

## التغيرات الوراثية للسيتوكروم ب ٤٥٠ أيبوأكسجيناز (CYP2J2, CYP2C9) ، وجين البروستاجلاندين وعلاقتها بخطر مرض التصلب المتعدد

إعداد

أصايل بنت غازي العتيبي

إشراف

د. حنان بنت سعد رده الثقفي

التصلب المتعدد هو مرض عصبي يتميز بإزالة الميالين والالتهاب وفقدان المحور العصبي. إيكوزانويد هي مؤشرات حيوية محددة للالتهاب. يمكن استقلاب حمض الأراكيدونيك الحر إلى إيكوزانويد بواسطة إنزيمات الأكسدة الحلقية، وإنزيمات الأكسدة الشحمية، وإنزيمات السيتوكروم P450. إنزيمات الأكسدة الحلقية هو إنزيم محفز يلعب دوراً رئيسياً في الاستجابة الالتهابية، وهي سمة رئيسية في مرض التصلب العصبي المتعدد، ويمكن أن يكونوا وسطاء فعالين في الفيزيولوجيا المرضية، عن طريق تحويل حمض الأراكيدونيك إلى البروستاجلاندين. يمكن استقلاب حمض الأراكيدونيك عن طريق السيتوكروم P450 إيبوكسيجينازات CYP2J2 و CYP2C9 إلى أحماض إيبوكسي إيكوساترينويك، والتي ثبت أنها تحتوي على مضادات للالتهابات. علاوة على ذلك، تعتبر أحماض إيبوكسي إيكوساترينويك جزيئات إشارات شحمية داخلية مهمة في الدماغ تشارك في تنظيم العديد من جوانب وظائف الجهاز العصبي المركزي. يشير هذا إلى أن التعديلات الجينية في إنزيمات الإيبوكسيجيناز السيتوكروم P450 قد تؤثر على نشاط أحماض إيبوكسي إيكوساترينويك التي تحدد قابلية الإصابة بتطور مرض التصلب العصبي المتعدد. لذلك، نهدف إلى التحقيق في الارتباط المحتمل بين الاختلافات الجينية لـ COX-2 و CYP2J2 و CYP2C9 وخطر الإصابة بمرض التصلب العصبي المتعدد. أجريت الدراسة على ٤٠ مريضاً بالتصلب المتعدد و ٢٠ من الأصحاء. تم إجراء التنميط الجيني عن طريق تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) وتسلسل الخطر. في هذه الدراسة، وجدت في جين COX-2 في إكسون الثالث، طفرة مرادفة (فالين) في الموقع ١٠٢ (rs5277) لدى اثنان من المرضى وواحد من الأصحاء. في جين CYP2J2 في إكسون الثاني، وجدت ثلاثة من تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة، وهي rs11572245 ( $c.373+173C>G$ ) لدى اثنان من المرضى وستة من الأصحاء، rs3738474 ( $c.373+26C>T$ ) لدى مريض واحد وثلاثة من الأصحاء، rs3820538 ( $c.211-125C>T$ ) لدى أربعة من الأصحاء وستة من المرضى. ووجدت أيضاً في إكسون الثاني طفرة مغلطة rs2228113 (أسباراجين 124 سيرين)، وطفرة مرادفة (برولين) في الموقع 112، وتعدد أشكال النوكليوتيدة المفردة rs11572244 في عينات الأصحاء فقط. في إكسون الرابع، وجدت اثنان من تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة، وهما المتغير الجديد C / A في موضع الكروموسوم (١: ٥٩٩١٢٠٧٧) لدى ١١ من المرضى وستة من الأصحاء، و(rs75173289) لدى اثنان من المرضى وواحد من الأصحاء. في جين CYP2C9 في إكسون الرابع، وجدت تعدد أشكال النوكليوتيدة المفردة (rs9332127) CYP2C9-65 لدى واحد من المرضى وثلاثة من الأصحاء. في إكسون السابع، وجدت أليلين CYP2C9\*3، وهما CYP2C9\*11 و CYP2C9\*3 (rs1057910) مغلطة. ووجدت طفرة مغلطة (إيزوليوسين 359 ليوسين) متغايرة الزيغوت لدى خمسة من المرضى ولدى مريض واحد متماثلة الزيغوت، ووجدت الطفرة CYP2C9\*11 (rs28371685) (أرجنين 335 تريبتوفان) متغايرة الزيغوت لدى مريض واحد. كما وجدت طفرة إدخال جديدة في القاعدة C في موضع الكروموسوم (10:94981146) لدى مريض واحد. تعكس نتائجنا أن الاختلافات الجينية في جينات COX-2 و CYP2J2 و CYP2C9 قد تؤثر على خطر التصلب المتعدد.

