دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی
درمانی شهید بهشتی- دانشکده پزشکی
گروه جزوه نویسی دانشجویان پزشکی ورودی
بهمن ۹۳

مجموعه جزوات درس

ژنتیک (ترم۴)

نیمسال اول ۹۶-۱۳۹۵

ژنتیک

جلسه اول ۱۳۹۵/۰۸/۰۵

مدرس: **آقای دکتر درویش**

گروه ۱۰: سیما اصولی ، معصومه آورجه

کوثر امیرزاده ، زهرا شریفی

مبحث جلسه: مقدمات ژنتیک + تالاسمی

- امتحان ← ۹۰ درصد از درسنامه بوده و هدف کلاس صرفا درک بهتر ژنتیک و لذت بردن از آن است:) سرفصل هایی که در کلاس عنوان می شود از درسنامه مطالعه بفرمایید.

اهمیت ژنتیک: بیش از ۹۰ درصد بیماری ها را می شود در این دو دسته جای داد:

۱- بیماری های ژنتیکی

۲- بیماری های عفونی (البته بعضی عقیده دارند که {تأثیر} میکروب و عامل عفونی هم به ژنتیک آن وابسته است اما بحث ما ژنتیک انسانی است.)

سوال: آیا می توانید یک بیماری نام ببرید که خارج از این تقسیم بندی قرار بگیرد؟ {پاسخ بچه ها و رد آن توسط استاد :/ }

- سرطان: اگر کسی نقص ژنتیکی نداشته باشد، مبتلا به هیچ یک از انواع سرطان نخواهد شد. برای مثال فردی در ۳۰ سالگی سیگار کشیدن را شروع می کند و تا ۱۱۰ سالگی (:|) سرطان ریه نمی گیرد؛ اما فرد دیگری که در همین سن سیگار کشیدن را آغاز کرده در ۴۵ سالگی به سرطان ریه مبتلا می شود و ... (علی رغم تأثیر بسیار مهم محیط، به تنهایی کافی نیست..)

- بیماری هایی که فرد را در سنین بالا درگیر می کنند؛ مثل بیماری های قلبی و یا انسداد صفراوی: فرد تا ژن های مستعد کننده ی این بیماری ها را نداشته باشد، هرگز مبتلا نمی شود.
- تروما، ضربه و مسمومیت های غذایی: بیماری محسوب نمی شوند! (پاسخ دندان شکن..)
- بیماری های خود ایمنی: فرد تا ژن های مستعد کننده نداشته باشد مبتلا نخواهد شد!
- رُماتیسم قلبی: در گروه بیماری های عفونی قرار می گیرد (عامل باکتریال!)
- سوءتغذیه: مواد غذایی به فرد نرسیده بنابر این ربطی به ژنتیک ندارد!!

خود کشی و حتی اخلاق خوب و بد هم ژنتیکی هستند! (حتی کتابی هم داریم تحت عنوان Genetics of mood disorders) اینکه دو نفر در مواجهه با یک اتفاق نا گوار رفتار های متفاوت نشان می دهند یکی تحمل و دیگری خودکشی می کند، هم ژنتیکی است..

←انسان حدود ۲۷-۲۶ هزار ژن دارد که ۲۱-۲۰ هزار تای آنها کد کننده ی پروتئین هستند.

← همه ی ژن ها در یک زمان درون سلول بیان نمی شوند.

بیان ژن: رونویسی از ژن ← ساخت mRNA ← ساخت پروتئین ← عملکرد خاص در سلول

← بیان ژن تحت کنترل پروموتر (Promoter) است.

اهمیت بیان ژن: انسان ها بیش از ۹۹٪ با یکدیگر تشابه ژنی دارند و علت این همه تفاوت بین ما در بیان ژن است (البته عوامل دیگر هم موثرند اما عامل تفاوت های اصلی بیان ژن است) اهمیت بیان ژن در تفاوت میان انسان و شامپانزه که ۹۸٪ تشابه ژنی دارند، بارزتر است. جالب است بدانید که بیان ژن می تواند در عرض ۱۴-۱۵ روز یک کرم را به پروانه (موجودی را به موجودی دیگر) تبدیل کند. در حالیکه ژنتیک کرم تغییری نکرده.

بیماری های ژنتیکی: (۱۶-۱۸ هزار نوع)

۱- بیماری های تک ژنی

a. اتوزومی مغلوب (Autosomal Recessive)

b. اتوزومی غالب

i. ناکفایتی هاپلوئیدی (Haploinsufficiancy)

ii. غالب منفی (Dominant Negative)

iii. کسب عملکرد (Gain of Function)

۱. Amplification

۲. Point Mutation

iv. تجمع پروتئین های معیوب

۲- ناهنجاری های کروموزومی

۳- بیماری های پیچیده (MultiFactorial or Complex)

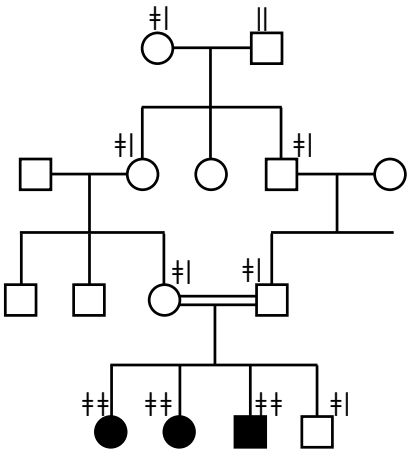
اتوزومی مغلوب: ژن ها روی کروموزوم های غیر جنسی قرار دارند. ما از هر ژن دو عدد داریم و این دو هیچ تفاوتی با هم ندارند. آلل و شکل های مختلف یک ژن را کنار بگذارید! با اینکه توالی (نوکلئوتید های ACGT) آلل های مختلف یک ژن متفاوت هستند، محصول پروتئین های آنها در نهایت یکی است. برای مثال ممکن است دو توالی متفاوت از دو آلل یک ژن کد کننده ی یک اسید آمینه باشند که می توانند به جای یکدیگر در ساختار پروتئین قرار بگیرند در حالی که عملکرد تغییری نکند. یا اسید آمینه های هم خانواده به جای هم در ساختار پروتئین قرار بگیرند که باز هم تغییری در عملکرد نخواهیم دید. در واقع شکل های مختلف یک ژن صحیح است: به این جهت که توالی ها متفاوتند، اما نباید دیدگاه ما نسبت به کل ژن اشتباه شود.

تعریف آلل در مورد آلل بیماری زا واضح تر است و در مورد افراد سالم خیلی مناسب نیست. مثلا یک جهش با تأثیر روی یک ژن می تواند سبب تولید پروتئین کامل از آلل A و پروتئین ناقص و ناکارآمد از آلل a شود. البته اینکه هر دو آلل هیچ تفاوتی ندارند در ۹۵٪ موارد درست است.

در بیماری های اتوزومی مغلوب، فقدان کامل محصول پروتئینی در اثر جهش اتفاق می افتد. در ایران این بیماری ها به دلیل نرخ بالای ازدواج خویشاوندی افزایش یافته است.

صرفا جهت اطلاع: (از این قسمت سوال نمی‌آد!)

در شجره نامه، ازدواج خویشاوندی با خط دوتایی نشان داده می شود.



در شجره نامه مقابل، فرزندان جد مشترک داشته اند، هنگام همانند سازی در جد مادری، تنها یک نوکلئوتید اشتباه جایگذاری شده و فرزندان نسل چهارم اکثرا بیمارند. ژنوم انسان حاوی میلیاردها نوکلئوتید بوده و تنها ۱٫۱٪ کد کننده ی پروتئین است. بعلاوه اینترون ها نیز درون این یک درصد قرار دارند. بنابر این ماشین همانند سازی در ۹۹ درصد ژنوم می تواند تغییر ایجاد کند، اما این یک درصد (به غیر اینترون ها) بایستی سالم بماند. پس این نهایت بدشانسی فرد بوده که دچار مشکل شده. جهش در اگزون ژن کد کننده ی پروتئین منجر به تولید پروتئین معیوب می شود که حتی خود ژن هم از تولید آن آگاه نیست. حتی در انسان سالم هم حدود ۷ یا ۸ ژن داریم که فقط یک آلل آن کار می کند.

نرخ ازدواج خویشاوندی در ایران بسیار بالا بوده و در حدود ۴۰٪ است و علی رغم افزایش آگاهی مردم رو به افزایش است.

در حال حاضر (در ایران) تنها تست ژنتیکی تالاسمی قبل از ازدواج اجباری است.

۲۰-۲۱ هزار ژن کد کننده در واقع همان ۱٫۱٪ را می سازند. پیشتر به بقیه محتوای ژنوم Junk DNA می گفتند. اما در حال حاضر تمام محتوای DNA سلول برای ما حائز اهمیت است. (البته اگزون ها مهمتر هستند.)

مثا بیماری های اتوزومی مغلوب ← ناشنوایی، تالاسمی، عقب ماندگی ذهنی و نابینایی، این موارد شایعترین بیماری های ژنتیکی در ایران هستند.

اتوزومی غالب: یک آلل پروتئین سالم و دیگری پروتئین ناقص می سازد.

- **ناکفایتی هاپلوئیدی:** ۵۰٪ محصول پروتئینی برای ممانعت از بیماری کفایت نمی کند.
- **غالب منفی:** هردو پروتئین سالم و ناقص را داریم اما عملکرد پروتئین ناقص باعث از بین رفتن عملکرد پروتئین سالم می شود. (۰٪ فعالیت پروتئینی)

سوال: چرا در بیماری اتوزومی مغلوب، اگر تولید محصول پروتئینی را از صفر به ۵-۳ ٪ برسانیم، فرد نجات می یابد اما در ناکفایتی هاپلوئیدی، با اینکه ۵۰ درصد محصول های پروتئینی را داریم فرد بیمار است؟ (چرا اولی مغلوب و دومی غالب است؟)

زیرا در حالت اول عملکرد آنزیمی مختل شده اما در حالت دوم این ۵۰٪ نقش ساختاری دارد.

- **کسب عملکرد:**
  - Point Mutation: مثال مهم آن، ژن HER_2 یا $ERBB_2$ است که باعث سرطان سینه می شود.

صرفا جهت اطلاع: (۲-۱ درصد مکانیسم آن مربوط به Point Mutation و ۹۸٪ آن Amplification است.

HER_2 گیرنده ای در غشای سلول است. با اتصال Growth Factor ها به آن، ۳ سیگنال به هسته می فرستد تا ژن هایی را بیان کند که محصول آنها در تکثیر سلولی دخالت دارند. در این بیماری HER_2 دچار جهش شده و به جای ۳ سیگنال، ۳۰۰۰ سیگنال به هسته می فرستد و باعث ایجاد تومور سلولی می شود. داروی Herceptin که در درمان این بیماری مورد استفاده قرار می گیرد به جای Growth Factor روی گیرنده ها می نشیند و مانع از اثر آنها می شود.

  - Amplification (تزاید، تکثیر): گیرنده ها مشکلی ندارند اما تعادلشان زیاد است. بنابر این تعداد سیگنال ها هم افزایش می یابد.

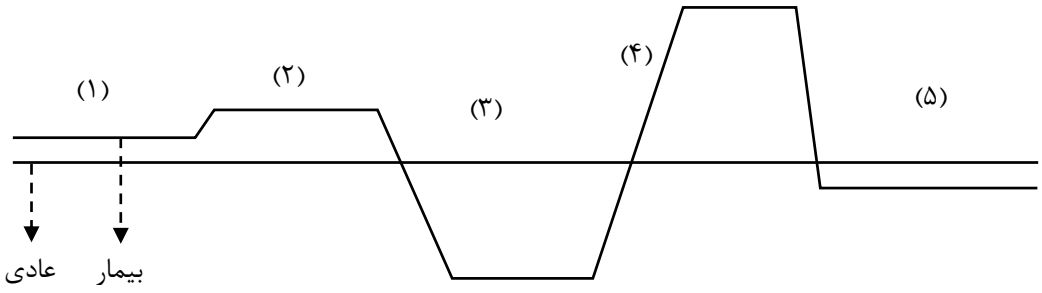
بطور کلی تعادل ژنتیکی اهمیت زیادی دارد. سندرم داون (تریزومی ۲۱) هم نمونه ای از اضافه کاری ژنتیکی است.

- **تجمع پروتئین های معیوب:** نمونه آن بیماری "پارکینسون" است. اگر محصول پروتئینی ژن آلفاسینوکلئین (SNCA) در سلول تجمع پیدا کند، باعث لیز سلولی می شود. نورون های جسم سیاه (Substantia Nigra) در مغز، با تولید و ترشح دوپامین باعث ایجاد حرکات نرم در مفاصل می شوند. اگر این مکانیسم تخریب سلولی در جسم سیاه اتفاق بیفتد ترشح دوپامین متوقف می شود. وقتی تخریب سلولی به ۸۰٪ کل سلول ها برسد، علائم اولیه ی پارکینسون ظاهر می شود. (یکی از مکانیسم های پارکینسون)

ناهنجاری کروموزومی: ما ۴۶عدد (۲۳ جفت) و ۲۴ نوع کروموزوم داریم. این ناهنجاری ها همیشه به صورت غالب به ارث می رسند، یعنی یک کروموزوم درگیر می شود نه یک جفت کروموزوم. مثلا در یک کروموزوم قسمت انتهایی بازوی کوتاه (5p) حذف می شود. اگر در هر دو کروموزوم حذف اتفاق می افتاد جنین اصلا به دنیا نمی آمد.

بیماری های پیچیده: تحت تأثیر عوامل محیطی و پلی ژنیک (عوامل ژنتیکی متعدد) است. لزوما به این معنا نیست که از دو آلل یک ژن یکی ناقص باشد. (اینجوری تک ژنی می شود!) بیشتر منظور فردی است که ژن های مستعد کننده ی بیماری را دارد. یعنی ژن مورد نظر اغلب نابجا بیان می شود. (عدم بیان در جای خود، در صد بیان نامناسب)

برای مثال شکل مقابل نشان می دهد بیان ۵ ژن دخیل در یک فرد بیمار و مقایسه ی آنها به فرد سالم را:



بیشترین تعداد بیماری های دنیا در این دسته قرار می گیرند مثل: (بیشترین نوع بیماری اتوزومی مغلوب) سرطان، بیماری های قلبی،MS، اسکیزوفرنی، اوتیسم، صرع، دیابت، خود ایمنی

اخیرا لام هایی به نام "Mamma Print" تولید شده اند که برای تعیین احتمال متاستاز تومور سینه به بخش های دیگر مثل مغز استخوان استفاده می شوند. به این صورت که ژنوم تومور را روی لام می ریزند و بر اساس بیان ژن هایی که در لام چیده شده، احتمال متاستاز تعیین می شود. مثلا اگر به احتمال ۲۰٪ به مغز استخوان سرایت می کند، باید از آن جلوگیری کرد. در حال حاضر به دنبال چنین راه حلی برای اغلب بیماری ها هستند اما بسیار زمان بر است.

اوتیسم: کودک تا حدود ۲-۱ سالگی سالم است و حتی چند کلمه صحبت می کند (سیر پیش رونده). اما بعد از ۱,۵ سالگی کلمات قبلی را هم دیگر تکرار نمی کند و Eye Contact هم ندارد. علت بیماری این است که تعدادی ژن وجود دارند که حدود ۲-۱,۵ سالگی بیان می شوند. (پس از این حتی ممکن است تا آخر عمر خاموش باشند) و اگر در این سن بیان درستی نداشته باشند، کودک مبتلا به اوتیسم می شود. بیماری بسیار شایعی است به گونه ای که از هر ۶۰ کود ۲-۱ نفر مبتلا می شوند. (یا ۶-۵ نفر از هر ۱۰۰ کودک). می توان ژن های مورد نظر را پیدا کرد و پس از شناسایی کودکان مستعد از بیماری آنها پیشگیری کرد.

سوال: چرا بیان ژن در افراد مختلف متفاوت است؟ زیرا ممکن است افراد مختلف مثلا در یک نوکلئوتید پروموتر خود با یکدیگر متفاوت باشند. Transcription Factor ها برای اتصال به پروموتر ممکن است نوکلئوتید خاصی را آسانتر شناسایی کرده و به آن متصل شوند. در نتیجه بیان آن ژن افزایش می یابد. البته این جهش نیست و نوعی

شرایط مستعد کننده محسوب می شود. (مثال های دیگر: نوکلئوتید های تنظیمی علاوه بر پروموتر در بخش های دیگر ژن حضور داشته باشند، نوکلئوتید متیله شده باشد و فاکتور رونویسی نتواند آن را شناسایی کند.)

برای پیگیری یک بیماری ابتدا باید توارث آن را شناخت تا بتوانیم مکانیسم آن را تشخیص دهیم.

بیماری های وابسته به جنس تک ژنی هستند، فقط در آقایان از ژن مورد نظر یک نسخه و در خانم ها دو نسخه وجود دارد.

تالاسمی: شایع ترین بیماری تک ژنی دنیا است و الگوی توارث آن اتوزومی مغلوب است. در ایران بسیار شایع است و تا حدودی مهار شده. دو نوع آلفا و بتا دارد.

در حال حاضر پیش از ازدواج از پسر خون می گیرند. اگر پسر ناقل (Aa) نبود، صرف نظر از ژنوتیپ دختر، بچه بیمار نخواهد شد. زیرا قطعا دختر بیمار (aa) نبوده. اما در صورت ناقل بودن پسر، از دختر هم خون گرفته می شود. اگر دختر AA باشد، مشکلی برای بچه پیش نخواهد آمد اما اگر دختر هم ناقل باشد به احتمال ۲۵٪ بچه بیمار خواهد بود. لذا زمان بارداری تشخیص پیش از تولد انجام می گیرد تا در صورت بیماری (aa) بودن جنین، سقط شود.

شایع ترین منطقه ی تالاسمی در ایران مازندران است!

متأسفانه در کشور، بسیاری از بیماری های صعب العلاج مجوز سقط ندارند. برای مثال تنها نوع نابینایی که مجوز سقط را دارد فقدان کره ی چشم (Anophtalmia) است که در سونوگرافی هم مشخص می شود.

Leber's: جنین کره ی چشم دارد اما پس از تولد تا پنج سالگی نابینا می شود. (early onset، زود نابینا می شوند.) این نوع نابینایی در سونوگرافی هم مشخص نمی شود.

RP (Retinitis Pigmentosa): یکی از بیماری های شایع در کشور ما که حاصل ازدواج فامیلی است. فرد ابتدا تاری دید دارد یا شب کور می شود، اما چون اهمیت نمی دهد، مدتی طول می کشد تا متوجه آن شود. بیماری پیش رونده است و فرد ممکن است در ۱۰ سالگی یا حتی ۴۰ سالگی نابینا شود.

این دو بیماری اجازه ی سقط ندارند. بنابر این اگر کسی در خانواده سابقه ی RP و یا Leber داشته باشد، بهترین کار این است که قبل از تشکیل جنین تست PGD را انجام بدهد. (Preimplantation Genetic Diagnosis) تشخصی پیش از لانه گزینی. برای مثال پسری با دختر عموی خودش ازدواج کرده در حالیکه خواهر و برادر نابینا دارد. باید تشخیص داده شود که جهش ژنتیکی در برادر و خواهر پسر چه بوده. فرض کنیم در ژن $ABCA_4$، اگزون ۲۳، نوکلئوتید A به G تبدیل شده و با ایجاد یک Stop کدون، یک پروتئین ناقص تولید شده است. این ژن باید در پسر هم بررسی شود، اگر دچار جهش نشده باشد خانم را تست نمی کنند. در غیر این صورت ژنوم دختر را هم بررسی می کنند. اگر سالم بود بچه مشکلی نخواهد داشت وگرنه به احتمال ۲۵٪ نابینا خواهد شد.

- تست PGD: از آقا و خانم اسپرم و تخمک گرفته می شود و بعد از لقاح و کشت در مرحله ی ۱۰-۷ سلولی جنین، یک سلول را بیرون می کشند و DNA آن را استخراج می کنند. پس از بررسی ژن مورد نظر، اگر مشکلی نداشت (Aa یا AA) وارد رحم خانم می شود. این روش مشکلات خاصی نیز دارد، از جمله: ممکن است چند قلویی اتفاق بیفتد، احتمال از بین رفتن جنین در ماه ۵-۳ بسیار بالاست.
- همین موارد ممکن است در تالاسمی هم اتفاق بیفتد.

تقریبا همه ی ژن های کد کننده ی پروتئین می توانند روی همه ی کروموزوم های بیان شوند. کمتر از صد ژن در انسان وجود دارد که فقط روی یک کروموزوم بیان می شوند و برای بیان شدن از روی کروموزوم پدری یا مادری هم قانون خاص خود را دارند. یکی از ژن ها آنجلمن-پرادویلی است. این ژن ها در اثر نقص می توانند بیماری های شدیدی ایجاد کنند.

تشخیص حاملین تالاسمی:

آزمایش CBC:

- MCV کمتر از ۷۵ و MCH کمتر از ۲۵ مشکوک به ناقل تالاسمی و یا فقر آهن است!

در این صورت ۳ ماه قرص آهن تجویز می شود و بعد از ۳ ماه دوباره آزمایش تکرار می شود، اگر نتایج مشابه بود ناقل است.

تشخیص تالاسمی آلفا و بتا:

در نتیجه ی الکتروفورز هموگلوبین A_2 اگر بالای ۳,۵ بود بتا و اگر کمتر از ۳,۵ بود آلفا می باشد.

- پس از این آزمایشات به سراغ تست ژنتیک می رویم.

موفق باشـــید

ژنتیک

جلسه دوم ۱۳۹۵/۰۸/۰۹

مدرس: **خانم دکتر غفوری‌فرد**

گروه ۱۵: علیرضا شمسی ، کریم کهنسال
بابک قوامی ، سید امین آبادیان زاده

سخن ویراستار: تصاویر به علت اینکه استاد اسلایدا رو نداد از اینترنت گذاشته شده. سعی بر این بوده که واسه اونایی که پیدا شد همون تصاویر یا یه چیزی شبیه شون باشه و یه (خیلی) کم هم از درسنامه برای توضیح بیشتر آورده شده ☺

فارماکوژنتیک و فارماکوژنومیک

هدف از این دو رشته ی جدید استفاده از علم ژنتیک در بحث پاسخ به دارو هاست. چیزی که باعث به وجود آمدن بحث درباره این رشته شد این است که یک داروی خاصی را با یک دوز مشخص وقتی به افراد یک جامعه تجویز میکنیم یک عده پاسخ نمیگیرند، یک عده یک عده پاسخ مناسب میگیرند و یک عده برایشان عوارض جانبی ایجاد میشود. تفاوت های ژنتیکی افراد می تواند باعث تفاوت در پاسخ به دارو ها شود.

در ژنوم افراد در جست و جو برای نواحی خاصی بودند که ممکن است در پاسخ به دارو موثر باشد. هر فردی پروفایل فارماکوژنتیک خاصی دارد که پاسخ دارویی توسط این پروفایل کنترل میشود. البته پاسخ به دارو یک فرایند بسیار پیچیده است یعنی علاوه بر عوامل ژنتیکی، عوامل محیطی مانند رژیم غذایی یا استفاده از الکل، سیگار، دارو های دیگر و مواد شیمیایی در پاسخ به دارو موثر است. این عوامل را عوامل خارجی میگویند غیر این عوامل یک سری عوامل داخلی نیز در پاسخ به دارو موثر هستند مانند:

- سن فرد: خیلی از عوارض دارویی در سن های بالاتر بیشتر است به این دلیل که عملکرد نفرون کلیه ممکن است دچار اختلال شده باشد.
- جنس فرد: متابولیسم خیلی از دارو ها تحت تاثیر هورمون های جنسی است.

- وضعیت کلیه و کبد: پاسخ به یک دارو تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی متفاوت است.

دو اصطلاح فارماکوژنومیک و فارماکوژنتیک

گاهی اوقات این دو اصطلاح را معادل هم میگیرند اما تعریف دقیق این دو با یکدیگر مقداری تفاوت دارد.

{درسنامه:

- فارماکوژنتیک: بررسی تاثیر ژن ها بر کارایی دارو و اثرات جانبی آن ها
- فارماکوژنومیک: میان کنش بین دارو ها و ژنوم (تفاوت :-؟)}

فارماکوژنومیک به مطالعه چگونگی تعامل دارو ها با ژنوم افراد می پردازد. در واقع آن فرایند هایی که موجب تاثیر گذاری این دارو میشود را بررسی میکند، هم فرایند های بیولوژیک هم مسیر های مختلفی که در بدن وجود دارد.

بیشترین پیشرفت علم فارماکوژنومیک مدیون اتمام پروژه ژنوم انسان است. پروژه ژنوم انسان (HGP) در سال ۱۹۹۰ شروع شد و قرار بود طی ۱۵ سال تمام ژنوم انسان تعیین توالی شود اما تقریبا ۲ سال زودتر به نتیجه رسید و کل ژنوم انسان تعیین توالی شد.

بعد از تعیین توالی ژنوم انسان اطلاعات در مورد بیماری های ژنتیکی و همین طور فارماکوژنومیک خیلی افزایش پیدا کرد.

درمان دارویی مبتنی بر فرد((personalized medicine)

پاسخ افراد به دارو ها میتواند متفاوت باشد، در آینده این انتظار میرود که تجویز دارو برای افراد مختلف به شیوه های مختلف صورت بگیرد. برای مثال اکنون برای همه ی افرادی که مثلا یک عفونت میکروبی خاص دارند آموکسی سیلین با دوز مشخص تجویز میشود درحالی که مشخص شده است خیلی از افراد ممکن است به این دوز دارو پاسخ مناسب ندهند، حال برای دارو های مهم تر که هم دوزشان دقیق تر است هم ممکن است عوارض شدید تری داشته باشند و هم اثر بخشی آنها مهم تر است مانند دارو های شیمی درمانی اهمیت تجویز دارو و توجه به شرایط فیزیکی هر فرد بیشتر احساس میشود.

عوارض ناخواسته ی دارویی (adverse drug reaction - ADR)

جزو عوامل خیلی مهم مرگ و میر هستند. (جزو ۵ عامل مرگ و میر)

- گاه مرتبط با دوز داروست یعنی هرچه دوز دارو افزایش یابد عوارض افزایش میابد.
- گاه مرتبط با زمان مصرف داروست یعنی هرچه زمان مصرف دارو افزایش یابد عوارض افزایش میابد.
- یک سری عوارض دارویی وجود دارندکه به آن ها عوارض ایدئو سنکراتیک میگوییم
- یک سری هم عوارض آلرژیک غیر وابسته به دوز دارو هستند.

این عوارض خیلی مهمند چون در این موارد به خصوص عوارض ایدئو سنکراتیک ناگهان در یک فردی که اصلا ممکن است انتظار نداشته باشیم یک عارضه ی خاصی دیده میشود که گاهی میتواند منجر به مرگشان بشود. مثل حساسیت به پنی سیلین. در رابطه با cephalosporin ها هم این بحث وجود دارد.

بنابراین یکی از اهداف علم فارماکوژنتیک و فرماکوژنومیک این است که ریشه ی ژنتیکی عوارض ناخواسته ی دارویی را پیدا کند و بعد تشخیص دهیم برای هر فرد چه دارویی میتواند مفید و چه دارویی میتواند مضر باشد.

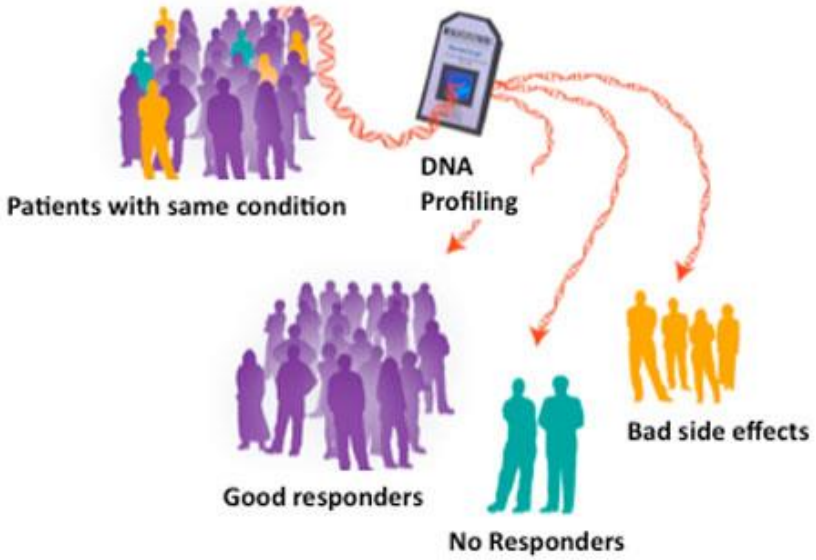
افراد بر اساس پروفایل ژنتیکیشان میتوانند پاسخ های دارویی متفاوتی داشته باشند. برای مثال بعضی افراد میتوانند متابولیسم دارو در بدنشان بسیار کند باشد: در این افراد ممکن است بر اساس اینکه داریم چه جزیی از متابولیسم را داریم بررسی میکنیم ممکن است این کند بودن متابولیسم منجر به این شود که یا سطح دارو خیلی زیاد شود و عوارض ایجاد شود یا اینکه دارو به فرم فعال تبدیل نشود چون در متابولیسم دارو ۲ هدف وجود دارد

- بدن دارو را به جزء فعال تبدیل میکند
- بدن کاری میکند تا دارو را دفع کند

حال فرض میکنم جزیی از متابولیسم را در حال بررسی هستیم که در دفع دارو نقش دارد بنابراین آن هایی که متابولیسم شان کند میشود سم دارو در بدنشان افزایش پیدا میکند و میتواند منجر به ایجاد عوارض دارویی در آنها شود.

برعکس یک سری افراد هستند که متابولیسم دارو در بدنشان ultra rapid است یعنی متابولیسم دارو خیلی سریع در آن ها اتفاق می افتد و طبعا دارو به آن سطح مورد نیاز بدن برای ایجاد اثر درمانی نمی رسد بنابراین ا ین افراد از آن دارو استفاده ای نمیکنند.

در بسیاری از دارو ها نقش یک عامل ژنتیکی مشخص در پاسخ یا عوارض مشخص شده است. سازمان غذا و دارو آمریکا در رابطه با ۷۰ دارو پیشنهاد میکند که قبل از تجویز تست ژنتیکی مورد نظر انجام شود و بعد با کمک بیومارکر های ژنتیکی مشخص شود که چه افرادی از این دارو ها استفاده کنند.



در این تصویر مشاهده میکنیم که از دی ان ای پروفایلینگ استفاده میکنیم تا بفهمیم در چه افرادی ساید افکت های خیلی شدید ایجاد می شود، چه افرادی non responded هستند یعنی اصلا به دارو پاسخ نمیدهند و چه افرادی خوب پاسخ میدهند. بنا براین شما میتوانید در جمعیت حداقل سه دسته افراد رو مشخص کنید که که بعد دوز های دارو برای آن سه دسته میتواند متفاوت باشد.

در فارماکولوژی سعی بر این است که سطح دارو در سرم فرد در محدوده ی therapeutic حفظ شود. مشکلاتی میتواند رخ بدهد. برای مثال گاه ممکن است

- دوز دارو تجویزی کم باشد
- فواصل مصرف دارو خیلی طولانی باشد
- دسترسی زیستی فرد به دارو کم باشد
- خیلی سریع دوز فعال از بدن دفع شود

که در چنین مواقعی شکست درمانی را خواهیم داشت.

برعکس اگر دوز تجویزی دارو خیلی زیاد باشد یا فواصل مصرف آن خیلی کم باشد یا دارو متابولیزه نشود و در سطح سرم به میزان بالا بماند، ممکن است به حد سمی برسد و سبب ایجاد عوارض دارویی گردد.

سطح میانی در نمودار سطح **efficacy** (**سودمندی**) است که در پایین این سطح **شکست درمانی** (**drug failure**) را خواهیم داشت و بالای آن سطح **حد toxic** است که عوارض دارو را در آن خواهیم دید.

فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک

در فارماکوکینتیک ما به دنبال بررسی واکنش‌هایی هستیم که بدن طی مصرف دارو انجام می‌دهد و اینکه بدن با دارو چه کاری انجام می‌دهد.

در فارماکودینامیک اثراتی که دارو به بدن اعمال می‌کند بررسی می‌شود.

برآیند نهایی این فرآیندهای فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک اثربخشی دارو یا ایجاد عوارض دارویی است. بیماری‌های که می‌توانند روی این‌ها تاثیر بگذارند ۲ دسته‌اند:

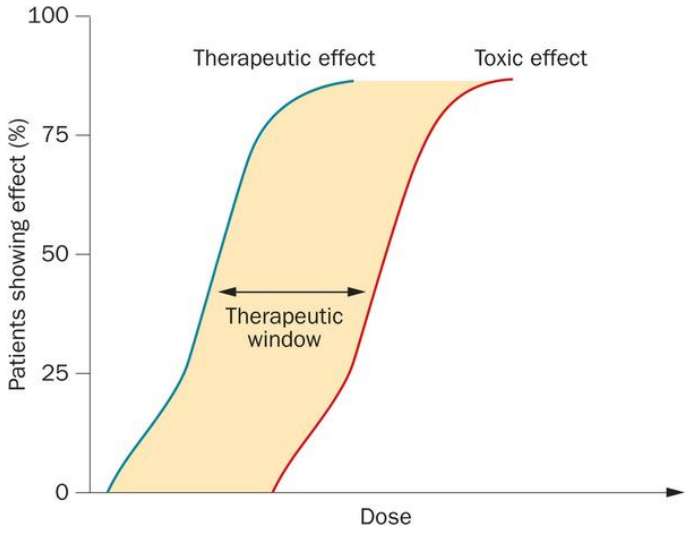
- بیماری‌های تک‌ژنی که پاسخ به داروهای مختلف را تحت تاثیر قرار می‌دهند.
- بیماری‌هایی که complex اند که یعنی تعداد زیادی ژن و عوامل محیطی با هم اعمال نفوذ می‌کنند و پاسخ به یک دارو یا داروهای مختلف را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

در فارماکوکینتیک به مواد جذب دارو (Absorbtive) و قبل از آن توزیع دارو (Disturbiution) و متابولیسم و ترشح دارو (Excretion)

نکته: ADME مخفف این ۴ موضوع است

ولی در فارکامودینامیک به مباحثی مثل اثر روی رسپتورها، اثر روی آنزیم‌ها ی متابولیک و اثر روی سیستم ایمنی بررسی می‌شود. مباحث مورد بررسی در فارماکودینامیک در پایین دست مباحث فارماکوکینتیک قرار دارند. همانطورکه گفته شد تغییراتی در سطح کانال‌های یونی و رسپتورها یا حتی غشاهای سلول، غشاهای درون سلول و حتی تفاوت‌هایی در فریندهای ترمیم پروتئین و اسیدهای نوکلئیک در افراد مختلف ممکن است وجود داشته باشد که منجر به تفاوت‌هایی در پاسخ‌های دارویی می‌شود.

شاخص درمانی (پنجره‌ی درمانی)



داروها به طور کلی به ۲ دسته تقسیم می‌شوند:

- با شاخص درمانی وسیع: در رابطه با داروهایی که فاصله‌ی بین دوز موثر (درمانی) و دوز toxic آن‌ها خیلی زیاد است که در واقع اغلب این داروها داروهای safe تری هستند.
- با شاخص درمانی محدود (narrow): دارهایی که دوز درمانی و دوز toxic آن‌ها بسیار نزدیک به هم است و در این داروها انتخاب dose نقش مهمی دارد که می‌تواند سبب آسیب شود.

در بخش روان‌پزشکی در مورد بیماران افسرده ازجمله خطراتی که وجود دارد، اقدام به خودکشی است. بنابراین اغلب داروهایی که برای این‌ها تجویز می‌شود، باید پنجره‌ی درمانی وسیعی داشته باشند که فرضا اگر ۲۰ تای آن را هم باهم مصرف کند مشکل خاصی ایجاد نشود.

سوال: اگر بخواهیم برای بحث فارماکوکینتیک دارو تحقیقی انجام بدهید، از بین این ۲ شاخص کدام را انتخاب میکنید؟

فرض کنید فاصله‌ی بین دوز درمانی و toxic آن مثلا ۱۰ برابر است و تفاوت‌های ژنتیکی در افراد هم می‌تواند تا ۵ برابر دوز دارو در سرم را تغییر دهد. در اینجا این دارو نتیجه ای برای این تحقیق نخواهد داشت. پس دارو های با شاخص درمانی محدود بهتر هستند برای تحقیق در مورد فارماکوکینتیک

تفاوت های بین فردی در مرحله ی فارماکومنتیک و گاهی در مرحله ی فارماکودینامیک میتواند به صورت صفات تک ژنی با نفوذ بالا به ارث برسند که منظور از نفوذ بالا یعنی اینکه افرادی که آن تفاوت های ژنتیکی را دارند به احتمال خیلی بالا فنوتیپ آن ها را نشان میدهد.

همچنین تفاوت های قابل توجهی در آنزیم های متابولیزه کننده ی دارو مثل N- استیل ترنسفراز،گلوتاتیون ترنسفراز و تیوپورین متیل ترنسفراز داریم که این ها میتواتند در پاسخ به دارو ها بسیاراثر بخش باشند و همیچنین میتوانند منجر به عوارض بالینی شوند که مثال ها جلوتر گفته میشود.

در بدن ما آنزیم های متابولیزه کننده ی متعددی وجود دارد که تقریبا تمام دارو های مصرفی ما توسط ۲ گروه آنزیمی متابولیزه میشوند.

- آنزیم‌های فاز ۱: این‌ها معمولا با اضافه کردن یک گروه قطبی به داروها آن‌ها را فعال می‌کنند. مثل سیتوکروم P450 (CYP)که دسته مهمی هستند و انواع مختلفی دارند ودر بحث فارماکوژنتیک خیلی روی این‌ها کارشده است.
- آنزیم‌های فاز ۲: روی محلول عملکرد آنزیم‌های فاز۱ اثر کرده و گروه خاصی را به آن‌ها کنژوگه می‌کنند که معمولا سبب دفع محصول می‌شوند. انواع مختلف آنزیم سبب انتقال گروه کنژوگه مثل کراتین سولفات، گلوتاتیون، گلیکوزید و انواع مختلف دیگر از گروه‌ها می‌شوند.

به این ترتیب داروهایی که ما مصرف می‌کنیم طی ۲ مرحله متابولیزه می‌شوند که در فاز ۱ با اضافه شدن گروه قبلی فعال شده و درفاز ۲ گروه‌های مختلفی کنژوگه می‌شوند که نهایتا منجر به دفع دارو می‌شود.

بیش از ۵۰ ژن در ارتباط با CYP شناخته شده‌اند که یعنی در ژنوم انسان پروتئین‌های CYP متعددی تولید می‌شوند که در مورد بیش از ۸۰ درصد از داروها متابولیسم در فاز ۱ را این ۵ آنزیم برعهده دارند: CVPهای ۲C۱۹ ، ۲C۹ ، 2D6 (و دوتای دیگه که تو اسلاید هست!)

۷ آنزیم دیگر از این خانواده وجود دارد که یا در سمیت زدایی و یا در فعال سازی کارسینوژن‌های محیطی و افزایش ریسک سرطان در افراد خاص نقش دارد

N-استیل ترانسفراز

توسط ژن NAT کد می شود. ما دو ژن NAT در بدن خود داریم که بیشترین اهمیت را NAT2 دارد {درسنامه ۳ ژن NAT گفته که NATP از آن بیان نمی شود و نوعی ژن کاذب است}

عملکرد این آنزیم را اولین در ارتباط با ایزونیازید شناختند. (از ایزونیازید در درمان سل استفاده می شود.) در یک سری از افرادی که از این دارو استفاده می کنند، **نوروپاتی** محیطی اتفاق می افتد. در افراد مبتلا آمدند سطح سرمی را اندازه گیری کردند و دیدند که نسبت به افراد عادی سطح سرمی این دارو بالاتر است که یعنی برای دفع این دارو از بدن این افراد نسبت به افراد عادی زمان بیشتری طول می کشد. بعد از آن آنزیم های استیلاسیون را بررسی کردند و دیدند که آنهایی که حاوی استیلاتورهای آهسته هستند سطح سرمی دارو در این‌ها مدت بیشتری بالا می‌ماند که یعنی دفع دارو از این ها زمان بیشتری می‌خواهد. بنابراین عوارض دارو در این ها بیشتر اتفاق می‌افتد.

فنوتیپ استیلاسیون آهسته به صورت صفت مغلوب اتوزومی به ارث می‌رسد. یعنی فرد برای این که یک استیلاتور آهسته باشد باید ۲ اللی که به ارث می‌برد هر دو برای استیلاتور آهسته باشد. این آنزیم NAT2 جزء آنزیم های متابولیزه‌کننده‌ی دارو در فاز دو است.

آنهایی که استیلاتورهای آهسته هستند، پروتئین NAT2ی که در آنها تولید می‌شود، معمولا یا اصلا فعالیت ندارد یا فعالیت خیلی ضعیف دارد. بنابراین کافی است سطح دارو در این‌ها افزایش پیدا کند تا عوارض دارو در این‌ها بروز کند. اما مشکل در ارتباط با استیلاتورهای سریع این است که باید دوز بالاتری از دارو را تجویز کنیم که این‌ها نشان می دهند که بررسی ژنوتیپ فرد مستقیما می تواند کمک کننده‌ی تعیین دوز مصرفی مناسب برای فرد باشد. مشکل دیگر در استیلاتورهای سریع، خطرات کبدی در اثر افزایش ایزونیازید در آنها است. دارو های دیگری هم توسط این آنزیم متابولیزه می‌شوند که این بحث ایزونیازید شامل آنها هم می شود.غیر از داروها، تفاوت‌های ژنتیکی در ژن NAT2 در ایجاد سرطان هایی مثل مثانه، روده ی بزرگ، پستان و ریه نقش دارد.

علت آن این است که استیلاتورها در متابولیسم کارسنیوژن هایی مثل آمین های **آروماتیک (هگزوسیکلیک)** نقش دارند. بنابراین نحوه ی عملکرد این ها در رابطه با تاثیر این کارسنیوژن ها روی بدن ما موثر است.

گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز (G6PD)

کسانی که واریانت کم فعالیت آن را دارند (G6PD deficient) در مواجهه با بعضی مواد خوراکی مانند دانه‌ی باقالی دچار عوارضی می‌شوند که در مورد دانه‌ی باقالی اسم آن را بیماری فاویسم گذاشته اند. این صفت وابسته به X مغلوب است و بیشتر در آقایان بروز می کند و بیشتر مریض‌ها پسر بچه‌ها هستند. این بیماری در ایران هم خیلی شایع است و بحث G6PD جزء موارد غربالگری در زمان تولد است.

داروی ضد مالاریایی پریماکین وقتی استفاده می‌شود بعضی از افراد دچار اختلالاتی می‌شوند مثل همولیز خون، تیره شدن ادرار و اگر به این افراد رسیدگی نشود ممکن است به نارسایی کلیه منجر شود. در بررسی‌هایی که انجام دادند متوجه شدند که این افراد نقص در آنزیم G6PD دارند.

هتروزیگوت های G6PD deficient نسبت به برخی بیماری‌ها مقاومند مثل مالاریا. در مناطقی از دنیا که مالاریا اندمیک است ژنوتیپ هتروزیگوت G6PD در آنجا حفظ می‌شود. بنابراین در مناطق مالاریا خیز افراد در اثر مصرف پریماکین به عوارض زیادی دچار می‌شوند در حالی که هتروزیگوت‌های این ژن به مالاریا مقاوم بوده که سبب افزایش این ژنوتیپ در جمعیت های مناطق مالاریا خیز شود.

در رابطه با افراد مبتلا به G6PD deficient لیست دارویی با حدود ۱۰۰ دارو است که مصرف آن در ای افراد کاملا محدود (contraindicated) است بنابراین اگر در غربالگری اولیه کمبود این آنزیم مشخص شود، این لیست باید همیشه همراه خانواده باشد؛ حتی اگر هم فرزند آن‌ها سرما بخورد باید این لیست را داشته باشند و به پزشک ارائه دهند و بگویند که به این داروها حساسیت دارد. مثلا **کوتریموکسازول** از انواع آنتی بیوتیک های نسبتا شایع است جزء مواردی است که افراد با نقص G6PD نباید استفاده کنند. در صورت استفاده منجر به لیز گلبول ها قرمز می شود که هموگلوبین های حامل آن از طریق ادرار دفع می‌شوند و منجر به رنگ تیره ادرار می‌شوند که البته عوارض دیگری هم در این ها دیده می‌شود.

بعضی از افراد بر اساس سطح آنزیم هایشان دسته بندی می شوند که در بعضی deficiency کم است و بعضی deficiency کامل دارند که در این ها حتی با حس کردن بوی باقالی هم لیز گلبول های قرمز صورت می گیرد.

TPMT (تیوپورین متیل ترانسفراز)

یک آنزیم متابولیزه‌کننده‌ی فاز دو است که نقش مهمی در متابولیسم ۶-مرکاپتوپورین دارد.

۶-مرکاپتوپورین نوعی دارو است که در شیمی‌درمانی نوع خاصی لوکمی در اطفال استفاده می‌شود. دوز معمول تجویز این دارو برای ۱۱٪ از افراد جوابگو است و برای بالای ۸۰ ٪ از افراد اصلا جوابگو نیست و ۱٪ از افراد هم دچار عوارض ناشی از دارو می‌شوند که اینقدر شدید است که منجر به فوت فرد می‌شود.

این مثال مهم در رابطه با فارماکوژنتیک در سال ۱۹۹۴ در کنگره آمریکا مطرح کردند تا بتوانند برای مباحث فارماکوژنتیک بودجه بگیرند چون که عوارض بالای آن می تواند منجر به مرگ افراد شود و عدم پاسخگویی آن هم می تواند منجر به لوکمی و مرگ شود پس مثال مهمی است و ۶-مرکاپتوپورین یکی از ۷۰ دارویی است که قبل از مصرف باید بررسی ژنتیکی شود.

متابولیسم الکل: آنزیم های زیادی در بدن وجود دارند که می توانند منجر به استعداد به الکلیسم شوند. الکل که مصرف می شود توسط الکل دهیدروژناز به استالدهید تبدیل می شود. این استالدهید تحت اثر استالدهید دهیدروژناز تخریب می شود. استالدهید در بدن toxic است و عوارض ناخوشایندی ایجاد می‌کند حال اگر فعالیت استالدهید هیدروژناز کم باشد باعث افزایش استالدهید می شود که عوارض ناخوشایندی دارد و چنین فردی دیگر تمایلی به مصرف الکل ندارد. بنابراین کسانی که سطح استالدهید دهیدروژناز در بدنشان کم است تقریبا هیچوقت الکلی نمی شوند چون اصلا از الکل لذت نمی برند! :) و دیده می شود که در جوامعی با بیماری های کاهش استالدهید دهیدروژناز همراهند سیروز کبدی ناشی از الکل و الکلیسم خیلی کمتر است.

یک سری بیماری‌های توارثی هم داریم که در این‌ها پاسخ به داروها متفاوت است:

بیماری پورفیری واریاناتا: بیماری به صورت اتوزومال غالب که در آن در مواجهه با نور خورشید ضایعات پوستی ایجاد می شود. همچنین ضایعات عصبی و نورولوژیک و حتی فلج عضلانی ممکن است ایجاد شود. درد های شکمی شدید و مرگ هم ممکن است رخ دهد.

در این افراد تجویز داروهایی که پروتئین سیتوکروم P450 را تحریک می‌کند، سبب بروز عوارض می‌شود از جمله داروهایی که مصرفش برای این‌ها خطرناک است باربیتورات ها (که برای درمان حمله‌ی تشنج بکار می‌روند) و هورمون‌های استروئید هستند و تعدادی دیگر از داروها که منجر به بروز عوارض بالا می‌شوند.

برخی از اختلالات هم هستند که در صورتی که وجود داشته باشند تجویز دارو هایی منجر به تخریب گلبول های قرمز و عوارض ناشی از همولیز می شود که از جمله این اختلالات، هموگلوبین H و هموگلوبین زوریخ هستند. که هموگلوبین H در موارد آلفا-تالاسمی است. در آلفا تالاسمی به علت نقص در ژن زنجیره ی آلفا در هموگلوبین بجای ۲ زنجیره‌ی آلفا و ۲ زنجیره‌ی بتا، ۴ زنجیره ی بتا داریم که به آن هموگلوبین H می گویند.

هدف ما در فارماکوژنتیک درمان مبتنی بر فرد است. یعنی پروفایل ژنتیکی فرد را بررسی کنیم و دارو را بر اساس آن تجویز کنیم. در واقع تعدادی از مشکلاتی که وجود دارد این است که، برخلاف مثال‌های زده شده که یک ژن می‌توانست پاسخ به یک سری از داروها را تغییر دهد، همیشه چنین اتفاقی نمی‌افتد. در بسیاری از داروها پاسخ به دارو تحت اثر چندین ژن قرار دارد؛ بنابراین بررسی همه‌ی این ژن‌ها ممکن است مشکل باشد و موفقیت‌آمیز نباشد. چون متابولیسم دارو هم ممکن است در چندین مرحله اتفاق بیافتد و در هر مرحله ممکن است عوامل و پاسخ های مختلفی روش اثر بگذارند. این مشکلاتی است که اگر پزشکی مبتنی بر فرد با آن مواجه هستیم.

مثال هایی هم زدیم در رابطه با ژن هایی مثل تیوپورین متیل ترانسفراز که متابولیسم ۶-مرکاپتوپورین را بر عهده داشت.

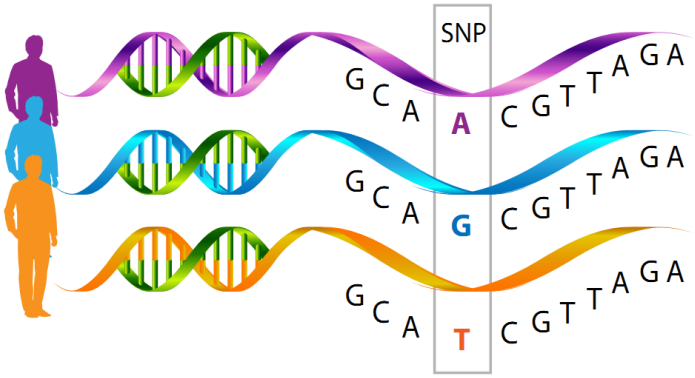
چون در واقع یک ژن را بررسی میکردیم و خیلی خوب می توانستیم پاسخ به یک دارو را بررسی کنیم. در این موارد تست ژنتیکی برای بررسی پاسخ به دارو خیلی روتین انجام شده است ولی در باقی مثال ها ممکن است به این وضوح نباشد.

یک مثال دیگر هم از نقش فارماکوژنتیک در درمان بیماری ها مطرح است دارویی است که برای درمان یک سری افراد خاص ساخته شده است.

در ۲۰٪ موارد breast cancer دیده شده است copy number ژنی به نام HER2 افزایش پیدا میکنند. معمولا کسانی این افزایش copy number را دارند پروگنوز ضعیف تری دارند و وضعیتشان بدتر است.دارویی به نام herceptin طراحی شده است که در واقع یک آنتی بادی مونوکلونال است. محصل ژن HER2 را مهار می کند.کسانی که Amplification ژن HER2 را داشتند خیلی خوب به این دارو پاسخ می دهند و پروگنوز خوبی پیدا می‌کنند. این مثالی است از این که اساس ساخت یک دارو، بررسی ژنتیکی افراد خاصی بوده است.

در حال حاضر مطالعات متعددی در بررسی snp ها در پاسخ به دارو ها انجام می شود. snp ها (single nucleotide polymorphism) یعنی حالت مختلفی از یک نوکلئوتید که در یک جمعیت وجود دارد. snp ها هم در استعداد به برخی بیماری ها و هم در پاسخ به برخی بیماری ها می توانند موثر باشند. snp ها ممکن است درنواحی توالی تنظیم کننده‌ی ژن ها باشند بنابراین بیان ژن ها را تحت تاثیر قرار می دهند.

ممکن است در splicing site های ژن ها باشند و فرایند splicing را تحت تاثیر قرار دهند. ممکن است در نواحی پروموتر یک ژن باشند یا در نواحی کدکننده ی یک ژن باشند و توالی پروتئین را تغییر دهند و با این تغییراتی که ایجاد میکنند می توانند سطح بیان پروتئین را تغییر دهند. پروتئین مورد نظر ممکن است در متابولیسم دارو نقش داشته باشد، بنابراین تغییر snpها می تواند منجر به تغییر فعالیت پروتئین های ما بشود و بنابراین می تواند در پاسخ به درمان موثر باشد



در اینجا جایگاه ژنتیکی را نشان داده است که این نوکلئوتید می تواند 3 حالت مختلف داشته باشند. معمولاً در جمعیت ها ۲ حالت از snpها دیده می شود. کمتر دیده می شود که یک snp ۴ حالت وجود داشته باشد،معمولا snp ها ۲ حالته هستند ولی در هر صورت از لحاظ تئوریک قابل تصور است که هر ۴ حالت را داشته باشند.

اکوژنتیک

بحث دیگری که درباره ی آن صحبت می کنیم اکوژنتیک است. اکوژنتیک یک شاخه ی گسترش یافته از علم فارماکوژنتیک است که هدفش مطالعه ی تفاوت های فردی در ایجاد استعداد به عوامل فیزیکی، شیمیایی و عفونی است. این تفاوت ها ممکن است علت تک عاملی یا چند عاملی داشته باشند.

مثلا دیده می شود که در افرادی که پوست سفید دارند، در مواجه با اشعه ی فرابنفش که یک عامل محیطی است بیشتر مستعد ایجاد سرطان هستند یا مثلا دیده شده که مصرف چربی ها در یک دسته از افراد بیشتر منجر به ایجاد عوارض هایپر کلسترولمی می شود. بعضی از افراد حساسیت به گلوتن دارند. بعضی از افراد به دلیل اختلال در پمپ سدیم-پتاسیم افزایش فشار خون دارند. یکسری از افراد هستند که اگر مقدار کمی نمک هم در غذای آن ها باشد مبتلا به فشار خون بالا می شوند در حالی که باقی افراد چنین وضعیتی ندارند. مثلا یک نقص ژنتیکی به نام نقص α_1-Antitripsin وجود دارد و کسانی که مبتلا به این نقص ژنتیکی هستند اگر در معرض گرد و غبار قرار بگیرند احتمال آمفیزم که یک بیماری ریوی است در آن ها بیشتر است. از این گونه مثال ها که یک عامل محیطی در کنار یک عامل ژنتیکی منجر به ایجاد یک فنوتیپ خاص می شود.

متابولیسم ارگانوفسفات ها

ارگانوفسفات ها موادی هستند که در حشره کش های محیطی وجود دارند. آنزیمی در بدن وجود دارد به نام پارا اوکساناز (paraoxonase) که مسئول شکستن این ارگانوفسفات هاست. فعالیت این آنزیم در افراد مختلف متفاوت است. افرادی که هموزیگوت برای الل کم فعالیت این آنزیم باشند نسبت به ارگانوفسفات ها حساس تر هستند وقتی در معرض این حشره کش های محیطی قرار می گیرند ممکن است عوارضی نظیر عوارض نورولوژیک در این ها ایجاد شود.

مورد دیگری که در اکوژنتیک در رابطه با آن صحبت می شود، بحث استعداد به بیماری های خاص است. بعضی افراد در مواجه با کارسینوژن های خاص احتمال ابتلا به سرطان در آنها بیشتر است. مثلا در سرطان مثانه دیده شده است که افرادی که استیلاتورهای آهسته دارند اگر در معرض آمین های آروماتیک محیطی قرار بگیرند،خطر ابتلا به سرطان مثانه در این ها خیلی افزایش پیدا می کند. برعکس در سرطان روده ی بزرگ دیده شده که استیلاتورهای سریع در ایجاد این سرطان حساسیت بیشتری دارند. حتی دیده شده که در بیماری پارکینسون که یک بیماری

نوروژنتیک است دیده شده در افراد مبتلا به پارکینسون واریانت های ژنتیکی خاصی دارند که سمیت زدایی مواد آسیب رسان به عصب نقش دارند. مثلا ممکن است فنوتیپ متابولیز کننده ی ضعیف یک سیتوکروم کبدی خاص را داشته باشند، بنابراین نسبت به مواد نوروتوکسیک که در محیط وجود دارند حساسیت بیشتری خواهند داشت.

در حال حاضر امکان بررسی snp های متعددی در یک آزمایش وجود دارد. بنابراین در یک واکنش منفعل شما می توانید وضعیت snp های مختلف یک فرد را که می توانند در پاسخ به داروهای مختلف یا حساسیت به سرطان های مختلف نقش داشته باشند را بررسی کنند و به نظر می رسد بحث personalized medicine در حال پیشرفت است.

به عمری یک نفس با ما چو بنشینند برخیزند — نهال شـــوق در خاطر چو برخیزند بنشـــانند
چو منصـــور از مراد آنان که بردارند، بر دارند — بدین درگاه حافظ را چو می‌خوانند می‌رانند
در این حضرت چو مشتاقان نیاز آرند ناز آرند — که با این درد اگر دربند در مانند در مانند

#استاد_حافظ

موفق بـا شـــــــید

ویراستار: همایون زین الدینی

ژنتیک

جلسه سوم ۱۳۹۵/۰۸/۱۹

مدرس: **خانم دکتر صیاد**

گروه ۳: فرزاد اسماعیلی، محمد جواد هنرور

یونس یساقی، امین نصراللهی(تایپیست)

مبحث جلسه: فناوری‌ها و کاربردهای DNA و تکنیک‌های مورد استفاده جهت تشخیص بیماری‌های ژنتیکی

بخش اول (یونس یساقی):

تاریخچه‌ی فناوری و کاربردهای DNA:۱

در سال ۱۹۷۰ پیشرفت چشمگیر علم ژنتیک تازه شروع شد. سال ۱۹۵۶ واتسون و کریک DNA دورشته‌ای را کشف کردند و ساختار بیوشیمیایی آن را بررسی کردند و بعد از آن پیشرفت علم ژنتیک کم‌کم شکل گرفت. در دهه ۱۹۷۰ یک تحول بزرگ در علم بیولوژی رخ داد و آن هم شناسایی یک سری آنزیم محدودکننده (Restriction Enzyme) بود. بعد از آن یک سری تکنیک هایی مثل Southern Blot، Western Blot و انواع تکنیک‌های Blotting یا لکه‌گذاری کوتاه را ایجاد کردند.

