Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 22, No. 1, Mar-Apr 2014
Pages: 981-988

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۲، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۳
صفحه: ۹۸۸-۹۸۱

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 14:09 IRST on Saturday September 23rd 2017

تغییرات نوکلئوتیدی ژن‌های CoxII، سیتوکروم b و $tRNA^{Glu}$ میتوکندریایی در بیماران ایرانی مبتلا به سندرم بروگادا (آریتمی قلبی)

مهری خاتمی*[۱]، زهرا قانعی یخدان[۲]

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران
۲- کارشناس ارشد ژنتیک، دانشگاه یزد، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۳

چکیده

مقدمه: سندرم بروگادا یکی از دلایل ژنتیکی مرگ‌های ناگهانی قلبی در نتیجه فیبریله شدن بطن است. در سطح مولکولی جهش‌هایی که در ژن SCN5A کدکننده زیر واحد آلفای کانال سدیم سلول‌های قلب رخ می‌دهند، باعث بروز علایم سندرم بروگادا می‌شوند. هرگونه اختلال در زنجیره‌های تنفسی میتوکندری باعث نقص در عملکرد کانال‌های قلب می‌شود، هدف مطالعه حاضر بررسی جهش‌های بخشی از ژنوم میتوکندری شامل ژن‌های CoxII، سیتوکروم b و $tRNA^{Glu}$ در بیماران است.

روش بررسی: در این تحقیق، از یک خانواده مبتلا با ۵ عضو و ۱۵ بیمار تک‌گیر مبتلا به سندرم بروگادا نمونه خون گرفته شد و برای غربالگری جهش‌های mtDNA، ژن‌های میتوکندریایی CoxII، سیتوکروم B و $tRNA^{Glu}$ با استفاده از آنالیزهای PCR-SSCP بررسی گردید و برای تشخیص جایگاه دقیق جهش‌های احتمالی، نمونه بیمارانی که الگوی باندی متفاوت داشتند، تعیین توالی شدند.

نتایج: در خانواده مورد مطالعه، یک جهش جدید و هموپلاسمی (T8258C) در ژن CoxII بیماران یافت شد که این جهش جدید باعث تغییر اسید آمینه فنیل آلانین به لوسین در دومین قلمرو (Domain) این پروتئین می‌شود. در بیماران غیرخویشاوند نیز ۳ جهش را یافت شد که شامل یک جهش هموپلاسمی و حفاظت شده در ژن tRNA اسید گلوتامیک (T14687C)، یک جهش جدید هتروپلاسمی در سیتوکروم b (G14838A) و یک جابجایی هموپلاسمی C14766T می‌باشد.

نتیجه‌گیری: چون جهش‌های گزارش شده فقط در بیماران مشاهده شدند، می‌توان این جهش‌ها را به عنوان کاندید و عامل خطری مهم در بیماری‌زایی این سندرم معرفی کرد که احتمالاً در سنتز ATP میتوکندری سلول‌های قلبی اختلال ایجاد می‌کنند و در بروز حالات وخیم بیماری نقش دارند.

واژه‌های کلیدی: سندرم بروگادا، جهش‌های ژنوم میتوکندری، ژن CoxII، ژن سیتوکروم b و $tRNA^{Glu}$، آریتمی قلب

*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۳۵۱-۸۱۲۳۰۱۳، پست الکترونیکی: m.khatami@yazd.ac.ir

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 14:09 IRST on Saturday September 23rd 2017

