

## Lack of Association between Nodular Throid Disease and rs1256049 Polymorphism of Estrogen Receptor Beta Gene in Women from Markazi Province

Ahmad Hamta<sup>1</sup>, Maryam Yousefi<sup>1</sup>, Masood Fazeli Mosleh Abadi<sup>2</sup>, Afsaneh Talaei<sup>3</sup>, Abdorrahim Sadeghi<sup>4\*</sup>

1- Department of Biology, Arak University, Arak, Iran.

2- Department of Radiology, Valiasr Hospital, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

3- Department of Internal Medicine, Endocrine and Metabolism Research Center, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

4- Department of Biochemistry and Genetics, Molecular and Medicine Research Center, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Received: 10 Aug 2015, Accepted: 9 Sep 2015

### Abstract

**Background:** Thyroid nodules are common. 4-7% of adults have a palpable nodule and up to 50-70% of nodules are detected in high-resolution sonography. Thyroid nodules in women are 4 times greater than men and the rate of thyroid cancer in women is 3:1 compared to men, and is the sixth most common cancer in women. Epidemiological findings and experimental evidences show that sex hormones, especially estrogen, may have effect on this gland and its neoplasm. The aim of this study was to investigate the association between rs1256049 polymorphism in the estrogen receptor beta gene with thyroid nodular disease.

**Materials and Methods:** In this case-control study, 146 Patients with nodular thyroid and 151 health individuals were referred to Amirmomenin hospital of Arak were recruited in study. Diagnosis is based on by ultrasonography and was confirmed by an endocrinologist. Genomic DNA was extracted from EDTA treated whole blood .The genotypes were determined using tetra-amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (T-ARMS-PCR) and analyzed by statistical methods.

**Results:** The frequency of CC, TC and TT genotypes in case group 136(93.2%), 10(6.8%) and 0(0%) and in the control group 139(92.1%), 12(7.9%) and 0(0%) were obtained respectively. No statistically significant association ( $p=0.72$ ) was observed between nodular thyroid disease and rs1256049 polymorphism.

**Conclusion:** Our findings showed no significant association between rs1256049 polymorphism and nodular thyroid disease. For best deduction, it is recommended that this study be done in other populations.

**Keywords:** Estrogen receptor beta, rs1256049, Thyroid nodule

\*Corresponding Author:

Address: Department of Biochemistry and Genetics, Molecular and Medicine Research Center, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Email: sadeghi@arakmu.ac.ir

## عدم همراهی بین بیماری ندول تیروئید با چندشکلی rs1256049 در ژن گیرنده بتای استروژن در زنان استان مرکزی

احمد همتا<sup>۱</sup>، مریم یوسفی<sup>۲</sup>، مسعود فاضلی مصلح آبادی<sup>۳</sup>، افسانه طلائی<sup>۴</sup>، عبدالرحیم صادقی<sup>۵\*</sup>

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

۲- دانشجو، کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

۳- استادیار، گروه رادیولوژی، بیمارستان ولی عصر (عج)، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۴- دانشیار، گروه داخلی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۵- استادیار، گروه بیوشیمی و ژنتیک، مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۱۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** ندول‌های تیروئید شایع هستند. ۴ تا ۷ درصد بزرگسالان یک ندول قابل لمس دارند و ۵۰ تا ۷۰ درصد از آن‌ها با دقت بالا در سونوگرافی قابل تشخیص‌اند. میزان وجود ندول تیروئیدی در زنان ۴ برابر مردان است و نسبت سرطان تیروئید در زنان در مقایسه با مردان ۳ به ۱ است و ششمین سرطان شایع در زنان می‌باشد. یافته‌های اپیدمیولوژیک و آزمایشگاهی نشان می‌دهند که هورمون‌های جنسی به ویژه استروژن ممکن است بر این غده و نوپلاسم آن موثر باشد. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs1256049 در ژن گیرنده استروژن بتا با بیماری ندول تیروئید است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مورد - شاهدی، ۱۴۶ بیمار با ندول تیروئید و ۱۵۱ فرد سالم مراجعه کننده به بیمارستان امیرالمومنین (ع) شهر اراک، وارد مطالعه شدند. تشخیص بیماری با اولتراسونوگرافی و تایید متخصص غدد انجام شد. DNA ژنومی از خون کامل حاوی ضد انعقاد EDTA استخراج شد. ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش T-ARMS PCR مشخص شدند و با استفاده از روش‌های آماری تجزیه و تحلیل گردیدند.

