Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 17:06 +0330 on Saturday November 18th 2017

Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2014; 17(83): 24-32

The effects of 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene in Iranian patients with schizophrenia

Sadeghifard V[1], Ebrahimi A[2], Aghasadeghi MR[3], Sadat SM[3*]

1- Islamic Azad University of Ahar, Ahar, Iran
2- Research Institute for Endocrine Sciences of SMBU, Tehran, Iran
3- Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 7 Jan 2014, Accepted: 5 March 2014

Abstract

Background: Schizophrenia is a widespread neurodegenerative disorder, which affects approximately 1% of the world population. It is a multifactorial and a highly heritable disease to which genetic factors contribute up to approximately 80%. Nowadays, multitude of genes have been discovered that relate to this disorder mostly by affecting the performance and levels of neurotransmitters in neural systems. Since PAI-1 is a considerable gene in the performance of neural systems, the present study dealt with the relationship between -675 4G/5G polymorphism in PAI-1 gene and schizophrenia among Iranian patients.

Materials and Methods: This case-control study was carried out on 106 blood samples collected from individuals suffering from schizophrenia and 122 healthy controls. DNA was extracted from the samples and the frequency of the polymorphisms was analyzed using ARMS-PCR method. Finally, the products were detected on 2% agarose gel electrophoresis.

Results: The analysis of the data for -675 4G/5G polymorphism showed that 17.9% of the patients and 1.6% of the controls were mutant homozygous and 65.1% of the patients and 45.9% of controls were heterozygous. Also, 17% of the patients and 52.5% of the controls were normal homozygous.

Conclusion: There was a significant relationship between PAI-1 4G/5G polymorphism and the incidence of schizophrenia. To the best of our knowledge, this is the first study in Iran that assesses the frequency of the polymorphism among Iranian patients. However, further studies with more samples are necessary.

Keywords: Iran, Plasminogen activator inhibitor1 gene, Polymorphism, Schizophrenia

*Corresponding author:
Address: Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
Email: mehdi_sadat@pasteur.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 17:06 +0330 on Saturday November 18th 2017

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۷، شماره۲ (شماره پیاپی۸۳)، اردیبهشت۱۳۹۳،۳۲-۲۴

بررسی ارتباط پلی مورفیسم 4G/5G ژن PAI-1 در بیماران ایرانی مبتلا به اسکیزوفرنی

ویدا صادقی فرد[۱]، احمد ابراهیمی[۲]، محمدرضا آقاصادقی[۳]، سید مهدی سادات[۴]*

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران .

۲. استادیار، پژوهشکده غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳. دانشیار، بخش هپاتیت و ایدز، انیستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۴. استادیار، بخش هپاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: اسکیزوفرنی یک اختلال شایع تخریب نورونی است که در حدود یک درصد از جمعیت جهان به آن مبتلا هستند. این بیماری یک اختلال چند فاکتوری است که نقش عوامل ژنتیکی در آن در حدود ۸۰ درصد تخمین زده شده است. تاکنون ژن‌های بسیاری در این حوزه مورد بررسی قرار گرفته‌اند. از آنجا که ژن PAI-1 نیز به عنوان یکی از ژن‌های تأثیرگذار بر عملکرد سیستم مرکزی اعصاب شناخته می‌شود، لذا در این مطالعه به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم شایع 4G/5G ۶۷۵- واقع در ناحیه پروموتور ژن PAI-1 با بروز بیماری اسکیزوفرنی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد- شاهدی بر روی ۱۰۶ نمونه از بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی و ۱۲۲ نمونه کنترل انجام گردید. پس از استخراج DNA نمونه‌های خونی، فراوانی پلی مورفیسم‌ها توسط روش ARMS-PCR تعیین و سپس محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شدند.

یافته‌ها: آنالیزهای آماری در مورد پلی مورفیسم 4G/5G ۶۷۵- نشان دادند که ۱۷/۹۲ درصد از بیماران و ۱/۶۴ درصد از افراد کنترل هموزیگوت موتانت، ۶۵/۱ درصد از بیماران و ۴۵/۹ درصد از افراد کنترل هتروزیگوت و ۱۷ درصد از بیماران و ۵۲/۵ درصد از افراد کنترل هموزیگوت طبیعی بودند.