مقدمه

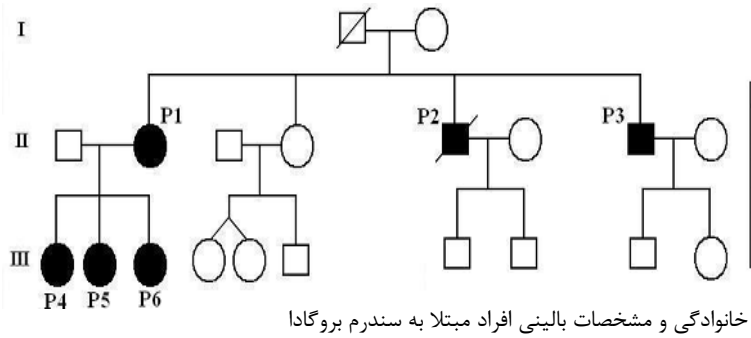
سندرم بروگادا یا سندرم مرگ ناگهانی شبانه، در ژاپن و کشورهای آسیای شرقی از شیوع بالایی برخوردار است. قربانیان این سندرم غالباً مردان جوانی هستند که از نظر ظاهری کاملاً سالم هستند و مرگ آنها بیشتر در نیمه‌های شب در طی خواب رخ می‌دهد. این سندرم مسئول ۴٪ همه مرگ‌های ناگهانی قلبی (SCD) و بیش از ۱۲٪ مرگ‌های ناگهانی در بیمارانی است که قلب‌های سالم دارند(۱). اولین تظاهرات الکتروکاردیوگرام آنها بلند شدن قطعه ST است که منجر به تاکی کاردیای دهلیزی و سنکوپ قلبی می‌شود. در اکوکاریوگرام این بیماران علاوه بر بلند شدن قطعه ST، طولانی شدن فاصله QT هم دیده می‌شود. با این وجود در برخی از بیماران الگوی اکوکاردیوگرام هم در تشخیص بیماری ناتوان است(۲). توارث این سندرم ژنتیکی به صورت اتوزومال غالب است که میزان وخامت آن در افراد یک خانواده متفاوت است(۳). شیوع این سندرم ۵-۱ در هر ۱۰۰۰۰ نفر مخصوصاً در جنوب آسیا است(۴،۵). ارتباط واضح و آشکاری بین اختلالات کانال‌های سدیم قلب و سندرم بروگادا به اثبات رسیده است. ژن مهم درگیر در این بیماری، SCN5A است که کدکننده زیرواحد آلفای کانال سدیم کاردیومیوسیت‌ها است که نقش مهمی در ایجاد پتانسیل عمل سلول‌های قلب دارد، به گونه‌ای که جهش‌های مشخص شده در این ژن باعث کاهش عملکرد کانال-های سدیم می‌شود(۶،۷). کانال‌های یونی قلب که حساس به سطح ATP هستند، در سارکولمای کاردیومیوسیت‌ها واقع هستند و به یون‌های خاصی اجازه می‌دهند بر اساس شیب الکتروشیمیایی از غشاء عبور کنند و به این ترتیب باعث تنظیم عملکرد سلول می‌شوند(۸). تاکنون جهش‌های شناسایی شده در ژن SCN5A، تنها ۲۰ تا ۳۵٪ از موارد بیماری را توجیه می‌کند و دیگر عوامل دخیل در بروز سندرم ناشناخته مانده‌اند(۱۱-۹). از این رو، یکی از احتمالات، دخیل بودن جهش‌های ژنوم میتوکندری و اختلالات زنجیره تنفسی است. قلب اندامی است که شدیداً به انرژی اکسیداتیو تولید شده در میتوکندری وابسته است(۱۲،۱۳). با افزایش سن ممکن است، بروز آسیب‌های سوماتیک در DNA هسته‌ای و میتوکندری سلول‌های عضله قلب، موجب افزایش خطر بروز بیماری‌های کاردیووسکولار شود. به طور کلی، درگیری بافت قلب در بیماری‌های میتوکندریایی بسیار شایع است ولی بیماری‌های اختصاصی قلب نسبتا نادرند و معمولاً در سنین پایین‌تر بروز می‌کنند و در اکثر موارد منجر به مرگ بیمار می‌شوند(۷،۸). مشخص شده است که جهش‌های mtDNA بیماری در اختلالات قلبی عموماً در نوکلئوتیدهایی واقع هستند که از نظر تکاملی شدیداً حفاظت شده‌اند(۱۴). در کاردیومیوپاتی ژن‌هایی نظیر CoxII و سیتوکروم b به عنوان نقاط داغ جهش شناسایی شده-اند(۱۵،۱۶). از این رو هدف از تحقیق حاضر نیز بررسی جهش‌های mtDNA و تجمع آنها در بیماران مبتلا به سندرم بروگادا است که می‌تواند به عنوان یک عامل خطر مهم در بروز حالات وخیم‌تر بیماری در نتیجه کاهش تولید ATP مطرح شود.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مورد- شاهدی بوده که با نمونه‌های در دسترس انجام گرفته است. در این مطالعه ۲۰ بیمار مبتلا به سندرم بروگادا بررسی شده‌اند که شامل یک خانواده ۵ نفره و ۱۵ بیمار تک‌گیر بودند که از تمام بیماران جهت انجام مطالعه رضایت‌نامه دریافت شد. این بیماران از بین افراد مراجعه‌کننده به کلینیک آریتمی تهران انتخاب شدند. ۲۵ فرد سالم نیز به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. این افراد از نظر سنی و قومیت با نمونه‌های بیماران مطابقت داشتند و کسانی بودند که هیچگونه علامتی از بیماری‌های قلبی و حتی بیماری‌های میتوکندریایی نداشتند. شجره خانواده مورد بررسی که شامل مادر، دایی و سه دختر مبتلا بود به همراه مشخصات بالینی آنها در شکل ۱ آمده است. یک عضو از این خانواده در سن ۳۶ سالگی بر اثر سنکوپ فوت کرده بود و اعضای دیگر این خانواده با علایم سندرم بروگادا توسط متخصصین آریتمی شناسایی شده بودند. مبنای تشخیص بالینی این سندرم، بر اساس مشاهدات الکتروکاریوگرام و سابقه خانوادگی از سکته قلبی است.