# **Genetic Variations of Cytochrome P450 Epoxygenase (CYP2J2, CYP2C9), and Prostaglandin Gene in Relation to Multiple Sclerosis Risk**

**by**  
**Asayil Ghazi Alotaibi**

**Supervised by**  
**Dr. Hanan Saad Radah Althagafy**

Multiple sclerosis (MS) is a neurological disease that is characterized by demyelination, inflammation, and loss of axonal. Eicosanoids are specific biomarkers of inflammation. Free arachidonic acid (AA) can be metabolized to eicosanoids by cyclooxygenase (COX-2), lipoxygenases (LOX), and cytochrome P450 enzymes. The COX-2 is an inducible enzyme that plays a major role in the inflammatory response by converting AA to prostaglandins (PGs). AA can be metabolized by cytochrome P450 epoxygenases CYP2C9 and CYP2J2 to epoxyeicosatrienoic acids (EETs), which has been established to have anti-inflammatory properties. Furthermore, EETs are important endogenous brain lipid signaling molecules involved in the regulation of many facets of CNS function. This suggests that genetic alterations of cytochrome P450 epoxygenases might affect the activity of EETs which determine susceptibility to the development of MS. Therefore, we aimed to investigate the possible association between the genetic variations of COX-2, CYP2J2, and CYP2C9 and the risk of MS. The study was conducted on 40 MS patients and 20 controls. Genotyping was performed by polymerase chain reaction (PCR) and sanger sequencing. In this study, a synonymous substitution of Valine at position 102 (rs5277) in COX-2 within exon 3 was detected in 2/40 (5%) patients and 1/20 (5%) controls. In exon 2 of CYP2J2 gene three SNPs were detected, namely rs11572245 (*c.373+173C>G*), rs3738474 (*c.373+26C>T*), and rs3820538 (*c.211-125C>T*). The rs11572245 was detected in 2/40 (5%) patients and 6/20 (30%) controls. The rs3738474 was detected in 1/40 (2.5%) patient and 3/20 (15%) controls. The rs3820538 was detected in 4/40 (10%) patients and 6/20 (30%) controls. One missense substitution (rs2228113, Asn124Ser), synonymous variant (Pro112=), and SNP rs11572244 were detected at exon 2 in control samples only. Two SNPs were detected in exon 4 of the CYP2J2 gene. One of the two SNPs was novel variant *C/A* at chromosome position (1:59912077). This polymorphism was detected in 11/40 (27.5%) patients and 6/20 (30%) controls. The SNP rs75173289 was detected in 2/40 (5%) patients and 1/20 (5%) control. In exon 4 of CYP2C9 gene one SNP CYP2C9C-65 (rs9332127) was detected in 1/40 (2.5%) patient and 3/20 (15%) controls. In exon 7 of CYP2C9 two CYP2C9 alleles, namely CYP2C9\*3 and CYP2C9\*11 were detected. The CYP2C9\*3 (rs1057910) missense substitution of isoleucine to leucine change at codon 359 (Ile359Leu) was detected in 5/40 (12.5%) as heterozygous and 1/40 (2.5%) as homozygous in MS patients. The CYP2C9\*11 allele (rs28371685) missense substitution of arginine to tryptophan substitution at codon 335 (Arg335Trp) was detected in 1/40 (2.5%) as heterozygous in MS patients. A novel mutation with an insertion of C in chromosome position 10:94981146 in exon 7 of CYP2C9 was detected in 1/40 (2.5%) patient. Our results reflect that genetic variations in COX-2, CYP2J2, and CYP2C9 genes may influence MS risk.