۹۳۱۰۲۶۵

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده علوم

گروه ژنتیک

پایان نامه کارشناسی ارشد

عنوان:

بررسی فراوانی و همراهی HLA DQA1*0102 با بیماری MS در بیماران مبتلا در استان خوزستان

اساتید راهنما:

دکتر حمید گله داری

دکتر سعیدرضا خاتمی

نگارنده:

فریده قنبری مرداسی

شهریور ۱۳۹۳

عنوان صفحه

فصل اول

۱-۱- بیماری های خودایمنی ۱

۱-۱-۱- تقسیم بندی بیماری های خودایمنی ۱

۱-۲- مالتیپل اسکلروزیس ۲

۱-۳ - اپیدمیولوژی ۲

۱-٤- مشخصات بالینی ٤

۱-۵- تشخیص بیماری ۵

۱-۵-۱- EDSS ٦

۱-٦- درمان MS ٦

۱-۷- انواع MS ۷

۱-۸- پاتوژنز بیماری ۸

۱-۸-۱- نقش پاسخ ایمنی اختصاصی در پاتوژنز بیماری ۹

۱-۸-۱-۱- سلولهای T ۹

۱-۸-۱-۲- نقش سلول B ۱۱

۱-۸-۱-۳- کمپلمان ۱۱

۱-۸-۲- پاسخ ایمنی ذاتی ۱۲

۱-۸-۲-۱- نقش سیتوکین ها و کموکین ها ۱۲

۱-۸-۲-۲- سلول های دندریتیک(DC cells) ۱٤

۱-۸-۲-۳- میکروگلیال سل/ ماکروفاژ ۱۵

۱-۸-۲-٤ـ سلول های کشنده طبیعی ۱۵

۱-۸-۲-۵- ماست سل ها ۱٦

۱-۸-۲-٦- سلول های طبیعی کشنده T غیر متنوع ۱٦

۱-۸-۲-۷- سلول T گاما – دلتا/ (Tγδ) ۱۷

۱-۹- اتیولوژی MS ۱۷

۱-۹-۱- فاکتورهای محیطی ۱۸

۱-۹-۲- حساسیت ژنتیکی ۱۹

۱-۹-۲-۱- ژنهای غیر وابسته به MHC ۲۰

۱-۹-۲-۲- ژنهای وابسته به MHC ۲۰

۱-۱۰- ساختار ژنهای HLA Class II ۲۲

۱-۱۱- مطالعات قبلی ۲۳

هدف از مطالعه ۲٦

فصل دوم

۲-۱- وسایل و مواد بکار رفته ۲۷

۲-۲- جمع آوری نمونه ۲۸

۲-۲-۱ انتخاب نمونه جمعیت ۲۸

۲-۲-۲- خون گیری و شرایط نگه داری نمونه ها ۲۹

۲-۳- تهیه محلول ها ۲۹

۲-۳-۱- تهیه ی محلول SDS 1% ۲۹

۲-۳-۲- تهیه محلول ۰/۵ مولار EDTA ۲۹

۲-۳-۳- تهیه ی محلول ۱۰میلی مولار Tris-HCL ۲۹

۲-۳-٤ تهیه محلول TBE ۳۰

۲-۳-۵ تهیه بافر TES ۳۰

۲-٤- استخراج DNA از خون. ۳۰

۲-۵- بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده ۳۲

۲-۵-۱ تعیین کیفیت DNA استخراج شده با انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۳۲

