Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2014; 17(91): 58-64

Association of Glutathione peroxidase 1(+593C/T) gene polymorphism with rheumatoid arthritis in Guilan province

Asalisalekmoalemi F[1], Asalisalekmoalemi L[1], Salehi Z[1*], Zayeni SH[2]

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2- Faculty Member of Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Received: 22 Jul 2014, Accepted: 10 Sep 2014

Abstract

Background: Rheumatoid arthritis is a chronic inflammatory disorder that mainly affects the peripheral joints and surrounding tissue. Genetic and environmental factors have important roles in pathogenesis. The role of oxidative stress and the enzymes involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis have been studied in these years. A predominant role in counteracting reactive oxygen spieces is played by endogenous antioxidant enzymes, and glutathion peroxidase (*GPx*). An alteration of CTC codon to CCC codon which results in substitution of leucine instead of proline in 198th amino acid location is one of the important polymorphisms of this gene. The aim of this study was to evaluate the association of *GPx1* gene polymorphism in patients with rheumatoid artheritis.

Materials and Methods: The case-control study included 130 patients with rheumatoid artheritis and 126 healthy individuals. Genomic DNA was extracted from white blood cells and the genotypes were identified using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR - RFLP). Statistical analysis was carried using the MedCalc (version 12/1).

Results: The frequencies of CC, CT and TT genotypes of GPx1gene were 32/31%, 43/08% and 24/61% respectively, in rheumatoid arthritis patients, whiles in healthy volunteers were 42/62%, 54/10% and 3/28%. Statistical results showed significant relationship between TT genotype of GPx1 gene and Rheumatoid arthritis (p=0/002, χ^2=11/715, OR: 9/90 95% CI (2/04 to 48/01)).

Conclusion: In conclusion, these results indicate that TT genotype of *GPx1* gene may be associated with the risk of rheumatoid artheritis in the studied population. However, further research is required to clarify the role of gene polymorphism in rheumatoid arthritis.

Keywords: Gene Polymorphism, GPx1, Rheumatoid Artheritis

*Corresponding Author:
Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
Email: geneticzs@yahoo.co.uk

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۷، شماره ۱۰ (شماره پیاپی۹۱)، دی ۱۳۹۳، ۶۴-۵۸

پیوستگی پلی مورفیسم (+۵۹۳C/T) ژن GPx1 با بیماری آرتریت روماتوئید در استان گیلان

فاطمه عسلی سالک معلمی[۱]، لیلا عسلی سالک معلمی[۱]، زیور صالحی[۲*]، سید حبیب زینی[۳]

۱- کارشناس ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳- استادیار، گروه بیماری های داخلی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: آرتریت روماتوئید، یک اختلال التهابی مزمن است که اساسا روی مفاصل محیطی و بافت‌های اطراف آن اثر می‌گذارد. فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در پاتوژنز این بیماری موثر می‌باشند. در سال‌های اخیر، نقش استرس اکسیداتیو و آنزیم‌های دخیل در این فرآیند، در آرتریت روماتوئید مورد توجه قرار گرفته است. در مقابله با گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درونی و گلوتاتیون پراکسیدازها نقش برجسته‌ای بازی می‌کنند. از پلی مورفیسم‌های مهم این ژن، تغییر کدون CTC به جای کدون CCC بوده که موجب جانشینی اسیدآمینه لوسین در موقعیت ۱۹۸به جای اسیدآمینه پرولین می‌شود. هدف از این پژوهش، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم ژن GPx1 در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی ۱۳۰ بیمار و ۱۲۶ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفت. DNA ژنومی از سلول‌های خون استخراج شد. ژنوتیپ‌ها با استفاده از تکنیک PCR-RFLP تعیین شد. آنالیز داده‌ها با نرم افزار MedCalc (ویرایش ۱۲/۱) صورت گرفت.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT به ترتیب در بیماران ۳۲/۳۱، ۴۳/۰۸ و ۲۴/۶۱ درصد و در افراد سالم ۴۲/۶۲، ۵۴/۱۰ و ۳/۲۸ درصد محاسبه شد. نتایج آماری نشان دهنده ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ TT ژن GPx1 و بیماری آرتریت روماتوئید بود(p=۰/۰۰۲).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان‌دهنده نقش ژنوتیپ TT در ارتباط با بیماری آرتریت روماتوئید در افراد مورد بررسی می‌باشد. هرچند جهت تایید نتایج، پیشنهاد می‌گردد که مطالعه در جمعیت بزرگ‌تری صورت گیرد.

