بسم الله الرحمن الرحیم

این پایان نامه با همکاری و حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی لرستان تدوین شده است.٪

دانشکده **علوم پایه**

گروه علمی زیست **شناسی**

پایان نامه:

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

رشته بیوشیمی

گروه زیست شناسی

عنوان پایان نامه :

بررسی پلی مورفیسم ژنتیکی آنزیم گلوتاتیون S – ترانسفراز در بیماران گلوکومای ایرانی

استاد راهنمای اول:

دکتر غلامرضا شهسواری

استاد راهنمای همکار:

دکتر آرزو میرآفتابی

استاد مشاور:

دکتر سید کاظم بیدکی

نگارش: فاطمه کاظمی صفا

اسفند ماه ۱۳۹۰

جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم تحقیقات و فناوری

مجتمع علوم پایه و کشاورزی

شماره .....
تاریخ .....
پیوست .....

دانشگاه پیام نور
دانشگاه پیام نور استان تهران
العلم علی اوثیک المرجع والعائدة والنشر

صورتجلسه دفاع ازپایان نامه کارشناسی ارشد

جلسه دفاع ازپایان نامه دوره کارشناسی ارشد خانم فاطمه کاظمی صفا دانشجوی رشته:زیست شناسی.بیوشیمی به شماره دانشجویی۸۸۰۰۰۲۲۴۱

تحت عنوان:

"بررسی پلی مورفیسم ژنتیکی گلوتاتیون S– ترانسفراز دربیماران گلوکومای ایرانی "

جلسه دفاع با حضور داوران نامبرده ذیل در روزچهارشنبه مورخ ۱۳۹۰/۱۲/۰۳ ساعت: ۱۴-۱۳ در محل مرکز تهران شرق برگزار شد. و پس از بررسی پایان‌نامه مذکور بانمره به عدد ...۱۹/۷۰... به حروف نوزده و هفتاد و با درجه.....عالی.....مورد قبول واقع شد - نشد

هیات داوران:

اساتید	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
استاد راهنمای اول	دکتر غلامرضا شهسواری	استادیار	دکتر غلامرضا شهسواری متخصص بیوشیمی بالینی PhD نظام پزشکی ۴۴۰۰۰
استادراهنمای همکار	دکتر آرزومیر آفتابی	استادیار	دکتر آرزومیر آفتابی متخصص چشم - فلوشیپ گلوکوم عضو هیات علمی - استادیار نظام پزشکی ۴۶۲۵۲
استاد مشاور	دکتر سیدکاظم بیدکی	استادیار	
استاد داور	دکتررضا حاجی حسینی	دانشیار	
نماینده علمی گروه	*دکتر رضا حاجی حسینی*	دانشیار	

تهران، خیابان استاد نجات اللهی
خیابان شهید فلاح پور، پلاک ۲۷
تلفن: ۸۸۸۰۰۲۵۲
دورنگار: ۸۸۳۱۹۴۷۵
WWW.TPNU.AC.IR
science.agri@tpnu.ac.ir

پیوست ۶ (گواهی اصالت، نشر و حقوق مادی و معنوی اثر)

اینجانب دانشجوی ورودی سال مقطع کارشناسی ارشد رشته گواهی می نمایم چنانچه در پایان نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته ام با نقل قول مستقیم یا غیر مستقیم منبع و ماخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده ام. بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می دانم و جوابگوی آن خواهم بود.

دانشجو تأیید می نماید که مطالب مندرج دراین پایان نامه (رساله) نتیجه تحقیقات خودش می باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

نام و نام خانوادگی دانشجو

تاریخ و امضاء

اینجانب دانشجوی ورودی سال مقطع کارشناسی ارشد رشته گواهی می نمایم چنانچه براساس مطالب پایان نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب، و ... نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و ... و به صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

ام و نام خانوادگی دانشجو

تاریخ و امضاء

کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات ، آزمایشات و نو آوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می باشد .

ماه و سال

به نام آنکه علم و دانش را چراغی فراسوی ما قرار داد.

