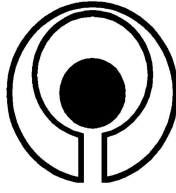


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی

گروه آموزشی ژنتیک

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته ژنتیک انسانی

عنوان

بررسی علل ژنتیکی ناتوانی ذهنی تک‌گیر

در ۳۰ فرد بیمار به روش توالی یابی کامل اگزوم

نگارنده

ژیلا قادری

استاد راهنما

پروفسور کیمیا کهریزی

استادان مشاور

پروفسور حسین نجم‌آبادی

پروفسور فرخنده بهجتی

بهمن ۹۵

تقدیم بہ:

ماحصل آموختہ ہایم را تقدیم می‌کنم بہ آنان کہ مہر آسمانی شان آرام بخش آلام زمینی ام است

بہ استوارترین تکیہ گاہم، دستان پر مہر پدرم

بہ سبزترین نگاہ زندگیم، چشمان سبز مادرم

کہ ہرچہ آموختم در کتب عشق شما آموختم و ہرچہ بگوختم قطرہ امی از دریای بی کران مہربانیان را پاس
توانم بگویم.

امروز، سستی ام بہ امید شماست و فردا کلید باغ بہشتم رضای شما

رہ آوردی کران سنگ ترا از این ارزان نداشتم تا بہ خاک پیستان نثار کنم، باشد کہ حاصل تلاشم نسیم

کونہ غبار خشکی اتان را بزداید.

بوسہ بردستان پر مہر تان

مشکر و قدردانی:

باسپاس فراوان از راهنمایی‌ها و زحمات استاد محترم و کراتقدر سرکار خانم پروفیسور کیمیا کهریزی که از

ابتدای راه و در طی انجام این تحقیق، بار راهنمایی‌های خود مراد نگارش این اثر یاری نمودند.

قدردانی و تقدیر از استادان بزرگوار، جناب آقای پروفیسور حسین نجم آبادی مدیر گروه محترم و

استاد مشاور و سرکار خانم پروفیسور فرخنده بهجتی استاد مشاور که با هدایت و حمایت‌های بی‌دریغشان

یاری ام نمودند.

و تقدیر و مشکر فراوان از جناب آقای دکتر حمید رضا خرم خورشید و جناب آقای دکتر محمد رضا

خدائی اردکانی که زحمت داورسی این اثر را بر عهده گرفته‌اند.

و از

زحمات بی دریغ و فروتنانه پدر و مادر عزیزم که با تمام وجود در راه رسیدن و تحقق آرزوهایم از تمام

آرزوهای خود گذشتند و از همراهی و پشتیبانی خواهران و برادران مهربانم تقدیر و تشکر می‌کنم.

در آخر از بیماران و خانواده‌های ایشان به خاطر همکاری با این پروژه کمال تشکر را دارم.

چکیده

مقدمه

ناتوانی ذهنی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های ژنتیکی در جهان و ایران می‌باشد. در کشور ما به دلیل اینکه ازدواج خویشاوندی از نرخ بالایی برخوردار است، نوع اتوزومی مغلوب ناتوانی ذهنی نسبت به دیگر کشورها شیوع بیشتری دارد. از آنجایی که این بیماری بار اجتماعی و اقتصادی فراوانی بر روی خانواده‌های دارای افراد بیمار دارد، شناسایی علل آن و پیشگیری از به دنیا آمدن فرزندان بیمار در خانواده‌ها حائز اهمیت بسیار می‌باشد.

روش بررسی

در این پژوهش از روش توالی‌یابی کل اگزوم استفاده شد که در چند دهه اخیر یکی از کارآمدترین روش‌های شناسایی علل ژنتیکی بیماری‌های اتوزومی مغلوب می‌باشد.

یافته‌ها

در این مطالعه با استفاده از روش توالی‌یابی کل اگزوم، و انجام مراحل آنالیز داده‌ها و انجام مراحل CO-segregation، در نهایت ۱۲ ژن شناخته‌شده به‌عنوان کاندید نهایی در خانواده و همچنین تعداد ۵ ژن جدید به‌عنوان ژن کاندید جدید عامل بیماری ناتوانی ذهنی اتوزومی مغلوب شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری

از این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که روش توالی‌یابی کل اگزوم یک روش کارآمد در شناسایی علل ژنتیکی بیماری‌ها می‌باشد؛ و همچنین می‌توان با استفاده از این روش و به واسطه تشخیص ژن‌های شناخته‌شده و جدید در بیماری‌های ژنتیکی، در شناسایی افراد حامل و تشخیص پیش از تولد استفاده کرد.

