

بنام خداوند جان و خرد



دانشکده پردیس بین الملل

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی گرایش سلولی و مولکولی

بررسی پلی مورفیسم $C>T$ 1514- ژن TBX21 در بیماران ایرانی مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس

از:

فاطمه اکبریان

به راهنمایی:

دکتر محمدحسین صنعتی

شهریورماه ۱۳۹۲

دانشکده پردیس بین الملل

گروه زیست شناسی

گرایش سلولی و مولکولی

بررسی پلی مورفیسم $C>T$ 1514- ژن TBX21 در بیماران ایرانی مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس

از:

فاطمه اکبریان

به راهنمایی:

دکتر محمدحسین صنعتی

استادان مشاور:

دکتر زیور صالحی

دکتر سید مسعود نبوی

با سپاس فراوان

از استاد راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر صنعتی

که با راهنمایی های بی دریغ و همه جانبه شان مرا در به انجام رساندن این پروژه و نوشتن پایان نامه مساعدت فرمودند.

و از اساتید محترم مشاور سرکارخانم دکتر صالحی و جناب آقای دکتر نبوی

که با توصیه ها و نظرات ارزشمند خویش در تکمیل این پایان نامه نقش موثری داشتند.

و از عزیزانی که در بخش بیوتکنولوژی پزشکی پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری اینجانب را یاری نمودند .

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

که وجود نازنینشان همواره مایه آرامش و دلگرمی ام بوده و لحظه لحظه زندگیم را وامدار مهر و ایثار آنان هستم.

تقدیم به همسر مهربانم

که با لطف و یاری همیشگی اش در به ثمر رسیدن این پایان نامه همراهم بوده است.

فاطمه اکبریان

فهرست مطالب

عنوان.....	صفحه.....
چکیده فارسی.....	۹
چکیده انگلیسی.....	۱۰
فصل ۱: مقدمه	
۱-۱- مقدمه.....	۱
۱-۲- تاریخچه.....	۲
۱-۲-۱- تاریخچه پزشکی.....	۳
۳-۱- علائم بالینی.....	۴
۴-۱- تشخیص بیماری.....	۷
۵-۱- طبقه‌بندی انواع بالینی MS.....	۸
۶-۱- پیش‌آگاهی بیماری MS.....	۱۰
۷-۱- پاتوفیزیولوژی.....	۱۰
۱-۷-۱- خودایمنی.....	۱۰
۲-۷-۱- شکست سد خونی- مغزی.....	۱۳
۳-۷-۱- مدل آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE) برای MS.....	۱۳
۸-۱- اپیدمیولوژی.....	۱۴
۹-۱- اتیولوژی.....	۱۷
۱-۹-۱- عوامل محیطی.....	۱۷
۲-۹-۱- نقص تنظیمی در سیستم ایمنی.....	۱۹
۳-۹-۱- استعداد ژنتیکی.....	۲۰
۱۰-۱- مطالعات پیوستگی.....	۲۲
۱۱-۱- ژن کاندید در بیماری MS.....	۲۲
۱۲-۱- مطالعات ارتباط کل ژنوم (GWAS).....	۲۳
۱۳-۱- ژنهای دخیل در بیماری MS.....	۲۴
۱-۱۳-۱- مجموعه سازگاری بافتی اصلی (MHC) و هتروژنی.....	۲۴
۲-۱۳-۱- دیگر نواحی مرتبط با MHC.....	۲۵
۳-۱۳-۱- گیرنده IL7R.....	۲۵
۱۴-۱- ایمونولوژی بیماری مالتیپل اسکلروزیس.....	۲۶
۲-۱۴-۱- Effector T-cells در بیماری MS.....	۲۸

۲۹ T-helper 1 سلول‌های ۱۴-۳
۳۰ TBX21 ژن ۱۵-۱
۳۲ T-bet فاکتور رونویسی ۱۵-۲
۳۲ نقش تنظیمی T-bet در ایمنی و خودایمنی ۱۵-۲-۱
۳۳ T-bet تنظیم‌کننده اصلی تمایزات سلول‌های Th1 ۱۵-۲-۲
۳۳ نقش فاکتور T-bet در فراخوان کمپلکس‌های تغییردهنده اپی‌ژنتیکی در تمایز Th1 ۱۵-۲-۳
۳۴
۳۴ پلی مورفیسم‌های ژن TBX21 ۱۵-۳
۳۵ ناحیه پروموتوری ژن TBX21 ۱۵-۴
۳۶ اهداف تحقیق ۱۶-۱

