

## โครงการ การศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงในนิวเคลียร์ยีนของไมโทคอนเดรียโปรตีนคอมเพล็กซ์ที่ 1 ต่อการเกิดโรคพาร์กินสัน

โดย นายแพทย์ธีรธร พูลเกษ หน่วยงานประสาทวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

โรคพาร์กินสันเป็นโรคที่มีความเสื่อมของสมองพบบ่อยเป็นอันดับสองรองจากโรคอัลไซเมอร์ ปัจจุบันสาเหตุที่แท้จริงที่ทำให้เกิดโรคยังไม่ทราบ อย่างไรก็ตามความผิดปกติในไมโทคอนเดรียในส่วนที่ 1 มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคพาร์กินสัน การศึกษาในยีนในไมโทคอนเดรียไม่พบความผิดปกติ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกศึกษายีนในนิวเคลียสที่เป็นรหัสของไมโทคอนเดรียโปรตีน ส่วนที่ 1 ว่ามีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคพาร์กินสันหรือไม่ นอกจากนี้เรายังศึกษายีนส์อื่นๆ ที่อาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องในการทำให้เกิดโรคพาร์กินสันที่เคยมีรายงานมาในระยะหลัง

**วิธีวิจัย** ผู้วิจัยรวบรวมผู้ป่วยโรคพาร์กินสันจากคลินิกผู้ป่วยนอกจาก 3 สถาบัน ผู้ป่วยทุกรายจะต้องเข้าได้กับหลักการวินิจฉัยของ UK Parkinson's disease criteria ในส่วนของกลุ่มควบคุมจะเลือกผู้ป่วยจากคลินิกผู้สูงอายุ โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่มีอายุมากกว่า 65 ปี และไม่มีอาการแสดงของโรคพาร์กินสัน

DNA ของกลุ่มผู้ป่วย 30 ราย จะนำมา sequence *NDUFV1*, *NDUFS7* และ *NDUFS8* genes เพื่อที่จะหา polymorphisms ในผู้ป่วยไทย หลังจากนั้นจะใช้เทคนิค RFLP ในการตรวจหา polymorphisms เหล่านี้ในผู้ป่วย และกลุ่มควบคุมทั้งหมด ความถี่ของ polymorphisms ที่พบในทั้งสองกลุ่มจะนำมาคำนวณสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ทำการตรวจหาลักษณะของยีนส์ *ApoE*, *parkin*, *N-acetyltransferase* และความผิดปกติของยีนส์ *LRRK2* ในกลุ่มผู้ป่วยโรคพาร์กินสันและกลุ่มควบคุม ข้อมูลที่ได้นำไปคำนวณทางสถิติตามความเหมาะสม

ทำการศึกษายีนส์ใน DNA ของไมโทคอนเดรียในผู้ป่วยที่มีปัญหาซับซ้อนในระบบประสาทที่สงสัยภาวะ Mitochondrial encephalopathy

**ผลการวิจัย** 1. ผู้วิจัยค้นพบ 3 polymorphisms ใน *NDUFV1*, *NDUFS7* และ *NDUFS8* genes แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของการมี polymorphisms เหล่านี้ต่อการเกิดโรคพาร์กินสัน

2. ไม่พบความผิดปกติ G2877510A ในยีน *LRRK2* ในผู้ป่วยไทย
3. พบว่า *ApoE* allele 3/4 มีความสัมพันธ์ที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคพาร์กินสันลดลง
4. ไม่พบความสัมพันธ์ของลักษณะยีน *N-acetyltransferase* และความผิดปกติของยีน *parkin* ในผู้ป่วยไทย
5. พบลักษณะ mutation ใหม่ในยีน transfer RNA Lysine ใน DNA ของไมโทคอนเดรียในผู้ป่วยภาวะสมองเสื่อมเฉียบพลันและพฤติกรรมเปลี่ยนแปลง

**สรุป** 1. ผู้วิจัยไม่พบความสัมพันธ์ของการมี polymorphisms ในนิวเคลียร์ยีนส์ของไมโทคอนเดรียโปรตีนส่วนที่ 1 ที่ศึกษากับการเกิดโรคพาร์กินสัน