در دهه ۱۹۸۰ نیز یک تحول بزرگ رخ داد. امروزه اساس تست‌های ژنتیکی، بر مبنای PCR (Ploymerase Chain Reaction) است. اگر تکنیک PCR را از ژنتیک بگیرند، کار مولکولی بسیار کمی می‌توان انجام داد. در این دهه فردی با این فکر که چطور می‌توان یک قطعه DNA را هزاران بار تکثیر کرد، تکنیک PCR را ابداع کرد. با این روش می‌توان آزمایش‌های متنوعی را روی DNA انجام داد و تشخیص های بهتر و بیشتری داد. این فرد، این

ایده را به یکی از کمپانی‌های بزرگ آن زمان به قیمت پایین فروخت و آن کمپانی بعدها سودهای کلانی از این ایده بدست آورد.

در دهه ۱۹۹۰، تحولات دیگری رخ داد که از جمله مهمترین آن‌ها انجام DNA Sequencing با تکنیک‌های قدیمی آن زمان بود (الآن تکنیک NGS بکار می‌رود). در آن زمان از تکنیک Sanger Sequencing استفاده کردند. آقای Sanger قبل از اینکه DNA را توالی‌یابی کند، پروتئین‌ها را توالی‌یابی کرده بود و با آن کار خود تحول بزرگی ایجاد کرد. آقای Sanger اکنون موسسه‌ای دارد که دستگاه‌ها و شواهد کارش در آنجا وجود دارد و اگر ما بگوییم یک توالی جدید از DNA را کشف کرده‌ایم، مستقیما نمی‌توانیم آن را در ncbi ثبت کنیم بلکه یک سری مراحل دارد و باید به جاهای مختلف مستندات خود را بفرستیم تا تایید شود و بعد آن را ثبت کنیم. اما موسسه آقای Sanger بدلیل اعتبار بالایی که دارد می‌توانند توالی‌های جدیدی که بدست می‌آورند و یا پروژه‌هایی که انجام می‌دهند را مستقیما در nbci ثبت کنند. در دهه ۱۹۹۰ همچنین Capillary Sequencing بوجود آمد و نیز انواع تکنیک‌های Array مثل microarray در سال ۲۰۰۰ یک تحول بزرگ‌تر و عظیم‌تر رخ داد و آن ابداع تکنیک NGS یا Next Generation Sequencing بود که توالی یابی را خیلی سرعت بخشید. آمریکا در سال‌های ۱۹۸۰ تا ۱۹۹۰ در سراسر دنیا، سمینارهایی برگزار کرد و از همه دانشمندان سراسر دنیا خواست تا ایده بدهند که چگونه می‌توان DNA انسان را توالی‌یابی کرد. در سال ۱۹۹۰ این پروژه توالی‌یابی کلید خورد و پیش بینی شد تا سال ۲۰۰۵ این پروژه تمام می‌شود اما در سال ۲۰۰۳ به پایان رسید و همچنین در سال ۲۰۰۱ نسخه اولیه آن بیرون آمد. این پایان زودرس بخاطر پیشرفت دستگاه‌های توالی‌یاب بود که شامل این تکنیک NGS می‌شد. ایده این تکنیک را یک پروفسور ایرانی داد. این تاریخچه‌ی ساده و کوتاهی بود از وقایعی که در علم ژنتیک در چند دهه اخیر رخ داده است.

جدول (۴-۱): توسعه تکنولوژی DNA

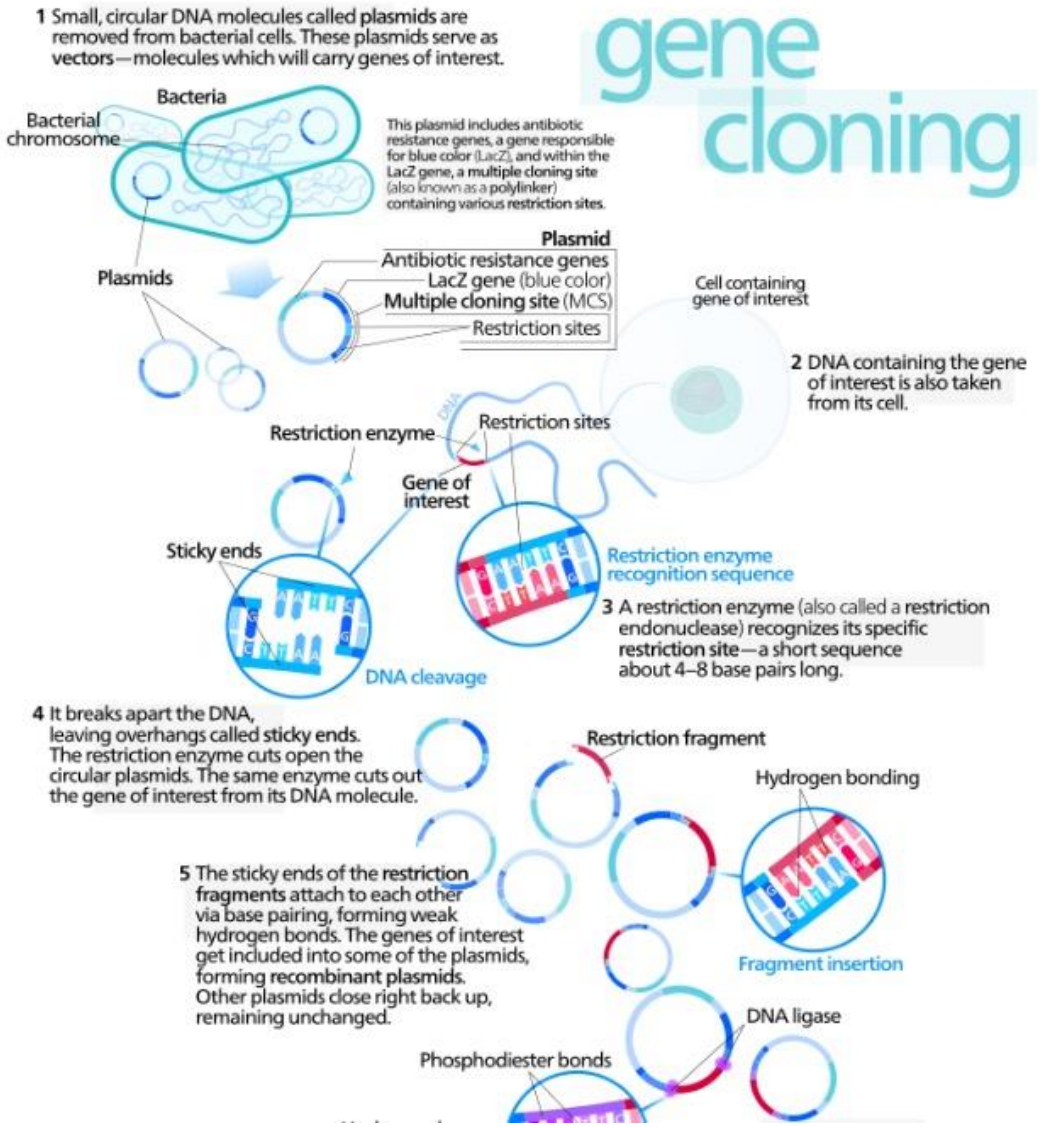
Decade	Development	Examples of Application
1970s	Recombinant DNA technology, Southern blot, and Sanger sequencing	Recombinant erythropoietin (1987), DNA fingerprinting (1984), and DNA sequence of Epstein-Barr virus genome (1984)
1980s	Polymerase chain reaction (PCR)	Diagnosis of genetic disorders
1990s	Capillary sequencing and microarray technology	Draft human genome sequence (2001)
2000s	Next-generation 'clonal' sequencing	First acute myeloid leukaemia (AML) cancer genome sequenced (2008)

DNA Cloning

همانطور که دیدید در دهه ۱۹۷۰ انواع تکنیک‌های Blotting یا لکه‌گذاری انجام شد. همچنین موضوع دیگری که روی آن کار شد بحث Cloning بود. Cloning در حال حاضر بسیار پیشرفت کرده طوری که بحث شبیه‌سازی انسان مطرح است. اساس Cloning با کشف آنزیم‌های محدودکننده (Restriction Enzymes) رقم خورد. آنزیم‌های محدود کننده، پروتئین‌های خاصی در بعضی باکتری‌ها هستند که خاصیت آنزیمی دارند. این آنزیم‌ها یک توالی خاصی را شناسایی کرده و برش می‌دهند یعنی مثلا آنزیم Bam H I توالی GGATCC را شناسایی کرده و بین G اول و دوم را از روی رشته اول و بین ۲ G آخر از روی توالی مکمل، می‌برد. این بریدن می‌تواند انتهای چسبنده (Cohesive) یا صاف(Blunt) بوجود بیاورد. کاری که می‌شود با این آنزیم‌های محدود کننده انجام داد این است که بیاییم DNA مورد نظر خود را با این آنزیم‌ها ببریم و همچنین همین کار را روی یک وکتور انجام دهیم و قطعه DNA بریده شده خود را روی وکتور سوار کنیم و آن را وارد مثلا یک باکتری کنیم تا از روی آن میلیون‌ها بار ساخته شود. پلازمید(Plasmid) یکی از این وکتورها است با این ویژگی که می‌تواند وارد باکتری‌ها شده و با سرعت زیادی از روی آن رونویسی انجام می‌شود و به سرعت تکثیر می‌یابد. بنابراین پلازمید حاوی قطعه DNA مورد نظر ما به سرعت تکثیر می‌شود و قطعه ما نیز به همراه آن تکثیر می‌یابد. حال وقتی که وکتور را وارد باکتری کردیم و تکثیر شد، می‌آییم باکتری را می‌کشیم (تایپیست: استاد با مفهومی به نام لیز آشنا نیستن احتمالا☹) و پلازمیدها را برمی‌داریم. اما نکته‌ای که بوجود می‌آید این است که از کجا بدانیم پلازمیدها این قطعه DNA را دارند؟ برای اینکار ما از پلازمیدی استفاده می‌کنیم که دارای ژن مقاومت به یک نوع آنتی بیوتیک خاص مثلا آمپی‌سیلین را دارد. به این ترتیب با قرار دادن باکتری‌ها روی یک محیط کشت حاوی آن آنتی بیوتیک خاص و بقای آنها، متوجه می‌شویم که باکتری‌ها دارای پلازمید حاوی قطعه DNA ما هستند.

"سفن ویراستار: استاد به طور کامل مراحل **DNA Cloning** *را توضیح ندادند و به همین خاطر ممکن است کمی گیج کننده بنظر برسد. پس از بریدن توسط آنزیم محدود کننده و قرار دادن قطعه* **DNA** *روی پلازمید، بوسیله آنزیم* **DNA ligase**، *محل اتصال پلازمید به* **DNA** *را تثبیت می‌کنیم. اما اینگونه نیست که تک تک پلازمیدها را با آنزیم محدود کننده برش بزنیم و بعد هم از آنزیم* **DNA**-*لیگاز استفاده کنیم، بلکه ما روی تعداد زیادی پلازمید، آنزیم محدود کننده می‌ریزیم و همچنین قطعه* **DNA***های برش خورده خود را به محیط پلازمیدها اضافه می‌کنیم. اساس قرار گرفتن قطعه* **DNA** *روی پلازمید برش خورده، نزدیکی این دو و ایجاد پیوند هیدروژنی است. بنابراین وقتی ما قطعه‌های* **DNA** *موردنظر خود را به محیط پلازمیدهای برش خورده اضافه می‌کنیم، تعدادی از پلازمیدها ممکن است اصلا به قطعه* **DNA** *نزدیک نشده و پیوند ایجاد نکنند. در این پلازمیدها قسمت برش خورده دوباره به هم می‌چسبد و این‌ها حاوی* **DNA** *ما نیستند. پس از این مراحل ما پلازمیدها را (که یکسری دارای* **DNA***ما اند و یکسری فاقد آن) به محیط باکتری‌ها اضافه می‌کنیم. باکتری‌ها نیز به طور تصادفی، پلازمیدها را از محیط برداشت می‌کنند (برای اینکه باکتری‌ها پلازمیدها را وارد خود کنند ما از روش های مختلفی از جمله ایجاد ولتاژ الکتریکی قوی استفاده می‌کنیم). به همین جهت تعدادی از باکتری‌ها ممکن است یا کلا پلازمید را برداشت نکنند یا اینکه پلازمیدهای فاقد قطعه* **DNA** *را بردارند. در پایان، پس از مدتی که تکثیر انجام شد، ما*

باکتری‌ها را در یک محیط کشت حاوی آنتی بیوتیک خاص وارد می‌کنیم و به این ترتیب فقط باکتری‌هایی زنده می‌مانند که پلازمیدهای حاوی قطعه **DNA** *را بردارند. در پایان، پس از مدتی که تکثیر انجام شد، ما باکتری‌ها را در یک محیط کشت حاوی آنتی بیوتیک خاص وارد می‌کنیم و به ان ترتیب فقط باکتری‌هایی زنده می‌مانند که پلازمیدهای حاوی قطعه* **DNA** *را برداشت کرده‌اند. سپس آن باکتری‌ها رالیزکرده و پلازمیدها را برمی‌داریم."*



تکنیک های Blotting

در بین این تکنیک‌ها، دو تکنیک Southern Blot و Northern Blot برای DNA بکار می‌روند. این تکنیک‌ها به پروب(Probe) و همچنین انواع مراحل هیبریدیزیشن (Hybridization) نیاز دارند.

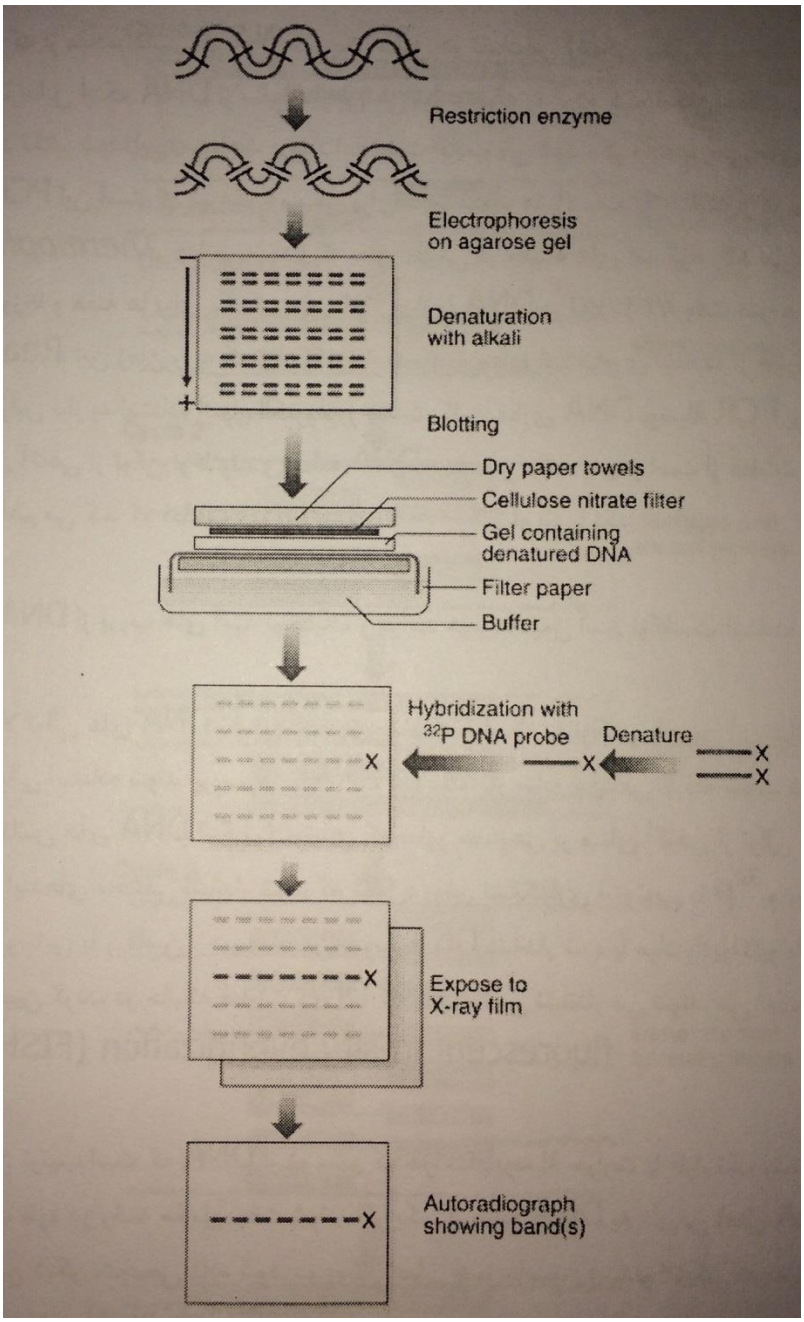
در Southern Blot ما ژنوم را به وسیله آنزیم‌های محدود کننده موجود، به قطعات مختلف تبدیل می‌کنیم البته اندازه قطعات مختلف است چون آنزیم‌ها به صورت تصادفی ژنوم را می‌برند. سپس یک ژل درست کرده و این قطعات DNA را روی آن سوار می‌کنند. سپس ژل را درون تانک الکتروفورز قرار می‌دهند. قطعات DNA براساس

اندازه مرتب می‌شوند به این صورت که قطعات کوچکتر راحت تر از بین ژل عبور می‌کنند و پایین تر قرار می‌گیرند و قطعات بزرگتر سخت تر عبور می‌کنند و به همین جهت بالاتر قرار می‌گیرند. سپس این ژل الکتروفورز شده را درون یک ظرف قرار می‌دهیم. در زیر ژل یک کاغذ فیلتر قرار می‌دهیم به گونه‌ای که کمی از مایع درون ظرف را جذب کند و مرطوب شود (ظرف حاوی مایع بافری است). بعد روی ژل هم یک غشای نیتروسلولزی (Cellulose Nitrate Filler) قرار می‌دهیم و نیز بر روی این غشا یک جسم سنگین می‌گذاریم تا حرکت نکند. هرچه که در ژل الکتروفورز شده قرار دارد، بر روی غشای نیتروسلولزی بالای آن نقش می‌بندد. علت استفاده از غشای نیتروسلولزی این است که ژل بعد از مدتی خشک می‌شود و بعد از خشک شدن شکننده می‌شود و قابل استفاده نیست. به همین جهت ما از این غشا استفاده می‌کنیم چرا که همیشه برای ما باقی می‌ماند و کارکردن با آن راحت است. بعد از اینکه ژل روی غشای نیتروسلولزی نقش بست، ما از یک پروب (Probe) استفاده می‌کنیم. پروب یک توالی اسید نوکلئیکی است که به طور اختصاصی به قسمت خاصی از DNA می‌چسبد (Probeهای مختلف به قسمت های مختلفی می‌چسبند و اختصاصی عمل می‌کنند). پروب مورد استفاده ما برای توالی مورد نظر ما طراحی شده و فقط به آن قسمت می‌چسبد. پس هرجا که پروب چسبید، توالی مورد نظر ما آنجاست. نکته‌ای که وجود دارد این است که Probe به DNA تک رشته‌ای می‌چسبد اما قطعات DNA ما دو رشته‌ای هستند. به همین جهت قبل از اینکه ژل الکتروفورز شده را درون ظرف قرار دهیم و غشای نیتروسلولزی را روی آن قرار دهیم، طی یک سری مراحل (مثل حرارت دادن، اوره زدن و...)، DNA را دناتوره (Denature) می‌کنیم و آن را به صورت تک رشته‌ای درمی‌آوریم. بعد از استفاده از پروب، از یک آشکارساز استفاده می‌کنیم تا قطعات DNAای که پروب‌ها به آن‌ها چسبیده‌اند را شناسایی و استنخراج کنیم. قبلا از X-Ray به عنوان آشکارساز استفاده می‌کردند.

نکته: امروزه واژه ژن به معنای یک ژن یک ژن، کمرنگ شده و از بین رفته‌است و بجای آن از واژه ژنوم استفاده می‌کنند. به مجموعه همه ژن هایی که در هسته یک سلول وجود دارد، ژنوم گفته می‌شود. این به این دلیل است که مثلا در یک فرد یک جهش ژنتیکی باعث ایجاد بیماری می‌شود در حالی که در یک فرد دیگر باعث بیماری نمی‌شود و طی بررسی‌هایی که انجام شد متوجه شدند که یک سری عوامل وجود دارند که از بروز این نقص جلوگیری می‌کنند مثلا مشاهده کردند که یک سری ژن های اصلاح کننده (Modifier Genes) وجود دارد که با عمل خود آن جهش و نقص ژنی در یکی از ژن‌ها را می‌پوشاند. به همین خاطر از واژه ژنوم به جای ژن استفاده کردند یعنی تعامل و interaction بین ژن‌ها و اینکه این تعامل بین ژن‌ها است که تعیین می‌کند یک سلول سالم باشد یا بیمار باشد. پروتئوم نیز به معنی مجموعه پروتئین‌های موجود در یک سلول می‌باشد و همچنین ترنسکریپتوم به معنی مجموعه RNAهای موجود در یک سلول می‌گویند.

در تکنیک Northern Blot ما به جای DNA از RNA استفاده می‌کنیم. کار کردن با RNA سخت است چرا که مقاومت پایینی دارد (برعکس DNA که بسیار مقاوم است) و زود از بین می‌رود. این روش مشابه

Southern Blot است با این تفاوت که چون مسیر انتقال ژل به غشای نیتروسلولزی، پر از آنزیم‌های تجزیه‌کننده RNA (Rnase) است، ما باید این ریبونوکلئازها را مهار و غیرفعال کنیم در غیر این صورت دیگر RNA باقی نمی‌ماند که ما ببینیم. این تکنیک کاربردهای خاصی دارد که چیزی نمی‌تواند جایگزین آن شود اما امروزه خیلی بیشتر، از تکنیک Real-time PCR استفاده می‌کنند.



قسمت دوم: محمدجواد هنرور

امروزه خیلی بیشتر از تکنیک Realtime PCR استفاده می‌کنند که برای کارهای بیانی و یا ژنتیکی (Gene Dosage) می‌تواند به کار رود.

اساس PCR

چگونه می‌توانیم تکه‌ای از DNA را تکثیر کنیم؟ این کار بسیار ایده‌اش آسان است. ما قطعه‌ای از DNA داریم. اگر بخواهیم میلیون‌ها بار از رویش ساخته شود باید در دو طرفش پرایمر بگذاریم و این بتواند DNA اصلی ما را به عنوان الگو قرار دهد و نوکلئوتید به نوکلئوتید آن را برای ما براساس آن الگو بسازد و برای اینکار باید از آنزیمی استفاده کنیم که این نوکلئوتیدها را یکی یکی (A، G، C، T) به هم بچسباند و از روی DNA همانندسازی کند و این کارها را بارها و بارها باید تکرار کنیم.

دستگاهی طراحی شده به نام Thermocycler (PCR machine) که PCR در آن انجام می‌شود یا به عبارتی دیگر دستگاهی که حرارت را در بازه‌های زمانی به صورت متناوب بالا و پایین می‌برد یا به عبارتی دیگر دستگاهی که حرارت را در بازه‌های زمانی به صورت متناوب تغییر می‌دهد به این صورت که یک قطعه DNA دو رشته‌ای را که ما در ابتدا داریم و در دستگاه در حرارت ۹۶ درجه قرار می‌گیرد و باعث می‌شود تمام دو رشته denature شود و از هم جدا شود سپس دما را کاهش می‌دهد. یک سری پرایمر طراحی می‌شود که سکانس‌هایی است که با ابتدا و انتهای قطعه‌ی مورد نظرمان کاملا مکمل اند. در این دمای پایین این پرایمرها می‌توانند در جایگاه‌های مورد نظر قرار بگیرند، بعد دما را کمی افزایش می‌دهد تا این‌ها بتوانند تکثیر بیابند و نقطه به نقطه رشته‌های DNA ساخته شود و در ظرف هم مقداری از نوکلئوتیدها، بافر، آب و آنزیم می‌ریزیم تا DNA بتواند ساخته شود و این مولکول تا آخر ساخته می‌شود (در زمانی معین مثلا ۱ دقیقه به آن زمان می‌دهیم که این زمان بستگی به طول قطعه‌مان دارد هرچه طولش بیشتر باشد زمان بیشتری لازم است) سپس دوباره دما را به ۹۶ درجه می‌بریم تا هرچه ساخته شده Denature شود و تک رشته‌ای شود و سپس مجددا دما را پایین می‌آوریم تا پرایمرها بچسبند بعد یک ذره دما را بالاتر می‌بریم تا هرچه غیراختصاصی چسبیده جدا شود و تا آخر تکثیر می‌کنیم. این چرخه را بارها و بارها تکرار می‌کنیم(حدود ۴۰ بار) و این یک کار تصاعدی است و بعد از ۴۰ دفعه تعداد بسیار زیادی از رشته مورد نظرمان ساخته می‌شود.

آنزیمی که در آن استفاده می‌شود (برخلاف بسیاری از آنزیم‌ها که معمولا در دمای ۹۶ درجه غیرفعال می‌شوند و در دمای ۳۷ درجه کار می‌کنند چرا که بسیاری از آنزیم‌ها پروتئینی هستند) را از باکتری‌های آب گرم استخراج کردند که به حرارت مقاوم است و در دمای بالا هم کار خود را انجام می‌دهد که به آن Taq DNA Polymerase می‌گویند. این آنزیم را از باکتری استخراج می‌کنند.

* دانستن دامنه‌ی PCR برای امتحان الزامیست.

PCR

فایده: بسیار کار را سریع کرد.

معایب: ۱- ما باید حتما توالی ناحیه مورد نظرمان را بشناسیم و تعیین توالی از آن داشته باشیم تا بتوانیم برای ابتدا و انتهایش پرایمر طراحی کنیم. ۲- این آنزیمی که ما در ۵۶، ۷۲ و ۹۶ درجه می‌بریم و مرتبا گرم و سرد می‌کنیم و از آن استفاده می‌کنیم تا حدی کارایی دارد (DNAپلیمرازهایی در بازار هستند که عمر بیشتری دارند یا دامنه دمایی آنها فرق می‌کند ولی بسیار گرانند). ۳- اندازه‌ی بهینه قطعه هدف در PCR ۱۰۰۰ باز است، البته تا ۲۰ الی ۳۰ کیلوباز هم می‌توانیم انجام دهیم.

انواع تکنیک PCR

Real-time PCR / GAP PCR / Tetra ARMS PCR / SSP PCR / ARMS PCR / RFLP PCR

در RFLP PCR یک تکه را که تکثیر کرده‌اند با آنزیم محدود کننده (RE) می‌برند (بخاطر همین به آن RFLP می‌گویند) و می‌گویند که قطعه مورد نظرمان بریده شد مثلا نقطه برش آنزیم را یک توالی‌ای قرار می‌دهند که مثلا آن توالی G است (در افراد سالم G است و در افراد بیمار تبدیل به A شده) در نتیجه این آنزیم در افراد سالم می‌برد در افرادی که بیمارند نمی‌برد پس در افراد سالم چون می‌برد مثلا یک ۵۰۰Kbp تبدیل به یک ۲۰۰ Kbp و ۳۰۰ Kbp شده و در بیماران همان ۵۰۰ Kbp را خواهیم داشت.

در ARMS PCR در انتهای ´۳ پرایمر اختصاصی برای این نقطه طراحی می‌شود. یعنی فردی که توالی G دارد یک پرایمر داشته باشد (فرد سالم) و برای بیماران هم که در آن نقطه به جایش توالی A وجود دارد پرایمر مکمل آن توالی طراحی می‌شود. یعنی هم DNA بیماران و هم DNA افراد سالم را تکثیر می‌کنیم. پرایمر forward و reverse هم به صورت مشترک بین سالم و بیمار می‌باشد.

بعد روی ژل می‌بریم تا ببینیم که پرایمر A یا پرایمر G در فرد کار کرده است. اگر دوتا پرایمر طراحی شده انتهای ´۳ هردو اختصاصی طراحی شود به آن SSP PCR می‌گویند. اساسشان تقریبا مثل هم است، همه در دستگاه‌های ترموسایکلر کار می‌کنند ولی در تکنیک‌ها تفاوت اندکی دارند.

GAP PCR

این تکنیک در تشخیص α تالاسمی خیلی به‌کار می‌رفت. در α تالاسمی در بیمارانمان حذف‌های بزرگی در ژن را داریم. دو پرایمر طراحی می‌کنیم که فاصله‌شان از هم خیلی زیاد باشد به صورت نرمال نمی‌تواند قطعه تکثیر شود ولی اگر کسی بیمار باشد به دلیل اینکه این قطعه حذف شده پرایمرها به یکدیگر نزدیک می‌شوند و قطعه تکثیر می‌شود. پس تکنیک GAP PCR براساس تکثیر یک ژن در صورت وجود حذف در آن می‌باشد و اگر تکثیر انجام شود نشان‌دهنده‌ی بیماری و وجود حذف خواهد بود.

نکته سوال دانشجو: فرق اصلی SSP PCR و ARMS PCR در این است که در SSP هردو انتهای پرایمر forward و reverseمان اختصاصی است اما در ARMS یکی از پرایمرها مثلا reverseمان بین همه مشترک است ولی forwardمان انتهای ۳´ اش فرق می‌کند.

جدول(۲) روشهای شناسایی جهش

Method	Known/Unknown Mutations	Example	Advantages/Disadvantages
Southern blot	Known (or unknown rearrangement)	Trinucleotide expansions in fragile X and myotonic dystrophy	Laborious
Sizing of PCR products	Known	p.Phe508del *CFTR* mutation; trinucleotide expansions in *HD* and *SCA* genes	Simple, cheap
ARMS-PCR	Known	*CFTR* mutations	Multiplex possible
Oligonucleotide ligation	Known	*CFTR* mutations	Multiplex possible
Real-time PCR	Known	Factor V Leiden	Expensive equipment
Conformation-sensitive capillary electrophoresis	Unknown	Any gene	High-throughput method that can use capillary sequencer platform
High-resolution melt	Unknown	Any gene	High sensitivity; high-throughput method
Sanger sequencing	Known or unknown	Any gene	Gold standard
Pyrosequencing	Known or unknown	Any gene	Expensive equipment
DNA microarray	Known or unknown	Any gene	High throughput; expensive equipment. Sensitivity to detect some types of mutations is limited
Next-generation 'clonal' sequencing	Known or unknown	Any gene	Expensive equipment, enormous capacity but vast amount of data to analyse and interpretation of novel variants can be difficult

Mutation Detection

روش‌های Mutation Detection شامل Southern Blot و همه چیزهایی که تا حالا گفتیم و انواع روش‌های PCRی که صحبت کردیم است.

در ARMS PCR حتما توالی مورد نظر باید شناسایی شده باشد.

در روش Sanger sequencing لزومی ندارد توالی شناسایی شده باشد و شناخته شده باشد و می‌توانیم در هر صورت کارمان را انجام دهیم.

انواع تکنیک‌های array مثل DNA array و انواع تکنیک‌های Sequencing مثل Pyrosequencing هم برای تشخیص جهش استفاده می‌شوند.

جهت استفاده از تکنیک های High tech یا NGS صرفه‌ی اقتصادی بسیار مهم است برای همین نمی‌تواند روتین استفاده شود و این جزو معایبش است.

HRM (High Resolution Melt) هم محدودیت‌های خاص خودش را دارد. فقط دستگاه Real time PCRی که کانال HRM داشته باشد می‌تواند استفاده شود.

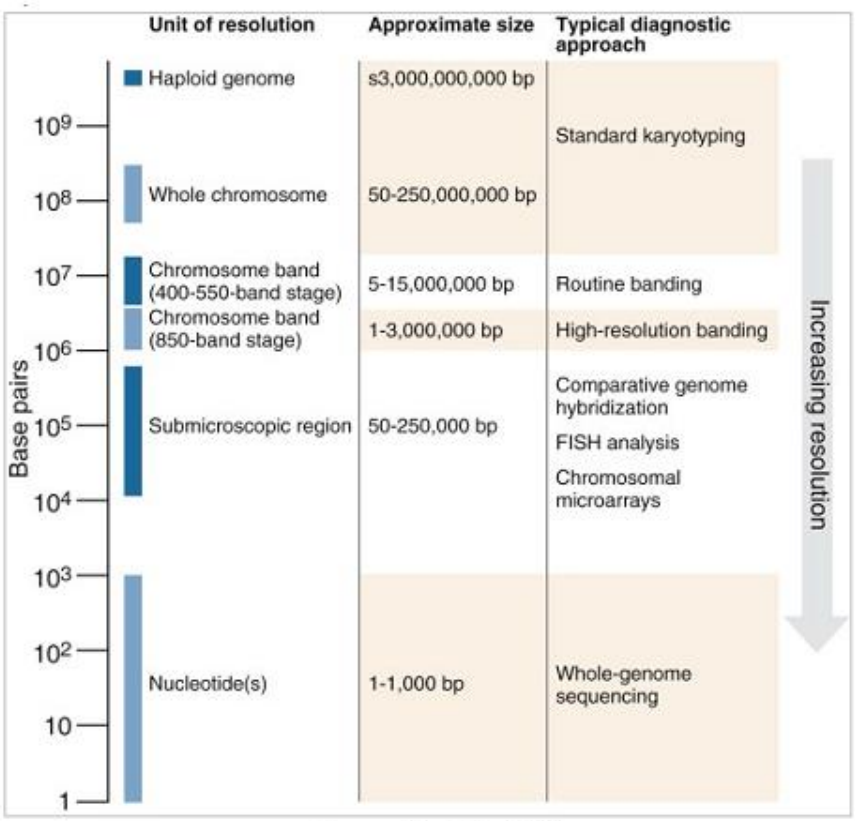
این‌جا مشخص می‌کند که انواع تکنیک‌ها که در سطح مولکولی و یا سایتوژنتیکی به کار می‌رود به چه صورت می‌تواند باشد.

کاریوتایپینگ

کروموزوم‌ها را براساس اندازه می‌چینیم.

انواع روش های banding وجود دارد که می‌توانیم کروموزوم‌ها را باند کنیم (کروموزوم‌ها به صورت تیره روشن تیره روشن باند می‌شوند)

حال می‌گوییم اگر از چنین تکنیک‌هایی استفاده کردیم باید رزولوشن ذکر شده را در نظر بگیریم.



شکل ۴ روشهای مختلف بررسی ژنوم

مثلا اگر داریم تکنیک کاریوتایپینگ Haploid genome را انجام می‌دهیم یا Whole chromosome را انجام می‌دهیم یعنی فقط کروموزوم‌ها را fix کردیم (رنگشان هم نکردیم) و داریم آن‌ها را می‌شماریم که آیا ۴۶ کروموزوم وجود دارد یا ندارد. جدول بالا به ما می‌گوید که رزولوشن (قدرت تفکیک-دقت کار) ما در حد ۳ میلیارد نوکلئوتید است (۳/۳ میلیارد نوکلئوتید در هر سلول در ۴۶ کروموزوم وجود دارد). حال اگر آن‌ها را band کردیم دقتمان بالاتر می‌رود. از ۵۰۰۰ Kbp تا ۱۰۰۰ Kbp را می‌توانیم شناسایی کنیم.

اگر می‌خواهید از روش‌های جدید استفاده کنید مثل NGS یا یک قطعه‌ای که دارید را اگر به کمک پرایمر نقطه به نقطه‌اش را بخوانید و توالی‌اش را بدست آورید می‌توانیم متوجه شویم که در یک نقطه خاص A، G، C یا T وجود دارد یا ندارد و فرد بیمار یا سالم است و رزولوشنش در حد یک نوکلئوتید می‌شود.

تکنیک‌هایی وجود دارد مثل کاریوتایپ. اگر نوزادی عقب ماندگی ذهنی داشته باشد یا هنگام ازدواج فامیلی یا ازدواج با خانواده پرخطر اولین قدم انجام کاریوتایپینگ است. کاریوتایپینگ کروموزوم‌ها را band، band کرده و به ما نشان می‌دهد. اگر هزار تا نوکلئوتید از بازوی بلند کروموزوم ۳ مثلا حذف شده باشد ما نمی‌توانیم در کاریوتایپ ببینیم. اگر بین ۵۰۰۰ Kbp تا ۱۰۰۰ Kbp (۱۰-۵ میلیون جفت باز یا حداقل ۳-۱ میلیون باز ☺) حذف شده باشد ما می‌توانیم با تکنیک کاریوتایپ متوجه شویم. انواع تکنیک‌های whole genome sequencing رزولوشنش یک نوکلئوتید است یعنی اگر یک نوکلئوتید حذف یا اضافه یا جابجا شده باشد ما متوجه می‌شویم.

انواعی از تکنیک‌ها نیز هستند که رزولوشنشان بین ۵۰ تا ۲۵۰ Kbp است مثل انواع روش‌های FISH، Array، Array CGH و High resolution binding.

موقعی که یک سلول را در مرحله متافاز fix می‌کنند (یعنی مرحله‌ای که هر کروموزوم در حال ساخت مشابه خودش می‌باشد) سپس کروموزوم را رنگ می‌کنند و از آن عکس برداری می‌کنند حتی اگر کیفیت عکس خیلی خوب باشد به علت overlap کروموزوم‌ها نمی‌توان اجزای آنها را به درستی تشخیص داد. نرم افزارهایی وجود دارد که به کاریوتایپینگ خیلی کمک می‌کنند مثلا اندازه یا banding مشابه را تشخیص می‌دهند اما این نرم افزارها خطایشان زیاد است و نیازمند یک متخصص می‌باشند. کروموزوم‌ها کنار هم به صورت جفت جفت و به ترتیب اندازه چیده می‌شوند (کروموزوم های جنسی بدون توجه به اندازه‌شان در آخر چیده می‌شوند). یک سری از کروموزوم‌ها خصوصیاتی برای خودشان دارند که باعث شناسایی راحتتر آنها می‌شود. برای مثال Y فقیرترین(از نظر ژنی) کروموزوم ما است و به درد ما نمی‌خورد یا کروموزوم X اندازه‌ای مابین کروموزوم ۶ و ۷ دارد و ژن‌های بسیار مهمی در آن وجود دارند.

توجه کنید که در این اسلاید گفته شده که اگر banding کروموزوم‌ها ۴۰۰-۵۵۰ باز باشد (مثلا رزولوشنش در این حد است)، قسمت‌های حذف شده تا ۵ میلیون جفت باز را تشخیص دهد. اگر banding را با ۸۵۰ باند (رزولوشن بالا) انجام دهیم می‌تواند حذف های یک میلیونی را هم نشان دهد. برای افزایش banding باید در متافاز

یک سری treatهایی انجام داد تا کروموزوم‌ها باریک‌تر و بلندتر شوند یعنی از انجام banding در مرحله‌ای از متافاز که تراکم بسیار بالاست جلوگیری کنیم.

انواع روش‌های باندینگ

G banding : روتین ترین روش banding

C banding : فقط ناحیه سانترومر رنگ آمیزی می‌شود. بیشترین کاربرد آن برای شمارش کروموزوم‌ها است.

Q banding

R banding

Banding با نیترات نقره: فقطکروموزوم‌هایی که آکروسانتریک هستند بیشتر مد نظرمان هستند (کروموزوم آکروسنتریک کروموزومی است که سنترومر آن تقریبا نزدیک انتهای کروموزوم است [ما ۵ کروموزوم آکروسنتریک داریم])

استاد در این قسمت تاکید به دقت کار رنگ آمیزی و همچنین دشواری مشاهده باندها در میکروسکوپ دارند و اینکه کاریوتایپ تنها حذف های بزرگ را نشان می‌دهد.

قسمت سوم: فرزاد اسماعیلی

تکنیک FISH

تکنیک FISH با استفاده از فلورسنت‌ها انجام می‌شود. یکی از حالت‌هایی که تکنیک FISH در آن کاربرد دارد موارد numerical و شمارشی است. برای مثال در یک آنالیز FISH سنترومر کروموزوم ۳ را قرمز و سنترومر کروموزوم ۷ را سبز می‌کنند. بنابراین براساس دیدن تعداد نقاط قرمز و سبز می‌توان درباره‌ی تعداد کروموزوم‌های ۳ و ۷ قضاوت کرد. این کار را می‌توانند با همه‌ی کروموزوم‌ها انجام دهند یعنی می‌توانند برای همه‌ی سنترومرها یک پروب طراحی کنند. بعد این پروب‌ها را با مواد فلوئورسانس رنگ آمیزی کنند پس پروب به هرجایی که متصل شد ما آن رنگ را می‌بینیم و می‌توانیم تشخیص دهیم که این ۴۶ کروموزوم ما وجود دارد یا خیر.

یکی دیگر از موارد استفاده از تست FISH برای سندرم داون است. که در آن کروموزوم ۲۱ را قرمز می‌کنند بنابراین در افراد مبتلا به سندروم داون ۳ نقطه قرمز مشاهده خواهد شد که از دقت بسیار بالایی برخوردار است.

مثالی دیگر از موارد استفاده از FISH سندروم Wolf-hirschhorn است. برای تشخیص آن سنترومر کروموزوم ۴ را زرد می‌کنند و انتهای کروموزوم ۴ را قرمز می‌کنند. چون در افراد مبتلا به این سندروم قطعه‌ای نزدیک

به انتهای کروموزوم حذف می‌شود. در نتایج این تست این طور مشاهده می‌شود که ۲ نقطه‌ای زردرنگ وجود دارد اما یک نقطه‌ی قرمز رنگ وجود دارد. چرا که ما ۲ کروموزوم ۴ داریم اما یکی از آن‌ها قطعه‌ای نزدیک به انتهای بازوی کوتاه آن حذف شده پس یکی از آن‌ها رنگ قرمزی را به ما نشان نمی‌دهد.

این حذف در انتهای بازوی کوتاه کروموزوم ۴ به قدری کوچک است که در کاریوتایپ و بندینگ مشاهده نمی‌شود و فقط با طراحی پروب تشخیص آن میسر می‌شود.

روش‌های تشخیص جهش‌ها

در بیماری‌ای مثل Friedreich's ataxia تکرارهایی مثل GAA بسط داده شده‌اند یعنی در افراد بیمار تکرار توالی GAA چندین برابر بیشتر از افراد عادی است. این «تکرارهای سه‌تایی افزایش یافته» در بیماری‌های دیگری مثل هانتینگتون، سندرم fragile X و انواع میوتومی‌ها نیز مشاهده می‌شود.

آزمایش لازم جهت تشخیص تکرارهای ۳تایی افزایش یافته انجام Sizing ژن به وسیله الکتروفورز است. بنابراین ژن موردنظرمان را می‌بریم و روی ژل الکتروفورز می‌بریم. فردی که در ژنش تکرار بیشتری داشته باشد و ژنش بزرگتر باشد (که بیمار است) چون اندازه قطعه DNA آن بزرگتر است. در نواحی بالاتر ژل الکتروفورز قرار می‌گیرد. حال ممکن است در نتیجه الکتروفورز ۲ حالت مشاهده کنیم: یکی حالتی که هر ۲ ژن او معیوب است و تکرار دارد(هموزیگوت) و حالت دیگر اینکه یکی از الل‌هایش سالم است و الل دیگرش معیوب است و تکرار اضافی دارد(هتروزیگوت).

نکته: همیشه در الکتروفورز یک ستون چیزی در آن نیست چرا که همیشه یک مورد را می‌گذاریم PCR شود اما در آن هیچ نمونه‌ای نمی‌گذاریم، به این «کنترل منفی» می‌گوییم. در این مورد نباید باندی ببینیم، چرا که اگر باندی در آن دیده شود نشاندهنده‌ی آلودگی بافر و یا آب ما به DNA است.

نکته: تفاوت ژل ۱ درصد با ژل ۵ درصد این است که ژل ۵ درصد چون غلیظ‌تر است باعث می‌شود حرکت آهسته‌تر شود بنابراین تشخیص و تمایز قطعات کوچک و از نظر اندازه نزدیک به هم میسر می‌سازد. چرا که اگر ژل رقیق شود و حفرات آن بزرگ شود قطعات همگی پایین می‌آیند و روی هم تجمع پیدا می‌کنند.

جهش C282Y در ژن HFE

این جهشی است که به سبب آن آمینواسید C (Cysteine) در موقعیت ۲۸۲ به آمینواسید Y (Tyrosine) تبدیل می‌شود. برای تشخیص این جهش ابتدا ژن موردنظر را با ۲ پرایمر تکثیر می‌کنند که حاصل آن یک قطعه‌ی ۳۸۷ بازی است. این قطعه‌ی ۳۸۷ بازی اگر با آنزیم Rsa I بریده شود یک قطعه‌ی ۲۴۷ و یک قطعه‌ی ۱۴۰ بازی به ما می‌دهد (در حالت سالم).

حال اگر جهش وجود داشته باشد یک محل برش جدید بوجود می‌آید و قطعه‌ی ۱۴۰ تایی به ۲ قطعه‌ی ۲۹ تایی و ۱۱۱ تایی بریده می‌شود، که باند ۲۹ آنقدر کوچک است که از ژل اوت می‌شود (تکنیک RFLP). بنابراین در فرد بیمار هموزیگوت ما ۲ باند ۲۴۷ و ۱۱۱ مشاهده می‌کنیم و در فرد بیمار هتروزیگوت ما ۳ باند ۲۴۷، ۱۴۰ و ۱۱۱ مشاهده می‌کنیم درحالی که در فرد سالم ۲ باند ۲۴۷ و ۱۴۰ دیده می‌شود.

Real-time PCR

در این روش وقتی هر سیکل انجام می‌شود به صورت کمی به ما نشان می‌دهد که توالی موردنظر ما چقدر دارد تکثیر می‌شود.

اساس کارش این است که علاوه بر ۲ پرایمر، یک پروب هم در وسط وجود دارد. انتهای پروب یک reporter و یک quencher وجود دارد. وظیفه‌ی quencher این است که سیگنال فلوئورسانسی را که reporter دارد ساطع می‌کند، جذب کند. وقتی همانندسازی توالی DNA پیش می‌رود و آنزیم DNA پلیمراز به پروب می‌رسد، پروب تجزیه می‌شود، در نتیجه reporter از دسترس quencher خارج می‌شود. پس سیگنالی که reporter از خود ساطع می‌کند دیگر توسط quencher جذب نمی‌شود و دستگاه این سیگنال را detect می‌کند و یک پیک را در نمودار به ما نشان می‌دهد. بنابراین در آن واحد می‌توانیم روند پیشبرد فرآیند را ببینیم.

تکنیک‌های Array-based

یکی از این روش‌ها، تکنیک microarray است.

ابتدا روی یک سری چیپ خاص مثلا تمام ژن‌هایی که با سرطان سینه در ارتباط هستند را قرار داده‌اند. بعد ما نمونه DNA خون فرد سالم و بیمار را به دست می‌آوریم و نمونه DNA فرد سالم را سبز و نمونه DNA فرد بیمار را قرمز می‌کنیم. حال وقتی این نمونه‌های DNA می‌خواهند به جایگاه‌های مکمل خود روی چیپ microarray بچسبند چند حالت امکان دارد:

۱- ممکن است از یک ناحیه یک سیگنال زرد ببینیم که این نشان‌دهنده‌ی آن است که در آن جایگاه خاص هم نمونه فرد سالم و هم نمونه فرد بیمار متصل شده‌اند.

۲- هم‌چنین ممکن است از جایگاه‌هایی سیگنال سبز ببینیم که به این معناست که در آن جایگاه نمونه سالم بیشتر بوده‌است بنابراین فرد بیمار از این نواحی بیان نداشته یا این ژن‌هایش دچار مشکل یا حذف است.

۳- از جایگاه‌هایی که سیگنال قرمز می‌بینیم به این معناست که در آن جایگاه نمونه بیمار بیشتر بوده بنابراین فرد بیمار در این نواحی یا مضاعف شده یا اینکه بیش از حد دارد بیان می‌شود.

در نهایت نرم‌افزار براساس شدت و رنگ سیگنال‌ها برای ما آنالیز می‌کند که کدام ژن‌ها دچار مشکل است.

یکی از بهترین کاربردهای array طراحی چیپ‌هایی است که روی آنها کلیه ژن‌ها گذاشته شده‌اند. این حالت برای بیماری‌هایی به‌کار می‌رود که ما اصلا نمی‌دانیم دنبال چه ژن‌هایی هستیم. مثلا اخیرا بیماری‌ای مشاهده شد که در آن فرد دارای پوست فلس‌مانند بود. یکی از بهترین روش‌هایی که به ما کمک می‌کنند تا متوجه شویم که کدام ژن‌ها دخیل هستند انجام microarray برای کل ژنوم است.

تکنیک های Sequencing

در لوله‌های آزمایش ۴ نوکلئوتید را می‌ریزیم، اما علاوه بر این‌ها به هر لوله نسبتی از یکی از ۴ دی داکسی نوکلئوتیدها را (ddNTP) هم اضافه می‌کنند. (مثلا به لوله ۱ ddATP ، به لوله ۲ ddTTP ، به لوله ۳ ddGTP و به لوله ۴ ddCTP) این دی داکسی نوکلئوتیدها که هرکدام با رنگ فلوئورسانس متفاوتی نشاندار شده‌اند. فاقد گروه هیدروکسیل در موقعیت کربن ۳ خود می‌باشند بنابراین وقتی سنتز به آنها رسید نوکلئوتیدی بعد از آنها نمی‌تواند بچسبد و فرآیند متوقف می‌شود. در نتیجه به طور اتفاقی قطعاتی با طول‌های مختلف (کوتاه و بلند) ایجاد می‌شود که روی ژل برده می‌شوند و به ترتیب می‌توان فهمید که هر جایگاه دارای کدام نوکلئوتید است.

در حال حاضر تکنیک آن خیلی پیشرفته‌تر شده است به این صورت که ابتدا یک توالی DNA را با یک پرایمر می‌خوانیم بعد با استفاده از نوکلئوتیدهایی که هر کدام با رنگ فلوئورسانس متفاوتی نشاندار شده‌اند، فرآیند توالی‌یابی را شروع می‌کنیم. در طی این فرآیند وقتی هر نوکلئوتید بر سر موقعیت خود قرار گرفت یک سیگنال رنگی مخصوص آن نوکلئوتید ساطع می‌شود مثلا اگر نوکلئوتید C نشست سیگنال آبی، اگر نوکلئوتید T نشست سیگنال سبز، اگر نوکلئوتید A نشست سیگنال قرمز و اگر نوکلئوتید G نشست سیگنال سیاه ساطع می‌شود. این سیگنال‌ها توسط دستگاه شناسایی می‌شوند و توالی نوکلئوتیدها یکی‌یکی مشخص می‌شود.

در نهایت این توالی به‌دست آمده را با توالی یک فرد سالم تطابق می‌دهیم و متوجه می‌شویم که کجای آن تغییر پیدا کرده است.

روش دی داکسی Sanger

این روش بر روی مخلوط ۴ واکنش به طور همزمان انجام می‌شود. در تمام این مخلط‌ها از یک **DNA** *پلیمراز جهت ساختن توالی مکمل یک مولکول* **DNA** *تک رشته‌ای استفاده می‌شود. سنتز از قطعاتی آغاز می‌شود که توسط روش‌های شیمیایی سنتز شده‌اند و مکمل بخشی از توالی* **DNA** *می‌باشد. علاوه بر ۴ نوع* **dNTP** *یا داکسی ریبونوکلئوتید تری فسفات هر مخلوط حاوی مقدار کمی* **۲´ و ۳´-دی داکسی یکی از نوکلئوتیدها می‌باشد. (ddNTP)** *که هرکدام با رنگ فلوئورسانس متفاوتی نشاندار شده‌اند (مثلا به لوله ۱* **ddATP**، *به لوله ۲* **ddTTP**، *به لوله ۳* **ddGTP** *و به لوله ۴* **ddCTP** *اضافه می‌شود).*

اتصال این **ddNTP**ها *رشد بیشتر زنجیره جدید را متوقف می‌کند زیرا این آنالوگ فاقد انتهای ۳'-هیدروکسیل مورد نیاز برای تشکیل پیوند فسفودی استر بعدی است. اما غلظت آنالوگ دی داکسی به حدی پایین است که خاتمه همانندسازی زنجیره تنها در بعضی اوقات رخ می‌دهد. یعنی پلیمراز در بعضی مواقع نوکلئوتید صحیح را متصل می‌کند و گاهی اوقات آنالوگ دی داکسی را متصل کرده و واکنش را متوقف می‌نماید. به عنوان مثال اگر* **ddATP** *وجود داشته باشد، قطعاتی با طول‌های مختلف تولید می‌شوند اما همه‌ی آنها به* **ddATP** *ختم می‌شوند.*

سپس ۴ مجموعه قطعات خاتمه یافته زنجیره (هرکدام برای یک آنالوگ دی‌داکسی) الکتروفورز شده و توالی بازی **DNA** *جدید خوانده می‌شود. یک نشانگر فلوئورسانس به هر آنالوگ دی‌داکسی متصل می‌شود که هر نشانگر دارای یک رنگ متفاوت برای هریک از چهار خاتمه دهنده زنجیره است. پس از انجام واکنش و الکتروفورز، نوارهای جداشده* **DNA** *توسط فلوئورسانس آشکار می‌شوند و ترتیب رنگ‌های آنها مستقیما توالی بازی را نشان می‌دهد.*

تکنیک Multiple Ligation-dependent Probe Amplification MLPA

اساس این تکنیک بر ligation است و ما به کمک پروب‌هایی که مشترک هستند می‌توانیم چندین ناحیه را به‌طور همزمان بررسی کنیم. بعد از چسبیدن پروب، پرایمرها هم تعریف می‌شوند. یعنی این تکنیک براساس هم پروب و هم پرایمر می‌باشد.

QF-PCR

این روش براساس STRها کار می‌کند. STRها یا Short Tandem Repeats توالی‌هایی شامل ۲ تا ۱۳ نوکلئوتید هستند که صدها بار در یک رشته DNA تکرار شده‌اند. این STRها می‌توانند خیلی متنوع باشند و تعداد تکرار آن‌ها در افراد مختلف متفاوت است.

از STRها برای مسائل فرزند-والدی استفاده می‌شود به این معنی که هر بچه‌ای تعداد تکرارها را از والدین خود به ارث برده‌است. در نتیجه مثلا ۱۴ موقعیت مختلف را در نظر می‌گیریم و STRهای آن را بررسی می‌کنیم. این کار را هم برای پدر و هم برای مادر و هم برای فرزند انجام می‌دهیم.

از STRها برای تشخیص سریع آنیوپلوئیدی های مهم استفاده می‌شود (آنیوپلوئیدی‌های ۱۳، ۱۸ و ۲۱ و X و Y برای ما خیلی مهم است). در حالت عادی از این STRهای خاص فرد باید ۲ نسخه داشته باشد که به صورت ۲ پیک در نمودار نشان داده می‌شود اما مثلا در فردی که تریزومی ۲۱ دارد، ۳ پیک در نمودار مشخص می‌شود یا یک پیک خیلی بلند (حامل ۲ پیک عادی) و یک پیک عادی در نمودار مشخص می‌شود.

موفق باشـــید

ژنتیک

جلسه چهارم ۱۳۹۵/۰۸/۲۶

مدرس: **خانم دکتر غفوری‌فرد**

گروه ۷: محمدمهدی دهقان ، محمدامین ترابی
محمدحسین عباسنژاد ، طه ایرانی

مبحث جلسه: ژنتیک سرطان

--- بخش اول : امین ترابی ---

به طور کلی ، سرطان یک بیماری ژنتیکی در سطح سلول است . این به معنی آن نیست که همه ی سرطان ها توارثی هستند ، بلکه به علت تجمع جهش های سوماتیک در درون سلول ایجاد می شود . جهش در ژن های متعدد ، در ایجاد سرطان نقش اصلی را دارد . اغلب ژن هایی که در روند سرطان دچار جهش می شوند ژن هایی هستند که در فرایند سیکل سلولی ، تمایز سلولی ، پرولیفراسیون و یا تنظیم آپوپتوز نقش دارند . در حالی که سرطان یک بیماری ژنتیکی می باشد ، بخشی از سرطان ها به صورت توارثی با الگوی مندلی به ارث می رسند . سرطان های محدودی وجود دارند که الگوی توارث مندلی دارند (مثلا از راه اتوزومال غالب در یک شجره منتقل می شوند) . علاوه بر عوامل ژنتیکی ، عوامل محیطی نیز در ایجاد سرطان و predisposition به سرطان نقش دارند .

--- در اسلاید ها : در خیلی از سرطان ها عوامل محیطی نقش مهمی دارند ، در حالی که وراثت نقش کمتری را ایفا میکند . ---

سرطان های صنعتی

سرطان هایی هستند که به علت مواجهه با یک ماده ی کارسینوژن خاصی که در یک صنعت خاصی به وفور وجود دارد ، ایجاد می شود .

مانند انواعی از سرطان های پوست که در کارگرهایی که با ماده ی تار کار می کنند ایجاد می شود ، یا بعضی از انواع سرطان های مثانه که به علت مواجه با رنگ های آنیلینی ایجاد می شوند .

نکته : در همه ی افرادی که با رنگ های آنیلینی مواجه می شوند سرطان ایجاد نمی شود . این به علت پلی مورفیسم در ژن های خاصی است (به خصوص سیتوکروم اکسیداز ها) که منجر به ایجاد حساسیت در این افراد می شود . یعنی اگر افراد مختلف را با دوز های خاصی از این رنگ ها مواجه کنید ، بعضی از آنها به علت تحولاتی که در متابولیسم مواد کارسینوژن دارند با سرعت بیشتری به سرطان مبتلا می شوند .

مثال دیگری از سرطان های صنعتی ، آنژیوسارکوم کبدی است که نوع نادری از سرطان های کبدی می باشد و در کارگرانی مشاهده می شود که با پلی وینیل کلراید (polyvinyl chloride) کار می کنند .

نوعی سرطان پرده ی جنب وجود دارد به نام سرطان مزوتلیوم که جزو سرطان های ریه طبقه بندی می شود ولی منشأ آن ، پرده ی جنب می باشد و بافت ریه درگیر نیست . این نوع سرطان در کارگرانی که با آزبست تماس دارند دیده می شود و سرطان بسیار نادری است .