نتیجه گیری: در این مطالعه، ما ارتباط معناداری را بین پلی‌مورفیسم 4G/5G ۶۷۵- و بروز بیماری اسکیزوفرنی در گروه بیمار مشاهده کردیم. بنابر اطلاعات ما، تحقیق حاضر برای اولین بار در ایران در بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی انجام یافته است، هر چند مطالعه با تعداد نمونه بیشتر ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: ایران، ژن PAI-1، پلی مورفیسم، اسکیزوفرنی

***نویسنده مسئول:** تهران، خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران، بخش هپاتیت و ایدز

Email: mehdi_sadat@pasteur.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 17:06 +0330 on Saturday November 18th 2017

مقدمه

اسکیزوفرنی یک بیماری شایع روانی است همراه با اختلالاتی در توانایی‌های شناختی، احساسات، و رفتار که حدود یک درصد از جمعیت جهان به آن مبتلا هستند(۱). معمولاً علائم روانی اسکیزوفرنی در دو دسته علائم مثبت یا همان«فزونی‌های آسیب شناسانه» و علائم منفی یا«کمبودهای آسیب شناسانه» شخصیتی، تقسیم بندی می‌گردد. به طور معمول این بیماری به واسطه علائم مشخصه‌ای همانند هذیان‌ها، توهم‌ها، تکلم آشفته (خروج از خط مکرر یا بی ربطی)، رفتار آشفته آشکار، علائم منفی، یعنی کند شدن عاطفه، حرف نزدن یا فقدان اراده تشخیص داده می‌شود(۲). علاوه بر علائم روان‌شناسی و روان‌شناختی اسکیزوفرنی، علائم بیولوژیکی هم چون تغییر شکل، اندازه و فعالیت‌های نوروشیمیایی مغز معمولاً همراه با این بیماری ظاهر می‌گردند(۳). به طور کلی اسکیزوفرنی یک اختلال چند عاملی است که برهم کنشی از عوامل محیطی و ژنتیکی آن را ایجاد می‌کنند. از یک سو استرس، مشکلات خانوادگی و اجتماعی، استفاده از مواد مخدر و دیگر عوامل از این دست و از سویی دیگر با توجه به مطالعات اخیر در حوزه ژنتیک اسکیزوفرنی، اختلالات ژنتیکی نقش بسیار مهمی را در بروز این بیماری ایفا می‌کنند. براساس بررسی‌های انجام شده شاخصه وراثتی اسکیزوفرنی در بین دیگر شاخصه‌ها بسیار چشم گیر است و در حدود ۸۰ درصد از علل این بیماری مربوط به فاکتورهای ژنتیکی است(۴، ۵). به طور کلی احتمال ابتلا به اسکیزوفرنی و بیماری‌های مرتبط به آن در افرادی با دارا بودن خویشاوند درجه اول مبتلا به اسکزوفرنی، ۹ برابر بیشتر از کسانی است که سابقه این بیماری در خانواده‌شان دیده نمی‌شود(۶). تاکنون در بررسی‌های ژنتیکی انجام شده بر روی ارتباط بین اسکیزوفرنی و ژن‌های کاندید، ۱۰ محدوده کروموزمی مورد بررسی قرار گرفته است(۵، ۷). با این وجود نمی‌توان گفت که کدامیک از ژن‌های مورد مطالعه اثر غالبی در بروز این بیماری دارند. به بیانی دیگر اسکیزوفرنی اگرچه به واسطه عوامل ژنتیکی بروز می‌یابد اما تنها به صورت ژنتیکی ایجاد نمی‌گردد و عوامل دیگر در آن دخیل هستند.

مطالعه حاضر در یک محدوده جدید کروموزومی و بر روی پلی مورفیسم 4G/5G واقع در ناحیه پروموتر(ناحیه تنظیمی)، ژن PAI-1 و ارتباط آن با بیماری اسکیزوفرنی انجام گرفته است. این ژن با نام PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR 1 در ناحیه ۷q۲۲/۱ (بازوی بلند کروموزوم شماره ۷ ناحیه ۲۲/۱)، قرار داشته و حدود ۱۲/۲Kb طول دارد و شامل ۹ اگزون و ۸ اینترون می‌باشد(۵، ۸). پلی‌مورفیسم ناشی از دخول یا حذف گوانوزین(G/-) در محل ۶۷۵- در ناحیه پروموتر، نقش مهمی در تنظیم بیان ژن PAI-1 ایفا می‌کند. تحت شرایط تحریک با سایتوکین‌ها(مانند IL-1)، آلل 4G با افزایش سطح رونویسی ژن موجب افزایش میزان PAI-1 در پلاسما می‌شود. PAI-1 یکی از ژن‌های اعضای خانواده بازدارنده‌های پروتئاز سرین(سرپین) و اصلی‌ترین آنها یعنی فعال کننده پلاسمینوژن نوع اروکیناز(uPA) و فعال کننده پلاسمینوژن نوع بافتی(tPA) است. بازدارندگی uPA و tPA منجر به بازدارندگی تبدیل پلاسمینوژن به پلاسمین و به همان میزان فعال سازی MMPهای وابسته به پلاسمین می‌گردد(۹).

