مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۱۸، شماره ٦، بهمن و اسفند ۱۳۸۹
صفحه: ۵۳۹-۵۳۱

Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 18, No. 6, Jan-Feb 2011
Pages: 531-539

شناسایی یک حذف بزرگ در DNA میتوکندریایی بیماران ایرانی مبتلا به آریتمی قلبی

مهری خاتمی*[۱]، محمد مهدی حیدری[۲]

۱،۲– استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه یزد

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۶/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۷/۸

چکیده

مقدمه: سندرم Long QT نوعی اختلال آریتمی قلبی است که سبب ایست قلبی در بیماران می‌شود. تاکنون بیشتر تحقیقات برای یافتن نقایص ژنتیکی در این بیماری، روی ژنوم هسته‌ای متمرکز بوده است ولی علت برخی از موارد این سندرم را نمی‌توان با جهش‌های هسته‌ای توضیح داد. هدف از این مطالعه بررسی بازآرایی‌های بزرگ در ژنوم میتوکندری(mtDNA) بود که سبب نقص در زنجیره تنفسی و کاهش تولید ATP می‌شود.

روش بررسی: در این مطالعه، ناحیه‌ای از mtDNA (از نوکلئوتید ۵۴۶۱ تا ۱۵۰۰۰) را با روش‌هایی نظیر PCR چندتایی و ساترن بلاتینگ و تعیین توالی جستجو کردیم.

نتایج: برای اولین بار در ۳۰ بیمار از ۳۹ بیمار(۷۶/۳٪) مورد مطالعه، یک حذف بزرگ (حدود ۸/۷ kb) شناسایی شد. نتایج ما نشان می‌دهد که این حذف در بیماران ما نسبت به افراد شاهد از نظر آماری دارای اهمیت است (P<۰/۰۰۱). همچنین در هشت بیمار مسن (بالای ۴۵ سال) علاوه بر حذف فوق، حذف‌های چندتایی دیگری نیز مشاهده شد که بین نواحی ۵۴۶۱ bp تا ۱۶۱۵۰ bp واقع شده است که این بازآرایی ها ممکن است نتیجه تاثیر افزایش سن باشد.

نتیجه‌گیری: چون قلب وابستگی زیادی به تولید انرژی در میتوکندری‌ها دارد، چنین حذف بزرگی ممکن است باعث اختلال در عملکرد میتوکندری شود و بالطبع در بیماریزایی و یا افزایش وخامت سندرم Long QT نقش به سزایی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: سندرم LQT- mtDNA، حذف- PCR چندتایی- آنالیز ساترن بلاتینگ

*نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۳۵۱-۸۱۲۳۱۸۰، پست الکترونیکی: m.khatami@yazduni.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

