

علاقة تعدد الأشكال الوراثية للسيتوكروم ب ٤٥٠ بمستوى الإستيرويد لدى مرضى التصلب المتعدد

اعداد

سهام بنت أحمد الشاردي

إشراف

د. حنان سعد رده الثقفي

المستخلص

التصلب العصبي المتعدد هو مرض التهابي مزيل للميالين وهو السبب الأكثر شيوعًا للإعاقة العصبية لدى الشباب. لا تزال أسباب مرض التصلب المتعدد غير مفهومة تمامًا. تساهم العوامل الجينية والبيئية في مسببات المرض. أشارت العديد من الدراسات إلى أن هرمونات الستيرويد تلعب دورًا في عملية الالتهاب والتلف وآليات الإصلاح في مرض التصلب العصبي المتعدد. الميتوكوندريا سيتوكروم ب 450، إنزيم انشقاق السلسلة الجانبية (P450scC، CYP11A1) هو الإنزيم البادئ لتكوين الستيرويد. يعمل البروتين التنظيمي الحاد الستيرويدي (StAR) على تسهيل حركة الكوليسترول في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا حيث يشق P450scC سلسلة الكوليسترول الجانبية، ويحول الكوليسترول إلى برينجينولون. يشير هذا إلى أن التغيرات الجينية للأنزيمات الستيرويدية يمكن أن ترتبط بزيادة خطر الإصابة بالتصلب المتعدد. لذلك، نهدف إلى التحقيق في العلاقة بين الأشكال الجينية المتعددة لجين CYP11A1 وجين StAR ومستويات الستيرويد في مرضى التصلب المتعدد في المجتمع السعودي. تم إجراء دراسة الحالات والضوابط على 40 حالة من مرضى التصلب المتعدد و 20 من الأصحاء. تم إجراء التنميط الجيني عن طريق تفاعل البلمرة المتسلسل وتسلسل سانجر. في هذه الدراسة، كان هناك انخفاض معنوي في مستوى البروجسترون ($p = 0.01$) و p الهرمون المنشط للحوصلة ($p = 0.05$) في المرضى الإناث والذكور مقارنة بالأصحاء. وكان هناك انخفاض معنوي في مستوى الإستراديول ($p < 0.001$) عند المرضى الذكور مقارنة بالذكور الأصحاء. كشف تحليل المنطقة المحفزة للجين CYP11A1 عن خمسة أليلات مختلفة [-4، -6، -7، -8، -9] في المرضى والأصحاء، كان الأليل الأكثر شيوعًا

هو ستة تكرارات (29.6%، 50%) عند الإناث (38.5%، 15.8%) عند الذكور. وجدنا انخفاض في مستوى الهرمون المنشط للحوصلة ($p = 0.05$) وزيادة في مستوى الكورتيزول ($p < 0.05$) في المرضى الإناث الذين يحملون التكرار $(tttta)_4$ مقارنة مع المرضى الذين يحملون التكرار $(tttta)_6$. تم اكتشاف مجموعه من 8 متغيرات جينية في مرضى التصلب المتعدد والأفراد الأصحاء بما في ذلك 4 متغيرات جديدة. في المنطقة المحفزة للجين CYP11A1 تم اكتشاف متغيرين، المتغير (rs79975126) ومتغير الزيجوت G/C في موضع الكروموسوم (15:74368301). في الإكسون الثاني تم اكتشاف متغيرين، متغيرة الزيجوت (rs1484215) والمتغير (rs145866066) ولم يتم وصفه مسبقاً في المنشورات الأخرى. في جين StAR، في الإكسون الخامس، تم اكتشاف ثلاث متغيرات (جلايسين=201)، (الجلوتامات=211) و (الجلوتامين=191). في الإكسون السابع، تم اكتشاف متغير واحد (rs757414809). تم الكشف عن ارتباط بين الأنماط الجينية GA و GG للمتغير (rs1484215) في الإكسون الثاني من CYP11A1 ومستويات الدهون الثلاثية ($p = 0.03$). كما وجد ارتباط بين الأنماط الجينية GG و GA للمتغير (8: 38145980) في الإكسون الخامس من جين StAR بمستويات الدهون الثلاثية ($p = 0.03$) ومستويات الجلوكوز ($p = 0.05$). في الختام، تعكس نتائجنا أن التغيرات في هرمونات الستيرويد ومستويات الدهون والجلوكوز قد تترافق مع خطر الإصابة بمرض التصلب العصبي المتعدد. وأن تعدد الأشكال المتكرر $(tttta)_n$ و التغيرات الجينية في جين CYP11A1 وجين StAR قد تؤثر على خطر الإصابة بالتصلب المتعدد.

Association of Cytochrome P450 Genetic Polymorphisms and Level of Steroids in Multiple Sclerosis Patients

By

Seham Ahmad Alshardi

Supervised by

Dr. Hanan Saad Radah Althagafy

Abstract

Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory demyelinating disease and the most common cause of neurological disability in young adults. The pathology of MS is still not completely understood. Genetic and environmental factors contribute to the etiology of MS. Several studies have suggested that steroid hormones play a role in the inflammatory process, damage, and repair mechanisms in MS. Mitochondrial cytochrome P450 side-chain cleavage enzyme (P450_{scc}, CYP11A1) is the initiating enzyme of steroidogenesis. Steroidogenic acute regulatory protein (StAR) facilitates the movement of cholesterol into the inner mitochondrial membrane where P450_{scc} cleaves the cholesterol side chain, converting cholesterol to pregnenolone, the precursor of steroids. This suggests that genetic alterations of steroidogenic enzymes could be correlated with an increased risk of developing MS. Therefore, we aimed to investigate the association between genetic polymorphisms of CYP11A1 and StAR genes, and levels of steroids in MS patients in the Saudi population. A case-control study was conducted on 40 MS cases and 20 controls. Genotyping was performed by polymerase chain reaction (PCR) and Sanger sequencing. In this study, there was a significant decrease in the level of progesterone in female and male patients ($p = 0.01$ and $p < 0.001$, respectively) compared to female and male controls. A significant increase in level of FSH in female and male patients ($p = 0.05$) compared to controls. There was a significant decrease in estradiol levels in male patients ($p < 0.001$) compared to male controls. Analysis of promoter region of the CYP11A1 gene revealed five different alleles [4-, 6-, 7- 8-, and 9-] (tttta) repeat polymorphisms in MS patients. The most frequent allele observed was six repeats (29.6%) in females and (38.5%) in males. A significant decrease of FSH level ($p = 0.05$) and a significant increase of cortisol level ($p < 0.05$) in female MS patients with the (tttta)₄ allele compared to patients with the (tttta)₆ allele. A total of 8 genetic variants were detected in the MS patients and healthy individuals including 4 novel variants. In the promoter region of the CYP11A1, rs79975126 and SNP G/C in chromosome position (15:74368301) were detected. In exon 2 of CYP11A1, two variants were detected rs1484215 and rs145866066. In the StAR gene at exon 5, three synonymous variants were detected (Glycine 201=), (Glutamate 211=), and (Glutamine 191=). In exon 7 of StAR, one synonymous variant

rs757414809 was detected. A significant association between GG and GA genotypes of (rs1484215) variant in exon 2 of CYP11A1 and triglyceride levels was detected. The GG and GA genotypes of (8: 38145980) variant in exon 5 of StAR gene were associated with triglyceride ($p = 0.03$) and glucose ($p = 0.05$) levels. In conclusion, the changes in steroid hormones, lipid profile, and glucose levels may be associated with the risk of MS. Genetic variants in the CYP11A1 gene and StAR gene maybe influence MS risk. The (tttta)₆ allele of CYP11A1 may be linked to MS in the Saudi population.