

## بررسی ارتباط پلی مورفیسم‌های عوامل انعقادی در زنان مبتلا به میوم رحمی

محدثه عرب‌نژاد<sup>۱</sup>، دکتر احمد ابراهیمی<sup>۲</sup>، دکتر محبوبه نصیری<sup>۳</sup>، دکتر مهران کریمی<sup>۴</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** میوم‌ها (لیومیوم یا فیبروئید) تومورهای خوش‌خیم و تک‌کلونی سلول‌های عضله‌ی صاف دیواره‌ی رحم می‌باشند. ترومبوآمبولی وریدی (VTE) یا Venous thromboembolism) از عوارض شایع سرطان است؛ با این حال، سهم عوامل ترومبوتیک در بیماران مبتلا به سرطان نتایج متناقضی دارد. مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم ژن عوامل انعقادی و خطر ابتلا به میوم رحمی طراحی و اجرا شد.

**روش‌ها:** در مطالعه‌ی حاضر، سه پلی مورفیسم ژن عامل انعقادی انتخاب شدند و با استفاده از روش ARMS-PCR (Amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction) مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه، شیوع پلی مورفیسم‌های ژن پروترومبین (G20210A) (PTH یا Prothrombin)، بتا فیبرینوژن (FGB یا Fibrinogen beta) و بازدارنده‌ی فعال کننده‌ی پلاسمینوژن ۱ (۴G/۵G) (PAI-۱ یا Plasminogen activator inhibitor-۱) در ۵۰ زن با تشخیص کلینیکی میوم رحمی و ۵۰ زن سالم مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ و با کمک آزمون  $\chi^2$  تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** پلی مورفیسم‌های (rs1799963) PTH، (rs1800790) FGB و (rs1799889) PAI-۱ با افزایش خطر ابتلا به میوم رحمی در جامعه‌ی مورد مطالعه، ارتباط معنی‌داری نداشتند ( $P > 0/050$ ).

**نتیجه‌گیری:** هیچ ارتباطی بین پلی مورفیسم‌های مورد بررسی و خطر ابتلا به میوم رحمی مشاهده نشد.

**واژگان کلیدی:** عامل انعقادی، میوم رحمی، پروترومبین G20210A، بتا فیبرینوژن ۴۵۵G/A، بازدارنده‌ی فعال کننده‌ی پلاسمینوژن ۱ ۴G/۵G

**ارجاع:** عرب‌نژاد محدثه، ابراهیمی احمد، نصیری محبوبه، کریمی مهران. بررسی ارتباط پلی مورفیسم‌های عوامل انعقادی در زنان مبتلا به

میوم رحمی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۳): ۱۶۰۴-۱۵۹۴

اجزای انعقادی در رشد اولیه‌ی تومور مشخص نشده است؛ به هر حال، در طی متاستاز، عوامل انعقادی نقش مهمی را در پایدار نگه داشتن و بقای سلول‌های توموری ایفا می‌کنند (۱۵-۱۰).

میوم‌ها نیز تومورهای خوش‌خیم و تک‌کلونی سلول‌های عضله‌ی صاف دیواره‌ی رحم می‌باشند که

### مقدمه

مطالعات متعددی نشان داده است که ترومبوز وریدی، یک عارضه‌ی شایع در بیماران مبتلا به سرطان است (۴-۱). Turossseau برای اولین بار در سال ۱۸۶۵، دریافت که تومورها باعث ایجاد تغییراتی در سیستم هموستاز می‌شوند (۹-۵). نقش قطعی

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات هماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

موقعیت نوکلئوتید ۴۵۵- پروموتور ژن FGB (Fibrinogen beta) با سطوح مختلف فیبرینوژن پلازما همراه است (۲۰). افزایش سطوح فیبرینوژن پلازما می‌تواند توسط عوامل محیطی و ژنتیکی تحت تأثیر قرار گیرد. پلی مورفیسم FGB-۴۵۵G/A بر روی سطح فیبرینوژن پلازما تأثیر می‌گذارد؛ به صورتی که حالت هموزیگوت آلل جهش یافته‌ی FGB-۴۵۵A، باعث ایجاد سطح بالاتری از فیبرینوژن پلازما، در مقایسه با حالت هموزیگوت آلل FGB-۴۵۵G و هتروزیگوت G/A FGB-۴۵۵ می‌شود (۲۱).

Dawson و همکاران برای اولین بار، پلی مورفیسم حذفی/دخولی در پروموتور ژن PAI-۱ را شناسایی کردند. جایگاه این پلی مورفیسم در موقعیت ۶۷۵ جفت باز قبل از ناحیه‌ی شروع ترجمه قرار گرفته است (۲۲). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که آلل جهش یافته‌ی ۴G در مقایسه با آلل ۵G با فعالیت بیشتر PAI-۱ همراه است و فراوانی‌های بالاتر از آلل ۴G سطوح پلاسمای PAI-۱ را افزایش می‌دهد (۲۳). همچنین پلی مورفیسم (۴G/۴G) PAI-۱-۶۷۵، خطر ابتلا به DVT (Deep venous thrombosis) را افزایش می‌دهد (۲۴).

این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم‌های چندین ژن از پانل ترومبوز شامل عوامل (پروترومبین II)،  $\beta$  فیبرینوژن و PAI-۱ با خطر بروز میوم رحمی، مورد بررسی قرار گرفت.