طیف سنی بیماران مورد مطالعه ۱۷ تا ۶۴ سال بود. ۴ بیمار زن و بقیه مرد بودند. ۸ نفر از مردان دارای سابقه سنکوپ بودند که منجر به مرگ آنها نشده بود (جدول ۱).

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 14:09 IRST on Saturday September 23rd 2017



patients	p1	p2	p3	p4	p5	p6
Age (Y)	52	36	37	30	25	17
QTc (msec)	430	543	412	470	434	487
HR	61	72	62	65	73	70
PR interval	200	205	189	193	202	200
palpitation	+	+	+	+	+	+
Syncope	-	SCD	-	-	-	-

شکل۱. شجره خانوادگی و مشخصات بالینی افراد مبتلا به سندرم بروگادا

جدول ۱: مشخصات بیماران مبتلا به سندرم بروگادا و افراد کنترل سالم

معیار	بیماران	افراد کنترل
تعداد	۲۰	۲۵
سن	۶۴-۱۷	۶۰-۲۰
جنس	۴ زن و ۱۶ مرد	۷ زن و ۱۸ مرد
سن بروز سنکوپ	۳۵-۶۴	-

جهت تجزیه و تحلیل مولکولی و PCR-SSCP، استخراج DNA از خون با استفاده از کیت (DNAfast- ژن فناوران) انجام شد. بعد از استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های خون بیماران برای تشخیص جهش‌های نقطه‌ای هتروپلاسمی و هموپلاسمی در ژنوم میتوکندری از روش PCR-SSCP استفاده شد. حساسیت روش SSCP آنقدر بالا است که قادر است جهش‌های هتروپلاسمیک با فراوانی بسیار کم را نیز شناسایی کند(۱۳). در این مطالعه دو قطعه با اندازه‌های bp ۳۰۹ و bp ۲۷۹ جهت PCR انتخاب شدند. با استفاده از نرم‌افزار Gene runner طراحی پرایمر انجام و توسط شرکت تکاپوزیست ساخته شد. سپس محصولات PCR (۵ میکرولیتر) را به طور جداگانه با بافر دناتوره کننده SSCP (۹۵٪ فرمامید، ۱۰mM NaOH، ۰/۲۵٪ برموفنل بلو و ۰/۲۵٪ زایلن سیانول) (۵ میکرولیتر) مخلوط کرده و به مدت ۵ دقیقه در درجه حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بلافاصله پس از آن در یخ قرار داده شد. تمامی مواد مصرفی از شرکت سیگما تهیه شده بود. مقدار ۵ میکرولیتر از محلول حاصل را در ژل اکریل آمید (۸٪) به مدت ۲۰ ساعت الکتروفورز شد و با روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی گردید(۱۷). قطعات DNA افراد بیمار و کنترل به صورت کنار هم تجزیه و تحلیل شدند و هر تفاوتی در الگوی باندینگ بین بیماران و افراد کنترل که نشان‌دهنده جهش‌های هموپلاسمی و یا هتروپلاسمی است(۱۸) جهت تعیین تغییر نوکلئوتیدی برای تعیین توالی با توالی یاب ABI 3700 Capillary ارسال شد.