(ربنا لا تؤاخذنا إن نسینا أو أخطأنا ربنا ولا تحمل علینا إصرا کما حملته علی الذین من قبلنا ربنا ولا تحملنا ما لا طاقة لنا به واعف عنا واغفر لنا وارحمنا أنت مولانا فانصرنا علی القوم الکافرین)

بار پروردگارا! اگر فراموش کردیم یا به راه خطا رفتیم بر ما مگیر ، پروردگارا هیچ بار گرانی بر دوش ما مگذار، چنانکه بر پیشینیان ما نهادی ، بار خدایا ، آنچه تاب آن را نداریم بر ما تحمیل مکن و از ما در گذر و بر ما ببخشای و بر ما رحمت آور و تو سرور مائی پس ما را بر گروه کافران پیروز فرمای

سوره ی بقره آیه ۲۸

تقدیم به:

پدر و مادر عزیز و بزرگوارم که بزرگ ترین آموزگاران زندگیم، هستند

و

برادران و خواهران عزیزم که، همواره حامی و مشوق من در زندگی بوده اند

سپاس:

خدای بزرگ و بی همتا را که همیشه و در برابر تمامی مشکلات حامی و یاور انسانهاست را سپاسگزارم که یاریم کرد تا در این مرحله از تحصیل موفق شوم .

بر خود لازم می دانم که از تمامی کسانی که در انجام این پایان نامه مرا یاری نموده اند تشکر کنم .

از استاد راهنمای ارزشمندو بزرگوارم جناب آقای دکتر غلامرضا شهسواری که صبورانه و دلسوزانه در تمامی مراحل تدوین و انجام و پایان این پایان نامه بنده را راهنمائی و هدایت نموده اند ، نهایت تشکر و قدردانی را دارم و برای ایشان در تمامی مراحل زندگیشان بهروزی و توفیق روزافزون را از خدای متعال آرزومندم .

از زحمات سرکار خانم دکتر آرزو میرآفتابی که استاد راهنمای همکار اینجانب بوده اند و نیز آقای دکتر رضا زارع ابیانه به جهت همکاری در انتخاب بیماران گلوکوما بنده را راهنمائی نمودند قدردانی میکنم.

همچنین از آقای دکتر سید کاظم بیدکی که زحمت مشاوره این پایان نامه را بعهده داشته اند نیز صمیمانه تشکر می نمایم.

از سرکار خانم دکتر خاطره عنبری که زحمت آنالیز آماری نتایج این پایان نامه را تقبل نمودند کمال تشکر و امتنان را دارم.

همچنین از پرسنل محترم آزمایشگاههای بیمارستان رسول اکرم (ص)و فارابی تهران و نیز پرسنل محترم مرکز تحقیقات گیاهان داروئی و دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و همچنین سرکار خانم شهلا ملائی بخاطر لطف و همکاریشان کمال تشکر را دارم.

Abbreviation:

1-GSH: Glutathione

2-GST: Glutathione-S Transferase

3-ROS: Reactive Oxygenated Species

4-PCR:Polymerase Chain Reaction

5-TBE: Trice-Boric Acid EDTA

6-MT: Melting temperature

7-MW:Melecular weight

8- EDTA: Ethylene diamine tetraacetic acid

9-PBS: Phosphate buffered saline

10-POAG: primery open angle glaucoma

11-PCAG: primery closed angle glaucoma

12-DHFR: Dihydrofolate reductase

13-GSTM1**:** Glutathione-S Transferase M1

14-GSTT1: Glutathione-S Transferase T1

چکیده

مقدمه: آسیب به DNA ، نقش مهمی در بیماریهای مختلف بازی می کند . این آسیب در اثر مواد اکسیدانت و موتاژن ها رخ می دهد . گلوتاتیون- s ترانسفرازها اعضای یک خانواده چند ژنی هستند که به عنوان یک آنتی اکسیدانت مهم در سلولها ایفای نقش می کنند . پلی مورفیسم این آنزیم در بیماریهای مختلف ،مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه ،به بررسی پلی مورفیسم ژنوتیپ های GSTM1,T1 در بیماران مبتلا به گلوکومای اولیه ، در مقایسه با افراد سالم پرداخته با به ارتباط احتمالی پلی مورفیسم این آنزیم ها و بروز بیماری گلوکومای اولیه پی ببریم .

مواد و روشها: تعداد ۱۰۰ نفر بیمار مبتلا به بیماری گلوکومای اولیه و ۱۰۰ نفر فرد سالم که هیچ نوع عارضه چشمی از جمله گلوکوما و کاتاراکت نداشتند ،انتخاب و ژنوتیپ های GSTM1,T1 آن ها با روش Multiplex PCR تعیین شد. همچنین این دو گروه از نظر سن، جنس ،عدم ابتلا به دیابت و مصرف یا عدم سیگار با هم همسان سازی شدند .

