مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۳، شماره۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۷(شماره پی در پی۱۳۱)

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم C/G۳۱ـدر پروموتور ژن سرویوین با خطر ابتلا به بیماری مالتیپل اسکلروزیس

سحر رضازاده، پریسا محمدی نژاد*

گروه زیست شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۶/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۹

چکیده

زمینه و هدف: مولتیپل اسکلروزیس(MS) یک بیماری وابسته به سیستم ایمنی با علل ناشناخته است و یکی از مهم‌ترین بیماری‌های ناتوان کننده نورولوژیک در بالغین می‌باشد که بخش میلین سیستم اعصاب در آن تخریب می‌شوند. ارتباط میان بیماری MS و آپوپتوز نشان می‌دهد که در بیماران، بیان بسیاری از ژن‌های دخیل در مهار آپوپتوز سلول‌های ایمنی افزایش پیدا کرده است، مانند ژن سرویوین که موجب فعالیت بیشتر این سلول‌ها شده و آسیب‌های مغزی نخاعی افزایش می‌یابد. هدف از این تحقیق بررسی پلی مورفیسم G/C 31 واقع در پروموتور ژن سرویوین در مبتلایان به بیماری MS و مقایسه با افراد سالم و ارتباط آن با این بیماری بود.

روش بررسی: در این مطالعه مورد- شاهدی، به منظور بررسی چند شکلی G/C ۳۱ـ در پروموتور ژن سرویوین از نمونه‌های خون ۱۰۰ فرد مبتلا به MS و ۱۰۰ فرد سالم(شاهد) DNA ژنومی استخراج گردید. به منظور تکثیر ژن سرویوین از روش PCR بهره گرفته شد و چند شکلی ژنی پروموتور این ناحیه به روش PCR- RFLP با آنزیم برش دهنده *EcoO109I* بررسی گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزارSPSS و آزمون‌های آماری تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: با تکثیر بخشی از ژن سرویوین با طول ۳۰۸ جفت باز و برش محصول PCR با آنزیم *EcoO109I* وجود باند ۳۰۸ جفت بازی، معرف ژنوتیپ GG، باند ۲۱۰ و ۹۸ جفت بازی، معرف ژنوتیپ CC و هر سه باند با هم، معرف ژنوتیپ GC بودند. پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها، ارتباط ژنوتیپی پلی‌مورفیسم 31C/.G- با خطر ابتلا به بیماری MS در ژنوتیپ CG (با در نظر گرفتن ژنوتیپ GG به عنوان رفرنس) به صورت (۰/۳۳۰)P، (۳۹۷/۱)OR و (۰/۷۱۴-۲/۷۳۵)CI و برای ژنوتیپ CC به صورت (۰/۵۳۲)P، (۸۰۰/۰)OR و (۰/۳۹۷-۱/۶۱۲)CI بود.

نتیجه‌گیری: به طور کلی با بررسی پلی‌مورفیسم G/C 31- در ژن سرویوین به عنوان بیومارکر در بیماری MS در جمعیت‌های بزرگتر و تعیین فراوانی آللی و ژنوتیپی می‌توان با آگاهی بیشتری نقش این ژن را تعیین نمود تا در پژوهش‌های آینده راهکار مناسبی برای جلوگیری از این بیماری به وجود آید.

واژه های کلیدی: مالتیپل اسکلروزیس، پلی مورفیسم G/C ۳۱-، ژن سرویوین، PCR- RFLP.

***نویسنده مسئول**: **پریسا محمدی نژاد**، گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
Email: Parisa_mohamadynejad@yahoo.com

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس یا اسکلروز منتشر نوعی بیماری التهابی مزمن است که در آن غلاف میلین در مغز و نخاع(سیستم اعصاب مرکزی) آسیب می‌بیند(۱). این آسیب توانایی بخش‌هایی از سیستم عصبی برای برقراری ارتباط را مختل می‌کند، در نتیجه گستره‌ی وسیعی از علایم و نشانه‌ها شامل؛ علایم جسمی‌و ذهنی و گاهی اوقات مشکلات روانی را ایجاد می‌کند(۲). علت MS ناشناخته است، اما این واضح است که فاکتورهای محیطی همانند فاکتورهای وراثتی در تعیین احتمال ابتلا به MS دخالت دارند(۳). تعداد تخمینی 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 با محاسبه این رقم از ۳۰ نفر(در سال ۲۰۰۸) به ۳۳ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال ۲۰۱۳ افزایش یافته است(۴). با این حال شیوع MS در کشورهای مختلف متفاوت و از ۲ تا ۱۶۰ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر متغیر است(۵). مطالعه‌های چند سال اخیر حاکی از رشد بالا و سریع شیوع بیماری مالتیپل اسکلروزیس در کشور ایران و به ویژه شهر اصفهان با نرخ ۷۳/۳ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ تولد می‌باشد که اصفهان را جزء یکی از نواحی با ریسک بالای MS در اقیانوسیه و آسیا قرار می‌دهد(۶). مطالعه‌های اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد بیماری MS معمولاً در بزرگسالی و در بیست سال دوم زندگی یا در سی سال ابتدایی بروز می‌کند و به ندرت در سنین کودکی و بعد از پنجاه سال دیده می‌شود(۷). به علاوه مشابه با سایر بیماری‌های خود ایمنی در خانم‌ها بیشتر از آقایان و با نسبت تقریبی ۲ به ۱ می‌باشد(۸).

