saedi H. Study of Polymorphism Pro198Leu of GPX-1 gene as a risk factor in patients with colorectal cancer. Iran South Med J 2016; 19(3): 334-341.*

Copyright © 2016 Salehi, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

\* Address for correspondence: Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan. Email: geneticzs@yahoo.co.uk

Website: <http://bpums.ac.ir>  
Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>