از آزمون آماری آماری فیشر (Fisher's exact) برای تعیین ارتباط بین دو گروه شاهد و بیمار مورد استفاده قرار گرفت، محاسبات با استفاده از نرم افزار GraphPad انجام گرفت و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۲: توالی و موقعیت پرایمرها

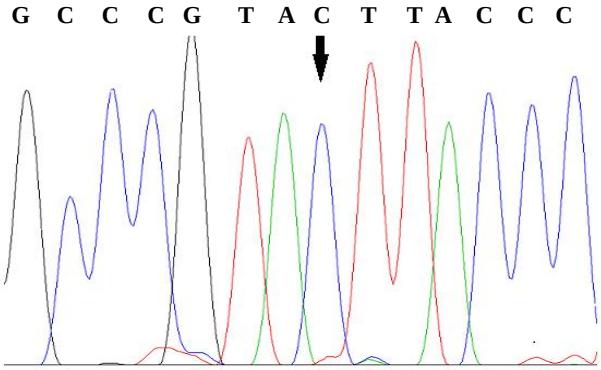
نام قطعه	اندازه (bp)	Tm (°C)	نام و موقعیت پرایمرها	توالی پرایمرها (۵'-۳')
CoxII		60	ONP 25: 8161-8180	F: CTACGGTCAATGCTCTGAAA
	309		ONP 59: 8470-8451	R AAATAGAATGATCAGTACTG
Cytb	279	57	ONP 96: 14561-14580	F:ACCACACCGCTAACAATCAA
			ONP 97: 14840-14821	R:CAACATCTCCGCATGATGAA

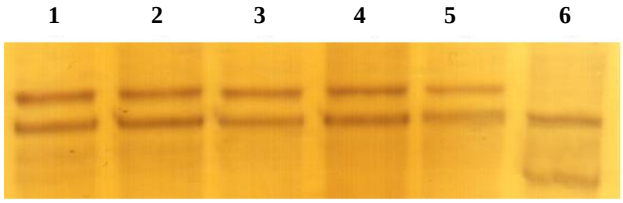
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 14:09 IRST on Saturday September 23rd 2017

نتایج

مطالعه حاضر بر روی ۲۰ بیمار (۴ زن و ۱۶ مرد) مبتلا به سندرم بروگادا انجام شد. با استفاده از روش SSCP و تعیین توالی بخشی از mtDNA بیماران، ۴ جهش نقطه‌ای جدید یافت شد که عبارتند از: جهش هموپلاسمی T8258C در ژن CoxII (Cytochrome coxidase subunit 2) که باعث تبدیل اسید آمینه فنیل‌آلانین به لوسین در بیماران می‌شود (شکل ۲). جهش هموپلاسمی A14687G در ژن tRNA اسید گلوتامیک که در لوپ TψC قرار دارد و قبلاً بیماری‌زایی آن در بیماری میوپاتی میتوکندریایی و نارسایی تنفسی گزارش شده است (شکل ۳)(۱۹).