کلمات کلیدی

ناتوانی ذهنی اتوزومی مغلوب، ناتوانی اتوزومی تک‌گیر، توالی‌یابی اگزوم، توالی‌یابی سنگر، توالی‌یابی نسل بعد

فهرست مطالب

فصل اول	۱
کلیات تحقیق	۱
۱-۱ مقدمه	۲
۲-۱ بیان مسئله	۵
۳-۱ اهمیت و ضرورت تحقیق	۷
۴-۱ اهداف پژوهش	۷
۱-۴-۱ هدف کلی	۷
۲-۴-۱ اهداف اختصاصی	۷
۳-۴-۱ اهداف کاربردی	۸
۵-۱ سؤال ها و فرضیه ها	۹
۱-۵-۱ سؤال ها	۹
۲-۵-۱ فرضیه ها	۹
۶-۱ تعریف واژه ها	۹
فصل دوم	۱۱
پیشینه تحقیق	۱۱
۱-۲ تاریخچه	۱۲
۲-۲ علل ایجاد ناتوانی ذهنی	۱۳
۱-۲-۲ ناهنجاری های کروموزومی	۱۴
۳-۲ عوامل تک ژنی	۱۵
۱-۳-۲ ناتوانی ذهنی سندرمی	۱۵

۱۵	۲-۳-۱-۱ سندرم ایکس شکننده
۱۶	۲-۳-۲ ناتوانی ذهنی غیرسندرمی
۱۷	۲-۳-۱ ناتوانی ذهنی وابسته به جنس
۲۰	۲-۳-۲ ناتوانی ذهنی اتوزومی
۳۳	فصل سوم
۳۳	روش‌شناسی تحقیق
۳۴	۳-۱ نوع مطالعه
۳۴	۳-۲ جامعه و نمونه آماری و روش نمونه‌گیری
۳۴	۳-۳ روش جمع‌آوری داده‌ها
۳۵	۳-۴ متغیرها زن‌های مسبب بیماری، سن، جنس، شدت ناتوانی ذهنی، نوع وراثت بیماری
۳۶	۳-۵ روش اجرا
۳۶	۳-۶ روش تجزیه و تحلیل داده‌ها
۳۸	۳-۷ روش کار
۳۸	۳-۷-۱ گرفتن رضایت‌نامه
۳۸	۳-۷-۲ خون‌گیری
۳۸	۳-۷-۳ استخراج DNA
۳۹	۳-۷-۳-۱ نکاتی در مورد استخراج DNA
۴۱	۳-۷-۳-۲ مراحل استخراج DNA
۴۳	۳-۷-۴ تعیین غلظت DNA استخراج‌شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر
۴۴	۳-۷-۵ تعیین توالی با نسل جدید دستگاه‌های تعیین توالی (NGS)
۴۵	۳-۷-۵-۱ توالی‌یابی کل ژنوم
۴۶	۳-۷-۵-۱-۱ معایب تعیین توالی کل ژنوم
۴۶	۳-۷-۵-۲ توالی‌یابی کل اگزوم
۴۷	۳-۷-۵-۳ پنل زن‌های هدف
۴۸	۳-۷-۶ مراحل انجام NGS

۴۸	۱-۶-۷-۳ ایجاد کتابخانه اگزومی
۴۸	۲-۶-۷-۳ غنی سازی نواحی اگزومی
۴۸	۳-۶-۷-۳ روش های غنی سازی مبتنی بر هیبریداسیون
۴۹	۴-۶-۷-۳ انجام غنی سازی با هیبریداسیون فاز مایع
۴۹	۵-۶-۷-۳ انجام غنی سازی با هیبریداسیون فاز جامد
۵۰	۷-۷-۳ توالی یابی
۵۲	۸-۷-۳ توالی یابی نسل بعد
۵۷	۸-۳ روش های به کار گرفته شده جهت آنالیز بیوانفورماتیکی
۵۷	۱-۸-۳ مراحل تجزیه و تحلیل داده ها
۵۷	۱-۱-۸-۳ اولین مرحله پردازش داده های توالی یابی اگزوم
۵۸	۲-۱-۸-۳ دومین مرحله پردازش داده های توالی یابی اگزوم
۶۰	۳-۱-۸-۳ سومین مرحله پردازش داده های توالی یابی اگزوم
۶۱	۲-۸-۳ پیش بینی تأثیر تغییر ایجاد شده بر عملکرد پروتئین
۶۲	۳-۸-۳ بررسی فراوانی تغییرات در افراد هم نیا
۶۲	۹-۳ اطمینان از همبستگی واریانت ها با فنوتیپ مشاهده شده در کل شجره
۶۳	۱۰-۳ طراحی پرایمر
۶۵	۱۱-۳ واکنش زنجیره ای پلیمراز
۶۶	۱-۱۱-۳ مواد لازم برای واکنش PCR
۶۸	۲-۱۱-۳ روش انجام PCR
۶۸	۳-۱۱-۳ سیکل های PCR
۶۹	۱۲-۳ الکتروفورز ژل آگارز
۷۰	۱-۱۲-۳ بافرها و مواد مورد نیاز برای الکتروفورز ژل آگارز
۷۱	۱۳-۳ توالی یابی سنگر
۷۲	فصل چهارم
۷۲	توصیف و تحلیل داده ها

۷۳	۱-۴ نتایج حاصل از اگزوم.....
۷۵	۲-۴ توالی یابی سنگر.....
۷۷	۳-۴ اطلاعات مربوط به خانواده‌ها و نتایج حاصل از بررسی‌های انجام‌شده.....
۱۰۸	فصل پنجم.....
۱۰۸	بحث و نتیجه‌گیری.....
۱۰۹	۱-۵ بحث و نتیجه‌گیری.....
۱۳۶	۲-۵ جمع بندی.....
۱۳۷	۳-۵ پیشنهادات.....
۱۳۸	فهرست منابع.....

فهرست تصاویر

۱۹	شکل ۱-۲: ژن‌های شناسایی‌شده بر روی کروموزوم X، همراه با علائم بالینی.....
۴۵	شکل ۱-۳-مراحل توالی‌یابی نسل بعد.....
۵۰	شکل ۱-۳ شماتیک Exome Enrichment.....
۵۴	شکل ۳-۳ الف. توالی‌یابی نسل بعد.....
۵۵	شکل ۳-۳ ب. توالی‌یابی نسل بعد.....
۵۶	شکل ۳-۳ ج. توالی‌یابی نسل بعد.....
۵۷	شکل ۳-۴- فرمت FASTQ.....
۷۵	شکل ۱-۴ تغییر نوکلئوتید C به G.....
۷۶	شکل ۲-۴ تغییر نوکلئوتید A به G.....
۷۸	شکل ۳-۴ شجره‌نامه خانواده شماره ۱.....
۷۹	شکل ۴-۴ شجره‌نامه خانواده شماره ۲.....

۸۰	شکل ۴-۵ شجره‌نامه خانواده شماره ۳
۸۱	شکل ۴-۶ شجره‌نامه خانواده شماره ۴
۸۲	شکل ۴-۷ شجره‌نامه خانواده شماره ۵
۸۳	شکل ۴-۸ شجره‌نامه خانواده شماره ۶
۸۴	شکل ۴-۹ شجره‌نامه خانواده شماره ۷
۸۵	شکل ۴-۱۰ شجره‌نامه خانواده شماره ۸
۸۶	شکل ۴-۱۱ شجره‌نامه خانواده شماره ۹
۸۷	شکل ۴-۱۲ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۰
۸۸	شکل ۴-۱۳ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۱
۸۹	شکل ۴-۱۴ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۲
۹۰	شکل ۴-۱۵ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۳
۹۱	شکل ۴-۱۶ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۴
۹۲	شکل ۴-۱۷ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۵
۹۳	شکل ۴-۱۸ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۶
۹۴	شکل ۴-۱۹ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۷
۹۵	شکل ۴-۲۰ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۸
۹۶	شکل ۴-۲۱ شجره‌نامه خانواده شماره ۱۹
۹۷	شکل ۴-۲۲ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۰
۹۸	شکل ۴-۲۳ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۱
۹۹	شکل ۴-۲۴ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۲
۱۰۰	شکل ۴-۲۵ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۳
۱۰۱	شکل ۴-۲۶ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۴
۱۰۲	شکل ۴-۲۷ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۵
۱۰۳	شکل ۴-۲۸ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۶
۱۰۴	شکل ۴-۲۹ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۷

شکل ۴-۳۰ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۸ ۱۰۵

شکل ۴-۳۱ شجره‌نامه خانواده شماره ۲۹ ۱۰۶

شکل ۴-۳۲ شجره‌نامه خانواده شماره ۳۰ ۱۰۷

فهرست جداول

جدول ۱-۱: طبقه‌بندی ناتوانی ذهنی بر اساس گزارش WHO ۲

جدول ۱-۲: ژن‌های اتوزومی مغلوب شناسایی شده در سال‌های ۲۰۱۱-۲۰۰۲ ۲۵

جدول ۲-۲: ژن‌های جدید ناتوانی ذهنی اتوزومی مغلوب شناسایی شده توسط گروه تحقیقاتی نجم‌آبادی و همکاران به روش توالی‌یابی نسل بعد ۲۸

جدول ۲-۳: جهش‌های تشخیص داده شده توسط جوپ دلیت و همکاران به روش توالی‌یابی اگزوم ۳۰

جدول ۱-۳: جدول متغیرها ۳۵

جدول ۲-۳: مهم‌ترین دستگاه‌های NGS و برخی از ویژگی‌های آن‌ها ۵۱

جدول ۳-۳: مراحل چرخه PCR به‌طور خلاصه ۶۹

جدول ۱-۴: داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱ ۷۸

جدول ۲-۴: داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲ ۷۹

جدول ۳-۴: داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۳ ۸۰

جدول ۴-۴: داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۴ ۸۱

جدول ۵-۴: داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۵ ۸۲

جدول ۴-۶ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۶.....	۸۳
جدول ۴-۷ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۷.....	۸۴
جدول ۴-۸ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۸.....	۸۵
جدول ۴-۹ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۹.....	۸۶
جدول ۴-۱۰ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۰.....	۸۷
جدول ۴-۱۱ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۱.....	۸۸
جدول ۴-۱۲ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۲.....	۸۹
جدول ۴-۱۳ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۳.....	۹۰
جدول ۴-۱۴ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۴.....	۹۱
جدول ۴-۱۵ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۵.....	۹۲
جدول ۴-۱۶ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۶.....	۹۳
جدول ۴-۱۷ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۷.....	۹۴
جدول ۴-۱۸ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۸.....	۹۵
جدول ۴-۱۹ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و	
نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۱۹.....	۹۶

جدول ۴-۲۰ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۰.....	۹۷
جدول ۴-۲۱ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۱.....	۹۸
جدول ۴-۲۲ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۲.....	۹۹
جدول ۴-۲۳ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۳.....	۱۰۰
جدول ۴-۲۴ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۴.....	۱۰۱
جدول ۴-۲۵ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۵.....	۱۰۲
جدول ۴-۲۶ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۶.....	۱۰۳
جدول ۴-۲۷ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۷.....	۱۰۴
جدول ۴-۲۸ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۸.....	۱۰۵
جدول ۴-۲۹ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۲۹.....	۱۰۶
جدول ۴-۳۰ داده‌های حاصل از توالی‌یابی اگزوم و نتایج حاصل از بررسی‌های co-segregation و نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده خانواده شماره ۳۰.....	۱۰۷

فصل اول

کلیات تحقیق

۱-۱ مقدمه

ناتوانی ذهنی^۱ یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در جهان است که بار اجتماعی-اقتصادی و در بیشتر موارد فشارهای روانی بسیاری را برای افراد خانواده به وجود می‌آورد [۱]. این بیماری یکی از مشکلات حل نشده مردم سراسر جهان و سازمان بهداشت جهانی می‌باشد. ناتوانی ذهنی، ناهنجاری تکاملی سیستم عصبی مرکزی است که در ۱-۳٪ جمعیت‌ها دیده می‌شود [۲]. این بیماری متشکل از گروه بزرگ و هتروژن اختلالات عصبی پیشرفت‌کننده است که توسط تحلیل شناختی زودرس و محدودیت‌هایی در یادگیری، رفتارهای سازشی و مهارت‌ها مشخص می‌شود که معمولاً در افراد زیر ۱۸ سال با ضریب هوشی زیر ۷۰ بروز می‌کند [۳، ۴].