۳۷ فصل ۲: مواد و روشها

۳۸ ۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز
۳۸ ۱-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت نمونه‌گیری
۳۸ ۲-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت استخراج DNA از خون محیطی
۳۸ ۳-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراس
۳۹ ۴-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت الکتروفورس ژل آگارز
۳۹ ۵-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام تکنیک پلی مورفیسم ساختار تک‌رشته‌ای (SSCP)
۴۰ ۲-۲- لیست دستگاه‌ها و تجهیزات
۴۱ ۳-۲- روش کار
۴۱ ۴-۲- مطالعه بیماران
۴۲ ۵-۲- نحوه نمونه‌گیری
۴۲ ۶-۲- استخراج DNA ژنومی از خون
۴۳ ۷-۲- ارزیابی کیفیت DNA
۴۴ ۸-۲- طراحی پرایمر
۴۶ ۹-۲- واکنش زنجیره‌ای پلی مرز (PCR)
۴۶ ۱-۹-۲- مواد لازم جهت انجام PCR
۴۸ ۲-۹-۲- برنامه دستگاه‌های چرخاننده‌ی دما برای تکثیر قطعات
۴۹ ۱۰-۲- الکتروفورس محصولات PCR بر روی ژل آگارز
۵۰ ۱۱-۲- تکنیک پلی مورفیسم ساختار تک‌رشته‌ای (SSCP)
۵۱ ۱-۱۱-۲- تهیه ژل SSCP با ۱۰٪ آکریل آمید
۵۱ ۲-۱۱-۲- تک‌رشته‌سازی و بارگیری محصولات PCR جهت SSCP

۵۲	۲-۱۱-۳- رنگ آمیزی ژل SSCP با نیترات نقره.....
۵۳	۲-۱۲-۱- تعیین توالی محصولات PCR.....
۵۳	۲-۱۲-۱- تعیین توالی.....
۵۳	۲-۱۲-۲- استفاده از نرم افزار برای بررسی توالی های تعیین شده.....
۵۴	۲-۱۳- بررسی بیوانفورماتیک پلی مورفیسم ها در نمونه های مذکور.....
۵۴	۲-۱۴- تحلیل آماری.....

فصل ۳: نتایج

۵۵	
۵۶	۳-۱- نتایج حاصل از مطالعه بیماران MS.....
۵۶	۳-۲- استخراج DNA.....
۵۷	۳-۳- انجام واکنش PCR.....
۵۸	۳-۴- نتایج SSCP محصولات مربوط به پروموتور ژن TBX21.....
۵۸	۳-۵- پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی موجود در ناحیه مورد بررسی ژن TBX21 به همراه نواحی جانبی.....
۶۰	
۶۱	۳-۶- بررسی توالی ها.....
۶۶	۳-۷- درصد هتروزیگوسیتی و فرکانس آللی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی مورد بررسی.....
۶۶	۳-۸- نتایج آماری فراوانی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی C>T1514- واقع در پروموتور ژن TBX21 در جمعیت ایرانی.....
۶۷	

فصل ۴: بحث و نتیجه گیری

۶۸	
۶۹	۴-۱- بحث و نتیجه گیری.....
۷۶	۴-۲- پیشنهادات.....

فصل ۵: منابع

۷۷

فهرست اشکال

- شکل (۱-۱) پلاکهای ناشی از MS ۴
- شکل (۲-۱) علائم بالینی MS ۵
- شکل (۳-۱) تصویر MRI ۸
- شکل (۴-۱) چهار نوع بالینی بیماری MS ۹
- شکل (۵-۱) الگوبرداری مولکولی ۱۱
- شکل (۶-۱) پاتولوژی بیماری MS ۱۲
- شکل (۷-۱) شیوع بیماری MS ۱۶
- شکل (۸-۱) شیوع MS در جنوب شرقی ایران ۱۷
- شکل (۹-۱) استعداد ژنتیکی خویشاوندی ۲۰
- شکل (۱۰-۱) تجمع انواع سلولهای ایمنی ۲۸
- شکل (۱۱-۱) تمایز سلول Th1 ۳۰
- شکل (۱۲-۱) ژن TBX21 ۳۱
- شکل (۱۳-۱) ساختار ژن TBX21 ۳۱
- شکل (۱-۳) DNA ژنومی استخراج شده از خون روی ژل آگارز ۱/۵ درصد ۵۶
- شکل (۲-۳) تصویر مربوط به ژل آگارز ۱/۵ درصد محصولات PCR ۵۷
- شکل (۳-۳) قطعه ۳۳۳ جفت‌بازی ناحیه پروموتوری ژن TBX21 ۵۸
- شکل (۴-۳) تصویر مربوط به ژل SSCP ۱۰ درصد محصولات PCR تک‌رشته ۵۹
- شکل (۵-۳) الگوی الکتروفورتیک ۶۰
- شکل (۶-۳) نقشه پلی مورفیسم rs17250932 بر روی ناحیه ۳۳۳ جفت‌بازی ۶۰
- شکل (۷-۳) توالی نواحی جانبی پلی مورفیسم rs17250932 ۶۱
- شکل (۸-۳) ترسیم نتیجه بلاست و توالی‌یابی نمونه سالم ۲۴ ۶۲
- شکل (۹-۳) ترسیم نتیجه بلاست و توالی‌یابی نمونه بیمار ۵۸ ۶۳
- شکل (۱۰-۳) ترسیم نتیجه بلاست و توالی‌یابی نمونه بیمار ۱۷ ۶۴
- شکل (۱۱-۳) نتیجه هم‌ردیفی چندگانه ۶۵
- شکل (۱۲-۳) درصد‌های هتروزیگوسیتی و آلی پلی مورفیسم rs17250932 در ژن TBX21 ۶۶