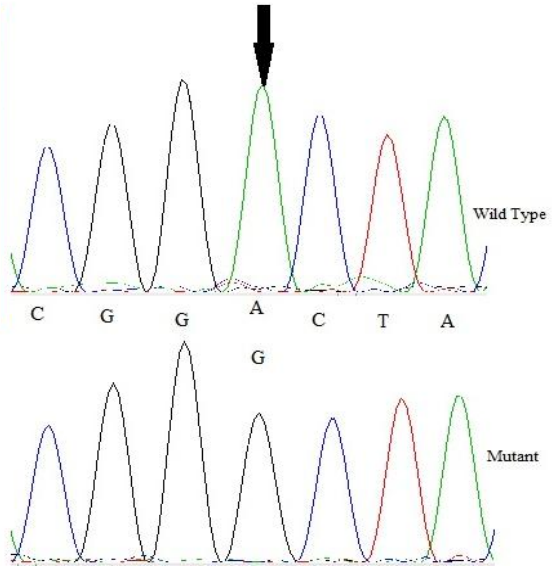
جهش جدید و هتروپلاسمی G14838A در ژن سیتوکروم b که در یک بیمار ۱۷ ساله مشخص شد. این فرد قبلاً دچار سنکوپ نشده است. این جهش از نوع بی‌معنی است و در موقعیت ۳۱ پروتئین اسید آمینه ترپتوفان به کدان ختم تبدیل شده است. این تغییر قبلاً گزارش نشده است و باعث از دست ۳۵۰ اسید آمینه پروتئین می‌شود که شامل ۹۱٪ انتهای C پروتئین است (شکل ۴). جهش هموپلاسمی C14766T که در ۷ بیمار دیده شد و ۵ نفر از آنها دارای سابقه سنکوپ بودند. این جایگزینی باعث تغییر اسید آمینه ترئونین به ایزولوسین در موقعیت ۷ می‌شود.

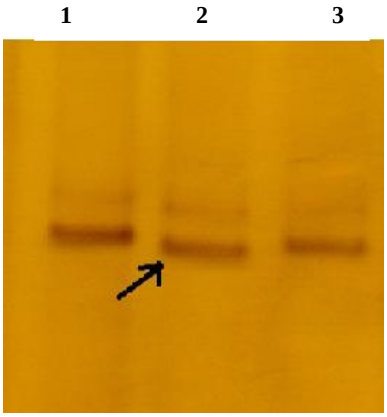




شکل ۲: شناسایی جهش T8258C

ستون ۶: بیمار دارای جهش هموپلاسمی، ستون‌های ۵-۲: بیمارانی که این جهش را ندارند و ستون ۱: فرد کنترل با استفاده از آنالیز SSCP و تعیین توالی

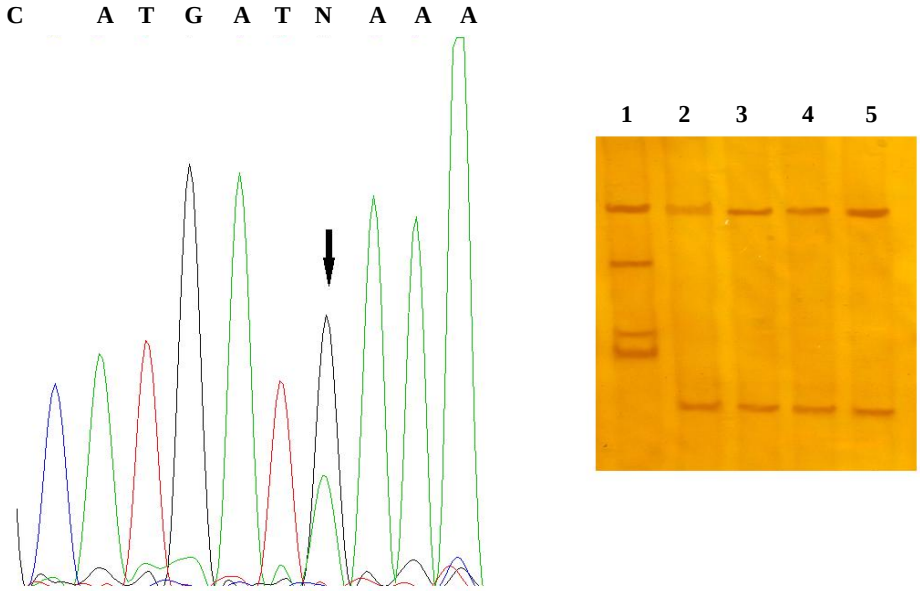




شکل ۳: شناسایی جهش A14687G با استفاده از آنالیز SSCP و تعیین توالی

ستون ۲: بیمار دارای جهش هموپلاسمی، ستون ۳: بیماری که این جهش را ندارد و ستون ۱: فرد کنترل

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 14:09 IRST on Saturday September 23rd 2017



شکل ۴: نتیجه تجزیه SSCP و تعیین توالی جهش G14838A

ستون ۱: بیمار دارای جهش هتروپلاسمی، ستون‌های ۴-۲: بیمارانی که این جهش را ندارند و ستون ۵: فرد کنترل

