



تحصیلات تکمیلی

پایان نامه کارشناسی ارشد در زیست‌شناسی - ژنتیک

عنوان:

بررسی پلی مورفیسم‌های ژن اینترلوکین ۳۳ و خطر مالتیپل اسکلروزیس

اساتید راهنما:

دکتر محمد حسین سنگتراش

دکتر درمحمد کردی تمندانی

استاد مشاور:

دکتر عباس نیک روش

تحقیق و نگارش:

مریم رجبی مقدم

(این پایان نامه از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه سیستان و بلوچستان بهره مند شده است)

آبان ۱۳۹۲

بسمه تعالی

این پایان نامه با عنوان
قسمتی از برنامه آموزشی دوره کارشناسی ارشد توسط دانشجو با
راهنمایی استاد پایان نامه تهیه شده است. استفاده از مطالب آن به منظور اهداف آموزشی
با ذکر مرجع و اطلاع کتبی به حوزه تحصیلات تکمیلی دانشگاه سیستان و بلوچستان مجاز می باشد.

مریم رجبی مقدم

این پایان نامه واحد درسی شناخته می شود و در تاریخ توسط هیئت داوران بررسی و درجه
..... به آن تعلق گرفت.

تاریخ

امضاء

نام و نام خانوادگی

استاد راهنما:

استاد راهنما:

استاد مشاور:

داور ۱:

داور ۲:

نماینده تحصیلات تکمیلی:



تعهدنامه اصالت اثر

اینجانب مریم رجبی مقدم تعهد می‌کنم که مطالب مندرج در این پایان‌نامه حاصل کار پژوهشی اینجانب است و به دستاوردهای پژوهشی دیگران که در این نوشته از آن استفاده شده است مطابق مقررات ارجاع گردیده است. این پایان‌نامه پیش از این برای احراز هیچ مدرک هم سطح یا بالاتر ارائه نشده است.

کلیه حقوق مادی و معنوی این اثر متعلق به دانشگاه سیستان و بلوچستان می‌باشد.

نام و نام خانوادگی دانشجو: مریم رجبی مقدم

تقدیم بہ:

پدرو مادر عزیزم، کہ تاج افتخاری، مستند بر سرم
و، مہر مہربانم کہ زندگی در کنار او یعنی خوشبختی...

سپاس

سپاس بی‌کران پروردگاریکتار که، هستی مان، بخشد و به طریق علم و دانش، رهنمونان شد و به هم‌نشینی
رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه‌چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت.

باشکر از اساتید ارجمند، دکتر سنگتراش و دکتر کردی که مراد تدوین پایان‌نامه حاضر یاری نمودند

و عمیق‌ترین سپاس‌ها از دوستان مهربان و همیشه‌همراهم

مرجان، آمنه، علییه، شهربانو، زهرا

به پاس قلب‌های بزرگشان.....

چکیده:

پیش زمینه: مالتیپل اسکلروزیس یک بیماری التهابی مزمن دمیالینه کننده سیستم اعصاب مرکزی است که منشأ خود ایمنی دارد. این بیماری در میان جوانان بیش تر بروز می کند، و منجر به بروز ناتوانایی های عصبی میگردد. در سال های اخیر محققان، به علت ماهیت التهابی مالتیپل اسکلروزیس، بر روی ژن های درگیر در تولید سایتوکاین ها تمرکز کرده اند. با توجه به اینکه اینترلوکین-۳۳ یک فاکتور بیولوژیکی مهم در بسیاری از بیماری های ایمنی شناخته شده است، هدف این پژوهش بررسی ارتباط پلی مورفیسم های این ژن با بیماری مالتیپل اسکلروزیس در نمونه هایی که از استان سیستان و بلوچستان تهیه شد، می باشد.

مواد و روش ها : جمع آوری نمونه های خون و استخراج DNA ژنومیک از ۱۰۰ فرد نرمال و ۱۰۰ فرد بیمار انجام شد. برای تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم های rs1157505 C/G و rs11792633 C/T در ژن IL-33، از روش Tetra primer ARMS PCR استفاده شد. نتایج حاصل از آنالیز مولکولی ژنوتیپ افراد بیمار و کنترل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS آنالیز شد.

