

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

نسیم عباسی (MSc)<sup>۱</sup> - \*دکتر زیور صالحی (MD, PhD)<sup>۲</sup> - دکتر یوسف علیزاده (MD)<sup>۳</sup>

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

پست الکترونیک: [geneticzs@yahoo.co.uk](mailto:geneticzs@yahoo.co.uk)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۳/۲۵

### چکیده

**مقدمه:** رتینوپاتی دیابتی عارضه شایع دیابت قندی است که رگ‌های شبکه چشم را درگیر می‌کند. افزایش قند خارج سلولی در دیابت، محرک تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) و افزایش استرس اکسیداتیو است. گلوکاتیون 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 پلی مورفیسم 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 حالی که در هیچ‌یک از افراد سالم ژنوتیپ حذف ژن GSTM1 دیده نشد. در آنالیز آماری ژن GSTM1،  $P < 0.05$ ،  $OR = 21/39$ ،  $CI = 1/22 - 374/14$  بدست آمد که نشان دهنده 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 پلی مورفیسم GSTM1 نیاز به مطالعه در جمعیت‌های بزرگتر وجود دارد.

**کلید واژه‌ها:** رتینوپاتی دیابتی / ژن‌ها / گلوکاتیون

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و دوم شماره ۸۸ صفحات: ۳۴-۴۰

### مقدمه

و پرولیفراتیو تقسیم می‌شود (۲). رتینوپاتی غیرپرولیفراتیو، مرحله خفیف‌تر رتینوپاتی است و معمولاً در اواخر دهه اول یا اوایل دهه دوم بیماری ظاهر می‌شود (۶). آسیب شبکه در این مرحله عبارتست از: میکروآنوریسم، خونروی‌های کوچک گرد در شبکه، اختلال عروق شبکه و آگزودای 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 شبکه و عصب بینایی رشد می‌کنند (۲).

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

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 شبکه رخ می‌دهد (۲). رتینوپاتی علت اصلی کوری در گروه سنی ۶۰-۲۰ ساله در جهان است (۳-۵).

رتینوپاتی دیابتی از نظر بالینی به دو گروه غیرپرولیفراتیو

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده پرديس، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

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

دارای آلل حذف به صورت هموزیگوت داشته باشد، در واقع ژنوتیپ - GSTM1-1 دارد که ژنوتیپ نول نامیده می‌شود. در این حالت هیچ‌گونه فرآورده 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- شاهدهی ۸۰ نفر (۴۰ زن و ۴۰ مرد) دچار رتینوپاتی دیابتی و ۸۰ تن (۴۰ زن و ۴۰ 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 چربی خون، مصرف دخانیات و سابقه خانوادگی رتینوپاتی در قالب پرسشنامه تهیه شد. فرآیند تهیه نمونه طی ۶ ماه صورت گرفت و در این محدوده‌ی زمانی ۴۴ زن و ۴۰ 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، ۴ نفر از زنان به‌صورت تصادفی انتخاب و از مطالعه حذف شدند. از افراد مورد مطالعه، ۱ میلی‌لیتر 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)

چربی خون، کاربرد دخانیات، شاخص توده‌ی بدن (BMI) و عوامل ژنتیک (۱۰ و ۱۱).

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 گونه‌های 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 به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در بدن فعالیت می‌کنند (۱۲).

آنزیم‌های GST توسط دست‌کم ۸ جایگاه ژنی مجزا کد می‌شوند که عبارتند از: گلوتاتیون S- ترانسفراز P ( $\pi$ )، گلوتاتیون S- ترانسفراز S ( $\delta$ )، گلوتاتیون K ( $K$ )، گلوتاتیون S- ترانسفراز A ( $\alpha$ )، گلوتاتیون S- ترانسفراز M ( $\mu$ )، گلوتاتیون S- ترانسفراز T ( $\tau$ )، گلوتاتیون S- ترانسفراز O ( $O$ )، گلوتاتیون S- ترانسفراز Z ( $Z$ ).

