دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیستم، شماره ۲، صفحه ۱۴۲ - ۱۳۵ (خرداد و تیر ۱۳۹۶)

Iran South Med J 2017;20(2): 135-142

بررسی پلی‌مورفیسم Glu298Asp ژن eNOS در بیماران مبتلا به گلوکوم در جمعیتی از گیلان

زیور صالحی [۱*]، مریم غلامی‌نیا [۱]، زهرا غلامی‌نیا [۱]، محمدرضا پنج‌تن پناه [۲]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
[۲] گروه چشم، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۳/۱۶ - پذیرش مقاله: ۹۵/۶/۹)

چکیده

زمینه: گلوکوم از علل مهم نابینایی غیر قابل برگشت در سراسر جهان است و با اضمحلال سلول‌های گانگلیونی شبکیه و آسیب عصب بینایی مشخص می‌شود. خود تنظیمی نامناسب عروقی نقش مهمی در سبب شناسی گلوکوم ایفا می‌کند. نیتریک اکسید (NO) جریان خون را در عروق افزایش می‌دهد و به غلبه بر استرس کمک می‌نماید. NO گردشی در اندوتلیوم عروق، منحصراً توسط ایزوفرم اندوتلیالی نیتریک اکسید سنتاز (eNOS) سنتز می‌شود. Glu298Asp یکی از مهم‌ترین پلی‌مورفیسم‌های ژن eNOS است. در این مطالعه به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم Glu298Asp ژن eNOS با خطر ابتلا به گلوکوم پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد- شاهدی شامل ۱۱۰ فرد بیمار و ۱۲۱ فرد سالم بود. DNA ژنومی از لکوسیت‌های خون محیطی استخراج گردید. ژنوتیپ‌های ناحیه پلی‌مورف با استفاده از تکنیک PCR-RFLP تعیین شدند. آنالیز آماری با نرم افزار MedCalc ویرایش ۱۲/۱ انجام گرفت.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GT و TT در گروه کنترل به ترتیب ۰/۵۲، ۰/۴۲ و ۰/۰۶ و در گروه بیمار به ترتیب ۰/۶۰، ۰/۳۲ و ۰/۰۸ بود. تفاوت معناداری در فراوانی‌های ژنوتیپی بین دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد (χ^2 =۲/۷۸، p=۰/۲۴). در دو گروه کنترل و بیمار، فراوانی اللی G به ترتیب ۰/۷۳ و ۰/۷۶ و فراوانی الل T به ترتیب ۰/۲۷ و ۰/۲۴ بود. فراونی اللی در دو گروه کنترل و بیمار تفاوت معناداری را نشان نداد (χ^2=۰/۳۳، p=۰/۵۶).

نتیجه‌گیری: به طور کلی پلی‌مورفیسم Glu298Asp ژن eNOS ارتباط معنی‌داری با گلوکوم نشان نداد. با این حال مطالعاتی بر پایه جمعیت‌های بزرگ‌تر و نژادهای متفاوت جهت دستیابی به یک نتیجه قطعی مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: ژن eNOS، پلی‌مورفیسم ژنی، گلوکوم، نیتریک اکسید سنتاز

*رشت، خیابان نامجو، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

E-mail: geneticzs@yahoo.co.uk

مقدمه

گلوکوم یک بیماری اختلال عصب بینایی است که سبب از دست رفتن پیشرونده دید محیطی می‌شود. در صورت عدم درمان به موقع، بیماری منجر به نابینایی کامل غیرقابل برگشت می‌گردد (۱).

