ویرایش چهاردهم
ترجمه کامل ۲۰۱۲

اصول ژنتیک پزشکی
امری

- چهار رنگ همراه با CD
- تالیفات مفید برای مخاطبین ژنتیک
- واژه نامه لغات پزشکی در ژنتیک
- CD حاوی Power point و متن اصلی کتاب

ترجمه و گردآوری :
لیلا یوسفیان حسن وحید نژاد

با نظارت مستقیم :
دکتر محمد حسین مدرسی دکتر مینا تبریزی

ویرایش چهاردهم

اصول ژنتیک پزشکی

امری

لیلا یوسفیان

RB
۱۵۵
۳/الف۴ت/
۱۳۹۱
ن۱

انتشارات آریانا

Emery's
ELEMENTS OF
MEDICAL GENETICS

تهیه : محمد مجتبی زمانی
۰۹۳۶۹۵۴۰۵۵۳

انتشارات آریانا

ISBN:978-964-7150-06-4

فهرست

عنوان — صفحه

بخش ۸: مبانی ژنتیک انسانی ۱

فصل ۱ـ تاریخچه ژنتیک و تأثیر آن بر علم پزشکی ۳
گرگور مندل و قوانین توارث ۳
DNA به عنوان اساس توارث ۶
مگس سرکه ۷
مبدأهای ژنتیک پزشکی ۸
تأثیر بیماری‌های ژنتیکی ۱۰
پیشرفت‌های مهم و جدید ۱۱

فصل ۲ـ اساس سلولی و مولکولی توارث ۱۷
سلول ۱۷
DNA : ماده وراثتی ۱۷
ساختار کروموزوم ۱۹
انواع توالی‌های DNA ۲۰
DNA خارج ژنی ۲۲
عدم توانایی در سنتز ویتامین C ـ یک نقص مادرزادی همگانی در انسان‌ها ۲۳
رونویسی ۲۵
ترجمه ۲۶
کد ژنتیکی ۲۷
تنظیم بیان ژن ۲۸
سنتز DNA هدایت شده توسط RNA ۳۱
جهش‌ها ۳۱
جهش‌ها و جهش‌زائی ۳۶

فصل ۳ـ کروموزوم‌ها و تقسیم سلولی ۴۱
کروموزوم‌های انسانی ۴۱
سندرم CHARGE ۴۲
روش‌های آنالیز کروموزومی ۴۶
سیتوژنتیک مولکولی ۴۷
تهیهٔ فلوکاریوتایپ ۵۰
سیستم نامگذاری کروموزومی ۵۲
تقسیم سلولی ۵۳
گامتوژنز ۵۸
ناهنجاری‌های کروموزومی ۵۸
ایزوکروموزوم‌ها ۶۹
سندرم پالیستر ـ کیلیان (تترازومی 12p) ۷۱

عنوان — صفحه

فصل ۴ـ فن‌آوری DNA و کاربردهای آن ۷۵
کلون‌سازی DNA ۷۵
اسامی بعضی از انواع پرایمرهای به‌کار رفته در روش‌های مختلف PCR ۸۱
روش‌های آنالیز DNA ۸۲
تفاوت MLPA و MAPH ۹۵
تکثیر کل ژنوم (WGA = whole genome amplification) ۱۰۰

فصل ۵ـ نقشه‌برداری و تعیین بیماری‌های ژن‌های تک‌ژنی ۱۰۳
تعیین مستقل از مکان ژن‌های بیماری انسانی ۱۰۳
کلونینگ موضعی ۱۰۳
پروژهٔ ژنوم انسان ۱۰۵
..... ۱۰۷

فصل ۶ـ ژنتیک تکوین ۱۱۵
لقاح و گاسترولاسیون ۱۱۵
خانواده‌های ژنی تکوینی ۱۱۷
نقایص تکوین سلول‌های ستیغ عصبی (نوروکریستوپاتی) ۱۱۸
سندرم روبن‌اشتاین ـ تایبی ۱۲۵
منابع ۱۲۶
نقایص جانبیّت: نقایص مربوط به محور چپ - راست بدن ۱۳۳
نقش مژه‌ها در ناهنجاری‌های تکوینی ۱۴۰
انـدام‌ها (دست‌ها و پاها) بـه عـنوان یک مدل تکوینی ۱۴۲
ژن‌های تکوینی و سرطان ۱۴۵
اثر مکانی و ژن‌های تکوینی ۱۴۶
مول‌های هیداتی فرم ۱۴۶
تمایز و تعیین جنسیت ۱۴۷
اپی‌ژنتیک و تکوین ۱۴۹
اهمیت بررسی الگوی متیلاسیون DNA در ژنتیک پزشکی و روش‌های آنالیز آن ۱۵۲
بیماری‌های ژنتیکی که به دلیل جهش در ژن‌های مؤثر ۱۵۴
بر ساختار کروماتین ایجاد می‌شوند ۱۵۴
دوقلوزایی ۱۵۵

فصل ۷ـ الگوهای توارث ۱۶۱
مطالعات خانوادگی ۱۶۱
توارث مندلی ۱۶۱
آلل‌های چندگانه و صفات پیچیده ۱۷۵
افزایش شدت (Anticipation) ۱۷۶
موزائیسم ۱۷۷

عنوان ۱۷۷
دیزومی تک‌والدی ۱۷۸
نشان‌گذاری ژنومی (Genomic Imprinting) ۱۸۳
توارث میتوکندریائی ۱۸۷
فصل ۸ـ ژنتیک محاسباتی و جمعیت ۱۸۷
فراوانی‌های آللی در جمعیت‌ها ۱۹۴
پلی‌مورفیسم ژنتیکی ۱۹۶
آنالیز تفکیک ۱۹۷
پیوستگی ژنتیکی (Genetic Linkage) ۲۰۲
مداخله‌های پزشکی و اجتماعی ۲۰۳
نتیجه‌گیری ۲۰۵
فصل ۹ـ توارث پلی‌ژنی و چندعاملی ۲۰۵
توارث پلی‌ژنی و توزیع طبیعی ۲۰۷
توارث چندعاملی – مدل آستانه / استعداد ۲۰۸
نتایج مدل آستانه / استعداد ۲۰۹
توارث‌پذیری ۲۱۰
شناسایی ژن‌هایی که باعث ایجاد بیماری‌های چند عاملی می‌شوند ۲۱۵
نتیجه‌گیری ۲۱۷
بخش B: ژنتیک در پزشکی ۲۱۹
فصل ۱۰ـ هموگلوبین و هموگلوبینوپاتی‌ها ۲۱۹
ساختار هموگلوبین (Hb) ۲۲۰
بیان هموگلوبین در طول تکوین ۲۲۰
ساختار زنجیرهٔ گلوبینی ۲۲۲
ساخته‌شدن و تنظیم بیان هموگلوبین ۲۲۳
ناهنجاری‌های هموگلوبین ۲۲۹
سندرم آلفاتالاسمی/عقب‌ماندگی ذهنی: یک بیماری مرتبط با کروماتین ۲۳۳
تنوع بالینی هموگلوبینوپاتی‌ها ۲۳۵
فصل ۱۱ـ ژنتیک بیوشیمیایی ۲۳۵
غربال‌گری قبل از تولد و تازه متولدین برای هموگلوبینوپاتی‌ها ۲۳۵
نقائص مادرزادی متابولیسم ۲۳۵
بیماری‌های مربوط به متابولیسم اسیدهای آمینه ۲۳۵
غربال‌گری تازه متولدین برای تشخیص فنیل‌کتونوری ۲۴۱
نقایص مربوط به متابولیسم اسیدهای آمینه شاخه‌دار ۲۴۴
بیماری‌های چرخهٔ اوره ۲۴۴

صفحه
بیماری‌های مربوط به متابولیسم کربوهیدرات‌ها ۲۴۴
عدم تحمل لاکتوز ـ یک پلی‌مورفیسم متابولیسمی شایع ۲۴۷
ناهنجاری‌های مربوط به متابولیسم استروئیدها ۲۴۸
بیماری‌های متابولیسم لیپیدی ۲۴۹
بیماری‌های ذخیره لیزوزومی ۲۵۰
بیماری‌های متابولیسم پورین‌ها / پیریمیدین‌ها ۲۵۳
بیماری‌های متابولیسم پورفیرین‌ها ۲۵۴
بیماری‌های اسیدهای آلی ۲۵۵
بیماری‌های متابولیسم مس ۲۵۵
بیماری‌های پراکسی زومی ۲۵۶
بیماری‌های اثرگذار بر عملکرد میتوکندریائی ۲۵۷
تشخیص پیش از تولد نقائص مادرزادی متابولیسم ۲۶۰
فصل ۱۲ـ علم فارماکوژنتیک ۲۶۳
تعریف ۲۶۳
متابولیسم دارو ۲۶۳
برخی از تنوع‌های ژنتیکی که به وسیلهٔ تأثیرات داروها آشکار گردید ۲۶۴
فارماکوژنتیک ۲۶۸
فصل ۱۳ـ ایمنوژنتیک ۲۷۳
ایمنی ۲۷۳
ایمنی ذاتی ۲۷۳
ایمنی اکتسابی اختصاصی ۲۷۶
پاسخ ایمنی به عنوان یک مسابقه تسلیحاتی ۲۸۴
بیماری‌های نقص ایمنی ارثی ۲۸۶
گروه‌های خونی ۲۹۳
فصل ۱۴ـ ژنتیک سرطان ۲۹۷
تمایز بین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در سرطان ۲۹۷
آنکوژن‌ها ۳۰۰
مرد فیلی و سندرم پروتئوس ۳۰۴
ژن‌های سرکوبگر تومور ۳۰۷
بیماری وُن هیپل لیندائو ۳۱۱
اپی‌ژنتیک و سرطان ۳۱۵
ژنتیک سرطان‌های شایع ۳۱۷
مشاورهٔ ژنتیک در سرطان‌های خانوادگی ۳۲۵

عنوان | صفحه

فصل ۱۵ـ عوامل ژنتیکی در بیماری‌های شایع ۳۳۹
استعداد ژنتیکی به بیماری‌های شایع ۳۳۹
انواع استعدادهای ژنتیکی و مکانیسم آنها ۳۳۹
شیوه‌های مطالعهٔ استعداد ژنتیکی در بیماری‌های شایع ۳۴۰
مدل‌های بیماری برای توارث چند عاملی ۳۴۲
دیابت نوع ۱ ۳۴۵
دیابت نوع ۲ ۳۴۷
بیماری کرون ۳۴۸
چاقی ۳۵۰
فشار خون بالا ۳۵۲
بیماری عروق کرونر ۳۵۴
اسکیزوفرنی ۳۵۶
بیماری دوقطبی ۳۵۷
بیماری آلزایمر ۳۵۸
الکلیسم ۳۵۹
هموکروماتوز ۳۶۱
ترومبوز وریدی ۳۶۱
تخریب ماکولار وابسته به سن ۳۶۳

بخش C: ژنتیک بالینی ۳۶۷

فصل ۱۶ـ ناهنجاری‌های مادرزادی و سندرم‌های بدشکلی ۳۶۹
بروز ۳۶۹
تعریف و طبقه‌بندی نقایص تولد ۳۶۹
علل ژنتیکی بدشکلی‌ها ۳۷۱
بیماری کلیه پلی‌کیستی با توارث اتوزومی غالب ۳۷۶
عوامل محیطی (تراتوژن‌ها) ۳۷۷
بدشکلی‌های با دلایل ناشناخته ۳۸۴
مشاوره ۳۸۹
دیسپلازی ترقوه ـ جمجمه و اساس ملکولی تکوین استخوان ۳۹۰

فصل ۱۷ـ مشاورهٔ ژنتیک ۳۹۰
تعریف ۳۹۵
رسیدن به تشخیص ۳۹۵
محاسبه و ارائه میزان خطر ۳۹۵
استئوژنز ایمپرفکتا (Osteogenesis imperfecta)، یک ناهنجاری ارثی مربوط به کلاژن ۳۹۶
رتینیت پیگمنتوزا: یک ناهنجاری ژنتیکی دارای هتروژنی لکوسی ۳۹۷
بحث بر سر گزینه‌ها ۴۰۱
۴۰۴

عنوان | صفحه

تعامل دوطرفه و حمایت ۴۰۴
مشاورهٔ ژنتیک دستوری یا غیردستوری ۴۰۵
اهداف قابل دستیابی مشاورهٔ ژنتیک ۴۰۶
مشکلات خاص در مشاورهٔ ژنتیک ۴۰۷
ازدواج با محارم ۴۰۸
تهیه پروفایل DNA (DNA profiling) ۴۱۱
منابع ۴۱۴

فصل ۱۸ـ بیماری‌های کروموزومی ۴۱۵
میزان بروز ناهنجاری‌های کروموزومی ۴۱۵
بیماری‌های کروموزوم‌های جنسی ۴۲۰
سندرم‌های ریزحذفی و تشخیص کروموزومی ۴۲۵
سندرم میلر ـ دیکر ۴۲۷
بیماری‌های مرتبط با تمایز جنسیت ۴۳۵
آسیب‌شناسی ملکولی واریانت‌ها در ژن گیرندهٔ آندروژن ۴۳۶
سندرم‌های شکستگی کروموزومی ۴۳۹
اگزرودرمایپگمنتوزا (Xeroderma Pigmentosa) ۴۴۰
شاخص‌های آنالیز کروموزومی / ریزآرایه CGH ۴۴۱

فصل ۱۹ـ بیماری‌های تک‌ژنی ۴۴۵
بیماری هانتینگتون (Huntington Disease) ۴۴۵
دیستروفی میوتونیک ۴۴۸
نوروپاتی حسی و حرکتی توارثی ۴۵۰
نوروفیبروماتوز ۴۵۲
سندرم مارفان ۴۵۴
فیبروز کیستی ۴۵۷
کاردیومیوپاتی‌ها و آریتمی‌های ارثی قلب ۴۶۱
ژنتیک ۴۶۲
آتروفی عضلانی و نخاعی ۴۶۴
ژنتیک ۴۶۴
دیستروفی عضلانی دوشن ۴۶۶
چشم‌اندازهای درمانی ۴۶۸
هموفیلی ۴۶۹
بیماری وُن ویلبرند ۴۷۰
منبع ۴۷۱

فصل ۲۰ـ غربالگری بیماری‌های ژنتیکی ۴۷۷
غربالگری افراد در معرض خطر بالا ۴۷۷

عنوان | صفحه

آزمایش تشخیص حاملین برای بیماری‌های آتوزوم مغلوب و وابسته به X مغلوب ۴۷۷
ناهنجاری‌های یوشیمیائی در ناقلین ۴۷۸
تشخیص پیش از علائم بیماری‌های آتوزوم غالب ۴۸۱
ملاحظات اخلاقی در تشخیص حاملین و آزمایشات پیش‌بینی کننده ۴۸۳
غربالگری جمعیت ۴۸۵
شاخص‌های یک برنامه غربالگری ۴۸۵
تشخیص ژنتیکی نقص α1- آنتی تریپسین ۴۸۷
غربالگری نازه متولدین ۴۸۸
غربالگری حاملین در جمعیت ۴۹۰
جنبه‌های مثبت و منفی غربالگری جمعیتی ۴۹۲
ثبت ژنتیکی ۴۹۲

فصل ۲۱ـ ژنتیک تولید مثل و آزمایشات تشخیص پیش از تولد ۴۹۷
تکنیک‌های به‌کار رفته در تشخیص پیش از تولد ۴۹۷
غربالگری پیش از تولد ۵۰۱
شاخص‌های تشخیص پیش از تولد ۵۰۵
مشکلات خاص در تشخیص پیش از تولد ۵۰۸
خاتمه حاملگی ۵۱۱
تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (PGD) ۵۱۱
روش‌های کمک‌باروری و کاربردهای آن در مورد بیماری‌های ژنتیکی ۵۱۲
روش‌های غیرتهاجمی تشخیص پیش از تولد ۵۱۵
درمان پیش از تولد ۵۱۵

فصل ۲۲ـ محاسبهٔ خطر ۵۱۹
تئوری احتمال ۵۱۹
توارث آتوزومی غالب ۵۲۱
توارث آتوزومی مغلوب ۵۲۴
توارث وابسته به جنس مغلوب ۵۲۵
در نظر گرفتن نتایج تست‌های تشخیص حاملین ۵۲۶
استفاده از مارکرهای پیوسته ۵۲۸
تئوری بیز و غربالگری پیش از تولد ۵۲۸
میزان خطر تجربی ۵۲۹

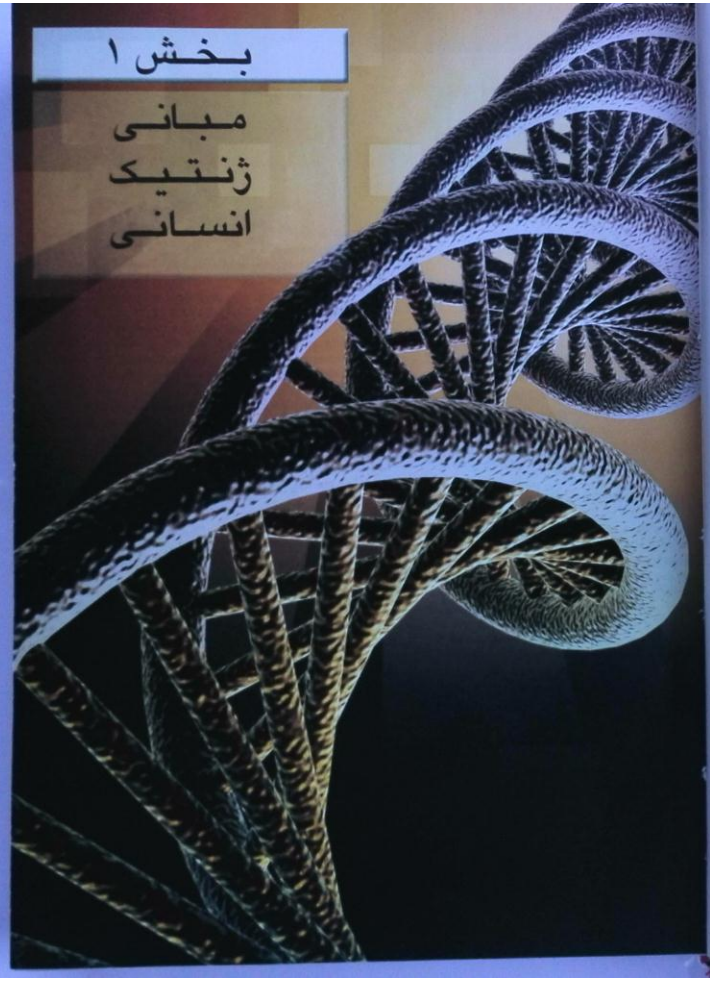
فصل ۲۳ـ درمان بیماری‌های ژنتیکی ۵۳۳
روش‌های مرسوم درمان بیماری‌های ژنتیکی ۵۳۳
کاربردهای درمانی تکنولوژی DNA نوترکیب ۵۳۴
ژن درمانی ۵۳۴
تغییرات RNA ۵۳۵
۵۴۰

عنوان | صفحه

تصحیح ژنی هدفمند ۵۴۱
درمان با سلول بنیادی ۵۴۳

فصل ۲۴ـ موارد اخلاقی و قانونی در ژنتیک پزشکی ۵۵۱
اصول کلی ۵۵۲
مشکلات اخلاقی در کلینیک ژنتیک ۵۵۵
مشکلات اخلاقی و منافع عمومی ۵۵۹
نتیجه‌گیری ۵۶۵

ضمیمه ـ صفحات اینترنتی (Websites) و شبکه‌های اطلاعات بالینی ۵۵۱
فرهنگ واژه‌های ژنتیک پزشکی ۵۷۱
واژه‌نامه ۶۰۷
پرسش‌های چندگزینه‌ای ۶۴۱
پاسخ پرسش‌های چندگزینه‌ای ۶۵۶
پرسش‌هایی بر مبنای موارد مشاهده شده ۶۷۳
پاسخ پرسش‌هایی بر مبنای موارد مشاهده شده ۶۸۰
ایندکس ۶۸۹


بخش ۱
مبانی
ژنتیک
انسانی

تاریخچه ژنتیک و تأثیر آن بر علم پزشکی

این تنها یک طرح کوچک است اما داستان بلندی به همراه دارد که تعریف‌کردن آن زمان زیادی طول می‌کشد.

«گرگور مندل در گفتگوئی با ایچلینگ»

از نظرمان دور نبود که جفت‌شدن ویژه‌ای که تصور می‌کردیم، مکانیسم کپی‌شدن احتمالی مادهٔ ژنتیکی را پیشنهاد می‌کند.

«واتسون و کریک آوریل ۱۹۵۳»

ارائه حقایق تاریخی حداقل به اندازهٔ پیگیری واقعیت‌های علمی چالش‌برانگیز بوده و دیدگاه ما از تلاش‌های بشری در گذر زمان به شدت به نفع برنده‌ها ـ افرادی که در زمینه‌های ارتش، سیاست یا در وقایع علمی پیروز شده‌اند ـ دچار انحراف شده است. تاریخچه ژنتیک پزشکی یکی از یافته‌های مهیج است که توسط آن بیماران و خانواده‌ها منفعت بسیاری برده‌اند. اما در آینده موفقیت آن، توسط با پیشرفت‌های آتی در تبدیل یافته‌ها به درمان و پیشگیری از بیماری‌ها ارزیابی خواهد شد.

همچنانکه پیشرفت می‌کنیم نباید فراموش شود پیشینیان ما با کمبود امکانات و عزم راسخ با آنچه که گاهی به صورت غیرمترقبه به‌دست آورده‌اند، پایه‌های این علم پویا را بنا نهاده‌اند. یک روش کل‌نگر به علم را می‌توان با رانندگی یک ماشین مقایسه کرد: بدون آنکه مسیر مقابل را ببینیم، تصادف کرده و پیشرفتی حاصل نخواهد شد، با این حال یک رانندهٔ شایسته معمولاً نگاهی به عقب و آینه‌های کناری دارد تا کنترلش را حفظ کند.

گرگور مندل و قوانین توارث

اولین گام‌ها

پیشرفت‌های علم ژنتیک طی قرن بیستم واقعاً چشمگیر بوده‌اند. در سال ۱۹۰۰ اصول مندل منتظر کشف مجدد بودند، کروموزوم‌ها در آن زمان به سختی قابل مشاهده بوده و علم ژنتیک مولکولی وجود نداشت. در مقابل، در زمان نوشتن این کتاب در سال ۲۰۱۰ کروموزوم‌ها را می‌توان به سرعت تا سطح دقیق و قابل توجهی توسط تکنیک‌های ریزآرایه (Microarray) بررسی کرد و توالی کل ژنوم انسان، انتشار یافته است. تعداد ۱۳۰۰۰ ژن انسانی با توالی شناخته شده فهرست شده و تقریباً ۶۵۰۰ بیماری ژنتیکی با فنوتیپی توصیف شده‌اند که اساس مولکولی حدود ۲۶۵۰ مورد از آنها مشخص شده است.

تعداد کمی انکار می‌کنند که ژنتیک در اکثر رشته‌های پزشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. کشف‌های اخیر نه تنها بیماری‌های نادر ژنتیکی و سندرم‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند بلکه بر بسیاری از بیماری‌های شایع در بزرگسالان که با تفاوت‌های ژنتیکی مرتبطند مثل بیماری‌های قلبی ـ عروقی، بیماری‌های روحی ـ روانی و سرطان، اثرات اشاره نشده بر چاقی، عملکردهای ورزشی، توانائی موسیقی و طول عمر نیز مؤثر بوده‌اند. بنابراین یک واحد کلیات ژنتیک می‌بایست جزء اصلی سرفصل‌های درسی همهٔ دانشجویان گرایش پزشکی باشد.

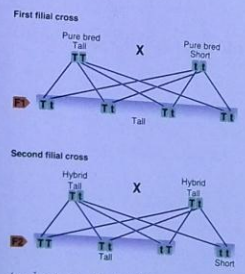
برای بررسی این پیشرفت‌های هیجان‌انگیز با مرور برخی از نقاط عطف قابل توجه، در تاریخچه ژنتیک پزشکی شروع می‌کنیم. اهمیت درک نقش آن در پزشکی در ادامه با مرور اثر کلی عوامل ژنتیکی در ایجاد بیماری‌ها شرح داده خواهد شد. در نهایت پیشرفت‌های جدید دارای اهمیت ویژه، بحث خواهند شد. دقیقاً مشخص نیست که اولین بار چه زمانی بشر امروزی (*Homo sapiens*) در کره زمین ظاهر شد، اما برطبق توافق علمی فعلی برپایه یافته‌هائی از فسیل‌های استخوان‌های انسانی در اتیوپی، بشر در اطراف آفریقای شرقی در حدود ۲۰۰,۰۰۰ سال قبل می‌زیسته است. منطقی است فرض کنیم اجداد اولیه ما به اندازهٔ ما دربارهٔ موضوع توارث کنجکاو بوده‌اند و همانند امروز تولد فرزندانی با همهٔ حالت‌های نقائص فیزیکی را تجربه کرده‌اند. کنده‌کاری‌های حداقل ۶۰۰۰ سال قبل در چالدا بابیلونیا (عراق امروزی) شجره‌نامه‌هائی از نحوهٔ انتقال برخی ویژگی‌های خاص بال اسب را نشان می‌دهند. به هر حال تلاش‌های اولیه

شکل ۱-۱: گرگور مندل

در رمزگشائی اسرار ژنتیکی به دلیل فقدان آگاهی و درک فرآیندهای اساسی مثل لقاح و تولیدمثل با مشکل مواجه بودند.

فلاسفه و پزشکان یونان باستان مثل ارسطو و بقراط با تواضع مردانه معمول خود نتیجه‌گیری کردند که ویژگی‌های مهم انسانی توسط منی تعیین می‌شود که از خون قاعدگی به عنوان محیط کشت و از رحم به عنوان انکوباتور استفاده می‌کند. تصور می‌شد منی توسط کل بدن تولید می‌شود بنابراین پدران تاس، پسرانی تاس خواهند داشت. این ایده تا قرن هفدهم غالب بود که در آن زمان دانشمندان هلندی مثل لیون هوک و دیگران وجود اسپرم و تخمک را شناسائی کردند. بنابراین توضیح دادند که چگونه زنان نیز صفات را به فرزندانشان منتقل می‌کنند.

شکوفائی انقلاب علمی در قرن ۱۸ و ۱۹ موجب توجه دانشمندان و پزشکان به توارث شد که در بین آنها نام دو نفر برجسته‌تر می‌باشد. پیر دی مو پرتوئیس (Pierre de Maupertuis) طبیعی‌دان فرانسوی که صفات توارثی مثل انگشتان اضافی (پلی داکتیلی) و فقدان رنگدانه (آلبینیسم) را بررسی می‌کرد و با مطالعات شجره‌نامه‌ها نشان داد که این دو بیماری به روش‌های متفاوتی به ارث می‌رسند. جوزف آدامز (Josef Adams) (۱۸۱۸-۱۷۵۶) یک پزشک انگلیسی مکانیسم‌های متفاوت توارثی را شناسائی کرد و بیانیه‌ای در مورد «ویژگی‌های توارثی فرضی بیماری‌ها» منتشر کرد که به عنوان پایه‌ای در مشاوره ژنتیک در نظر گرفته شد.



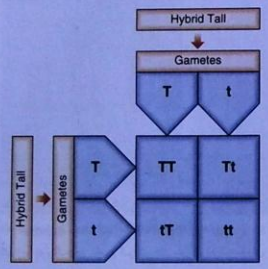
شکل ۲-۱: توضیحی از یکی از آزمایشات خالص‌سازی (درون‌آمیزی) مندل و اینکه او چگونه نتایج آزمایش را به‌طور صحیح تفسیر کرد.

درک فعلی ما از ژنتیک انسانی مدیون کارهای راهب اتریشی گرگور مندل (Gregor Mendel) (۱۸۸۴-۱۸۲۲) (شکل ۱-۱) است که در سال ۱۸۶۵ نتایج آزمایش آمیزش‌های خالص‌سازی (درون‌زادی) را در باغ نخود فرنگی‌اش به «Natural History Society of Brünn» در بوهمیا (برنو فعلی در جمهوری چکسلواکی) ارائه کرد. کمی پس از آن، مشاهدات مندل توسط آن انجمن در مجله تعاملات اجتماعی (Transactions of the Society) منتشر شد، سپس تا سال ۱۹۰۰ مورد توجه قرار نگرفت و ۱۶ سال پس از مرگ او برای اولین بار اهمیت کار او مشخص شد. در حقیقت کارهای مندل را می‌توان به عنوان کشف ژن‌ها و اینکه چگونه به ارث می‌رسند، در نظر گرفت. اصطلاح **ژن** اولین بار در سال ۱۹۰۹ توسط گیاه‌شناس دانمارکی به نام جانسن (Johannsen) به کار رفت و از کلمهٔ «پانژن» «Pangen» ارائه شده توسط دی وریس (De Vries)، اقتباس شده است. این کلمه خود از اصطلاح پانژنزیس (Pangenesis) گرفته شده است که در سال ۱۸۶۸ توسط داروین به کار رفت. در قدردانی از تلاش‌های زیاد مندل، اکنون اصطلاح **مندلی** بخشی از مجموعه لغات علمی است که هم برای الگوهای توارث متفاوت با ویژگی تک‌ژنی و نیز برای بیماری‌هائی با نقائص تک‌ژنی به کار می‌رود. در

آزمایشات خالص‌سازی (درون‌آمیزی)، مندل صفات متضاد در نخود فرنگی را مطالعه می‌کرد. او در هر آزمایش متغیرهائی را که تنها در یک صفت متفاوت بودند را به کار برد. برای مثال او اشاره کرد که وقتی سویه‌هائی با یک ویژگی مثل گیاه بلند خالص‌سازی شده با گیاهی کوتاه و خالص‌سازی شده آمیزش داده شوند، تمام زادهها در اولین نسل فرزندان (First Filial) یا نسل F1 بلند می‌باشند. اگر گیاهان این نسل F1 با هم آمیزش داده شوند، آنگاه هر دو گیاه بلند و کوتاه با نسبت ۳ به ۱ به دست می‌آیند (شکل ۲-۱). صفاتی که در هیبریدهای F1 مشاهده می‌شوند به عنوان **غالب** در نظر گرفته شده در حالی که صفاتی که دوباره در نسل F2 ظاهر می‌شوند به عنوان **مغلوب** در نظر گرفته می‌شوند. با بررسی مجدد، پیشنهاد شد که نتایج مندل «بهتر از آنچه بوده که می‌توانست حقیقت داشته باشد، به طوری که نسبت‌های تفکیک او به طرز مشکوکی نزدیک به مقادیر ۳ به ۱ پیش‌بینی قوانین آماری بود. یک توضیح احتمالی این است که او شاید تنها نتایجی را منتشر کرده که بیشترین همخوانی را با فرضیه تک‌ژنی پیش‌فرض او داشته است. حقیقت هر چه بوده، آزمایشات نشان داده‌اند که تفسیر مندل از نتایجش کاملاً صحیح بوده است.

طرح مندل این بود که صفات مورد مطالعهٔ گیاهان، تحت کنترل یک جفت از عواملی است که هر کدام از آنها از یکی از والدین به ارث می‌رسد. گیاهان کاملاً خالص شده با دو ژن یکسان که در آمیزش‌های اول به کار رفتند، به عنوان **هموزیگوت** در نظر گرفته شدند. گیاهان هیبرید F1 هر کدام با یک ژن بلندی و یک ژن کوتاهی به عنوان **هتروزیگوت** در نظر گرفته شده‌اند. ژن‌های مسئول این ویژگی‌های متضاد به عنوان **آللومورف** (allelomorph) یا به اختصار **آل‌ها** نامگذاری می‌شوند.

روش دیگر تعیین **ژنوتیپ** در فرزندان، شامل تهیه مربع پانت است (شکل ۱-۳). در فصل ۸ از این مربع استفاده می‌شود که توسط آن چگونگی تفکیک ژن‌ها در جمعیت‌های بزرگ بررسی می‌شوند. براساس آزمایشات گیاهی مندل، سه اصل کلی مطرح شد. این اصول به عنوان قوانین همسانی، تفکیک و جور شدن مستقل شناخته می‌شوند.



شکل ۳-۱: یک مربع پانت نشان‌دهندهٔ روش‌های متفاوت تفکیک ژن‌ها و ترکیب آنها در دومین آمیزش فرزندان حاصل از شکل ۲-۱: تهیه مربع پانت روشی ساده برای نشان‌دادن ترکیبات احتمالی گامت‌ها در آمیزش‌های مختلف است.

قانون همسانی

قانون همسانی به این حقیقت اشاره دارد که وقتی دو هموزیگوت با آل‌های متفاوت آمیزش داده شوند همهٔ فرزندان در نسل اول یکسان و هتروزیگوت می‌باشند. به عبارتی دیگر همانند آنچه قبلاً تصور می‌شد صفات با هم مخلوط نشده و دوباره در نسل‌های بعدی ظاهر خواهند شد.

قانون تفکیک

قانون تفکیک به این نکته اشاره دارد که هر فرد دارای دو ژن برای هر صفت خاص است که تنها یکی از آنها را هر بار می‌تواند منتقل نماید. استثناءهای نادر این قانون زمانی رخ می‌دهند که دو آل ژن به دلیل عدم تفکیک کروموزومی در اولین تقسیم میوزی از هم جدا نشوند.

قانون جور شدن مستقل

قانون جورشدن مستقل به این نکته اشاره می‌کند که اعضاء جفت ژن‌های مختلف به‌طور مستقل از همدیگر در انتقال به فرزندان تفکیک می‌شوند. در واقع این مطلب همیشه صدق نمی‌کند، زیرا ژن‌هائی که بر روی یک کروموزوم در نزدیکی هم می‌باشند

تمایل دارند با هم به ارث برسند زیرا آنها بهم «پیوسته‌اند».

تعدادی روش دیگر وجود دارند که قوانین توارث مندل را نقض می‌کنند اما به‌طور کلی این قوانین برای درک علم، اساسی باقی مانده‌اند.

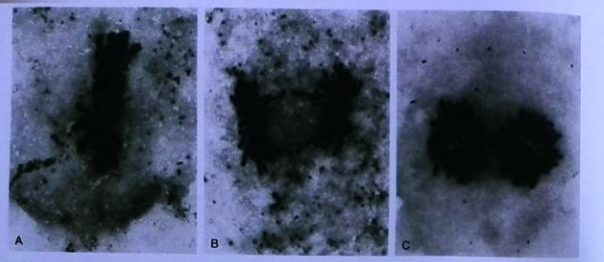
اساس کروموزومی توارث

همانطور که توجه به توارث مندلی بیشتر می‌شد فرضیه‌های زیادی در مورد اینکه این توارث‌ها واقعاً چگونه رخ می‌دهند، مطرح شدند. در آن زمان همچنین مشخص شده بود هر سلول حاوی یک هسته است که درون آن چندین ساختار نخ مانند به نام **کروموزوم** وجود دارد. اصطلاحاً به نام کروموزوم خوانده شد زیرا به رنگ‌های خاصی گرایش داشت (کروم به معنای رنگی و زوم به معنای جسم). این کروموزوم‌ها از نیمه دوم قرن نوزدهم پس از پیشرفت تکنیک‌های رنگ‌آمیزی سیتولوژیکی مشاهده شدند. اشکال میتوزی انسانی در اواخر دهه ۱۸۸۰ مشاهده شدند و در سال ۱۹۰۲ بود که والتر ساتن (Walter Sutton) یک دانشجوی پزشکی آمریکائی و تئودور بووری (Theodour Boveri) یک بیولوژیست آلمانی به‌طور مستقل اعلام کردند کروموزوم‌ها می‌توانند حاملین توارث باشند (شکل ۴-۱). سپس توماس مورگان (Thomas Morgan) تئوری کروموزومی ساتن را به تئوری ژن تبدیل کرد و آلفونز جانسن (Alfons Janssens) تشکیل کیاسما را بین کروموزوم‌های همولوگ در میوز مشاهده کرد. طی اواخر دهه‌های ۱۹۲۰ و ۱۹۳۰ سیریل دارلینگتون (Cyril Darlington) به آشکارسازی نقل و انتقالات کروموزومی با استفاده از لاله‌هائی که در سفرش به ایران جمع‌آوری کرده بود پرداخت. در طی دهه ۱۹۲۰ بود که اصطلاح **ژنوم** وارد فهرست لغات علمی شد، که ادغامی از کلمه «ژنوم» (genom) (کلمه آلمانی برای ژن) و «ome» برگرفته از «کروموزوم» است.