**یافته‌ها:** فراوانی ژنوتیپ‌های CC، TC و TT در گروه مورد به ترتیب ۱۳۶ (۹۳/۲ درصد)، ۱۰ (۶/۸ درصد) و صفر (صفر درصد) و در گروه شاهد ۱۳۹ (۹۲/۱ درصد)، ۱۲ (۷/۹ درصد) و صفر (صفر درصد) به دست آمد. در این تحقیق، ارتباط معنی‌داری بین بیماری ندول تیروئید و چندشکلی rs1256049 مشاهده نشد (p=۰/۷۲).

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های ما حاکی از عدم ارتباط معنی‌دار بین چندشکلی rs1256049 و بیماری ندول تیروئید است. برای نتیجه‌گیری بهتر، پیشنهاد می‌شود این مطالعه در جمعیت‌های دیگر نیز انجام شود.

**واژگان کلیدی:** گیرنده استروژن بتا، rs1256049، ندول تیروئید

\*نویسنده مسئول: ایران، اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، گروه بیوشیمی و ژنتیک

Email: sadeghi@arakmu.ac.ir

## مقدمه

ندول تیروئید یک ضایعه در غده تیروئید است که با لمس یا سونوگرافی از پارانشیم اطراف تیروئید قابل تشخیص است و در ۸/۵ درصد جمعیت مشاهده می شود (۱). ندول تیروئید در زنان حدود ۵ درصد و در مردانی که در مناطق دارای میزان کافی ید زندگی می کنند، ۱ درصد می باشد (۲). در مقابل، سونوگرافی با وضوح بالا می تواند ندول تیروئید را در ۱۹ تا ۶۷ درصد زنان و افراد مسن که به طور تصادفی انتخاب شده اند مشخص کند (۳، ۴). یافته های اپیدمیولوژیک و شواهد تجربی موجود در مورد ضایعات تیروئید، حاکی از این موضوع هستند که هورمون های جنسی زنان به خصوص استروژن ممکن است بر این غده و نئوپلاسم های آن اثر داشته باشند. ضایعات خوش خیم و بدخیم تیروئید در زنان شایع تر و پیش آگهی آن ها نیز در زنان بهتر است (۵) بیماری های تیروئید در بسیاری از زنان در سنین باروری به وجود می آیند که در این هنگام غلظت هورمون های استروژن و پروژسترون به حداکثر خود می رسد. اغلب آدنوم فولیکولار و کارسینوم کاملاً متمایز در زنان به وجود می آید و در دوران پس از بلوغ و پیش از یائسگی شایع تر است (۶). میزان بروز کارسینوم تیروئید در زنان در سنین باروری حدود ۳ برابر بیشتر از آقایان است (۷). گزارش شده است که میزان بیان گیرنده استروژن آلفا در بیماران مبتلا به انواع مختلفی از نئوپلاسم های تیروئید نسبت به افراد نرمال بیشتر است، ولی میزان بیان گیرنده استروژن بتا در انواع مختلفی از نئوپلاسم های تیروئید نسبت به افراد نرمال کم تر است (۸).

گیرنده های استروژن و هورمون تیروئید اعضای ابرخانواده گیرنده های هسته ای هستند (۹). گیرنده استروژن در سیتوپلاسم و هسته قرار گرفته است. بنابراین هنگامی که استروژن وارد سلول شده و به گیرنده های استروژن متصل می شود، گیرنده می تواند اثر مستقیمی بر روی رونویسی DNA داشته باشد (۱۰).