بحث و نتیجه گیری

قلب از جمله اندام‌هایی است که به انرژی زیادی نیاز دارد. کمبود انرژی در سلول بر روی کانال‌های یونی تاثیر گذاشته و باعث بروز اختلالات قلبی از جمله سندرم بروگادا می‌شود. سیتوکروم C اکسیداز بخشی از زنجیره تنفسی است که باعث احیاء اکسیژن به آب می‌شود. نقص‌های این ژن تاکنون در طیف وسیعی از بیماری‌هایی که از اختلالات میوپاتی تا بیماری‌های چند سیستمی وخیم را شامل می‌شوند، مشاهده شده است(۲۰،۲۱). این ژن پروتئینی را رمزگذاری می‌کند که دارای ۲۲۷ اسید آمینه و ۲ دومین است(۲۲).

با توجه به اهمیت نقش COXII در Assembly کمپلکس IV نیاز است که مطالعات بیشتری در مورد جهش‌ها و تغییرات نوکلئوتیدی در آن انجام شود. با وجود اینکه اهمیت کلینیکی این جهش هنوز ناشناخته است ولی مشاهده آن در بیماران در معرض خطر سنکوپ حائز اهمیت است چون می‌تواند در کاهش تولید ATP در سلول‌های قلب که بسیار به نقص‌های زنجیره تنفسی میتوکندری حساس هستند، مؤثر باشد (۲۳). در این مطالعه، جهش جدید T8258C در تمام ۵ عضو یک خانواده که یک مادر و دایی و ۳ دختر بیمارش را شامل می‌شدند، مشاهده شد که با تغییر اسید آمینه در دومین قلمرو (Domain) پروتئین همراه است. این تغییر به حالت هموپلاسمی و در ناحیه‌ای از ژن دیده شد که از نظر تکاملی، حفاظت شده بود و همین امر اهمیت این جهش را در بیماران بالاتر می‌برد.

جهش A14687G در لوپ tRNA TψC ی اسید گلوتامیک در بین پستانداران از نظر تکاملی حفاظت شده است. از جهتی این لوپ در میانکنش با پروتئین‌ها و ایجاد ساختار سوم صحیح tRNA دخالت دارد. از این رو تأثیر پاتوژنیک این جهش بسیار زیاد است. فرد دارای این جهش دارای سابقه سنکوپ در سن ۴۵ سالگی می‌باشد بنابراین این جهش به همراه شرایط محیطی حساس ممکن است باعث ایجاد سنکوپ در سنین جوانی شود.

سیتوکروم C اکسیدوردوکتاز یا کمپلکس III ساده‌ترین کمپلکس زنجیره تنفسی است که شامل ۱۱ زیر واحد است و فقط سیتوکروم b به وسیله mtDNA رمزگذاری می‌شود. جهش G14838A یک جهش هتروپلاسمی و بی‌معنی است که باعث از دست رفتن بیش از ۹۰٪ پروتئین می‌شود. به احتمال زیاد این حذف باعث کاهش پروتئین‌های هسته و پروتئین آهن سولفات می‌شود. در نتیجه واکنش فسفوریلاسیون اکسیداتیو

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 14:09 IRST on Saturday September 23rd 2017

دچار اختلال شده و ATP تولید شده توسط میتوکندری کاهش می‌یابد. این جهش به دلایل زیر بیماری‌زا است: اولاً، جهش بی‌معنی است و ۹۰٪ پروتئین از دست می‌رود. ثانیاً، جهش به صورت هتروپلاسمیک است. ثالثاً، این جهش در بیماری با سن پایین دیده شده است، در حالی که به طور معمول سندروم بروگادا در سن ۳۵-۴۰ سالگی بروز پیدا می‌کند.