به‌طور کلی در عموم جمعیت‌ها میزان ضریب هوشی برای فرد نرمال ۹۰-۱۱۰ می‌باشد [۵]. بر اساس طبقه‌بندی سازمان جهانی بهداشت^۲ شدت ناتوانی ذهنی به‌صورت ذیل قابل توصیف است.

جدول ۱-۱: طبقه‌بندی ناتوانی ذهنی بر اساس گزارش WHO

نوع	ضریب هوشی، IQ
حد مرزی	۷۰-۷۹
خفیف	۵۰-۶۹
متوسط	۳۵-۴۹
شدید	۲۰-۳۴
عمیق	< ۲۰

¹ Intellectual disability

² World Health Organization (WHO)

ناتوانی ذهنی به دلایل متعددی ممکن است ایجاد شود که از مهم‌ترین علت‌ها می‌توان به علل ژنتیکی، عوامل محیطی، اتفاقات دوران بارداری، هنگام زایمان و همچنین عوامل اجتماعی و فرهنگی اشاره کرد [۶]. [۷]. زولی و زانگ علل عقب‌ماندگی را در ۸۶۲ کودک چینی بررسی کردند که در ۲۱٪ موارد علت ناشناخته، در ۳۴٪ موارد عوامل پیش از تولد، در ۱۱٪ موارد عوامل حین تولد و در ۳۳٪ موارد عوامل پس از تولد نقش داشته است. در عوامل پیش از تولد ناهنجاری‌های کروموزومی و اختلال در متابولیسم بدن و در عوامل بعد از تولد عفونت‌های سیستم عصبی مرکزی بیشترین میزان را به خود اختصاص داده است. در این مطالعه عوامل زیستی ۸۹/۶٪ و عوامل اجتماعی و فرهنگی ۱۰/۴٪ سهم داشته است [۸].

در سال‌های اخیر با پیشرفت‌های صورت گرفته در زمینه تحقیقات ژنتیکی مشخص شده است که بخش عمده‌ای از ناتوانی‌های ذهنی ناشی از اختلالات ژنتیکی می‌باشد. عوامل ژنتیکی تقریباً ۷۰٪ از علل ناتوانی ذهنی را به خود اختصاص می‌دهند. از آنجایی که حدود ۵۰٪ از ژن‌های انسان در مغز بیان می‌شود، بنابراین عوامل ژنتیکی نقش بسیار مهمی در بروز ناتوانی ذهنی ایفا می‌کند [۹]. عوامل ژنتیکی زمینه‌ساز ناتوانی ذهنی شامل ناهنجاری‌های کروموزومی (تعدادی و ساختاری) و علل تک‌ژنی می‌باشد. از ناهنجاری‌های ساختاری می‌توان به حذف‌شدگی‌های کوچک مناطق انتهایی کروموزوم‌ها اشاره کرد. علل کروموزومی ۲۸-۴٪ موارد را به خود اختصاص می‌دهد که در ۴۰٪ ناتوانی ذهنی شدید ۱۰٪ ناتوانی ذهنی خفیف مشاهده می‌شود [۳، ۱۰].

به‌طور کلی ناتوانی ذهنی را می‌توان بر اساس ویژگی‌های بالینی به ناتوانی ذهنی سندرمی^۳ و ناتوانی ذهنی غیرسندرمی^۴ (تک‌ژنی) تقسیم‌بندی کرد. از جمله ناتوانی‌های سندرمی می‌توان به سندرم داون، انجلمن، پرادر-ویلی، میلر-دیگر و دی‌جرج ... اشاره کرد که از این میان سندرم داون شایع‌ترین فرم ژنتیکی و اختلال تعدادی کروموزوم‌ها می‌باشد [۲، ۹].