خانواده پروتئینی BCL-2 و خانواده IAP ها یا مهارکنندگان مرگ برنامه‌ریزی شده سلول دو خانواده پروتئینی مهم در تنظیم مکانیسم‌های مرگ برنامه‌ریزی شده سلول هستند. این خانواده‌های پروتئینی ازجمله پروتئین‌های درون سلولی هستند و مشخصه اصلی آن‌ها داشتن یک یا چند تکرار از دومین مرسوم به BIR است. این دومین شامل یک انگشت روی ۷۰ اسیدآمینه‌ای است و در بروز خاصیت ضد مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌ها نقش دارد(۹و۱۰). سرویوین یک عضو جدید از این خانواده است که از لحاظ داشتن تنها یک دومین BIR و نیز فقدان دامین انگشت روی در پایانه C- ترمینال در میان مهارکنندگان مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، منحصر به فرد است. به علاوه این ژن نقش اساسی در تقسیم میتوز دارد و بااتصال به ریزلوله‌های دوک تقسیم سلولی، سانتروزوم ها و کینه توکور در تنظیم تقسیم سلولی دخالت دارد(۱۱). همان‌گونه که ذکر شد سرویوین یک پروتئین سیتوپلاسمی‌است که وزن آن ۱۶/۵ کیلودالتون است و با مهار کاسپاز ۳ و کاسپاز ۷ از آپوپتوز جلوگیری می‌کند. ژن کد کننده آن روی کروموزوم ۱۷ واقع شده است و شامل ۴ اگزون و ۳ اینترون است(۱۲). بررسی ارتباط میان بیماری مالتیپل اسکلروزیس و آپوپتوز سلولی نشان می‌دهد که در

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

بیماران مبتلابه مالتیپل اسکلروزیس بیان بسیاری از ژن‌های دخیل در مهار آپوپتوز سلول‌های ایمنی به‌صورت معنی‌داری افزایش پیداکرده و بنابراین فرآیند آپوپتوز سلولی در سلول‌های ایمنی به تأخیر می‌افتد. تأخیر در آپوپتوز سلولی در سلول‌های ایمنی به‌واسطه افزایش بیان ژن‌های مهارکننده آپوپتوز مانند ژن سرویوین موجب فعالیت بیشتر این سلول‌ها شده و آسیب‌های مغزی نخاعی افزایش می‌یابد(۱۳).

شناسایی ژن‌هایی که در کنار عوامل محیطی، فرد را نسبت به بروز بیماری مستعد می‌کنند، اهمیت بسیاری دارد. در این زمینه پیشرفت‌های اخیر در بیولوژی بیماری و درک مولکولی آن، منجر به معرفی ژن‌های مختلفی گردیده که در صورت داشتن واریانت‌های خاص ناشی از پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی(SNP) در یک فرد، وی را مستعد به ابتلا به بیماری می‌نماید، مشروط بر این که ریسک فاکتورهای محیطی خاصی نیز وجود داشته باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر پلی مورفیسم 31C/G- در پروموتر ژن سرویوین بر میزان ابتلا به بیماری مالتیپل اسکلروزیس با تکنیک PCR-RFLP بود.

روش بررسی

در این مطالعه مورد- شاهدی که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام گرفت، تعداد ۱۰۰ نمونه خون از افراد مبتلا به بیماری MS مورد تأیید متخصص از بیمارستان الزهرا اصفهان و ۱۰۰ نمونه خون مربوط به افراد سالم و منطبق با شرایط سن و جنس با گروه بیماران از سازمان انتقال خون استان اصفهان در لوله‌های CBC حاوی EDTA جمع‌آوری گردید. مشخصات جمعیت مورد مطالعه در جدول ۱ مشاهده می‌شود. نمونه‌گیری افراد پس از کسب اجازه و اطلاع‌رسانی در حین تکمیل نمودن پرسشنامه در راستای یکسان‌سازی معیارهای مطالعه انجام پذیرفت. نمونه‌های خون در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای بررسی‌های طولانی مدت نگهداری گردید.