یافته ها: جهش های ژنی ژنهای GSTM1 و GSTT1 در افراد گلوکوم زاویه باز اولیه به ترتیب ۲۵(٤۲/٤٪) و ۱۲(۲۰/۳٪) و در گروه کنترل به ترتیب ۳٤(۳٤٪) و ۱۵(۱۵٪) دیده شد که بر طبق آزمون آماری تفاوت معنی داری بین این دو گروه مشاهده نشد . در بیماران گلوکوم زاویه بسته اولیه جهش های ژنی ژنهای GSTM1 و GSTT1 به ترتیب ۲۲(۵۳/۷٪) و ۷ (۱۷/۱٪) و در گروه کنترل به ترتیب ۳٤(۳٤٪) و ۱۵(۱۵٪) دیده شد که بر طبق آزمون آماری جهش ژنی GSTM1 در گلوکوم زاویه بسته اولیه افزایش معنا داری داشت.

(p= ۰،۰۳)

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل از مطالعه ما به نظر می رسد که کاهش ژنوتیپ GSTM1 در بروز بیماری گلوکوم زاویه بسته اولیه نقش داشته باشد .

کلمات کلیدی: گلوتاتیون s- ترانسفراز- پلی مورفیسم-گلوکوم

فهرست مطالب:

عنوان **صفحه**

مقدمه.....۱

فصل اول: بیان مسئله

گلوتاتیون و گلوتاتیون S- ترانسفرازها.....۳

۱-۱-۱-

گلوتاتیون.....۳

۱-۱-۲-سنتز گلوتاتیون.....۵

۱-۱-۳-اهمیت و خصوصیات گلوتاتیون های سیتوپلاسمی و میتوکندریائی.....۵

۱-۱-٤- اعمال گلوتاتیون.....٦

۱-۱-٥- گلوتاتیون S- ترانسفرازها.....٦

۱-۱-٦-ساختمان گلوتاتیون S- ترانسفرازها.....۷

۱-۱-۷- انواع گلوتاتیون S- ترانسفرازها.....۸

۱-۱-۸-ایزو آنزیم های گلوتاتیون S-ترانسفرازها.....۹

۱-۱-۹- اعمال گلوتاتیون S- ترانسفرازها.....۱۱

۱-۱-۱۰-تنظیم آلوستریک آنزیم گلوتاتیون S- ترانسفراز.....۱۲

۱-۱-۱۱-توزیع بافتی GST در انسان.....۱۲

۱-۱-۱۲-القاء آنزیم گلوتاتیون S – ترانسفراز.....۱۳

۱-۱-۱۳-آنزیم های گلوتاتیون S - ترانسفرازM1.....۱٤

۱-۱-۱٤-آنزیم گلوتاتیون S -ترانسفرازT1.....۱٦

۱-۱-۱٥- گلوتاتیون S -ترانسفراز و چشم.....۱۸

۱-۱- ۱٦- گلوتاتیون S- ترانسفرازها و بیماری گلوکوم.....۱۸

۱- ۱- ۱۷- گلوتاتیون S - ترانسفرازها در نمونه های بیولوژیک.....۱۹

۱-۱- ۱۸- گلوتاتیون S - ترانسفرازها و بیماری های دیگر.....۲۰

۱-۲-بیماری گلوکوم.....۲۲

۱-۲-۱-تعریف گلوکوم.....۲۲
۱-۲-۲-فیزیولوژی مایع زلالیه.....۲٤
۱-۲-۳-پاتوفیزیولوژی گلوکوم.....۲۵
۱-۲-٤-ارزیابی بالینی گلوکوم.....۲٦
۱-۲-٤-۱-تونومتری.....۲٦
۱-۲-٤-۲-گونیوسکوپی.....۲٦
۱-۲-٤-۳-ارزیابی دیسک اپتیک.....۲۷
۱-۲-٤-٤- بررسی میدان بینائی.....۲۸
۱-۲-۵-گلوکوم اولیه.....۲۹
۱-۲-٦-گلوکوم زاویه باز اولیه.....۲۹
۱-۲-۷-گلوکوم با فشار چشم طبیعی.....۳۱
۱-۲-۸-هیپرتانسیون چشمی.....۳۲
۱-۲-۹-گلوکوم زاویه بسته اولیه.....۳۲
۱-۲-۱۰-گلوکوم مادرزادی.....۳٤
۱-۲-۱۱-گلوکوم ثانویه.....۳۵
۱-۳-مروری بر مطالعات گذشته.....۳٦
۱-٤-اهداف.....۳۹