گلوکوم بر اساس وضعیت زاویه اتاق قدامی به دو نوع کلی زاویه باز اولیه (POAG) و زاویه بسته اولیه (PCAG) تقسیم می‌شود. POAG شایع‌ترین فرم گلوکوم است و از نظر کلنیکی به دو شکل فشار بالا (HTC) و فشار طبیعی (NTC) وجود دارد. در گلوکوم با فشار طبیعی در زمان بروز آسیب‌های چشمی افزایش فشار داخل چشمی (IOP) مشاهده نمی‌شود (۲). گلوکوم یک بیماری چندعاملی است و فاکتورهای خطر متعددی شامل افزایش IOP، سن، نژاد، سابقه خانوادگی، قرنیه نازک، نزدیک بینی و استرس اکسیداتیو در ایجاد و پیشرفت آن نقش دارند (۳). احتمال بروز گلوکوم در فردی که یک خویشاوند درجه یک مبتلا به گلوکوم زاویه باز اولیه دارد بین ۱۶-۴ درصد تخمین زده می‌شود. این موضوع نقش عوامل ژنتیکی را در بروز بیماری نشان می‌دهد (۴). در روند بیماری از دست رفتن پیشروندهٔ سلول‌های گانگلیون شبکیه (RGC) و آسیب آکسون‌های عملکردی آنها موجب بروز علائم آتروفی عصب بینایی می‌شود (۵). فرضیه‌های مختلفی از جمله میزان جریان خون در عصب بینایی، تراکم مکانیکی به علت افزایش IOP، کمبود فاکتورهای نوروتروفیک، آسیب‌های القا شده توسط نیتریک اکسید (NO) و سمیت گلوتامات برای آسیب و مرگ RGCها در گلوکوم مطرح شده و ممکن است ترکیبی از این فاکتورها در بروز بیماری نقش داشته باشند (۲). نیتریک اکسید یکی از مولکول‌های پیام‌رسان مهم در فعالیت‌های رگ‌گشایی، ضدالتهابی و آپاپتوزیس می‌باشد و در تنظیم حجم رگی و میزان جریان خون در عصب چشمی نقش دارد (۶). استرس و هیپوکسی در بافت افزایش سنتز NO را تحریک می‌کند. NO با افزایش جریان خون و دریافت اکسیژن در بافت شبکیه به غلبه بر استرس کمک می‌نماید (۷). اما مقادیر بسیار بالای آن نیز می‌تواند برای بافت سمی باشد. NO اضافی در نورون‌ها با سوپراکسید (O_2^-) ترکیب می‌شود و آنیون‌های پراکسی نیتریت (-ONOO) را می‌سازد. -ONOO یک توکسین سلولی قوی است که موجب پیشرفت مرگ سلولی می‌گردد (۸).

نیتریک اکسید توسط گروهی از آنزیم‌های نیتریک اکسید سنتاز (NOS) تولید می‌شود. این آنزیم‌ها L-آرژینین را به سیترولین تبدیل و در این پروسه NO تولید می‌کنند (۹). ایزوفرم‌های نیتریک اکسید سنتاز به وفور در لایه‌های شبکیه گزارش شده است، اما NO گردشی منحصراً توسط ایزوفرم اندوتلیالی نیتریک اکسید سنتاز (eNOS) سنتز می‌شود (۷). ژن eNOS در ناحیه ۳۶-۳۵q۷ قرار دارد و شامل ۲۶ اگزون و ۲۵ اینترون است (۱۰). این ژن دارای نواحی پلی‌مورفیک متعددی می‌باشد. پلی‌مورفیسم Glu298Asp در ناحیه کدکننده ژن eNOS قرار دارد. در این جایگاه پلی‌مورف گوانین (G) در موقعیت ۸۹۴ با تیمیدین (T) جایگزین می‌شود. لذا تغییر آمینواسید در جایگاه ۲۹۸ پروتئین از گلوتامات (Glu) به آسپارتات (Asp) صورت می‌گیرد. تغییر ایجاد شده در ساختار پروتئین می‌تواند سطح فعالیت آنزیم را تحت تأثیر قرار دهد (۱۱).

شناسایی مکانیسم‌های مولکولی بالقوه و ترکیبات مسیرهای پیام‌رسانی سلولی در توسعهٔ روش‌های درمانی امری اجتناب‌ناپذیر است. با توجه به اهمیت نقش نیتریک اکسید در بروز آسیب‌های عصب چشمی و تأثیر جایگاه‌های پلی‌مورف ژن eNOS بر عملکرد پروتئین، در این مطالعه به منظور شناخت بهتر مکانیسم

شکل‌گیری گلوکوم رابطهٔ پلی‌مورفیسم Glu298Asp ژن eNOS با خطر ابتلا به گلوکوم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