واژگان کلیدی: پلی مورفیسم ژنی، GPx1 ، آرتریت روماتوئید

***نویسنده مسئول:** رشت، خیابان نامجو، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی
Email:geneticzs@yahoo.co.uk

مقدمه

آرتریت روماتوئید (Rheumatoid arthritis-RA)، یک اختلال التهابی مزمن است که از نشانه‌های اصلی آن التهاب پایدار در بافت سینوویال مفصل می‌باشد(۱، ۲). آرتریت روماتوئید اصولا روی مفاصل محیطی متحرک و بافت‌های اطراف مفصل اثر می‌گذارد. شروع بیماری با درد و التهاب متقارن در مفاصل کوچک دست و پا همراه می‌باشد(۳). ۰/۵ تا ۱ درصد از جمعیت بزرگسالان در سرتاسر جهان مبتلا به این بیماری هستند. شیوع آن در جوامع شهری ایران حدود ۰/۳۳ درصد می‌باشد(۴). هرچند سن شروع در اکثر جوامع بین ۴۰ تا ۷۰ سال است امکان ابتلا به این بیماری در هر سنی وجود دارد. شیوع بیماری در زنان ۲ تا ۳ برابر بیشتر از مردان می‌باشد(۳). علائم کلاسیک این بیماری شامل درد، خشکی (خصوصا صبحگاهی)، گرما، قرمزی و تورم مفاصل می‌باشد که به عملکرد فیزیکی فرد آسیب می‌زند. این علائم با برخی نشانه‌های سیستمیک مثل تب، خستگی، کسالت و کاهش وزن همراه هستند(۳). مفاصل به علت التهاب، ضخیم شدن غشای مفصلی و تجمع مایع در حفره مفصلی متورم و دردناک می‌شوند. این وضعیت به مرور زمان باعث تخریب و تغییر شکل مفصل می‌گردد و استخوان و غضروف داخل مفصل به تدریج دچار خوردگی می‌شوند(۵).

علت دقیق بیماری‌زایی این بیماری نامشخص است(۳) اما بررسی‌ها نشان می‌دهند که در آغاز بیماری‌زایی عواملی چون التهاب، اتوآنتی‌بادی‌ها و کمپلکس‌های ایمنی نقش دارند. فاکتورهای ژنتیکی و محیطی نقش بسیار مهمی در ایجاد بیماری دارند(۶). از عوامل محیطی موثر در ابتلا به آرتریت روماتوئید می‌توان به مصرف سیگار، اثرات هورمونی، چاقی، رژیم غذایی و عوامل عفونی اشاره کرد(۵). در واقع استعداد ژنتیکی به وسیله فاکتورهای دیگر هم‌چون محیط، مصرف سیگار، سبک زندگی و حتی عفونت تحت تاثیر قرار می‌گیرد(۷). در اکثر مطالعات ژنتیکی، استعداد ابتلا به آرتریت روماتوئید را به پنج ژن HLA-DRB1، PTPN22، 6q23، STAT4 و TRAF1/C5 نسبت داده‌اند(۸). اما از بین آنها تنوع ژنتیکی دو ژن HLA-DRB1 و PTPN22 بیشترین تاثیر را در افزایش استعداد ابتلا به بیماری نشان می‌دهند.

