ارتباط حذف ژن گلوتاتیون S- ترانسفراز M1 (GSTM1) با رتینوپاتی دیابتی

نسیم عباسی(MSc)[1]ـ *دکتر زیور صالحی(MD,PhD)[2]ـ دکتر یوسف علیزاده (MD)[3]

*نویسنده مسئول: دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت

پست الکترونیک: geneticzs@yahoo.co.uk

تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۱۰/۲٤ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۳/۲۵

چکیده

مقدمه: رتینوپاتی دیابتی عارضه شایع دیابت قندی است که رگ‌های شبکیه چشم را درگیر می‌کند. افزایش قند خارج سلولی در دیابت، محرک تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) و افزایش استرس اکسیداتیو است. گلوتاتیون S– ترانسفرازها (GST)، آنزیم‌هایی هستند که موجب محافظت انسان در برابر آسیب‌های حاصل از ترکیب‌های اکسیژنی واکنش‌پذیر می‌شوند. در انسان، ژن (GSTM1) پلی مورفیک بوده و حذف این ژن موجب تولید نشدن این آنزیم می‌شود.

هدف: تعیین ارتباط حذف ژن GSTM1 با رتینوپاتی دیابتی

مواد و روش‌ها: در این پژوهش مورد–شاهدی، ۸۰ بیمار دچار رتینوپاتی دیابتی و ۸۰ فرد سالم از نظر پلی‌مورفیسم حذف ژن GSTM1 بررسی شدند. ابتدا DNA ژنومی از خون محیطی افراد بیمار و کنترل استخراج و ژنوتیپ با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) تعیین شد. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار MedCalc صورت گرفت.

نتایج: از ۸۰ فرد بیمار در ۹ نفر ژن GSTM1 حذف شده بود. در حالی‌که در هیچ‌یک از افراد سالم ژنوتیپ حذف ژن GSTM1 دیده نشد. در آنالیز آماری ژنGSTM1، $P \leq ۰/۰۵$ ۳۷٤/۱٤–۱/۲۲ CI=۲۱/۳۹٪۹۵ OR= بدست آمدکه نشان دهنده‌ی ارتباط معنی‌دار در فراوانی ژنوتیپ حذف GSTM1 بین دو گروه بیمار و کنترل است.

نتیجه‌گیری: بین حذف ژن GSTM1 و رتینوپاتی دیابتی ارتباط قوی وجود دارد. برای تأیید ارتباط رتینوپاتی و پلی‌مورفیسم GSTM1 نیاز به مطالعه در جمعیت‌های بزرگتر وجود دارد.

کلید واژه‌ها: رینوپاتی دیابتی/ ژن‌ها/ گلوتاتیون

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و دوم شماره ۸۸، صفحات: ٤۰– ۳٤

مقدمه

دیابت بیماری متابولیک است که به علت نارسائی در ترشح انسولین یا عملکرد انسولین یا هر دو ایجاد می‌شود. دیابت تیپ ۱ وابسته به انسولین است و بیشتر در افراد کمتر از سی ساله بروز می‌کند. دیابت تیپ ۲، غیروابسته به انسولین بوده و بیشتر در بزرگسالی و افراد چاق بروز می‌کند(۱). افزایش مزمن قند خون باعث اختلال و آسیب گوناگون در بدن بویژه در چشم، کلیه، اعصاب و دستگاه قلبی عروقی می‌شود. یکی از عوارض مهم دیابت رتینوپاتی دیابتی است که به دلیل تغییر در رگ‌های خونی شبکیه رخ می‌دهد(۲). رتینوپاتی علت اصلی کوری در گروه سنی ٦۰ـ۲۰ ساله در جهان است(۵–۳).