³ Syndromic intellectual disability

⁴ Non-syndromic intellectual disability

حالت‌های تک‌ژنی بیماری می‌تواند به سه فرم اتوزومی غالب، اتوزومی مغلوب و وابسته به X نمایان شود. حدود ۱۰٪ موارد ناتوانی ذهنی از نوع وابسته به X می‌باشد [۱۱، ۱۲]. ابتلای مردان به این بیماری در نوع وابسته به X از زنان بیشتر است و چیزی حدود ۱/۳ تا ۱/۹ می‌باشد [۷]. از سال ۱۹۹۱ که سندرم X شکننده شناسایی شد تاکنون بیش از ۱۰۰ ژن در ارتباط با نوع وابسته به X این بیماری نیز شناسایی شده است [۹].

درصد ناچیزی از موارد ناتوانی ذهنی، توارث اتوزومی غالب دارد که افراد مبتلا توانایی تولید مثل ندارند و اغلب موارد به صورت تک‌گیر^۵ و ناشی از جهش‌های جدید^۶ می‌باشد [۹].

ناتوانی ذهنی مغلوب اتوزومی در جوامعی مثل کشور ما که ازدواج خویشاوندی از نرخ بالایی برخوردار می‌باشد بسیار شایع است [۱۳]. در جوامع غربی به دلیل نرخ پایین ازدواج خویشاوندی و کوچک بودن خانواده‌ها باوجود پژوهش‌های فراوان اطلاعات کمی از نوع اتوزومی مغلوب در دسترس می‌باشد. تا قبل از سال ۲۰۰۲ تقریباً علل مولکولی ناتوانی ذهنی مغلوب اتوزومی شناخته‌نشده بود و تا سال ۲۰۰۶ تنها ۳ ژن برای نوع غیرسندرمی این نوع ناتوانی ذهنی گزارش شده بود [۲]. جدول زیر اطلاعات مربوط به ژن‌های اتوزومی مغلوب شناسایی‌شده به روش‌های غیر از توالی‌یابی نسل بعد در سال‌های ۲۰۱۱-۲۰۰۲ را نشان می‌دهد.

اما خوشبختانه در سال‌های اخیر با پیشرفت‌های روزافزون علم ژنتیک و روش کاربردی آن، با استفاده از نسل جدید دستگاه‌های تعیین توالی زمینه شناسایی بهتر و بیشتر علل ژنتیکی ناتوانی ذهنی هم در وراثت اتوزومی مغلوب، غالب و وابسته به X فراهم شده است. در این میان دکتر نجم‌آبادی و همکاران موفق شدند در سال ۲۰۱۱ با به‌کارگیری روش تعیین توالی نسل بعد ۵۰ ژن مرتبط با نوع اتوزومی مغلوب ناتوانی ذهنی را کشف کنند [۱۳].

⁵ Sporadic

⁶ De novo

❖ به‌طور کلی روش توالی‌یابی نسل بعد به دو صورت انجام می‌شود:

❖ Whole Genome Sequencing (WGS) که در آن توالی‌یابی کل ژنوم انجام می‌شود.

❖ Exome Sequencing (ES) که در آن فقط توالی‌یابی اگزون‌های ژنوم موردنظر انجام می‌شود.

این مرحله خود به دو صورت انجام می‌شود؛ می‌توان تمام توالی‌های کدکننده ژنوم^۷ را بررسی کرد یا تنها ناحیه خاصی^۸ از ژنوم را بررسی کرد.

در مجموع اگزون‌ها حدود ۱٪ درصد ژنوم را تشکیل می‌دهند و حدود ۸۵٪ درصد جهش‌ها هم در این نواحی رخ می‌دهد [۱۴]. بنابراین به دلیل مقرون‌به‌صرفه بودن و سهولت کار در آنالیز اطلاعات حاصل از توالی‌یابی اگزوم نسبت به توالی‌یابی ژنوم، در این مطالعه از این روش برای شناسایی ژن‌های درگیر در ناتوانی ذهنی استفاده می‌شود.

۱-۲ بیان مسئله

ناتوانی ذهنی به دلیل شیوع ۱-۳ درصدی در جهان، فراوان‌ترین معلولیت به حساب می‌آید. وقوع این ناهنجاری در جوامع در حال توسعه، از جمله کشور ما به دلیل فراگیر بودن ازدواج‌های خویشاوندی و خانواده‌های پرجمعیت بیشتر است؛ بنابراین مشکلات اجتماعی-اقتصادی فراوانی را به دنبال دارد. با شناخت هرچه بیشتر این بیماری و دستیابی به علل ژنتیکی زمینه‌ساز آن، می‌توان از رخداد بیشتر بیماری پیشگیری کرد. همچنین در نتیجه این کاهش از خسارات روانی و اقتصادی فراوان ناشی از آن بر روی خانواده‌ها و به‌طور کل اجتماع کاسته شود [۱۵].

