



## Transferase S-glutathione class $\pi$ gene (*GSTP1*) polymorphism in thyroid cancer patients

Paweł Marciniak<sup>1</sup>, Katarzyna Drobnik<sup>2</sup>, Katarzyna Ziemnicka<sup>2</sup>, Paweł Gut<sup>2</sup>,  
Ryszard Słomski<sup>1,3</sup>, Jerzy Sowiński<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry and Biotechnology, Agricultural University, Poznań

<sup>2</sup>Department of Endocrinology, Metabolism and Internal Diseases, Karol Marcinkowski University School of Medical Sciences, Poznań

<sup>3</sup>Institute of Human Genetics, Polish Academy of Science, Poznań

### Abstract

**Introduction:** One of the potential genes which can increase the risk of cancer is *GSTP1* gene. It encodes enzyme called glutathione S-transferase  $\pi$  class, which is involved in the detoxification of a variety of potential carcinogenic compounds. Polymorphism in this gene can cause the amino acid substitution. This substitution, close to the substrate binding site, changes the enzymatic activity for particular substrates and subsequently increases the risk of carcinogenesis.

The aim of this study was to evaluate the function of *GSTP1* polymorphism in thyroid cancer and possible association between *GSTP1* polymorphism and age at diagnosis.

**Material and methods:** 103 patients with differentiated thyroid cancer (DTC) and 53 individuals from control group were examined using PCR-RFLP.

**Results:** Statistically insignificant association of studied polymorphisms with thyroid cancer was observed. Comparison of allele frequency between cases and control groups revealed the presence of risk alleles. For the first polymorphism Ile OR = 1.257; 95% CI [0.792–1.997] ( $p = 0.332$ ), and for the second one Val OR = 1.283; 95% CI [0.6260–2.631] ( $p = 0.495$ ). The presence of Val/Val (c.313A>G) led

to a significant earlier age of onset as compared with other genotypes ( $p < 0.05$ ). Mean age at diagnosis for Val/Val genotype was  $41.1 \pm 15.2$ , and for Ile/Val + Ile/Ile reached  $48.9 \pm 13.2$ . There was no association between age and genotype for c.341C>T polymorphism.

**Conclusions:** Statistically insignificant association of *GSTP1* gene polymorphism with thyroid cancer was observed in studied group of patients. The Val/Val genotype for c.313A>G polymorphism led to earlier age of tumour diagnosis as compared with other genotypes.

(*Pol J Endocrinol* 2006; 5 (57): 509–515)

**Key words:** transferase S-glutathione, thyroid cancer, polymorphism



Katarzyna Drobnik, M.Sc.

Department of Endocrinology, Metabolism  
and Internal Diseases, Karol Marcinkowski  
University School of Medical Sciences, Poznań  
Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań  
phone: 061 869 13 51, fax: 061 869 16 82  
e-mail: kadro80@wp.pl



## Polimorfizm genu transferazy S-glutationu klasy $\pi$ (*GSTP1*) u chorych z rakiem tarczycy

Paweł Marciniak<sup>1\*</sup>, Katarzyna Drobnik<sup>2</sup>, Katarzyna Ziemińska<sup>2</sup>, Paweł Gut<sup>2</sup>, Ryszard Słomski<sup>1,3</sup>, Jerzy Sowiński<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra Biochemii i Biotechnologii Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego, Poznań

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego, Poznań

<sup>3</sup>Instytut Genetyki Człowieka PAN, Poznań

\*Studium magisterskie

### Streszczenie

**Wstęp:** Jednym z potencjalnych genów zwiększających ryzyko zachorowania na niektóre nowotwory jest gen *GSTP1* kodujący enzym szlaku detoksykacyjnego transferazę S-glutationu klasy  $\pi$ . Polimorfizmy w obrębie tego genu mogą prowadzić do substytucji aminokwasów, co wpływa na strukturę centrum aktywnego enzymu i zmienia aktywność katalityczną wobec części substancji kancerogennych. Niewłaściwe działanie szlaku utylizacji substancji szkodliwych przekłada się bezpośrednio na zwiększenie liczby czynników oddziałujących z DNA i prowadzących do mutacji, co może zapoczątkowywać onkogenezę.

**Cel:** Celem pracy była analiza dwóch polimorfizmów genu transferazy S-glutationu (*GSTP1*) pod względem ich asocjacji z występowaniem raka zróżnicowanego tarczycy (DTC, *differentiated thyroid cancer*). Dodatkowo przeprowadzono analizę wpływu badanych polimorfizmów na wiek rozpoznania choroby.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono u 156 osób. Grupę kontrolną stanowiły 53 zdrowe osoby, a grupę badaną — 103 osoby ze zdiagnozowanym DTC. Genotypowanie przeprowadzono za pomocą metody PCR-RFLP (*polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism*).

**Wyniki:** W przypadku obu polimorfizmów nie wykazano znamiennej statystycznie asocjacji z występowaniem raka tarczycy. Porównano częstości alleli oraz wyznaczono potencjalne allele ryzyka. Dla polimorfizmu c.313A>G był to allel Ile, OR = 1,257; 95% CI [0,792–1,997] ( $p = 0,332$ ); dla polimorfizmu c.341C>T allel Val, OR = 1,283; 95% CI

[0,6260–2,631] ( $p = 0,495$ ). Przy korelacji wieku rozpoznania choroby z określonymi genotypami w grupie chorych wykazano znamiennej statystycznie asocjację genotypu Val/Val (polimorfizm c.313A>G) z wcześniejszym wiekiem rozpoznania choroby ( $41,1 \pm 15,2$  w porównaniu z genotypami Ile/Val + Val/Val  $48,9 \pm 13,2$  [ $p < 0,05$ ]). Nie stwierdzono takiej asocjacji dla polimorfizmu c.341C>T.

**Wnioski:** Nie można stwierdzić znamiennej statystycznie asocjacji polimorfizmów *GSTP1* z występowaniem raka tarczycy w badanej grupie, natomiast obecność genotypu Val/Val (polimorfizm c.313A>G) wiąże się z wcześniejszym wystąpieniem choroby.

(*Endokrynol Pol* 2006; 5 (57): 509–515)

**Słowa kluczowe:** transferaza S-glutationu, rak tarczycy, polimorfizm



Mgr inż. Katarzyna Drobnik  
Laboratorium Endokrynologii Molekularnej  
Katedry i Kliniki Endokrynologii  
Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych AM  
im. K. Marcinkowskiego  
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań  
tel.: 061 869 13 51, faks: 061 869 16 82  
e-mail: kadro80@wp.pl

Pracę wykonano w Laboratorium Endokrynologii Molekularnej Katedry i Kliniki Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

### Wstęp

Raki tarczycy są najczęstszymi nowotworami złośliwymi gruczołów dokrewnych. Kobiety chorują na raka tarczycy trzykrotnie częściej niż mężczyźni. Zachorowalność na raka tarczycy w 1999 roku wyniosła 1,1 na 100 000 u mężczyzn oraz 4,3 na 100 000 u kobiet. Według Krajowego Rejestru Nowotworów w 2000 roku stwierdzono w Polsce 1338 nowych zachorowań na raka

tarczycy, w tym 251 u mężczyzn i 1087 u kobiet. W 2001 roku rak tarczycy pozostawał na 11 miejscu wśród przyczyn zgonów z powodu chorób nowotworowych. Rak pęcherzykowy oraz rak brodawkowy są najczęstszymi spośród wszystkich nowotworów tarczycy [1].

Spośród kilku czynników środowiskowych predysponujących do wystąpienia raka tarczycy najczęściej wymienia się wpływ promieniowania jonizującego oraz niedobór jodu w pożywieniu. Wolne rodniki oraz

wzrost stresu oksydacyjnego jako skutek promieniowania prowadzą do utworzenia aktywnych związków mających zdolność do oddziaływania z DNA i indukowania mutacji [2].

Komórka wytworzyła system ochrony przed wpływem wszystkich szkodliwych związków. W procesie detoksykacji substancje te są metabolizowane i usuwane z organizmu. Jednym z głównych enzymów zaangażowanych w tym procesie jest transferaza S-glutationu, enzym fazy II prowadzący reakcję przyłączania glutationu do wielu różnych elektrofilowych, kancerogennych związków pochodzących ze środowiska lub powstałych w wyniku metabolizmu komórkowego. Ze względu na liczną grupę substancji będących substratami dla enzymu, jego poszczególne klasy wykazują różną aktywność podczas detoksykacji poszczególnych grup substancji [3, 4].

Gen *GSTP1* koduje transferazę S-glutationu należącą do klasy  $\pi$ . Jest jednym z głównych enzymów zaangażowanych w detoksykację potencjalnych związków kancerogennych, to znaczy związków poli- i heterocyklicznych, epoksydów, benzopirenu oraz bromobenzenu w tkankach głowy i szyi. W obrębie genu zlokalizowano dwa polimorfizmy wpływające na aktywność enzymu [5]. Pierwszy z nich, zlokalizowany w eksonie 5 c.313A>G, powoduje substytucję aminokwasów p.105Ile>Val, a drugi, zlokalizowany w eksonie 6, powoduje substytucję aminokwasów p.114Ala>Val. Obydwa polimorfizmy powodują zmianę aminokwasów w bezpośrednim sąsiedztwie centrum aktywnego enzymu (miejsce H odpowiedzialne za wiązanie substratu), przez co znacząco zmieniają aktywność enzymu w reakcjach z różnymi związkami. Obniżona aktywność prowadzi do nagromadzenia się w komórce substancji genotoksycznych, co w rezultacie może się przełożyć na indukowanie mutacji i zapoczątkowanie procesu onkogenezy.

Celem głównym niniejszej pracy jest analiza dwóch polimorfizmów genu *GSTP1* kodującego transferazę S-glutationu — enzymu odgrywającego podstawową rolę w procesach detoksyfikacyjnych komórki — pod względem ich asocjacji z występowaniem raka zróżnicowanego tarczycy (DTC, *differentiated thyroid cancer*) w populacji polskiej. Dodatkowo zaplanowano analizę wpływu badanych polimorfizmów na wiek wystąpienia choroby.

## Materiał i metody

Materiał kliniczny stanowiła krew obwodowa pobrana na 50  $\mu$ l 10% EDTA od pacjentów z DTC oraz od osób zdrowych. Badania prowadzono u 156 osób. Grupę kontrolną stanowiły 53 zdrowe osoby, a grupę badaną — 103 osoby ze zdiagnozowanym DTC.

Grupę badaną stanowiło 10 mężczyzn oraz 93 kobiety. Wśród badanych w 10 przypadkach stwierdzono raka pęcherzykowego tarczycy (9,7% grupy badanej), u pozostałych 93 osób — raka brodawkowego (90,3% grupy badanej). Spośród chorych u 16 osób (15,5% grupy badanej) stwierdzono występowanie przerzutów do węzłów chłonnych szyi, węzłów chłonnych szyi i śródpiersia oraz płuc. Badaniami objęto osoby od 15. do 79. roku życia. Średni wiek osób z grupy kontrolnej wynosił  $45 \pm 15,5$  roku, a grupy badanej  $52,6 \pm 14,4$  roku. Materiał pochodził z Katedry i Kliniki Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Poznaniu.

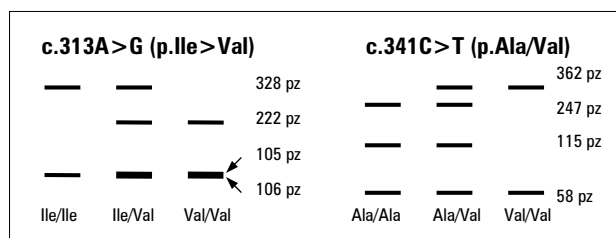
### Izolacja DNA

W celu uzyskania DNA do dalszych etapów badań przeprowadzono izolację z krwi obwodowej z zastosowaniem izotiocyanianu guanidyny (GTC) i odbiałczania fenolem i chloroformem [6].