سندرم Long QT یک اختلال ریپولاریزاسیون وراثتی یا اکتسابی است که توسط الکتروکاردیوگرافی با طویل شدن فاصله QT قابل شناسایی است(۱،۲) و مشخص شده است که عامل اصلی ایست‌های ناگهانی قلب(Sudden Cardiac death:(SCD در افراد جوان و بیمارانی است که از نظر آناتومیکی دارای قلبی سالم هستند(۴،۳). سندرم LQT نتیجه جهش‌هایی در کانال‌های سدیم و پتاسیم سلول‌های قلبی است. این جهش‌ها باعث تغییرات الکتریکی غیرطبیعی قلب می‌شوند(۵). کانال‌های یونی قلب مجموعه‌های پروتئینی در غشای سارکولمای کاردیومیوسیت‌ها هستند که باز و بسته شدن آنها برای ورود و خروج یون‌ها شدیداً تنظیم می‌شود. تا کنون بیشتر تحقیقات بر روی اختلالات ژن‌های هسته‌ای در آریتمی (ژن‌هایی که زیر واحدهای کانال‌های یونی را رمزگذاری می کنند) متمرکز بوده است. اما ۳۰ تا ۴۰ درصد از موارد آریتمی را نمی‌توان با جهش‌های شناسایی شده در این ژن‌ها توضیح داد(۴،۶). فرضیه ارتباط اختلال میتوکندری با آریتمی زمانی قوت یافت که مشخص شد کانال‌های یونی که با تراکم بسیار بالا در غشاء سارکولما وجود دارد، به میزان تولید ATP حساس هستند(۷،۶) بنابراین قلب نیز به انرژی حاصل از اکسیداسیون در میتوکندری وابسته است و به همین دلیل هر سلول قلبی دارای هزاران میتوکندری و mtDNA است(۸،۹). به این ترتیب جهش‌های mtDNA (بازآرایی‌ها و جهش‌های نقطه‌ای) ممکن است در سندرم LQT به عنوان یک فاکتور خطر مهم به شمار آید. گرچه مکانیسم دقیقی که جهش‌های DNA میتوکندریایی مستقیماً در بروز بیماری نقش داشته باشند، هنوز مشخص نشده است(۱۰) اما واضح است که هر جهشی در mtDNA ممکن است بر متابولیسم اکسیداتیو انرژی اثر داشته باشد و باعث کاهش تولید ATP شود(۱۱). در ارتباط با حساس بودن بافت قلب به اختلالات میتوکندری و نیاز شدید این بافت به فعالیت و تولیدات زنجیره تنفسی میتوکندری، در سال ۱۹۹۷، Takeda، در ارتباط با بیماری کاردیومیوپاتی موفق به گزارش یک حذف بزرگ ۷/۴ kb در ژنوم میتوکندری بیماران شد و نتیجه گرفت که جهش‌های ژنوم میتوکندری باعث اختلال در عملکرد آنزیم‌های زنجیره تنفسی و در نتیجه کاهش تولید انرژی شده که این امر در بروز بیماری های قلبی نظیر کاردیومیوپاتی، آریتمی و سکته قلبی دخالت دارد(۱۲). همچنین در سال ۲۰۰۴، Samuels و همکاران در دانشگاه ویرژینیا، موفق به اثبات وجود توالی‌های تکراری در طرفین نواحی حذف در ژنوم میتوکندری شدند. آنها با مطالعه ۱۰۰ نوع حذف mtDNA در بیماران میتوکندریایی دریافتند که حدوداً ۶۰٪ از موارد حذف، توسط دو توالی تکراری کوتاه و همولوگوس احاطه شده که غالبا طی فرآیند حذف ژنومی، یکی از این توالی‌ها، هم حذف می‌شود. اما این محققین، ارتباطی را بین توزیع توالی‌های تکراری و پراکندگی حذف‌های mtDNA نیافتند. آنها به این نتیجه رسیدند که وجود این توالی‌های تکراری در دو طرف ناحیه شکست حذفی، مکانیسم بروز حذف‌های ژنومی را توضیح می‌دهد که این امر طی فرآیند همانند سازی ژنوم بر اثر خطاهای آنزیم پلی مراز، نوترکیبی همولوگوس، شکست در دو رشته یا مکانیسم های ناکارآمد تعمیر، رخ می‌دهد(۱۳).

هدف از این تحقیق، جستجوی mtDNA برای یافتن جهش‌ها و مطالعه ارتباط بین جهش‌های بازآرایی با سندرم LQT بود. نواحیی از mtDNA در این تحقیق جستجو شد که شامل ژن‌هایی از کمپلکس‌های I،III، IV، V زنجیره تنفسی می‌باشد. چون طی مطالعه قبلی(۱۴)، ۳۵ جهش نقطه‌ای در بیماران در این نواحی(مخصوصاً ژن‌های کمپلکس I) شناسایی شد، بنابراین ما این ناحیه را به عنوان نقطه داغ(Hot spot) در بیماران در نظر گرفتیم.

روش بررسی

بیماران: در این مطالعه که بصورت مقطعی- تحلیلی انجام گرفت، گروه شاهد و بیمار با استفاده از روش نمونه‌گیری آسان انتخاب شدند. ۳۹ بیمار ایرانی (۳۳ بیمار متعلق به ۴ خانواده و ۶ بیمار تک‌گیر) مورد مطالعه قرار گرفتند که دارای علائم سندرم LQT بودند. با توجه به مطالعات مشابه در سایر

Archive of SID

www.SID.ir

بیماری‌های قلبی هیپرتروفی کاردیومیوپاتی در کشورهای دیگر و با توجه به اینکه شیوع این بیماری بسیار نادر است و اطلاع دقیقی از شیوع آن در کشور نسیت. تعداد نمونه با مشورت متخصص آمار، با فرمول زیر تعیین شد:

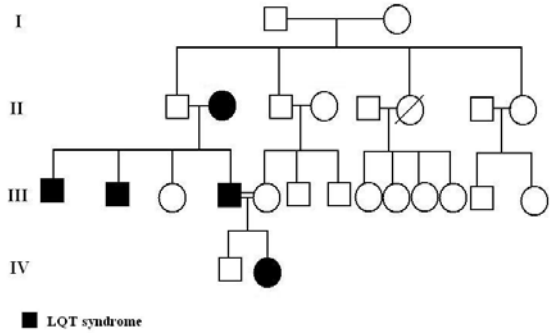
$$N=z^2p(1-p)/d^2$$

حجم نمونه با توجه به توان ۸۰٪ و سطح اطمینان ۹۵٪ و با در نظر گرفتن p=٪۴۵ و d = ۰/۲، حداقل ۳۵ نفر در هر گروه(بیمار و شاهد) محاسبه شد. در این مطالعه از تعداد ۲۰۰ بیماری که به پزشک متخصص مراجعه نمودند، ۳۹ بیمار واجد آریتمی قلبی (LQT) بودند که آنالیز ژنتیکی در مورد آنها انجام شد. بیماران از بین افراد مراجعه کننده به کلینیک آریتمی تهران انتخاب شدند. مشخصات بیماران در جدول ۱ نشان داده شده است، به عنوان نمونه، شجره یکی از خانواده های مورد مطالعه در شکل ۱ آورده شده است.

خصوصیت اصلی که در مراحل تشخیص بالینی این بیماران مورد نظر قرار گرفت شامل یافته‌های ECG و QTc طویل بیماران و همچنین دفعات متعدد سنکوپ بود. معیار تشخیص این بیماران شامل موارد زیر بود: الف) افرادی بدون هیچ علائم و با QTc ≥ ۴۱۰ms به عنوان افراد غیر بیمار در نظر گرفته شدند. ب) افراد دارای علائم و با QTc ≤ ۴۵۰ms و افراد بدون علامت با QTc ≤ ۴۷۰ms به عنوان بیمار در نظر گرفته شدند. ج) افراد دارای علامت با QTc ≥ ۴۴۰ ms به علاوه افرادی با QTc بین ۴۱۰ تا ۴۶۰ms در دسته افراد نا معین قرار داده شدند(۴) که در این مطالعه از افراد دسته سوم استفاده نشده است. محدوده سن بیماران بین ۴ تا ۷۱ سال (متوسط۳/۷±۳۳/۶۴) می‌باشد. همچنین ۵۱ فرد شاهد نیز که از نظر سنی و قومیتی با نمونه‌های بیماران ما مطابق بودند، انتخاب شدند(جدول ۱). افراد شاهد مورد مطالعه، هیچ گونه علائمی از آریتمی قلبی(و اختلالات میتوکندریایی) نداشتند و از لحاظ سلامت قلبی به تایید پزشک متخصص مربوطه رسیده بودند.

جدول ۱: خصوصیات بیماران مبتلا به LQT و افراد شاهد

معیار	بیماران	افراد شاهد
تعداد	چهار خانواده (شامل ۳۳ عضو)+ ۶ بیمار تک گیر	۵۱
سن	۴-۷۱ (متوسط ۳/۷ ± ۳۳/۶۴)	۱۰- ۶۸ (۳/۲ ± ۳۶/۲۱)
جنس	۲۲ مونث و ۱۷ مذکر	۲۷ مونث و ۲۴ مذکر
فاصله QTc	بیماران دارای علامت: ≤ ۴۵۰ ms و بیماران بدون علامت: ≤ ۴۷۰ ms	در جنس مونث:<۴۸۰ ms و در مردان<۴۶۰ms
طپش قلب	+	-
علائم اصلی	در خانواده سابقه سنکوب وجود دارد	بدون هیچ سابقه سنکوب در خانواده و بدون سابقه بیماری قلبی



شکل ۱: شجره مربوط به خانواده ای مبتلا سندرم LQT است. در این خانواده ۳ برادر دچار سنکوپ شدند که در هر سه مورد پس از ورزش و دویدن اتفاق افتاده است. دختر یکی از این برادران از نظر علایم QTc بیمار شناخته شده و در معرض خطر سنکوپ می باشد.

استخراج DNA و PCR چند تایی(Multiplex PCR): DNAی کل از خون محیطی با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت QIAGEN) استخراج شد و با روش اسپکتروفتومتری مقدار آن تعیین گردید. جهت مطالعه حذف در ژنوم میتوکندری، از روش Multiplex PCR استفاده شد. ناحیه مستعد به حذف بین نوکلئوتیدهای ۵۴۶۱ از زنجیره سبک و ۱۶۱۵۰ از رشته سنگین طی ۴ واکنش PCR مجزا و با استفاده از مخلوطی از ۶ پرایمر در تمام بیماران و افراد شاهد مورد جستجو قرار گرفت (جدول ۲). جفت پرایمر F5461 و