با استفاده از کیت استخراج DNA از خون شرکت GenetBio (کره جنوبی) طبق دستورالعمل شرکت سازنده تخلیص و تا زمان مورد نیاز برای استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید. کیفیت و کمیت DNA ژنومی استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد سنجیده شد.

پرایمرها با کمک نرم‌افزار الیگو نسخه ۷ و هم‌چنین بانک‌های اطلاعاتی طراحی گردید. بدین منظور نخست از طریق بانک اطلاعاتی NCBI توالی دربرگیرنده پلی‌مورفیسم 31C/G- در ژن سرویوین به دست آمد. سپس توالی‌های هدف به نرم‌افزار ویژه طراحی پرایمر وارد شدند. از میان پرایمرهای ارایه شده به وسیله نرم افزار، یک جفت که قابلیت بهتری نسبت به سایرین داشت انتخاب گردید. جهت اطمینان از عدم هیبریداسیون پرایمرهای انتخاب شده با نقطه دیگری از ژنوم انسان، عملیات بلاست از طریق پایگاه اطلاعاتی NCBI انجام گردید. توالی

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

پرایمرهای طراحی شده در جدول ۲ نشان داده شده است.

به منظور تکثیر قطعه هدف، تمام نمونه‌های DNA در دستگاه ترموسایکلر (Mastersycler Gradient, Eppendorf) ساخت کشور آلمان، متحمل فرایند PCR شدند. واکنش PCR با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل؛ ۱ میکرو لیتر DNA الگو، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (۵ پیکو مول)، ۸ میکرولیتر Master Mix PCR و ۹ میکرولیتر ddH_2o به ازای هر نمونه انجام گردید. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در دستگاه ترموسایکلر، با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمر در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن ابتدایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ دقیقه انجام شد. بعد از اتمام تکثیر قطعه ژن مورد نظر، محصولات PCR روی ژل آگارز ۱ درصد، ابتدا با ولتاژ ۱۱۰ ولت و سپس با ولتاژ ۹۰ ولت الکتروفورز شدند، پس از مشاهده نتایج به وسیله دستگاه UV doc، محصولات حاوی قطعه مورد نظر انتخاب و محصولات فاقد قطعه دلخواه، حذف شده و جهت انجام مجدد واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، دوباره تحت عمل PCR قرار گرفتند. در نهایت تکرار آزمایش‌ها، موفق به تکثیر و انجام صحیح این واکنش بر روی همه نمونه‌ها گردید و قطعاتی با طول ۳۰۸ جفت باز مشاهده شد.

برای هضم آنزیمی‌محصول با روش PCR RFLP، از آنزیم محدودالاثر *EcoO109I* بر اساس پروتکل اختصاصی استفاده شد. سپس محصول PCR تیمار شده بر روی ژل آگارز ۳ درصد الکتروفورز شده و با دستگاه ژل داک عکس برداری و ثبت گردیدند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری رگرسیون لجستیک، مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

بعد از تکثیر قطعه دربرگیرنده پلی‌مورفیسم -31C/G به منظور اطمینان از تکثیر، ۵ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد (شکل ۱).

به منظور تعیین ژنوتیپ هر فرد محصول PCR باقیمانده به وسیله آنزیم محدودگر EcoO109I مورد برش قرار گرفتند و نتیجه هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۳ درصد مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۲).

ارتباط ژنوتیپی پلی‌مورفیسم G/C31 با خطر ابتلا به بیماری MS در جدول ۳ نشان داده شده است.

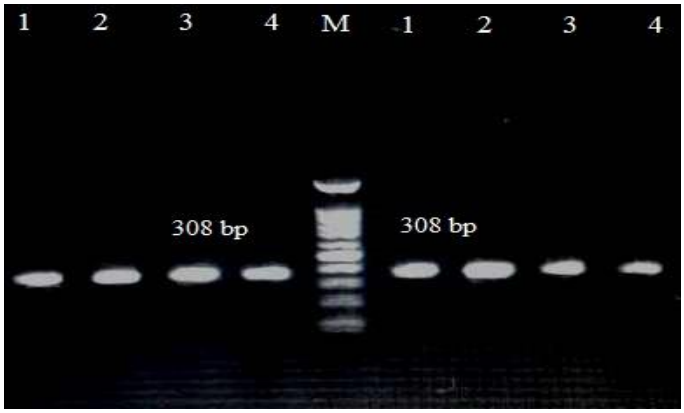
Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