۲-۵-۱-۱ مواد و وسایل مورد استفاده جهت الکتروفورز. ۳۲

۲-۵-۱-۲- ساخت ژل الکتروفورز و مشاهده محصول استخراج ۳۲

۲-۵-۲- بررسی کمی DNA با روش نانو دراپ اسپکتروفتومتری..... ۳۳

۲-٦- تکثیر قطعات ژنومی با استفاده از واکنش زنجیرهای پلیمراز (PCR ۳٤

۲-٦-۱- اساس واکنش زنجیره ای پلیمراز..... ۳٤

۲-٦-۲- روش PCR-SSP ۳۵

۲-٦-۳- مواد لازم برای واکنش PCR..... ۳٦

۲-٦-٤- انتخاب پرایمر..... ۳۸

۲-٦-۵- روش انجام PCR..... ٤۰

۲-٦-۵-۱- شرح تهیه مخلوط اصلی ٤۰

۲-٦-۵-۲- برنامه حرارتی و تنظیم PCR..... ٤۰

۲-۷- مشاهده محصولات PCR روی ژل آگارز ٤۱

۲-۸- تعیین توالی نمونه ها و آنالیز آماری..... ٤۱

فصل سوم

۳-۱- مروری بر اطلاعات جمع آوری شده از افراد مورد مطالعه ٤٢

۳-۲- بررسی اطلاعات بالینی در تعدادی از بیماران ٤٤

۳-۳- بررسی فراوانی HLA DQA1*0102 ..... ٤٥

۳-۳-۱- نتایج استخراج ژنوم ٤٥

۳-۳-۲- نتایج PCR ٤٥

۳-۳-۳- نتایج تعیین توالی ٤٦

۳-۳-٤- نتایج حاصل از بررسی های آماری HLA DQA1*0102 ..... ٤٦

۳-٤- بررسی آماری رابطه بین DQA1*0102 و برخی علائم بالینی ٥٠

فصل چهارم

٤-۱- مطالعات همراهی ٥٣

٤-۲- اهمیت مطالعه بیماری MS ٥٤

٤-۳- اهمیت مطالعه آلل HLA DQA1*0102 ..... ٥٤

٤-٤- تفسیر نتایج حاصل از مطالعه حاضر ٥٥

فهرست جداول

جدول۲-۱: وسایل و دستگاه های مورد استفاده و شرکت های سازنده آن ۲۷

جدول ۲-۲: مواد بکار رفته و شرکت های سازنده آنها ۲۸

جدول۲-۳: تهیه 10X TBE و1X TEB ۳۰

جدول۲-٤: مواد مورد نیاز برای تهیه بافر TES ۳۰

جدول ۲-۵: توالی پرایمرهای رفت و برگشت ۳۹

جدول۲-٦: مقادیر ترکیبات مورد استفاده برای PCR ٤٠

جدول۲-۷: برنامه PCR ٤١

جدول ۳-۱: توزیع جنسیتی افراد مورد مطالعه. ٤٢

جدول ۳-۲: مشخصات افراد مورد مطالعه از نظر قومیت ٤٢

جدول ۳-۳: مقادیر میانگین و انحراف معیار افراد تحت بررسی ٤٣

جدول ۳-٤: مشخصات افراد مورد بررسی از نظر درجه ناتوانی (EDSS) ٤٣

جدول ۳-۵: مشخصات افراد مورد بررسی از نظر نوع بیماری ٤٤

جدول ۳-٦: برخی اطلاعات بالینی بررسی شده در تعدادی از بیماران ٤٤

جدول ۳-۷: رابطه HLA DQA1*0102 با بیماری MS در دو گروه بیمار و کنترل ٤٧

جدول ۳-۸: رابطه بین نوع بیماری و HLA DQA1*0102 ..... ٤٨

جدول۳-۹: رابطه بین EDSS و HLA DQA1*0102 ..... ٤٨

جدول ۳-۱۰: رابطه ی HLA DQA1*0102 با قومیت عرب در بیمار و کنترل ٤٨

جدول۳- ۱۱: رابطه ی HLA DQA1*0102 با قومیت غیر عرب در بیمار و کنترل ٤٩

جدول ۳-۱۲: رابطه ی HLA DQA1*0102 با جنسیت (زن) ٥٠

جدول ۳-۱۳: رابطه ی HLA DQA1*0102 با جنسیت (مرد) ٥٠

جدول ۳-۱٤: رابطه بین HLA DQA1*0102 و اختلالات حسی ٥٠

جدول۳- ۱۵: رابطه بین HLA DQA1*0102 و درد چشم و یا تاری دید ٥١

جدول۳- ۱٦: رابطه بین HLA DQA1*0102 و اختلال بویایی یا چشایی ٥١

جدول۳- ۱۷: رابطه بین HLA DQA1*0102 و عدم تعادل در راه رفتن ٥١

جدول۳- ۱۸: رابطه بین HLA DQA1*0102 و علائم روده ای ٥٢

جدول۳- ۱۹: رابطه بین HLA DQA1*0102 و علائم بیماری در مثانه ٥٢

جدول ۳-۲۰: رابطه بین HLA DQA1*0102 و اختلال در بینایی و شنوایی.....۵۲

جدول ٤-۱: بررسی همراهی HLA DQA1*0102 در کشورهای مختلف.....۵۷

فهرست اشکال

شکل ۱-۱: شیوع MS در جهان در سال ۲۰۱۳ .....۳

شکل ۱-۲: سیتوکین های ایمنی ذاتی و نقش آن در تمایز T naive ۱٤

شکل۱-۳: مدل فرضی عملکرد سلول های سیستم ایمنی ذاتی علیه میلین.....۱۷

شکل۱-٤: انواع HLA.....۲۱

شکل ۱-۵: ساختار مولکول MHC Class II.....۲۲

شکل۳-۱: نتایج مربوط به الکتروفورز DNA ژنومی بر روی ژل آگارز ۱٪ ٤۵

شکل۳-۲: محصول PCR برای HLA DQA1*0102 و ژن کنترل داخلی MOG.....٤٦

فهرست نمودارها

نمودار۳ -۱: مقایسه نسبت قومیت در گروه کنترل و بیمار.....٤۳

نمودار ۳-۲: فراوانی آللی در گروه کنترل و بیمار.....٤۷

نمودار ۳-۳: فراوانی آللی در دو گروه کنترل و بیمار در قومیت عرب.....٤۹

نمودار ۳-٤: فراوانی آللی در دو گروه کنترل و بیمار در قومیت غیر عرب.....٤۹

چکیده

نام خانوادگی : قنبری مرداسی	نام: فریده	شماره دانشجویی : ۹۱۱۰۲۰٤
عنوان پایان نامه : بررسی فراوانی و همراهی HLA-DQA1*0102 با بیماری MS در بیماران مبتلا در استان خوزستان		
استاد/ اساتیدراهنما: دکتر حمید گله داری، دکتر سعیدرضا خاتمی		
استاد/ اساتید مشاور:		
درجه تحصیلی: کارشناسی ارشد	**رشته: ژنتیک**	**گرایش: مولکولی**
دانشگاه : شهید چمران اهواز	**دانشکده: علوم**	**گروه : ژنتیک**
تاریخ فارغ التحصیلی : ۹۳/٦/۲۹		**تعداد صفحه: ۷۱**
کلید واژه ها : مالتیپل اسکلروزیس، HLA-DQA1 *0102،PCR-SSP.		