Archive of SID
www.SID.ir

R5740 به عنوان کنترل داخلی(bp279) جهت صحت انجام PCR در تمام ۴ واکنش مورد استفاده قرار گرفت و در هر واکنش PCR علاوه بر پرایمرهای کنترل داخلی، دو تا از هر پرایمر جدول ۲ نیز مورد استفاده قرار گرفت. فاصله بین پرایمرهای طراحی شده به قدری زیاد است که اجازه تکثیر در حالت عادی داده نمی‌شود مگر ناحیه ای بین آنها حذف شود. PCR چندتایی با شرایط زیر انجام شد: در واکنش۵۰ µl حاوی ۲/۵ mM Mgcl2، ۲۰۰µM از هر dNTP، ۱۰ pmol از هر پرایمر، ۱۰۰ ng از DNA استخراج شده و ۱U از SrmatTaq پلی‌مراز می‌باشد. واکنش PCR برای ۳۵ چرخه شامل ۹۴ºC به مدت ۱ دقیقه، ۵۵ºC به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ºC به مدت ۳۵ ثانیه انجام گرفت. بعد از واکنش، یک چهارم حجم نهایی محصول تکثیر یافته روی ژل آگاروز ۱/۵٪ برده شد. برای شناسایی دقیق نقاط حذف، قطعات حاصل از تکثیر برای تعیین توالی به شرکت ماکروژن کره فرستاده شد. در نهایت توالی بدست آمده با بانک اطلاعاتی میتوکندری (Mitomap database)(۱۵) مقایسه گردید.

آنالیز ساترن بلاتینگ: حدود ۱۰µg از DNA کل سلول با آنزیم آندونوکلئاز PvuII هضم گردید تا mtDNA خطی شود. آنالیز الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ۰/۷٪ انجام شد و سپس نمونه‌ها به غشاء نایلون انتقال یافت. پروب نیز از قطعه تکثیر یافته ۱۳۴۱bp از ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری تهیه گردید. برای آشکارسازی از کیت DIG DNA labeling شرکت Roche استفاده شد.

آنالیز آماری: روش آماری فیشر (Fisher's exact) برای تعیین ارتباط بین دو گروه شاهد و بیمار مورد استفاده قرار گرفت و معیار$P<0/05$ نیز به عنوان اهمیت آماری بکار برده شد. محاسبات نیز با استفاده از نرم افزار GraphPad انجام گردید.

جدول ۲: توالی پرایمرهای استفاده شده در PCR چندتایی

پرایمر	جایگاه	توالی ('3-'5)
F 5461	5461-5480	CCCTTACCACGCTACTCCTA
R 5740	5740-5721	GGCGGGAGAAGTAGATTGAA
F 8161	8161-8180	CTACGGTCAATGCTCTGAAA
R 13640	13640-13621	GGTTGACCTGTTAGGGTGAG
R 15000	15000-14981	TTGGCGTGAAGGTAGCGGAT
R 16150	16150-16131	GTGGTCAAGTATTTATGGTA

نتایج

چهار خانواده(۳۳ عضو) و ۶ بیمار تک گیر سندرم LQT با ۵۱ شاهد برای شناسایی حذف‌ها مورد تحقیق قرار گرفتند. آنالیزهای PCR چندتایی و ساترن بلاتینگ وجود یک حذف بزرگ(حدود ۸/۷ kb) را در ۳۰ بیمار(۷۶/۳٪) نشان داد. این حذف در ناحیه ای بین نوکلئوتیدهای ۵۴۶۱ تا ۱۵۰۰۰ (جفت پرایمرهای F5461 و R15000) در بیماران و همچنین ۱۱ نفر شاهد شناسایی شد(شکل ۲). بنابراین نتایج ما نشان می‌دهد که این حذف در نمونه‌های بیمار نسبت به افراد شاهد از نظر آماری دارای اهمیت است($P<0/001$).