هنگامی که اولین بار ارتباط بین توارث مندلی و کروموزوم‌ها برقرار شد، تصور می‌شد تعداد صحیح کروموزوم‌های انسانی ۴۸ باشد اگرچه مقالات متفاوتی، طیف مختلفی از اعداد را نشان داده بودند. تعداد ۴۸ عمدتاً به دلیل مقالهٔ تئوفیلوس پینتر (Theophilus Painter) در سال ۱۹۲۱، یک سیتولوژیست آمریکائی که دانشجوی بووری (Boveri) بود، مطرح شد. در واقع پینتر خود آماده‌سازی‌هائی داشت که به وضوح ۴۶ کروموزوم را نشان می‌دادند ولی با این وجود در نهایت عدد ۴۸ را پذیرفت. این تناقض‌ها احتمالاً به دلیل کیفیت ضعیف مواد مصرفی آن زمان بوده است. حتی در اوائل دهه ۱۹۵۰ سیتولوژیست‌ها ۴۸ کروموزوم را شمارش می‌کردند. در سال ۱۹۵۶ تعداد صحیح کروموزوم‌ها توسط تیجو و لوان (Tjio- Levan)، ۴۶ کروموزوم مشخص شد و سه سال پس از آن ساختار صحیح DNA مطرح گردید. طی چند سال نشان داده شد که برخی بیماری‌ها در انسان می‌توانند توسط کاهش یا افزایش یک کروموزوم و نیز توسط یک ناهنجاری در یک ژن ایجاد شوند. ناهنجاری‌های کروموزومی به تفصیل در فصل ۱۸ بحث می‌شوند. بعضی ناهنجاری‌های کروموزومی مثل جابه‌جائی‌ها می‌توانند در خانواده‌ها ایجاد شده و گاهی گفته می‌شود به روش مندلی تفکیک می‌شوند.

DNA به عنوان اساس توارث

با اینکه جیمز واتسون و فرانسیس کریک – (James Watson – Francis Crick) به دلیل کشف ساختار DNA در سال ۱۹۵۳ مورد توجه قرار گرفتند، اما علت اصلی موفقیت آنها این بود که نقش کلیدی DNA به عنوان ماده ژنتیکی در دهه ۱۹۴۰ مشخص شده بود. قبلاً خیلی‌ها تصور می‌کردند که ویژگی‌های توارثی توسط پروتئین‌ها منتقل می‌شوند تا اینکه معلوم شد ساختار مولکولی پروتئین‌ها در این مورد بسیار پیچیده است. اسیدهای نوکلئیک در واقع در سال ۱۸۶۹ کشف شدند. در سال ۱۹۲۸ فرد گریفیث (Fred Griffith) بر روی دوسویه استرپتوکوکوس کار می‌کرد که متوجه شد ویژگی‌های یک سویه می‌توانند به سویه دیگر منتقل شود و آن را **اصل ترانسفورم کننده** نامید. در سال ۱۹۴۴ در مؤسسه راکفلر در نیویورک اوسوالد آوری (Oswald Avery)، مکلین مک‌کارتی (Maclyn Mc Carty) و کولین مکلود (Colin Mcleod) هنگامی که بر روی پنوموکوک (استرپتوکوکوس پنومونی) کار می‌کردند DNA را به عنوان ماده ژنتیکی، تعیین نمودند. حتی پس از آن خیلی‌ها در جوامع علمی به آن شک داشتند؛ زیرا که DNA تنها یک مولکول ساده با تکرارهای فراوان چهار نوکلئوتیدی است ـ خیلی کسل‌کننده!



شکل ٤-١: تقسیم کروموزوم‌ها در دو سلول دختری در مراحل متفاوت تقسیم سلولی. **A**، متافاز؛ **B**، آنافاز؛ **C**، تلوفاز. رفتار کروموزوم‌ها در تقسیم سلولی (میتوز) به تفصیل در فصل ۳ شرح داده شده است.

نبوغ واتسون و کریک در کمبریج موجب ارائه ساختار DNA شد که ماهیت دقیق تولیدمثل بیولوژیکی را توضیح می‌دهد و ماریچ دورشته‌ای کارآمد آنها در آن زمان یک موفقیت بود. کار کریستالوگرافی اشعه X که توسط موریس ویلکینز (Maurice Wilkins) و روزالیند فرانکلین (Rosalind Franklin) در کالج کینگ لندن انجام شده بود، برای کشف آنها اهمیت بسیاری داشت.

این تنها آغاز راه بود، در ادامه لازم بود فرآیندی که توسط آن DNA (در واحدهای مجزائی به نام ژن) دستور ساخت دقیق پروتئین‌ها را صادر کرده و واحدهای باقتی را ایجاد می‌کند، کشف شود. توالی بازها در DNA و توالی آمینواسیدها در پروتئین، به عبارتی **کد ژنتیکی**، در برخی از آزمایشات بیوشیمیائی در دهه ۱۹۶۰ مشخص شد و امکان پیش‌بینی تغییرات بازی در DNA (که به تغییر آمینواسیدها در پروتئین منجر می‌شود) را فراهم ساخت. در آزمایشات بیشتر، فرانسیس کریک (Francis Crick)، پل زامکنیک (Paul Zamecnik) و ماهلون هوگلند (Mahlon Hoagland) مولکول RNA ناقل (tRNA) را مشخص کردند که دستورات ژنتیکی را از طریق آمینواسیدها بر روی ریبوزوم‌های داخل سلولی هدایت می‌کردند، تا در آنجا زنجیره‌های پروتئینی تولید گردند. تأیید این کشف‌ها با روش‌های توالی‌یابی DNA و با ظهور تکنیک‌های DNA نوترکیب صورت گرفت. به‌طور جالبی اولین صفت ژنتیکی در سطح مولکولی، قبلاً در سال ۱۹۵۷ با توالی‌یابی طاقت‌فرسای پروتئین تخلیص شده، تعیین شده بود. این صفت ژنتیکی کم‌خوانی داسی‌شکل بود که موتاسیون بر توالی آمینواسیدی پروتئین هموگلوبین خون اثر می‌گذارد.

مگس سرکه

قبل از آنکه به پیشرفت‌های تاریخی ژنتیک انسانی بازگردیم، شایسته است توجه کمی به موجودی خاص که در تحقیقات ژنتیک بسیار ارزشمند بوده، نمائیم. مگس سرکه (دروزوفیلا) دارای چندین مزیت مشخص در مطالعه ژنتیک می‌باشد:

۱ـ به آسانی در آزمایشگاه پرورش داده می‌شود.

۲ـ به سرعت و به تعداد زیاد (به تعداد ۲۰ یا ۲۵ نسل در هر سال) تولید مثل می‌کند.

۳ـ دارای صفاتی است که به آسانی شناسائی می‌شوند مثل بال‌های مجعد و بدن زردرنگ که از توارث مندلی پیروی می‌کنند.

۴ـ دروزوفیلا ملانوگاستر (Drosophila Melanogaster) گونه‌ای که اغلب بیشتر مطالعه می‌شود، تنها چهار جفت کروموزوم دارد که هر کدام دارای ظاهری واضح بوده و بنابراین به راحتی مشخص می‌شوند.

ـ۵ کروموزوم‌ها در غدد برانقی لارو دروزوفیلا. از بزرگ‌ترین کروموزوم‌های شناخته شده در طبیعت می‌باشند که حداقل ۱۰۰ برابر بزرگ‌تر از کروموزوم‌های سلول‌های بدن مگس سرکه است.

با توجه به این ویژگی‌های منحصر به فرد، مگس سرکه به صورت گسترده‌ای در آزمایشات اولیه خالص‌سازی (درون‌آمیزی) مورد استفاده قرار گرفت. امروزه مطالعه آنها هنوز دارای ارزش زیادی در زمینه‌هائی مثل بیولوژی تکوینی است، دانشی که با توجه به هومولوژی (تشابه) ژنی در سراسر سلسله جانوری دانشمندان را قادر ساخته تا خانواده‌های ژنی مهم در جنین‌ژنتی انسان را پیدا کنند (به فصل ۶ مراجعه شود). زمانی که پیشرفت‌های عمده علمی در تاریخچه ژنتیک بررسی می‌شوند، اشاره به توالی‌یابی ۱۸۰ میلیون جفت بازی ژنوم دروزوفیلا ملانوگاستر که تا سال ۱۹۹۹ تکمیل شد، حائز اهمیت می‌باشد.

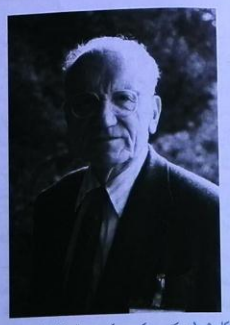
مبداءهای ژنتیک پزشکی

علاوه بر پیوردی موپرتوئیس (Pierre de Maupertuis) و جوزف آدامز (Joseph Adams) که قبلاً در مورد کنجاوی آنها به پلی‌داکتیلی و آلبینیسم اشاره شد، پیشگامان دیگری نیز بودند. جان دالتون که به دلیل تئوری اتمی‌اش معروف است بیماری‌هائی مثل کوررنگی و هموفیلی را مشاهده کرد که اکنون این بیماری‌ها را با الگوی توارث وابسته به جنس یا وابسته به X در نظر می‌گیرند. امروزه کوررنگی را گاهی هنوز به عنوان **دالتونیسم** (Daltonism) می‌شناسند. به صورت اجتناب‌ناپذیری این پایه‌گذاران ژنتیک انسانی و پزشکی تنها می‌توانستند در مورد ماهیت مکانیسم‌های توارثی این بیماری‌ها حدس بزنند. در سال ۱۹۰۰ کار مندل دوباره مطرح شد. مقاله او تقریباً همزمان توسط سه گیاه‌شناس اروپائی ـ دی‌وریس (De Vries) (هلند)، کورنز (Correns) (آلمان) و ون تسچر ماک (Von Tschermak) (اتریش) ـ نقل قول گردید و این مرحله، آغاز حقیقی ژنتیک پزشکی را نشانه‌گذاری کرد و انگیزه زیادی را برای مطالعه بیماری‌های توارثی ایجاد نمود. امتیاز شناسائی اولین صفت تک‌ژنی به ویلیام باتسون (William Bateson) و آرچیبلد گارود (Archibald Garrod) تعلق گرفت که با همدیگر پیشنهاد دادند الکاپتونوریا یک بیماری مغلوب نادر می‌باشد. در این بیماری نسبتاً خوش‌خیم، ادرار در معرض قلیا یا هوا به رنگ تیره درمی‌آید که به دلیل ناتوانی بیمار در متابولیسم هموجنتیسیک اسید است.

اطفال مبتلا در محل پوشک‌شان بی‌رنگ‌شدن پوست را نشان می‌دهند و بزرگسالان مبتلا ممکن است در مفاصل‌شان دچار آرتریت شوند. با درک اینکه در این بیماری توارثی، یک فرآیند شیمیائی دخیل است گارود اصطلاح **نقائص مادرزادی متابولیسم** (inborn error of metabolism) را در سال ۱۹۰۸ بکار برد. به هر حال کار او تا اواسط قرن بیستم به‌طور عمده مورد غفلت واقع شد، زمانی که با ظهور الکتروفورز و کروماتوگرافی، بیوشیمی متحول گردید. چند صد نوع از این بیماری‌ها اکنون شناخته شده‌اند و در رشته‌ای به نام **ژنتیک بیوشیمیائی** مطالعه می‌شوند (به فصل ۱۱ مراجعه شود). تاریخچه الکاپتونوری تقریباً در کل قرن بیستم مطرح بود که با مشاهدات اولیه گارود در مورد توارث مغلوب در سال ۱۹۰۲ آغاز و در سال ۱۹۹۶ با کلون‌سازی ژن مربوطه در کروموزوم ۳ به اوج خود رسید. طی قرن بیستم کم‌کم عوامل توارثی در بسیاری از بیماری‌ها مشخص شد و مکانیسم‌های ژنتیکی متفاوت دخیل در آنها معلوم گردیدند. بیماری‌های توارثی تحت عنوان **تک ژنی، کروموزومی و چند عاملی** در نظر گرفته می‌شوند. به‌طور فزاینده‌ای مشخص شده که تعامل بین ژن‌های متفاوت (توارث پلی‌ژنی) در بیماری‌ها حائز اهمیت بوده و دسته دیگری به نام **بیماری‌های ژنتیکی سوماتیکی اکتسابی** نیز باید در نظر گرفته شوند.

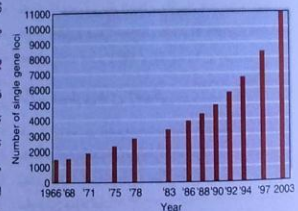
بیماری‌های تک ژنی

علاوه بر الکاپتونوریا، گارود پیشنهاد کرد آلبینیسم و سیستونوریا نیز توارث مغلوب نشان می‌دهند. در ادامه سایر مثال‌ها نیز به زودی ارائه شدند که منجر به انبوهی از اطلاعات و شرح بیماری‌ها گردید. تا سال ۱۹۶۶ تقریباً ۱۵۰۰ بیماری یا صفت تک‌ژنی تعیین شدند که توسط یک پزشک آمریکائی به نام ویکتور مک‌یوسیک (Victor Mckusick) (شکل ۵-۱) به صورت کاتالوگی از بیماری‌های تک‌ژنی شناخته شده، منتشر گردید.



شکل ۵-۱: ویکتور مک‌یوسیک در سال ۱۹۹۴، که مطالعات و کاتالوگ او برای ژنتیک پزشکی بسیار حائز اهمیت بود.

تا سال ۱۹۹۸ زمانی که دوازدهمین ویرایش این کاتالوگ چاپ شد، بیش از ۸۵۰۰ مورد را شامل می‌شد (شکل ۶-۱). رشد کاتالوگ مک‌یوسیک تصاعدی بوده و اکنون به صورت الکترونیکی از طریق اینترنت به عنوان Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) در دسترس می‌باشد (به ضمیمه مراجعه کنید). تا سال ۲۰۱۰، OMIM در کل دارای حدود ۲۰,۰۰۰ مورد بود.



شکل ۶-۱: هیستوگرامی نشان‌دهندهٔ افزایش سریع شناسائی بیماری‌ها و صفاتی که توارث تک‌ژنی دارند.

ناهنجاری‌های کروموزومی

با تکنیک‌های پیشرفته‌تر در مطالعهٔ کروموزوم‌ها در سال ۱۹۵۹ مشخص شد که وجود یک کروموزوم اضافی ۲۱ (تریزومی ۲۱) منجر به سندرم داون می‌شود. کشف‌های مشابهی به سرعت در ادامه در سال ۱۹۵۹ ـ در مورد سندرم‌های کلاین‌فلتر و ترنر ـ رخ داد. سپس تعیین ناهنجاری‌های کروموزومی با پیشرفت تکنیک‌های نواربندی در سال ۱۹۷۰ تسهیل شد. این روش‌ها تشخیص دقیق کروموزوم‌های منفرد و نیز تأیید وجود کاهش یا افزایش حتی قطعه کوچکی از یک کروموزوم را که می‌تواند اثرات مخربی در تکوین انسان داشته باشد، را فراهم نمودند (به فصل ۱۸ مراجعه شود).

بعداً مشخص شد چندین بیماری نادر با علائم مشکلات یادگیری و ویژگی‌های فیزیکی غیرطبیعی به دلیل کاهش مقادیر خیلی کمی از ماده کروموزومی می‌باشند که حتی با استفاده از قوی‌ترین میکروسکوپ‌های نوری هیچ ناهنجاری‌ای قابل تشخیص نبود. این بیماری‌ها را به عنوان سندرم‌های ریزحذفی (microdeletion syndromes) در نظر گرفته و تشخیص آنها با استفاده از تکنیکی به نام **FISH (هیبریدسازی فلئورسنت در جا)**، که روش‌های آنالیز کروموزومی مرسوم (سیتوژنتیک) را با تکنولوژی تشخیصی جدیدتر DNA (ژنتیک مولکولی) ترکیب می‌کند انجام می‌گردد. با این حال تکنیک اخیر ریزآرایه CGH **(هیبریدسازی ژنومی مقایسه‌ای)** ژنتیک بالینی را با تشخیص عدم تعادل‌های ژنومی بسیار جزئی، متحول ساخته است.

بیماری‌های چند عاملی

فرانسیس گالتون (Francis Galton)، پسرعموی چارلز داروین توجه زیادی به صفات انسانی نظیر قد، هیکل و هوش داشت. اکثر تحقیقات او براساس مطالعه دوقلوهای یکسان بود که در آنها مشخص بود تفاوت‌های این صفات عمدتاً می‌بایست به دلیل اثرات محیطی باشد. گالتون مفهوم **ضریب رگرسیون** (regression coefficient) را در ژنتیک به عنوان وسیله‌ای برای تخمین میزان درجه تشابه بین خویشاوندان مختلف ارائه کرد. این مفهوم بعداً گسترش یافت تا کشف ژن‌های مندلی را نیز شامل

شود و تلاش شد تا توسط آن چگونگی پارامترهائی مثل قد و رنگ پوست که در اثر تعامل ژن‌های بسیاری (هر کدام با یک اثر افزایشی کم) ایجاد می‌شوند، توضیح داده شود. این مورد در نقطه مقابل صفات تک‌ژنی است که عملکرد یک ژن به‌طور مستقل و به صورت غیرافزایشی اعمال می‌گردد.

این مدل **توارث کمّی** (quantitative inheritance) اکنون به صورت گسترده مورد قبول می‌باشد و برای توضیح الگوی توارثی مشاهده شده در بسیاری از بیماری‌های نسبتاً شایع به کار رفته است (به فصل ۹ مراجعه شود). این بیماری‌ها شامل بدشکلی‌های مادرزادی مثل شکاف لب و کام و بیماری‌هائی با تأخیر سن بروز مثل فشارخون، دیابت شیرین و بیماری آلزایمر می‌باشند. دیدگاه غالب این است که ژن‌ها در چندین لکوس با هم تعامل داشته، تا استعداد ابتلاء به بیماری را در برابر اثرات نامطلوب محیطی ایجاد کنند. تحقیقات اخیر تأیید کرده‌اند که بسیاری از ژن‌ها در اکثر این بیماری‌های دارای تأخیر سن بروز دخیل بوده، اگرچه به‌طور ناامیدکننده‌ای پیشرفت در تعیین لکوس‌های مستعدکنندهٔ ویژه، آهسته بوده است. همچنین مشخص شده که در برخی از بیماری‌ها مثل دیابت شیرین نوع یک، ژن‌های متفاوتی، اثرات عمده یا جزئی در تعیین استعداد ابتلاء به بیماری دارند. به‌طور کلی بیماری‌های **پلی‌ژنی** (Polygenic) یا **مولتی فاکتوریال (چند عاملی)** اکنون بخش عمده‌ای از بیماری‌های مزمن دورهٔ بزرگسالی را شامل می‌شوند (به فصل ۱۵ مراجعه شود).

بیماری‌های ژنتیکی سوماتیکی اکتسابی

تمام اختلالات ژنتیکی از زمان لقاح وجود ندارند. میلیون‌ها تقسیم سلولی (میتوز) در طول عمر متوسط زندگی انسانی رخ می‌دهند. طی هر میتوز احتمال جهش‌های تک‌ژنی به دلیل خطاهای تکثیر DNA و نیز ناهنجاری‌های تعدادی کروموزوم‌ها، به دلیل اختلال در تفکیک کروموزومی وجود دارد. اکنون مشخص شده که تجمع جهش‌های سوماتیکی و ناهنجاری‌های کروموزومی نقش عمده‌ای در ایجاد سرطان دارند (به فصل ۱۴ مراجعه شود) و آنها احتمالاً افزایش میزان بروز بیماری‌های جدی مرتبط با سن را مثل فرآیند پیری توضیح خواهند داد.

بنابراین لازم است تأکید گردد که همهٔ بیماری‌ها با اساس ژنتیکی، توارثی نیستند. قبل از آنکه به اثرات بیماری‌های توارثی اشاره کنیم، بهتر است چند اصطلاح را تعریف نمائیم.

میزان بروز (Incidence)

میزان بروز به مقدار موارد جدید ایجاد شده اشاره دارد. بنابراین اگر میزان تولد یک بیماری خاص ۱ در ۱۰۰۰ باشد به‌طور متوسط $\frac{1}{1000}$ نوزادان تازه متولد شده، از مبتلا می‌باشند.

شیوع (Prevalence)

به نسبتی از جمعیت مبتلا در هر زمان اشاره می‌کند. شیوع یک بیماری ژنتیکی معمولاً کمتر از میزان بروز آن می‌باشد، زیرا قدرت بقاء کاهش یافته یا بیماری با تأخیر سن بروز، تظاهر پیدا می‌کند.

فراوانی (Frequency)

فراوانی اصطلاحی کلی است که فاقد اختصاصیت علمی بوده، اگرچه این کلمه گاهی در زمان محاسبه فراوانی‌های ژنی، مترادف میزان بروز در نظر گرفته می‌شود (به فصل ۸ مراجعه شود).

مادرزادی (Congenital)

مادرزادی به این معناست که بیماری در زمان تولد وجود دارد. بنابراین شکاف کام مثالی از یک بدشکلی مادرزادی است. تمام بیماری‌های ژنتیکی براساس سن بروز (مثل بیماری هانتینگتون) مادرزادی نبوده و نیز تمام ناهنجاری‌های مادرزادی منشاء ژنتیکی ندارند (مثل از هم گسیختگی جنینی(Fetal disruption)، همانطور که در فصل ۱۶ آمده است).

تأثیر بیماری‌های ژنتیکی

طی قرن بیستم، پیشرفت‌ها در همهٔ زمینه‌های پزشکی بخصوص در بهداشت عمومی و درمان منجر به تغییر الگوهای بیماری‌ها شده، که با افزایش شناسائی نقش عوامل ژنتیکی در تمام سنین همراه است.

در مورد چند پارامتر مثل مرگ و میر قبل از تولد، تعداد واقعی موارد با عوامل منحصراً ژنتیکی احتمالاً ثابت باقی مانده،

اما به دلیل کاهش سایر عوامل مثل عفونت‌ها، مقدار نسبی بیماری‌های ژنتیکی در کل افزایش یافته است. در مورد سایر بیماری‌ها مثل بیماری‌های مزمن دورهٔ بزرگسالی عوامل کلی ژنتیکی تقریباً به‌طور قطعی افزایش یافته است، زیرا امید به زندگی بیشتر، فرصت بیشتری به تعاملات ژنتیکی و محیطی نامطلوب می‌دهد، تا خود را نشان دهد (برای مثال در مورد بیماری‌های آلزایمر، تخریب ماکولار، کاردیومیوپاتی و دیابت شیرین). به اثر عوامل ژنتیکی در بروز بیماری در سنین مختلف در موارد زیر توجه کنید.

سقط‌های خودبخودی

یک ناهنجاری کروموزومی در ۴۰٪ تا ۵۰٪ همهٔ سقط‌های سه ماهه اول حاملگی وجود دارد. تقریباً ۱/۶ همه حاملگی‌های شناخته شده به سقط خودبخودی ختم می‌شوند بنابراین ۵٪ تا ۷٪ تمام حاملگی‌های از لحاظ کروموزومی غیرطبیعی می‌باشند. این مقدار بیشتر خواهد شد اگر حاملگی‌های شناخته نشده را نیز به آنها اضافه کنیم و احتمالاً بخش عمده‌ای از سقط‌ها با کروموزوم‌های طبیعی، در واقع دارای ناهنجاری‌های ژنتیکی تحت میکروسکوپی کشنده می‌باشند.

نوزادان

از تمام نوزادان ۲٪ تا ۳٪ حداقل دارای یک ناهنجاری عمده مادرزادی می‌باشند، که حداقل ۵۰٪ آنها منحصراً یا نسبتاً توسط عوامل ژنتیکی ایجاد شده‌اند (به فصل ۱۶ مراجعه شود). میزان بروز ناهنجاری‌های کروموزومی و بیماری‌های تک‌ژنی در نوزادان به ترتیب تقریباً $\frac{1}{200}$ و $\frac{1}{100}$ می‌باشد.

کودکی

بیماری‌های ژنتیکی مسئول ۵۰٪ کل نابینائی‌های کودکی، ۵۰٪ کل ناشنوائی‌های کودکی و ۵۰٪ کل موارد مشکلات یادگیری هستند. در کشورهای پیشرفته بیماری‌های ژنتیکی و بدشکلی‌های مادرزادی با هم، مسئول ۳۰٪ پذیرش‌های بیمارستانی کودکان و ۴۰٪ تا ۵۰٪ مرگ‌های دوران کودکی می‌باشند.

دوران بزرگسالی

تقریباً ۱٪ کل بدخیمی‌های توسط توارث تک‌ژنی ایجاد می‌شوند و بین ۵٪ تا ۱۰٪ سرطان‌های شایع همانند سرطان‌های پستان، کولون و تخمدان یک جزء توارثی قوی دارند. تا سن ۲۵ سالگی ۵٪ از جمعیت عمومی یک بیماری نشان می‌دهند که عوامل ژنتیکی نقش مهمی در آن دارند. با در نظر داشتن نقش عوامل ژنتیکی در سرطان و بیماری‌های قلبی ـ عروقی، تخمین زده می‌شود که بیش از ۵۰٪ جمعیت بزرگسالان مسن در کشورهای پیشرفته دارای یک مشکل مشخص ژنتیکی باشند.

پیشرفت‌های مهم و جدید

امروزه مطالعه ژنتیک و نقش آن به عنوان مسبّب بیماری‌های انسانی، به‌طور گسترده‌ای به عنوان یکی از تأثیرگذارترین و مهیج‌ترین زمینه‌های تحقیق در پزشکی پذیرفته شده است. از سال ۱۹۶۲ وقتی که فرانسیس کریک، جیمز واتسون و موریس ویلکینز به خاطر آشکارسازی ساختار DNA جایزه نوبل دریافت کردند، جایزه نوبل فیزیولوژی و یا پزشکی ۲۲ بار به دانشمندانی که در زمینهٔ ژنتیک مولکولی یا انسانی و زمینه‌های مرتبط تحقیق کرده‌اند، تعلق گرفته است (جدول ۱-۱) و برای اولین بار در سال ۲۰۰۹ در یک سال دو جایزه نوبل در این زمینه اهدا شده است. این مطالعات پیشگامانه باعث ایجاد یک صنعت فن‌آوری مولکولی در حال رشد شده است، که کاربردهای این صنعت متنوع بوده و از محصولات کشاورزی دستکاری شده مقاوم به بیماری‌ها گرفته تا استفاده از موش‌های دستکاری شده از طریق مهندسی ژنتیک که دارو تولید می‌کنند و همچنین عرضه واکسن‌های بر مبنای DNA برای بیماری‌هایی همچون مالاریا را در بر می‌گیرد. شرکت‌های داروسی به‌طور هنگفتی بر روی درمان بر اساس **فارماکوژنومیک بر مبنای DNA** (DNA-based pharmacogenomics) سرمایه‌گذاری کرده‌اند که هدف آن تجویز دارو بر اساس ساختار ژنتیکی افراد است.

پروژه ژنوم انسان

همانطور که فن‌آوری DNA به سرعت پیشرفت می‌کرد، عده‌ای از دانشمندان خیال‌پرداز در ایالات متحده در سال ۱۹۸۸

کنگره آمریکا را متقاعد کردند که بودجهٔ یک برنامه هماهنگ بین‌المللی را پرداخت کند که طی این برنامه قرار شد کل ژنوم انسان تعیین توالی شود. قرار بود که برنامه از سال ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۵ اجرا شود و در ابتدا ۳ میلیارد دلار آمریکا به آن اختصاص یافت. ۵ درصد از این بودجه نیز به مطالعه جنبه‌های اخلاقی و اجتماعی این دانش نوپا، در شناخت اثرات آن بر سیاست‌های بهداشت عمومی، برنامه‌های غربال‌گری و گزینه‌های فردی اختصاص یافت. پروژه از نظر پیچیدگی‌اش شبیه پروژه آپولو سفر به ماه بود. اگرچه در زمینه کاربردهای پروژه، مزایای دراز مدت آن بسیار ملموس‌تر از این پروژه بود. نسخه اولیه توالی DNA ۳ میلیارد جفت بازی به طور موفقیت‌آمیزی در سال ۲۰۰۰ تکمیل شد و توالی کامل ژنوم انسان قبل از موعد مقرر در اکتبر ۲۰۰۴ منتشر شد. قبل از اتمام پروژه، تصور بر این بود که ممکن است ژنوم انسان دارای ۱۰۰،۰۰۰ ژن کدکننده باشد که اساس حیات انسانی هستند. اما برای بسیاری تعجب‌آور بود که تعداد ژن‌ها بسیار کمتر از این حد بوده و با تخمین فعلی، کمی بیش از ۲۵۰۰۰ ژن در ژنوم انسان وجود دارد. اگرچه بسیاری از ژن‌ها دارای توانایی انجام چندین نقش مختلف بوده و به همین خاطر در برخی موارد، مفهوم سنتی طبقه‌بندی بیماری‌ها چالش‌برانگیز بوده است. تأثیر فوری اطلاعات این پروژه در تحقیقاتی درک می‌شود که منجر به تشخیص دقیق‌تر و ارائه مشاوره بهتر برای خانواده‌های مبتلا به یک بیماری ژنتیکی می‌شود. تعداد عظیمی از مطالعات طولانی‌مدت بر مبنای جمعیت (Population – based Studies) فوراً پس از پروژه موفقیت‌آمیز ژنوم انسان در دست انجام می‌باشند و از جملهٔ آنها می‌توان به UK Biobank اشاره کرد که هدف آن مطالعه بر روی ۵۰۰،۰۰۰ نفر، با افراد ۴۰ تا ۶۹ ساله برای مطالعهٔ پیشرفت بیماری‌های شایع، نحوهٔ زندگی آنها و استعداد ژنتیکی‌شان است.

تکنیک microarray CGH یکی از پیشرفت‌های بسیار مهم در تحقیق بیماری‌های ژنتیکی از زمان کشف کروموزوم‌ها بوده است. اما تعیین توالی در سطح ژنوم (Whole genome sequencing) احتمالاً جزء تست‌های ژنتیکی آینده خواهد بود، اگر تکنولوژی‌های موجود در این زمینه در آینده سریع و مقرون به صرفه باشند. اما این پیشرفت‌ها منجر به ایجاد چالش‌های اخلاقی دیگری در ارتباط با استفاده و کاربرد این تکنولوژی‌ها خواهند شد. در یک بازهٔ زمانی طولانی‌تر فهم کامل‌تر چگونگی بیان ژن‌ها، به‌طور مؤثری منجر به توسعهٔ استراتژی‌های جدید برای جلوگیری و درمان بیماری‌های تک‌ژنی و چندژنی می‌شود.

ژن درمانی

اکثر بیماری‌های ژنتیکی به درمان‌های سنتی و معمول مقاوم بوده و بنابراین چشم‌انداز تغییر موفقیت‌آمیز کد ژنتیکی در سلول‌های بیمار، بسیار جذاب است. علی‌رغم سرمایه‌گذاری‌های کلان و تحقیقات بسیار، موفقیت این گونه تغییرات در انسان تا به حال محدود به چند بیماری ایمنولوژیک خیلی نادر بوده است. برای بیماری‌های شایع‌تر همچون فیبروز کیستی مشکلات اصلی که پژوهشگران با آن مواجه شده‌اند، شامل هدف قرار دادن جمعیت سلولی مناسب، غلبه بر سدهای دفاعی طبیعی بدن و دسترسی به وکتورهایی که سیستم ایمنی را تحریک نمی‌کنند، است. هر چند دسترسی به مدل‌های موشی برای بیماری‌های ژنتیکی همچون فیبروز کیستی، بیماری هانتینگتون و دیستروفی عضلانی دوشن به‌طور قابل توجهی فرصت‌های تحقیقاتی را، مخصوصاً در آشکار کردن زیست‌شناسی سلولی این بیماری‌ها، افزایش داده است. در سال‌های اخیر خوش‌بینی‌های روزافزونی در مورد درمان‌های دارویی جدید و درمان با سلول‌های بنیادی، در کنار چشم‌انداز ژن درمانی ایجاد شده است.

اینترنت

دسترسی به اطلاعات مربوط به علم ژنتیک، با پیشرفت و توسعه پایگاه‌های اطلاعاتی اینترنتی به‌طور چشمگیری تسهیل شده است و یک مجموعه‌ای از پایگاه‌های اطلاعاتی به خوبی طراحی شده در GenBank – Ensembl و DDBJ در بخش ضمیمه لیست شده است. تا سال ۲۰۱۰ بیش از هزار پایگاه اطلاعاتی زیست‌شناسی مولکولی وجود داشته و حرکت از طریق این مسیر پیچ در پیچ نه تنها برای تازه‌کارها، بلکه برای باتجربه‌ها نیز هراس‌آور است. این حجم انبوه اطلاعات، منجر به رشد یک زمینه تحقیقاتی جذاب موسوم به **بیوانفورماتیک** (Bioinformatics) شده است، علمی که حاصل ادغام زیست‌شناسی، علوم کامپیوتر و تکنولوژی اطلاعات است. این

جدول ۱-۱ کشفیات ژنتیکی که منجر به اهدای جایزه نوبل پزشکی و یا فیزیولوژی و یا شیمی بین سال‌های ۱۹۶۲-۲۰۰۹ شده است.

سال	برندگان جایزه	کشف مربوطه
1962	Francis Crick James Watson Maurice Wilkins	ساختار مولکولی DNA
1965	Francois Jacob Jacques Monod André Lwoff	تنظیم ژنتیکی
1966	Peyton Rous	ویروس‌های سرطان‌زا
1968	Robert Holley Gobind Khorana Marshall Nireberg	کشف کد ژنتیکی
1975	David Baltimore Renato Dulbecco Howard Temin	تعامل بین ویروس‌های تومورزا و DNA هسته‌ای
1978	Werner Arber Daniel Nathans Hamilton Smith	آنزیم‌های محدودکننده
1980	Baruj Benacerraf Jean Dausset George Snell	کنترل ژنتیکی پاسخ‌های ایمنولوژیک
1983	Barbara McClintock	ژن‌های متحرک (ترانسپوزون‌ها)
1985	Michael Brown Joseph Goldstein	گیرنده‌های سلولی در هایپرکلسترولمی خانوادگی
1987	Susumu Tonegawa	جنبه‌های ژنتیکی آنتی‌بادی‌ها
1989	Michael Bishop Harold Varmus	مطالعهٔ انکوژن‌ها
1993	Richard Roberts Philip Sharp	ژن‌های منقطع (دارای اینترون)
1995	Edward Lewis Christiane Nüsslein-Volhard Eric Wieschaus	ژن‌های هومئوتیک و دیگر ژن‌های تکوینی
1997	Stanley Prusiner	پریون‌ها
1999	Günter Bloble	سیگنال‌دهی در توزیع پروتئین
2000	Arvid Carlsson Paul Greengard Eric Kandel	انتقال علائم در سیستم عصبی
2001	Leland Hartwell Timothy Hunt Paul Nurse	تنظیم‌کننده‌های چرخهٔ سلول
2002	Sydney Brenner Robert Horritz John Sulston	تنظیم ژنتیکی در تکوین و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپاپتوز)
2006	Andrew Fire Craig Mello	تداخل RNA (RNA Interference)
2007	Mario Capecchi Marthin Evans Oliver Smithies	دستکاری ژنی با استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی
2009	Elizabeth Blackburn Carol Greider Jack Szostak	نقش تلومراز در حفاظت از تلومرهای کروموزوم (جایزه نوبل پزشکی)
2009	Venkatraman Ramakrishnan Thomas A Steitz Ada E.Yonath	ساختار و عملکرد ریبوزوم‌ها (جایزه نوبل شیمی)

رشته دربرگیرنده اطلاعات مربوط به نقشه‌های ژنی، توالی‌های DNA و ژنومیک مقایسه‌ای و عملکردی و بسیاری از موارد دیگر است. اگرچه آشنایی با پایگاه‌های اطلاعاتی دارای لینک‌های مرتبط‌کننده برای یک متخصص ژنتیک مولکولی ضروری است، آشنایی با این پایگاه‌های اطلاعاتی برای یک متخصص بالینی باهوش و علاقه‌مند به علم ژنتیک نیز مفید خواهد بود. این فرد OMIM را مکان مناسبی برای شروع بررسی همهٔ ناهنجاری‌های مندلی، همراه با جزئیات بالینی بیماری‌ها و منابع فراوان ذکر شده برای هر بیماری می‌یابد. هرچند بعید است که منابع اطلاعاتی معمولی‌تر همچون این کتاب، کاملاً منسوخ شوند، اما واضح است که فقط فن‌آوری الکترونیک می‌تواند با سرعت انفجاری پیشرفت‌ها در همه زمینه‌های تحقیقات ژنتیکی، سازگار باشد.

