

Search for Disease-Specific Genetic Markers Originated from the Vitamin D Binding Protein Gene Polymorphisms in the Multiple Sclerosis Cohort in the Latvian Population

ویتامین D و MS چه ربطی به هم دارند؟

- ویتامین D برای کارکرد خوب سیستم ایمنی خیلی مهمه
- کیودش احتمال ابتلا به بیماری های خودایمنی مثل MS رو بالا میبره
- پروتئینی به اسم VDBP (تولیدش با ژن GC هست) وظیفه دارد ویتامین D را در بدن حمل کند

پروتئین

VDBP چیست؟ (پروتئین متصل شونده به ویتامین D (vitamin d binding protein))

پروتئینی که در خون وجود دارد و وظیفه ی اصلیش حمل ویتامین D در بدن است، این پروتئین باعث میشود ویتامین D بتواند در خون بچرخد و به بافت ها برود تا اثر بگذارد

نقش های اصلی VDBP:

1) حمل و انتقال ویتامین D (هم $D(OH)_{25}$ و هم $2D(OH)_{1,25}$)

*مقاله رو فرم $D(OH)_{25}$ (کلیدیول) آزمایش را انجام داده

2) افزایش طول عمر ویتامین D در خون، چون وقتی به این پروتئین متصل میشه دیر تر از بین میره

3) رساندن ویتامین D به سلول ها و بافت ها برای تاثیرگذاری (مثل رشد سلول، مرگ سلولی و تمایز سلول ها)

VDBP چجوری ساخته می شود؟

این پروتئین توسط ژن GC ساخته می شود که روی کروموزوم شماره 4 قرار داره اگه توی این ژن تغییراتی به وجود بیاید می تواند ساختار و عملکرد این پروتئین رو تغییر بده

نوع های مختلف VDBP:

دو تغییر ژنتیکی مهم ($rs4588-c$ و $rs7041$) در ژن GC باعث میشوند که پروتئین VDBP در بدن هر فرد یکی از سه شکل اصلی (ایزوفرم) را داشته باشد:

1) $Gc1F$ (سریع): $rs7041-T$ و $rs4588-c$

2) $Gc1S$ (کند): $rs7041-G$ و $rs4588-c$

3) $Gc2$ ($rs7041-T$: $Gc2$ و $rs4588-A$)

*اسم هاشون بر اساس سرعت حرکتشون تو ژل در آزمایشگاه هست

*این ایزوفرم ها قدرت اتصال متفاوتی به $D(OH)_{25}$ دارند و این باعث تفاوت در سطح ویتامین د در بدن میشود

- بعضی ها قوی تر به ویتامین د وصل میشوند و بیشتر توی خون میمانند مثل Gc1F
- بعضی دیگر ضعیف تر وصل میشوند و ویتامین د زودتر از بین میرود مثل Cs1S (اتصال متوسط) و Gc2 (ضعیف ترین اتصال بین این 3)

اهمیت VDBP در بیماری ها مثل MS:

تغییر در ساختار این پروتئین (به خاطر ژن های مختلف) ممکنه باعث پشه بعضی افراد کمتر یا بیشتر ویتامین د در بدنشون فعال باشه در نتیجه بعضی ژن ها ممکنه اثر محافظتی داشته باشن و بعضی دیگه ریسک ابتلا به MS رو بالا ببرن

ایزوفرم چیست؟

شکل های مختلف یک پروتئین هستند که در نتیجه ی تغییرات ژنتیکی یا ساختاری به وجود میان در اینجا این تفاوت ها مربوط به دو پلی مورفیسم rs7041 و rs4588 هستند

- ژن GC دو نوع پلی مورفیسم (وجود چندین نوع متفاوت از یک ژن) (یا توالی DNA) مهم داره:
- Rs7041 که ممکنه به جای T حرف G داشته باشه
- Rs4588 که ممکنه به جای C حرف A داشته باشد

آزمایشی جهت بررسی ارتباط بین دو پلی مورفیسم ژنی rs7041 و rs4588 در ژن GC با بیماری ام اس و بررسی تاثیر این ژن ها بر سطح ویتامین د در خون انجام دادند

این آزمایش روی 296 بیمار مبتلا به ام اس و 253 فرد سالم از جمعیت لتونی انجام شده است

چه آزمایش هایی انجام دادن؟

1) استخراج DNA و ژنوتیپ گیری (genotyping):

از خون افراد DNA استخراج شد.

سپس بررسی کردن که هر فرد در دو نقطه rs7041 و rs4588 چه آللی داره مثلاً TT ، TG ، GG ..و

روش انجام ژنوتیپ گیری:

- روش RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)
- با آنزیم‌های برشی Styl و HaeIII
- تایید نتایج با توالی‌یابی Sanger sequencing روی چند نمونه

(2) اندازه‌گیری سطح ویتامین D (25(OH)D) در خون:

- روی 131 نفر از بیماران ام اس انجام شد
- با استفاده از کیت تجاری ELISA (ساخت شرکت IBL International آلمان)

جزئیات بیشتر:

- دستگاه خوانش نوری Spark microplate reader :
- طول موج: 450 نانومتر با مرجع 600–650 نانومتر
- حد تشخیص (Limit of Detection): 11.6 ng/mL

(3) تحلیل آماری:

- برای بررسی نتایج از روش‌های آماری مختلف استفاده شد

نتیجه اصلی آزمایش‌ها چی بود؟

آلل‌های محافظت‌کننده (خطر MS را کم میکنند)

- Rs7041-T
- Rs4588-A

کسانی که این آلل را داشتند کمتر دچار ام اس شدند

آلل‌هایی افزاینده ریسک:

- Rs7041-G
- Rs4588-C

بین ژن‌ها و سطح ویتامین D و MS ارتباط وجود دارد

- اون‌هایی که آلل‌های نادر و محافظت‌کننده داشتند مثل rs7041-T هم سطح ویتامین D بالاتری داشتن هم کمتر به MS دچار شدن.
- اون‌هایی که آلل‌های رایج و پرریسک داشتن rs7041-G و rs4588-C، هم سطح ویتامین D کمتری داشتن هم بیشتر دچار MS شدن.

ژن GC (Group-specific component):

این ژن مسئول کد کردن (تولید دستور ساخت) پروتئین VDBP (Vitamin D Binding Protein) است