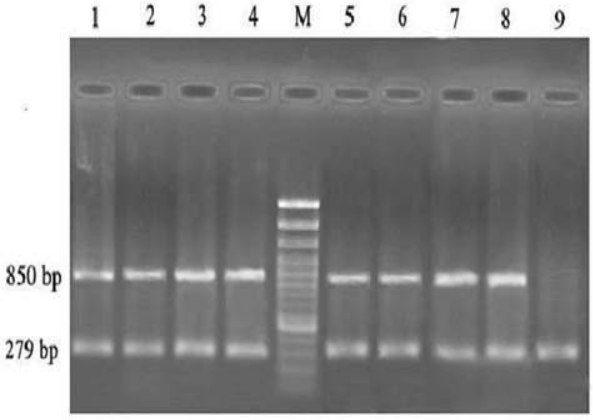
این حذف شامل ۸۶۶۶ bp از mtDNA می‌باشد و سبب از دست رفتن ژن‌ها ساختاری از جمله COX I, II, III، ATPase 6/8، ND3، ND4L، ND5 و ND6 و سیزده ژن tRNA می‌شود(شکل ۳). همچنین هشت بیمار(۲۰/۵٪) دارای حذف‌های چندگانه در ناحیه‌ای بین ۵۴۶۱ و نوکلئوتید ۱۶۱۵۰ (پرایمرهای F5461 و R16150) بودند. تعداد و شدت این حذف‌ها بین افراد دارای سن بالای ۴۵ سال متفاوت است و بعلت آنکه این حذف‌ها در ۱۰ فرد شاهد مسن نیز دیده شد($P<0/675$)، تصور می‌شود که این حذف‌ها نتیجه تاثیر سن

Archive of SID
www.SID.ir

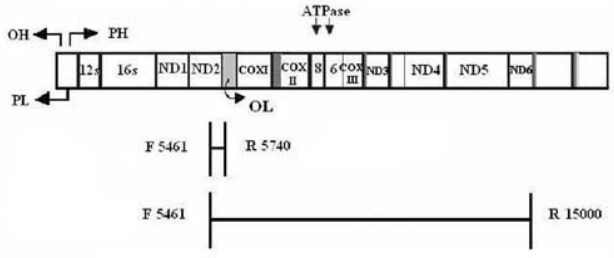
بر باز آرایی ژنوم میتوکندری باشد(شکل ۴). در این مطالعه، ارتباط آشکاری بین حذف mtDNA در افراد بالغ و شدت بیماری مشاهده نشد. همچنین نتایج ما نشان می دهد که شدت این حذف بزرگ در بین بیماران مطالعه متفاوت است و این موضوع به علت تنوع هتروپلاسمی باز آرایی‌های ژنوم میتوکندری است.

آنالیز ساترن بلاتینگ بر روی نمونه های mtDNA در ده شاهد، پانزده بیمار جوان و شش بیمار مسن برای تایید روش PCR انجام گرفت (شکل ۵). در افراد کنترل هیچ حذفی مشاهده نشد. در بیماران جوان (بین ۴ تا ۴۵ سال) حذف ۸/۷kb ~ در نتایج ساترن بلات مشاهده شد(شکل ۴- ردیف های ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷) ولی در بیماران مسن (بین ۴۵ تا ۷۱ سال)، به علت وجود حذف های کوچک در ژنوم mtDNA، اسمیر دیده شد.

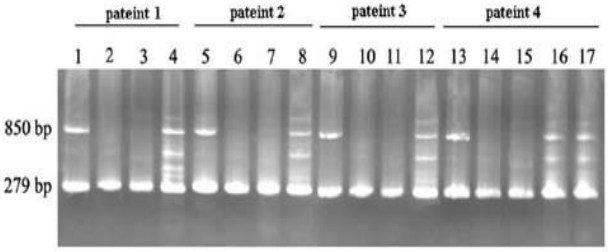
با استفاده از دانسیتومتر شرکت BioRad نتایج ساترن بلاتینگ مورد ارزیابی قرار گرفت و درصد هتروپلاسمی در لنفوسیت‌های بیماران بین ۲۰٪ تا ۵۵٪ تعیین گردید سپس با استفاده از PCR و تعیین توالی، وجود یک توالی تکراری کوتاه در دو طرف ناحیه حذف شده اثبات شد. این توالی تکراری شامل ۹bp تکرار مستقیم(TACTCCTA) در ناحیه ۵۴۸۱-۵۴۷۴ و ۱۴۱۴۰-۱۴۱۳۳ می‌باشد.



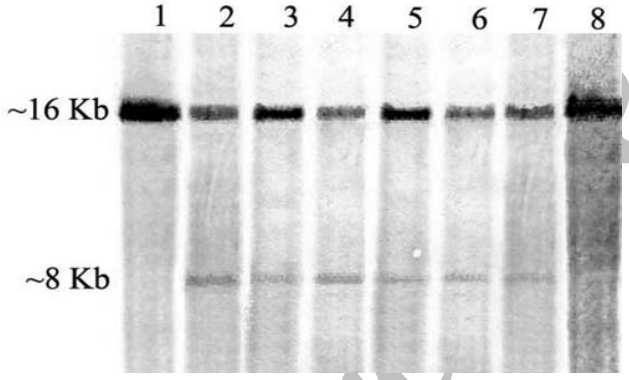
شکل ۲: ژل الکتروفورز آگاروز حذف‌های mtDNA در بیماران LQT توسط PCR چندتایی. باند ۸۵۰bp باقیمانده قطعه‌ای از mtDNA است حذف شده و توسط PCR تکثیر شده است. باند ۲۰۰ bp نیز بعنوان کنترل داخلی جهت صحت واکنش PCR استفاده شد. ردیف ۹ بعنوان کنترل منفی می‌باشد و M نشاندهنده مارکر ۱۰۰ bp است.