فهرست جداول

- جدول (۱-۱) امتیاز وضعیت ناتوانی گسترش یافته (EDSS)..... ۶
- جدول (۱-۲) توالی پرایمرهای رفت و برگشتی مورد استفاده جهت تکثیر یک قطعه از پروموتور ژن TBX21..... ۴۶
- جدول (۲-۲) نسبت مواد مورد نیاز PCR..... ۴۸
- جدول (۳-۲) برنامه PCR جهت تکثیر قطعه مورد نظر از پروموتور ژن TBX21..... ۴۹
- جدول (۴-۲) مواد لازم برای تهیه آکریل آمید ۱۰٪..... ۵۱
- جدول (۵-۲) مواد مورد نیاز برای تهیه بافر بارگیری..... ۵۱
- جدول (۱-۳) اطلاعات عمومی بیماران در مرحله نمونه گیری..... ۵۶
- جدول (۲-۳) مقدار P و نسبت شانس محاسبه شده برای پلی مورفسم rs17250932 در پروموتور ژن TBX21..... ۶۷
- جدول (۱-۴) تحقیقات صورت گرفته بر روی ارتباط ژن TBX21 با بیماری‌های خودایمن مختلف از سال ۲۰۰۳ تا ۲۰۱۰ (برگرفته از سایت NCBI)..... ۷۲

بررسی پلی مورفیسم $1514T>C$ - ژن $TBX21$ در بیماران ایرانی مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس
فاطمه اکبریان

بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) از جمله بیماری‌های خودایمنی با واسطه سلول‌های T در سیستم عصبی مرکزی است که استعداد توارثی، فاکتورهای محیطی و نقص‌های ایمنی نقش کلیدی را در بیماری‌زایی آن ایفا می‌کنند. سیستم ایمنی بدن و ژن‌های دخیل در آن در پاتوژنز بیماری MS نقش دارند، به طوری که یکی از علل بیماری فعالیت خودبخودی سلول‌های $Th1$ می‌باشد. یکی از فاکتورهای رونویسی دخیل بر روی مسیر تمایز این سلول‌ها $T-bet$ است که از طریق القا ایجاد ایتترفرون گاما، در تمایز سلول‌های $CD4^+ T$ به سلول‌های $Th1$ ضروری است. بیان ژن $TBX21$ موجب ایجاد فاکتور $T-bet$ می‌شود که تنظیم‌کننده کلیدی و فعال‌کننده برنامه ژنتیکی سلول $Th1$ است. با توجه به حضور پلی مورفیسم ویژه $1514T>C$ در بیماری‌های خودایمنی مشابه MS و تاثیر بسزای آن بر روی القا یا کاهش بیان ژن $TBX21$ از ناحیه پروموتری، در این پژوهش به بررسی حضور این پلی مورفیسم در بیماری MS پرداخته شد. در تحقیق حاضر، جهت بررسی فرکانس آللی و درصد هتروزیگوسیتی پلی مورفیسم $1514T>C$ ، از ۲۴۸ بیمار مبتلا به MS و ۱۶۳ فرد کنترل نمونه‌گیری صورت گرفت. سپس با بکارگیری تکنیک $SSCP-PCR$ ، الگوهای شکل‌گیری تکنوکلوئوتیدی ناحیه پروموتری تکثیر یافته مقایسه و توالی‌یابی شدند. طبق این بررسی، فراوانی آلل $1514T$ با افزایش بیماری MS ارتباط معنی‌داری دارد ($99/6\%$ در جمعیت بیمار در برابر $95/1\%$ در افراد کنترل، $P=0/002$). بنابراین ژنوتیپ CC اثری محافظتی در ابتلا به بیماری MS را گزارش می‌کند ($P=0/014$). بطور کلی، نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند بیان‌کننده ارتباط بین پلی مورفیسم $1514T>C$ واقع در پروموتر ژن $TBX21$ و بیماری خودایمنی MS در جمعیت ایرانی باشد، اگرچه جهت شناخت نقش ژن $TBX21$ در بیماری MS نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مالتیپل اسکلروزیس، ژن $TBX21$ ، پلی مورفیسم تکنوکلوئوتیدی $1514T>C$ ، تکنیک $SSCP-PCR$

Abstract

Investigation of TBX21 -1514T>C Polymorphism in Iranian Patients with Multiple Sclerosis

Fatemeh Akbarian

Multiple Sclerosis (MS) is a T- cell mediated autoimmune disease of the central nervous system, where genetic susceptibility, environmental factors, and immunological defects might play a key role in its pathogenesis. The immune system and its involved genes take part in the pathogenesis of MS. Considering the autonomous activity of Th1 cells as one reason for MS, many evaluations have been done on T-bet transcription factor. TBX21, which encodes T-bet factor, is a critical regulator of the commitment to the Th1 lineage and IFN- γ production. Considering the presence of -1514T>C polymorphism in the promoter region of TBX21 gene, which has been demonstrated to have significant association with other autoimmune diseases, it might be reasonable to investigate its association with susceptibility to MS. In the present study, we analyzed the genotypic frequencies of -1514T>C polymorphism between the 248 Iranian MS patients and the 163 healthy controls. By applying SSCP-PCR technique, the single strand conformation patterns of the amplicons were compared and sequenced. As a result, strong association between the wild -1514T allele and MS susceptibility was confirmed with the allelic frequency of 99.6% in patients vs. 95.1% in controls ($P= 0.002$), and thus the CC genotypic frequency of the TBX21 polymorphism (-1514T>C) reported protective effect against the disease ($P=0.014$). In conclusion, the results of this study suggest that the specific -1514T>C polymorphism of the TBX21 gene might be associated with the susceptibility to MS. However, further research is required to clarify the role of TBX21 gene in MS.