۱-٤-۱-اهداف اصلی.....۳۹
۱-٤-۲-اهداف فرعی.....۳۹
۱-۵فرضیات.....٤۰
فصل دوم: مواد و روش ها
۲-۱-مواد و دستگاهها.....٤۱
۲-۱-۱-مواد شیمیائی.....٤۱
۲-۱-۲-محلولها.....٤۲
۲-۱-۳-دستگاهها.....٤۳
۲-۲- روش کار.....٤٤
۲-۲-۱-نمونه گیری خون از افراد مورد مطالعه.....٤٤
۲-۲-۲- جداسازی WBC.....٤۵
۲-۲-۳ استخراج DNA.....۴۶
۲-۲-٤-تأیید و تعیین غلظت DNA ی استخراج شده ٤۷

۲-۲-٤-۱-ژل الکتروفورز محصول استخراج.....٤٧
۲-۲-٤-۲-تعیین غلظت نمونه های DNA بروش اسپکتروفتومتری.....٥١
۲-۲-٥-ویژگی پرایمرهای مورد استفاده.....٥١
۲-۲-٦-انجام PCR.....٥٤
۲-۲-٦-۱-مواد شرکت کننده در PCR.....٥٥
۲-۲-٦-۲ تعیین دمای Annealing پرایمرها جهت PCR ژنها.....٥٨
۲-۲-٦-۳- انجام PCR Set Up در این مطالعه.....٥٨
۲-۲-۷-ژل الکتروفورز برای تأیید آزمایش PCR.....٦٠
۲-۲-۸- انجام مولتی پلکس PCR.....٦١
۲-۳-تجزیه و تحلیل آماری.....٦٢
فصل سوم: نتیجه
۳-۱=نتیجه.....٦٣
فصل چهارم: بحث
٤-۱-بحث.....٩١
منابع

فهرست اشکال و تصاویر

شکل شماره۱-۱- ساختار شیمیائی گلوتاتیون.....۳
شکل شماره ۱-۲ نحوه تولید رادیکالهای آزاد در بدن ٤
شکل ۱-۳- تصویر خوشه ی ژنی GSTM1.....١٥
شکل ۱-٤- تصویر خوشه ی ژنیGSTT1 .....١٧
شکل۳-۱- الکتروفورز جهت تائید استخراج DNA ٦٣
شکل ۳-۲- تصویر مربوط به بررسی گرادیانت دمائی ژن GSTT1 .....٦٤
شکل ۳-۳- تصویر مربوط به بررسی گرادیانت دمائی ژن GSTM1 .....٦٥
شکل ۳-٤- تصویر مربوط به بررسی گرادیانت دمائی ژن DHFR ٦٦
شکل ۳-٥- شمای کلی نتایج مختلف Multiplex PCR.....٦٨
شکل۳-٦-تصویر مربوط به تکثیر ژنوتیپ های GSTM1,T1 در تعدادی از افراد مورد مطالعه.....٦٩

فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱- درصد فراوانی ژنوتیپ GSTM1 در بیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل ۹۰

نمودار ۳-۲-درصد فراوانی ژنوتیپ GSTM1 دربیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل به تفکیک جنس..... ۹۳

نمودار ۳-۳- درصد فراوانی ژنوتیپ GSTT1 دربیمارا ن مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل..... ۹٤

نمودار۳-٤- درصد فراوانی ژنوتیپ GSTT1 دربیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل به تفکیک جنس..... ۹۷

نمودار ۳-۵-درصد فراوانی ژنوتیپ GSTT1,M1 دربیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل..... ۹۸

نمودار ۳-٦-درصد فراوانی ژنوتیپ GSTT1,M1 دربیماران مورد مطالعه به تفکیک نوع گلوکوم..... ۱۰٦

نمودار ۳-۷- درصد فراوانی ژنوتیپ GSTT1,M1 دربیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل به تفکیک..... ۱۰۷