به دلیل شیوع ندول تیروئید در بین خانم ها و اثبات وابستگی سرطان تیروئید به هورمون استروژن به عنوان

هورمون اصلی زنان، لازم است تا استروژن و گیرنده آن بیشتر مورد بررسی قرار گیرند. در صورت وجود ارتباط (فنوتیپ با ژنوتیپ) بین جهش های گیرنده بتای استروژن با انواع ندول تیروئید، تشخیص و راه حل های درمانی مناسب تر توسط پزشک برای هر بیمار در نظر گرفته خواهد شد و ممکن است بتوان از روش های هورمون درمانی مطابق با جهش برای بیماران استفاده نمود. غلبه کردن بیماری های خوش خیم و بدخیم تیروئید در زنان، بسیاری از افراد را بر آن داشته است که در مورد نقش هورمون های جنسی در بیماری های تیروئید پژوهش کنند (۱۱). چندشکلی یا تفاوت های ژنتیکی در ژن های رمز کننده پروتئین ها، ممکن است مسئول تفاوت های مشاهده شده در زمینه های فیزیولوژیک، بیوشیمی و پاسخ به داروها باشند و می توانند به عنوان مارکرهای اطلاع دهنده بیماری مطرح شوند.

مطالعه حاضر با هدف بررسی همراهی چندشکلی rs1256049 در ژن گیرنده بتای استروژن و بیماری ندول تیروئید در جمعیت زنان استان مرکزی انجام شد.

## مواد و روش ها

این پژوهش با کد اخلاق ۱۳-۱۷۱-۹۳ دانشگاه علوم پزشکی اراک و با تکمیل فرم رضایت نامه توسط شرکت کنندگان در طرح صورت گرفت. در این مطالعه مورد - شاهدی، از ۱۴۶ بیمار مبتلا به ندول تیروئید و ۱۵۱ فرد سالم، ۴ سی سی نمونه خون در لوله های حاوی ضد انعقاد EDTA گرفته شد. بیماران از درمانگاه غدد واقع در بیمارستان امیرالمومنین (ع) بودند و بیماری آن ها از طریق سونوگرافی و تایید پزشک متخصص غدد تایید شد. هم چنین گروه شاهد از زنان سالم که به طور داوطلبانه به مرکز سونوگرافی پارس اراک مراجعه نمودند و طبق سونوگرافی تیروئید فاقد ندول تیروئید بودند انتخاب شدند. DNA ژنومی با استفاده از کیت DNG-plus (شرکت سیناکلون، ایران) از خون کامل استخراج شد. تعیین ژنوتیپ های چندشکلی rs1256049 با روش T-ARMS PCR صورت گرفت.

## یافته ها

مشخصات دموگرافیکی دو گروه مورد و شاهد در جدول ۲ خلاصه شده است. میانگین سنی در زنان بیمار ۴۲/۵۷ و در زنان شاهد ۴۰/۸۳ می باشد و ارتباط معنی داری با بیماری وجود ندارد.

بین وضعیت تأهل و ابتلا به بیماری ندول تیروئید ارتباط معنی داری وجود ندارد. بین سیگار کشیدن و بیماری ارتباط معنی داری مشاهده نشد، ولی بین میزان تحصیلات و ابتلا به بیماری ارتباط معنی داری مشاهده شد. بدین معنا که با افزایش میزان تحصیلات ابتلا به بیماری کم تر می شد.

هم چنین بین شاخص توده بدنی (BMI) و بیماری ندول تیروئید ارتباط معنی داری مشاهده شد به طوری که با افزایش BMI میزان ابتلا به بیماری افزایش یافت.