مطالعات بیشتر

Baird PA, Anderson TW, Newcombe HB, Lowry RB 1988 Genetic disorders in children and young adults: a population study. Am J Hum Genet 42: 677-693

A comprehensive study of the incidence of genetic disease in a large Western urban population.

Dunham I, Shimizu N, Roe BA, et al 1999 The DNA sequence of human chromosome 22. Nature 402:489-495

The first report of the complete sequencing of a human chromosome.

Emery AEH, 1989 Portraits in medical genetics-Joseph Adams 1756-1818. J Med Genet 26:116-118

An account of the life of a London doctor who made remarkable observations about hereditary disease in his patients.

Garrod AE 1902 The incidence of alkaptonuria: a study in chemical individuality. Lancet ii:1916-1920

A landmark paper in which Garrod proposed that also noted that 'the mating of first cousins gives exactly the conditions most likely to enable a rare, and usually recessive, character to show itself'.

Orel V 1995 Gregor Mendel: the first geneticist. Oxford: Oxford University Press

A detailed biography of the life and work of the Moravian monk who was described by his abbot as being 'very diligent in the study of the sciences but much less fitted for work as a parish priest'.

Ouellette F 1999 Internet resources for the clinical geneticist. Clin Genet 56:179-185.

A guide to how to access some of the most useful online databases.

Shapiro R 1991 The human blueprint: the race to unlock the secrets of our genetic script. New York: St Martin's Press.

Watson J 1968 The Double Helix. New York: Atheneum.

The story of the discovery of the structure of DNA, through the eyes of Watson himself.

سایت‌های اینترنتی

Online Mendelian Inheritance in Man:
www.ncbi.nlm.nih.gov/omim

For literature:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/
http://scholar.google.com/

Genome:
www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/GenBank
www.hgmd.cf.ac.uk (human, Cardiff)
www.ensembl.org (human, comparative, European, Cambridge)
http://genome.ucsc.edu (American browser)

نکات مهم

۱ـ صفتی که در هتروزیگوت‌ها (هیبریدها) بروز می‌کند غالب است. یک صفت مغلوب تنها در افرادی که دارای دو نسخه جهش‌یافته از ژنی خاص هستند، (یعنی فرد هموزیگوت) بروز می‌کند.

۲ـ مندل پیشنهاد کرد که هر فرد برای هر صفت دارای دو ژن است: هر یک از این دو ژن از یکی از والدین به ارث رسیده و به هر فرزند منتقل می‌شود. ژن‌ها در جایگاه‌های ژنی مختلف به‌طور مستقل از هم تفکیک شده و به ارث می‌رسند.

۳ـ تفکیک کروموزوم‌ها درتقسیم سلولی، تفکیک و توزیع ژن‌ها را تسهیل می‌کند.

۴ـ ناهنجاری‌های ژنتیکی حداقل در ۲ درصد تازه متولدین دیده می‌شود و عامل ۵۰ درصد نابینایی، ناشنوایی و مشکلات یادگیری بوده و ۵ درصد جمعیت تا ۲۵ سالگی مبتلا به بیماری‌های ژنتیکی هستند.

۵ـ از زمان کشف دوباره قوانین ژنتیکی مندل در مورد نخود فرنگی تا تعیین توالی کامل ژنوم انسان تقریباً ۱۰۰ سال زمان سپری شده است.

۶ـ ژنتیک مولکولی و زیست‌شناسی مولکولی طلایه‌دار تحقیقات پزشکی بوده و توسط یک رشتهٔ جدید علمی موسوم به بیوانفورماتیک حمایت شده و نویدبخش شکل‌های جدید درمان برای بیماری‌های ژنتیکی است.

اساس سلولی و مولکولی توارث

جناب! هیچ موضوع کوچکی برای مخلوق کوچکی همانند انسان وجود ندارد. با مطالعهٔ موضوعات کوچک است که می‌توانیم هنر بزرگ نامیدن کهتر و شادمانی بیشتر را کسب کنیم.

«سامونل جانسون»

ماده وارثتی در هسته سلول‌ها می‌باشد، در حالی که سنتز پروتئین در سیتوپلاسم رخ می‌دهد. زنجیره اتفاقاتی که از ژن تا محصول نهائی رخ می‌دهد چه می‌باشند؟ در این فصل اساس زیست‌سلولی ساختار DNA، فرآیند همانندسازی DNA، انواع توالی‌های DNA، ساختار ژن، کد ژنتیکی، فرآیند رونویسی و ترجمه، انواع متفاوت موتاسیون‌ها، عوامل موتاسیون‌زا و تعمیر DNA به‌صورت خلاصه مورد بررسی قرار گرفته است.

سلول

درون هر سلول بدن در زیر میکروسکوپ نوری **سیتوپلاسم** و یک توده تیره‌رنگ یا همان **هسته** قابل رؤیت می‌باشند. هسته حاوی ماده توارثی به شکل **کروموزوم‌ها** است (شکل ۱-۲). دو لایه فسفولیپیدی غشاء سلولی، از محیط داخلی سلول محافظت می‌کند، با این وجود به طور انتخابی نفوذپذیر بوده و دارای پروتئین‌های اینتگرال (سراسری) است که در شناسائی و پیام‌رسانی بین سلول‌ها نقش دارند. هسته دارای ناحیه تیره‌رنگی به نام **هستک** است. هسته با غشائی احاطه شده که **پوشش هسته‌ای** نامیده می‌شود و آن را از سیتوپلاسم جدا می‌سازد. امکان ارتباط هسته با سیتوپلاسم توسط **منافذ هسته‌ای** برقرار می‌شود.

سیتوپلاسم حاوی **سیتوزول** است که به‌صورت نیمه مایع دربرگیرندهٔ عناصر محلول و اجزاء ساختاری اسکلت سلولی می‌باشد. بعلاوه در سیتوپلاسم سیستم پیچیده‌ای از کانال‌های ظریف، پیچ در پیچ و مرتبط به هم به نام **شبکه آندوپلاسمی** وجود دارد. شبکه آندوپلاسمی با **ریبوزوم‌ها** در بیوسنتز پروتئین‌ها و چربی‌ها نقش دارند. بعلاوه در داخل سیتوپلاسم اندامک‌های سلولی ریزتری نیز وجود دارند که تنها با میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده‌اند. این اجزاء شامل دستگاه گلژی است که مسئول ترشح محصولات سلولی بوده، **میتوکندری** که در تولید انرژی از طریق **مسیر** متابولیسمی فسفوریلاسیون اکسیداتیو نقش دارد و **پراکسی‌زوم‌ها** و **لیزوزوم‌ها** می‌باشند که هر دو در تجزیه و دفع مواد زائد سلولی و مولکول‌های سمی نقش دارند.

DNA : ماده وراثتی

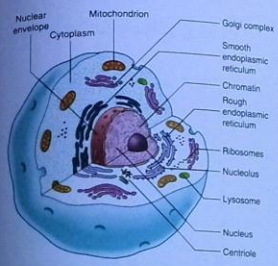
ترکیب

اسید نوکلئیک از یک پلیمر بلند از مولکول‌های منفردی به نام **نوکلئوتید** تشکیل شده است. هر نوکلئوتید از یک باز نیتروژنی، یک مولکول قند و یک مولکول فسفات ساخته شده است. بازهای نیتروژنی به دو نوع تقسیم می‌شوند: **پورینی** و **پیریمیدینی**. بازهای پورینی شامل آدنین و گوانین، بازهای پیریمیدینی شامل سیتوزین، تیمین و یوراسیل می‌باشند.

دو نوع اسید نوکلئیک متفاوت وجود دارد: **ریبونوکلئیک** اسید (RNA) که دارای قند ریبوز پنج کربنه است و **دئوکسی ریبونوکلئیک اسید** (DNA) که در آن گروه هیدروکسیل موقعیت دوم قند ریبوز با یک هیدروژن جایگزین شده است (مولکول اکسیژن حذف شده است، بنابراین به آن دئوکسی می‌گویند).

DNA و RNA هر دو دارای بازهای پورینی آدنین و گوانین و باز پیریمیدینی سیتوزین می‌باشند اما تیمین تنها در DNA و یوراسیل تنها در RNA یافت می‌شود.

RNA در سیتوپلاسم و به‌خصوص در غلظت‌های بالا در هستک (بخشی از هسته) می‌باشد. از طرف دیگر DNA به طور عمده در کروموزوم‌ها یافت می‌شود.



شکل ۱-۲: تصویر شماتیک یک سلول جانوری

ساختار

برای آنکه ژن‌ها در ساختار DNA قرار بگیرند لازم است که DNA دارای ساختاری انعطاف‌پذیر باشد تا بتواند طیف زیادی از انواع ژن‌های مختلف را در بر بگیرد و همچنین باید بتواند تکثیر پیدا کند تا در هر تقسیم سلولی کپی‌های یکسانی ایجاد نماید. در سال ۱۹۵۳ واتسون و کریک براساس مطالعات تفرق اشعه X انجام شده توسط خودشان و دیگران، ساختاری را برای مولکول DNA مطرح کردند که تمام خصوصیات DNA به‌عنوان مادهٔ ژنتیک را در بر داشت. آنها پیشنهاد کردند که مولکول DNA از دو زنجیرهٔ نوکلئوتیدی آرایش یافته در یک مارپیچ دورشته‌ای تشکیل شده است. اسکلت هر زنجیره توسط پیوند فسفودی‌استر بین کربن‌های ۳ و ۵ قندهای مجاور هم ساخته شده و دو زنجیره توسط پیوندهای هیدروژنی بین بازهای نیتروژنی که در مرکز مارپیچ قرار گرفته‌اند، در کنار هم نگه داشته شده‌اند. هر زنجیر DNA دارای قطبیت است که با جهت اسکلت قند – فسفات مشخص می‌شود. انتهای زنجیره دارای اتم کربن ۵ مولکول قند، به عنوان **انتهای ۵** و انتهای دیگر دارای اتم کربن ۳، **انتهای ۳** نامیده می‌شود. در مارپیچ DNA انتهای ۵ یک رشته در مقابل انتهای ۳ رشتهٔ دیگر قرار دارد و از آنجا که جهت‌گیری‌های مخالف هم دارند گفته می‌شود که دو رشته DNA **موازی ناهمسو** (antiparallel) هستند.

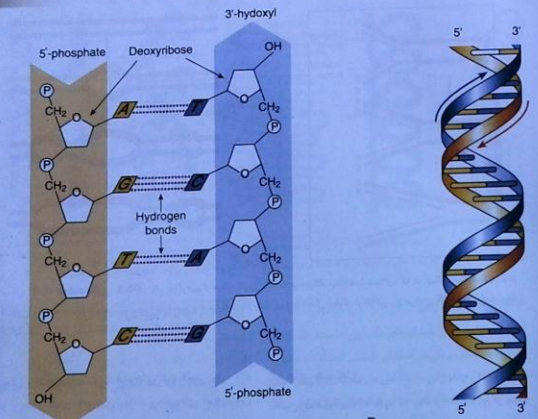
ترتیب بازها در مولکول DNA تصادفی نیست. همیشه یک پورین در یک زنجیره با یک پیریمیدین در رشته مقابل جفت باز تشکیل می‌دهد به‌طوری که این جفت شدن بازی اختصاصی است: گوانین در یک زنجیره با یک سیتوزین در رشته مقابل و آدنین همیشه با تیمین جفت‌باز می‌دهند. این جفت‌شدن‌ها رشته‌های مکمل هم را ایجاد می‌کنند (شکل ۲-۲). به پاس تلاش‌های واتسون و کریک و نیز موریس ویلکینز در این رابطه جایزه نوبل پزشکی یا فیزیولوژی در سال ۱۹۶۲ به آنها تعلق گرفت.

همانندسازی

فرایند **همانندسازی** DNA پاسخی را برای این سؤال فراهم می‌کند که چطور اطلاعات ژنتیکی از یک نسل به نسل بعد منتقل می‌شود. طی تقسیم هسته دو رشتهٔ مارپیچ دو رشته‌ای DNA با عملکرد آنزیم DNA هلیکاز از هم جدا شده، از روی هر رشته، سنتز رشته جدید براساس رابطه مکملی جفت‌بازها رخ می‌دهد که موجب می‌شود دو مولکول دو رشته‌ای DNA دختری با مولکول والدی اولیه یکسان باشند. به همین دلیل زمانی که سلول‌ها تقسیم می‌شوند اطلاعات ژنتیکی حفظ شده و بدون تغییر به هر سلول دختر منتقل می‌شود. فرآیند همانندسازی DNA را **نیمه حفاظتی** می‌نامند زیرا یک رشته از هر مولکول دو رشته‌ای دختری حاصل جدید ساخته شده است.

همانندسازی DNA توسط عملکرد آنزیم DNA پلیمراز در چندین نقطه به نام **مبداءهای همانندسازی** آغاز می‌گردد. که ساختار Y شکل دوطرفه‌ای به نام **چنگال همانندسازی** ایجاد می‌کند. سنتز هر دو رشتهٔ موازی ناهمسوی مکمل DNA در جهت ۵′ به ۳′ صورت می‌گیرد. یک رشته، **رشته پیشرو** (Leading strand) در یک فرآیند پیوسته ساخته می‌شود. رشته دیگر به نام **رشته پیرو** (Lagging strand) به‌صورت قطعاتی به‌عنوان قطعات اوکازاکی ساخته می‌شود که سپس توسط آنزیم DNA لیگاز به صورت یک رشته پیوسته به هم متصل می‌شوند (شکل ۳A-۲).

همانندسازی از نقاط مبداء همانندسازی در هر دو جهت پیش می‌رود که ساختارهای حبابی شکل یا **حباب‌های همانندسازی**



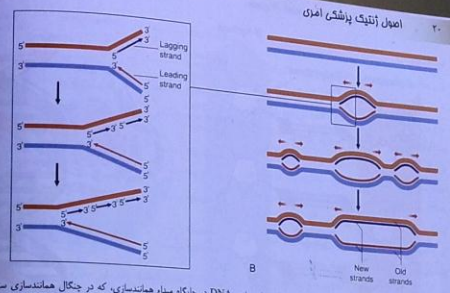
شکل ۲-۲: **مارپیچ دورشته‌ای DNA**. **A**، اسکلت قند – فسفات و جفت‌شدن نوکلئوتیدی مارپیچ دورشته‌ای DNA (P: فسفات، A: آدنین، T: تیمین، G: گوانین، C: سیتوزین) **B**، شکلی از مارپیچ دورشته‌ای DNA.

تشکیل می‌شوند (شکل ۳B-۲). مبداءهای همانندسازی مجاور هم تقریباً ۵۰ تا ۳۰۰ کیلوباز (kb) از هم فاصله داشته و ۲۰ تا ۸۰ مبداء همانندسازی، خوشه‌ها یا **واحدهای همانندسازی** (Replication units) را تشکیل می‌دهند. همانندسازی DNA در واحدهای همانندسازی منفرد در زمان‌های مختلف در فاز S چرخه سلول رخ می‌دهد. واحدهای همانندسازی مجاور زمانی که کل مولکول DNA کپی می‌شود بهم می‌رسند و دو مولکول دختری کامل و یکسان تشکیل می‌گردد.

ساختار کروموزوم

این ایده که هر کروموزوم از یک مارپیچ دو رشته‌ای DNA تشکیل شده، ساده‌انگاری است. یک کروموزوم خیلی بزرگتر از قطر یک مارپیچ دورشته‌ای DNA می‌باشد. بعلاوه مقادیر DNA در هسته به اندازه‌ای است که اگر کل طول DNA موجود در کروموزوم‌ها را باز کنیم بیش از چندین متر طول خواهد داشت! در واقع طول کلی مجموعه کروموزوم‌های انسان درون هسته کمتر از نیم میلی‌متر است. بسته‌بندی DNA به صورت کروموزوم چندین سطح از پیچ‌خوردگی و تاشدگی DNA را در بر می‌گیرد.

علاوه بر پیچ‌خوردگی اولیه مارپیچ دورشته‌ای DNA، پیچش ثانویه‌ای حول دانه‌های **هیستونی** که روی **نوکلئوزوم‌ها** را تشکیل می‌دهند، وجود دارد. سومین



شکل ۳-۲: **همانندسازی DNA**. A. دیاگرامی از همانندسازی DNA در جایگاه مبدأ همانندسازی، که در چنگال همانندسازی سنتز نامتقارن رشته‌ها به‌صورت سنتز پیوسته رشته پیشرو و سنتز ناپیوسته رشته پیرو با اتصال قطعات اوکازاکی رخ می‌دهد. **B**. چندین نقطه مبدأ همانندسازی و روش تیمه حفاظتی همانندسازی DNA.

پیچش نوکلئوزوم‌ها به‌صورت **فیبرهای کروماتینی** وجود دارد که لوپ‌های بلندی را بر روی اسکلت پروتئین‌های غیرهیستونی اسیدی تشکیل می‌دهند. سپس با پیچش‌های محکم به‌صورت کروموزوم زیر میکروسکوپ نوری مشاهده می‌شوند (شکل ۲-۴). کل ساختار به‌صورت مدل به اصطلاح **سولنوئیدی** ساختار کروموزومی را تشکیل می‌دهد.

انواع توالی‌های DNA

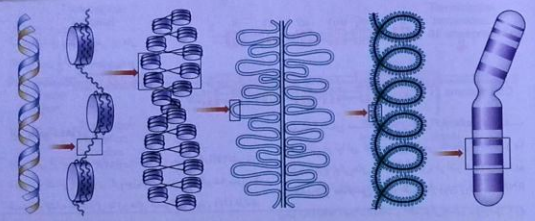
اگر DNA دناتوره شود، دوباره به‌صورت یک ماریچ بهم متصل می‌شود، با سرعتی که وابسته به نسبت توالی‌های منحصر به فرد و تکراری موجود در آن است. در توالی‌های تکراری این اتصال مجدد سریع‌تر صورت می‌گیرد. آنالیز نتایج کینتیک اتصال مجدد DNA انسانی نشان داده که ۶۰ تا ۷۰٪ ژنوم انسان دربرگیرندهٔ توالی‌های DNA با تعداد کپی کم یا منفرد می‌باشد. مابقی ۳۰ تا ۴۰٪ ژنوم شامل توالی‌های DNA بسیار **تکراری** یا با تکرار متوسط است که رونویسی نمی‌شوند. بخش توالی‌های تکراری به‌طور عمده شامل DNA ماهواره و توالی‌های DNA پراکنده می‌باشد.

ژن‌های هسته‌ای

تخمین زده شده است که حدود ۲۵,۰۰۰ تا ۳۰,۰۰۰ ژن در ژنوم هسته‌ای وجود دارد. توزیع این ژن‌ها بین نواحی کروموزومی به‌طور قابل توجهی متفاوت می‌باشد. مثلاً نواحی سانترومری و هتروکروماتینی اکثراً غیر کد کننده‌اند و بیشترین چگالی ژنی در نزدیکی نواحی تحت تلومری مشاهده می‌شود. کروموزوم‌های ۱۹ و ۲۲ غنی از ژن بوده، در حالی که کروموزوم‌های ۴ و ۱۸ نسبتاً ژن کمی دارند. اندازهٔ ژن‌ها نیز به‌طور قابل توجهی متفاوت است؛ کوچک‌ترین ژن با یک اگزون و ژن‌هایی با ۷۹ اگزون (مثلاً ژن دیستروفین که ۲/۵Mb از ژنوم را شامل می‌شود) وجود دارند.

ژن‌های منحصر به فرد و تک‌کپی

اکثر ژن‌های انسانی ژن‌های منحصر به فرد و تک کپی می‌باشند که پلی‌پپتیدهای دخیل در طیف وسیعی از عملکردهای سلولی را کد می‌کنند. این پلی‌پپتیدها شامل آنزیم‌ها، هورمون‌ها، گیرنده‌ها و پروتئین‌های تنظیمی و ساختاری می‌باشند.



شکل ۴-۲: دیاگرام ساده شدهٔ مدل سولنوئیدی ارائه شده برای پیچش DNA که ساختار قابل رؤیت کروموزوم‌ها را ایجاد می‌کند.

خانواده‌های چند ژنی

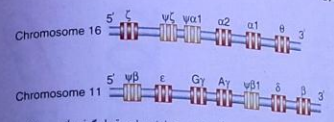
ژن‌های بسیاری دارای عملکردهای مشابهی هستند که طی وقایع مضاعف‌سازی ژنی در اشتقاق تکاملی ایجاد شده‌اند و **خانواده‌های چند ژنی** را تشکیل می‌دهند. برخی از آنها به‌صورت فیزیکی در نزدیکی هم در خوشه‌هائی قرار دارند؛ مثلاً خوشه‌های ژنی α- و β- گلوبین به ترتیب بر روی کروموزوم‌های ۱۶ و ۱۱ (شکل ۵-۲) قرار دارند در حالی که سایر موارد به‌طور گسترده‌ای در سراسر ژنوم بر روی کروموزوم‌های متفاوت پخش شده‌اند، مثل خانواده ژنی هوموباکس HOX. خانواده‌های چند ژنی را می‌توان به دو نوع تقسیم کرد: **خانواده‌های ژنی کلاسیک** که میزان زیادی تشابه توالی نشان می‌دهند و **ابرخانواده‌های ژنی** که تشابه توالی محدودی داشته اما از لحاظ عملکردی بهم مرتبطند و دومن‌های ساختاری مشابه دارند.

خانواده‌های ژنی کلاسیک

مثال‌هائی از خانواده‌های ژنی کلاسیک شامل کپی‌های متعدد ژن‌های کدکنندهٔ RNAهای ریبوزومی (rRNA) متنوع است که به صورت ردیف‌های پشت سر هم در نواحی سازمان دهندهٔ هستکی مجتمع شده‌اند و خانواده‌های ژنی RNAهای ناقل (tRNA) مختلف که در چندین خوشه در سراسر ژنوم انسان پخش شده‌اند.

کادر ۱-۲ انواع توالی‌های DNA

- هسته‌ای (bp 3×10^9 ≈)
- ژن‌ها (۳۰,۰۰۰ ≈)
- توالی‌های منحصر به فرد تک کپی
- خانواده‌های چند ژنی
  - خانواده‌های ژنی کلاسیک
    - ابر خانواده‌های ژنی
      - DNA خارج ژنی (توالی‌هائی با تعداد کپی کم یا منحصر بفرد و یا توالی‌های بسیار تکراری یا با تکرار متوسط)
      - تکرارهای پشت سر هم
        - ماهواره‌ها (ساتلیت‌ها)
          - مینی ساتلیت‌ها
          - تلومری
          - بسیار متغیر
        - میکروساتلیت‌ها
      - پراکنده
        - توالی‌های هسته‌ای پراکنده کوتاه
        - توالی‌های هسته‌ای پراکنده بلند
          - مینوکندریائی (۱۶/۶ kb، ۳۷ ژن)
          - دو ژن rRNA
          - ۲۲ ژن tRNA



شکل ۵-۲: تصویر نواحی ژن‌های α- گلوبین و β- گلوبین بر روی کروموزوم‌های ۱۶ و ۱۱.

ابر خانواده‌های ژنی

مثال‌هائی از ابرخانواده‌های ژنی شامل ژن‌های HLA (آنتی‌ژن لکوسیت انسانی) بر روی کروموزوم ۶ و ژن‌های گیرندهٔ سلول T است که تشابه ساختاری با ژن‌های ایمونوگلوبولین (Ig) دارند. به نظر می‌رسد که این ژن‌ها از مضاعف‌سازی یک ژن اجدادی ایجاد شده‌اند که سپس طی انشقاق تکاملی ابرخانواده Ig را تشکیل داده‌اند.

ساختار ژن

مفهوم اولیه ژن به عنوان یک توالی پیوسته از DNA که یک پروتئین را کد می‌کند در اوائل دههٔ ۱۹۸۰ توسط آنالیز دقیق ساختار ژن β- گلوبین انسان ارائه شد. مشخص گردید که ژن β- گلوبین بلندتر از مقدار لازم برای کد کردن پروتئین آن است و در برگیرندهٔ توالی‌های مداخله‌گر غیرکدکننده یا اینترون‌ها بوده که توالی‌های کدکننده یا اگزون‌ها را از هم جدا می‌کنند (شکل ۶-۲). اکثر ژن‌های انسانی دارای اینترون می‌باشند اما تعداد و اندازهٔ اینترون‌ها و اگزون‌ها بسیار متغیر است. اینترون‌ها بزرگتر از توالی‌های کدکننده‌اند و بعضی از آنها در برگیرندهٔ توالی‌های کدکننده برای ژن‌های دیگری می‌باشند (به عبارت دیگر، ژن‌ها درون ژن‌های دیگر واقعند). ژن‌ها در انسان معمولاً با هم همپوشانی ندارند و به‌طور متوسط ۳۰kb از هم فاصله دارند. اگرچه در مورد برخی از ژن‌های کمپلکس HLA نشان داده شده که دارای همپوشانی می‌باشند.

ژن‌های کاذب

به‌طور خاصی وجود ژن‌هائی که بسیار شبیه ژن‌های ساختاری‌اند اما به‌طور کلی بیان عملکردی ندارند، جالب می‌باشد. اصطلاحاً به آنها **ژن‌های کاذب** (Pseudogenes) می‌گویند. به نظر می‌رسد این ژن‌ها به دو روش اصلی ایجاد شده باشند: ژن‌ها تحت تأثیر وقایع مضاعف‌سازی قرار گرفته‌اند و با کسب جهش‌هائی در نواحی کدکننده یا تنظیمی خاموش شده‌اند و یا در نتیجه درج توالی‌های DNA مکمل، در اثر عملکرد آنزیم **نسخه‌بردار معکوس** به‌طور طبیعی از روی رونوشت RNA یک (mRNA) ایجاد شده‌اند و فاقد توالی‌های پروموتور لازم برای بیان هستند.

DNA خارج ژنی

۲۵,۰۰۰ تا ۳۰,۰۰۰ ژن منحصر به فرد تک نسخه در ژنوم انسان تخمین زده شده که نمایانگر اینست که ۲٪ از ژنوم، کدکنندهٔ پروتئین‌ها است. مابقی ژنوم انسان از توالی‌های DNA تکراری تشکیل شده است که غالباً از لحاظ رونویسی غیرفعال می‌باشند. این بخش به عنوان **DNA اضافی** (Junk) در نظر گرفته می‌شود، اما بعضی از آن نواحی در طی تکامل حفظ شده‌اند و ممکن است در تنظیم بیان ژن نقش داشته باشند.

توالی‌های DNA تکراری پشت سر هم

توالی‌های DNA تکراری پشت سر هم در برگیرندهٔ قطعاتی از تکرارهای پشت سر هم DNA غیرکدکننده است که می‌توانند بسیار پراکنده بوده یا در ژنوم محدود باشند. توالی‌های DNA تکراری پشت سر هم را می‌توان به ۳ زیر گروه تقسیم کرد: DNA ساتلیت‌ها (ماهواره‌ها)، مینی ساتلیت‌ها و میکروساتلیت‌ها.

DNA ساتلیت (ماهواره)

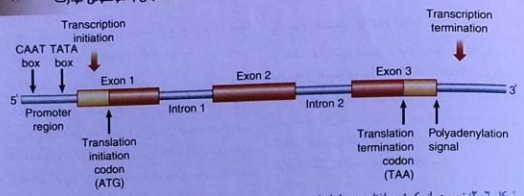
DNA ماهواره (Satellite DNA) در حدود ۱۰٪ تا ۱۵٪ توالی‌های DNA تکراری ژنوم انسان را تشکیل داده و دربرگیرندهٔ سری‌های بسیار بزرگی از توالی‌های DNA تکراری پشت سر هم، کوتاه و نسبتاً پیچیده یا ساده می‌باشند که از لحاظ رونویسی غیرفعال بوده و پیرامون سانترومر کروموزوم‌های مینی تجمع یافته‌اند. این دسته از توالی‌های DNA را می‌توان براساس سانتریفوژ شیب ـ چگالی به صورت یک باند جداگانه یا «ماهواره» از بخش اصلی DNA ژنومی جدا کرد و بنابراین اصطلاحاً DNA ماهواره نامیده می‌شود.

DNA مینی ساتلیت

DNA مینی‌ساتلیت (Minisatellite DNA) شامل دو خانواده از توالی‌های DNA تکراری پشت سر هم کوتاه است: توالی‌های DNA مینی‌ساتلیت بسیار متغیر و توالی تلومری که از لحاظ رونویسی غیرفعال می‌باشند.

DNA تلومری

بخش انتهائی تلومری در کروموزوم‌ها شامل ۱۰ تا ۱۵(kb) از تکرارهای پشت سر هم توالی‌های ۶ جفت‌بازی(pb) از DNA به نام DNA تلومری است. توالی‌های تکراری تلومری برای



شکل ۶-۲: تصویری از یک ژن ساختاری معمول انسانی

بیشتر بدانیم ۱ـ۲

عدم توانایی در سنتز ویتامین C ـ یک نقص مادرزادی همگانی در انسان‌ها

اگر انسان از رژیم غذایی سگ و یا گربه استفاده می‌کرد به دلیل فقدان ویتامین C قطعاً دچار اسکوروی می‌شد. این حیوانات علی‌رغم اینکه هرگز از مرکبات استفاده نمی‌کنند سالم باقی می‌مانند، زیرا به نظر می‌رسد که تقریباً همهٔ حیوانات دارای آنزیم‌های ضروری برای سنتز اسید آسکوربیک هستند و بنابراین نیازی به بهره‌گیری از منابع خارجی برای تأمین آن ندارند. انسان‌ها و دیگر نخستی‌ها، خوکچهٔ هندی، خفاش‌های میوه‌خوار و... از این مورد مستثنی هستند. همه این گونه‌ها فاقد آنزیم ال ـ گولونو ـ گاما ـ لاکتون اکسیداز (GULO) هستند. این آنزیم آخرین مرحلهٔ بیوسنتز اسید آسکوربیک را کاتالیز می‌کند. نسخه انسانی این ژن بر روی کروموزوم 8p21 یک ژن کاذب معیوب است که نسبت به ژن gulo سالم موش، فاقد برخی از اگزون‌ها بوده و دارای چند جهش می‌باشد. سلول‌های انسانی آلوده شده با ژن gulo موشی می‌توانند اسید آسکوربیک تولید کنند. احتمالاً گونه‌های فاقد آنزیم کارآمد، همگی متکی بر یک رژیم غنی از میوه‌ها بوده‌اند که در آنها هیچ فشار انتخابی برعلیه جهش‌های از دست رفتن عملکرد GULO وجود نداشته است. واکنش مراحل بیوسنتز اسید آسکوربیک به شرح زیر می‌باشد:

اسید ـ دی ـ گلوکورونیک ← اسید ـ ال ـ گلونیک ← گلونولاکتون ← ۲ کتو ـ ال ـ گولونو لاکتون ← اسید ـ ال ـ آسکوربیک

آخرین مرحله از واکنش‌ها غیرآنزیمی بوده و به‌طور خودبه‌خودی اتفاق می‌افتد. علامت × بیانگر بلوکه‌شدن مسیر متابولیسمی در اثر فقدان آنزیم GULO است.

منابع

Read A. Donnai D. **New Clinical Genetics**, Scion Publishing, 2010

حفظ پایداری کروموزومی در همانندسازی ضروری بوده و توسط آنزیمی به نام تلومراز به کروموزوم اضافه می‌شود.

DNA مینی ساتلیت بسیار متغیر

DNA مینی‌ساتلیت بسیار متغیر از توالی‌های DNA بسیار پلی‌مورفیک تشکیل شده است و تکرارهای کوتاه پشت سر هم از یک توالی مرکزی را شامل می‌شود. تعداد بسیار متغیر واحدهای تکراری در مینی‌ساتلیت‌های بسیار متغیر مختلف، اساس تکنیک اثرانگشت‌نگاری DNA را تشکیل می‌دهند که توسط پروفسور آلک جفری (Alec Jeffreys) در سال ۱۹۸۴ ارائه شد.

DNA میکروساتلیت

DNA میکروساتلیتی (Microsatellite DNA) در برگیرندهٔ توالی‌های تکراری یک، دو، سه یا چهار نوکلئوتیدی است که در سراسر ژنوم واقع شده است. تکرارهای میکروساتلیت‌ها به ندرت داخل توالی‌های کدکننده قرار می‌گیرند، اما تکرارهای سه نوکلئوتیدی درون و یا نزدیک ژن‌ها، با بعضی بیماری‌های توارثی مرتبط می‌باشند.

این تغییر در تعداد تکرارها در اثر جفت‌شدن نادرست تکرارهای پشت سر هم دو رشته مکمل DNA طی همانندسازی DNA رخ می‌دهد که به نام **جفت‌شدن ناجور رشته لغزنده (Slipped Starnd Misparing)** معروف است. مضاعف‌سازی‌ها یا حذف‌های توالی‌های بلندتر DNA تکراری پشت سر هم در اثر کراسینگ اور نابرابر توالی‌های DNA غیرآللی بر روی کروماتیدهای کروموزوم‌های همولوگ یا کروماتیدهای خواهری ایجاد شوند.

امروزه DNA میکروساتلیت‌ها برای آزمایشات پزشکی قانونی و تشخیص ابوت (رابطه پدر- فرزندی) به کار می‌روند. همچنین آنها برای ردیابی ژن در خانواده‌های با یک بیماری ژنتیکی با جهش ناشناخته سودمند می‌باشند.

توالی‌های DNA بسیار تکراری پراکنده

تقریباً ۱/۲ ژنوم انسان از دو دسته اصلی توالی‌های DNA تکراری بلند و کوتاه تشکیل شده است که در سراسر ژنوم پراکنده‌اند.

توالی‌های هسته‌ای پراکنده کوتاه

در حدود ۵٪ ژنوم انسان در برگیرندهٔ ۷۵۰،۰۰۰ کپی از **توالی‌های هسته‌ای پراکنده کوتاه** با **SINEs** می‌باشند. شایع‌ترین توالی DNA از این نوع در حدود ۳۰۰bp است که دارای تشابه توالی با ذرهٔ شناسائی سیگنال در سنتز پروتئین می‌باشد. این توالی **تکرارهای Alu** نامیده شده زیرا دارای جایگاه شناسائی آنزیم محدودکنندهٔ AluI است.

توالی‌های هسته‌ای پراکنده بلند

در حدود ۵٪ DNA ژنوم انسان از **توالی‌های هسته‌ای پراکنده بلند** یا LINEs تشکیل شده است شایع‌ترین توالی LINE، به عنوان LINE-1 یا توالی L1 شناخته می‌شود که بیش از ۱۰۰،۰۰۰ کپی از توالی DNA با طول بیش از ۶۰۰۰bp را شامل شده و یک آنزیم نسخه‌بردار معکوس را کد می‌کند.

عملکرد این توالی‌های تکراری پراکنده مشخص نیست. اعضاء خانواده تکرارهای Alu در مجاورت توالی‌های تکراری کوتاه مستقیم قرار داشته و بنابراین شبیه توالی‌های DNA ناپایدار به نام توالی‌های با قابلیت جابه‌جائی (متحرک) یا **ترانسپوزون‌ها** (Transposons) می‌باشند. ترانسپوزون‌ها در ابتدا در ذرت توسط باربارا مک کلینتاک (Mc Clintock) تعیین شدند که به‌طور خودبخودی از یک موقعیت کروموزومی در ژنوم به جای دیگر حرکت می‌کنند و به نظر می‌رسد در تمام سلسله‌های گیاهی و جانوری وجود دارد. تصور می‌شود که تکرارهای Alu می‌توانند نوترکیبی نابرابر را افزایش دهند که باعث ایجاد جهش‌های بیماری‌زا شده یا با مضاعف‌سازی ژنی طی تکامل موجب برتری انتخابی می‌شوند. هر دو توالی‌های تکراری Alu و LINE-1 به عنوان یک عامل جهش‌زا در بیماری‌های توارثی انسانی مطرح شده‌اند.

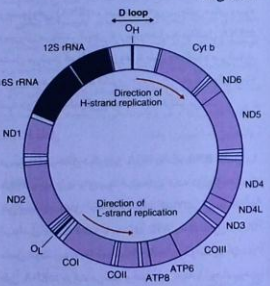
DNA میتوکندریائی

علاوه بر DNA هسته‌ای چندین هزار میتوکندری در هر سلول دارای DNA دو رشته‌ای حلقوی ۱۶/۶kb یا همان **DNA میتوکندریائی (یا mtDNA) می‌باشند** (شکل ۷-۲). ژنوم mtDNA بسیار متراکم است، در برگیرندهٔ DNA تکراری اندکی

بوده و ۳۷ ژن را کد می‌کند که شامل دو نوع RNA ریبوزومی، ۲۲ مولکول RNA ناقل و ۱۳ زیر واحد پروتئینی آنزیمی مثل سیتوکروم b و سیتوکروم اکسیداز می‌باشد که این آنزیم‌ها در مسیرهای فسفوریلاسیون اکسیداتیو تولیدکنندهٔ انرژی دارای نقش می‌باشند. کد ژنتیکی mtDNA به‌طور جزئی از کد ژنتیکی DNA هسته‌ای متفاوت است. میتوکندری در زیگوت لقاح یافته تقریباً به‌طور انحصاری از اووسیت به ارث می‌رسد و باعث ایجاد الگوی توارث مادری شده که مشخصهٔ بسیاری از بیماری‌های میتوکندریائی است.

رونویسی

فرآیندی که توسط آن اطلاعات ژنتیکی از DNA به RNA منتقل می‌شود را **رونویسی** می‌نامند. اطلاعات ذخیره شده در کد ژنتیکی از DNA یک ژن به **RNA پیک (یا mRNA)** انتقال می‌یابد. هر باز در مولکول mRNA، مکمل باز مطابق با آن در DNA ژن مربوطه است، اما در mRNA یوراسیل به جای تیمین قرار می‌گیرد. mRNA تک رشته‌ای است و توسط آنزیم RNA پلیمراز II سنتز می‌شود که ریبونوکلئوتیدهای مکمل مناسب را به انتهای ´۳ زنجیره RNA اضافه می‌کند.



شکل ۷-۲: ژنوم میتوکندری انسان. H زنجیره سنگین و L زنجیره سبک است.

در هر ژن خاص، تنها یک رشته DNA از ماریچ دورشته‌ای به عنوان **رشته الگو** عمل می‌کند. مولکول mRNA رونویسی شده، کپی رشته مکمل است که **رشته سنس (Sense Strand)** ماریچ دورشته‌ای DNA شناخته می‌شود. رشته الگو گاهی به نام **رشته آنتی سنس (antisense strand)** نامیده می‌شود. رشتهٔ ویژهٔ ماریچ دورشته‌ای DNA که برای سنتز RNA مورد استفاده قرار می‌گیرد به نظر می‌رسد در نواحی مختلف ژنوم، متفاوت باشد.

پردازش RNA (RNA Processing)

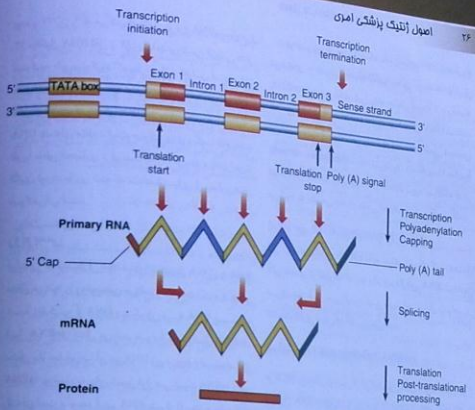
قبل از آنکه مولکول mRNA اولیه هسته را ترک کند، تحت تأثیر تعدادی از تغییرات که به نام **پردازش RNA** شناخته می‌شوند، قرار می‌گیرد. این تغییرات شامل پیرایش، کلاهک‌گذاری و پلی‌آدنیلاسیون می‌باشند.

پیرایش mRNA (mRNA Splicing)

در هنگام رونویسی و پس از آن اینترون‌های غیرکدکننده در مولکول mRNA (اولیه) یا پیش‌ساز بریده شده و اگزون‌های کد کنندهٔ ناپیوسته با همدیگر اتصال یافته تا یک مولکول mRNA بالغ کوتاه‌تر را تشکیل دهند، قبل از آنکه این mRNA برای ترجمه توسط ریبوزوم‌ها به سیتوپلاسم منتقل شود. این فرآیند به نام **پیرایش mRNA** شناخته می‌شود (شکل ۸-۲). مرز بین اینترون‌ها و اگزون‌ها دارای یک دی‌نوکلئوتید دهندهٔ ´5GT و یک دی‌نوکلئوتید پذیرندهٔ ´3AG می‌باشد. این توالی‌ها به همراه توالی‌های مورد توافق پیرایش کوتاه پیرامونی، یک توالی اینترونی شناخته شده به نام جایگاه انشعاب (branch point)، مولکول‌های RNA هسته‌ای کوچک (sn RNA) و پروتئین‌های مرتبط با آنها برای فرآیند پیرایش لازم می‌باشند.

کلاهک‌گذاری ´۵ (´5 Capping)

به نظر می‌رسد **کلاهک ´۵** انتقال mRNA را به سیتوپلاسم و اتصال آن به ریبوزوم‌ها را تسهیل می‌کند. همچنین رونوشت RNA را از تخریب توسط اگزونوکلئازهای درون سلولی محافظت می‌کند. پس از آنکه ۲۰ تا ۳۰ نوکلئوتید رونویسی شد، mRNA تازه سنتز شده با اضافه‌شدن یک نوکلئوتید گوانین به



شکل ۲-۸: رونویسی، فرایندهای پس از رونویسی، ترجمه و فرایندهای پس از ترجمه.

انتهای 5' توسط یک پیوند نامعمول تری فسفاته 5 به 5 تغییر می‌یابد. سپس یک آنزیم متیل ترانسفراز موقعیت N_7 را در گوانین متیله می‌کند و کلاهک 5' نهائی ایجاد می‌شود.

پلی‌آدنیلاسیون (Polyadenylation)

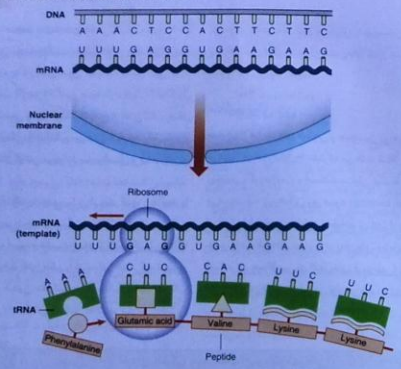
رونویسی تا زمانی ادامه می‌یابد که توالی‌های نوکلئوتیدی خاصی رونویسی شوند. mRNA شکسته شده و RNA پلیمراز II از DNA الگو جدا گردد. تقریباً ۲۰۰ مولکول آدنین - به نام **دم پلی (A)** - به mRNA اضافه می‌شود که انتقال هسته‌ای و ترجمه را تسهیل می‌کند.

ترجمه

ترجمه انتقال اطلاعات ژنتیکی از mRNA به پروتئین است. mRNA تازه پردازش شده از هسته به سیتوپلاسم منتقل شده و در آنجا به **ریبوزوم‌ها** متصل می‌گردد که جایگاه سنتز پروتئین می‌باشند. ریبوزوم‌ها از دو زیرواحد با اندازه‌های متفاوت تشکیل شده‌اند که دارای چهار نوع مولکول متفاوت **RNA ریبوزومی** (rRNA) و تعداد زیادی پروتئین‌های ویژه ریبوزومی می‌باشند. گروهی از ریبوزوم‌ها به مولکول mRNA متصل می‌شوند که **پلی‌ریبوزوم** یا **پلی‌زوم** نامیده می‌شوند. در ریبوزوم‌ها، mRNA الگوی لازم برای ایجاد توالی ویژهٔ اسیدهای آمینه **یک پلی‌پپتید** خاص را فراهم می‌کند.

RNA ناقل

در سیتوپلاسم شکل دیگری از RNA به نام **RNA ناقل** یا **tRNA** وجود دارد. برای ورود اسیدهای آمینه درون **زنجیره پلی‌پپتید**، اسیدهای آمینه باید با پیوند کووالانسی توسط آنزیم آمینواسیل tRNA سنتتاز با مصرف ATP به مولکول tRNA متصل شوند. ریبوزوم‌ها همراه با RNAهای مرتبط با آنها در طول mRNA حرکت می‌کنند و اسیدهای آمینه با ایجاد پیوند پپتیدی و با عملکرد آنزیم پپتیدیل ترانسفراز یک زنجیره پلی‌پپتیدی را تشکیل می‌دهند (شکل ۹-۲).



شکل ۹-۲: تصویری از نحوهٔ ترجمه اطلاعات ژنتیکی به پروتئین

تغییرات پس از ترجمه

بسیاری از پروتئین‌ها قبل از آنکه ساختار طبیعی یا فعالیت عملکردی خود را کسب کنند تحت تأثیر **تغییرات پس از ترجمه** قرار می‌گیرند که می‌تواند شامل تغییرات شیمیائی زنجیره جانبی اسیدهای آمینه (مثل هیدروکسیلاسیون، متیلاسیون)، اضافه‌شدن بخش‌های لیپیدی یا کربوهیدراتی (مثل گلیکوزیلاسیون) یا برش پروتئولیتیکی پلی‌پپتیدها (مثل تبدیل پروانسولین به انسولین) باشند.

بنابراین تغییرات پس از ترجمه به همراه بعضی توالی‌های کوتاه اسیدهای آمینه خاص به عنوان **توالی‌های هدایت‌کننده** (Localization Sequences) در پروتئین‌های تازه سنتز شده باعث انتقال آنها به موقعیت‌های سلولی خاص (مثل هسته) یا ترشح آنها از سلول می‌شود.

کد ژنتیکی

بیست اسید آمینه متفاوت در پروتئین‌ها یافت می‌شوند، این در حالی است که DNA از چهار باز نیتروژنی متفاوت تشکیل شده است و کاملاً واضح است یک باز نمی‌تواند یک اسیدآمینه را کد کند. اگر دو باز می‌توانستند یک اسیدآمینه را تعیین کنند آنگاه تنها 4^2 یعنی ۱۶ مورد وجود داشت. به هر حال اگر سه باز یک اسیدآمینه را کد کند آن وقت تعداد موارد احتمالی 4^3 یا ۶۴ کدون می‌شود. این تعداد بیش از تعداد مورد نیاز برای ۲۰ اسیدآمینهٔ شناخته شده بوده و کد ژنتیکی نامیده می‌شوند.

کدون‌های سه‌تائی

بازهای سه نوکلئوتیدی در mRNA که یک اسیدآمینه خاص را کد می‌کنند، **کدون** نامیده می‌شود. هر کدون سه‌تائی توالی یک اسیدآمینه مربوطه را کد می‌کند و بنابراین کدهای ژنتیکی همپوشانی ندارند. ترتیب کدون‌های سه‌تائی در یک ژن به عنوان **چارچوب خواندن ترجمه** (reading Frame) شناخته می‌شوند. با این حال برخی از اسیدهای آمینه توسط بیش از یک کدون سه‌تائی کد می‌شوند، بنابراین گفته می‌شود

که کد ژنتیکی **منحط** (degenerate) می‌باشد (جدول ۱-۲). هر tRNA برای یک آمینواسید خاص دارای یک توالی سه نوکلئوتیدی ویژه به نام **آنتی‌کدون** است که مکمل کدون‌ها در mRNA می‌باشد. اگرچه ۶۴ کدون وجود دارد، تنها ۳۰ مولکول tRNA سیتوپلاسمی وجود دارند. تعدادی از آنتی‌کدون‌های tRNAها کدون‌هائی را شناسائی می‌کنند که در موقعیت باز سوم متفاوتند مثلاً گوانین می‌تواند با یوراسیل و یا سیتوزین جفت باز دهد.

خاتمه ترجمهٔ mRNA با حضور یکی از **سه کدون خاتمه یا پایان** مشخص می‌شود. کد ژنتیکی mtDNA از کد ژنتیکی همه متفاوت است. هشت عدد از ۲۲ مولکول tRNA میتوکندری می‌توانند کدون‌هائی را شناسائی کنند که تنها در موقعیت باز سوم کدون متفاوتند و ۱۴ مولکول tRNA دیگر جفت کدون‌هائی را شناسائی می‌کنند که در دو باز اول یکسان بوده و در موقعیت باز سوم باز پورین یا پیریمیدین قرار می‌گیرد و چهار کدون دیگر به عنوان کدون‌های پایان عمل می‌کنند (به جدول ۱-۳ مراجعه کنید).

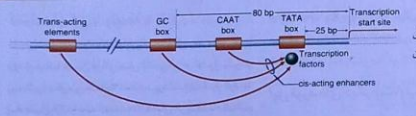
تنظیم بیان ژن

بسیاری از فرایندهای سلولی و همچنین ژن‌هائی که بیان می‌شوند در تمام سلول‌ها مشترک می‌باشند مثلاً **پروتئین‌های ریبوزومی**، کروموزومی و اسکلت سلولی توسط ژن‌هائی کد می‌شوند که **ژن‌های روزمره** (house keeping) نامیده می‌شوند. اما برخی از سلول‌ها مقادیر زیادی از یک پروتئین خاص را در بافت‌های معین یا در زمان‌های ویژه‌ای طی تکوین (همانند ژن هموگلوبین در گلبول‌های قرمز خون) بیان می‌کنند. این کنترل افتراقی بیان ژن می‌تواند در طیف متنوعی از مراحل رخ دهد.

جدول ۱-۳ کدهای ژنتیکی ژنوم هسته‌ای و میتوکندریائی

First Base	Second Base U	C	A	G	Third Base
U	Phenylalanine	Serine	Tyrosine	Cysteine	U
	Phenylalanine	Serine	Tyrosine	Cysteine	C
	Leucine	Serine	Stop	Stop (*Tryptophan*)	A
	Leucine	Serine	Stop	Tryptophan	G
C	Leucine	Proline	Histidine	Arginine	U
	Leucine	Proline	Histidine	Arginine	C
	Leucine	Proline	Glutamine	Arginine	A
	Leucine	Proline	Glutamine	Arginine	G
A	Isoleucine	Threonine	Asparagine	Serine	U
	Isoleucine	Threonine	Asparagine	Serine	C
	Isoleucine (*Methionine*)	Threonine	Lysine	Arginine	A
	Methionine	Threonine	Lysine	Arginine (*Stop*)	G
A	Isoleucine	Threonine	Asparagine	Serine	U
	Isoleucine	Threonine	Asparagine	Serine	C
	Isoleucine (*Methionine*)	Threonine	Lysine	Arginine (*Stop*)	A
	Methionine	Threonine	Lysine	Arginine	G
G	Valine	Alanine	Aspartic acid	Glycine	U
	Valine	Alanine	Aspartic acid	Glycine	C
	Valine	Alanine	Glutamic acid	Glycine	A
	Valine	Alanine	Glutamic acid	Glycine	G

* تفاوت کدهای ژنتیکی میتوکندریائی به صورت ایتالیک (مورب) نشان داده شده است.



شکل ۱۰-۲: شکل دیاگرامی از عواملی که بیان ژن را تنظیم می‌کنند.

کنترل رونویسی

کنترل رونویسی می‌تواند به صورت پایدار یا برگشت‌پذیر توسط فاکتورهای متنوعی که هم محیطی (مثل هورمون‌ها) و هم ژنتیکی (مثل پیام‌دهی سلولی) می‌باشند، تحت تأثیر قرار گیرد.

این کنترل طی مکانیسم‌های مختلفی صورت می‌گیرد که شامل مولکول‌های پیام‌دهی که به توالی‌های تنظیمی در DNA به نام **توالی پاسخگو** (response elements) متصل می شود، گیرنده‌های داخل سلولی به نام **گیرنده‌های هسته‌ای هورمون‌ها** و گیرنده‌های لیگاندهای ویژه در سطح سلول که در فرایند **انتقال علائم** (signal transduction) دخیلند، می‌باشند.

در نهایت همهٔ این مکانیسم‌ها با اتصال فاکتورهای رونویسی عمومی به توالی‌های DNA کوتاه ویژه پروموتور درون ۲۰۰bp در ۵ یا **بالادست** ژن، اکثر ژن‌های یوکاریوتی در جایگاهی به نام **ناحیه پروموتور مرکزی** با فعال‌سازی آنزیم RNA پلی‌مراز II بر رونویسی تأثیر می‌گذارند (شکل ۱۰-۲).

به‌طور کلی پروموتورها را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد: حاوی جعبه TATA و غنی از GC. جعبه TATA که حدود ۲۵bp بالادست جایگاه آغاز رونویسی قرار دارد در آغاز رونویسی در یک سطح ثابت پایه نقش داشته و جهش‌ها در آن موجب تغییر جایگاه آغاز رونویسی می‌شود. جعبه GC که در حدود ۸۰bp در بالادست پروموتور است، میزان فعالیت رونویسی پایه جعبه TATA را افزایش می‌دهد.

عناصر تنظیمی در ناحیه پروموتور به صورت سیس **(Cis – acting)** عمل می‌کنند که تنها بر بیان ژن مجاور بر روی همان DNA دورشته‌ای اثر می‌گذارد، در حالی که عوامل رونویسی به‌صورت ترانس **(trans – acting)** عمل می‌کنند که بر روی هر دو کپی یک ژن در هر کروموزوم اثر می‌گذارند و خود آنها توسط ژن‌هائی واقع در یک فاصله دورتر کد می‌شوند. توالی‌های DNA مثل جعبه‌های CAAT و GC که فعالیت رونویسی را افزایش می‌دهند، به عنوان **افزاینده** (enhancer) شناخته می‌شوند. همچنین عناصر تنظیم‌کنندهٔ منفی یا **خاموش‌کننده‌ها** (silencer) نیز وجود دارند که از رونویسی ممانعت می‌کنند. بعلاوه توالی‌های کوتاهی از DNA وجود دارند که معمولاً ۵۰۰bp تا ۲kb بوده و به عنوان **عناصر مرزی** (boundary elements) شناخته می‌شوند. این توالی‌ها اثر عناصر تنظیمی ژن‌های مجاور را مهار یا بلوکه می‌کنند.

عوامل رونویسی

تعدادی از ژن‌ها، پروتئین‌های دخیل در تنظیم بیان ژن را کد می‌کنند. آنها دارای فعالیت اتصال به DNA در توالی‌های نوکلئوتیدی کوتاه می‌باشند و این اتصال معمولاً توسط موتیف‌های پروتئینی مارپیچی صورت گرفته و به عنوان **عوامل رونویسی** نامیده می‌شوند. این پروتئین‌های تنظیمی بیان ژن، دارای دومن فعال‌سازی رونویسی و دومن اتصال به DNA می‌باشند. چهار نوع دومن اتصال به DNA وجود دارد که شایع‌ترین آنها مارپیچ ـ دور ـ مارپیچ (HTH) می‌باشد که از دو مارپیچ α متصل به هم با زنجیرهٔ کوتاهی از چند اسیدآمینه سازندهٔ بخش دور (Turn) تشکیل شده است. سه نوع دیگر شامل موتیف‌های **انگشت روی، زیپ لوسین و مارپیچ ـ حلقه ـ مارپیچ** (HLH) می‌باشند، که در نتیجهٔ ویژگی‌های ساختاری ویژه‌شان نامگذاری شده‌اند.

کنترل پس از رونویسی بیان ژن

تنظیم بیان اکثر ژن‌ها در سطح رونویسی رخ می‌دهد اما همچنین می‌توانند در سطوح پردازش RNA، انتقال RNA، تخریب mRNA و ترجمه نیز رخ دهد. مثلاً واریانت G به A در موقعیت ۲۰۲۱۰ ناحیه ترجمه نشدهٔ ۳ ژن پروترومبین باعث پایداری رونوشت mRNA شده که منجر به افزایش سطح پروترومبین پلاسمائی می‌شود.

کنترل بیان ژن با واسطهٔ RNA

خاموش‌سازی با واسطه RNA اولین بار در اوایل دهه ۱۹۹۰ شرح داده شد، اما همین اواخر نقش اصلی آن در کنترل پس از رونویسی بیان ژن شناخته شد و مورد استفاده قرار گرفت (به فصل ۳۲ مراجعه کنید). RNAهای کوچک مداخله‌گر (Si - RNA) که در سال ۱۹۹۸ کشف شدند، مولکول‌های اجرائی مسیر تداخل RNA (RNAi) می‌باشند. این RNAهای کوتاه دو رشته‌ای (۲۱ تا ۲۳ نوکلئوتیدی) با یک روش ویژه توالی به mRNAها متصل شده و از طریق کمپلکس خاموش‌سازی القاء شده با RNA (RISC) که حاوی ریبونوکلئاز است، منجر به تخریب آنها می‌شوند. Lamicro RNA (mi RNAs) نیز به mRNAها با یک روش ویژه توالی متصل می‌گردند. آنها می‌توانند باعث برش اندونوکلئولیتیکی mRNA شده یا ترجمه را متوقف نمایند.

ایزوفورم‌های دیگر (متناوب)

اکثر ژن‌های انسانی (حداقل ۷۴٪) تحت تأثیر **پیرایش متناوب** (alternative splicing) قرار گرفته و بنابراین بیش از یک پروتئین را کد می‌کنند. **پلی‌ادنیلاسیون متناوب** باعث تنوع بیشتر می‌شود. بعضی از ژن‌ها بیش از یک پروموتور دارند و این **پروموتورهای ثانویه** ممکن است باعث ایجاد ایزوفورم‌های خاص بافتی شوند. پیرایش متناوب اگزون‌ها نیز

جدول ۲-۲ کلاس، گروه و انواع اصلی جهش‌ها و اثرات آنها بر محصول پروتئینی

کلاس	گروه	نوع	اثر بر محصول پروتئینی
جایگزینی	مترادف	خاموش*	همان اسیدآمینه ایجاد می‌شود.
	نامترادف	بدمعنی*	اسیدآمینه تغییر می‌کند – که می‌تواند بر عملکرد یا پایداری پروتئین اثر بگذارد
		بی‌معنی*	کدون خاتمه ـ باعث فقدان عملکرد یا بیان به دلیل تخریب mRNA می‌شود
		جایگاه پیرایش	پیرایش غیرطبیعی ـ حذف اگزونی یا حفظ اینترونی
		پروموتور	تغییر بیان ژن
حذف	مضربی از ۳ باشد (کدون)		حذف در چارچوب یک یا چند اسیدآمینه ـ ممکن است بر عملکرد یا پایداری پروتئین اثر بگذارد
	مضربی از ۳ نباشد	تغییر چارچوب	احتمالاً باعث خاتمه زودهنگام ترجمه همراه با فقدان عملکرد یا بیان می‌شود.
	حذف بزرگ	حذف نسبی ژن	ممکن است باعث خاتمه زودهنگام ترجمه همراه با فقدان عملکرد یا بیان شود.
		حذف کامل ژن	فقدان بیان ژن
درج	مضربی از ۳ باشد (کدون)		درج در چارچوب یک یا چند اسیدآمینه ـ ممکن است بر عملکرد یا پایداری پروتئین اثر بگذارد
	مضربی از ۳ نباشد	تغییر چارچوب	احتمالاً باعث خاتمه زودهنگام ترجمه شده که همراه با فقدان عملکرد یا بیان می‌باشد.
	درج بزرگ	مضاعف‌سازی نسبی ژن	ممکن است باعث خاتمه زودهنگام ترجمه همراه با فقدان عملکرد یا بیان شود
	افزایش تکرارهای سه‌نوکلئوتیدی	مضاعف‌سازی کامل ژن، جهش دینامیک	ممکن است به دلیل افزایش دُزاژ ژن، اثر داشته باشد. تغییر بیان ژن یا تغییر عملکرد یا پایداری پروتئین

* برخی از انواع این جهش‌ها می‌توانند باعث پیرایش نادرست شوند.

مشاهده شده است زیرا که اگزون‌های منفردی تنها در بعضی از ایزوفورم‌ها وجود دارند. میزان پیرایش متناوب در انسان ممکن است از این یافته استنباط شود که ژنوم انسان دارای تنها ۲۵,۰۰۰ تا ۳۰,۰۰۰ ژن بوده و این تعداد خیلی کمتر از تعداد پیش‌بینی شدهٔ ۱۰۰,۰۰۰ لوایه می‌باشد.

سنتز DNA هدایت شده توسط RNA

فرآیند انتقال اطلاعات ژنتیکی از DNA به RNA **اصل مرکزی** (Central dogma) نامیده می‌شود. در ابتدا تصور می‌شد که اطلاعات ژنتیکی تنها از DNA به RNA انتقال یافته و به پروتئین ترجمه می‌شود. با این حال شواهدی از مطالعه بعضی از انواع ویروس‌های خاص ـ رترو ویروس‌ها ـ به دست آمد که اطلاعات ژنتیکی گاهی می‌توانند در جهت معکوس یعنی از RNA به DNA منتقل شوند. این مورد به عنوان **سنتز DNA هدایت شده توسط RNA** (RNA-directed DNA synthesis) در نظر گرفته می‌شود. پیشنهاد شده که نواحی‌ای از DNA در سلول‌های طبیعی به عنوان الگوهائی برای سنتز RNA عمل می‌کنند که سپس آنها به عنوان الگو برای سنتز DNA عمل می‌کنند و بعداً DNA ایجاد شده در DNA هسته‌ای سایر سلول‌ها ادغام می‌گردد. تشابه بین توالی‌های آنکوژن‌های رترو ویروسی و انسانی این فرآیند را منعکس می‌کند و می‌تواند روش درمانی مهمی برای درمان بیماری‌های توارثی در انسان باشد.

جهش‌ها

یک **جهش** به عنوان یک تغییر یا دگرگونی توارثی در مادهٔ ژنتیکی تعریف می‌شود. جهش‌ها تکامل را هدایت کرده‌اند اما می‌توانند بیماری‌زا نیز باشند. جهش‌ها در اثر تماس با موتاژن (جهش‌زا) ایجاد شده، اما اکثر آنها به صورت خودبخودی طی خطاهای همانندسازی DNA یا تعمیر رخ می‌دهند. واریانت‌های توالی بدون هیچ اثر مشخصی بر روی فنوتیپ ممکن است پلی‌مورفیسم نامیده شوند.

موتاسیون‌های سوماتیکی می‌توانند باعث بیماری باشند شروع در بزرگسالی مثل سرطان شوند، اما نمی‌توانند به فرزندان منتقل گردند. یک جهش در **بافت گنادی** یا یک **گامت** می‌تواند به نسل‌های بعد منتقل شود مگر آنکه بر روی باروری یا بقاء تا بزرگسالی اثر بگذارد. تخمین زده شده است که هر فرد، ناقل بیش از ۶ آلل جهش یافته مغلوب کشنده یا نیمه کشنده است که در حالت هموزیگوت اثرات خیلی جدی خواهد داشت. این تخمین محافظه‌کارانه است و مقدار واقعی بسیار بزرگتر از آن می‌تواند باشد. همه انواع آلل‌های مضر اصطلاحاً بار ژنتیکی (genetic load) جمعیت را تشکیل می‌دهند.

همچنین مثال‌های کمی از جهش برگشتی (back mutation) در بیمارانی با بیماری‌های مغلوب وجود دارد. مثلاً برگشت جهش‌های توارثی مضر در سلول‌های با فنوتیپ طبیعی، در تعداد کمی از بیماران آنمی فانکونی مشاهده شده است.

انواع جهش‌ها

جهش‌ها را می‌توان در طیفی از جهش شامل جایگزینی یک باز، درج‌ها و حذف‌شدگی‌های یک یا چند باز تا حذف یا اضافه‌شدن کل کروموزوم‌ها در نظر گرفت (جدول ۲-۲). جایگزینی بازی شایع‌ترین مورد بوده (جدول ۳-۲) و جهش‌های بدمعنی تقریباً نیمی از کل جهش‌ها را در بر می‌گیرد. یک سیستم نامگذاری استاندارد برای توصیف جهش‌ها (جدول ۴-۲) مورد توافق واقع شده است (به این آدرس مراجعه کنید /http://www.hgvs.org/mutnomen). مثال‌هائی از ناهنجاری‌های کروموزومی در فصل ۳ شرح داده شده‌اند.

جدول ۳-۲ فراوانی انواع متفاوت جهش‌ها

نوع موتاسیون	درصد کلی
بدمعنی یا بی‌معنی	۵۶
پیرایش	۱۰
تنظیمی	۲
حذف‌ها یا درج‌های کوچک (یا *indel)	۲۴
حذف یا درج‌های بزرگ	۷
سایر موارد (نوآرائی‌های پیچیده یا واریانت‌های تکراری)	<۱

اطلاعات از http://ww.hgmd.org به دست آمده‌اند.

*indel: جهش‌هائی که شامل هر دو نوع جهش حذف و درج نوکلئوتیدی می‌باشند.

جدول ۴-۴ سیستم نامگذاری جهش‌ها: مثالی از جهش‌های ژن CFTR

نوع جهش	نوکلئوتید	توصیف پروتئین	شرح نتایج
بدمعنی	c.482 G>A	p.Arg117 His	تبدیل آرژنین به هیستیدین
بی‌معنی	c.1756 G>T	p.Gly 542 X	تبدیل گلایسین به کدون‌پایان
پیرایش	c.621+1 G>T		جهش جایگاه‌دهندهٔ پیرایش
حذف (۱bp)	c.1078T	p.Val 358TyrfsX11	جهش تغییر چارچوب
حذف (۳bp)	c.1652-1654delCTT	p.Phe 508del	حذف در چارچوب فنیل آلانین
درج	c.3905-3906 insT	p.Leu 1258PhefsX7	جهش تغییر چارچوب

جهش‌ها را می‌توان براساس توالی DNA ژنومی یا cDNA (mRNA) به ترتیب با پیشوند g یا c توصیف کرد. اولین باز کدون آغاز (ATG) به عنوان c.1 در نظر گرفته می شود. با این حال به دلایل تاریخی همیشه به کار نمی‌رود و اولین باز cDNA ژن CFTR در حقیقت نوکلئوتید ۱۳۳ است.

جایگزینی‌ها (Substitutions)

یک **جایگزینی**، جایه‌جای یک نوکلئوتید با نوکلئوتید دیگر است. اینها شایع‌ترین نوع جهش می‌باشند. اگر جایگزینی شامل جایه‌جای نوکلئوتیدی از یک نوع باشد - پیریمیدین به جای پیریمیدین (C به T یا برعکس) یا پورین به جای پورین (A به T یا بالعکس) این مورد **Transition (انتقال)** نامیده می‌شود. جایگزینی یک پیریمیدین با یک پورین و بالعکس **Transversion (تبدیل)** نامیده می‌شود. transition بیشتر از transversion رخ می‌دهد که این مورد ممکن است به دلیل فراوانی نسبتاً بالای ترانزیشن‌های (انتقال‌های) C به T است که در نوکلئوتیدهای سیتوزین و گوانین مجاور هم موسوم به دی‌نوکلئوتیدهای CpG (P نمایانگر فسفات است) رخ می‌دهد. این توالی‌ها در DNA ژنومی متیله می‌شوند و با دامیناسیون خودبخودی متیل سیتوزین به تیمین تبدیل می گردند. دی‌نوکلئوتیدهای CpG «**نقاط داغ موتاسیونی**» نامگذاری شده‌اند.

حذف‌ها (deletions)

حذف شامل فقدان یک یا چند نوکلئوتید است. اگر حذف در توالی کدکننده رخ دهد و یک، دو یا چند نوکلئوتید که مضربی از ۳ نباشد را شامل شود، چارچوب خواندن ترجمه تغییر خواهد کرد. حذف‌های بزرگ ممکن است بخش یا کل ژن را در بر بگیرند و در اثر کراسینگ‌اور نابرابر بین توالی‌های تکراری ایجاد شود (مثل نوروپاتی توأمان همراه با استعداد به فلج‌های تشنجی).

درج‌ها (insertions)

درج شامل اضافه‌شدن یک یا چند نوکلئوتید درون یک ژن است. مجدداً اگر درج در توالی کدکننده باشد و یک، دو یا چند نوکلئوتید که مضربی از ۳ نباشند را شامل شود، چارچوب خواندن ترجمه را تغییر می‌دهد. درج‌های بزرگ نیز توسط کراسینگ‌اور نابرابر (مثل نوروپاتی حسی و حرکتی توارثی تیپ 1a) یا در اثر درج عناصر متحرک ایجاد می‌شوند.

در سال ۱۹۹۱ افزایش توالی‌های تکراری سه نوکلئوتیدی به عنوان یک مکانیسم موتاسیونی تعیین شد. بعداً نشان داده شد که تعدادی از بیماری‌های تک‌ژنی با افزایش تکرارهای سه‌تائی مرتبط‌اند (جدول ۵-۲). این موارد به عنوان **جهش‌های دینامیک** شرح داده شده‌اند، زیرا با افزایش اندازه این توالی‌ها، توالی‌های تکراری ناپایدارتر می‌شدند. مکانیسمی که طی آن تکثیر یا افزایش توالی‌های تکراری سه‌تائی رخ می‌دهد هنوز مشخص نیست. تکرارهای سه‌تائی کمتر از یک طول خاص در مورد هر بیماری به‌طور پایدار در تقسیمات میتوز و میوز منتقل می‌شوند. افزایش تکرارها از یک تعداد تکرار معین در هر بیماری با احتمال بیشتری به‌طور ناپایدار منتقل شده، که معمولاً با افزایش یا کاهش تعداد تکرارها همراه است. دلائل محتمل متفاوتی برای چگونگی رخداد افزایش تعداد تکرارهای سه‌تائی ارائه شده‌اند. از جمله کراسینگ‌اور نابرابر، تبادلات کروماتیدی خواهری نابرابر در DNA غیرهماندسازی‌کننده (به فصل ۱۸ مراجعه شود) و جفت‌شدن ناجور رشته - لغزنده (slipped-strand mispairing) و لغزش پلیمرازی در همانندسازی DNA.

جدول ۵-۲ مثال‌هائی از بیماری‌های ناشی از افزایش تکرارهای سه نوکلئوتیدی

بیماری	توالی تکراری	طیف طبیعی تکرارها	طیف بیماریزایی تکرارها	موقعیت تکرارها
Huntington disease (HD)	CAG	9-35	36-100	Coding
Myotonic dystrophy type 1 (DM1)	CTG	5-35	50-4000	3' UTR
Fragile X site A (FRAXA)	CGG	10-50	200-2000	5' UTR
Kennedy disease (SBMA)	CAG	13-30	40-62	Coding
Spinocerebellar ataxia 1 (SCA1)	CAG	6-38	39-80	Coding
Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2)	CAG	16-30	36-52	Coding
Machado-Joseph disease (MJD, SCA3)	CAG	14-40	60->85	Coding
Spinocerebellar ataxia 6 (SCA6)	CAG	5-20	21-28	Coding
Spinocerebellar ataxia 7 (SCA7)	CAG	7-19	37-220	Coding
Spinocerebellar ataxia 8 (SCA8)	CTG	16-37	100->500	3' UTR
Spinocerebellar ataxia 12 (SCA12)	CAG	9-45	55-78	5' UTR
Spinocerebellar ataxia 17 (SCA17)	CAG	25-42	47-55	Coding
Dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA)	CAG	7-23	49->75	Coding
Friedreich ataxia (FA)	GAA	8-33	100-900	Intronic
Fragile X site E (FRAXE)	CCG	6-25	>200	Promoter
Oculopharyngeal muscular dystrophy	GCG	6	8-13	Coding

*UTR : ناحیه ترجمه نشده

افزایش تکرارهای سه نوکلئوتیدی معمولاً در تعدادی از نسل‌های یک خانواده رخ می‌دهند که توضیحی برای برخی جنبه‌های ناممول توارث و احتمال افزایش شدت ژنتیکی (anticipation) که قبلاً مشخص نبود فراهم می‌آورد. مکانیسم دقیقی که افزایش تکرارها باعث بیماری می‌شوند، ناشناخته است. افزایش ناپایداری سه‌نوکلئوتیدی ممکن است در نواحی کدکننده یا غیر کدکننده ژن‌ها رخ دهد و بنابراین در مکانیسم‌های بیماری‌زائی با هم متفاوت باشند. افزایش تکرار CAG در ناحیه کدکننده ژن HD و بعضی از ژن‌های SCA باعث ایجاد پروتئینی با یک قطعه بلندتر پلی‌گلوتامینی می‌شود که در سلول‌های خاصی تجمعات سمی تشکیل می‌دهند. در سندرم X شکننده افزایش تکرارهای CGG در ناحیهٔ ۵ ترجمه نشده (UTR) منجر به متیلاسیون توالی پروموتور و عدم بیان پروتئین FMR-1 می‌شود. در دیستروفی میوتونیک (MD) تسور می‌شود که مکانیسم افزایش عملکرد RNA ناشی از هر دو حالت افزایش تکرار CTG در 3' UTR ژن DMPK (MD تیپ یک) و افزایش تکرارهای CCTG درون اینترون ۱ ژن ZNF9 باشد. رونوشت بلند شده به پروتئین‌های تنظیمی پیرایش متصل شده تا کمپلکس‌های RNA - پروتئین را تشکیل دهند که در هسته سلول‌ها تجمع می‌یابند. مختل‌شدن این تنظیم‌کننده‌های پیرایش موجب فرآیندهای تکوینی غیرطبیعی در مکان‌هایی می‌شود که ایزوفورم‌های جنینی پروتئین‌های مربوطه در بافت‌های دیستروفی میوتونیک بالغین بیان می‌شوند. پس به نظر می‌رسد که پروتئین‌های نابالغ مسئول ویژگی‌های بالینی مشترک هر دو بیماری باشند.