شکل ۳: نقشه ژنی mtDNA و ناحیه‌ای که حذف در آن صورت گرفته است و ژن‌های درگیر را نشان می دهد.



شکل ۴) PCR چندتایی برای ۴ فرد بیمار مسن. ردیف‌های ۱، ۵، ۹ و ۱۳ حذف kb ۸/۷ ~ را نشان می‌دهند و ردیف‌های ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۱۷ نشاندهنده حذف‌های چندتایی کوچک است.



شکل ۵: آنالیز ساترن بلاتینگ حذف‌های mtDNA . ردیف ۱ فرد شاهد (بدون حذف) است و ردیف‌های ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ حذف در بیماران جوان و ردیف ۸ حذف‌های کوچک در بیماران مسن را نشان می‌دهد.

بحث

با توجه به اینکه روش شناسایی سندرم LQT بر اساس ECG است و نشانگرهای ECG همیشه واقعی نیست و با عواملی مانند جنس، سن، داروهای تجویز شده، اختلالات الکترولیتی و دیگر بیماری‌ها متغییر است. بنابراین ژنتیک مولکولی دارای نقش مکملی برای تشخیص بیماری محسوب می‌شود. چون انرژی ماهیچه‌های قلبی از تنفس هوازی در میتوکندری‌ها تامین می‌شود(۱۶)، ما ناحیه مستعد به حذف را در ژنوم

Archive of SID

www.SID.ir

میتوکندری مورد بررسی قرار دادیم تا ارتباطی را بین این سندرم و بازآرایی‌ها و بالطبع اثر آن بر تولید ATP در کاردیومیوسیت‌ها بیابیم. در سالهای اخیر، حذف‌های بزرگ در DNA میتوکندریایی بیماران مبتلا به کاردیومیوپاتی گزارش شده است (۱۷،۱۸). ولی تعداد کمی از مطالعات وجود حذف‌های mtDNA را در بافت قلبی افراد مبتلا به بیماری کرونری قلبی گزارش کرده‌اند(۱۹،۲۰).