بر اساس محاسبات آماری، بین نظم قاعدگی و ابتلا به بیماری ارتباط معنی داری مشاهده شد و نامنظم بودن قاعدگی و در نهایت نامنظمی هورمون های جنسی احتمال ابتلا به بیماری را افزایش داد.

هم چنین بین مصرف صحیح نمک یددار و ابتلا به بیماری ندول تیروئید ارتباط معنی داری وجود دارد و با مصرف صحیح نمک یددار میزان ابتلا به بیماری کاسته می شود.

## جدول ۲. ویژگی های دموگرافی در دو گروه بیمار و شاهد

متغیرها	گروه مورد تعداد(درصد)	گروه شاهد تعداد(درصد)	p
وضعیت سنی(میانگین)	۴۲/۵۷(۱۴۶)	۴۰/۸۳(۱۵۱)	۰/۰۹
افراد متأهل	۸۰/۸(۱۱۸)	۸۴/۱(۱۲۷)	۰/۸۶
عدم مصرف سیگار	۹۳/۲(۱۳۶)	۹۵/۴(۱۴۴)	۰/۳۱
تحصیلات کارشناسی و بالاتر	۹/۶(۱۴)	۱۱/۳(۱۷)	*۰/۰۳
BMI بالاتر از ۲۵	۶۹/۸۶(۱۰۲)	۶۰/۲۶(۹۱)	*۰/۰۴
قاعدگی منظم	۴۷/۹(۷۰)	۶۷/۵(۱۰۲)	*۰/۰۳
مصرف صحیح نمک یددار	۳۶/۳(۵۳)	۶۶/۹(۱۰۱)	*۰/۰۰

\* اختلاف بین دو گروه معنی دار بوده ( $P \leq 0.05$ ) است.

در شکل ۱ ژنوتیپ تعدادی از نمونه ها با روش T-ARMS PCR نشان داده شده است.

جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر آلل های C و T را نشان می دهد.

پرایمرها	توالی (۵'...۳')	(°C)	TM
OF	GTGTCTGACTTATACACATAGTGGC	۵۳/۶	
IF	AACAGCTCTCCAAGAGCaGc	۵۶/۲	
IR	TCAGCCTGTTCCGACCAAcTa	۵۵/۸	
OR	GGGGTCCAAGACTGGAAACT	۵۶/۵	

پرایمر پیش رو درونی = IF ، پرایمر پیش رو بیرونی = OF

پرایمر پس رو بیرونی = OR ، پرایمر پس رو درونی = IR

برنامه PCR طی یک مرحله واسرشت اولیه به مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، سپس ۳۰ چرخه واکنش زنجیره ای پلیمرز شامل واسرشت به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، اتصال پرایمر به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد و طویل شدن زنجیره به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام شد. در آخر به منظور تکمیل فرایند، تکثیر قطعات در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت.

سپس محصول PCR در ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد الکتروفورز گردید و رنگ آمیزی آن با نیترات نقره انجام شد و ژنوتیپ ها تعیین شدند.

در ژنوتیپ CC، قطعه مشترک حاصل قطعه تکثیری پرایمرهای خارجی OF و OR ۶۳۳ جفت بازی است و قطعه آلل C ۲۵۴ جفت بازی حاصل پرایمرهای IF و OR می باشد. در ژنوتیپ TT به جز قطعه مشترک، قطعه ۴۱۸ جفت بازی حاصل پرایمرهای IR و OF می باشد. در ژنوتیپ CT، قطعه مشترک و دو قطعه مربوط به آلل C و T وجود دارند.

تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ صورت گرفت. جهت بررسی معنی دار بودن تفاوت بین ژنوتیپ ها در دو گروه مورد و شاهد از آزمون کای مربع استفاده گردید که در این آزمون  $p \geq 0.05$  نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین دو گروه می باشد.

T در گروه بیمار ۳/۴ درصد و در گروه شاهد ۴ درصد محاسبه شد.