چکیده:

مقدمه: مالتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری خودایمن است و یکی از شایعترین عوامل ناتوانی نورولوژیک، بویژه درجوانان می باشد. MS نتیجه تاثیر متقابل عوامل ژنتیکی و محیطی ناشناخته است. فراوانی برخی هاپلوتایپ های آنتی ژن لوکوسیت انسان (HLA) مانند HLA class II (DRB1*1501, DQA1*0102, DQB1*0602) در بیماری MS موثر شناخته شده اند. آلل HLA DQA1*0102 با استعداد ابتلا به MS در برخی جمعیت ها همراهی داشته است. هدف ما از این مطالعه تخمین فراوانی و همراهی HLA-DQA1*0102 با بیماری MS در بیماران مبتلا در استان خوزستان می باشد.

مواد و روشها: دراین مطالعه فراوانی آلل HLA-DQA1*0102 در ۲۰۵ بیمار مبتلا به MS در استان خوزستان و ۲۰۲ کنترل بررسی شد. در بین بیماران ۸۰٪ به عنوان RRMS و دیگر بیماران به عنوان PRMS, PPMS, SPMS دسته بندی شدند. HLA Typing برای HLA DQA1*0102 با استفاده از روش PCR-SSP انجام گرفت.

نتایج و بحث: این بررسی نشان داد که فراوانی آلل HLA-DQA1*0102 در بیماران ٦۰٪ (۱۲۳/۲۰۵) و در کنترل ۷۳٪ (۱٤۷/۲۰۲) می باشد. آنالیز اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 16 و آزمون مربع کای انجام گرفت که یک همراهی منفی بین HLA-DQA1*0102 و بیماری MS نشان داد (P=0.006). این مطالعه اولین بررسی فراوانی HLA-DQA1*0102 در بیماران مبتلا به MS در استان خوزستان است و نتایج ما در راستای برخی مطالعات انجام شده در کشورهای دیگر می باشد.

Abstract

Surname: Ghanbari Mardasi | **Name :**Farideh

Title : HLA-DQA1*0102 frequency and association survey with MS disease in patients in Khuzestan province

Supervisor/s: Dr. Hamid Galehdari, Dr Saeedreza Khatami

Advisor/s:

Degree: M.S.C

University: Shahid Chamran University of Ahvaz

Faculty: Science | **Department :** Genetics

Keywords : Multiple Sclerosis, HLA-DQA1*0102, PCR-SSP

Abstract :

Background: Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease. It is the most common cause of neurological disability especially in young adults. MS results from interplay between unidentified genetic and environmental factors. Frequency of some human leukocyte antigen (HLA) haplotypes such as class II alleles DRB1*1501, DQA1*0102, DQB1*0602 is considered to effect MS disease. The HLA DQA1*0102 allele has been associated with susceptibility to RA in several population. Our aim was to estimate the HLA-DQA1*0102 frequency and association with MS in patients Khuzestan province.

Materials and Methods: In this study, the frequency and association of HLA DQA1*0102 was investigated in 205 patients with multiple sclerosis from Khuzestan Province and 202 controls. Among the patients with MS, 80% of them were classified as RRMS and other patients were as PPMS, SPMS and PRMS. HLA typing for DQA1*0102 was performed by PCR-SSP method.

Results and Conclusion: HLA-DQA1*0102 allele frequency in patients was 60% (n=123/205) and in controls was 73% (n=147/202). Data analysis using SPSS 16 statistical software and the chi square test shown a negatively association between the HLA DQA1*0102 and multiple sclerosis (P=0.006). This is the first study that investigate HLA-DQA1*0102 frequency and association among MS patients in Khuzestan. Our results are in line with some previous reports in another country.

۱-۱ بیماری‌های خود ایمنی[۱]:

یک بیماری خود ایمنی با از دست دادن تحمل ایمونولوژیکی[۲] نسبت به آنتی‌ژن‌های خودی، ایجاد می‌شود. بیماری‌های خود ایمن تقریباً ۸-۵ درصد از جمعیت را، در ایالات متحده تحت تأثیر قرار داده است و سومین گروه شایع بعد از بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان در کشورهای صنعتی می‌باشند [۱].

تاکنون بیش از ۸۰ نوع بیماری خود ایمنی که اغلب ناتوان‌کننده هستند در انسان شناخته شده است که شامل بیماری‌هایی مانند دیابت ملیتوس نوع ۱[۳]، مالتیپل اسکلروزیس[٤]، سندرم لوپوس اریتوماتوس[٥]، روماتیسم مفصلی[٦]، استئو آرتریت[۷] و غیره می‌باشد [۲].

۱-۱-۱ تقسیم‌بندی بیماری‌های خود ایمنی

این بیماری‌ها از نظر کلینیکی به دو دسته تقسیم می‌شوند:

۱- بیماری‌های سیستمیک یا منتشر[۸]: در این نوع پاسخ ایمنی در نواحی مختلف بدن، باعث بروز ضایعات می‌شود. سردسته این طیف بیماری‌ها، بیماری لوپوس می‌باشد که اتو آنتی‌بادی‌ها علیه DNA و آنتی‌ژن‌های در گردش مثل آنتی‌ژن‌های هسته‌ای سلول باوجود می‌آیند و می‌توانند در نقاط مختلفی از بدن ایجاد ضایعات نمایند.

