

بررسی ژن پلیمرز گامای میتوکندری در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس

Investigation of mitochondrial DNA polymerase gama (POLG) in patients with multiple sclerosis

حسین سلطانزاده^۱، محمد حسین صنعتی^{۱*}، میترا عطایی^۱، مسعود هوشمند^۱، سیدمسعود نبوی^۲، کاظم پریور^۳

۱- به ترتیب استادیار، دانشیار، کارشناس ارشد، دانشیار، پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

۲- دانشیار، دانشگاه شاهد

۳- استاد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران

Soltanzadeh H¹, Sanati MH^{*1}, Ataei M¹, Hushmand M¹, Nabavi M², Parivar K³

1. Assistant Professor, Associate Professor, Graduated MSc Student, Associate Professor, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Iran

2. Associate Professor, Shahed University

3. Professor, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mhsanati@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۶ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۶)

چکیده

بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) بیماری خود ایمن چند عاملی سیستم اعصاب مرکزی است که در بالغین جوان شیوع دارد و در اثر عوامل ناشناخته در افرادی با وجود زمینه مساعد ژنتیکی ایجاد می شود. شواهدی وجود دارد که نقش میتوکندری را در این بیماری پررنگ می کند. انتقال بیشتر بیماری از مادر به فرزند تا از پدر به فرزند و شباهت موجود بین نقص های بینایی ایجاد شده در بیماران MS با آنچه در مبتلایان به بیماری میتوکندری لبر LHON وجود دارد و همچنین ضعف و ناتوانی در دست و پای این بیماران، از دلایلی هستند که نشان دهنده نقش احتمالی میتوکندری در بیماری MS می باشد. آنزیم پلیمرز گامای میتوکندری کاندید احتمالی بیماری MS است. بررسی ژن کد کننده این آنزیم می تواند توضیحات جدیدی برای درک بهتر دلایل علایم بالینی این بیماری باشد. جهش در این ژن با ۵۰ بیماری مختلف در ارتباط است. برای بررسی این احتمال که جهش در ژن با افزایش استعداد به این بیماری همراه باشد اگزون های ۷، ۸، ۹ و ۱۳ بر روی ۶۱ نمونه فرد مبتلا به MS و ۴۰ نمونه کنترل سالم نواحی مزبور تکثیر و در نهایت تمام نمونه ها جهت وجود یا فقدان جهش توالی یابی شدند. مقایسه نتایج حاصل از توالی ژن در نمونه های بیمار کاملاً مشابه با نمونه های کنترل سالم و توالی های گزارش شده بود به طوری که تفاوت معنی داری بین گروه سالم و بیمار نشان نداد. البته عدم وجود جهش در این اگزون ها نمی تواند ارتباط بیماری و این ژن را منتفی کند بلکه نیاز به تحقیقات بیشتر در جمعیت های بزرگتر و با در نظر گرفتن تمام اگزون ها دارد.

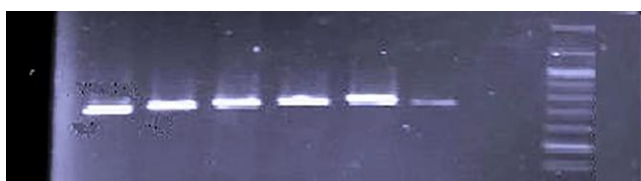
واژه های کلیدی

مالتیپل اسکلروزیس
پلیمرز گامای میتوکندری

جهش
DNA

جدیدی برای درک بهتر دلایل علائم بالینی این بیماری باشد. با توجه به مطالعات فوق‌الذکر این کار با اهداف زیر انجام شده: (۱) دسترسی به سنجش‌های جدید و ارتباط جهش‌ها با بیماری؛ (۲) از آنجا که اطلاعات بسیار محدودی در خصوص ارتباط ژن پلیماز گامای میتوکندری با بیماری MS وجود دارد شناسایی حتی یک جهش برای تعیین استراتژی‌های جدید جهت غربالگری بیماری و اتخاذ روش‌های درمانی مناسب برای پیشگیری از عوارض آتی می‌تواند کمک شایانی به این بیماری کرده و همچنین نتایج دقیق‌تری در ارتباط با نقش POLG در بیماری MS ارائه می‌کند.