جدول ۱: مشخصات جمعیت مورد مطالعه

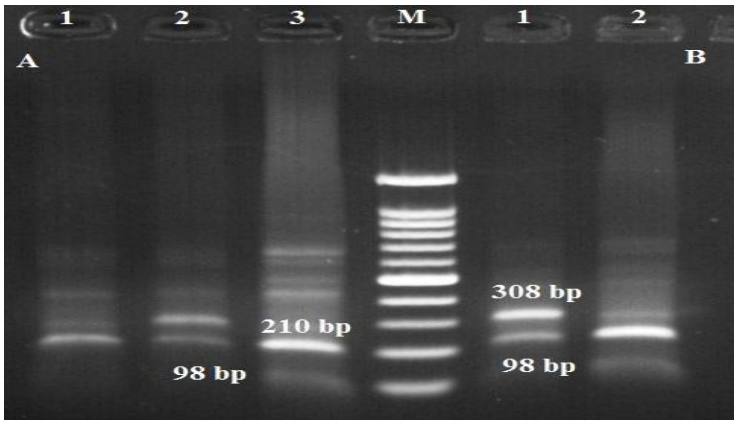
مشخصه	گروه کنترل	گروه بیمار	سطح معنی‌داری
مرد	۳۷	۲۵	--
زن	۷۱	۷۵	--
میانگین سنی	۳۸/۵۶±۱۰/۷۳	۳۷/۳۵±۱۰/۴۰	۰/۴۱
دامنه سنی	۸۱-۲۳	۸۱-۸	--
میانگین سنی در زنان	۳۹/۹۳±۱۲/۰۳	۳۸/۰۸±۱۰/۷۳	۰/۳۳
میانگین سنی در مردان	۳۵/۹۵±۷/۰۵	۳۵/۲۸±۱۰/۴۲	۰/۷۶

جدول ۲: توالی پرایمرهای رفت و برگشت مربوط به ژن

پرایمر	دمای اتصال	توالی پرایمر	سایز محصول
Survivin-F	۶۵	5′-CTAGGTGTGGGCAGGGAC-3′	۳۰۸ bp
Survivin-R		5′-CTTGAATGTAGAGATGCGGTG-3′	



شکل ۱: الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد. چاهک M مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های شماره ۴-۱ قطعه‌های ۳۰۸ جفت بازی



Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

شکل ۲: نتیجه هضم آنزیمی‌و مشاهده قطعات برش خورده به وسیله آنزیم EcoO109I بر روی ژل آگارز ۳ درصد. چاهک M مارکر ۱۰۰ جفت بازی. چاهک ۳ قسمت A، باندهای ۹۸ و ۲۱۰ جفت بازی(ژنوتیپ CC)، چاهک ۲ قسمت B، باندهای ۳۰۸، ۲۱۰ و ۹۸ جفت بازی(ژنوتیپ GC) و چاهک‌های ۱ قسمت B و ۲ قسمت A، باند ۳۰۸ جفت بازی (ژنوتیپ GG) می‌باشند.

جدول ۳: ارتباط ژنوتیپی پلی مورفیسم G/C31 با خطر ابتلا به بیماری MS

ژنوتیپ	سطح معنی‌داری	OR	CI
GG	---	۱	---
CG	۰/۳۳۰	۱/۳۹۷	۰/۷۱۴-۲/۷۳۵
CC	۰/۵۳۲	۰/۸۰۰	۰/۳۹۷-۱/۶۱۲

بحث

با توجه به افزایش بیان در بیمار بیان بسیاری از ژن‌های دخیل در مهار آپوپتوز سلول‌های ایمنی در بیماران مبتلا به MS و تأخیر در فرآیند آپوپتوز سلول‌های ایمنی، فعالیت سلول‌های ایمنی بیشتر شده و آسیب‌های مغزی نخاعی در این بیماران افزایش می‌یابد(۱۳)، لذا هدف از این تحقیق بررسی پلی مورفیسم G/C 31 واقع در پروموتر ژن سرویوین در مبتلایان به بیماری MS و مقایسه با افراد سالم و ارتباط آن با این بیماری بود.

سرویوین یکی از اعضا خانواده پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز است که منجر به مهار آپوپتوز و تنظیم تقسیم سلولی می‌شود. این پروتئین توجه زیادی از محققین را به خود جلب کرده است، به این دلیل که به عنوان یک Tumor-associated antigen مطرح شده است و در اکثر بیماری‌های انسانی با منشأ سلول اپی‌تلیالی و خون‌ساز افزایش می‌یابد. یکی از شاخص‌ترین خصوصیت‌های سرویوین بیان بالا و متمایز آن در بافت‌های توموری درمقایسه با بافت‌های طبیعی می‌باشد. بیش بیان این ژن در بیماری‌های مختلف از جمله سرطان‌ها و بیماری‌های خود ایمنی مشخص شده است(۱۴). بیان متمایز سرویوین در سلول‌های توموری با سلول‌های نرمال و از سوی دیگر وجود ارتباط بین میزان بیان آن با درجه بدخیمی‌تومورها و مقاومت به درمان های مختلف از جمله شیمی‌درمانی، آن را به عنوان مارکر مولکولی در بیماری‌ها مطرح می‌سازد. پلی مورفیسم های شایع بر روی ژن سرویوین پلی مورفیسم(rs9904341) G/C 31 می‌باشد. این پلی مورفیسم در محل اتصال CHR/CDE از پروموتر ژن سرویوین انسان قرار دارد و فعالیت رونویسی آلل G در پلی‌مورفیسم G/C 31 نسبت به آلل C کمتر است. مطالعه‌ها نشان داده که در افراد حامل آلل C در پلی‌مورفیسم G/C 31 بیان ژن سرویوین را در انسان افزایش می‌دهد که با کاهش آپوپتوز همراه است (۱۵).