متابولیسم اکسیژن نقش مهمی در بیماری‌زایی آرتریت روماتوئید دارد(۹). گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن(Reactive oxygen spieces-ROS) به وسیله همه سلول‌ها در جریان طبیعی تنفس اکسیداتیو تولید می‌شود(۱۰). مقادیر کم ROS برای پروسه‌های سلولی مانند مکانیسم‌های تنظیمی، پیام رسانی داخل سلولی، دفاع میزبان علیه عوامل بیماری‌زا ضروری است. افزایش میزان ROS ممکن است سمی باشد و سبب آسیب از طریق پراکسیداسیون چربی در غشاهای سلولی، آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها، جهش در DNA و فعال کردن فاکتورهای مرگ سلولی شود(۱۱). از بین آنزیم‌های درگیر در محافظت آنتی اکسیدانی، سوپراکسید دیسموتازها (Superoxide dismutases-SOD)، گلوتاتیون پراکسیدازها (glutathion peroxidase-GPx) و کاتالاز نقش اولیه‌ای در کاهش ROS بازی می‌کنند(۱۲). بنابراین استعداد کلی آنتی اکسیدانی بدن به فعالیت این سه نوع آنزیم بستگی دارد.

GPx1 یکی از فراوان‌ترین اعضا خانواده بزرگ آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز است. GPx1 در پستانداران شامل اسید آمینه سلنوسیستئین (Selenocysteine-Sec) می‌باشد که از گلوتاتیون (Glutathione-GSH) به عنوان یک ماده اولیه همراه ضروری برای عملکرد ویژه خود استفاده می‌کند(۱۰). وظیفه این آنزیم کاهش پراکسید هیدروژن درون سلولی به آب می‌باشد(۱۳). ژن GPx1 در موقعیت 3p21.3 قرار دارد(۱۴). ۳۸ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (single-nucleotide polymorphism-SNP) در ژن GPx1 گزارش شده است که اغلب در نواحی غیر کدکننده می‌باشند. مهم‌ترین پلی مورفیسم این ژن که در بخش کدکننده پروتئین وجود دارد، جانشینی لوسین (Leucine-Leu) به جای پرولین (Proline-Pro) در اسیدآمینه ۱۹۸ است. این پلی مورفیسم به علت جانشینی

نوکلئوتید T (CTC) به جای C (CCC) در نوکلئوتید ۵۹۳ به وجود می‌آید. آلل T در پاسخ به افزایش سطوح سلنیوم نسبت به آلل C، عکس العمل پایین‌تری از خود نشان می‌دهد. سطح فعالیت آنزیم با آلل T کاهش می‌یابد(۱۵). با توجه به این که GPx1 نقش مهمی در کنترل غلظت ROS دارد، پلی مورفیسم 593C/T+در ژن GPx1 یک SNP مفید در مطالعات بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو می‌باشد. لذا هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی مورفیسم 593C/T+ ژن GPx1 با بیماری آرتریت روماتوئید در جمعیتی از استان گیلان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد- شاهدی ۱۳۰ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید (۱۰۸ زن و ۲۲ مرد) و ۱۲۶ فرد سالم به عنوان گروه کنترل (۱۰۲ زن و ۲۴ مرد) در استان گیلان مورد بررسی قرار گرفتند. بیماران و افراد سالم دارای محدوده سنی ۲۲-۷۵ سال بودند. پرسش‌نامه اطلاعاتی شامل سن، جنسیت، وزن، تاریخ تشخیص بیماری، تعداد مفاصل درگیر، داروهای خاص مورد استفاده، استعمال دخانیات و سابقه خانوادگی بیماری تهیه گردید. تشخیص بیماری آرتریت روماتوئید توسط پزشک فوق تخصص روماتولوژی براساس داده‌های آزمایشگاهی مانند فاکتور روماتوئید RF و آنتی بادی ضد CCP و نتایج رادیوگرافی صورت گرفت.