نتایج: در نتایج این مطالعه ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم IL33 rs1157505 C/G و احتمال ابتلا به مالتیپل اسکلروزیس بین گروه شاهد و بیمار مشاهده نگردید. در صورتی که بین پلی مورفیسم IL33 rs11792633 C/T و ابتلا به این بیماری ارتباط معناداری مشاهده شد و آلفا T از این پلی مورفیسم به عنوان نوعی فاکتور محافظتی در برابر خطر ابتلا به مالتیپل اسکلروزیس مشخص شد. (P-value = 0.009, OR = 0.56, CI95% = 0.36 – 0.86)

بحث : این مطالعه اولین بررسی پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۳۳ در جمعیت ایران و ارتباط آن با بیماری مالتیپل اسکلروزیس است. پیشنهاد می شود که برای تایید داده های به دست آمده، مطالعات بیشتر با تعداد نمونه بیشتر و در جمعیت های مختلف انجام شود.

واژه های کلیدی : مالتیپل اسکلروزیس، پلی مورفیسم، اینترلوکین ۳۳

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱- مقدمه
۵	فصل دوم: مروری بر منابع
۶	۱-۲- تاریخچه مالتیپل اسکلروزیس
۶	۲-۲- مالتیپل اسکلروزیس و علائم آن
۷	۱-۲-۲- مشخصات بالینی
۸	۳-۲- سیر بیماری
۹	۴-۲- پاتولوژی
۱۰	۵-۲- اپیدمیولوژی
۱۱	۶-۲- تشخیص بیماری MS
۱۱	۱-۶-۲- تشخیص بالینی
۱۱	۲-۶-۲- بررسی آزمایشگاهی
۱۱	۷-۲- درمان بیماری MS
۱۲	۸-۲- فاکتورهای محیطی، ژنتیکی و ایمنونولوژیکی مؤثر در مالتیپل اسکلروزیس

۱۲	۱-۸-۲- فاکتورهای محیطی.....
۱۳	۲-۸-۲- ملاحظات ژنتیکی.....
۱۴	۳-۸-۲- ایمونوپاتولوژی.....
۱۴	۱-۳-۸-۲- نقش سلول های T.....
۱۵	۲-۳-۸-۲- نقش سایتوکاین ها و کموکاین ها.....
۱۷	۳-۳-۸-۲- نقش سلول های B.....
۱۹	۴-۳-۸-۲- نقش سلول های دندریتیک.....
۲۰	۵-۳-۸-۲- نقش میکروگلیاها/ماکروفاژها.....
۲۱	۶-۳-۸-۲- نقش Natural killer cells.....
۲۱	۷-۳-۸-۲- نقش ماست سل ها.....
۲۳	۹-۲- تغییرات ژنتیکی طبیعی (چندشکلی یا پلی مورفیسم).....
۲۳	۱-۹-۲- پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی.....
۲۳	۲-۹-۲- روش های شناسایی SNP.....
۲۴	۱-۲-۹-۲- روش ARMS-PCR.....
۲۶	۱۰-۲- ژن های مورد مطالعه در این تحقیق.....
۲۶	۱-۱۰-۲- اینترلوکین ۳۳ (IL-33).....
۲۹	۱-۱۰-۲- نقش IL-33 در سیستم عصبی مرکزی.....

فصل سوم: مواد و روش‌ها	۳۰
۳-۱- جمع‌آوری نمونه مورد مطالعه	۳۱
۳-۲- استخراج DNA از نمونه خون	۳۱
۳-۳- اصول کلی تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس (PCR)	۳۱
۳-۳-۱- مواد مورد نیاز برای واکنش PCR	۳۲
۳-۴- روش انجام PCR	۳۲
۳-۴-۱- انجام تکنیک Tetra primer ARMS-PCR	۳۲
۳-۵- بررسی پلی مورفیسم IL-33 rs1157505 C/G	۳۳
۳-۵-۱- الکتروفورز محصول PCR برای IL-33 rs1157505 C/G	۳۴
۳-۶- بررسی پلی مورفیسم IL-33 rs11792633 C/T	۳۵
۳-۶-۱- الکتروفورز محصول PCR برای IL-33 rs11792633 C/T	۳۶
فصل چهارم: نتایج	۳۷
۴-۱- بررسی خصوصیات گروه‌های بیمار و سالم	۳۸
۴-۲- نتایج استخراج DNA	۳۹
۴-۳- نتایج Tetra ARMS- PCR	۳۹
۴-۳-۱- پلی مورفیسم IL-33 rs1157505 C/G	۳۹
۴-۳-۲- پلی مورفیسم IL-33 rs11792633 C/T	۴۴