طیف جهش‌های افزایش تکرارها شامل افزایش تکرارهای دوازده‌تایی بالا دست ژن سیستاتین B نیز می‌باشد که باعث صرع میوکلونوس پیشرونده (EPM1) شده و همچنین افزایش تکرارهای پنج نوکلئوتیدی در اینترون ۹ ژن ATXN10، که در خانواده‌های مبتلا به آتاکسی مخربی - نخاعی تیپ ۱۰ مشاهده شده است. آتاکسی مخربی - نخاعی یک بیماری بسیار هتروژن (ناهمگون) است و علاوه بر جهش‌های دینامیک نشان داده شده در جدول ۵-۲ جهش‌های افزایش توالی‌های غیرتکراری در چهار ژن دیگر نیز گزارش شده‌اند.

اثرات ساختاری جهش‌ها بر پروتئین‌ها

جهش‌ها همچنین می‌توانند بر توالی پلی‌پپتیدی یک پروتئین که شده اثر بگذارند که آنها را می‌توان به دو دستهٔ *مترادف* (synonymous) و *نامترادف* (non – synonymous) تقسیم کرد.

جهش‌های خاموش یا مترادف (synonymous or silent)

اگر جهش محصول پلی‌پپتیدی یک ژن را تغییر ندهد **جهش مترادف** یا **خاموش** نامیده می‌شود. یک جایگزینی تک‌بازی به‌خصوص اگر در موقعیت سومین باز کدون رخ دهد و به دلیل منحطبودن کدهای ژنتیکی اغلب کدون به‌نائی دیگری را برای همان اسیدآمینه کد خواهد کرد که هیچ تغییری را در ویژگی‌های پروتئین حاصل ایجاد نمی‌کند.

جهش‌های نامترادف (non – synonymous)

اگر جهش منجر به تغییر یک پلی‌پپتید گردد به عنوان **جهش نامترادف** شناخته می‌شود. جهش‌های نامترادف با فراوانی کمتری نسبت به جهش‌های مترادف رخ می‌دهند. جهش‌های مترادف به‌طور انتخابی خنثی بوده در حالی که تغییر توالی اسید آمینهٔ محصول پروتئینی یک ژن احتمالاً منجر به عملکرد غیرطبیعی می‌شود که معمولاً با بیماری یا مرگ و میر مرتبط بوده و با عدم مزیت انتخابی همراه است. جهش‌های نامترادف می‌توانند به سه روش زیر رخ دهند.

بدمعنی *(Missense)*

یک جایگزینی تک‌بازی می‌تواند منجر به کد شدن اسید آمینه متفاوت و سنتز پروتئین تغییریافته‌ای شود که اصطلاحاً به آن جهش **بدمعنی** می‌گویند. اگر جهش اسید آمینه‌ای را کد کند که از لحاظ شیمیائی نامشابه باشد، مثلاً بار متفاوتی داشته باشد، ساختار پروتئین تغییر خواهد کرد. به این مورد جایگزینی **غیرحفاظتی** (non-conservative) می‌گویند که باعث کاهش قابل توجه یا حتی فقدان کامل فعالیت بیولوژیکی پروتئین می‌شود. جهش‌های تک‌بازی بیشتر می‌توانند منجر به تغییرات کیفی در عملکرد پروتئین شوند تا تغییرات کمّی، به‌طوری که فعالیت بیولوژیکی طبیعی آن (مثلاً فعالیت آنزیمی) را حفظ کرده، اما ویژگی‌هائی مثل تحرک الکتروفورزی، PH مطلوب یا پایداری آن را تغییر می‌دهند، که در محیط *in vivo* سریع‌تر تجزیه می‌گردد. بیماری از هموگلوبین‌های غیرطبیعی ناشی از جهش‌های بدمعنی می‌باشند.

برخی جایگزینی‌های تک‌بازی باعث جایگزینی اسیدآمینه‌ای متفاوت می‌شوند که از لحاظ شیمیائی مشابه بوده و هیچ اثر عملکردی ندارند. این موارد جایگزینی‌های **حفاظتی** (conservative) نامیده می‌شوند.

بی‌معنی *(nonsense)*

نوعی جایگزینی که منجر به ایجاد یکی از کدون‌های پایان می‌شود، باعث خاتمه زودهنگام ترجمه یک زنجیره پلی‌پپتیدی شده و به آن جهش **بی‌معنی** می‌گویند. در اکثر موارد زنجیره کوتاه شده احتمالاً فعالیت بیولوژیکی طبیعی پروتئین را حفظ نمی‌کند به‌خصوص اگر کدون خاتمه باعث حذف دومین‌های عملکردی مهم پروتئین نیز شود. رونوشت mRNA حاوی کدون‌های خاتمه زودهنگام اغلب طی فرایندی به نام **تخریب با واسطه جهش بی‌معنی** (nonsense-mediated decay) تخریب می‌شوند. این مورد شکلی از نظارت بر RNA است که به نظر می‌رسد برای محافظت از بدن در مقابل عواقب احتمالی پروتئین‌های کوتاه شده که با عملکرد پروتئین‌های طبیعی تداخل می‌کنند، تکامل یافته است.

تغییر چارچوب *(Frameshift)*

اگر موتاسیونی شامل درج یا حذف نوکلئوتیدهائی که مضربی از ۳ نیستند باشد، چارچوب خواندن ترجمه را به هم ریخته و اصطلاحاً به آن **جهش تغییر چارچوب** می‌گویند. توالی اسیدآمینه‌ای پروتئین پس از جهش هیچ شباهتی به توالی طبیعی نداشته و ممکن است اثرات نامطلوبی بر عملکرد پروتئین بگذارد. اکثر جهش‌های تغییر چارچوب باعث ایجاد کدون خاتمه زودهنگام در پائین‌تر از جایگاه جهش می‌شوند. این مورد منجر به بیان پروتئین کوتاه شده می‌گردد، مگر آنکه mRNA مربوطه توسط تخریب با واسطه جهش بی‌معنی تجزیه شده باشد.

جهش‌ها در DNA غیرکدکننده

به‌طور کلی جهش‌ها در DNA غیر کد کننده با احتمال کمتری دارای اثرات فنوتیپی می‌باشند. استثناء آنها شامل توالی‌های پروموتور یا سایر نواحی تنظیمی است که بر سطح بیان ژن تأثیر می‌گذارند. با توجه به اطلاعات ما در رابطه با نقش تداخل RNA در بیان ژن واضح است که جهش‌های جایگاه‌های اتصال miRNA یا siRNA درون UTRs نیز می‌تواند باعث بیماری شوند.

جهش‌های پیرایش

جهش‌های جایگاه‌های بسیار حفظ شدهٔ دهندهٔ پیرایش (GT) و گیرندهٔ پیرایش (AG) معمولاً موجب پیرایش غیرطبیعی می‌شوند. این مورد می‌تواند باعث توالی کدکننده (حذف اگزونی) یا حفظ توالی اینترونی گردد و منجر به جهش‌های تغییر چارچوب شود. **جایگاه‌های پنهان** (Cryptic splice sites) که مشابه یک توالی پیرایش واقعی است، زمانی که جایگاه‌های پیرایش حفظ شده جهش پیدا کنند، فعال می‌شوند. بعلاوه جایگزینی بازی که باعث جهش‌های خاموش، بدمعنی و بی‌معنی می‌شوند، می‌توانند با ایجاد جهش در توالی‌های **افزایندهٔ پیرایش اگزونی** (exon splicing enhancer) منجر به پیرایش غیرطبیعی شوند. این توالی‌های غنی از پورین برای پیرایش صحیح اگزون‌ها دارای توالی‌های مورد توافق جایگاه پیرایش ضعیف مورد نیاز می‌باشند.

اثرات عملکردی جهش‌ها بر پروتئین

جهش‌ها اثرات فنوتیپی خود را به یکی از دو روش فقدان عملکرد یا افزایش عملکرد اعمال می‌کنند.

جهش‌های فقدان عملکرد

موتاسیون‌های **فقدان عملکرد** باعث کاهش فعالیت یا فقدان کامل محصول ژنی می‌شوند. در حالت اول که باعث کاهش فعالیت یا پایداری محصول ژن می‌شود، به عنوان **هیپومورف** شناخته می‌شود، حالت دوم به عنوان **آلل صفر** (null allele) یا **آمورف** (بی‌خاصیت) نامیده می‌شود. موتاسیون‌های فقدان عملکرد در آنزیم‌ها معمولاً با الگوی آتوزوم یا وابسته به X مغلوب به ارث می‌رسند زیرا فعالیت کاتالیتیکی محصول آلل طبیعی برای انجام اکثر واکنش‌های مسیرهای متابولیکی کافی می‌باشد.

عدم کفایت هاپلوئیدی *(Haplo-insufficiency)*

در جهش‌های فقدان عملکرد که در حالت هتروزیگوت نیمی از مقادیر طبیعی محصول ژنی باعث ایجاد اثرات فنوتیپی می‌شود، **جهش‌های عدم کفایت هاپلوئیدی** نامیده می‌شوند. تظاهرات فنوتیپی حساس به دُز ژن در نتیجهٔ موتاسیون‌هائی می‌باشند که در ژن‌های کدکنندهٔ رسپتورها یا آنزیم‌های نادرتر که عملکرد آنها محدود کردن سرعت یک واکنش است، رخ می‌دهند. برای مثال هایپرکلسترولمیای خانوادگی و پورفیری متنوع حاد. در تعدادی از بیماری‌های آتوزوم غالب اساس جهش ناهنجاری عملکردی ناشی از عدم کفایت هاپلوئیدی است. بنابراین تعجب‌برانگیز نمی‌باشد که جهش‌های هموزیگوت اثرات فنوتیپی شدیدتری داشته باشند، مثلاً در ادم آنژیونوروتیک و هایپرکلسترولمیای خانوادگی.

جهش‌های کسب عملکرد (یا افزایش عملکرد)

جهش‌های کسب عملکرد (gain-of-function) همانطور که از نامشان مشخص است، باعث افزایش سطح بیان ژن یا ایجاد عملکرد جدیدی برای محصول ژنی می‌شوند. افزایش سطح بیان ناشی از موتاسیون‌های نقطه‌ای فعال‌کننده یا افزایش دُز ژنی مسئول یکی از اشکال بیماری شارکوت ـ ماری ـ توث (نوروپاتی حسی ـ حرکتی تیپ یک) می‌باشد. جهش‌های افزایش تکرارهای سه نوکلئوتیدی در ژن هانتینگتون موجب تغییرات کیفی در محصول ژن شده که در نتیجه منجر به تجمع پروتئین در سیستم اعصاب مرکزی شده و مسئول ویژگی‌های بالینی کلاسیک این بیماری می‌باشد.

جهش‌هائی که زمان یا اختصاصیت بافتی بیان یک ژن را تغییر می‌دهند نیز می‌توانند به عنوان جهش‌های کسب عملکرد در نظر گرفته شوند. مثال آن شامل نوآرائی‌های کروموزومی است که منجر به ایجاد ترکیبی از توالی‌های دو ژن متفاوت می‌شوند که در تومورهای خاصی مشاهده شده‌اند. عملکرد جدید ژن کایمر جدید منجر به فرایند نئوپلاستیک می‌گردد. موتاسیون‌های کسب عملکرد به‌صورت غالب به ارث می‌رسند و مثال‌های نادری از جهش‌های کسب عملکرد در حالت هموزیگوت رخ می‌دهند که اغلب همراه با فنوتیپ شدیدتری بوده و به صورت یک بیماری کشنده پیش از تولد مثل آکندرو پلازی هموزیگوت یا سندرم واردن برگ تیپ ۱ می‌باشد.

جهش‌های منفی غالب

یک **جهش منفی غالب** (Dominant-Negative Mutation) جهشی است که در آن ژن جهش یافته در حالت هتروزیگوت باعث فقدان فعالیت یا عملکرد پروتئین شده زیرا محصول ژن جهش یافته با عملکرد محصول ژن طبیعی آلل مربوطه تداخل

می‌کند. جهش‌های منفی غالب بخصوص در پروتئین‌هائی که دایمر یا مونومر می‌باشند، رخ می‌دهند، مثل پروتئین‌های ساختاری از جمله کلاژن که جهش‌های آن منجر به استئوژنز ایمپرفکتا می‌شود.

همبستگی فنوتیپ ـ ژنوتیپ

در بسیاری از بیماری‌های ژنتیکی شناخته شده شدت و به‌خصوص تظاهرات علائم بیماری از یک فرد به فرد دیگر متغیر است. پیشرفت‌های ژنتیک مولکولی امکان تعیین اساس جهش مربوط به علائم بالینی خاص در فردی یا یک بیماری توارثی ویژه یا اصطلاحاً فنوتیپ او را فراهم ساخته‌اند. این مورد موجب تلاش‌هائی شده است تا وجود یک جهش خاص را که ژنوتیپ نامیده می‌شود با علائم بالینی خاص مشاهده شده در فردی یا یک بیماری توارثی ربط داده شود و اصطلاحاً به عنوان **همبستگی فنوتیپ ـ ژنوتیپ** در نظر گرفته می‌شود. این مورد در مدیریت وضعیت بیمار حائز اهمیت است. برای مثال می‌توان به ارتباط جهش‌های ژن BRCA1 با خطر ایجاد سرطان تخمدان و همچنین سرطان پستان اشاره کرد. مثال قابل توجه، جهش‌های ژن گیرندهٔ تیروزین کیناز RET است که وابسته به موقعیت جهش‌ها می‌توانند چهار سندرم متفاوت ایجاد کنند که مکانیسم‌های عملکردی و فنوتیپ‌های بالینی متفاوتی دارند. جهش‌های بی‌معنی فقدان عملکرد در این ژن مانع از مهاجرت سلول‌های مشتق شده از سنتیغ عصبی برای ایجاد گانگلیای شبکه عضلانی روده بزرگ شده و موجب بیماری هیرشپرونگ می‌گردد. در حالی که جهش‌های بدمعنی افزایش عملکرد باعث کارسینومای مدولاری تیروئید خانوادگی یا یکی از دو نوع نئوپلازی اندوکرین چند گانه نیب ۲ می‌شوند. جهش‌های ژن LMNA حتی با طیف وسیع‌تری از بیماری‌ها مرتبط می‌باشد.

جهش‌ها و جهش‌زائی

جهش‌هائی که به‌طور طبیعی رخ می‌دهند به عنوان **جهش‌های خودبخودی** اطلاق می‌گردند و به‌نظر می‌رسد از خطاهای تصادفی در تقسیم کروموزومی یا همانندسازی DNA ایجاد شوند. معرف‌های محیطی که باعث ایجاد موتاسیون می‌شوند، به عنوان موتاژن شناخته می‌شوند. این معرف‌ها شامل

جدول ۶-۲ میانگین دُز تقریبی پرتوهای یونیزان از منابع مختلف بر روی گنادها در جمعیت عمومی

منابع تابش	میانگین دُز در سال (msv)	میانگین دُز در ۳۰ سال (msv)
طبیعی		
پرتوهای کیهانی	۰/۳۵	۷/۵
پرتوهای γ خارجی	۱/۵	۴۵
پرتوهای γ داخلی	۰/۳	۹
مصنوعی		
رادیولوژی پزشکی	۰/۳	۹
تشعشع‌های رادیواکتیو	۰/۰۱	۰/۳
تماس‌های شغلی و غیره	۰/۰۴	۱/۲
جمع کل	۲/۴	۷۲

پرتوهای یونیزان طبیعی و مصنوعی و موتاژن‌های فیزیکی یا شیمیائی می‌باشند.

پرتوها

پرتوهای یونیزان شامل امواج الکترومغناطیسی با طول موج خیلی کوتاه (مثل اشعه X و γ) و ذرات پرانرژی (مثل ذرات آلفا، بتا و نوترون‌ها) می‌باشند. اشعه‌های X و γ و نوترون‌ها قدرت نفوذ بالائی دارند، اما ذرات آلفا (α) می‌توانند در بافت‌های نرم تا عمق تنها کسری از یک میلی‌متر و ذرات بتا (β) می‌توانند تنها تا چند میلی‌متر نفوذ کنند.

سنجش تشعشع (دزیمتری) اندازه‌گیری میزان پرتوها است. اندازه تابش بر حسب مقداری که توسط گنادها دریافت شده، بیان می‌شود، زیرا اثرات تابش بر روی سلول‌های زایشی مهم‌تر از سلول‌های سوماتیکی است و انتقال جهش‌ها به نسل بعد مورد نگرانی می‌باشد. دُز **گنادی** تابش اغلب به عنوان مقداری که طی ۳۰ سال دریافت شده تعریف می‌گردد، این زمان از آنجا انتخاب شده که تقریباً معادل فاصلهٔ بین نسل‌های انسانی است.

منابع گوناگون و دزهای متوسط سالیانهٔ انواع متفاوت پرتوهای یونیزان طبیعی و مصنوعی در جدول ۶-۲ آمده‌اند. منابع طبیعی پرتوها شامل پرتوهای کیهانی،

تابش‌های خارجی مواد رادیواکتیو در مناطق خاص و پرتوهای داخلی مواد رادیواکتیو داخل بافت‌ها می‌باشند. منابع مصنوعی پرتوها شامل رادیولوژی درمانی و تشخیصی، تماس‌های شغلی و قرار گرفتن در معرض انفجارهای هسته‌ای، می‌باشند. دُز گنادی متوسط پرتوهای یونیزان از تشعشع‌های رادیواکتیو حاصل از آزمایش سلاح‌های هسته‌ای کمتر از دیگر زمینه‌های تشعشع می‌باشد. با این حال، احتمال حوادث جدی در راکتورهای هسته‌ای وجود دارد همانند آنچه که در جزیرهٔ Three Mile در آمریکا در سال ۱۹۷۹ و نیز در چرنوبیل در اتحاد جماهیر شوروی در سال ۱۹۸۶ رخ داد و اثرات گستردهٔ آنها را همیشه باید به خاطر داشته باشیم.

اثرات ژنتیکی

آزمایشات گیاهی و جانوری نشان داده‌اند که تعداد جهش‌های ایجاد شده توسط تشعشع‌ها متناسب با دُز تابش می‌باشد، هر چه دُز بیشتر باشد، تعداد جهش‌های ایجاد شده بیشتر است. تصور می‌شود که حد آستانه‌ای وجود ندارد که در مقادیر کمتر از آن پرتوها اثری نداشته باشند ـ حتی کمترین مقدار دُز تابش می‌تواند جهش ایجاد کند.

اثرات ژنتیکی پرتوهای یونیزان تجمعی می‌باشند، بنابراین هر زمان که فرد در معرض پرتوها قرار می‌گیرد، دُز دریافتی به مقادیر پرتوهائی که قبلاً دریافت شده اضافه می‌شود. تعداد کلی جهش‌های القاء شده با تابش، مستقیماً متناسب با کل دُز گنادی می‌باشد.

متأسفانه در انسان روش آسانی برای تشخیص آسیب‌های ژنتیکی حاصل از موتاژن‌ها وجود ندارد. چندین نهاد در سراسر جهان مسئول تعیین آنچه که به عنوان حداکثر دُز مجاز پرتوها نامیده می‌شود، می‌باشند. در انگلستان بخش محافظت در برابر پرتوها از مؤسسه حفظ سلامت توصیه می‌کند که تماس‌های شغلی نباید بیش از ۱۵msv در سال باشد. به عنوان یک دیدگاه کلی ۱msv تقریباً ۵۰ برابر دُز دریافت شده در یک عکس‌برداری سینه با اشعه X و ۱۰۰ برابر دُز دریافتی در پرواز با هواپیما از انگلستان به اسپانیا می‌باشد.

هیچ شکی نیست که خطرات بالقوه‌ای در تماس با پرتوهای یونیزان در هر دو حالت سوماتیکی و زایشی وجود دارد. در موارد رادیولوژی پزشکی دُز پرتوهای یک روش خاص باید با اثرات سودمند نهائی آن برای بیمار مورد ارزیابی قرار گیرد. در مورد تماس‌های شغلی با پرتوها، پاسخ در تعریف خطرات و معرفی قوانین مناسب می‌باشد. در مورد خطرات تشعشع‌های ناشی از حوادث هسته‌ای و انفجارها، راه‌حل مشخص است.

موتاژن‌های شیمیائی

در انسان جهش‌زائی شیمیائی ممکن است در ایجاد آسیب‌های ژنتیکی مهم‌تر از پرتوها باشند. آزمایشات نشان داده‌اند که مواد شیمیائی خاص مثل گاز خردل، فرمالدهید، بنزن، برخی رنگ‌های بازی و افزودنی‌های خوراکی در حیوانات جهش‌زا (موتاژن) می‌باشند. تماس با مواد شیمیائی محیطی ممکن است منجر به تشکیل بدشکلی‌های DNA (DNA adducts)، شکستگی کروموزومی یا آنیوپلوئیدی شود. در نتیجه همهٔ محصولات دارویی در معرض آزمایش جهش‌زائی قرار می‌گیرند که شامل هر دو مطالعات *in vivo* و *in vitro* در حیوانات می‌باشد.

تعمیر DNA

رخداد جهش‌ها در DNA اگر تعمیر نشده باقی بماند عواقب جدی برای فرد و نسل آینده خواهد داشت. پایداری DNA به **تعمیر DNA** توسط مکانیسم‌های متفاوتی وابسته است (جدول ۷-۲). بعضی انواع آسیب‌های DNA را می‌توان مستقیماً تعمیر کرد. برای مثال دالکیلاسیون O^6 – الکیل گوانین یا حذف دایمرهای تیمین توسط واکنش نوری در باکتری‌ها. اکثر مکانیسم‌های تعمیر DNA شامل برش یک رشته DNA توسط یک اندونوکلئاز، حذف ناحیه آسیب‌دیده توسط اگزونوکلئاز و درج بازهای جدید توسط DNA پلیمراز و اتصال شکستگی با آنزیم DNA لیگاز می‌باشند.

تعمیر برش نوکلئوتیدی دایمرهای تیمین و بیرون‌زدگی‌های شیمیائی بزرگ را برطرف می‌کند. این تعمیر یک فرایند پیچیده است که در آن بیش از ۳۰ پروتئین در حذف قطعاتی به طول تقریبی ۳۰ نوکلئوتید نقش دارد. جهش‌های حداقل هشت عدد از ژن‌های کدکنندهٔ این پروتئین‌ها می‌توانند اگزرودرماپیگمنتوزام ایجاد کنند که با حساسیت بیش از حد به نور

جدول ۷-۲ مسیرهای تعمیر DNA، ژن‌ها و بیماری‌های مرتبط با آنها

نوع روش تعمیر DNA	مکانیسم	ژن	بیماری
تعمیر برش‌بازی (BER)	حذف بازهای غیرطبیعی	MYH	سرطان کلورکتال
	حذف دایمرهای تیمین و بدشکلی‌های شیمیائی	XP	اگزرودرمایگمنتوزام
تعمیر برش نوکلئوتیدی (NER)	بزرگ	NBS	سندرم شکستگی نیجمگن
تعمیر پس از همانندسازی	تصحیح شکستگی‌های دورشته‌ای یا نوترکیبی همولوگ با اتصال انتهاهای غیرهمولوگ	BLM	سندرم بلوم
		BRCA1/2	سرطان پستان
تعمیر جفت باز ناجور (MMR)	تصحیح جفت‌بازهای ناجور ناشی از اشتباهات همانندسازی DNA	MSH – MLH	سرطان کلورکتال (HNPCC)

ماوراء بنفش و فرابنفش بالای سرطان پوست مشخص می‌شوند مجموعه متفاوتی از آنزیم‌های تعمیر برای برش بازهای منفرد غیرطبیعی (**تعمیر برش بازی**) به کار می‌روند که اخیراً نشان داده شده جهش‌های ژن کدکنندهٔ DNA گلیکوزیلاز MYH باعث ایجاد شکل آتنوزوم مطوب سرطان کلورکتال می‌شود.

انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پرتوهای یونیزان طبیعی، شکستگی زنجیره‌های DNA را القاء می‌کنند. شکستگی‌های دو رشته‌ای باعث شکستگی کروموزومی می‌شوند که اگر تعمیر نشوند می‌توانند کشنده باشند. **تعمیر پس از همانندسازی** برای تصحیح شکستگی‌های دورشته‌ای مورد نیاز بوده و معمولاً شامل نوترکیبی همولوگ با یک مولکول DNA خواهری می‌باشد. ژن‌های انسانی دخیل در این روش تعمیر شامل NBS، BLM و BRCA1/2 است که به ترتیب در سندرم شکستگی نیجمگن (Nijmegen)، سندرم بلوم و سرطان پستان توارثی جهش می‌یابند. از طرف دیگر ممکن است مجدداً انتهاهای شکسته توسط اتصال انتهاهای غیرهمولوگ، به هم متصل شوند که یک مسیر مستعد خطا می‌باشد.

تعمیر جفت باز ناجور (MMR) جفت بازهای ناجور را که طی همانندسازی DNA، ایجاد شده‌اند را تصحیح می‌کند. سلول‌هائی که در MMR نقص دارند دارای میزان موتاسیون بالائی نیز می‌باشند (۱۰۰۰ برابر بیشتر از حالت طبیعی). جهش‌ها در حداقل ۶ ژن متفاوت MMR موجب سرطان کلورکتال غیرپولیپوز توارثی می‌شوند. اگرچه مسیرهای تعمیر DNA برای تصحیح آسیب‌های DNA تکامل یافته‌اند و بنابراین سلول را از عواقب مخرب جهش‌ها محافظت می‌کنند، اما برخی از جهش‌ها ناشی از کوشش سلول برای تحمل آسیب‌ها می‌باشند. مثالی از آن **سنتز DNA همراه با ضایعه** (translesion DNA synthesis) است که دستگاه همانندسازی DNA از جایگاه‌های آسیب DNA عبور کرده، ادامه همانندسازی طبیعی و پس از آن بیان ژن را فراهم می‌کند. بیماری‌های انسانی نیز می‌توانند در اثر پاسخ‌های سلولی معیوب به آسیب DNA ایجاد شوند. سلول‌ها مسیرهای انتقال علائم پیچیده‌ای دارند که به چرخه سلول امکان توقف را می‌دهد تا زمان بیشتری برای تعمیر DNA فراهم شود. اگر آسیب DNA قابل تعمیر نباشد، سلول ممکن است مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (آپاپتوز) را فعال نماید. پروتئین ATM در بررسی آسیب‌های DNA نقش دارد و بنابراین به عنوان «محافظ ژنوم» شرح داده شده است. جهش‌های ژن ATM موجب بیماری آتاکسی تلانژکتازی می‌شود که با حساسیت بیش از حد به پرتوها و خطر بالای سرطان مشخص می‌شود.

مطالعات بیشتر

Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al 2007 Molecular biology of the cell, 5th ed. London: Garland.
Very accessible, well written, and lavishly illustrated comprehensive text of molecular biology with accompanying problems book and CD-ROM using multimedia review and self-assessment.

Dawkins R 1989 The selfish gene, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press.
An interesting, controversial concept.

Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al 1998 Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans. Nature 391:806-811.
Landmark paper describing the discovery of RNAi.

Lewin B 2011 Genes X, 10th ed. Oxford: Oxford University Press.
The tenth edition of this excellent textbook of molecular biology with color diagrams and figures. Hard to improve upon.

Mettler FA, Upton AC 2008 medical effects of ionising radiation, 3rd ed. Philadelphia: Saunders.
Good overview of all aspects of the medical consequences of ionizing radiation.

Schull WJ, Neel JV 1958 Radiation and the sex ratio in man. Sex ratio among children of survivors of atomic bombings suggests induced sex-linked lethal mutations. Science 228:434-438.
The original report of possible evidence of the effects of atomic radiation.

Strachan T, Read AP 2011 Human molecular genetics, 4th ed. London: Garland Science.
An up-to-date, comprehensive textbook of all aspects of molecular and cellular biology as it relates to inherited disease in humans.

Turner JE 1995 Atoms, radiation and radiation protection. Chichester, UK: John Wiley.
Basis of the physics of radiation, applications, and harmful effects.

Watson JD, Crick FHC 1953 Molecular structure of nucleic acids-a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171:737-738.
The concepts in this paper, presented in just over one page, resulted in the authors receiving the Nobel Prize!

نکات مهم

۱- اطلاعات ژنتیکی در DNA (دئوکسی نوکلئیک اسید) به صورت یک توالی خطی از دو نوع نوکلئوتید پورینی: آدنین (A) و گوانین (G) و دو نوع نوکلئوتید پیریمیدینی: سیتوزین (C) و تیمین (T) که با اسکلت قند - فسفات بهم متصلند، ذخیره شده است.

۲- یک مولکول DNA دارای دو رشته موازی نامسو است که به صورت یک مارپیچ دورشته‌ای توسط پیوندهای هیدروژنی بین جفت بازهای مکمل G-C و A-T نگه داشته می‌شود.

۳- همانندسازی DNA دارای چندین جایگاه آغاز بوده و به صورت نیمه حفظ شده است و هر رشته به عنوان الگوئی برای سنتز رشته مکمل عمل می‌کند.

۴- ژن‌های کدکنندهٔ پروتئین‌ها در موجودات عالی‌تر (یوکاریوت‌ها) دارای نواحی کدکننده (اگزون‌ها) و غیرکدکننده (اینترون‌ها) می‌باشند.

۵- رونویسی، سنتز یک رشته کپی تک‌رشته‌ای مکمل با یکی از رشته‌های ژن است که به عنوان RNA پیک (mRNA) شناخته می‌شود. RNA (اسید ریبونوکلئیک) با داشتن قند ریبوز و باز پوراسیل به جای تیمین با DNA تفاوت دارد.

۶- mRNA طی انتقال از هسته به سیتوپلاسم پردازش می‌شود که با حذف بخش‌های غیرکدکننده صورت می‌گیرد. در سیتوپلاسم به ریبوزوم‌ها متصل شده تا ترجمه (سنتز پروتئین) رخ دهد.

۷. کد ژنتیکی عمومی بوده و دارای نوکلئوتیدهای سه‌تائی (کدون‌ها) است که هر کدام یک اسیدآمینه یا خاتمه سنتز زنجیره پروتئینی را کد می‌کند. کد ژنتیکی منحط بوده و همه اسیدهای آمینه به جزء دو اسید آمینه با بیش از یک کدون، کد می‌شوند.

۸. کنترل اصلی بیان ژن در سطح رونویسی توسط توالی‌های تنظیمی DNA در ناحیهٔ 5' محاور پروموتور ژن‌های ساختاری در یوکاریوت‌ها می‌باشد. فاکتورهای رونویسی عمومی و اختصاصی نیز در تنظیم بیان ژن‌ها دخیل می‌باشند.

۹. جهش‌ها به دو صورت خودبخودی و در نتیجه تماس با معرف‌های جهش‌زا (موتاژن) مثل پرتوهای یونیزان ایجاد می‌شوند. جهش‌ها به‌طور پیوسته توسط آنزیم‌های تعمیر DNA تصحیح می‌شوند.

کروموزوم‌ها و تقسیم سلولی

سهل‌انگاری است که تصور کنیم زندگی در مسائل بزرگ وجود دارد نه در مسائلی که همیشه فکر می‌کنیم کوچک هستند.

«Virginia Woolf»

در سطح مولکولی یا تحت میکروسکوپی DNA را می‌توان به عنوان الگوی پایه‌ای که طرح کلی تشکیل و حفظ یک موجود را فراهم می‌کند، در نظر گرفت. DNA به‌صورت **کروموزوم‌ها** بسته‌بندی می‌شود و در سطح خیلی ساده این کروموزوم‌ها به صورت زنجیرهٔ محکم پیچیده شده‌ای از ژن‌ها به نظر می‌رسند. برخلاف DNA، کروموزوم را می‌توان با میکروسکوپ نوری طی تقسیم سلولی مشاهده کرد که به‌صورت ساختارهای نخ مانند یا اجسام رنگی دیده می‌شوند. کلمهٔ کروموزوم از واژه یونانی کروم (به معنای رنگ) و زوم (به معنای جسم) گرفته شده است.

کروموزوم‌ها عواملی هستند که یک گونه را از سایر گونه‌ها متمایز می‌کنند و امکان انتقال اطلاعات ژنتیکی را به نسل بعد ممکن می‌سازند. رفتار آنها طی تقسیم سلول سوماتیکی در میتوز وسیله‌ای را فراهم می‌کند تا هر سلول دختری مجموعه کامل ژنتیکی خود را حفظ کند. به طور مشابه رفتار آنها طی تشکیل گامت در میوز هر تخمک و اسپرم بالغ را قادر می‌کند که مجموعهٔ بی‌نظیری از ژن‌های والدی داشته باشند. کروموزوم‌ها تلویحاً وسیله‌ای برای تسهیل تولید مثل و حفظ گونه‌ها می‌باشند.

مطالعه کروموزوم‌ها و تقسیم سلولی **سیتوژنتیک** نامیده می‌شود. قبل از دهه ۱۹۵۰ اشتباهاً تصور بر این بود که هر سلول انسان دارای ۴۸ کروموزوم است و جنسیت انسان با تعداد کروموزوم‌های X موجود در جانداری تعیین می‌شود. پس از آن در سال ۱۹۵۶ تکنیک‌های قابل اطمینان‌تری برای مطالعه کروموزوم‌های انسان توسعه یافتند، مشخص شد که تعداد صحیح کروموزوم‌های انسان ۴۶ می‌باشد و جنسیت مردانه با حضور کروموزوم Y بدون توجه به تعداد کروموزوم‌های X موجود در سلول تعیین می‌شود. همچنین معلوم شد که ناهنجاری‌های تعدادی و ساختاری کروموزوم می‌تواند به‌طور جدی رشد و تکوین طبیعی را مختل نماید.

جدول ۱-۳ بر پیشرفت‌های تکنیکی که طی پنج دهه گذشته رخ داده‌اند و نیز اساس اطلاعات فعلی ما از دانش سیتوژنتیک انسانی می‌باشند، تأکید می‌کند.

کروموزوم‌های انسانی

مورفولوژی (شکل‌شناسی)

در سطح تحت میکروسکوپی، کروموزوم‌ها شامل مجموعه بسیار پیچیده‌ای‌اند که از ابر مارپیچ‌های DNA ساخته شده‌اند و به صورت شبکهٔ محکم سولنوئیدی مشاهده می‌شوند. با میکروسکوپ الکترونی کروموزوم‌ها دارای مورفولوژی نامنظم و مدور می‌باشند (شکل ۱-۳). با این حال اکثر اطلاعات ما دربارهٔ ساختار کروموزوم با استفاده از میکروسکوپ نوری به دست آمده است. رنگ‌های ویژه‌ای به‌طور انتخابی توسط DNA جذب شده و هر کروموزوم را با آنها می‌توان تشخیص داد. کروموزوم‌ها طی فاز تقسیم به خوبی قابل رؤیت می‌باشند زیرا در این مرحله دارای حداکثر فشردگی بوده و ژن‌های آن رونویسی نمی‌شوند. در این مرحله هر کروموزوم دارای دو رشتهٔ یکسان به نام **کروماتید** یا **کروماتیدهای خواهری** است که حاصل همانندسازی DNA طی فاز S (سنتز) چرخه سلول می‌باشد. این کروماتیدهای خواهری در ناحیهٔ فشردگی اولیه یا **سانترومرها** به‌صورت متصل به هم مشاهده می‌شوند. سانترومر دارای چند صد کیلوباز DNA تکراری است و مسئول حرکت کروموزوم‌ها طی تقسیم سلولی می‌باشد. هر سانترومر، کروموزوم را به بازوهای کوتاه و بلند تقسیم می‌کند که به ترتیب با p (petite) و q (grande) نشان می‌دهند. انتهای بازوی هر کروموزوم **تلومر** نامیده می‌شود. تلومرها نقش مهمی در مسدود کردن انتهای کروموزوم‌ها و حفظ پایداری ساختاری آنها دارند. تلومرها طی تکامل بسیار حفظ شده‌اند و در انسان شامل تکرارهای پشت سر هم متعدد توالی TTAGGG می‌باشند.