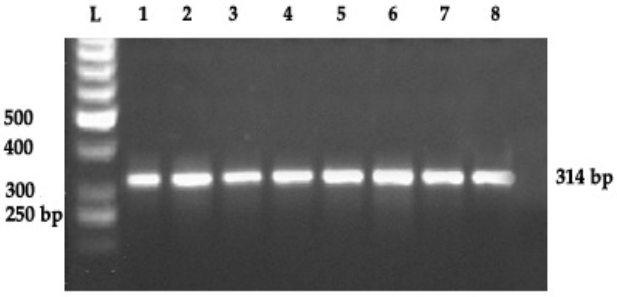
از افراد داوطلب ۱ میلی‌لیتر خون محیطی دریافت شد. نمونه‌های خون در لوله‌های استریل حاوی EDTA نگهداری شد. DNA از لکوسیت‌های خون با استفاده از کیت GPP Solution (شرکت ژن پژوهان، ایران) استخراج گردید. سپس DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید مورد بررسی قرار گرفت.

ژنوتیپ ژن GPx1 در داوطلبین با استفاده از تکنیک PCR-RFLP مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تکثیر DNA توسط PCR، یک جفت پرایمر اختصاصی با استفاده از نرم افزار Oligo primer analysis (ویرایش ۷/۵۴) طراحی گردید. توالی پرایمر رفت شامل F: 5′- GTGTGCCCCTACGCAGGTA-3′ وتوالی پرایمر برگشت R:5′-CACACAGTTCTGCTGACACC-3′ می‌باشد. برنامه PCR شامل ۵ دقیقه واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۴ سیکل با برنامه ۹۴ درجه سانتی‌گراد(۳۰ ثانیه)، ۵۴ درجه سانتی‌گراد(۳۰ ثانیه)، ۷۲ درجه سانتی‌گراد(۴۵ ثانیه) و در نهایت به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترموسایکلر (محصول شرکت BioRad) تنظیم گردید. سپس محصول به دست آمده روی ژل آگارز ۲ درصد، الکتروفورز گردید. در ادامه برای انجام واکنش RFLP از آنزیم محدودکننده *ApaI* FastDigest (شرکت فرمنتاز) در حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر برای ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. سپس محصولات هضم حاصل از تیمار با آنزیم *ApaI* بر روی ژل آگارز ۲ درصد برده شد و عکسبرداری ژل صورت گرفت. بر اساس قطعات به دست آمده نوع پلی‌مورفیسم مورد نظر تعیین گردید.

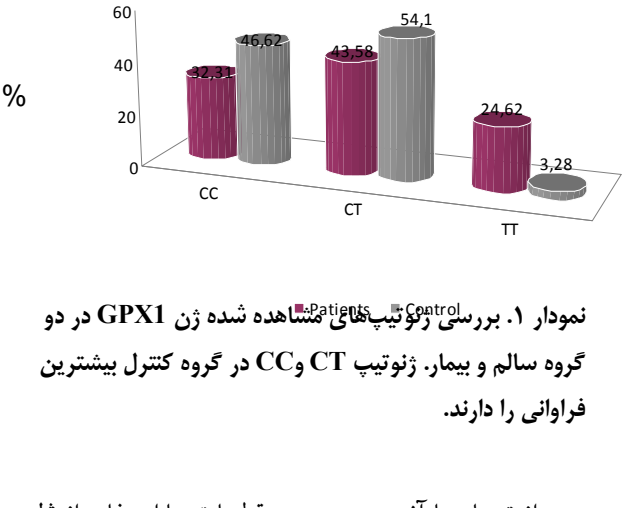
در پایان به منظور بررسی ارتباط از تست کای اسکوئر با استفاده از نرم افزار MedCalc (ویرایش ۱۲/۱، بلژیک) استفاده گردید. سطح معنی‌داری نیز کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۱۳۰ بیمار و ۱۲۶ شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. استخراج DNA ژنومی از خون تمامی افراد مورد مطالعه با موفقیت صورت گرفت. بررسی پلی مورفیسم‌ها با استفاده از تکنیک PCR-RFLP انجام شد. با استفاده از PCR قطعه‌ای به طول ۳۱۴ جفت باز از ژن GPx1 تکثیر گردید(شکل ۱).