### Genotypowanie

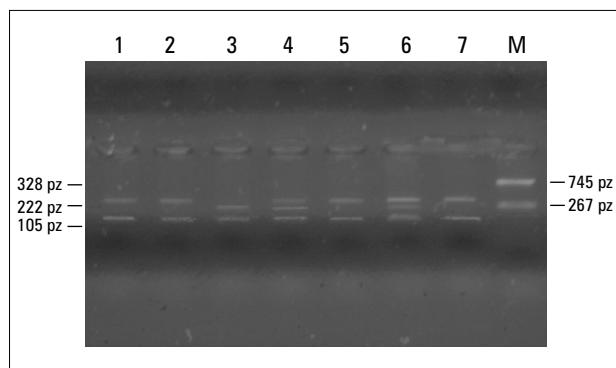
Genotypowanie przeprowadzono przy zastosowaniu techniki PCR-RFLP (*polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism*). Pierwszy etap stanowiła amplifikacja fragmentu eksonu 5 genu *GSTP1* o wielkości 433 par zasad (pz) przy użyciu starterów F 5'-GTAGTTTGCCCAAGGTCAAG-3' i R 5'-AGCCACCTGAGGGGTAAG-3'. PCR przeprowadzono w 24  $\mu$ l mieszaniny reakcyjnej o składzie: 15,125  $\mu$ l wody, 2,5  $\mu$ l buforu 10  $\times$  stężonego, 0,625  $\mu$ l startera R (100 ng/ $\mu$ l), 0,625  $\mu$ l startera F (100 ng/ $\mu$ l), 1  $\mu$ l dNTP (5 mmol), 0,125  $\mu$ l polimerazy Taq (Sigma) (5 j./ $\mu$ l) i 4  $\mu$ l DNA (50 ng/ $\mu$ l). Reakcję prowadzono przez 32 cykle w następujących warunkach: denaturacja wstępna 94°C przez 4 minuty, denaturacja 94°C przez 45 s, wiązanie starterów 55°C przez 45 s, synteza 72°C przez 90 s, wydłużanie końcowe 5 min. Następnie prowadzono hydrolizę produktu PCR enzymem *Alw26I* przez 3 godziny w temperaturze 37°C. Mieszanina reakcyjna zawierała 16  $\mu$ l wody, 2  $\mu$ l 10  $\times$  stężonego buforu, 1  $\mu$ l enzymu (10 j./ $\mu$ l) i 10  $\mu$ l produktu PCR. Wizualizację wyników prowadzono poprzez elektroforezę w 2-procentowym żelu agarozowym w buforze TBE (*triborate–EDTA*) z dodatkiem bromku etydyny. Oczekiwany wynik genotypowania przedstawia rycina 1, przykładowy wynik genotypowania przedstawiono na rycinie 2.

Reakcję PCR w celu amplifikacji eksonu 6 prowadzono przy użyciu starterów F 5'-GGGAGCAAGCA-GAGGAGAAT-3' i R 5'-CAGGTTGTAGTCAGCGAAG-GAG-3' z zachowaniem tego samego składu mieszaniny reakcyjnej i identycznych warunków reakcji PCR. Podobnie prowadzono hydrolizę produktu PCR przez 3 godziny w temperaturze 37°C enzymem *SsiI* i rozdział w 2-procentowym żelu agarozowym. Przykładowy wynik genotypowania przedstawiono na rycinie 3.



**Rycina 1.** Oczekiwany wynik genotypowania dla polimorfizmów zlokalizowanych w genie GSTP1 eksonie 5. i eksonie 6.

**Figure 1.** Expected results of genotyping for both GSTP1 polymorphisms in exon 5 and exon 6

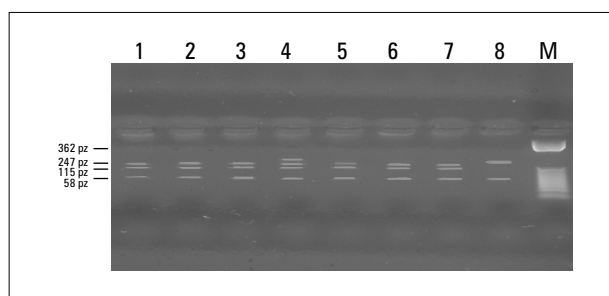


**Rycina 2.** Przykładowy wynik genotypowania polimorfizmu c.313A>G genu GSTP1 z zastosowaniem restryktazy Alw26I. Tory 1, 2, 5, 7 homozygota Ile/Ile, tor 4, 6 heterozygota Ile/Val, tor 3 homozygota Val/Val. M — marker wielkości 745, 267 pz. Rozdział prowadzono w 2-procentowym żelu agarozowym

**Figure 2.** Genotyping results for c.313A>G polymorphism. Lanes 1, 2, 5, 7 homozygotes Ile/Ile, lanes 4, 6 heterozygote Ile/Val, lane 3 homozygote Val/Val. M — marker 745, 267 bp. The digest was electrophoresed in 2% agarose gel

### Analiza statystyczna

Analizę zgodności rozkładu genotypów z rozkładem w równowadze Hardy'ego-Weinberga przeprowadzono za pomocą kalkulatora dostępnego na stronie <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>. Wykonano analizę asocjacji polimorfizmów (typ *case-control*) z występowaniem DTC. Analizę wykonano dla trzech możliwych efektów oddziaływania danego polimorfizmu — efektu dawki allelu ( $\chi^2$  Armitage'a), efektu oddziaływania recesywnego i efektu oddziaływania dominującego ( $\chi^2$  Pearsona oraz iloraz szans dla istotnych wartości testu  $\chi^2$ ). Porównano także częstości alleli między grupą kontrolną i grupą badaną ( $\chi^2$  Pearsona oraz iloraz szans dla alleli ryzyka obu polimorfizmów). Dodatkowo wykonano analizę asocjacji genotypów ze średnim wiekiem rozpoznania choroby. Wszystkie analizy wykonano za pomocą programu STATISTICA 6.0. Za wyniki statystycznie istotne uznano te, dla których poziom istotności  $p$  był mniejszy lub równy 0,05.



