



وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی سلولی - مولکولی

بررسی بیان ژن **COX5B** در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس

نگارش

جمشید مطاعی

استاد راهنما

دکتر محمد حسین صنعتی

استاد مشاور

دکتر سید مسعود نبوی

زمستان ۱۳۹۰

حق استفاده از مفاد پایان نامه برای پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری محفوظ است.

تقدیم به اخلاق،

انسانیت،

خانواده

و دانایی

تشکر و قدردانی:

سپاس خدای را که الطاف بی کرانش، همواره شامل حال بندگانش بوده است. بی شک انجام این پروژه را مدیون استاد گرامی جناب آقای دکتر محمد حسین صنعتی می باشم. بنابراین لازم دانسته به خاطر اعتماد به من از ایشان تشکر نمایم و از درگاه خداوند متعال برای ایشان آرزوی توفیق و بهرورزی همیشگی می نمایم. از استاد گرامی جناب آقای دکتر سید مسعود نبوی با مساعدت همیشگی از هیچ کمکی در انجام این تحقیق دریغ نورزیدند تشکر می کنم. همچنین از هیئت داوران که زحمت بررسی پایان نامه را تقبل فرمودند: جناب آقای دکتر قاسم آهنگری و جناب آقای دکتر ابوالحسن شاهزاده فاضلی کمال تشکر را دارم. از سرکار خانم میترا عطایی به واسطه توجه همیشگی و راهنمایی های ارزنده ایشان تشکر فراوان دارم. از کادر اداری پژوهشگاه ژنتیک که در بخش های آموزش، کتابخانه، امور اداری، امور دانشجویی و تدارکات همیشه با روی باز پذیرای دانشجویان هستند، ممنونم. از دوستان خوبم آقایان سلمانی، خضری، مؤمن، حسینی، حیدری و احمدپور همیشه که، ممنون محبت ایشان خواهم بود.

چکیده

بیماری مالتیپل اسکروزیس (ام اس) نوعی بیماری خود ایمنی، التهابی و تحلیل برنده نورون هاست. نقص در تأمین انرژی توسط میتوکندری ممکن است بر میلینه شدن و التهاب در نورون ها و بافت های که تحت تأثیر ام اس هستند اثر بگذارد. نورونها و ماهیچه ها وابستگی زیادی به تأمین انرژی توسط متابولیسم اکسیداتیو دارند لذا بدین دلیل ضعف ماهیچه ها در ام اس دیده می شود. در مطالعه ای که بر روی موش انسفالومیلیت اتو ایمن تجربی صورت گرفت پس از آنالیز پروفایل بیانی پروتئین های سیستم دستگاه عصبی مرکزی، کاهش بیان در زیرواحد COX5B مشاهده شد. در این تحقیق ۴۴ فرد مبتلا به MS و ۴۱ فرد سالم به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. پس از استخراج RNA از خون بیماران و افراد سالم و سنتز cDNA، بیان ژن با استفاده از تکنیک Real-Time PCR مورد بررسی قرار گرفت. کاهش بیان در سطح رونویسی این ژن ممکن است منجر به کاهش تولید انرژی، افزایش گونه های اکسیژن فعال، از دست دادن هموستازی یون کلسیم و آپوپتوز یا نکروز سلول می شود. بنابراین کاهش بیان پروتئین های میتوکندری این فرضیه را تقویت می بخشد که ناهم خوانی بین تقاضای انرژی و کاهش تولید ATP باعث دمیلینه شدن آکسون ها در بیماران ام اس می شود. لذا با توجه به نتایج حاصل از این پروژه تحقیقاتی پیش بینی می شود که بتوان از این ژن به عنوان یک بیومارکر برای تشخیص زود هنگام بیماری ام اس استفاده کرد. بدیهی است که برای رسیدن به این هدف نیاز به تحقیقات تکمیلی می باشد.

واژگان کلیدی: مالتیپل اسکروزیس، ژن COX5B و بیومارکر.

۲	۱- فصل اول
۲	۱-۱- مقدمه
۳	۲-۱- علایم بالینی
۴	۳-۱- انواع بالینی مالتیپل اسکلروزیس
۵	۴-۱- شیوع بیماری
۸	۵-۱- اتیولوژی
۹	۱-۵-۱- عوامل محیطی غیر عفونی
۹	۲-۵-۱- عوامل محیطی عفونی
۱۱	۳-۵-۱- عوامل ژنتیکی
۱۹	۶-۱- پاتوژن بیماری
۱۹	۱-۶-۱- فرضیه آغاز بیماری در سیستم ایمنی
۲۱	۲-۶-۱- فرضیه آغاز بیماری در سیستم عصبی
۲۱	۳-۶-۱- وقایع مرتبط با سد خونی - مغز
۲۱	۴-۶-۱- وقایع مرتبط با عدم تعادل یونی سلولی
۲۲	۷-۱- تشخیص
۲۵	۸-۱- درمان
۲۶	۱-۸-۱- درمان در مرحله وقوع حملات حاد و شدید
۲۶	۲-۸-۱- درمان پیشگیری کننده از بروز حملات ام اس
۲۷	۳-۸-۱- درمان‌های علامتی
۲۷	۹-۱- مدل EAE برای ام اس
۲۸	۱۰-۱- میتوکندری
۲۸	۱-۱۰-۱- کمپلکس IV یا سیتوکروم C اکسیداز (COX)
۳۴	۲-۱۰-۱- ماشین الکتروژنیک و انرژی مورد نیاز اکسون ها
۳۵	۳-۱۰-۱- دمیلینه شدن مرتبط با تغییرات میتوکندری در سیستم آزمایشی
۳۸	۴-۱۰-۱- درس های از بیماری های میتوکندری
۳۹	۵-۱۰-۱- تغییرات میتوکندریایی در مالتیپل اسکلروزیس
۴۰	۶-۱۰-۱- مکانیسم های تحلیل اکسون بعنوان نتیجه ای از دمیلیناسیون:

۴۱	۱-۱۱- اهداف تحقیق.....
۴۴	۲- مواد و روش ها
۴۴	۲-۱- مواد و وسایل لازم.....
۴۶	۲-۳- نمونه گیری.....
۴۸	۲-۳- استخراج RNA
۴۸	۲-۳-۱ جداسازی گلوبول های سفید از خون کامل.....
۴۹	۲-۳-۲ استخراج RNA کامل.....
۵۱	۲-۳-۳-اساس کار استخراج با RNA
۵۱	۲-۴- سنتز cDNA
۵۱	۲-۴-۱- مواد و لوازم.....
۵۲	۲-۴-۲- روش کار.....
۵۳	۲-۵- REAL-TIME PCR
۵۴	۲-۵-۱- شناسایی محصولات در دستگاه Real Time RT-PCR
۵۴	۲-۵-۲- آنالیز منحنی ذوب برای تعیین اختصاصی بودن محصولات
۵۵	۲-۵-۳- رسم منحنی استاندارد.....
۵۶	۲-۵-۴- آنالیز داده های کمی.....
۵۷	۲-۵-۵- انجام Real Time PCR برای ژن بتا اکتین و COX5B در این مطالعه
۶۱	۲-۵-۶- بررسی کیفی محصول PCR با الکتروفورز روی ژل آگارز
۶۲	۲-۵-۷- بررسی های آماری.....
۶۴	۳- نتایج.....
۶۴	۳-۱- نتایج حاصل از بهینه سازی واکنش REAL TIME PCR برای ژن بتا اکتین.....
۶۴	۳-۱-۱- تکثیر ژن بتا اکتین.....
۶۵	۳-۱-۲- منحنی ذوب و پیک ذوب ژن بتا اکتین.....
۶۷	۳-۱-۳- منحنی استاندارد برای ژن بتا اکتین.....
۶۸	۳-۲- نتایج حاصل از بهینه سازی واکنش REAL TIME PCR برای ژن COX5B.....
۶۸	۳-۲-۱- تکثیر ژن COX5B
۶۸	۳-۲-۲- منحنی ذوب و پیک ذوب ژن COX5b

۷۱ ۳-۲-۳- منحنی استاندارد برای ژن COX5B
۷۲ ۳-۳- نتایج QUANTITATIVE PCR
۷۳ ۳-۴- آنالیز آماری
۷۸ ۴- بحث
۷۹ ۴-۱- بحث و نتیجه گیری
۸۴ ۴-۲- پیشنهادات
۸۶ ۵- منابع

فهرست اشکال

۵ شکل ۱-۱. انواع بالینی بیماری مالتیپل اسکلروزیس
۸ شکل ۲-۱. پراکندگی جهانی مالتیپل اسکلروزیس
۱۲ ۳-۱. دیاگرام شماتیک از پاتوژنز بیماری های مولتی فاکتوریال
۳۴ شکل ۴-۱- موقعیت ژن COX5b روی کروموزوم ۲
۳۷ شکل ۵-۱ تغییرات میتوکندری درون اکسون ها در پاسخ به دمیلینه شدن و آسیب اسکلت سلولی
۳۸ شکل ۶-۱. نقص میتوکندریایی مرتبط بالتهاب و دمیلینه شدن سیستم عصبی مرکزی
۵۶ شکل ۱-۲- ایجاد منحنی استاندارد برای ارزیابی بهینه سازی واکنش
۶۵ شکل ۱-۳- منحنی تکثیر ژن بتا اکتین
۶۵ شکل ۲-۳- منحنی ذوب محصول ژن بتا اکتین
۶۶ شکل ۳-۳- پیک ذوب محصول ژن بتا اکتین
۶۶ شکل ۴-۳- ژل الکتروفورز ژن Beta Actin

شکل ۳-۵ منحنی تکثیر ژن COX5B	۶۸
شکل ۳-۶ منحنی ذوب محصول ژن COX5B	۶۹
شکل ۳-۷ پیک ذوب محصول ژن COX5B	۷۰
شکل ۳-۸ ژل الکتروفورز محصول ژن COX5b	۷۰
شکل ۳-۹ منحنی استاندارد ژن COX5B	۷۱
شکل ۳-۱۰ نمودار مقایسه میزان بیان ژن در دو جمعیت سالم و بیمار	۷۶
شکل ۳-۱۱ نمودار درصد نمونه های بیماری که دارای Ct بالاتری از میانگین Ct کنترل هستند	۷۶

فهرست جداول

۱-۱. لوکوس های مرتبط با ام اس که همپوشانی با دیگر بیماری های خود ایمنی نشان می دهند	۱۷
۲-۱. اندازه گیری EDSS و ناتوانی مرتبط با آن	۲۴
۳-۱. MSSS جهانی	۲۵
۴-۱. نقص ژنی مرتبط با کمبود سیتوکروم c اکسیداز در انسان	۳۱
۱-۲. خصوصیات آماری و بالیتی بیماران و افراد سالم	۴۷
۲-۲. پرایمرهای مورد استفاده و طول قطعات آن ها	۵۸
۳-۲. مواد و میزان مورد نیاز برای یک واکنش در Real-Time PCR	۵۸

فصل اول

۱ فصل اول

۱-۱ - مقدمه:

بیماری مالتیپل اسکروزیس (ام اس) نوعی بیماری مزمن و اغلب پیش رونده ماده سفید دستگاه عصبی مرکزی (مغز، نخاع و عصب بینایی) بوده که به طور نادر ممکن است اعصاب محیطی را نیز درگیر نماید. این بیماری با تخریب غشای میلین برخی از اعصاب مناطق فوق الذکر به صورت تکه های کوچک مشخص می شود. از بین رفتن غلاف میلین منجر به بروز اختلال در انتقال پیام های عصبی می گردد. علت این بیماری ناشناخته بوده و در بالغین جوان سنین ۲۰ تا ۴۰ سال شایع تر است و در زنان تقریباً ۲ تا ۳ برابر مردان بروز می نماید (Ron Milo, Esther Kahana, 2010, Peizhong, Mao a, P. Hemachandra Reddy, 2010).

علائم کلینیکی آن ناهمگن است. علائم اصلی شامل نقص بینایی، خستگی بیش از حد، اسپاسم و از کار افتادگی گوناگون سیستم ماهیچه ای می باشد. این علائم اغلب در نواحی که میلین از بین می رود، سطح اسکروتیک و سفت شده ای به صورت اسکار (پلاک ها یا ضایعات) ایجاد می گردد. به دلیل وجود این سطوح به صورت متعدد در مغز و نخاع و متعدد بودن زمان های بروز بیماری، به آن اسکروز متعدد یا ام اس می گویند. اندازه ضایعات ام اس از ۱ یا ۲ میلی متر تا چندین سانتی متر متفاوت است (Hauser and Goodin, 2008).

علت بیماری ناشناخته است. شواهد موجود مکانیسم خودایمنی را مطرح می کند که طی آن سیستم ایمنی بر علیه میلین فعال می شود و آن را از بین می برد. عواملی مانند استعداد ژنتیکی، منطقه جغرافیایی، عفونت های ویروسی و فشارهای روحی را در پیدایش آن موثر می دانند.

تاریخدانها اولین توصیف علائم بالینی بیماری ام اس را در کتابی که توسط دکتر ژان کروویلیه (Jean Cruveihier) استاد دانشکده پزشکی پاریس در فرانسه نوشته شده است، پیدا کرده اند. دکتر ژان کروویلیه در این کتاب در مورد چندین بیمار دچار ضعف پیشرونده، فلج دستها و پاها، اختلال در بینایی، اسپاسم یا گرفتگی عضلات و چند علامت دیگر توضیح داده است. همچنین بیان کرده است که در معاینه و بررسی نخاع این افراد، مناطقی خاکستری از بافت اسکار (جای زخم) دیده می شود که او آنها را لکه یا نقطه نامید. دکتر ژان کروویلیه این بیماری را "فلج بر اثر تحلیل و از بین رفتن رشته های خاکستری نخاع" توصیف نمود (Moreira MA et al., 2002).

۱-۲- علائم بالینی:

علائم این بیماری گاهی تشدید و گاهی تخفیف پیدا می کنند ولی ممکن سیری پیشرونده و ناتوان کننده داشته باشند. علائم این بیماری متنوع می باشند. شروع بیماری گاهی بصورت آهسته و بی سروصدا بوده ولی بیشتر به صورت علائم حاد عصبی است (منظور از حاد این است که علائم در عرض چند روز ظاهر می شوند). گاهی علائم جزئی و خفیف هستند به طوری که بیمار به پزشک مراجعه نمی کند (مثلاً به صورت ضعف و خستگی زودرس یا سرگیجه ی خفیف) پس از مدتی علائم خود به خود بر طرف می شوند و گاهی عود می کنند. البته تشخیص این موارد خفیف مشکل است. در موارد دیگر علائم شدید بوده و شامل اختلال شدید بینائی دو بینی (بیمار هر چیز را دو تا می بیند). فلج اندام ها ، سرگیجه شدید و اختلال تعادل حین راه رفتن ، اختلالات حافظه و افسردگی می باشند. علائم در طول زمان گاهی تشدید بوده و گاهی تخفیف پیدا می کنند و دوباره عود می کنند و ممکن است بیماری سیر پیش رونده ای داشته باشد و به تدریج بیمار را به صورت یک معلول در می آورد و مانع از ادامه کار و زندگی معمولی او شود و در موارد نادر ممکن است جان بیمار را به خطر بیناندازد. مهمترین علائم این بیماری عبارت است از: اختلال در راه رفتن - اختلالات شناختی - افسردگی - دوبینی - فلج صورت - خستگی اختلال عملکرد روده ای (یبوست، بی اختیاری) - افزایش رفلکس های وتری - فلج در نگاه کردن - کاهش حس - علامت لرمیت (با خم کردن گردن شوک برقی در اندام ها ایجاد می شود) - نیستگموس - درد - فلج / ضعف اندام ها - گزگز و خواب رفتگی - ناتوانی جنسی - سفتی عضلات - لرزش - بی اختیاری ادرار، احتباس ادرار - سرگیجه - اختلال بینایی - صرع. این علائم اغلب گذرا بوده و بعد از چند روز تا چند هفته از بین می روند، اگر چه ممکن است نقایص عصبی خفیفی بر جای بماند. عود بیماری ممکن است ماه ها یا سال ها پس از حمله اولیه رخ دهد. روش های آزمایشگاهی وجود ندارد. MRI بهترین روش تشخیصی است که در ۹۰٪ بیماران با تظاهرات ام اس غیرطبیعی می باشد و پلاک های ام اس (مناطق فاقد میلین در ماده سفید مغز و نخاع) را نشان می دهد. پلاک های ام اس باید در زمان های مختلف و در بخش های مختلف مغز و نخاع دیده شوند تا بتوان تشخیص ام اس را گذاشت.

۱-۳- انواع بالینی مالتیپل اسکلروزیس

بیماری ام اس در چهار فرم بالینی وجود دارد:

۱- ام اس عود کننده - بهبود یابنده^۱(RRMS):

دوره بالینی ام اس خیلی متغیر است: در حدود ۸۵ درصد از بیماران دوره عود کننده - بهبود یابنده (شکل ۱-۱ A) نشان می دهند که ویژگی RRMS این که حملات ناگهانی جدید یا عود علایم و نشانه های نورولوژیکال بدنبال بهبودی کامل یا جزئی است و از چندین روز تا چندین ماه طول می کشد و بوسیله شرایط نورولوژیکی پایدار بدون فعالیت بالینی بیماری می باشد. در حدود ۵۵ درصد از بیماران ام اس با این الگوی بیماری باقی می ماند (Ron Milo , Esther Kahana, 2010).

۲- ام اس ثانویه پیشرونده^۲(SPMS):

این نوع بالینی همواره به صورت RRMS شروع می شود (شکل ۱-۱ B). ولی در مواردی، سیر بالینی به گونه ای تغییر می یابد که بیمار روند پایدار رو به وخامت عملکرد را بدون ارتباط با حملات، تجربه می کند (که ممکن است در طی مرحله پیشرونده ادامه یابد یا متوقف شود). ناتوانی نورولوژیک ثابت ناشی از SPMS بیش از RRMS است. خطر ایجاد SPMS در هر بیمار مبتلا به RRMS، هر سال در حدود ۲/۵ درصد است، بدین معنی که قسمت عمده ای از RRMS ها نهایتاً به SPMS تبدیل می شوند. به نظر می رسد SPMS نشانه مرحله دیررس همان بیماری زمینه ای RRMS است (Ron Milo, Esther Kahana, 2010).

۳- ام اس پیشرونده - عود کننده^۳(PRMS) :

PRMS به طور نادر رخ می دهد و شامل ۵ درصد از بیماران ام اس می شود (شکل ۱-۱ C). این بیماران همانند بیماران PPMS، یک روند یکنواخت رو به وخامت در وضعیت شروع بیماری را تجربه می کنند. در عین حال این بیماران همانند بیماران SPMS حملات گاه گاهی که در زمینه سیر پیشرونده بیماری روی می دهد را تجربه می کنند (Hauser and Goodin, 2008)

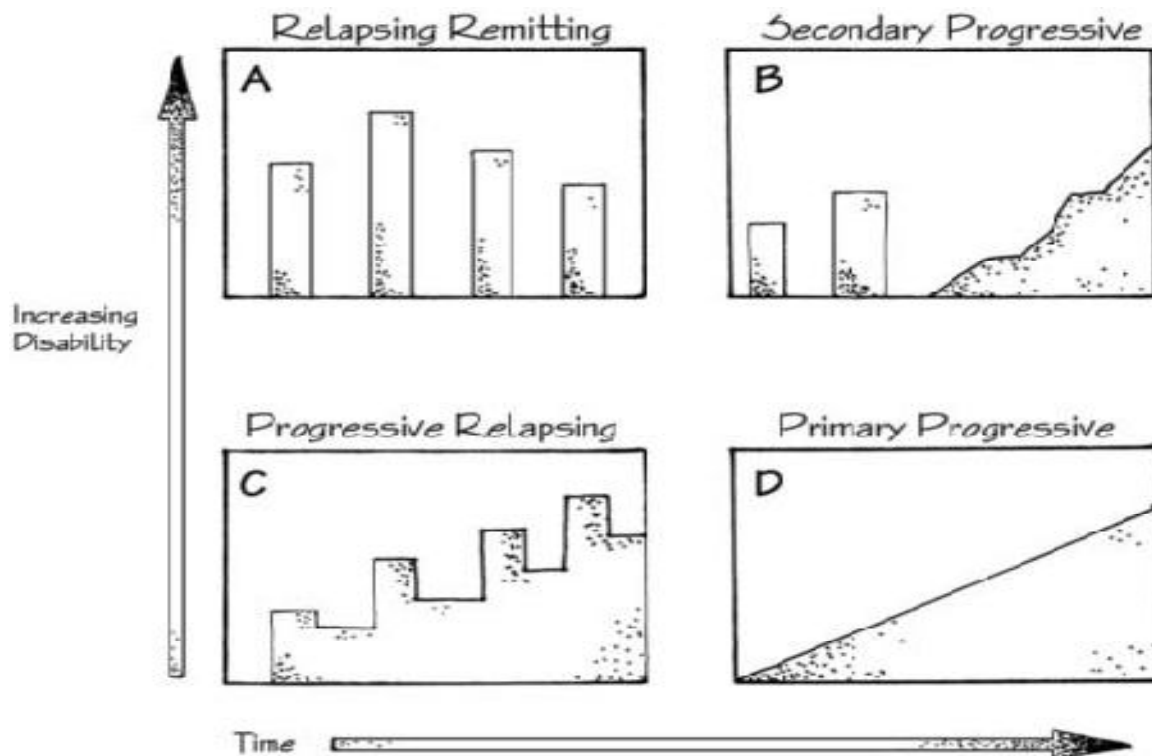
1 . *Relapsing Remitting*

2 . *Secondary Progressive*

3 . *Progressive-relapsing*

۴- ام اس اولیه پیشرونده^۱ (PPMS):

در حدود ۱۰ درصد از بیماران در این مرحله قرار دارند (شکل ۱-۱ D). PPMS اغلب در بیمارانی که سن آنها بالاتر از سن متوسط شروع بیماری است دیده می شود و نسبت مرد به زن بیشتر است. این بیماران دچار حملات شدید نمی شوند بلکه فقط یک سیر یکنواخت نزولی عملکردی را از زمان شروع تجربه می کنند. (Ron Milo , Esther Kahana,2010)



شکل ۱-۱. انواع بالینی بیماری مالتیپل اسکلروزیس، در این شکل، محور عمودی تمام نمودارها درجه ناتوانی و محور افقی زمان را نشان می دهد (Melissa S'tauffer, Ph.D. Understanding Multiple Sclerosis, University Press of Mississippi Jackson,2006).

۴-۱- شیوع بیماری:

شیوع ام اس بین سنین ۲۰-۴۰ سالگی است (Hauser SL, Goodkin DE,1998). مالتیپل اسکلروزیس بیماری مناطق معتدله می باشد که تقریباً یکی از هزار نفر آمریکایی از این بیماری رنج می

1. Primary Progressive

برند (در حدود ۴۰۰/۰۰۰ آمریکایی) کل افرادی که با ام اس در دنیا زندگی می کنند در حدود ۲-۲/۵ میلیون نفر می باشد. شیوع آن تقریباً ۱/۰ درصد می باشد (شکل ۱-۲). شیوع آن تحت تاثیر سابقه خانوادگی، نژاد، سن و منطقه جغرافیایی است و در عرض های جغرافیایی بالاتر بیشتر است و به صورت شیعی از استوا به سمت قطبین در حال افزایش است (Ebers GC et al., 2008). ام اس به طور متوسط در آمریکا، کانادا، روسیه، اسرائیل، اروپا، نیوزلند و بخش هایی از استرالیا شایع است. احتمالاً رخداد آن در مناطق با خطر بالا ۰/۲-۰/۱ درصد می باشد افراد از مناطق بالای ۴۰ درجه عرض جغرافیایی داخل نیمکره غربی رسیک بالای ابتلا به ام اس نسبت به سایر مناطق دارند. مناطق با خطر پایین مثل آسیا، آفریقا و آمریکای شمالی نرخ شیوع آن کمتر از ۰/۱ درصد می باشد. مناطق استوایی از مناطق با خطر پایین می باشند در حالی که شمالی ترین و جنوبی ترین کشورها دارای خطر بالا هستند (R.L. Zuvich et al., 2009, Kantarci O et al 2006, Ron Milo, Esther, Kahana, 2010).

کورتزک (Kurtzke) شیوع ام اس در دنیا به سه منطقه تقسیم بندی کرده است. طبق این تقسیم بندی شیوع ۳۰ یا بیشتر در ۱۰۰۰۰۰ نفر به عنوان مناطق با خطر بالا، ۲۹-۵ نفر به عنوان مناطق با خطر متوسط و کمتر از ۵ نفر به عنوان خطر پایین تقسیم بندی شده است (Kurtzke JF, 1979, 1980). مطالعات اخیر نشان داده که شیوع ام اس در دهه گذشته بالا رفته است و تحقیقات جدید سعی در تقسیم بندی دوباره شیوع این بیماری دارند (Poser CM, Brinar VV, 2007). طبق تقسیم بندی Kurtzke ایران در منطقه با خطر پایین قرار دارد ولی اخیراً یک سری مطالعات نشان دادند که نرخ شیوع ام اس در ایران بالا می باشد (Sanati MH et al., 2005, Etemadifar M et al., 2006, Saadatnia M et al., 2007). تعداد افراد مبتلا به ام اس در ایران از سال ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۸ شناسایی شدند سه برابر شده است، همچنین نسبت زن به مرد ۲ به ۳/۱۲ می باشد. شیوع ام اس در تهران ۵۱/۹ در ۱۰۰۰۰۰ نفر می باشد (Mohammad Ali Sahraian et al., 2010).

علت این اختلاف به دلیل استعداد ژنتیکی افراد است. علاوه بر استعداد ژنتیکی، اختلاف در مقدار نور خورشید در روز می تواند به عنوان یک فاکتور خطری بالقوه باشد الگوی شیوع نشان می دهد که نور آفتاب به تنهایی نمی تواند به عنوان یک فاکتور خطر ام اس باشد برای مثال مناطق دور از شمال Norway باید شیوع ام اس در آنها بالا باشد، در اسکاتلند و انگلیس نرخ شیوع کمتر است. بنابراین این ممکن به دلیل انتراکشنهای بین نور خورشید و فاکتورهای دیگر از قبیل تغذیه باشد (Ebers GC, 2008) که بین میزان در معرض قرار گرفتن اشخاص در برابر نور و کمبود ویتامین D یک ارتباط وجود دارد. بخاطر اینکه مصرف ویتامین D و در معرض قرار گرفتن نور خورشید هر دو با خطر

ابتلائی شخص به ام اس مرتبط هستند علاوه بر ویتامین D مصرف روغن ماهی هم به عنوان فاکتور کاهش دهنده ام اس پیشنهاد شده است، که دلایل آن از اختلاف شیوع بین مناطق سواحل کناری دریا و دور از آن در کشورهای مختلف است (شیوع حدود ۵ برابر بیشتر در میان مناطق دور از دریا). اگر چه ارتباط مثبتی بین این فاکتورها و شیوع بیماری ام اس وجود دارد ولی هنوز دلایل محکمی که نشان بدهند چگونه باعث بیماری زای ام اس می شوند وجود ندارد (Cantorna MT, 2008).

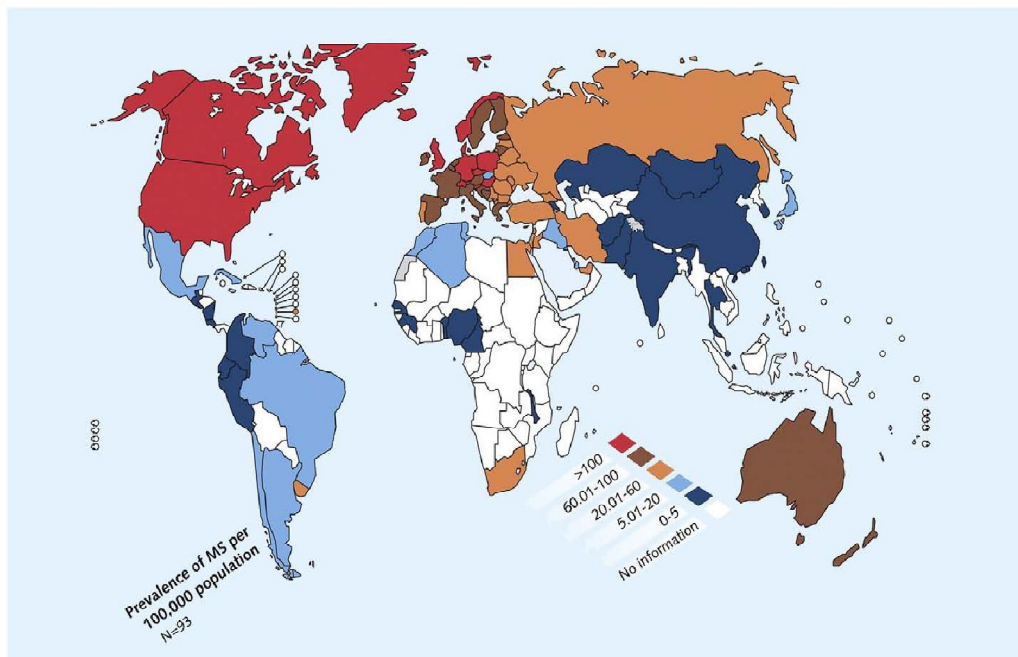
احتمال ام اس در بچه ها پایین و در افراد ۵۰ سال به بالا به ندرت دیده می شود. پیک شیوع ام اس در سنین ۲۴ سالگی می باشد. شیوع بیماری در میان زنان ۲ الی ۳ برابر مردان می باشد، البته زنان در دوران حاملگی با احتمال خیلی بیشتری به بیماری های خود ایمنی مبتلا می شوند ابتلائی زنان به ام اس در مناطق با خطر بالا یک در ۲۰۰ نفر می باشد (Ascherio A, Munger KL, 2007).

قابل ذکر است که حملات بیماری در طی حاملگی کاهش و بعد از آن دوباره افزایش می یابد. بدتر شدن بیماری در دوران قاعدگی، ارتباط سطح بالای استرادیول، سطح پایین پروژسترون با افزایش فعالی بیماری در MRI و اثرات درمانی استرادیول در RRMS نشان دهنده این مطلب است که مسائل هورمونی می تواند به عنوان یک ریسک فاکتور باشد (Sicotte N.L, et al, 2002).

مطالعات صورت گرفته بر روی مهاجرت افراد اثر محیط بر روی بیماری را تایید می کند. این مطالعات نشان می دهد که مهاجرت در سنین زیر ۱۵ سالگی از مناطق با خطر پایین به مناطقی که دارای خطر بالایی هستند احتمال ابتلا به بیماری را افزایش می دهند و برعکس، که مثال متقاعد کننده آن افزایش ابتلا به ام اس در انگلیسی ها با اشغال مناطق شمالی دانمارک در جنگ جهانی دوم می باشد (Marrie RA, 2004).

بر اساس مطالعات انجام شده، بین ماه تولد و میزان ابتلا به ام اس رابطه وجود دارد. به طور مثال افراد متولد ماه نوامبر کمتر از افراد متولد ماه May به این بیماری مبتلا می شوند (Kulie et al, 2009).

ریسک ابتلا به ام اس، همچنین با وضعیت اقتصادی - اجتماعی بالای افراد، افزایش پیدا می کند که این مسئله ناشی از بهبود وضعیت بهداشت و به تاخیر افتادن رویارویی افراد در برابر عوامل عفونی می باشد (Kristin M. Gunderson, 2007).



شکل ۱-۲. پراکندگی جهانی مالتیپل اسکلروزیس برای هر ۱۰۰,۰۰۰ نفر (Esther Kahana Ron Milo, 2009).

۱-۵- اتیولوژی:

اتیولوژی بیماری ام اس هنوز مشخص نشده است. اما برابر اطلاعات موجود، بیماری در افراد با استعداد ژنتیکی، بوجود آمده و احتمالاً به محرک های محیطی نیاز دارد (Dyment D A et al., 2004, Haines J L et al., 2002). درحالیکه عوامل اصلی ایجاد این بیماری هنوز شناخته نشده است، بیشتر تحقیقات دانشمندان نشان می دهد که چندین عامل با همکاری یکدیگر موجب بروز این بیماری می شوند، اکثر متخصصین ام اس امروزه معتقدند که این عوامل شامل سیستم ایمنی بدن، وراثت و بعضی از عوامل محیطی مثل ابتلاء قبلی به عفونتهای ویروسی می باشند (Shimoji, Y et al., 1999). چون علت دقیق این بیماری و مکانیسم آن هنوز شناخته نشده است، درمان قطعی نیز برای آن وجود ندارد. با درک بهتر اتیولوژی ام اس این فاکتورهای خطری ممکن در شناسایی ژنها هدف و روشهایی بالینی برای تسکین علائم (symptome) مفید باشند.

۱-۵-۱ عوامل محیطی غیر عفونی:

از اواسط قرن ۲۰، ارتباط بین شدت نور خورشید و تشعشع ماوراء بنفش با بیماری ام اس مورد مطالعه قرار گرفته است. نور خورشید با افزایش سطح ویتامین D₃ باعث محافظت افراد در برابر بیماری ام اس می شود (Islam T et al, 2007).

تابش نور خورشید منبع اصلی ویتامین D است. اشعه ماوراء بنفش ۷-دی هیدروکلسترول را به پیش ساز ویتامین D₃ تبدیل می کند که به صورت خود به خودی به ویتامین D₃ تبدیل می شود و در خون به صورت 25(OH)D₃ به گردش در می آید و سپس به شکل فعال 1,25(OH)₂D₃ تبدیل می شود. ویتامین D همچنین از طریق غذا تامین می شود. در ارتفاعات بالاتر و به خصوص در ماه های سرد زمستان، هنگامیکه افراد در معرض نور خورشید کمتری هستند، سطح کمتری از ویتامین D در افراد دیده می شود. ویتامین D دارای نقش اساسی در فعال سازی سلول های T می باشد (Von Essen MR et al, 2010). از اینرو کاهش سطح ویتامین D باعث از بین رفتن تنظیمات ایمنی و در نتیجه افزایش احتمال ابتلا به ام اس می شود (Smolders J et al 2009).

با توجه به پروتوکل درمانی توسط اشعه UV در مدل موشی ام اس ، آنسفالومیلیت اتوایمن (EAE)، فرضیه تاثیر ویتامین D در این بیماری بسیار بحث برانگیز شده است. علائم بالینی EAE با قرار دادن این موشها در برابر اشعه مداوم UV به شدت کاهش یافت. موشهای درمان شده، افزایش موقتی در فرم هیدروکسیله شده ویتامین D₃ در سطح سرم را نشان می دهند (Becklond B .R et al, 2010).

علاوه بر ویتامین D، فاکتورهای محیطی دیگری نیز در بیماری ام اس مورد بررسی قرار گرفتند (Ascherio A, Munger KL, 2007) از جمله: تغذیه، فاکتورهای رژیم، تماس با حیوانات، تروما بعد از یک جراحی، آلودگی، دما، عوامل شیمیایی، فلزات، مواد معدنی، حلال های آلی و عفونت های ویروسی و باکتریایی.

مانند دیگر بیماری های اتوایمن، مصرف سیگار نیز می تواند فاکتور خطرزایی دیگری برای بیماری ام اس باشد (Hedstrom A.K et al, 2009). همچنین پیشنهاد شده است که افزایش سطح خونی اوریک اسید، سبب کاهش خطر ابتلا به ام اس می شوند. اسید اوریک به عنوان محافظی در برابر استرس اکسیداتیو موادی مانند پراکسی نیتريت عمل می کند و می تواند در جلوگیری از ابتلا به ام اس نقش موثری داشته باشد ولی نقش این عوامل هنوز به طور واضح مشخص نشده است (Mao and Ready, 2009).

۱-۵-۲- عوامل محیطی عفونی:

دوتا فرضیه رایج در ارتباط با میکروب های عامل ام اس وجود دارد: فرضیه ویروس و فرضیه شیوع (PREVALENCE)، فرضیه ویروس پیشنهاد می کند که اگر شخص در اواخر بچگی (childhood) یا اوایل بلوغ به ویروس مبتلا شده باشد ویروس باعث توسعه ام اس می شود. اگر

شخص در دوران INFANCY (کودکی) به ویروس مبتلا شده باشد ویروس اثر حفاظتی دارد. (R.L. Zuvich et al.,2009).

دومین فرضیه بیان می کند که پاتوژن نا معین اختصاصی در مناطق با خطر بالای ام اس شایع است. طبق هر دو فرضیه سن ابتلا به بوسیله میکروب ها تعیین کننده سطح استعداد به ام اس هستند. مطالعات دیگر پیشنهاد می کند که ویروس اپشتاین بار ده برابر خطر ابتلا به ام اس کاهش می دهد (R.L. Zuvich et al.,2009).

عفونت های ویروسی از طریق مکانیسم های مختلفی منجر به القا دی میلینه شدن می شوند. یک ویروس ممکن است سلول های اولیگودندروسیت را هدف قرار داده و آپوپتوز را در این سلولها القا کند که لیز شدن اولیگودندروسیتها خود منجر به تخریب میلین می شود (Oleszak EL et al, 2004). نظریه دیگر این می باشد که عفونت ویروسی باعث ناتوان کردن سیستم ایمنی بدن می شود و در نتیجه این سیستم قادر به تشخیص تفاوت های بین میلین خود بدن و اجسام خارجی نبوده و به آن حمله می کند. یک نظریه مشابه دیگر نیز وجود دارد که می گوید ویروس ممکن است به سیستم ایمنی بدن حمله کرده و آن را ناتوان سازد و در نتیجه مشکلات بعدی را ایجاد کند (Delorenze, G.N et al, 2006).

عوامل عفونی که می توانند روی بیماری ام اس تاثیرگذار باشند شامل سرخک، سرخچه، اوریون ، اپشتاین بار، هرپس سیمپلکس ۱ و ۲ و وارسیلا زوستر می باشند (Lipton HL et al, 2007). یافته های اخیر از نقش ویروس اپشتاین - بار در خطر ابتلا به ام اس ، حمایت می کند. ویروس اپشتاین - بار یک ویروس لنفوتروفیک است که عفونتهایی فاقد علائم مشخص در کودکان ایجاد می کند (Junker AK,2005). این ویروس با چندین بیماری خودایمنی از جمله Systematic lupus erythromatous، سندرم Sjogren، التهاب تیروئیدی هاشیموتو و آرتريت روماتوئید مرتبط است (Baranzini S.E., 2009).

به دنبال مطالعاتی که بر روی موارد ام اس پیشرونده صورت گرفت، دانشمندان متوجه حضور ویروس اپشتاین - بار در داخل سلول های B که به منتر و ماده سفید مغز نفوذ می کنند، شدند (Serafini et al,2007). در نتیجه این تحقیقات، مدرک محکمی برای نقش ویروس اپشتاین - بار در ام اس از طریق سلول های B به دست آمد.

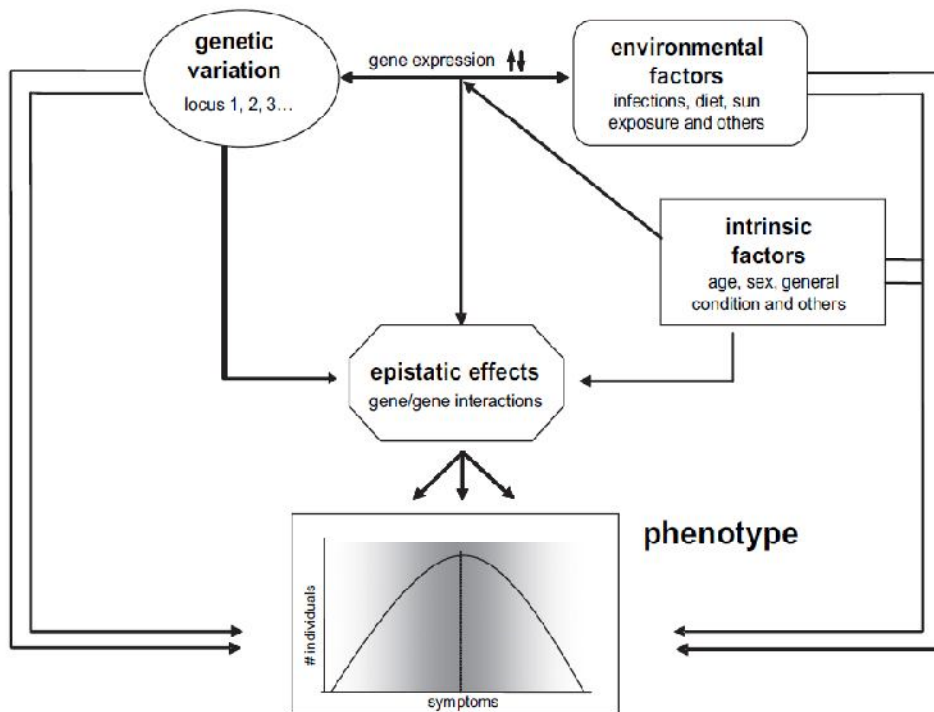
ویروس دیگری به نام ویروس کورونا در مغز بیماران ام اس یافت شده است. لذا قرار گرفتن این ویروس ها در مغز بیماران ام اس می تواند توجیه کننده نقش آنها به عنوان یک پاتوژن احتمالی ام اس از طریق نوروتروپیسیم و حمله به سیستم ایمنی، باشد (Dessau RB et al, 2001).

HHV-6 ویروس دیگری است که می تواند با ام اس در ارتباط باشد. عفونت با این ویروس اغلب در کودکی رخ می دهد و منجر به بروز سرخچه می شود (Dockrell DH et al, 1999). این ویروس ممکن است در CNS به شکل خاموش مانده و در هنگام استرس خود را نشان دهد. مطالعات پاتولوژیک، حضور این ویروس را در پلاک های ام اس تایید می کند. DNA ویروسی و مارکرهای دیگر این ویروس، در سلول های خون، سرم و مایع مغزی- نخاعی بیماران ام اس یافت شده است (Soldan S.S et al, 1997)

ویروسهای HERV و LM7 نیز در بعضی بیماران مبتلا به ام اس رویت شده اند (Clausen J, 2003).

۱-۵-۳- عوامل ژنتیکی:

مانند اکثر بیماری های خودایمنی، ام اس به گروه بزرگی از بیماری های مولتی فاکتوریال (پیچیده) تعلق دارد، که از اثر متقابل عوامل محیطی و ژنتیکی بوجود می آیند (شکل ۱-۳). اثر متقابل ژن-ژن (که اپی ستازی نامیده می شود). نقش مهمی در بیماری های پیچیده دارد (Sabine Hoffjan, 2010). ضریب همبستگی برای دوقلوهای همسان (۳۰-۲۵ درصد) در مقایسه با دوقلوهای غیر همسان (۵ درصد) برای این بیماری می باشد (Hawkes CH, Macgregor AJ, 2009). که این پیشنهاد دهنده نقش ژنتیک می باشد از طرف دیگر ضریب همبستگی فقط ۳۰ درصد در دو قلوهای همسان نشان دهنده این است که علاوه بر فاکتورهای ژنتیکی عامل های دیگر نقش مهمی در استعداد ابتلای فرد به بیماری دارند. چندین فاکتور محیطی از جمله ویروس ها، توزیع جغرافیای، تغذیه و در معرض نور خورشید قرارگرفتن بر روی ریسک ابتلای فرد به ام اس تأثیر دارند، اگرچه ارتباط تأثیر هریک از این فاکتورها بر پاتوژنز بیماری هنوز در حال بحث (dispute) می باشد (Sabine Hoffjan, Denis A. Akkad, 2010).



۳-۱. دیاگرام شماتیک از پاتوژنز بیماری های مولتی فاکتوریال از جمله مالشیپل اسکروزیس. استعداد به بیماری به علاوه فنوتیپ احتمالا بوسیله ژن های متعدد در اثر متقابل با فاکتورهای محیطی بوجود می آیند. در مجموع، اپی ستازی (اثر ژن بر ژن) و فاکتورهای درونی هر فرد نقش مهمی برای بیماری زایی دارند. (Sabine Hoffjan, Denis A., 2010 Akkad).

مطالعات خانواده ها و دوقلوها نشان داده که ژنتیک یک عامل اساسی ام اس می باشد شیوع این بیماری در میان افراد درجه اول ۲۰-۴۰ برابر بیشتر از شیوع آن در جمعیت عمومی است. نرخ تطابق بیشتر برای دوقلوهای همسان (۲۵-۳۴ درصد) نسبت به دوقلوهای ناهمسان (۲-۵ درصد) نشان دهنده توارث پذیری بالا است. از این رو دوقلوهای همسان خطر بالای (۲۵-۳۴ درصد) و جمعیت عمومی خطر پایینی (در مناطق با خطر بالا ۰/۱-۰/۲ درصد) دارند (R.L. Zuvich, 2009). در حدود ۲۰ درصد از بیماران ام اس حداقل یکی از بستگانشان ابتلا به بیماری هستند.

۱- ۵- ۳- ۱- مطالعات ژنتیکی در ام اس :

شناسایی ژن های مستعد کننده برای بیماری های پیچیده، مشکل اصلی در دو دهه گذشته بوده، اگر چه ما از شناسایی کامل ژنهایی که روی ام اس اثر می گذارند دور هستیم ولی موفقیت های اخیر