رتینوپاتی دیابتی از نظر بالینی به دو گروه غیرپرولیفراتیو و پرولیفراتیو تقسیم می‌شود(۲). رتینوپاتی غیرپرولیفراتیو، مرحله خفیف‌تر رتینوپاتی است و معمولا در اواخر دهه اول یا اوایل دهه دوم بیماری ظاهر می‌شود(٦). آسیب شبکیه در این مرحله عبارتست از: میکروآنوریسم، خونروی‌های کوچک گرد در شبکیه، اختلال عروق شبکیه و اگزودای نرم و سخت و ادم لکه زرد(ماکولا). با پیشرفت بیماری، رتینوپاتی غیرپرولیفراتیو وارد مرحله‌ی پرولیفراتیو می‌شود، در این مرحله عروق خونی تازه و غیرطبیعی (نئوواسکولاریزاسیون) بر سطح شبکیه وعصب بینایی رشد می‌کنند(۲).

بررسی‌های گوناگونی در رابطه با بروز رتینوپاتی و عوامل موثر بر آن انجام شده‌است(۹–۷). از جمله عوامل موثر در رتینوپاتی دیابتی عبارتند از: سن، مدت دیابت، قندخون،

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده پردیس ،دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

Archive of SID

www.SID.ir

چربی خون، کاربرد دخانیات، شاخص توده‌ی بدن(BMI) و عوامل ژنتیک(۱۰و۱۱).

برخی از مطالعات مؤید نقش استرس اکسیداتیو در گسترش رتینوپاتی دیابتی هستند(۱۴-۱۲). شبکیه بافتی سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع است و نسبت به سایر بافت‌ها از اکسیژن بیشتری استفاده می‌کند(۱۵). نبودن تعادل بین گونه های فعال اکسیژن یا رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها باعث فرآیند استرس اکسیداتیو می‌شود(۱۶). گلوتاتیون S– ترانسفرازها متعلق به خانواده‌ای از آنزیم‌های چند عملکردی هستند که به عنوان آنتی‌اکسیدان در بدن فعالیت می‌کنند(۱۲).

آنزیم‌هایGST توسط دست‌کم ۸ جایگاه ژنی مجزا کد می شوند که عبارتند از: گلوتاتیون S– ترانسفراز P (π)، گلوتاتیون S– ترانسفراز S (δ)، گلوتاتیون S– ترانسفراز K (κ)، گلوتاتیون S– ترانسفراز A (α)،گلوتاتیون S– ترانسفرازM (μ)،گلوتاتیون S– ترانسفرازT ( )، گلوتاتیون S– ترانسفراز O(O)، گلوتاتیون S– ترانسفرازZ( ).

اعضای زیر خانواده(μ) GSTM توسط یک خوشه ژنی ۱۰۰ کیلوبازی که در محل 1P13.3 قرار گرفته، کد می شود(۱۷). یکی از اعضای زیر خانواده GSTM، GSTM1 است(۱۸). GSTM1 نسبت به سایر جایگاه‌ها، توجه بیشتری به خود معطوف کرده‌است(۱۲). این ژن با ۱۲۹۵۰ جفت باز، کدکننده‌ی آنزیمی است که در خنثی‌سازی طیف وسیعی از مواد سمی الکتروفیلیک مانند کارسینوژن‌ها، سموم محیطی، داروها و مواد غذایی نقش دارد. به علاوه وظیفه‌ی حفاظت از بدن در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن یا رادیکال‌های آزاد را به عهده دارد(۱۹).

جهش‌های گوناگونی در GSTM1 رخ می‌دهد که مهم ترین آنها حذف این ژن است. در این حالت آلل نول ایجاد می‌شود. ژن GSTM1 در ناحیه‌ای با همولوژی بالا قرار گرفته و توسط دو توالی کم‌وبیش یکسان ۴/۲ کیلوبازی احاطه شده است. آلل نول GSTM1 از راه نوترکیبی همولوگ بین تکرارهای ۴/۲ کیلوبازی چپ و راست خود به وجود می‌آید. این نوترکیبی منجر به حذف کل ژن می‌شود. چنانچه فردی دارای آلل حذف به صورت هموزیگوت داشته باشد، در واقع ژنوتیپ - \-GSTM1 دارد که ژنوتیپ نول نامیده می‌شود. در این حالت هیچ‌گونه فراورده پروتئینی GSTM1 به واسطه ی حذف گسترده تولید نمی‌شود(۱۷). به رغم اهمیت رتینوپاتی دیابتی و نقش GSTM1 به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، تاکنون مطالعه‌ای در ایران در خصوص ارتباط پلی‌مورفیسم ژن GSTM1 و رتینوپاتی دیابتی صورت نگرفته است، لذا هدف این پژوهش بررسی ارتباط ژنوتیپ حذف GSTM1 با رتینوپاتی در جمعیتی از استان گیلان بوده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق مورد- شاهدی ۸۰ نفر(۴۰ زن و۴۰ مرد) دچار رتینوپاتی دیابتی و ۸۰ تن (۴۰ زن و۴۰ مرد) سالم به‌عنوان گروه کنترل در محدوده سنی ۷۰-۳۰ بررسی شدند. از داوطلبان شرکت‌کننده، رضایت‌نامه آگاهانه کتبی گرفته شد. این افراد مورد تمام آزمایش‌های لازم(برای تایید ابتلای به دیابت یا سالم بودن) و معاینه کامل چشم شامل، شبکیه با گشاد کردن مردمک و افتالموسکوپی غیرمستقیم و لنز تماسی قرار گرفتند. پس از تایید پزشک، از افراد نمونه تهیه شد و در اختیار ما قرار گرفت. علاوه بر این اطلاعاتی شامل سن، جنس، سابقه فشارخون، میزان چربی‌خون، مصرف دخانیات و سابقه خانوادگی رتینوپاتی در قالب پرسشنامه تهیه شد. فرآیند تهیه نمونه طی ٦ ماه صورت گرفت و در این محدوده‌ی زمانی ٤٤ زن و ٤٠ مرد دچار رتینوپاتی دیابتی به بیمارستان امیرالؤمنین رشت مراجعه کردند چون در نظر داشتیم که تعداد زنان و مردان شرکت‌کننده در این مطالعه برابر باشند، ٤ نفر از زنان به‌صورت تصادفی انتخاب و از مطالعه حذف شدند. از افراد مورد مطالعه، ۱میلی‌لیتر خون محیطی برای بررسی ژنتیک و استخراج DNA استفاده شد. نمونه‌ها در لوله‌های استریل حاوی EDTA قرار گرفتند. استخراج DNA با کیت GPP Solution (شرکت ژن پژوهان، ایران) و بر اساس پروتکل مربوطه صورت گرفت. کیفیت باندهای حاصل از DNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتری و الکتروفورز آگارز بررسی شد. ژنوتیپ GSTM1 با واکنش PCR از نوع کنترل استاندارد داخلی (Internal Standard-

Archive of SID

www.SID.ir

Control PCR) تعیین شد. در این واکنش از آغازگرهای GSTM-F و GSTM-R (۲۰) برای تکثیر قطعه‌ای به طول ۲۷۳ جفت باز مربوط به ژن GSTM1 استفاده شد. در ضمن از آغازگرهای LIF-F و LIF-R(۲۱) برای تکثیر تکه‌ای به طول ٤٨٨ جفت باز از ژن LIF همزمان با آغازگرهای GSTM1 به‌عنوان کنترل داخلی، برای همه نمونه‌ها استفاده شد (جدول۱).

جدول۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در PCR

ژن	توالی آغازگرها (5′ ⟶ 3′)
GSTM	F: 5′ - CTGCCCTACTTGATTGATGGG- 3′
	R: 5′ - CTGGATTGTAGCAGATCATGC-3′
LIF	F: 5′ - AGGGGCAGGTTGCTAAGTCAG-3′
	R: 5′ - CCCCATTCTCTCAGATCCGA -3′

برنامه PCR با واسرشته‌سازی اولیه ۷ دقیقه‌ای در دمای ۹٤$^{C^o}$، ۳۵ سیکل با برنامه ۹٤$^{C^o}$ (٤٠ ثانیه)، ۵۹$^{C^o}$ (۱دقیقه)، ۷۲C^o (۱دقیقه) و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲$^{C^o}$ در دستگاه ترموسایکلر(محصول شرکت BioRad) تنظیم شد. سپس، فراورده‌های PCR بر ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز و آشکارسازی باندها با دستگاه Gel Documentation (محصول شرکتBioRad) انجام شد برای تایید تشخیص، ۱۰٪ نمونه‌ها به صورت تصادفی انتخاب و دوباره ژنوتایپینگ صورت گرفت. در پایان آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار Med Calc (ویرایش۱۲) صورت گرفت.

نتایج:

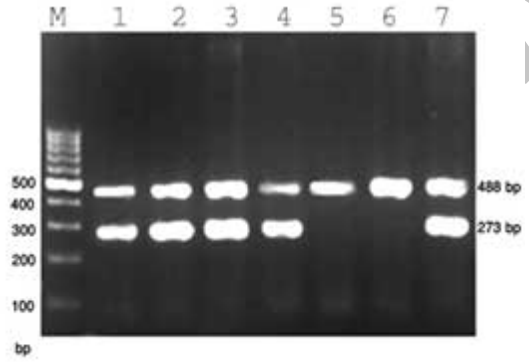
خصوصیات نمونه‌ها

از ۸۰ فرد بیمار، ۷۵ نفر (۹۳/۷٪) سابقه‌ی خانوادگی رتینوپاتی دیابتی داشتندکه نشان‌دهنده مؤثر بودن زمینه‌ی ژنتیک در ابتلای به این بیماری است. اما ارتباطی بین استعمال دخانیات، فشارخون بالا و چربی‌خون بالا با رتینوپاتی دیابتی بدست نیامد.

نتایج بررسی‌های مولکولی

DNA ژنومی از خون همه افراد مورد مطالعه با موفقیت استخراج شد. در مرحله‌ی بعد ژنوتیپ به روش PCR کنترل استاندارد داخلی (Internal Standard-Control PCR) تعیین شد.

با جفت پرایمرهای GSTM1R و GSTM1 و در حضور ژن GSTM1 (ژنوتیپ +\+GSTM1 یا +\-GSTM1)، تکه‌ای به طول ۲۷۳ جفت باز از این ژن تکثیر شد. در نمونه هایی که حذف هموزیگوت در ژن GSTM1 رخ داده بود (ژنوتیپ - \-GSTM1) هیچ باندی دیده نشد. با توجه به استفاده از آغازگرهایی برای تکثیر قطعه‌ای از ژن LIF به عنوان کنترل داخلی واکنش PCR مربوطه، در همه نمونه‌ها تکثیر قطعه‌ای ٤٨٨ جفت بازی از ژن LIF دیده شد.در شکل۱، تصویر حاصل از PCR نشان داده شده است.



شکل۱: تصویر ژل آگارز ۲٪ جهت بررسی ژنوتیپ GSTM1. در نمونه‌های۱،۲،۳،٤ و۷، افراد دارای ژن GSTM1 و در نمونه‌های۵ و٦ افراد دارای حذف ژن می‌باشند. قطعه‌ی ۲۷۳ جفت بازی مربوط به ژن GSTM1 و قطعه‌ی ٤٨٨ جفت بازی مربوط به LIF می‌باشد .

در گروه بیمار، ۹ نفر (۱۱/۲٪) ژنوتیپ نول (-/-GSTM) و ۷۳ نفر (۷۸/۷٪) ژنوتیپ مثبت (دست‌کم یک نسخه‌ی فعال از ژن GSTM1) داشتند. در هیچ‌یک از افراد سالم ژنوتیپ نول

www.SID.ir

دیده نشد. لذا همه افراد سالم دارای حداقل یک نسخه فعال از ژن GSTM1 بودند. آنالیز آماری با نرم‌افزار MedCalc انجام شد و مقادیر p≤۰/۰۵ CI=۱/۲۲-۳۷٤/۱٤ ۹۵٪،OR=۲۱/۳۹ بدست آمد (جدول۲). لذا تفاوت معنی داری بین دو گروه بیمار و کنترل از نظر میزان ژنوتیپ‌های ژن GSTM1 وجود داشت. بنابراین، نتایج نقش احتمالی پلی مورفیسم حذف ژن GSTM1 در رتینوپاتی دیابتی را نشان داد.

جدول۲: نتایج آماری مربوط به ژنوتیپ های ژن در بیماران مبتلا به رتینوپاتی دیابتی و افراد سالم

ژن	ژنوتیپ	شاهد(%)	مقدار(%)	OR(٪۹۵CI)	P
GSTM1	مثبت	۸۰(۱۰۰)	٦۳(۷۸/۷)	۱/۰۰ (Ref)	-
	Null	۰	۹(۱۱/۲)	۲۱/۳۹ (۱/۲۲-۳۷٤/۱٤)	≤۰/۰۵

$\chi 2 = 7.53$

بحث و نتیجه‌گیری

رتینوپاتی دیابتی از عوارض شدید دیابت و از علل اصلی کوری در بزرگسالان سراسر جهان است. سازمان جهانی بهداشت (WHO) طی پژوهش‌های بسیار اعلام کرد تا سال ۲۰۳۰ تعداد افرادی که به علت رتینوپاتی دیابتی در معرض از دست رفتن بینایی قرار می‌گیرند به دو برابر افزایش خواهد یافت(۲۰).

با توجه به اهمیت و نقش استرس اکسیداتیو در رتینوپاتی دیابتی، در این مطالعه به بررسی پلی‌مورفیسم حذف ژن GSTM1 در بیماران مبتلا به رتینوپاتی دیابتی پرداخته شد. GSTM1 یکی از سیستم‌های درگیر در سم‌زدایی و مقابله با مواد سرطان‌زا و گونه‌های فعال اکسیژن است(۲۱).

مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که وجود ژنوتیپ حذف GSTM1 باعث تولید نشدن پروتئین عملکردی می‌شود لذا استعداد ابتلای به برخی از بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد(۱۷). استرس اکسیداتیو بر اثر نبودن تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن ایجاد می‌شود (۱٤).

نتایج این مطالعه نشان می‌داد که فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت حذف GSTM1 در بیماران رتینوپاتی ۱۰٪ بود. در حالی‌که در هیچ‌یک از افراد سالم حذف GSTM1 وجود نداشت. به عبارت دیگر نتایج این بررسی نقش احتمالی پلی‌مورفیسم GSTM1 را در رتینوپاتی دیابتی نشان می‌دهد.

تاکنون مطالعاتی در مورد نقش پلی‌مورفیسم حذف ژن GSTM1 در بیماری‌های گوناگون از جمله رتینوپاتی دیابتی صورت گرفته است(۲٦-۲٤). در مطالعه‌ی بکلیگ و همکاران که بر جمعیت فیلیپین صورت گرفت، از ۱۰۷ بیمار دچار بیماری مزمن کبد، ۱۰۳ نفر (۹٦٪) و از ۱۲۷ فرد سالم ۷۵ نفر (۵۹٪) ژنوتیپ حذف GSTM1 داشتند. با توجه به نتایج ژنوتیپ حذف GSTM1 را در ابتلای به بیماری کبد موثر دانستند(p<۰/۰۰۱)(۲٤). هم‌چنین، مطالعه‌ای توسط کانول و همکاران درمورد دیابت تیپ۲ در جمعیتی از مردم ترکیه صورت گرفت(۲۵). در این مطالعه ۱۲۷ فرد(۸۰ زن و٤۷ مرد) مبتلا به دیابت تیپ ۲ و ۱۲۷ فرد سالم (٦۳ زن و٦٤ مرد) به عنوان گروه کنترل بررسی شدند. از ۱۲۷ فرد مبتلا به دیابت تیپ ۲، ۳۹ نفر(۳۰/۷٪) ژنوتیپ مثبت و ۸۸ نفر (٦۹/۳٪) ژنوتیپ حذف ژنGSTM1 داشتند. در گروه کنترل ۸۰ نفر (٦۳/۰٪) دارای ژنوتیپ مثبت و ٤۷ نفر (۳۷/۰٪) دارای ژنوتیپ حذف ژن GSTM1 بودند. نتایج (p<۰/۰۰۱ OR=۳/۸٤۱، ۹۵٪ CI=۲/۲۸۰-٦/٤۹٦) ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ حذف ژن GSTM1 و دیابت تیپ ۲ نشان داد(۲۵).