جهش C14766T باعث تغییر اسید آمینه ترئونین به ایزولوسین می‌شود و فاصله شیمیایی (D) محاسبه شده بین ترئونین و ایزولوسین نسبتا زیاد است (D=۸۹)(۲۴). این جهش همچنین مشخصات هیدروپاتی سیتوکروم b را در یک ناحیه آب‌دوست تغییر می‌دهد. جهش C14766T قبلا در بیماری کاردیومیوپاتی گزارش شده است(۱۶). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هیچ کدام از جهش‌های گزارش شده در این مطالعه در افراد کنترل وجود ندارد. بنابراین نمی‌توان از آزمون‌های آماری برای مقایسه دو گروه بیمار و کنترل در این تحقیق استفاده کرد. نکته مهم اینجاست که میزان زیاد جهش‌های mtDNA در بیماران سبب ناپایداری ژنوم میتوکندری این بیماران در مقایسه با افراد سالم می‌شود.

جهش‌های ژنوم میتوکندری ممکن است متابولیسم اکسیداتیو انرژی را تحت تأثیر قرار دهد و بنابراین کمبود ATP را القاء کند. از طرفی ژنوم میتوکندری نسبت به آسیب‌های DNA به علت تولید انواع اکسیژن‌های رادیواکتیو حساس است، چون پروتئین‌های هیستون محافظی برای mtDNA وجود ندارد و همچنین این ژنوم قابلیت ترمیم محدودی دارد. بنابراین جهش‌های mtDNA ممکن است در سندروم بروگادا درگیر باشند و تجمعشان و ناپایداری mtDNA می‌تواند عامل خطری برای این سندروم باشد.

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 افتخارزاده فوق تخصص آریتمی قلبی از مرکز آریتمی تهران که بیماران را جهت این مطالعه ارجاع داده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود. از تمام بیماران نیز به علت همکاریشان قدردانی می‌گردد.

References:

1- Lee LF, Felmlee N. ***Brugada syndrome: unmasking a silent killer.*** Nursing 2010; 40 Suppl: 8-10.

2- Alings M, Wilde A. ***"Brugada" syndrome: clinical data and suggested pathophysiological mechanism.*** Circulation 1999; 99(5): 666-73.

3- Campuzano O ,Beltran-Alvarez P, Iglesias A, Scornik F, Perez G, Brugada R. ***Genetics and cardiac channelopathies.*** Genet Med 2010; 12(5): 260-7.

4- Mizusawa Y, Wilde AA. ***Brugada syndrome.*** Circ Arrhythm Electrophysiol 2012; 5(3): 606-16.

5- Escarcega RO, Jimenez-Hernandez M, Garcia-Carrasco M, Perez-Alva JC, Brugada J. ***The Brugada syndrome.*** Acta Cardiol 2009; 64(6): 795-801.

6- Hong K, Antzelevitch C, Brugada P, Brugada J, Ohe T, Brugada R. ***Brugada syndrome: 12 years of progression.*** Acta Med Okayama 2004; 58(6): 255-61.

7- Boussy T, Sarkozy A, Chierchia GB, Richter S, Brugada P. ***The Brugada syndrome: facts and controversies.*** Herz 2007; 32(3): 192-200.

8- Beckmann BM, Pfeufer A, Kaab S. ***Inherited cardiac arrhythmias: diagnosis, treatment, and prevention*** .Dtsch

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 14:09 IRST on Saturday September 23rd 2017

Arztebl Int 2011; 108(37): 623-33.

9- Priori SG. ***Inherited arrhythmogenic diseases: the complexity beyond monogenic disorders.*** Circ Res 2004; 94(2): 140-5.

10- Raju H, Papadakis M, Govindan M, Bastiaenen R, Chandra N, O'Sullivan A ,et al. ***Low prevalence of risk markers in cases of sudden death due to Brugada syndrome relevance to risk stratification in Brugada syndrome.*** J Am Coll Cardiol 2011; 57(23): 2340-5.

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

12- Matsuoka R, Furutani M, Hayashi J, Isobe K, Akimoto K, Shibata T, et al. ***A mitochondrial DNA mutation cosegregates with the pathophysiological U wave.*** Biochem Biophys Res Commun 1999; 257(1): 228-33.

13- Wong LJ, Liang MH, Kwon H, Park J, Bai RK, Tan DJ. ***Comprehensive scanning of the entire mitochondrial genome for mutations.*** Clin Chem 2002; 48(11): 1901-12.

14- Opdal SH, Rognum TO. ***The sudden infant death syndrome gene: does it exist?*** Pediatrics 2004; 114(4): e506-12.