جدول ۱-۳ توسعه روش‌های سیتوژنتیکی

دهه	پیشرفت	مثال‌های کاربردی
۱۹۵۰-۱۹۶۰	روش‌های مطمئن آماده‌سازی کروموزوم	تعداد کروموزوم‌ها تعیین شد (۱۹۵۶) و کروموزوم فیلادلفیا به صورت t(9;22) در سال ۱۹۶۰ مشخص شد.
۱۹۷۰	نواربندی کروموزومی گیمسا	نقشه‌برداری ژن RB1 در کروموزوم 13q14 به‌وسیله تشخیص ناحیهٔ کروموزومی حذف شده در بیماران مبتلا به رتینوبلاستوما (۱۹۷۶)
۱۹۸۰	هیبریدسازی فلئورسنت در جا (FISH)	اینترفاز FISH برای تشخیص سریع سندرم داون (۱۹۹۴)، کاریوتایپ طیفی (SKY) در آنالیز کروموزومی کل ژنوم (۱۹۹۶)
۱۹۹۰	هیبریدسازی ژنومی مقایسه‌ای (CGH)	نقشه‌برداری عدم تعادل ژنومی در تومورهای جامد (۱۹۹۲)
۲۰۰۰	Array CGH	آنالیز نوآرائی‌های ساختاری؛ مثل تعیین حذف 5Mb در سندرم CHARGE* که منجر به شناسائی ژن آن شد (۲۰۰۴)

* کلمهٔ CHARGE برگرفته از: C : کلوبوم‌ای چشمی، H : نقائص قلبی، A : آترزی بینی ، R : تأخیر رشد و یا تکوین، G : ناهنجاری‌های تناسلی و یا ادراری و E : ناهنجاری‌های گوش و ناشنوائی) می‌باشد. (به کادر ذیل مراجعه کنید).

بیشتر بدانیم ۱-۳

سندرم CHARGE

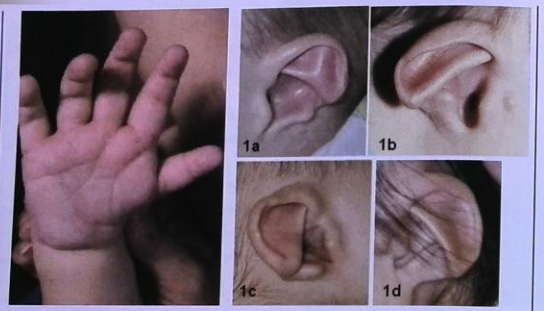
CHARGE که قبلاً به‌عنوان یک همراهی (association) طبقه‌بندی می‌شد، در حال حاضر یک سندرم ژنتیکی در نظر گرفته می‌شود. تشخیص این سندرم بر مبنای مجموعه‌ای از ویژگی‌های بالینی خاص است.

واژه CHARGE برگرفته از علائم بالینی ذیل است: ۱ـ کلوبوم (Coloboma) چشم، ۲ـ بیماری قلب (Heart)، ۳ـ انسداد (Atresia) دریچه بین حفره بینی و نازوفارنکس ۴ـ عقب‌ماندگی (Retarded) رشد و تکوین و یا ناهنجاری‌های CNS، ۵. هیپوپلازی مجاری تناسلی (Genital)، ۶. ناهنجاری‌های گوش (Ear) و یا ناشنوائی. علائم بارز دیگر شامل فلج صورت، چانهٔ کوچک، شکاف کام، مشکلات بلع و فیستول بین (مجاری غیرطبیعی) نای و مری و اودیوگرام مثلثی شکل (Wedge shaped audiogram) هستند (شکل)

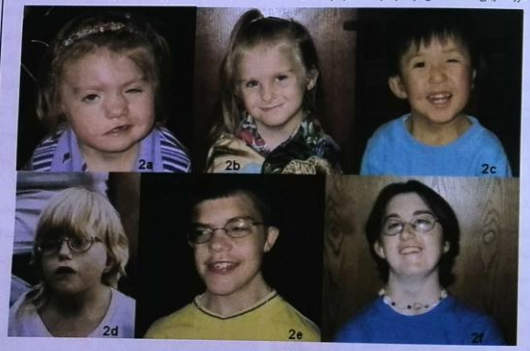
در سال ۲۰۰۴ وجود یک ریزحذف (microdeletion) به طول ۲/۳ کیلوباز در 8q12 در دو نفر از افراد به‌صورت حذف از نو (de novo deletion) گزارش شد. آنالیز تعیین توالی ژن‌های موجود در این ناحیه باعث کشف جهش در ژن CHD7 در ۱۰ نفر از ۱۷ فرد مبتلا به سندرم CHARGE شد که فاقد ریزحذف 8q12 بودند. همچنین در یکی از موارد، فردی دارای جابه‌جایی متعادل کروموزوم ۸ بود.

همچنین مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۶ بر روی ۱۱۰ نفر دارای علائم بالینی این سندرم مشخص کرد که در ۵۸٪ افراد مبتلا جهش در ژن CHD7 وجود دارد. در افراد دارای جهش در این ژن ناهنجاری‌های قلبی، کلوبوم چشم و عدم تقارن صورت بیشتر مشاهده شد. ارتباط فنوتیپ ـ ژنوتیپ خاصی بر مبنای این جهش‌ها مشخص نشد و شدت بیماری ارتباطی با طول پروتئین CHD7 جهش یافته نداشت.

شیوع بیماری ۱ به ۱۰۰۰۰ است و بنابراین یکی از علل شایع ناهنجاری‌های مادرزادی است. چون در اکثر موارد جهش عامل بیماری به‌صورت de novo رخ می‌دهد، خطر عود مجدد برابر جمعیت عادی، حدود ۰/۱ درصد است. اگر موزاییسم گنادی وجود داشته باشد خطر عود مجدد ۶ درصد بوده و خطر تولد فرزندی مبتلا از یک والد مبتلا به سندرم، ۵۰ درصد می‌باشد. امید به زندگی (Life expectancy) بالای ۵ سال ۷۰ درصد است و اکثر موارد مرگ و میر مربوط به این سندرم در سال اول زندگی رخ می‌دهد.



شکل ـ (راست) موارد 1a – 1d آنومالی‌های گوش در افراد مبتلا به سندرم CHARGE . (چپ) دست در افراد مبتلا به سندرم CHARGE به‌صورت مربعی است، انگشتان کوتاه بوده و شست نیز خود شبیه یک انگشت است، شیار کف دست به‌صورت چوب هاکی (hockey stick) است.



شکل ـ ویژگی‌های چهره در افراد مبتلا به سندرم CHARGE.

2a: دختر ۲/۵ ساله با صورت مربعی، چشم گرد، بینی صاف با ریشه بینی پهن و فلج یک‌طرفه صورت

2b: دختری ۵ ساله با علائم ملایم این سندرم در صورت که دارای صورت مربعی، تیغه بینی برجسته و بیرون‌زده و شانه‌های افتاده

2c: یک پسر ۷ ساله با صورت مربعی، ریشه بینی نسبتاً پهن، گوش‌های بیرون‌زده به همراه گردن پهن

2d: یک دختر ۹ ساله با صورت مربعی، چشمان گرد، گردن پهن، شانه‌های افتاده، که به دلیل فلج دو طرفه صورت، فاقد « facial expression» است.

2e: پسر ۱۵ ساله با صورتی نسبتاً مربعی، گردن پهن و شانه‌های افتاده.

2F: دختری ۱۸ ساله با صورت نامتقارن، گوش‌های بیرون‌زده، سر خمیده به عقب، گردن پهن و شانه‌های افتاده

منابع مورد استفاده:

1. http:// www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1117/
2. http:// chargesyndrome.org/index.asp
3. potter A., Phillips III JA, Rimoin DL. (2006) Endocrinologic disorders: genetic disorder of pituitary gland. In Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics, 5th ed. Churchill Livingstone.
4. Vissers LE, van Ravenswaaij CM, Admiraal R, et al (2004): Mutations in a new member of the chromodomain gene family cause CHARGE syndrome. *Nat Genet* 36: 955-957,.
5. Lalani SR, Safiullah AM, Fernbach SD, et al: (2006) Spectrum of CHD7 mutations in 110 individuals with CHARGE syndrome and genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet* 78: 303-314,

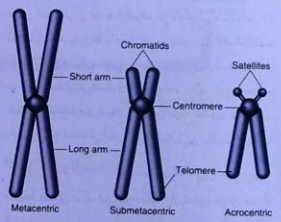
طی همانندسازی DNA آنزیمی به نام **تلومراز** انتهای ۵ رشته بلند را جایگزین می‌کند که در غیر این صورت به صورت پیشروندهای کوتاه می‌شود تا به یک طول بحرانی برسد که سلول دیگر قادر به تقسیم نبوده و بنابراین پیر می‌شود. این مورد در حقیقت بخشی از فرآیند پیری سلولی است که اکثر سلول‌ها پس از ۵۰ تا ۶۰ تقسیم طی آن فرآیند دیگر قادر به تقسیم نمی‌باشند. به هر حال در بعضی تومورها افزایش فعالیت تلومراز به عنوان دلیل قدرت بقاء طولانی و غیرطبیعی، مورد توجه قرار می‌گیرد.

کروموزوم‌ها از لحاظ مورفولوژیکی بر طبق موقعیت سانترومر دسته‌بندی می‌شوند. اگر در مرکز قرار داشته باشد کروموزوم **متاسانتریک**، اگر انتهائی باشد **اکروسانتریک** و اگر سانترومر در موقعیتی حد واسط باشد کروموزوم **ساب متاسانتریک** است (شکل ۲-۳). گاهی کروموزوم‌های آکروسانتریک دارای ضمائم ساقه مانند به نام **ماهواره** می‌باشند که هستک را در سلول‌های در حال استراحت اینترفازی تشکیل می‌دهند و دارای چندین کپی تکراری از ژن‌های RNA ریبوزومی می‌باشند.

طبقه‌بندی کروموزوم‌ها

کروموزوم‌های منفرد نه تنها از لحاظ موقعیت سانترومر بلکه از لحاظ طول متفاوتند براساس سه پارامتر طول، موقعیت سانترومر و حضور یا عدم حضور ماهواره‌ها، پیشگامان اولیه سیتوژنتیک اکثر کروموزوم‌ها را از هم تشخیص می‌دادند یا حداقل آنها را از لحاظ مورفولوژی کلی به گروه‌های A تا G طبقه‌بندی می‌گردند (A:1-3 ، B:4-5 ، C:6-12, X ، D:13-15 ، E: 16-18 ، F: 19-20 ، G: 21-22,Y). در انسان هسته سلول طبیعی دارای ۴۶ کروموزوم است که از ۲۲ جفت کروموزوم **آتوزوم** و یک جفت کروموزوم جنسی، XX در زنان و XY در مردان، تشکیل شده‌اند. یک عضو از هر جفت کروموزوم از یکی از والدین مشتق می‌شود. گفته می‌شود که سلول‌های سوماتیکی دارای یک مجموعه **دیپلوئیدی** ۴۶ کروموزومی‌اند، در حالی که گامت‌ها (تخمک و اسپرم) دارای یک مجموعه **هاپلوئیدی** ۲۳ کروموزومی می‌باشند. اعضاء یک جفت کروموزوم را **هومولوگ** می‌نامند. پیشرفت روش‌های نواربندی، امکان تشخیص دقیق کروموزوم‌های منفرد و تعیین ناهنجاری‌های جزئی کروموزومی را فراهم ساخته است. همچنین این تکنیک‌ها نشان دادند که **کروماتین** ترکیبی از DNA و پروتئین‌های هیستونی است که کروموزوم‌ها از آنها ساخته شده‌اند و به دو حالت اصلی وجود دارد. **یوکروماتین** به صورت روشن رنگ‌آمیزی می‌شود و دارای ژن‌هائی است که فعالانه بیان می‌شوند. در مقابل **هتروکروماتین** به صورت تیره رنگ‌آمیزی شده و عمدتاً از DNA تکراری، غیرفعال و فاقد بیان ژن تشکیل شده است.

شکل ۱-۳. میکروگراف الکترونی کروموزوم‌های انسان، نشان‌دهندهٔ سانترومرها و کروماتیدهای مشخص.

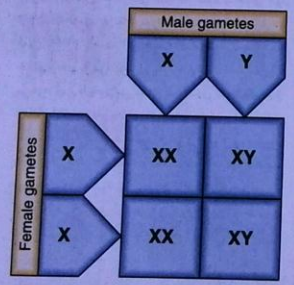


شکل ۲-۳. کروموزوم‌ها از لحاظ مورفولوژیکی و براساس موقعیت سانترومر، به‌صورت متاسانتریک، ساب متاسانتریک یا آکروسانتریک دسته‌بندی می‌شوند.

کروموزوم‌های جنسی

به دلیل نقش اصلی آنها در تعیین جنسیت، کروموزوم‌های X و Y به عنوان کروموزوم‌های جنسی شناخته شده‌اند. کروموزوم X در ابتدا به دلیل عدم اطمینان از عملکردش به این نام مشخص شد زیرا معلوم شد در بعضی از حشرات این کروموزوم در برخی گامت‌ها حضور دارد و در برخی دیگر حضور ندارد. در این حشرات نرها فقط یک کروموزوم (X)، در حالی که ماده‌ها دو کروموزوم X دارند. انسان و اکثر پستانداران دو کروموزوم جنسی دارند، XX در جنس مؤنث و XY در جنس مذکر. کروموزوم Y خیلی کوچکتر از کروموزوم X است و تنها تعداد کمی ژن با اهمیت عملکردی دارد که معروف‌ترین آنها فاکتور تعیین‌کنندهٔ بیضه یا SRY است. سایر ژن‌های کروموزوم Y در حفظ اسپرماتوژنز نقش دارند.

در زنان هر تخمک یک کروموزوم X دارد، در حالی که در مردان هر اسپرم حاوی کروموزوم X و یا کروموزوم Y است. از آنجا که احتمال لقاح تخمک با اسپرم حاوی کروموزوم X و یا با اسپرم حامل کروموزوم Y تقریباً برابر است، بنابراین تعداد حاملگی‌های دختر و پسر نیز تقریباً برابر می‌باشد (شکل ۳-۳). در حقیقت به طور جزئی نوزادان پسر بیشتر از نوزادان دختر متولد می‌شوند، اگرچه طی کودکی و بزرگسالی نسبت دختر به پسر ۱:۱ می‌باشد. فرآیند تعیین جنسیت با جزئیات بیشتر در ادامه بررسی می‌شود.



شکل ۳-۳: مربع پانت نشان‌دهندهٔ توزیع کروموزوم‌های جنسی در گامت‌های مذکر و مؤنث است.

روش‌های آنالیز کروموزومی

به‌طور کلی تا سال ۱۹۵۶ تصور می‌شد هر سلول دارای ۴۸ کروموزوم است، تا زمانی که تیجو و لوان (Tjio and Levan) براساس مطالعاتشان به‌طور صحیح نشان دادند که سلول‌های طبیعی سوماتیکی انسان دارای ۴۶ کروموزوم است. روشی که آنها به کار بردند با اندکی تغییر اکنون به‌طور گسترده در آزمایشگاه‌های سیتوژنتیکی برای آنالیز ساختار کروموزومی افراد به کار می‌رود و به نام **کاریوتایپ** شناخته می‌شود. این اصطلاح برای توضیح فنومیکروگراف کروموزوم‌های یک فرد که به روش استاندارد مرتب شده نیز به کار می‌رود.

آماده‌سازی کروموزوم‌ها

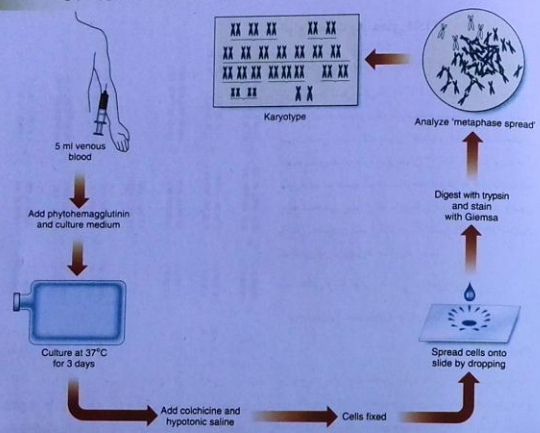
هر بافت با سلول‌های زنده و هسته‌دار قادر به تقسیم می‌تواند برای مطالعه کروموزوم‌های انسان به کار رود. معمول‌ترین آنها لنفوسیت‌های خون محیطی است، اگرچه نمونه مناسب آنالیز کروموزومی را می‌توان نسبتاً با سهولت از پوست، مغز استخوان، پرزهای کوریونی یا سلول‌های مایع آمنیوتیک (آمنیوسنتز) نیز به دست آورد. در مورد خون محیطی (وریدی) نمونه را به حجم کمی از محیط کشت حاوی فیتوهماگلوتینین اضافه می‌کنند که لنفوسیت‌های T را تحریک به تقسیم می‌نماید. سلول‌ها تحت شرایط استریل در دمای ۳۷°C و به مدت ۳ روز کشت داده می‌شوند تا سلول‌ها تقسیم شده و سپس کلشی‌سین به محیط کشت اضافه می‌شود. این دارو ویژگی بسیار سودمندی در جلوگیری از تشکیل دوک داشته، به‌طوری که تقسیم سلولی را طی متافاز زمانی که کروموزوم‌ها به حداکثر فشردگی خود رسیده‌اند و بنابراین قابل مشاهده‌اند، متوقف می‌کند. در ادامه نمک هیپوتونیک اضافه می‌شود که باعث لیز سلول‌ها شده و کروموزوم‌ها پخش می‌شوند. سپس کروموزوم‌ها را بر روی اسلاید فیکس (تثبیت) نموده و جهت آنالیز رنگ‌آمیزی می‌کنند (شکل ۴-۳).

نواربندی کروموزوم‌ها

چندین روش رنگ‌آمیزی متفاوت برای شناسائی کروموزوم‌های منفرد می‌توان به کار برد، اما روش نواربندی G (**گیمسا**) معمول‌ترین آنهاست. کروموزوم‌ها ابتدا با تریپسین تیمار می‌شوند تا محتوای پروتئینی آنها دناتوره شود و سپس با رنگ‌های متصل شونده به DNA ـ تحت عنوان گیمسا ـ رنگ‌آمیزی می‌شوند که هر کروموزوم الگوی مشخص و قابل تکراری از نوارهای تیره و روشن را نشان می‌دهد (شکل ۵-۳). نواربندی G به‌طور کلی آنالیز کروموزومی با کیفیت بالا را همراه با ۴۰۰ تا ۵۰۰ نوار در هر مجموعه هاپلوئیدی فراهم می‌کند. هر کدام از این نوارها (باندها) به‌طور متوسط معادل ۶۰۰۰ تا ۸۰۰۰ کیلوباز (kb) (یا به عبارتی ۶-۸ مگابایز (mb)) از DNA می‌باشند. نواربندی با تفکیک بالای کروموزوم‌ها در مراحل اولیه میتوز مثل پروفاز یا پرومتافاز حساسیت بیشتری تا بیش از ۸۰۰ باند در هر مجموعه هاپلوئیدی فراهم می‌کند اما از لحاظ تکنیکی بسیار مشکل‌تر می‌باشد. در این روش ابتدا تقسیم سلولی با معرفی مثل متوترکسات یا تیمیدین مهار می‌شود. سپس اضافه‌کردن اسید فولیک یا دئوکسی سیتیدین به محیط کشت، سلول‌ها را وارد تقسیم میتوز می‌سازد. در ادامه کلشی‌سین در زمانی خاص که تعداد بیشتری از سلول‌ها در مرحلهٔ پرومتافاز می‌باشند و کروموزوم‌ها به‌طور کامل متراکم نشده‌اند، اضافه می‌شود. بنابراین یک الگوی نواربندی دقیق‌تری به دست می‌آید.

آنالیز کاریوتایپ

مرحلهٔ بعدی در آنالیز کروموزومی ابتدا شمارش تعداد کروموزوم‌های موجود در یک تعداد مشخص سلول‌ها است که **گسترهٔ متافازی** نامیده می‌شود و سپس آنالیز دقیق الگوی نواربندی هر کروموزوم در سلول‌های انتخابی انجام می‌شود. الگوی نواربندی هر کروموزوم ویژه است و می‌توان آن را به شکل یک کاریوتایپ ایده‌آل شماتیک تحت عنوان **ایدیوگرام** (Idiogram) نشان داد (شکل ۶-۳). متخصصین سیتوژنتیک هر جفت کروموزوم هموالوگ را یا با مشاهده مستقیم زیر میکروسکوپ و یا با استفاده از سیستم تهیه عکس همراه با مرتب کردن آنها به شکل کاریوگرام، آنالیز می‌کنند (شکل ۷-۳).

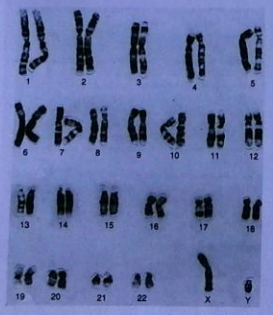


شکل ۴-۳: آماده‌سازی یک کاریوتایپ

سیتوژنتیک مولکولی

هیبریدسازی فلئورسنت درجا (FISH)

این ابزار تشخیصی، سیتوژنتیک مرسوم را با تکنولوژی ژنتیک مولکولی ترکیب می‌کند. این روش براساس توانائی بخشی از DNA تک‌رشته‌ای (یا به عبارتی پروب) در اتصال به یک توالی هدف با رابطهٔ مکملی بازها بر روی یک کروموزوم متافازی، هسته اینترفازی یا فیبر کروماتینی گسترده شده می‌باشد. در **هیبریدسازی فلئورسنت درجا (FISH)**، پروب DNA توسط یک رنگ فلئورسنت نشان‌دار می‌شود که پس از هیبریدیزاسیون با نمونه بیمار امکان مشاهدهٔ ناحیهٔ هیبرید شده را با استفاده از یک میکروسکوپ فلئورسنت فراهم می‌کند. FISH طی ۱۵ سال گذشته به‌طور گسترده‌ای برای اهداف تشخیصی بالینی به کار رفته و انواع متفاوتی از پروب‌ها وجود دارند که در این روش به کار می‌روند.



شکل ۵-۳: کاریوتایپ یک مرد طبیعی با نواربندی G

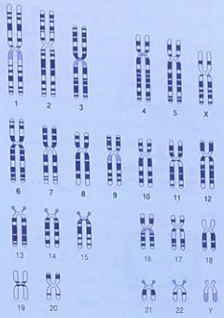
انواع متفاوت پروب‌های FISH

پروب‌های سانترومری (Centromeric Probes)

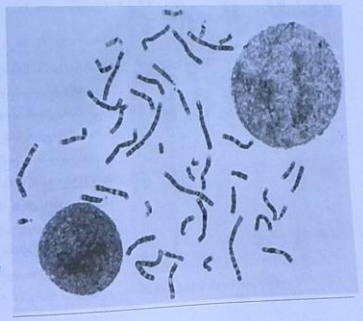
این پروب‌ها شامل توالی‌های DNA تکراری موجود در سانترومر یا اطراف سانترومر یک کروموزوم می‌باشند. اینها اولین پروب‌هائی بودند که برای تشخیص سریع سندرم‌های آنیپلوئیدی شایع (تریزومی‌های ۱۳، ۱۸، ۲۱) با استفاده از سلول‌های غیرتقسیم شونده در مرحلهٔ اینترفاز به کار رفتند، که نمونه تشخیصی پیش از تولد، پرزهای کوریونی بودند. اکنون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز فلئورسنت کمّی (QF-PCR) جهت تشخیص این تریزومی‌ها متداول‌تر است.

پروب‌های ویژهٔ توالی خاص کروموزومی (Chromosome-Specific Unique- Sequence Probes)

این پروب‌ها برای یک لکوس منفرد خاص، اختصاصی می‌باشند. پروب‌های ویژه توالی به‌خصوص برای تعیین مضاعف‌شدن‌ها و حذف‌های تحت میکروسکوپی سودمند می‌باشند (شکل ۸-۳). گروه بیماری‌هائی که تحت عنوان **سندرم‌های ریزحذفی** در نظر گرفته می‌شوند، در فصل ۱۸ شرح داده شده‌اند. کاربرد دیگر آنها استفاده از پروب FISH اینترفازی برای تعیین بیان بیش از حد HER2 در تومورهای پستان جهت تشخیص بیمارانی است که احتمالاً با هرسپتین درمان می‌شوند.



شکل ۶-۳. یک ایدیوگرام نمایانگر الگوهای نواربندی کروموزوم‌های منفرد مطابق با رنگ‌آمیزی فلئورسنت و گیمسا



شکل ۷-۳: یک گسترهٔ متافازی با نواربندی G.

پروب‌های تلومری (Telomeric Probes)

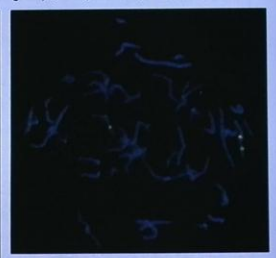
مجموعه کاملی از پروب‌های تلومری برای کل ۲۴ کروموزوم (به عبارتی از ۱ تا ۲۲ آتوزوم به اضافهٔ X و Y) تهیه شده‌اند. با استفاده از آنها روشی ابداع شده که آنالیز همزمان نواحی تحت تلومری هر کروموزوم با استفاده از تنها یک اسلاید میکروسکوپی برای هر بیمار را ممکن می‌سازد. این روش تکنیک سودمندی جهت تشخیص ناهنجاری‌های تحت تلومری پنهان (Cryptic) کوچک می‌باشد، اما عمدتاً با روش‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمّی و تکثیر چندگانه پروب وابسته به اتصال (MLPA) که همزمان دُز کل نواحی تحت تلومری کروموزوم را اندازه‌گیری می‌کند، جایگزین شده است.

پروب‌های رنگ‌آمیزی کل کروموزوم (Whole- Chromosome Paint Probes)

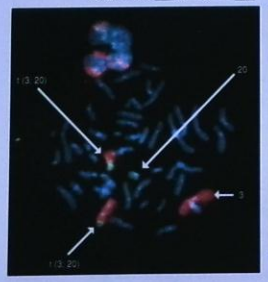
این مجموعه شامل مخلوطی از پروب‌ها می‌باشند که از بخش‌های مختلف یک کروموزوم خاص به‌دست آمده‌اند. در صورتی که این مخلوط پروب‌ها با هم در یک هیبریدسازی به کار روند کل کروموزوم مربوطه رنگ فلئورسنت از خود ساتع می‌کند (یا به عبارتی رنگ‌آمیزی می‌شود). رنگ‌آمیزی کروموزومی برای تشخیص نوآرائی‌های پیچیده مثل جابه‌جائی جزئی، بسیار سودمند است (شکل ۹-۳) و برای تعیین منشاء مواد کروموزومی اضافی مثل مارکرهای متعدد کوچک یا حلقه‌ها به کار می‌رود.

هیبریدسازی ژنومی مقایسه‌ای (Comparative Genomic Hybridization)

هیبریدسازی ژنومی مقایسه‌ای (CGH) در ابتدا برای غلبه بر مشکلات تهیهٔ گستره‌های متافازی با کیفیت مناسب از تومورهای جامد توسعه یافت. این تکنیک امکان تشخیص نواحی فقدان آللی و تکثیر زنی را ممکن می‌سازد. «DNA تست، یا تومور» با رنگ سبز نشان‌دار می‌شود و DNA کنترل طبیعی با رنگ قرمز. دو نمونه با هم مخلوط شده و به صورت رقابتی با کروموزوم‌های متافازی طبیعی هیبرید می‌شوند و سپس تصویر آن تهیه می‌گردد (شکل ۱۰-۳). اگر نمونه تست، DNA بیشتری در یک ناحیهٔ کروموزومی خاص نسبت به نمونه کنترل داشته باشد، آن ناحیه با افزایش نسبت فلئورست سبز به قرمز مشخص می‌شود (شکل ۱۱-۳). به‌طور مشابه حذف در نمونه تست با کاهش نسبت فلئورست سبز به قرمز تشخیص داده می‌شود.



شکل ۸-۳: تصویر متافازی پروب ناحیه ویلیامز (ELN) به نام (Vysis) ، باند کروموزومی 7q11.23 نشان‌دهندهٔ حذف مرتبط با سندرم ویلیامز. کروموزوم طبیعی دارای سیگنال‌هائی برای پروب کنترل (سبز) و پروب ژن (ELN) (نارنجی) می‌باشد اما کروموزوم حذف شده فقط سیگنال مربوط به پروب کنترل را نشان می‌دهد.



شکل ۹-۳: رنگ‌آمیزی کروموزومی نشان‌دهندهٔ جابه‌جائی دو طرفه کروموزوم ۳ (قرمز) و کروموزوم ۲۰ (سبز)

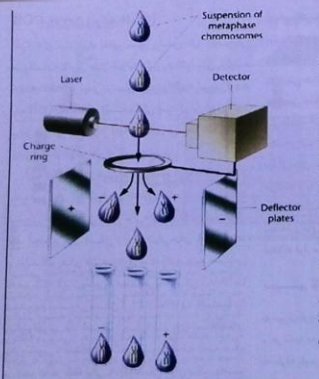
بیشتر بدانیم ۲ـ۳

تهیهٔ فلوکاریوتایپ

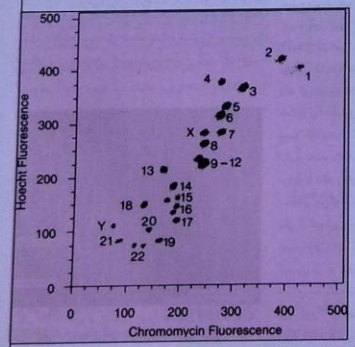
روش‌های متداول میکروسکوپی که از گسترش کروموزومی تثبیت شده بر روی اسلاید میکروسکوپی بهره می‌برند، روش‌هایی استاندارد برای آنالیز کروموزومی هستند. اما این روش‌ها تنها شیوه بررسی کروموزوم‌ها نیستند و آنالیز کروموزوم‌ها در سوسپانسیون مایع با استفاده از تکنیک فلوسیتومتری (flow cytometry) در طول ۳۵ سال گذشته کاربردهای فراوانی پیدا کرده است.

آنالیز کروموزوم‌ها با استفاده از فلوسیتومتری نیاز به یک FACS (fluorescent- activated cell sorter) با دو منبع لیزر دارد. لیزر اول طوری تنظیم می‌شود که نور را در ۳۶۴ نانومتر برای تحریک رنگ فلوروسنت Hoechst 33258 ساطع کند و لیزر دوم برای تحریک خاصیت فلوروسانس chromomycin A3 نور را در ۴۵۸ نانومتر می‌تاباند. با استفاده از دو رنگ دارای خاصیت فلوروسانس، سوسپانسیون کروموزوم‌های تثبیت شده را رنگ‌آمیزی می‌کنیم: Hoechst 33258 تمایل بیشتری به DNA غنی از AT دارد و chromomycin A3 به DNA غنی از GC متمایل‌تر است. هر یک از کروموزوم‌های رنگ شده در یک جریان مایع از مقابل منبع لیزر با سرعت ۲۰۰۰ کروموزوم بر ثانیه عبور می‌کنند (شکل ۱). انواع فلوروسنت ساطع شده از هر یک از کروموزوم‌ها اندازه‌گیری و ثبت می‌شود و پس از چند دقیقه چند صد هزار عدد از این مقادیر ثبت شده مربوط به هر یک از ۲۴ نوع کروموزوم انسانی جمع‌آوری شده و برای رسم یک نمودار، موسوم به فلوکاریوتایپ (flow karyotype) مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این نمودار کروموزوم‌ها بر اساس محتویات DNA و نسبت جفت بازی (base-pair ratio) از یکدیگر تفکیک شده‌اند. نسبت جفت بازی براساس مقادیر نسبی امواج فلوروسانس ساطع شده به‌وسیله دو رنگ فلوروسنت متصل یافته به هر کروموزوم تعیین می‌شود. در این نمودار دو محوری (bivariate)، هر یک از کروموزوم‌ها به صورت تجمعی (cluster) نمایش داده شده‌اند که اگر یک خط قطری برای این نمودار ترسیم کنیم، تجمعات بالای قطر کروموزوم‌های غنی از AT و تجمعات قرار گرفته در پایین قطر کروموزوم‌های غنی از CG خواهند بود (شکل ۲). به‌جز کروموزوم‌های ۹ تا ۱۲ که به دلیل داشتن محتویات بازی مشابه در یک تجمع قرار می‌گیرند، بقیهٔ کروموزوم‌ها به‌صورت دسته‌جات متمایز از هم بر روی نمودار قابل مشاهده‌اند. جالب اینکه گاهی کروموزوم‌های همولوگ به جای قرار گرفتن در یک تجمع واحد، در دو دسته قرار می‌گیرند. این حالت منعکس کننده تنوع در اندازه دو عضو یک جفت کروموزوم همولوگ به علت تنوع در اندازه هتروکروماتین آنهاست. بنابراین با این روش می‌توان تنوع مربوط به اندازه کروموزوم‌ها را که به دلایل مختلفی از جمله وجود تفاوت‌های کروموزومی ساختاری و هترومورفیسم (heteromorphism) رخ می‌دهد بررسی کرد. حد تفکیک حداقلی برای جدا کردن کروموزوم‌ها با این روش در حدود یک تا دو میلیون جفت باز است.

روش FACS علاوه بر شمارش، کروموزوم‌ها را از هم تفکیک کرده و آنها را در ظروف مجزایی قرار می‌دهد. این قابلیت حاصل توانایی این دستگاه در تبدیل جریان مایع کروموزومی به یک سری قطرات، که هر یک حاوی یک کروموزوم است، بوده و تفکیک این قطرات از هم بر مبنای بار الکتریکی آنهاست. زیرا هر قطره بر مبنای پروفایل فلوروسنتی کروموزوم درون آن، دارای مقدار بار مثبت و یا منفی منحصر به فردی است. با عبور آنها از میان دو صفحهٔ دارای ولتاژ، این قطرات متناسب با مقدار بار خود منحرف شده و هر یک درون یک ظرف خاصی فرود می‌آیند. کروموزوم‌های تفکیک شده با این روش را می‌توان برای ایجاد کتابخانه DNA مختص کروموزومی (chromosome specific DNA library) استفاده کرد. از این کتابخانه‌ها می‌توان در تهیه مواد لازم برای نقشه‌برداری کروموزومی و یروب‌های مختص کروموزومی بهره برد.



شکل ۱ـ در تفکیک کروموزومی (chromosome sorting)، کروموزوم‌های متفاوتی با دو رنگ فلوروسنت- که یکی جفت باز AT و دیگر جفت باز CG را رنگ‌آمیزی می‌کند- رنگ‌آمیزی می‌شوند. با عبور قطره‌های حاوی کروموزوم‌های رنگ شده از مقابل لیزر و تابش لیزر به آن رنگ‌های فلوروسنت شروع به فلوروسانس کرده و هر یک سیگنال‌هایی تولید می‌کنند که برای هر نوع کروموزوم منحصر به فرد است. این سیگنال‌ها توسط یک detector خوانده می‌شود. با عبور هر قطره حاوی کروموزوم از میان یک حلقهٔ باردار (charge ring)، هر قطره باری متناسب با کروموزوم خاوی آن کسب می‌کند. در مرحلهٔ بعد قطرات از میان صفحات منحرف کننده (Deflector plates) عبور کرده و بر حسب نوع و مقدار بار به سمت لوله‌های مختلف منحرف می‌شوند. از این کروموزوم‌های تفکیک شده می‌توان برای ایجاد کتابخانه مختص کروموزومی استفاده کرد.



شکل ۲ـ یک فلوکاریوتایپ ایجاد شده با روش FACS. آنالیز دو متغیری (bivariate analysis) یک فرد مذکر نرمال بر اساس محتویات DNA و ترکیب جفت بازی. به دلیل وجود هتروموفیسم‌های سانترومری دو عضو کروموزوم‌های همولوگ ۱۶،۱۵ و ۲۲ نیز از هم تفکیک شده و درون تجمع‌های مختلفی در کنار هم قرار گرفته‌اند.

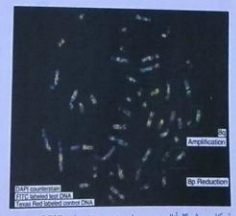
منابع:

Emery and Rimoin's principles and practice of Medical Genetics, (5th ed) 2007. Ehurchill Livingstone

Array CGH (آرایه CGH)

تکنیک‌های سیتوژنتیک به‌طور معمول براساس آنالیز کروموزومی می‌باشند. با این حال افزایش کاربرد تکنولوژی ریزآرایه (microarray) اثر مهمی بر سیتوژنتیک نیز داشته است. اگرچه آرایه CGH یک تکنیک زیست‌مولکولی است، در این فصل مورد بررسی قرار می‌گیرد، زیرا از CGH متافازی توسعه یافته و برای بررسی ساختار کروموزومی به کار رفته است.

آرایه CGH شامل هیبریدسازی همزمان DNA مرجع و بیمار، نه بر روی کروموزوم‌های متافازی، بلکه بر روی اسلایدِ شیشه‌ای حاوی تعداد زیادی از توالی‌های DNA به عنوان توالی هدف انجام می‌گیرد (شکل ۱۱-۳). توالی‌های DNA هدف می‌توانند کلون‌های نقشه‌برداری شده (کروموزوم مصنوعی مخمر [YAC]، کروموزوم مصنوعی باکتریایی [BAC] یا کروموزوم مصنوعی مشتق از P1 [PAC] یا کاسمید) یا اولیگونوکلئوتیدها باشند. آنها را بر روی اسلایدهای میکروسکوپی با استفاده از ربات‌ها به‌صورت نقطه نقطه حک می‌کنند، که هر نقطه توالی DNA هدفی دارای یک موقعیت منحصر به فرد می‌باشد. پس از هیبریدسازی و شستشو جهت حذف DNAهای متصل نشده، مقادیر نسبی فلئورسنت با استفاده از نرم‌افزارهای کامپیوتری سنجیده می‌شود. آرایه‌های



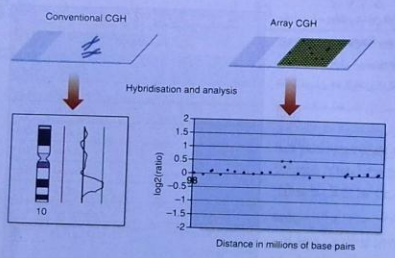
شکل ۱۰-۳. آنالیز هیبریدسازی ژنومی مقایسه‌ای (CGH) نمایانگر نواحی تکثیر و حذف ژنی در نمونه DNA تومور است. DAPI: دی‌آمیدینوفنیل ایندول، FITC: فلئورسئین ایزوتیوسیانات

اولیگونوکلئوتیدی حد تفکیک بالاتری را داشته و می‌توانند تا بیش از ۱ میلیون پروب را شامل شوند.

کاربرد ریزآرایه CGH از سیتوژنتیک سرطان به تشخیص هر نوع افزایش یا کاهش ماده ژنتیکی از جمله تشخیص حذف‌های تحت تلومری در بیمارانی با نقص ذهنی بی‌علت، گسترش یافته است. آرایه CGH سریع‌تر و حساس‌تر از آنالیز متافازی مرسوم جهت تشخیص نوآرایی‌های ساختاری (به استثناء جابه‌جائی‌های متعادل) می‌باشد و به عنوان اولین آزمایش در بررسی بیمارانی با مشکلات یادگیری ـ تأخیر تکوینی شدید و یا دارای ناهنجاری‌های مادرزادی به جای کاریوتایپ مرسوم مورد استفاده قرار می‌گیرند.

سیستم نامگذاری کروموزومی

به‌صورت قراردادی هر بازوی کروموزومی به نواحی‌ای تقسیم و هر ناحیه به باندهائی دسته‌بندی می‌گردند که از سانترومر به طرف تلومر شماره‌گذاری می‌شوند (شکل ۱۲-۳). یک نقطه مورد نظر بر روی یک کروموزوم توسط شماره کروموزوم، بازوی کروموزومی (p یا q)، ناحیه و باند (مثل 15q12) مشخص می‌شود. گاهی کلمهٔ *ناحیه*، حذف شده بنابراین 15q12 به آسانی به عنوان باند 12 بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۵ در نظر گرفته می‌شود. یک سیستم نامگذاری اختصاری برای توصیف ناهنجاری‌های کروموزومی وجود دارد (جدول ۲-۳). کاریوتایپ‌های زن و مرد طبیعی به ترتیب به‌صورت 46, XX و 46, XY نشان داده می‌شوند. مردی با سندرم داون تریزومی ۲۱ به‌صورت 47, XY,+21 مشخص می‌شود، در حالی که خانمی با حذف بازوی کوتاه یکی از کروموزوم‌های شمارهٔ ۵ (سندرم فریاد گربه) به صورت 46, XX , del (5p) نشان داده می‌شود. یک گزارش کروموزومی به صورت 46, XY, t(2;4)(p23;q25) نمایانگر مردی با جابه‌جائی دوطرفه در برگیرندهٔ بازوی کوتاه کروموزوم ۲ در ناحیه ۲ باند ۳ و بازوی بلند کروموزوم ۴ در ناحیه ۲ باند ۵ می‌باشد.



شکل ۱۱-۳: مقایسه هیبریدسازی ژنومی مقایسه‌ای (CGH) مرسوم و آرایه CGH. هر دو تکنیک در برگیرندهٔ هیبریدسازی DNA بیمار و طبیعی که به‌طور متفاوت نشان‌دار شده‌اند، بوده اما به ترتیب اهداف هیبریداسیون شامل کروموزوم‌های متافازی و زیرآرایه می‌باشند. نتایج، حذف‌های کروموزوم 10q و حذف سه کلون را بر روی یک آرایه (1Mb) کروموزوم مصنوعی باکتریایی (BAC) را نشان می‌دهند.

شکل ۱۲-۳: بازوی بلند و کوتاه کروموزوم X نشان‌داده شده، که هر کدام به نواحی و باندهائی دسته‌بندی شده‌اند.

تقسیم سلولی

میتوز

در زمان لقاح، زیگوت انسان دارای یک سلول می‌باشد. زیگوت سریعاً وارد تقسیم سلولی می‌شود که در نهایت منجر به ایجاد انسان بالغ با حدود 1×10^{14} سلول می‌گردد. در اکثر ارگان‌ها و بافت‌ها مثل مغز استخوان و پوست، سلول‌ها در سراسر طول عمر به تقسیم ادامه می‌دهند، این فرآیند تقسیم سلول سوماتیک که طی آن هسته نیز تقسیم می‌شود، به عنوان **میتوز** شناخته می‌شود. هنگام میتوز هر کروموزوم به دو کروموزوم دختری تقسیم شده و بین دو سلول دختری توزیع می‌شود. در نتیجه تعداد کروموزوم‌ها در هر هسته ثابت باقی می‌ماند.

قبل از آنکه سلول وارد میتوز شود هر کروموزوم دارای دو کروماتید خواهری یکسان است که در نتیجهٔ همانندسازی DNA طی فاز S چرخه سلولی ایجاد شده‌اند. میتوز فرآیندی است که هر کدام از این جفت کروماتیدها جدا شده و به سلول‌های دختری مجزا وارد می‌شوند.

میتوز فرآیندی پیوسته است که معمولاً ۱ تا ۲ ساعت طول می‌کشد اما به منظور تفهیم بهتر مرسوم است که آن را به پنج مرحله مجزا دسته‌بندی کنیم. این مراحل شامل پروفاز، پرومتافاز، متافاز، آنافاز و تلوفاز (شکل ۱۳-۳).

پروفاز

طی مراحل اولیه **پروفاز** کروموزوم‌ها متراکم شده و دوک میتوزی شروع به تشکیل شدن می‌کند. دو **سانتریول** در هر سلول ایجاد می‌شود همزمان که سانتریول‌ها به قطب‌های مخالف سلول حرکت می‌کنند، بین آنها **میکروتوبول‌ها** تشکیل می‌شوند.

جدول ۲-۳ علائم به‌کار رفته در توصیف یک کاریوتایپ

حرف	توضیح	مثال
p	بازوی کوتاه	
q	بازوی بلند	
cen	سانترومر	46,XX,del (1) (q21)
del	حذف	46,XY,dup (13) (q14)
dup	مضاعف‌سازی	
fra	جایگاه شکنندگی	46,X,i (Xq)
i	ایزوکروموزوم	46,XX,inv (9) (p12 q12)
inv	وارگونی	
ish	هیبریدسازی درجا	
r	حلقه	46,XX,r(21)
t	جابه‌جایی (ترانسلوکاسیون)	46,XY,t (2;4) (q21 ; q21)
ter	انتهایی یا پایانی	انتهای بازوی کروموزومی مثل pter یا qter
/	موزائیسم	46,XY/47XXY
+ یا -	گاهی اوقات در متن بعد از بازوی کروموزومی قید می‌شود که به معنای افزایش یا کاهش بخشی از آن کروموزوم است	46,XX,5p-

پرومتافاز

هنگام **پرومتافاز** غشاء هسته‌ای فرو می‌پاشد و به کروموزوم‌ها امکان پراکنده‌شدن پیرامون سلول را می‌دهد. هر کروموزوم از طریق سانترومرش به میکروتوبول‌های دوک میتوزی متصل می‌شود.

متافاز

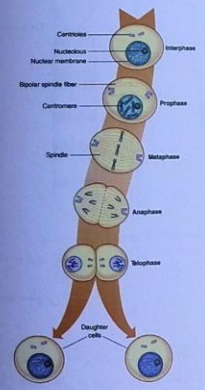
در **متافاز** کروموزوم‌ها در طول صفحه یا سطح استوائی سلول ردیف می‌شوند به‌طوری که هر کروموزوم توسط میکروتوبول‌های تشکیل‌دهنده دوک به سانترومول متصل می‌شود. در این مرحله کروموزوم‌ها بیشترین تراکم را داشته و بنابراین با سهولت بیشتری قابل مشاهده می‌باشند. شکل هر کروموزوم مشابه حرف X بوده به طوری که کروماتیدهای هر کروموزوم در طول کروموزوم‌ها از هم مجزا هستند، جز در ناحیه سانترومر، آن هم تا وقتی که تفکیک نشده باشند.

آنافاز

در **آنافاز** سانترومر هر کروموزوم به صورت طولی تقسیم شده و دو کروماتید خواهری از هم جدا شده، به طرف قطب‌های مخالف سلول کشیده می‌شوند.

تلوفاز

در **تلوفاز** کروماتیدها که حالا کروموزوم‌های مستقل حاوی یک مارپیچ دوشته‌ای‌اند، به‌طور کامل از هم جدا شده و دو گروه کروموزوم دختری هر کدام در یک غشاء هسته‌ای جدید قرار می‌گیرند. سیتوپلاسم سلولی نیز جدا شده (سیتوکینز) که منجر به تشکیل دو سلول دختری جدید هر کدام حاوی یک مجموعه کروموزومی دیپلوئید کامل می‌شود.



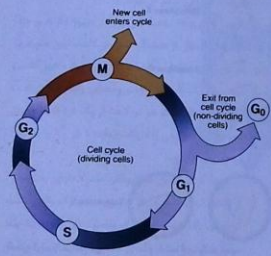
شکل ۱۳-۳: مراحل تقسیم میتوز

شماره ثبت: ۶۰۷۶۵ ۹۱/۲/۲۵

چرخه سلولی

زمان بین دو میتوز متوالی به عنوان **اینترفاز** چرخه سلول شناخته می‌شود (شکل ۱۴-۳). در تقسیم سریع سلولی این مرحله بین ۱۶ تا ۲۴ ساعت طول می‌کشد. اینترفاز با مرحلهٔ G_1 (G گرفته شده از کلمه Gap به معنای فاصله) هنگامی که کروموزوم‌ها باریک و گسترده می‌شوند شروع می‌شود. این مرحله چرخه سلولی از نظر زمانی بسیار متغیر است و علت تفاوت زمان چرخه سلولی در جمعیت‌های مختلف سلولی نیز همین فاز است. سلول‌هائی که دیگر تقسیم نمی‌شوند مثل نورون‌ها معمولاً در این مرحله متوقف می‌شوند و گفته می‌شود که وارد مرحلهٔ غیرچرخه‌ای به نام G_0 شده‌اند.

مرحلهٔ G_1 توسط فاز S (S = سنتز) ادامه می‌یابد، زمانی که همانندسازی DNA رخ می‌دهد و کروماتین هر کروموزوم تکثیر می‌یابد. این همانندسازی موجب تشکیل دو کروماتید شده و هر کروموزوم شکلی شبیه X پیدا می‌کند. فرآیند همانندسازی DNA در چندین نقطه بر روی کروموزوم آغاز می‌شود. جفت کروموزوم‌های هومولوگ معمولاً با هماهنگی همانندسازی می‌کنند. با این حال یکی از کروموزوم‌های X همیشه با تأخیر همانندسازی می‌کند. این کروموزوم X غیرفعال **کروماتین جنسی** یا به اصطلاح **جسم بار** را تشکیل می‌دهد که طی اینترفاز در هسته سلول‌های سوماتیکی زنان قابل مشاهده است. بررسی این کروموزوم اساس یک روش نه چندان مناسب برای تعیین جنسیت بود که با آنالیز سلول‌های بدست آمده از برداشت موکوس دهانی ـ اسمیر دهانی ـ صورت می‌گرفت. اینترفاز با یک فاز نسبتاً کوتاه G_2 کامل می‌شود که کروموزوم‌ها شروع به متراکم‌شدن می‌کند تا آمادهٔ مرحلهٔ بعدی تقسیم میتوزی گردند.



شکل ۱۴-۳: مراحل چرخه سلول. G_1 و G_2 اولین و دومین مرحلهٔ استراحت در اینترفاز می‌باشند. S مرحلهٔ همانندسازی DNA است. M : میتوز.

میوز

میوز فرآیند تقسیم هسته‌ای است که در آخرین مرحلهٔ تشکیل گامت رخ می‌دهد. میوز با میتوز سه تفاوت عمده دارد:

۱ـ میتوز دو سلول دختری ایجاد می‌کند که هر یک دارای یک مجموعه دیپلوئیدی کروموزومی (46) می‌باشند. طی میوز، تعداد کروموزوم‌های حالت دیپلوئیدی نصف شده، بنابراین هر گامت بالغ یک مجموعه هاپلوئیدی ۲۳ کروموزومی دریافت می‌کند.

۲ـ میوز در سلول‌های سوماتیکی و طی تقسیمات اولیه سلولی در تشکیل گامت رخ می‌دهد. میوز تنها در آخرین تقسیم قبل از گامت رخ می‌دهد.

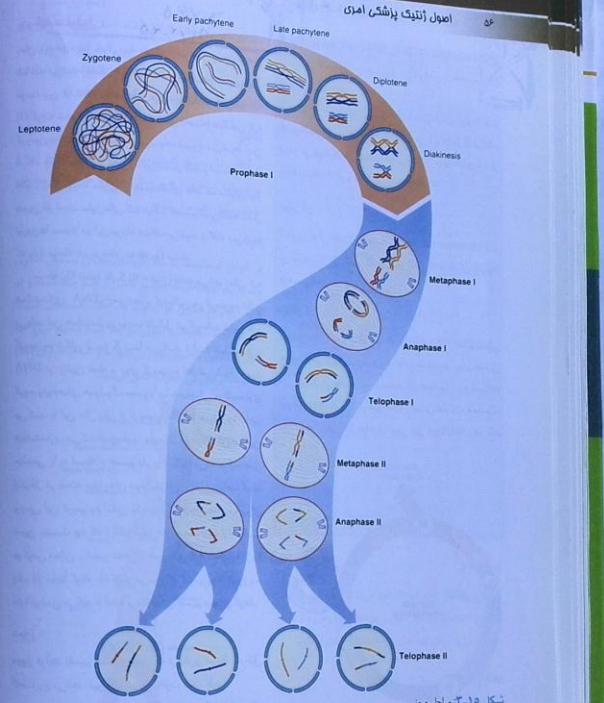
۳ـ میتوز در یک فرآیند یک مرحله‌ای صورت می‌گیرد. میوز به‌صورت دو تقسیم سلولی به نام‌های میوز I و میوز II در نظر گرفته می‌شود، که هر کدام از مراحل همانند میتوز دارای مراحل پروفاز، متافاز، آنافاز و تلوفاز می‌باشند (شکل ۱۵-۳).

میوز I

گاهی به آن تقسیم کاهشی (reduction division) نیز می‌گویند، زیرا طی اولین تقسیم میوز است که تعداد کروموزوم‌ها نصف می‌شود.

پروفاز I

کروموزوم‌هائی که وارد این مرحله می‌شوند، قبلاً از لحاظ طولی به‌صورت دو کروماتید درآمده و در ناحیه سانترومر بهم متصل می‌باشند. در جفت کروموزوم‌های هومولوگ به استثناء کروموزوم‌های X و Y در میوز مردان تبادل قطعات هومولوگ بین کروماتیدهای غیرخواهری؛ یعنی بین کروماتیدهای هر یک



شکل ۱۵ـ۳: مراحل میوز

از جفت کروموزوم‌های هومولوگ، رخ می‌دهد. تبادل قطعات هومولوگ بین کروماتیدها در نتیجهٔ فرآیندی به نام **کراسینگ‌اور** یا **نوترکیبی** صورت می‌گیرد. اهمیت کراسینگ‌اور در آنالیز پیوستگی و محاسبه خطر در بخش‌های بعدی آمده است. طی پروفاز I در مردان جفت شدن بین قطعات هومولوگ کروموزوم‌های X و Y در نوک بازوهای کوتاه ایجاد می‌شود که

این بخش از هر کروموزوم به عنوان ناحیه **آتوزوم کاذب** شناخته می‌شود. مرحلهٔ پروفاز میوز I نسبتاً طولانی بوده و می‌تواند به پنج زیر مرحله تقسیم شود.

لپتوتن. کروموزوم‌ها همانطور که شروع به متراکم‌شدن می‌کنند قابل رؤیت می‌شوند.

زیگوتن. کروموزوم‌های هومولوگ مستقیماً در مقابل هم طی فرآیندی به نام سیناپس ردیف شده و در چندین نقطه در طول یکدیگر توسط ساختارهای رشته‌ای به نام **کمپلکس سیناپتونمال** به هم متصل نگه داشته می‌شوند.

پاکی‌تن. هر جفت کروموزوم هومولوگ به نام **بی‌والانت** به‌صورت محکم فشرده می‌شوند. کراسینگ‌اور در این مرحله رخ می‌دهد که طی آن نواحی هومولوگ DNA بین کروماتیدها مبادله می‌شود.

دیپلوتن. کروموزوم‌ها هومولوگ نوترکیب حالا شروع به جدا شدن می‌کنند اما در نقاطی که کراسینگ‌اور رخ داده بهم متصل باقی می‌مانند. این نقاط به نام **کیاسماتا** شناخته می‌شوند. کروموزوم‌های بزرگ، متوسط و کوچک به طور میانگین به ترتیب دارای سه، دو و یک کیاسماتا می‌باشند، به‌طور کلی تقریباً ۴۰ واقعه نوترکیبی را در هر میوز در هر گامت نشان می‌دهند.

دیاکینز. جداسازی جفت کروموزوم‌های هومولوگ ادامه می‌یابد همانطور که کروموزوم‌ها به حداکثر فشردگی خود نزدیک می‌شوند.

متافاز I

غشاء هسته ناپدید شده و کروموزوم‌ها در طول صفحه استوائی سلول جائی که به دوک متصل شده‌اند، همانند متافاز میتوز، ردیف می‌گردند.

آنافاز I

اکنون کروموزوم‌ها از هم جدا شده و با انقباض دوک به قطب‌های مخالف سلولی کشیده می‌شوند.

تلوفاز I

هر مجموعه هاپلوئیدی کروموزوم‌ها حالا به‌طور کامل از هم جدا شده و به قطب‌های مخالف سلول کشیده شده‌اند. سپس سلول به دو گامت دختری جدید موسوم به **اسپرماتوسیت یا اووسیت ثانویه** تقسیم می‌شود.

میوز II

این تقسیم ضرورتاً مشابه یک تقسیم میتوز معمولی است. هر کروموزوم که به‌صورت جفتی از کروماتیدها وجود دارند، در طول سطح استوائی سلول ردیف شده و سپس از لحاظ طولی جدا می‌شوند، که منجر به تشکیل دوگامت جدید دختری به نام **اسپرماتید** یا **تخمک** می‌شود.

نتایج میوز

زمانی که از جنبه تولیدمثل و حفظ گونه درنظر گرفته شود، میوز دو هدف را تأمین می‌سازد. اول اینکه این تقسیم نصف‌شدن تعداد دیپلوئیدی کروموزوم‌ها را تسهیل می‌کند بنابراین هر زاده نیمی از مجموعه کروموزومی خود را از هر والد می‌گیرد. دوم اینکه میوز پتانسیل بالقوه‌ای برای ایجاد تنوع ژنتیکی داراست. این تنوع به دو روش میتز می‌شود:

۱ـ زمانی که بی‌والانت‌ها طی پروفاز میوز I از هم جدا می‌شوند، مستقل از همدیگر عمل می‌کنند. این مورد با قانون سوم مندل مطابقت دارد. در نتیجه هر گامت مجموعه‌ای انتخابی از کروموزوم‌های والدی را دریافت می‌کند. احتمال اینکه هر دو گامت از یک فرد دقیقاً همان مجموعه کروموزومی را دریافت نماید، ۱ در 2^{23} یا تقریباً ۱ در ۸ میلیون است.

۲ـ در نتیجهٔ کراسینگ‌اور هر کروماتید معمولاً دارای بخش‌هائی از DNA است که از هر دو کروموزوم هومولوگ والدی منشاء گرفته‌اند. یک کروموزوم بزرگ معمولاً دارای سه یا چند قطعه متناوب با منشاء والدی متفاوت است. پس احتمال اینکه هر دو گامت ژنوم یکسانی داشته باشند، بسیار کم خواهد بود. این توزیع DNA در گامت‌های مختلف گاهی به عنوان **بُرخوردن ژنی (gene shuffling)** نامیده می‌شود.

جدول ۳-۳ تفاوت‌های گامت‌زائی در زنان و مردان

	مردان	زنان
آغاز	بلوغ	اوائل زندگی رویانی
مدت	۶۰-۶۵ روز	۵۰-۱۰ سال
تعداد میتوزها در تشکیل گامت	۳۰-۵۰۰	۲۰-۳۰
تولید گامت در هر میوز	۴ اسپرماتید	۱ تخمک ۳ جسم قطبی
تعداد گامت‌ها	۲۰۰-۱۰۰ میلیون اسپرم در هر انزال	۱ تخمک در هر چرخه قاعدگی

گامتوژنز

فرآیند گامتوژنز در مردان و زنان تفاوت‌های اساسی با هم نشان می‌دهند (جدول ۳-۳). در صورتی که در مراحل گامتوژنز خطائی رخ دهد، پیامدهای بالینی کاملاً مشخصی ایجاد خواهد کرد.

تخمک‌زائی (اووژنز)

تخمک بالغ از اووگنی طی یک سری از مراحل حد واسط پیچیده ایجاد می‌شود. اووگنی‌ها خود از سلول‌های زایشی اولیه طی فرآیندی شامل ۲۰ تا ۳۰ تقسیم میتوز ایجاد می‌گردند که طی اولین ماه‌های رویانی رخ می‌دهد. پس از کامل شدن مراحل رویانی در ماه سوم زندگی داخل رحمی، اووگنی به‌صورت اووسیت‌های اولیه بالغ شده و وارد تقسیم میوز می‌شوند. در زمان تولد همهٔ اووسیت‌های اولیه وارد یک فاز توقف بلوغ به نام **دیکتیوتن** می‌شوند، که تا زمان تخمک‌گذاری که تقسیم میوز I تکمیل می‌گردد و یک اووسیت ثانویه تشکیل می‌شود، در این مرحله باقی می‌مانند. این سلول قسمت اعظم سیتوپلاسم را دریافت می‌کند. سلول دختری دیگر حاصل از اولین تقسیم میوز عمدتاً دارای یک هسته است و جسم قطبی نامیده می‌شود. سپس میوز II آغاز شده که طی آن لقاح می‌تواند صورت گیرد. دومین تقسیم میوز منجر به تشکیل یک جسم قطبی دیگر می‌شود (شکل ۳-۱۶).

احتمال دارد که فواصل زمانی خیلی طولانی بین شروع میوز و در نهایت تکمیل آن وجود داشته باشد یعنی تا ۵۰ سال یا بیشتر که به‌خوبی مشخص شده با افزایش میزان بروز ناهنجاری‌های کروموزومی در فرزندان مادران مسن‌تر مرتبط می‌باشد. اثرات تجمعی «استهلاک» بر اووسیت اولیه طی فاز دیکتیوتن احتمالاً به تشکیل دوک سلولی و مکانیسم‌های تعمیر آسیب وارد کرده و آن را مستعد عدم تفکیک صحیح کروموزومی (non-disjunction) می‌کند.

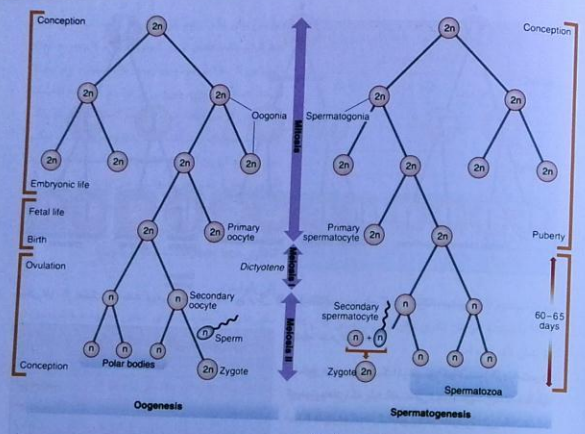
اسپرم‌زائی (اسپرماتوژنز)

در مقابل اسپرماتوژنز یک فرآیند نسبتاً سریع با مدت زمان میانگین ۶۰ تا ۶۵ روز می‌باشد. در بلوغ اسپرماتوگنی‌ها که قبلاً حدود ۳۰ تقسیم میتوز را پشت سر گذاشته‌اند، به صورت اسپرماتوسیت اولیه بالغ شده و وارد میوز I می‌شوند تا به صورت اسپرماتوسیت ثانویه هاپلوئیدی ظاهر شوند. سپس این سلول‌ها وارد دومین تقسیم میوز گشته و اسپرماتید تشکیل می‌شود که در ادامه بدون تقسیم سلولی به اسپرماتوزوا بالغ می‌شوند و در هر انزال، ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلیون از آنها وجود دارد.

اسپرم‌زائی (اسپرماتوژنز) فرآیندی پیوسته است که تقسیمات میتوزی بسیاری، احتمالاً ۲۰ تا ۲۵ تقسیم در هر سال، را شامل می‌شود. بنابراین اسپرماتوزا بالغ یک مرد ۵۰ ساله یا مسن‌تر چند صد تقسیم میتوز را پشت سر گذاشته است. اثر سن پدری مشاهده شده در جهش‌های غالب جدید مطابق با این نکته است که جهش‌های بسیاری در نتیجهٔ خطاهای تکثیر DNA طی میتوز رخ می‌دهند.

ناهنجاری‌های کروموزومی

بیماری‌های خاصی توسط ناهنجاری‌های کروموزومی ایجاد می‌شوند که در فصل ۱۸ بررسی شده‌اند. در این بخش مروری بر انواع متفاوت ناهنجاری‌هائی که ممکن است رخ دهند، ارائه شده است. این ناهنجاری‌ها را می‌توان به انواع تعدادی، ساختاری و دسته سومی شامل ترکیب‌های کروموزومی متفاوت در دو یا چند ردهٔ سلولی دسته‌بندی کرد (کادر ۱-۳).



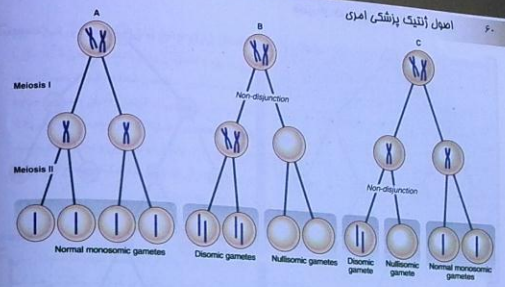
شکل ۳-۱۶: مراحل تخمک‌زائی و اسپرم‌زائی. n : تعداد هاپلوئیدی.

ناهنجاری‌های تعدادی

ناهنجاری‌های تعدادی شامل کاهش یا اضافه‌شدن یک یا چند کروموزوم است که **آنیوپلوئیدی** نامیده شده، یا اضافه‌شدن یک یا چند مجموعه هاپلوئیدی کروموزومی است که تحت عنوان **پلی‌پلوئیدی** شناخته می‌شوند. حذف یک کروموزوم موجب **منوزومی** می‌شود. اضافه‌شدن یک یا دو کروموزوم هومولوگ به ترتیب **تریزومی** یا **تترازومی** نامیده می‌شود.

تریزومی

حضور یک کروموزوم اضافی تحت عنوان تریزومی نامیده می‌شود. اکثر موارد سندرم داون به دلیل وجود یک کروموزوم اضافی شماره ۲۱ است، بنابراین سندرم داون اغلب به نام تریزومی ۲۱ شناخته می‌شود. سایر تریزومی‌های کروموزومی سازگار با بقاء تا زمان تولد سندرم پاتائو (تریزومی ۱۳) و سندرم ادوارد (تریزومی ۱۸) می‌باشند. اکثر موارد تریزومی‌های دیگر در اوائل حاملگی سقط می‌شوند که تریزومی ۱۶ یک یافتهٔ معمول در سقط‌های خودبخودی سه‌ماهه اول می‌باشد. حضور یک کروموزوم جنسی اضافی (X یا Y) تنها اثرات فنوتیپی خفیفی همراه دارد. تریزومی ۲۱ معمولاً در اثر عدم جدائی یکی از جفت کروموزوم‌های هومولوگ طی آنافاز میوز I مادری ایجاد می‌شود. نقص در جداسازی بی‌والانت‌ها، **عدم تفکیک** نامیده می‌شود. با فراوانی کمتری تریزومی می‌تواند در اثر عدم تفکیک طی میوز II نیز رخ دهد که جفت کروماتیدهای خواهری از هم جدا نمی‌شوند. در هر حالت، گامت دو کروموزوم هومولوگ **(دیزومی)** دریافت می‌کند و در صورت لقاح یک حاملگی تریزومی حاصل می‌شود (شکل ۳-۱۷).



شکل ۱۷-۳: تفکیک یک جفت کروموزوم در میوز : A. میوز نرمال B. عدم تفکیک در میوز I و C. عدم تفکیک در میوز II

کادر ۱-۳ انواع ناهنجاری‌های کروموزومی

تعدادی
آنیوپلوئیدی
موزومی
تریزومی
تترازومی
پلی‌پلوئیدی
تریپلوئیدی
تتراپلوئیدی
ساختاری
جابه‌جائی
ـ دو طرفه
ـ روبرت سونین
حذف‌ها
ژرف‌ها
واژگونی‌ها
ـ پاراسانتریک
ـ پری سانتریک
حلقه‌ها
ایزوکروموزوم‌ها
رده‌های سلولی متفاوت (میکسوپلوئیدی)
موزائیسم
کایمریسم

منشاء عدم تفکیک

نتایج عدم تفکیک در میوز I و میوز II در مورد کروموزوم‌هائی که وارد گامت می‌شوند متفاوت است. خطا در میوز I منجر به ایجاد گامتی با دو **هومولوگ** از یک جفت کروموزوم می‌شود. در مقابل عدم تفکیک در میوز II باعث می‌شود گامت دو کپی از یکی از هومولوگ‌های یک جفت کروموزوم را دریافت کند. مطالعات با استفاده از مارکرهای DNA نشان داده‌اند که اکثر بچه‌هائی که تریزومی آنوزومی دارند، کروموزوم اضافه‌شان را در نتیجهٔ عدم تفکیک صحیح کروموزومی طی یکی از تقسیمات میوزی مادری دریافت کرده‌اند (جدول ۴-۳). عدم تفکیک همچنین می‌تواند طی تقسیمات اولیه میتوزی در زیگوت در حال تکوین رخ دهد. این حالت موجب ایجاد دو یا چند ردهٔ سلولی متفاوت می‌شود پدیده‌ای که به **موزائیسم** معروف است.

علل عدم تفکیک

علت عدم تفکیک نامشخص می‌باشد. بهترین توضیح ارائه شده، اثر سن مادری بر اووسیت اولیه‌ای است که می‌تواند در حالت تعلیق بدون فعالیت، تا بیش از ۵۰ سال باقی بماند. به خوبی مشخص شده که بین افزایش سن مادری و افزایش میزان

جدول ۴-۳ منشاء والدی خطاهای میوزی ایجادکنندهٔ آنیوپلوئیدی

ناهنجاری کروموزومی	(٪) پدری	(٪) مادری
تریزومی ۱۳	۱۵	۸۵
تریزومی ۱۸	۱۰	۹۰
تریزومی ۲۱	۵	۹۵
45,X	۸۰	۲۰
47,XXX	۵	۹۵
47,XXY	۴۵	۵۵
47,XYY	۱۰۰	۰

بروز سندرم داون در فرزندان ارتباط وجود دارد (جدول ۴-۱۸ را ببینید). اثر سن مادری برای تریزومی‌های ۱۳ و ۱۸ نیز نشان داده شده است.

مشخص نیست که چگونه و چرا اثر سن مادری عدم تفکیک صحیح کروموزومی را مستعد می‌سازد، هر چند تحقیقات نشان داده‌اند که عدم نوترکیبی در پروفاز میوز I، عدم تفکیک صحیح متعاقب آن را مستعد می‌سازد. تعجب‌برانگیز نیست، زیرا کیاسماها که پس از نوترکیبی تشکیل می‌شوند مسئول نگه‌داشتن جفت‌کروموزوم‌های هومولوگ در کنار هم می‌باشند تا زمانی که در دیاکینز از هم جدا شوند. پس عدم تشکیل کیاسماتا به جفت کروموزوم‌های هومولوگ امکان جدا شدن زودهنگام را داده و بنابراین به‌صورت تصادفی در سلول‌های دختری تفکیک می‌شوند. اما در زنان نوترکیبی قبل از تولد رخ می‌دهد در حالی که پدیده عدم تفکیک در هر زمانی از ۱۵ تا ۵۰ سال پس از آن می‌تواند اتفاق بیافتد. این مورد پیشنهاد می‌کند که حداقل دو عامل در عدم تفکیک دخیل می‌باشند: فقدان نوترکیبی بین کروموزوم‌های هومولوگ در تخمدان جنین و ناهنجاری در تشکیل دوک پس از گذشت سال‌های متمادی.

منوزومی

فقدان یک کروموزوم تحت عنوان **منوزومی** شناخته می‌شود. منوزومی برای یک آتوزوم تقریباً همیشه با بقاء تا زمان تولد ناسازگار می‌باشد. فقدان توزیع کروموزوم X یا Y منجر به ایجاد کاریوتایپ X ، ۴۵ می‌شود و بیماری‌ای به نام سندرم ترنر ایجاد می‌کند. همانند تریزومی، منوزومی می‌تواند در اثر عدم تفکیک کروموزومی در میوز ایجاد شود. اگر یک گامت دو کپی از یک کروموزوم هومولوگ را دریافت کند **(دیزومی)**، گامت دیگر دختری هیچ کپی‌ای از همان کروموزوم دریافت نخواهد کرد **(نولی زومی)**. منوزومی همچنین می‌تواند با حذف یک کروموزوم زمانی که به سمت یکی از قطب‌های سلولی طی آنافاز حرکت می‌کند، ایجاد شود. پدیده‌ای که به نام **تأخیر آنافازی** (anaphase lag) شناخته می‌شود.