همان طور که پیشتر گفته شد ، حتی در رابطه با سرطان هایی که یک ماده کارسینوژن محیطی به شکل مستقیم در ایجاد سرطان نقش دارند ، باز هم عوامل ژنتیکی در ایجاد predisposition به این سرطان نقش دارند . یعنی تمام کسانی که با این مواد شیمیایی مواجه می شوند سرطان نمی گیرند بلکه در افرادی که استعداد ژنتیکی دارند ، آن سرطان خاص دیده می شود .

ماده ی شیمیایی دیگری که ارتباطش با سرطان به خوبی مشخص شده ، دود سیگار است که با سرطان های متعددی از جمله سرطان ریه و سرطان مثانه ارتباط دارد . اما در همه ی سیگاری ها این نوع سرطان ها دیده نمی شود و این یعنی به عوامل ژنتیکی مرتبط است . در افراد سیگاری ای که طول تلومر های کوتاه تری دارند ، احتمال ابتلا به سرطان ریه در مواجهه با دود سیگار بیش از افرادی است که طول تلومر آنها بلندتر است .

نکته : تلومر ها ساختار های حفاظتی انتهای کروموزوم ها هستند . زمانی که طول تلومرها کوتاه شود و به حد خاصی برسد سلول ها وارد فرایند پیری و آپوپتوز می شوند . اگر سلولی خود به خود از بین نرود و طول تلومرش کوتاه باشد ممکن است انواع جهش ها در این سلول رخ دهد (--- *و این یعنی آغاز سرطان* ---) . بنابرین طول تلومر که توسط عوامل ژنتیکی کنترل می شود می تواند در ایجاد استعداد به یک سرطان نقش داشته باشد .

انواع ژن های مؤثر در سرطان

اساس ایجاد سرطان جهش می باشد که این جهش ها می تواند در ژن های متعددی رخ دهد . سه دسته ژن وجود دارد که به طور خاص با فرایند سرطان زایی ارتباط دارند .

دسته ی اول : (tumor suppressor genes یا ژن های سرکوبگر تومور) . این ژن ها ، در صورتیکه فعالیت طبیعی داشته باشند می توانند فرایند سرطان زایی را سرکوب کنند . اینها عمدتا در کاهش پرولیفراسیون سلول ها ، ایجاد آپوپتوز و تنظیم سیکل سلول نقش دارند .

دسته ی دوم : (proto-oncogenes) می باشند که این ها نیز بیشتر در سیکل سلولی و پرولیفراسیون نقش دارند . افزایش فعالیت بی رویه ی آنها ، منجر به ایجاد سرطان می شود . افزایش فعالیت آنها به صورت های مختلفی رخ می دهد : مثلا زمانی که نسخه های ژنتیکی آنها افزایش پیدا کند (amplification) یا این که جا به جایی کروموزومی رخ دهد که این ژن را تحت کنترل پروموتر قوی تری ببرد و بیان این پروتوانکوژن افزایش یابد . (در tumor suppressor genes معمولا جهشی که رخ می دهد و منجر به سرطان زایی می شود باعث از بین رفتن عملکرد این ژن ها می شود .)

دسته ی سوم : (DNA mismatch repair genes) ژنهایی هستند که در ترمیم DNA آسیب دیده نقش دارند . DNA در اثر عوامل محیطی مانند اشعه های یونیزان یا مواد کارسینوژن محیطی دچار تغییرات و شکستگی هایی می شود . حتی خود فرایند replication DNA نیز می تواند با مشکلاتی همراه باشد که در DNA یک mismatch و اختلالی در ساختار DNA ایجاد شود .

منظور از mismatch در فرایند replication : مثلا پس از باز شدن دو رشته ی نوکلئوتیدی DNA و ساخته شدن رشته ی مکمل ، آدنین در مقابل سیتوزین قرار بگیرد . در این موارد سیستم ترمیم DNA نوکلئوتید اشتباه را با نوکلئوتید صحیح جایگزین می کند . اگر جهشی منجر به تخریب عملکرد این ژن ها بشود (--- *جهش رخ داده و در نتیجه* ---) سرطان رخ می دهد .

تا کنون بیش از ۳۰۰ تا ۳۵۰ ژن شناخته شده است که جهش سوماتیک در آنها به وفور در سرطان ها دیده می شود . حدود ۷۰ تا ۸۰ ژن از این ژن ها هستند که جهش germline نیز در آنها دیده می شود . یعنی جهش هایی که در گامت ها ایجاد می شوند و قابل توارث به نسل بعدی هستند . جهش های سوماتیک لزوما در گامت ها وجود ندارند . (منظور از جهش سوماتیک ، جهشی است که فقط در بافت سرطانی مشاهده می شود ولی در سلول های دیگر فرد مشاهده نمی شود)

نکته ی سوال دانشجو : جمله " اکثر سرطان ها ارثی هستند اشتباه است " . سرطان یک بیماری ژنتیکی است . این به معنی آن نیست که توارثی است . بلکه یعنی در سطح ژنوم سلول سرطانی فرد اختلالات ژنتیکی رخ داده . اگرچه

سرطان یک بیماری ژنتیکی است ولی در حد خیلی کمی از سرطان ها توارثی هستند . اکثر جهش های سرطان زا سوماتیک اند و در حد کمی از آنها germline و قابل توارث . برای مثال در مورد breast cancer که سرطان شایعی است و نقش ژنتیکی نیز در آن پررنگ می باشد ، کمتر از ۱۰ درصد موارد آن توارثی است . جهش در ژن های Brc.1 و Brc.2 در حدود ۱۰ درصد از افرادی که مبتلا به Breast cancer می شوند دیده می شود . اگر این جهش ها وجود داشته باشد بالای ۸۰ درصد تا سن ۶۰ سالگی به Breast cancer مبتلا می شوند و ۵۰ تا ۶۰ درصد مبتلا به ovarian cancer می شوند . در واقع ژن هایی هستند که نفوذ بالایی دارند ولی در عین حال کمتر از ۱۰ درصد موارد سرطان سینه را شامل می شود . ۹۰ درصد موارد آن سوماتیک می باشد .

از هر ۸ خانم ، یک نفر در معرض breast cancer است . زمانی که یک بیماری این چنین شایع است احتمال ابتلای دو نفر در یک خانواده بدون زمینه ی ژنتیکی نیز وجود دارد . بنابرین اگر در یک خانواده ، دو نفر به سرطان سینه مبتلا هستند لزوما به معنی آن نیست که این خانواده جهش ژنتیکی خاصی دارند .

تفکیک بین فاکتور های ژنتیکی و محیطی در سرطان

استعداد ابتلا به سرطان توسط interaction عوامل متعدد محیطی و ژنتیکی اتفاق می افتد .

--- در درسنامه : در بسیاری از سرطانها ، معمولا نمی توان فاکتورهای ژنتیکی و محیطی را از یکدیگر تفکیک نمود . در اکثر سرطان های انسانی نمی توان خط واضحی میان عوامل ژنتیکی و فاکتورهای محیطی رسم کرد . در سرطان های شایع ویژه ای مانند سینه و روده ، فاکتور های ژنتیکی نقش مهمی را بازی می کنند ، اما این امر همیشه صادق نمی باشد . ---

اگر جهش germline وجود داشته باشد شانس ابتلا بسیار بالا می رود (سرطان های فامیلی) . مثلا جهش در ژن P53 امکان ابتلا به انواع سرطان ها را بیشتر می کند و یا جهش در Brc.1 که فرد بالای ۹۰ درصد مبتلا به سرطان سینه می شود .

ولی ترکیبی از عوامل محیطی مثل Life style ، وضع تغذیه ، فعالیت بدنی و ... در کنار یک سری عوامل ژنتیکی مانند واریانت های سایتوکاین ها و ... باعث می شوند که استعداد ابتلا به سرطان در یک خانواده بیش از خانواده های دیگر باشد . که با اقداماتی می توان ریسک ابتلا را در این خانواده کاهش داد . *--- یعنی با مداخله در عوامل محیطی ---*

تشخیص اینکه در یک سرطان شایع (در یک جمعیت خاص) آیا عوامل محیطی مشخصی نقش اصلی را دارند یا عوامل ژنتیکی ، در اغلب موارد بسیار دشوار است . زیرا بسیاری از سرطان های شناخته شده الگوی مشخص توارث

مندلی ندارند . از طرف دیگر بسیاری از سرطان ها را می توان به طور دقیق به یک عامل محیطی خاص ربط داد .

برای تشخیص این که عوامل ژنتیکی و محیطی چگونه در ایجاد سرطان ها نقش ایفا میکنند ، مطالعاتی انجام شده از جمله مطالعات اپیدمیولوژیک ، خانوادگی ، دوقلوها ، ارتباط سرطان ها با بیماری های دیگر ، ارتباط گروه های خونی با سرطان ها ، عوامل بیوشیمیایی و مطالعه بر روی حیوانات .

مطالعات اپیدمیولوژیک

برای مثال در رابطه با breast cancer یکسری ریسک فاکتور های محیطی مطرح شده اند .

خانم هایی که بچه دار نمی شوند بیشتر در معرض خطر breast cancer می باشند و خانم هایی که فرزند بیشتری را شیر می دهند ، کمتر در معرض خطر breast cancer می باشند . بنابرین شیردهی به عنوان یک عامل protective بر ضد سرطان سینه مطرح است .

هرچه سن خانم در بارداری اول کمتر باشد ریسک سرطان سینه کمتر است .

هرچه طول مدتی که فرد در معرض هورمون های جنسی زنانه باشد ، فرد را بیشتر در معرض سرطان سینه قرار میدهد . یعنی هرچه سن بلوغ فرد کمتر و سن یائسگی آن بیشتر باشد ، این فرد بیشتر در معرض breast cancer می باشد .

مطالعات اپیدمیولوژیک همچنین نشان دادند که breast cancer در یک نواحی جغرافیایی خاص به خصوص در آمریکای شمالی و اروپای غربی بسیار شایع تر و بر خلاف آن در چین و ژاپن ، شیوع آن بسیار کمتر است . (۸ برابر کمتر از شیوع آمریکا و اروپای غربی)

مطالعه بر روی مهارجان می تواند در افتراق تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی در جمعیت یک منطقه موثر باشد . برای مثال ، افرادی از آمریکا به ژاپن مهاجرت کنند و life style و وضع تغذیه و ... ژاپنی ها را تقلید کنند . سپس ریسک ابتلا به سرطان سینه را در این افراد مطالعه و بررسی کنند که آیا شبیه به جمعیت آمریکایی است یا ژاپنی . اگر شبیه به ژاپنی ها بود تأثیر عوامل محیطی بیشتر و اگر شبیه به آمریکایی ها بود تأثیر عوامل ژنتیکی بیشتر است .

این نوع مطالعه نشان داد : فردی که به محل دیگری مهاجرت می کند ، ریسک ابتلا به سرطان سینه در آن فرد مانند افراد آن منطقه می شود . بنابرین عوامل محیطی و life style نقش پررنگ تری در ابتلا به سرطان سینه دارند .

در مورد gastric cancer : سرطان معده در خانواده هایی که سطح socioeconomic پایین تری دارند شایع است .

موادی نیز در ارتباط با ریسک سرطان معده هستند مانند نمک ها ، مواد نگهدارنده ، کنسرو ها و غذاهای آماده ، نیترات موجود در آب و مواد غذایی ، و ... .

--- در اسلاید ها : نمک ها و مواد نگهدارنده یا عوامل محیطی بالقوه مثل نیترات ---

سرطان معده در چین و ژاپن شیوع بیشتری دارد (۸ برابر آمریکای شمالی و اروپای غربی) . مطالعه ی مهاجران نشان داد که ریسک ابتلا به سرطان معده در افرادی که به آمریکا مهاجرت کرده بودند تغییری نکرد . ولی محققان به این نتیجه رسیدند که یک عامل محیطی که در اوایل زندگی فرد با آن مواجه می شود در gastric cancer نقش دارد که این عامل هلیکوباکترپیلوری بود .

--- در اسلاید ها : ریسک سرطان معده در مهاجران ، تغییری نمی کند مگر در ۲ یا ۳ نسل بعد . (یعنی در ۲ ، ۳ نسل بعد ، ریسک سرطان معده مانند افراد آن منطقه می شود و این یعنی مواجهه با یک عامل محیطی در سنین کوچک ، باعث ایجاد این نوع سرطان می شود . ---

هلیکوباکترپیلوری در لوله ی گوارشی فرد زندگی می کند و می تواند منجر به عوارض گوارشی خوش خیمی مانند زخم معده شود . در ایران شیوع این باکتری بسیار زیاد است که به علت استفاده از ظرف مشترک در کودکی است (مثلا ظرف مشترک بین مادر و کودک) .

هر کسی که H pilory مثبت باشد مبتلا به سرطان معده نمی شود ، اما در افرادی که مثبت هستند و التهاب مزمن معده دارند و درمان نشوند ، امکان ابتلا به gastric cancer در این افراد زیاد است .

نکته : با مصرف آنتی بیوتیک می توان این باکتری را از بین برد و جای نگرانی نیست .

--- بخش دوم : محمدمهدی دهقان ---

مطالعات خانوادگی

دسته بعدی ، مطالعات familiar یا خانوادگی است و عبارت است از بررسی بروز یک بیماری در خانواده ها . breast cancer : در جمعیت های اروپایی (که شانس این سرطان در آن مناطق بیشتر است) بین هر ۸ تا ۱۰ نفر خانم ، یک نفر تا سن ۷۰ سالگی مبتلا به سرطان پستان می شوند . اگر فامیل درجه ی یک فردی ، مبتلا به سرطان پستان باشد با احتمال ۱,۵ تا ۳ برابر جمعیت عادی ، فرد مبتلا به این سرطان می شود . نکته ی قابل توجه این است که هرچه سن فرد مبتلا به سرطان پستان در خانواده پایین تر باشد ، احتمال اینکه افراد خانواده مبتلا شوند ، بیشتر می شود .

--- درسنامه : هرچه در سن کمتری تشخیص داده شود ، خطر بروز در خویشاوندان نزدیک آن بیشتر است . ---

در واقع به این مطلب تأکید دارد که احتمال تأثیر عوامل ژنتیکی در فردی که با سن پایین به سرطان مبتلا می شود ، بیشتر از عوامل محیطی است . در ارتباط با gastric cancer ، دیده شده که اگر فردی فامیل درجه ی یک مبتلا به این سرطان داشته باشد ، ۲ تا ۳ برابر شانس ابتلای فرد نسبت به جمعیت عادی بیشتر است . البته این موارد باز هم به صورت کامل تأثیر عوامل ژنتیکی را نشان نمی دهد ، چون در یک خانواده هم ممکن است افراد ، life style های مشابهی داشته باشند یا با عامل محیطی خاصی برخورد داشته باشند .

بررسی های دوقلوها

دسته ی بعدی مطالعات ، مطالعه روی دوقلو هاست . ما دو نوع دوقلو داریم : همسان (مونوزیگوت) و غیر همسان (دی زیگوت) .

پایه ی ژنتیک دوقلوهای همسان عین هم است و توالی های ژنتیکی کاملا مشابه دارند . اما تشابه ژنتیکی دوقلوهای غیر همسان ، مانند دو برادر و خواهر در یک خانواده است و بیش از یک خواهر برادر عادی نیست .

اگر یک بیماری کاملا ژنتیکی داشته باشیم ، انتظار داریم دوقلوهای همسان در گرفتن آن ۱۰۰ درصد تشابه داشته باشند . مثلا تالاسمی ، اگر یکی از ۲قلو های همسان تالاسمی داشته باشند ، حتما آن یکی هم تالاسمی دارد . حال هرچه نقش عوامل ژنتیکی در یک بیماری پررنگ تر باشد ، احتمال نمود آن بیماری در دوقلو های همسان بیشتر از دوقلوهای ناهمسان می شود .

در سرطان سینه دیده شده که این هماهنگی در گرفتن بیماری در دوقلو های همسان ، ۱۷ درصد و در دوقلو های ناهمسان ، ۱۳ درصد است . این موضوع دارد ثابت می کند که ژنتیک در سرطان سینه نقش دارد . ولی بیماری ای نیست که کاملا ژنتیکی باشد یا اینکه نقش عوامل ژنتیکی بیشتر از عوامل محیطی باشد .

در سرطان معده ، دوقلو های همسان تقریبا هیچ تشابهی از لحاظ ابتلا به این سرطان نشان ندادند و ثابت شد که نقش عوامل محیطی در این سرطان خیلی زیاد است . پس در سرطان معده نقش عوامل ژنتیکی از سرطان پستان کمتر است .

عوامل مرتبط با بیماری (مطالعات همبستگی ها یا Associated studies)

عبارت است از بررسی اینکه یک بیماری در فرد ، با چه عواملی در زندگی وی ارتباط دارد (عوامل ژنتیکی یا محیطی) . در این مطالعات برای مثال ، مشخص شده است که کسانی که گروه خونی A دارند ، ۲۰ درصد افزایش خطر ابتلا به سرطان معده دارند . حال اینجا ۲ نوع برداشت کردند : ۱) گروه خونی A به طور مستقل سبب افزایش احتمال ابتلا می شود ۲) افرادی که گروه خونی A دارند ، احتمال اینکه مبتلا به آنمی پرنیسیوز یا بدخیم بشوند ، بیشتر است و این آنمی بدخیم است که ریسک ابتلا به سرطان معده را دراین افراد ، افزایش داده است . و هنوز درباره ی

این ۲ برداشت اتفاق نظر وجود ندارد .

فاکتور های بیوشیمیایی

عوامل بیوشیمیایی هم می توانند در روند سرطان زایی نقش داشته باشند که مثال های آن گفته شد ، مثلا گفتیم که استیلاتورهای کند ، شانس ابتلا آنها به سرطان مثانه را بالا می برد . (این مطالب در مبحث پلی مورفیسم توضیح داده شده)

--- درسنامه و اسلاید : ارتباط میان حالت کند استیلاتور و وضعیت متابولیزه کننده debrisoquine و مستعد بودن به سرطان مثانه ---

یا مثلا فعالیت گلوتاتیون ترانسفراز در سرطان ریه مؤثر است .

بررسی های حیوانات

مطالعات حیوانی هم به ما کمک می کنند تا تفاوت عوامل محیطی و ژنتیکی را بهتر درک کنیم . سویه های حیوانی خاصی وجود دارند که احتمال ایجاد تومور در آنها بیشتر از بقیه ی حیوانات همان نژاد است . مثل نژاد آلبینو در موش ها که تومور های ریه و پستان در آنها شایع تر از بقیه ی موش هاست . حال در این موش ها ، یک مواجهه ی محیطی هم ایجاد می کنند تا مشاهده کنند آیا این مواجهه موجب تسریع سرطان زایی می شود یا نه ! و از این موش ها برای فهم سرطان زایی در انسان استفاده می کنند .

فاکتور های ویروسی

مطالعات حیوانی ای که در چندین سال قبل انجام شد ، نشان داد که یک عامل (در زمان این مطالعات هنوز ویروس ها را نمی شناختند) وجود دارد که نه باکتریایی و نه انگلی (سلولی) است ولی در هنگام تزریق سبب ایجاد سرطان می شود . که بعدا فردی به نام راس ، تشخیص داد که این عامل ، ویروس است و جایزه ی نوبل را هم به همین دلیل گرفت (البته ۴۰ ، ۵۰ سال بعد جایزه را گرفت و دانشمندان در آن زمان به اهمیت کشف او پی بردند) .

مطالعات حیوانی بعدی نیز شکل گرفت . مثلا در رده ی خاصی از موش ها ، سرطانی شایع بود . بعد نوزادان این موش ها را بررسی کردند ، زیرا شک کرده بودند که شاید عاملی در شیر مادر این نوزادان وجود دارد که سبب بیماری در آن ها می شود (یک milk factor) . نوزادان را به مادرانی از رده ی دیگر برای شیردهی دادند و دیدند که شانس سرطان در این موش ها کاهش پیدا کرد . و مطمئن شدند که یک عاملی در آن شیر وجود داشته که سبب سرطان شده است . بعدا فهمیدند که این milk factor ، یک ویروس بوده است .

یک سری ویروس ها می توانند در انسان سبب سرطان بشوند . مهمترین این ویروس ها رتروویروس ها یا RNA ویروس ها هستند (که بررسی روند تکثیر این ویروس ها به تشخیص روند ایجاد سرطان بسیار کمک کرده است) .

--- درسنامه : تعداد محدودی از DNA ویروس ها در ارتباط با انواع تومورها در انسان می باشد ، در حالیکه طیف وسیعی از RNA ویروس ها یا رتروویروس ها باعث نئوپلازی در جانوران می شوند . ---

چند DNA ویروس : *(--- رجوع کنید به درسنامه ، فصل پنجم ، جدول ۱۴,۱ ---)*

۱) Papilloma virus

این ویروس ها ، ویروس هایی هستند که ضایعات خوش خیم مثل زگیل ها ، و ضایعات بدخیم (که فقط در برخی از انواع این ویروس ها مثل HPV16 و HPV18 دیده شده) مثل سرطان دهانه ی رحم را ایجاد می کنند . البته در ایجاد سرطان های پوست هم نقش دارند .

۲) Herpes virus (EBV)

اپستین بار ویروس ، نام دیگر این ویروس است . این ویروس ، با لنفوم بورکیت و کارسینوم نازوفارنکس ارتباط دارد (به ویژه در افرادی که سیستم ایمنی ضعیفی دارند) .

۳) Hepadna virus

که در سرطان کبد و هپاتیت B نقش دارد .

رترو ویروس ها (RNA ویروس ها) :

ژنوم شان RNA دارد و به کمک آنزیم reverse transcriptase از RNA ، DNA می سازند که می تواند در ژنوم میزبان به وسیله ی آنزیم integrase ، اینتگره شود و با توجه به محل اینتگره شدن در ژنوم می توانند در روند سرطان زایی نقش داشته باشند .

رتروویروس ها ۳ ژن اصلی دارند :

۱) ژن gag ، پروتئین های ساختاری برای آنتی ژن های سطحی را ایجاد می کند .
۲) ژن pol ، آنزیم رونوشت بردار معکوس یا reverse transcriptase را ایجاد می کند .
۳) ژن env ، که از لغت envelope گرفته شده ، پوشش اصلی گلیکوپروتئینی ویروس را ایجاد می کند .

اون ویروسی که آقای راس کشف کرد و جایزه ی نوبل را هم به خاطرش گرفت از همین دسته ی رتروویروس هاست و می تواند در ایجاد transformation یا بدخیمی نقش ایفا کند .

ویروس های سرطان زا ، علاوه بر ۳ ژن اصلی gag و pol و env ، یک انکوژن هم با خود حمل می کنند . مثلا ویروسی که راس کشف کرد (نام این ویروس : راس سارکوما ویروس) انکوژن SRC یا سارک رو هم علاوه بر ۳ ژن اصلی دارد .

آنکوژن ها

انکوژن فرم تغییر یافته ی همان پروتوانکوژن هایی هستند که براتون توضیح دادیم . گفته بودیم که پروتوانکوژن ها در ژنوم سلول ها وجود دارند و در فرایند طبیعی پرولیفراسیون سلول یوکاریوت هم نقش دارند . منتها ممکن است تغییراتی در آنها اتفاق بیفتد که افزایش بیان پیدا کنند و وقتی افزایش بیان پیدا کردند ، دیگر به آنها پروتوانکوژن نمی گوییم ، بلکه سلولار انکوژن (c-oncogene) یا آنهایی که منشأ ویروسی دارند را وایرال انکوژن (viral-oncogene) می نامیم .

--- درسنامه : انکوژن ها ، اشکال تغییر شکل یافته ی ژن های طبیعی یا پروتوانکوژن ها هستند که نقش کلیدی در رشد سلولی و مسیر های تمایزی دارند . ---

منشأ انکوژن ها

انکوژن ها در ابتدا ، جزء اصلی ویروس های اولیه نبوده است ، بلکه در طول تکامل ، یک ژن را از میزبان برداشت کرده اند . پس منشأ آن سلول های میزبان است .

شناسایی انکوژن ها

تاکنون حداقل ۵۰ تا انکوژن شناخته شده است . اما نحوه ی کشف انکوژن ها به چه صورت بوده است ؟ مشاهداتی مبنی بر translocation های شبیه به هم در یک نوع سرطان دیده شد . مثلا در ۹۰ درصد موارد سرطان CML ، یک translocation خاص مشاهده شد . یا در ۹۰ درصد موارد لنفوم بورکیت ، مثلا یک translocation بین کروموزوم های ۸ و ۱۴ دیده شد .

در بررسی های بعدی مشاهده کردند که قسمت خاصی از کروموزوم ۸ با قسمت خاصی از کروموزوم ۱۴ جابجا می شود . (خیلی از انکوژن ها از دخالتشان در translocation کروموزومی شان شناخته شدند) . در حالات دیگر ، مشاهده کردند که در افراد مختلفی که دچار breast cancer شده اند ، ناحیه ی خاصی amplification شده است (پس برخی دیگر از انکوژن ها از دخالتشان در amplification ها شناسایی شدند) .

مطالعات بعدی transfection study ها است . قطعات DNA یک سلول را روی سلول دیگری transfect می کنند و می فهمند کدام قطعه منجر به transformation سلول میزبان می شود . و اینگونه متوجه می شوند که انکوژن در همان قطعه ی ایجاد کننده ی transformation وجود دارد .

--- سخن ویراستار : پس تا حالا سه روش برای شناسایی انکوژن ها بیان شد : ۱) مطالعه ی translocation ها که شامل بیماری های CML و لنفومای بورکیت می شود . ۲) مطالعه ی amplification ها ۳) مطالعه ی DNA transfection ها ---

Chronic Myeloid Leukemia (CML)

مشاهده کردند که در ایجاد این سرطان ، همواره یک translocation اتفاق می افتد و اسم آن را ، به خاطر اینکه محققان فیلادلفیا در آن زمان شناسایی کردند ، کروموزوم فیلادلفیا گذاشتند .

این کروموزوم فیلادلفیا ، یک translocation بین کروموزوم های ۹ و ۲۲ است که در ۹۰ درصد موارد CML ، اتفاق می افتد .

در این translocation یک انکوژن به نام ABL که روی کروموزوم ۹ قرار دارد ، به کروموزم ۲۲ رفته و کنار ناحیه ی BCR قرار می گیرد . این translocation در ۹۰ درصد موارد CML مشاهده شده است .

--- درسنامه و اسلاید : کروموزوم فیلادلفیا ، کروموزوم شماره ی ۲۲ ای است که بازوی بلند آن با بازوی بلند کروموزوم شماره ی ۹ جابجا می شود . ---

Burkitt Lymphoma

لنفومای خاصی است که در کودکان آفریقایی مشاهده می شود . این لنفوم ، معمولا جزو سرطان های خونی طبقه بندی می شود . لنفوم بورکیت نواحی غیر central را درگیر می کند ، مثلا بیشتر در فک اتفاق می افتد . ۹۰ درصد کودکان افریقایی که مبتلا به لنفوم بورکیت هستند یک translocation ۸ و ۱۴ دارند . انکوژن MYC از روی کروموزوم ۸ ، می رود تحت کنترل پروموتر زنجیره ی سنگین ایمونوگلوبولین قرار می گیرد . پروموتر زنجیره ی سنگین ایمونوگلوبولین یک پروموتر قوی ایست . پس وقتی این انکوژن تحت کنترل این پروموتر قرار میگیرد ، بیانش افزایش پیدا می کند . *--- طبق درسنامه : تا ۱۰ برابر یا بیشتر ---*

در موارد کمی از این لنفوما ، انکوژن MYC ، تحت کنترل زنجیره ی سبک کاپا و لاندا در ایمونوگلوبولین قرار می گیرد .

Amplification

در amplification طی یک سیکل سلولی ، ناحیه ی DNA خاصی ، چندین بار دچار رونوشت می شود ، (به طور طبیعی انتظار داریم در هر سیکل سلولی ، replication ، یک بار اتفاق بیفتد) ولی می بینیم ، یک قطعه ی خاص DNA ، ازش ۱۰۰ ها یا هزاران کپی زده می شود . بنابرین بیان ژن های آن ناحیه خیلی افزایش پیدا می کند .

انکوژن های MYC از مواردی هستند که در سرطان های مختلف ، دچار amplification می شوند .

جلسه ی قبل هم در breast cancer یک amplification مثال زده شد ، که در ژن her2 رخ می داد و داروی Herceptin هم برایش طراحی کرده بودند که آن را مهار می کرد . معمولا این amplification ها در stage

های بالاتر سرطان اتفاق می افتند و معمولا با prognosis بدتر در سرطان همراه است .

Transfection studies

نحوه ی transfection بدین صورت است که ابتدا ناحیه ی خاصی از DNA را وارد cell line می کنیم ، به طوری که در ژنوم آن سلول integrate شود . سپس فنوتیپ سلول ها را بررسی می کنیم که آیا سلول بدخیم شد یا نه ؟ رشد و تکثیر آن به چه صورتی درآمد ؟ و ... . و از این طریق تشخیص می دهیم که آن ناحیه ی خاصی که ابتدا وارد cell line کردیم ، حاوی انکوژن بوده یا نه .

خیلی از انکوژن ها از جمله انکوژن های خانواده ی RAS را از همین transfection study شناسایی کرده اند . که بعدا هم مشاهده کردند که RAS ها در انواع مختلف سرطان ها دچار جهش می شوند . مثلا ۵۰ درصد موارد سرطان کولورکتال یا ۹۵ درصد موارد pancreatic cancer ، به دلیل جهش در نوع خاصی از این RAS ها بوده است .

--- بخش سوم : محمدحسین عباسنژاد ---

عملکرد انکوژن ها

اما انکوژن ها چگونه در فرایند سرطان زایی نقش دارند . همانطور که گفتیم انکوژن ها ، ژن هایی هستند که در تقسیم سلولی (تنظیم Proliferation سلولی) ، تمایز سلولی و انتقال پیام سلولی نقش دارند .

Signal transduction (انتقال پیام سلولی) فرایندی پیچیده است که مثلا فاکتوری می آید و به رسپتور های سطح سلولی متصل می شود که منجر به فعال شدن پروتئین کیناز هایی در درون سلول می شوند . این پروتئین کینازها از طریق فرایند آبشاری یکدیگر را فعال می کنند و یک سری پیامبر های ثانویه نیز فعال می شوند و این پیامبرهای ثانویه ، پیام را به سطح هسته ی سلول می رسانند و در داخل هسته ی سلول ، یک سری پروتئین هایی وجود دارند که حلقه ی آخر این انتقال پیام را تشکیل می دهند که وقتی پیام به این پروتئین ها می رسد می روند و بر روی ژن های هسته ای قرار می گیرند و بیان یک سری از آن ها را انجام میدهد . به این شکل انتقال پیام صورت می گیرد که این پیام می تواند در رابطه با تمایز و یا تقسیم سلولی باشد .

انواع انکوژن ها

به طور کلی انکوژن ها در ۴ دسته ی کلی قرار می گیرند .

۱- فاکتور های رشد : یعنی فاکتور هایی که سلول را از G_0 به فاز های بعدی منتقل می کند (سلول های ما چون همیشه در G_0 می باشند ، به همین دلیل می گویند آن ها در فاز G_1 قرار دارند .) خیلی از انکوژن ها شامل فاکتور های رشد می شوند مانند v-SIS .

۲- رسپتور های فاکتور های رشد : مانند ERB-B2 که رسپتور EGFR (--- *گیرنده ی فاکتور رشد/پیدرمی* ---) را ایجاد می کنند . یا مثلا MET که یک gross factor receptor است و در خودشان خاصیت tyrosine kinase دارند .

۳- فاکتورهای درون سلولی انتقال پیام : این ها می توانند سرین ترئونین کیناز باشند یا پروتئین هایی باشند که خاصیت GTPase دارند و پیامبرهای ثانویه را فعال می کنند .

۴- دسته ی چهارم پروتئین های هسته ای هستند که می روند و به توالی خاصی از DNA متصل می شوند و بیان ژن های خاصی را کنترل می کنند مانند MYC ، MYB و ERB-A مهمترین آنها محسوب می شوند .

ما ۳ دسته ژن داریم که در فرایند سرطان زایی نقش دارند . یک سری ، پروتوانکوژن ها هستند که درصورتی که با جهش ، افزایش فعالیت پیدا کنند به آنها آنکوژن می گویند که در صورتی که منشأ این انکوژن ها ، ویروس باشد به آن v-oncogene می گویند . در غیر این صورت به آن c-oncogene می گویند . البته منشأ این v-oncogene ها در طول تکامل آن همین c-oncogene بوده است .

Tumor suppressing ژن ها ، ژن هایی هستند که در فرایند هایی مانند القای آپوپتوز یا توقف سیکل سلولی نقش دارند . در سلول های سرطانی در این ژن ها می تواند ، somatic mutation رخ دهد که خیلی از عوامل محیطی می توانند بر روی این عوامل tumor suppressor ها تأثیر بگذارند و آنها را دچار جهش کنند . تاکنون ۲۰ ژن tumor suppressing شناسایی شده است که نسبت به بقیه ، شناخته شده تر می باشند و نقش بیشتری در سرطان ها دارند .

رتینوبلاستوما

یکی از معروف ترین این ها ، RB یا ژن رتینوبلاستوما (سرطان شبکیه ی چشم) می باشد . افرادی که دچار این سرطان می شوند جهش در ژن RB دارند .

رتینوبلاستوما تومور بدخیم چشم است که معمولا در کودکان زیر ۵ سال رخ می دهد . دو نوع دارد : فامیلی و غیر فامیلی . نوع فامیلی آن معمولا در سنین پایین تر رخ می دهد و معمولا هردو چشم را در گیر می کند و کانون های مختلفی را هم درگیر می کند . در حالی که نوع غیر فامیلی تک کانونی و در یک چشم و در سنین بالاتر ایجاد می شود .

فردی به نام نادسون (knudson) با مطالعه ی افراد رتینوبلاستوما ، **فرضیه ی ۲ ضربه ای** را ارائه داد . او گفت با توجه به این که در هر دو نوع جهش در یک ژن رخ داده اما علائم این ۲ نوع با هم متفاوت اند . او در رابطه با این موضوع این فرضیه را مطرح کرد . او گفت برای این که رتینوبلاستوما رخ دهد باید هر دو ژن RB دچار جهش شوند

(که ۲ ضربه محسوب می شود) . او گفت افرادی که نوع فامیلی دارند یک germline mutation در یک RB دارند که ضربه ی اول به شمار می آید . که در طول زمان باید دومین ژن RB هم جهش یابد که این می شود ضربه ی دوم . پس بنابرین در نوع فامیلی چون ضربه ی اول به طور ارثی به این افراد می رسد پس این افراد به زمان کمتری نیاز دارند تا دو تا ضربه کامل شود . پس در سنین پایین تری دچار رتینوبلاستوما می شوند و هم چنین در کانون های مختلف این اتفاق می تواند بیفتد . ولی افرادی که حالت غیر فامیلی دارند این دو تا جهش باید برای آن ها به شکل سوماتیک رخ دهد که احتمال انجام آن در سلول های مختلف کم تر است و فقط می تواند در یک یا دو سلول رخ دهد که همان سلول می شود منشأ سرطان ، پس یک کانونی می باشد . تا الآن این فرضیه پذیرفته شده است .

گفته می شود که سرطان های RB نوع فامیلی ژن در سطح ارثی به صورت اتوزومال غالب به ارث می رسد . این حالت در سطح سلولی ، مغلوب است . چون باید هر ۲ ژن از RB جهش یابد تا سرطان رخ دهد . بنابرین این یک نوع پارادوکس است .

از دست دادن هتروزیگوسیتی (Loss of Heterozygosity (LOH))

در مواردی که یک جهش germline وجود دارد و جهش دیگر هم در طول زمان رخ می دهد می گویند از دست دادن هتروزیگوسیتی رخ می دهد یعنی از بین رفتن هتروزیگوت که الل اول به طور ارثی دچار جهش شده است و الل دوم هم در اثر عواملی مثل deletion یا distraction در طی تقسیم میتوزی از بین می رود و حالت loss of heterozygosity رخ می دهد .

--- یعنی این که اگر یک نفر هتروزیگوت است ، با از دست دادن یکی از الل ها ، و ماندن الل دیگر ، دیگر هتروزیگوت نباشد ---

--- درسنامه : LOH می تواند از طریق چندین مکانیزم بوقوع پیوندد که شامل : از دست دادن یک کروموزوم در اثر عدم جدا شدن میتوزی ، حذف بر روی کروموزوم حمل کننده ی آلل مسئول ، یا کراسینگ اور میان دو ژن همولوگ که منجر به هموزیگوسیتی برای آلل جهش یافته می گردد . ---

ژن RB1 و پروتئین $P110^{RB}$:

ژن RB1 نقش مهمی در تنظیم سیکل سلولی دارد که یک پروتئین می سازد با نام P110 . این پروتئین در هسته با E2f باند می شود . E2f اگر تنها باشد منجر به پیشبرد سیکل سلولی می شود ولی در صورتی که با P110 باند شود عملکرد آن ضعیف می شود و سلول نمی تواند وارد فاز S چرخه ی سلولی شود . پس در نتیجه زمانی که RB1 دچار نقص باشد ، E2f همواره آزاد است و سلول را وارد فاز S می کند و منجر به تکثیر سلول می شود .

زمانی که سلول به طور طبیعی بخواهد تقسیم شود و وارد سیکل چرخه ی سلولی شود در این موقع یک سری پروتئین کیناز ها فعال می شوند و P110 را فسفریله می کنند و بدین ترتیب غیر فعال می شود و E2f آزاد می شود و این حالت به صورت طبیعی وقتی سلول می خواهد تقسیم شود اتفاق می افتد و در صورتی که تقسیم سلولی لازم نباشد ، P110 به حالت فعال قرار می گیرد .

ژن TP53 :

Tumor suppressor gene دیگری که ما داریم و نقش بسیار مهمی دارد TP53 می باشد و آن را با عنوان محافظ ژنوم می شناسند و نقش مهمی در جلوگیری از سرطان دارد و با روش های مختلفی مانند القای آپوپتوز یا فعال کردن سیستم های تعمیر DNA ، از ژنوم محافظت می کند و این شایع ترین ژنی می باشد که در سرطان های مختلف دچار جهش می شود (حدود ۵۰ درصد) . درحالی که ما جهش RB را فقط در سرطان های استخوانی و رتینوبلاستوما می دیدیم .

TP53 در سرطان های مختلفی دچار جهش می شود . مثلا در ۲۵ درصد سرطان های سینه یا ۵۰ درصد سرطان های مثانه ، روده ی بزرگ و ریه دیده شده . حتی در hepatocellular carcinoma که بر اثر آفلاتوکسین ایجاد می شود ، نیز جهش در کدون شماره ی ۲۴۹ ژن TP53 مشاهده می شود .

آفلاتوکسین یک سم آسپرژیلوس می باشد که بر روی غلات و حبوباتی که در شرایط نامناسب نگه داری شده باشند رشد می کند و سمی ترین کارسینوژن محیطی است و با cancer کبد ارتباط مستقیم دارد . این کارسینوژن آن قدر قوی است که درصورتی که این غلات توسط گاو خورده شوند می توانند وارد شیر گاو شوند و از طریق شیر گاو به انسان منتقل شوند .

TP53 همچنین به عنوان یک check point برای سلول در فاز G1 عمل می کند یعنی در صورتی که ژنوم سلول مشکل داشته باشد آن را در همان فاز G1 نگه میدارد .

TP53 علاوه بر جهش های سوماتیک آن که بسیار شایع می باشند جهش germline هم دارد که بسیار نادر می باشند تحت عنوان سندرم Li-Fraumeni ، سندرم جهش های نادر TP53 در این افراد وجود دارد و این افراد در سنین پایین دچار انواع مختلف سرطان می شوند . انواع سارکوماها ، کارسینوماها و ... در این افراد رخ می افتد (معمولا بین کدون ۲۴۵ تا ۲۵۸ جهش رخ می دهد .)

موفق باشـــــید

یادداشت:

ژنتیک

جلسه پنجم ۱۳۹۵/۰۹/۰۴

مدرس: **خانم دکتر صیاد**

گروه ۱: سیما اصولی ، معصومه آورجه
کوثر امیرزاده ، زهرا شریفی

مبحث جلسه:Congenital abnormalities و سندرم های دیسمورفیک

آیا تمام اختلالات مادرزادی (congenital abnormality) ژنتیکی اند؟ آیا تمام بیماری های ژنتیکی خود را به صورت اختلالات ژنتیکی نشان می دهند؟ آیا هر کودکی که هنگام تولد مشکل دارد، مشکلش ژنتیکی است؟آیا همه ی مشکلات ژنتیکی در بدو تولد بروز پیدا می کنند؟

پاسخ همه این سوالات منفی است!بعضی مشکلات ژنتیکی وجود دارند که در بزرگسالی خود را نشان می دهند و بسیاری از اختلالات مادرزادی اصلا ژنتیکی نیستند.

- Morphogenesis به فرایند تشکیل یک انسان (چگونگی تکوین وتشکیل انسان) گفته می شود.

آنومالی های ساختاری مادرزادی (Structural Congenital Abnormalities) به دو دسته اصلی تقسیم می شوند:

۱- عمده (Major) : آنومالی هایی که با فعالیت های روزمره یا ارتباطات اجتماعی تداخل داشته باشند مثل آننسفالی.
۲- جزئی (Minor) : آنومالی هایی که معمولا با فعالیت های روزمره یا ارتباطات اجتماعی تداخل ندارند مثل لب شکری، کام شکاف دار، افراد ۶ انگشتی. مشکلات جزئی حتی نقص در زیبایی نیز محسوب . بنابراین

اگر درمان هم نشوند، فرد دچار مشکلات حیاتی نخواهد شد (بجز Cleft Palate که ممکن است در صورت عدم جراحی مشکل ایجاد کند).

- شیوع Major Abnormalities در بدو تولد در نوزادان حدود ۳-۲٪ است اما بسیاری از مشکلات Major در صورتی تشخیص داده می شوند که باعلائم دیگری نیز همراه شوند. لذا تعداد افرادی که این مشکلات را دارند افزایش یافته و تا یک سالگی به ۵٪ می رسد(چون سخت تر مشخص می شوند مثل regression در رشد: کودک بایستی تا ۶ ماهگی چهار دست و پا راه برود اما نمی رود! بنابراین مشکلی وجود دارد)
- شیوع مشکلات Minor حدود ۱۰٪ است اما اگر کودک چند مشکل را با هم داشته باشد، احتمال آن به ۲۰٪ می رسد. فرضا اگر کودکی علاوه بر شکاف لب و انگشت اضافه، خطوط غیر عادی هم در کف دست خود داشته باشد، مثلا ۲۰٪ احتمال می دهند که سپتوم های دریچه قلبی این کودک نیز مشکل دارد یا CNS نیز دچار مشکل است.اما اگر کودکی تنها یک مشکل Minor داشته باشد (مثلا فقط یک انگشت اضافه داشته باشد) احتمال دیده شدن مشکل Major کاهش می یابد.

مهم ترین و شایع ترین مشکلات Major، مشکلات **قلبی-عروقی** هستند که فراوانی آنها ۱۰ عدد در هر ۱۰۰۰ تولد زنده است. به ترتیب مشکلات CNS، Gastrointestinal ، اندامها و Urogenital (مثل آژنزی یک طرفه ی کلیه،کلیه پلی کیستیک) موارد شایع بعدی هستند و هریک به زیرگروه هایی تقسیم می شوند(از مشکلات معدی-روده ای می توان به شکاف کام و لب اشاره کرد(Cleft Lip & Palate) که بسته به شدت خود جز مشکلات عمده یا جزئی قرار می گیرند).

همانطور که اشاره شد، به طور کلی مشکلات Major در بدو تولد خود را نشان نمی دهنداما با بزرگتر شدن کودک ظاهر شده و قابل تشخیص می گردند. برای بعضی می توان علت ژنتیکی خاص مطرح کرد اما موارد بسیاری multifactorial بوده و در بروز آنها هر دوعامل ژنتیک و محیط سهیم اند. تعیین درصد سهم ژنتیک بسیار مهم است زیرا باید به کمک آن recurrent risk را مشخص کرد؛ یعنی فرضا فردی که کودکی با مشکل خاص دارد، احتمال مشاهده ی این مشکل در فرزندان بعدی او چقدر خواهد بود.

- چگونه میزان سهم ژنتیک یا محیط در بروز این مشکلات تعیین می شود؟

۱- شجره نامه : باید به دقت از خانواده شجره نامه تهیه شده و مشکلاتی ک قبلا در خانواده وجود داشته بررسی شود (مثلا اگر کودکی بوده که در بدو تولد فوت شده یا پدر خانواده کلیه ی پلی کیستیک داشته)

۲- مطالعات اپیدمیولوژیک : در این مطالعات خانواده های بسیاری بررسی و شجره نامه از آنها تهیه شده است. با این کار مسیر ایجاد مشکل تقریبا مشخص می شود. خصوصا اگر ازدواج فامیلی و بیماری تک ژنی باشد. مثلا برای کودکانی که دارد. برای بیماری هایی مثل PKU، گالاکتوزمیا و یا تالاسمی که صرفا ژنتیکی اند و محیط در ایجاد آنهانقشی ندارد تعیین ریسک ابتلای کودک بسیار آسان است و به کمک توارث مندلی انجام می شود. برای مشکلات multifactorial محاسبه ی این اعداد پیچیده تر خواهد بود.

از Minor Congenital Abnormalities می توان به سین داکتیلی، زائده ی کنار گوش، انگشت اضافی، حفره ای کنار لب (ترمیم خودبخودی یادرمان با جراحی)، nipple های متعدد، فتق نافی (umbilical hernia) و شیار های غیرعادی دست اشاره کرد. بلافاصله پس از تولد کودک در بخش زایمان از نظر hypo tone بودن، شیار های کف دست، شیار چشمی، گوش ها، نشانه های اولیه ی (مثل seminal line کف دست) تریزومی ها (۱۶ و ۲۱) معاینه می شود.

این علائم به تنهایی خیلی نگران کننده نیستند اما در کنار هم ممکن است نشانه سندرم یا بیماری باشند(۲۰-۱۰٪ احتمال آنومالی های Major را افزایش میدهد). مشکلات Minor اغلب توسط جراحی های زیبایی برطرف می شوند و فرد مشکلی برای ادامه ی زندگی نخواهد داشت.

در نیمی از بارداری ها، بدون اینکه فرد متوجه شود جنین در هفته های اول سقط می شود. علت ۸۵-۸۰٪ سقط جنین ها در سه ماهه ی اول بارداری، Major Congenital Abnormalities هستند. بررسی جنین های سقط شده نشان دهنده ی مشکلات Major ی مانندعدم تشکیل کلیه، مشکلات حاد قلبی، آژنزی دئودنال و...است. میزان شیوع Major Congenital Abnormalities در سه ماهه ی دوم کاهش می یابد. چرا که اگر مشکل حاد بود، به احتمال زیاد سبب سقط در همان ۱۲ هفته اول می شد. در سه ماهه دوم علت سقط مثلا می تواند ترومای شدید به مادر باشد. شیوع مشکلات ساختاری در جنین های سقط شده در سه ماهه ی دوم بسیار کاهش یافته و به ۲۵٪ می رسد.

نکات اسلاید

مرگ در دوره ی Perinatal : ٪۲۵

مرگ در سال اول به دلیل مشکلات ساختاری : ٪۲۵

مرگ های بین ۱ تا ۹ سالگی : ٪۲۰

مرگ های بین 9 تا ۱۴ سال : ٪۷۵

Birth Defects (مشکلات و نقایص بدو تولد)

۱- Single Abnormalities:

- Malformation (بدشکلی)
- Disruption
- Deformation
- Dysplasia

۲- Multiple Abnormalities:

- Sequence
- Syndrome
- Association

- در Single Abnormalities تنها یک ناهنجاری وجود دارد.

Malformation (بدشکلی)

اگر یک ارگان یا قسمتی از آن دچار مشکل شده و درست تشکیل نشود جز این دسته قرار می گیرد. این مشکلات معمولا در مراحل اولیه تکامل ایجاد می شوند، Multifactorial هستند و معمولا یک ارگان را درگیر می کنند.

مثال : ۱- Congenital Heart Abnormalities : Cleft ۲- ventricular or atrial septal defects Lip/Palate ۳- مشکلات CNS(Neural Tube Defects) : Anencephaly، Hydrocephaly، Meningocele، Lumbosacral Myelomeningocele

اگر چندین بدشکلی (مثلا مشکل قلبی همراه با شکاف لب و مشکلات CNS) همزمان در یک نوزاد دیده شود، مشکوک به یک مشکل ژنتیکی و کروموزومی خواهد بود. ساده ترین اقدامی که در این مورد می توان انجام داد، تهیه ی کاریوتایپ است. چرا که ممکن است علت این همزمانی مربوط به تریزومی باشد.

یادآوری : ۵ نوع تریزومی داریم که در آنها فرد زنده می ماند شامل تریزومی های کروموزوم x,y,21,18,13 . البته دچار مشکلاتی از قبیل همین بدشکلی ها خواهد شد.

همچنین اگر به عنوان مثال تکه ای از قسمت فوقانی بازوی بلند کروموزوم شماره ۲ مثل یک Ring کروموزوم به ارث برسد و Partial Trisomy ایجاد کند، می تواند این مشکل (چندین بدشکلی همزمان) را بوجود آورد.

Disruption (گسستگی)

در ایجاد این Abnormality، بیشتر عوامل محیطی دخالت دارند تا مشکلات ژنتیکی. مثلا طی شکل گیری یک اندام یک عامل (بیشتر) محیطی جلوی رشد آن را می گیرد. بارزترین مثال آن باند های آمنیونی است. به این صورت

که اگر یک سری نوار هایی از آمنیون که دور تا دور جنین قرار دارند جدا شده و دور اندام های جنین پیچیده شوند می توانند مانع شکل گیری اندام شوند. لذا معمولا نوزاد نقص ژنتیکی ندارد و عوامل محیطی هستند که باعث بروزاین مشکل می شوند.

انواع ایسکمی ها، عفونت ها و تروما ها می توانند باعث Disruption شوند.

- هرچند که Disruption ها اکثرا ژنتیکی نیستند اما جنین هایی که در ساخت کلاژن مشکل دارند (یک بیماری تک ژنی)، آمنیون دورشان سست بوده و احتمال گسستگی در آنها زیاد می شود.
- این گسستگی ها معمولا با سونوگرافی قابل تشخیصند.
- برخی داروها و درمان هایی که مادر حین دوران بارداری دریافت می کند می تواند سبب بروز چنین مشکلاتی شود.

Deformation (دگر ریختی)

خیلی وقت ها پیش آمده که زمانی طولانی را در جایی نشسته اید، اصطلاحا دچار خواب رفتگی می شوید و پایتان به سختی به حالت عادی باز می گردد. به این حالت نیز دفرمه شدن می گویند. اما در این بحث تمرکز ما بر دفرمیتی هایی است که در جنین رخ می دهد. دفرمیتی اغلب به دلیل فشار های مکانیکی وارده بر جنین رخ می دهد. مثلا جنینی که Oligohydramnios است (مایع دور آن کاهش یافته) تحت فشار مکانیکی قرار می گیرد و دچار دررفتگی لگن یا پای چماقی می شود.

- مشکلات تنفسی، نشت مایع آمنیوتیک و آترزی کلیه می توانند باعث Oligohydramnios شود(حجم مایع آمنیوتیک از طریق ادرار هم تعیین می شود و اگر جنین آترزی کلیه، انسداد مجاری ادراری و یا مشکل مثانه داشته باشد، دچار Oligohydramnios می شود).

نوزاد هرچه زودتر درمان (مثلا آتل بندی) شود، Prognosis بهتری دارد و خواهد توانست بدون هیچ مشکلی زندگی خود را ادامه دهد.

این مشکلات اغلب در سنین بالای بارداری، در جنین های دوقلو و یا در مادرانی با مشکلات رحمی (مانند رحم دو شاخه و یا کاهش حجم رحم)و دیگر مشکلاتی که باعث فشار مکانیکی بر جنین شوند بیشتر رخ می دهد.

معمولا recurrent Risk دفرمیتی بسیار کم است و می توان گفت ژنتیک در آن نقشی ندارد و Prognosis خیلی خوبی دارند.

Dysplasia

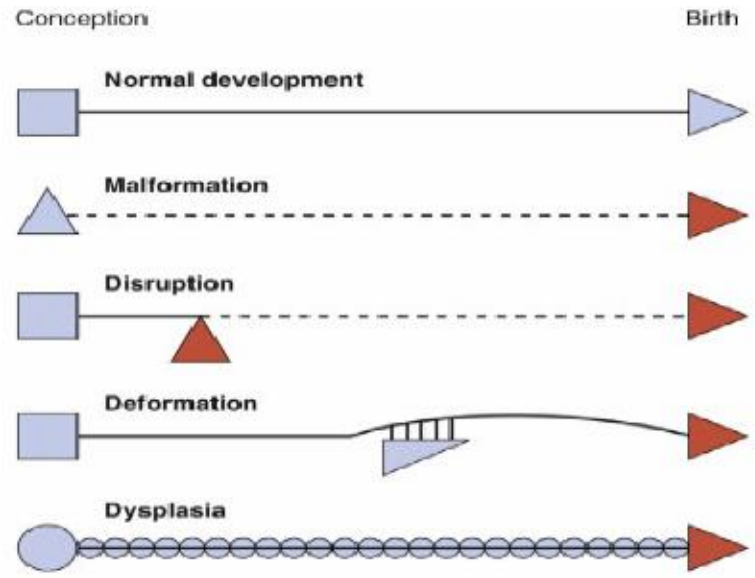
زمانی رخ می دهد که نقصی در یک سری از سلول های ارگانی وجود داشته باشد و همواره تمام سلول های آن بافت دچار چنین شکلی باشند(؟!). معمولا ژنتیکی است.

{تعریفش توی اسلاید : سازمان دهی غیر عادی سلول ها در ایجاد یک بافت}

هر جا که قرار است ژن مورد نظر بیان شود و کارکرد مشخصی را از خود ارائه دهد، دچار مشکل می شود اما بقیه ی قسمت ها سالم هستند. مثلا انواعی از Skeletal Dysplasia وجود دارد که می تواند در اثر موتاسیون در ژن $FGFR_3$ باشد و تمام بافت ها را درگیر کند. یا Ectodermal Dysplasia که در بافت هایی مانند پوست، ناخن، دندان و مو ظاهر می شود.

اغلب Dysplasia ها، Single Gene هستند و بنابراین ژنتیک در ایجاد آنها تاثیر خیلی زیادی دارد. این نقص Recurrent Risk بسیار بالایی دارد خصوصا برای اقوام درجه اول مثل خواهر و برادر (اگر والدین و یا خواهر و برادر این مشکل را داشته باشند احتمال Recurrence آن بالاست).

مثال : در Thanatophoric Dysplasia (از نوع Skeletal)قفسه سینه فرم خاصی دارد. دنده ها کوتاه اند، مهره ها حالت صاف دارند (Flat Vertebral Bodies)، فمور حالت خمیده دارد.



توضیح شکل : یک normal development با خط صاف نشان داده می شود و طی آن جنین به یک نوزاد سالم تبدیل می شود.

در malformation به مقصد میرسیم اما مشکلاتی وجود خواهد داشت.

در disruption فرایند متوقف می شود و به مقصد یعنی تولد سالم نمی رسیم.

در deformation به مقصد می رسیم اما با وجود abnormality. البته چون prognosis خوبی دارند به شکل یک خط مستقیم نشان داده شده.

در dysplasia هم به مقصد می زسیم اماهمواره تمام سلول های بافت درگیر، دچار این نقص هستند.

Multiple Abnormalities

توالی (Sequence)

آبشاری از مشکلاتی که به راه می افتد و یک Abnormality را ایجاد می کند. مثلا علت اولیه ی آن می تواند الگوهیدرآمینوس باشد. در الیگوهیدرآمینوس له شدن چهره ی جنین، پاچماقی و Hip Dislocation اتفاق می افتد و عموما بخاطر Pulmonary Hyperplasia مرگ رخ می دهد. مجموعه ای از توالی ها که بوجود می آیند تا یک Abnormality را بوجود آورند، یک Sequence هستند.

Potter Sequence: مشکلات چهره ای، قفسه سینه، هایپوپلازی ریه، دررفتگی استخوان لگن، پاچماقی و مشکلات دیگر دارند.

Syndrome

برای آنها یک علت شناخته شده داریم.معروف ترین آنها داون و ترنر هستند و یا تریزومی های ۱۳ و ۱۸.

Vanderwoude Syndrome: عدم تشکیل کام، حفره کنار لب، مشکلات قلبی، تنفسی و CNS.

Association

همراهی (تقریبا) اتفاقی چندین Abnormality همزمان باهم. مثلا همراهی همزمان مشکلات قلبی، تنفسی و پوستی باهم؛ البته در افراد مختلف یکسان نیست.

Vater Association: مشکل مهره ای، آنال، تراکئوازوفاژیال و کلیوی

- خیلی وقت ها به اشتباه به اینها سندرم گفته می شود اما باید بدانیم که در Association ها برخلاف سندرم ها مثل داون نمی توانیم بگوییم که دقیقا علت این مشکل کجاست.
- تعیین سهم ژنتیک در Abnormality های Congenital یا Structural بسیار مهم است.
- علت نیمی از این مشکلات جنینی ناشناخته است. از ۵۰٪ باقیمانده ۴۰-۳۰٪ علت ژنتیکی و ۱۰٪ علت محیطی دارند. از ۴۰-۳۰٪ عوامل ژنتیکی، ۳۰-۲۰٪ Multifactorial اند. از ۱۰٪ باقیمانده هم ۷/۵٪ تک ژنی و بقیه کروموزومی اند.

Noonan Syndrome

در سال ۱۹۶۳ بطور رسمی گزارش شد. شیوع آن ۱/۲۰۰۰ تولد زنده و علائم آن مشابه سندرم ترنر است (گردن پره دار، فقط یک کروموزوم X دارد ولی با فنوتیپ female، قد کوتاه، (احتمالا)مشکلات قلبی). در سندرم نونان مشکلات نقص atrial/ventricular septal، انواع cardiopathy، Pulmonary Stenosis، Hypertelorism(فاصله ی زیاد بین چشم ها) دارند. گوش ها و شیارهای چشمشان به سمت پایین است و ۱/۴ آنها مشکل یادگیری دارند.

