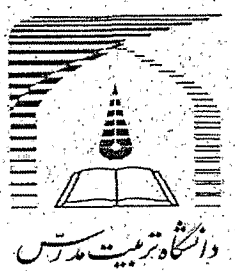
١٠٩٩٥

۸۷/۱/۱۰۸۷۸۱
۸۸-۲۵



دانشکده علوم پایه

رساله دوره دکتری ژنتیک (مولکولی)

عنوان:

بررسی اختلالات ژنوم میتوکندری در بیماران آریتمی

نگارش:

مهری خاتمی

استاد راهنما

دکتر سید مسعود هوشمند

اساتید مشاور

دکتر مجید صادقی زاده

دکتر محمود افتخار زاده

۱۳۸۸/۱/۱۸

دی ۱۳۸۷

۱۰۹۹۵۵

دانشکده علوم پایه

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم مهری خاتمی رساله واحدی خود را باعنوان: «بررسی اختلالات ژنوم میتوکندری در بیماران آریتمی» در تاریخ ۸۷/۱۰/۳۰ ارائه کردند.

اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می کند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	آقای دکتر سیدمسعود هوشمند	استادیار	
۲- استاد مشاور	آقای دکتر مجید صادقی‌زاده	دانشیار	
۳- استاد مشاور	آقای دکتر محمود افتخارزاده	استادیار	
٤- استاد ناظر داخلی	آقای دکتر سیدجواد مولی	دانشیار	
٥- استاد ناظر داخلی	آقای دکتر مهرداد بهمنش	استادیار	
٦- استاد ناظر خارجی	آقای دکتر محمود تولایی	استادیار	
۷- استاد ناظر خارجی	آقای دکتر سعید مروتی	استادیار	
۸- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	آقای دکتر بهرام محمدسلطانی	استادیار	

بسمه‌تعالی

آیین‌نامهٔ چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرّس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرّس، مبیّن بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

مادّهٔ ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

مادّهٔ ۲ در صفحهٔ سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد/رسالهٔ دکتری نگارنده در رشتهٔ ترنتک موسول است که در سال ۱۳۸۷ در دانشکدهٔ علوم پایه دانشگاه تربیت مدرّس به راهنمایی سرکار خانم/جناب آقای دکتر مسعود هوشمند، مشاورهٔ سرکار خانم/جناب آقای دکتر مجید صادقی زاده و مشاورهٔ سرکار خانم/جناب آقای دکتر حمود افتخار زاده از آن دفاع شده است.»

مادّهٔ ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

مادّهٔ ۴ در صورت عدم رعایت مادّهٔ ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ‌شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرّس، تأدیه کند.

مادّهٔ ۵ دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادّهٔ ۴ را از محلّ توقیف کتابهای عرضه‌شدهٔ نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

مادّهٔ ۶ اینجانب مهری خانمی دانشجوی رشته ترنتک موسول مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام‌خانوادگی: مهری خانمی

تاریخ و امضا: ۸۷/۱۰/۳۰

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه:

با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت وکرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت‌علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می‌باشد ولی حقوق معنوی پدیدآورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه / رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می‌باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم‌افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه / رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ٥- این آیین‌نامه در ٥ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت‌رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱٥ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

تقدیم به پدر و مادر عزیزتر از جانم و همسر مهربان و فداکارم

که با سرچشمه های زلال مهر و محبت بی دریغ خود باعث به ثمر

رسیدن تلاشم شدند

و تقدیم به تمام کسانی که در طول دوران تحصیلم همواره مرا

مورد لطف و عنایت خویش قرار دادند.

تشکر و قدردانی

" زندگی صحنه ی یکتای هنرمندی ماست هر کسی نغمه خود خواند و از صحنه رود
صحنه پیوسته بجاست خرم آن نغمه که مردم بسپارند به یاد"

سپاس و ستایش کردگار یکتایی راست که ذات بی کرانش سرشار از دانش است و چه با سخاوت از این خوان بی همتا، بشر را موهبتی شگرف ارزانی داشت و دریای کمالات خود را به روی ما گشود.

سپاس به درگاه آن یگانه معبود ازلی که در تمام لحظات، سایه لطف و رحمت بی کرانش در پهنه هستی ام گسترده بود و در سایه عنایتش توفیق تعقل و تامل یافتم.

اجرا و تدوین این رساله مدیون راهنمایی، مساعدت و حمایت بزرگوارانی است که بی شک بدون یاری آنان طی مسیر دشوارتر می نمود. لذا بر خود لازم می دانم تا مراتب سپاسگزاری خود را نسبت به کلیه عزیزانی که مرا در مراحل مختلف رساله یاری فرمودند، ابراز دارم.

از استاد راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر سید مسعود هوشمند که همواره با رهنمودهای ارزشمند خویش، روشنگر مسیر تحقیق بودند، بی نهایت سپاسگزارم.

از اساتید فرهیخته و گرامی جناب آقای دکتر مجید صادقی زاده و جناب آقای دکتر محمود افتخار زاده که زحمت مشاوره رساله را بر عهده داشتند و از محضر هر دو ایشان استفاده کردم، متشکرم.

از اساتید ارجمند آقای دکتر بهمنش، آقای دکتر اکبری، آقای دکتر تولایی و آقای دکتر مروتی که زحمت مطالعه و داوری رساله را بر عهده داشتند و همچنین از تمامی اساتید بزرگوارم در مقاطع مختلف تحصیلی که همواره از وجودشان کسب فیض نموده ام سپاسگزارم.

از خانواده عزیزم پدر صبور و مادر مهربانم و همچنین همسر فداکارم و پسر دلبندم، علیرضا، به خاطر محبتها و الطاف بی دریغشان و حمایت و پشتیبانیشان، بی نهایت متشکرم. مخصوصا از همسر عزیزم سپاسگزارم که همیشه مشوق، همراه و یاورم هستند و خوشبختی ام را مدیون اویم.

از کارشناسان محترم آزمایشگاه ژنتیک مرکز پزشکی خاص، خانم ها رستمی، دهقان، خلیلی و طالب زاده که با مساعدت های خویش باعث تسریع در انجام رساله شدند، تشکر می نمایم.

در نهایت از تمامی دوستان و هم رشته ای های مهربانم که در این دوره مرا یاری رساندند، سپاسگزاری می نمایم.

از ایزد متعال سلامتی و توفیق یکایک عزیزان را در تمامی مراحل زندگی مسئلت دارم.

مهری خاتمی
زمستان ۱۳۸۷

خلاصه

آریتمی های قلبی بویژه سندرم های long QT و بروگادا را به عنوان موارد مهم مرگهای ناگهانی قلبی (SCD) در افراد جوان با قلبهای سالم معرفی می کنند. هر دو این سندرم ها جزء بیماری های کانالهای یونی هستند و باعث اختلالات الکتریکی قلب می شوند که منجر به تظاهرات آریتمی در نوار های اکوکاردیوگرام می شوند. سندرم long QT نوعی اختلال دپولاریزاسیون است که به صورت طویل شدن فاصله QT در نتایج اکوکاردیوگرام مشخص می شود و سندرم بروگادا که بیشتر سبب مرگهای ناگهانی در افراد جوان می شود به صورت بلند شدن قطعه ST در ECG دیده می شود. مشخص شده است که این دو سندرم بر اثر جهش هایی در ژنهای کد کننده کانالهای سدیم و پتاسیم سلولهای عضله قلب ایجاد می شوند. تاکنون اکثر تحقیقات روی این جهش های هسته ای متمرکز شده است اما نتایج آنها جوابگوی تمامی موارد آریتمی نیست. از سوی دیگر چون قلب بافتی است که شدیدا به انرژی اکسیداتیو تولید شده در میتوکندری وابسته است و کانالهای یونی، حساس به ATP هستند و به تعداد زیادی در غشاء سلولهای قلبی وجود دارند، ما اختلالات ژنوم میتوکندری را در بیماران به منظور یافتن این ارتباط بررسی کردیم و نتیجه گرفتیم که تغییرات این ژنوم باعث ناپایداری های mtDNA می گردد که ممکن است به عنوان ریسک فاکتور در بروز بیماری های آریتمی نقش داشته باشد. در این مطالعه ۶۸ بیمار (۳۷ بروگادا و ۳۱ LQT سندرم) مورد بررسی قرار گرفتند که با استفاده از روشهای بررسی نظیر Multiplex PCR و ساترن بلات در این بیماران، یک حذف بزرگ در حدود ۸/۷ kb در mtDNA آنها مشخص شد. این حذف بزرگ هتروپلاسمیک سبب فقدان ۱۰ ژن ساختاری و ۱۲ ژن tRNA می شود که مسلما باعث اثرات قابل ملاحظه ای در مسیر تولید ATP می شود. علاوه بر این با مطالعه حدودا ۶۰٪ از کل ژنوم میتوکندری بیماران، توسط آنالیزهای TTGE و تعیین توالی، برای اولین بار موفق به یافتن ۵۳ جهش نقطه ای گشتیم که ۱۸تای آنها (۳۴٪) جدید بودند و ۳۵ تا (۶۶٪) قبلا در سایر بیماریهای میتوکندریایی نیز گزارش شده بودند. طبق نتایج این تحقیق، جهش های فوق در بیماران به مراتب بیشتر از نمونه های کنترل (۷۵ نمونه) مشاهده گردید ($P<0.0001$). علاوه بر این با اندازه گیری میزان ATP داخل سلولی در لنفوسیتهای ۵ بیمار و ۲۵ نمونه کنترل، کاهش قابل توجه ATP تولید شده در بیماران نیز تایید شد. گر چه نقش بیماریزایی این اختلالات ژنوم میتوکندری یا تجمع آنها در بیماران هنوز شناسایی نشده است اما نتایج حاصله در این پایان نامه نشان می دهد که چون برخی از آنها در مناطقی رخ داده اند که از نظر ساختاری یا عملکردی مهم هستند، نمی توان اثر آنها را در وخیم کردن حال بیماران به دلیل کاهش تولید ATP در آنها نادیده گرفت.

کلید واژه: سندرم LQ، سندرم بروگادا، ژنوم میتوکندری، جهش های بازآرایی، TTGE.

عنوان | صفحه

۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- امواج پلاریزه و دپلاریزه ۲
۱-۳- عامل ایجاد ایمپالس های الکتریکی قلب ۴
۱-۳-۱- کانالهای یونی ۴
۱-۴- بیماری های قلب ۵
۱-۴-۱- آریتمی های قلبی ۶
۱-۴-۲- نقص های متابولیکی در بیماران آریتمی ۶
۱-۵- سندرم Long QT (LQTS) ۷
۱-۵-۱- تاریخچه و انواع LQTS ۸
۱-۵-۲- ژنتیک LQTS ۹
۱-۵-۳- نقش کانالهای یونی در LQTS ۱۰
۱-۵-۴- پاتوفیزیولوژی ستدرم LQT ۱۲
۱-۶- سندرم بروگادا ۱۳
۱-۶-۱- تاریخچه و ژنتیک سندرم بروگادا ۱۳
۱-۶-۲- نقش کانالهای یونی در بروگادا ۱۵
۱-۶-۳- میزان شیوع سندرم مرگ شبانه ۱۵
۱-۷- میتوکندری ۱۷
۱-۷-۱- میتوکندری در سلولهای قلبی ۱۹
۱-۷-۲- ساختار و عملکرد میتوکندری ۱۹
۱-۷-۳- غشاء داخلی میتوکندری ۲۰
۱-۷-۳-۱- کمپلکس های زنجیره تنفسی میتوکندری ۲۱
۱-۷-۳-۱-۱- کمپلکس I زنجیره تنفسی ۲۲
۱-۸- ژنوم میتوکندری ۲۳
۱-۹- نقش استرس های اکسیداتیو در بیماری های میتوکندریایی ۲۵
۱-۱۰- میزان بالای جهش در میتوکندری ۲۵

۱-۱۱- بیماری های میتوکندریایی ۲۶
۱-۱۱-۱- شیوع ۲۶
۱-۱۱-۲- نقش ژنوم هسته در بیماری های میتوکندریایی ۲۶
۱-۱۱-۳- توارث مادری نقص های میتوکندری ۲۷
۱-۱۱-۴- میتوکندری و قلب ۲۸
۱-۱۱-۵- اختلالات ژنوم میتوکندری ۲۹
۱-۱۱-۶- اثبات بیماریزا بودن جهش در ژنوم میتوکندری ۳۰
۱-۱۱-۷- حذف های ژنوم میتوکندری ۳۰
۱-۱۱-۷-۱- نقش توالی های تکراری در بروز حذفهای ژنومی ۳۱
۱-۱۱-۸- جهش های هتروپلاسمی و هموپلاسمی ۳۲
۱-۱۱-۹- محدودیت های مطالعات مولکولی میتوکندری ۳۳
۱-۱۱-۱۰- تشخیص مولکولی بیماری های میتوکندریایی ۳۴
۱-۱۱-۱۰-۱- روش های آزمایشگاهی مورد استفاده برای غربالگری جهش های نقطه ای و حذفهای کوچک ۳۴
۱-۱۱-۱۰-۱-۱- TTGE ۳۶
۱-۱۱-۱۰-۲- روشهای آزمایشگاهی استفاده شده برای غربالگری بازآرایی های بزرگ شامل حذف و مضاعف شدن ها ۳۹
۱-۱۱-۱۰-۲-۱- آنالیز ساترن بلات (Southern blot analysis) ۳۹
۱-۱۱-۱۰-۲-۲- تشخیص حذف های ژنوم میتوکندری با آنالیز PCR ۴۰
۱-۱۱-۱۰-۳- تعیین هتروپلاسمی mtDNA بازآرایی شده ۴۱
۱-۱۱-۱۰-۴- تعیین میزان هتروپلاسمی در mtDNA دارای جهش های نقطه ای ۴۲
۱-۱۲- اندازه گیری ATP داخل سلولی توسط آنزیم لوسیفراز ۴۳
۱-۱۳- مروری بر مطالعات گذشته ۴۴
۱-۱۳-۱- بیماری های میتوکندریایی ۴۴
۱-۱۳-۲- اثبات نقصهای ژنوم میتوکندری در اختلالات قلبی ۴۵
۱-۱۴- هدف ۴۹
فصل دوم: مواد و روشها ۵۰
۲-۱- مشخصات بیماران ۵۱

۲-۲- جمع آوری نمونه ۵۴
۲-۳- استخراج DNA کلی از بیماران (Total DNA extraction) ۵۵
۲-۴- بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده ۵۶
۲-۴-۱- UV اسپکتروفتومتری ۵۶
۲-۴-۲- الکتروفورز ژل آگارز ۵۷
۲-۵- PCR ۵۹
۲-۵-۱- طراحی پرایمر ۵۹
۲-۶- تشخیص حذف های ژنوم میتوکندری در بیماران ۵۹
۲-۶-۱- روش Multiplex PCR ۵۹
۲-۶-۲- آنالیزهای بلاتینگ جهت تایید نتایج واکنش های PCR ۶۳
۲-۶-۲-۱- تکثیر ناحیه D-loop ۶۳
۲-۶-۲-۱-۱- استخراج DNA از ژل با استفاده از کیت Diatom DNA Elution ۶۴
- ساخت پروب برای ناحیه D-loop میتوکندری ۶۶
۲-۶-۲-۲- نقطه گذاری DNA ۶۷
۲-۶-۲-۳- ساترن بلاتینگ ۷۲
۲-۷- تشخیص جهش های نقطه ای هتروپلاسمی و هموپلاسمی در ژنوم میتوکندری ۷۴
۲-۷-۱- روش Temporal temperature gradient gel electrophoresis ۷۴
- تکثیر قطعات مورد نظر از ژنوم میتوکندری برای آنالیز TTGE ۷۴
- دناتوراسیون و رناتوراسیون محصولات PCR ۷۶
- آماده کردن ژل آکریل آمید برای الکتروفورز در روش TTGE ۷۸
- تعیین محدوده دمایی و میزان افزایش دما در هر ساعت طی TTGE ۸۰
۲-۷-۲- واکنش های PCR برای تعیین توالی قطعات DNA دارای جهش ۸۲
۲-۷-۳- Misspairing PCR- RFLP ۸۴
۲-۷-۳- هضم DNA توسط آنزیم EcoRI ۸۶
۲-۸- روش جداسازی گلبولهای تک هسته ای خون محیطی (کیت Ficolymph) ۸۷
۲-۸-۱- استخراج ATP داخل سلولی و اندازه گیری آن ۸۸
فصل سوم: نتایج ۹۰
۳-۱- انتخاب بیماران و ترسیم شجره مبتلایان به سندرمهای آریتمی ۹۱

۳-۲- انجام PCR Multiplex جهت مطالعه حذف های ژنوم میتوکندری ۹۴
۳-۲-۱- مطالعه حذفهای ژنوم میتوکندری در بیماران مسن ۹۷
۳-۳- آنالیز ساترن بلات ۹۸
۳-۴- تعیین توالی ناحیه حذفی در ژنوم میتوکندری بیماران ۹۹
۳-۵- انجام TTGE جهت مطالعه جهش های نقطه ای ژنوم میتوکندری ۱۰۰
۳-۶- تعیین توالی قطعات دارای جهش های نقطه ای ۱۰۴
۳-۷- هم ردیفی (Alignment) جهش های تغییر اسید آمینه ۱۰۶
۳-۸- تعیین جهش هایی در ژنهای tRNA بیماران ۱۱۱
۳-۹- اندازه گیری ATP داخل سلولی در بیماران ۱۱۴
فصل چهارم: بحث ۱۱۶
۴-۱- نقش اختلالات میتوکندری در بیماری های آریتمی ۱۱۸
۴-۲- مشکلات مطالعات روی ژنوم میتوکندری بیماران ۱۲۰
۴-۳- لزوم یافتن تغییرات ژنومی مهم در بروز بیماری ۱۲۱
۴-۴- مطالعه حذف های ژنوم میتوکندری در سندرم های LQT و بروگادا ۱۲۲
۴-۵- مطالعه جهش های نوکلئوتیدی ژنوم میتوکندری در سندرم های LQT و بروگادا ۱۲۶
۴-۵-۱- زیر واحد ND1 (subunit 1 NADHdehydrogenase) ۱۳۲
۴-۵-۲- زیر واحد ND2 (subunit 2 NADHdehydrogenase) ۱۳۳
۴-۵-۳- زیر واحد ND4L (subunit 4L NADHdehydrogenase) ۱۳۴
۴-۵-۴- زیر واحد ND4 (subunit 4 NADHdehydrogenase) ۱۳۴
۴-۵-۵- زیر واحد ND5 (subunit 5 NADHdehydrogenase) ۱۳۵
۴-۵-۶- زیر واحد ND6 (subunit 6 NADHdehydrogenase) ۱۳۶
۴-۵-۷- ژن COXII (Cytochrome c oxidase subunit 2) ۱۳۶
۴-۵-۸- ژن ATPase ۸ (ATP synthase 8) ۱۳۷
۴-۵-۹- ژن ATPase ۶ (ATP synthase 6) ۱۳۸
۴-۵-۹- جهش در ژنهای tRNA میتوکندریایی ۱۴۰
۴-۶- تفسیر یافته های تغییرات توالی: جهش یا پلی مورفیسم؟ ۱۴۲
۴-۷- نتیجه گیری ۱۴۶
۴-۸- پیشنهادات ۱۴۷

منابع ۱۴۸
خلاصه انگلیسی .....

فصل اول

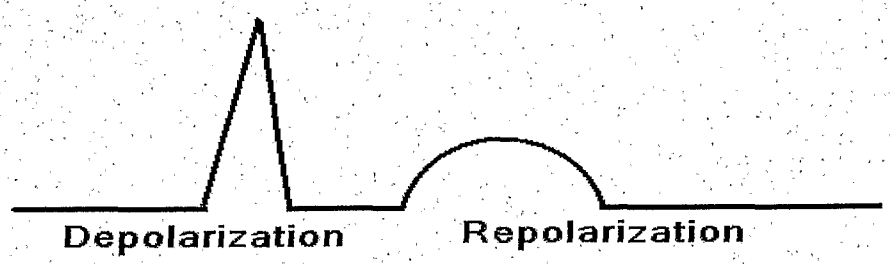
مقدمه

۱-۱- مقدمه

قلب یک عضو عضلانی است که به طور مداوم، یعنی در حدود ۳ بیلیون سیکل در طول حیات یک فرد، خون را به تمام بدن پمپ می کند و دارای دو حفره دهلیزی و دو حفره بطنی می باشد. یک ضربان قلب ساده تشکیل شده است از انبساط[1] ، یعنی زمانی که دهلیزها و بطن ها از خون پر شده و انقباض[2]، زمانی که خون به کل بدن پمپ می شود (۱).

۱-۲- امواج پلاریزه و دپلاریزه

انقباضات منظم قلب وابسته به یک شبکه الکتریکی است که امواج الکتریکی را به تمام قلب هدایت می کند. ضربان ساز غالب قلب، گره سینوسی دهلیزی[3] ، آغازگر موج دپولاریزاسیونی است که به شکل یک موج به خارج گسترش یافته و دهلیزها را برای انقباض تحریک می کند. این گره سینوسی در داخل دیواره خلفی فوقانی دهلیز راست قرار دارد و به طور طبیعی، پالس الکتریکی ایجاد شده از طریق رشته های عضلانی به تمام قلب توزیع می شود. داخل سلولهای قلب، در حال استراحت، بار منفی وجود دارد (سلولها پولاریزه اند) اما زمانی که با تحریک الکتریکی دپولاریزه می شوند، منقبض می شوند (۲). موج دپولاریزاسیون (مثبت شدن بار داخل سلولها) و مرحله رپولاریزاسیون (برگشت بار منفی داخل سلولها) متعاقب آن، طبق شکل ۱-۱ روی اکوکاردیوگرام (ECG) ثبت می گردد.

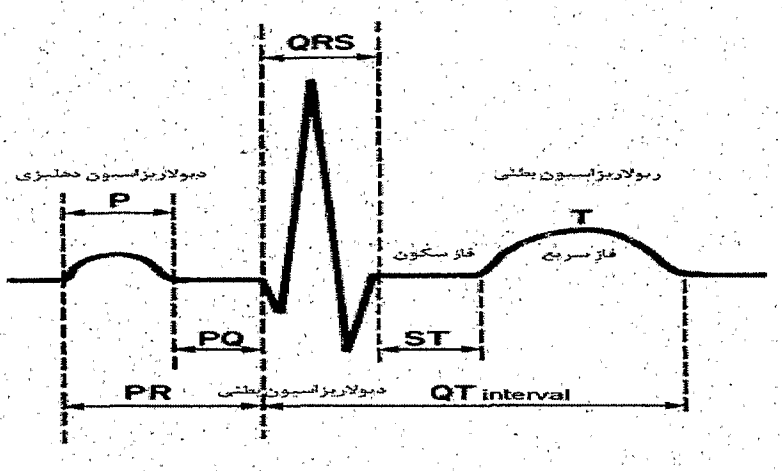


شکل ۱-۱- دو موج دپلاریزاسیون و رپلاریزاسیون را در ECG نشان می دهد.

---

1. - Relaxation
2. - Contraction
3. - Sinus node

تحریک الکتریکی دپولاریزاسیون در داخل دهلیزها منتشر می شود و باعث ایجاد یک موج P بر روی الکتروکاردیوگرام می شود که نشان دهنده انقباض همزمان دهلیزها است. تحریک الکتریکی از طریق تارهای انتهایی فیبرهای پورکنژ، دپولاریزاسیون را به سلولهای میوکارد بطنی می رساند. دپولاریزاسیون میوکارد بطنی باعث ایجاد کمپلکس QRS بر روی ECG و انقباض بطن ها می شود. پس از هر کمپلکس QRS، یک خط ایزوالکتریک افقی دیده می شود که قطعه ST نامیده می شود و پس از آن یک موج T عریض ظاهر می شود. موج T، نشان دهنده فاز سریع انتهایی رپولاریزاسیون بطنی است که در طی آن رپولاریزاسیون با سرعت و به طور موثر روی می دهد. از آنجا که سیستول یا انقباض بطنی از آغاز QRS تا پایان موج T به طول می انجامد، فاصله QT (QT interval) از لحاظ بالینی اهمیت زیادی دارد (شکل ۱-۲). فاصله QT [1] در اکوکاردیوگرام، نشان دهنده دوره فعالیت و بازگشت میوکاردیوم بطنی است. در واقع فاصله QT، زمانی است که سپری می شود تا بطن ها دپولاریزه (شروع QRS) و رپولاریزه (انتهای موج T) شوند و این مدت بسته به میزان تپش قلب دارد (۳).



شکل۱-۲- اندازه گیری فاصله QT در اکوکاردیوگرام (ECG). دیاگرام نشاندهنده ECG نرمال با موج P (فعالیت دهلیزی)، مجموعه QRS (فعالیت بطنی و شروع انقباض بطنی) و موج T (رپلاریزاسیون بطنی) است. فاصله QT به طول بین شروع موج Q تا انتهای موج T گفته می شود (شکل برگرفته از رفرنس ۱).

[1] - QT interval

۱-۳- عامل ایجاد ایمپالس های الکتریکی قلب

ایمپالس الکتریکی توسط گرادیانت الکتروشیمیایی موجود در غشاء سلولهای عضله قلبی یا کاردیومیوسیتها[1] ایجاد می شود و به تعادل جریان انتقال یونها در داخل و خارج غشاء سلول، وابسته است. در حفظ این تعادل، کانالهای یونی از اهمیت خاصی برخوردارند (۴) و می توان گفت، اساس مولکولی الکتروفیزیولوژی قلب، کانالهای یونی هستند. در ژنوم انسان، حدود ۴۲۹ کانال یونی وجود دارد و تقریبا ۳۰ ژن کدکننده کانالهای یونی قلب شناسایی شده اند(۵ و ۶) .

۱-۳-۱- کانالهای یونی

کانالهای یونی قلب، حاوی پروتئین ها و گلیکوپروتئین هایی هستند که در سارکولمای کاردیومیوسیت ها واقع اند و تشکیل منافذی در غشاء سلول را می دهند که به یونهای خاصی اجازه می دهند بر اساس شیب الکتروشیمیایی از غشاء عبور کنند که به این ترتیب باعث تنظیم عملکرد سلول می شوند. چهار نوع کلی از این کانالها وجود دارد: کانالهای بدون دروازه[2] مانند: پمپ های سدیم و پتاسیم، کانالهای دارای دروازه[3] مانند: کانالهای وابسته به ولتاژ[4] و وابسته به لیگاند[5] ، کانالهای وابسته به پیامبرهای ثانویه[6] مانند گیرنده های پروتئین G [7]و کانالهای وابسته به ذخیره[8] مانند کانالهای پتانسیل موقتی رسپتور[9] (۷).

کانالهای یونی برای طیف وسیعی از عملکردهای فیزیولوژیکی مانند سیگنالهای نورونی، انقباضات عضلانی، هدایت عمل قلب، ترشح هورمونی، تنظیم حجم سلول و تکثیر سلولی ضروری هستند و به

---

[1] - Cardiomyocyte
[2] - Non-gated channels
[3] - Directly gated channels
[4] - Voltage-gated channels
[5] - Ligand-gated channels
[6] - Second messenger gated channels
[7] - G-protein receptors
[8] - Store-operated channels
[9] - Transient receptor potential channels

همین دلیل کانالهای یونی در بیماری های زیادی دخالت دارند که اغلب آنها بیماریهای توارثی هستند و در نتیجه جهش هایی در ژن های کدکننده پروتئین های کانال ایجاد می شوند (۸).

کانالهای وابسته به ولتاژ عصب و عضله از نظر گسترش ایمپالس های عصبی و انقباضات عضلانی حائز اهمیت هستند. به طور مثال، کانالهای سدیم با دپولاریزاسیون غشا سلول، فعال می شوند. در حالت باز، آنها به طور انتخابی اجازه ورود یون های سدیم را می دهند. جریان یونها به داخل سلول، تولید دپولاریزاسیون موضعی قوی به نام پتانسیل عمل[1] می کند که باعث باز شدن کانالهای سدیم وابسته به ولتاژ جدیدی می گردد که دپولاریزاسیون را شدت می دهد (۹، ۱۰ و ۱۱).

پس می توان گفت کانالهای یونی وابسته به ولتاژ، زمینه ساز پتانسیل عمل در سلولهای عضله قلبی هستند. نقص در هر کدام از این کانالهای یونی منجر به اختلال در پتانسیل عمل سلولهای عضله قلبی و اختلالات اکوکاردیوگرام و باعث ایجاد زمینه ای در بروز آریتمی های قلبی می شود (۱۲).

۱-۴- بیماری های قلب

به طور کلی دو نوع بیماری مهم در قلب وجود دارد:

۱) کاردیومیوپاتی که در اثر تغییراتی در پروتئین های سارکومریک و اسکلت سلولی رخ می دهد و

۲) بیماری های آریتموژنیک که توسط جهش هایی در کانالهای یونی و پروتئین های کنترل کننده کانال ایجاد می شوند، به این گونه بیماری ها، Cardiac channelopathies گویند. نظیر: سندرم های Long QT (LQTs) و بروگادا[2] (Brs) و Short QT (SQTs)، تاکی کاردیای دهلیزی (CPVT[3]) و فیبریلاسیون ایدیوپاتیک (۱۳ و ۱۴).

---

[1] - Action potential
[2] - Brugada syndrome
[3] - Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardias

۱-۴-۱- آریتمی های قلبی

بیماریهای آریتموژنیک قلب، عوامل مهم مرگهای ناگهانی قلبی در افراد جوان با قلبهای سالم هستند. در سالهای اخیر مطالعات گسترده ای روی ژن های کانالهای یونی قلب انجام شده است اما هنوز ۳۰ تا ۴۵٪ موارد آریتمی را نمی توان با این جهش های شناخته شده توضیح داد (۱۵ و ۱۶).

آریتمی یا ضربان غیر طبیعی قلب، ممکن است به صورت تغییر در سرعت و یا نظم ضربانات قلب باشد. در جریان آریتمی، ضربان ممکن است بیش از حد آهسته، بسیار تند و یا نامنظم باشد. آریتمی ممکن است به شکل های مختلف تظاهر کند. می تواند به صورت احساس لرزش یا ریزش در سینه (طپش قلب) همراه با درد سینه باشد. گاه باعث سبکی در سر می شود و یا به صورت حملاتی همراه با بیهوش شدن است. در مواردی هم آریتمی، علامت مهمی ندارد و بیمار به آن توجهی نمی کند، اما وقتی ضربان قلب به حدی کند یا تند باشد که در عملکرد قلب به عنوان یک پمپ، اختلال ایجاد کند، می تواند بیمار را با خطری جدی مواجه سازد (۱).

تعیین ژن هایی که باعث بروز سندرم های آریتموژنیک توارثی می شوند، مبنای مطالعات مولکولی است که روش تشخیصی جدیدی را علاوه بر اکوکاریوگرام در اختیار محققین قرار می دهد (۱۳).

۱-۴-۲- نقص های متابولیکی در بیماران آریتمی

مشخص شده است که متابولیسم میوکاردیال[1] می تواند با تعداد زیادی از سوبسترا ها خود را وفق دهد، اما الگوی دقیق مصرف سوبسترا، وابسته به در دسترس بودن، میزان تحویل اکسیژن، میزان حجم و تنظیم فیزیولوژی آنها است. بر این اساس اغلب نقص های متابولیکی تک ژنی می توانند باعث اختلال در عملکرد کاردیومیوسیتها و در نهایت آریتمی و مرگ ناگهانی شوند (۷).

[1] - Myocardial metabolism

چون فعالیت بسیاری از کانالهای یونی وابسته به متابولیسم سلولی است، بنابراین نقص های ژنوم میتوکندری، ممکن است اثرات متفاوتی در بروز بیماری داشته باشد مانند تفاوتهای هتروپلاسمی در بافتهای مختلف. از میان این بافتها، قلب بیشترین آسیب پذیری را نسبت به جهش های میتوکندری دارد که غالبا به صورت اختلالات قلبی بروز پیدا می کند. این امر به دلیل ارتباط بسیار نزدیک نقص های متابولیسم و آریتمی های قلبی است که ممکن است در سنین بلوغ بیشتر دیده شوند (۱۸).

چندین دلیل وجود دارد که جهش های ژنوم میتوکندری ممکن است در سندرم های مرگ ناگهانی[1] (SD) دخالت داشته باشند. مانند فرکانس و شیوع نسبتا بالا و ارتباط جنس با وقوع بیماری که نشان دهنده عدم توارث مندلی در این بیماران است. احتمال بالایی وجود دارد که الگوی توارثی به صورت پلی ژنیک بوده و هر دو ژنوم هم هسته ای و هم میتوکندریایی دخالت داشته باشند. اگر چه بروز بیماری در مردان بیشتر از زنان دیده شده است اما این امر نمی تواند به دلیل توارث وابسته به X باشد چرا که در خانواده های درگیر ، مادران بیشتر از پدران، علایم بیماری را نشان می دهند و این فرضیه مطرح می شود که ژنوم میتوکندری و جهش های آن ممکن است دخالت داشته باشند (۱۹).

۱-۵- سندرم Long QT (LQTS)

سندرم Long QT، بیماری رپولاریزاسیون میوکاردیال است که با طویل شدن فاصله QT روی اکوکاردیوگرام، قابل تشخیص است و در واقع نوعی آریتموژنیک بطنی[2] است که می تواند به صورت توارثی[3] یا اکتسابی[4] باشد. بیماران LQTS مستعد برای بیماری Torsade de Pointes بطنی (TdP) هستند و به طور جدی در معرض مرگ ناگهانی قلبی[5] (SCD) حتی در صورت داشتن قلب سالم می باشند (۲۰ و ۲۱).

---

[1] - Sudden death
[2] - Ventricular arrhythmogenic
[3] - Congenital
[4] - Acquired
[5] - Sudden cardiac death