Keywords: Multiple Sclerosis, TBX21, -1514T>C Single Nucleotide Polymorphism, SSCP-PCR Technique.

فصل ١: مقدمه

۱-۱- مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس^۱ (MS) یک بیماری دمی‌لینه‌کننده^۲ التهابی^۳ مزمن سیستم عصبی مرکزی^۴ است، که توسط فعالیت خودبه‌خودی سلول‌های T بر علیه آنتی‌ژن‌های میلین آغاز شده و همراهی می‌شود (Sospedra and Martin, 2005). استعداد توارثی، فاکتورهای محیطی و نقص‌های ایمنی نقش‌های کلیدی را در بیماری‌زایی آن ایفا می‌کنند (Hoffjan and Akkad, 2010). گمان می‌شود عوامل محیطی بر روی افرادی که استعداد ژنتیکی به MS دارند در ایجاد این بیماری تاثیر گذار باشند (Compston, 2008). این بیماری که اغلب در جوانان و بانوان دیده شده است با شیوعی بین ۲ تا ۱۵۰ نفر در هر ۱۰۰/۰۰۰ نفر گزارش شده است (Rosati, 2001; Sadovnick, 2009). این بیماری که در ۱۵ سال اخیر به‌طور قابل توجهی در کشور ایران شیوع پیدا کرده، طبق آخرین گزارش انجمن MS در حال حاضر بیش از ۶۰۰۰۰ نفر را مبتلا کرده است.

مراحل مهم در بیماری‌زایی MS شامل ایجاد سلول‌های T خودتهاجمی^۵ اختصاصی مغز و تهاجم آنها به بافت‌های هدف است. سلول‌های T خودتهاجمی قبل از توانایی مهاجرت از سد خونی-مغزی^۶ در بافت‌های ایمنی محیطی^۷ به واسطه فاکتورهای متعددی فعال شده و پس از مهاجرت به مغز نیز بازفعال می‌شوند و به واسطه ترشح سیتوکین‌ها^۸ التهاب ایجاد می‌کنند (Hickey, 1991). این واکنش منجر به تخریب میلین و در پی آن سلول‌های عصبی می‌شود. تمایز سلول‌های کمکی T به انواع مختلف آنها توسط چندین فاکتور تعیین می‌شود، که شامل: سیتوکین‌ها، شدت پیام رسپتور سلول T^۹، نوع آنتی‌ژن، سلول ارائه‌کننده آنتی‌ژن^{۱۰}، و پیشینه ژنتیکی می‌باشد. اما تنظیمات اصلی تمایز سلول‌های T و مسیرهای سیتوکینی توسط فاکتورهای رونویسی سیتوپلاسمی و هسته‌ای فراهم می‌شود.

از بین انواع فاکتورهای رونویسی، T-bet به عنوان فاکتور رونویسی کلیدی در نمو سلول‌های T-helper1 و القای تولید اینترفرون گاما^{۱۱} شناخته شده است. ژن کدکننده این فاکتور که TBX21 نام دارد اولین بار توسط Szabo و همکاران در سال ۲۰۰۱ شناخته شد (Szabo, 2000). بسیاری از مطالعات صورت گرفته تا به امروز نشان‌دهنده افزایش بیان این ژن هنگام

¹ Multiple Sclerosis

² Demyelination

³ Inflammation

⁴ Central Nervous System

⁵ Autoaggressive T-Cells

⁶ Blood- brain barrier

⁷ Humoral immunity tissues

⁸ Cytokines

⁹ T-cell receptor

¹⁰ Antigen presenting cells

¹¹ Interferon gama (IFN γ)

عود بیماری در بیماران RRMS بوده است (Frisullo, 2009). ضمن بررسی بیان این ژن، طی دیگر مطالعات تاثیرگذاری درمان MS بر روی این ژن بطوری بوده است که با تیمار توسط داروهای موثر در بهبود MS همچون ایتترفرون بتا با کاهش بیان ژن شاهد کاهش عودها و در اثر تیمار با ایتترفرون گاما با افزایش بیان ژن افزایش عودها را شاهد بوده‌اند (Drulovic, 2009). بنابراین TBX21 نقش بسزایی در بیماری‌های خودایمن^۱ نشان داده است که آن را به عنوان یک بیومارکر احتمالی و هدف مناسب دارویی جهت درمان پیشنهاد می‌کند (Ji, 2011).

۱-۲- تاریخچه

۱-۲-۱- تاریخچه پزشکی

اطلاعات ثبت شده پزشکی در اوائل دهه ۱۸۳۰ نشان‌دهنده وجود بیماری MS در آن زمان می‌باشد. پزشک نورولوژیست فرانسوی، دکتر جین مارتین چارکوت^۲ (۱۸۲۵-۱۸۹۳)، اولین فردی بود که در سال ۱۸۶۸ مالتیپل اسکلروزیس را به عنوان یک بیماری ویژه تشخیص داد (Compston, 1988). او با توجه به شواهد پاتولوژیکی و کلینیکی این بیماری را Sclerose en plaques نامید. علائم و شواهدی که چارکوت را به سمت تمایز این بیماری سوق داد شامل لرزش، گفتار تلگرافی و تغییرات ادراکی بوده است (Compston, 1988). قبل از چارکوت، دو دانشمند پاتولوژیست یعنی رابرت کارسول^۳ و جین کرولهیر^۴ خیلی از مشخصات بالینی این بیماری را توضیح داده و ترسیم کرده بودند (شکل ۱-۱)، اما این بیماری را به عنوان یک بیماری مستقل شناسایی نکرده بودند (Compston, 1988). علی‌الخصوص کارسول جراحات ناشی از بیماری را به عنوان جراحات قابل توجه نخاعی همراه با آتروفی^۵ شناخت (Compston, 2008). در سال ۱۸۶۳، جورج ادوارد ریند فلچ^۶، پاتولوژیست سوئیسی، بر اساس شواهدی میکروسکوپی اعلام کرد که جراحات مربوط به التهاب در اطراف شریان‌های خونی پراکندگی دارند (Lassmann, 1999 and 2005).

¹ Autoimmune

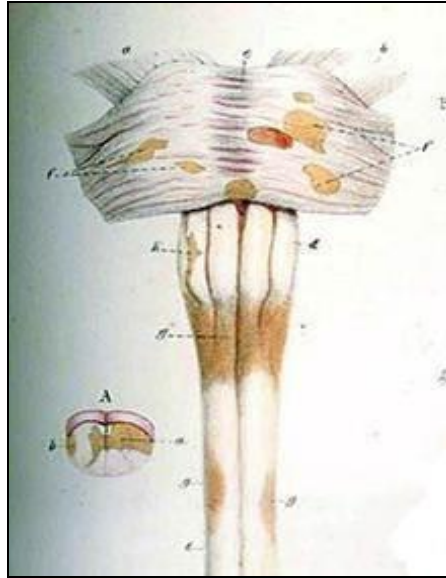
² Jean-Martin Charcot

³ Robert Carswell

⁴ Jean Cruveilhier

⁵ Autrophy

⁶ Georg Eduard Rindfleisch



شکل (۱-۱) پلاک‌های ناشی از MS. پلاک-
های قابل توجه در نخاع و ساقه مغز ترسیم
شده توسط رابرت کارسول در سال
۱۸۳۸ (Compston, 1988)

در قرن بیستم پیشرفت‌های مهمی در خصوص تئوری‌های علت و پاتوژنر بیماری MS صورت گرفت در حالی که درمان‌های موثر برای بیماری از سال ۱۹۹۰ شروع به پیدایش کرد (Compston, 2008). اواخر دهه ۱۹۷۰، ساخت داروهای بتا-اینترفرون-1b^۱ (با نام بتاسرون تهیه شده در آزمایشگاه برلکس^۲ در کالیفورنیا (Paty and Li, 1993))، بتا-اینترفرون-1a^۳ (با نام تجاری آونکس^۴ تولید شده در شرکت بیوژن^۵ در کمبریج (Jacobs et al., 1994)) و کوپلیمر (با نام تجاری کوپاکزون^۶ تولید شده در شرکت داروسازی تووا^۷ در اسرائیل (Johnson, 1995)) آغاز شد.

۱-۳- علائم بالینی

افراد مبتلا به بیماری MS به دلیل تخریب میلین در سلول‌های عصبی و افزایش این سیر تخریبی طی فازهای التهابی