فهرست جداول

جدول شماره ۱-۱- زیرواحدهای گلوتاتیون S- ترانسفراز..... ۲۵

جدول شماره ۱-۲- توصیف واریانتهای GSTM1 در جمعیت های مختلف..... ۳۱

جدول ۱-۳- توصیف واریانت GSTT1 در نژادهای مختلف ۳۳

جدول ۲-۱- برنامه انجام PCR..... ۷۷

جدول ۲-۲- برنامه انجام مولتی پلکس PCR..... ۷۸

جدول ۳-۱-ویژگی های دموگرافیک بیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل..... ۸۸

جدول۳-۲- توزیع فراوانی بیماران مبتلا به گلوکوم به تفکیک نوع گلوکوم..... ۸۹

جدول ۳-۳-توزیع فراوانی ژنوتیپ GSTM1 در بیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل..... ۹۰

جدول ۳-٤-مقایسه توزیع فراوانی ژنوتیپ GSTM1 در بیماران POAGو گروه کنترل..... ۹۱

جدول ۳-۵-مقایسه توزیع فراوانی ترکیبی ژنوتیپ GSTM1 و GSTT1 در بیماران مبتلا به گلوکوم..... ۹۲

جدول ۳-٦-توزیع فراوانی ژنوتیپ GSTM1 در بیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل به تفکیک جنسیت..... ۹۳

جدول۳-۷-توزیع فراوانی ژنوتیپ GSTT1 در بیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل..... ۹٤

جدول ۳-۸-مقایسه توزیع فراوانی ژنوتیپ GSTT1 در بیماران POAGو گروه کنترل..... ۹۵

جدول ۳-۹- توزیع فراوانی ژنوتیپGSTT1 در بیماران PCAG وگروه کنترل..... ۹٦

جدول ۳-۱۰-توزیع فراوانی ژنوتیپ GSTT1 در بیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل به تفکیک جنسیت..... ۹۷

جدول۳-۱۱-توزیع فراوانی ترکیبی ژنوتیپ GSTM1,GSTT1 در بیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل.....۹۹
جدول۳-۱۲- مقایسه توزیع فراوانی ژنوتیپ GSTM1,GSTT1 در بیمارانPOAG و گروه کنترل.....۱۰۱
جدول ۳-۱۳-مقایسه توزیع فراوانی ژنوتیپ GSTT1,M1 در بیمار ان PCAG وگروه کنترل.....۱۰۳
جدول ۳-۱٤-توزیع فراوانی ژنوتیپ های GSTM1و GSTT1 و GSTT1,M1 در بیماران مبتلا به گلوکوم به تفکیک نوع گلوکوم.....۱۰۵
جدول ۳-۱۵-توزیع فراوانی ژنوتیپ GSTT1,M1 در بیماران مبتلا به گلوکوم و گروه کنترل به تفکیک جنس.....۱۰۷

مقدمه:

گلوکوم یا آب سیاه، یک بیماری چندعاملی است که می تواندناشی از مسایل ژنتیک، محیطی یا ثانویه به بیمار یهای دیگرچشمی باشد (۱). شیوع گلوکوم را در افراد بالای ٤٠ سال در جوامع مختلف از ٦٥ / ٠ درصد تا ٨/ ٨ گزارش کرده اند. گلوکوم به گروهی از بیماریها اطلاق میگردد که از نظرتظاهرات بالینی، پاتوفیزیولوژی و درمان متفاوتند .این گروه بیماریها به دلیل برخی ویژگی های مشترک از جمله آتروفی وکاپینگ عصب بینایی (بزرگ شدن کاپ عصب بینایی)، از بین رفتن میدان بینایی و افزایش فشار داخل چشم؛ در اغلب موارد در یک گروه قرار میگیرند .تعریف جدید گلوکوم، امروزه به اختلال ساختمانی و عملکردی پیش رونده عصب بینایی اطلاق میشود که با کاستن فشار داخل چشم (به میزان کافی) پیش رفت آن متوقف یا کند می گردد (۱).

گلوکوم براساس وضعیت زاویه اتاق قدامی به دو نوع کلی زاویه باز و زاویه بسته تقسیم میگردد که تظاهرات بالینی و نحوه درمان آنها با هم تفاوتهایی دارند (۱).

از طرفی گلوکوم یکی از علل شایع نابینایی محسوب می گردد و در برخی از انواع، تا مراحل پیش رفته، بدون علامت است در حالی که با تشخیص و درمان به موقع آن می توان مانع ازنابینایی ناشی از آن گردید .اهمیت تشخیص به موقع و درمان این بیماری، تغییرات غیرقابل برگشت در عصب بینایی است که در صورت عدم درمان به موقع، بروز میکند (۱).