این مطالعه اولین تحقیقی است که وجود حذفی در حدود ۸/۷ kb در ژنوم میتوکندری ۵۲/۲٪ افراد مبتلا به سندرم LQT گزارش می کند. آنالیز آماری نشان می دهد که این حذف در افراد مبتلا به سندرم LQT نسبت به افراد شاهد از نظر آماری دارای اهمیت می باشد(P<۰/۰۰۱). گرچه حذف‌های mtDNA معمولا در سلول‌های ماهیچه مشاهده می شود و مقدرار آنها در سلول‌های خونی بسیار کم است و به راحتی توسط PCR شناسایی نمی شوند ولی ما این حذف بزرگ را به وضوح در سلولهای لنفوسیتی خون بیماران مشاهده کردیم. مکانیسم‌های مولکولی دقیق ایجاد این حذف‌ها ناشناخته است، از جمله مکانیسم‌های پیشنهاد شده برای ایجاد این حذف‌ها شامل جفت شدن اشتباه(۲۱)، نوترکیبی نابجا(۲۲)، واکنش‌های اکسیداتیو توسط رادیکال‌های آزاد(۲۳) و شکست رشته DNA توسط توپوایزومرازها یا DNA ریکامبینازها و نوترکیبی همولوگوس بین دو توالی تکراری در دو طرف ناحیه حذف شده است(۲۳). جهش‌های DNA پلیمراز و هلیکاز میتوکندریایی نیز ممکن است در حین همانندسازی mtDNA باعث این حذف‌ها شود (۱۳). مشاهدات ما وجود توالی‌های تکراری مستقیم را در دو نقطه شکست و حذف قطعه میانی آشکار می کند. شکی نیست که این حذف باعث از دست رفتن توالی رمز کننده بسیاری از پروتئین‌هایی می شود که برای زنجیره تنفسی ضروری است. حذف ۸/۷ kb ~ از ژنوم میتوکندری باعث از دست رفتن ژن‌های ساختاری از جمله زیر واحد های I، II و III از سیتوکروم C اکسیداز، ATP سنتتاز ۶ و ۸، NADH دهیدروژناز زیر واحدهای ۳، ۴، L ۴، ۵ و ۶ و سیزده tRNA می‌شود که مسلما بر فعالیت فسفریلاسیون اکسیداتیو و تولید ATP در میتوکندری اثر خواهد داشت. برای ارزیابی حذف‌های mtDNA، آنالیز ساترن بلاتینگ نیز برای بیماران جوان و مسن و همچنین افراد شاهد انجام شد که تایید کننده حذف‌ها بود. ایجاد اسمیر در آنالیز ساترن بلاتینگ در افراد مسن ممکن است نتیجه حذف‌های تصادفی باشد. مطالعات نشان می دهد که وجود رادیکال‌های آزاد به مدت زیاد در میتوکندری باعث تشکیل ROS (گونه‌های اکسیژن واکنش زا Reactive Oxygen Species (ROS) می‌شود و در نتیجه باعث القای جهش‌های mtDNA و آپوپتوز می‌شود(۲۴). وجود این جهش‌ها ممکن است باعث نقص در فعالیت زنجیره‌های تنفسی میتوکندری و در نتیجه کاهش تولید ATP شود و کاهش تولید انرژی نیز باعث ناهماهنگی در ریتم ضربانی کاردیومیوسیت‌ها، تغییر در فاصله QT و اختلالات آریتمی گردد.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه یزد انجام گرفته است و مراتب امتنان خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه اعلام می‌داریم. از آقای دکتر محمود افتخار زاده فوق تخصص آریتمی قلبی از مرکز آریتمی تهران که بیماران را جهت این مطالعه ارجاع داده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود. از تمام بیماران رضایت‌نامه جهت این مطالعه دریافت شده است که بدین وسیله از آنها نیز به علت همکاریشان قدردانی می‌گردد.

منابع:

1- Towbin JA. ***Molecular genetic basis of sudden cardiac death.*** Card Pathol 2001;10(6):283-95.

2- Wilde AM, Bezzina C. ***Genetics of cardiac arrhythmias***. Heart 2005;91(10):1352-8.

3- Antzelevitch C. ***Heterogeneity and cardiac arrhythmias: an overview.*** Heart Rhythm 2007;4(7):964-72.

Archive of SID
www.SID.ir

4- Vincent GM. ***The long QT syndrome.*** Indian Pacing Electrophysiol J 2002;2:127-47.

5- Mohler PJ, Splawsk I, Napolitano C, Bottelli G, Sharpe L, Timothy K, et al. ***A cardiac arrhythmia syndrome caused by loss of ankyrin-B function.*** Proc Natl Acad Sci USA 2004;101(24): 9137-42.

6- Priori SG. ***Inherited arrhythmogenic diseases, the complexity beyond monogenic disorders.*** Circ Res 2004;94(2):140-145.

7- Das B, Sarkar C. ***Cardiomyocyte mitochondrial KATP channels participate in the antiarrhythmic and antiinfarct effects of KATP activators during ischemia and reperfusion in an intact anesthetized rabbit model.*** Pol J Pharmcol 2003;55(5):771-86.

8- Mohamed SA, Hanke T, Erasmi AW, Bechtel MJF, Scharfschwerdt M, Meissner C, et al. ***Mitochondrial DNA deletions and the aging heart.*** Expri Gerontol 2006;41:508-17.

9- Bindoff L. ***Mitochondria and the heart.*** Eur Heart J 2003; 24(3):221-4.

10- Houshmand M, Mahmoudi T, Shafa Shariat Panahi M, Seyedena Y, Saber S, Ataei M. ***Identification of a new human mtDNA polymorphism (A14290) in the NADH dehydrogenase subunit 6 gene.*** Brazil J Med Biol Res 2006;39(6):725-30.

11- Opdal SH, Vege A, Egeland T, Musse MA, Rognum TO. ***Possible role of mtDNA mutations in sudden infant death.*** Pediatr Neurol 2002;27(1):23-29.

12- Takeda N. ***Cardiomyopathies and mitochondrial DNA mutations.*** Mol Cell Biochem 1997;176:287-90.

13- Samuels DC, Schon EA, Chinnery PF. ***Two direct repeats cause most human mtDNA deletions.*** Trends Genet 2004;20:393-8.