جهش در ژن $PTPN_{11}$ شایع ترین عاملی است که در نیمی از این بیماران گزارش شده استاما می تواند ژن های دیگری هم درگیر شده باشد.

- ژن $PTPN_{11}$ در مسیر RAS-MAP کیناز که یک مسیر سیگنال سلولی است دخالت دارد.

CFC Syndrome

Cardio-Facio-Cutaneous مشکلات قلبی چهره ای جلدی. فنوتیپ مشابهNoonan Syndrome دارند و ٪۵۰ مشکل ژنتیکی آنها جهش در ژن BRAF است.

Costello Syndrome

فنوتیپ مشابه Noonan Syndrome دارند. ۵۰٪ مشکل ژنتیکی آنها جهش در ژت HRAS است.

- این ژن ها یعنی $PTPN_2$، KRAS، BRAS، SOS_1 در مسیر RAS-MAP کیناز دخالت دارند.(در امتحان اسم این که چه ژن هایی در چه سندرم هایی دخیل بودند را بدانید مسیر مهم نیست)
- در بیماری های Multifactorial گاهی مصرف یک دارو توسط مادر باعث ایجاد آسیب می شود.
- لب شکری ها با جراحی درمان می شوند.اگر این مشکل با کام شکری وآسیب به سایر اندام ها همراه باشد، احتمال سهم ژنتیک را بیشتر می کند.
- در بیماری های Multifactorial چون سهم هر یک از دو عامل ژنتیک و محیط به خوبی مشخص نیست، نیازمند گزفتن شرح حال دقیق هستیم.

Crouzon Syndrome

پیشانی بلند و برجسته، مشکل حفره ی چشمی، زبان بزرگ و بیرون آمده، چانه ی کوچک.

Apert Syndrome

آسیب در شکل گیری جمجمه، چشم ها رو به پایین، دهان به حالت دایره، Midface Hypoplasia

موفق باشـــید

ژنتیک

جلسه ششم ۱۳۹۵/۰۹/۰۷

مدرس: **خانم دکتر صیاد**

گروه ۱۴: رعنا ایریلوزادیان ، مهشاد ساریخانی
فاطمه سادات رحیمی ، سیده فاطمه موسوی

مبحث جلسه: تراتوژن‌ها

تراتولوژی به مشکلات محیطی که ایجاد abnormality و defect می کنند، اطلاق می شود ، در صورتی که ریشه ی آن عوامل محیطی باشد .

مروری بر گذشته : چگونگی روند تشکیل یک انسان یا یک موجود را مورفوژنز می گوییم . بعضی از abnormality و congenital defect هایی که وجود دارد، minor هستند و بعضی ها نیز major هستند . major ها مانند آنسفالی و هیدروسفالی و یا مشکلات ارگانی مانند مشکلات قلبی مثل septal defect ها . مشکلات CNS ، مشکلات کلیوی و...

لب شکری و کام شکری جز اختلالات عمده طبقه بندی می شوند . گاهی اوقات به صورت partial ، حالت لب شکری کوچکی وجود دارد و یک مقدار تشکیل نشده، مثل حفره ای که زیر لب وجود داشته باشد . اگر فقط همین یک مشکل باشد، جز اختلالات minor محسوب می شود.

اما بر اساس درسنامه ، اگر تست در امتحان دادند، لب شکری و کام شکری را جز اختلالات عمده در نظر بگیرید. اختلالات کوچک مانند : داشتن انگشت اضافی، چسبیدن 2 انگشت به هم یا مثلا وجود یک زائده در پشت گوش یا وجود حفره در زیر لب و ... این اختلالات از نظر کارکرد های اجتماعی و یا حتی از نظر زیبایی و ظاهری مشکلی ایجاد نمی کنند، در نتیجه جز اختلالات کوچک محسوب میشود .

در بدو تولد 10 درصد اختلالات minor و 2-3 درصد اختلالات عمده وجود دارد و با افزایش سن میزان آنها افزایش پیدا می کند زیرا detection rate بالا میرود، به طور مثال افرادی که mental retard هستند یا مشکلات ذهنی دارند ولی در ابتدا در این نوزاد تازه متولد شده مشکلی نمیبینیم ، اما وقتی تا یک سالگی چگونگی رشد او را بررسی میکنیم خواهیم دید که آن دو درصد به 5 درصد افزایش پیدا کرده است .

اگر دو یا چند مشکل مینور همزمان در کنار هم داشته باشیم ، 10 الی 20 درصد احتمال وجود یک اختلال major را برای ما افزایش می دهد . یعنی اگر چند تا مشکل کوچک در کنار هم داشته باشیم، مثلا احتمال می دهیم اگر از قلبش هم سونو بگیریم ، قلبش نیز مشکل داشته باشد و یا مثلا برای development بعدی نمیتواند کارکرد های مغزی مناسبی داشته باشد . 10 -20 درصد وجود یک آنومالی افزایش پیدا می کند، از مهمترین مشکلات cardiovascular با 10 درصد فراوانی ، مشکلات CNS با 10 درصد فراوانی . مشکل در اندام ها ، gastrointestinal با 4 درصد فراوانی می باشند. اینها فراوان ترین مشکلات major ای بودند که در congenital defect ها ذکر شدند .

فتق نافی ، جز اختلالات minor است ولی فتق کشاله ران از آن جایی که با مشکلات گوارشی همراه است و میتواند انسداد روده ایجاد کند ، جز مشکلات major محسوب میشود.

در 3 ماهه ی اول بارداری، structural abnormality ها میتوانند 80 تا 85 درصد باشند .

در سقط هایی که در سه ماهه ی اول (First Trimester) وجود دارند ، بررسی کردند و دیدند 80 تا 85 درصد جنین هایی که در سه ماهه ی اول سقط می شوند، مشکلات اصلی ساختاری داشتند، مثلا قلب تشکیل نشده یا آژنزی کلیه داشتند. در سه ماهه ی دوم بارداری (Second Trimester) این میزان به 25 درصد خواهد رسید و معمولا در این بازه عوامل محیطی مثل تروما ها یا عوامل محیطی باعث سقط میشوند، در کل تولد ها هم 2 تا 3 درصد می توانند به صورت major abnormality داشته باشند ، minor abnormality ها 10 درصد است ، همینطور مرگ و میر در همان ابتدای تولد، در perinatal period ، 25 درصد و با افزایش سن این میزان کاهش پیدا می کند . مثلا اگر قرار باشد این جنین زنده نماند تا 14 سالگی این میزان به 7.5 درصد میرسد ، درحالیکه در بدو تولد این میزان 25 درصد است پس با گذشت زمان کاهش پیدا میکند.

تراتولوژی ، مشکلات محیطی هستند که در جنین defect ایجاد می کنند ، به این عوامل **تراتوژن** میگویند و به چند دسته اصلی تقسیم می شوند:

1. مصرف دارو ها و مواد شیمیایی
2. مشکلات و بیماری های خود مادر

3. مشکلات و مواد فیزیکی ای که در اطراف وجود دارند مانند یون ها ، امواج رادیویی و ...

4. عفونت های مادر

50 درصد هم نا شناخته است : 50٪ اینکه یک جنینی مشکل دارد و این مشکل ژنتیکی هم نمی باشد، اینکه بخواهیم بدانیم دقیقا کدام عامل محیطی باعث abnormality در جنین شده، نا شناخته است .

مهمترین تراتوژن ها **دارو ها** هستند ، دارو ها 2 درصد تمام congenital abnormality ها را تشکیل می دهند . پس این مشکل محیطی جز یکی از فراوان ترین ها می باشد. مصرف بعضی از داروها اثبات شده که تراتوژن هستند ، یک لیست کوتاهی در ص 103 درسنامه آورده شده است .

به طور مثال ACE-Inhibitor هایی که مصرف می کنند معمولا دیسپلازی رنال برای ما ایجاد میکند ، یعنی شایع ترین مشکلی که میدهد، مشکل چشمی نیست، بلکه شایع ترین مشکلی که موجب میشود ، مشکلات دستگاه کلیوی است.

مصرف الکل ، مشکلات قلبی ایجاد می کند، میکروسفالی میدهد، چشم های کوچکی دارند و باعث ایجاد مشکلات چهره ای می شود . کودکانی که از مادران الکلی متولد می شوند ، چهره های خاصی می توانند داشته باشند.

مصرف کلروکوئین میتواند مشکلات چشمی و مشکلات شنوایی ایجاد کند .

زمانی داروی Diethylstilbestrol خیلی زیاد مصرف می شد و دارویی بود که متوجه شدند مهمترین مشکلاتی که ایجاد میکند مشکلات دستگاه ادراری و تناسلی است .به خصوص در جنین هایی که دختر هستند. *{که البته در جدول مشکلات رحمی – تناسلی نوشته شده است ... }*

مصرف لیتیوم ، مشکلات قلبی ایجاد میکند. *{ Ebstein Anomaly }*

مصرف فنیتوئین و والپروئیک اسید که جز داروهای شایعی هستند که بیماران صرعی استفاده میکنند، مشکلات قلبی و cleft palate می دهد . رتینوئید ، مشکلات شنوایی می دهد .

استرپتومایسین که تقریبا دیگر استفاده نمی شود ، شایع ترین مشکلی که ایجاد می کند ، مشکلات شنوایی است. زمانی در یک سری کشورها که به عنوان کارآزمایی های بالینی مصرف می کردند، شیوع بالایی از مشکلات دیده میشد.

تتراسایکلین چه جور مشکلاتی ایجاد می کند ؟ *Dental Enamel Hypoplasia* می دهد یعنی مینای دندان دچار هایپوپلازی می شود.

تالیدومید که به عنوان تراژدی تالیدومید مطرح شد ، چون در یک دوره 4 ساله نزدیک به ده هزار بچه ی مبتلا به ناهنجاری های شدید در اندامها متولد شدند.

والپروئیک اسید ، شایع ترین مشکلات را در اندام ها ایجاد می کند . مشکل های حاد سیستم عصبی را ایجاد می کند و چهره های خاصی به بچه ها می دهد.

وارفارین که در بعضی از بیماری ها مصرف آن شایع می باشد باعث هایپوپلازی ریشه ی بینی می شود.

یک سری از داروها هستند که احتمال ایجاد ناهنجاری را افزایش می دهند اما ثابت شده نیست که آیا واقعا ناهنجاری ایجاد می کنند یا خیر.

مثلا استرپتومایسین به طور شایع مشکل شنوایی ایجاد می کند و نه مشکل کلیوی . پس جدول دارو ها و عوارض شایعی که ایجاد می کنند) 12 مورد (را بدانید.

داروهایی هستند که احتمال ایجاد ناهنجاری را بالا می برند . مثل داروهایی که در درمان سرطان ها استفاده می شوند ، مثل متوترکسات که در اکثر plan های درمانی سرطان استفاده می شود.

سدیم والپورات ، داروی معروفی که در بیماران صرعی استفاده می شود ، احتمال آسیب را بالا می برد. { طبق درسنامه ، بالاترین خطر را بین داروهای ضد صرع دارد .}

یکی سری مواد شیمیایی به جز داروها هم وجود دارند ، در دریاها و آب های آزاد اطراف ژاپن (میناماتای ژاپن) ماهی های آلوده به سطح بالایی از جیوه وجود داشت که مادرانی که از ماهی های این دریاها استفاده کرده بودند ، بچه های abnormal داشتند (سندرم Cerebral Palsy-like) . بعد بررسی کردند و دیدند که بچه هایی که مشکلات حاد سیستم عصبی داشتند ، ناشی از مصرف این ماهی ها بود (به علت فلز سنگین جیوه) .

دی اکسین که در جنگ ویتنام استفاده شد و ناهنجاری هایی که به دنبال داشت . گازهای مختلفی که در ایران و عراق استفاده شد که در متون مختلف آورده شده است ، این گاز ها میتوانند طول عمر زیاد داشته باشد و استفاده از آنها اصلا از نظر انسانی هم درست نیست، ولی در آن زمان استفاده شد . این مواد می توانند با نیمه عمر طولانی در خاک بمانند و هنوز سبزی هایی که مصرف میکنیم، ممکن است آلوده باشد.

تراژدی تالیدومید :

بین سال های 1962-1958 (4 سال) رخ داد . دارویی بود که تحت عنوان sedative مثل استامینوفن مصرف می شد . در 1961 بچه هایی که آنومالی های خاص به خصوص در اندام ها داشتند که به آن فوکوملیا گفته می شود و استخوان های بلند مثل بازو، ساعد، ران در این افراد تشکیل نمی شود. در شکل1 ص104 درسنامه، تصوی ر حالتی است که انگشت ها را دارند ولی ادامه اش تشکیل نشده است.

علاوه بر این مشکلات حاد بسیاری که در قلب ، کلیه و دستگاه گوارش داشتند و 40 درصد آنها در بدو تولد به دلیل این مشکلات می مردند. بقیه زنده می ماندند و مشکلات بسیاری از قبیل بیمه و اینکه شرکت سازنده تالیدومید مسئولیت بپذیرد یا نه و .. به وجود آمد. شدیدترین عوارض برای مادرانی بود که در سه ماهه ی اول مصرف می کنند. همیشه برای همه ی عفونت های مادر هم به این صورت است . به خصوص 34-50 روز بعد ازLMP (Last Menstrual Period) .

نکته ی جالب تر این بود که خیلی از این بچه ها به سن باروری رسیدند و بچه هایی مشابه خودشان را به دنیا اوردند : نتیجه این مسئله این است که فرد جهش ژنتیکی داشته و علت ناهنجاری دیده شده استفاده از تالیدومید نبوده و به خاطر جهش خود فرد بوده است . پس همه ی آمار به دست آمده (ده هزار بچه ی آنومال در 4 سال) ناشی از تالیدومید نبوده است.

سوال بچه ها : ممکن بود که افراد در اثر تالیدومید دچار جهش شده باشند ؟ برای اینکه چنین جهشی به نسل بعد منتقل شود باید در رده ی زایا که به نسل بعد منتقل می شود ، رخ دهد ولی این معمولا چیزی است که در زمان تشکیل استخوان های بلند بیان نشده است. و در نتیجه مشکلاتی در بیضه و تخمدان نداشته اند که به نسل بعدی منتقل شود . حال باید آزمایش کنند و مثلا به موش هایی که سالم اند این دارو را بدهند و ببینند چند درصد abnormal می دهند . یا روی cell-line ماده ی شیمیایی را بزنند و ببینند که در آن رده ی سلولی چقدر بیان ژن هایی که در آن بچه ها abnormal شده بودند ، تغییر می کند.

اگر می تواند ، باید ببینیم احتمالش چقدر است که این دارو بر روی germinal line فرد اثر کند و جهش ایجاد کند تا به نسل بعد منتقل شود ! درصدش خیلی کم می باشد.

به همین دلیل افرادی که مشکلات ژنتیکی ای را نشان می دهند که هیچ وقت در شجره ی آنها وجود نداشته و در خانواده تکرار شود ، پس germinal cell های آنه است که دچار موتاسیون شده و بچه های آنها می توانند abnormal شوند ولی احتمالش خیلی کم است .

سندرم بچه های الکلی:

پشت لب بلند و صافی دارند . معمولا میکروسفال اند و چشم های کوچکی دارند و شکاف چشمی آنها خوب تشکیل نشده است(short palpebral fissure) ، تاخیر در یادگیری دارند ، بچه های عجول و پیش فعال ولی دست و پا چلفتی(clumsy) هستند . مشکلات ذهنی هم دارند که می توانند مدرسه بروند یا خیر . برای مصرف الکل هنوز حدی تعیین نکرده اند که بگویند اگر از این حد بیشتر شود، آسیب به جنین وارد می شود ولی در هر صورت عدم مصرف الکل در طول بارداری توصیه می شود.

عفونت های مادری:

بعضی از بیماری ها مثل سندرم TORCH که از قدیم این را بررسی می کردند . سندرم TORCH عبارت است از : توکسوپلاسموز ، روبلا ، سایتومگال ویروس ، هرپس (TORCH) . {بعضی منابع *O* را معادل *others* برای بیماری هایی چون سیفلیس ، ایدز و .. درنظر می گیرند اما در این جا استاد فرمودند که هیچی نیست } ... سالها در ایران هم جز غربالگری بوده است که ابتلا مادر بخصوص در سه ماهه اول به یکی از این ویروس ها (به جز توکسوپلاسموز که انگل است) می تواند ناهنجاری بر جنین به وجود بیاورد (با احتمال 30 درصد) .

ابتلا مادر در سه ماهه اول به سایتومگال ویروس مشکلات چشمی ، شنوایی و میکروسفالی ایجاد می کند .

واکسنی برای آن وجود ندارد، ابتلای بار اول آن ایمنی خیلی کوتاهی ایجاد می کند و دوباره می تواند ایجاد بیماری کند . 5 درصد فراوانی ناهنجاری هایی است که میتواند ایجاد کند .

هرپس سیمپلکس ویروسی است که میکروسفالی و میکروافتالمیا می دهد.

روبلا واکسن دارد (MMR) ولی ابتلا به آن در سه ماهه اول 25 درصد فراوانی ناهنجاری های جنینی را افزایش می دهد .

سیفلیس جز معروف ترین بیماری های باکتریال است و هیدروسفالی و مشکلات شنوایی، استخوانی و چشمی می دهد .

انگل توکسوپلاسموز که در گربه بسیار وجود دارد می تواند هیدروسفالی ، میکروسفالی و کاتاراکت چشمی و مشکلات شنوایی بدهد .

ابتلا به توکسوپلاسموز : اگر مادری در سه ماهه اول مبتلا شده باشد ،20 درصد و در سه ماهه ی دوم 75 درصد فراوانی ابتلای جنینش به انواع congenital defect ها وجود دارد ، یعنی بر خلاف اینکه در بیشتر موارد میگوییم congenital defect ها در سه ماهه اول خیلی فراوان است ولی در اینجا در سه ماهه دوم میزانش افزایش پیدا میکند . بررسی کرده اند و دیدند که در مادرانی که تست توکسوپلاسموز آنها در سه ماهه ی اول مثبت شده ،20 درصدشان کودکان abnormal به دنیا اورده اند و 80 درصدشان سالم بوده اند . اما در مادرانی که تستشان در سه ماهه دوم مثبت شده تنها 30 درصد از آنها کودکانشان سالم بوده اند.

- واکسن برای توکسوپلاسموز وجود ندارد .

برای این تست یکی از بهترین راه ها بررسی Ig M مادر است ، آزمایشگاهی که این آزمایش را انجام میدهد خیلی مهم است و متاسفانه جواب های منفی و مثبت کاذب ، خیلی وجود دارند.

یکی از بهترین راه ها در مادری که فکر میکند در سه ماهه اول به این بیماری مبتلا شده ، این است که ایمونو گلوبین های جنین را بررسی کنیم و ببینیم که آیا Ig M در خون جنین بالا رفته یا نه . از خون شریانی جنین تحت guide سونوگرافی نمونه برداری میشود.

Ig M اولین ایمونوگلوبینی است که بالا می رود و بعد از اینکه class آنتی بادی عوض میشود ، بقیه ایمونوگلوبین ها تولید می شود اما اگر جنینی Ig M اش بالا بود یعنی تازه به بیماری مبتلا شده اما اگر قبلا به بیماری مبتلا شده باشیم ، Ig G بالاست. پس بررسی Ig M در خون جنین یکی از راه هایی است که مطمئن شویم ، جنین به این بیماری مبتلا شده یا نه.

مواد فیزیکی، مثل استفاده از امواج رادیویی ، آیا میتوانند باعث شوند که جنین abnormal شود ؟ آیا ultrasound ها یا سونوگرافی که انقدر روتین استفاده می شود، می تواند باعث شود که جنین abnormal شود . روی این موارد خیلی بحث است و اینگونه نیست که بتوان آنها را کاملا رد کرد یا کاملا تایید کرد.

اما دیدن تلویزیون یا رادیو گوش کردن و.. امواجش مشکلی برای جنین ایجاد نمی کند . ولی در اندک مواردی یک سری اتفاقات تصادفی میتوانند باعث شوند که تاثیر یک عامل به طور کاذب بیشتر نشان داده شود .

چیزی که مسلم است این مسئله می باشد که اشعه های یون ساز ، مثل اشعه ایکس یا گاما و...آسیب زا هستند و نباید زیاد استفاده شوند . شایع ترین اختلالاتی که این امواج ایجاد می کنند ، اختلالات چشمی و میکروسفالی است.

دو تا 5 هفته پس از conception یا 4 تا 7 هفته پس از LMP { فاصله ی بین آخرین *mens* و لقاح، 2هفته است } ، golden time ای است که باید محافظت شود زیرا بیشترین آسیب به جنین در این زمان وارد می شود .

برای اشعه های یون ساز مثل اشعه ایکس و... موتاژن و کارسینوژن بودن بیان می شود . یعنی اینها می توانند ایجاد سرطان در جنین کنند و یا این عوامل mutation های زیادی ممکن است در جنین ایجاد کنند . یعنی جنین ممکن است دچار instability کروموزومی شود(نه در یک یا دو ژن) ، زیرا تعداد سلول بسیار کمی دارد و جنین میتواند دچار شکستگی ها ی متعدد سلولی شود و مشکلات حاد برایش ایجاد شود.

یک عامل دیگر که جز تاثیر عوامل فیزیکی به شمار می آید ، hyperthermia است . مثل تب بالا (که البته تب معمولا مدت زمان زیادی بالا نمی ماند و زود درمان میشود) اما مثلا در خانمهایی که زیاد سونا و حمام های آب گرم استفاده می کنند و یا در مکان های گرم طولانی مدت می مانند، نشان داده اند که میتواند در مهاجرت سلول های عصبی ، تفاوت ایجاد کنند و بچه هایی با اختلالاتی مثل میکروسفالی و میکروفتالمیا و مشکلات عصبی به دنیا بیایند . زیرا مهاجرت سلولهای عصبی صحیح صورت نگرفته است .

به همین دلیل توصیه می شود که مادران طولانی مدت در محیط های گرم قرار نگیرند.

بیماری هایی که مادر دارد، مثل دیابت و صرع نیز بر سلامت جنین تاثیر میگذارند.

دیابت مادر 2 تا 3 برابر احتمال ناهنجاری را در جنین افزایش می دهد ، میگویند خود دیابتی بودن مادر اشکالی ندارد و کنترل نامناسب قند خون است که abnormality را در جنین ایجاد میکند . از جمله این مشکلات، congenital heart disease و مشکلات NTD (Neural Tube Defects) می باشد . یکی از شایع ترین مشکلاتی که در جنین هایی که مادرانشان دیابتی هستند به خصوص در سه ماهه اول دوره بارداری ، دیده می شود ، هایپوپلازی استخوان فمور است.

فنیل کتونوریا ، بیماری ناشایعی نیست . زمانی که سطح فنیل آلانین خون مادر در سطح نرمال باقی بماند ، آسیبی به جنین وارد نمی شود . این مسئله مستلزم این است که مادر هم داروی مناسب و هم رژیم غذایی مناسب دریافت کند . سطح فنیل آلانین خون مادر می تواند تعیین کننده ی آسیب به جنین باشد. مادرانی که سطح فنیل آلانین خون بالایی دارند (مادران مبتلا به فنیل کتونوریا که رعایت رژیم غذایی را نمیکنند) و فنیل آلانین خون آنها از سطح نرمال بالاتر است ، 100 درصد کودکان mental retard به دنیا می آورند. از اختلالات دیگر میتوان به میکروسفالی و congenital heart disease و ... اشاره کرد.

مادرانی که صرع دارند، خود بیماری مشکلی برای جنین ایجاد نمی کند اما داروهایی که مصرف میکنند مثل والپوریک اسید یا فنیتوئین و... اگر برای دوره ی بارداری صحیح تنظیم نشوند ، میتوانند آسیب رسان باشند و 2-4 برابر congenital abnormality در این کودکان بالاتر است . نوع داروهایی که مادر استفاده می کند خیلی اهمیت دارد . یک سندرمی وجود دارد به نام Fetal Valproate Syndrome . در کودکان مبتلا به این سندرم ، تیغه بینی خیلی پهن است و کامل تشکیل نشده است . فاصله چشم ها در اینها زیاد است، نوک بینی در افراد مبتلا به این سندرم تشکیل نشده ، فرنولوم آنها خیلی بلند است (فاصله بین لب بالا و بینی زیاد است) و لب بالایی آنها خیلی نازک است.

دقت کنید که خیلی از افراد ممکن است برخی از این ویژگی ها را داشته باشند مثلا لب بالایی آنها خیلی نازک باشد ، اما مجموعه ای از این مشکلات با هم در مادرانی که اپیلپتیک هستند ، به عنوان Fetal Valproate Syndrome مطرح است.

نکته ای که اهمیت دارد این است که مثلا اگر به شما کودکی را نشان بدهند که استخوان های ترقوه اش دو طرفه تشکیل نشده ، احتمال اینکه این اختلال در این کودک ژنتیکی باشد، نسبت به کودکی که این ساختار ها در او به صورت یک طرفه تشکیل نشده، بیشتر است . زیرا چیزی که برای تشکیل اندام ها لازم بوده در این افراد اصلا وجود نداشته . مشکلاتی که قرینه هستند و دوطرفه دیده می شوند ، اغلب جنبه های ژنتیکی دارند ،ولی مشکلاتی

که یک طرفه اند ، مثلا نوار های آمنیون ممکن است دور یک قسمت پیچیده شده باشد و به این علت قسمتی از دست تشکیل نشود . مشکلاتی که بیشتر دارای جنبه های محیطی هستند نسبت به مشکلات ژنتیکی ، برای خانواده ها خیلی دارای اهمیت می باشند . افرادی که برای مشاوره می آیند ، میخواهند ببینند که recurrent risk در آنها چقدر است ، یعنی چقدر ممکن است که بچه ی بعدی هم مبتلا به آن بیماری شود. {پس تقارن و ناهنجاری های خط وسط اکثرا اساس ژنتیکی دارند} .

موفق باشید

ویراستار : رعنا ایریلوزادیان

یادداشت:

ژنتیک

جلسه هفتم ۱۳۹۵/۰۹/۱۴

مدرس: **آقای دکتر درویش**

گروه ۱۸ : زهرا شعبان زاده ، یاسمن ناظریان

مبینا قاسمی، شیوا مرادی

تالاسمی شایع ترین بیماری مندلی و شایع ترین بیماری تک ژنی دنیا است که انواع مختلفی دارد.

هموگلوبینوپاتی ها (بیماری های هموگلوبین)

در طبقه بندی که داشتیم گفتیم که بیماری های ژنتیک به ۳ دسته تقسیم بندی می شوند :

بیماری های تک ژنی

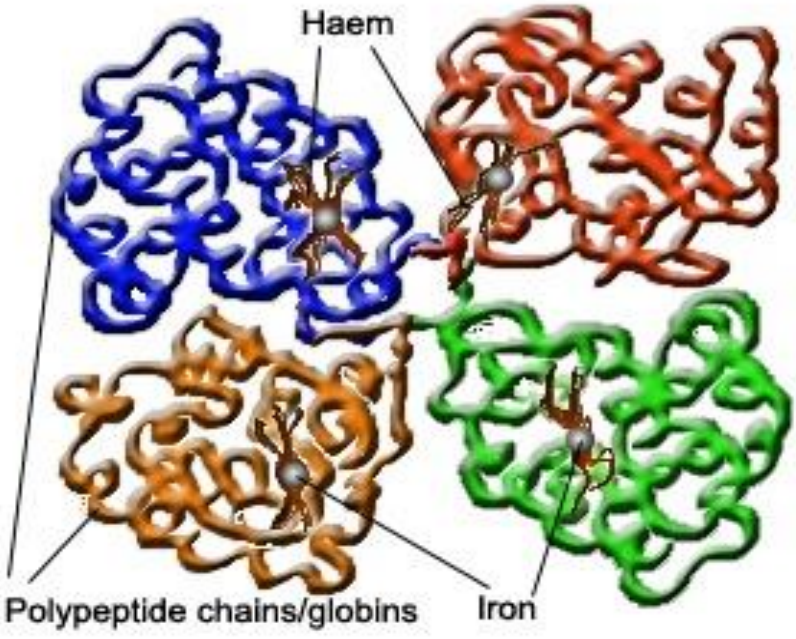
کروموزومی

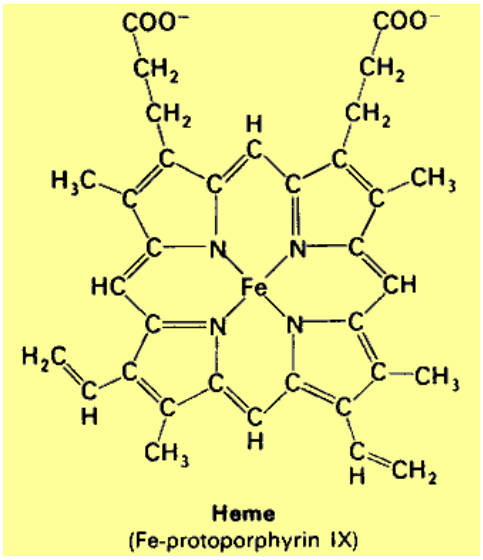
پیچیده یا complex

بیماری های تک ژنی شامل غالب و مغلوب هستند.انواع بیماری تالاسمی که شامل الفا،بتا و کم خونی داسی شکل است جزء بیماری تک ژنی مغلوب قرار می گیرند .

مکانیسم بیماری در بیماری مغلوب **فقدان محصول** است که در تالاسمی انتظار داریم چنین چیزی را ببینیم.

شکل هموگلوبین است که به $\alpha 2\beta 2$ معروف میباشد





الفا یا بتا ساختار های پروتئین هستند و باید با هم match شوند تا بتوانند کارشان را درست انجام دهند(تکامل اینطور خواسته است)

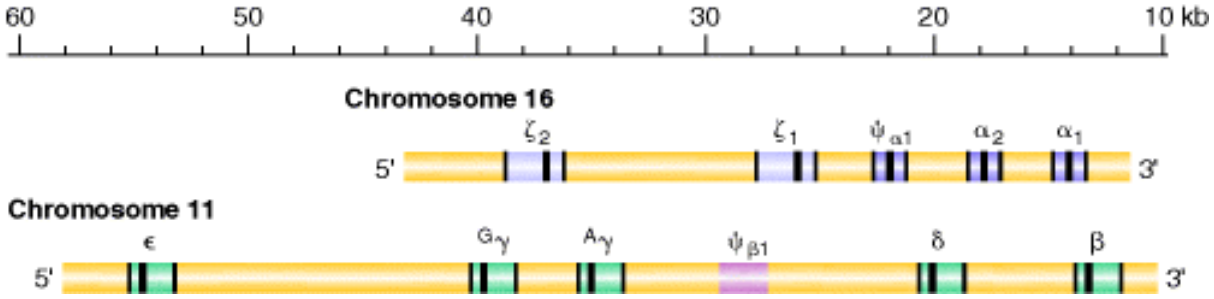
آلفا روی کروموزوم شماره ۱۶قرار دارد و بتا روی کروموزوم شماره ی ۱۱.اما نکته ای که وجود دارد وجود دو نوع آلفاست . الفا یک و دو که تقریبا فرقی با هم ندارند البته یادتان باشد هیچ دوتا ۳۰۰ نوکلئوتید پشت سر هم در ژنوم انسان،مثل هم نیست!

همان پروتئین ساخته می شود و همان عملکرد را دارد ولی زنجیره نوکلئوتید ها مثل هم نیست یکی از دلایلش این است که هر اسید امینه بیشتر از یک کدون دارد بجز دوتا اسید امینه معروف : متیونین و تریپتوفان

اسید امینه اول همه ی پروتئین های انسان متیونین است که کد آن AUG است .

وقتی mRNA میخواهد پروتئین بسازد اولین اسید امینه همیشهAUG است اگر جهش پیدا کند کارایی ترنسلیشن به شدت افت میکندو میتواند پاتوژن باشد.

روی کروموزوم ۱۶ از آلفا دوتا داریم، آلفا ۱ و ۲و در کل ۴ آلل داریم.(از هرژن ۲ تا داریم .)اما در کروموزوم ۱۱ ،از بتا یک عدد و دو عددآلل داریم.یکی روی این کروموزوم داریم و دیگری روی کروموزوم مقابلش است.



سوال : ۴ تا آلفا در مقابل دوتا بتا وجود دارد.چطور بتا میتواند کمبود خود را جبران کند ؟پروموتورش قوی تر است پس بیانش را بالا برده و اضافه کاری می کند.

کلا زنجیره الفا و بتا در تکامل خیلی نقش دارند . انواع دیگر : α1,2وβوδو Aγ,Gγ

انواع مختلف الفا و شبیه به الفا داریم که در زنجیره می بینید . ζ1,2 را میبینید که در زنجیره الفا نزدیک به الفا قرار دارند در واقع شبیه خوشه طوری اند.

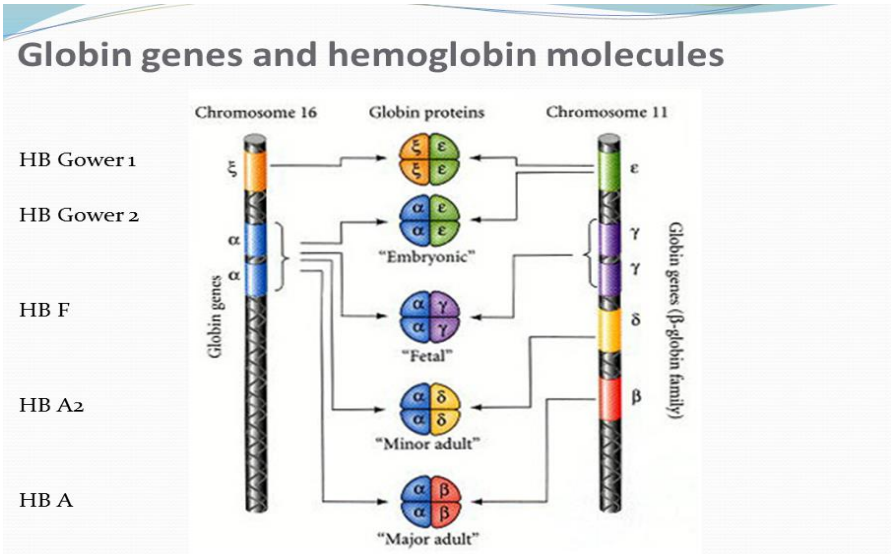
انواع هموگلوبین داریم،از جمله هموگلوبین :

Gower 1 : ζ2ε2

Gower 2: α2ε2(Embryonic)

Hb f : α2γ2

در طول دوره ی جنینی در ماه های مختلف انواع مختلف hb را تا زمان تولد داریم و سپس این بیان ثابت می شود .چرا؟ همه کار تکامل است



برای مثال هموگلوبین fetal ($\alpha_2\gamma_2$) تمایلش به اکسیژن حدودا ۱۰۰ ها برابر بیشتر از هموگلوبین طبیعی مااست. (برای اینکه جنین بتواند اکسیژن را از گلبول های قرمز مادر بیرون بکشد .)ژن میداند در چه زمانی در کجا باید بیان شود! پس از تولد بیان برخی ژن ها متوقف می شود.برای مثال بعد از تولد دیگر به اکسیژن مادر نیاز نداریم پس بیان هموگلوبین f متوقف میشود.

هموگلوبین A2 و A که hb A ،برای بالغین است همان $\alpha_2\beta_2$ که ۹۷ - ۹۸ درصد از هموگلوبین بالغین را تشکیل می دهد .اما در حد ۲ - ۳ درصد $\alpha_2\delta_2$ داریم که به hb A2معروف است .که در تشخیص انواع مختلف حاملین تالاسمی کمک می کند.

برای تشخیص ناقلین تالاسمی از MCH-MCV-CBCاستفاده می کنیم که اگر MCV< ۷۵, MCH<۲۵ باشد.فرد باید سه ماه قرص آهن مصرف کند و بعد سه ماه دوباره آزمایش دهد باز هم اگر نتایج همان بود فرد مشکوک به تالاسمی میشود.

برای تشخیص اینکه فرد تالسمی نوع آلفا دارد و یا بتا هموگلوبین الکتروفورز میکنیم و **هموگلوبین A_2** را اندازه میگیریم.

- اگر مقدار هموگلوبین A_2 بیشتر از 3/5 باشد، (میتواند حتی به ۵ هم برسد) فرد مشکوک به **بتا تالاسمی** است .
- اگر زیر 3/5باشد (نرمال) فرد مشکوک به **آلفا تالاسمی** است.

سپس تست ژنتیک انجام میدهیم چون این آزمایش ها فقط ما را راهنمایی می کند و تا وقتی که تست ژنتیک انجام ندهید به هیچ فردی نمیتوانید بگویید که آلفا تالاسمی است یا بتا تالاسمی . یعنی تا

وقتی که جهش دقیق عامل بیماری در زنجیره آلفا و یا بتا مشخص نشود به هیچ وجه نمیتوان تشخیص داد که فرد حامل و یا مبتلا به کدام نوع تالاسمی است .

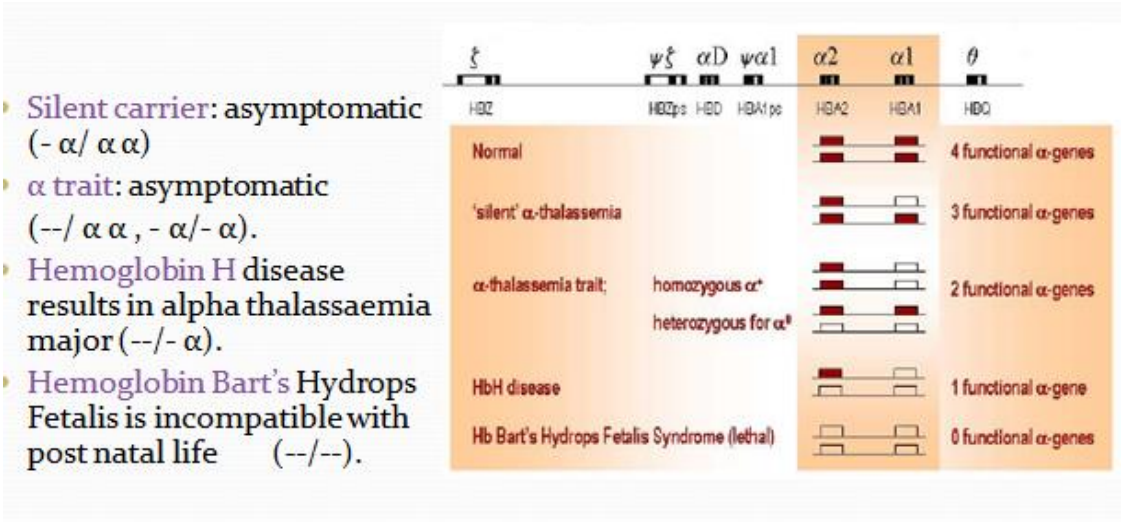
(برای مثال در سندرم داون با تست های سه گانه و چهارگانه خون مادر به علاوه سونوگرافی و اندیکاسیون های سونوگرافی احتمال ابتلا را مشخص میکنیم، یعنی همیشه ممکن است اشتباه باشد)

✓ ایران یکی از شایع ترین کشورها در تالاسمی است.

آلفا تالاسمی

دو نوع α_2 و α_1 وجود دارد و در واقع روی دو کروموزوم هومولوگ ۴تا میشوند.

(استاد فرمودن که از مطالب و عکس زیر حتما سوال میدن! ☺)



در حالت نرمال فرد ۴ تا ژن α فانکشنال دارد.

اگر فردی ۳ ژن فانکشنال داشته باشد **silent carrier یا حامل بدون علامت** میشود.

اگر فردی ۲ ژن فانکشنال Alpha trait داشته باشد، که همان حالت تالاسمی مینور است و فرد معمولا مشکلی ندارد.در این حالت تازه از نظر اندازه آلفا با بتا برابر میشود . این مورد دو حالت دارد:

۱. (α-/α-) در دو زنجیره ۲ تا ژن را از دست داده
۲. (αα/--) در یک زنجیره دو تا ژن را از دست داده است.

اگر فردی ۳ تا ژن را از دست داده باشد و فقط یک ژن فانکشنال داشته باشد (α-/--) به آن Hemoglobin H یا **HBH disease** میگوییم.

اگر فردی هر ۴ زنجیره را نداشته باشد به آن Hemoglobin Bart میگوییم که جنین به hydrops fetalis مبتلا و سقط میشود. چون در این حالت حتی زنجیره های دیگر هم نمیتوانند جبران کنند. دانشمندان در تلاشند که در افراد مبتلا به بتا یا آلفا تالاسمی ،زنجیره های دیگر را جایگزین زنجیره ی آلفا و یا بتا کنند تا فرد مشکل را تحمل کند که البته کارخیلی سختی است چون باید بیان زنجیره های دیگر را که زمان جنینی متوقف شده اند را بالا ببرند .

- یکی از شایع ترین نقاط تالاسمی در کشور ما مازندران است.
- یکی از موفق ترین پروژه های کشوری برای جلوگیری از بیماری ها، تالاسمی است.

قبل از ازدواج حتما از مرد نمونه خون میگیرند تا ببینند که مرد حامل تالاسمی است یا نه.اگر حامل نبود مشکلی نیست.اگر مرد حامل بود از زن هم نمونه خون میگیرند . در صورت حامل نبودن زن، بازهم مشکلی نیست. اگر زن هم حامل بود به احتمال 1/4 فرزندانشان مبتلا میشوند.که البته در این حالت اجازه ازدواج دارند. قبلا یه مدتی کوتاهی به زن و مرد حامل اجازه ازدواج نمیدادند در این حالت این افراد با ازدواج با افراد سالم ژن معیوب را در جامعه پخش میکردند. سپس به این افراد اجازه ازدواج دادند ولی تحت مراقبت هستند تا فرزندشان مبتلا نشود(در ۲-۲,۵ ماهگی جنین مقداری از مایع امنیونی جنین را میگیرند و استخراج DNA انجام میدهند و جهش عامل بیماری را مشخص میکنند اگر جهش هموزایگوت بود جنین سقط میشود).

این تست خیلی ساده ای برای یک آزمایشگاه ژنتیک است. اما به وفور شما خانواده ها و زوج هایی را می بینید که۲ یا ۳ بار جنین سقط شده است و دیگر انرژی و طاقت روانی برای بار های بعدی وجود ندارد و به دنبال راه دیگری هستند. راه دیگر IVF وPGD است. در واقع اسپرم و تخمک را میگیرند و در آزمایشگاه به مرحله ی ۷،۸ سلولی می رسانند و یک سلول را میگیرند و تست می کنند و جنین سالم را وارد رحم می کنند. که البته این هم هزینه های بسیار زیادی دارد. احتمال چند قلو زایی وجود دارد و زحمت بسیار زیادی را بر زن در پی دارد و علاوه بر این ها بالای ۵۰تا ۶۰٪ احتمال سقط دارد. پس شاید راحت تر باشد که این ها تصمیم بگیرند ازدواج نکنند!

بتا تالاسمی

بتا تالاسمی از آلفا خیلی ساده تر است. و تشخیص آن هم ساده تر است. ما در آلفا ۴ ژن داشتیم و اینجا ۲ ژن داریم.

به چه کسی میگوییم حامل بتا تالاسمی(**β thal minor** or **trait**)؟

کسی که هترو زایگوت باشد؛ یعنی یکی از ژن ها پروتئین سالم درست کند و دیگری پروتئین ناقص درست کند یا نتواند پروتئین را درست کند.

یک تعریف دیگری به نام **β thal major** که فرد مبتلاست و هموزایگوت است.

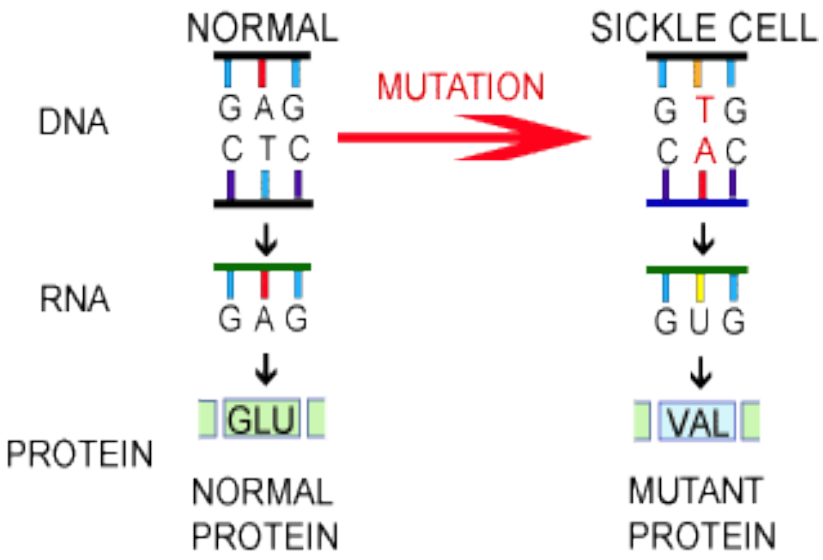
یک حالت دیگری داریم به نام **β thal intermedia** . یعنی فرد حد وسط است . اینترمدیا ها معمولا به مقدار کمتر از هترو زایگوت ها پروتئین بتا را می سازند. اینترمدیا ها معمولا از major یا بیمار وضع بهتری دارد و از هتروزایگوت وضعش بدتر است. یعنی یک سری varient ها و جهش ها مثلا در پروموتور یا ناحیه تنظیمی ژن وجود دارد . مثلا یکی از ژن های زنجیره بتا ی فرد معیوب است و ژن دیگر دارای یک سری جهش ها در پروموتور خود است که باعث می شود نتواند درست و حسابی بتا را بسازد و کمتر از مقدار می سازد. این افراد کمی علامت دارند.(که در درسنامه می توانید بخوانید.)

{استاد توقع ندارد که وقتی درسنامه می خونید انواع مختلف هموگلوبین ها را حفظ کنید. این ها همان زنجیره های طبیعی هستند که جهش هایی در آن اتفاق افتاده. و جای آمینو اسید ها عوض شده است و صفحه و پیج الکتروفورز برای آن ها متفاوت است. و بعضی اوقات affinity یا تمایل آن ها به اکسیژن تغییر می کند. و مشکل زیادی برای فرد ایجاد نمی کنند و بیماری زا هم نیستند. هموگلوبین Freiburg در شهری به همین نام در آلمان پیدا شد. هموگلوبین constant spring نیز در شهری به همین نام در آمریکا پیدا شد. خلاصه که خودتان را درگیر این مسائل نکنید و مسائل مفهومی را یاد بگیرید}

کم خونی داسی شکل (sickle cell anemia)

اول با واژه ی الل هتروژنیتی آشنا می شویم :

جهش های مختلف در الل های مختلف یک ژن ، که با عث بیماری های مختلفی شوند. این یک موضوع خیلی جالب و در عین حال خیلی پیچیده است. ما اینجا یک ژن داریم که جهشی در ان بتا تالاسمی می دهد و جهش دیگری در آن کم خونی داسی شکل می دهد.این یک مثال خیلی ساده ای از الل هتروژنیتی است. همه ی جهش هایی که در ژن پروتئین بتا اتفاق بیفتد بتا تالاسمی می دهد به جز یک جهش ، که باعث کم خونی داسی شکل می شود.



وقتی گلوتامیک اسید (GLU) یا (E) شماره ی ششم به والین(V) تبدیل شود و در این جهش تبدیل آدنین (A) به تیمین(T) است(GAG به GTG تبدیل میشود). به این هموگلوبین جدید **هموگلوبین S** می گویند.

پس هموگلوبین s موجب کم خونی داسی شکل می شود. وقتی والین به جای گلوتامیک اسید می آید ، ساختار هیدروفیلی یا آب دوستی به ساختار هیدروفوب یا آب گریز تبدیل می شود و کلا ساختار گلبول قرمز به هم میریزد و دیگر نمی تواند اکسیژن حمل کند. این بیماری بسیار بسیار شدیدی است.

معمولا بیماری هایی که ناشی از جهش های مختلف یک ژن هستند در یک خانواده قرار دارد. مثلا بتا تالاسمی و کم خونی داسی شکل هر دو از بیماری های خونی هستند،حال ۲ سوال مطرح می شود:

خانم و آقای حامل تالاسمی (بیماری اتوزوم مغلوب) به چه احتمالی فرزندشان مبتلا میشود؟ یک چهارم

خانم حامل تالاسمی و آقا حامل کم خونی داسی شکل به چه احتمالی فرزندشان مبتلا میشود؟به احتمال یک چهارم فرزندشان مبتلا به آنمی شدید میشود.(البته خود کم خونی داسی شکل یک آنمی همولیتیک است که گلبول قرمز در آن لیز میشود اما این آنمی خیلی شدیدتر است.)

اما چرا در این حالت فرزند بیمار میشود وقتی پدر و مادر حامل ۲ بیماری متفاوتند؟چون هر دو بیماری مربوط به ژنی هستند که که کد کننده ی زنجره ی بتا است.

در این حالت به چه احتمالی فرزند سالم میشود؟سه چهارم(یک چهارم ناقل تالاسمی،یک چهارم ناقل آنمی داسی شکل،یک چهارم کاملا سالم)

میتوان گفت ژنتیک در بیولوژی تقریبا علم اول است،البته میکروبیولوژی هم خیلی کاربرد دارد (قسمت دارویی اش)که البته باز به ژنتیک (ژنتیک باکتریها) برمیگردد. ژنتیک پزشکی علم بسیار پر کاربردی است که در عین سادگی پیچیدگی های خودش را دارد .یکی از پیچیدگی های اخیر ژنتیک (۵ سال اخیر) این است که چگونه در مورد یک جهش میتوانیم بگوییم صد در صد پاتوژن است.

در واقع همه ی جهش ها مثل تالاسمی و کم خونی داسی شکل نیستند که به راحتی پاتوژن بودنشان مشخص شود.

سوال:از محصول ژن جهش یافته میتوان پاتوژن بودن را تشخیص داد ، مگر نه؟

جواب:اگر بخواهیم این را آنالیز کنیم باید functional analysis انجام دهیم. مثلا خانواده ای دارید با یک بیماری خاص که در آنها جهشی پیدا کرده اید که تا بحال گزارش نشده ، باید پروتیین مربوطه و عملکرد آنرا بررسی کنند که نیاز به هزینه دارد.در اینجا بحث مورد نظر ما پژوهش نیست . بحث مریضی است که به آزمایشگاه مراجعه کرده و میخواهد علت بیماری اش را بفهمد . مثلا فردی بیماری چشمی(RP (retinitis pigmentosa دارد ، ۳ میلیون هزینه میکند و آزمایشگاه ۵۷ ژن او را چک میکند و متوجه میشود در ۲ ژن جهش هموزیگوت دارد.

حالا مریض باید درمان شود و درمان هزینه میخواهد.

البته RP فقط مربوط به ۵۷ ژن است فقط . در بزرگترین مراکز تحقیقی دنیا نرم افزارهای بیوانفورماتیکی طرح میشوند که تمام ژنوم انسان را تعیین توالی میکنند. امروزه کل ژنوم انسان را با ۲ میلیون و ۳۰۰ هزار تومان :) تعیین توالی و آنالیز میکنند.(۵ کشور با میلیاردها دلار هزینه ژنوم انسان را در ۱۰ سال تعیین توالی کردند.)

حال فرض کنید فردی یک بیماری دارد و ژنومش تعیین توالی شده و متوجه شده ایم ۵۰ ژنش جهش دارند ؛ چگونه متوجه شویم کدام یک از این جهش ها علت بیماری فرد است؟

پروژه ی ژنوم انسان بزرگترین و پربازده ترین پروژه ی دنیا بوده و است و خواهد بود:/

خسته نباشید.

ویراستار : آنیتا کریمی

یادداشت:

ژنتیک

جلسه هشتم ۱۳۹۵/۰۹/۱۷

مدرس: **آقای دکتر درویش**

گروه ۲۰: سروین اسحاقی، ساناز روشناس

کیمیا کریمی طاهری، نسترن پاینده (تایپ)

مبحث جلسه: آشنایی با شجره نامه ها و مشاوره ژنتیک

فصل های ۳ و ۸ و ۱۱ و ۱۲ کتاب را خیلی جزیی نخوانید، نیازی نیست خیلی ریز حفظ کنید.

مطالب کلاسی و کتاب به نسبت ۳۰ به ۷۰ یا ۴۰ به ۶۰ مطرح خواهد شد، از متن کتاب سوال میشود ولی از مطالب کلاسی هم قطعا سوال می آید! (روی ۴۰ به ۶۰ حساب کنید)

مطالب این جلسه راجع به مشاوره ی ژنتیک و محاسبه ریسک خطر میباشد.

اولین کاری که در مشاوره ژنتیک باید انجام شود شجره خانوادگی فرد است.

- ✓ **سوال:** چه کسی اندیکاسیون مشاوره ژنتیک را دارد؟ اغلب افراد اندیکاسیون آن را ندارند، زمانی مشاوره ژنتیک لازم است که در خانواده نزدیک یا دور فرد، فرد مبتلا به یک بیماری ژنتیکی باشد. نکته ی دیگر اینکه خیلی از بیماری های ژنتیکی مانند سرطان ها را نمیشود کاری کرد... مثلا اگر فردی بگوید برادر من در سن ۳۰ سالگی سرطان ریه گرفته است، مشاور ژنتیک نمیتواند کاری انجام دهد. فقط اگراندیکاسیون ها برای یک بیماری ژنتیکی مشخص مثل عقب ماندگی ذهنی، ناشنوایی، نابینایی و... داشته باشید (در این مواقع هم فقط وقتی به درد میخورد که زوج مورد نظر از نظر مالی وضع خوبی داشته باشند) کارایی دارد، مثلا پسرخاله فردی نابیناست و وقتی مشاور شجره رسم میکند با احتمال مثلا ۱۵-۱۰٪ بچه آن فرد هم نابینا میشود و راهکاری که به زوج داده میشود این است که از آنها نمونه خون بگیرند و تمام ژن هایی که

در نابینایی دخیل هستند را چک کنند تا بررسی شود زن و شوهر حامل ژن هستند یا خیر و به چه احتمالی بچه مبتلا میشود. البته قیمت این تست ۴ تا ۶ میلیون است و عملا میبینیم که خیلی این تست انجام نمیشود.

- ✓ خیلی اوقات این تست ها کمک کننده است، خصوصا در مواردی که خواهر یا برادرزن و شوهری که با هم ازدواج میکنند، ناهنجاری یا بیماری ژنتیکی دارند که در این صورت باید تصمیم بگیرند که واقعا ارزش این هزینه را دارد یا نه؛ چون عقب ماندگی، ناشنوایی یا نابینایی، اختلال حرکتی و... بیماری های خیلی سختی هستند و این تست ها در همین ۳-۴ سال آمده است و هزینه آن ۳-۴-۵ میلیون میشود که میتوان تمام ژن های دخیل در عقب ماندگی ذهنی را search و علت را پیدا کرد.

این پیشرفت در تست های تشخیصی در ۳-۴ سال اخیر حاصل شده است و تا ۶-۷ سال پیش اگر میخواستند علت نابینایی یک فرد را بیابند هرجای ایران هم میرفتند، امکانش نبود؛ چون نابینایی حدود ۶۰ ژن دارد.

اگر ۱۰ سال پیش با تکنیک های روتین آن زمان میخواستند علتی را بیابند حدود ۱۰۰ میلیون و یک سال زمان نیاز داشت اما اکنون با ۵ میلیون و یک ماه زمان میتوان به همان نتیجه رسید.

برای مثال، خانواده هایی داریم که زن و شوهر ۳۰ سال پیش ازدواج کرده اند و ۴تا بچه مبتلا به عقب ماندگی ذهنی دارند و میگویند ما ۳۰ سال پیش مشاوره ژنتیک رفتیم و حالا شما نمیتوانید به آنها ثابت کنید که اگر شما ۵ سال پیش هم مشاوره میرفتید فایده ای نداشت چه برسد به ۳۰ سال پیش که حتی نمیدانستند تعداد ژن های انسان چندتاست! (فکر میکردن ۱۰۰۰۰۰ تا است)

- ✓ زمانی میخواستند مشاوره ژنتیک را در تمام کشور بسط دهند اما گویا این اتفاق نیفتاد؛ چون بیشتر باعث سردرگمی و نگرانی افراد میشد.
- ✓ مسئله مهم تر اینکه نزدیک به ۲۰ هزار ژن کدکننده پروتئین داریم. تمام ژنهای انسان کشف شده اند (اگزون و اینترون و توالی هایشان مشخص شده است)
- ✓ **سوال:** آیا ارتباط همه ژن ها با بیماری ها مشخص شده است؟ ما اکنون gene discovery انجام میدهیم (کشف ژن)؛ در واقع ارتباط یک ژن را با بیماری مشخص میکنیم (برای اولین بار)؛ مثلا میفهمید که اگر یک ژن جهش پیدا کند باعث عقب ماندگی ذهنی میشود.

در همین ۵-۶ سال اخیر بیش از ۵-۶ هزار و یا ۷ هزار ژن کشف شده است که رقم خیلی بالایی است و تکنیک هایی به نام next generation sequence یا NGS یا نسل بعدی تعیین توالی وجود دارد که به زودی جایزه نوبل هم میگیرد. ۱۰ سال طول کشید تا پروژه ژنوم انسان به سرانجام برسد و ۵ تا کشور دست به دست هم دادند و میلیون ها دلار هزینه شد (۲۰۰۳-۲۰۰۲). اکنون ظرف مدت ۲ یا ۳ ماه و با ۵۰۰ دلار همه ژن های یک فرد را توالی یابی میکنند و در سال ۲۰۰۵ مقاله اش آمد و همین طور پیشرفت کرد.

این قیمت های کاذب ۵-۶ میلیون را آزمایشگاه ها میگیرند و اگر مثلا خود دانشگاه برای یک شرکت خارجی بفرستد ۷۰۰ دلار جمع میشود.

گروه ما (گروه ژنتیک) در ۲-۳ سال گذشته، ۴-۵ژن کشف کرد! ؛ چون خانواده هایی با ازدواج خانوادگی داریم که در خارج نداریم.