در این مطالعه مورد- شاهدی ۱۱۰ فرد مبتلا به گلوکوم و ۱۲۱ فرد سالم (به عنوان گروه کنترل) مورد بررسی قرار گرفتند. افراد بیمار به تشخیص پزشک متخصص چشم از مراجعه کنندگان به درمانگاه تخصصی چشم بیمارستان امیرالمومنین رشت انتخاب شدند. اطلاعات مربوط به بیماران شامل سن تشخیص، سابقه خانوادگی، فشار داخل چشمی، نوع گلوکوم و سابقه ابتلا به سایر بیماری‌های چشمی با توجه به پرونده پزشکی آنها جمع‌آوری گردید. افراد حاضر در گروه کنترل داوطلبین سالم (فاقد هرگونه بیماری تأیید شده چشمی) بودند که سابقه خانوادگی ابتلا به گلوکوم در آنها گزارش نشده بود. همچنین گروه کنترل از نظر سن، جنس و موقعیت ژئوگرافیکی نیز با گروه بیمار مطابقت داشتند. پس از اخذ رضایت نامه از افراد مقدار ۱ میلی‌لیتر خون محیطی آنها نمونه‌گیری و برای جلوگیری از لخته شدن در ونوجکت‌های حاوی EDTA (Venoject EDTA coated، بلژیک) نگهداری شد.

تعیین ژنوتیپ

DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج GPP-solution (ژن‌پژوهان، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده از لکوسیت‌های خون محیطی استخراج گردید. پس از تأیید کیفیت DNA استخراجی به وسیله ژل آگارز ۱ درصد ژنوتیپ نمونه‌ها با روش PCR-RFLP تعیین شد. جهت انجام واکنش PCR طراحی پرایمرهای اختصاصی پیشرو (5'-GCCTCGGTGAGATAAAGGAT-3') و پیرو (3'-CTTGCAGGCCCTTCTTGAGAG-5') با نرم افزار Oligo ویرایش ۷/۵۷ انجام گرفت. PCR در حجم نهایی ۱۸ میکرولیتر شامل ۳۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۰/۵ میکرولیتر (lμ) dNTP، ۱ میکرولیتر (ج) از بافر PCR ۱۰X (شامل ۵۰ میلی‌مولار پتاسیم کلرید، ۱۰ میلی‌مولار تریس- HCl و ۰/۱ درصد تریتون X-100)، ۰/۲ Unit آنزیم Taq پلیمراز و ۱ پیکومول از هر پرایمر (شرکت Generay، چین) انجام شد. سیکل حرارتی بهینه واکنش PCR به صورت ۵ دقیقه واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه واسرشت‌سازی ثانویه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در ۵۶ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد جهت بسط نهایی بود. در نهایت یک قطعه ژنی ۳۸۲ جفت بازی (bp) شامل ناحیه پلی‌مورف Glu298Asp ژن eNOS تکثیر گردید.

پس از تأیید صحت واکنش PCR با ژل آگارز ۱/۵ درصد، محصول واکنش تحت تیمار با آنزیم محدودالاثر MboI قرار گرفت. براساس طول قطعات به دست آمده ژنوتیپ هر نمونه مشخص گردید. طی واکنش هضم آنزیمی در افراد دارای ژنوتیپ GG یک قطعه کامل ۳۸۲bp، در افراد دارای ژنوتیپ GT، سه باند ۳۸۲bp، ۲۴۰bp و ۱۴۲bp و در افراد دارای ژنوتیپ TT دو باند ۲۴۰bp و ۱۴۲bp قابل مشاهده بود. جهت تأیید نتایج، تعیین ژنوتیپ ۲۰ درصد از نمونه‌ها به طور تصادفی مجدداً صورت گرفت.

آنالیز آماری

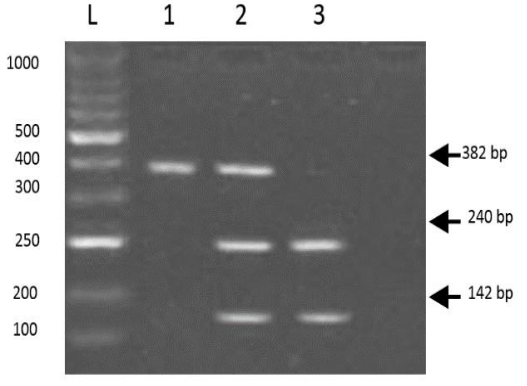
آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MedCalc ویرایش ۱۲/۱ انجام شد. تفاوت ژنوتیپی و اللی میان

گروه کنترل و بیمار با استفاده از آزمون χ^2 (Chi-square) مورد بررسی قرار گرفت. سپس نسبت شانس (Odds Ratio) با فاصله اطمینان ۹۵ درصد به منظور تعیین میزان تأثیر فاکتور خطر در بروز بیماری محاسبه شد. $p<۰/۰۵$ بیانگر معنادار بودن تفاوت بین دو گروه است.