### روش‌ها

این مطالعه به صورت یک مطالعه‌ی مورد-شاهدی انجام گرفت. جامعه‌ی آماری مورد مطالعه را ۵۰ فرد مبتلا به میوم رحمی که بیماری آن‌ها توسط پزشک متخصص زنان و با اتکا به تکنیک‌های لاپاراسکوپی

منجر به بروز علائم در ۲۵ درصد زنان در سنین باروری می‌شوند. با توجه به این که میوم می‌تواند در بسیاری از زنان بدون علامت باشد، شیوع واقعی آن تا بیش از ۷۰ درصد تخمین زده می‌شود (۱۶).

تاکنون بیش از ۱۰۰ ژن شناسایی شده‌اند که بیان آن‌ها در سلول‌های میومی کمتر یا بیشتر از حالت طبیعی است. این ژن‌ها عبارت از ژن‌های وابسته به استروئید جنسی هستند که شامل گیرنده‌ی استروژن  $\alpha$ ، گیرنده‌ی استروژن  $\beta$ ، گیرنده‌ی پروژسترون A، گیرنده‌ی پروژسترون B، گیرنده‌ی هورمون رشد، گیرنده‌ی پرولاکتین خارج سلولی و ژن‌های کلاژن می‌شوند. بسیاری از ژن‌ها در تنظیم رشد سلول، تمایز، تکثیر و تقسیم سلولی نقش دارند (۱۷).

علاوه بر این ژن‌ها، مجموعه‌ی ژن‌های پانل ترومبوز از جمله عوامل پروترومبین II،  $\beta$  فیبرینوژن و PAI-۱ (Plasminogen activator inhibitor-۱) با خطر ابتلا و پیشرفت بسیاری از انواع سرطان دخیل می‌باشند، اما پیش از این، تأثیر این عوامل انعقادی بر روی خطر بروز میوم رحمی نامشخص بوده است. در ادامه این سه پلی مورفیسم معرفی می‌شوند:

Poort و همکاران با تعیین توالی DNA در ژن پروترومبین (بر روی کروموزوم ۱۱)، دریافتند که جهش گوانین به آدنین در موقعیت نوکلئوتید ۲۰۲۱۰ قرار دارد (۱۸). شیوع هموزیگوت جهش یافته برای PTH G۲۰۲۱۰A (Prothrombin) به طور تقریبی در میان یک نفر از هر ۱۰۰۰۰ نفر رخ می‌دهد و خطر ترومبوز را در تمام گروه‌های سنی و در هر دو جنس افزایش می‌دهد (۱۹).

در مطالعه‌ای که توسط Thomas و همکاران صورت گرفت، مشخص شد جهش G به A در

تأیید شده بود و ۵۰ فرد سالم به عنوان گروه شاهد، تشکیل دادند. این بیماران در بیمارستان حضرت زینب (س) شیراز بستری شده بودند. در مورد کلیه‌ی افرادی که در این مطالعه شرکت کردند، در ابتدا مشاوره‌ی ژنتیک انجام شد و افراد رضایت خود را با تکمیل فرم رضایت‌نامه جهت انجام مراحل مختلف اعلام کردند. در ابتدا، ۵ cc خون وریدی از افراد سالم و بیمار مبتلا به میوم رحمی، در لوله‌ی استریل حاوی EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) گرفته شد. پس از خون‌گیری و انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، استخراج DNA به وسیله‌ی کیت BioRon (ساخت کشور آلمان) صورت گرفت. سپس به کمک روش ARMS-PCR (Amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction) نواحی ژنی در برگرفته‌ی تغییرات پلی مورفیسمی

β و PAI-۱ (۴G/۵G) (G۲۰۲۱۰A) II عام‌ال‌معروف (۴G/۵G) فیبرینوژن (-۴۵۵G/A) تکثیر شدند. در این بررسی، طراحی آغازگرها به کمک نرم‌افزار Gene runner انجام شد. مشخصات این آغازگرها در جدول ۱ آمده است. در روش ARMS-PCR از کنترل داخلی (Internal control) استفاده می‌شود. کنترل داخلی نشان دهنده‌ی کنترل مثبت تکثیر در داخل لوله می‌باشد و به منظور اطمینان از روش ARMS-PCR مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای ۶۷۵-۱-PAI (۴G/۵G) و FGB-۴۵۵G/A از آغازگر اختصاصی پروموتور ژن HBG<sub>۱</sub> (هموگلوبین ۱-۷ یا ۱-۱ Gamma globin gene) و برای PTH G۲۰۲۱۰A از آغازگر اختصاصی پروموتور ژن KLF<sub>۱</sub> (Exon-۱) استفاده شد. اطلاعات مربوط به کنترل‌های داخلی به کار رفته، در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱. توالی پرایمرهای به کار رفته در روش ARMS-PCR

ردیف	نام جایگاه	توالی پرایمرها ۵'→۳'	طول آغازگرها	GC (درصد)
۱	G۲۰۲۱۰A (Prothrombin)	F:GCACTGGGAGCATTGAGGATT R: GCACTGGGAGCATTGAGGATC C:TCTAGAAACAGTTGCCCTGGCAG	۳۴۲ bp	۴۶/۸
۲	(FGB) -۴۵۵G/A	F:AGTTGTATGACAAGTAAATGAGT R: AGTTGTATGACAAGTAAATGAGC C:GAAGCTCCAAGAAACCATC	۲۰۵ bp	۳۴/۶
۳	۴G/۵G (PAI-۱)	F: CAGAGAGAGTCTGGACACGTGAGGA R: CAGAGAGAGTCTGGACACGTGAGGG C: GCATGCAGCCAGCCACGTG	۱۴۹ bp	۵۸/۴