ژن PAI-1 در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی از جمله فیبرینولیز، تخمک گذاری، مهاجرت سلولی، رگ زایی و متاستاز تومور نقش دارد(۸). مطالعات بسیاری پیرامون ارتباط PAI-1 و فعالیت‌های مغزی انجام شده است که بیش‌ترین آنها تمرکز بر روی غلظت PAI-1 در مایع مغزی نخاعی دارند(۹). اهمیت این بررسی و توجه ما به ژن PAI-1، از یک سو معطوف به نقش مهم آن در بیماری‌های تخریب نورونی بوده و از سوی دیگر، کاربردهای بالقوه آن در نحوه تجویز دارویی و امکان بهره برداری و یافتن درمان‌های دارویی است. هم‌چنین عدم وجود مطالعاتی همانند تحقیق حاضر در خصوص ارتباط این ژن با اختلال اسکیزوفرنی در کشور، ضرورت انجام این تحقیق را افزون

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 17:06 +0330 on Saturday November 18th 2017

کرده است. لذا در تحقیق حاضر، برآن شدیم تا به بررسی پلی موفیسم 4G/5G ۶۷۵- و ارتباط آن با بیماری اسکیزوفرنی پی ببریم.

مواد و روش‌ها

در مطالعه مورد- شاهدی حاضر، پس از مطالعات اولیه و بررسی تحقیقات انجام شده در زمینه ژنتیک اسکیزوفرنی، بخش آزمایشگاهی طرح در چند مرحله انجام پذیرفت. در اولین اقدام پس از شناسایی جامعه مورد پژوهش، با استفاده از ابزار تحقیق شامل پرسش‌نامه مصاحبه بالینی منطبق بر معیارهای استاندارد DSM-IV-IR(۱۰) و پرسش‌نامه علائم مثبت و منفی (PANSS)، از میان بیماران مبتلا به اسکیزوفرنیا که یک یا چندین بار در بخش روان پزشکی حضرت ابوالفضل(ع)، واقع در شهرستان همدان، تحت بررسی قرار داشته‌اند، تعداد ۱۰۶ بیمار(شامل ۱۴ زن و ۹۲ مرد) که توسط روان پزشک تحت درمان بودند و به روش نمونه گیری در دسترس، از بیماران نمونه گیری انجام شد. گروه کنترل شامل ۱۲۲ فرد(شامل ۲۰ زن و ۱۰۲ مرد) بودند که پس از دو مرحله غربال‌گری انتخاب شدند. مرحله اول غربال‌گری با کمک پرسش‌نامه‌ای بالینی انجام گرفت که نشان می‌داد خود فرد یا خویشاوندان درجه اول و دوم وی دارای حداقل یکی از سوابق ذیل از جمله مراجعه به روان پزشک و روانشناس، مصرف داروهای روان پزشکی، سابقه بستری شدن روان پزشکی، سابقه اقدام به خودکشی و هم‌چنین سابقه وابستگی یا مصرف مواد مخدر نیستند. مرحله دوم غربال‌گری به وسیله پرسش نامه سلامت عمومی (General Health Questionnaire- GHQ)(۱۱) انجام شد. به وسیله این پرسش نامه افراد در چهار مقیاس علائم جسمانی، علائم اضطرابی و اختلال خواب، کارکرد اجتماعی و علائم افسردگی مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. معیارهای ورود بیماران اسکیزوفرنیا به مطالعه شامل: ۱)تایید تشخیص بیماری براساس معیار DSM-IV توسط روان پزشک ۲)عدم وجود بیماری‌های نوروژنیک، دیابت و صرع ۳)نداشتن سابقه ضربه جدی به سر که بی هوشی و جراحی به دنبال داشته است. ۴)افرادی که دارای اختلالات جسمانی که باعث ایجاد آسیب عملکرد شده ۵)افرادی که دارای عقب ماندگی ذهنی از دوران کودکی می باشند و نیز ۶)افرادی که دارای سابقه سوء مصرف مواد مخدر هستند و افراد بیماری که معیارهای بالا نداشتند از مطالعه حذف شدند. علاوه بر این‌ها در انتخاب افراد کنترل، معیار ورود به مطالعه، عدم وجود بیماری روان پزشکی شناخته شده در فرد یا خانواده آنان و نتایج پرسش‌نامه سلامت عمومی و هم‌چنین همسانی با نمونه بیماران از لحاظ سن، جنس و عدم سوء مصرف مواد مخدر مد نظر قرار گرفت. در مرحله بعدی میزان ۵ میلی‌لیتر خون از هر فرد(با در نظر گرفتن آئین نامه مصوب کمیته اخلاق انستیتو پاستور ایران و با کسب رضایت آگاهانه از تمامی افراد شرکت کننده در مطالعه بر اساس کد اخلاق ۳)گرفته شد و در لوله‌های مخصوص، حاوی ماده ضدانعقاد EDTA، ریخته و تحت شرایط حفظ زنجیره سرد و ایمنی زیستی به انستیتو پاستور ایران منتقل شد.