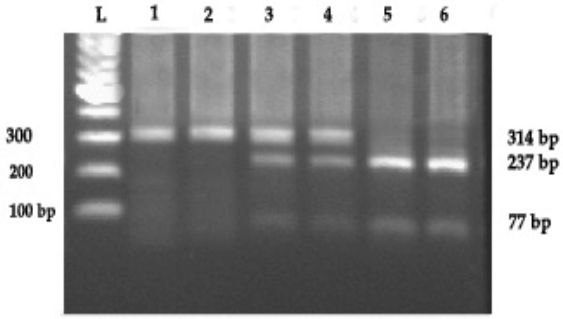
شکل ۱. محصولات PCR از تکثیر قطعه ی مورد نظر از ژن GPX1 بر روی ژل آگارز ۲ درصد. ستون های ۱ – ۸ محصولات PCR در نتیجه تکثیر ژن GPX1 برای ۸ نمونه متفاوت نشان داده شده است. L: مارکر ۱۰۰جفت بازی



نمودار ۱. بررسی ژنوتیپ‌های مشاهده شده ژن GPX1 در دو گروه سالم و بیمار. ژنوتیپ CT وCC در گروه کنترل بیشترین فراوانی را دارند.

پس از تیمار با آنزیم و بررسی قطعات با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد (شکل ۲)، ۳ نوع ژنوتیپ قابل شناسایی بودند:

ژنوتیپ هموزیگوت TT با یک باند ۳۱۴ جفت بازی، ژنوتیپ هتروزیگوت CT سه باند ۳۱۴، ۲۳۷ و ۷۷ جفت بازی و ژنوتیپ هموزیگوت CC دو باند ۲۳۷ و ۷۷ جفت بازی در ژل آگارز ۲ درصد قابل شناسایی بودند. نمودار ۱. بررسی فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT ژن GPx1 در بیماران و افراد سالم را نشان می‌دهد. فراوانی آللی نیز در افراد بیمار و سالم در جدول ۱ نمایش داده شده است (χ^2= ۱۳/۳۰۲، p= ۰/۰۰۳ ((۳/۳۰ تا ۱/۱۷)CI ٪۹۵ :OR ۱/۹۷). با استفاده از نرم افزار MedCalc، نتایج آماری نشان‌دهنده ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ TT ژن GPx1 و بیماری آرتریت روماتوئید بود((۴۸/۰۱ تا ۲/۰۴)CI ٪۹۵ :OR ۹/۹۰، χ^2=۱۱/۷۱۵، p=۰/۰۰۲). به عبارت دیگر افراد دارای ژنوتیپ TT، ۹ برابر بیشتر از ژنوتیپ‌های دیگر در معرض خطر برای ابتلا به آرتریت روماتوئید می‌باشند.



شکل ۲. محصولات RFLP روی ژل آگارز ۲ درصد برای ژن GPX1. ژنوتیپ هموزیگوت Leu/Leu دارای یک باند bp ۳۱۴ در نمونه شماره ۱و ۲، ژنوتیپ هتروزیگوت Leu/Pro دارای سه باند bp ۳۱۴، bp ۲۳۷ و bp ۷۷ در نمونه شماره ۳ و ۴و ژنوتیپ هموزیگوت Pro/Pro دارای دو باند bp ۲۳۷ و ۷۷bp در نمونه شماره ۵ و ۶ می باشد. L: مارکر ۱۰۰ جفت بازی

جدول ۱. بررسی آللی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی +593C/T ژن GPX1.

ژن	آلل	تعداد موارد (درصد)	تعداد گروه کنترل(درصد)
GPx1	C	۱۴۰(۵۳/۸۴)	۱۷۰(۶۹/۶۷)
	T	۱۲۰(۴۶/۱۵)	۷۴(۳۰/۳۳)

بحث

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر تفاوت معنی‌داری بین جمعیت بیمار و کنترل در توزیع فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی GPx1 را نشان داد. حضور ژنوتیپ TT در بیماران بیشتر از افراد سالم بود. این موضوع اهمیت آلل T را در این بیماری نشان می‌دهد. نتایج این تحقیق بیان می‌کند که احتمالا پلی‌مورفیسم +593C/T ارتباط موثری با پاتوژنز بیماری آرتریت روماتوئید داشته و ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ TTژن GPx1 و بیماری آرتریت روماتوئید وجود دارد.