ARMS-PCR: Amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction; FGB: Fibrinogen beta

PAI-1: Plasminogen activator inhibitor-1

جدول ۲. توالی آغازگرها، به منظور کنترل داخلی

نام جایگاه (کنترل داخلی)	توالی آغازگرها (کنترل داخلی) ۵'→۳'	GC (درصد)	طول آغازگرها (کنترل داخلی)
HBG <sub>۱</sub>	F: AACGGCTGACAAAAGAAGTCCTGG R: TGCCAGGCACAGGGTCTCTCC	۵۰/۰ ۶۶/۶	۵۴۶ bp
KLF <sub>۱</sub> (Exon <sub>۱</sub> )	F: ACGGTTGTTGCTGTTTACTG R: TCAGGTCAAGATGCAGGTC	۴۵/۰ ۵۲/۶	۶۲۹ bp

HBG: Gamma globin gene; KLF<sub>۱</sub>: Kruppel-like factor<sub>۱</sub>

۳ دقیقه در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  (تکمیل سنتز DNA) بود. حجم نهایی اجزای واکنش PCR به منظور تکثیر ژن (۴G/۵G) PAI-1-۶۷۵ شامل  $1/8 \mu\text{l}$  DNA استخراج شده،  $7/5 \mu\text{l}$  PCR مسترمیکس،  $0/45 \mu\text{l}$  آغازگر مشترک (Common)،  $0/6 \mu\text{l}$  از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت (KLF1 (Exon-1) (کنترل داخلی) و  $0/9 \mu\text{l}$  از هر یک از آغازگرهای اختصاصی برای نوکلئوتید ۴G و ۵G بود و در نهایت، با اضافه کردن آب مقطر استریل، حجم نهایی  $15 \mu\text{l}$  به دست آمد.

برنامه‌ی PCR در دستگاه ترموسایکلر به منظور تکثیر این ژن عبارت از ۳ دقیقه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$  (تک رشته‌ای شدن اولیه)، سپس ۳۰ سیکل دمایی شامل ۳۰ ثانیه در  $94^{\circ}\text{C}$  (تک رشته‌ای شدن کلی)، ۴۰ ثانیه در  $66^{\circ}\text{C}$  (اتصال آغازگر)، ۳۰ ثانیه در  $72^{\circ}\text{C}$  (سنتز DNA) و در نهایت، ۵ دقیقه در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  (تکمیل سنتز DNA) بود. سپس ژنوتیپ هر فرد به کمک الکتروفورز محصول PCR، بر روی ژل آگارز ۲ درصد، در موقعیت پلی مورفیسم‌های مورد بررسی مشخص گردید. پس از انجام مراحل آزمایش، یافته‌ها با کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) واکاوی شد و فراوانی ژنوتیپی و آلی بین دو گروه مورد و شاهد، مورد مقایسه قرار گرفت.

#### یافته‌ها

نتایج حاصل از تکثیر قطعه‌ی مورد نظر برای پلی مورفیسم موقعیت  $G20210A$  از پروموتور ژن پروترومبین، پس از الکتروفورز محصولات PCR، در شکل ۱ نشان داده شده است. توزیع ژنوتیپی و آلی

حجم نهایی اجزای واکنش PCR به منظور تکثیر ژن  $G20210A$  PTH شامل  $1/8 \mu\text{l}$  DNA استخراج شده،  $7/5 \mu\text{l}$  PCR مسترمیکس،  $0/45 \mu\text{l}$  آغازگر مشترک (Common)،  $0/6 \mu\text{l}$  از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت (KLF1 (Exon-1) (کنترل داخلی) و  $0/9 \mu\text{l}$  از هر یک از آغازگرهای اختصاصی برای نوکلئوتید G و A بود. در نهایت، با اضافه کردن آب مقطر استریل، حجم نهایی  $15 \mu\text{l}$  به دست آمد.