استخراج DNA ژنومی

استخراج DNA ژنومی، از نمونه‌های خون محیطی افراد بیمار و گروه کنترل، با استفاده از روش استاندارد فنل-کلروفرم(۱۲) انجام شد و سپس DNAهای استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد. در این مرحله با استفاده از روش‌های الکتروفورز و دستگاه پیکودراپ نسبت به سنجش کیفیت و کمیت DNA استخراج شده اقدام شد.

تعیین ژنوتیپ‌ها

تعیین ژنوتیپ با استفاده از تکنیک ARMS-PCR(یک روش ساده و سریع جهت یافتن جهش‌های نقطه‌ای، حذف‌ها و اضافه‌های نوکلئوتیدی کوچک می‌باشد، تحت عنوان PCR اختصاصی آلل(ASP) ،که به نام تکثیر اختصاصی الل‌ها(ASA) نیز شناخته می‌شود) انجام گرفت. آغازگرهای مناسب برای پلی مورفیسم مورد مطالعه(4G/5G)، بر اساس مطالعات مرتبط(۱۳)، انتخاب شدند و سپس با استفاده ازنرم افزار BLAST و Gene Runner از اختصاصی بودن آنها مطمئن شدیم(جدول ۱).

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 17:06 +0330 on Saturday November 18th 2017

سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، برای هر جفت آغازگر بهینه سازی شد. به طور خلاصه مرحله واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، سپس تعداد ۳۰ مرحله سیکل‌های PCR با مرحله واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، مرحله اتصال در ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، بازآرایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه و در پایان بازآرایی نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. به طور خلاصه برای هر نمونه دو تیوپ حاوی پرایمرهای طبیعی و موتان به صورت مجزا به همراه یک جفت پرایمر مربوط به کنترل داخلی، انتخاب و در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر، واکنش صورت پذیرفت. در نهایت به منظور بررسی صحت انجام PCR و تعیین ژنوتیپ‌ها، محصولات PCR برروی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شدند.

جدول ۱. توالی آغازگرها و برنامه مورد استفاده در ARMS-PCR

	نام پرایمر	توالی پرایمر (′3 به ′5)	محصول(bp)	دمای اتصال (درجه سانتی گراد)
4G/5G	FN	GTC TGG ACA CGT GGG GG	۱۳۸	۵۸
	FM	GTC TGG ACA CGT GGG GA		
کنترل داخلی	FC	GAC CAC TGC TCC ACA GAA TCT ATC	۴۷۰	۵۸
	R*	TGC AGC CAG CCA CGT GAT TGT CTA G		

*توالی آغازگر برای تعیین ژنوتایپ و کنترل داخلی به صورت مشترک استفاده شد.

آنالیز آماری

نتایج به دست آمده از تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم 4G/5G در پروموتور ژن PAI-1 برای سه حالت هموزیگوت طبیعی، هموزیگوت موتانت و هتروزیگوت، به همراه اطلاعات جمع آوری شده در پرسش‌نامه افراد در دو گروه بیمار و شاهد و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ و آزمون مربع کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی داری نیز کمتر ۰/۰۰۵در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

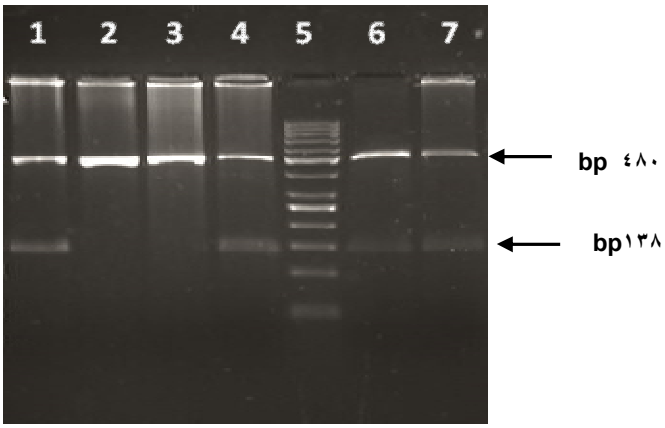
با توجه به نتایج مشاهده شده در الکتروفورز محصول ARMS-PCR، برروی ژل آگارز ۲ درصد، ژنوتیپ هر فرد برای پلی مورفیسم 4G/5G در پروموتر ژن PAI-1 مشخص شد که در هر نمونه بسته به ژنوتیپ فرد، یک باند ۱۳۸ جفت بازی، مربوط به پلی مورفیسم مورد نظر در یک یا هر دو محصول PCR مربوط به آن نمونه مشاهده گردید و هم‌چنین در تمامی ستون‌ها یک باند ۴۷۰ جفت بازی مربوط به کنترل داخلی PCR، مشاهده گردید(شکل ۱). هم‌چنین با توجه به آنالیزهای آماری انجام شده بر روی نسبت فراوانی ژنوتیپ‌ها در هر دو گروه بیمار و کنترل، ارتباط معناداری بین ژنوتیپ‌های به دست آمده در بین دو گروه بیمار و کنترل مشاهده گردید(p =۰/۰۰۱)، به طوری که افراد دارای ژنوتایپ 4G/4G به مراتب شانس ابتلا بیشتری به بیماری، نسبت به گروه پایه(5G/5G) و نسبت به گروه(5G/4G)، دارا می‌باشند. ((OR=۳/۱ ،CI(۱/۷-۵/۸) Vs CI(۲/۵-۱۶/۸)، OR=۶/۵). میزان فراوانی هر الل نشان می‌دهد که فراوانی الل موتانت(4G)، در میان بیماران برابر با ۵۰/۵ درصد بود در حالی که این میزان برای نمونه‌های کنترل ۴۹/۵ درصد محاسبه گردید(جدول ۲).

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 17:06 +0330 on Saturday November 18th 2017

جدول ۲. فرکانس ژنوتیپ و آلل پلی مورفیسم 4G/5G مربوط به ژن PAI-1 بین بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی(۱۰۶ مورد) و افراد کنترل(۱۲۲ مورد)

موقعیت	ناحیه	ژنوتیپ / آلل	بیمار تعداد(درصد)	شاهد تعداد(درصد)	OR*** (95% CI**)	P
ژنوتیپ 4G/5G	پروموتر	5G/5G	۱۸(۱۷)	۶۴(۵۲/۵)	۱*	
		5G/4G	۶۹(۶۵/۱)	۵۶(۴۵/۹)	۴/۳۸(۲/۳-۸/۲)	<۰/۰۰۱
		4G/4G	۱۹(۱۷/۹)	۲(۱/۶)	(۷/۱-۱۵۸/۸) ۳۳/۷	<۰/۰۰۱
		5G	۱۰۵(۴۹/۵)	۱۸۴(۷۵/۴)	۱*	
		4G	۱۰۷(۵۰/۵)	۶۰(۲۴/۶)	۱۳/۱(۲/۹-۵۷/۷)	<۰/۰۰۱

), ۱.۰(Odds Ratio, *Refrence Category
, **CI=Confidence Interal
***OR=Odds Ratio



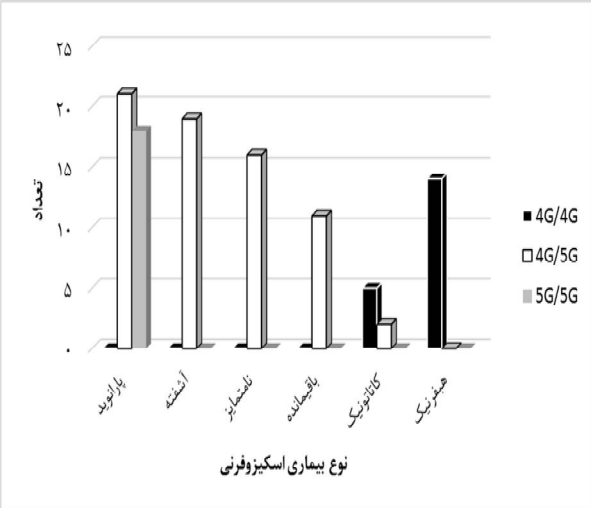
شکل ۱. الکتروفورز محصولات ARMS-PCR جهت تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها. ستون‌های فرد مربوط به تیوپ‌های حاوی پرایمر طبیعی و ستون‌های زوج مربوط به تیوپ‌های حاوی پرایمر موتان می‌باشد. ستون ۵. DNA مارکر(۵۰bp, Fermentas)، همان گونه که در شکل دیده می‌شود ستون ۱و ۲ مربوط به نمونه فردی با ژنوتیپ طبیعی، ستون‌های ۳ و ۴ مربوط به نمونه با ژنوتیپ موتانت، و ستون‌های ۶ و ۷ مربوط به نمونه هتروزیگوت می‌باشد.

در هر دو گروه کنترل و بیمار، تعادل هاردی-واینبرگ(HW) با استفاده از تست مربع کای، به وسیله مقایسه شمار افراد مشاهده شده در ژنوتیپ‌های متفاوت با میزان قابل انتظار در تعادل برای تخمین فرکانس انجام گردید، که هر دو از تعادل پیروی نمی‌کنند(جدول ۳). در ادامه بررسی‌ها، بررسی ارتباط آن با احتمال بروز بیماری اسکیزوفرنی، میزان فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در هر یک از انواع شش گانه، بیماری اسکیزوفرنی بر اساس تقسیم بندی DSM-IV، مورد مطالعه قرار گرفت. بر این اساس در پلی مورفیسم 4G/5G ۶۷۵-، ژنوتیپ 4G/4G تنها در افراد مبتلا به دو نوع هبفرنیک و کاتاتونیک مشاهده گردید. این در حالی است که افراد دارای ژنوتیپ 5G/5G، مبتلا به نوع پارانوئید بودند. در مقابل افراد دارای ژنوتیپ 5G/4G، محدود به نوع خاصی نبوده و تقریبا در همه انواع به جز نوع هبفرنیک(البته با میزان‌های متفاوت) مشاهده گردید(نمودار ۱). هم‌چنین در بررسی و مقایسه بین ژنوتیپ 4G/4G با ژنوتیپ‌های 5G/5G و 5G/4G نشان داده است که سن شروع بیماری در افراد دارای ژنوتیپ 4G/4G در دوره جوانی بین سنین ۱۸ تا ۲۵ سال بوده است.

جدول ۳. بررسی تعادل هاردی-واینبرگ

پلی مورفیسم	گروه	$\chi2$	df	P
4G/5G	شاهد	۶/۸	۱	۰/۰۰۸
	مورد (بیمار)	۰/۰۰۸		۰/۰۰۱

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 17:06 +0330 on Saturday November 18th 2017



نمودار ۱. فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم 4G/5G در گروه‌های مختلف بیمار

بحث

اسکیزوفرنی بیماری چند عاملی است که عوامل محیطی به همراه عوامل ژنتیکی می‌توانند سبب بروز آن گردند(۱۴). بر اساس تحقیقات انجام یافته، میزان متوسط PAI-1 در مایع مغزی-نخاعی برای بیماران مبتلا به آلزایمر، سکته مغزی، عفونت سیستم مرکزی اعصاب، تشنج ناشی از ترک اعتیاد و نئوپلاسم سیستم اعصاب مرکزی به شدت افزایش داشته است(۱۵). مطالعات دیگر نشان می‌دهند که در بیمارانی هم چون لوسمی، آنسفالیت و مولتیپل اسکلروزیس، غلظت PAI-1 در مایع مغزی نخاعی بیشتر از نمونه‌های سالم است(۱۶). به طور کلی می‌توان بیان کرد که PAI-1 و پروتئازهای مورد هدف آن همانند فعال‌کننده‌های پلاسمینوژن و ترومبین در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتوبیولوژیکی مغز دخالت دارند(۲۱ -۱۷). البته در برخی از موارد پلی مورفیسم‌های این ژن از طریق فرآیندی متفاوت، تأثیرگذار بر فرآیندهای مغزی است. به عنوان مثال در سکته مغزی افزایش سطح پلی مورفیسم 4G/5G از طریق مکانیسمی غیر از فیبرونولیز صورت می‌گیرد. این مکانسیم احتمالاً به صورت برهم زننده تعادل پلاکتی یا از طریق تقابل با اثرات tPA صورت می‌پذیرد(۲۲). با توجه به این ویژگی‌ها و عملکرد PAI-1 در فرآیندهای عصبی، سطح این ژن در مایع مغزی نخاعی و هم‌چنین نقش tPA و به تبع آن PAI-1 به عنوان بازدارنده اصلی آن در فرآیندهای مغزی، گمان می رود که این ژن در فرآیند بروز بیماری اسکیزوفرنی به عنوان زیر مجموعه‌ای از بیماری‌های تخریب نورونی و مرتبط با اختلالات عصبی، قابل ملاحظه باشد.

نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که اختلاف معنی داری از لحاظ آماری میان دو گروه بیمار و کنترل در این پلی مورفیسم وجود دارد (p=۰/۰۰۱) این پلی مورفیسم، دارای دو آلل 5G و4G می‌باشد که آلل 4G به عنوان آللی که در ارتباط با بیماری است مطرح شده است. فراوانی آلل 4G که به عنوان آلل موتانت در نظر گرفته شد، در گروه بیمار دارای فرکانس ۵۰/۵ درصد و در گروه کنترل ۲۴/۶ درصد بوده است و هم‌چنین فراوانی آلل طبیعی(5G)، در گروه بیمار ۴۹/۵ درصد و در گروه کنترل ۷۵/۴ درصد می‌باشد. به طور کلی در مقایسه آماری این دو نوع آلل، ارتباط آن با بیماری اسکیزوفرنی با یک p<۰/۰۰۷ تائید شده است، که نشان از ارتباط معنی دار قوی بین این آلل و بیماری اسکیزوفرنی است.

هم‌چنین نتایج نشان داد که فراوانی سه ژنوتیپ 5G/5G, 5G/4G,4G/4G به ترتیب ۱۷/۹ و ۶۵/۱ و ۱۷ درصد در افراد بیمار بوده، در حالی که فراوانی این سه ژنوتیپ در افراد کنترل به ترتیب ۱/۶ و ۴۵/۹ و ۵۲/۵ درصدگزارش شد. در آنالیزهای انجام شده ارتباط معناداری بین این پلی مورفیسم در دو گروه مورد و شاهد، مشاهده گردید(p=۰/۰۰۱). به طوری که افراد دارای ژنوتیپ 4G/4G، به مراتب شانس ابتلا بیشتری به بیماری اسکیزوفرنی، نسبت به گروه پایه(5G/5G+5G/4G) دارا بودند.

در بررسی‌های دیگری که به مطالعه ارتباط بین بیماری‌های تخریب نورونی و پلی مورفیسم ژن PAI-1 پرداخته‌اند، نتایج مشابهی به دست آمده است که مؤید نتایج این تحقیق می‌باشند. به طور مثال در مطالعات صورت گرفته توسط فرناندز و همکاران بر روی ۱۶۵ بیمار مبتلا به سکته مغزی، ژنوتیپ 4G/4G نسبت به دیگر ژنوتیپ‌های

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 17:06 +0330 on Saturday November 18th 2017

پلی مورفیسم 4G/5G۶۷۵-، خطر ابتلا به سکته مغزی را افزایش می‌دهد (p=۰/۰۲۵، CI=۱/۴-۱۶۳/۴ ۹۵ درصد، OR=۱۵/۱۶) (۲۰). در بررسی دیگر نیز، یوفانگ و همکاران نشان دادند که وجود آلل 5G، تأثیر به سزایی در میزان پاسخ بیماران آلزایمری افسرده به درمان‌های ضد افسردگی دارد، در حالی که آلل 4G نقش منفی در پاسخ به درمان دارد(p=۰/۰۵)(۲۳).

در بررسی‌های دیگر که برای اولین بار در این پژوهش بدان پرداخته شد، میزان ارتباط توزیع ژنوتیپ بر روی ابتلا به انواع ششگانه اسکیزوفرنی(با توجه به تقسیم بندی DSMI) و هم‌چنین سن بروز بیماری مورد مطالعه قرار گرفت. در این آنالیزها مشاهده گردید که ژنوتیپ هموزیگوت موتانت(4G/4G) در پلی مورفیسم مورد مطالعه، دارای ارتباط معنی داری با دو نوع هبفرنیک و کاتاتونیک از انواع بیماری اسکیزوفرنی است(نمودار ۱). بدین صورت که تمامی افراد مبتلا به نوع هبفرنیک و ۷۸ درصد از مبتلایان به نوع کاتاتونیک دارای ژنوتیپ 4G/4G بوده‌اند. از طرفی دیگر نشان داده شد که در تمامی بیماران دارای ژنوتیپ 4G/4G، زمان شروع بیماری ازدوره جوانی(۲۵- ۱۸ سال)، بوده است.

نتیجه‌گیری

به طور کلی در این تحقیق که بنابر اطلاعات ما، برای اولین بار انجام گرفته است، به بررسی پلی مورفیسم 4G/5G ۶۷۵- واقع در ناحیه پروموتوری ژنPAI-1 پرداخته شد. یکی از علل انتخاب این ژن، نقش مهم آن در فرآیندهای عصبی و مغزی است که در مطالعات بسیاری بدان پرداخته شده است و نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که وجود این پلی مورفیسم نقش مهمی در پیشرفت و ایجاد بیماری اسکیزوفرنی دارد و می‌توان از آن به عنوان یک مارکر احتمالی در تشخیص زود هنگام بیماری و شناسایی افراد مستعد، در کنار بررسی سایر ژن‌ها، استفاده نمود و به احتمال ابتلاء افراد به بیماری اسکیزوفرنی در افرادی با سابقه فامیلی ابتلا به این بیماری، پی برد و با معرفی افراد مشکوک به متخصصین و تحت نظر قرار داشتن این افراد در دوره‌های زمانی مشخص، احتمال ایجاد بیماری را بررسی کرد تا در صورت شروع بیماری در گام‌های اول با به کارگیری داروهای موجود نسبت به درمان قطعی بیماران اقدام نمود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق حاصل نتایج بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک(دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر) بوده که در انستیتو پاستور ایران به انجام رسیده است و نویسندگان از کلیه همکاران و پرسنل گرامی روانپزشکی حضرت ابوالفضل(ع) همدان به خصوص جناب آقای دکتر عباس قره گوزلو و آزمایشگاه ژنتیک پارسه که در مراحل مختلف انجام تحقیق ما را یاری داده‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایند. هم‌چنین از زحمات سرکار خانم گلناز بهرامعلی که در انجام آنالیز آماری ما را یاری نمودند تشکر و تقدیر می‌گردد.

منابع

1. Wedenoja J. Molecular genetics of schizophrenia and related intermediate phenotypes in a founder population. 2010.
2. Fanous A, Gardner C, Walsh D, Kendler KS. Relationship between positive and negative symptoms of schizophrenia and schizotypal symptoms in nonpsychotic relatives. Archives of General Psychiatry. 2001;58(7):669-73.
3. Brown R, Colter N, Corsellis JN, Crow TJ, Frith CD, Jagoe R, et al. Postmortem evidence of structural brain changes in schizophrenia: differences in brain weight, temporal horn area, and parahippocampal gyrus compared with affective disorder. Archives of General Psychiatry. 1986;43(1):36-42.
4. Maric N, Svrakic D. Why schizophrenia genetics needs epigenetics: a review. Psychiatria Danubina. 2012;24(1.):2-18.
5. Reilly CF, Fujita T, Mayer EJ, Siegfried ME. Both circulating and clot-bound plasminogen activator inhibitor-1 inhibit endogenous fibrinolysis in the rat. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 1991;11(5):1276-86.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 17:06 +0330 on Saturday November 18th 2017

6. Roth TL, Lubin FD, Sodhi M, Kleinman JE. Epigenetic mechanisms in schizophrenia. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2009;1790(9):869-77.
7. Sivagnansundaram S, Müller D, Gubanov A, Potkin S, Kennedy J. Genetics of schizophrenia: current strategies. Clinical Neuroscience Research. 2003;3(1):5-16.
8. Irving JA, Pike RN, Lesk AM, Whisstock JC. Phylogeny of the serpin superfamily: implications of patterns of amino acid conservation for structure and function. Genome research. 2000;10(12):1845-64.
9. Gorlatova NV, Cale JM, Elokdah H, Li D, Fan K, Warnock M, et al. Mechanism of inactivation of plasminogen activator inhibitor-1 by a small molecule inhibitor. Journal of biological chemistry. 2007;282(12):9288-96.
10. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR®: American Psychiatric Pub; 2000.
11. Taghavi SMR. Study of Reliability and Validity of the General Health Questionnaire (GHQ), Journal of Psychology. 2002(20):381-98. [Persian]
12. Joseph S, David W. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. 2001;2.
13. Basia J, Smolarz B. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene 4G/5G promoter polymorphism is not associated with breast cancer. 2000; 47(1): 191-7.
14. Riley B, Kendler KS. Molecular genetic studies of schizophrenia. European Journal of Human Genetics. 2006; 14(6): 669-80.
15. Sutton R, Keohane M, VandenBerg S, Gonias S. Plasminogen activator inhibitor-1 in the cerebrospinal fluid as an index of neurological disease. Blood coagulation & fibrinolysis. 1994;5(2):167-72.
16. Akenami F, Koskiniemi M, Färkkilä M, Vaheri A. Cerebrospinal fluid plasminogen activator inhibitor-1 in patients with neurological disease. Journal of clinical pathology. 1997;50(2):157-60.
17. Hino H, Akiyama H, Iseki E, Kato M, Kondo H, Ikeda K, et al. Immunohistochemical localization of plasminogen activator inhibitor-1 in rat and human brain tissues. Neuroscience letters. 2001;297(2):105-8.
18. Xi G, Reiser G, Keep RF. The role of thrombin and thrombin receptors in ischemic, hemorrhagic and traumatic brain injury: deleterious or protective? Journal of neurochemistry. 2003;84(1):3-9.
19. Akenami FO, Koskiniemi M, Vaheri A. Plasminogen activation in multiple sclerosis and other neurological disorders. Fibrinolysis and Proteolysis. 2000;14(1):1-14.
20. Fernandez-Cadenas I, Del Rio-Espinola A, Rubiera M, Mendioroz M, Domingues-Montanari S, Cuadrado E, et al. PAI-1 4G/5G polymorphism is associated with brain vessel reocclusion after successful fibrinolytic therapy in ischemic stroke patients. International Journal of Neuroscience. 2010;120(4):245-51.
21. Ortolano S, Spuch C. tPA in the Central Nervous System: Relations Between tPA and Cell Surface LRPs. Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery. 2013;7(1):65-76.
22. Saidi S, Slamia LB, Mahjoub T, Ammou SB, Almawi WY. Association of PAI-1 4G/5G and-844G/A gene polymorphism and changes in PAI-1/tPA levels in stroke: a case-control study. Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases. 2007;16(4):153-9.
23. Fang Y, Zhang L, Zeng Z, Lian Y, Jia Y, Zhu H, et al. Promoter polymorphisms of SERPINE1 are associated with the antidepressant response to depression in Alzheimer's disease. Neuroscience letters. 2012; 516(2):217-20.