تا قبل از به‌کارگیری تکنیک‌های توانمند برای بررسی و شناسایی ناهنجاری‌های کروموزومی، عامل بیماری در حدود ۵۰٪ افراد مبتلا تشخیص داده نشده بود و همچنین تشخیص فقط زمانی امکان داشت که ناتوانی ذهنی به فرم شدید یا سندرمی (همراه با نقص‌های هنگام تولد و مشخصه‌های فیزیکی متمایزکننده)

⁷ Whole exome sequencing (WES)

⁸ Targeted exome sequencing

بود[۱]. با ترویج پروفایل کل ژنوم توالی‌های تعداد تکرار متغیر تشخیص بیش از ۱۴٪ درصد افزایش پیدا کرد (به‌طور ویژه برای نمونه‌های ایزوله)[۱، ۱۶]. تکنولوژی توالی‌یابی نسل بعد نوعی توالی‌یابی DNA است که باعث ارتقاء تشخیص می‌شود. به دلیل اینکه این تکنیک سیستماتیک، بدون گرایش و قادر به بررسی کردن کل ژنوم با قدرت تفکیک‌پذیری بالا می‌باشد و با استفاده از این تکنیک، علل ژنتیکی بیماران بیشتری تشخیص داده می‌شود روش سودمندی برای بیماران و خانواده‌های آن‌ها می‌باشد[۱].

در سال ۲۰۰۳ پژوهشگران مرکز تحقیقات ژنتیک دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی تصمیم به روشن ساختن دلایل مولکولی ناتوانی ذهنی اتوزومی مغلوب در ایران می‌گیرند. به دلیل اینکه تقریباً ۴۰٪ کودکان از والدینی همخون به دنیا می‌آیند و نیز خانواده‌ها معمولاً بزرگ‌تر از کشورهای غربی است، به‌عنوان اولین هدف این مرکز تلاش شد که فرم‌های رایج مغلوب اتوزومی ناتوانی ذهنی در خانواده‌های همخون شناسایی شود[۱۷، ۱۸]. در طی سال‌های متوالی و انجام پژوهش‌های فراوان در این مرکز، نتایج و یافته‌های بسیار ارزشمندی در این راستا به‌دست آمده است که منجر به کشف تعداد بسیاری ژن درگیر در این بیماری شده است. از جمله مهم‌ترین پژوهش این مرکز، مطالعه دکتر نجم‌آبادی و همکاران در سال ۲۰۱۱ می‌باشد که به کشف ۵۰ ژن جدید درگیر در ناتوانی ذهنی منجر شد[۱۳].

اکثر پژوهش‌های صورت گرفته در این مرکز در طی سال‌های گذشته مربوط به ناتوانی ذهنی مغلوب اتوزومی در خانواده‌هایی با ازدواج خویشاوندی بوده که حداقل ۲ فرد مبتلا در خانواده وجود داشته است؛ اما در طی مطالعات صورت گرفته در این مرکز با خانواده‌هایی مواجه شده‌اند که فقط دارای یک فرزند مبتلا به ناتوانی ذهنی بوده‌اند که هیچ‌گونه سابقه قبلی ناتوانی ذهنی در فامیل وجود نداشته است. به همین دلیل و با توجه به اینکه علل ژنتیکی برای نوع اتوزومی مغلوب ناتوانی ذهنی هنوز به‌خوبی شناخته‌نشده است و مطالعات و پژوهش‌ها در این موضع هنوز در ابتدای کار قرار دارد، ما در این پروژه با بهره‌گیری از تکنیک توالی‌یابی نسل بعد به روش whole exome sequencing به بررسی علل ژنتیکی ابتلا در ۳۰ خانواده با ازدواج خویشاوندی که فقط یک فرد مبتلا در خانواده وجود دارد می‌پردازیم تا بتوان با شناسایی ژن‌ها و علل