- ✓ در ازدواج غیر خویشاوندی حدود ۳٪ احتمال به دنیا آمدن بچه ناهنجار وجود دارد. در ازدواج خویشاوندی از ۳-۴٪ به ۵-۶٪ میرسد و دوبل میشود.(بدون هیچ اندیکاسیونی ! یعنی هیچ خویشاوند عقب افتاده ای نداشته باشند.)ت
- ✓ گاهی اوقات زوجی بدون اندیکاسیون به آزمایشگاه مراجعه کرده و میگویند هر هزینه ای را میدهیم فقط کاری کنید که این ۳٪ هم به صفر برسد. در این موارد، هم ژنوم خانم و هم ژنوم آقا را با نمونه خون میتوان تعیین توالی کرد و آنرا آنالیز میکنیم تا بفهمیم خانم و آقا هرکدام در چه ژن هایی هتروزیگوت هستند و احتمال ابتلای فرزند آنها را به آنها اطلاع بدهیم، همچنین هنگام بارداری از روش های تشخیصی پیش از تولد استفاده میکنیم و خطرات را از بین میبریم.

البته این کار اکنون انجام میشود و پنلی وجود دارد که ۱۳۰-۱۲۵ ژن عامل شایع ترین بیماری های ژنتیکی را چک میکند.)

اگر فرد بخواهد ۱۰۰٪ اطمینان حاصل کند همه ژن ها را تعیین توالی میکنیم و با نرم افزاری محاسبه میکنیم که حامل چه ژن های معیوبی است.

- ✓ **ژنتیک:** تمام ژن های فرد را با استفاده از این علم میتوان توالی یابی کرد تا بفهمیم یک زن و شوهر حاوی چه ژن های معیوبی هستند. هم چنین با استفاده از آمنیوسنتز، درباره ابتلای جنین تشخیص و بررسی انجام میدهیم تا نوزادی سالم به دنیا بیاید.
- ✓ **سوال:** قطعا در این رابطه (توالی یابی ژن های معیوب یک زوج) مشکلاتی وجود دارد، این کار نهایتا با صرف ۱۰-۱۵ میلیون انجام میشود پس مشکل چیست؟

در واقع ژن هایی ناشناخته هستند. یعنی ژن هایی وجود دارند که هنوز نقص در آنها در تمام دنیا گزارش نشده است.

طبق گزارش یک مقاله، در ایران، ۵۰تا ژن جدید که نقص آنها باعث عقب افتادگی ذهنی میشود کشف شده است که این با ارزش است؛ زیرا این ژن ها وارد لیست بررسی های قبل از تولد میشوند تا نوزادی عقب مانده بدنیا نیاید.

در بین ۲۰۰۰ ژن کمتر از ۲۰۰ ژن (نقص در آنها) میتواند در یک عقب افتادگی ذهنی گزارش شود. (استاد قول میدهد! که بالای ۱۰۰۰ ژن غیر سندرمیک در عقب افتادگی ذهنی وجود دارد که باید کشف شوند)

- ✓ **سوال:** چه کشورهایی باید روی ژن های دخیل در عقب افتادگی ذهنی مسئله کار کنند ؟ ایران، عربستان، هند، پاکستان و ترکیه و... در اصل تمام کشورهایی که ازدواج خویشاوندی شایع است.
- ✓ ازدواج خویشاوندی در آمریکا، حدودا ۰,۱٪ یا ۰,۲٪ میباشد ولی در ایران ۴۵-۳۵ ٪ است. و هم چنین طبق آماری که از مراکز نگه داری بچه های عقب مانده ذهنی و اوتیسمی، ۳۵٪ والدین این بچه ها، خویشاوند هستند.

بیش از ۹۰٪ خانواده هایی که ۲ یا بیشتر فرزند عقب افتاده دارند، ازدواج خویشاوندی دارند. همین آمار درمورد نابینایی و ناشنوایی هم وجود دارد

- ✓ به دلیل شناسایی نشدن برخی ژن ها، بهترین کار (برای پیشگیری از بیماری های ژنتیکی) ممنوعیت ازدواج خویشاوندی است. (هرچقدر هم ارتباط خویشاوندی دور باشد)
- ✓ به طور کلی، در ایران و خاورمیانه، نواحی ژنومی مشترک زیادی داریم (به دلیل جد مشترک). ایرانی ها به دلیل داشتن جد مشترک نواحی ژنومی مشترک خیلی بالایی دارند که یعنی حتی ۲ غریبه هم با ازدواج کنند، خطر مشکلات ژنتیکی در فرزندان آنها بیش از ۲ غریبه امریکایی است. پس، حتی همین ازدواج دو غریبه در ایران هم خطرناکه چه برسه به ازدواج خویشاوندی! در واقع خیلی شفاف میگویم، ازدواج خویشاوندی فاجعه به بار آورده.
- ✓ خاطره استاد: ۴ تا بچه ۱۸-۱۷ ساله روستایی، پارکینسون داشتند که هنگام نمونه گیری متوجه ازدواج فامیلی شدند. به آنها گفتم (استاد)" تو مگه برادر و خواهرت رو که به علت ازدواج فامیلی پدر و مادرت مشکل دارند، ندیدی؟" او دلیلش این بود:" ۱.در روستا فرد دیگری برای ازدواج نیست! ۲.اگر با فامیل ازدواج نکنیم حتما میگویند فامیلش مشکلی داشته که ازدواج نکردند! (فرهنگ را ببینید!) ۳.فامیل بسازتر است.

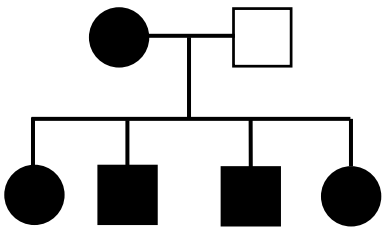
متاسفانه نرخ ازدواج خویشاوندی در حال افزایش میباشد و این خیلی بد است. شاید تصور کنید این میزان در گذشته بیشتر بوده ولی اکنون با رشد جمعیت در حال افزایش است و بیشتر هم خواهد شد.

٪۴۰ آمار ازدواج خویشاوندی است. از این ۴۰٪، ۱۰٪ نمیدانند که خویشاوند هستند.

- ✓ نکته سوال دانشجو: این ارتباط فامیلی از ۴ نسل قبل مهم نیست اما تا ۳ نسل قبل مهم است. در واقع نسل ۴ به بعد مانند جمعیت عمومی است.

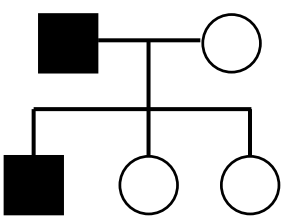
- ✓ **شجره نامه:** ابتدا باید تعیین الگو کنید.

شجره نامه مقابل چه الگویی دارد؟



پاسخ: مادر همه بچه ها بیمار است و پدر هیچکدام، به این توارث، میتوکندریایی یا سیتوپلاسمی یاخارج هسته‌ای میگویند؛ زیرا مادر همه میتوکندری ها را به بچه میدهد و پدر هیچ کدام. (منشاء میتوکندیایی سلولها، مادری است.)

- ✓ **شجره نامه:** الگوی شجره زیر چیست؟



پاسخ: از پدر به پسر منتقل شده پس وابسته به کروموزوم Y یا هولاندریک است.

مثال: موی گوش. اگر پدری گوشش مو داشته باشد تمام پسران وی حتما گوششان مو دارد و پدری که گوشش مو ندارد قطعا گوش پسرش هم مو ندارد.

(ما، در بیولوژی "ایگرگ" نداریم و به Y "وای" میگوییم.)

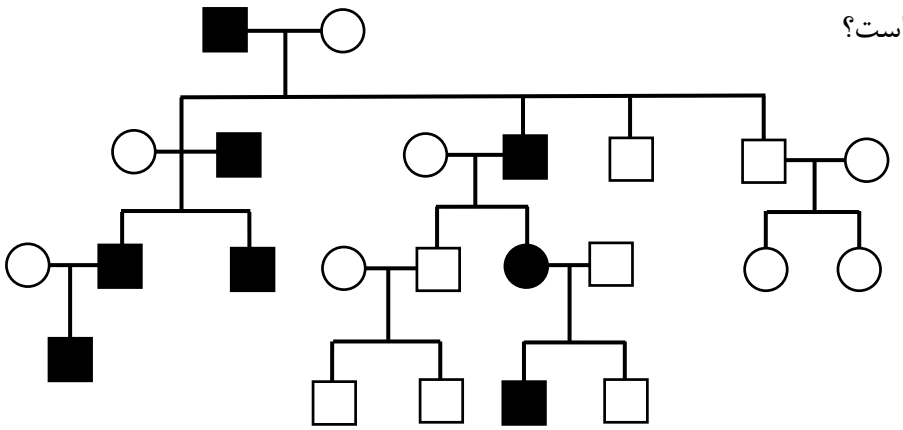
- ✓ **اتوزومال مغلوب:** تمام فرزندانِ زن و شوهر بیمار، بیمار میشوند.
- ✓ **اتوزومال غالب:** حداقل یکی از والدین یک فرد بیمار ، بیمار است.
- ✓ **وابسته به جنس غالب:** ۱.تمامی دختران یک مرد بیمار، بیمارند.

  ۲.حتما مادر یک پسر بیمار، بیمار است. (چون پسر x خود را از مادرش میگیرد.)
- ✓ **وابسته به جنس مغلوب:** ۱.حتما پدر یک دختر بیمار، بیمار است. (برای اینکه دختر بیمار شود باید هر دو آلل را بگیرد و x را از پدرش گرفته است پس پدرش حتما بیمار است ولی مادرش میتواند بیمار باشد یا نباشد.)

  ۲. حتما تمامی پسران یک زن بیمار، بیمارند.

✓ **سوال:** کدام گزینه صحیح است؟

۱) AR
۲) AD
۳) XR
۴) XD



برای حل شجره نامه، تک تک موارد را بخوانید و اگر آن مورد در شجره نامه صدق نکرد آن را حذف کنید.

- AR: تمامی فرزندان زن و شوهر بیمار، بیمارند. (در این شجره نامه اصلا دو زن و شوهر بیمار نداریم. پس این حالت حذف نمیشود.)
- AD: حداقل یکی از والدین یک فرد بیمار، بیمار است.(این حالت هم حذف نمیشود.)
- XD: تمامی دختران یک مرد بیمار، بیمارند.(در شجره صدق میکند.)

  حتما مادر یک پسر بیمار، بیمار است. (با توجه به شجره نامه حذف میشود.)
- XR: حتما پدر یک دختر بیمار، بیمار است.(در شجره حذف نمیشود.)

  حتما تمامی پسران یک زن بیمار، بیمارند. (با توجه به شجره نامه حذف میشود)

← پاسخ: AD

- وقتی به جایی رسیدیم که مثلا ۳ یا ۴ مورد حذف شده، نکاتی که وجود دارد این است که اگر بیماری در همه نسل ها بروز کرده بود غالبا، بیماری **غالب** است.
- اگر بین اتوزومی و وابسته به X گیر کردید: اگر بیماری به تعداد مساوی زن و مرد را درگیر کرده بود، اتوزومی است. (منظور از مساوی دقیقا مساوی نیست که مثلا ۳ تا ۳تا باشد، بلکه یک تناسب وجود دارد. مثلا ۳تا و ۴تا هم قابل قبول است) و در غیر این صورت وابسته به Xاست.
- تمامی شجره نامه ها با این فرمول حل میشوند.
- نکته سوال دانشجو: اگر با یک نگاه فهمیدید توارث شجره چیست، جواب ندهید. شاید درست هم باشد اما جواب ندهید... این راه های بالا را بروید ۱۰ ثانیه بیشتر طول نمیکشد...
- این شجره ای که حل کردیم، با توجه به تعداد زن و مردهای بیمار، ممکن است در یک نگاه بگویید وابسته به جنس غالب است (چون در آن ۷ بیمار مرد و ۱ بیمار زن وجود دارد) اما باید توجه کنید که در نهایت، با روش های ارائه شده به پاسخی متفاوت رسیدیم.

موفق باشـــید

ویراستار:آنیتا کریمی

به نام و به یاری شش

ژنتیک

جلسه نهم ۱۳۹۵/۰۹/۱۷

(ادامه جلسه هشتم)

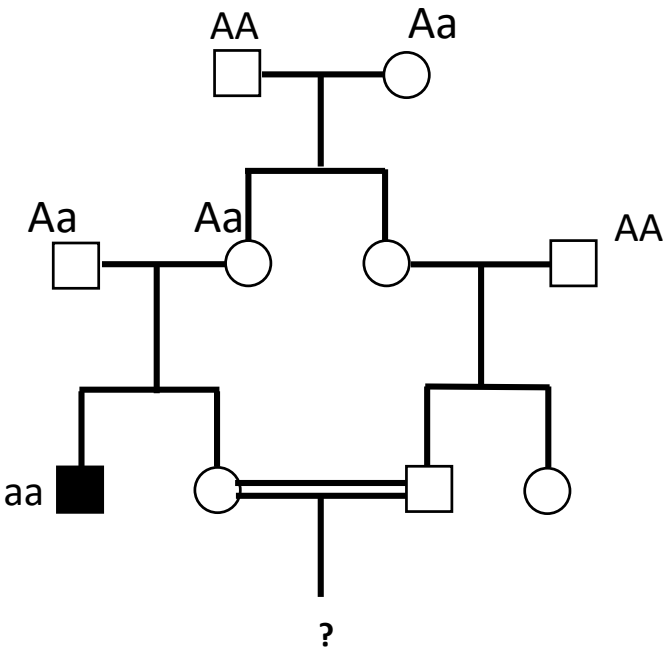
مدرس: **آقای دکتر درویش**

گروه ۱۹: شقایق صادقی ، فرزانه طاهری

بتول شمس ، محدثه غفوری

سوال ۱) برادر سارا مبتلا به تالاسمی ماژور است. سارا می خواهد با پسرخاله اش ازدواج کند. بچه اش به چه احتمالی مبتلا می شود؟

ابتدا شجره را می کشیم:



- ازدواج خویشاوندی را با = نشان می دهیم.
- وقتی یک نفر در خانواده مبتلا به بیماری اتوزوم مغلوب است به پدر و مادر آن فرد obligate carrier یا حامل اجباری می گوییم یعنی باید حامل(Aa) باش.

شاید یکی از والدین مریض باشد؟

۱- در متن سوال همیشه بیمار ها گفته می شود. ۲- اگر بنا باشد در سوال بیمار گفته نشود حتما شجره را می دهند.

پس در این سوال فقط برادر سارا مبتلا است.

بنابراین سارا می تواند یکی از سه ژنوتیپ Aa، AA، aa را داشته باشد ولی عملا aa خط می خورد، زیرا سارا مریض نیست پس :

سارا به احتمال 2/3 ، Aa و به احتمال 1/3، AA است.

$$2/3Aa = (\frac{1}{2}Aa)/(1/4\text{AA} + 1/2\text{Aa})$$

AAدر حل مسئله به درد ما نمی خورد چون اگر احمد بیمار هم باشد که نیست (چون در سوال گفته نشده) بچه سالم می شود ولی ما احتمال بیمار بودن را می خواهیم پس احتمال 2/3Aa برای ما کاربرد دارد.

در ادامه ما باید احتمال حامل بودن احمد را حساب کنیم .چرا ؟ **چون اگر احمد حامل نباشد به احتمال۰درصد بچه شان بیمار می شود.**

احتمال حامل بودن احمد:

ابتدا ژنوتیپ پدر بزرگ و مادر بزرگ سارا و احمد را می نویسیم. یکی از آنها (پدربزرگ یا مادربزرگ فرقی نمی کند) حتما یک a را دارد زیرا به فرزندانش به ارث رسیده و چون بیمار نیست Aa است و دیگری حتما سالم AA است.

***چرا والد دیگر را هم حامل در نظر نگیریم؟**

چون نگفته حامل است و قانون حل شجره اینه که نمی توانیم افراد را الکی حامل در نظر بگیریم علت این قانون این است که اگر والد دیگر را هم حامل در نظر بگیریم احتمال این که بچه مریض باشد خیلی بیشتر می شود و چون ما فرزند بیماری نمی بینیم طبق قانون شجره حق نداریم آن را حامل فرض کنیم .

قانون بایاز(دانشمند ریاضی دان):

این قانون در بیماری های اتوزوم مغلوب و به خصوص وابسته به X مغلوب صدق می کند .در این مواقع درست است که شما حق ندارید فرد را حامل بگیرید چون بچه ی مریض ندارد ولی اگر حامل باشد به احتمال ¼ بچه هایش مریض می شوند. (حالا اگر ۵ تا بچه ی سالم بیاورد ۷۵٪ کار کرده،۲۵٪ کار نکرده)

قانون بایاز می گوید : هرچه تعداد بچه های سالم بیشتر باشد احتمال حامل بودن (پدر احمد) کمتر است.

حالا چرا نمی آییم قانون بایاز را بگوییم و در آزمایش های ژنتیک استفاده نمی شود ؟

زیرا جواب تست از راهی که حل می کنیم با جوابی که از قانون بایاز به دست می آید بسیار به هم نزدیک است و این تفاوت تاثیر خیلی کمی در مشاوره های ژنتیک دارد.پس ما قانون بایاز را کنار می گذاریم و یک قانون داریم :

خانواده ای که فرزند اتوزوم مغلوب ندارد ما حق نداریم هر دو والد را هتروزیگوت بگیریم.

یک مسئله‌ی دیگر هم وجود دارد که مثلا می‌گویند در استان مازندران جهش فلان در عامل ناشنوایی frequency اش در جهت نرمال ۱۰٪ است، وقتی ۲ غیرخویشاوند با هم ازدواج می‌کنند ما آن ۱۰٪ را لحاظ می‌کنیم و ما در مسئله‌ی خودمان زمانی می‌توانیم در نظر بگیریم کهfrequency حاملین را در جهت نرمال بدانیم.

ادامه ی حل: می خواهیم بدانیم به چه احتمالی ژن معیوب به احمد می رسد؟

مادر احمد دو ژنوتیپ می تواند داشته باشد 1/2Aa ، 1/2AA که AA به درد ما نمی خورد زیرا در آن صورت احتمال حامل بودن احمد صفر است.

پدر احمد هم AAاست زیرا (ویرایش: از بیرون وارد شجره شده) بچه‌ی بیمار ندارد و باید سالم در نظر گرفته شود .

پس احتمال اینکه فرزندشان بیمار باشد از ضرب احتمال ناقل بودن سارا(2/3) در احتمال ناقل بودن مادر احمد (1/2) در احتمال ناقل بودن احمد در احتمال بیمار بودن فرزند (aa) به دست می آید:

1/2×2/3×1/2×1/4=1/24 (~4%)

٪۴ احتمال خیلی کمی است ولی در حقیقت تا دلتان بخواهد این بچه بیمار می‌شود و این یک شجره‌ی بسیار HIGH RISK است. زیرا اغلب افرادی که احتمال سالم بودن برایشان در نظر گرفتیم حامل هستند پس بهتر است دنبال احتمالات نرویم (ویرایش: یه جاش) شجره بکشیم و جهش را در برادر سارا پیدا کنیم و آن جهش را در سارا چک کنیم اگر جهش نداشت می‌گوییم جای نگرانی نیست ولی اگر جهش داشت، جهش را در احمد هم چک می‌کنیم.

در واقع این محاسبات حل سوال بیشتر به درد ورق می خورد و ما risk نمی کنیم.

سوال۲) سارا که برادرش مبتلا به DMD (دیستروفی عضلانی دوشن)است، می خواهد با احمد ازدواج کند. به چه احتمالی پسرشان مبتلا به DMD است؟

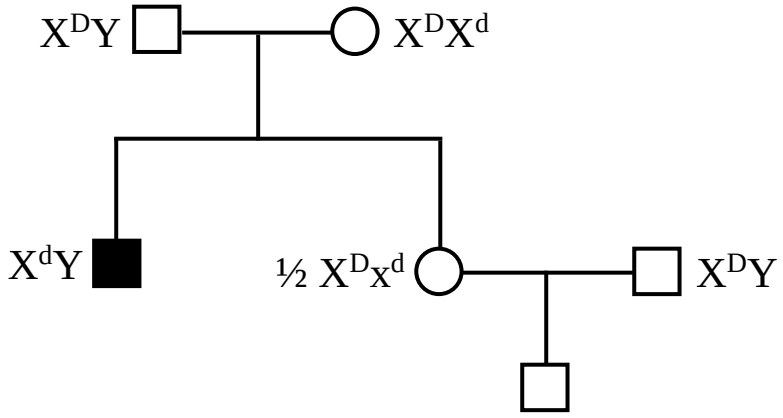
(وابسته به X مغلوب)

اول باید بررسی کنیم که سارا به چه احتمالی حامل است؟ برادر سارا X را از مادرش گرفته است پس مادر حتما حامل (X^DX^d)است و مریض نیست.

در زن ها واقعه ای به نام x inactivation یا غیر فعال شدن کروموزوم x رخ می دهد. خیلی نادر است که x سالم معیوب شود و به سمت این x , bias دارد ولی معمولا این طور نیست و کمتر از ۰,۵٪ موارد مثلا ۱ در هر هزار تا را شامل می شود و فرد بیماری وابسته به x را نشان می دهد ولی در حل شجره کسی این مسائل را در نظر نمی گیرد.

پدر سارا چون در مساله بیمار بودنش ذکر نشده سالم در نظر می گیریم . بنابرین سارا به احتمال ½ X^d را از مادرش می گیرد و ۱۰۰٪ X^D را از پدرش می گیرد پس سارا به احتمال 1/2، X^DX^d است.

باز هم چون در مساله بیمار بودن احمد ذکر نشده سالم (X^DY) در نظر می گیریم.



ژنوتیپ های احتمالی **پسر** آنها : $1/2X^DY$و $1/2X^dY$

پس احتمال بیمار بودن پسر آنها از ضرب احتمال حامل بودن سارا در X^dYبودن پسرش به دست می آید.

$1/2\times1/2=1/4$

تشخیص پیش از تولد

تست های تهاجمی

۱. CVS(chorionic villus sampling)

در این تست پرز های کوریونی در هفته ۱۱-۱۰ بررسی می شود و احتمال سقط جنین ۱ تا ۲ درصد است

۲. آمنیوسنتز

مایع آمنیوتیک دور جنین را در هفته ۱۵ تا ۱۶ ام بارداری می گیرند و احتمال سقط جنین 0/5 تا 1 درصد است.

در این روش سلول های جنینی از مایع آمنیوتیک جدا می شوند و DNA استخراج می شود و پس از آن مثلا یک جهشی را در آن بررسی می کنند(در واقع جهش را می دانند، مشکل را می دانند و پس از استخراج DNA جهش مورد نظر را فقط چک می کنند)

شاید شما شنیده باشید مادری برای تست آمنیوسنتز مراجعه کرده و بعد از استخراج مایع آمنیوتیک، جنین سالم به دلیل منفذ ایجاد شده سقط شده است(همان نیم تا یک درصد سقط)

تست های NGS(next generation sequencing) روی DNAی استخراج شده از مایع آمنیوتیک هم انجام می شود(تست NGS آزمایشی است که در آن همه نواحی ژنتیکی که از آن نسخه برداری می شود تعیین توالی می شوند و هزینه های بالایی هم دارد)

تست های غیر تهاجمی

تست های غیر تهاجمی معروف به تست های سه گانه و چهارگانه خون مادراست و برای غربال گری سلامت جنین انجام می شوند و شامل:

۱. استریول غیرکنژوگه
۲. HCG(گونادوتروپین کوریونی انسانی)
۳. آلفا فیتو پروتئین
۴. پروتئین اینهیبین A (نوعی هورمون که توسط جفت تولید می شود)
۵. پروتئین جفتی مرتبط با بارداری (PAPP-A)

در خیلی از موارد انجام همه ی تست های ذکر شده لازم نیست ولی HCG و آلفا فیتو پروتئین PAPP-A معمولا انجام می شود.

سه مارکر بالا در سرم خون مادر در صورتی که جنین مبتلا به داون یا NTD باشد بالا می رود. اگر جنین مبتلا به سندرم داون باشدHCG و اینهیبین A در سرم خون مادر بالا می رود و اگر جنین neural tube defects داشته باشد(NTD یا نقص لوله عصبی) آلفا فیتو پروتئین بالا می رود و بقیه همه پایین می آیند.

*	AFP	**استریول غیر کنژوگه**	HCG	PAAP-A	اینهیبینA
سندرم داون	کاهش	کاهش	افزایش	کاهش	افزایش
تریزومی ۱۸	کاهش	کاهش	کاهش	کاهش	—
NTD	افزایش	—	—	—	—

و در پایان استاد می فرمایند که نصف سوالات ایشان(فصول ۳ و ۸ و ۱۱ و ۱۲) از درسنامه و نصفش از جزوه است و مباحث جلسه امروز از اهمیت بالایی برخوردار است.

موفق باشید

ویراستار: سپهر ستاره

ژنتیک

جلسه دهم ۱۳۹۵/۰۹/۲۱

مدرس: **خانم دکتر غفوری فرد**

گروه ۲: فاطمه وظیفه(۱) ، مهتا اربابی(۲)

صبا محمد حسن زاده(۳) ، پرنیان جمشیدی(۴)

سفن ویراستار:

۱- مواردی که در {} آمده اند مطالبی هستند که در اسلاید استاد بود اما ایشان اشاره نکردند و جهت تکمیل مطالب آوردم!

۲- برفی از تصاویر از درسنامه و برفی دیگر از اسلاید ایشان آورده شده است.

*۳-از آنجایی که استاد اسلایدها را ندادند)***:** *اجبارا عکس اسلایدها گذاشته شده است و پیشاپیش به خاطر کیفیت پایین برفی از آنها پوزش می طلبیم.*

مبحث جلسه: اختلالات کروموزومی

تاریخ شناخت دقیق تر بیماری های ژنتیکی به پیشرفت تکنیک های سیتوژنیک در اواسط دهه ۱۹۵۰ برمیگردد. یعنی در واقع زمانیکه کاریوتایپ به طور کامل قابل انجام بود و شمارش دقیق و ساختار کروموزوم های انسانی برای سیتوژنیست ها مشخص شد و اختلالات در تعداد و ساختار کروموزوم ها تشخیص داده شد. در این زمان به سرعت و در عرض سه سال پایه ی ژنتیکی سه اختلال اصلی کروموزومی شایع شناخته شد:

۱. **سندرم داوون:** که پیشتر هم این بیماری را میشناختند ولی از علت ژنتیکی آن بی خبر بودند؛و به عنوان بیماری که در همه ی جوامع منجر به تولد افرادی با ویژگی های ظاهری خاص میشود، از آن یاد میشد.
۲. **سندرم کلاین فلتر:** که دارای کاریوتایپ 47,XXY هستند
۳. **سندرم ترنر**

بعد از این ها نیز بسیاری از تریزومی ها و multiple malformationها و پایه ی ژنتیکی آنها شناخته شد. در واقع دانشمندان متوجه شدند که یک تغییر در ماده ی ژنتیکی (حذف شدن یا اضافه شدن) منجر به این اختلالات

میشود. هم اکنون ما بیش از ۲۰۰۰۰ ناهنجاری ژنتیکی را با پایه ی کروموزومی میشناسیم. شیوع هر کدام از این بیماری ها به تنهایی بسیار کم است اما اگر همه ی این ۲۰ هزار بیماری را کنار هم قرار دهیم میفهمیم که با یک مشکل بزرگ بهداشتی و سلامتی روبرو هستیم؛ یعنی مجموعه ی این بیماری های ژنتیکی شیوع قابل توجهی دارند که باید مورد توجه قرار گیرند. این اختلالات کروموزومی علت بسیاری از سقط های خود بخودی بخصوص در سه ماهه ی اول بارداری هستند. سقط ها دلایل مختلفی دارند اما **سقط های سه ماهه ی اول عمدتا به دلایل اختلالات کروموزومی اند.** بسیاری از ناهنجاری های جسمی حرکتی و عقب ماندگی های ذهنی در دوران کودکی به دلیل همین اختلالات کروموزومی اند. حتی این اختلالات در دسته هایی از سرطان ها نیز دخیل اند. البته آن چیزی که ما در سرطان ها میبینیم به این صورت است که اختلالات کروموزومی به شکل de novo هستند؛ یعنی معمولا اختلالات توارثی نبوده اند، یعنی به شکل یک جهش سوماتیک در آن سلول ایجاد شده و منجر به سرطان شده اند. خیلی از ناهنجاری های کروموزومی را به شکل یک جهش recurrent در نوع خاصی از سرطان میبینیم. مهمترین مثال در این مورد CML(نوعی از سرطان خون) است که در بیش از ۹۰ درصد موارد آن translocationای بین کروموزوم ۹ و۲۲ دیده میشود که به اسم کروموزوم "فیلادلفیا"معروف است.

ناهنجاری های کروموزومی حداقل در ۱۰ درصد اسپرماتوزوآ های یک مرد سالم دیده میشوند. این مقدار در اووسیت های بالغ یک زن سالم بسیار بیشتر و در حدود ۲۵ درصد است.

گفته میشود که حدود۱۵ تا۲۵ درصد کل لقاح هایی که در انسان صورت میگیرد منجر به سقط خودبخودی میشوند حتی پیش از اینکه خود فرد متوجه بارداری اش بشود. درصد عمده ی این سقط ها به دلیل ناهنجاری های کروموزومی است. در برخی موارد embryo به دلایل کروموزومی گاهی آنقدرabnormal است که اصلا قادر به لانه گزینی نمیباشد و دفع میشود.

به طور کلی در ۵۰ درصد سقط های خودبخودی یک ناهنجاری کروموزومی دیده میشود. در جنین هایی که سقط میشوند ولی از لحاظ ظاهری طبیعی به نظر میرسند احتمال وجود مشکل کروموزومی کمتر است(حدود۲۰درصد)؛ ولی اگر جنین سقط شده از لحاظ ظاهری نیز ناهنجار باشد احتمال وجود یک اختلال کروموزومی بیشتر است.

هرچه از لقاح به سمت تولد پیش میرویم احتمال وجود اختلال کروموزومی کمتر میشود،به این دلیل که رویان های دچار اختلالات کروموزومی معمولا در همان سه ماهه ی اول از بین میروند و کمتر به سمت تولد میرسند.

در زمان تولد در ۰,۵ تا ۱ درصد نوزادان زنده اختلال کروموزومی میبینیم. اگر تولد های مرده را هم حساب کنیم میشود گفت به طور کلی در ۵٪ کل تولد ها اختلال ژنتیکی دیده میشود.

این نکته را در نظر داشته باشید که این ها مواردی از اختلالات کروموزومی هستند که به تولد رسیده اند، در حالیکه بسیاری از موارد اختلالات در همان سه ماهه اول از بین رفته اند. بنابراین میتوان نتیجه گرفت که شیوع اختلالات

کروموزومی زیاد است.

اما از کجا متوجه شده‌اند که بسیاری از اختلالات کروموزمی بدون هیچ مداخله‌ای منجر به سقط خودبه‌خودی میشوند؟

الان به دلایل مختلفی تست های PND (Prenatal Diagnosis) به طور گسترده انجام میشود یعنی مثلا ممکن است برای یک خانم باردار به دلیلی مثل افزایش سن نمونه گیری از پرز های جفتی یا آمنیوسنتز انجام شود. با بررسی این تست ها ناهنجاری های جنینی مشخص میشود.

*زمان انجام تست ها:

- نمونه گیری از پرز های جفتی(CVS) ، **حدود هفته ۱۰**
- آمنیوسنتز،**حدود هفته ۱۴**

اگر ناهنجاری های یافته شده در CVS را با آمنیوسنتز و ناهنجاری های یافته شده در آمنیوسنتز را با زمان تولد مقایسه کنیم مشاهده خواهیم کرد که فراوانی ناهنجاری های کروموزومی به ترتیب رو به تولد کاهش میابد که علت آن ، همان از دست رفتن رویان ناهنجار در ماه های اولیه است.

*** چه ناهنجاری های کروموزومی ای در سقط های خودبخودی دیده می شوند؟

۱. **مونوزومیX (سندرم ترنر)** حدود ۲۰٪ موارد ناهنجاری های کروموزومی که در سقط ها دیده می شود را تشکیل میدهد.
۲. **تریزومی۱۶**نیز۱۵٪این ناهنجاری ها را شامل میشد. (منظور اینست که آن جنین هایی را که سقط شده اند رابررسی میکنیم، در پنجاه درصد آنها ناهنجاری کروموزومی میبینیم، از این پنجاه درصد،۱۵٪ آنها تریزومی ۱۶ دارند.)

بقیه موارد را در جدول زیر می بینید:

جدول ۱ میزان ناهنجاییهای کروموزومی در سقط های خودبخودی	
ناهنجاری	درصد
تریزومی ۱۳	۲
تریزومی ۱۶	۱۵
تریزومی ۱۸	۳
تریزومی ۲۱	۵
سایر تریزومی ها	۲۵
منوزومی X	۲۰
تریپلوئیدی	۱۵
تتراپلوئیدی	۵
سایر موارد	۱۰

سوال دانشجو: چرا سندرم ترنر انقدر شایع است؟

وقوع سندرم ترنر به این صورت است که اسپرم فاقد کروموزوم X یا حتی فاقد کروموزوم Yوارد لقاح میشود. حتی گاهی لقاح به درستی صورت میگیرد ولی در مراحل بعدی یکی از کروموزوم ها از دست میرود و X تنها میماند. نکته ی دیگر اینکه مونوزومی های اتوزومی به دلیل وجود ژن های فراوان بر روی کروموزوم های اتوزوم مغایر باحیات است و تنها مونوزومی که منجر به تولد زنده میشود مونوزومی X است چرا که بر روی این کروموزوم ژن های چندان زیادی نداریم و در شرایط طبیعی نیز از دو کروموزوم X یکی تقریبا غیر فعال میباشد البته به جز بخش سودواتوزومال آن. ضمن اینکه ۹۰ درصد موارد ترنر منجر به سقط میشوند و تنها ۱۰ درصد موارد ترنر ایجاد شده را در تولدهای زنده می بینیم.

چه ناهنجاری های کروموزومی ای در جنین هایی که زنده متولد میشوند ممکن است ببینیم؟

۱. در اتوزم ها فقط تری زومی ۱۳،۱۸،۲۱دیده میشود. (۱۵ درصد تریزومی ۲۱)(اغلب موارد تریزومی ۱۳ و ۱۸ در همان هفته اول از بین می روند.)
۲. در کروموزوم های جنسی نیز مونوزومیX، جنین هایXXX، سندرم کلاین فلتر و جنین های 47,XYY،دیده میشود.
۳. ناهنجاری های کروموزومی balancedنیز ممکن است دیده شود که یعنی translocation هایی ایجاد میشود که در آنها بخشی از یک کروموزوم باکروموزوم دیگر جابجا میگردد ولی میزان محتوای ژنتیکی تغییری نمیکند.

جدول ۲ میزان بروز ناهنجایهای کروموزومی در نوزادان	
ناهنجاری	میزان بروز در هر ۱۰/۰۰۰ تولد
اتوزوم ها	
تریزومی ۱۳	۲
تریزومی ۱۸	۳
تریزومی ۲۱	۱۵
کروموزومهای جنسی در تولد دخترها	
45X	۱-۲
47,XXX	۱۰
در تولد پسرها	
47,XXY	۱۰
47,XYY	۱۰
سایر نوآرائی های نامتعادل	۱۰
نوآرائی های نامتعادل	۳۰
موارد کلی	۹۰

درصد عمده ای از ناهنجاری های شایع کروموزومی منجر به سقط میشوند. مثلا ۹۵٪ تریزومی های ۱۳ و ۱۸ خودبخود سقط میشوند یا مثلا در مورد تریزومی ۲۱،حدود ۸۰٪ موارد آن خود بخود سقط میشوند. بنابراین این موارد از سندرم داوون که با شیوع نسبتا بالا در جامعه میبینیم ،فقط ۲۰٪ از کل جنین های تشکیل شده با تریزومی ۲۱ هستند. در مورد مونوزومی X یا همان سندرم ترنر نیز ۹۸ درصد منجر به سقط میشوند.

جدول ۳ سقط های خودبخودی در سندرم های آنیوپلوئیدی شناخته شده شایع	
بیماری	درصدی که سقط خودبخودی می شوند (٪)
تریزومی ۱۳	۹۵
تریزومی ۱۸	۹۵
تریزومی ۲۱	۸۰
موزومی	۹۸

این ها یک سری اطلاعات کلی درباره ی شیوع ناهنجاری های کروموزومی بود. از این پس درباره ی هر یک از اختلالات شایع به طور مفصل صحبت خواهیم کرد.

سندرم داوون

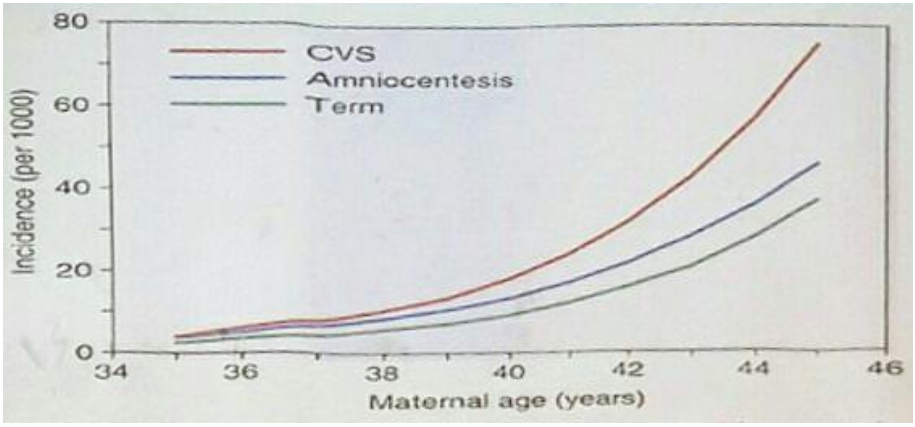
شایع ترین اختلال کروموزومی است. علت نامگذاری این سندرم این است که در سال۱۸۶۶ پزشکی به اسم داوون فنوتیپ این بیماری را (بدون دانستن base کروموزومی آن) به طور کامل شرح داد.

همانطور که گفته شد base کروموزومی این بیماری در سال ۱۹۵۹ با پیشرفت تکنیک های سیتوژنتیکی کشف گردید.

طبق آمار کشورهایی که آمار دقیقی از این سندرم دارند، میزان بروز آن بین ۱در هر۸۰۰ تا ۱ در هر ۱۰۰۰ تولد زنده است. (در نظر داشته باشید که این آمار با وجود در دسترس بودن و توصیه شدن غربالگری های سندرم داوون در کشور های پیشرفته و حتی کشور ما در سه ماهه اول بارداری است که بسیاری از موارد آنها به صورت قانونی سقط میشوند.)

میدانید که یکی از عوامل بسیار مهمی که در بروز سندرم داوون موثر میباشد، **افزایش سن مادر** است چون همانطور که میدانید اووسیت های یک خانم همان اووسیت هایی هستند که در دوره ی جنینی ساخته شده و در میوز۱ متوقف شده اند و اووسیت جدیدی به آنها اضافه نمی شود. بنابراین احتمال بروز اختلالات کروموزومی با افزایش سن مادر افزایش میابد.

این تصویر موارد بروز سندروم داوون را با توجه به سن مادر نشان میدهد:



خط بالایی مواردیست که در CVSیافت میشود، خط وسط مواردیست که در آمنیوسنتز پیدا میشود و خط پایینی نیز مربوط به موارد یافت شده ی سندرم داوون در هنگام تولد است. همانطور که انتظارش را داریم در CVS موارد بیشتری را مشاهده میکنیم ولی چون بسیاری از آنها خوبخود سقط میشوند، در زمان تولد موارد کمتری را مشاهده میکنیم.

پایان بخش اول

طبق جدول زیر نشان می دهد که خطر سندرم داون در هر سن مادر چه میزان است:

جدول ۴ میزان بروز سندرم داون در ارتباط با سن مادر	
سن مادر در زمان زایمان	میزان بروز سندرم داون
۲۰	۱ به ۱۵۰۰
۲۵	۱ به ۱۳۵۰
۳۰	۱ به ۹۰۰
۳۵	۱ به ۴۰۰
۳۶	۱ به ۳۰۰
۳۷	۱ به ۲۵۰
۳۸	۱ به ۲۰۰
۳۹	۱ به ۱۵۰
۴۰	۱ به ۱۰۰
۴۱	۱ به ۸۵
۴۲	۱ به ۶۵
۴۳	۱ به ۵۰
۴۴	۱ به ۴۰
۴۵	۱ به ۳۰

در سن ۲۰ سالگی احتمال بروز سندرم داون ۱/۱۵۰۰ است در سن ۴۵ سالگی ۱/۳۰ می باشد یعنی با شیب بالایی بروز آن با افزایش سن مادر افزایش پیدا می کند .

تظاهرات بالینی

- مهمترین مسئله ای که در زمان تولد و نوزادی این افراد جلب توجه می کند این است که نوزاد سندرم داون خیلی شل است (اصطلاحا به آن **هایپوتونی** گویند).هایپوتونی در بسیاری از بیماریها دیده می شود مانند: بیماریهای عصبی-عضلانی ، بیماریهای متابولیک-و...

وقتی شما یک نوزاد معمولی را بغل می کنید کاملا حس می کنید که یک تون عضلانی basic دارد و تا حدی عضلات گردن و اندامش در حال انقباض است .

- چشم های آنها حالت اریب به سمت بالا دارد. پل بینی پهن و کوفته ای دارند.گوشها کوچک است، زبان بزرگ است و بیرون می آید. **علامتهای ظاهری** کاملا مشخصی دارند.
- **خطوط کف دست** افراد معمولی دارای خطوط به شکل ۱۸۱ یا ۱۸است اما این افراد یک **خط منفرد** در کف دست دارند (٪۵۰) البته این خط منفرد گاه در افراد نرمال هم دیده می شود (٪۳-۲).

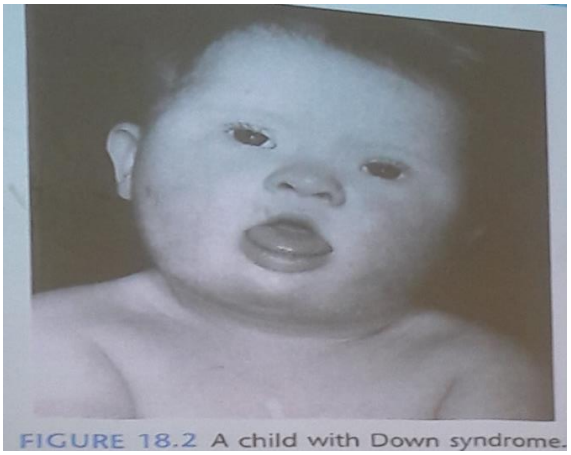


FIGURE 18.2 A child with Down syndrome.

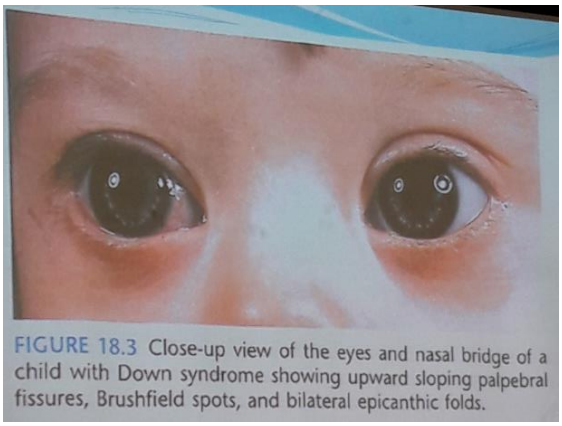


FIGURE 18.3 Close-up view of the eyes and nasal bridge of a child with Down syndrome showing upward sloping palpebral fissures, Brushfield spots, and bilateral epicanthic folds.

- مشکل دیگر مهم آنها **ناهنجاریهای قلبی مادرزادی** است(۴۰-۴۵٪)افراد مبتلا به سندرم داون ناهنجاریهای قلبی شدیدی دارند. این ناهنجاری می تواند به شکل سوراخ بین دیواره های بطنی(VSD=ventricular septal defect) و یا باقی ماندن مجرای شریانی (PDA=patent ductus arteriosus) ویا اختلالات دریچه های دهلیزی یا بطنی باشد.

*این افراد بیشتر مرگ ومیرشان به علت مشکلات قلبی می باشد.

- مشکل شایع دیگر آنها **هیپوتیروئیدی مادرزادی** است که خودبه خود منجر به *ناهنجاریهای ذهنی* شدید می شود.

یکی از عوامل قابل پیشگیری عقب ماندگی ذهنی همین هیپوتیروئیدی مادرزادی است که امروزه آزمایش غربالگری آن در بدو تولد جز آزمایشهای غربالگری اجباری است زیرا اگر در همان هفته اول شناخته شود با دادن قرص لووتیروکسین عملکرد غده ی تیروئید طبیعی می شود و اختلال هم ایجاد نمی شود اما اگر تشخیص داده نشود منجر به ناهنجاری ذهنی شدید می شود.

حال شیوع هیپوتیروئیدی مادرزادی در کودکان سندرم داون بیش از جمعیت عادی است بنابراین اگر در همان هفته اول تشخیص داده نشود می تواند باعث شود بهره هوشی آنها خیلی زیاد افت کند.

- **IQ** کودکان سندرم داون ۷۵-۲۵ است (به طور متوسط حدود ۴۵-۴۰). البته توانمندیهای اجتماعی آنها می تواند خیلی خوب پیشرفت کند و شغلهای نسبتا مستقلی داشته باشند (مثلا قبلا دانشکده بهزیستی نگهبانی مبتلا به سندرم داون داشت)
- **قد**های آنها معمولا **کوتاه** است و نهایت قد آنها زیر ۱۵۰سانتی متر است.
- اگر این افراد ناهنجاری قلبی نداشته باشند یا درمان شده باشند معمولا به سن ۵۰ یا ۶۰ سال می رسند منتها اینها دچار **پیری زودرس** هستند مثلا یک فرد ۳۰ساله مبتلا به سندرم داون دارای موهای سفید ، پوست چروکیده و...است.
- **آلزایمر** در این افراد خیلی شایع است.علت آلزایمر هم ظاهرا به این دلیل است که ژنی داریم که تولیدکننده amyloid precursor protein است که در ایجاد آلزایمر نقش دارد و در موارد آلزایمر با جهش در این ژن مواجهیم. این ژن روی کروموزوم ۲۱ قرار دارد. ظاهرا افزایش تعداد کروموزوم های ۲۱ باعث افزایش dosageاین ژن می شود و در ایجاد آلزایمر در بیماران مبتلا به سندرم داون نقش دارد.

پس همانطور که گفتیم ویژگی های دوران نوزادی مبتلایان به سندرم داون عبارتند از :

- ✓ شلی عضلات (هایپوتونی)
- ✓ خواب آلودگی
- ✓ داشتن یک پرده گردنی (انگار پوست اضافه و چروکیده در گردن دارند)
- ✓ ویژگی های چهره ای خاص
- ✓ خط منفرد کف دست
- ✓ شست کوچکتر از حد عادی
- ✓ وجود فاصله بین انگشتهای اول و دوم پای آنها
- ✓ انگشتهای پا کوچکتر از حدعادی
- ✓ ناهنجاریهای قلبی *(بیشترین علت مرگ و میر)*
- ✓ آترزی مقعد
- ✓ قد کوتاه
- ✓ شیوع بالای بیماری Hirschsprung
- ✓ آترزی دئودنوم
- ✓ استرابیسم (strabismus=عمل ناهماهنگ دو کره چشم)

کادر ۱یافته های شایع در سندرم داون
دوره نوزادی هیپوتونی، خواب آلودگی، پوست اضافی در ناحیه گردن
جمجمه –صورت براکی ، چین های اپی کانتوس، زبان بزرگ، گوش های کوچک، شکاف پلکی رو به بالا
دست و پاها خط منفرد کف دست، کوچک بودن استخوان میانی انگشت پنجم، فاصله زیاد بین انگشتان اول و دوم پا
قلبی نقایص دیواره بطنی و دهلیزی، کانال مشترک دهلیزی–بطنی، مجرای شریانی باز
سایر موارد انسداد مادرزادی مقعد و دوازدهه، بیمری هیروشپرونگ، قد کوتاه، لوچی

ناهنجاریهای کروموزومی در افراد مبتلا به سندرم داون

شایع ترین ناهنجاری کروموزومی در آنها **تریزومی ۲۱** است که منشا کروموزوم اضافه آن در ۹۰٪ موارد مادری است و ناشی از non-disjunction درمیوز۱ است.

اما در ۴٪ موارد سندرم داون به جای تریزومی، علتRobertsonian translocation است.

Robertsonian translocation: جا به جایی بین کروموزوم های آکروسنتریک است یعنی کروموزومی ساخته می شود که ناشی از بازوهای بلند کروموزوم های آکروسنتریک است مثلا بازوهای بلند کروموزوم های ۱۳ و ۱۴ به هم متصل می شود بازوهای کوتاه هم ماده ژنتیکشان از بین میروند.{به طور کلی بازوهای کوتاه محتوای ژنتیکی اندکی دارند و از بین رفتن آنها مشکلی ایجاد نمی کند} شکست در این جا به جایی در ناحیه سانترومر است.

خود فرد دارای این جابه جایی نرمال است اما تعداد کروموزوم هایش ۱ عدد کم می شود انگار که ۲ تا کروموزوم آکروسنتریک ۱ کروموزوم ساخته اند.این فرد ازنظر فنوتیپ نرمال است اما می تواند گامت های غیرطبیعی تولید کند.

در افراد مبتلا به سندرم داون در ۴٪ موارد ماده ی ژنتیکی اضافه کروموزوم ۲۱ناشی از یک جابه جاییRobertsonian translocation است (مثلا بین کروموزومهای ۱۳ و ۲۱ یا بین کروموزومهای ۱۴ و۲۱)که دو تا کروموزوم ۲۱ طبیعی دارند و یک کروموزوم ناشی از این جابه جایی دارند.

در ۱/۳ موارد **Robertsonian translocation** یکی از پدر و مادر حامل این translocation بودند که خودشان نرمال بودند اما گامتهای غیر طبیعی تولید کرده اند که منجر به تولید بچه مبتلا به سندرم داون شده است.

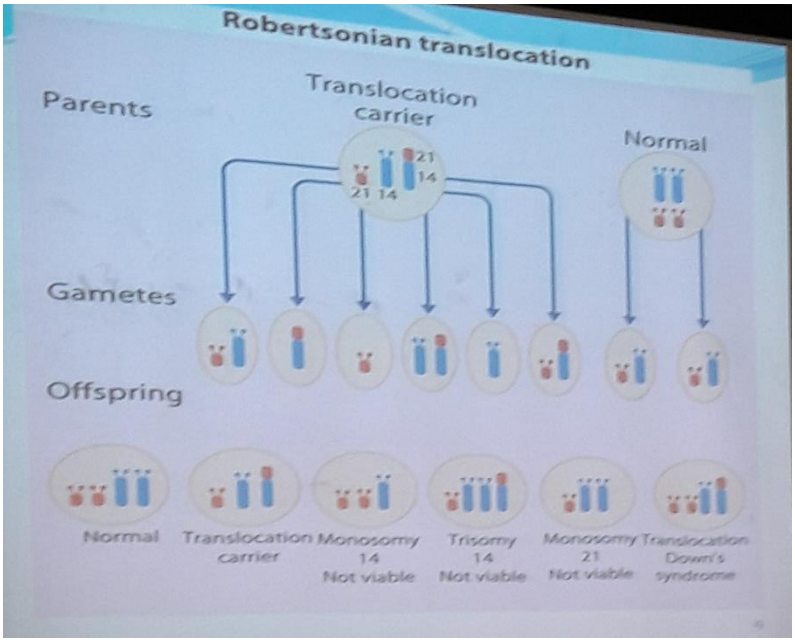
یک سری از موارد سندرم داون هم **موزاییسم** دارند که اینها نسبت به مواردی که همه سلولها ناهنجاری سلولی دارند،فنوتیپ خفیف تری دارند.

در تریزومی ۲۱ (شایع ترین ناهنجاری کروموزومی در سندرم داون) والدین طبیعی هستند ولی گامتهایی تولید می کنند که در آنها non-disjunction اتفاق افتاده است بنابراین ۲نسخه از کروموزوم ۲۱اش به داخل یک گامت رفته و وقتی با یک گامت نرمال لقاح می کند جنینی ایجاد می شود که تریزومی ۲۱ دارد.

فرد نرمال دو کروموزوم ۱۴ و دو کروموزوم ۲۱ دارد و گامتهایی که تولید می کند هم یک کروموزوم ۱۴ و یک کروموزوم۲۱ دارد. اما فردی که حاملRobertsonian translocationاست یک کروموزوم۱۴طبیعی ، یک کروموزوم ۲۱طبیعی و یک کروموزوم که Robertsonian translocation کروموزومهای ۱۴ و ۲۱ است ، دارد.

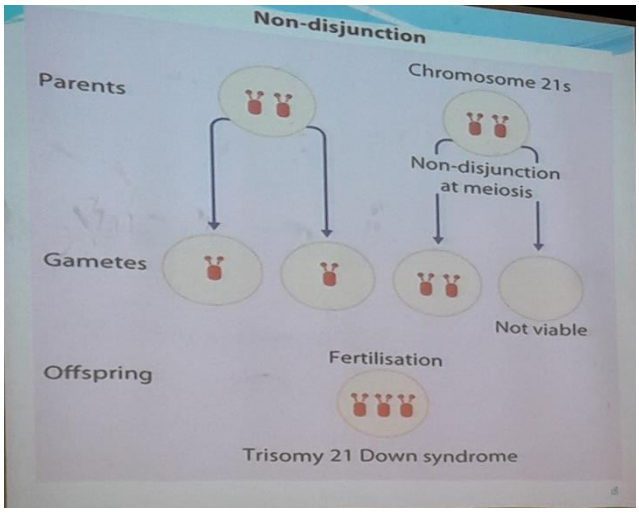
(با توجه به تصویر زیر) این فرد چه گامتهایی می تواند تولید کند؟

۱) گامت نرمال (دارای یک کروموزوم ۱۴ و یک کروموزوم ۲۱)
۲) فقط دارای translocation
۳) فقط دارای کروموزوم ۲۱ طبیعی
۴) دارای کروموزوم۱۴ و translocation
۵) فقط دارای کروموزوم ۱۴طبیعی
۶) دارای کروموزوم ۲۱ و translocation



گامت حالت اول (نرمال) اگر با گامت طبیعی لقاح کند جنین طبیعی است اما اگر گامت حالت دوم با گامت طبیعی لقاح کند جنین فقط حامل translocation است و میتواند گامتهای غیرطبیعی و بچه های بیمار تولید کند در حالت سوم و پنجم در اثر لقاح مونوزومی ۱۴ و یا ۲۱ اتفاق می افتد (مونوزومی ها زنده نمی مانند و سقط زودرس دارند). حالت چهارم تریزومی ۱۴ است که آن هم نمی تواند زنده بماند و سقط می شود. در حالت آخر تریزومی ۲۱

حاوی translocation ایجاد می شود (٪۴ موارد سندرم داون ناشی از این اختلال هستند).



بنابراین:

- ٪۹۵موارد سندرم داون تریزومی هستند
- ٪۴ موارد ناشی از Robertsonian translocation است
- ٪۱ موارد ناشی از موزاییسم است

موزاییسم: دارای یک رده ی سلولی نرمال و یک رده ی سلولی دچار تریزومی. حال هرچه نسبت رده ی تریزومی به نرمال کمتر باشد فنوتیپ فرد نرمال تر است و IQ بیشتری خواهد داشت .

گفتیم که جابه جایی های Robertsonian translocation بین کروموزومهای آکروسنتریک (۱۳،۱۴ و ۲۱) است.

یک مدل دیگر سندرم داون است که بازوهای بلند دوتا کروموزوم ۲۱به هم متصل شده و بازوهای کوتاه از دست می روند که به آن **ایزوکروموزوم ۲۱** گویند.(کروموزومی که شامل ۲تا بازوهای بلند یک کروموزوم است)

در رابطه با خیلی از کروموزومها می توانیم ایزوکروموزوم داشته باشیم اما درباره کروموزوم های آکروسنتریک بیشتر مطرح است زیرا اگر آن بازوهای کوتاه از دست برود فنوتیپ فرد تغییر نمی کند.

فرد حامل یک ایزوکروموزوم ۲۱ از نظر فنوتیپ نرمال است اما نمی تواند فرزند نرمال داشته باشد زیرا گامتهایی که تولید می کند یا ایزوکروموزوم ۲۱ دارند یا از نظر ایزوکروموزوم هیچ نسخه ای نداردو فرزندان یا مونوزومی می شوند یا تریزومی .

بنابراین این (ایزوکروموزوم ۲۱) تنها حالتی است که فرد نرمال است اما تمام فرزندانش مبتلا به سندرم داون هستند.

پایان بخش دوم

برای مثال کیسی داشتیم که سه بچه ی مبتلا به سندرم داون داشت و مشخص شد که مادر حامل ایزوکروموزوم ۲۱ بوده است. بنابراین در موارد سندرم داون هم فرد مبتلا به سندرم داون باید بررسی شود و هم پدر و مادر آن فرد. اگر فرد مبتلا به فرم تریزومی سندرم داون باشد، پدر و مادر معمولا اختلال کروموزومی ندارند، معمولا هم شانس تکرارش در بچه های بعدی خیلی بالا نیست. اگر فرد حامل یک Robertsonian translocation باشد یا ایزوکروزوم باشد، پدر و مادر این فرد هم باید بررسی شوند تا مشخص شود که آیا آنها هم حامل این translocation هستند یا اینکه این اختلال کروموزومی de novo در فرد ایجاد شده است؛ بر اساس این که شرایط چگونه است شانس تکرار تریزومی در خانواده ها تعیین می گردد.