فراوانی ژنوتیپی در چند شکلی rs1256049 برای ژنوتیپ CC در گروه بیمار ۹۳/۲ درصد و در گروه شاهد ۹۲/۱ درصد و فراوانی ژنوتیپ TC در گروه بیمار ۶/۸ درصد و در گروه شاهد ۷/۹ درصد محاسبه شد. بر اساس محاسبات آماری، ارتباط معنی داری بین این چندشکلی و بیماری مشاهده نشد.

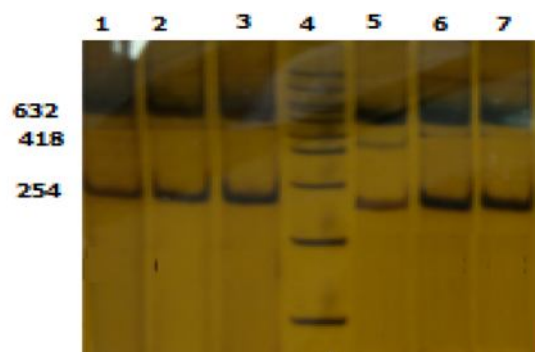
در مطالعات سایر محققان که بر روی چندشکلی rs1256049 با بیماری‌های گوناگونی از جمله زوال عقلی (۱۳)، آرتروز زانو (۱۴)، حاملگی (۱۵)، پارکینسون (۱۶) و سرطان کیسه صفرا (۱۷) صورت گرفته است، ارتباط آماری معنی داری مشاهده شده است.

با توجه به بررسی منابع، مطالعه ای در داخل و خارج کشور در زمینه ارتباط چندشکلی rs1256049 و بیماری ندول تیروئید مشاهده نشد. بنابراین، این مطالعه برای اولین بار صورت گرفته است و امکان مقایسه وجود ندارد.

محاسبات آماری نشان داد که ارتباط معنی داری بین وضعیت تأهل و سیگار کشیدن با ابتلا به بیماری وجود ندارد. اما بین میزان تحصیلات و ابتلا به بیماری ارتباط معنی داری مشاهده شد و با افزایش میزان تحصیلات ابتلا به بیماری کم تر می شد. به نظر می رسد با افزایش آگاهی، افراد نسبت به سلامت خود، راه‌های پیش گیری از بیماری مثل استفاده از نمک یددار، مراجعه به موقع به پزشک و غیره توجه بیشتری پیدا می کنند.

بر اساس محاسبات آماری، بین BMI و بیماری ارتباط معنی داری مشاهده شد و با افزایش BMI میزان ابتلا به بیماری افزایش یافت. رحیمی و همکاران نشان دادند که با افزایش ۱ واحد BMI احتمال ابتلا به ندول بدخیم ۳۸ درصد افزایش می یابد (۱۸)، از این رو، این نتیجه با مطالعه ما هم خوانی دارد.

بین نظم قاعدگی و ابتلا به بیماری ارتباط معنی داری مشاهده شد، به طوری که نامنظم بودن قاعدگی و نامنظمی هورمون‌های جنسی احتمال ابتلا به بیماری را



شکل ۱. تعیین ژنوتیپ با روش T-ARMS PCR. نمونه‌های ردیف‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ دارای ژنوتیپ CC و نمونه ردیف ۵ ژنوتیپ TC و ژنوتیپ TT در نتایج مشاهده نشد. در ردیف ۴، سایز مارکر ۱۰۰ می باشد.

نتایج فراوانی ژنوتیپی و آلی چندشکلی rs1256049 در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس محاسبات آماری، ارتباط معنی داری بین چندشکلی rs1256049 با بیماری ندول تیروئید مشاهده نشد.