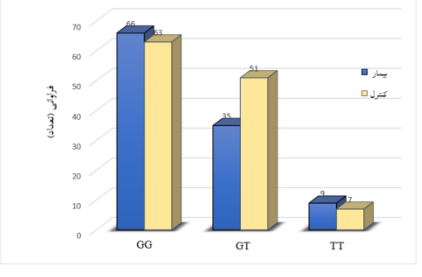
یافته‌ها

در گروه بیمار، ۶۳ مرد و ۴۷ زن و در گروه کنترل، ۶۴ مرد و ۵۷ زن قرار داشتند. محدوده سنی افراد در گروه بیمار ۷۸-۳۳ سال (میانگین سنی ۶/۴±۵۸) و در گروه کنترل ۷۶-۲۸ سال (میانگین سنی ۷/۲±۵۶) بود. لذا در خصوص سن و جنس بین دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در گروه بیماران ۷۱ (۶۴/۵۴ درصد) مورد مربوط به گلوکوم زاویه باز اولیه (POAG) و ۳۹ مورد (۳۵/۴۶ درصد) مربوط به گلوکوم زاویه بسته اولیه (PCAG) بود. پس از استخراج DNA ژنومی، واکنش PCR قطعه ۳۸۲ جفت بازی با موفقیت انجام شد. جهت تعیین ژنوتیپ محصولات PCR با آنزیم *MboI* انکوبه شدند و محصول آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲ درصد برده شد (شکل ۱).

ژنوتیپ تمام نمونه‌ها برای پلی‌مورفیسم Glu298Asp ژن eNOS تعیین شد. ژنوتیپ‌های ژن eNOS در گروه کنترل به ترتیب ۶۳ نفر GG، ۵۱ نفر GT و ۷ نفر TT بود. در گروه بیمار به ترتیب ۶۶ نفر GG، ۳۵ نفر GT و ۹ نفر TT بود. بیشترین فراوانی ژنوتیپی در هر دو گروه کنترل و بیمار مربوط به ژنوتیپ GG بود (نمودار ۱). درصد فراوانی الل G در گروه کنترل و بیمار به ترتیب ۷۳/۱۴ و ۷۵/۹۱، فراونی الل T نیز در گروه کنترل و بیمار به ترتیب ۲۶/۸۶ و ۲۴/۰۹ بود (جدول ۱). فراوانی اللی در دو گروه کنترل و بیمار ارتباط معناداری نشان نداد (χ^2 =۰/۳۳، p=۰/۵۶). نتیجه آزمون OR نیز بیانگر عدم ارتباط معنادار بین فراوانی‌های اللی در گروه کنترل و بیمار بود (P=۰/۴۹، CI=۰/۸۶، ۹۵ درصد OR) (۰/۵۶-۱/۳۱). نتایج به دست آمده از آزمون OR بین گروه‌های ژنوتیپی مختلف نیز نشان داد هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌ها خطر ابتلا را به طور معنادار افزایش نمی‌دهند.



شکل ۱) تصویر محصول واکنش هضم آنزیمی با آنزیم *MboI* روی ژل آگارز ۲ درصد. L، DNA مارکر ۱۰۰-۵۰ جفت‌بازی، نمونه ۱: ژنوتیپ GG، نمونه ۲: ژنوتیپ GT و نمونه ۳: ژنوتیپ TT را نشان می‌دهند.



نمودار ۱) فراوانی ژنوتیپ‌های eNOS Glu298Asp در دو گروه کنترل و بیمار.

Fig 1) eNOS Glu298Asp genotypes frequency in patient and control groups.