بر اساس اینکه فنوتیپ افرادی که تریزومی نواحی مختلف کروموزوم ۲۱ را داشته اند چه تفاوت هایی با هم دارند متوجه شدند که یک ناحیه ای در قسمت distal بازوی بلند کروموزوم ۲۱هست، **ناحیه ی 21q22**(بیست و یک –کیو-دو- دو خوانده میشود:)) ، که این ناحیه، ناحیه ی critical برای بروز سندرم داون می باشد. یعنی تریزومی این ناحیه است که این فنوتیپ خاص را ایجاد می کند. کروموزوم ۲۱ کوچک ترین کروموزوم ماست و تعداد ژن هایی که روی آن قرار دارند نسبت به نواحی دیگر خیلی کم است وبه طور کلی یک کروموزوم gene – poor می باشد.{اسلاید: Chromosome21 is a gene poor chromosome with a high ratio of AT to GC sequences}

سوال دانشجو : مگر وقتی چند تقسیم در سلول رخ می دهد کروموزوم ها کم کم کوتاه نمی شوند؟

پاسخ: خیر، تلومر کروموزوم ها کوتاه می شود منتها این در اون حد نیست که در بررسی سیتوژنتیک قابل مشاهده باشد.

بیشتر بدانید...

نام گذاری کروموزوم های ما بر اساس طول انجام شده است. مثلا اونی که بزرگ تر بود شده کروموزوم یک. بعدا دیدند که کروموزوم ۲۱ از کروموزوم ۲۲ کوچکتر است ولی دیگه این شماره گذاری را تغییر ندادند!!:) بنابراین کروموزوم ۲۱، کوچکترین کروموزوم ما میباشد.

شانس تکرار تریزومی ۲۱ به چه صورت است؟

محاسبه شانس تکرار برای یک خانواده خیلی اهمیت دارد. مثلا خانواده ای یک بچه ی مبتلا به سندرم داون دارند حالا میخواهند بدانند که اگر دوباره باردار شوند احتمال اینکه فرزند بعدی هم مبتلا به سندرم داون شود چقدر است.

در موارد **تریزومی ۲۱** شانس تکرار نسبت به جامعه نرمال خیلی افزایش پیدا نمی کند. فرض کنید خانواده ای یک بچه ی مبتلا به سندرم داون دارد که تریزومی ۲۱ است و می خواهند بدانند که چقدر احتمال دارد که فرزند دومشان

نیز مبتلا شود. این احتمال تقریبا همان ریسک سن مادر است. مثلا اگر مادری ۲۰ ساله است احتمال ابتلای فرزندش ا به ۱۵۰۰ می باشد و این احتمال در مادر ۴۵ ساله ۱ به ۳۰ است. منتها با توجه به این که یک بچه ی مبتلا به سندرم داون داشته اند، نیم تا یک درصد نسبت به ریسک سن مادر، احتمال ابتلای فرزند دوم بیش تر می شود (1%+)که معمولا ریسک قابل توجهی نیست پس به طور کلی ریسک آن میشود بین ۱ به ۲۰۰ تا ۱ به ۱۰۰.

اما اگر بچه مبتلا به سندرم داون، **robertsonian translocation** دارد باید بررسی شود که آیا پدر و مادرش این translocation را دارند یا نه. (که در یک سوم موارد یکی از پدر یا مادر این translocation را دارند.) اگر پدر carrier باشد شانس ابتلای فرزند دوم ۱ تا ۳ درصد است.اگر مادر carrier باشد شانس ابتلای فرزند دوم ۱۰ تا ۱۵ درصد می شود.

درباره ی **21q21q translocation یا ایزوکروموزوم ۲۱** هم گفتیم که اون حالتی هست که تکرار (منظور استاد : احتمال ابتلای فرزند بعدی) ۱۰۰ درصد خواهد بود.

در مواردی که پدر یا مادر حامل translocation هستند:

- در مورد **21q21q translocation** به آنها میگوییم که شما نمی توانید فرزند نرمالی داشته باشید. راه حل هم استفاده از گامت های اهدایی است.
- در مورد بقیه ی translocation ها مثلا پدر یا مادر حامل translocation 14/21 یا 13/21 translocation : این افراد باردار می شوند و در سه ماهه اول یا نمونه گیری از پرز های جفتی انجام می شود یا amniocentesis انجام می شود و بعد تشخیص داده می شود که آیا جنین سالم است یا بیمار است. و اگر مبتلا به سندرم داون باشد به صورت قانونی سقط می شود. البته با تکنیک های PGD هم میتوان کار کرد؛ گامت را از فرد مونث و مذکر می گیرند. لقاح در محیط آزمایشگاه انجام می شود. جنین هایی که ایجاد می شوند را بررسی می کنند که ببینند کدام یک سالمند و کدام یک بیمارند و جنین سالم را وارد رحم مادر می کنند.

الان prenatal screening هم وجود دارد. {اسلاید: تست های سه گانه چهارگانه سرم مادر در هفته ۱۶ حاملگی} در سه ماهه اول تست های screening انجام می شود، البته در سه ماهه ی دوم هم میشود screening انجام داد ولی گرایش در این جهت است که screening در سه ماهه اول صورت گیرد تا اگر جنین مبتلا باشد بارداری زودتر خاتمه یابد.

Patau Syndrome (Trisomy 13) , Edwards Syndrome (Trisomy 18)

Incidence اینها حدود ۱ به ۵۰۰۰ است. پیش آگهی اینها خیلی ضعیف است. اینها معمولا در همان هفته های اول پس از تولد از بین می روند. مواردی هم گزارش شده که در سنین یکی دو سالگی زنده ماندند که اینها ناهنجاری های ذهنی بسیارشدیدی داشته اند. ۹۰ در صد تریزومی های ۱۳ و ۱۸ ناهنجاری های شدید قلبی دارند.

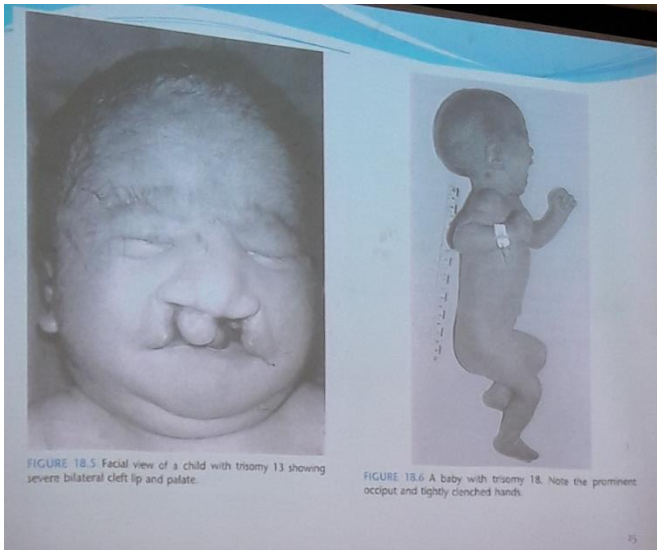


FIGURE 18.5 Facial view of a child with trisomy 13 showing severe bilateral cleft lip and palate.

FIGURE 18.6 A baby with trisomy 18. Note the prominent occiput and tightly clenched hands.

اگر این افراد کاریوتایپ شوند مشاهده خواهیم کرد که همگی **فرم ساده تریزومی** هستند و اختلالات کروموزومی دیگری را (مانند آنچه که در سندرم داون داشتیم) در این ها نمی بینیم. هر دو با افزایش سن مادر افزایش می یابند. در موارد نادری هم موارد **موزائیسم** یا **rearrangementهای غیر بالانس** در سندرم Patau گزارش شده است. {10% of cases are caused by mosaicism or unbalanced rearrangements, particularly Robertsonian translocations in Patau syndrome} **در تریزومی ۱۳** شکاف لب و شکاف کام هم دیده می شود.

ناهنجاری های دیگر که به خصوص در سقط ها دیده می شود تریپلوئیدی هاست. تریپلوئیدی یعنی فرد به جای 2n کروموزوم ، 3n کروموزوم دارد. حالا بسته به این که منشا این سِت کروموزومی اضافه از پدر باشد یا مادر، می تواند فنوتیپ کمی متفاوت باشد. بنابراین شما می توانید 69 XYY , 69 XXY , 69 XXX داشته باشید. اینها در واقع حالت های مختلف تریپلوئیدی است.

اینها را معمولا فقط در سقط های خود به خودی می بینید یعنی همه موارد اینها تقریبا منجر به سقط خود به خودی می شوند. معمولا اختلال رشد داخل رحمی بسیار شدید دارند. معمولا سایز سرشان حفظ شده ولی سایز بدن به شدت کوچک می باشد. یک اختلال دیگر در تریپلوئیدی ها Syndactyly هست، انگشتان به هم چسبیده است.

گفتیم که ست اضافه کروموزوم می تواند منشا مادری داشته باشد یا منشا پدری. آنهایی که منشا پدری دارند معمولا در اوایل حاملگی و یا نهایتا در اواسط حاملگی سقط می شوند و جفت اینها تغییرات Hydatidiform دارد. (جفت هم در واقع ساختار طبیعی ندارد.)

آن هایی که ست کروموزومی با منشا مادری دارند می توانند بیش تر زنده بمانند. حتی دیده شده که چنین بچه ای متولد شده و حتی یک ماه هم زنده بوده و بعد فوت شده است. یعنی **survival آن هایی که ست اضافی با منشا مادری دارند بیش از آنهایی ست که ست منشا پدری دارند.**

Hypomelanosis of Ito

در مواردی که موزائیسم دیپلوئیدی-تریپلوئیدی وجود دارد شما این حالت را میبینید.

موزائیسم دیپلوئیدی-تریپلوئیدی یعنی چه؟ یعنی فرد موزائیسم دارد و تعدادی از سلول هایش دیپلوئید و تعدادی تریپلوئید است.

اینها معمولا ظاهر مشابه افراد تریپلوئید را دارند ولی فنوتیپ، خیلی خفیف تر است. بر اساس اینکه چند درصد سلول های فرد، طبیعی و چند درصد تریپلوئیدی است، فنوتیپ متفاوت می باشد.

یک سری نقش و نگار روی پوست طبیعی هست که به آن ها Blaschko's lines گفته میشود. اینها در افرادی که موزائیسم دیپلوئیدی-تریپلوئیدی دارند می تواند نواحی هایپرپیگمانته و هایپوپیگمانته ی متناوب ایجاد کند. { The skin shows alternating patterns of normally pigmented and depigmented streaks that correspond to the Blaschko's lines}

افرادی که این حالت را دارند معمولا بهره هوشی متوسط دارند و ممکن است در این ها صرع های مقاوم به درمان هم دیده شود.

گفته می شود گاهی خانم هایی که carrier یک اختلال وابسته به کروموزوم X هستند {اختلال وابسته به X غالب} ممکن است پدیده ای مشابه hypomelanosis of Ito در اینها هم دیده شود چون این خانم ها نیز به نحوی موزائیسم دارند، چرا که کروموزوم X در خانم ها به شکل رندوم غیر فعال می شود. مثلا ممکن است در ۵۰ درصد سلول های این خانم کروموزوم سالم غیر فعال شود و در باقی سلول ها کروموزوم ناسالم غیر فعال شود. بنابراین حالت شبه موزائیسم دارد.

این تصویر extreme pattern of Hypomelanosis of Ito را نشان میدهد. حالت خفیف آن هم می تواند دیده شود.

اختلالات کروموزوم های جنسی:

Klinefelter Syndrome 47,XXY

معمولا از دوران بچگی دچار اختلالات رفتاری هستند به گونه ای که بچه کمی اصطلاحا بی عرضه است(clumsiness) . مثلا هر چی دستش میدن از دستش می افتد. در سنین بزرگ تر نمی تواند حرکات ظریف داشته باشد. نمی تواند به خوبی نقاشی بکشد.نمی تواند میوه را با چاقو پوست بکند.

در این افراد یک سری اختلالات بهره ی هوشی نیز می تواند دیده شود. بخصوص در verbal skills . خیلی از این افراد می توانند اختلال در تکلم داشته باشند. (تکلم روان نداشته باشند.)

IQ اینها معمولا ۱۰ تا ۲۰ نمره پایین تر از خواهر، برادر و یا افراد فامیل است.

معمولا قدشان مقداری از افراد خانواده بلند تر است{long lower limbs} یک اختلال دیگری که دراین افراد می تواند دیده شود Gynecomastia یا بزرگ شدن breast است.

اینها معمولا infertile هستند چون آزواسپرمیک هستند(azoospermia) یعنی اسپرم در testis اینها معمولا تولید نمیشود.

اما یک سری از این افراد با تکنیک های کمک باروری توانسته اند بارور شوند.{sperm aspiration and ICSI} در حقیقت یک arrest در maturation اسپرم های این افراد اتفاق می افتد که امروزه با تکنیک های کمک باروری از بیضه بیوپسی گرفته می شود بعد اسپرم immature پیدا شده در بیوپسی را در آزمایشگاه mature

کرده و بعد با intracytoplasmic sperm injection در یک سری از مواردKlinefelter Syndrome توانسته اند درصد خیلی کمی از این افراد را fertileکنند.

بعضی از این افراد زخم های پا دارند. در بعضی از این ها osteoporosis یا پوکی استخوان اتفاق می افتد. این افراد می توانند سرطان breast نیز داشته باشند.{احتمال وقوع موارد فوق در این افراد بیش از افراد نرمال است.}

از سن بلوغ برای این افراد تستسترون تجویز می شود تا صفات ثانویه ی جنسی اینها به شکل صحیحی development پیدا کند.

کاریوتایپ این افراد یک X کروموزوم اضافه را نشان می دهد که این کروموزوم **۵۰ درصد احتمال دارد که منشا مادری داشته باشد و به احتمال ۵۰ درصد منشا پدری** دارد. (بر خلاف سندرم داون که گفتیم به احتمال ۹۰ درصد منشا کروموزوم اضافی از مادر است.)

با افزایش سن مادر احتمال ایجاد کودکی که مبتلا به این سندرم باشد و کروموزوم اضافی آن منشا مادری داشته باشد افزایش می یابد (یعنی آن هایی که منشا مادری دارد با **سن مادر** در ارتباط است)

تعدادی از افراد مبتلا به klinefelter موزائیسم دارند.یعنی مثلا یک رده ی سلولی طبیعی 46,XY دارند و یک رده ی سلولی 47,XXY .

موارد دیگری هم به ندرت گزارش شده که تعداد کروموزوم های X خیلی زیاد است. مثلا سه تا یا چهار تا و یا حتی بیش از این مقدار هم گزارش شده است ولی چون یک کروموزوم Y دارند مرد هستند و سندرم klinefelter دارند. (چون همانطور که می دانیم بودن یا نبودن کروموزوم Y هست که جنسیت را تعیین می کند.) افرادی که کروموزوم X خیلی اضافه تری دارند بهره ی هوشی خیلی پایین تری نسبت به بقیه ی افراد مبتلا به این سندرم را دارا هستند{همچنین ویژگی های فیزیکی مردان کلاین فلتر در این افراد بسیار بارزتر است}.

نکته سوال دانشجو: غیر فعال شدن X منجر به از دست رفتن آن نمی شود. مثلا در مورد کاریوتایپ 48,XXXY دو کروموزوم X غیر فعال می شوند. بنابراین در سلول هر چقدر هم که کروموزوم X باشد همگی بجز یک کروموزوم X غیر فعال خواهند شد.

پایان بخش سوم

سوال دانشجو: مکانیسم ایجاد موزائیسم در این سندرم چیست؟

ممکن است کروموزوم اضافه طی یک non-disjunction بعد از یک مرحله ای از development مثلا طی میتوز اتفاق افتاده باشد که موجب شده است یک کروموزوم X اضافه وارد یکی از سلول ها شده و سلولی که فاقد کروموزوم

X بوده از بین برود. یا ممکن است گامت غیرطبیعی بوده است یعنی سلول تخم اولیه 47,XXY بوده اما طی تقسیمات میتوزی یکی از کروموزوم های X از بین رفته است. پس منشا های مختلفی می تواند داشته باشد.

Turner Syndrome (45,X)

ابتدا در سال ۱۹۳۸ شناسایی شد. پس از شناسایی تکنیک های کاریوتایپ دیدند که افراد مبتلا به این سندرم Barr body ندارند (چون فقط یک کروموزوم X دارند) اما در کاریوتایپ یک خانم طبیعی Barr body مشاهده میگردد.

سندرم ترنر در زمان conception (لقاح) بسیار شایع است. در جنین های سقط شده هم این سندرم به وفور یافت میشود اما شیوع آن در زمان تولد بسیار کم میشود (بین ۱:۵۰۰۰ تا ۱:۱۰۰۰۰) زیرا ۹۸٪ موارد لقاح های منجر به سندرم ترنر سقط میشوند.

تظاهرات بالینی:

بسیاری از آنها در سونوگرافی سه ماهه اول تشخیص داده میشوند زیرا یا ادم جنرالیزه دارند (Hydrops) یا فقط ادم در نواحی خاصی دارند مثلا ادم پشت گردن (میگوییم Nuchal translucency آنها افزایش یافته است یا NT افزایش یافته دارند.) {nuchal cyst or thickened nuchal pad}

در زمان تولد ممکن است ظاهر کاملا نرمال داشته باشند یا ممکن است بقایایی از ادم وجود داشته باشد، مثل پوست اضافه در پشت گردن و یا دست و پای پف آلود. البته بسیاری از این علائم تا زمان نزدیک بلوغ تشخیص داده نمیشوند. خیلی از این افراد به دلیل بلوغ دیررس(مثلا دختری ۱۵-۱۶ ساله است که هنوز نه صفات ثانویه جنسی و نه سیکل ماهیانه در او شروع نشده است) به درمانگاه های غدد اطفال مراجعه میکنند، یک کاریوتایپ از آنها میگیرند و متوجه میشوند فاقد یک کروموزوم X است و مبتلا به سندرم ترنر میباشد. بنابراین خیلی از موارد ترنر تا زمان بلوغ فنوتیپ طبیعی دارند.

سایر تظاهرات بالینی عبارتند از:

- پایین بودن خط رویش موی پشت گردن
- معمولا قدشان کوتاه است
- زاویه آرنجشان زیاد است
- ممکن است انگشتان کوتاهی داشته باشند {short 4^{th} metacarpals}
- **کوآرکتاسیون آئورت** (تنگی قسمتی از آئورت) {که در ۱۵٪ موارد دیده میشود}
- {فاصله nippleها از هم زیاد است}

اما در مجموع فنوتیپ خفیف شبیه به افراد طبیعی را دارند و از نظر IQ کاملا طبیعی هستند.

*دو مشکل اصلی که این افراد دارند: قد کوتاه و نارسایی تخمدان

علت قد کوتاه: قد نهایی این افراد در حدود ۱۴۵ سانتیمتر است. گفته میشود علت آن haploinsufficiency در ژن *SHOX* میباشد. این ژن در ناحیه pseudoautosomalکروموزوم X هست. این ناحیه از غیرفعال شدن فرار میکند یعنی در یک خانم طبیعی یک کروموزوم X غیرفعال میشود غیر از ناحیه pseudoautosomal پس دو نسخه از ژن های این ناحیه در سلول بیان میگردد. اگر فقط یک نسخه از این ژن در سلول بیان شود موجب کوتاهی قد خواهد شد و بیان هر دو نسخه برای داشتن قد طبیعی ضروری است.

نارسایی تخمدان: اغلب این افراد primary ovarian failure دارند و primary amenorrhea در اینها اتفاق می افتد یعنی اصلا سیکل های ماهانه در این افراد اتفاق نمی افتد و اکثرشان infertile هستند. البته ندرتا در برخی افراد در ابتدا سیکل های ماهیانه شروع میشود اما یائسگی زودرس اتفاق می افتد و خیلی زود دچار secondary amenorrhea میشوند.

از لحاظ کروموزومی 45,X هستند. در متون قدیمی 45,XO نیز استفاده میشد که از نظر علمی غلط است و هیچ معنایی ندارد. {*از همون 45,X استفاده کنید؛)*}

در ۸۰ درصد موارد، کروموزوم (X یا Y) در میوز پدری از دست رفته است؛ مثلا قرار بوده یک جنین 46,XY باشد اما کروموزوم Y در میوز پدری از بین رفته یا قرار بوده 46,XX باشد و کروموزوم X پدری از دست رفته و حالا شده 45,X .

در درصد کمی از افراد **موزائیسم** وجود دارد یعنی یک cell line طبیعی وجود دارد و یک cell line 45,X. احتمال باروری (با استفاده از تکنیک های کمک باروری) در این افراد بیشتر از سایرین است.

برخی از موارد موزائیسم به صورت 45,X و 46,XY هستند که بسیاری از این افراد فنوتیپ مذکر دارند (به دلیل وجود کروموزوم Y). [در این حالت دیگر لفظ سندرم ترنر را به کار نمی بریم چون در سندرم ترنر فنوتیپ مونث وجود دارد.] برخی از همین افراد ممکن است به دلیل کروموزوم Y ناهنجار (فاقد ژن *SRY*) فنوتیپ زنانه داشته باشند.

در مواردی که کروموزوم Y وجود دارد (مثل مورد بالا) احتمال gonadal dysgenesis و بدخیمی در گوناد افزایش می یابد، لذا به این افراد توصیه میشود که با عمل جراحی گوناد آنها برداشته شود.

در جدول زیر ناهنجاری های کروموزومی و درصد شیوع آنها را می بینید...

Table 18.6 Chromosome Findings in Turner Syndrome

Karyotype	Frequency (%)
Monosomy X—45,X	50
Mosaicism (e.g., 45,X/46,XX)	20
Isochromosome—46,X,i(Xq)	15
Ring—46,X,r(X)	5
Deletion—46,X,del(Xp)	5
Other	5

*ایزوکروموزوم X یا46,X,i(Xq) یعنی فرد ۴۶ کروموزومی است و ژن هایی که روی بازوی کوتاه کروموزوم X است هم مهم هستند که در صورت عدم وجود آنها فرد به سندرم ترنر مبتلا می شود.

Fragile X Syndrome

این سندرم را هم میتوان جزء ناهنجاری های کروموزومی و هم ناهنجاری های تک ژنی طبقه بندی کرد.

این سندرم **شایع ترین علت توارثی اختلالات هوشی** است.

به علت یک **Dynamic mutation** (جهش هایی که ناشی از تغییر تعداد تکرارهای سه تایی هستند) اتفاق می افتد. در نواحی ژنومی خاصی یک سری تکرارهای سه تایی وجود دارد که اگر این تکرارهای سه تایی افزایش یابد میتواند در عملکرد طبیعی ژن اختلال ایجاد نماید مثل همین بیماری!

از نظر شیوع، ۱:۵۰۰۰ در تولدهای پسر است و علت ۴-۸٪ کل موارد عقب ماندگی ذهنی در پسرها همین سندرم است.

تظاهرات بالینی:

این اختلال در کروموزوم X است پس انتظار داریم پسرها عمدتا مبتلا شوند. خانم ها میتوانند حامل باشند که البته آن هم موجب تظاهراتی می گردد.

اختلالات پسرهای مبتلا...

- عقب ماندگی ذهنی متوسط تا شدید
- از لحاظ ظاهر: صورت کشیده، پیشانی و چانه برجسته، گوش های بزرگ
- از زمان بلوغ دارای macro-orchidism (بزرگی testis) هستند
- دامنه حرکت مفاصل خیلی زیاد (مثل مارفان){و خطوط کشیدگی(striae) روی پوست}{به علت ضعف بافت همبند}
- اختلالات دریچه قلبی مثل پرولاپس دریچه میترال

اختلالات دخترهای حامل...

- هرچند مبتلا نیستند اما می توانند فنوتیپ خفیف تری از این بیماری را داشته باشند.{تقریبا ۵۰٪ خانم ها با full mutation عقب ماندگی ذهنی خفیف تا متوسط دارند.}

*همانطور که در شکل زیر هم دیده میشود مادر خانواده دارای صورتی کشیده بوده و ممکن است کاهش بهره هوشی را نیز در این افراد ببینیم.

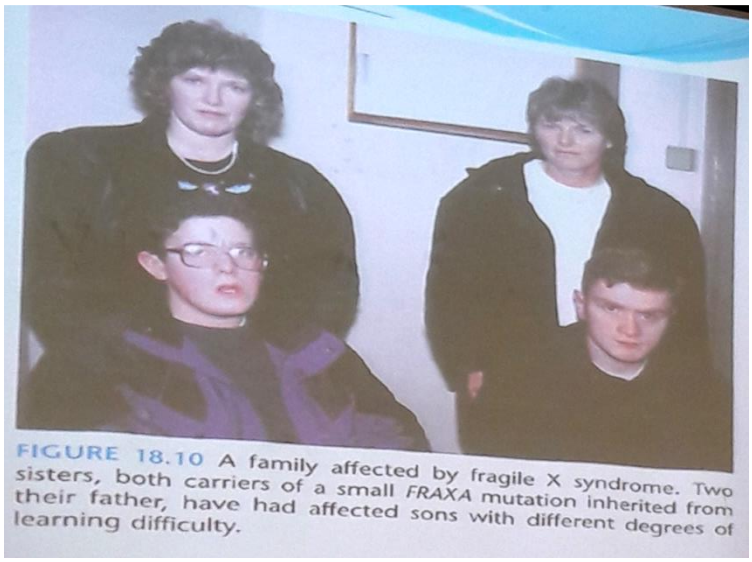


FIGURE 18.10 A family affected by fragile X syndrome. Two sisters, both carriers of a small *FRAXA* mutation inherited from their father, have had affected sons with different degrees of learning difficulty.

چرا به این بیماری سندرم X شکننده می گویند؟

این بیماری یک ناهنجاری تک ژنی می باشد، ژنی که روی کروموزوم X قرار دارد وقتی expansion های ۳ تایی در آن افزایش می یابد آن محل روی کروموزوم X یک fragile site ایجاد می کند. یعنی وقتی در شرایط خاص (فولات یا تیمیدین در محیط نباشد) کاریوتایپ تهیه می کنیم، این ناحیه خوب رنگ نمی گیرد و به نظر شکننده می آید؛ خیلی مواقع هم واقعا شکستگی در آن ناحیه اتفاق می افتد. البته این موضوع فقط در ۵۰٪ افراد حتی با آن محیط کشت خاص دیده می شود.

***خانم های حامل را با این روش نمی توان تشخیص داد و شناسایی افراد حامل به این راحتی نیست.

در شکل زیر کروموزوم های X افراد مختلف را می بینیم که ناحیه شکننده در نزدیکی تلومر کروموزوم وجود دارد.

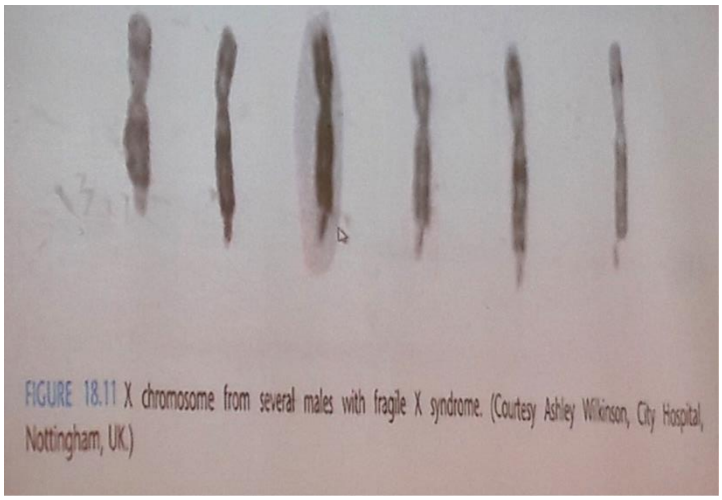


FIGURE 18.11 X chromosome from several males with fragile X syndrome. (Courtesy Ashley Wilkinson, City Hospital, Nottingham, UK.)

نقص مولکولی

در (Untranslated region) 5'-UTR ژن FMR-1 یک توالی CGG وجود دارد. پس این بیماری را میتوان جز بیماری های تک ژنی به حساب آورد. همچنین این بیماری را میتوان جز بیماری های کروموزومی به حساب آورد چون در ساختار کروموزوم X آنها ناحیه fragile مشاهده می گردد.

- در افراد **نرمال** این توالی طولی بین **۱۰ تا ۵۰** کپی دارد.
- اگر بین **۵۱ تا ۵۸** کپی وجود داشته باشد حالت **intermediate** ایجاد میشود.
- اگر بین **۵۹ تا ۲۰۰** کپی وجود داشته باشد به آن حالت **premutation** میگویند. این دسته از افراد unstable هستند یعنی در میوز بعدی تعداد این توالی افزایش می یابد. (این حالت ممکن است در مادران پسرهای بیمار دیده شود) کسانی که premutation دارند (چه دختر و چه پسر) از نظر IQ نرمال هستند و به طور کلی فنوتیپ نرمال دارند اما به دلیلی که ذکر شد ممکن است فرزندان بیمار داشته باشند.
- **بالای ۲۰۰** کپی **full mutation** است که در افراد بیمار دیده می شود.

دیده شده است که خانم های دارای premutation یا full mutation معمولا دچار نارسایی زودرس تخمدان میشوند مثلا ممکن است در سن ۳۵ سالگی یائسه شوند.

جدول ۷- سندرم X شکننده : ارتباط ژنوتیپ-فنوتیپ

تعداد تکرارهای سه تائی (طیف طبیعی ۵۰-۱۰)	جایگاه شکننده	ضریب هوشی
مردان ۵۸-۵۱ (آلل های حد واسط) ۲۰۰-۵۹ (پیش جهش) ۲۰۰۰-۲۰۰ (جهش کامل)	ندارد دارد (در بیش از ۵۰٪ سلولها)	طبیعی (مردان منتقل کننده طبیعی) مشکلات یادگیری متوسط تا شدید
زنان ۵۸-۵۱ (آلل های حد واسط) ۲۰۰-۵۹ (پیش جهش) ۲۰۰۰-۲۰۰ (جهش کامل)	ندارد دارد (معمولاً ۱۰٪ سلولها)	طبیعی ۵۰٪ طبیعی ۵۰٪ مشکلات خفیف یادگیری

پایان بفش چهارم

چه قصه بود ندانم دلا فسانه ی عشق

که هرکه گوش بر آن کرد از زبان افتاد

موفق باشید:)

ویراستار: پرنیان جمشیدی

یادداشت:

ژنتیک

جلسه یازدهم ۱۳۹۵/۰۹/۲۴

مدرس: **خانم دکتر صیاد**

گروه ۴: بردیا دانایی ، حامد زارعی شریف

حسین نخعی ، محمد حسین نیازاده

ژن درمانی

تا به حال راجع به ژن درمانی زیاد شنیده اید. به طور خلاصه می‌توان گفت ایده‌ی ابتدایی ژن درمانی این بود که اگر یک بیماری بخاطر نقص ژنتیکی ایجاد شود (مثلا یک ژن نتواند mRNA تولید کند یا mRNA مناسبی ایجاد نشود که در نتیجه‌ی عدم حضور پروتئین مربوطه و یا حضور پروتئین های با عملکرد نامناسب و اخلال گر و یا میزان ناکافی از پروتئین بیماری ایجاد شود.) ما یک ژن سالم را بررسی و تعیین توالی می کنیم، سپس آن را به داخل سلول وارد می‌کنیم تا با استفاده از امکانات سلول پروتئین سالم موردنیاز را تولید کند، بعد آن سلول سالم می شود. به تبع ارگان سالم می شود و اختلالات بیماری کاهش پیدا می کند.

مثلا اگر در کبد یک نفر مشکل LDL receptor وجود دارد و در نتیجه هایپرکلسترولمی familial می گیرد. اگر بیاییم آن رسپتور را در آن سلول ها تولید کنیم مشکلش برطرف می شود.

پس ژن تراپی به طور کلی به معنی ایجاد تغییرات ژنتیکی عمدی در سلول است با هدف درمان، تشخیص یا پیشگیری. آنچه در ژن درمانی برای ما مهم است این است که آن ژنی که ما با هزینه فراوان و مشکلات بسیار تولید کرده و بعد وارد سلول می کنیم چقدر **پایدار** می ماند و چه مقدار پروتئین سالم برای ما می سازد.

ژن درمانی در موش از سال های دور آزمایش می‌شده ولی در انسان برای اولین بار در سال ۱۹۹۰ آزمایش شد. قانون این است که اگر می‌خواهید ژن درمانی (یا هر کار درمانی جدیدی) انجام دهید حتما باید آن را در جایی ثبت کنید.

سایتی هست به نام clinicaltrials.gov که لیست بسیاری از clinical trial ها را که در سطح دنیا انجام شده برای شما می آورد. به طور کلی هرچیزی را که به عنوان روش درمانی یا دارو بخواهیم اثبات کنیم ابتدا باید آن را روی یک cell line (محیط کشت سلولی) آزمایش کنیم که مشکلات اخلاقی ندارد. اگر نتیجه داد در مرحله بعد روی animal model ها آن را پیاده می کنیم. باز اگر مشکلی نداشت می توانیم تحت شرایط خاص و اخلاقی روی انسان ها آن را بسنجیم و نتایجمان را گزارش کنیم. در این آزمایش ها تعداد آزمون ها بسیار مهم است هرچه بیشتر، نتایج دقیق تر و بهتر. پس هر نوع مداخله در بدن انسان ابتدا باید ثبت شود.

یک سری قوانین دیگر درمورد ژن تراپی وجود دارد که انجام آن را روی رده‌ی سلول های زایا منع می کند. چرا که این رده جنسی در انسان می توانند به ارث برسند و به نسل های بعد منتقل شوند. از آن جایی که مداخله در نسل بعد غیر اخلاقی و غیرقانونی است لذا فقط می توان از سلول های سوماتیک استفاده کرد.

تابحال حداقل ۸۰۰ clinical trial ثبت شده که درمورد ژن تراپی روی انسان است. ولی این ها در ابتدا معمولا روی تعداد افراد کمی انجام می شود حدود ۵ یا ۱۰ نفر. اگر باز عارضه ی خاصی نداشت، می توان آن ها را روی گروه‌های بزرگتر در کشور های خاصی که مشکلات قانونی ندارند، یا در گروه داوطلبانی که مبتلا به بیماری هستند و آنقدر مستأصل شده اند که می خواهند شانس خود را برای بهبود امتحان کنند، آزمایش کرد.

در سال ۱۹۹۹ یک نفر در طی پروسه درمان با Gene therapy دچار مرگ ناگهانی (یعنی بدون عارضه‌ی خاصی) شد. و نیز در آن زمان ۳ نفر از ۱۱ کودکی که بیماری SCID (severe combined immunodeficiency نقص ایمنی حاد مرکب: بیماری که در آن فرد بدون سلول ایمنی بوده و معمولا طول عمر کوتاهی خواهد داشت.) داشتند و تحت درمان با این روش بودند، به لوسمی مبتلا شدند. این آمار خیلی زیاد است چراکه نزدیک به یک سوم افراد تحت آزمایش بودند. از آن به بعد بود که یک سری قوانین برای این نوع درمان‌ها تنظیم کردند که قبل از آزمودن آن روی انسان لازم باشد حتما از نداشتن عارضه در آن‌ها مطمئن شد.

SCID یک بیماری خیلی جالب ژنتیکی است و subtype های مختلفی مثل وابسته به X، اتوزوم و حالت‌های recessive دارد. فیلم مستندی درمورد یکی از این بیماران ساخته شده بود به نام "بچه ای در حباب" که بارها تلویزیون نشان داد. در این مورد خانواده‌ای حامل ژن معیوب بودند که بچه هایشان به خاطر این بیماری فوت می‌شدند، فقط یک دختر داشتند که سالم بود. پزشکان به آن‌ها گفتند اگر فرزند بعدی‌تان پسر مبتلا باشد (بیماری وابسته به x بود) ما می‌توانیم او را زنده نگهداریم. از آنجا که خانواده ثروتمندی بودند قبول کردند و بچه دار شدند که متاسفانه پسر مبتلا بود.

این کودک را در یک محفظه بسیار استریل نگه می‌داشتند که هیچ گونه ارتباطی با دنیای بیرون و پاتوژن‌ها و میکروب‌ها نداشت. نیاز های او از راه دور و با وسایل استریل رفع می شد. مثل بخش پیوند ما که از در ورودی لباس و کفش را عوض می‌کنید و بعد در اتاق های مخصوص با تهویه های بزرگ استریل می‌شوید، تا اعضای پیوندی آلوده

نشوند چرا که گیرنده ها معمولا شیمی درمانی می‌شوند و سیستم ایمنی ضعیفی دارند. این بچه هم به همین شکل ایزوله نگه داشته می‌شد.

این کودک توانست به ۶ سالگی برسد. اما ارتباط با او بسیار مشکل بود و نمی توانست با محیط بیرون ارتباط برقرار کند. فقط می توانست با لباسی شبیه لباس فضانوردی خارج از محفظه اش شود. برای آگاه کردن او از وضعیتش و کمک به رشد روانی او روان شناسانی استخدام کردند که به او توضیح می دادند در بیرون از محفظه اش میکروب‌ها و ملکه‌ی میکروبی وجود دارد که می‌خواهند او را بکشند! و او نباید با اسباب بازی هایش به محفظه اش آسیبی بزند. همانطور که حدس می زنید با وجود تمام این هزینه ها این بچه نتوانست زندگی سالم و فارغ از مشکلات روحی روانی داشته باشد. در آخر تصمیم گرفتند با پیوند مغز استخوان خواهرش به او، آخرین تلاش های درمانی را انجام دهند که متاسفانه به دلیل آلودگی قبلی به ویروس ها تبدیل به سرطان شد و این کودک در ۱۲ سالگی فوت شد. با وجود داستان تراژدیک این مورد، اطلاعاتی که در طی این واقعه به دست آمد خیلی به افزایش دانش ما از بیماری های ژنتیکی و چگونگی درمان آن ها کمک کرد. مثلا برای اولین بار بود که فهمیدیم آلودگی قبلی به ویروس های خاص می تواند سلول ها را به سمت سرطانی شدن ببرد.

David Vetter, a young boy from Texas, lived out in the real world - in a plastic bubble. Nicknamed "**Bubble Boy**," David was born in 1971 with severe combined immunodeficiency (SCID), and was forced to live in a specially constructed sterile plastic bubble from birth until he died at age 12.

امروزه معمولا این بیماران را خوب درمان می کنند. خیلی دقیق می‌گردند آنزیمی را که فرد نمی تواند تولید کند (مثلا آنزیم Adenosine DeAminase در نوع ADA deficient این بیماری) و در نتیجه آن نمی تواند B cell یا T cell بالغ داشته باشد، شناسایی می کنند و سعی می کنند تا با کمترین مداخله فقط مشکل آن آنزیم را حل کنند(ژن آنزیم را به سلول ها بدهند.) تا بدن بقیه مراحل را خودش انجام دهد و نیازی به پیوند مغز استخوان و عوارض بعدی نباشد.

روش های مختلف درمانی در بیماری های ژنتیکی

علاوه بر ژن تراپی، از درمان های دیگری برای بیماری های مختلف ژنتیکی می توان استفاده کرد:

۱) می توان پروتئین سالم را جایگزین پروتئین ناسالم یا حذف شده کرد مثلا transfusion خونی استفاده کرد که در همین مورد SCID از نوع ADA deficient جواب می دهد و دوز آنزیم را جبران می کند. می‌توان برای بیماران متابولیک از پیوند مغز استخوان استفاده کرد. یا اگر فرد، آنتی تریپسین deficient است به او آنتی تریپسین بدهیم. می توان در بیماری های مثل گوشر(Gaucher disease) که بتاگلوکوزیداز منفی هستند، آنزیم را بهشان بدهیم تا دیگر تجمع متابولیت ها رخ ندهد و کودک mental retarded نشود. پس دقیقا همان چیزی که کم است را اضافه می کنیم و بقیه مراحل در بدن عادی پیش می رود.

۲) می‌توانیم یک سری ویتامین ها یا کوآنزیم ها را جایگزین کنیم. مثلا به افرادی که هموسیستئین یوریا دارند، ویتامین B6، B12، بیوتین بدهیم. به کسانی که کمبود دارند ویتامین D بدهیم. به افرادی که هایپوپلازی مادرزادی آدرنال دارند کورتیزول بدهیم یا به کسانی که مشکل در تیروئید دارند، تیروکسین بدهیم.

۳) افرادی هستند که به خاطر نقص ژنتیکی نمی توانند ماده یا پروتئین خاصی را تجزیه کنند. مثلا افرادی که گالاکتوزمی دارند را از مصرف گالاکتوز منع کنیم. به فنیل کتونوریاها غذایی بدهیم که فنیل آلانین ندارد. به کسانی که هایپرکلسترولمی مادرزادی دارند غذاهای فاقد کلسترول بدهیم مثل غذاهای گیاهی.

۴) یک‌سری داروها را باید بدهیم و یک سری را باید حواسمان باشد ندهیم. مثلا به G6PD ها سولفانامید نباید داد یا خیلی با ماژیک بازی نکنند که سیستم ایمنی شان تحریک شود. یا به مبتلایان پورفریا نباید باربیتورات‌ها را بدهیم.

۵) در افرادی که کلیه پلی کیستیک دارند می توان پیوند کلیه انجام داد.

۶) از ژنتیک نوترکیب هم برای ساخت پروتئین های مورد نیاز بیماران استفاده کردند. مثل انسولین در دیابتی ها، فاکتور ۸ و ۹ در هموفیلی هایA و B، اریتروپویتین و انواع بتا اینترفرون ها را تولید کردند. انواع داروهای نوترکیب برای بیماران ژنتیکی یا غیرژنتیکی مثل دیابتی ها تولید شد.

۷) BMT (Bone Marrow Transplantation) برای افرادی که نقص ایمنی شدید دارند، یا تالاسمی دارند، می توان مغز استخوان فرد را با شیمی درمانی از بین برد و بعد سلول های سالم را به مغز استخوان پیوند زد. این پیوند می تواند اتولوگ (از خود فرد) یا آلوژن (از خواهر یا برادری که full match است.) باشد یا حتی موقعی که دیگر کسی پیدا نمی شود از فرد غریبه که عوارض زیادی به دنبال دارد. اینجا بود

که به فکر ژن تراپی افتادند. گفتند سلول‌های مغز استخوان خود فرد را بگیریم و ژن سالم را به آن ها وارد کنیم. اینجا پایداری مهم است که تا چه اندازه آن ژن می تواند برای فرد پروتئین سالم درست کند.

پس در نهایت به اینجا رسیدیم که از ژن درمانی هم می توان برای درمان استفاده کرد. در ژن تراپی اولا باید مشخصات ژن را خوب بدانیم. آیا بیماری بخاطر این ژن است؟ ساختار سالم آن چطور بوده؟ می شود آن ژن را وارد پلازمید و تکثیر کرد؟ برای بیان درست چه توالی های (پروموتور، enhancer، regulator، silencer) مناسب دیگری در اطراف خود نیاز دارد؟ این حداقل اطلاعاتی است که ما باید به طور دقیق داشته باشیم.

اگر ما ژن را وارد سلول کنیم ولی بیان خیلی کم داشته باشد فایده ای ندارد. چطور می توان تضمین کرد که بیان ژن کافی خواهد بود؟ پس باید توالی های اطراف را دقیق مورد بررسی قرار دهیم.

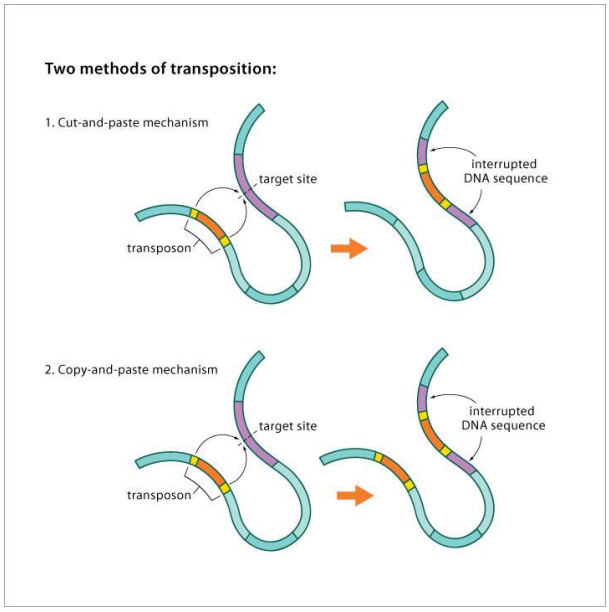
همچنین باید تصمیم بگیریم که ژن تراپی را در تمام بدن بیمار انجام دهیم یا فقط یک ارگان خاص مثلا مغز استخوان یا کبد؟ حامل‌ها چه باید باشند؟ چطور وارد سلول می شوند؟

۱) یک راه آن مثلا برای بیماری دیستروفی عضلانی دوشن (DMD) این است که خود ژن مورد نیاز را که ژن طویلی است بدون هیچ حاملی به طور مستقیم تزریق می کنند به بافت ماهیچه ای! ژن وارد سلول می شود و خیلی خوب کارش را انجام می دهد. اما این روش بازده بالایی ندارد و خیلی ژن ها هدر می روند و به سلول و بعد هسته اش وارد نمی شوند. تازه وقتی به هسته رسید و وارد آن شد دو حالت پیش می آید. یا به صورت آزاد در هسته می چرخد و برای مدتی بیان می‌شود یا خود را وارد یک بخشی از ژنوم می‌کند (insertion) که در این صورت در تمام طول عمر سلول باقی می‌ماند و پایداری بالاتری خواهد داشت. این نوع دوم مشکلاتی دارد به نام **جهش های درجی (insertional mutation)**، چرا که این ژن می‌تواند هرجا که خواست بنشیند. شاید جایی نشست که پروموتور قوی داشت و بیانش بیش از حد زیاد شد. یا شاید جایی نشست که کار ژن دیگری را مختل کرد. همانطور که گفتیم اگر این جایگزینی و نشستن درست انجام نشود موردی مثل آن ۳ نفر که به لوسمی دچار شدند، پیش می‌آید. پس باید برای انتقال ژن همه حالات را در نظر بگیریم. گاهی ژنی را با هدف خاصی وارد سلول می‌کنیم اما آن ژن در چندین مسیر دیگر از جمله تکثیر سلول، تنظیم سیکل سلولی و .... هم دخالت دارد و کافی است مثلا سیگنال تکثیر سلول بفرستد تا منجر به سرطان شود.

۲) یک راه دیگر استفاده از ویروس ها به عنوان سیستم های وکتوری است. به این صورت که ژن مورد نظر را به قطعه‌ی ویروس می‌چسبانند و این ویروس به راحتی وارد سلول می‌شود و به محل خود متصل می‌گردد.

پیشتر گفتیم که طبق قانون برای ژن درمانی یک بیماری خاص ابتدا باید روی رده‌ی سلولی (cell line) و animal model امتحان کنیم. بیماری هایی هستند که تحقیقات زیادی روی آن‌ها انجام شده و به خوبی approved

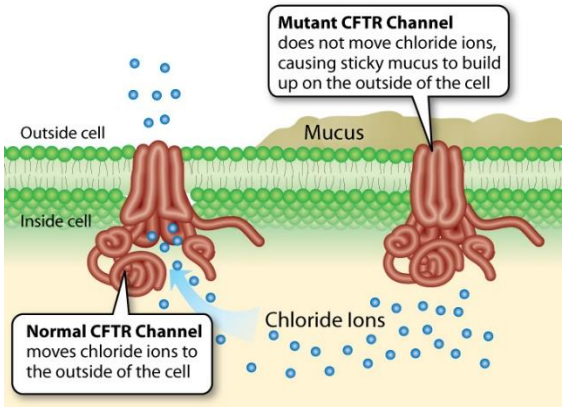
شده‌اند. مثلاً CF یا cystic Fibrosis که شیوع زیادی دارد و در سفیدپوستان اروپایی به ویژه منطقه‌ی قفقاز در شمال اروپا (Caucasians of Northern European descent) تا ۳۰٪ carrier هستند. یا مثلا بیماری دوشن (DMD)، هانتینگتون، فردریش آتاکسی (Friedreich's ataxia) بیماری هایی هستند که روی آن ها کارهای زیادی صورت گرفته و برای ژن درمانی شواهد animal model آن ها بسیار غنی است.



سوال: ژنی که وارد سلول میکنیم (از طریق وکتور یا تزریق عضلانی) چگونه وارد ژنوم می‌شود؟(insertion)

در سلول ژن‌هایی داریم به نام transposon ها یا ژن‌های پرنده که می‌توانند به کمک برخی پروتئین‌ها از جای خود کنده شده و مجددا در محل دیگری به ژنوم متصل شوند. بنابراین سلول‌ها پتانسیل لازم را دارند که ژن خارجی را هم به همین صورت در ژنوم خود جای دهند. همچنین مثل واکسن که گاهی مواد کمکی (adjuvant) به آن اضافه می‌کنیم برای انتقال ژن هم کارهای مشابه انجام می‌شود. مثلا در بسیاری از موارد ژن‌ها را وارد لیپوزوم می‌کنیم.

یکی از راحت‌ترین روش‌ها برای درمان CF اسپری بینی آن است. ژن موردنظر به همین سادگی می‌تواند به محل هدف برود و تکثیر شود. یکی از اصلی‌ترین مشکلات بیماران CF اختلالات تنفسی است و اکثر مرگ و میرها به همین جهت است. در این بیماری پمپ‌های(*بهتره بگیم کانال*) کلر از کار می‌افتند(*کاهش ترشح کلرید و افزایش بازجذب آب و سدیم*) و ترشحات مجاری تنفسی غلیظ می‌گردد. میکروب‌ها در این ترشحات رشد می‌کنند و فرد دچار مشکل تنفسی و امفیزم می‌شود. این کانال ها در پانکراس هم موجودند و اشکال در آن‌ها باعث می‌شود ترشحات پانکراس (آنزیم‌ها و هورمون‌ها) در مجاری گیر کنند و از آن خارج نشوند. اسپری بینی برای این بیماری طراحی شده که حاوی ژن های مورد نیاز درون لیپوزوم‌هاست. این ژن ها وارد سلول های ریه شده و به هسته‌ی این سلول ها می‌روند و به صورت مقطعی رسپتورها را تولید می‌کنند تا فرآیند طبیعی ادامه پیدا کند. پس ژن درمانی گاهی به همین سادگی است و الزاما به روش‌های پیچیده نیاز ندارد.



ژن درمانی داخل رحمی

در سال ۱۹۷۷ یک سری ژن تراپی را با هدف درمان جنین داخل رحمی در مدل های موشی انجام دادند. می‌دانید که معمولا مداخلات داخل رحمی انجام نمی‌شود و صبر می‌کنند تا بچه به دنیا بیاید، به جز موارد حیاتی مثل انسداد مثانه و ...که جراحی صورت می‌گیرد. در مدل‌های موشی برای بیماری هایی که age onset یا سن بروز بیماری خیلی پایین دارند و معمولا در بدو تولد خود را نشان می‌دهند می توان ژن درمانی کرد. مثل بیماری SCID، بیماری های متابولیک، مثلا بیماری شوگرن و ... . در این موارد می‌توان ژن تراپی داخل رحمی انجام داد. مزیت این نوع ژن درمانی این است که واکنش ایمنی نداریم زیرا سیستم ایمنی جنین هنوز naive است و تکامل نیافته به همین دلیل به سلول یا ژن خارجی واکنش نمی‌دهد. اما در صورت به دنیا آمدن بچه باید دنبال دهنده‌ی مناسب بگردیم که با نوزاد match باشد و transplantation با مشکل رو به رو نشود.

ارگان هدف

گفتیم که هدف ژن درمانی می‌تواند یک اندام خاص یا سراسر بدن باشد.

کبد: در افرادی که هایپرکلسترولمی مادرزادی دارند ژن گیرنده‌ی LDL جهش دارد. خب می‌توان این ژن را درمان کرد و وارد کبد کرد و دیگر نیازی نیست این ژن به سایر قسمت های بدن برود چون در آن جا کاربردی ندارد. همچنین در ژن درمانی سیستمیک یا سراسری اتلاف زیادی داریم.

CNS: معمولا برای سلول های عصبی که تقسیم نمی‌شوند از lentivirus ها به عنوان وکتور استفاده می‌کنیم. (برخی وکتورها تنها می‌توانند در سلول هایی با قدرت تقسیم بالا به کار برده شوند اما lentivirus ها این محدودیت را ندارند.) این که efficiency بالا باشد برای ما خیلی مهم است. یعنی درصد بالایی از ویروس های استفاده شده وارد سلول های هدف شوند و به فعالیت بپردازند. Lentivirus ها پایداری بیان ژن نسبتا مناسبی دارند و در سلول‌هایی فاقد قدرت تقسیم با efficiency بالا وارد می‌شوند به همین دلیل در درمان پارکینسون و آلزایمر مورد استفاده قرار می‌گیرند.

نتایج اولیه کار روی بیماری پارکینسون خیلی خوب بود. به این صورت که فرد پس از ژن درمانی تا چند ماه سالم بود. نتیجه گرفتند که دوره‌ی پایداری lentivirus ها همین چند ماه است و باید هرچند ماه دوره‌ی درمانی تکرار شود. اما پس از انجام مطالعه ای مشاهده شد که افرادی که ژن درمانی شدند در مقایسه با کسانی که صرفا placebo دریافت کردند تفاوت چندانی نشان نمی‌دهند. در افرادی که دارونما دریافت کردند هم به دلیل اثر روانی تا چندماه حال بیمار خوب بود. این مطالعه تاثیر ژن درمانی روی پارکینسون را با چالش مواجه کرد.

عضلات: در بیماری DMD ژن دیستروفین مشکل دارد.(در صورت عدم تولید یا عملکرد نامناسب دیستروفین در عضلات، فرد به دیستروفی عضلانی دوشن مبتلا می‌شود) از آن جایی که این ژن ۷۹ اگزون دارد و با در نظر گرفتن

طول اینترون ها که خیلی بیشتر است(هر اینترون حدودا ۲۰ برابر اگزون طول دارد) طول ژن خیلی زیاد می‌شود. به همین دلیل تصمیم گرفتند سنتز cDNA انجام دهند. یعنی اینترون ها را حذف کنند و اگزون ها را به هم بچسبانند تا فقط بخش های ضروری و مورد نیاز درون ژن قرار بگیرد. به این ترتیب ژن کوچکتری به نام میکرودیستروفین را برای استفاده در ژن درمانی ساختند.

(در حاشیه: در گذشته برای بررسی ژن‌ها مثلا همین دیستروفین فقط hotspot ها را بررسی می‌کردند و بسیاری از جهش ها از نظر دور می‌ماند یا مجبور بودند طی چند مرحله بررسی کنند که مدت ها طول می‌کشید و اصلا ممکن بود فرد ناقل طی آن مدت بچه‌ی بعدی اش هم به دنیا آمده باشد اما امروزه در صورت وجود مشکل یک تعیین توالی کامل انجام می‌دهند و با صرف هزینه و وقت کمتر به مشکل پی می‌برند.استاد)

مغز استخوان (Bone marrow): مثلا بیماری adrenoleukodystrophy که در آن بچه در ابتدا مشکلی ندارد و حتی به مدرسه می‌رود اما ناگهان علائم کامل عقب ماندگی (mental retardation) را نشان می‌دهد. طوری که حتی نمی‌تواند درست راه برود و حرف بزند، ارتباطاتش با مشکل مواجه می‌شود و مثل یک کودک عقب‌مانده‌ی مادرزادی است، در حالی که تا یک سال یا ۶ ماه قبل مدرسه می‌رفته و کاملا نرمال بوده است. برای این بیماری پیوند خیلی خوب جواب می‌دهد و هرچه پیوند زودتر صورت بگیرد عوارض پایدار بیماری کمتر خودش را نشان می‌دهد. برای پیوند ابتدا باید یک دهنده‌ی مناسب پیدا کنیم. اگر فرد گیرنده خواهر یا برادری داشته باشد می‌توانند نقش دهنده را ایفا کنند اما در غیر این صورت باید از بانک های جهانی استفاده کرد. در صورتی که نخواهیم یا نتوانیم پیوند مغز استخوان انجام دهیم می‌توانیم با سلول های خود فرد ژن درمانی را انجام دهیم. یعنی سلول های مغز استخوان را خارج کرده و ژن معیوب آن ها را اصلاح کنیم و سپس دوباره به بدن بازگردانیم.

روش in vivo : در این روش ژن مورد نظر را کلون می‌کنیم و سپس در وکتور مناسب قرار داده و به طور مستقیم به بافت (عضله) تزریق می‌کنیم. بهترین مثال برای in vivo ، CFTR است. برای بیماران مبتلا به CF ، nasal spray وجود دارد که به روش in vivo عمل می‌کند.

روش ex vivo : در این روش از بیمار یک سری سلول می‌گیریم، ژن مناسب را در محیط آزمایشگاهی وارد سلول می کنیم و آن ها را کشت می‌دهیم. سلول هایی که infection بالایی دارند (یعنی به مقدار زیادی ژن یا ویروس را جذب کرده‌اند) و زنده اند را انتخاب می‌کنیم. به این مرحله که در محیط آزمایشگاهی تغییراتی روی سلول ها انجام می‌دهیم in vitro گفته می‌شود. مثال ex vivo هموفیلی B است، در این بیماری فاکتور IX تولید نمی شود. (در هموفیلی A فاکتور VIII تولید نمی‌شود. وقتی فاکتور انعقادی VIII را وارد کنیم بقیه‌ی آبشار انعقادی را خودش به راه می‌اندازد.)

انتقال ژن

انتقال ژن می‌تواند به روش های ویروسی و غیر ویروسی انجام شود:

روش های ویروسی: ویروس هایی که بیشتر استفاده می‌شوند شامل oncovirus ها، adenovirus ها، adeno associated virus ها، Lentivirus ها و Herpes virus هاست. هرکدام از این ویروس ها نسبت به یکدیگر مزایا و معایبی دارند و با توجه به این موارد انتخاب می‌شوند. بعضی از آن ها می‌توانند حجم بالایی از DNA را در خود جای دهند، بنابراین اگر ژن بزرگ باشد باید ویروسی با ظرفیت بالا انتخاب کنیم.

مثلا لنتی ویروس ها به سلول‌هایی می‌روند که قدرت تکثیر ندارند. قدرت infection و پایداری آن‌ها بالاست ولی تنها می‌توانند ۷kb را در خود جای دهند و برای ژن های بزرگ نمی توان از آن ها استفاده کرد.