۴۹.....	۳-۳-۴- بررسی ارتباط ترکیب ژنوتیپ‌های مختلف با مالتیپل اسکلروزیس
۴۹.....	۳-۳-۴-۱- IL-33 rs11792633 C/T و IL-33 rs1157505 C/G
۵۰.....	فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری
۵۱.....	۵-۱- بحث
۵۳.....	۵-۲- نتیجه‌گیری نهایی
۵۳.....	۵-۳- پیشنهادات
۵۴.....	منابع
۶۴.....	پیوست‌ها
۶۵.....	پیوست شماره یک: نحوه‌ی استخراج DNA از خون
۶۸.....	پیوست شماره‌ی دو: تعیین غلظت و خلوص DNA
۶۹.....	پیوست شماره‌ی سه: الکتروفورز محصول PCR

فهرست جداول

صفحه	عنوان جدول
	فصل دوم
۱۴.....	جدول ۱-۲- خطر ابتلا به مالتیپل اسکلروزیس.....
	فصل سوم
۳۳.....	جدول ۱-۳- مشخصات پرایمر مورد استفاده برای IL-33 GC.....
۳۴.....	جدول ۲-۳- غلظت‌های مورد نیاز برای هر واکنش PCR.....
۳۵.....	جدول ۳-۳- مشخصات پرایمر مورد استفاده برای IL-33 C/T.....
	فصل چهارم
۳۸.....	جدول ۱-۴- مقایسه‌ی خصوصیات سن و جنس در دو گروه بیمار و سالم.....
۴۱.....	جدول ۲-۴- مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌ها IL-33 rs1157505 C/G در دو گروه بیمار و سالم.....
۴۲.....	جدول ۳-۴- مقایسه فراوانی ژنی IL-33 rs1157505 C/G در دو گروه بیمار و سالم.....
۴۶.....	جدول ۴-۴- مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌ها IL-33 rs11792633 C/T در دو گروه بیمار و سالم.....
۴۷.....	جدول ۵-۴- مقایسه فراوانی ژنی IL-33 rs11792633 C/T در دو گروه بیمار و سالم.....
۴۹.....	جدول ۶-۴- فراوانی ژنوتیپ‌های IL33 C/G و IL33 C/T.....

فهرست اشکال

صفحه	عنوان شکل
------	-----------

فصل دوم

۷.....	شکل ۱-۲- مقایسه آکسون طبیعی و غیر طبیعی جایی که پوشش میلینی آسیب میبیند.....
۱۸.....	شکل ۲-۲- مدل فرضی عملکرد سلول های سیستم ایمنی ذاتی علیه میلین.....
۲۲.....	شکل ۳-۲- سایتوکاین های ایمنی ذاتی و نقش آن در تمایز T naïve.....
۲۵.....	شکل ۴-۲- دیاگرام نمایش روش Tetra primer ARMS PCR برای شناسایی SNP.....
۲۷.....	شکل ۵-۲- جایگاه IL-33 بر روی کروموزوم شماره ۹.....
۲۸.....	شکل ۶-۲- عملکرد IL-33 به عنوان یک سایتوکاین پیش التهابی.....

فصل چهارم

۳۹.....	شکل ۱-۴- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده روی ژل آگارز.....
۴۰.....	شکل ۲-۴- تصویر ژل آگارز ۳٪ برای بررسی وضعیت پلی مورفیسم IL-33 rs1157505 C/G.....
۴۳.....	شکل ۳-۴- نمودار فراوانی ژنوتیپی IL-33 rs1157505 به تفکیک گروه بیمار و سالم.....
۴۳.....	شکل ۴-۴- نمودار فراوانی آلی IL-33 rs1157505 به تفکیک گروه بیمار و سالم.....
۴۵.....	شکل ۵-۴- تصویر ژل آگارز ۳٪ برای بررسی وضعیت پلی مورفیسم IL-33 rs11792633 C/T.....
۴۵.....	شکل ۶-۴- تصویر ژل آگارز ۳٪ برای بررسی وضعیت پلی مورفیسم IL-33 rs11792633 C/T.....
۴۸.....	شکل ۷-۴- نمودار فراوانی ژنوتیپی IL-33 rs11792633 به تفکیک گروه بیمار و سالم.....
۴۸.....	شکل ۸-۴- نمودار فراوانی آلی IL-33 rs11792633 به تفکیک گروه بیمار و سالم.....