اعضای زیر خانواده ( $\mu$ ) GSTM توسط یک خوشه ژنی ۱۰۰ کیلوبازی که در محل 1P13.3 قرار گرفته، کد می‌شود (۱۷). یکی از اعضای زیر خانواده GSTM1، GSTM1 است (۱۸). GSTM1 نسبت به سایر جایگاه‌ها، توجه بیشتری به خود معطوف کرده است (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 مهم‌ترین 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 کم‌ویش 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

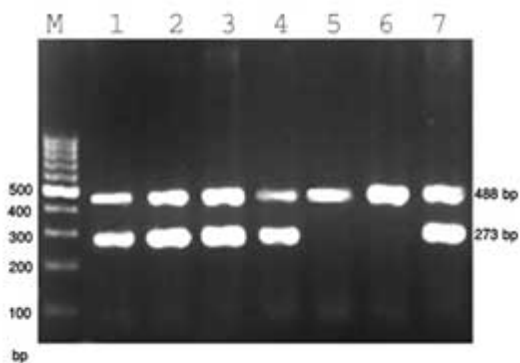
طول ۴۸۸ جفت باز از ژن LIF همزمان با آغازگرهای GSTM1 به عنوان کنترل داخلی، برای همه نمونه‌ها استفاده شد (جدول ۱).

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

جدول ۱: 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 - CCCATTCTCTCAGATCCGA -3	

ژن GSTM1 (ژنوتیپ +/+ یا GSTM1+/-) یا (-/-) GSTM1، تکه‌ای به طول ۲۷۳ جفت باز از این ژن تکثیر شد. در نمونه‌هایی که حذف هموزیگوت در ژن GSTM1 رخ داده بود (ژنوتیپ -/-) هیچ بانندی 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 ۴۸۸ جفت بازی از ژن LIF دیده شد. در شکل ۱، تصویر حاصل از PCR نشان داده شده است.



شکل ۱: تصویر ژل آگارز ۲٪ جهت بررسی ژنوتیپ GSTM1. در نمونه‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۷، افراد دارای ژن GSTM1 و در نمونه‌های ۵ و ۶ افراد دارای حذف ژن می‌باشند. قطعه‌ی ۲۷۳ جفت بازی مربوط به ژن GSTM1 و قطعه‌ی ۴۸۸ جفت بازی مربوط به LIF می‌باشد.

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

برنامه PCR با واسرشته‌سازی اولیه ۷ دقیقه‌ای در دمای ۹۴°C، ۳۵ سیکل با برنامه ۹۴°C (۴۰ ثانیه)، ۵۹°C (۱ دقیقه)، ۷۲°C (۱ دقیقه) و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲°C در دستگاه ترموسایکلر (محصول شرکت BioRad) تنظیم شد. سپس، فراورده‌های PCR بر ژل آگارز ۲٪، الکتروفورز و آشکارسازی باندها با دستگاه Gel Documentation (محصول شرکت BioRad) انجام شد برای تایید تشخیص، ۱۰٪ نمونه‌ها به صورت تصادفی انتخاب و دوباره ژنوتایپینگ صورت گرفت. در پایان آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار Med Calc (ویرایش ۱۲) صورت گرفت.

## نتایج:

### خصوصیات نمونه‌ها

از ۸۰ فرد بیمار، ۷۵ نفر (۹۳/۷٪) سابقه‌ی خانوادگی رتینوپاتی دیابتی داشتند که 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

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 رتیئوپاتی دیابتی را نشان داد.

دیده نشد. لذا همه افراد سالم دارای حداقل یک نسخه فعال از ژن GSTM1 بودند. آنالیز آماری با نرم‌افزار MedCalc انجام شد و مقادیر  $p \leq 0/05$   $CI=1/22-374/14$   $OR=21/39, 95\%$  بدست آمد (جدول ۲). لذا تفاوت معنی

جدول ۲: نتایج آماری مربوط به ژنوتیپ‌های ژن در بیماران مبتلا به رتیئوپاتی دیابتی و افراد سالم