2. การที่ผู้วิจัยไม่พบ Mutation ของยีน *LRRK2* ที่พบบ่อยในยุโรปและอเมริกา ในกลุ่มผู้ป่วยไทยจำนวนมากน่าจะแสดงว่า mutation นี้ไม่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคพาร์กินสันในผู้ป่วยไทยหรือมีน้อยมาก
3. ผู้วิจัยค้นพบความสัมพันธ์ของ *ApoE* genotype 3/4 ต่อการเกิดโรคพาร์กินสันในผู้ป่วยไทย Protective effect ต่อการเกิดโรคพาร์กินสันของ *ApoE* allele 3 ได้มีรายงานมาก่อนหน้านี้บ้าง อย่างไรก็ตามการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่ใหญ่ขึ้นน่าจะช่วยพิสูจน์ว่าความสัมพันธ์นี้มีจริงหรือไม่
4. ความสัมพันธ์ของลักษณะยีน *N-acetyltransferase* และยีนส์ *parkin* ไม่พบในผู้ป่วยไทย
5. ภาวะสมองเสื่อมที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในผู้ป่วยที่มีอายุน้อย อาจเกิดจากความผิดปกติใน Mitochondrial DNA

**Abstract****Project code RSA4580036****“Study on susceptibility of idiopathic Parkinson’s disease in association with mitochondrial complex I nuclear genotypes”**

By Dr. Teeratom Pulkes. Division of Neurology, Department of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University

**Background:** Idiopathic Parkinson’s disease (IPD) is the second most common neurodegenerative disease in human after Alzheimer’s disease. To date, the underlying pathogenesis of IPD remains unknown. However the mitochondrial complex I defect was consistently identified in PD from many studies. Several studies of mitochondrial DNA analysis revealed negative results so far. Therefore we choose to study the nuclear mitochondrial protein genes. We also analysed other recently published susceptible genes including *LRRK2* and *ApoE* genotypes.

**Methods:** We recruited IPD patients from Medicine and Neurology clinic in 3 University Hospitals. All patients were fulfilled for the diagnostic criteria of PD by using UK Parkinson’s disease criteria. Control samples were taken from patients from Geriatric clinic at the Ramathibodi Hospital which all over 65 years old and no signs of parkinsonism. DNA and RNA were extracted using standard techniques. Thirty PD patients were sequenced 3 nuclear mitochondrial protein genes including *NDUFV1*, *NDUFS7* and *NDUFS8* genes using leukocyte RNA in order to identify polymorphisms. Then we designed RFLP or mismatch RFLP for screening the identified polymorphisms in all patients and control DNA samples. The result of frequency of polymorphisms in both groups was subsequently compared and analysed using chi-squares test. The common *LRRK2* mutation and *ApoE* genotypes were analysed using PCR and RFLP techniques from previous reports.

**Results:** We identified 3 polymorphisms in these 3 mitochondrial protein genes which were different from those previously reported SNPs from other countries. One polymorphism of *NDUFV1* was T948A and two polymorphisms of *NDUFS8* were C212G and T240G. However none of the polymorphisms was shown to be associated with the Parkinson’s disease ( $P > 0.05$ ).

The common *LRRK2* mutation, G2877510A, was reported to be common in autosomal dominant PD. Moreover recent study showed that it was present in 1.6% in British idiopathic PD patients. However we did not identify this mutation in over 167 Thai IPD patients and 2 familial PD families.

Genotypes of N-acetyltransferase 2 gene and R366W polymorphism in exon 10 of the *parkin* gene, which was reported in association with both familial and idiopathic PD, were not shown to be significantly associated with IPD in our study.

The *ApoE* genotypes analysis suggests that *ApoE3/4* appears to be associated with IPD ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions:** We did not identify the association between SNPs of the *NDUFV1*, *NDUFS7* and *NDUFS8* genes and PD in Thai patients. We did not find the association of PD with the genotypes of N-acetyltransferase 2 gene and R366W in exon 10 of the *parkin* gene. The G2877510A in *LRRK2* gene appear to be uncommon in Thai population. Finally, *ApoE* genotype 3/4 may associate Thai patient with IPD.