14- Khatami M, Houshmand M, Sadeghizadeh M, Eftekharzadeh M, Heidari MM, Saber S, et al. ***Accumulation of mitochondrial genome variations in persian lqts patients: a possible risk factor?.*** Cardiovasc Pathol 2009;19(2):E21–E27.

15- ***MITOMAP***: ***a human mitochondrial genome database.*** 2009 [cited 2009 May 23]. Available from: http://www.mitomap.org/.

16- Casademont J, Miro O. ***Electron transport chain defects in heart failure.*** Heart Fail Rev 2002;7(2):131-9.

17- Ozawa T, Tanaka M, Sugiyama S, Hattori K, Ito T, Ohno K, et al. ***Multiple mitochondrial DNA deletions exist in cardiomyocytes of patients with hypertrophic or dilated cardiomyopathy.*** Biochem Biophys Res Commun 1990;170(2):830-6.

18- Kim UK, Kim HS, Oh BH, Lee MM, Kim SH, Chae JJ, et al. ***Analysis of mitochondrial DNA deletions in four chambers of failing human heart: hemodynamic stress, age, and disease are important factors***. Basic Res Cardiol 2000;95(2):163-71.

19- Corral-Debrinski M, Shoffner JM, Lott M.T, Wallace DC. ***Association of mitochondrial DNA damage with aging and coronary atherosclerotic heart disease***. Mutat Res 1992;275(3-6):169-80.

Archive of SID

www.SID.ir

20- Bogliolo M, Izzotti A, De Flora S, Carli C, Abbondandolo A, Degan P. ***Detection of the '4977 bp' mitochondrial DNA deletion in human atherosclerotic lesions.*** Mutagenesis 1999;14(1):77-82.

21- Shoffner J, Lott A, Voljaves A, Soueidan S, Castigan DA, Wallace DC. ***Spontaneous Kearns-Sayre/chronic progressive external ophthalmoplegia plus syndrome associated with a mitochondrial DNA deletion: a slip-replication model and metabolic therapy.*** Proc Natl Acad Sci 1989;86(20):7952-6.

22- Mita S, Rizzuto R, Moraes CT. ***Recombination via flanking direct repeats is a major cause of large-scale deletions of human mitochondrial DNA.*** Nucl Acids Res 1990;18(3):561-7.

23- Poulton J, Deadman ME, Bindoff L, Morten K, Land J, Brown G. ***Families of mtDNA rearrangement can be detected in patients with mtDNA deletions: duplications may be a transient intermediate form.*** Hum Mol Genet 1993;2(1):23-30.

24- Mohamed SA, Hanke T, Erasmi AW, Bechtel MJ, Scharfschwerdt M, Meissner C, et al. ***Mitochondrial DNA deletions and the aging heart.*** Exp Gerontol 2006;41(5):508-17.

Archive of SID

www.SID.ir

Identification of a Large-scale Mitochondrial DNA Deletion in Iranian Heart Arrhythmia Patients(LQT Syndrome)

***M. Khatami(PhD)*[*1], *M. Heidari(PhD)*[2]**

[1,2]*Department of Biology, Science School, Yazd University, Yazd, Iran.*

Received: *24 Aug 2009* ***Accepted:*** *30 Sep 2010*

Abstract

Introduction: Long QT Syndrome is one of the arrhythmic disorders of the heart that causes sudden cardiac death in patients. Most of the investigations have focused on nuclear genome for finding genetic defects in these disorders, but some of the cases with LQTS cannot be explained by mutations of identified genes.It prompted the authors to focus on the mitochondrial DNA and monitor rearrangements which are probably the cause of respiratory chain defects and reduced ATP generation.

Methods: The region of the mitochondrial DNA(from 5461 to 15000 nt) was screened by PCR amplification and southern blot followed by DNA sequence analysis.

Results: For the first time, a large scale deletion(~8.7 kb) was identified in 30 of the39 patients (76.3%) using Multiplex PCR and Southern blot analysis and demonstrated that this deletion is flanked by 9bp direct repeat. The results also showed that this deletion in patient samples was higher than normal controls($P<0.001$). Of the total,8 aged subjects(> 45 years old) had multiple deletions in the region between 5461 and 16150 that may be an age effect on the occurrence of rearrangements on mitochondrial genome.

Conclusion: Since heart is highly dependent on oxidative energy generated in mitochondria, such a large scale deletion may be the link between these diseases and dysfunctions of mitochondria.

Keywords: Long QT Syndrome; Sequence Deletion; Polymerase Chain Reaction; Blotting Southern

Corresponding author: Tel: +98 351 8123180, Email: M.khatami@yazduni.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir