Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article* 2013; 16(78): 90-100

The association between GSTP1 A/G polymorphism and oxidative stress with end stage renal disease in Kermanshah

Nomani H[1], Aidy A[1]*, Hagh Nazari L[1], Reissi D[3]

1- Department of Biochemistry, Medical School, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
2- Kidney Transplantation Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Received:29.Jul.2013, Accepted: 6.Nov.2013

Abstract

Background: In end stage of renal disease (ESRD), renal function deteriorates progressively and irreversibly in which the body's ability to maintain metabolic, fluid and electrolyte balance fails. Glutathione s-transferase P1 is a member of multigene family that plays an essential role as an important antioxidant in cells. In this study we investigated the polymorphism of GSTP1 genotypes and oxidative stress in ESRD patients compared with control subjects to determine the possible relation between polymorphism of this enzyme and ESRD.

Material and Methods: In this case-control study, 136 ESRD patients and 137 healthy cases (without kidney disease) were selected and GST P1 polymorphism was determined with PCR-RFLP. Level of MDA was measured by HPLC apparatus.

Results: Genotypes distribution of GSTP1 A/G polymorphism to AA, AG and GG genotypes in control group were respectively 70 (51.1%), 56 (40.9%) and 11 (8%) and in ESRD group were 74 (55.6%), 50 (37.6%) and 9 (6.8%), respectively (p=0.744). MDA levels in ESRD patients were higher than control group (p<0.001).

Conclusion: GSTP1 A/G polymorphism between two groups and each groups was not statistically significant with ESRD, probably this enzyme has a protective role in the risk of ESRD.

Keywords: End Stage Renal Disease, Glutathione S Transferase P, HPLC, Malondialdehyde

*Corresponding author:
Adress: Department of Biochemistry, Medical School, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
Email: aliaidi11@yahoo.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 16، شماره 9 (شماره پیاپی 78)، آذر 1392، 100 -90

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

بررسی ارتباط پلی مورفیسم A/G آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز P1 و استرس اکسیداتیو با خطر مرحله نهایی بیماری کلیه(ESRD) در کرمانشاه

حمید نعمانی[1]، علی ایدی[2*]، لیدا حق نظری[3]، داریوش رئیسی[4]

1. دانشیار، دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
2. کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
3. استادیار، دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
4. دانشیار، متخصص نفرولوژی، مرکز پیوند کلیه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: 92/5/7 تاریخ پذیرش: 92/8/15

چکیده

زمینه و هدف: در مرحله نهایی بیماری کلیه (ESRD)، عملکرد کلیه به صورت پیشرونده و غیرقابل برگشت از بین میرود و در آن بدن توانایی حفظ تعادل متابولیک، مایعات و الکترولیت‌ها را از دست می‌دهد. گلوتاتیون s-ترانسفرازP1 عضو یک خانواده چند ژنی است که به عنوان یک آنتی اکسیدان مهم در سلول ایفای نقش می‌کند. در این مطالعه به بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های GSTP1 و استرس اکسیداتیو (میزان MDA) در بیماران ESRD و مقایسه آن با گروه کنترل پرداخته تا ارتباط احتمالی بین پلی مورفیسم ژن این آنزیم و بروز ESRD را بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها: دراین مطالعه مورد-شاهدی تعداد 136 بیمار مبتلا به ESRD و 137 فرد سالم (بدون بیماری کلیوی) به عنوان گروه کنترل انتخاب و ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم GSTP1 با روش PCR-RFLP تعیین گردید. میزان مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: توزیع ژنوتیپی پلی‌مورفیسم A/G ژن GSTP1 برای ژنوتیپ‌های AA، AG و GG در گروه کنترل به ترتیب 70 (51/1 درصد)، 56 (40/9 درصد) و 11 (8 درصد) و در بیماران دیالیزی 74 (55/6 درصد)، 50 (37/6 درصد) و 9 (6/8 درصد) بود (p=0/744). میزان MDA در بیماران ESRD بالاتر از گروه کنترل بود (p<0/001).

نتیجه‌گیری: در مورد GSTP1 در بین دو گروه مورد مطالعه و هر کدام از گروه‌ها اختلاف معنی داری با بروز ESRD دیده نشد، احتمالا این آنزیم نقش حفاظتی در ابتلا به ESRD دارد.

کلمات کلیدی: مرحله نهایی بیماری کلیه، گلوتاتیون s-ترانسفراز p، کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا، مالون دی آلدئید

***نویسنده مسئول:** گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
Email: aliaidi11@yahoo.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

مقدمه

گلوتاتیون s-ترانسفرازها (GST) یک سوپر خانواده از آنزیم‌های القا پذیر هستند، که در 7 گروه پروتئین‌های سیتوپلاسمی α, μ ,π, σ, θ, κ, ξ طبقه‌بندی می‌شوند(1). GSTها جزء آنزیم‌های متابولیک فاز 2 سم‌زدایی هستند، که واکنش گونژوگاسیون گلوتاتیون احیا شده را با ترکیبات الکترون دوست مختلف کاتالیز می‌کنند(2). ژن‌های GST انسان به 4 زیر خانواده اصلی تقسیم می‌شوند، که به عنوان α یا A، μ یا M، θ یا T و π یا P نام‌گذاری می‌شوند(3). ژن GST π در انسان به عنوان یک ژن عملکردی منفرد وجود دارد، در حالی که خانواده‌های α، μ و θ چندین ناحیه ژنی مشخص دارند که به ترتیب تقریبا 55، 65 و 50 درصد همسانی دارند(4). ژن GSTP1 در ناحیه کدکننده آن واجد چند پلی‌مورفیسم است، که یکی از این پلی مورفیسم‌ها تبدیل A به G در موقعیت 1578 است که باعث قرار گرفتن والین به جای ایزولوسین در کدون 105 در اگزون 5 می‌شود و جهش دیگر تغییر باز C به T در موقعیت 2293 می‌باشد که سبب قرار گرفتن آلانین به جای والین در موقعیت 114 آمینواسیدی در اگزون 6 می‌شود(5, 6). در نتیجه این پلی مورفیسم‌ها، فعالیت آنزیم کاهش می‌یابد(5).

GSTها عموما در سمیت زدایی ترکیبات مضر نقش دارند اما آنها همچنین در فعالسازی و غیر فعال کردن متابولیت‌های اکسیداتیو ترکیبات سرطان‌زا نقش ایفا می‌کنند(7). عملکردهای دیگر GST شامل محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو به لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک و مشارکت در متابولیسم برخی از استروئیدها و لکوترین‌ها می‌باشد(8). GST به مقدار زیادی در اریتروسیت‌های انسان وجود دارد(9) و به دو شکل می‌باشد: یک آنزیم کاملا کاتیونی که مسئول 5 درصد فعالیت کل GST می‌باشد و آنزیم آنیونی اصلی که به نوع p نسبت داده می‌شود(10). به دلیل فراوانی نوع p، دیمر GSTP1 اغلب به عنوان آنزیم GST در اریتروسیت‌ها در نظر گرفته می‌شود(11). مرحله نهایی بیماری کلیه (ESRD) یک بیماری مزمن و پیشرونده و غیر قابل برگشت است که در آن عمل کلیه‌ها دچار اختلال می‌شود، به طوری که بدن دیگر قادر به برقراری اعمال متابولیکی و حفظ تعادل مایعات و الکترولیت‌ها نیست. بروز کلی مرحله نهایی بیماری کلیوی 242 مورد در هر یک میلیون نفر جمعیت در سال است. جمعیت بیماران مبتلا به مرحله نهایی کلیوی به صورت تقریبی 8 درصد در سال افزایش می‌یابد(12). پراکسیداسیون کنترل نشده لیپیدها می‌تواند باعث اختلال عملکرد و آسیب آندوتلیوم عروق شود.

با توجه به این که اختلال عملکرد اندوتلیوم یکی از محورهای اصلی پاتوژنز بیماری کلیه (ESRD) می‌باشد، امروزه پراکسیداسیون لیپیدها در ایجاد مرحله نهایی بیماری کلیوی مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. در برخی تحقیقات، سطوح پلاسمایی بالایی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدها در بیماران ESRD در مقایسه با گروه کنترل گزارش شده است(13). در بیماران با نارسایی مزمن کلیه (CRI)، تعادل بین ظرفیت پرو و آنتی اکسیدانی به سمت افزایش استرس اکسیداتیو تغییر می‌کند(14). در این میان آنزیم‌های گلوتاتیون s-ترانسفراز در شکل‌گیری و عملکرد سیستم دفاعی بدن در برابر مواد مضر و اکسیدان نقش عمده دارند. فاکتورهای ژنتیکی مشابه فاکتورهای خارجی موجب تغییر در سطح یا فعالیت ایزوآنزیم‌های GST می‌شوند که این تغییرات با توانایی فرد در پاسخ به ترکیبات الکترون دوست در ارتباط است(15). مالون دی آلدئید (MDA)، فرآورده نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب است که به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته می‌شود و در نتیجه ی حمله رادیکال‌های آزاد

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

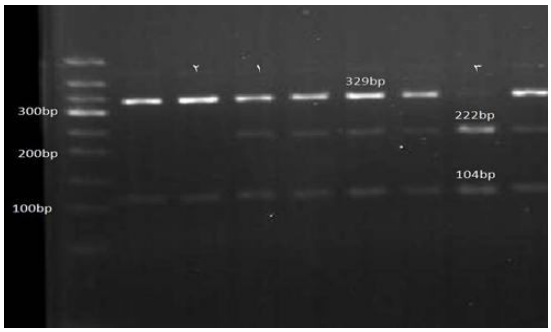
تولید شده در حضور گلوکز یا عوامل دیگر به اسیدهای چرب موجود در بخش لیپوپروتئینی تشکیل می‌گردد(16)، لذا اندازه‌گیری آن برای بررسی استرس اکسیداتیو بسیار مناسب می‌باشد. در این مطالعه فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم GSTP1 A/G برای بررسی ارتباط آنها با ESRD مورد مطالعه قرار گرفت. هدف ما از این مطالعه فراهم سازی یک پایگاه داده اولیه برای مطالعات ژنتیکی و کلینیکی بعدی در کرمانشاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به صورت مورد- شاهد انجام گرفت. از تمام افراد شرکت کننده در این مطالعه فرم رضایت نامه اخذ گردید. جمعیت مورد مطالعه شامل 136 بیمار دیالیزی (با میانگین سنی 13/3 ± 58/1 سال) مراجعه‌کننده به بخش دیالیز بیمارستان امام رضا در دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه بود که حداقل 3 بار در هفته دیالیز می‌شدند (انتخاب بیماران توسط متخصص نفرولوژی صورت گرفت) و تعداد 137 نفر (با میانگین سنی 7/3 ± 55/7 سال) که از لحاظ بیماری کلیوی سالم بودند (درتمام افراد گروه کنترل تست‌های عملکردی کلیه انجام گردید) و از نظر سن و جنس با گروه بیماران انطباق داشتند نیز به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند.

خون‌گیری: در این مطالعه از افراد گروه بیمار (قبل از انجام دیالیز) و گروه شاهد، 5 میلی‌لیتر خون اخذ شد. از خون گرفته شده، 2 میلی‌لیتر در لوله بدون ضد انعقاد برای گرفتن سرم و 3 میلی‌لیتر در لوله حاوی EDTA جهت استخراج DNA استفاده شد.

استخراج DNA: استخراج DNA در تمام نمونه‌ها به روش فنل-کلروفرم و پروتئیناز k صورت گرفت(17). خلوص و غلظت DNAهای استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Nanodrop مدل Thermo 2000C محاسبه گردید. سپس با روش PCR-RFLP، ژنوتیپ‌های مختلف GSTP1 تعیین گردید. واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای R: 5´- AGC CAC CTG AGG GGT AAG- 3´ و F:5´- GTA GTT TGC CCA AGG TCA AG- 3´ انجام گرفت(18). محصول PCR برای GSTP1 قطعه‌ای به طول 433bp می‌باشد. سپس بر روی محصول اولیه، PCR آنزیم ALW26I اثر داده شد و قطعات حاصل از برش آنزیم بر روی آگارز 2 درصد الکتروفورز شدند. بر حسب ژنوتیپ شخص طبیعی، هتروزیگوت و هموزیگوت به ترتیب دو قطعه 329 و 104 جفت بازی، سه قطعه 329، 222 و 104 جفت بازی یا دو قطعه 222 و 104 جفت بازی ایجاد می‌شود(شکل 1).



شکل 1. تصویر مربوط به تکثیر GST P1 در تعدادی از افراد مورد مطالعه است. در سمت چپ DNA marker(50 bp) قرار دارد. هر ستون مربوط به تکثیر ژنوتیپ‌های یک نمونه است. نمونه 2 واجد قطعات 329 و 104 جفت بازی است و ژنوتیپ Wild یا طبیعی را دارد. نمونه 3 واجد قطعات 222 و 104 جفت بازی بوده و واجد ژنوتیپ هوموزیگوت است. نمونه 1 واجد قطعات 329، 222 و 104 جفت بازی بوده که واجد ژنوتیپ هتروزیگوت می‌باشد.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از HPLC: اندازه‌گیری مالون دی آلدئید به عنوان مارکر حساس پراکسیداسیون لیپیدها قبلا با استفاده از اسید تیوباربیتوریک (TBA) به روش کالریمتریک انجام

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

می‌گرفت. از آنجایی که حساسیت روش کالریمتریک برای اندازه‌گیری مالون دی آلدئید به دلیل مداخله مواد رنگ‌زا کم می‌باشد، از روش حساس و اختصاصی HPLC استفاده شد. سنجش واسطه MDA-TBA توسط HPLC در مقایسه با روش کالریمتریک اختصاصی‌تر است(19). استانداردها و نمونه‌های پلاسمای گروه‌های مورد مطالعه مطابق روش زیر برای تزریق به دستگاه HPLC مشتق سازی شدند. برای مشتق سازی کمپلکس MDA-TBA، 50 میکرولیتر پلاسما از هر یک از نمونه‌ها را به لوله‌های پلاستیکی درب دار 2 میلی‌لیتری منتقل کرده و 50 میکرولیتر از محلول 6، 2-دی ترشری بوتیل 4- متیل فنل (BHT)(0/05 درصد) و 400 میکرولیتر از محلول اسید فسفریک (0/44 M) و 100 میکرولیتر از محلول 2-تیوباربیتوریک اسید (TBA)(42mM) را به آنها اضافه کرده و درب لوله‌ها را محکم بسته و توسط ورتکس مخلوط نموده و سپس نمونه‌ها را به مدت 1 ساعت در بن ماری 100 درجه سانتی‌گراد حرارت داده و سپس نمونه‌ها را به مدت 5 دقیقه در حمام یخ قرار دادیم. بعد از سرد شدن نمونه‌ها به منظور استخراج مشتق MDA-TBA، 250 میکرولیتر n-بوتانول را به هر یک از لوله‌ها اضافه کرده و توسط ورتکس به مدت 5 دقیقه مخلوط کردیم و سپس به مدت 5 دقیقه با دور 14000 نمونه‌ها را سانتریفوژ کردیم تا دو فاز کاملا از هم جدا شوند. 20 میکرولیتر از محلول رویی که حاوی MDA-TBA است به دستگاه HPLC(Agilent 1200) تزریق گردید(19).

آنالیز آماری: برای مقایسه ژنوتیپ‌ها و واریانت‌های آنها در دو گروه از آزمون مجذور کای و برای همسان سازی متغیرهای زمینه ای در دو گروه از آزمون‌های مجذور کای و تی مستقل استفاده شد (ابتدا آزمون کولموگروف- اسمیرنوف را برای بررسی توزیع نرمال در داده‌ها انجام دادیم). برای تعیین خطر نسبی بروز عوارض کلیوی در گروه‌ها از محاسبه نسبت برتری(Odds Ratio) به وسیله روش رگرسیون لجستیک استفاده شد. از نرم افزار SPSS نسخه 16 برای آنالیز داده ها استفاده گردید.

یافته‌ها

میانگین سنی افراد شرکت کننده در گروه بیماران دیالیزی برابر با 13/3 ± 58/1 سال و در گروه کنترل برابر با 7/3 ± 55/7 سال بود. میانگین سن و جنس در افراد دو گروه مشابه بود. میزان مالون دی آلدئید MDA (µM) در گروه بیماران ESRD بیشتر از گروه کنترل بود و این اختلاف معنی دار بود (p<0/001)(جدول 1).

جدول 1. اطلاعات دموگرافیک افراد شرکت کننده در مطالعه

گروه ها	گروه کنترل	بیماران ESRD	p
تعداد	137	136	
سن(سال)	55/7 ± 7/3	58/1 ± 13/3	N.S
جنس(مرد/زن)	85 - 52	89 - 44	N.S
MDA (µM)	2/04 ± 0/40	1/1 ± 0/33	<0/001

مقایسه بین سن و جنس گروه‌های کنترل و بیماران به ترتیب توسط آنالیز مجذور کای و تی تست صورت گرفته است.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌های GSTP1 در جدول 2 آورده شده است. درصد فراوانی ژنوتیپ‌های GSTP1 در گروه کنترل بیشتر از گروه بیماران ESRD بود و این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (p=0/744 و df=2 و χ^2=0/592). درصد فراوانی آلل‌های Wild در گروه بیماران ESRD بیشتر از گروه کنترل بود و فراوانی آلل‌های موتانت (هترو و هوموزیگوت) در گروه کنترل بالاتر بود که این اختلاف‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود (p=0/506 و df=1 و χ^2=0/443). ضمنا نتایج حاصله بیانگر این مطلب میباشند که درصد خطر نسبی ژنوتیپ‌های GSTP1 در افرادی دارای ژنوتیپ هتروزیگوت سبب 0/84 برابر شدن (p=0/51)، در افراد دارای ژنوتیپ هوموزیگوت سبب 0/88 برابر شدن (p=0/45) و در افرادی که دارای ژنوتیپ هتروزیگوت و هوموزیگوت بودند سبب 0/833 برابر شدن (p=0/45) خطر ابتلاء به ESRD می‌شود. این اختلاف‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول 3).

جدول 2. مقایسه فراوانی ژنوتیپ های GST P1 و آلل‌های مرتبط با آن در بیماران ESRD با گروه کنترل

ژنوتیپ	بیماران ESRD n =133	گروه کنترل n =137
GST P1		
طبیعی (AA)	74 (%55/6)	70 (%51/1)
هتروزیگوت (AG)	50 (%37/6)	56 (%40/9)
هوموزیگوت (GG)	9 (%6/8)	11 (%8/0)
	p=0/744، df=2، χ^2=0/592	
آلل های GST P1		
آلل طبیعی	198 (%74/4)	197 (%71/9)
آلل جهش یافته	68 (%25/6)	71 (%28/1)
	p=0/506، df=1، χ^2=0/443	

توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های GST P1 و آلل‌های مرتبط با آن در بیماران ESRD با گروه کنترل با استفاده از آزمون مجذور کای مورد تجزیه قرار گرفته است.

جدول 3. خطر نسبی ژنوتیپ‌های GST P1 و آلل‌های (طبیعی نسبت به جهش یافته) آن به عنوان ریسک فاکتور بیماری ESRD

ژنوتیپ GST P1	بیماران ESRD n =133	گروه کنترل n =137
طبیعی	گروه مرجع (n=74)	گروه مرجع (n=70)
هتروزیگوت	(n=50 و P=0/510 و 0/84 (0/51-1/40	n=56
طبیعی	گروه مرجع (n=74)	گروه مرجع (n=70)
هوموزیگوت	(n=9 و P=0/593 و 0/88 (0/55-1/4	n=11
طبیعی	گروه مرجع (n=74)	گروه مرجع (n=70)
هوموزیگوت+ هتروزیگوت	(n=59 و P=0/45 و 0/833 (0/52-1/34	n=67
آلل های GST P1	گروه مرجع (n=198)	گروه مرجع (n=197)
آلل طبیعی	(n=68 و P=0/506 و 0/879 (0/60-1/3	n=77
آلل جهش یافته		

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

خطر نسبی(OR) ژنوتیپ‌های GST P1 در ابتلا به ESRD توسط آنالیز رگرسیون لجستیک با CI= %95 (فاصله اطمینان) محاسبه شده است.

میانگین سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید MDA در گروه بیماران ESRD با ژنوتیپ طبیعی (0/37 ± 2/0 در مقابل 0/32 ± 1/1)، با ژنوتیپ هتروزیگوت (0/44 ± 2/1 در مقابل 0/36 ± 1/14) و با ژنوتیپ هوموزیگوت(0/29 ± 2/02 در مقابل 0/24 ± 1/05) بالاتر از گروه کنترل بود و این اختلاف‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود (p<0/001). میانگین سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید MDA در گروه بیماران ESRD با آلل طبیعی (0/4 ± 2/04 در مقابل 0/33 ± 1/11) (p<0/001) و با آلل جهش یافته (0/4 ± 2/08 در مقابل 0/34 ± 1/12) (p<0/001) بالاتر از گروه کنترل بود که این اختلاف‌ها نیز از نظر آماری معنی‌دار بود (p<0/001) (جدول 4).

جدول 4. رابطه بین ژنوتیپ‌های و آلل‌های GST P1 با غلظت‌های پلاسمایی مالون‌دی‌آلدئید (میکرو مولار) بین گروه بیماران ESRD و گروه کنترل

	بیماران ESRD	گروه کنترل	P-value
ژنوتیپ wild	n = 74 2/0 ± 0/37	n = 70 1/1 ± 0/32	<0/001
ژنوتیپ هتروزیگوس	n = 50 2/1 ± 0/44	n = 56 1/14 ± 0/36	<0/001
ژنوتیپ هومزیگوس	n = 9 2/02 ± 0/29	n=11 1/05 ± 0/24	<0/001
آلل wild	n = 198 2/02 ± 0/40	n = 197 1/11 ± 0/33	<0/001
آلل جهش یافته	n = 68 2/08 ± 0/40	n = 77 1/12 ± 0/34	<0/001

رابطه بین ژنوتیپ‌های و آلل‌های GST P1 با غلظت‌های پلاسمایی MDA (µM) بین گروه بیماران ESRD و گروه کنترل توسط آنالیز تی تست و آنووا محاسبه شده است.