جدول ۳. فراوانی ژنوتیپی و آلی افراد مورد مطالعه برای چندشکلی rs1256049

ژنوتیپ	تعداد افراد بیمار (درصد)	تعداد افراد شاهد (درصد)	گروه
CC	۹۳/۲ (۱۳۶)	۹۲/۱ (۱۳۹)	CC
TC	۶/۸ (۱۰)	۷/۹ (۱۲)	TC
TT	۰ (۰)	۰ (۰)	TT
جمع	۱۰۰ (۱۴۶)	۱۰۰ (۱۵۱)	جمع
آلل C	۲۸۲ (۹۶/۶)	۲۹۰ (۹۶)	آلل C
آلل T	۱۰ (۳/۴)	۱۲ (۴)	آلل T

$$df=1, X^2=0.13, P=0.72$$

## بحث

این چندشکلی در آگزون ۵ ژن گیرنده بتای استروژن قرار گرفته است و باعث ایجاد یک جهش خاموش در کدون ۳۲۸ می شود (۱۲)، زیرا با تغییر آلل C به T، تغییری در آمینواسید و در نتیجه پروتئین ایجاد نمی شود (۱۳)، اما ممکن است در ساختار دو بعدی و پایداری mRNA تغییر ایجاد کند.

در مطالعه حاضر در استان مرکزی، فراوانی آلی چندشکلی rs1256049 برای آلل C در گروه بیمار ۹۶/۶ درصد و در گروه شاهد ۹۶ درصد و فراوانی آلی برای آلل

- survey. *Clinical endocrinology*. 1977; 7(6):481-93.
2. Vander JB, Gaston EA, Dawber TR. The significance of nontoxic thyroid nodules: final report of a 15-year study of the incidence of thyroid malignancy. *Annals of internal medicine*. 1968; 69(3):537-40.
3. Tan GH, Gharib H. Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable nodules discovered incidentally on thyroid imaging. *Annals of internal medicine*. 1997; 126(3):226-31.
4. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: The American Thyroid Association Guidelines Taskforce. *Thyroid*. 2006; 16(2):109-42.
5. Lewy-Trenda I. Estrogen and progesterone receptors in neoplastic and non-neoplastic thyroid lesions. *Polish journal of pathology: official journal of the Polish Society of Pathologists*. 2001; 53(2):67-72.
6. Money SR, Muss W, Thelmo W, Boeckl O, Pimpl W, Kaindl H, et al. Immunocytochemical localization of estrogen and progesterone receptors in human thyroid. *Surgery*. 1989; 106(6): 975-9.
7. Mazzaferri EL, Young RL, Oertel JE, Kemmerer WT, Page CP. Papillary thyroid carcinoma: the impact of therapy in 576 patients. *Medicine*. 1977; 56(3):171-96.
8. Liu J, Chen G, Meng X-Y, Liu Z-H, Dong S. Serum levels of sex hormones and expression of their receptors in thyroid tissue in female patients with various types of thyroid neoplasms. *Pathology-Research and Practice*. 2014;210(12):830-5.
9. Vasudevan N, Ogawa S, Pfaff D. Estrogen and thyroid hormone receptor interactions: physiological flexibility by molecular specificity. *Physiological reviews*. 2002; 82(4): 923-44.
10. Lund JDD. The Estrogen Receptor. [MSc thesis]. University of Aarhus Denmark, 2005.
11. Diaz N, Mazoujian G, Wick M. Estrogen-receptor protein in thyroid neoplasms. An immunohistochemical analysis of papillary carcinoma, follicular carcinoma, and follicular

افزایش می‌دهد. برنا و همکاران نشان دادند که اختلالات قاعدگی از شایع‌ترین علائم بیماری‌های تیروئیدی هستند (۱۹)، بنابراین این موضوع با مطالعه ما هم‌خوانی دارد. بر اساس محاسبات آماری بین مصرف صحیح نمک یددار و ابتلا به بیماری ارتباط معنی‌داری وجود دارد و با مصرف صحیح نمک یددار میزان ابتلا به بیماری کاسته می‌شود. در تحقیقات انجام شده نیز با کم شدن مصرف ید احتمال ابتلا به ندول تیروئیدی افزایش پیدا می‌کند (۲۰).