به طور کلی این احتمال وجود دارد که تعدادی از پلی‌مورفیسم‌ها در این ژن منجر به تولید یا کنترل

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

خارج از آن گردند. پلی‌مورفیسم معمول که به‌طور گسترده‌ای مطالعه شده در ناحیه ۳۱ـ ژن قرار گرفته و طبق گزارش‌ها بر روی بیان ژن سرویوین و استعداد ابتلا به انواع بیماری‌ها مانند MS و سرطان‌ها تأثیرگذار است. شریف و همکاران در رابطه با نقش آپاپتوز در تهاجم و پیشرفت بیماری مالتیپل اسکلروزیس نشان داد که میزان بیان ژن سرویوین در بیماران دارای حالت فعال و مهاجم نسبت به افراد دارای MS پایدار و باثبات افزایش می‌یابد که اهمیت بررسی این ژن در بیماری MS را نشان می‌دهد که لازم است جهت کنترل این بیماری تدابیر مناسبی اندیشه شود(۱۶). هم‌چنین در مطالعه‌ای به وسیله هانگ و همکاران که ارتباط ژن‌های آنتی آپوپتوز در پلی مورفیسم G/C31 با شروع بیماری MS و پیشرفت آن مشابه مطالعه‌های انجام شده بر روی بیماری‌های دیگر است. بنابراین بیان کردند که این پلی‌مورفیسم می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر استعداد ابتلا به MS شناسایی شود. با مقایسه مطالعه هانگ می‌توان نتیجه گرفت که از این ژن می‌توان به عنوان بیومارکر شناسایی بیماری استفاده کرد(۱۷). در مطالعه‌ای که به وسیله جیانگ و همکاران بر روی بیماری MS انجام شد و نشان دادند که عملکرد ژن سرویوین می‌تواند در عملکرد بیماری‌های خود ایمنی مانند MS ایفای نقش کند و نقش به سزایی نسبت به سایر ژن‌های مورد بررسی داشت(۱۸). ژانگ اطلاعات رونویسی و یا کنترل پس از رونویسی ژن سرویوین را در سلول‌های سرطانی بررسی کردند. آن‌ها دریافتند رویدادهای مختلفی که باعث بیان نابجای سرویوین می‌شود. عفونت ویروس، جهش P53، جهش APC سیگنالینگ فعال‌سازی پروتئین ممکن است در فعال‌سازی عوامل رونویسی در حفظ بیان سرویوین مؤثر باشد. هم‌چنین آن‌ها یک ارتباط قوی بین بیان ژن سرویوین و فعالیت فسفریلاسیون STAT3 در سرطان پیدا کردند و هم‌چنین نقش ژن سرویوین با سایر فاکتورهای درگیر در بیماری‌ها که نشان دهنده نقش مهمی در جهش‌ها دارد(۱۹). پلی مورفیسم G/C 31 در سرطان دهانه رحم به وسیله بروبرگ و همکاران، انجام شد که در عناصر مهارکننده CDE واقع شده است و این پلی مورفیسم 31G/C-باعث افزایش بیان سرویوین هم در سطح mRNA و هم در سطح پروتئین می‌شود که ژنوتیپ‌های مختلفی در این نوع سرطان نقش داشتند(۲۰).