**Rycina 3.** Przykładowy wynik genotypowania polimorfizmu c.341C>T genu GSTP1 z zastosowaniem restryktazy SsiI. Tory 1, 2, 3, 5, 6, 7 homozygota Ala/Ala, tor 4 heterozygota Ala/Val, tor 8 homozygota Val/Val. M — marker wielkości. Rozdział prowadzono w 2-procentowym żelu agarozowym

**Figure 3.** Genotyping results for c.341C>T polymorphisms. Lanes 1, 2, 3, 5, 6, 7 homozygote Ala/Ala, lane 4 heterozygote Ala/Val, lane 8 homozygote Val/Val. The digest was electrophoresed in 2% agarose gel

### Wyniki

Polimorfizm c.313A>G wykazuje zgodność rozkładu genotypów z rozkładem w równowadze Hardy'ego-Weinberga. Polimorfizm c.341C>T nie wykazywał takiej zgodności (tab. I).

Analiza asocjacji z występowaniem raka tarczycy nie wykazała znamienych statystycznie wyników w przypadku obu polimorfizmów. Wyniki analizy dla polimorfizmu c.313A>G przedstawiono w tabeli II. Po porównaniu częstości alleli w grupie kontrolnej i badanej wyznaczono allel ryzyka Ile, OR = 1,257; 95% CI [0,792–1,997] ( $p = 0,332$ ). Wyniki analizy dla polimorfizmu c.341C>T przedstawiono w tabeli III. Allel ryzyka w tym przypadku to allel Val, OR = 1,283; 95% CI [0,6260–2,631] ( $p = 0,495$ ).

Analiza wpływu badanych polimorfizmów na wiek rozpoznania choroby wykazała w przypadku polimorfizmu c.313A>G asocjację genotypu Val/Val z wcześniejszym wiekiem rozpoznania (ryc. 4). Dla polimorfizmu c.341C>T nie wykazano istotnej asocjacji (ryc. 5).

### Dyskusja

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki analizy polimorfizmów genu kodującego transferazę S-glutationu klasy  $\pi$ , który stanowi główny enzym fazy II szlaku detoksykacyjnego. Przebadano 156 osób (53 osoby z grupy kontrolnej, 103 osoby chore na DTC w aspekcie polimorfizmów genu GSTP1 zlokalizowanych w eksonie 5 (c.313A>G powoduje zmianę aminokwasów p.105Ile>Val) i w eksonie 6 (c.341C>T powoduje zmianę aminokwasów p.114Ala>Val). Występowanie polimorfizmów przekłada się na różną aktywność substratową produktu białkowego. Enzym zawierający walinę

Tabela I

Częstość występowania genotypów oraz wynik analizy zgodności z prawem Hardy'ego-Weinberga

Table I

Genotypes frequencies and results of comparison with Hardy-Weinberg expectations

	Liczebność obserwowana		Liczebność oczekiwana	
	n	%	n	%
<b>GSTP1 c.313A&gt;G</b>				
Ile/Ile	68	43,6	65,39	41,9
Ile/Val	66	42,3	71,22	45,7
Val/Val	22	14,1	19,39	12,4
	$\chi^2 = 0,84$	d.f. = 1	p = 0,36	
<b>GSTP1 c.341C&gt;T</b>				
Ala/Ala	123	78,8	117,69	75,4
Ala/Val	25	16	35,61	22,8
Val/Val	8	5,2	2,69	1,8
	$\chi^2 = 13,853$	d.f. = 1	p = 0,0002	

Tabela II

Wynik analizy asocjacji dla polimorfizmu c.313A&gt;G

Table II

Results of association analysis for c.313A&gt;G polymorphism

Genotypy	Liczba pacjentów oraz odsetek chorych na raka w stosunku do całkowitej liczby pacjentów o danym genotypie				Efekt dominacji i recesywności
	Ogółem	Grupa kontrolna	Grupa badana	Grupa badana (%)	
	n = 156	n = 53	n = 103		
Ile/Ile	68	16	47	69,1	Val/Val vs. Ile/Val + Ile/Ile: $\chi^2 = 1,444$ ; d.f. = 1; <b>p = 0,229</b>
Ile/Val	66	39	39	59,1	
Val/Val	22	5	17	77,3	
	$\chi^2$ Pearsona = 2,445; d.f. = 2; <b>p = 0,229</b>				Ile/Ile vs. Ile/Val + Val/Val: $\chi^2 = 0,514$ ; d.f. = 1; <b>p = 0,474</b>
	$\chi^2$ Armitage = 0,0081; d.f. = 1; <b>p = 0,929</b>				

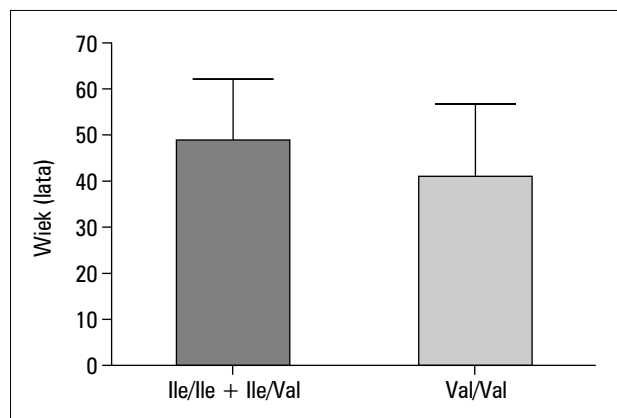
Tabela III

Wynik analizy asocjacji dla polimorfizmu c.341C&gt;T

Table III

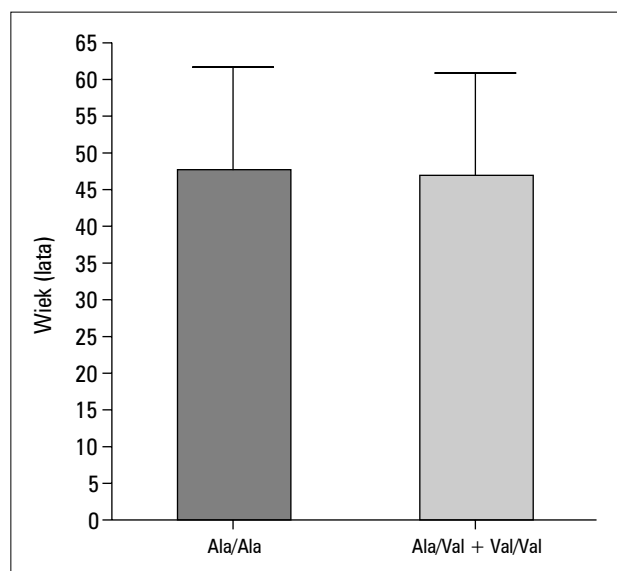
Results for association analysis for c.341C&gt;T polymorphism

Genotypy	Liczba pacjentów oraz odsetek chorych na raka w stosunku do całkowitej liczby pacjentów o danym genotypie				Efekt dominacji i recesywności
	Ogółem	Grupa kontrolna	Grupa badana	Grupa badana (%)	
	n = 156	n = 53	n = 103		
Ala/Ala	123	42	81	65,8	Val/Val vs. Ala/Val + Ala/Ala: $\chi^2 = 1,734$ ; d.f. = 1; <b>p = 0,188</b>
Ala/Val	25	10	15	60	
Val/Val	8	1	7	87,5	
	$\chi^2$ Pearsona = 2,051; d.f. = 2; <b>p = 0,359</b>				Ala/Ala vs. Ala/Val + Val/Val: $\chi^2 = 0,007$ ; d.f. = 1; <b>p = 0,93</b>
	$\chi^2$ Armitage = 0,359; d.f. = 1; <b>p = 0,549</b>				



**Rycina 4.** Średni wiek rozpoznania raka tarczycy w zależności od genotypów (polimorfizm c.313A>G)

**Figure 4.** Mean age at diagnosis for different genotypes (polymorphism c.313A>G)



**Rycina 5.** Średni wiek rozpoznania raka tarczycy w zależności od genotypów (polimorfizmu c.341C>T)

**Figure 5.** Mean age at diagnosis for different genotypes (polymorphism c.341C>T)

w pozycji 105 wykazuje 7-krotnie wyższą aktywność w reakcji z aromatycznymi epoksydami, a 3-krotnie niższą w reakcji z 1-chloro, 2,4-dimetylobenzenem [7]. Obniżona aktywność prowadzi do zwiększenia liczby związków o zdolnościach oddziaływania z DNA, na przykład związków alkilujących, węglowodorów aromatycznych, epoksydów, i w rezultacie stwarza ryzyko wystąpienia mutacji [2].

Prezentowane do tej pory prace analizujące wpływ polimorfizmu genu *GSTP1* na występowanie raka tarczycy są sprzeczne. W niniejszej pracy w przypadku

polimorfizmu w eksonie 5 p.105Ile>Val obserwowano niewielkie różnice w częstości genotypów w porównaniu z danymi przedstawionymi dla populacji portugalskiej [2], japońskiej [8], norweskiej [9] czy francuskiej [2]. Na przykład częstość występowania genotypu Ile/Ile u przebadanych chorych wynosiła 46,7%, zaś w populacji norweskiej 50%, w populacji portugalskiej 58%, a w populacji francuskiej 50%. W przypadku populacji portugalskiej wyznaczono taki sam allel ryzyka, jak w grupie badanej przez autorów pracy. Jest nim allel dla izoleucyny [2]. Porównując wyniki innych badań oraz wyniki przedstawione w niniejszej pracy, można stwierdzić, że allel Ile zwiększa ryzyko wystąpienia DTC. Brak znamiennego statystycznie wyniku przy wyznaczaniu allelu ryzyka w powyższej pracy może być wynikiem zbyt małej liczby osób poddanych analizie. Zaobserwowano w badanej grupie zwiększoną częstość występowania allelu Ile. Można przypuszczać, iż zwiększenie grupy osób poddanych analizie, przy jednoczesnym zachowaniu tendencji w rozkładzie alleli, dałoby wynik istotny statystycznie. W literaturze występuje również wiele opracowań, w których potencjalnym allelem ryzyka jest allel Val [10, 11]. Przyczyną takich wyników może być wpływ warunków środowiskowych. Różne grupy populacyjne, żyjące w odmiennych środowiskach są poddawane wpływowi zupełnie innych czynników zewnętrznych. Biorąc pod uwagę różną aktywność substratową form transferazy S-glutathionu w stosunku do tych związków, w odmiennych grupach etnicznych i populacyjnych można obserwować różne allele ryzyka predysponujące do rozwoju choroby.

Polimorfizm c.341C>T nie był często badany pod względem asocjacji z występowaniem raka tarczycy. Część autorów przypisuje mu niewielki udział w zmianie aktywności enzymatycznej produktu genu [5]. Wykazano jednak, że enzymy posiadające w pozycji 114 walinę są mniej aktywne w reakcjach z czynnikami alkilującymi [12]. Obserwowana częstość genotypów dla polimorfizmu Val/Val (5,89%) w niniejszej pracy jest porównywalna z prezentowaną przez innych autorów (2%) [13]. W populacji japońskiej [8] oraz koreańskiej [14] wykazano całkowity brak takiego polimorfizmu. Genotyp Val/Val występował rzadko w badanej przez autorów grupie. Jako allel ryzyka wyznaczono allel Val, jednak tendencja do zwiększonej częstości występowania tego allelu w grupie badanej jest słabo widoczna. Brak jakiegokolwiek asocjacji z wystąpieniem nowotworu nie oznacza jednak definitywnie, że ten polimorfizm nie ma wpływu na zwiększenie predyspozycji do rozwoju choroby. Postulowany jego niewielki związek ze zmianą aktywności enzymu zdaje się jednak przemawiać za wykluczeniem go z dalszych badań. Fakt ten powinien jednak zostać jeszcze potwierdzony.