جدول ۱) فراوانی ژنوتیپی و اللی پلی‌مورفیسم Glu298Asp ژن eNOS

		گروه کنترل (درصد) تعداد	گروه بیمار (درصد) تعداد	OR (CI ۹۵ درصد)	P.value
ژنوتیپ	GG	۶۳ (۵۲/۰۶)	۶۶ (۶۰)	Ref	
	GT	۵۱ (۴۲/۱۵)	۳۵ (۳۱/۸۲)	۰/۶۵ (۰/۳۷–۱/۱۳)	۰/۱۳
	TT	۷ (۵/۷۹)	۹ (۸/۱۸)	۱/۲۲ (۰/۴۳–۳/۴۹)	۰/۷۰
الل	G	۱۷۷ (۷۳/۱۴)	۱۶۷ (۷۵/۹۱)	Ref	
	T	۶۵ (۲۶/۸۶)	۵۳ (۲۴/۰۹)	۰/۸۶ (۰/۵۶–۱/۳۱)	۰/۴۹

بحث

گلوکوم یکی از شایع‌ترین پروسه‌های نوروپاتی در انسان است و دومین علت منجر به نابینایی غیر قابل برگشت محسوب می‌گردد (۱). چشم در معرض سطح بالایی از استرس اکسیداتیو قرار دارد. تغییرات اکسیداتیو سبب تخریب هموستاز سلول می‌شود که با تحلیل عصبی در گلوکوم ارتباط دارد (۱۲). NO به واسطه نقش خود در کنترل آپاپتوزیس، تنظیم فشار IOP و میانجی‌گری در تنظیم جریان خون چشمی بر روند پیشرفت گلوکوم دخالت می‌کند (۱۳). مطالعه روی موش‌های مدل نشان داد که افزایش بیان eNOS می‌تواند موجب کاهش IOP شود (۱۴). سلول‌هایی که در مسیر خروجی مایع زلالیه قرار دارند NO تولید می‌کنند که در سطح سلول موجب آرامش شبکه ترابکولی می‌گردد (۱۵). به نظر می‌رسد که افزایش بیان eNOS از طریق اتساع عروق و افزایش جریان رگی در بافت‌های چشم انسان دارای اثر محافظت کنندگی عصبی است. در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه افزایش سطح NOS در عروق عصب بینایی گزارش شده است. این یافته از ارتباط بیان بیش از حد eNOS و آسیب‌های عصب بینایی در گلوکوم حمایت می‌کند (۱۶).

پلی‌مورفیسم Glu298Asp (rs1799983) در ناحیه کدکننده ژن eNOS تنها واریانت معمولی است که موجب جانشینی آمینو اسیدی در پروتئین بالغ می‌گردد. نقش این جایگاه در بیماری‌های مختلفی مانند شوک ایسکمی، بیماری عروق کرونر بررسی شده است (۱۷ و ۱۸).

در مطالعه حاضر ارتباط معناداری بین جایگاه پلی‌مورفیک Glu298Asp ژن eNOS و خطر ابتلا به گلوکوم یافت نشد که با نتایج به دست آمده در مطالعه کاسیور- جارکا (Kosior-Jarecka) و همکاران و مطالعه کانگ (Kang) و همکاران شباهت دارد (۱۹ و ۲۰). ارتباط این ناحیه پلی‌مورف با بیماری گلوکوم زاویه باز اولیه توسط داسیلوا (da Silva) و همکاران نیز مورد مطالعه قرارگرفت و ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم Glu298Asp ژن eNOS و گلوکوم یافت نشد، اما بررسی‌ها پلوتایپ پلی‌مورفیسم‌های Glu298Asp و T-786C ژن eNOS نشان داد که هاپلوتایپ CG آن با گلوکوم زاویه باز اولیه ارتباط دارد (p=۰/۰۰۲) و در افراد دارای این هاپلوتایپ خطر ابتلا به گلوکوم در گروه سنی بالای ۵۲ سال تا ۳ برابر افزایش می‌یابد (۲۱).

پلی‌مورفیسم Glu298Asp بر جایگاه فعال پروتئین و سطح دایمریزاسیون آن تأثیر نمی‌گذارد. با این حال در پروتئین eNOS الل Glu به مقدار اندکی سطح پروتئین را افزایش می‌دهد و فعالیت آنزیمی مخصوص پروتئین در فرم موتانت کمتر است (۱۱). تغییرات عملکردی اندوتلیوم در حاملین طبیعی این پلی‌مورفیسم گزارش

شده است، اما مطالعات In vivo و Ex vitro تفاوت قابل توجهی در فعالیت آنزیمی پروتئین در حضور دو ایزوفرم Asp298 و Glu298 نشان نداده است (۲۲ و ۲۳). به نظر می‌رسد که این واریانت بر فعالیت بیولوژیکی آنزیم اثر نداشته باشد و در واقع در عدم تعادل پیوستگی با لکوس عملکردی دیگری در ژن یا ژنوم باشد (۱۷).