آگزون‌های ۷، ۸، ۹ و ۱۳ بر روی ۶۱ نمونه فرد مبتلا به MS و ۴۰ نمونه کنترل سالم مورد بررسی قرار گرفت. با طراحی آغازگرها نواحی مزبور تکثیر شدند (شکل ۱) و در نهایت تمام نمونه‌ها جهت وجود یا فقدان جهش توالی‌یابی شدند.



شکل ۱- نتیجه حاصل از تکثیر قطعه ۷۵۰ جفت بازی آگزون‌های ۷، ۸ و ۹ با استفاده از تکنیک PCR. ستون آخری کنترل منفی این واکنش می‌باشد. ستون انتهایی سمت راست نشانگر DNA می‌باشد.

محققان جهش‌های POLG و نقش آن را در بیماری‌های مختلف بررسی کرده‌اند. بیش از ۵۰ نوع بیماری با جهش‌های موجود در این ژن در افزایش استعداد به بیماری‌هایی مانند دیابت، الزایمر، پارکینسون، سندرم آلزایمر، انسفالوپاتی و کاردیومیوپاتی از دست رفتن شنوایی ضعف ماهیچه کوری به اثبات رسیده است (Alessio et al 2003; Chan et al. 2005; Hassan et al. 2006).

آتاکسی تانژکتازی یک بیماری با الگوی وراثتی مغلوب اتوزومی است. این بیماری از نظر خصوصیات بالینی شبیه بیماری MS می‌باشد. مطالعه با میکروسکوپ الکترونی در میتوکندری بیماران آتاکسی نشان داد که در این بیماران میتوکندری‌های غیرطبیعی که از لحاظ مورفولوژی تغییر شکل داده‌اند وجود دارد که این عمل باعث کاهش عملکرد میتوکندری می‌شود. آتاکسی علاوه براینکه در زمره بیماری‌های نورولوژیک قرار گرفته در دسته بیماری‌های

بیماری مالتیپل اسکلروزیس ام اس (MS) بیماری خود ایمن چند عاملی سیستم اعصاب مرکزی به واسطه سلول‌های تی می‌باشد که عوامل محیط و ژنتیک در آن سهم هستند. سه مشخصه اصلی آن التهاب، تخریب میلین و افزایش سلول‌های گلیال است (Compston et al. 1994; Alastair and Alasdair 2002). آغاز بیماری بین سنین ۲۰ تا ۳۰ سال است. همانند اغلب بیماری‌های با واسطه سیستم ایمنی معمولاً زنان بیشتر از مردان بدان مبتلا می‌شوند. شیوع MS درخوشاوندان درجه یک ۲۰ بار بیشتر از جمعیت عمومی است مهمترین نواحی کد کننده ژنتیکی که تا به امروز در ارتباط با استعداد ابتلا به MS شناخته شده آلل‌های MHC است (Carrara et al. 1995).

شواهدی وجود دارد که نقش میتوکندری را در این بیماری پررنگ می‌کند. مشاهده انتقال بالاتر بیماری MS از مادر به فرزند تا از پدر به فرزند و شباهت بالینی بین نقص‌های بینایی ایجاد شده در بیماران MS با نقص‌های که در مبتلایان به بیماری میتوکندری (LHON) یا لبر مشاهده می‌شود دلیل دیگری است که این فرضیه را تقویت می‌کند. بیشتر از ۵۰ درصد شجره نامه‌های مبتلا به لبر واجد یک یا تعداد بیشتری بیمار مبتلا به MS می‌باشد.

احتمال می‌رود وجود جهش‌های لبر برای استعداد ابتلا به MS موثر باشد. همراهی هاپلوتایپ‌های K و J مربوط به (DNA میتوکندریایی) با ام اس (MS) و لبر بیان کننده زمینه ژنتیک میتوکندریایی مشترک دو بیماری است. این داده‌ها فرضیه نقش میتوکندری در ابتلا به ام اس (MS) را تایید می‌کند. (Devries et al. 1996; Bauer et al. 2000)

شباهت علائم بالینی بیماری‌های میتوکندریایی با علائم بالینی بیماری MS نظیر خستگی، مشکلات بینایی و دمانس نشان می‌دهد که ارتباط MS با اختلالات میتوکندریایی بیشتر از یک اتفاق است (Devries et al. 1996).