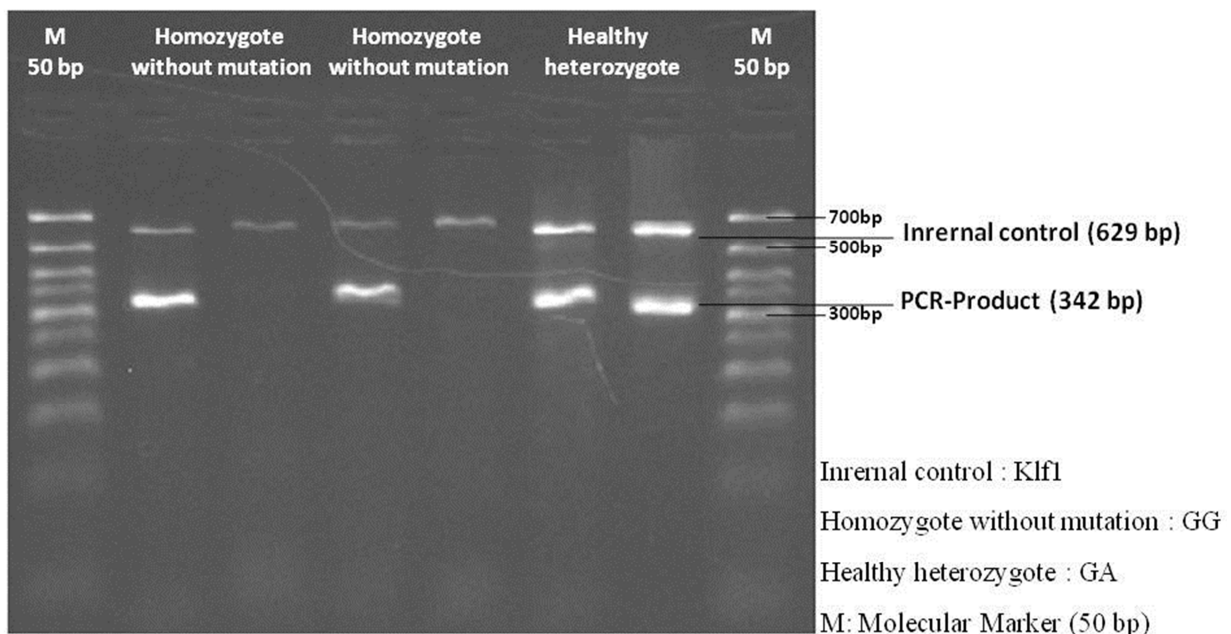
برنامه‌ی PCR در دستگاه ترموسایکلر به منظور تکثیر این ژن عبارت از ۵ دقیقه در دمای  $94^{\circ}\text{C}$  (تک رشته‌ای شدن اولیه)، سپس ۳۰ سیکل دمایی شامل ۴۰ ثانیه در  $94^{\circ}\text{C}$  (تک رشته‌ای شدن کلی)، ۴۵ ثانیه در  $62^{\circ}\text{C}$  (اتصال آغازگر)، ۴۵ ثانیه در  $72^{\circ}\text{C}$  (سنتز DNA) و در نهایت، ۵ دقیقه در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  (تکمیل سنتز DNA) بود.

حجم نهایی اجزای واکنش PCR به منظور تکثیر ژن  $FGB-455G/A$  شامل  $1/8 \mu\text{l}$  DNA استخراج شده،  $7/5 \mu\text{l}$  PCR مسترمیکس،  $0/45 \mu\text{l}$  آغازگر مشترک (Common)،  $0/2 \mu\text{l}$  از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت (HBG1 (کنترل داخلی) و  $0/9 \mu\text{l}$  از هر یک از آغازگرهای اختصاصی برای نوکلئوتید G و A بود. در نهایت، با اضافه کردن آب مقطر استریل، حجم نهایی  $15 \mu\text{l}$  به دست آمد.

برنامه‌ی PCR در دستگاه ترموسایکلر به منظور تکثیر این ژن عبارت از ۵ دقیقه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$  (تک رشته‌ای شدن اولیه)، سپس ۳۰ سیکل دمایی شامل ۴۰ ثانیه در  $94^{\circ}\text{C}$  (تک رشته‌ای شدن کلی)، ۴۰ ثانیه در  $59^{\circ}\text{C}$  (اتصال آغازگر)، ۴۰ ثانیه در  $72^{\circ}\text{C}$  (سنتز DNA) و در نهایت

در پروموتر ژن پروترومبین در جدول ۳ آمده است. همچنین در دو گروه مورد و شاهد هیچ مورد هموزیگوتی برای ژنوتیپ AA در ناحیه‌ی پلی مورفیسمی PTH G20210A مشاهده نشد. تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم G20210A ژن پروترومبین و خطر ابتلا به میوم رحمی در گروه مورد و شاهد مشاهده نشد (P = 0/315).

نتایج حاصل از تکثیر قطعه‌ی مورد نظر برای پلی مورفیسم موقعیت 455A- از پروموتر ژن بتافیرینوژن، پس از الکتروفورز محصولات PCR، در شکل ۲ نشان داده شده است. توزیع ژنوتیپی و آلی در پروموتر ژن بتافیرینوژن در جدول ۴ آمده است. در دو گروه مورد و شاهد هیچ مورد هموزیگوتی برای ژنوتیپ AA در ناحیه‌ی پلی مورفیسمی FGB-455A مشاهده نشد.