نتیجه‌گیری

به طور کلی در این مطالعه ارتباطی بین پلی‌مورفیسم Glu298Asp ژن eNOS و گلوکوم مشاهده نشد. با توجه با اینکه مجموعه‌ای از عوامل ژنتیکی و محیطی در ایجاد و پیشرفت گلوکوم نقش دارند بهتر است به منظور شناخت دقیق‌تر پاتولوژی بیماری در مطالعات آینده همچنین فاکتورهای جانبی مانند سیگار، جنسیت و میزان فشار داخل چشمی همراه با پلی‌مورفیسم‌های دیگر ژن مذکور و ارتباط عملکردی آن با سایر ژن‌ها مورد توجه قرار گیرد. همچنین تعیین نقش این پلی‌مورفیسم در بروز بیماری گلوکوم نیازمند بررسی در جمعیت‌های بزرگ‌تر و و گروه‌های نژادی مختلف است.

سپاس و قدردانی

نویسندگان از تمامی افراد شرکت کننده در این تحقیق نهایت تشکر را داشته و مراتب قدردانی خود را از دانشگاه گیلان و بنیاد ملی نخبگان که با حمایت خود شرایط مناسب جهت انجام این تحقیق را فراهم ساختند، اعلام می‌نمایند. همچنین برخود لازم می‌دانند از همکاری مرکز آموزشی- درمانی امیرالمومنین رشت که زمینه لازم جهت جمع‌آوری نمونه و اطلاعات مورد نیاز این تحقیق را فراهم نمودند تشکر و قدردانی نمایند.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. Br J Ophthalmol 2006; 90(3): 262-67.
2.Rao KN, Nagireddy S, Chakrabarti S. Complex genetic mechanisms in glaucoma: an overview. Indian J Ophthalmol 2011; 59: S31-42.
3.Wang N, Wu H, Fan Z. Primary angle closure glaucoma in Chinese and Western populations. Chin Med J (Engl) 2002; 115(11): 1706-15.
4.Leske MC, Connell AM, Wu SY, et al. Risk factors for open-angle glaucoma. The barbados eye study. Arch Ophthalmol 1995; 113(7): 918-24.
5.McKinnon SJ, Goldberg LD, Peeples P, et al. Current management of glaucoma and the need for complete therapy. Am J Manag Care 2008; 14(Suppl1): S20-7.
6.Kang JH, Wiggs JL, Rosner BA, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene variants and primary open-angle glaucoma: interactions with hypertension, alcohol intake, and cigarette smoking. Arch Ophthalmol 2011; 129(6): 773-80.
7.Galassi F, Renieri G, Sodi A, et al. Nitric oxide proxies and ocular perfusion pressure in primary open angle glaucoma. Br J Ophthalmol 2004; 88(6): 757-60.
8.Poderoso JJ. The formation of peroxynitrite in the applied physiology of mitochondrial nitric oxide. Arch Biochem Biophysic 2009; 484(2): 214-20.
9.Chen PF, Wu KK. Structural elements contribute to the calcium/calmodulin dependence on enzyme activation in human endothelial nitric-oxide synthase. J Biol Chem 2003; 278(52): 52392-400.
10.Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, et al. Structure and chromosomal localization of the