فهرست علائم

نشانه	علائم
نانومتر	nm
میکرولیتر	μ l
مولار	M
گرم بر میکرولیتر	g/ μ l
نانومولار	nM
حجمی-وزنی	w/v
حجمی-حجمی	v/v
جفت‌باز	Bp
دقیقه	min
دور در دقیقه	rpm

فصل اول

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس (MS) از شایع ترین بیماری های التهابی نورولوژیک در سنین جوانی می باشد که اولین بار در سال ۱۸۶۸ توسط Jean Martin charcot توصیف شد [۱]. به طور کلی بیماری هایی که به تخریب میلین (پوشش لیپیدی سلول های عصبی) منجر می شوند، جایگاه ویژه ای در نورولوژی^۲ دارند و در این بین بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) با توجه به اینکه شایع ترین بیماری تخریب کننده میلین است، اهمیت خاصی دارد. این بیماری با چندین نقطه تخریب میلین و التهاب مزمن در مغز مشخص می شود. سیر بیماری مزمن است و اغلب سال ها طول می کشد [۲]. زنان بیشتر از مردان در خطر ابتلا قرار دارند، به طوری که در برخی کشورها زنان چهار برابر مردان به این بیماری مبتلا می شوند [۳]. تغییرات بیماری زایی عمومی شامل تخریب میلین، ناکافی بودن بازسازی میلین در این محل ها، آسیب آکسون و تشکیل پلاک است [۱].

بیماری MS دارای چهار الگوی مشخص است که عبارتند از: عودکننده-بهبودیابنده، پیش رونده اولیه، پیش رونده ثانویه، پیش رونده - عودکننده. عود MS منعکس کننده اپیزودهای التهابی است که در صورتی که منتهی به تخریب نورونی شود می تواند سبب ایجاد ناتوانی های پیش رونده گردد. تعداد بسیاری از بیماران مبتلا به MS دارای بهم ریختگی عصبی حاد می باشند. اینها ممکن است دربرگیرنده بهم ریختگی عصب بینایی در مغز و نخاع باشند. بروز نشانه های نخستین، ضعف اندام ها، بهم ریختگی عصب بینایی، بی حسی و مورمور شدن، دوبینی و سرگیجه از دیگر موارد می باشند [۴].

این بیماری به ترتیب در اروپا، مدیترانه شرقی، آمریکا، جنوب شرقی آسیا و آفریقا بیشترین میزان شیوع را دارد. درصد بیماران مبتلا به MS در آمریکا ۷۵ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر می باشد. مولتیپل اسکلروزیس سومین علت ناتوانی در آمریکاست. در ایران میزان شیوع این بیماری تقریباً ۴۰ در ۱۰۰۰۰۰ نفر می باشد [۶و۵].

مطالعات نشان داده‌اند که عوامل محیطی، ایمونولوژیک و ژنتیکی نقش مهمی در بروز MS دارند [۲]. اگرچه علت MS تاکنون شناخته نشده است، اما حملات خودایمنی تکرار شونده به سیستم اعصاب مرکزی (CNS) مسئول آسیب التهابی اکسونی و در پی آن ناتوانی در افراد مبتلا به این بیماری است و نکته حائز اهمیت، دخالت مشخص سلول‌های سیستم ایمنی، به خصوص سلول‌های T کمکی (CD4+)، در پیشرفت بیماری است [۸ و ۷]. چندین مطالعه اثبات کرده است که ضایعات MS انواع مختلفی از لکوسیت‌ها را دربرمیگیرد شامل لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک [۹]. در بیماران MS ضایعات CNS و لکوسیت‌ها سطح سایتوکاین‌ها و فاکتورهای فعال رونویسی از قبیل NF-κB را افزایش می‌دهند که می‌توانند منجر به افزایش بیان ژن‌های التهابی و مولکول‌های سمی شناخته شده در ترویج دمیلینه شدن، شوند [۶].

در سال‌های اخیر به علت ماهیت التهابی MS، محققان روی ژن‌های کدکننده سایتوکاین‌ها تمرکز کرده‌اند و تاثیر پلی‌مورفیسم چند سایتوکاین از جمله TNFA IL-1A, IL-1B, IL-10, IL-4, در ابتلا به مالتیپل اسکلروزیس مورد بررسی قرار گرفته است [۱۰].