بسیاری از افراد مبتلا به MS قدرت عضلانی خود را در بازوها و پاها همراه با پیشرفت بیماری از دست می‌دهند. فقدان قدرت عضلانی نه تنها در هنگام حمله رخ می‌دهد بلکه به عنوان پیشرفت تدریجی و بدون بهبود اتفاق می‌افتد.

آنزیم پلیماز گاما میتوکندری (POLG) کاندید احتمالی بیماری MS است. بررسی ژن کدکننده این آنزیم می‌تواند توضیحات

اروپایی از اجداد آن‌ها مشتق شده است. این اطلاعات نشان می‌دهد که این جهش علت عمومی اتاکسی و آلپرس سندرم در غرب محسوب می‌شود (Yi-Chung and Yi-Chun 2007).

عدم وجود این جهش در آسیا نمی‌تواند جمعیت ایرانی را نسبت به استعداد ژنتیکی برای ابتلا به این جهش‌ها مستثنی سازد بلکه باید در جمعیت‌های بزرگتر نیز این بررسی تکرار شود. این ژن بسیار محافظت شده بوده به طوری که این ژن در طی نسل‌ها و در افراد در گونه‌های مختلف یکسان و بدون تغییر مانده است. از طرف دیگر نتایج متفاوت بین بیماران آسیایی و دیگر کشورها به خصوص کشورهای اروپایی و آمریکایی می‌تواند دل بر تفاوت ژنتیکی نژاد ایرانی با نژاد اروپایی و آمریکایی باشد.

بهتر است سایر اگزون‌های ژن *POLG* با استفاده از cDNA یا حتی نواحی ایترونی جهت بررسی وجود جهش‌های احتمالی ناشناخته در بیماران ایرانی مورد بررسی قرار گیرد. توارث این بیماری بر اساس یک مدل ساده ژنتیکی نیست. احتمالاً این یک بیماری پلی‌ژنیک بوده و هر ژن به میزان کمی بر قابلیت ابتلا فرد می‌افزاید. به دلیل اینکه ژن مورد مطالعه هسته‌ای بوده و از الگوی وراثت مندلی پیروی می‌کند استفاده از بیماران با نسبت خانوادگی در شناسایی جهش‌ها مناسب‌تر به نظر می‌رسد.

نهایتاً نقش *POLG* در بیمار MS هنوز جای بحث دارد. بررسی موقعیت و عملکرد *POLG* با توجه به ناشناخته بودن علت بیماری MS و فقدان درمان قطعی برای آن، جهت شناختن علت یا عوامل موثر در ایجاد بیماری و سرانجام راهی برای پیشگیری و درمان آن مفید می‌باشد.

سپاسگزاری

هزینه این مطالعه از مرجع اعتبارات پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک تامین شده است.

منابع

- Alastair C, Alasdair C (2002) Multiple Sclerosis. *Journal of the Lancet* 359: 1221-1231.
 Andrews HE, Nichols D, Bates DM (2005) Mitochondrial dysfunction plays a key role in progressive axonal loss in Multiple Sclerosis. *Journal of Medical Hypotheses* 64: 669-677.
 Anna H, Hakonen T, Luoma B (2005) Mitochondrial DNA

میتوکندری هم طبقه‌بندی می‌شود. جهش‌های معروف و عمومی (w748s و A467T) آنزیم *POLG* در بیماری‌های مختلف گزارش شده است. این جهش‌ها به ترتیب در اگزون هفت و سیزده قرار دارد. این جهش‌ها با بسیاری از بی‌نظمی‌های میتوکندری ارتباط داشته و در بیماری اتوایمن اتاکسی و بیماری‌های مانند انسفالوپاتی سندرم آلپرس و صرع و ... در موارد متعدد گزارش شده است (Anna et al. 2005).