تقریبا ۱ درصد از جمعیت جهان تحت تاثیر این بیماری می‌باشند(۳). هم‌چنین در این بیماران نشانه‌هایی از آسیب اکسیداتیو دیده شده که به ماکروملکول‌هایی مانند DNA، پروتئین و لیپید درون مفاصل آنها صدمه زده است(۱۶، ۱۷). در بدن انسان به طور طبیعی، دفاع

آنتی اکسیدانی برای مبارزه با اکسیدان‌های اضافی وجود دارد هرچند استعداد افراد مختلف، در برابر این دفاع متفاوت است. تغییرات ژنتیکی در ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌تواند در برخی از موارد سبب تغییر فعالیت آنها شود و در نتیجه استعداد ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند دیابت قندی، سرطان و بیماری‌های التهابی مزمن را افزایش دهد. ROS ها ملکول‌های بسیار واکنش‌پذیر می‌باشند (مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن) که به عنوان محصول فرعی، طی فرآیندهای طبیعی سلولی درگیر با اکسیژن هم‌چون فسفریلاسیون اکسیداتیو تولید می‌شوند. این اکسیدان‌ها در حالت طبیعی نقش‌های حیاتی برعهده دارند در حالی که در شرایط استرس اکسیداتیو با ماکروملکول‌های درون سلول واکنش می‌دهند(۹). مطالعات زیادی روی سایر ژن‌های دخیل در استعداد ابتلا به بیماری آرتریت روماتوئید در جمعیت‌های متفاوت صورت گرفته است اما تاکنون مطالعه‌ای بر روی پلی مورفیسم 593C/T+ ژن گلوتاتیون پراکسیداز ۱ در ارتباط با بیماری آرتریت روماتوئید انجام نگرفته است.

مطالعات نشان داده‌اند که سطح پراکسید هیدروژن در سلولی با آلل Leu بالاتر از آلل Pro می‌باشد. دلیل این که چگونه اسید آمینه پرولین در مقایسه با لوسین بر فعالیت آنزیم در مقابل تحریک سلنیوم اثر می‌گذارد مشخص نشده است(۱۵).

این پلی‌مورفسیم در سایر بیماری‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفته است. نلسن و همکاران روی ارتباط پلی‌مورفیسم 593C/T+ و خطر سرطان ریه مطالعه نمودند. آنها با بررسی ۴۳۲ بیمار با سرطان ریه و ۷۹۸ فرد سالم مشاهده کردند که پیوستگی بسیار محکمی بین خطر سرطان ریه با ژنوتیپ TT نسبت به ژنوتیپ‌های CC و CT وجود دارد(۱۸). هو و همکاران نقش گلوتاتیون پراکسیداز ۱ را در سرطان سینه مطالعه نمودند و نتیجه گرفتند که فراوانی ژنوتیپ TT به طور قابل ملاحظه‌ای در بیماران دارای سرطان سینه بالاست(۱۵). سارافینوسکا و همکاران به بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم 593C/T+ و خطر سرطان پروستات پرداختند. نتایج آنان نشان داد که آلل T این پلی‌مورفیسم اثر حفاظتی در برابر خطر سرطان پروستات دارد و حامل‌های هتروزیگوس CT به طور قابل توجهی در مقایسه با افراد هموزیگوس CC با خطر کمتری در برابر سرطان پروستات مواجه هستند(۱۹).