بحث

مطالعه حاضر اولین گزارش در غرب ایران است که نقش واریانت‌های مختلف ژنتیکی ژن‌های GSTP1 را در احتمال خطر ابتلا به ESRD مورد مطالعه قرار می‌دهد. مطالعاتی در مورد ارتباط GST با سایر بیماری‌ها در جمعیت ایران وجود دارد، ولی تاکنون هیچ مطالعه‌ای به بررسی نقش پلی مورفیسم آنزیم GST در ایجاد CKD در جمعیت ایران نپرداخته است.

GSTs سیتوزولی انسان که به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و به عنوان آنزیم‌های پلی مورفیک شناخته می شوند، فراوانی متغیری در نژادهای مختلف دارند(20). درصد افرادی که آنزیم‌های GST M1 وT1 را به دلیل حذف ژنی هوموزیگوس بیان

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

نمی‌کنند در نژادهای قفقازی و آسیایی بیشتر از نژاد آفریقایی است(21). در حدود 60 درصد از آسیایی‌ها، 40 درصد از آفریقایی‌ها و 20 درصد از قفقازی‌ها آنزیم‌های GST M1 و T1 را بیان نمی‌کنند. نشان داده شده است که در اریتروسیت‌های بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه، بیان GST افزایش می یابد(22). میزان مالون آلدئید(MDA) به عنوان مارکر لیپید پراکسیداسیون در گروه بیماران ESRD تقریبا دو برابر بیشتر از گروه کنترل بود. در مطالعه‌ای که اویردوو و همکارانش در سال 2012 در غنا انجام دادند، میزان MDA را در 146 بیمار مبتلا به CKD و 80 نفر به عنوان گروه کنترل اندازه گیری کردند. نتایج این مطالعه افزایش میزان MDA را در گروه بیماران نسبت به گروه کنترل نشان داد(23). در مطالعه‌ای که توسط ریکو و همکارانش در سال 2006 در اسپانیا انجام شد، میزان MDA برای بررسی میزان استرس اکسیداتیو در 15 بیمار ESRD اندازه‌گیری گردید. نتایج این مطالعه بالا بودن میزان MDA و در نتیجه استرس اکسیداتیو بیشتر را نشان داد(24).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر بیان‌گر این مطلب می باشند که درصد خطر نسبی ژنوتیپ‌های GSTP1 در افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت سبب 0/84 برابر شدن، در افراد دارای ژنوتیپ هوموزیگوت سبب 0/88 برابر شدن و در افرادی که دارای ژنوتیپ هتروزیگوت و هوموزیگوت بودند سبب 0/833 برابر شدن خطر ابتلاء به ESRD می‌شود. این اختلاف‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود. درصد فراوانی آلل‌های طبیعی در گروه بیماران ESRD بیشتر از گروه کنترل بود و فراوانی آلل‌های جهش یافته (هترو و هوموزیگوت) در گروه کنترل بالاتر بود و این اختلاف‌ها نیز معنی دار نبودند. همچنین درصد خطر نسبی آلل‌های GSTP1 در افرادی که دارای ژنوتیپ جهش یافته بودند، سبب 0/879 برابر شدن خطر ابتلا به ESRD می‌شود و این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. آگراوال و همکارانش نشان دادند که پلی مورفیسم null در آنزیم‌های GSTT1، GSTM1 و GSTP1 با افزایش خطر گسترش ESRD در جمعیت شمال هند همراه است(25). به علاوه داتا و همکارانش نشان دادند که حذف در GSTT1 و GSTM1 به تنهایی یا با هم با کاهش سطح GST و افزایش استرس اکسیداتیو در بیماران CKD با دیابت و بدون دیابت همراه می‌باشد(26). فوجیتا و همکارانش نیز بیان نمودند که ارتباطی بین ژنوتیپ null در GSTM1 و بروز نفروپاتی وجود ندارد(27). از سوی دیگر مطالعه نعمانی و همکارانش نشان داد که کاهش فراوانی ژنوتیپ‌های GSTT1-null و GSTM1-null می‌تواند در بیماری‌زایی عروق کرونر در این جمعیت نقش داشته باشد و ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم GSTP1 و بیماری عروق کرونر مشاهده نگردید(18).