¹ β -interferon-1b

² Berlex

³ β -interferon-1a

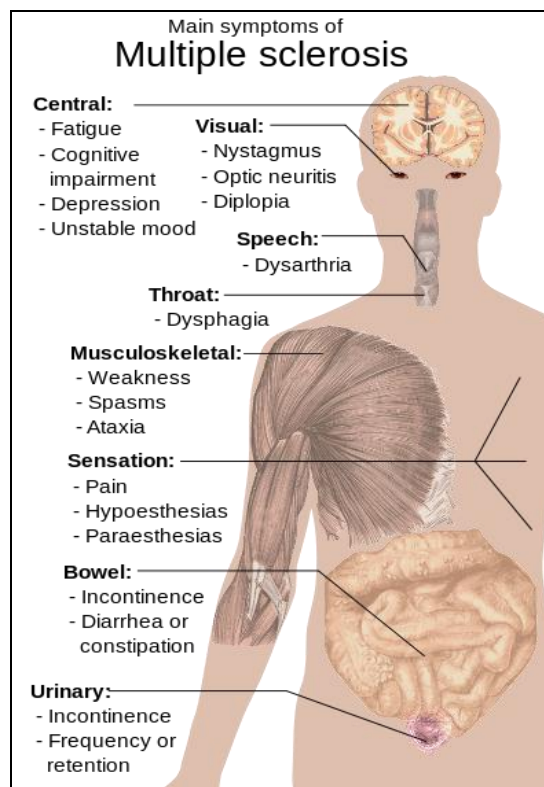
⁴ Avonex

⁵ Biogen

⁶ Copaxon

⁷ Teva

حاد و فازهای پیشرونده^۱ علائمی از خود بروز می دهند (شکل ۱-۲)، که عبارتند از تغییرات در حساسیت^۲، ضعف عضلانی، اسپاسم های ماهیچه ای غیر طبیعی و یا دشواری حرکت کردن؛ دشواری در تکلم و عدم تکلم^۳، عدم بینایی^۴، دشواری حفظ تعادل و آتاکسی (Freeman, 2001)؛ دوبینی، درد، اختلال در کنترل ادرار (Hennessey et al., 1999) و کاهش حافظه (Bobholz and Rao, 2003). همچنین اختلالات ادراکی و علائم احساسی از جمله افسردگی و حالات ناپایدار شایع هستند (Compston, 2008).



شکل (۱-۲) علائم بالینی MS. به دلیل تخریب میلین در سلول های عصبی و افزایش این سیر تخریبی علائم بالینی متعددی در اندام های مختلف غالباً به صورت همزمان بروز می یابند.

مقیاس بالینی موجود برای پیشروندگی بیماری و شدت علائم به نام امتیاز وضعیت ناتوانی گسترش یافته^۵ (EDSS) شناخته می شود و توسط پزشکان نورولوژیست بکار گرفته می شود (Kurtzke, 1983). نحوه محاسبه EDSS در جدول (۱-۱)

¹ Progressive

² Hypoesthesia

³ Dysarthria

⁴ Optic neuritis

⁵ Expanded disability status scale

جدول (۱-۱) امتیاز وضعیت ناتوانی گسترش یافته (EDSS) (Kurtzke, 1983)

۰= معاینه نورولوژیک طبیعی (درجه صفر در تمام موارد وضعیت عملکردی (FS))
۱= بدون ناتوانی، نشانه‌های مختصر در یک مورد از وضعیت عملکردی (درجه ۱)
۱/۵= بدون ناتوانی، نشانه‌های مختصر در بیش از یک مورد از وضعیت عملکردی
۲= ناتوانی مختصر در یک مورد از وضعیت عملکردی (درجه ۲)
۲/۵= ناتوانی مختصر در دو مورد از وضعیت عملکردی
۳= ناتوانی متوسط در یک مورد از وضعیت عملکردی با ناتوانی خفیف در سه یا چهار مورد، اگرچه بیمار کاملاً سرپا باشد
۳/۵= بیمار کاملاً سرپا ولی دچار ناتوانی متوسط در یک مورد از وضعیت عملکردی و یک یا دو مورد FS درجه ۲، دو مورد FS درجه ۳، یا پنج مورد FS درجه ۲ (بقیه ۱ یا ۰)
۴= بیمار سرپا و قادر به راه رفتن بدون کمک یا استراحت برای ۵۰۰ متر یا بیشتر
۴/۵= بیمار سرپا و قادر به راه رفتن بدون کمک یا استراحت برای ۳۰۰ متر یا بیشتر
۵= بیمار سرپا و قادر به راه رفتن بدون کمک و یا استراحت برای ۲۰۰ متر یا بیشتر
۵/۵= بیمار سرپا و قادر به راه رفتن بدون کمک و یا استراحت برای ۱۰۰ متر یا بیشتر
۶= برای راه رفتن در حدود ۱۰۰ متر با یا بدون استراحت به کمک یک طرفه نیاز دارد
۶/۵= برای راه رفتن در حدود ۲۰ متر بدون استراحت به کمک مداوم دو طرفه نیاز دارد
۷= بیش از حدود ۵ متر حتی با کمک نیز قادر به راه رفتن نیست. کاملاً محدود به صندلی چرخدار است. چرخ‌ها را خود حرکت می‌دهد و به تنهایی حرکت می‌کند.
۷/۵= نمی‌تواند بیش از چند قدم بردارد، محدود به صندلی چرخدار است، ممکن است برای جابجایی با صندلی به کمک احتیاج داشته باشد.
۸= کاملاً محدود به بستر یا صندلی است یا با صندلی چرخدار قابل جابجایی است، اما بیشتر زمان روز را خارج از بستر به سر می‌برد، بسیاری از عملکردهای مراقبت شخصی را حفظ کرده است. عموماً به‌طور موثر از بازوها استفاده می‌کند.
۸/۵= بیشتر زمان روز به بستر محدود است. به درجاتی به‌طور موثر از بازوها استفاده می‌کند، برخی از عملکردهای مراقبت شخصی را حفظ کرده است.
۹= بیمار درمانده در بستر، می‌تواند ارتباط برقرار کند و چیزی بخورد.

بروز علائم بالینی بیماری MS معمولاً یا با عود^۱ همراه است، یا با زوال پیشرونده عملکردهای نورولوژیک سیستم عصبی مرکزی همراه است و یا با هر دو به صورت ترکیبی (Lublin and Reingold, 1996). عودهای موجود در بیماران MS بصورت غیرقابل پیش‌بینی به میزان تخمینی ۱/۵ بار در هر سال رخ می‌دهند (Compston, 2008). عودها عمدتاً در فصول بهار و تابستان ایجاد می‌شوند (Tataru et al., 2006). عفونت‌های ویروسی مثل سرماخوردگی‌های عمومی، آنفولانزا و گاستروانتریت^۲ احتمال عود را افزایش می‌دهند (Compston, 2008). استرس هم به میزان زیادی باعث حمله می‌شود (Heesen et al., 2007). حاملگی میزان حمله را در زنان مبتلا به MS کاهش می‌دهد. اما در ماه‌های اولیه بعد از زایمان خطر

¹ Relapse

² Gastroenteritis

حمله برای مادر افزایش می‌یابد (Compston, 2008).

علائم بالینی مختلفی که در بیماران مشاهده می‌شود کم و بیش همزمان بروز می‌کنند، بطوری که طی مطالعاتی صورت گرفته گزارش شده است ۱۵٪ افرادی که اولین بار به پزشک مراجعه می‌کنند به علائم متعددی دچار شده‌اند (Paty et al., 1994). علائم اولیه که با شیوعی بالا گزارش شده‌اند به ترتیب شامل: تغییرات در حس در دست‌ها، پاها و صورت، اختلالات بینایی بصورتی که نابینایی کامل یا جزئی صورت گیرد، ضعف، دوبینی، از دست دادن تعادل هنگام راه رفتن و اختلالات تعادل مربوط به کل بدن، خستگی، افسردگی، تغییرات رفتاری و ... می‌باشند (Pelidou et al., 2008).

۱-۴- تشخیص بیماری

یکی از دشواری‌های تشخیص بیماری MS مشابهت علائم آن با دیگر بیماری‌های مشابه است (Trojano and Paolicelli, 2001). سازمان‌های درمانی برای سهولت و استانداردسازی تشخیص، علی‌الخصوص در مراحل اولیه بیماری، چندین معیار تشخیصی معین کرده‌اند. در گذشته اسکوماکر^۱ و معیار پوزر^۲ هر دو بکار می‌رفتند (Poser and Brinar, 2004). اخیراً شاخص مک‌دونالد^۳ کاربرد زیادی در تشخیص دارد که تمرکز آن بر روی ارائه داده‌های کلینیکی، آزمایشگاهی و رادیولوژیکی از انتشار آسیب‌های MS است؛ در حالی که برخی اعتقاد دارند که تنها راه قطعی تشخیص MS آتاسپی است که در آن آسیب‌های معمولی MS توسط تکنیک‌های هستیوپاتولوژیک^۴ شناسایی می‌شوند (McDonald et al., 2001; Polman et al., 2005).

ابزار عمومی مورد استفاده جهت تشخیص، تصویربرداری عصبی^۵ است که طی آن مایع مغزی-نخاطی مورد آنالیز قرار می‌گیرد. تصویربرداری رزونانس مغناطیسی^۶ (MRI) از مغز و نخاع نواحی فاقد میلین را نشان می‌دهد (شکل ۱-۳)؛ با تزریق گادولینیوم^۷ بصورت درون‌رگی موجب متمایز شدن زخم‌های فعال شده و با حذف آنها زخم‌های قدیمی و غیرفعال را که نامرتب با علائم هستند شناسایی می‌کنند (McDonald et al., 2001; Rashid and Miller, 2008).

¹ Schumacher

² Poser Criteria

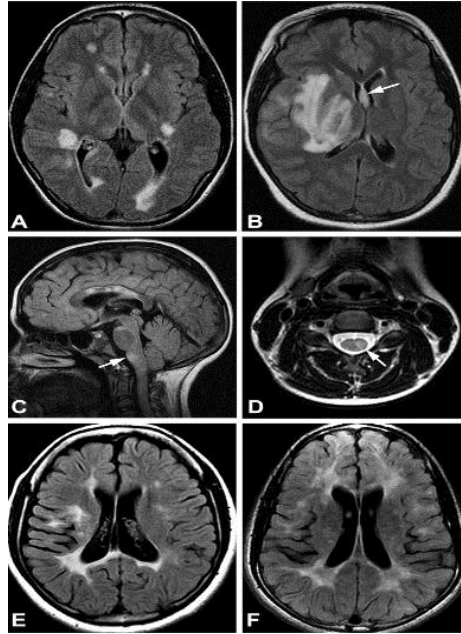
³ McDonald Criteria

⁴ Histopathological Techniques

⁵ Neuroimaging

⁶ Magnetic Resonance Imaging

⁷ Gadolinium



شکل (۱-۳) تصویر MRI. پلاک های مغزی یک بیمار MS که با فلش نشان داده شده اند نواحی فاقد میلین در مغز و ساقه مغزی را ترسیم می کند.

۱-۵- طبقه بندی انواع بالینی MS

استاندارد کردن نام گذاری الگو و مرحله MS در تعامل علمی و درک متقابل بین پزشکان و محققان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. این استاندارد در تشخیص و درمان نقش مهمی را ایفا می کند (Compston, 2008). به همین علت در سال ۱۹۹۶، انجمن ملی MS^۱ آمریکا (NMSS) چهار نوع استاندارد از فازهای MS را تعریف کرد:

۱. MS عود/فروکش (RRMS)^۲

۲. MS پیشرونده ثانویه (SPMS)^۳

۳. MS پیشرونده اولیه (PPMS)^۴

۴. MS پیشرونده/عود (PRMS)^۵

همانطور که در شکل ۱-۴ مشاهده می شود، نوع اول یعنی RRMS توسط عود کردن های غیر قابل پیش بینی که ماه-

¹ National Multiple Sclerosis Society

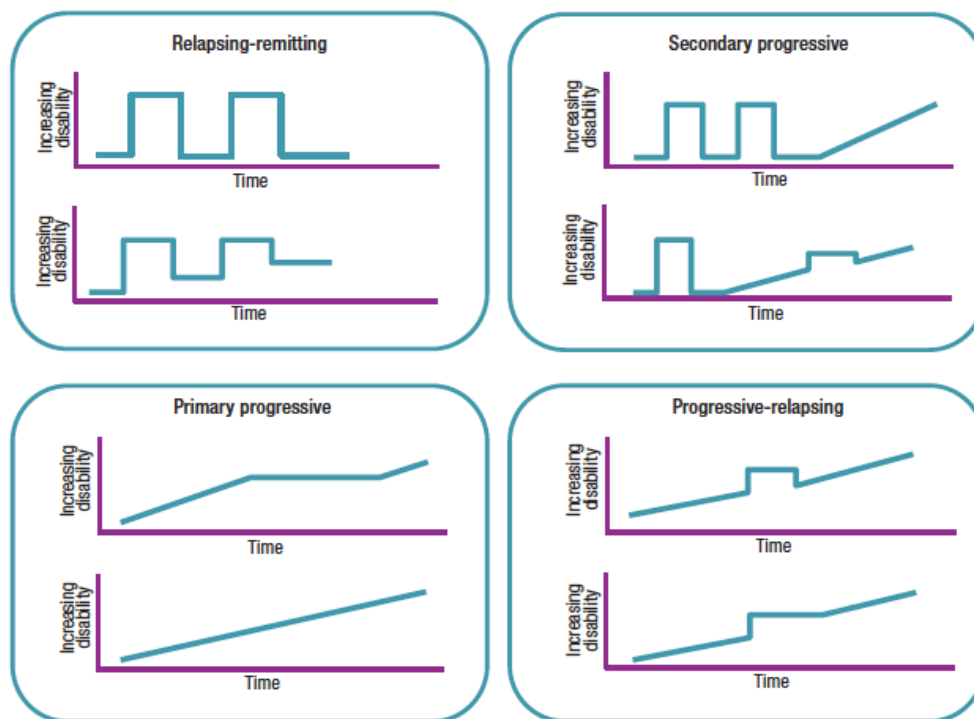
² Relapsing Remitting Multiple Sclerosis

³ Secondary Progressive Multiple sclerosis

⁴ Primary progressive Multiple Sclerosis

⁵ Primary relapsing Multiple Sclerosis

ها یا سال‌ها تسکین را به همراه داشته و هیچ علامت بالینی جدیدی از فعالیت بیماری مشاهده نمی‌شود، تشخیص داده می‌شود. ۸۰٪ مبتلایان در این دسته قرار می‌گیرند (Lublin and Reingold, 1996).



شکل (۱-۴) چهار نوع بالینی بیماری MS. پزشکان جهت درک متقابل نسبت به وضعیت بیماران MS، آن‌ها را با توجه به الگوهای عود، فروکش و پیشروندگی بیماری در یکی از ۴ نوع RRMS، SPMS، PPMS و PRMS دسته‌بندی می‌کنند. همانطور که در شکل نیز ترسیم شده است، در هر ۴ نوع بیماران با گذشت زمان توانایی عصبی خود را با شدت‌های کمتر در RRMS و بیشتر در PRMS از دست می‌دهند.

نوع دوم یعنی SPMS در برگیرنده حدوداً ۶۵٪ از افرادی است که بیماری آنها با نوع RRMS شروع شده، که طی حملاتی حاد کاهش توانایی عصبی پیشرونده‌ای را تجربه می‌کنند، بطوری که ممکن است عود کردن‌ها و گاهی تسکین‌های کوتاه مدتی برای آنها رخ دهد (Lublin and Reingold, 1996).

نوع سوم یعنی PPMS شامل حدوداً ۱۵-۱۰٪ افرادی می‌شود که پس از علائم اولیه بیماری در آنها هیچگاه تسکین را تجربه نمی‌کنند. ناتوانی در آنها از همان لحظه شروع بیماری پیشرونده است و حدوداً هیچگاه توقف یا بهبودی در آنها مشاهده نمی‌شود (Compston, 2008). در این صورت هیچ حمله‌ای را تجربه نمی‌کنند ولی تدریجاً توانایی خود را از دست می‌دهند. تغییرات پاتولوژیکی در این گروه به صورتی است که بیماران با کاهش حجم پلاک مواجه می‌شوند؛ بطوری که التهاب کمتر مشاهده می‌شود (Lublin and Reingold, 1996).

نوع چهارم یعنی PRMS که کمترین فراوانی را دارد بصورتی است که بیماران از لحظه شروع بیماری تدریجاً توانایی عصبی خود را از دست می‌دهند و همینطور از حملاتی پی‌درپی نیز رنج می‌برند (Compston, 2008).