میلیون‌ها نفر در سال بر اثر ابتلا به این بیماری مهلک در تاریکی فرو می‌روند. در ایران آماری دقیق از مبتلایان دردست نیست اما بر اساس نتایج پژوهشی که شیوع گلوکوم را در افراد بالای ٤٠ سال را در شهر تهران مورد بررسی قرار داده است، شیوع کلی گلوکوم ١/٤٤ ٪ شامل ٠/٤٦ درصد POAG، ٠/٣٣ درصد PCAG، ٠/٢٨ NTG، ٠/٢٣ درصد گلوکوم کپسولار و ٠/١٤ درصد سایر انواع گلوکوم گزارش گردیده است. همچنین در این مقاله عنوان شده است که شیوع گلوکوم در مردان ٢/٣ برابر زنان بوده است. شیوع گلوکوم در افراد بالای ٨٠ سال ٤/٩ درصدو در افراد ٤٩-٤٠ سال ٠/٥٥ درصد گزارش شده است. مبتلایان به گلوکوم در این تحقیق در ٨٠/٦ درصد موارد از بیماری خود اطلاعی نداشتند. (٩٦) در آمریکا بیش از سه میلیون نفر به این بیماری دچارند و خسارت اقتصادی ناشی از

این بیماری را در این کشور میلیاردها دلار در سال برآورد می‌کنند. براساس برآوردها پنج میلیون نفر در جهان براثر این بیماری نعمت بینایی خود را از دست داده اند(۱).

از طرفی بشر نیز بناچار و به سرعت در جهت کاهش و یا رفع مشکلات ناشی از بیماریهای مختلف در حرکت است، و با ابداع تکنیک های جدید ملکولی در صدد بررسی دقیق اساس بیماری ها و از جمله بیماری مربوط به چشم و گلوکوم برآمده است، و در نتیجه همین تحقیقات تقریبا مسجل شده است که آسیب های در حد ملکولی که اکثراً DNA را هدف قرار می دهند، نقش اساسی را در بروز و توسعه این بیماری ها بازی می کنند.

از طرف دیگر مکانیسم های مختلف بدن انسان در مقام مقابله بر علیه چنین آسیب هائی نیز مورد تأیید است. از جمله سیستم های دفاعی بدن بر علیه آسیبهای DNA ی برخواسته از مواد سمی، رادیکال های آزاد و یا دیگر مواد موتاژن، سیستم های قوی آنزیمی سلول است(۱).

در این میان آنزیم های گلوتاتیون S- ترانسفراز در شکل گیری و عمل سیستم دفاعی مواد سمی نقشی عمده دارند. مهمتر اینکه در مطالعات مختلفی همراهی تغییرات ژنی این دسته از آنزیم ها با بیماری های چشم و گلوکوم مشاهده شده است(۲).

لذا در این مطالعه به بررسی پلی مورفیسم دو دسته از این آنزیم ها در بیماران مبتلا به بیماری گلوکوم اولیه و افراد گروه کنترل می پردازیم.

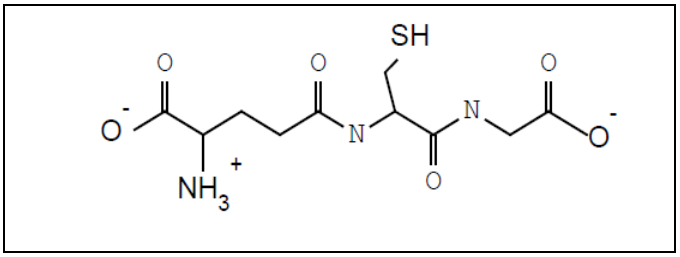
فصل اول

بیان مسأله

گلوتاتیون و گلوتاتیون S– ترانسفرازها:

۱– ۱– ۱– گلوتاتیون:

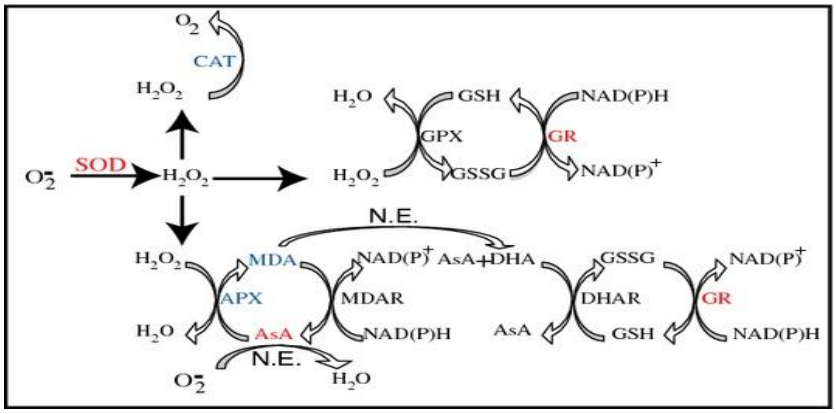
گلوتاتیون یک تری پپتید به اسم γ–گلوتامیل سیستئیل گلیسین می باشد که فرمول ملکولی آن $C_{10}H_{17}N_3O_6S$ است؛ با وزن ملکولی ۳۰۷/۳۳ نقطه ذوب $195^{\circ}C$، دارای PH ایزوالکتریک ۲/۸۳است و در آب، الکل و آمونیاک براحتی حل می شود.



شکل شماره۱–۱– ساختار شیمیائی گلوتاتیون (γ–گلوتامیل سیستئیل گلیسین)

گروه تیولی گلوتاتیون احیاء (GSH) بسیار فعال است و در واکنش های گلوتاتیون باعث تولید مشتقات S–آلکیل و S– آسیل می شود. GSH در محلول های غیرفلزی به آرامی با اکسیژن واکنش نشان داده و تولید گلوتاتیون اکسید یا دی سولفید (GSSG) می کند. سرعت واکنش مذکور در PH قلیائی و در حضور مقادیر جزئی فلزات آهن و مس افزایش می یابد. در تمامی موجودات، سیستم گلوتاتیون بر علیه صدمات ناشی از فعال سازی بیولوژیک مواد شیمیائی مانند گزنوبیوتیک ها و محصولات اکسیداتیو متابولیسم سلولی ملکول اکسیژن، عمل حفاظتی دارد.

شکل شماره ۱–۲ منشأ تولید ملکول های فعال اکسیژن و نیتروژن و مهار رفتار اکسیداتیو آنها توسط سیستم های آنتی اکسیدانتی را نشان می دهد (۹).



شکل شماره ۱-۲- در این تصویر نحوه تولید رادیکالهای آزاد در بدن و تاثیر آنزیمهای خنثی کننده این عوامل به کمک گلوتاتیون دیده می شود.

گلوتاتیون به عنوان کوفاکتور برای گلوتاتیون پراکسیداز عمل می نماید. از دست دادن ۱۵ تا ۲۰ درصد از مقدار کل گلوتاتیون سلولی می تواند منجر به نقص در دفاع سلولی بر علیه عوامل سمی شود، که ممکن است به مرگ سلولی منجر شود. نقص در فراهم نمودن یا نگهداری سیستم های حفاظتی سلول در حال حاضر به عنوان یکی از علل بیماری های خطرناک انسانی شناخته شده که تماس با مواد سمی شیمیائی، باعث تشدید و ظهور ناگهانی علائم آن می شود (٦). غلظت داخل سلولی گلوتاتیون در سلول های مختلف متفاوت و در محدوده $۰/۵-۱۰\ mM$ است. به عنوان مثال غلظت گلوتاتیون سلول کبدی $٤-۸ mM$ است. فرم غالب گلوتاتیون به صورت احیاء و درصد کمی به صورت GSSG اکسید شده است. عمل احیاء شدن ملکول گلوتاتیون توسط GSH ردوکتاز وابسته به NADPH صورت می گیرد. این ملکول احیاء شده توسط گونه های هیدروژن پراکسید و لیپید پراکسید، اکسید می شود. یکی دیگر از مسیرهای مهم دیگر که GSH در آن درگیر است، متابولیسم برخی از داروهای شیمیائی است (۵).

در تغییرات شبانه روزی، میزان GSH متفاوت است و در موقع شب و صبح زود بیشترین و در اواخر بعدازظهرکمترین میزان است. دامنه این تغییرات حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد است. انتشار گلوتاتیون از کبد در طول گرسنگی به نگهداری سطح GSH در سایر ارگان ها کمک می کند (۵ و ٦).