میزان بیان ژن سرویوین در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس به شدت افزایش می‌یابد. این تحقیق به وسیله هب و همکاران در بیماری MS انجام شد و نتایج این تحقیق که بر روی بیماران مبتلا به PPMS انجام گرفت نشان داد که در این بیماران میزان بیان سرویوین در سلول‌های ایمنی T در حدود ۵ برابر بیان آن در سلول‌های T گروه شاهد می‌باشد علاوه بر آن در مطالعه حاضر فراوانی ژنوتیپ در نمونه‌ای کنترل(۱۰۸) بیشتر از نمونه‌های بیمار(۱۰۰) بود(۲۱). دووتا و همکاران پلی‌مورفیسم G/C 31 جفت بازی ژن سرویوین را در جمعیت‌های قفقازی اروپایی تبار و جمعیت‌های قفقازی هندی مطالعه کردند و

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

توزیع تنوع آلل‌ها و تنوع ژنوتیپ در جمعیت‌های سالم سنگاپوری‌های چینی، هندی و مالزیایی را گزارش کردند. مطالعه آنها نشان داد تنوع پلی مورفیسمی‌در ژن سرویوین متفاوت می‌باشد و بیماری MS در زنان بیشتر ایجاد می‌شود(۲۲). علاوه بر این در جمعت قفقازی در اسپانیا که به وسیله گونزالس و همکاران در مطالعه مورد شاهدی، ۹۷۸ بیمار مبتلا به MS و ۸۰۳ فرد برای کنترل را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه مشخص شد که افراد با ژنوتیپ ۱۷/۱۷ ارتباط معنی‌داری با کاهش خطر ابتلا به MS دارند. آن‌ها در این مطالعه ارتباط بین پلی‌مورفیسم G/C 31 و خطر بیماری MS را ارزیابی کردند، که هر دو ارتباط غیر آماری معنی‌داری داشتند و هر دو تحقیق با مطالعه ما هم خوانی دارد (۲۳). بررسی ارتباط میان بیماری MS و آپوپتوز سلولی که در بیماران مبتلا به MS بیان بسیاری از ژن‌های دخیل در مهار آپوپتوز سلول‌های ایمنی به‌صورت معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند و فرآیند آپوپتوز سلولی در سلول‌های ایمنی به تأخیر می‌افتد و به واسطه افزایش بیان ژن‌های مهارکننده آپوپتوز مانند ژن Survivin موجب فعالیت بیشتر این سلول‌ها شده و آسیب‌های مغزی نخاعی افزایش می‌یابد.

عملکرد این ژن برای اولین مرتبه به وسیله کیمورا گزارش شد و کیمورا در سال ۱۹۹۶ پیشنهاد کرد که ژن سرویوین به عنوان یک ژن آنتی‌آپوپتوز عمل می‌کند(۲۴). به همین منظور رایان و همکاران در یک هدف جدید برای درمان ضد سرطان پیدا کردند. آن‌ها دریافتند سرویوین باعث مهار آپوپتوز سلولی و افزایش تکثیر و ترویج رگ‌سازی می‌شود. از آنجا که تنظیم مثبت این ژن نقش کلیدی در آپوپتوز و بدخیمی، تکثیر و افزایش رگ سازی دارد، ژن سرویوین برای درمان ضد سرطان مورد توجه قرار گرفته است، با هدف قرار دادن سرویوین، رگ‌سازی مسدود و باعث کاهش رشد تومور می‌شود، بنابراین می‌توان از این ژن برای اهداف بالقوه درمانی استفاده کرد(۲۵). در مطالعه دیگر که بر روی سرطان کولون به وسیله هرناندز و همکاران انجام شد، آنها نشان دادند که نقص در مسیر آپوپتوز باعث تسهیل توسعه سرطان کولون می‌شود و سرویوین دارای نقش اساسی در سرطان کولون است و هم‌چنین یک رابطه خویشاوندی بین بیان بیش از اندازه سرویوین و بیان گروه خاصی از پروتئین‌های تنظیم آپوپتوز مثل TACE، Puma، MCL1 و Bax را نشان دادند. آن‌ها با مهار سرویوین با پروتئین‌های تنظیم‌کننده آپوپتوز راه را برای استراتژی درمانی فراهم نمودند(۲۶). لیو و همکاران، با بررسی سیستماتیک و متاآنالیز، اطلاعات دقیق‌تری از ارتباط بین پلی‌مورفیسم G/C 31 ژن سرویوین و خطر ابتلا به سرطان دستگاه گوارش استخراج کردند. در مطالعه آنها ۲۲۳۱ نفر از افراد مبتلا به سرطان دستگاه گوارش و ۲۲۸۷ فرد سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پلی‌مورفیسم شایع G/C 31 (rs9904341) ژن سرویوین با افزایش خطر ابتلا به سرطان دستگاه گوارش همراه بوده است. با آنالیز انواع سرطان‌ها ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

31 G/C ژن سرویوین و افزایش خطر ابتلا به روده بزرگ و سرطان معده مشاهده شد، هم‌چنین در مطالعه ما فراوانی آللی برای C به صورت ۱/۲۶۷–۰/۵۸۶ CI; با ۰/۸۶۲ OR; و ارتباط ژنوتیپی برای CC به صورت ۱/۶۱۲–۰/۳۹۷ CI; با ۰/۸۰۰OR; و برای ژنوتیپ CG به صورت ۲/۷۳۵–۰/۷۱۴ CI; با ۱/۳۹۷ OR; بود که دارای ارتباط معنی‌داری نمی‌باشد(۲۷).

با توجه به نقش آپاپتوز در فرایند مرگ سلول‌های ایمنی در بیماری آپاپتوز پیشنهاد می‌شود دیگر پلی‌مورفیسم‌های این ژن به خصوص در جمعیت‌های بزرگتر بررسی گردد.

نتیجه گیری

بروز بیماری MS در همه جوامع یک خطر جدی می‌باشد به ویژه در خانم‌ها که شیوع بیشتری دارد. به طور کلی این بررسی ریسک ابتلا با خطر بیماری MS را نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم 31- G/C در پروموتر ژن سرویوین نقش ندارد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک مولکولی بود که با حمایت معنوی معاونت پژوهشی و دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد، نویسندگان مقاله مراتب قدردانی خود را از اعضای محترم مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد شهرکرد به عمل می‌آورند.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

REFERENCES

1.Tremlett H, Yinshan Zhao, Devonshire V. Natural history of secondary-progressive multiple sclerosis. Mult Scler 2008; 14(3): 314–24.
2.Renoux C, Vukusic S, Mikaeloff Y, Edan G, Clanet M, Dubois B, et al. Natural history of multiple sclerosis with childhood onset. N Engl J Med 2007; 356(25): 2603–13.
3.Gorman MP, Healy BC, Polgar-Turcsanyi M, Chitnis T. Increased relapse rate in pediatric-onset compared with adult-onset multiple sclerosis. Arch Neurol 2009; 66(1): 54–9.
4.Pohl D, Waubant E, Banwell B, Chabas D, Chitnis T, Weinstock Guttman B, et al. Treatment of pediatric multiple sclerosis and variants. Neurology 2007; 68(16): S54–S65.
5.Ghezzi A, Banwell B, Boyko A, Pia Amato M, Anlar B, Blinkenberg M, et al. The management of multiple sclerosis in children: a European view. Mult Scler 2010; 16(10): 1258–67.
6.Banwell B, Krupp L, Kennedy J, Tellier R, Tenembaum S, Ness J, et al. Clinical features and viral serologies in children with multiple sclerosis: a multinational observational study. Lancet Neurol 2007; 6(9): 773–81.
7.Lee CG, Lee B, Lee J, Lee M. The natural course of clinically isolated syndrome in pediatric patients. Brain and Development 2015; 37(4): 432–8.
8.Krupp LB, Banwell B, Tenembaum S. International pediatric MS study group. Consensus definitions proposed for pediatric multiple sclerosis and related disorders. Neurology 2007; 68(2): S7–S12.
9.Skommer J, Wlodkowic D, Deptala A. Larger than life: Mitochondria and the Bcl-2 family. Leuk Res 2007; 31: 277-86.
10.Adams JM, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential. Curr Opin Immunol 2007; 19: 488-96.
11.Hunter AM, LaCasse EC, Korneluk RG. The inhibitors of apoptosis (IAPs) as cancer targets. Apoptosis 2007; 12: 1543–68.
12.Mita AC, Mita MM, Nawrocki ST, Giles FJ. Survivin: key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics. Clin Cancer Res 2008; 14(16): 5000–5.
13.Sah NK, Khan Z, Khan GJ, Bisen PS. Structural, functional and therapeutic biology of survivin. Cancer Lett 2006; 244: 164–71.
14.Hu H, Shikama Y, Matsuoka I, Klimura J. Terminally differentiated neutrophils predominantly express Survivin-2 alpha, a dominant-negative isoform of survivin. J Leukoc Biol 2008; 83(2): 393–400.
15.Santarelli A, Mascitti M, Lo Russo L, Sartini D, Troiano G, Emanuelli M, et al. Survivin-Based Treatment Strategies for Squamous Cell Carcinoma. Int J Mol Sci 2018; 19(4): E971.
16.Altieri DC. Targeted therapy by disabling crossroad signaling networks: the survivin paradigm. Mol Cancer Ther 2006; 5: 478–82.
17.Hang LE, Peng J, Tan W, Szakal B, Menolfi D, Sheng Z. Rtt107 Is a Multi-functional Scaffold Supporting Replication Progression with Partner SUMO and Ubiquitin Ligases. Mol Cell 2015; 60(2): 268–79.
18.Zubcevic L, Herzik MA Jr, Wu M, Borschel WF, Hirschi M, Song MS, et al. Conformational ensemble of the human TRPV3 ion channel. Nat Commun 2018; 9(1): 4773.
19.Zang L, Che Y, Moore JS. One-dimensional self-assembly of planar pi-conjugated molecules: adaptable building blocks for organic nanodevices. Acc Chem Res 2008; 41(12): 1596–608.
20.Broberg Ml, Holm R, Tonsberg H, Frolund S, Ewon KB, Nielsen AL, et al. Function and expression of the proton-coupled amino acid transporter PAT1 along the rat gastrointestinal tract: implications for intestinal absorption of gaboxadol. Br J Pharmacol 2012; 167(3): 654–65.
21.Haab F. Darifenacin, an M3 selective receptor antagonist, is an effective and well-tolerated once-daily treatment for overactive bladder. Eur Urol 2004; 45:420–429.
22.Badran A, Yoshida A, Ishikawa K, Goi T, Yamaguchi A, Ueda T, et al. Identification of a novel splice variant of the human anti-apoptopsis gene survivin. Biochem Biophys Res Commun 2004; 314(3): 902–7.
23.Troiano G, Guida A, Aquino G, Botti G, Losito LS, Papagerakis S, et al. Integrative Histologic and Bioinformatics Analysis of BIRC5/Survivin Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma. Int J Mol Sci 2018; 19(9): E2664.
24.Greathouse KM, Boros BD, Deslauriers JF, Henderson BW, Curtis AL, Gentry EG, et al. Distinct and complementary functions of rho kinase isoforms ROCK1 and ROCK2 in prefrontal cortex structural plasticity. Brain Struct Funct 2018; 223(9): 4227–41.