در بیماران با نارسایی مزمن کلیه، تعادل بین ظرفیت پرو و آنتی اکسیدانی به سمت افزایش استرس اکسیداتیو تغییر می‌کند. چندین نقص در اجزاء مختلف مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی شرح داده شده‌اند که شامل کاهش میزان ویتامین C (عمدتا به دلیل محدودیت در مصرف میوه و سبزیجات تازه برای جلوگیری از افزایش بیش از حد پتاسیم و از دست دادن ویتامین حین دیالیز)، کاهش غلظت داخل سلولی ویتامین E، کاهش میزان سلنیوم و نقص در سیستم زباله روب گلوتاتیون (GSH) می‌باشند(14). همو دیالیز می‌تواند حملات استرس اکسیداتیو را عمدتا از طریق غشاهای زیستی و چالش آندو توکسین افزایش دهد(28). در مطالعه‌ای که سویواکف و همکارانش در صربستان انجام دادند، مشاهده کردند که میزان استرس اکسیداتیو در بیماران

ESRD که واجد اشکال غیرفعال GST هستند، بیشتر است(29).

گلوتاتیون S- ترانسفراز، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک را از آسیب اکسیداتیو محافظت کرده و در متابولیسم برخی از استروئیدها و لکوترین‌ها شرکت دارد(8). بنابراین در حضور اشکال غیرفعال آنزیم (آلل G، GSTP1)، میزان محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو کاهش پیدا می‌کند که احتمالا می‌تواند به بروز ESRD ختم شود.

نتیجه‌گیری

در مورد GSTP1 در بین دو گروه مورد مطالعه و در هر کدام از گروه‌ها اختلاف معنی داری با بروز ESRD دیده نشد، احتمالا این آنزیم نقش حفاظتی در ابتلاء به ESRD دارد. بالاتر بودن میزان MDA در بیماران ESRD نسبت به گروه کنترل نشان دهنده بالاتر بودن استرس اکسیداتیو در این بیماران می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه و دکتر داریوش رئیسی رئیس بخش دیالیز بیمارستان امام رضا (ع)، اعلام می‌دارند. نتایج این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد به شماره طرح 91108 (طرح مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه) می‌باشد.

منابع

1- Buzio L, De Palma G, Mozzoni P, Tondel M, Buzio C, Franchini I, et al. Glutathione S-transferases M1-1 and T1-1 as risk modifiers for renal cell cancer associated with occupational exposure to chemicals. Occupational and environmental medicine. 2003;60 .۹۳-۷۸۹:(۱۰)Epub 2003/09/25.

2- Mannervik B. The isoenzymes of glutathione transferase. Advances in enzymology and related areas of molecular biology. 1985;57:357-417. Epub 1985/01/01.

3- Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, Hayes JD, Di Ilio C, Ketterer B ,et al. Nomenclature for human glutathione transferases. The Biochemical journal. 1992;282 (Pt 1):305-6. Epub 1992/02/15.

4- Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao JX, Buolamwini J. Molecular cloning, characterization, and expression in Escherichia coli of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. The Journal of biological chemistry. 1997;272(15):10004-12. Epub 1997/04/11.

5- Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. Critical reviews in biochemistry and molecular biology. 1995;30(6):445-600. Epub 1995/01/01.

6- Peter H, Deutschmann S, Reichel C, Hallier E. Metabolism of methyl chloride by human erythrocytes. Archives of toxicology. 1989;63(5):351-5. Epub 1989/01/01.

7- Gibbs GW, Amsel J, Soden K. A cohort mortality study of cellulose triacetate-fiber workers exposed to methylene chloride. Journal of occupational and environmental medicine / American College of Occupational and Environmental Medicine. 1996;38(7):693-7. Epub 1996/07/01.

8- Beckett GJ, Hayes JD. Glutathione S-transferases: biomedical applications. Advances in clinical chemistry. 1993;30:281-380. Epub 1993/01/01.

9- Marcus CJ, Habig WH, Jakoby WB. Glutathione transferase from human erythrocytes. Nonidentity with the enzymes from liver. Archives of biochemistry and biophysics. 1978;188(2):287-93. Epub 1978/06/0.۱

10- Awasthi YC, Singh SV. Purification and characterization of a new form of glutathione S-transferase from human

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018

erythrocytes. Biochemical and biophysical research communications. 1984;125(3):1053-60. Epub 1984/12/28.

11- Awasthi YC, Dao DD, Saneto RP . Interrelationship between anionic and cationic forms of glutathione S-transferases of human liver. The Biochemical journal. 1980;191(1):1-10. Epub 1980/10/01.

12- Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Edition: Mcgraw-hill; 2011.

13- De Vecchi AF, Bamonti F, Novembrino C, Ippolito S, Guerra L, Lonati S, et al. Free and total plasma malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients. Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. 2009;24(8):2524-9. Epub 2009/03/07.

14- Canaud B, Cristol J, Morena M, Leray-Moragues H, Bosc J, Vaussenat F. Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. Blood purification. 1999;17(2-3):99-106. Epub 1999/08/18.

15- Vos RM, Van Bladeren PJ. Glutathione S-transferases in relation to their role in the biotransformation of xenobiotics. Chemico-biological interactions. 1990;75 .۶۵-۲۴۱:(۳) Epub 1990/01/01.

16- Mawatari S, Saito K, Murakami K, Fujino T. Absence of correlation between glycated hemoglobin and lipid composition of erythrocyte membrane in type 2 diabetic patients. Metabolism: clinical and experimental. 2004;53(1):123 .۷-Epub 2003/12/19.

17- Old JM, Briand PL, Purvis-Smith S, Howard NJ, Wilcken B, Hammond J, et al. Prenatal exclusion of ornithine transcarbamylase deficiency by direct gene analysis. Lancet. 1985;1(8420):73-5. Epub 1985/01/12.

18- Nomani H, Mozafari H ,Ghobadloo SM, Rahimi Z, Raygani AV, Rahimi MA, et al. The association between GSTT1, M1, and P1 polymorphisms with coronary artery disease in Western Iran. Molecular and cellular biochemistry. 2011;354(1-2):181-7. Epub 2011/04/19.

19- Agarwal R, Chase SD .Rapid, fluorimetric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences. 2002;775(1):121-6. Epub 2002/07/09.

20- Bailey LR, Roodi N, Verrier CS, Yee CJ, Dupont WD, Parl FF. Breast cancer and CYPIA1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms: evidence of a lack of association in Caucasians and African Americans. Cancer research. 1998;58(1):65-70. Epub 1998/01/13.

21- Roth MJ, Dawsey SM, Wang G, Tangrea JA, Zhou B, Ratnasinghe D, et al. Association between GSTM1*0 and squamous dysplasia of the esophagus in the high risk region of Linxian, China. Cancer letters. 2000;156(1):73-81. Epub 2000/06/07.

22- Carmagnol F, Sinet PM, Rapin J, Jerome H. Glutathione-S-transferase of human red blood cells; assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: hyperbilirubinemia and impaired renal function. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 1981;117(2):209-17. Epub 19.۰۹/۱۲/۸۱

23- Owiredu WKBA, Ephraim RKD, Amidu N, Eghan Jnr BA, Laing EF. Oxidative Stress among Ghanaian Patients presenting with Chronic
Kidney Disease. Journal of Medical and Biomedical Sciences. 2012;1(1):28-37.

24- Gonzalez Rico M, Puchades MJ, Garcia Ramon R, Saez G, Tormos MC, Miguel A. [Effect of oxidative stress in patients with chronic renal failure]. Nefrologia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia. 2006;26(2):218-25. Epub 2006/07/01. Efecto del tratamiento con hemodialisis sobre el estres oxidativo en pacientes con insuficiencia renal cronica.

25- Agrawal S, Tripathi G, Khan F, Sharma R, Baburaj VP. Relationship between GSTs gene polymorphism and susceptibility to end stage renal disease among North Indians.

Renal failure .۵۳-۹۴۷:(۸)۲۹;۲۰۰۷ .Epub 2007/12/11.
26- Datta SK, Kumar V, Pathak R, Tripathi AK, Ahmed RS, Kalra OP, et al. Association of glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphism with oxidative stress in diabetic and nondiabetic chronic kidney disease. Renal failure. 2010;32(10):1189-95. Epub 2010/10/20.
27- Fujita H, Narita T, Meguro H, Shimotomai T, Kitazato H, Kagaya E, et al. No association of glutathione S-transferase M1 gene polymorphism with diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients .Renal failure. 2000;22(4):479-86. Epub 2000/07/20.
28- Descamps-Latscha B, Goldfarb B, Nguyen AT, Landais P, London G, Haeffner-Cavaillon N, et al. Establishing the relationship between complement activation and stimulation of phagocyte oxidative metabolism in hemodialyzed patients: a randomized prospective study. Nephron. 1991;59(2):279-85. Epub 1991/01/01.
29- Suvakov S, Damjanovic T, Stefanovic A, Pekmezovic T, Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, et al. Glutathione S-transferase A1, M1, P1 and T1 null or low-activity genotypes are associated with enhanced oxidative damage among haemodialysis patients. Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. 2013;2 .۱۲-۲۰۲:(۱)۸Epub 2012/10/05.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:54 +0430 on Thursday June 21st 2018