۲- بیماری‌های خاص ارگان[۹]: در این نوع بیماری‌ها، پاسخ ایمنی مستقیماً علیه بافت خاصی عمل می‌کند. به‌عنوان مثال بیماری تیروئیدیت هاشیموتو که اتو آنتی‌ژن‌ها،

---

[۱] Autoimmune Disease

[۲] Immune Tolerance

[۳] Type 1 Diabetes

[٤] Multiple sclerosis

[٥] Syndrome Lupus Erythematos

[٦] Arthritis Rheumatoid

[۷] Osteoarthritis

[۸] Systemic

[۹] Organ-specific

سلول سازنده تیروگلوبولین هستند و ضایعات منحصر به تیروئید است.

اگرچه این تقسیم‌بندی لزوماً به یک تفاوت و تمایز ژنتیکی اساسی بین این گروه‌ها منجر نمی‌شود اما همه‌ی آن‌ها عوامل ژنتیکی مهمی دارند و مشخصاً بین بیماری‌های خودایمنی سیستمیک و خاص ارگان از لحاظ ژنتیکی همپوشانی وجود دارد [۳, ٤].

۱-۲ مالتیپل اسکلروزیس:

MS یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خودایمن پیچیده و هتروژن است. جزء دسته اول بیماری‌های خود ایمنی است که با ایجاد التهاب توسط سلول‌های T فعال در سیستم عصبی مرکزی و تخریب غشای میلین اطراف آکسون‌ها همراه است. این علائم به علت نقص در سیستم ایمنی ثانویه رخ داده و اجزای غلاف میلین آکسون‌ها را هدف قرار می‌دهد [۵]. علائم ظاهری MS شامل اختلال در اعصاب حسی- حرکتی، بینایی و سیستم ادراک است. این اختلال غالباً در سن میان‌سالی بروز کرده و فراوانی آن در زنان ۲-۳ برابر مردان است. در ۵۵٪ از موارد بیماری در مراحل اولیه به‌صورت دوره‌های عود- بهبود[۱] خود را نشان می‌دهد اما با گذشت زمان و پیشرفته شدن بیماری بازیابی و دوره بهبودی مبتلایان کمرنگ شده و بیماری وارد مرحله مزمن و برگشت‌ناپذیر می‌شود. تقریباً ۱۰٪ از بیماران مبتلا نیز هیچ بازگشت و بهبودی در بیماری خود ندارند و علائم نورولوژیکی اولیه بیماری به سمت گسترش بیماری پیش می‌رود. فراوانی MS در ایالات متحده امریکا ۳۵۰۰۰۰ نفر و در کشور ایران نزدیک به ٦۰۰۰۰ نفر می‌باشد [٦].

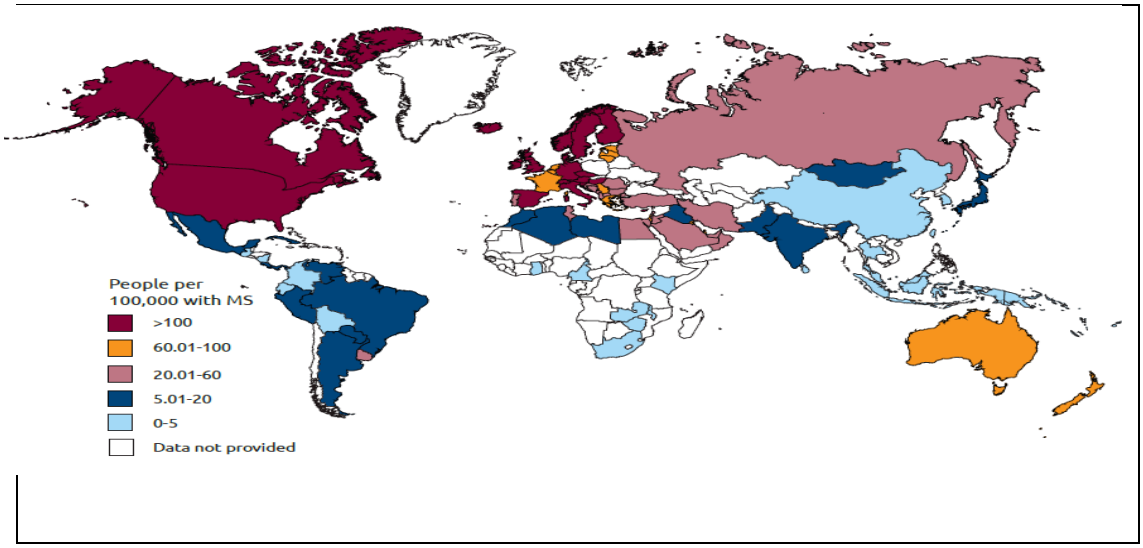
۱-۳ اپیدمیولوژی

مالتیپل اسکلروزیس از شایع‌ترین بیماری‌های نورولوژیک در سنین جوانی می‌باشد که اولین بار در سال ۱۸۲۲ ثبت گردید. معمولاً MS در افراد بین ۵۰-۱۵ ساله دیده شده است. اگرچه در

[۱] Relapse-remission

بعضی از کودکان نیز گزارش شده ولی شیوع آن در این سنین شایع نیست. بیماری MS در زنان حدوداً دو برابر شایع‌تر از مردان است و بیماری می‌تواند در هر مقطع از زندگی ظاهر گردد. حدوداً ۱۰٪ موارد، قبل از سنین ۱۸ سالگی شروع می‌شوند [۷].