ویروس	oncovirus	adenovirus	Adeno associated virus	Lentivirus	Herpes
ظرفیت	۷Kb	۳۶Kb	۵Kb	۷Kb	۲۰Kb
Integrity	داخل می‌شود	انتگره نمی‌شوند	داخل می‌شود	داخل می‌شود	انتگره نمی‌شوند
پایداری	کوتاه	کوتاه*	طولانی	طولانی	کوتاه
سیستم ایمنی		احتمال رد شدن	عدم پاسخ ایمنی		احتمال رد شدن
موارد دیگر	جهش درجی	سمیت-بدخیمی	عفونت**	جهش درجی	سمیت

**در درسنامه می‌خوانیم که آدنو ویروس ها پایدار هستند و می‌توانند به آسانی خالص شوند.... از طرفی به علت عدم انتگره شدن در ژنوم سلول هدف، معمولا بیان ژن حاصل از آن ها ناپایدار و موقتی است. پس این دو تا رو قاطی نکنیم. یک مسئله پایداری ویروس برای کارهای آزمایشگاهی است و دیگری پایداری ژنوم ویروس در سلول که به انتگره شدن یا نشدن بستگی دارد.*

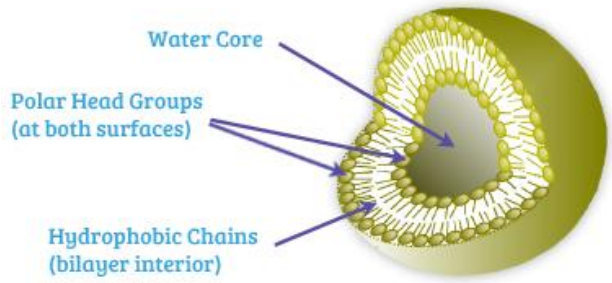
***همانطور که در درس ویروس شناسی خوانده اید یا خواهید خواهند، این ویروس ها جزو پارووویروس ها هستند و برای عفونت زایی به آدنوویروس ها یا اعضاء خاصی از خانواده‌ی هرپس ها به عنوان ویروس کمکی نیاز دارند. خب، تا وقتی ویروس کمکی وجود نداشته باشد عفونتی هم نیست و ژن های اضافه شده به پارووویروس به صورت safe بیان می‌شوند. اما در صورت آلوده شدن به آدنوویروس ها این پارووویروس‌ها هم فعال شده و ایجاد عفونت می‌کنند. پس عفونت وابسته به وجود ویروس های کمکی است.*

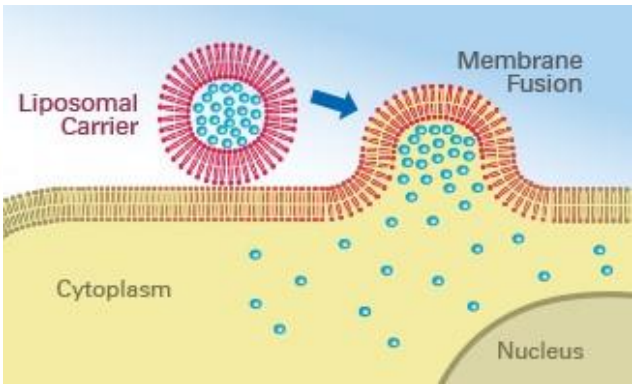
integrity: ویروس یا به داخل ژنوم سلول هدف insert می‌شود و و همگام با آن بیان می‌گردد یا این که insert نشده و به طور مستقل (تا وقتی توسط آنزیم های سلول تجزیه نشده) به بیان ژن می‌پردازد. ویروس هایی که به ژنوم سلول هدف وارد می‌شوند ممکن است جهش های درجی ایجاد کنند اما مزیت آن‌ها این است که پایدار ترند. مثلا لنتی‌ویروس ها در سلول به طور طولانی مدت پروتئین تولید می‌کنند.

واکنش ایمنی: یکی از نکات مهمی که باید به آن توجه کنیم این است که، وقتی ویروس را وارد بدن می‌کنیم سیستم ایمنی تا چه حد تحریک می‌شود. در برخی از ویروس ها مثل هرپس احتمال رد شدن توسط سیستم ایمنی خیلی بالاست و در برخی خیلی ضعیف است.

Safety: برخی از ویروس ها مثل آدنوویروس و هرپس در دوزهای خاصی toxicity ایجاد می‌کنند. همچنین ویروس‌هایی که وارد ژنوم می‌شوند می‌توانند جهش درجی ایجاد کنند.

روش های غیرویروسی : در روش غیرویروسی، باید ژن را وارد لیپوزوم کنیم. لیپوزوم یک غشاء دولایه است که با آب پر شده. از لیپوزوم در سایر روش های درمانی هم به عنوان ناقل دارو استفاده می‌شود. مثل نانوداروها





فایده لیپوزوم‌ها چیست؟

۱) اصلا سیستم ایمنی را تحریک نمی‌کنند چون خاصیت آنتی ژنی ندارند. (کاملا safe)

۲) مشکلات insert شدن آن ها منتفی است.

۳) می‌توان حجم نامحدودی از DNA را وارد آن کرد. (مهم ترین مزیت)

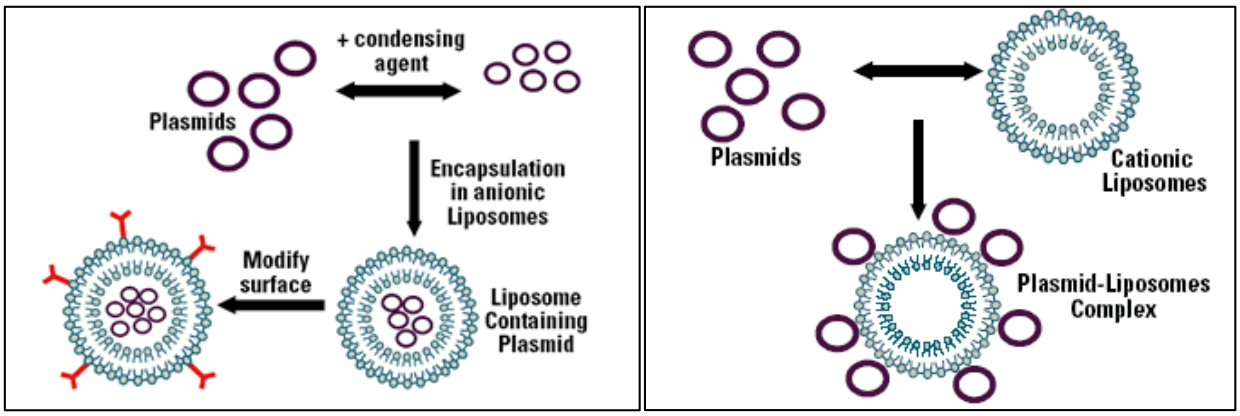
ایراد لیپوزوم ها چیست؟

پایداری خیلی کمی دارند و بعد از مدت زمان کوتاهی نیازمند به تکرار درمان هستند. برعکس ویروس ها که پایدارترند. منظور از پایداری همان پایداری اسیدنوکلئیک است. یعنی مدت زمانی که در سلول است و می‌تواند قبل از تجزیه شدن، پروتئین کارآمد تولید کند. علامت پایداری آن تا زمانی است که فرد سالم است و محصول ژن در بدنش تولید می‌شود. لیپوزوم‌ها معمولا در سلول degrade می‌شوند و DNA درون آن‌ها در سلول رها شده و پس از مدتی تجزیه می‌شود. (لیپوزوم وارد هسته می‌شود و این اتفاقات همه در هسته رخ می‌دهند.)

سوال: اگر قرار باشد DNA در هسته‌ی سلول بعد از مدتی از بین برود پس چگونه ژنوم ما در طول عمر سالم باقی می ماند؟ مکانیسم هایی از ژنوم ما محافظت می‌کنند و تعداد زیادی پروتئین محافظت کننده روی ژنوم چسبیده اند. همانطور که می‌دانید سرعت همانندسازی ۱۰ برابر سرعت رونویسی است چون اگر قرار است قطعه ای از ژنوم باز

شود و از روی آن همانندسازی صورت گیرد باید بلافاصله folding رخ دهد و پروتئین های بسیار زیادی روی ژنوم بچسبند تا از آسیب‌های مختلف (آسیب های محیطی و آسیب هایی که پروتئین ها به آن می‌زنند) در امان بماند. اما وقتی ما یک قطعه DNA را وارد لیپوزوم می‌کنیم و به سلول می فرستیم محافظت پروتئینی و ایمنی ندارد. به همین دلیل ژن هایی که insert می‌شوند مثل ژنوم خود فرد مورد محافظت قرار می‌گیرند و پایدارترند.

بر نیست بدونید که دو نوع لیپوزوم وجود داره، کاتیونی و آنیونی. تفاوتشون رو توی شکل‌های زیر می‌تونید ببینید؛



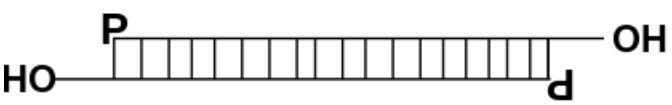
روش های اصلاحات RNA

به جز آن چه تاکنون توضیح داده شد، درمان‌های دیگری هم به عنوان ژن درمانی وجود دارد. استفاده از اصلاحاتی (Modification) که روی RNA ها انجام می‌شود یکی از این درمان هاست.

به معرفی دوتا از مهم ترین روش های RNA modification می‌پردازیم:

۱.Antisense oligo nucleotide : توالی هایی بین ۱۸ تا ۳۰ نوکلئوتید از جنس RNA تک رشته‌ای هستند که در سلول ها وجود دارند. (چون کوچک هستند و توالی‌ای بین ۱۸ تا۳۰ نوکلئوتید دارند به آنها اولیگو گفته می‌شود). این RNA ها می توانند به تکه‌ی مکمل خود بچسبند و با match شدن در آنجا باعث مهار بیان آن ژن شوند. در مواردی که ما بیان نابجا داریم ، این antisense ها را تزریق می کنیم تا این بیان نابجا را مهار و کنترل کنند.

۲. RNA مداخله گر (SiRNA، small interfering RNA): این که یک قطعه RNA به قطعه‌ی RNA دیگری بچسبد و آن را از بین ببرد (degrade کند) ، کار SiRNA (RNA مداخله گر) است. تفاوت RNA مداخله گر با Antisense oligo nucleotide در آن است که RNA های مداخله‌گر در ریشه و اساسشان RNA های دورشته‌ای هستند که طولشان حدود



Schematic representation of a siRNA molecule: a ~19-21 basepair RNA core duplex that is followed by a 2 nucelotide 3' overhang on each strand. OH: 3' hydroxyl; P: 5' Phosphate

۲۰ نوکلئوتید (۲۱_۲۳نوکلئوتید) است و معمولا یک سری overhang های ’3 به اندازه یکی دو نوکلئوتید دارند.

طرز تشکیل این SiRNA ها بدین صورت است که یک سری RNA های دورشته ای بزرگ (ds RNA) وجود دارند که آنزیمی به نام dicer (شامل کمپلکس پروتئینی گوناگون) روی آن‌ها می‌رود و آنها را degrade می‌کند و به قطعات حدود ۲۰ نوکلئوتیدی می‌شکند (همچنان دورشته ای هستند) و تبدیل به SiRNA یا RNA مداخله گر می‌کند.

سپس SiRNA در تشکیل کمپلکس RISC (RNA-induced Silencing Complex) شرکت می‌کند. این کمپلکس دو جزء خیلی مهم دارد که می تواند به SiRNAها بچسبد و رشته های sense و antisence را از هم جدا کند. یکی از رشته‌ها (antisense) در کمپلکس ریسک به صورت فعال در می‌آید و روی هدف خودش که mRNA هست می‌چسبد و سپس آن را degrade می‌کند و از بین می برد. *(استادگفتن جزییات این فرآیند خیلی اهمیت نداره برای همین ما هم زیاد روش تمرکز نمی‌کنیم)*

مثال هایی از بیماری های تحت درمان با ژن درمانی

یکی از مهم ترین این بیماری ها SCID است که یکی از انواعش در بیمارانی که ADA deficient هستند، اولین ژن درمانی بود که در انسان صورت گرفت. برای CF هم که nasal spray تا الان خوب جواب داده است و فقط پایداری کمی دارد. برخی بیماری های خودایمنی مثل MS و آرتریت روماتوئید مولتی فاکتوریال اند که ممکن است چند ژن در آن موثر باشد و ممکن است که درمان های ژن تراپی برای آن‌ها مفید واقع شود.

بیماری هموفیلی در ژن درمانی یک مزیت دارد؛ در بیماران هموفیلی اگر فاکتور انعقادی به اندازه ۰,۵ تا ۴ درصد سطح نرمال افراد عادی هم وجود داشته باشد، زمان انعقادشان معمولا مثل افراد عادی خواهد شد. پس اگر میزان کمی هم از بیان این فاکتور صورت بگیرد معمولا مشکل برطرف می‌شود. فقط پایدار نیست یعنی با این که ما میزان کمی از بیان را می‌خواهیم، ولی معمولا به دلیل نیاز به تکرار زیاد، درمان سختی خواهد بود.

در بیماری DMD ،انواع هموگلوبینوپاتی‌ها و مشکلاتی مثل بتاتالاسمی هم ژن درمانی به خوبی جواب می دهد.

سلول درمانی (cell therapy)

امروزه دیگر بحث سلول درمانی مطرح است. در سلول درمانی به جای اینکه یک ژن کوچک را وارد سلول‌های فرد کنیم، خود سلول سالم را وارد بدن فرد می‌کنیم. مثلا در نقص ایمنی T cell ها را وارد می‌کنیم. حتی می‌توان T regulatory را وارد کرد که خودش می‌تواند به T cell مناسب تمایز پیدا کند.

از دو گروه سلول بنیادی برای سلول درمانی استفاده می‌شود:

embryonic stem cell: سلول های بنیادی جنینی (پس از لقاح و تشکیل بلاستوسیست و ...) هستند و توانایی این را دارند که به انواع رده های سلولی (مثلا به بافت‌های مزانشیمال، اکتودرمال و اندودرمال) تمایز پیدا کنند. embryonic stem cell ها برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مخصوصا بیماری‌های سیستم عصبی مثل پارکینسون مورد استفاده قرار می گیرد. زیرا این سلول‌ها به محیط‌های مناسب برای تمایز به سلول عصبی به خوبی پاسخ می‌دهند. dyskinesia مجموعه‌ای از مشکلات حرکتی است که بعد از درمان پارکینسون با ژن تراپی به وجود آمد. طی این درمان ژن دوپامین را وارد سلول‌ها کردند و دیدند که بیان خوبی دارند ولی اختلالاتی در حرکات ارادی پیدا شد که گفتند از عوارض جانبی درمان است. و از آن به بعد از embryonic stem cell ها استفاده کردند.

somatic stem cell: در انسان بالغ، بین ۲ تا ۵ درصد سلول‌های بدن سلول‌های بنیادی هستند که برای ترمیم روزانه استفاده می‌شوند. مثلا پوست که می بُرد یا دیواره روده که می‌ریزد، سلول هایی تکثیر و متمایز و جایگزین می‌شوند که از همان سلول‌های بنیادی مشتق شده‌اند. به این ها somatic stem cell گفته می‌شود که محدودیت‌هایی در مقایسه با embryonic stem cell ها دارند. این ها فقط می‌توانند به یک رده‌ی خاص تمایز پیدا کنند. مثلا اگر سلول‌های بنیادی مزانشیمال دیواره قرنیه را جدا کردیم و پیوند زدیم، آن سلول‌های بنیادی فقط می‌توانند به رده‌ی خاصی از سلول‌های همان بافت تمایز پیدا کنند و مثل سلول‌های embryonic نیستند که بتوانند به انواع رده های مختلف سلولی تمایز یابند. ولی به دلیل تمایزی که دارند برای انواع درمان‌ها منبع مناسبی هستند.

یکی از بهترین و معمول ترین روش‌هایی که از somatic stem cell ها استفاده می‌شود پیوند مغز استخوان (bone marrow) است. در این روش ابتدا یک شیمی‌درمانی سنگین برای اینکه دیگر سلول‌های مغز استخوان فرد کار نکند انجام می‌دهیم، سپس یک سری سلولهای bone marrow سالم را وارد می‌کنیم. دیگر سلول‌های بنیادی خون‌سازی که در فرد هستند در واقع متعلق به فرد نیستند بلکه برای دهنده سالم است. در نتیجه مشکل بیماری حل می شود.

سوالی که مطرح می شود این است که اصلا چرا سلول های بنیادی که وارد می‌شوند خیلی دقیق می‌روند وارد مغز استخوان می‌شوند آن هم در حالی که مثلا تزریق سلول‌های bone marrow از طریق خون محیطی بوده؟ این فرایند تحت تاثیرداروها و سایتوکاین های مناسب انجام می‌شود تا به بهترین جای ممکن یعنی مغز استخوان برود و جذب شود. به این پدیده homing گفته می‌شود.

در گذشته، سلول‌های بنیادی را از مغز استخوان فرد دهنده برداشت می‌کردند ولی الان به خاطر درد و رنجی که فرد دهنده (به دلیل عمل برداشت مغز استخوان) تحمل می‌کند معمولا دیگر چنین کاری نمی‌کنند، بلکه از PBSC ها (Peripheral blood stem cell) استفاده می‌کنند. بدین صورت که طی یک دوره ده روزه یک‌سری GCSF (فاکتور محرک کولونی گرانولوسیتی) به فرد دهنده تزریق می‌شود برای تحریک و ساخت سلول‌های PBSC. به دلیل تولید زیاد، مقداری از این سلول‌ها وارد خون می‌شود و با استفاده از دستگاهی مثل دیالیز که برایمان Apheresis انجام می‌دهد، سلول بنیادی از خون جداسازی، تخلیص و pack می‌شود و به بیمار زده می‌شود. مثلا الان بیمارستان

طالقانی هم همین کار را انجام می‌دهد و معمولا از مغز استخوان استفاده نمی‌کنند مگر اندیکاسیون های خاصی پیدا کنند. *(از* apheresis *برای جداسازی پلاکت برای بیماران سرطانی هم استفاده می‌شود و هم اکنون این کار در بیمارستان* **ممک** *صورت می‌گیرد. برید اهدا کنید)*

یک سری مشکلاتی در پیوند وجود دارد. مثل رخداد GVHD (Graft Versus Host Disease (بیماری پیوند علیه میزبان)) یعنی سلول مغز استخوان یا بافت وارد شده بر علیه میزبان واکنش نشان می‌دهد. در اینجا معمولا چون سیستم ایمنی آنقدر تضعیف شده که فرد ایمنی ندارد، بافت وارد شده برای خودش احساس قلدری! می‌کند و همه‌ی سیستم را به دست می گیرد. بنابراین می‌بینیم که مثلا از زبان شروع می‌کند به عفونت تا بافت ملتحمه چشم و بعد عوارض پوستی و خونریزی گوارشی و اسهال و ... . بنابراین پزشکان خیلی از GVHD می‌ترسند! برای جلوگیری از این رخداد روش‌هایی وجود دارد. مثلا T cell depression که طی آن، در بافتی که داریم پیوند می‌زنیم T cell ها را از بین می‌بریم. در نتیجه این خطر وجود ندارد که کل سیستم ایمنی بدن را در دست بگیرد و GVHD اتفاق بیفتد. (البته ما تا حدودی از GVHD سود هم می‌بریم. یعنی سلولهای سرطانی که درون بدن مانده را T cell های بافت دهنده از بین می‌برد.)

به دلیل مشکلاتی مانند نیاز به immune suppressive ، رخداد GVHD و نبود دهنده‌ی مناسب روش‌های جایگزین دیگری مطرح شد.

یکی از روش های جایگزین Cord blood transplantation می‌باشد. در این روش از سلول های بند ناف برای درمان استفاده می‌کنند. بند ناف میزان stem cell بالایی دارد و واکنش ایمنی کمی را به وجود می‌آورد. زیرا سلول‌های یک نوزاد تازه متولد شده است و بنابراین وقتی وارد بدن فرد گیرنده شود واکنش های ایمنی کمی در فرد به وجود می‌آید. یک مشکل هم دارد. برای ما viability سلول خیلی مهم است. یعنی چند درصد سلول‌هایی که در بانک نگه داری سلول‌های بند ناف نگه داشته می‌شوند و ده پانزده سال از سنشان می‌گذرد زنده‌اند و چند درصد آن‌ها مفید است که وقتی آن‌ها را به فرد تزریق کردیم بتوانند به حیاتشان ادامه دهند؟ مشکل اصلی ما این است که cell count ما به اندازه کافی نیست، و برای ما میزان cell count در پیوند cord blood بسیار حائز اهمیت است.

بیماری‌هایی که روش پیوند سلول‌های بنیادی برای درمان آن‌ها خوب جواب می‌دهد:

انواع بیماری های هماتولوژی، انواع هموگلوبینوپاتی‌ها، انواع آنمی‌ها، آنمی فقر آهن(خیلی خوب جواب می دهد)، مشکلات سیستم ایمنی، مشکلات متابولیک، بیماری‌های اتوایمیون مثل MS و آرتریت‌روماتوئید و لوپوس.

روش های پیوند دیگری هم وجود دارد مثل mesenchymal stem cell که تحول زیادی ایجاد کرده است مخصوصا در درمان بیماری های قلبی و مشکلات بافت قلبی (بیماری های قلبی جزو شایع ترین علل مرگ و میر به ویژه در جوامع پیشرفته محسوب می‌شوند). هم‌چنین در درمان رتینوپاتی‌دیابتی(Diabetic retinopathy)،

Retinitis pigmentosa ، osteogenesis imperfecta ، پیوند سلول‌های بنیادی قرنیه (از یک چشم به چشم دیگر) و ... بسیار کاربرد دارند. از آن‌جا که سلول‌های بنیادی مزانشیمال می‌توانند به سلولهای قلبی و سلول‌های استخوانی تبدیل شوند برای درمان خیلی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

خلاصه کلام اینکه ژن تراپی به سرعت در حال پیشرفت است و امروزه دیده می‌شود افراد برای درمان به کشورهایی که شواهد و قرائن clinical trial در آن‌ها رعایت نمی شود مهاجرت می‌کنند و تقاضای ژن تراپی دارند. در این کشورها تحت عنوان کارهای پژوهشی، درمان را خیلی ارزان برایشان انجام می‌دهند (چون هنوز درمان رسمی نشده و در واقع آزمایشی است). ولی این آگاهی باید برای افراد ایجاد شود که چطور دارند به این طرح اعتماد می‌کنند در حالی که هنوز clinical trial مناسبی برای آن انجام نشده. فرد در بهترین حالت اندکی بهبود پیدا می‌کند و دوباره به همان حالت قبل باز می‌گردد. حتی در بدترین حالت علاوه بر پابرجا ماندن همان مشکل، ممکن است که بیماری‌های دیگری هم اضافه شود. پس آگاهی و وضع قوانین مناسب که چه کسانی می توانند ژن درمانی انجام دهند و در چه شرایطی و... باید صورت بگیرد تا این مهاجرت زیاد برای رفتن به کشور هایی که ژن تراپی را راحت تر انجام می‌دهند کنترل شود.

موفق باشـــید

یادداشت:

ژنتیک

جلسه دوازدهم ۱۳۹۵/۱۰/۰۸

مدرس: **خانم دکتر صیادی**

گروه ۱۲: محمدفرید فرجاد(تایپیست) ، میلاد جعفری
فربد امیری ، حسین صالحی عمران

مبحث جلسه: prenatal testing

میتوان تست های قبل از تولد (بارداری) را به دو گروه کلی تقسیم بندی کرد: ۱-تست های تشخیصی ۲- تست های که به منظور screening و غربالگری انجام میگیرند .

تست های تشخیصی: معمولا در خانواده هایی که دارای یک بیماری ژنتیکی مثل تالاسمی هستند بررسی میشود که میگردیم و بیماری خاص را در دوران بارداری بررسی میکنیم که معمولا مربوط به خانواده های خاصی میباشد و اطلاعات (History) خاصی نیز به ما میدهند. در مورد بسیاری از بیماری ها, اگر اطلاعات ژنتیکی کافی داشته باشیم (ژنتیک آن شناخته شده باشد)، میتوان برای تشخیص زودرسشان اقدام کرد . (بعد از آن دیگر تصمیم گیری با خانواده است که آیا تمایل به انجام تست ها دارد یا خیر)

در این جلسه قصد داریم با تعدادی از تست های غربالگری که در هر کشوری با توجه به دلایل مالی و سیاست گذاری های کشور انجام ممیگیرند و همچنین زمان انجامشان آشنا شویم .

بررسی تست های screening (غربالگری):

در سال ۱۹۷۰،یک نوع تست screeningمطرح شد که مقدار آلفا-فیتوپروتیین (AFP)را در مادران بارداری که فرزندشان دچار ناهنجاری سیستم عصبی هستند(به طور مثال کودکانشان دچار آنانسفالی یا مننگومیلوسیت هستند)

اندازه گیری شود و نتیجه ی این آزمایش در این مادران, مقداری بالاتر از حد نرمال برای این ماده بود. این موضوع در سال ۱۹۷۰خود شروعی برای استفاده از خون مادر به منظور پیش بینی یکسری از ناهنجاری های جنین شد و این تحول بزرگی بود. بعد از این موضوع, علم به سمت و سوی راه اندازی Prenatal screening test ها حرکت کرد .

در حال حاضر این تست ها برای بسیاری از اختلالات از قبیل بعضی بیماری ها اتوزومال دامیننت مثل شارکوت-مری-توس (charcot-marie-tooth) یا افرادی که پولیپوزیس خانوادگی(familial adenomatous polyposis) دارند یا هانتیگتون یا مارفان دارند یا در بعضی دیگر که به صورت اتوزومال رسسیو هستند مثل بتا تالاسمی یا سیستیک فایبروزیس (CF) و بسیاری از بیماری های متابولیک , یا وابسته به X ها که در سر دسته ی آنها DMD (دیستروفی عضلانی دوشن) قرار دارد وجود دارند و ژن هایشان شناسایی شده است, ما میتوانیم با بررسی موتاسیون در پدر و مادر و جنین به اطلاعات مفیدی در مورد سالم بودن جنین دست پیدا کنیم اما تصمیم نهایی برای انجام آنها قاعدتا خانواده است .

*** بیماری های متابولیک اغلب اتوزومال رسسیو هستند**

تست های Screening به منظور غربالگری در جامعه استفاده میشود. برای گروه هدف این تست ها احتمالا باید ابتدا جداسازی مادران high risk را انجام داد و سپس برای آنها از تست های تشخیصی استفاده کنیم. یکی از اختلالاتی که در مورد آنها بیم زیادی داریم بیماری های وابسته به سن مادر است. به طور مثال:در مادران بالای ۴۵ سال،**از هر ۲۵ نوزاد یکی** مبتلا به سندرم داون میباشد.

کلا در خصوص تریزومی ها, ۳ نوع از تریزومی های (۱۳ و ۱۸ و ۲۱) به دلیل احتمال زنده به دنیا آمدن نوزاد بسیار مهم می باشند.(بخصوص ۲۱) پس شناسایی و ترمینه کردن جنین مبتلا به آنها برایمان حائز اهمیت می شوند, در کشور ما هم (از سال ۸۴) اجازه ی ترمینه کردن این جنین ها داده شده.

* پس سعی برای پیدا کردن تست های غربال این ۳ و همینطور به طور مشخص ناهنجاری های عصبی بسیار مورد توجه قرار گرفت .

اولویت اول در تست غربالگری برایمان این است که باید سعی شود non invasive (غیر تهاجمی)باشد و مثلا احتمال وجود بیماری برای جنین از طریق خون مادر بررسی شود .

در تریزومی های ۱۳ و ۱۸ چون طول عمر زیاد نیست پس نگرانی ای نداریم. :|

» معمولا این تریزومی ها را موقع تولد نوزاد هم تقریبا میتوان در بخش زنان مورد شناسایی قرار داد مثلا فنوتیپ معمول و قابل تشخیص **تریزومی ۱۸, سر مثلثی، فتق نافی،پای گهواره ای،عدم تشکیل درست استخوان ها, پوست شکننده،Over riding انگشت ،عمر کوتاه(معمولا چند ماه)** و فنوتیپ شدید تریزومی ۱۳:**عدم تشکیل حفره ی چشم** می باشد .

در مورد اهمیت افراد مبتلا به سندرم داون : افراد مبتلا به سندروم داون هم تعدادشان زیاد است و هم عمر طولانی دارند, بنابراین روش های غربالگری بسیار برای آنها به ما کمک میکنند . فنوتیپ معمول این افراد : فاصله ی زیاد بین انگشت اول و دوم(که برای این حالت اصطلاحی رو به کار بردند که متاسفانه با سرچ هم متوجه نشدم, انشالله هر چه زود تر به اطلاعتون میرسونم) ،moon face،بینی flap، fissureچشم رو به بالا،دهان گرد و زبان معمولا بیرون زده . با افزایش سن نیز یک سری ویژگی های مشخصی را با خود حفظ میکنند, مثلا گوش های آن ها در سطح پایین تری قرار گرفته (یعنی خط چشمی که در افراد معمولی یک سوم گوش را می شکند در اینها اینگونه نیست)

یک سری risk factor برای سندرم داون وجود دارد مثل:

۱) **سن مادر** : برای افراد بالای ۳۵ سال به طور معمول تست های اسکرینیک انجام می شود, شامل تست های screeningدر ۳ ماهه ی اول و ۳ ماهه ی دوم به اضافه ی سونوگرافی در هفته هایی مشخص .

در کشور ما توصیه می شود تست آمنیوسنتز نیز برای افراد باردار بالای ۳۵ سال انجام شود اما اجباری نیست .

از فاکتور های مهم دیگر: آلفا-فیتوپروتئین، استرابیول غیر کنژوگه،PAP-A، Inhibin A، HCG، که در خون مادر به خوبی به عنوان تست های اسکرینینگ از آنها استفاده میشود. به طور مثال در افراد داونی MOM (Multiples of the Median) میزان آلفا-فیتوپروتیین ۷۵٪ رنج نرمال میباشد یعنی یک کاهش دارد و میزان HCG ۲ برابر momجامعه است ، Inhibin A نیز در آنها مانند اچ سی جی افزایش دارد و تقریبا۲/۱ برابر MOM می باشد ولی برای استرابیول غیر کنژوگه این مقدار به ۰/۷ کاهش پیدا کرده (بعضی از این آزمایش ها را سه ماهه اول و بعضی ها را در سه ماهه دوم انجام میدهند). از مجموعه ی این آزمایشات میتوان به ابنورمال یا سالم بودن جنین پی برد.

* در تریزومی ۱۸برخلاف داون B-HCG کاهش میبابد.

*اگر مایع آمنیو سنتز مورد بررسی قرار گیرد چون مملو از سلول جنین است تشخیص ۱۰۰٪ است اما تحمیل آمنیوسنتز برای تمام مادران و هزینه ی زیادی که به دنبال آن می آید لازم و مقرون به صرفه نیست, پس با در نظر گرفتن اینکه مهم ترین فاکتور موثر در ابتلای جنین به داون, سن مادر است و با رسم یک نمودار و لحاظ کردن سن مادران در آن, ابتدا تصمیم انجام آمنیوسنتز را تنها برای مادران بالای ۴۵ سال گرفتند اما به دنبال آن با حجم افزایش

یافته ی شدیدی از کودکان داونی که از نظر غربال گری Miss شده بودند رو به رو شدند, در نتیجه به فکر تصمیمی افتادند که سودمند تر و از طرفی اقتصادی باشد پس سن مادر را برای انجام آمنیوسنتز ۳۵ سال لحاظ کردند اما علاوه بر آن یک سری تست ها را برای مادران جوان تر نیز گذاشتند بدین ترتیب که تمام مادران موظفند تست های غربالگری ۳ ماهه اول به اضافه ی سونوگرافی و همچنین تست های غربالگری ۳ ماهه دوم را انجام دهند. اما در کل تمام این تصمیمات بستگی به سیاست های یک جامعه برای رسیدن به معقول ترین و اقتصادی ترین آمار برای سندرم های ژنتیکی از قبیل داون دارد .

پس: برای غربالگری سندروم داون،بررسی ۳ ماه ی اول و دوم را برای مادران در تمام سنین اجرا کردند و برخی اوقات در کنار ۳ ماهه ی اول سونوگرافی نیز انجام میشود.(در سونوگرافی با بررسی NT(شفافیت پشت گردن جنین)و با توجه به اینکه هر چقدر بیشتر باشد،ناهنجاری شدید تر است باز میتوانیم غربال خوبی را داشته باشیم)

با بررسی NT و سن مادر و آلفا-فیتوپروتیین و HCG ، ٪۸۶ نوزادان سندرم داون تشخیص داده میشوند و با حذف NT (سونوگرافی) این درصد ٪۷۳ میشود و این یعنی با وجود تمام این تست ها, screening به شکل ٪۱۰۰ نبوده و همیشه مواردی نیز وجود دارند که شرایط سونو و تست هایشان نرمال است و detect نمیشوند.(اسلاید های prenatal screening و اعداد مربوطه که در پایین گذاشته شده مهم است.)

screening modality	%0F Down syndromes cases detected
age alone	
40 years and over	15
35 and over	35
age+AFP	34
age+AFP+μE3 +hCG	61
age+AFP+μE3 +hCG+inhibin.A	75
NT alone	61
NT+age	69
hCG+AFP+age	73
hCG+AFP+age+NT	86

*__تست های ۳ ماهه ی اول__ در هفته های ۱۱-۱۳ انجام میشوند.که شامل چک کردن PAP-A و HCG و همچنین سونوگرافی می باشد .

» هدف اصلی سونو بررسی NT است که اگر به دلیل تجمع مایعات افزایش یافته باشد برای ما پیشگویی کننده ی یک سری تریزومی هاست

» معمولا سونو در هفته ی ۱۲ انجام میشود

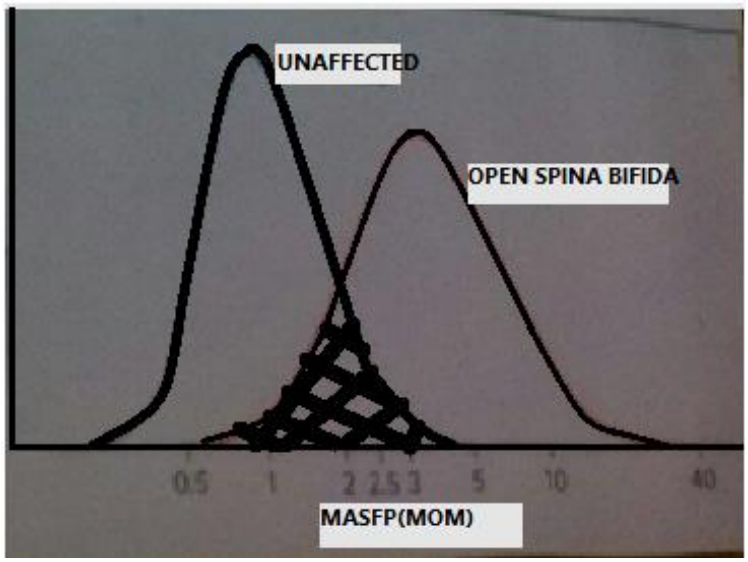
*__تست های ۳ ماهه ی دوم__،در هفته های ۱۵-۱۸ به صورت تست ۴ گانه انجام میشوند.(چک کردن آلفا-فیتوپروتیین،Inhibin-A،HCG،استرابیول غیرکنژوگه)(آلفا-فیتوپروتیین و استرابیول غیرکنژوگه در بیماران داونی کاهش و HCG و Inhibin-A افزایش میابد)

*با بررسی نتایج تست و سن مادر غربالگری صورت میگیرد .

*در NTD(Neural tube defect) ها هم آلفا-فیتوپروتیین افزایش میابد و میتوانیم با این تست که در سه ماهه دوم انجام می شود آنها را هم شناسایی کنیم .

آلفا-فیتوپروتیین شبیه آلبومین پلاسمای خون انسان بالغ میباشد و در جنین فراوان است و در صورتی که به هر دلیلی بتواند به مایع آمنیوتیک نشت پیدا کند میتواند به خون مادر انتقال پیدا کند و ما میتوانیم افزایش آن را در خون مادر detect کنیم و برای ما پیش گویی کننده ی NTD ها باشد .

در بررسی مقدار آلفا فیتوپروتیین برای افرادی که Unaffected هستند با افرادی که مثلا spina bifida داشتند و رسم گراف آن مشاهده کردند در جایی از این گراف (رنجی که در شکل پایین هاشور خورده) هم میتوانند زیر گروهی از افراد unaffected باشند و هم زیر گروهی از افراد بیمار. بنابراین تعیین این cut-off که بتوانیم مشخص کنیم بچه ای که در این رنج قرار گرفته سالم است یا بیمار بسیار مهم است. اما یکسری قرار دادهایی وجود دارد, به طور مثال میگویند اگر مقدار ۲,۵ برابر mom باشد، چون درصد افراد بیمار در آن رنج بسیار بیشتر است, Abnormalحساب میشود .



چه عواملی آلفا-فیتوپروتیین مادر را افزایش میدهند؟

یک مورد اگر جنین آنانسفال (بی سر) باشد، به دلیل اینکه ترشح این مایعات به مایع آمنیوتیک زیاد و آسان شده آلفا فیتوپروتیین به خون مادر می آید و در خون مادر بسیار زیاد میشود. که اگر این مقدار بسیار بالا باشد به طور قطع جنین درگیر یک مشکل سیستم مرکزی است.

چه عوامل کاذبی میتوانند آلفافیتوپروتئین مادر را بالا ببرند در صورتی که مشکل اصلی NTD نباشد؟

۱) افزایش سن بارداری (هفته ی بارداری) که خود مسبب بزرگ تر شدن جنین و تولید بیشتر AFP توسط آن است .

۲) اشتباه گفتن تاریخ و سن بارداری (مثلا میگوید ۸ هفته است باردار است در حالیکه در حقیقت۱۲ هفته است)

۳) دوقلو یا چندقلو بودن که در آن چند برابر AFP تولیدی داریم

۴) خونریزی جنین به هر دلیلی (تهدید به سقط)

۵) مشکلات نفروتیک جنینی

۶) مشکلات پرده ی آمنیوتیک جنین که به هر دلیلی نشت داشته باشد

یکمی برگردیم به اول جلسه :)گفتیم یک سری تست هایی داریم شامل ۱) تست های سه ماهه ی اول (first trimester) ۲) تست های سه ماهه ی دوم (secend trimester)

اما یک سری تست های دیگر هم داریم : integrated first and secend trimester (بررسی با هم سه ماهه ی اول و دوم) که خود میتواند چند نوع باشد : ۱) full integrated test ها یعنی هم NT را در نظر بگیریم هم سونو هم سرم مادر,۲) serum integrated testing : یعنی در حالتی که سونو ندهد (Without NT)و ما فقط بر اساس اطلاعاتی که از سرم مادر در سه ماهه ی اول و دوم داریم تصمیم میگیریم . ۳) step-wise sequential tests یعنی بعد از دادن تست سه ماهه ی اول اگر خیلی high risk باشد در گزارش ها نوشته میشود. اگر به نتیجه ی تست های یک خانم باردار نگاه کنیم, نتیجه به صورت درصد و کسری بیان شده, مثلا یک صدم, یا یک پنجاهم برای مثال اگر جواب بدهد ۱ به ۲۵۰یعنی بین ۲۵۰ نفری که در این جامعه احتمال ابتلا دارند شما یکی از این مجموعه هستید! هر چقدر این درصد کوچک تر شود ریسک و خطر برای خانوم باردار بیشتر میشود, اگر ریسک ۱ به ۵۰ باشد خیلی میترسیم و گفته شده اگر نتیجه ی first trimester کسی ۱ به ۵۰ بود برایش CVS انجام شود. بنابراین اگر توانایی انجام CVS را نداریم معنی ندارد مردم را در عذاب بیندازیم! (CVS یک تست آمنیوسنتز است که در آن نمونه ی پورتای کوریونی جنینی را میگیریم و سریع الانجام است و میتوانیم در آن تست هارا انجام بدهیم.)

مبحث بعدی Self Free Fatal DNA است که مدت زیادی از ابداعش نمیگذرد. خود self free DNA یعنی DNA هایی که در هسته نیستند و در خون در حال حرکت اند و آزادند(اصطلاحا Circulating DNA نامیده میشوند) سالهاست شناسایی شده اند. بعضی از اینها در حال حاضر میتوانند یک عامل پیشگویی کننده برای prostate,bladder,… cancer باشند. مثلا اگر غلظتشان خیلی بالا رود, یا یک سری SDR های خاصی را روی اینها بررسی میکنند.

در حقیقت این DNA ها حاصل ترکیدن و مرگ سلول ها و هسته هایشان است که حالا در جریان خون مشاهده میشود و حرکت میکنند. دانشمندی به نام *پروفسور لو* در این مورد سال ها تحقیق کرد و نتایجش را در سال ۱۹۹۷ منتشر کرد. او در مقاله ی خود اعلام کرد که ما Free Fatal DNA داریم یعنی DNA آزاد جنینی که از جفت عبور کرده و وارد خون مادر میشود و آنجا جریان دارد. اگر بتوانیم آن را بیرون بکشیم میتوانیم به صورت غیر تهاجمی تمام تست های screening را انجام بدهیم . (برخلاف سایر تست ها که invasive هستند)

روش های invasiveعقوبت های خودش را دارد مثلا احتمال Abortion را بالا میبرند، دردناکند، احتمال amino leakage را بالا میبرند و …

در خون مادر ۳ الی ۶ و حداکثر ۱۰ درصد Free DNA مربوط به جنین است و بقیه اش مال خود مادر است. پس خون مادر را میگیریم و سرم یا پلاسمایش را جدا میکنیم(چون با سلول های خون کاری نداریم), اگر قرار است چیزی

محلول بین پروتئین های پلاسما وجود داشته باشه این DNA ها بینشان وجود دارند و باید تکنیک هایی خیلی قوی داشته باشیم که بتواند این ۳-۶٪ DNA جنینی را از مادر جدا کنیم .

هر DNA Circulating ای خودش هیچ محافظتی ندارد چون از هسته ای که در آن مقدار بسیار زیادی پروتئین در حال محافظت از آن بوده اند جدا شده و تکه تکه شده و به جریان خون ریخته و به صورت قطعات بسیار کوتاهی هستند , مثلا Self free fetal DNA ها هم در حدود ۱۰۰ تا bs۱۴۵ هستند.

برای کار با اینها اول باید تمام DNA های آزاد را جدا کنیم،سپس از بین آنها با یک سری تکنیک ها جنینی هارا جدا کنیم. باید یک سری فاکتور تشخیصی داشته باشیم تا بگوییم تفاوت بین مادر و جنینش در چیست ، یعنی از پدر خون بگیریم و مثلا SDR های پدری که برای پترنیتی گرفته میشود را مشخص کنیم،سپس آن DNA هایی که این مارکرهای مربوط به ژنوم پدری را داشت و مارا مطمئن میکند که جنینی است را جداکرده و بعد آن هارا تست میکنیم.

در ایران هم به تازگی مجوز این کار داده شده و خون مادر را میگیرند و برای انجام این تست به کشور دیگری میفرستند, که معمولا از هفته ی ۱۲ این کار را میکنند.

این روش ۲ مزیت بزرگ دارد: ۱) Non invasive است (برای مثال آمنیوسنتز که invasive است ۱ درصد احتمال سقط دارد ۲) نسبتا زود جواب میدهد

به نظر شما شایع ترین استفاده ی free fetal DNA ها چیست؟

تعیین جنسیت برای مثال خانواده ای که ۸ دختر دارد شاید ۹ امین دختر برایش خط قرمز حساب شود (منظورشون اینه که فکر میکنن شایستگی داشتن این همه هدیه ی بزرگ و گرانقدر رو ندارن ^-^) .

البته اخلاقِ این کار زیر سوال است اما مسئولین این کار را زیر یک توجیه بسیار زیبا میبرند ! آنها میگویند که با این کار قصد غربال بیماری های ژنتیکی وابسته به جنس را دارند! البته بعضی اوقات واقعا این گونه هست, مثلا اگر در فردی به هیپرپلازی آدرنال شک کنیم, اگر خیلی سریع تر متوجه شویم که جنین او دختر است ،از هفته ی ۴-۵ کورتون تراپی انجام میشود و بچه ای سالم به دنیا می آورد اما در غیر اینصورت ابنورمالی های شدید جنین را تحدید میکنند, ولی اگر پسر باشد کورتون درمانی برایش انجام نمیدهند و در نتیجه بچه در معرض اثرات جانبی قرار نمیگیرد. یا درمورد بیماری های وابسته به کروموزوم X، مثلا در مورد دوشن, اگر جنین دختر باشد ما دیگر از دوشن نمیترسیم ولی اگر پسر باشد X اش را از مادر گرفته و 50% احتمال بیمار بودن دارد.

در بررسی Free Fatal DNA اگر به کسی گفته شود پسر است قطعا همینطور بوده چون کروموزوم Y (به طور دقیق تر SDR های مربوط به این کروموزوم) را مشاهده کرده اند. ولی اگر Y را مشاهده نکردیم نمیتوانیم با قطعیت بگوییم دختر است زیرا ممکن است در هفته ی ۱۲ هنوز Fatal DNA به اندازه کافی وارد خون مادر نشده باشد و Detection rate ما مشکل داشته است.

مانع بعدی در چند قلویی هاست. در مجموع این تکنیک، setupآن و جواب دقیق دادن کار دشواری است .

تکنیک هایی که وجود دارد:

۱-**آمنیوسنتز**: از جداره ی شکم مادر از مایع آمنیون که دور تا دور جنین است نمونه برمیدارند(با استعمال بی حسی، حدود 15 cc(۱۰ تا ۲۰ میلی لیتر) زیر نظر متخصص مربوطه و دستگاه های سونوگرافی استخراج میکنند)مهارت کسی که آمنیوسنتز میکند بسیار مهم است(bloody نباشد) و همینطور اینکه دچار آلودگی نشده باشد و استریل باشد چون باید حدود ۲ هفته سلول هایش را کشت دهیم و بعد از سلولهایش استفاده کنیم.

حدودا هفته ی ۱۶ این تست انجام میشود(optimal time) البته در هفته ی ۱۲-۱۴ هم امکان پذیر است, چون برای بعضی خانواده ها زمان بسیاار مهم است و در بعضی موارد که مثلا جواب screeningخطرناک بوده نمیتوان صبر کرد, ولی ریسک سقط در این هفته ها بسیار بالاتر ست و احتمال کاهش شدید مایع امنیوتیک هم بسیار بیشتر است(0.5 – ۱ ٪)

تا هفته ی ۲۰ در ایران،اجازه ی سقط به بعضی مشکلات مثل تریزومی ها , به صورت قانونی داده می شود اما بعد از آن مجوز قانونی ای در کار نیست! البته بعضی ها هم اصلا تست ها را انجام نمیدهند و فقط داشتن بچه برایشان مهم است و با تفکر اینکه با خودمان رشد خواهد کرد و بزرگ خواهد شد از او نگه داری میکنیم!

اگر این تست در هفته ی ۲۰-۲۲ به بعد هم انجام بشود خیلی به درد ما نمیخورد،چون باید برای ۲ هفته این نمونه را در آزمایشگاه کشت بدهیم ولی چون سلول ها پیر هستند کشت خوبی از آب در نمی آید.

ما این مایع آمنیون را سانتریفویژ میکنیم که نتیجه یک plate میشود و یک مایع رویی .

برای سنجش آلفا-فیتوپروتئین و سنجش های سرمی از مایع رویی استفاده میشود.

Plate ِ زیرش را تقریبا به مدت ۲ هفته کشت میدهیم (سلول های بزاقی جنین و سلولی هایی که ادرار کرده, سلول های پوستی جنین و ...) . بعد از کشت سلول هارا میخوانیم و کاریوتایپشان را تعیین میکنیم. قبل بررسی کاریوتایپ اول history خانواده را بررسی میکنیم تا بفهمیم باید دنبال چه باشیم، تریزومی؟نقص کروموزومی؟

تست QFPCR: با این روش میشود ۲ روزه یا ۳ روزه جواب کلی داد(البته جواب اصلی همان دو هفته ی بعد تعیین میشود) با مبلغ ۳۰۰ هزار تومن بیشتر☺

طریقه ی این روش: در این روش یکسری DNA از او استخراج میکنیم و روی DNAها یکسری مارکر های پدری مادری را بررسی میکنیم, مارکرهایی که روی کرموزوم های ۱۳،۱۸ و ۲۱ است. و وارد بررسی سلولی و جزئی کاریوتایپ نمیشویم. مثلا اگر ۳ پیک دیدیم متوجه میشویم ۳ لنگه از کروموزوم ۲۱ دیدیم .

اساس این تست ها بر اساس SDR هاست و نیاز نیست کشت دهیم و... در نتیجه بسیار کارمان سریع تر انجام می شود . البته قطعیت ندارد چون evidence های آن دقیق نیست و ما خود سلول جنین را نگرفته ایم کشت بدهیم .

تکنیک بعدی CVS است: نمونه های جفتی را از جنین میگیریم و در هفته های پایین تری هم قابل اجرا است. از طریق واژینال وارد میشوند و از پرز های کوریونی نمونه میگیرند و روی آن تست های لازم را انجام میدهند . این تکنیک optimal time اش هفته ی ۱۱-۱۲ است.خطر سقط جنین در این روش ۱-۲٪ است و از تکنیک آمینوسنتز (۰,۵ تا ۱٪) بالاتر است. (در هفته ی ۹-۱۰ هم امکان پذیر است ولی خطر اختلال حرکتی در جنین به دلیل آسیبی که میزند وجود دارد.)

از فوایدش این است که تکلیف فرد را در first trimester تعیین میکنیم یعنی در ۳ ماهه ی اول به خانواده جواب میدهیم , که سودی که دارد این است که در اوایل بارداری terminate کردن بارداری خیلی ساده تر است.

(شاید نیازی به کورتاژ هم نباشد و با medication بتوان این پروسه را انجام داد) ولی اگر طرف ۱۶یا ۲۰ هفته بشود terminate کردن بارداری خیلی سخت است و حتی ممکن است مادر مجبور شود درد زایمان را بکشد و در نهایت بچه هم نداشته باشد! تصمیم گیری در این مورد خیلی به زمان وابسته است (هرچه زودتر، بهتر)

چرا از CVS زیاد استقبال نمی شود؟

به دلیل اشتباهاتی که در آن محتمل است, زیرا احتمال موزاییسم در آن خیلی بالاست (دسته بندی های مختلف سلول های تروفوبلاست مثل سنسیشیوتروفوبلاست, سیتوتروفوبلاست, جفت و ... خیلی هایشان به دلیل تقسیمات

زیادی که داشتند کروموزوم هایشان میتواند جابه جا شود و تریزومی باشند !)و در حقیقت احتمال Miscariage در اینها بالاتر از ۱ تا ۲ درصد تخمین زده شده برایشان است...

در نتیجه معمولا آمنیوسنتز به CVS ارجح است

تکنیک بعدی کوردوسنتز؟ است یعنی نمونه ی خون جنین را تحت گایدِ سونوگرافی از بندناف جنین استخراج میکنند، بعضی اوقات شک داریم که مثلا جنین موزایسم دارد یا نه، یا فلان هنجاری را دارد یا نه ، برای به قطعیت رسیدن از این روش استفاده میکنند .

رادیو گرافی تکنیک نام آشنای بعدی است ، برای تعیین fetal skeletal abnormalities است و معمولا از هفته ۱۰ به بعد انجام می شود ولی امروزه در بسیاری از موارد با سونوگرافی جایگزین شده , سونوگرافی های دقیق و بسیار کارآیی آمده که حتی میتوانند عروق مختلف بندناف جنین را هم تعیین کنند و انجام آن بسیار راحت است بنابر این نیازی به رادیوگرافی نیست .

سونوگرافی برای کارهای مامایی زیاد انجام می شود، پلاسنتا پوزیشن را می دهد (جنین کجا قرار گرفته، چندقلو و...)و یک روش noninvasive است .

یه رابطه هایی مهم و جالب وجود دارد مثلا ۱.اگر در سونو cardiad defect (مشکلات دریچه ای) مشاهده شود ،احتمال تریزومی بودن جنین بالاست و۲. Overlapping انگشتان احتمال تریزومی ۱۸ را بالا می برد ۳.کیست هیدروما، احتمال تریزومی ۲۱،۱۸،۱۳ را بالا میبرد ۴.آترزی دئودنوم ،احتمال سندروم تونر را افزایش می دهد .

به طور کلی استاد این مطالب و روش ها را در یک اسلاید خلاصه کردن(خیلی مهمه)

prenatal ultrasonographic finding suggestive of a chromosome abnormality	
feature	chromosome abnormality
cardiac defect(specially common atrioventricular canal)	trisomy 13 18 21
clenched overlapping fingers	trisomy 18
cystic hydroma or fetal hydrops	trisomy 13 18 21
duodenal atresia	45X(turner syn.)+trisomy21
exomphalos	trisomy 13 18
rocker bottom foot	trisomy 18

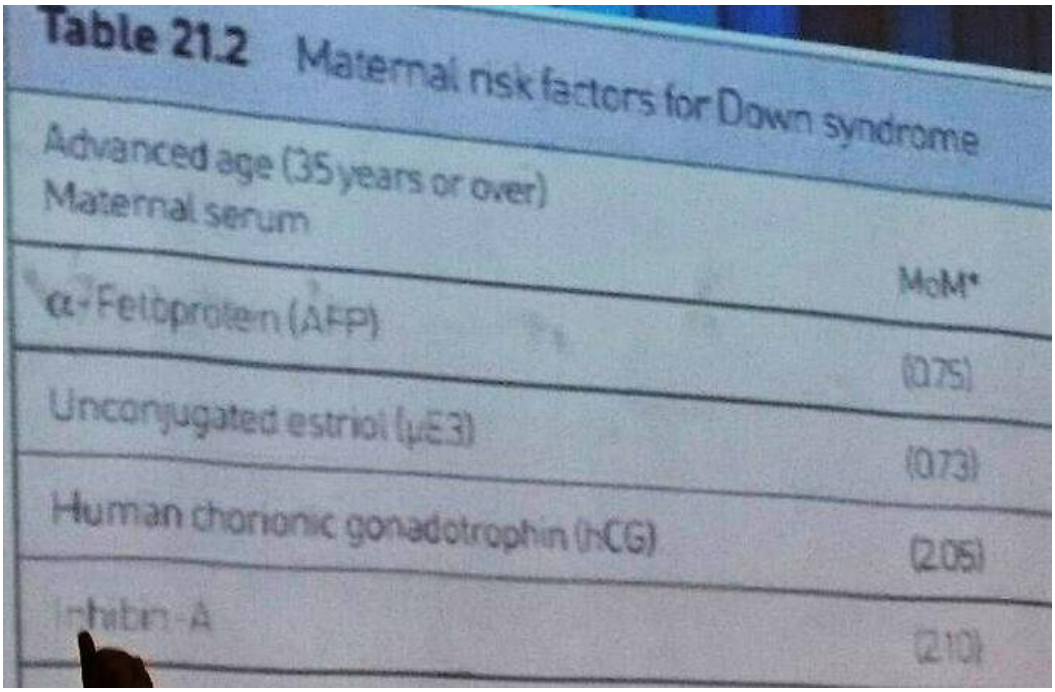


Table 21.2 Maternal risk factors for Down syndrome

Advanced age (35 years or over) Maternal serum	MoM*
α-Fetoprotein (AFP)	(0.75)
Unconjugated estriol (μE3)	(0.73)
Human chorionic gonadotrophin (hCG)	(2.05)
Inhibin-A	(2.10)

فِتوسکوپی: شامل بررسی نمونه ی خون جنین ویا مثلا پوست جنین یا کبد جنین و ...

تشخیص اپیدرمال بلوزا (EB)، قطعا توسط بررسی نمونه ی پوستی حاصل میشود (البته اگر قبل از آن mutation detection را انجام داده باشیم)

*مشکلات اصلی ای که در تشخیص وجود دارد چیست؟

مثلا در آمنیوسنتز مشکل اول این است که سلول ها خوب کشت پیدا نکنند، نمونه خوب نباشد، به انواع آلودگی ها آلوده باشد، در نتیجه از مادر تکرار آزمایش درخواست می شود به همین دلیل قبل از اینکه آزمایش بگیرند از مادر یک امضا میگیرند که فلان درصد احتمال fail شدن نمونه وجود دارد مثلا نمونه bloody باشد یا به هر دلیلی سلول ها کشت پیدا نکنند یا ممکن است خطا های آزمایشگاهی هم در تکرار آزمایش دخیل باشند(مثلا نمونه به درستی در فشار مناسب قرار گرفته نباشد) یا ممکن است به طور کلی سن طرف پایین باشد و تعداد سلول ها کم باشد(تکثیر خوب نباشد) یا بطور کلی حجم نمونه کم باشدو بنابراین نیاز است که دوباره نمونه گیری شود . کسانی که آمنیوسنتز میدهد هم اگر بتوانند چند ساعت در محل گرفتن آزمایش بمانند یا با وسیله ی نقلیه ای برگردند که زیاد تکان نداشته باشد مشکلی پیش نمی آید اما در غیر اینصورت ممکن است از محل گرفتن مایع و سوراخ شدن پرده , مایع leak کند و الیگوهیدروآمینوس برای فرد رخ دهد .

لازم به ذکر است که انجام این آزمایش حدود یک درصد احتمال abortion (سقط جنین) دارد(در حد ناچیز).

پس به هر دلیلی ممکن است کشتمان failشود یا نمونه (sample) ما از دست برود؛ممکن است نمونه ambiguity داشته باشد مثلا نمونه ی CVS را آوردند و میبینند که دو رده ی سلولی وجود دارد(یک سری xx و یکی xy) که این حالت نشان دهنده ی موزائیسم است ولی احتمال آلودگی هم وجود دارد(Contamination to maternal sample) مثلا xx مال مادر و xy مال جنین باشد و در این صورت جنین سالم است و موزائیسم ندارد.دومین احتمال این است که در تقسیمات آزمایشگاهی یکی از کروموزوم های خود را از دست میدهد در نتیجه دو رده ی سلولی میبینیم, یک رده مثلا تریزومی ۲۱ دارد و یک رده مونوزومی ۲۱! (مشکلات در کشت) و برای حل این مشکل نمونه را دو تا سه بار کشت مختلف میدهیم و از هر کشت نمونه برمیداریم و روی آن انجام میدهیم .