IL-33 یازدهمین عضو توصیف شده از خانواده IL-1 است. گیرنده این سایتوکاین ST2 نامیده می‌شود. ST2 گیرنده‌ای متعلق به خانواده بزرگ گیرنده‌های IL-1 می‌باشد و نقش مهمی را در التهاب و پاسخ‌های ایمونولوژیکی بازی می‌کند. IL-33 اثرات بیولوژیکی اش را از طریق یک کمپلکس هتروداایمیری متشکل از گیرنده ST2 و پروتئین کمکی IL-1R که عضو دیگری از خانواده IL-1R است اعمال می‌کند [۱۱].

اطلاعاتی که اخیراً به دست آمده نشان می‌دهد که IL-33 پروتئینی دارای عملکردی دوگانه است که ممکن است نقش یک سایتوکاین پیش التهابی یا یک فاکتور نسخه برداری درون سلولی که دارای ویژگی‌های تنظیم کننده رونویسی است را بازی کند. ژن IL-33 روی کروموزوم 9p24.1 قرار گرفته و بوسیله ارگان‌ها و سلول‌های مختلفی در انسان بیان می‌شود. در سطح پروتئین، IL-33 به صورت گسترده توسط فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اپی‌تلیال و سلول‌های اندوتلیال بیان می‌شود [۱۲]. این سایتوکاین تولید سایتوکاین‌های وابسته به Th1 و Th2 را سرعت می‌بخشد و رنج وسیعی از بیماری‌های خودایمنی را تحریک می‌کند. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که IL-33 یک سایتوکاین multifunctional است و به عنوان یک فاکتور بیولوژیکی مهم در

بسیاری از بیماری‌های ایمنی از قبیل آسم، روماتیسم، آلرژی و بیماری‌های قلبی عروقی شناخته شده است [۱۳ و ۱۴].

این پژوهش به بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم موجود در ژن IL-33 و استعداد ابتلا به مالتیپل اسکروزیس می‌پردازد. پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) مورد مطالعه در این تحقیق rs1157505 C/G و rs11792633 C/T در ژن IL-33 می‌باشند. با بررسی وضعیت SNP های مورد مطالعه در نمونه های بیمار و سالم و مقایسه آنها با یکدیگر، میزان دخالت پلی مورفیسم های مورد مطالعه در استعداد ابتلا به مالتیپل اسکروزیس مشخص می‌شود.

بررسی مولکولی تغییرات ژنتیکی در بیماری، سبب روشن شدن موارد مبهم در استعداد ابتلا به بیماری مالتیپل اسکروزیس می‌شود و شاید ما را به سمت درمان‌های موثرتر هدایت کند.

فصل دوم

مروری بر منابع

۱-۲- تاریخچه مالتیپل اسکلروزیس

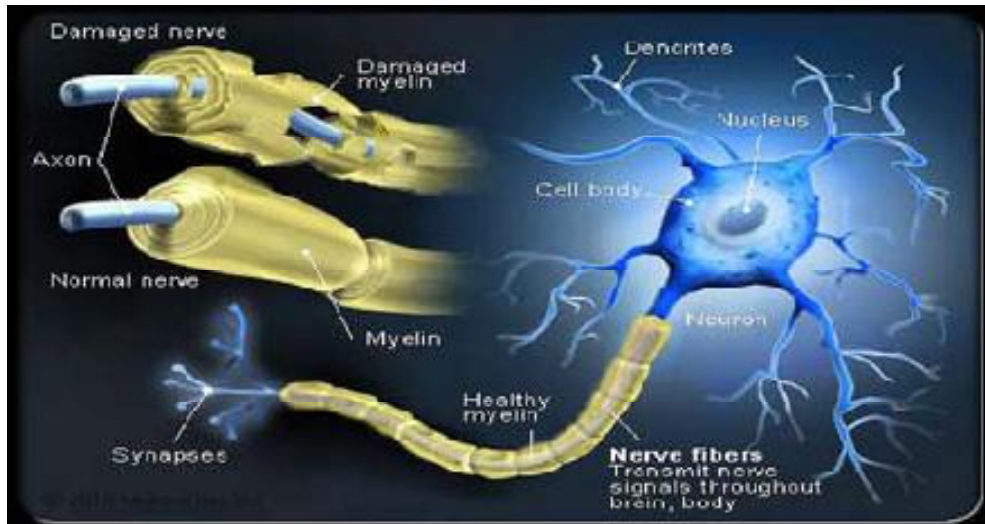
بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) اولین بار در سال ۱۸۶۸ میلادی توسط Jean Martin charcot، پروفیسور دانشگاه پاریس که او را پدر علم نورولوژی می نامند، توصیف شد [۱۵]. تا قرن ها قبل از charcot بر این باور بودند که یک بیماری پیشرونده عصبی وجود دارد و آن را جز بیماری های فلج اندام های تحتانی بدن طبقه بندی می کردند [۱۶]. در سال ۱۸۶۸، charcot نام رسمی Sclerose en pluques را به آن داد. این نام به معنی لکه ها یا پلاک های سفت شده می باشد [۱۵]. پس از وی، اوگن دوویس^۱ (۱۸۵۸-۱۹۳۰)، جوزف بالو^۲ (۱۸۹۵-۱۹۷۹) و پاول فردیناند شیلدر^۳ (۱۸۸۶-۱۹۴۰) نیز مواردی از بیماری را توصیف کردند. این بیماری در سال ۱۹۵۵ به نام مولتیپل اسکلروز نامگذاری شد [۱۷].