25.Ryan BM, O'Donovan N, Duffy MJ. Survivin: a new target for anti-cancer therapy. Cancer Treat Rev 2009; 35(7): 553–62.
26.Hernandez JM, Stein A, Behrmann E. Membrane fusion intermediates via directional and full assembly of the SNARE complex. Science 2012; 336(6088): 1581–4.
27.Liu Y, Li L, Qi H. Survivin −31G>C Polymorphism and Gastrointestinal Tract Cancer Risk: A Meta-Analysis. PLoS One 2013; 8(2): e54081.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 1:03 +0430 on Tuesday June 15th 2021

Association of Polymorphism -31 G/C in the Survivin Gene Promoter With the Risk of Multiple Sclerosis Disease

Rezazadeh S, Mohammadi Nejad P*

Department of Biology, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Received: 25 Aug 2018 Accepted: 30 Dec 2018

Abstract

Background & aim: Multiple Sclerosis (MS) is an immune system-dependent disease with unknown causes and is one of the most important neurological disabling diseases in adults, where the myelin section of the nervous system is destroyed. The link between MS and apoptosis in patients shows that the expression of many genes involved in inhibiting the immune cell apoptosis, such as Survivin gene, which causes more activity in these cells and increases the cerebrospinal fluid damage, has increased. The aim of the present study was to investigate of Polymorphism-31 G/C in the Survivin gene promoter in patients with MS disease and to compare with healthy people and its association with the disease.

Methods: In the present case-control study, 100 Blood samples of patients with MS and 100 Blood samples of healthy controls (control) were taken under the direct supervision of a physician and according to clinical signs and laboratory findings, were investigated in a *Survivin* gene promoter for the polymorphism of G / C31 in a promoter of Survivin gene. In the next step, blood sampling was carried out. Genomic DNA was extracted from blood samples. The PCR method was used to amplify the Survivin gene and PCR RFLP polymorphism was investigated using the EcoO109I digestion enzyme. The collected data were analyzed using SPSS software and statistical tests

Results: The amplification of *Survivin* gene with a length of 308 base pairs was observed on the agarose gel. The EcoO109I restriction enzyme produced bands with lengths of 210 and 98 base pairs. A band of 308 base pairs, representing the genotype GG, lengths 210 and 98 base pairs, representing the genotype CC and all three lengths together, represent the GC genotype. After data analysis and validation, genotypic correlation of Polymorphism-31 G/C with the risk of MS disease, in CG genotype was P(0.330), OR(1.397) and CI (0.714-2.735) and also for CC genotype, it was P(0.532), OR(0.800) and CI(0.397-1.612).

Conclusion: In general, *Survivin* gene could be used for biomarker and polymorphism tests in MS and other diseases and by studying in larger populations and determining the frequency of alleles and genotypes, it is possible to better determine the role of this gene in future research is a good way to prevent the disease.

Keywords: Multiple Sclerosis, Polymorphism-31 G/C, Survivin gene, PCR RFLP.

Corresponding author: Mohammadi Nejad P, Department of Biology, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
Email: sahar.rezazadeh@yahoo.com

Please cite this article as follows:
Rezazadeh S, Mohammadi Nejad P. Association of Polymorphism -31 G/C in the Survivin Gene Promoter With the Risk of Multiple Sclerosis Disease. Armaghane-danesh 2019; 23(6): 765-776