15- Marin-Garcia J, Hu Y, Ananthakrishnan R, Pierpont ME, Pierpont GL, Goldenthal MJ. ***A point mutation in the cytb gene of cardiac mtDNA associated with complex III deficiency in ischemic cardiomyopathy.*** Biochem Mol Biol Int 1996;40(3): 487-95.

16- Andreu AL, Checcarelli N, Iwata S, Shanske S, DiMauro S. ***A missense mutation in the mitochondrial cytochrome b gene in a revisited case with histiocytoid cardiomyopathy.*** Pediatr Res 2000; 48(3): 311-4.

17- Green MR, Sambrook J. ***Molecular cloning: a laboratory manual.*** 3 th ed: New Yourk: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.

18- Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, et al. ***Sequence and organization of the human mitochondrial genome.*** Nature 1981; 290(5806): 457-65.

19- Tawata M, Hayashi JI, Isobe K, Ohkubo E, Ohtaka M, Chen J, et al. ***A new mitochondrial DNA mutation at 14577 T/C is probably a major pathogenic mutation for maternally inherited type 2 diabetes.*** Diabetes 2000; 49(7): 1269-72.

20- Gustafsson AB, Gottlieb RA. ***Heart mitochondria: gates of life and death.*** Cardiovasc Res 2008; 77(2): 334-43.

21- Osellame LD, Blacker TS, Duchen MR. ***Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function.*** Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2012; 26(6): 711-23.

22- Tuppen HA, Blakely EL, Turnbull DM, Taylor RW. ***Mitochondrial DNA mutations and human disease.*** Biochim Biophys Acta 2010; 1797(2): 113-28.

23- Greaves LC, Taylor RW. ***Mitochondrial DNA mutations in human disease.*** IUBMB Life 2006; 58(3): 143-51.

24- Grantham R. ***Amino acid difference formula to help explain protein evolution.*** Science 1974;185(4154): 862-4.

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 14:09 IRST on Saturday September 23rd 2017

Novel Nucleotide Changes in Mitochondrial COXII, Cytochrome B and $tRNA^{Glu}$ Genes in Patients with Brugada Syndrome

Khatami M(PhD)*[1], Ghanei Yakhdan Z(MSc)[2]

[1]*Department of Biology, Yazd University, Yazd, Iran*

Received: 7 Oct 2013 ***Accepted:*** 23 Jan 2014

Abstract

***Introduction**:* The Brugada syndrome (BrS) belongs to cardiac arrhythmia disorders that is seen on the echocardiogram bands and is a significant cause of sudden death in young adults. At the molecular level, mechanisms that contribute to BrS are mutations in genes that encode for ion channels. It has been reported that the activity of ion channels in cardiomyocytes is sensitive to ATP level. This study aimed to clarify the relationship between variations in mtDNA and the development of BrS.

***Methods**:* single strand conformation polymorphism (SSCP) was used for rapid screening of mtDNA mutations in CoxII, Cytb and $tRNA^{Glu}$ genes in a family with 5 patients and 15 sporadic patients. DNA fragments showing abnormal banding patterns were sequenced for identification of exact mutations.

***Results**:* One new mutation (T8258C) was found in Cox II gene in family members that caused to change phenylalanine amino acid to leucine. In sporadic patients, three different new mutations were also found including a homoplasmic mutation (T14687C) in $tRNA^{Glu}$ gene, a heteroplasmic mutation (G14838A) and a homoplasmic C14766T mutation.

Conclusions: Since the mitochondrion's ATP synthesis is important in heart and this mutation was not identified in control samples, it is possible that these mutations could constitute a predisposing factor that in combination with environmental factors may trigger in patients with BrS.

***Keywords**:* Brugada Syndrome; CoxII Gene; Cytb Gene; Mitochondrial Mutation; PCR-SSCP $tRNA^{Glu}$

This paper should be cited as:
Khatami M, Ghanei Yakhdan Z. ***Novel nucleotide changes in mitochondrial COXII, cytochrome B and $tRNA^{Glu}$ genes in patients with brugada syndrome***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2014; 22(1): 981-88.

****Corresponding author: Tel: +98 351 8123013; Email: m.khatami@Yazd.ac.ir***