ژن	ژنوتیپ	شاهد (%)	مقدار (%)	OR (%CI)	P
GSTM1	مثبت	۸۰ (۱۰۰)	۶۳ (۷۸/۷)	۱/۰۰ (Ref)	-
	Null	۰	۹ (۱۱/۲)	۲۱/۳۹ (۱/۲۲-۳۷۴/۱۴)	$\leq 0/05$

$$\chi^2 = 7.53$$

صورت گرفته است (۲۶-۲۴). در مطالعه‌ی بکلیگ و همکاران که بر جمعیت فیلیپین صورت گرفت، از ۱۰۷ بیمار دچار بیماری مزمن کبد، ۱۰۳ نفر (۹۶٪) 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 ( $p < 0/001$ ) (۲۴). همچنین، مطالعه‌ای توسط کانول و همکاران در مورد دیابت تیپ ۲ در جمعیتی از مردم ترکیه صورت گرفت (۲۵). در این مطالعه ۱۲۷ فرد (۸۰ زن و ۴۷ مرد) مبتلا به دیابت تیپ ۲ و ۱۲۷ فرد سالم (۶۳ زن و ۶۴ مرد) به عنوان گروه کنترل بررسی شدند. از ۱۲۷ فرد مبتلا به دیابت تیپ ۲، ۳۹ نفر (۳۰/۷٪) ژنوتیپ مثبت و ۸۸ نفر (۶۹/۳٪) ژنوتیپ حذف ژن GSTM1 داشتند. در گروه کنترل ۸۰ نفر (۶۳/۰٪) دارای ژنوتیپ مثبت و ۴۷ نفر (۳۷/۰٪) دارای ژنوتیپ حذف ژن GSTM1 بودند. نتایج ( $p < 0/001$ )  $OR=3/841$ ،  $95\%$   $CI=2/280-6/496$  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 رتیئوپاتی دیابتی صورت گرفت. در این مطالعه ۱۲۴ نفر شامل ۶۲ فرد دچار رتیئوپاتی دیابتی و ۶۲ 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 ۶۷٪ افراد ژنوتیپ مثبت GSTM1 و ۳/۵۳٪ ژنوتیپ حذف ژن

## بحث و نتیجه‌گیری

رتیئوپاتی 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 رتیئوپاتی 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 رتیئوپاتی دیابتی، در این مطالعه به بررسی پلی‌مورفیسم حذف ژن GSTM1 در بیماران مبتلا به رتیئوپاتی 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 نبود تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن ایجاد می‌شود (۱۴).

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

تاکنون مطالعاتی در مورد نقش پلی‌مورفیسم حذف ژن GSTM1 در بیماری‌های گوناگون از جمله رتیئوپاتی دیابتی

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.

**تشکر و 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 منافی ندارند.

$GSTM1$  را داشتند. با توجه به نتایج ( $p=0/031$   $6/47-$   $OR=2/63$   $CI=1/07$ ) ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ حذف  $GSTM1$  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 ( $p<0/001$ ) (۱۲). در این مطالعه، حذف ژن  $GSTM1$  با

## منابع:

- 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.
- Batchelder T, Barricks M. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1995; 113:702-5.
- Thylefors B, Negrel AD, Pararajasegaram R, Dadzie K Y. Global Data on Blindness. *Bull World Health Organ* 1995; 73: 115-121.
- Thylefors B. A Global Initiative for the Elimination of Avoidable Blindness. *Community Eye Health* 1998; 11(25):1-3.
- Moss SE, Klein R, Klein BE. Cigarette Smoking and Ten-year Progression of Diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1996;103(9):1438-42.
- 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.
- 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.
- 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. .
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Allen A, Tresini M. Oxidative Stress and Gene Regulation. *Free Radic Biol Med* 2000; 28 463-499.
- Du Y, Miller CM, Kern TS. Hyperglycemia Increases Mitochondrial Superoxide in Retina and Retinal cells. *Free Radical Biol Med* 2003; 35: 1491-1499.
- Kowluru R A, Kowluru V, Xiong Y, Ho YS. Overexpression of Mitochondrial Superoxide Dismutase in Mice Protects the Retina from Diabetes-

- 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 al.
- 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, Albuissou 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 N. 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 al. 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 Turkish Population. *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.

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

Abbasi N. (M.Sc)<sup>1</sup> - \*Salehi Z. (M.D) (Ph.D)<sup>2</sup> - Alizadeh Y. (M.D)<sup>3</sup>

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

Email: [geneticzs@yahoo.co.uk](mailto: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