human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. J Biol Chem 1993; 268(23): 17478-88.
11.Casas JP, Cavalleri GL, Bautista LE, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. Am J Epidemiol 2006; 164(10): 921-35.
12.Motallebipour M, Rada-Iglesias A, Jansson M, et al. The promoter of inducible nitric oxide synthase implicated in glaucoma based on genetic analysis and nuclear factor binding. Mol Vis 2005; 11: 950-7.
13.Haefliger IO, Dettmann E, Liu R, et al. Potential role of nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. Surv Ophthalmol 1999; 43: S51-8.
14.Stamer WD, Lei Y, Boussommier-Calleja A, et al. eNOS, a pressure-dependent regulator of intraocular pressure. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011; 52(13): 9438-44.
15.Borghi V, Bastia E, Guzzetta M, et al. A novel nitric oxide releasing prostaglandin analog, NCX 125, reduces intraocular pressure in rabbit, dog, and primate models of glaucoma. J Ocul Pharmacol Ther 2010; 26(2): 125-32.
16.Neufeld AH, Hernandez MR, Gonzalez M. Nitric oxide synthase in the human glaucomatous optic nerve head. Arch Ophthalmol 1997; 115(4): 497-503.
17.Colombo MG, Paradossi U, Andreassi MG, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease. Clin Chem 2003; 49(3): 389-95.
18.Berger K, Stögbauer F, Stoll M, et al. The glu298asp polymorphismin the nitric oxide synthase 3 gene is associated with the risk of ischemic stroke in two large independent case-control studies. Hum Genet 2007; 121(2): 169-78.
19.Kosior-Jarecka E, Łukasik U, Wróbel-Dudzińska D, et al. Risk factors for normal and high-tension glaucoma in poland in connection with polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene. PloS One 2016; 11(1): e0147540.
20.Kang JH, Wiggs JL, Rosner BA, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene variants and primary open-angle glaucoma: interactions with sex and postmenopausal hormone use. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010; 51(2): 971-9.
21.Magalhães da Silva T, Rocha AV, Lacchini R, et al. Association of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene with the risk of primary open angle glaucoma in a Brazilian population. Gene 2012; 502(2): 142-46.
22.Godfrey V, Chan SL, Cassidy A, et al. The functional consequence of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in young healthy volunteers. Cardiovascul Drug Rev 2007; 25(3): 280-8.
23.McDonald DM, Alp NJ, Channon KM. Functional comparison of the endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp polymorphic variants in human endothelial cells. Pharmacogenet Genomic 2004; 14(12): 831-9.

Iran South Med J 2017; 20(2): 135-142

Original Article

Study of eNOS Glu298Asp Polymorphism in Glaucoma Patients in Gilan Population

Z. Salehi [1*], M. Gholaminia [1], Z. Gholaminia [1], MR. Panjtanpanah [2]

[1] Department of Biology, School of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
[2] Department of ophthalmology, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

(Received 5 Jun, 2016 Accepted 30 Aug, 2016)

Abstract

Background: Glaucoma is the leading cause of irreversible blindness worldwide. It is characterized by degeneration of the retinal ganglion cells and optic nerve damage. Vascular dysregulation plays an important role in the etiology of glaucoma. Nitric oxide (NO) increases blood flow in the vessels of the tissue and helps to overcome the stress. Circulating NO is synthesized in the vascular endothelium by action of endothelial nitric oxide synthase (eNOS). Glu298Asp is one of the common polymorphism of eNOS gene. This study evaluates the association of eNOS Glu298Asp polymorphism with glaucoma.

Materials and Methods: This case-control study included 110 glaucoma patients and 121 controls. Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes. Genotypes were detected using a PCR-RFLP method. Statistical analysis was performed using the MedCalc program (version 12.1).

Results: The frequency of GG, GT and TT genotypes in controls were 0.52, 0.42 and 0.06, respectively while in glaucoma patients were 0.6, 0.32 and 0.08, respectively. No significant differences in genotypes frequencies were found between patients and controls ($p=0.24$, $\chi^2=2.78$). In control and patient groups, the frequency of G allele was 0.73 and 0.76, respectively and the frequency of T allele were 0.27 and 0.24, respectively. The allele frequencies did not differ significantly between controls and patients ($p=0.56$, $\chi^2=0.33$).

Conclusion: It is suggested that eNOS Glu298Asp polymorphism may not be associated with the risk factor of glaucoma in the studied population. However, larger and different ethnicities-based populations are required to achieve a definitive conclusion.

Key words: eNOS gene, gene polymorphism, glaucoma, nitric oxide synthase

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Salehi Z, Gholaminia M, Gholaminia Z, Panjtanpanah MR. Study of eNOS Glu298Asp Polymorphism in Glaucoma Patients in Gilan Population. Iran South Med J 2017; 20(2): 135-142

Copyright © 2017 Salehi, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[*]*Address for correspondence:* Professor in Molecular Genetics, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan. Email: geneticzs@yahoo.co.uk