### نتیجه‌گیری

با توجه به بررسی‌ها، این مطالعه برای نخستین بار بر روی چندشکلی ۲۵۶۰۴۹rs در ژن گیرنده بتای استروژن صورت گرفته است. اگرچه ارتباط آماری معنی‌داری بین این چندشکلی ژنتیکی و بیماری ندول تیروئید مشاهده نشد، اما در مورد برخی ویژگی‌های بالینی بیماران مانند مصرف نمک یددار، BMI، نظم قاعدگی و میزان تحصیلات ارتباط معنی‌داری مشاهده شد که با رعایت این موارد امکان بروز گره تیروئیدی کاهش پیدا می‌کند. با توجه به تفاوت‌های نژادی و جغرافیایی در بروز بیماری پیشنهاد می‌شود این مطالعه بر روی جمعیت‌های دیگر با حجم نمونه بیشتر انجام شود.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد ژنتیک است که با هزینه شخصی دانشجو در آزمایشگاه تحقیقات بیوشیمی، ژنتیک و آزمایشگاه مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام شده است. بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فن‌آوری این دانشگاه و تمامی بیماران شرکت‌کننده در مطالعه سپاس‌گزاری می‌شود.

### منابع

1. Tunbridge W, Evered D, Hall R, Appleton D, Brewis M, Clark F, et al. The spectrum of thyroid disease in a community: the Wickham

- adenoma. Archives of pathology & laboratory medicine. 1991; 115(12):1203-7.
12. Fu C, Dong W-Q, Wang A, Qiu G. The influence of ESR1 rs9340799 and ESR2 rs1256049 polymorphisms on prostate cancer risk. Tumor Biology. 2014; 35(8):8319-28.
13. Ryan J, Carrière I, Amieva H, Rouaud O, Berr C, Ritchie K, et al. Prospective analysis of the association between estrogen receptor gene variants and the risk of cognitive decline in elderly women. European Neuropsychopharmacology. 2013; 23(12):1763-8.
14. Lee SW, Song JH, Choi WS, Yoon JH, Kim O, Park YG, et al. The single nucleotide polymorphism (SNP) of the estrogen receptor- $\beta$  gene, rs1256049, is associated with knee osteoarthritis in Korean population. The Knee. 2014; 21(1):242-6.
15. De Mattos CS, Trevisan CM, Peluso C, Adami F, Cordts EB, Christofolini DM, et al. ESR1 and ESR2 gene polymorphisms are associated with human reproductive outcomes in Brazilian women. Journal of ovarian research. 2014;7:114-5.
16. Gao Z, Fu H-J, Xue J-J, Wu Z-X, Zhao L-B. Genetic polymorphisms in VDR, ESR1 and ESR2 genes may contribute to susceptibility to Parkinson's disease: a meta-analysis. Molecular biology reports. 2014; 41(7):4463-74.
17. Srivastava A, Sharma KL, Srivastava N, Misra S, Mittal B. Significant role of estrogen and progesterone receptor sequence variants in gallbladder cancer predisposition: a multi-analytical strategy. PLoS One. 2012; 7(7): e40162-3.
18. Rahimi MA, Izadi N, Bastani E, Madani FR, Osarehzadegan M. Relationship between Serum Thyrotropin (TSH) and Cytology Findings of Thyroid Nodules. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences (JMUMS). 2015;24(120):125-32.[Persian]
19. Borna S, Ghanbari Z, Vaghefy T. Menstrual irregularities in thyroid diseases, Imam Hosptial (1999). Tehran University Medical Journal. 2002; 60(6):447-52.[Persian]
20. Seyf HM, Ghorbani R, Alavi MMA. Prevalence of Goiter and its relationship with thyroid function test in primary school children aged 6-12 years in Semnan.Komesh. 2007; 9(1): 33-40.[persian]