Polimorfizmy wydają się znaczącym czynnikiem modyfikującym potencjalny wiek zachorowania na nowotwór tarczycy. W niniejszej pracy wykazano związek genotypu z wiekiem rozpoznania choroby. W przypadku polimorfizmu c.313A>G średni wiek rozpoznania choroby dla genotypu Val/Val jest o 8 lat niższy niż dla pozostałych genotypów. Wynik jest porównywalny z osiągniętym w podobnych badaniach przeprowadzonych dla populacji portugalskiej, gdzie postuluje się późniejszy wiek wystąpienia choroby dla genotypu Ile/Ile w porównaniu z innymi genotypami [2]. W badaniach Gudmundsdottira dotyczących asocjacji raka piersi z polimorfizmem genu *GSTP1* w populacji islandzkiej również wykazano asocjację genotypu Ile/Ile z późniejszym wiekiem wystąpienia choroby [11]. Potencjalną przyczyną takiego stanu rzeczy może być fakt lepszej efektywności enzymu z izoleucyną w pozycji 105 w reakcji z częścią substancji genotoksycznych. Wcześniejsze wyniki wykazały jednak, że potencjalnym allelem ryzyka jest Ile. Prawdopodobnie jest to uzależnione od warunków środowiskowych i rodzaju substancji, które oddziałują na organizm człowieka w różnych środowiskach. Substancje bardziej aktywne będą łatwiej oddziaływały z DNA i częściej wywoływały mutacje somatyczne. Nie bez znaczenia jest tutaj również styl życia poszczególnych osób. Jednakże udziału czynników środowiskowych oraz genetycznych w patogenezie wszystkich chorób nie można dokładnie przewidzieć.

Podsumowując, należy stwierdzić, że polimorfizm genu *GSTP1* może być jednym z czynników zwiększających ryzyko zachorowania na nowotwory tarczycy. W przypadku polimorfizmu w eksonie 5, mimo braku znamienych statystycznie wyników, niezaprzeczalnym allelem ryzyka jest allel Ile. Dla polimorfizmu c.341C>T nie wykazano asocjacji z chorobą. Wykluczenie tego polimorfizmu wymaga dalszych analiz. Ponadto polimorfizmy w tym genie mogą wpływać na wiek pojawienia się choroby [2]. Zasadne byłoby skorelowanie tych polimorfizmów z innymi czynnikami, na przykład polimorfizmami genów innych enzymów, onkogenami, warunkami środowiskowymi. Jednoczesne wy-

stąpienie kilku czynników może zdecydowanie podwyższyć stopień ryzyka zachorowania na raka tarczycy.

## Piśmiennictwo

1. Krzakowski M. Rak tarczycy. W: Krzakowski M (red.). Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych u ludzi. Polska Unia Onkologii 2003; 71.
2. Gaspar J, Rodrigues S, Monteiro Gil O i wsp. Combined effects of glutathione S-transferase polymorphisms and thyroid cancer risk. *Cancer Genet Cytogenet* 2004; 151: 60–67.
3. Gulick A, Fahl WE. Mammalian glutathione S-transferase: regulation of an enzyme system to achieve chemotherapeutic efficacy. *Pharmac Ther* 1995; 66: 237–257.
4. Shennan D, Meade G, Foley VM, Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J* 2001; 360: 1–16.
5. Ali-Osman F, Akande O, Antoun G i wsp. Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase pi gene variants. *J Biol Chem* 1997; 272: 10 004–10 012.
6. Słomski R, Jura J, Kalak R i wsp. Izolacja DNA. W: Słomski R (red.). Przykłady analiz DNA. Wyd. Akademii Rolniczej im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań 2004; 21–31.
7. Harris MJ, Coggan M, Langton L i wsp. Polymorphism of the Pi class glutathione S-transferase in normal populations and cancer patients. *Pharmacogenetics* 1998; 8 (1): 27–31.
8. Ishii T, Matsuse T, Teramoto S i wsp. Glutathione S-transferase P1 (*GSTP1*) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54: 693–696.
9. Ryberg D, Skaug V, Høwer A i wsp. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis* 1997; 18 (7): 1285–1289.
10. Hashibe M, Brennan P, Strange CR i wsp. Meta- and pooled analyses of *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, and *CYP1A1* genotypes and risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 1509–1517.
11. Gudmundsdottir K, Tryggvadottir L, Eyfjord JE. *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* genotypes in relation to breast cancer risk and frequency of mutations in the *p53* gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 1169–1173.
12. Pandya U, Srivastava KS, Singhal SS i wsp. Activity of allelic variants of pi class human glutathione S-transferase toward chlorambucil. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 278: 258–262.
13. Ye Z, Song H, Higgins JPT i wsp. Five glutathione S-transferase gene variants in 23,452 cases of lung cancer and 30,397 controls: meta-analysis of 130 studies. *PLoS Med* 2006; 3: 1–10.
14. Hyun-Jung Ho, Soo-Youn Lee, Chang-Seok Ki i wsp. *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* polymorphisms in the Korean population. *J Korean Med Sci* 2005; 20: 1089–1092.