۲-۲- مالتیپل اسکلروزیس و علائم آن

مالتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری التهابی و خودایمنی است که بر سیستم اعصاب مرکزی (CNS) اثر گذاشته و منجر به تخریب میلین و تحلیل آکسونی می گردد [۱۸]. در بیماری MS، سلول های سازنده میلین (پوشش رشته های عصبی) و خود میلین آسیب می بینند. در پروسه تخریب میلین، رشته های عصبی زیرین آسیب می بینند که به آن آسیب آکسونی گویند. طی این بیماری، پلاک هایی بر اثر از بین رفتن غلاف میلین آکسون سلول های عصبی به وجود می آید. این پدیده در پی ترشح و عبور لنفوسیت ها از سد خونی - مغزی^۴ (BBB) رخ می دهد و با از بین رفتن الیگودندروسیت ها^۵ همراه می باشد [۱۹]. علائم بالینی بیماری در افراد مختلف، بسته به موقعیت و وسعت التهاب در مغز و نخاع، طیف گسترده ای از تظاهرات بالینی از مشکلات بینایی تا ناتوانی کامل حرکتی را شامل میشود از قبیل اختلال حسی، ضعف

-
1. Eugene Davis
 2. Joseph Balv
 3. Paul Ferdinand Shyldr
 4. Blood-Brain Barrier
 5. Oligodendrocyte

گرفتگی عضلات، اختلال بینایی، اختلال شناختی، لرزش اندام ها، اختلال در دفع ادرار و مدفوع، اختلال در عملکرد جنسی، اختلال در تعادل، فراموشی، کاهش شنوایی، کرختی، تاری دید و دوبینی در فرد [۲۰].



شکل ۱-۲- مقایسه آکسون طبیعی و غیر طبیعی جایی که پوشش میلینی آسیب میبیند [۶].

۱-۲-۲- مشخصات بالینی

در واقع هیچ اختلال نورولوژیکی وجود ندارد که جزء علائم MS قلم داد نشود. شروع MS ممکن است ناگهانی یا تدریجی باشد و گاهاً نشانه‌های آن به اندازه ای خفیف باشد که فرد به پزشک مراجعه نکند یا ممکن است به صورت تصادفی در MRI مشاهده شود. نشانه‌های MS به شدت متغیر بوده و به محل و شدت ضایعات CNS بستگی دارد [۲۱].

ضعف اندام ها ممکن است باعث تحلیل توان جسمی، خستگی و یا اختلال در راه رفتن گردد. احساس ضعف ناشی از فعالیت بدنی، مشخصه MS است. بیش از ۳۰ درصد بیماران دارای اسپاسم های متوسط تا شدید به ویژه در ناحیه پاها هستند. این حالت اغلب با اسپاسم های دردناک که با حرکت و کار فرد تداخل دارد همراه است. بهم ریختگی عصب بینایی با علایمی مانند کاهش قدرت بینایی، تاری دید یا کاهش قدرت تشخیص رنگ، در مرکز میدان بینایی تظاهر می یابد. این نشانه ها از حالت خفیف تا فقدان بینایی متغیر است. نشانه ها عمدتاً در یک چشم بروز می یابند، اما ممکن است هر دو چشم را نیز درگیر کند.