این که موزاییسم در چه مرحله ای باشد در درصد درست بودن تشخیص موزاییسم موثر است:

۱-سطح ۱ --> تنها در یکی از culture ها در یک سلول موزاییسم ببینیم. (: موزاییسم کاذب)

۲-سطح ۲ --> تنها در یکی از culture ها در چند سلول موزاییسم ببینیم.

۳-سطح ۳ --> در دو یا بیشتر از culture ها در چند سلول موزاییسم ببینیم که در این صورت میگوییم به احتمال زیاد جنین موزاییسم دارد .

احتمال بعدیِ limitation (سوم) ای که وجود دارد این است که به هر دلیل ممکن است از قسمتی از placenta (جفت) نمونه گیری کرده باشیم که به طور کلی احتمال موزاییسم در آن ناحیه بالا باشد .

در نتیجه کلی میتوان گفت تصمیم گیری در مورد صحت آزمایش کار بسیار سختی است و حتی اگر هم واقعا موزاییسم داشته باشد نمیدانیم بچه چقدر فنوتیپ نرمال دارد یا در چه مرحله ای از موزاییسم است و اصلا ممکن است موزاییسم در مرحله ی خیلی پایانی ای رخ داده باشد و جنین اصلا abnormality نداشته باشد و بتوانیم او را سالم تلقی کنیم .

در Abnormality های مربوط به تعداد کروموزوم های جنسی مثل کلاین فلتر و ترنر, ممکن است فرد فقط قدش بلند باشد و خیلی از ویژگی هایش طبیعی باشد و با اینکه بعدا هم دچار مشکل نازایی میشود اما این فرد میتواند تحصیلاتش را ادامه دهد و زندگی کند (خیلی از آنها قبل از مراجعه به دلیل نازایی حتی مشکلشان را نمیشناسند) و تصمیم دستور سقط جنین برای آنها واقعا سخت است, چون از طرف دیگر عده ای از آنها هم مشکل مغزی دارند .

* در مورد سندرون داون مشکلات مغزی قطعی وجود دارد که دستور سقط را میدهند.

ممکن است جنین مشکلات rearrangement ساختاری کروموزوم داشته باشند. مثلا تکه ای از کروموزوم ۳ و پنج جابجا شده باشد که بسته به این دارد که محتوای ژن به هم خورده باشد یا نه میتواند دارای abnormality است

یا خیر, کاملا سالم باشد . برای متوجه شدن این موضوع بهتر است پدر و مادر آزمایش کاریوتایپ بدهند ، ممکن است آن ها هم این نقص ظاهری کروموزومی را داشته باشند و آن را عینا به فرزند خود به ارث داده باشند و خود در عین حال سالم باشند, پس احتمالا جنین هم مشکلی نخواهد داشت .

*به طور کلی در هنگام میوز زمانی که کروموزوم ها میخواهند از هم جدا شوند کروموزوم های ۳ می آیند کنارهم ۵ هم کنارهم, اما ۵ متوجه می شود (!) جفتش روی کروموزوم ۳ است و باید برود کنار کروموزوم۳ یعنی یک جور پیچ خوردگی به وجود می آید و احتمال ایجاد یک سری rearrangement های دیگری هم در اینها وجود دارد(البته نه الزاما) و به پدر و مادر میگوییم احتمالا بچه هم مثل خودتان است اما کمی هم احتمال دیدن abnormality وجود دارد .

ولی اگر این مورد یک مورد Denovo باشد (در پدر مادر وجود نداشته باشد ولی در فرزند باشد) که احتمال ۵ تا ۱۰ درصد آنومالی دارد.

چیز دیگر وجود کروموزوم های marker است(یک تکه کوچکی از DNA به صورت رینگ از کروموزوم های دیگر وجود داشته) باشد. که در این صورت آزمایش فنوتیپ پدر و مادر میدهند و اگر نوزاد denovo باشد ۱۵ درصد احتمال آنومالی وجود دارد.(تشخیص مشکلات ژنتیکی جنینی)

PGD :

تست های تشخیصی است که برای جنین قبل از تشکیلش انجام میشود که جزو یکی از روش های IVF است (برای درمان نازایی). مشابه IVF به مادر دارو های مختلف میدهند و اووسیت های مختلف را جدا می کنند و با لقاح با اسپرم ها و رسیدن به مرحله ی بلاستومر (۸ سلولی), یک سلول را جدا میکنند واختلالات را (مثل تالاسمی) تشخیص میدهند. در بعضی خانواده ها مادر نمی خواهد باردار شود تا بعد مثلا اگر متوجه شد بچه تالاسمی دارد آن را سقط کند و خواستار این است که مطمئن باشد بچه سالم است , بعد بارداری شروع شود . یا خانواده هایی که سقط های مکرر داشته اند سالم بودن جنین برای آنها از هر نظر واقعا اهمیت دارد .

لازم به ذکر است که در این پروسه دو تا سه جنین تولید میکنند (در IVF) و وارد بدن مادر میکنند،چرا این تعداد؟ چون احتمال موفقیت این سیکل ۲۰ تا ۳۰ درصد است(تا مطمئن باشند) حداقل یک جنینی به درستی لانه گزینی انجام میدهد .

این عمل با استرس زیادی از طرف ژنتیک دان همراه میباشد چرا که تنها با یک سلول درگیر است(حجم کم نمونه و در صورت failشدن دیگر نمونه ای در دست نیست) و میبایست از همان یک سلول انواع تست های تشخیصی که از قبل آنها را مشخص کرده ایم, مثلا برای وجود سندروم های مارفان و تالاسمی, استفاده کنند و مطمئن شوند که سلول سالم است و سپس وارد بدن مادر کنند،همین دلیل است که فرزند تولید شده طی این روش صد در صد سالم خواهد بود.

نکته ی دیگری که وجود دارد این است که در رابطه با PGD میتوان از این روش در جهت تولد فرزندانی استفاده کرد که شباهت بیشتری با فرزندان دیگر خانواده دارند که به هر دلیلی دچار مشکلات از قبیل تالاسمی ماژور و ... میباشند تا بتوان از فرزندان تازه متولد شده جهت انجام پیوند و درمان فرزند دیگر استفاده کرد . (به کدامین اجازه؟ :((بچهه مگه انسان نیست؟!)

نکته ی دیگری که وجود دارد این است که میتوان تست های تشخیصی ژنتیکی را روی گویچه های قطبی انجام داد و از اووسیت ها استفاده نکرد چرا که ممکن است با دستکاری تخمک موجب ایجاد ناهنجاری هایی در فرزندان شویم.

Micro manipulation (دستکاری های کوچک ژنتیکی) :

در این روش میتوان از بروز بیماری های ژنتیکی منتقله از میتوکندری در فرزندان جلوگیری کرد.لازم به ذکر است که میتوکندری های موجود در سلول تخم اغلب از طرف مادر است چرا که میتوکندری های اسپرم در گردن آن قرار داشته و اغلب وارد اووسیست نمیشود .

*بنابراین میتوکندری ها یک توارث maternal یا مادری دارند

اگر مادر بیماری میتوکندریایی داشته باشد و بخواهیم از توارث آن به فرزند جلوگیری کنیم میتوانیم از این روش استفاده کنیم, در این دستکاری به این شکل عمل میکنیم که سلول تخم را پس از لقاح مورد دستکاری قرار داده و هسته ی آن را از سیتوپلاسم جدا کنیم و سپس وارد تخمک فرد donor (دهنده) میکنیم که هسته ی آن خارج شده است و به این شکل از بروز بیماری جلوگیری خواهیم کرد چرا که میتوکندری مادر منتقل نخواهد شد . (در این روش بانک donor داریم)

در رابطه با روش IVF در حالاتی اهمیت پیدا میکند که به هر دلیل پدر دچار آزواسپرمی یا الیگواسپرمی میباشد. در این حالت است که میبایست حتما اسپرم را در محیط آزمایشگاهی وارد تخمک کنیم.

نکته ی دیگری که وجود دارد در رابطه مشکلات ژنتیکی ای است که ممکن است از طریق بانک اسپرمی یا تخمکی وارد سلول تخم شود.

به عنوان مثال در هلند، فرزندانی که توسط اسپرم های یک فرد متولد شده بودند دچار بیماری اتوزومال غالب شدند(که در سنین بالا بروز میکند) با توجه به این تحربه به این نتیجه رسیدند که میبایست از اسپرم ها یا تخمک های یک فرد بیش از ده بار مصرف نشود و همین طور سن فرد دهنده زیر ۴۰ سال باشد.

نکته ی دیگری که در رابطه با روش های IVF مطرح است که آیا لازم است پدر ژنتیکی فرزند به خود فرزند گفته شود یا نه, که بسته به قوانین آن کشور دارد.

لازم به ذکر است که هنگامی که میخاهیم ۲ تا ۳ سلول را از ۸ سلول بلاستومری جدا کنیم ممکن است به نحوی موجب آسیب سلولی به بقیه ی سلول ها شود و احتمال بروز سندروم های ناشی از اپی ژنتیک مثل آنجلمن و Beckwith-wiedemann syndrome را مطرح میکند که در این حالت نسخه ی پدری به ارث رسیده حتما باید هیپومتیله باشد یا نسخه ی مادری حتما باید هایپرمتیله باشد یعنی **الگوی متیلاسیون** در اینها میتواند متفاوت شود و ایجاد یکسری بیماری های وابسته به الگوی متلاسیون را بکند و بیماری در آنها شایع تر شود, دیده شده.

این بیماری ها در بچه های مورد آزمایش بیشتر دیده شده اما امروزه میگویند IVF کاملا Safe است و میتوانید آن را انجام دهید .

پس در این سندرم ها ژنتیک فرد درگیر نیست بلکه چیزی ماورای ژنتیک دچار اختلال است. اگر ژنی متیله شود بیان آن کم و در غیر اینصورت بیان ژن زیاد می شود و در این سندرم ها هم در متیلاسیون یا استیلاسیون اختلالی ایجاد شده است, که در روش های IVF معمولا هایپر متیلاسیون رخ میدهد.(به طور کلی متیلاسیون بیان ژن را کم میکند) اما از آنجایی که موارد مشاهده شده از تولد فرزندان دچار سندروم های مشابه فوق کم بوده هنوز که هنوزه این روش رایج بوده و safe محسوب میشود.

*منبع استاد جزوه است گویی :)

موفق باشید بسی :)

از چه دلتنگ شدی؟!

#دلخوشی_ها کم نیست ... ^^

#سهراب :)

ویراستار: مارال محمدی :)

ژنتیک

جلسه سیزدهم ۱۳۹۵/۱۰/۱۹

مدرس: **خانم دکتر غفوری‌فرد**

گروه ۱۹: شقایق صادقی ، فرزانه طاهری
محدثه غفوری ، بتول شمس

بیماری های تک ژنی، علائم شایع آنها و روش های تشخیص‌شان

به طور کلی ما بیش از ۱۰۰۰۰ بیماری تک ژنی را می شناسیم یعنی غیر از بیماری های مولتی فاکتوریالی که ژنتیک هم در آن نقش دارد ولی تک ژنی نیستند، بیش از ۱۰۰۰۰ بیماری انسانی شناخته شده که ژن مرتبط به آن کاملا مشخص شده است. یعنی از الگوی توارث مندلی پیروی می کند. بیماری های ژنتیکی تک ژنی ما بسیار نادر هستند ولی مجموع اینها در کل یک تا دو درصد جمعیت انسانی را گرفتار می کند و بار مهمی را بر سلامت جامعه وارد می کند.

نکته ی داخل پرانتز: گاهی دیده اید که افراد برای ازدواج های فامیلی به مشاوره ی ژنتیک مراجعه می کنند. ابتدا یک تست ژنتیک منفرد که اغلب یک کاریوتایپ است، گرفته می شود و بعد اعلام میکنند که بررسی ژنتیکی انجام گرفته و مشکلی برای ازدواج وجود دارد یا خیر. شما در نظر داشته باشید که با وجود ۱۰۰۰۰ بیماری تک ژنی بررسی دقیق تمام بیماری ها (البته امروزه با انجام یک سری تکنیک های خاص مثل next generation sequencing این امر ممکن است) با یک تست کاریوتایپ نمی توان بیماری های تک ژنی را تشخیص داد. حتی اگر وضعیت ناقل بودن را برای چند بیماری تک ژنی شایع هم بررسی شود عملا در مشاوره ی ژنتیک کاری برای فرد انجام نگرفته است.

بنابراین شما به عنوان پزشکان آینده باید از این واقعیت مطلع باشید و بدانید که بیماری های تک ژنی ما بسیار زیادند. تکنیک های جدیدی وجود دارد که بتوان کل ژنوم را تعیین توالی کرد اما بررسی تک تک بیماری ها معمولا در مشاوره ژنتیک به تنهایی کاربردی ندارد مگر اینکه در خانواده یک سرنخی به نفع یک بیماری خاص وجود داشته باشد.

بیماری هانتینگتون

بیماری هانتینگتون یک اختلال ژنتیکی است که معمولا **سلول ها عصبی** را درگیر می کند؛ به شکل پیش رونده منجر به از دست رفتن و مرگ سلول های عصبی می شود. بنابراین **تظاهرات عصبی پیش** رونده دارد. و علائمش معمولا در سنین بالای ۳۰ سال بروز می کند. از نظر شیوع جهانی ۱ به ۱۰۰۰۰ است. جز بیماری هایی است که ما در کلینیک های ژنتیک با آن مواجه می شویم. شما هم ممکن است بعدا با این بیماری در بخش های نورولوژی مواجه شوید. جزء بیماری های خیلی نادر نیست که اصلا با آن تماس نداشته باشیم. شروعش همانطور که گفته شد بین سنین ۳۰ تا ۵۰ سالگی است. ولی تقریبا در هر سنی می تواند بروز پیدا کند؛ حتی یک نوع خیلی زودرس دارد،نوع **juvenile** ،نوعی نادر است که تظاهرات آن **زیر ۲۰ سالگی** بروز پیدا می کند. به طور کلی جزء movement disorder ها طبقه بندی می شود. یعنی اختلال حرکتی در افراد دیده می شود. این اختلال حرکتی همانطور که گفته شد به مرور پیشرفت می کند و همراه با اختلالات intellectual است. یعنی سطح شناختی فرد هم کاهش می یابد. این کاهش انقدر پیش رونده است که حتی می تواند به dementia منجر شود، یعنی زوال عقل اتفاق می افتد. معمولا از زمانی که علائم شروع می شود، حدود ۱۵ تا ۲۰ سال این سیر progressive ادامه می یابد تا سرانجام مرگ اتفاق می افتد. در این بیماری مهمترین اختلال حرکتی که می بینید **کره** است. کره یک **حرکت غیرارادی** است که **شبیه رقص** است. در واقع حرکت اندام ها به گونه ای است که الگویی شبیه به رقص دارد. به همین دلیل به این بیماری کره ی هانتینگتون یا داع الرقص(در تکست های قدیمی) می گویند.(داع:بیماری)

غیر از کره که در این بیماران ها دیده می شود، انواع اختلالات حرکتی دیگر هم دارند. ممکن است تیک هایی در صورت دیده شود و بیمار حرکات غیر طبیعی عضلات صورت را داشته باشد. ممکن است حرکات غیرطبیعی در اندام ها داشته باشند؛ مثلا اندام ها حالت قیچی مانند پیدا کنند(موقع حرکت کردن به صورت ضربدری روی هم قرار بگیرند.) همینطور که بیماری پیش می رود، اختلال حرکتی gate هم در آنها دیده می شود، یعنی قدم برداشتن و راه رفتن و صحبت کردن فرد هم دچار مشکل می شود و تکلم دیگر نامفهوم می شود. اوایل بیماری کاهش در تمرکز و حافظه داریم ولی به مرور این اختلالات شناختی پیشرفت می کند و منجر به زوال عقل می شود. علائم اضطرابی ،panic ، بی قراری، depression و سایر انواع اختلالات شناختی هم در این بیماران دیده می شود.

Juvenile HD

گفتیم که یک فرم نادری از این بیماری وجود دارد که شروع علائمش خیلی زودرس است. گفتیم که به شکل تیپیک شروع علائم هانتینگتون بین ۳۰ تا ۵۰ سالگی است. اما علائم فرم نادرjuvenile که ۵٪ موارد هانتینگتون را شامل می شود، قبل از سن ۲۰ سالگی بروز می کند و شکل شایع اختلال حرکتی این ها **کره نیست** بلکه **سفت شدن اندم ها** یا **rigidity** است. با سفت شدن اندام ها حرکت ارادی این بیماران آهسته می شود. یعنی از زمانی که تصمیم می گیرند که یک حرکت ارادی مثلا برداشتن شیئی از روی میز را انجام دهند، تا انجام دادن کامل آن زمان زیادی طول می کشد. در این بیماران هم به شکل پیش رونده منجر به اختلالات شناختی می شود.

نکته ی دیگری که در مورد juvenile HD وجو دارد، **همراهی با صرع** است. یعنی این بیماران ممکن است حملات صرع هم داشته باشند. معمولا هم در طی ۱۰-۱۵ سال منجر به مرگ بیمار می شود.

از لحاظ ژنتیکی کره ی هانتینگتون، بیماری ای است که به شکل **autosomal dominant** به ارث می رسد. در بیماری های اتوزوم غالب شروع بیماری می تواند در **سنین متفاوتی** باشد. در کره ی هانتینگتون هم همینگونه است. گفته شد که شروع بیماری بین ۳۰ تا ۵۰ سالگی است. اما ویژگی ای که دارد این است که معمولا نفوذ کامل دارد. (ما در بعضی بیماری های اتوزوم غالب میبینیم که فرد ممکن است آلل معیوب را داشته باشد اما تا آخر عمر هم تظاهرات بیماری را نشان ندهد؛ که به آن کاهش نفوذ می گوییم.) اما بیماری هانتینگتون معمولا **نفوذ کامل** دارد. یعنی هرکس که آلل معیوب را دارد، سرانجام علائم بیماری را نشان خواهد داد. میزان جهش های جدید هم در این بیماری کم است. بیماری هایی داریم(چه اتوزوم، چه وابسته به جنس) که جهش جدید در آن با میزان بالایی رخ می دهد؛ اما در کره ی این هانتینگتون ما این مسئله را خیلی کم داریم.

مسئله ی دیگری که در کره ی هانتینگتون وجو دارد **پدیده ی anticipation** است. پدیده ی anticipation یعنی در طی نسل های متمادی در یک خانواده، علائم بیماری تشدید می یابد و سن شروع بیماری کمتر خواهد شد. این پدیده را معمولا در بیماری هایی که ناشی از تکرار های ۳ تایی است، می بینیم. چون این تکرارهای ۳تایی در طی میوز ناپایدار است. هر میوزی که اتفاق می افتد طول این تکرارها معمولا افزایش می یابد. **طول تکرارها** هم با **علائم و سن شروع** بیماری مرتبط است. یعنی هرچقدر طول تکرار ها بیشتر باشد، بیماری شکل شدیدتر و زودرس تری خواهد داشت. در کره ی هانتینگتون هم این پدیده ی anticipation را می بینیم. اماچیزی که در مورد این بیماری دیده شده این است که این پدیده بیشتر در مواردی است که آلل معیوب از **پدر** به ارث می رسد. یعنی در طی **گامتوژنز جنس مذکر**، طول تکرارها افزایش پیدا می کند. بنابراین در پدری که مبتلا به هانتینگتون است هرکدوم از فرزندانش به احتمال ۵۰٪ آلل معیوب را گرفته اند. اگر آل معیوب را گرفته باشند،

احتمالا سن شروع بیماری در این فرزندان زودتر از پدرشان خواهد بود. یعنی اگر پدرشان ۴۰سالگی این علائم را نشان داده است، فرزندانش در سن ۳۰ سالگی علائم را بروز دهند.

ژنتیک هانتینگتون

در سال ۱۹۸۳ با مطالعات لینکژ، متوجه شدند که ژن مرتبط با بیماری هانتینگتون، بر روی **کروموزوم ۴** قرار دارد. در این ژن توالی های **CAG** که **کدکننده ی گلوتامین** هستند، وجو دارد. و یک تکرارهایی از CAG در ناحیه ی $5'$ این ژن وجود دارد که بعدا توضیح می دهیم که یک طول طبیعی ای وجود دارد که می تواند این تکرارها افزایش پیدا کند و وقتی افزایش پیدا می کند با عملکرد پروتئین کدشونده توسط این ژن، تداخل دارد. روتئینی که توسط این ین کد می شود، را **پروتئین هانتینگتین** نامیده اند. این پروتئین به شکل خیلی غالب در **سیستم عصبی مرکزی** بیان می شود. یعنی سطح بیانش در سلول های سیستم عصبی مرکزی خیلی بالاست. ینابریان بدیهی است که اگر اختلالی در عملکرد طبیعی این پروتئین اتفاق بیفتد، مهمترین علائمش را در سیستم عصبی مرکزی شاهد خواهیم بود. گفتیم که در ناحیه ی $5'$ این ژن، تعدادی تکرار های CAG وجود دارد. در افراد نرمال تعداد این تکرارها **کمتر از ۲۶** تا است. یعنی تا ۲۶ تکرار را به عنوان یک آلل نرمال تلقی می کنیم. از تعدا **۲۷ تا ۳۵** تکرار اگه وجود داشته باشد به آن آللmutable می گویند. خود این فرد سالم است اما در گامتوژنزش ممکن است طول این تکرارها افزایش یابد و می تواند فرزند مبتلا داشته باشد، بنابراین اگر شما یک بیمار هانتینگتون دیدید که پدر و مادرش ظاهرا سالم بودند، احتمالا یکی از والدین آلل mutable داشته اند یعنی طول تکرار در خود فرد در حد بیماری زا نبوده اما در واقع در طی میوز والدین افزایش تعداد پیدا کرده بنابراین فرزند آنها مبتلا شده است. گفتیم که این افزایش تعدادها معمولا در طی **میوز پدری** رخ می دهد. احتمالا پدر حامل آللی بوده که طول تکرارهایش بین ۲۷ -۳۵ تا بوده است. به تکرارهای بین **۳۶ تا ۳۹** میگوییم آلل هایی که penetrance کاهش یافته دارند. در این حالت یا فرد مبتلا به نوع **خیلی دیررس بیماری** می شود(مثلا در سن ۶۰-۷۰ سالگی علائم آغاز می شود.) یا اینکه ممکن است به یک دلیلی اصلا قبل از این سن(بدون ارتباط با بیماری) از بین برود بنابراین علائم بیماری هرگز بروز نیابد. بنابراین یا به شکل non penetrance یا اینکه بیماری late onset ایجاد می شود. اما وقتی که تکرارها **۴۰یا بیشتر** باشد حتما بیماری ایجاد میشود.حتی اگر در دهه ی هفتم زندگی فرد اتفاق بیفتد. گفتیم که هرچقدر طول تکرار بیشتر باشد، سن شروع بیماری کمتر است. برای مثال اگر طول تکرار ۵۰ تا باشد، سن متوسط شروع بیماری معمولا ۲۶سالگی است؛ در حالیکه با طول تکرار ۴۰ ، سن متوسط شروع بیماری ۵۷ است. بنابراین فرم juvenile که راجع به آن صحبت کردیم و گفتیم آغاز علائمش زیر ۲۰ سالگی است، حتما طول تکرارهای خیلی طولانی دارند. گفته می شود که طول تکرارهای بیش از ۵۵ تاست که می توانند فرم juvenile را ایجاد کند.

ریسک ابتلای فرزندان

اگر هرکدام از پدر یا مادر مبتلا به این بیماری باشند، هر کدام از فرزندان شانس ۵۰٪ برای ابتلا به بیماری دارند. اما گفتیم instability در طی **میوز پدری** بیشتر است. بنابراین اگر یکی از والدین آللmutable داشته باشند، به خصوص اگر پدر این حالت را داشته باشد، علی رغم اینکه ممکن است سالم باشد، احتمال اینکه فرزندش مبتلا باشد، وجود دارد. اما چرا این پدیده instability و anticipation رخ میدهد؟ گفتیم که anticipation در رابطه با بیماری هانتینگتون، وقتی آلل معیوب از طریق پدر به ارث برسد، دیده می شود ولی اگر از مادر به ارث برسد معمولا پدیده ی anticipation را نداریم. (البته در این بیماری است که anticipation در انتقال پدری اتفاق می افتد؛ همیشه این گونه نیست. در بعضی بیماری ها این پدیده در انتقال مادری اتفاق می افتد. دربیماری های مختلف pattern متفاوت است.)یک سری مکانیزم ها برای توضیح داده اند. توجیهی که برای پدیده ی anticipation فقط در انتقال پدری، ارائه کرده اند این است که پروتئین هانتیگتین در اووسیت ها هم بیان می شود؛ بنابراین اگر طول تکرارها در اووسیت ها از یک حدی بیشتر شود، ممکن است با function آن اووسیت تداخل ایجاد کند و آن اووسیت از بین برود. پس در نسل بعدی اصلا شرکت نکند. ولی در رابطه با اسپرم ها این اتفاق نمی افتد و هر چقد طول تکرارها افزایش یابد، آن اسپرم می توان زنده باشد و در به وجود آوردن نسل بعدی سهیم باشد.

خلاصه

هانتیگتون یک بیماری است که ناشی از افزایش تکرارهای CAG که در ناحیه ی ′5 ژن هانتیگتین است. پروتئین کدشونده توسط این ژن در سیستم عصبی مرکزی بیان بالا دارد. پس وقتی که طول تکرار ها افزایش می یابد و function پروتئین مختل می شود، بیشترین علائم را در سیستم عصبی مرکزی می بینید. علائم هم می تواند اختلالات حرکتی و هم dementia (اختلالات شناختی) باشد.

بیماری میوتونیک دیستروفی

یک **اختلال عضلانی** است که هم ساختار عضلات دچار مشکل شده(یعنی یک دیستروفی عضلانی) و هم یک علامتی به نام **علامت میوتونی** داریم که در اسلاید های بعدی در مورد آن صحبت خواهیم کرد.

الگوی این بیماری autosomal dominant است و پدیده **anticipation**را هم در آن می بینیم یعنی در طی نسل های متوالی این علایم می تواند تشدید شود و سن بروز علایم هم کاهش پیدا کند، اما برعکس بیماری هانتینگتون که گفتیم که وقتی آلل معیوب از طریق پدر منتقل شود ما افزایش طول تکرار ها را داریم در بیماری میوتونیک دیستروفی وقتی از طریق **مادر** منتقل شود ما افزایش طول تکرارها و anticipation را داریم بنابراین این بیماری یک فرم زودرسی دارد که در نوزادی علائمش ایحاد میشود و تنها در مواردی دیده می شود که آلل معیوب از مادر منتقل شود.

مقایسه بیماری هانتینگتون و دیستروفی میوتونیک

هردو بیماری الگوی autosomal dominant دارند، اما ژن مرتبط با این ها هرکدام روی یک کروموزوم خاص قرار دارد. در هانتینگتون روی کروموزوم **۴** هست و در میوتونیک دیستروفی روی کروموزوم **۱۹** قرار دارد. هردو بیماری ناشی از افزایش تکرارهای سه تایی هستند. در بیماری هانتیگتون گفتیم افزایش تکرار های سه تایی **CAG** در ناحیه ′۵ ژن هانتینگتین باعث ایجاد بیماری ایجاد میشود(در مورد سایز تکرار ها قبلا گفته شد) اما در رابطه با دیستروفی میوتونیک افزایش تکرارهای **CTG** در ناحیه ′۳ UTR ژن DMPK باعث ایجاد بیماری می شود، طول تکرار های نرمال زیر ۳۷ عدد هست و **full mutation** بین ۵۰ تا ۲۰۰۰ و یا حتی بیشتر از ۲۰۰۰ می باشد(در افراد بیمار از ۵۰ تا ۲۰۰۰ و یا بیشتر تکرار داریم) و این مطلب را هم گفتیم هرچه تعداد تکرار ها افزایش پیدا کند، علایم در سن کمتری ایجاد می شود.

ژن مرتبط با بیماری میوتونیک دیستروفی مربوط به یک **پروتئین کیناز** است به نام DMPk (پروتئین کینازی که مرتبط با دیستروفی میوتونیک است)

همان طور که در رابطه با بیماری هانتینگتون گفتیم که یک نوعjuvenile دارد که علائم آن زودرس هست، بیماری دیستروفی میوتونیک هم یک فرم congenital دارد که یعنی نوزاد در بدو تولد علائم را دارد و در واقع نوع زودرس بیماری است. در میوتونیک دیستروفیا anticipation را در موارد انتقال از مادر می بینیم در صورتی که در بیماری هانتینگتون anticipation را در موارد انتقال از پدر می بینیم.

بیماری دیستروفی میوتونیک، بیماری ای هست که در واقع علائم آن در دوران **بزرگسالی** ، همراه با **ضعف پیش رونده عضلات** و **علامت میوتونی** اتفاق می افتد.

علامت میوتونی چیست؟ اختلال در relaxation عضله است. وقتی شما تصمیم میگیرید یک حرکتی را انجام دهید، یک انقباضی در عضلاتتان اتفاق می افتد که بعد از آن عضله باید ریلکس شود. در میوتونی، ریلکسیشن عضله با کندی صورت می گیرد مثلا بیمار با فردی دست می دهد ولی در فرایند ول کردن دست کند هست. یعنی از موقعی که اراده می کنند دست خود را ول کنند طول می کشد تا این عمل را انجام دهند.(استاد ذکر می کنند که هایپوتونی با میوتونی متفاوت است.)

شما ضعف عضلانی را در خیلی از بیماری های عصبی عضلانی می بینید، ویژگی خاص دیستروفی میوتونیک **،علامت میوتونی** هست که اختلال درروند ریلکسیشن عضلات است.

غیر از این علائم عضلانی، بیماران در ارگان های مختلف می توانند علائم داشته باشند از جمله:

- آب مروارید یا کاتاراکت
- اختلالات خواب
- اختلالات GI(gasterointestinal)
- اختلال عضلانی در عضلات اسفنکتری هم ممکن است دیده شود
- طاسی ناحیه فرونتال: البته در مردان به صورت طبیعی در اثر هورومون های آندروژن اتفاق می افتد. یعنی pattern طاسی مردانه این است که از ناحیه فرونتال شروع شود . این مدل طاسی را طاسی مردانه هم می گویند و به طور طبیعی از دوران بلوغ موهای ناحیه فرونتال مردان شروع به کم شدن می کند. در بیماران دیستروفی، طاسی فرونتال یا **frontal balding** اتفاق می افتد.

گفتیم که سن شروع بیماری می تواند متغیر باشد، ولی معمولا با طول تکرار ها رابطه دارد و هرچه طول تکرارها افزایش پیدا کند، بیماری زودتر ایجاد می شود. همچنین گفتیم نوع congenital داریم یعنی نوزاد مبتلا در همان بدو تولد علائمی را دارد و دچار هایپوتونی(!) یا شلی عضلانی هست و اختلالات تنفسی هم ممکن است داشته باشد که می تواند منجر به مرگ شود.

هرجا شما ضعف عضلانی دارید می تواند منجر به اختلال عضلات تنفسی هم بشود و مرگ ایجاد کند.

در نوع congenital نوزاد مبتلا در صورتش expression ندارد.(چون expression صورت در اثر انقباض عضلات صورت است) و هم چنین می تواند اختلالات یادگیری هم داشته باشد.

استاد در اسلاید یک مادر و فرزند مبتلا به دیستروفی میوتونیک را نشان داده و ذکر می کنند احتمالا این مادر خودش در دوران بزرگسالی مبتلا شده ولی فرزندش مبتلا به نوعcongenital می باشد. اسلاید گویای این مسئله است که شما در صورت مادر expression می بینید ولی در صورت فرزندشexpression قابل مشاهده نیست.

به خاطر داشته باشید که در دستروفی میوتونیک ناپایداری ژنتیکی یا ناپایداری در طی میوز در رده ی گامتوژنز مادری بیشتر اتفاق می افتد. برخلاف بیماری هانتینگتون که در گامتوژنز پدری اتفاق می افتد(تکرار مکررات).

در واقع توجیه این مسئله در دیستروفی میوتونیک این گونه است که: احتمالا وقتی که طول تکرارها زیاد می شود، اسپرم دیگر viable نیست و در واقع اسپرم نمی تواند طول تکرار های زیاد راتحمل کند، بنابراین اسپرم از بین می رود ولی تخمک طول تکرار های خیلی زیاد را هم می تواند تحمل کند. یعنی ممکن است که instability هم در رده ی پدری اتفاق بیفتد و هم در رده ی مادری، ولی اسپرم هایی که طول تکرار زیاد دارند از بین می روند ولی تخمک هایی که طول تکرار زیاد دارند باقی می مانند و بنابراین شما پدیده anticipation را وقتی که انتقال از طریق مادر اتفاق می افتد مشاهده می کنید.

دلیل دیگر که توجیه خاصی برای آن ارائه نشده است به شرح ذیل می باشد:

در واقع افراد طبیعی از هرژنی که روی اتوزوم ها هست ۲ آلل دارند. مشاهده شده است که معمولا آن آللی که طول تکرار بیشتر از ۱۹ دارد، بیشتر در دسته بندی شرکت میکند، انگار یک selection به نفع طول تکرار های بالای ۱۹ است.

بیماری نوروفیبروماتوز

افراد در این بیماری تومور هایی روی پوست دارند که منشا آن ها **سلول های عصبی** است که به آن ها نوروفیبروم ها میگویند. به دلیل این که روی بدن افراد بیمار پر از تومور است بیماری نوروفیبروماتوز نام دارد یعنی بیماری ای که بدن پر از نوروفیبروم است. اختلالات دیگری هم معمولا همراه با این ها دیده می شود، مثلا لکه های کافئوله یا شیر قهوه که لکه هایی به صورت بیضی و گاهی به شکل ها غیر متقارن هستند که پررنگ تر از پوست است. (لکه های کافئوله café-au- laitرا در افراد نرمال هم ممکن است ببینیم. یعنی هرکس که روی پوستش لکه کافئوله باشد لزوما دچار نوروفیبروماتوز نمی باشد، ولی یکی از علائمی که همراه با تومورهای نوروفیبرومی دیده می شود لکه های شیر قهوه است) اختلالات دیگر شامل تشنج و ... هم ممکن است در این بیماران دیده شود. این افراد معمولا ماکروسفال هستند و همچنین ممکن است **هامارتوم(hamartom)** یا **تومور های خوش خیم عنبیه** این افراد دیده شود.

نوروفیبروماتوز دو شکل اصلی دارد که توسط دو ژن مختلف ایجاد میشود: نوروفیبروماتوز تیپ ۱ و ۲ که ژن های آن هم به نام های **NF1** و **NF2** نام گذاری شده است.

تعداد نوروفیبروم ها می تواند خیلی متغیر باشد مثلا یک فردی ممکن است یکی دو تا از این نوروفیبروم ها داشته باشد و یا به شکل خیلی extreme تمام پوست فرد پر از نوروفیبروم باشد.

استاد در اسلاید نودول های **لیش** که در عنبیه افراد مبتلا به **نوروفیبروماتوز تیپ۱** مشاهده می شود را نشان می دهند.

نوروفیبروماتوز تیپ یک

الگوی این بیماری **autosomal dominant** است و تقریبا penetrance آن تا سن ۵ سالگی صد درصد است، یعنی تمام افرادی که آلل معیوب را دارند تا سن ۵ سالگی یه جوری تظاهرات بیماری را بروز می دهند. این یعنی اگر شما کودک ۱۰ ساله ای را دیدید که علائم نرمال دارد و در معاینه، نوروفیبروم و لکه های شیرقهوه مشاهده نشد، شما می توانید با اطمینان خیلی بالا بگویید که آلل معیوب را ندارد، منتها افراد یک خانواده ممکن است

تظاهرات خیلی متفاوتی داشته باشد مثلا دو خواهر و برادر که هر دو یک جهش خاص را از یک والد گرفتند، یکی ممکن است فرم خفیف بیماری را داشته باشد و یکی ممکن است فرم شدید بیماری را داشته باشد.

دیده شده مواردی که در دوقلوهای تک تخمکی اتفاق افتاده تظاهرات بیماری خیلی شبیه به هم است. با مشاهده افراد مختلف با تظاهرات بیماری متفاوت، می توانیم بگوییم یا ژنتیک بر ان ها تاثیر گذاشته، یا محیط آن ها. در خواهر و برادر ها ما انتظار داریم که محیط نسبتا مشابهی داشته باشند، بنابراین در این خواهر و برادر لوکوس های ژنتیکی(جایگاه کروموزومی) غیر از ناحیه NF1 می تواند اثر modify کننده روی بیان ژن NF1 داشته باشند.

در این بیماری mutation هم خیلی بالا است، یعنی خیلی از موارد نوروفیبروماتوز، ناشی از جهش های جدید است. یعنی پدر و مادر کاملا سالم اند و جهشی در آن ها نمی بینیم و یک جهش جدیدی ممکن است مثلا در germ line پدر و مادر اتفاق افتاده باشد که منجر به ایجاد فرزند معیوب شده باشد.

حتی مواردی گزارش شده که گونادال موزائیسم(جهش در سلول های جنسی) مشاهده شده، یعنی پدر یا مادری در گونادهایش یک سری از سلول ها حامل جهش بوده اند و تعدادی سالم بودند یا مثلا در عین حال که خودش سالم بود دو فرزند مبتلا دارد. که این ناشی از گونادال موزائیسم است. گونادال موزائیسم را به خصوص در **رده پدری** می بینیم.

یک اتفاق دیگری که دیده شده است این است که امکان دارد جهش های NF به صورت سوماتیک اتفاق می افتد، یعنی یک اسپرم سالم و یک تخمک سالم باهم لقاح پیدا کرده اند و رویانی ایجاد شده و در طی تکاملش یک مرحله جهش سوماتیک در این رویان اتفاق افتاده بنابراین یک تعداد از سول های این رویان آلل سالم را دارند و یک تعداد آلل معیوب را. این حالت می تواند منجر به ایجاد **NF سگمنتال** شود یعنی در نواحی خاصی از بدن این تظاهرات دیده می شود(نواحی خاصی که origin آن سلول های معیوب را دارند.

Marfan syndrome

سندرم مارفان یک بیماری در نتیجه **اختلال بافت همبند** است، که توارثش به صورت **autosomal dominant** می باشد. در این سندرم ژن **FBN1** (در کروموزوم **۱۵**) دچار اختلال شده که پروتئینی به نام **fibrilin-1** را کد می کند و ژن بزرگیست که پیدا کردن جهش در آن خیلی سخت است، جهش ها بیشتر از نوع missense هستند که اثر dominant negative دارند.

علائم

افراد مبتلا به سندرم مارفان، افراد قدبلندی هستند و معمولا اندام های بلندی دارند، معیار تشخیصی در آنها این است که طول بالاتنه کوتاه ولی پاهای بلند دارند. هچنین افراد مبتلا انگشتان کشیده ای دارندو ممکن است اختلالات اسکلتی دیگر هم داشته باشند.

علامت دیگر این افراد، در رفتگی عدسی چشم می باشد و ممکن است اختلالات قلبی هم داشته باشندالبته iلزوما هر فردی که فنوتیپ مارفانی دارد، سندرم مارفان ندارد. (**مارفانوئید** به افرادی گفته می شود که نرمال هستند اما اندام های شبیه افراد مبتلا به مارفان دارند.)

در افراد مبتلا به سندرم مارفان دامنه حرکت مفاصل زیاد است مثلا، extension مفصل آرنج خیلی زیاد است. (افرادی که در سیرک کار میکنند اغلب مارفان یا مارفانوئید هستتند☺)، همچنین این افراد شلی مفصل دارند. اختلالات قفسه سینه هم می تواند در این افراد دیده شود، گاهی اوقات اسکولیوز هم مشهود است. مهمترین علامت dilation آئورت صعودی میباشد که میتواند منجر به **dissection آئورت** شود. که خیلی خطرناک است و ممکن است قبل از هر اقدام درمانی، منجر به مرگ بیمار شود. لازم است که در افراد مبتلا به سندرم مارفان حتما بررسی قلبی انجام شود که مشخص شود dissection اتفاق افتاده یا نه.معمولا مرگ این افراد زمانی است که dissection آئورت اتفاق بیفتد.

نکته سوال دانشجو: پیوند آئورت در این مرحله کمکی به بیمار نمی کند، اگر تشخیص در مراحل اولیه dissection باشد و سریعا پیوند انجام شود، می توان به بیمار کمک کرد که معمولا عملی نمی شود.

Cystic Fibrosis Syndrome

یک بیماری **autosomal recessive** است که ژن CFTR دچار اختلال می شود که پروتئینی ایجاد کننده کانال کلر را کد میکند، در افراد مبتلا تنظیم CL و Na به هم می ریزد و ترشحات مخاطی غلیظ می شود و همین موضوع باعث بروز اختلالات ثانویه خواهد شد.یک جهش شناخته شده در CFTR، deletion ۳ نوکلئوتیدی در کدون ۱۰۸ است که حدود ۷۰ ٪ از جهش را در این ژن شامل می شود.این سندرم در جمعیت اروپایی خیلی شایع است به طوری که مثل تالاسمی، آزمایش های غربالگری پیش از ازدواج برای این سندرم، اجباری است.

علائم

ارگان هایی که در CF درگیر هستند شامل **ریه، پانکراس** و **مجرای تناسلی** می باشد.

ریه: اختلال اصلی در **کانال کلر** می باشد و به خاطر همین اختلال، ترشحات مخاطی غلیظ می شوند و مجاری تنفسی را مسدود می کنند، به دلیل وجوود همین ترشحات غلیظ ،بیماران مستعد عفونت های مکرر تنفسی می

شوند، پس complication اصلی، عفونت مجاری تنفسی است که همین عفونت مجاری تنفسی می تواند منجر به بیماری قلبی شود ، به این حالت corpulmonale گفته می شود که در واقع نارسایی قلبی ثانویه به اختلالات تنفسی است. وقتی بیمار به این مرحله می رسد، تنها راه درمان پیوند همزمان قلب و ریه است. پس افراد CF در حالت End stage نیازمند پیوند همزمان قلب و ریه می شوند.

پانکراس: نارسایی پانکراس در قسمت اگزوکرین در این افراد مشهود است که منجر به سو هاضمه چربی و در نتیجه مدفوع چرب می شود. نوزادان مبتلا به CF هم گاهی دچار meconium ileus می شوند که شرایطی است که در آن ترشحات لوله گوارش نوزاد که meconium است، خیلی غلیظ می شود و منجر به انسداد روده نوزاد می شود.

اختلال دیگر که همزمان با اختلال ریه و پانکراس رخ می دهد **congenital bilateral absence of the vas deferens** (فقدان مجاری وازدفران- CBAVD) که منجر به ناباروری هم می شود.نکته خیلی مهم این است که بعضی از جهش های CF هیچ تظاهری ندارند و فقط CBAVD می دهند، یعنی فرد کاملا نرمال است، اما بعد از ازدواج، به دلیل ناباروری، بعد از معاینات و آزمایشات اورولوژیک، CBAVD را تشخیص داده و بعد از بررسی ژن، CF یافت می شود.

Spinal Muscular Atrophy (SMA)

SMA ناشی از **degeneration سلول های عصبی شاخ قدامی نخاع** است که مسئول حرکت اندام ها هستند. وقتی دچار degeneration می شوند، بیمار **ضعف عضلانی پیش رونده** پیدا می کند که می تواند منجر به مرگ شود.

بیماری هایی که در گروه SMA طبقه بندی می شوند ظهور متفاوتی دارند و از لحاظ ژنتیکی هم حالات مختلفی دارند که شامل ۳ فرم از بیماری می شوند:

SMA-1 : فرمی از بیماری است که تظاهراتش را در ۶ ماه اول پس از تولد نشان می دهد و در همان ماه های اول منجر به مرگ نوزاد می شود و **شایعترین و شدیدترین** فرم بیماریست. این فرم بیماری که با نام **Werdnig-Hoffmann**هم شناخته می شود، معمولا در زمان تولد با ضعف عضلانی مشخص می شود و به سرعت پیش رونده است به طوری که در ۶ ماه اول پس از تولد منجر به مرگ می شود. ضعف عضلانی افراد مبتلا به قدری مشخص است که حتی در دوران جنینی هم با کاهش حرکت جنین در رحم مادر نسبت به جنین سالم همراه است. در این نوع از بیماری **variation** بین افراد مبتلا در خانواده وجود ندارد و تمام افراد مبتلا در یک خانواده، تظاهرات بالینی یکسانی دارند.

SMA-2 : علائم از نوع قبلی کمتر و ملایم تر است. Variation در تظاهرات بالینی در این نوع از بیماری و SMA-3 ، در افراد مبتلای یک خانواده، وجود دارد.

SMA-3 : خفیف ترین نوع بیماریست که در سن ۴-۵ سالگی منجر به مرگ بیمار می شود، در این نوع هم variation می تواند وجود داشته باشد.

(البته از دید یک پزشک SMA-1 خوش خیم تر است چرا که متاسفانه زودتر بیمار از بین می رود و وابستگی عاطفی خانواده کمتر است!)

همه این انواع بیماری مرتبط با **ژن SMN** هستند و نحوه توارث به صورت **autosomal recessive** است. اما فرم دیگری از بیماری هم وجود دارد که فرم **Adult onset** بیماریست و به صورت **Autosomal dominant** منتقل می شود.

به صورت عادی، افراد ۲ ژن SMN روی کروموزوم دارند: SMN 1 و SMN 2 که از لحاظ توالی تا ۹۹٪ به هم شباهت دارند، اما SMN 2 فانکشن کمتری دارد و در واقع pseudogene است.

بیشتر جهش هایی که منجر به بیماری SMA می شوند، جهش هایی هستند که در**SMN 1** اتفاق می افتند،این جهش ها،در ۹۸-۹۵٪ موارد به صورت **حذف های بزرگ** در این ژن است که **اگزون های ۷ و ۸** به طور **کامل delete** می شوند و در ۱-۲٪ موارد، اگزون های ۷ و ۸ وجود دارند ولی جهش های نقطه ای در این ژن اتفاق افتاده است.

SMN 2 در افراد عادی می تواند ۰-۵ نسخه داشته باشد، تظاهرات خفیف تر در SMA در افرادی دیده می شود که تعداد نسخه های SMN 2 بیشتری دارند، هر چند که SMN 2 فانکشن کمتری دارد اما در فقدان SMN 1 همان فانکشن کم هم باعث کاهش تظاهرات می شود،پس هر چه تعداد نسخه های SMN 2 بیشتر باشد تظاهرات بالینی خفیف تر خواهد شد.

duchene muscular dystrophy

یک بیماری عضلانی است که نحوه توارث به صورت **x-linked recessive** می باشد در نتیجه، معمولا در مردان بیشتر رخ میدهد.

علائم

تظاهرات بیماری به صورت **ضعف عضلانی پیش رونده** است، که علائم از ۳-۵ سالگی شروع شده و ممکن است در راه رفتن و دویدن دچار اختلال شوند. علامت واضح بیماری به علت ضعف عضلات پروگزیمال، در هنگام برخاستن از حالت نشسته، از پاهایشان بالا می روند که به اصطلاح **علامت Gower's** شناخته می شود.

(در هر بیماری که باعث ضعف عضلات پروگزیمال شود، علامت Gower's قابل مشاهده است.)

معمولا در سن ۱۱ سالگی مجبور به استفاده از wheelchair می شوند و دیگر قادر به راه رفتن نیستند، اختلالات قلبی- ریوی هم می تواند در این بیماران رخ دهد و در صورتی که مداخله درمانی مناسب اتفاق نیفتد، نهایتا در ۱۸ سالگی فوت می کنند.

در این بیماران بافت عضلانیشان تحلیل می رود ولی درهمان سلول های بافت عضلانی، بافت همبند و چربی رشد می کند و یک **pseudohypertrophy** می بینید یعنی به نظر می رسد بافت عضلانی بزرگ شده در صورتی که سلول عضلانی در آن نیست و بافت همبند و چربی است.

اگر مادر حامل بیماری نباشد بیماری new mutation است ولی اگر مادر حامل باشد باید حامل بودن دخترها را بررسی کنیم زیرا هرکدام به احتمال ۵۰٪ ممکن است ، حامل باشند.اگر حامل نبودند که مشکلی نیست ولی اگر حامل بودند باید برای فرزندان آن ها باید تشخیص های پیش از تولد مثل PGD یا PND انجام شود.

بیماری DMD وابسته به جنس می باشد و یک فرم خفیف تری هم دارد که جهش ژن دیستروفین عضلانی است که به آن **دیستروفی بکر BMD**(Becker muscular dystrophy) می گویند. در واقع جهش در همان ژن است ولی این جهش ها تظاهرات بالینی خیلی خفیف تری می تواند داشته باشد.

بیماری دوشن جزو بیماری هایی است که new mutation در آن خیلی بالا است زیرا معمولا پسر مبتلا به دوشن زنده نمی ماند که فرزند داشته باشد.از طرفی ما در جمعیت این بیماری را می بینیم به همین دلیل معمولا جهش های جدید اتفاق می افتد.

جهش هایی که در ژن دیستروفین در بیماری دوشن اتفاق می افتد یکسری deletion هست که می تواند خیلی بزرگ باشد مثلاچند تا ازون باشد یا حتی کل ژن را در بربگیرد .این **deletion** ها معمولا طی میوز مادری اتفاق می افتد. از طرفی یکسری **point mutation** هم می تواند اتفاق بیفتد که معمولا طی میوز پدری است.

تفاوت دوشن و بکر: هر دو در اثر جهش در ژن دیستروفین اتفاق می افتد اما چرا بکر نوع خفیف تر است؟

جهش هایی که در بکر اتفاق می افتد معمولا fame shift mutation ایجاد نکردند.

FRAME SHIFT چیست؟ یعنی اگر حذف یا اضافه شدنی اتفاق بیفتد ،در قالب سه تایی است بنابراین عملکرد پروتئین بعد از جهش می تواند سالم باشد ولی اگر برای مثال دو نوکلئوتید حذف شود FRAME کاملا عوض می شود اما اگر سه نوکلئوتید حذف شود آن AAحذف می شود ولی دیگر بقیه تغییر نمی کنند.

بنابرین جهش های IN FRAME در هر بیماری ای معمولا فنوتیپ خفیف تری نسبت به بیماری هایی که FRAME را به هم می زنند ،دارند.

تشخیص CARRIER ها : یک راه حل conventional بررسی **کراتین کیناز سرمی** است.آنزیم کراتین کیناز،آنزیمی است که از عضله آزاد می شود و در بیماری های عضلانی افزایش پیدا می کند. در افراد مبتلا دوشن هم سطح سرمی کراتین کیناز خیلی بالا می رود ولی فقط در2/3 افراد carrier سطح کراتین کیناز(CK) بالا می رود.بنابراین اگر دیدید مادر یک فرد مبتلا به دوشن سطح کراتین کینازش بالا است، می توانیم بگوییم او حامل این جهش است ولی اگر سطح سرمش بالا نبود ،این رد کننده ی این که حامل جهش است ، نمی باشد بنابراین دقت کامل ندارد.در حال حاضر با رایج شدن تست های ژنتیکی دقیق carrier detection ،فقط با استفاده از تست های DNA قابل انجام است و نیازی به تست های بیوشیمیایی مثل کراتین کیناز نمی باشد.

بیماری هموفیلی: این بیماری **اختلال در انعقاد خون** می باشد که ۲ نوع Aو B دارد. هموفیلیA ناشی از نقص فاکتور **۸** و هموفیلیB نقص فاکتور **۹** است.هردوی این بیماری ها **وابسته به X** می باشند.شایع ترین نوع A می باشد که به آن نوع CLASSIC هم گفته می شود.فاکتور۸ و ۹ در چرخه ی داخلی برای تبدیل پروترومبین به ترومبین نقش دارد سپس ترومبین ، فیبرینوژن را را به فیبرین تبدیل می کند وساختار سفت لخته را فیبرین ایجاد می کندواگر فیبرین ایجاد نشود لخته شل است و دوباره خودش باز می شود. به هموفیلیBکریسمس هم گفته می شود که ناشی از نقص فاکتور ۹ می باشد .

علائم بیماری هردو مشابه است و اختلالات خونریزی در این ها وجود دارد. بر اساس این که سطح فاکتور نسبت به سطح نرمال چقدر باشد،شدت اختلال خونریزی متفاوت است.فرم شدید بیماری در افرادی است که سطح فاکتور انعقادی زیر ۱ ٪سطح نرمال است که تظاهرات را در همان بدو تولد دارند حتی مثلا آنهایی که طبیعی دنیا آمدند، ممکن است هماتوم ها در نواحی مختلف تحت فشار آن ها، هنگام خروج از کانال زایمانی وجود داشته باشد.بعضی هم ممکن است به صورت عادی علائم نداشته باشند ولی مثلا وقتی بچه ها شروع به چهار دسته پا راه رفتن می کنند در مفاصل تحت فشار مثل زانو ها ممکن است خونریزی داشته باشند .گفتیم این بیماری وابسته به جنس است در گذشته که بررسی ها انجام نمی شد، وقتی ختنه برایشان انجام می شد در اثر خونریزی غیرقابل کنترل ناشی از ختنه دچارعوارض شدید وگاهی مرگ می شدند. پس در بعضی از این ها ممکن است سطح فاکتور در حد متوسطی باشد و در حالت عادی تظاهرات نداشته باشدولی وقتی procedure برای آن ها انجام می شود یا مثلا با کشیدن دندان دچار خونریزی بیش از حد شوند ولی در افرادی که سطح فاکتور خیلی کم است می تواند خونریزی داخلی مثل خونریزی در بطن داشته باشد حتی بدون هیچ ترومایی،خونریزی در مفاصل می تواند اتفاق بیفتد. وقتی هماتوم

در مفاصل ایجاد شود ،هم آرتروز ایجاد می شود و کلا functionمفصل می تواند دچار اختلال شود و عوارض متعددی داشته باشند.

این عکس یک فرد را که به علت خونریزی مکرر در مفصل زانو، function زانو دچار اختلال شده است را نشان می‌دهد.

هر دوی این ها وابسته به X هستندو لوکوس آن ها خیلی به هم نزدیک و در $\mathbf{X_q}$ می باشد.

هموفیلی A

در ۵٪موارد هموفیلی A ،**deletion** ها اتفاق می افتد که هیچ فاکتور ۸ ای ساخته نمی شود ولی انواع دیگری از جهش ها non sense وframe shift هم می تواند اتفاق بیفتد که با functionهای مختلفی ایجاد می شوند . یک فرم خاص جهش هم ایجاد می شود که به آن **Philip inversion** گفته می شود.ناحیه ای روی کروموزوم x وجود دارد که شباهتی با ناحیه ی ژن هموفیلی دارد،می تواند بین این ها کراس اور اتفاق بیفتدو یک inversion رخ بدهد که در رده ی **گامتوژنز مرد** اتفاق می افتد زیرا در میوز جنس مونث ۲ کروموزوم x می توانند به راحتی کنار هم قرار بگیرند ولی درمیوزجنس مرد کروموزومY به خوبی کنار کروموزوم X قرار نمی گیرد ومی تواند کراس اوردر داخل کروموزوم x رخ بدهد.INVERSION ها در ۵۰٪ موارد شدید هموفیلی A دیده می شود و به طور کلی درcarrier های هموفیلی هم سطح فاکتور انعقادی می تواند نسبت به افراد نرمال کمتر باشد البته الان با تست های DNA دقیق انجام می شود و تشخیص carrier براساس سطح فاکتور نیست بلکهDNA BASEاست.

در هموفیلیA مثل DMD ،**point mutation** ها معمولا در**men germ cell**اتفاق می افتد و **deletion** ها بیشتر در l**female germ cel** اتفاق می افتد.

این عکس philip inversionرا نشان می دهد که کروموزوم x می تواند روی خودش خم شود و کراس اور با ژن A می تواند رخ دهد ،که منجر به INVERSIONژن مرتبط با هموفیلی می شود.

هموفیلی B

مربوط به فاکتور ۹ دچار اختلال شده و انواع جهش ها مثل point mutation و deletion ها در این ها شناسایی شده است. یک نوع خاصی ازهموفیلی B به نام هموفیلیB لی دن(**hemophilia b leyden**) وجود دارد که در بدو تولد میزان فاکتورانعقادیشان خیلی کم و زیر ۱٪ است.ولی هرچه بزرگ تر می شوند میزان فاکتور انعقادیشان افزایش می یابد و می تواند در بزرگسالی به سطح نرمال برسد که دیگر نیازی به درمان نداشته باشد .جهش هایی که به فرم نادر ایجاد می کند، معمولا جهش هایی هستند که در **ناحیه ی promotor** اتفاق می افتد. الان همcarrier detection با direct detection analysisاتفاق می افتد.

درمان هموفیلی: معمولا کنسانتره فاکتور را که با تخلیص سرم افراد سالم به دست می آید،دریافت می‌کنند. (اگر نقص در فاکتور ۸ است، فاکتور ۸ تزریق می‌شود و اگر نقص در فاکتور ۹ است ، فاکتور ۹ را دریافت می‌کنند.) پروتوکل های مختلفی بر اساس سطح فاکتور تصمیم گیری می شود . بعضی می‌گویند، فقط قبل از اعمال جراحی ماژور باید تزریق شود و بعضی هم می گویند به صورت پروفیلاکتیک انجام شود و این به شرایط بیمار بستگی دارد.

به طور کلی نیمه عمر این فاکتور ها حدود ۸ تا ۹ ساعت است و ممکن است لازم باشد طی جراحی ماژور چند بار تکرار شود. این درمان متداول است ولی **Gene therapy** هم برای هموفیلی A و B می تواند خیلی موثر باشد وموارد موفقی هم از آن گزارش شده است زیرا اگر شما مقدار کمی هم میزان تولید port آن ها را افزایش دهید، می توانند فنوتیپ کاملا طبیعی داشته باشندحتی اگر به ۱۰ درصد طبیعی برسند می توانند زندگی عادی ای داشته باشند زیرا موارد شدید زمانی اتفاق می افتد که سطح آن به کمتر از ۱٪برسد و با تولید مقدار کمی از فاکتور های انعقادی می توانند زندگی طبیعی داشته باشند.

خسته نباشید

ویراستار:آنیتا کریمی

یادداشت:

Genetics

SBMU_Bahman93