این اطلاعات وجود این جهش را به عنوان علت بیماری‌های نورولوژیکی تایید می‌کند. اخیراً نیز جهش‌هایی در دمین جدا کننده این آنزیم پیدا شده که علت مهمی بر فنوتیپ تجزیه نورونی وراثتی بیماری اتاکسی پارکینسون را می‌تواند توضیح دهد (Baruffini et al. 2006).

نقص در *POLG* که باعث تغییر ویژگی ملکولی و عملکردی این آنزیم می‌شود می‌تواند توضیحات جدیدی جهت درک بهتر ارتباط بین التهاب و دژنراسیون عصبی را بیان کند.

به نظر می‌رسد جهش‌های w748s و A467T در افراد مبتلا به MS به عنوان فاکتورهای مستعد ژنتیکی در احتمال پیشرفت در بیماران MS باشد. بررسی ارتباط ژن *POLG* با بیماری MS برای اولین بار انجام شود. لذا بیماران مذکور از لحاظ وقوع جهش‌های مذکور در اگزون‌های ۶، ۷، ۸ و ۱۳ مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج حاصل تفاوت معنی‌داری بین گروه سالم و بیمار نشان نداد به طوری که هیچ جهشی محرز نشد که این وضعیت از چندین جهت قابل بررسی است. اعتقاد بر آن است که این دسته از جهش‌ها به تنهایی قادر به ایجاد بیماری نبوده و وقتی با جهش‌های ثانویه دیگر در یک فرد همراه شود سبب بروز بیماری می‌شود. این جهش در اروپایی‌ها به عنوان یک هاپلوتاایپ مطرح بوده و در جمعیت نژاد اروپایی با فرکانس یک درصد گسترش یافته است (Andrews et al. 2005).

در مطالعه‌ای که توسط Lee et al. (2007) بر روی بیماران اتاکسی تلائزکتازی در تایوان انجام شده هیچ گونه جهشی در بیماران مشاهده نشد. چنین شرایطی چندین مفهوم را برای ما بیان می‌کند: اولاً احتمالاً این جهش می‌تواند ویژه یک جمعیت باشد؛ ثانیاً یک موسس باستانی در شمال اروپا، انگلستان، بلژیک، فلاندر، نوروز برای آن وجود داشته به طوری که این جهش در بیماران

Polymerase W748S Mutation: a common cause of autosomal recessive ataxia with ancient European Origin. *Journal of Human Genetics* 77: 430-41.

Baruffini E, Lodi T, Dallabona C, Puglisi A, Zeviani M, Ferrero I (2006) Genetic and chemical rescue of the *Saccharomyces cerevisiae* phenotype induced by mitochondrial DNA polymerase mutations associated with progressive external ophthalmoplegia. *Journal of Human Molecular Genetics* 15: 46-55.

Bauer MF, Hofman S, Neupert W (2000) Protein translocation into mitochondria the role of TIM complexes. *Journal of Trend Cell Biology* 10: 25-31.

Carrara F, Eoli M, La Manti L (1995) The contribution of LHON mitochondrial DNA mutation to multiple sclerosis. *Journal of Human Genetics* 57: 336-337.

Chan SS, Longley My, Copeland WC (2005) The common A467T mutation in the human mitochondrial DNA polymerase (POLG) compromises catalytic efficiency and

interaction with the accessory subunit. *Journal of Biomedical Chemistry* 280: 31-41.

Compton A, Kellar-wood H, Wood N (1994) Multiple sclerosis. *Journal of Baillieres Clinical Neurology* 3: 353-371.

Devries DD, Went LN, Bruny GW (1996) Genetic and biochemical impairment of mitochondrial complex I activity in a family with leber hereditary optic neuropathy and hereditary spastic dystonia. *Journal of Human Genetics* 58: 703-711.

Hassan H, Kumleh, Gholam H, Houshmand M, Sanati H (2006) Complex I deficiency in Persian multiple sclerosis patients. *Journal of the Neurological Sciences* 243: 65-69.

Yi-Chung Lee et al, Yi-Chun Lub (2007) Common mitochondrial DNA and POLG1 mutations are rare in the Chinese patients with adult-onset ataxia on Taiwan. *Journal of the Neurological Sciences* 254: 65-68.