در همه مطالعات انجام‌شده در مورد بیماری MS گرادیان (شیب) جغرافیایی دیده شده است به‌طوری که میزان شیوع درارتفاعات بالاتر افزایش می‌یابد. بیش‌ترین شیوع شناخته شده مالتیپل اسکلروزیس (۲۵۰ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر) در نواحی شمال اروپا است، در حالی که در مناطق شمالی ایالات متحده و کانادا نیز به‌طور مشابه میزان ابتلا بالاست. در مقابل، شیوع بیماری در ژاپن (٦ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر)، سایر مناطق آسیا، مناطق استوایی آفریقا و خاورمیانه پایین است [۸]. تخمین زده شده که تعداد افراد مبتلا به MS از ۲.۱ میلیون نفر در سال ۲۰۰۸ به ۲.۳ میلیون نفر در سال ۲۰۱۳ افزایش یافته است. شیوع متوسط جهانی از ۳۰ نفر در سال ۲۰۰۸ به ۳۳ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال ۲۰۱۳ افزایش یافته است [۹]. شکل ۱-۱ شیوع MS را در جهان در سال ۲۰۱۳ نشان می‌دهد [۹].



شکل ۱-۱ شیوع MS در جهان در سال ۲۰۱۳

۱-٤ مشخصات بالینی

علائم بالینی به دنبال دمیلیناسیون سلول‌های عصبی که خود منجر به مختل شدن انتقال پیام‌های عصبی می‌شود، بروز می‌کند. البته علائم بالینی به علت شدت و مکان دمیلینه شدن در بین افراد مختلف بسیار متنوع است [۱۰, ۱۱].

شروع MS ممکن است ناگهانی و یا تدریجی باشد و گاهی نشانه‌های آن می‌تواند به اندازه‌ای خفیف باشد که فرد به پزشک مراجعه نکند یا ممکن است به صورت تصادفی در MRI[۱] مشاهده شود. همچنین نشانه‌های بیماری به شدت متغیر بوده و به محل و شدت ضایعات CNS بستگی دارد. احساس ضعف ناشی از فعالیت بدنی، مشخصه MS است. ضعف اندام‌ها ممکن است باعث تحلیل توان جسمی، خستگی و یا اختلال در راه رفتن گردد. اسپاستیسیتی[۲] اغلب با اسپاسم‌های عضلانی خود به خودی و ناشی از حرکت همراه است. بیش از ۳۰٪ بیماران دارای اسپاسم‌های متوسط تا شدید به‌ویژه در ناحیه پاها هستند. این حالت اغلب با اسپاسم‌های دردناک که با حرکت و کار فرد تداخل دارد همراه است. نوریت اپتیک[۳] با علائمی مانند کاهش قدرت بینایی، تاری دید یا کاهش قدرت تشخیص رنگ در مرکز میدان بینایی تظاهر می‌یابد. این نشانه‌ها از حالت خفیف تا فقدان بینایی متغیر است. نشانه‌ها عمدتاً در یک چشم بروز می‌یابند، اما ممکن است هر دو چشم را نیز درگیر کند [۱۲].

قابل ذکر است تظاهرات حسی بیماری MS متنوع بوده و شامل هر دو مورد پاراستزی[٤] (مثل حس خارش و سوزن سوزن شدن، حرکت حشره روی بدن، سوزش دردناک) و هیپوستزی[٥] (مثل کاهش حس، بی‌حسی یا احساس مردگی) است. درد یکی از شایع‌ترین نشانه‌ها در بیش از ۵۰٪ بیماران است که ممکن است در هر ناحیه از بدن و یا در هر بازه زمانی از دوره‌ی بیماری روی دهد [۱۳].

[۱] Magnetic Reronance Imaging

[۲] Spasiticity

[۳] Optic Neuritis

[٤] Parastasis

[٥] Hipostasis

اختلالات عملکردی مثانه، مثل بی‌اختیاری ادرار، تکرر ادرار و شب‌ادراری، در بیش از ۹۰٪ افراد مبتلا به MS دیده شده است و یبوست نیز در بیش از ۳۰٪ بیماران شایع است. از دیگر نشانه‌های MS بروز اختلال عملکرد شناختی است که می‌تواند شامل از دست رفتن حافظه، عدم تمرکز، مشکل در حل مسئله و کندی پردازش اطلاعات باشد [۱٤].

۱-۵ تشخیص بیماری:

هیچ‌گونه تست آزمایشگاهی قابل اعتماد اختصاصی برای MS وجود ندارد بنابراین تشخیص آن از روی علائم بالینی صورت می‌گیرد. با این حال تعداد متغیری از تست‌های آزمایشگاهی و عکس‌برداری متنوعی وجود دارد که به تشخیص بیماری کمک می‌کند. با استفاده از MRI می‌توان ضایعات چندگانه را که به‌صورت نامتقارن در ماده سفید سیستم اعصاب مرکزی واقع شده‌اند بررسی کرد. همچنین ظهور ضایعات تخریبی در طناب نخاعی به‌کرات دیده می‌شود. از آزمایش‌های فرعی که عمدتاً در تشخیص بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرند می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

شمارش سلول‌های تک‌هسته‌ای مایع مغزی نخاعی (CSF)[۱]، بررسی مقدار پروتئین و گلوکز مایع مغزی نخاعی و بررسی مسیرهای حسی و شنوایی [۱۰, ۱۵].

برای تشخیص مثبت قطعی بیماری ٦ معیار وجود دارد. این معیارها در کمیته‌ای تحت عنوان مک‌دونالد[۲] توسط متخصصین نورولوژی در سال ۲۰۰۵ ارائه گردید و شامل موارد زیر است:

۱- ناهنجاری‌های قابل مشاهده‌ای (عینی) که از اختلال در عملکرد سیستم اعصاب مرکزی ناشی می‌شوند باید وجود داشته باشد.
۲- این ناهنجاری‌ها باید وسعتی از ماده‌ی سفید را در برگیرند.
۳- دو یا بیش از دو ناحیه از CNS باید تحت تأثیر قرار گرفته باشد.
٤- الگوهای بالینی باید شامل دو یا بیشتر حمله‌ی (مرحله‌ی) جداگانه باشد که هر یک ۲٤

[۱] Cerebrospinal fluid
[۲] McDonald's

ساعت طول بکشد و حداقل ۳۰ روز بین آن‌ها فاصله باشد، یا فرایند آرام یـا تـدریجی و مرحله به مرحله‌ای در طول ٦ ماه و ناهنجاری در مایع مغزی نخاعی دیده شود که در آن مایع مغزی نخاعی می‌تواند دارای باندهای اولیگوکلونال باشد و تولیـد ایمونوگلـوبین G (IgG) افزایش یابد.

۵- سن شروع باید ۱۰ تا ٤۰ سالگی باشد.

٦- علائم بالینی و آزمایشات نباید به بیماری عصب‌شناختی دیگری نسبت داده شود [١٦].

۱-۵-۱ EDSS[1]:

زمانی که یک نفر مبتلا به MS تشخیص داده شد، شدت ناتوانی او باید انـدازه‌گیـری شـود. اندازه‌گیری میزان (نمره‌ی) وضعیت افزایش ناتوانی (EDSS) که توسط کورتزکه طراحی شد، به عنوان روشی برای اندازه‌گیری میزان ناتوانی در ۸ سیسـتم عملکـردی (FS)[2]: هرمـی، مخچـه‌ای، ساقه‌ی مغز، حسی، روده و مثانه، بینایی، فکری و غیره. گستره‌ی مقیـاس از صـفر (آزمـایش‌هـای عصب‌شناسی نرمال) تا ۱۰(مرگ در اثر MS) می‌باشد. اندازه‌گیری ۱ تا ٤.۵ برای فردی است کـه حرکت کامل دارد، در حالی که گستره‌ی ٦ تا ۹.۵ مربوط به افرادی است کـه آسـیب‌هـای شـدید دیده‌اند. این مقیاس خطی نیست [۱۷].

۱-٦ درمان MS:

درمان بیماری در فاز عود -بهبود[3] نتیجه بخش‌تر است. در این فاز علائم بالینی شامل، التهاب و تشکیل پلاک در مغز و طناب نخاعی شدت یافته و با MRI قابل تشخیص است. فاکتورهـایی که منجر به تبدیل بیماری از فاز عود -بهبود به فاز پیش‌رونده[4] مقاوم به درمان مـی‌شـود شـناخته نشده است اما احتمالاً تخریب غیرقابل برگشت اکسون و کاهش ظرفیت سیستم اعصاب مرکـزی برای تشکیل غلاف میلین در این مورد بی‌تأثیر نیست. تاکنون درمانی برای MS وجـود نـدارد و درمان‌های کنونی درمان‌های تسکینی هستند به‌طوری که علائم فاز عود بیماری را بهبود می‌دهند.

[1] Expanded Disability Status Scale

[2] Functional System

[3] Relapsing-Remmiting phase

[4] Progressive phase

این داروها شامل داروهای ایمنومدولاتوری[1] و ضدالتهاب هستند و تاثیرآنها نیز بر تمام بیماران یکسان نیست و بر روی پیشرفت بیماری نیز تأثیری ندارد [۱۱, ۱۸].

۱-۷ انواع MS :

چهار نوع وضعیت بالینی برای MS تعریف شده است که شامل:

۱- عودکننده-فروکش کننده[2] (RRMS)

RRMS ۵۵٪ از موارد MS را در مراحل آغاز بیماری، هنگام شروع به خود اختصاص می‌دهد و به‌صورت حملات مجزایی که عموماً روزها تا هفته‌ها طول می‌کشد، بارز می‌شود. اغلب در طی هفته‌ها تا ماه‌های بعد بهبودی کامل روی می‌دهد، اما در طی حمله امکان حرکت فرد به شدت مختل می‌شود و در حدود نیمی از موارد بهبودی اتفاق نمی‌افتد [۱۹].

۲- پیش‌رونده اولیه[3] (PPMS)

حدود ۱۰٪ موارد را به خود اختصاص می‌دهد. این بیماران تجربه‌ای از حملات ندارند بلکه فقط یک سیر یکنواخت نزولی عملکردی را از زمان شروع بیماری تجربه می‌کنند. این نوع از بیماری توزیع جنسی یکنواخت دارد و به‌طور متوسط از سن ٤٠ سال شروع و به‌سرعت پیشرفت می‌کند. این‌که آیا PPMS یک شکل کمیاب همان بیماری زمینه‌ای RRMS است یا یک بیماری متمایز، نامشخص است [۱۹].

۳- پیش‌رونده ثانویه[4] (SPMS)

سیر علائم SPMS همواره به‌صورت RRMS شروع می‌شود ولی سیر بالینی به گونه‌ای تغییر می‌یابد که بیمار روند پایدار رو به وخامت را بدون ارتباط با حملات حاد تجربه می‌کند. نقص نورولوژیک ثابت بیش از نوع قبل است. خطر ابتلا به این نوع ۳۰٪ است به این معنی که قسمت عمده‌ای از RRMS تبدیل به SPMS شده و SPMS نشانه مرحله دیررس همان

[1] Immunomedulatory

[2] Relapsing-Remmiting MS

[3] Primary Progresive MS

[4] Secondry Progresive MS

بیماری زمینه‌ای RRMS است [۱۹].

٤- فروکش‌کننده- پیش‌رونده (RPMS)[۱]

RPMS حدود ۵٪ بیماران را شامل شده و با PPMS و SPMS هم‌پوشانی دارد. این بیماران همانند افراد PPMS یک روند یکنواخت رو به وخامت را در شروع بیماری نشان می‌دهند و در عین حال همانند بیماران SPMS حملات گاه به گاه سیر پیش‌رونده بیماری را نیز تجربه می‌کنند [۱۹].

۱-۸ پاتوژنز بیماری:

پاتوژنز MS، به خاطر ماهیت هتروژن آن تاکنون مشخص نشده است. البته چندین مکانیسم دخیل در بیماری‌زایی آن تاکنون توضیح داده شده است و احتمالاً تمامی این فرایندها در به وجود آمدن MS نقش ایفا می‌کنند.MS یک بیماری دو فازی است و شامل فاز التهاب و فاز تخریب نورون‌ها می‌باشد. فاز التهاب توسط سیستم ایمنی واسطه‌گری می‌شود در حالی که فاز تخریب نورون‌ها مربوط به از دست دادن آکسون و اختلال در انتقال پیام عصبی می‌باشد [۱۵].

تخریب میلین در MS عمدتاً مرتبط با ایمنی سلولی با واسطه سلول‌های Th1[۲]، مستقیماً علیه اتو آنتی‌ژن‌های الیگودندروسیت و میلین می‌باشد. سایر مکانیسم‌ها که بر پایه مطالعات ایمنوهیستوشیمی و EAE[۳] به دست آمده‌اند عبارت از: دمیلیناسیون به دلیل حضور سوپر آنتی‌ژن‌های ویروسی و باکتریایی، حضور آنتی‌بادی‌های دمیلینه کننده و سلول‌های CTL[٤] اختصاصی اجزای میلین، هیپوکسی و ایسکمی و عفونت ویروسی سیستم اعصاب مرکزی. البته مطالعات نشان می‌دهند که پاتوژنز تخریب میلین در بیماران مختلف، متفاوت است. همچنین پروفایل التهابی ضایعات در سنین مختلف متفاوت می‌باشد. به‌طور خلاصه مطالعه ضایعات MSو روند تشکیل آن‌ها شامل یکسری تغییرات متوالی می‌باشد. در مراحل اولیه تشکیل ضایعات

[۱] Relapsing- Progressive MS

[۲] T helper 1

[۳] Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

[۳] Cytotoxic T cell

از دست دادن الیگودندروسیتها در حضور میکروگلیا فعال شده مشاهده می‌شود و سلول‌های التهابی کمتری وجود دارد بعد از آن ماکروفاژها میلین‌های مرده و تخریب شده را فاگوسیت می‌کنند و همچنان سلول التهابی کمی وجود دارد. متعاقب خروج میلین از اکسون و زمانی که ماکروفاژها مملو از لیپید هستند و سطح آن‌ها با ایمنوگلوبولین پوشیده شده است سلول‌های T و B فعال و پلاسما سل‌ها و همین‌طور الیگودندروسیت تمایز یافته تعدادشان در ضایعات افزایش می‌یابد. مطالعات در ضایعات تازه تشکیل شده در MS مشخص کرد که فاگوسیتوز میلین مربوط به فعال شدن ماکروفاژ توسط سلول‌های Th1 نمی‌باشد بلکه این پاسخ طبیعی ماکروفاژها به حضور میلین‌های مرده و تخریب شده است و متعاقب آن پاسخ التهابی شکل می‌گیرد البته دلیل فعال شدن میکروگلیا و آپوپتوز الیگودندروسیتها و سایر سلول‌های سیستم اعصاب مرکزی تاکنون مشخص نشده است [۲۰].

۱-۸-۱ نقش پاسخ ایمنی اختصاصی در پاتوژنز بیماری

مطالعات انجام شده بر روی خون، مایع مغزی -نخاعی و بافت مغزی بیماران مبتلا به MS نشان‌دهنده نقش سلول‌های ایمنی و همچنین نقش ایمنی همورال و سلولی در پاتوژنز MS می‌باشد که باعث بر هم خوردن هموستاز ایمنی و پاسخ ایمنی کنترل نشده در برابر اجزاء ساختاری سیستم اعصاب مرکزی می‌شود [۱۰, ۲۱].

۱-۸-۱-۱ سلول‌های T[۱]:

در روند پیشرفت بیماری، سلول‌های CD4+ خود واکنش‌گر، آنتی‌ژن‌هایی را در پارانشیم سیستم اعصاب مرکزی شناسایی می‌کنند که توسط مجموعه مولکول‌های MHC II[۲] سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن (APC)[۳] عرضه می‌شود. سلول‌های T در این روند به سمت فنوتیپ Th1 هدایت می‌شوند [۲۲].

[۱] T cells

[۲] Major Histocompatibility Complex class II

[۳] Antigen-Presenting Cell

سلول‌های T فعال‌شده‌ی واکنش‌دهنده به پروتئین پایه میلین MBP[1] در خون، مایع مغزی نخاعی و داخل ضایعات MS شناسایی شده‌اند. به‌علاوه DR2 ممکن است پاسخ خود ایمن را تحت تأثیر قرار دهد، زیرا محصولات این ژن با میل ترکیبی بالا به جزئی از MBP متصل شده، پاسخ سلول‌های T به این پروتئین‌های خودی را تحریک می‌کند [۲۳].

Th1 فعال‌شده باعث تخریب میلین و آزاد شدن اتو آنتی‌ژن‌های بالقوه جدید می‌گردد. ترشح سیتوکین‌های[2] پیش التهابی مانند IFN-γ[3] و TNF-α (اینترفرون گاما و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا) و کموکین‌ها[4] باعث فعال شدن سلول‌های التهابی غیراختصاصی و هم‌چنین شکل‌گیری شکل‌گیری سلول‌های B ترشح‌کننده‌ی آنتی‌بادی اختصاصی میلین می‌گردد که تخریب بافتی را تشدید می‌کند [۲٤].

درنهایت مرگ آپوپتیک سلول‌های T و تبدیل آن‌ها به فنوتیپ Th2 به‌صورت مثبتی نتیجه تخریب را تعدیل می‌کند. سلول‌های دیگری نیز در روند تخریب شرکت می‌کنند، مانند سلول‌های CD8+ که یک تکثیر کلونال معینی را در پلاک MS نشان می‌دهد [۲۵].

در عین حال سلول‌های Pre-exciting auto-reactive T، در خارج سیستم اعصاب مرکزی توسط میکروب‌های خارجی، پروتئین‌های خودی و یا سایر سوپر Ag های میکروبی فعال می‌گردند. این سلول‌های T فعال‌شده توسط پروسه‌های چندگانه از سد خونی مغزی عبور می‌کند. ابتدا این سلول‌های T فعال‌شده با بیان اینتگرین به مولکول‌های چسبان روی سطح اندوتلیوم اتصال می‌یابند و در مرحله بعد از سد ماتریکس خارج سلولی عبور می‌کنند. در این مرحله عملکرد آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز[5] (MMP) به‌عنوان آنزیمی که نقش مهمی در تخریب ماتریکس خارج سلولی و پروتئولیز اجزای میلین دارد تأثیرگذار است. آنتی‌بادی‌های ضد میلین، ماکروفاژهای فعال‌شده یا سلول‌های میکروگلیا و TNF-α در فرآیند میلین زدایی

[1] Myelin Basic Protein

[2] Cytokines

[3] Interferon Gamma

[4] Chemokine

[5] Matrix Metallo Proteinases

(Demyelination) همکاری دارند. در فاز تخریب نورونی بیماری میزان بسیار زیادی از گلوتامات از لنفوسیت‌ها، میکروگلیا و ماکروفاژها آزاد می‌کند. گلوتامات گیرنده‌های متنوعی را از طریق cAMP[1] فعال می‌کند و گیرنده‌های کاتیونیک[2]، ورود کلسیم از طریق کانال یونی در تعامل با گیرنده‌های مختلف گلوتامات ممکن است منجر به آسیب‌های نکروتیک الیگودندروسیت‌ها و آکسون‌ها شود [۲۶].

۱-۸-۱-۲ نقش سلول B:

گزارش افزایش سنتز ایمونوگلوبولین G (IgG) در مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به MS همراه با تکثیر کلونی سلول‌های B و افزایش موتاسیون در گیرنده‌های این سلول‌ها حاکی از پاسخ‌دهی سلول‌های B است و نقش مهم این سلول سیستم ایمنی را در پیش برد بیماری نشان می‌دهد این در حالی است که سلول‌های B به‌طور اختصاصی به آنتی‌ژن‌های عرضه‌شده در سیستم اعصاب مرکزی پاسخ می‌دهند و کلون‌های مشابه در گردش خون محیطی وجود ندارد [۲۷]. آزمایش‌های بیشتر نشان می‌دهد که برخی سلول‌های B فرآیندی را تحت عنوان اصلاح رسپتور[3] در پی می‌گیرند. مشاهده افزایش بیان ژن ایمنوگلوبین و Fc receptor در بافت در حال تخریب این بیماری نشان می‌دهد که حذف کلون‌های B cell هدف، در شکل‌گیری استراتژی درمانی نقش مهمی دارند [۲۸].

۱-۸-۱-۳ کمپلمان

کمپلمان یک سیستم کمکی برای دفاع در برابر میکروب‌هاست. مغز انسان ناحیه مصون از سیستم ایمنی است و توسط سد خونی -مغزی از خون محیطی جدا می‌شود باوجود این سلول‌های مغزی اغلب پروتئین‌های کمپلمان را تولید می‌کنند. آستروسیتها عمده‌ترین سلول تولیدکننده کمپلمان در مغز هستند و بدین طریق در دفاع در برابر عوامل عفونی نقش دارند و همچنین در بعضی بیماری‌ها در آسیب بافتی نقش ایفا می‌کنند. دمیلیناسیون نه‌تنها از طریق فعال شدن مسیر کلاسیک کمپلمان روی می‌دهد بلکه همچنین از طریق فعال شدن مستقیم کمپلمان بعد

[1] Cyclic Adenosine Monophosphate
[2] Kationic
[3] Receptor revision