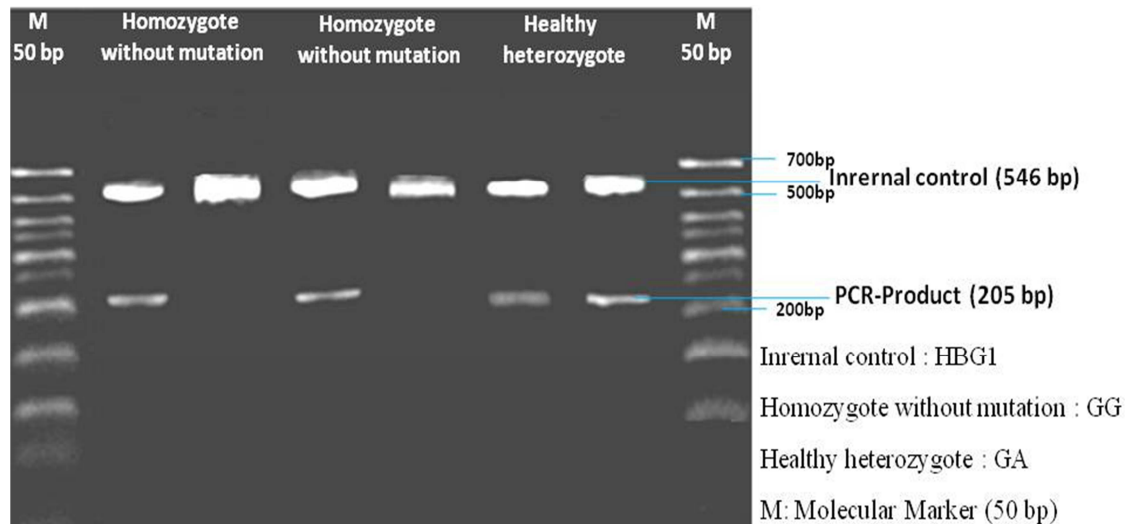


شکل ۱. نمونه‌ای از الکتروفورز ژل آگارز مربوط به تعیین ژنوتیپ در ناحیه‌ی G20210A پروموتر ژن پروترومبین

جدول ۳. توزیع ژنوتیپی و آلی در ناحیه‌ی G20210A ژن پروترومبین و خطر ابتلا به میوم رحمی

ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها	گروه مورد تعداد (درصد)	گروه شاهد تعداد (درصد)	مقدار *P
GG	۴۹ (۹۸/۰)	۵۰ (۱۰۰/۰)	۰/۳۱۵
GA	۱ (۲/۰)	۰ (۰/۰)	
AA	-	-	
G	۹۹ (۹۹/۰)	۱۰۰ (۱۰۰/۰)	۰/۳۱۶
A	۱ (۱/۰)	۰ (۰/۰)	

\* بر اساس آزمون  $\chi^2$   $P < 0/050$  معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۲. نمونه‌ای از الکتروفورز ژل آگارز مربوط به تعیین ژنوتیپ در ناحیه ۴۵۵G/A- پروموتور ژن  $\beta$ - فیبرینوژن

جدول ۴. توزیع ژنوتیپی و آلی در ناحیه ۴۵۵G/A- ژن  $\beta$ - فیبرینوژن و خطر ابتلا به میوم رحمی

ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها	گروه مورد تعداد (درصد)	گروه شاهد تعداد (درصد)	مقدار *P
GG	۴۴ (۸۸/۰)	۴۳ (۸۶/۰)	۰/۷۶۶
GA	۶ (۱۲/۰)	۷ (۱۴/۰)	
AA	-	-	
G	۹۴ (۹۴/۰)	۹۳ (۹۳/۰)	۰/۷۷۴
A	۶ (۶/۰)	۷ (۷/۰)	

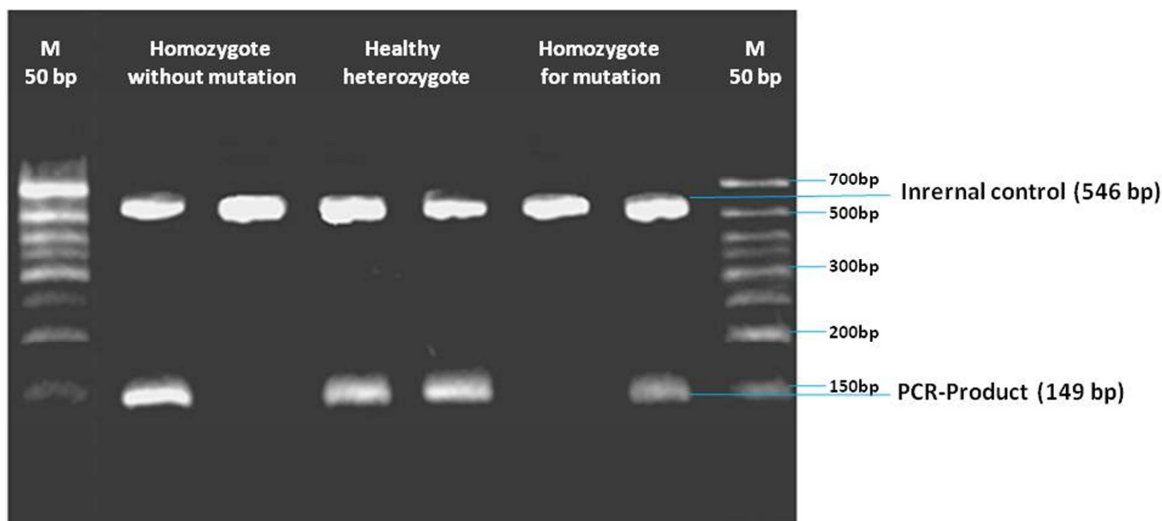
\* بر اساس آزمون  $\chi^2$ ،  $P < ۰/۰۵۰$  معنی‌دار می‌باشد.

( $P = ۰/۸۳۰$ )

### بحث

نقش میوم در ناباروری بحث‌های زیادی را در سال‌های اخیر به همراه داشته است. متوسط هزینه‌ی مراقبت‌های بهداشتی در ایالات متحده‌ی امریکا در زنان مبتلا به میوم رحمی،  $۳/۲$  برابر بیشتر از زنان فاقد آن می‌باشد. با وجود اهمیت و شیوع میوم‌ها، در سال‌های اخیر تحقیقات چندانی در مورد آن‌ها انجام نشده است که شاید علت آن ندرت مرگ و میر ناشی از میوم‌ها با وجود علایم ناراحت‌کننده‌ی آن‌ها است (۲۵).

تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین فراوانی ژنوتیپ‌های این پلی مورفیسم و خطر ابتلا به میوم رحمی در گروه مورد و شاهد مشاهده نشد ( $P = ۰/۷۶۶$ ). نتایج حاصل از تکثیر قطعه‌ی مورد نظر برای پلی مورفیسم موقعیت (۴G/۵G)-۶۷۵- از پروموتور ژن PAI-۱، پس از الکتروفورز محصولات PCR، در شکل ۳ نشان داده شده است. توزیع ژنوتیپی و آلی در پروموتور ژن PAI-۱ در جدول ۵ آمده است. تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف این پلی مورفیسم و خطر ابتلا به میوم رحمی در گروه مورد و شاهد مشاهده نشد



Inernal control : HBG1

Homozygote without mutation : 5G/5G

Healthy heterozygote : 4G/5G

Homozygote for mutation : 4G/4G

M: Molecular Marker (50 bp)

شکل ۳. نمونه‌ای از الکتروفورز ژل آگارز مربوط به تعیین ژنوتیپ در ناحیه ۴G/۵G پروموتور ژن PAI-۱

جدول ۵. توزیع ژنوتیپی و آلی در ناحیه ۴G/۵G ژن PAI-۱ و خطر ابتلا به میوم رحمی

مقدار *P	گروه شاهد تعداد (درصد)	گروه مورد تعداد (درصد)	ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها
۰/۸۳۰	۲۲ (۴۴/۰)	۱۹ (۳۸/۰)	۵G/۵G
	۲۰ (۴۰/۰)	۲۲ (۴۴/۰)	۴G/۵G
	۸ (۱۶/۰)	۹ (۱۸/۰)	۴G/۴G
۰/۵۶۰	۶۴ (۶۴/۰)	۶۰ (۶۰/۰)	۵G
	۳۶ (۳۶/۰)	۴۰ (۴۰/۰)	۴G

\* بر اساس آزمون  $\chi^2$   $P < ۰/۰۵۰$  معنی دار می‌باشد.

بیماران مبتلا به سرطان نتایج متناقضی دارد (۲۷). در مطالعه‌ای ارتباط جهش PTH ۲۰۲۱۰A و خطر ابتلا به سرطان سلول‌های سنگفرشی حفره‌ی دهان مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش، فراوانی کمترین آلل در میان مبتلایان به سرطان دهان (۲-۲/۵ درصد) و گروه شاهد (۲ درصد) برابری می‌کرد؛ همچنین هیچ مورد هموزیگوت برای آلل A

اگر چه، ارتباط ترومبوز وریدی با میوم بزرگ رحمی گزارش شده است (۲۶)، اما پیش از این، تأثیر پلی مورفیسم‌های مرتبط با ترومبوز بر روی خطر بروز میوم رحمی نامشخص بوده است. در بیماران سرطانی، بروز عوارض مربوط به ترومبوآمبولی وریدی (VTE یا Venous thromboembolism) شایع می‌باشد؛ با این حال، سهم عوامل ترومبوتیک در

فیبرینوژن و متاستاز سلول‌های توموری نشان می‌دهد. مطالعات اخیر، نشان داد که بین سطوح بالای فیبرینوژن پلاسما و پیشرفت تومور در بین بیماران مبتلا به سرطان روده، مری، ریه، سینه، تخمدان و دهانه‌ی رحم ارتباط وجود دارد. فیبرین، فیبرینوژن و سایر عوامل انعقادی، نقش مهمی در رشد سلول‌های توموری، مهاجم، متاستاز و حمایت از چسبندگی سلول‌های تومور ایفا می‌کنند (۳۶-۳۱).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که بین پلی مورفیسم‌های PTH (rs1۷۹۹۹۶۳)، PAI-1 (rs1۸۰۰۷۹۰) و FGB (rs1۷۹۹۸۸۹) با افزایش خطر ابتلا به میوم رحمی در جمعیت زنان استان فارس ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ( $P > ۰/۰۵۰$ ).

به هر حال، این سه ژن تنها عوامل انعقادی دخیل در برخی از انواع سرطان‌ها نیستند و ژن‌های بسیاری در این امر، شرکت دارند. از این رو، برای درک بهتر علت ایجاد میوم، مطالعه بر روی دیگر عوامل انعقادی ضروری به نظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

در پایان، از همکاری صمیمانه‌ی جناب آقای محمد مقدم کارشناس آزمایشگاه مرکز تحقیقات هماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز که در انجام مراحل عملی این پژوهش مرا یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

در افراد مورد و شاهد مشاهده نشد. این یافته‌ها نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین جهش PTH ۲۰۲۱۰A و خطر ابتلا به سرطان دهان وجود ندارد (۲۸).

در مطالعه‌ی Smolarz و Błasiak ارتباط پلی مورفیسم (۴G/۵G) PAI-1-۶۷۵ و استعداد ابتلا به سرطان سینه را مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی، تعداد افراد بیمار (گروه مورد) ۱۰۰ نفر و تعداد افراد سالم (گروه شاهد) ۱۰۶ نفر بودند. فراوانی ژنوتیپ‌های ۵G/۵G، ۴G/۵G و ۴G/۴G در گروه مورد به ترتیب ۲۹، ۴۰ و ۳۱ درصد و در گروه شاهد ۳۵، ۴۵ و ۲۰ درصد به دست آمد. نتایج این مطالعه نشان داد که ارتباطی بین پلی مورفیسم (۴G/۵G) PAI-1-۶۷۵ و خطر ابتلا به سرطان سینه وجود ندارد (۲۹).

در مطالعه‌ی دیگری ارتباط پلی مورفیسم (۴G/۵G) PAI-1-۶۷۵ و خطر ابتلا به سرطان اندومتر در زنان نژاد قفقازی بررسی شد. طبق این پژوهش، شیوع فراوانی ژنوتیپ ۴G/۴G در گروه مورد به طور قابل توجهی بالاتر از گروه شاهد بود. این یافته‌ها نشان داد که ژنوتیپ ۴G/۴G با خطر ابتلا به سرطان اندومتر در جمعیت زنان قفقازی همراه است (۳۰).

مطالعات گسترده‌ای که بر روی تومور انسانی و حیوانی صورت گرفت، ارتباط ویژه‌ای را بین

### References

1. Young A, Chapman O, Connor C, Poole C, Rose P, Kakkar AK. Thrombosis and cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2012; 9(8): 437-49.
2. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ, III. Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based case-control study. *Arch Intern Med* 2000; 160(6): 809-15.
3. Prandoni P, Lensing AW, Piccioli A, Bernardi E, Simioni P, Girolami B, et al. Recurrent venous thromboembolism and bleeding complications during anticoagulant treatment in patients with cancer and venous thrombosis. *Blood* 2002; 100(10): 3484-8.



4. Blom JW, Vanderschoot JP, Oostindier MJ, Osanto S, van der Meer FJ, Rosendaal FR. Incidence of venous thrombosis in a large cohort of 66,329 cancer patients: results of a record linkage study. *J Thromb Haemost* 2006; 4(3): 529-35.
5. Borsig L. The role of platelet activation in tumor metastasis. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008; 8(8): 1247-55.
6. Staton CA, Brown NJ, Lewis CE. The role of fibrinogen and related fragments in tumour angiogenesis and metastasis. *Expert Opin Biol Ther* 2003; 3(7): 1105-20.
7. Maly J, Blazek M, Blaha M, Pecka M. [Changes in hemostasis in malignant diseases]. *Vnitr Lek* 2002; 48(7): 614-8.
8. Nash GF, Turner LF, Scully MF, Kakkar AK. Platelets and cancer. *Lancet Oncol* 2002; 3(7): 425-30.
9. Gay LJ, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer* 2011; 11(2): 123-34.
10. Palumbo JS, Kombrinck KW, Drew AF, Grimes TS, Kiser JH, Degen JL, et al. Fibrinogen is an important determinant of the metastatic potential of circulating tumor cells. *Blood* 2000; 96(10): 3302-9.
11. Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV, La Jeunesse CM, Flick MJ, Kombrinck KW, et al. Platelets and fibrin(ogen) increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells. *Blood* 2005; 105(1): 178-85.
12. Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV, La Jeunesse CM, Flick MJ, Kombrinck KW, et al. Tumor cell-associated tissue factor and circulating hemostatic factors cooperate to increase metastatic potential through natural killer cell-dependent and-independent mechanisms. *Blood* 2007; 110(1): 133-41.
13. Palumbo JS, Talmage KE, Liu H, La Jeunesse CM, Witte DP, Degen JL. Plasminogen supports tumor growth through a fibrinogen-dependent mechanism linked to vascular patency. *Blood* 2003; 102(8): 2819-27.
14. Camerer E, Qazi AA, Duong DN, Cornelissen I, Advincula R, Coughlin SR. Platelets, protease-activated receptors, and fibrinogen in hematogenous metastasis. *Blood* 2004; 104(2): 397-401.
15. Im JH, Fu W, Wang H, Bhatia SK, Hammer DA, Kowalska MA, et al. Coagulation facilitates tumor cell spreading in the pulmonary vasculature during early metastatic colony formation. *Cancer Res* 2004; 64(23): 8613-9.
16. Medikare V, Kandukuri LR, Ananthapur V, Deenadayal M, Nallari P. The genetic bases of uterine fibroids; a review. *J Reprod Infertil* 2011; 12(3): 181-91.
17. Lee EJ, Kong G, Lee SH, Rho SB, Park CS, Kim BG, et al. Profiling of differentially expressed genes in human uterine leiomyomas. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15(1): 146-54.
18. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88(10): 3698-703.
19. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* 2003; 361(9361): 901-8.
20. Rupert JL, Monsalve MV, Kidd KK, Tan C, Hochachka PW, Devine DV. Selective pressure has not acted against hypercoagulability alleles in high-altitude Amerindians. *Ann Hum Genet* 2003; 67(Pt 5): 426-32.
21. Thomas AE, Green FR, Kelleher CH, Wilkes HC, Brennan PJ, Meade TW, et al. Variation in the promoter region of the beta fibrinogen gene is associated with plasma fibrinogen levels in smokers and non-smokers. *Thromb Haemost* 1991; 65(5): 487-90.
22. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henney AM. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993; 268(15): 10739-45.
23. Xu X, Xie Y, Lin Y, Xu X, Zhu Y, Mao Y, et al. PAI-1 promoter 4G/5G polymorphism (rs1799768) contributes to tumor susceptibility: Evidence from meta-analysis. *Exp Ther Med* 2012; 4(6): 1127-33.
24. Sartori MT, Wiman B, Vettore S, Dazzi F, Girolami A, Patrassi GM. 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene promoter and fibrinolytic capacity in patients with deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1998; 80(6): 956-60.
25. Hartmann KE, Birnbaum H, Ben-Hamadi R, Wu EQ, Farrell MH, Spalding J, et al. Annual costs associated with diagnosis of uterine leiomyomata. *Obstet Gynecol* 2006; 108(4): 930-7.
26. Marshburn PB, Matthews ML, Hurst BS. Uterine artery embolization as a treatment option for uterine myomas. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2006; 33(1): 125-44.
27. Eroglu A, Egin Y, Cam R, Akar N. The 19-bp deletion of dihydrofolate reductase (DHFR), methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T, Factor V Leiden, prothrombin G20210A polymorphisms in cancer patients

- with and without thrombosis. *Ann Hematol* 2009; 88(1): 73-6.
28. Vairaktaris E, Yapijakis C, Wiltfang J, Ries J, Vylliotis A, Derka S, et al. Are factor V and prothrombin mutations associated with increased risk of oral cancer? *Anticancer Res* 2005; 25(3c): 2561-5.
29. Blasiak J, Smolarz B. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene 4G/5G promoter polymorphism is not associated with breast cancer. *Acta Biochim Pol* 2000; 47(1): 191-9.
30. Gilabert-Estelles J, Ramon LA, Braza-Boils A, Gilabert J, Chirivella M, Espana F, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4 G/5 G polymorphism and endometrial cancer. Influence of PAI-1 polymorphism on tissue PAI-1 antigen and mRNA expression and tumor severity. *Thromb Res* 2012; 130(2): 242-7.
31. Lee JH, Ryu KW, Kim S, Bae JM. Preoperative plasma fibrinogen levels in gastric cancer patients correlate with extent of tumor. *Hepatogastroenterology* 2004; 51(60): 1860-3.
32. Yamashita H, Kitayama J, Kanno N, Yatomi Y, Nagawa H. Hyperfibrinogenemia is associated with lymphatic as well as hematogenous metastasis and worse clinical outcome in T2 gastric cancer. *BMC Cancer* 2006; 6: 147.
33. Yamashita H, Kitayama J, Nagawa H. Hyperfibrinogenemia is a useful predictor for lymphatic metastasis in human gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2005; 35(10): 595-600.
34. Takeuchi H, Ikeuchi S, Kitagawa Y, Shimada A, Oishi T, Isobe Y, et al. Pretreatment plasma fibrinogen level correlates with tumor progression and metastasis in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22(12): 2222-7.
35. Jones JM, McGonigle NC, McAnespie M, Cran GW, Graham AN. Plasma fibrinogen and serum C-reactive protein are associated with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2006; 53(1): 97-101.
36. von Tempelhoff GF, Nieman F, Heilmann L, Hommel G. Association between blood rheology, thrombosis and cancer survival in patients with gynecologic malignancy. *Clin Hemorheol Microcirc* 2000; 22(2): 107-30.

## The Association of Thrombosis-Related Factors Polymorphisms and the Risk of Uterine Myoma

Mohadeseh Arabnejad MSc<sup>1</sup>, Ahmad Ebrahimi PhD<sup>2</sup>, Mahboobeh Nasiri PhD<sup>3</sup>,  
Mehran Karimi MD<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Myomas are benign monoclonal tumors of the smooth muscle cells of the endometrium. Venous thromboembolism (VTE) is a common complication of cancers; however, their contributions to thrombotic tendency in patients with cancer have conflicting results. The present study was designed to investigate the relationship of the polymorphisms of clotting factor gene and the risk of uterine myoma.

**Methods:** In this study, three selected polymorphisms of thrombotic factors gene were evaluated using amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) method. We focused on the prevalence of PTH G20210A, FGB G-455A and PAI-1 4G/5G polymorphisms in 50 women with clinically diagnosed uterine myoma and 50 healthy controls. The data were analyzed using chi-square test via SPSS<sub>19</sub> software.

**Findings:** The PTH (rs1799963), FGB (rs1800790) and PAI-1 (rs1799889) polymorphisms were not correlated with an increased risk of uterine myoma in the study population ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** We observed no associations of the investigated polymorphisms with the risk of uterine myoma in studied population.

**Keywords:** Thrombosis factor, Uterine myoma, PTH G20210A, FGB G-455A, PAI-14G/5G

**Citation:** Arabnejad M, Ebrahimi A, Nasiri M, Karimi M. **The Association of Thrombosis-Related Factors Polymorphisms and the Risk of Uterine Myoma.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(303): 1594-604

1- Department of Biology, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, Iran

2- Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, Iran

4- Associate Professor, Hematology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

**Corresponding Author:** Ahmad Ebrahimi PhD, Email: ae35m@yahoo.com