در سال ۲۰۰۹، مطالعه‌ای توسط هونیک و همکاران در رابطه با پلی‌مورفیسم حذف ژن GSTM1 در رتینوپاتی دیابتی صورت گرفت. در این مطالعه ۱۲٤ نفر شامل ٦۲ فرد دچار رتینوپاتی دیابتی و ٦۲ نفر دچار دیابت تیپ ۱ (گروه کنترل) بررسی شدند. نتایج نشان داد، ۷۵٪ بیماران دارای ژنوتیپ حذف ژن GSTM1 و ۲۵٪ دارای ژنوتیپ مثبت ژن GSTM1 بودند. هم‌چنین، در گروه کنترل ٤٦/۷٪ افراد ژنوتیپ مثبت GSTM1 و ۵۳/۳٪ ژنوتیپ حذف ژن

Archive of SID

www.SID.ir

GSTM1 را داشتند. با توجه به نتایج (p=۰/۰۳۱ ۶/۴۷- OR=۲/۶۳ CI=۱/۰۷)ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ حذف ژنGSTM1 و کاهش ابتلای به رتینوپاتی دیابتی نشان داده شد. این یافته بیان‌کننده‌ی نقش حفاظتی ژن GSTM1 در رتینوپاتی دیابتی است(۲۷). هم‌چنین، مطالعه دیگری توسط کلینسیک و همکاران در سال ۲۰۱۲ صورت گرفت (۱۲). جمعیت مورد مطالعه این گروه، قفقازی‌های مبتلا به رتینوپاتی دیابتی بودند. افراد مورد بررسی ۶۰۴ فرد شامل ۲۸۴ بیمار رتینوپاتی دیابتی و ۳۲۰ فرد دیابت تیپ ۲ (به عنوان گروه کنترل) بودند. بر پایه این بررسی فراوانی ژنوتیپ نول در بیماران ۲۷/۵٪ و در گروه کنترل ۴۴/۵٪ بدست آمد. نتایج نشان‌دهنده‌ی ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ حذف ژن GSTM1 و کاهش ابتلای به رتینوپاتی دیابتی بود (p<۰/۰۰۱) (۱۲). در این مطالعه، حذف ژن GSTM1 با افزایش ابتلای به رتینوپاتی دیابتی مرتبط بود. علت تفاوت در نتیجه می‌تواند تفاوت‌های موجود در نمونه‌های مورد بررسی، تفاوت در خزانه ژنی جمعیت‌های مختلف یا روش استفاده شده در بررسی پلی‌مورفیسم حذف باشد.

به طور کلی نتیجه نشان می‌دهد که ژنوتیپ حذف یا -/-GSTM1 به عنوان عامل خطری برای رتینوپاتی دیابتی است. گرچه برای ارزیابی دقیق‌تر نقش ژنوتیپ حذف GSTM1 در رتینوپاتی دیابتی نیاز به مطالعات بیشتر و بررسی در جمعیت‌های بزرگتر و اقوام گوناگون می‌باشد.

تشکرو قدردانی: از اداره تحصیلات تکمیلی دانشگاه گیلان به دلیل حمایت مالی بخشی از پروژه کمال تشکر را داریم. در ضمن از همه بیماران و افراد سالم شرکت‌کننده در این تحقیق سپاسگزاری می‌کنیم.

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع:

1. Helgason T, Danielsen R, Thorsson AV.Incidence and Prevalence of Type Insulindependent.Diabetes Mellitus in Icelandic Children 1970-1989. Diabetologia 1992; 35(9):880-3.

2. Batchelder T, Barricks M. The Wisconsin Epidemiologyic Study of Diabetic Retinopathy. Arch Ophthalmol 1995; 113:702-5.

3. Thylefors B, Negrel AD, Pararajasegaram R,Dadzie K Y. Global Data on Blindness. Bull World Health Organ 1995; 73: 115-121.

4. Thylefors B. A Global Initiative for the Elimination of Avoidable Blindness. Community Eye Health 1998; 11(25):1-3.

5. Moss SE, Klein R, Klein BE. Cigarette Smoking and Ten-year Progression of Diabetic retinopathy. Ophthalmology 1996;103(9):1438-42.

6. Branwald E, Fauci S, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson L. Harrison Principle of Internal Medicine. 15th Edition. Newyork; Mc Grow- Hill; 2001: 2121.

7. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis MD, Demets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy XIV. Four year Incidence and Progression of Diabetic Retinopathy when Age at Diagnosis is 30 years or More. Arch. Ophthalmol 1989; 107(2): 244-50.

8. Klein R, Klein B, Moss SE, M. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy XIV. Ten years Incidence and Progression of Diabetic Retinopathy. Archophthalmol 1994; 112(9): 1217-28. .

9. Looker H, Krakoff J, C.Knowler W, Bennett P, Klein R, L.Hanson R. Longitudinal Studies of Incidence and Progression of Diabetic Retinopathy Assessed by Retinal Photography in Pima Indians. Diabetes Care 2003, 26 320-26.

10. Placha G, Canani LH, Warram JH, Krolewski AS. Evidence for Different Susceptibility Genes for Proteinuria and ESRD in type 2 Diabetes. Adv Chronic Kidney Dis 2005; 12:155-169.

11. Casas JP, Cooper J, Miller GJ, Hingorani AD, Humphries SE. Investigating the Genetic Determinants of Cardiovascular Disease Using Candidate Genes and Meta Analysis of Association Studies. Ann Hum Genet. 2006; 70:145-169.

12. Cilensek I, Manko S, Petrovic MG Petrovic M, Petrovic D, GSTT1 Null Genotype is a Risk Factor for Diabetic Retinopathy in Caucasians with type 2 Diabetes, whereas GSTM1 Null Genotype Might Confer Protection Against Retinopathy. Disease Markers 2012; 32: 93-99.

13. Allen A, Tresini M. Oxidative Stress and Gene Regulation. Free Radic Biol Med 2000; 28 463-499.

14. Du Y, Miller CM, Kern TS. Hyperglycemia Increases Mitochondrial Superoxide in Retina and Retinal cells. Free Radical Biol Med 2003; 35: 1491-1499.

15. Kowluru R A, Kowluru V, Xiong Y, Ho YS. Overexpression of Mitochondrial Superoxide Dismutase in Mice Protects the Retina from Diabetes-

Archive of SID

www.SID.ir

Induced Oxidative Stress. Free Radic Biol Med 2006; 41: 1191-1196.

16. Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative Stress & Male Infertility. Indian J Med Res 2009; 129(1): 357-367.

17. Parl FF, Glutathione S-transferase Genotypes and Cancer risk. Cancer Lett 2005; 221: 123-129.

18. Sarhanis P, Redman C, Perrett C, Brannigan K, Clayton RN, Hand P, et all.

Epithelial Ovarian Cancer: Influence of Polymorphism at Theglutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 loci on p53 Expression. Br J Cancer 1996;74 1757-1761.

19. Pearson WR, Vorachek WR, Xu SJ, Berger R, Hart I, Vannais D, et All. Identification of Class-mu Glutathione Transferase Genes GSTM1-GSTM5 on Human Chromosome 1p13. Am J Hum Genet 1993; 53: 220-233.

20. Baranova H, Bothorishvilli R, Canis M, Albuisson E, Perriot S, Glowaczower E, et All. Glutathione S-Transferase M1 Gene Polymorphism and Susceptibility to Endometriosis in a French population. Molecular Human Reproduction 1997;3(9):775-80.

21. Vanderlocht J, Burzykowski T, Somers V, Stinissen P, Hellings NNo Association of Leukemia Inhibitory Factor (LIF) DNA Polymorphisms with Multiple Sclerosis. Journal of Neuroimmunology 2005; 171; 189-192.

22. Ola MS, Nawaz MI, Siddiquei MM, Al-Amro S, Abu El-Asrar AM. Recent Advances in Understanding the Biochemical and Molecular Mechanism of Diabetic Retinopathy. Journal of Diabetes and Its Complications 2012; 26: 56 64.

23. Beckett GJ, Hayes JD. Glutathione S-transferases: Biomedical Applications. Adv Clin Chem 1993; 30: 281-380.

24. Baclig MO, Alvarez MR, Lozada XM, Mapua CA, Lozano-Kuhne JP, Dimamay
MP, et all. Association of Glutathione S-transferase T1 and M1 Genotypes with Chronic liver Diseases Among Filipinos. Int J Mol Epidemiol Genet 2012; 3(2): 153-159.

25. Gonül N, Kadioglu E, Kocabaş NA, Ozkaya M, Karakaya AE, Karahalil B. The Role of GSTM1, GSTT1, GSTP1, and OGG1 Polymorphisms in type 2 Diabetes Mellitus Risk: A Case-control Study in a TurkishP opulation. Gene 2012; 15;505(1):121-7.

26. Unal M, Tamer L, Ateş NA, Akbaş Y, Pata YS, Vayisoğlu Y,et aL. Glutathione S-Transferase M1, T1, and P1 Gene Polymorphism in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. Am J Otolaryngol 2004; 25: 318-322.

27. Hovnik, T, Dolzan, V, Bratina, N. U, Podkrajsek, K. T, Battelino, T. Genetic Polymorphisms in Genes Encoding Antioxidant Enzymes are Associated with Diabetic Retinopathy in Type 1 Diabetes. Diabetes Care 2009; 32: 2258-2262.

Archive of SID

www.SID.ir

Analysis of Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) Deletion in Diabetic Retinopathy

Abbasi N. (M.Sc)[1] -*Salehi Z. (M.D) (Ph.D)[2]- Alizadeh Y.(M.D)[3]

***Corresponding Address:** Department of Biology, Faculty of Sciences, Guilan University, Rasht, Iran

Email: geneticzs@yahoo.co.uk

Received: 13/Jan/2013 Accepted: 15/Jun/2013

Abstract

Introduction: Diabetic retinopathy is a common complication of diabetes mellitus that affects retinal blood vessels. Chronic extra cellular hyperglycemia in diabetes stimulates reaction oxygen species (ROS) production, and increase oxidative stress. Glutathion S- transferases (GSTs) enzymes have been shown to protect human from reaction oxygen compounds damage. GSTM1 gene polymorphic in human and deletion in the gene result in virtual absence of enzyme activity.

Objectives: The aim of this study was to evaluate the association of GSTM1 gene deletion with diabetic retinopathy.

Materials and Methods: In this molecular study, 80 patients with diabetic retinopathy and 80 healthy individuals were tested for deletion polymorphism GSTM1. Genomic DNA was extracted from peripheral blood of the patients and controls (having obtained written informed consents from them). Genotypes were determined by polymerase chain reaction (PCR). Statistical analysis was performed using the MedCalc program

Results: Of the 80 patients, there were 9 with GSTM1 gene deletion while, deletion genotype GSTM1 was found in none of the healthy subjects. Statistical analysis of the gene GSTM1, OR=21.39, 95% CI=1.22-374.14, $P \leq 0.05$ demonstrates a significant association between GSTM1 deletion genotype frequencies in both patient and control groups.

Conclusion: A significant association was found between GSTM1 gene deletion and diabetic retinopathy. Larger population-based studies are needed to more clarify the relationship between diabetic retinopathy and GSTM1 polymorphism.

Conflict of interest: non declared

Key words: Diabetic Retinopathy/ Genes/ Glutathione

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 88, Pages: 34- 40

Please cite this article as: Abbasi N, Salehi Z, Alizadeh Y. Analysis of Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) Deletion in Diabetic Retinopathy. J of Guilan University of Med Sci 2013; 22(88):34 40. [Text in Persian]

1. Faculty of Pardis, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Urology - Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Archive of SID

v.SID.ir