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج حاصل از این بررسی ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم 593C/T+ ژن GPx1 با بیماری آرتریت روماتوئید در جمعیت بررسی شده به دست آمد، به طوری که ژنوتیپ TT از ژن GPx1 با خطر افزایش بیماری همراه می‌باشد. اگرچه که جهت تعیین نقش آنزیم GPx1 در بیماری آرتریت روماتوئید لازم است مطالعه در جمعیت‌های بزرگ‌تری صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

از تحصیلات تکمیلی دانشگاه گیلان و تمامی بیماران و افراد سالم شرکت کننده در این تحقیق تشکر می‌نماییم. این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناس ارشد خانم فاطمه عسلی سالک معلمی عنوان آنالیز ژن‌های MnSOD و GPx1 در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید می‌باشد.

منابع

1. Singal DP, Li J, Zhu Y. Genetic basis for rheumatoid arthritis. Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis-English Edition. 1999.;47:307-12.
2. Amano T, Yamasaki S, Yagishita N, Tsuchimochi K, Shin H, Kawahara K-i, et al. Synoviolin/Hrd1, an E3 ubiquitin ligase, as a novel pathogenic factor for arthropathy. Genes & development. 2003;17(19):2436-49.
3. Stanich JA, Carter JD, Whittum-Hudson J. Rheumatoid arthritis: disease or syndrome. Open Access Rheumatology Research and Reviews. 2009;1:179-92.
4. Davatchi F, Tehrani-Banihashemi A, Jamshidi A-R, Chams-Davatchi C, Gholami J, Moradi M, et al. The prevalence of oral

aphthosis in a normal population in Iran: a WHO-ILAR COPCORD study. Arch Iran Med. 2008;11(2):207-9.
5. Boissier M-C, Semerano L, Challal S, Saidenberg-Kermanac'h N, Falgarone G. Rheumatoid arthritis: from autoimmunity to synovitis and joint destruction. Journal of autoimmunity. 2012;39(3):222-8.
6. Wakitani S, Murata N, Toda Y, Ogawa R, Kaneshige T, Nishimura Y, et al. The relationship between HLA-DRB1 alleles and disease subsets of rheumatoid arthritis in Japanese. Rheumatology. 1997;36(6):630-6.
7. Reveille JD. The genetic contribution to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Current opinion in rheumatology. 1998;10(3):187-200.
8. Bowes J, Barton A. Recent advances in the genetics of RA susceptibility. Rheumatology. 2008;47(4):399-402.
9. Hitchon CA, El-Gabalawy HS. Oxidation in rheumatoid arthritis. Arthritis Research and Therapy. 2004;6:265-78.
10. Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. Antioxidants & redox signaling. 2011;15(7):1957-97.
11. Buonocore G, Perrone S, Tataranno ML, editors. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. Seminars in Fetal and Neonatal Medicine; 2010;15(4):186-90.
12. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. Environmental health perspectives. 1994;102(10):5-6.
13. Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohe R, Aumann K, Roveri A, Schomburg D, et al. Diversity of glutathione peroxidases. Methods in enzymology. 1995;252:38-9.
14. Forsberg L, Faire Ud, Morgenstern R. Low yield of polymorphisms from EST blast searching: analysis of genes related to oxidative stress and verification of the P197L polymorphism in GPX1. Human mutation. 1999;13(4):294-300.
15. Hu YJ, Diamond AM. Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer Loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. Cancer research. 2003;63(12):3347-51.
16. Klareskog L, Malmström V, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L, editors. Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. Seminars in immunology; 2011: Elsevier.
17. Bashir S, Harris G, Denman MA, Blake DR, Winyard PG. Oxidative DNA damage and cellular sensitivity to oxidative stress in human autoimmune diseases. Annals of the rheumatic diseases. 1993;52(9):659-66.
18. Raaschou-Nielsen O, Sørensen M, Hansen RD, Frederiksen K, Tjønneland A, Overvad K, et al. GPX1 Pro198Leu polymorphism, interactions with smoking and alcohol consumption, and risk for lung cancer. Cancer letters. 2007;247(2):293-300.
19. Arsova-Sarafinovska Z, Matevska N, Eken A, Petrovski D, Banev S, Dzikova S, et al. Glutathione peroxidase 1 (GPX1) genetic polymorphism, erythrocyte GPX activity, and prostate cancer risk. International urology and nephrology. 2009;41(1):63-70.