پلی‌پلوئیدی

سلول‌های پلی پلوئیدی دارای چندین مجموعه هاپلوئیدی از کروموزوم‌ها می‌باشند مثل ۶۹. **تریپلوئیدی** یا ۹۲. **تتراپلوئیدی**. در انسان تریپلوئیدی اغلب در مواد حاصل از سقط‌های خودبه‌خودی یافت می‌شود اما داشتن قدرت بقاء تا اواسط حاملگی نادر می‌باشد. فقط چند مورد تولد تریپلوئیدی زنده گزارش شده‌اند و همگی آنها کمی پس از تولد درگذشته‌اند. تریپلوئیدی می‌تواند توسط نقص تقسیم میوزی در بلوغ یک تخمک یا اسپرم ایجاد شود که برای مثال یک جسم قطبی را حفظ و یا یک اسپرم دیپلوئیدی ایجاد می‌کند. از طرف دیگر تریپلوئیدی می‌تواند در اثر لقاح یک تخمک با دو اسپرم نیز ایجاد شود که به این حالت **دی‌اسپرمی** گفته می‌شود. در صورتی که تریپلوئیدی از وجود یک مجموعه کروموزوم اضافی پدری ایجاد شود، جفت معمولاً متورم بوده که تحت عنوان تغییرات هیداتیفرم شناخته می‌شود. در مقابل اگر تریپلوئیدی در نتیجه یک مجموعه کروموزوم اضافی مادری ایجاد شود، جفت معمولاً کوچک است. تریپلوئیدی اغلب منجر به سقط خودبه‌خودی زودهنگام می‌شود (شکل ۱۸-۳). تفاوت بین تریپلوئیدی به دلیل مجموعه کروموزومی اضافی **پدری** یا **مادری** شواهدی را برای اثرات «منشاء والدی» و «اپی‌ژنتیک» در رابطه با ژنوم انسان فراهم می‌کند. این موارد با جزئیات بیشتر در فصل ۶ بحث شده‌اند.

شکل ۱۸-۳. کاریوتایپی از مولد حاصل از یک سقط خودبه‌خودی، که نمایانگر حالت تریپلوئیدی است.

ناهنجاری‌های ساختاری

نوآرائی‌های ساختاری کروموزوم حاصل شکستگی کروموزوم و اتصال مجدد آن با یک آرایش متفاوت است آنها می‌توانند متعادل یا نامتعادل باشند. در نوآرائی‌های متعادل مجموعه کروموزومی کامل است و هیچ ماده ژنتیکی اضافه یا کم نمی‌شود. در نتیجه نوآرائی‌های متعادل به‌طور کلی بی‌ضرر می‌باشند، به استثناء موارد نادری که در آنها یکی از نقاط شکستگی به یک ژن عملکردی مهم آسیب وارد کند. به هر حال حاملین نوآرائی‌های متعادل اغلب در معرض خطر ایجاد فرزندی با یک مجموعه کروموزومی نامتعادل می‌باشند. در صورتی که نوآرائی کروموزومی نامتعادل باشد، مجموعه کروموزومی دارای مقادیر نادرستی از ماده ژنتیکی بوده و اثرات بالینی آن معمولاً جدی می‌باشد.

جابه‌جائی‌ها (Translocations)

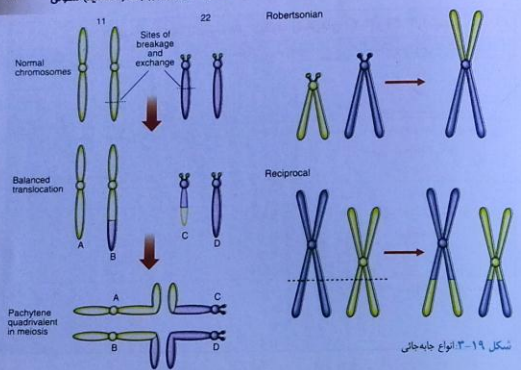
جابه‌جائی به انتقال ماده ژنتیکی از یک کروموزوم به کروموزوم دیگر گفته می‌شود. جابه‌جائی دوطرفه زمانی ایجاد می‌شود که شکستگی در دو کروموزوم رخ دهد و با تبادل قطعات، دو کروموزوم مشتق شدهٔ جدید حاصل شوند. جابه‌جائی روبرت سونین نوع خاصی از یک جابه‌جائی دوطرفه است که نقاط شکستگی در سانترومر یا نزدیک به سانترومر دو کروموزوم اکروسانتریک قرار دارد (شکل ۱۹-۳).

جابه‌جائی دوطرفه (Reciprocal Translocation)

یک جابه‌جائی دوطرفه شامل شکستگی حداقل دو کروموزوم همراه با تبادل قطعات می‌باشد. معمولاً تعداد کروموزوم‌ها ۴۶ باقی می‌ماند. اگر تبادل قطعات تقریباً با اندازهٔ برابر باشند، یک جابه‌جائی دوطرفه را تنها با مطالعات نواربندی کروموزومی یا FISH می‌توان تعیین کرد (شکل ۹-۳). به طور کلی جابه‌جائی دوطرفه منحصر به یک خانواده خاص می‌باشند، به دلالتی ناشناخته یک جابه‌جائی خاص که در برگیرندهٔ بازوهای بلند کروموزوم‌های ۱۱ و ۲۲ نسبتاً شایع است. میزان بروز کلی جابه‌جائی‌های دوطرفه در جمعیت عمومی تقریباً ۱ به ۵۰۰ می‌باشد.

تفکیک در میوز. اهمیت جابه‌جائی‌های دوطرفه متعادل در رفتار آنها در میوز است، زیرا هنگامی که تفکیک می‌شوند، می‌توانند کروموزوم‌های نامتعادل عمده‌ای را ایجاد کنند. این موارد موجب سقط زودهنگام حاملگی یا تولد نوزادی با ناهنجاری‌های چندگانه می‌شوند. علت مشکلات در میوز است، زیرا کروموزوم‌های دخیل در جابه‌جائی نمی‌توانند به‌طور طبیعی جفت شده و بی‌والانت تشکیل دهند. در عوض آنها یک تجمعی معروف به **چهارگانه پاکی‌تن** (Pachytene quadrivalent) را تشکیل می‌دهند (شکل ۲۰-۳). نکته مهم این است که هر کروموزوم با بخش همولوگ با خودش در تجمع چهارگانه جفت می‌شود.

تفکیک ۲:۲. هنگامی که کروموزوم‌های چهارگانه طی مراحل بعدی میوز I تفکیک می‌شوند، به چندین روش می‌توانند جدا شوند (جدول ۵-۳). اگر کروموزوم‌های متناوب (alternate) به هر گامت بروند، گامت یک مجموعه هاپلوئیدی طبیعی یا هاپلوئیدی با جابه‌جائی متعادل دریافت خواهد کرد (شکل ۲۱-۳) و در صورت لقاح، جنین کروموزوم‌های طبیعی و یا با نوآرائی متعادل خواهد داشت. به‌هر حال اگر کروموزوم‌های مجاور



شکل ۱۹-۳. انواع جابه‌جائی

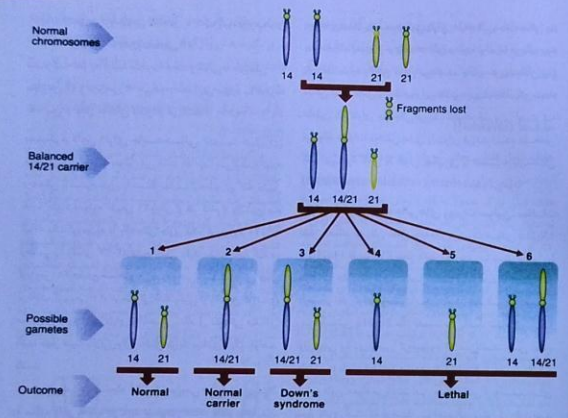
هم (adjacent) تفکیک شوند، به طور ثابتی منجر به ایجاد گامتی با یک مجموعه کروموزومی نامتعادل می‌شود. برای مثال در شکل ۲۰-۳ اگر گامت کروموزوم طبیعی ۱۱ (A) و کروموزوم مشتق شدهٔ ۲۲ (C) را دریافت کند پس از لقاح، جنینی با منوزومی بخش دیستال بازوی بلند کروموزوم ۲۲ و تریزومی بخش دیستال بازوی بلند کروموزوم ۱۱ به‌وجود می‌آید.

تفکیک ۳:۱. احتمال دیگر این است که سه کروموزوم با هم به یک گامت و تنها یک کروموزوم به گامت دیگر برود. اگر برای مثال در شکل ۲۰-۳ کروموزوم‌های ۱۱ (A) و ۲۲ (D) و مشتق شده از کروموزوم ۲۲ (C) با هم تفکیک و به یک گامت وارد شوند، پس از لقاح این گامت منجر به ایجاد جنینی تریزومی برای بخش موجود در کروموزوم مشتق شدهٔ ۲۲ می‌گردد. گاهی به این حالت **تریزومی سه‌گانه (tertiary trisomy)** گفته می‌شود. تجربیات نشان داده‌اند که در مورد این جابه‌جائی خاص،

شکل ۲۰-۳. چگونه یک جابه‌جائی دوطرفهٔ دربرگیرندهٔ کروموزوم‌های ۱۱ و ۲۲ منجر به تشکیل ساختار چهارگانه در پاکی‌تن میوز I می‌شود. ساختار چهارگانه برای حفظ جفت شدن بازها در همولوگ‌ها تشکیل می‌شود.

تریزومی سه‌گانه کروموزوم مشتق شدهٔ ۲۲ تنها محصول نامتعادل با قدرت زنده‌ماندن می‌باشد. همهٔ الگوهای دیگر تفکیک نامناسب منجر به سقط حاملگی زودهنگام می‌شوند. متأسفانه تریزومی سه‌گانه در مورد کروموزوم مشتق شدهٔ ۲۲ یک بیماری جدی است که بچه‌های مبتلا چندین ناهنجاری مادرزادی و مشکلات شدید یادگیری دارند.

میزان خطر در جابه‌جائی‌های دوطرفه. در زمان مشاوره با یک ناقل جابه‌جائی متعادل، لازم است نوآرائی خاصی مد نظر باشد تا مشخص شود آیا منجر به تولد فرزندی غیرطبیعی می‌شود یا خیر. میزان خطر معمولاً بین ۱٪ تا ۱۰٪ است. برای ناقلین جابه‌جائی ۱۱;۲۲ مورد بحث نشان داده شده که میزان خطر ۵٪ است.



شکل ۲۲-۳. تشکیل یک جابه‌جائی روبرت سونین 14q21q و الگوهای کروموزومی گامت‌های احتمالی که می‌توانند در میوز ایجاد شوند.

جابه‌جائی‌های روبرت سونین

یک جابه‌جائی روبرت سونین از شکستگی دو کروموزوم آکروسانتریک (شماره‌های ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۱ و ۲۲) در سانترومر یا نزدیک به سانترومر و سپس ادغام بازوهای بلند آنها حاصل می‌شود (شکل ۱۹-۳). به این مورد **ادغام سانترومری** (Centric Fusion) نیز می‌گویند. بازوهای کوتاه کروموزوم‌ها حذف می‌شوند که از لحاظ بالینی اهمیتی ندارند، زیرا تنها حاوی ژن‌های RNA ریبوزومی می‌باشند که چندین کپی از این ژن‌ها در سایر کروموزوم‌های آکروسانتریک وجود دارد. تعداد کلی کروموزوم‌ها به ۴۵ کاهش می‌یابد. از آنجا که هیچ حذف یا اضافه شدن ماده ژنتیکی حائز اهمیتی وجود ندارد، این حالت از لحاظ عملکردی یک نوآرائی متعادل می‌باشد. میزان بروز کلی جابه‌جائی‌های روبرت سونین در جمعیت عمومی تقریباً ۱ به ۱۰۰۰ است و شایع‌ترین آنها ادغام بازوهای بلند کروموزوم‌های ۱۳ و ۱۴ (13q14q) می‌باشد.

تفکیک در میوز. همانند جابه‌جائی‌های دوطرفه، اهمیت جابه‌جائی‌های روبرت سونین در رفتار آنها در میوز می‌باشد. برای مثال ناقل جابه‌جائی 14q21q می‌تواند گامت‌های زیر را ایجاد کند (شکل ۲۲-۳):

۱ـ یک مجموعه کروموزومی طبیعی (به عبارتی یک کروموزوم ۱۴ طبیعی و یک کروموزوم ۲۱ طبیعی)

۲ـ یک مجموعه کروموزومی متعادل (به عبارتی یک کروموزوم با جابه‌جائی 14q21q)

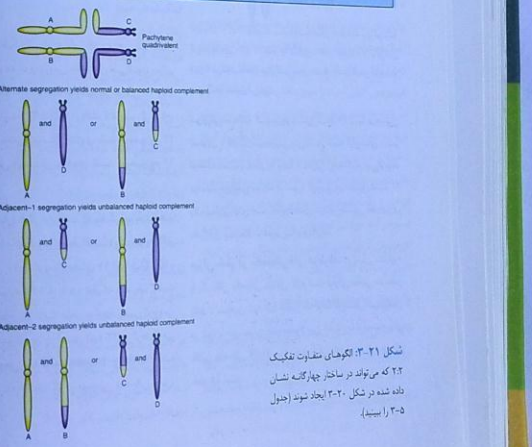
۳ـ یک مجموعه کروموزومی نامتعادل دارای یک کروموزوم با جابه‌جائی و یک کروموزوم ۲۱ طبیعی. این مورد در جنین لقاح یافته، سندرم داون ایجاد می‌کند.

۴ـ یک مجموعه کروموزومی نامتعادل با یک کروموزوم ۱۴ طبیعی و فاقد یک کروموزوم ۲۱

۵ـ یک مجموعه کروموزومی نامتعادل با یک کروموزوم ۲۱ طبیعی و فاقد یک کروموزوم ۱۴

جدول ۳-۵ الگوهای تفکیک یک جابه‌جائی دوطرفه (شکل‌های ۲۰-۳ و ۲۱-۳ را ببینید).

الگوی تفکیک	تفکیک کروموزوم‌ها	ترکیب کروموزومی در گامت‌ها
۲:۲		
متناوب	A+D	طبیعی
	B+C	جابه‌جائی متعادل
مجاور ـ ۱ (سانترومرهای غیرهمولوگ با هم تفکیک شوند)	B+D یا A+C	نامتعادل، منجر به ایجاد منوزومی و تریزومی نسبی در زیگوت می‌شود.
مجاور ـ ۲ (سانترومرهای همولوگ با هم تفکیک شوند)	C+D یا A+B	
۳:۱		
سه کروموزوم	A+B+C	نامتعادل، منجر به ایجاد تریزومی در زیگوت می‌شود.
	A+B+D	
	A+C+D	
	B+C+D	
یک کروموزوم	A	نامتعادل، باعث ایجاد منوزومی در زیگوت می‌شود.
	B	
	C	
	D	



شکل ۲۱-۳: الگوهای متفاوت تفکیک ۲:۲ که می‌تواند در ساختار چهارگانه نشان داده شده در شکل ۲۰-۳ ایجاد شوند (جدول ۳-۵ را ببینید).

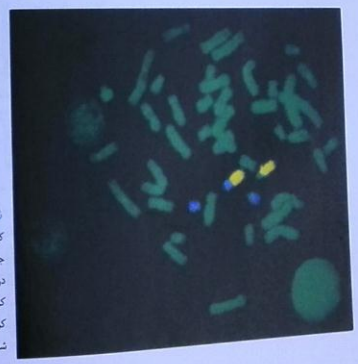
ی یک مجموعه کروموزومی نامتعادل یا یک کروموزوم دارای جابه‌جائی و یک کروموزوم طبیعی ۱۴.

سه ترکیب آخر به ترتیب منجر به ایجاد زیگوتی با منوزومی ۲۱، منوزومی ۱۴ و تریزومی ۱۴ می‌شود. همهٔ این موارد با قدرت بقاء پس از اوائل حاملگی ناسازگار می‌باشند.

سندرم داون دارای جابه‌جائی. اهمیت کاربردی جابه‌جائی‌های روبرت سونین این است که آنها می‌توانند تولد بچه‌هائی با سندرم داون را مستعد نمایند به‌طوری که جنین حاصل دو کروموزوم طبیعی ۲۱ (یکی از هر کدام از والدین) به اضافهٔ یک کروموزوم با جابه‌جائی حاوی یک کروموزوم ۲۱ را به ارث می‌برد (شکل ۲۳-۳). نتایج بالینی دقیقاً مشابه آنچه که در تریزومی ۲۱ حقیقی مشاهده می‌شود، می‌باشد. با این حال برخلاف تریزومی ۲۱، در صورتی که یکی از والدین فرزندی مبتلا به سندرم داون دارای جابه‌جائی، حامل نوآرائی متعادل باشد، خطر نسبتاً بالائی برای داشتن فرزند مبتلای دیگر خواهد داشت.

در نتیجه اهمیت انجام آنالیز کروموزومی در بچه‌ای مبتلا به سندرم داون نه تنها در تأیید تشخیص است بلکه در تعیین بچه‌هائی دارای جابه‌جائی نیز می‌باشد. تقریباً در دو سوم بچه‌های مبتلا به سندرم داون دارای جابه‌جائی، جابه‌جائی به صورت یک پدیدهٔ از نو (*de novo*) در بچه بوده اما در یک سوم باقیماندهٔ موارد والدین حامل می‌باشند. سایر خویشاوندان نیز ممکن است حامل باشند. بنابراین تلاش جهت شناسائی تمام حاملین بالغ دارای جابه‌جائی در یک خانواده ضروری است که می‌تواند خطرات محتمل بعدی را برای فرزند آینده مشخص کند. این مورد گاهی به عنوان **پیگیری** یا «تعقیب» جابه‌جائی (tracing or chasing translocation) نامیده می‌شود.

میزان خطر در جابه‌جائی‌های روبرت سونین. مطالعات نشان داده‌اند که زنان حامل جابه‌جائی روبرت سونین 13q21q یا 14q21q تقریباً ۱۰٪ خطر داشتن فرزندی با سندرم داون را دارند، در حالی که مردان حامل، خطری در حدود ۱٪ تا ۳٪ دارند. در نظر گرفتن وضعیت یک حامل بدشانس جابه‌جائی روبرت سونین 21q21q حائز اهمیت می‌باشد. تمام گامت‌ها تولی‌زومی یا دی‌زومی کروموزوم ۲۱ می‌باشند. پس تمام حاملگی‌ها یا با سقط خودبه‌خودی یا با تولد فرزندی مبتلا به سندرم داون همراه می‌باشند. این مورد یکی از وضعیت‌های بسیار نادری است که فرزندان با احتمالی بیش از ۵۰ درصد دارای یک ناهنجاری خواهند بود. مثال‌های دیگر شامل موارد



شکل ۲۳-۳: رنگ‌آمیزی کروموزومی نشان‌دهندهٔ یک جابه‌جائی روبرت سونین 14q21q در بچه‌ای مبتلا به سندرم داون. کروموزوم ۲۱ به رنگ آبی و کروموزوم ۱۴ به رنگ زرد نشان داده شده است.

زیر است: والدینی که هر دو برای یک بیماری آتوزوم غالب هتروزیگوت می‌باشند، والدینی که هر دو برای یک **جهش ژنی یکسان** هموزیگوتند و مبتلا به یک بیماری آتوزوم مغلوب مثل ناشنوائی حسی عصبی می‌باشند.

حذف‌ها (Deletions)

حذف شامل فقدان بخشی از یک کروموزوم است که باعث ایجاد منوزومی برای آن قسمت کروموزومی می‌شود. یک حذف خیلی بزرگ معمولاً با بقاء تا زمان تولد ناسازگار است و به عنوان یک قانون کلی هر حذفی که منجر به فقدان بیش از ۲٪ کل ژنوم هاپلوئیدی شود نتایج کشنده‌ای خواهد داشت. اکنون حذف‌ها در دو سطح شناسائی می‌شوند. یک حذف کروموزومی بزرگ را می‌توان با میکروسکوپ نوری مشاهده کرد. از جمله چنین سندرم‌های حذفی، ولف هیرشهورن و فریاد گربه می‌باشند که در آنها به ترتیب حذف بازوهای کوتاه کروموزوم‌های ۴ و ۵ رخ داده است. ریزحذف‌های تحت میکروسکوپی با کمک روش‌های سیتوژنتیکی پرومتافازی با حد تفکیک بالا و توسط مطالعات FISH تشخیص داده شدند و از جمله این ریزحذف‌ها سندرم‌های پرادر ـ ویلی و آنجلمن می‌باشند.

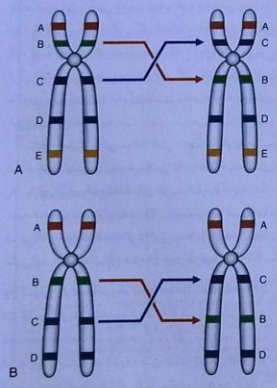
درج‌ها (Insertions)

درج زمانی رخ می‌دهد که قسمتی از یک کروموزوم درون کروموزوم دیگری وارد شود. اگر ماده وارد شده از جای دیگری از کروموزومی دیگر آمده باشد آنگاه کاریوتایپ متعادل خواهد بود. در غیر این صورت درج یک مجموعه کروموزومی نامتعادل ایجاد خواهد کرد. ناقلین یک نوآرائی درجی ـ حذفی متعادل ۵۰٪ خطر ایجاد گامت‌های نامتعادل دارند، زیرا تفکیک تصادفی کروموزومی در میوز باعث می‌شود ۵۰٪ گامت‌ها با حذف و یا درج و نه هر دو آنها را به ارث ببرند.

واژگونی‌ها (Inversions)

واژگونی یک نوآرائی با دو شکستگی است که در یک کروموزوم اتفاق می‌افتد و در آن ناحیه قطعه مربوطه وارونه می‌شود (به عبارتی معکوس می‌شود). اگر قطعه وارونه شده سانترومر را نیز در بر بگیرد به آن **واژگونی پری‌سانتریک** (Pericentric inversion) می‌گویند (شکل ۲۴A-۳). اگر تنها یکی از بازوهای کروموزومی را شامل شود به نام **واژگونی پاراسانتریک** (Paracentric Inversion) نامیده می‌شود (شکل ۲۴B-۳).

واژگونی‌ها نوآرائی‌های متعادلی می‌باشند و به ندرت مشکلاتی را در حاملین ایجاد می‌کنند مگر آنکه یکی از نقاط شکستگی به یک ژن مهم آسیب زده باشد. یک واژگونی پری‌سانتریک در کروموزوم ۹ به عنوان یک واریانت ساختاری شایع یا پلی‌مورفیسم رخ می‌دهد که به عنوان **هترومورفیسم** نیز شناخته می‌شود و به نظر نمی‌رسد هیچ اهمیت عملکردی داشته باشد. به هر حال سایر واژگونی‌ها اگرچه هیچ مشکل بالینی در ناقلین متعادل ایجاد نمی‌کنند، می‌توانند باعث عدم تعادل کروموزومی قابل توجهی در فرزندان همراه با پیامدهای بالینی مهم شوند.



شکل ۲۴-۳: A، واژگونی پری‌سانتریک. B، واژگونی پاراسانتریک

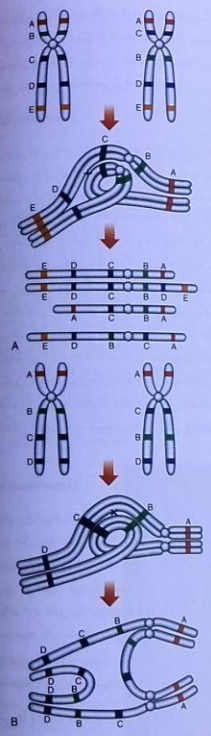
تفکیک در میوز

واژگونی‌های پری‌سانتریک (Pericentric Inversions). فردی که حامل واژگونی پری‌سانتریک است می‌تواند گامت‌های نامتعادل ایجاد کند، در صورتی که درون قطعه وارونه هنگام میوز I کراسینگ‌اور رخ دهد. به‌طوری که یک لوپ‌واروته تشکیل می‌شود، تا کروموزوم‌ها بتوانند جفت‌شدن هومولوگ‌ها را در سیناپس‌ها حفظ نمایند. در یک واژگونی پری‌سانتریک کراسینگ‌اور درون لوپ منجر به ایجاد دو کروموزوم نوترکیب می‌شود که یکی دارای مضاعف‌سازی قطعه غیروارونه دیستال و حذف انتهای دیگر کروموزوم است و کروموزوم دیگر دارای نوآرائی مخالف آن می‌باشد (شکل ۸ ۲۵-۳).

اگر یک واژگونی پری‌سانتریک تنها بخش کوچکی از طول کلی یک کروموزوم را شامل شود، بنابراین طی پدیده کراسینگ‌اور درون لوپ، قطعات مضاعف‌سازی شده و حذف شده نسبتاً بزرگ خواهند بود. هر چه قطعات مربوطه بزرگ‌تر باشند اثرات آنها بر جنین شدیدتر بوده و باعث سقط می‌شوند. در مورد واژگونی پری‌سانتریک بزرگ، قطعات مضاعف‌شده و حذف شده نسبتاً کوچک بوده، بنابراین قدرت بقاء تا زمان تولد و پس از آن محتمل‌تر می‌شود. پس به طور کلی اندازهٔ بزرگ‌تر واژگونی پری‌سانتریک با احتمال بیشتری منجر به تولد نوزادی غیرطبیعی خواهد شد.

نتایج حاصل از چندین مطالعه نشان داده‌اند که اگر وارونگی قبلاً منجر به تولد یک فرزند غیرطبیعی شده باشد، فرد حامل یک واژگونی پری‌سانتریک متعادل تقریباً حدود ۵٪ تا ۱۰٪ خطر داشتن فرزندی دارای عدم تعادل کروموزومی و همراه با قدرت بقاء را خواهند داشت. اگر واژگونی به دلیل سابقه سقط مکرر تأیید شده باشد، میزان خطر ۱٪ بیشتر می‌شود.

واژگونی پاراسانتریک (Paracentric Inversions). اگر کراسینگ‌اور در قطعه وارونهٔ یک واژگونی پاراسانتریک رخ دهد، منجر به ایجاد کروموزوم‌های نوترکیبی می‌شود که یا آسانتریک و یا دی‌سانتریک می‌باشند (شکل 25B-۳). کروموزوم‌های آسانتریک اگر دقیق بگوئیم باید به عنوان **قطعات کروموزومی** (Chromosomal fragments) شناخته



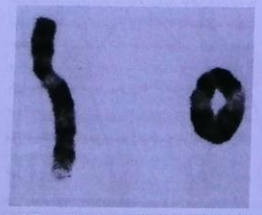
شکل ۲۵-۳: مکانیسم ایجاد کروموزوم‌های نامتعادل نوترکیب **A**، واژگونی پری‌سانتریک و **B**، واژگونی پاراسانتریک ایجاد شده توسط کراسینگ‌اور در یک لوپ حاوی وارونگی.

شوند که نمی‌توانند وارد تقسیمات میتوزی شوند، بنابراین قدرت بقاء جنینی یا چنین نوآرائی‌ها بسیار ناممعول می‌باشد.

کروموزوم‌های دی‌سانتریک به صورت ناپایدار طی تقسیم سلولی به ارث می‌رسند و بنابراین بعید است که با بقاء جنین سازگار باشند. پس به‌طور کلی احتمال اینکه یک واژگونی پاراسانتریک متعادل والدی باعث تولد بچه‌ای غیرطبیعی شود، بسیار کم است.

کروموزوم‌های حلقوی (Ring Chromosomes)

یک **کروموزوم حلقوی** زمانی تشکیل می‌شود که یک شکستگی در هر کدام از بازوهای یک کروموزوم رخ دهد و دو انتهای «چسبنده» در آن بخش باقی گذاشته، که سپس به صورت حلقه به هم متصل می‌شوند (شکل ۲۶-۳). دو قطعه کروموزومی دیستال حذف شده، بنابراین اگر کروموزوم مربوطه یک آتوزوم باشد، اثرات آن معمولاً جدی می‌باشد. کروموزوم‌های حلقوی اغلب در میتوز ناپایدار بوده، پس معمولاً یک کروموزوم حلقوی تنها در بخشی از سلول‌ها مشاهده می‌شود. سایر سلول‌ها در بدن فرد اغلب منوزومی دارند که به دلیل حذف کروموزوم حلقوی می‌باشد.



شکل ۲۶-۳: بخشی از یک کاریوتایپ، نمایانگر یک کروموزوم ۹ حلقوی.

بیشتر بدانیم ۳ـ۳

ایزوکروموزوم‌ها

ایزوکروموزوم‌ها هم از طریق تقسیم اشتباه سانترومر (تقسیم سانترومری) و هم از طریق تبادل U شکل که باعث ایجاد محصولات آسانتریک ودی‌سانتریک می‌شود، ایجاد می‌شوند. این اشتباهات می‌توانند در گامت‌های پیش میوزی، در طول تقسیم سلولی میوزی و هم در تقسیمات پس از لقاح در یک خامگی طبیعی یا تری زومی ایجاد شوند. حدود ۹۰ درصد باز آرایی‌های آکروسانتریک هومولوگ، ایزوکروموزوم‌هایی هستند که حاصل مضاعف‌سازی یک بازوی کروموزومی منفرد بوده و این کروموزوم می‌تواند منوسانتریک یا دی‌سانتریک باشد. ایزوکروموزوم‌های آکروسانتریک معمولاً ناشی از تقسیم میوزی بوده و به طور مساوی می‌تواند از پدر یا مادر به ارث برسد. درصد قابل توجهی از تشخیص‌های مربوط به سندرم‌های داون، پاتائو، پرادر– ویلی و آنجلمن را کروموزوم‌های آکروسانتریک ایزوکروموزومی تشکیل می‌دهند.

شایع‌ترین ایزوکروموزوم جنسی، ایزوکروموزوم بازوی بلند کروموزوم X است[i(x)(q10)] که ۱۵ درصد موارد سندرم ترنر را شامل می‌شود. اکثریت موارد i(xq) ها ایزودی‌سانتریک یا سودودی سانتریک بوده، زیرا فعالیت یکی از سانترومرها معمولاً مهار می‌شود. محتمل‌ترین علت تشکیل این نوع ایزوکروموزوم مکانیسم تبادل ـ ادغام U شکل بین دو کروماتید خواهری یک کروموزوم X است. ایزوکروموزوم بازوی کوتاه کروموزومYدرصد قابل توجهی از موارد ناباروری در مردان را تشکیل می‌دهد. این ایزوکروموزوم‌ها معمولاً در حالت موزائیسم در افراد همراه با ردهٔ سلولی 45,X دیده می‌شوند. عدم وجود رده سلولی طبیعی در بدن موزائیک این افراد بیانگر این است که ایزوکروموزوم‌های مشتق از کروموزوم جنسی دارای منشأ میوزی هستند.

اکثر ایزوکروموزوم‌های آتوزومی در حالت موزائیک به صورت یک کروموزوم اضافه (supernumerary) وجود دارند و این حالت باعث ایجاد وضعیت تترازومی برای بازوی کروموزومی مورد نظر می‌شود. شایع‌ترین حالات تشخیص داده شده موارد i(9p)، i(12p) و i(18p) است. ایزوکروموزوم‌های آتوزومی عمدتاً به وسیلهٔ عدم تفکیک (non-disjunction) میوزII مادری ایجاد شده که منجر به مضاعف‌سازی بازوی p و حذف بازوی q می‌شود.

منابع:

Emery and Rimon's principles and practice of Medical Genetics (5th ed) 2007. Churchill Livingstone.

ایزوکروموزوم (Isochromosomes)

در ایزوکروموزوم‌ها حذف یک بازوی کروموزومی همراه با مضاعف‌سازی بازوی دیگر مشاهده می‌شود. محتمل‌ترین توضیح برای ایجاد یک ایزوکروموزوم این است که سانترومر به صورت عرضی و به طولی تقسیم شده است. شایع‌ترین ایزوکروموزوم مشاهده شده، ایزوکروموزومی با دو بازوی بلند کروموزوم X می‌باشد. این مورد مسئول بیش از ۱۵٪ کل موارد سندرم ترنر می‌باشد.

موزائیسم و کایمریسم (میکسوپلوئیدی)

موزائیسم

موزائیسم (mosaicism) به حضور دو یا چند رده سلولی دارای ساختار ژنتیکی متفاوت در یک بافت و یا در یک فرد گفته می‌شود که این سلول‌ها از یک سلول تخم منفرد ایجاد شده‌اند. این بدان معنی است که این سلول‌ها دارای منشاء ژنتیکی یکسانی هستند. موزائیسم کروموزومی معمولاً در نتیجه رخ دادن عدم تفکیک (non-disjunction) در تقسیمات میتوزی در روبان اولیه حاصل شده، که باعث می‌شود در روبان بین از یک نوع رده سلولی حضوری مستمر داشته باشند. به‌طور مثال، اگر دو کروماتید یک کروموزوم شماره ۲۱ نتواند در دومین تقسیم میتوزی سلول تخم انسانی از یکدیگر جدا شوند (شکل ۲۷-۳)، یک تخم ۴ سلولی دارای دو سلول ۴۶ کروموزومی، یک سلول با ۴۷ کروموزوم (تریزومی ۲۱) و یک سلول ۴۵ کروموزومی (مونوزومی ۲۱) ایجاد خواهد شد. احتمالاً سلول ۴۵ کروموزومی زنده نخواهد ماند و بنابراین انتظار بر این است که روبان حاصله حدود ۳۳٪ موزائیسم تریزومی ۲۱ نشان دهد. موزائیسم ۱ تا ۲ درصد تمام موارد بالینی شناخته شده سندرم داون را شامل می‌شود.

موزائیسم همچنین می‌تواند در سطح مولکولی نیز ایجاد شود. اگر یک جهش جدید در یک تقسیم سوماتیکی و یا در تقسیم اولیهٔ سلول‌های رندهٔ زایندهٔ رخ دهد، زمانی که با والدین یک کودک مبتلا به بیماری‌های همچون دیستروفی عضلانی دوشن که تنها مورد بیمار در آن خانواده است مشاوره می‌شود، باید به احتمال وجود موزائیسم گنادی (gonadal mosaicism) یا موزائیسم رده زایندهای توجه ویژه‌ای کرد.

کایمریسم

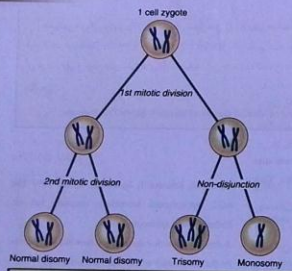
کایمریسم (Chimerism) به حضور همزمان دو یا چند رده سلولی دارای ساختار ژنتیکی متفاوت در یک فرد گفته می‌شود که سلول‌ها از بیش از یک سلول تخم منشاء گرفته‌اند، یعنی سلول‌ها دارای منشاء ژنتیکی متفاوتی هستند. واژه (Chimera) از یک هیولای افسانه‌ای یونانی برگرفته شده است که دارای سر یک شیر، بدن یک بز و دم یک اژدهاست. انسان‌های کایمر دو نوع هستند: کایمرهای دو اسپرمی و کایمرهای خونی.

کایمرهای دو اسپرمی (Dispermic Chimeras)

این کایمرها در نتیجهٔ لقاح مضاعف ایجاد می‌شوند، به طریقی که دو اسپرم متفاوت از لحاظ ژنتیکی دو تخمک را بارور کنند. به طوری که دو تخم حاصله در مرحلهٔ بعد با هم برای تشکیل جنین ادغام شوند. اگر دو تخم دارای دو جنسیت مخالف باشند، روبان کایمر می‌تواند تبدیل به فردی شود که مبتلا به هرمافرودیسم حقیقی است و دارای کاریوتیپ XX/XY است. امروزه این نوع موش‌های کایمر در آزمایشگاه تولید می‌شوند و برای مطالعهٔ انتقال ژن مورد استفاده قرار می‌گیرند.

کایمرهای خونی

کایمرهای خونی (Blood chimeras) حاصل تبادل سلول‌ها بین دوقلوهای تاهمسان، به‌وسیله جفت در رحم هستند. به‌طور مثال ۹۰ درصد سلول‌های یکی از دوقلوها دارای کاریوتیپ XY بوده و سلول‌های خونی او دارای گروه خونی B است، در حالی که ۹۰ درصد سلول‌های عضو دیگر دارای کاریوتیپ XX بوده و سلول‌های خونی او عمدتاً گروه خونی A را نشان می‌دهند. از مدت‌ها پیش مشخص شده بود که وقتی گوساله‌های دوقلو با جنسیت مخالف هم به وجود می‌آیند، گوساله ماده می‌تواند دستگاه تناسلی مبهم داشته باشد. امروزه تصور بر این است که کایمریسم گنادی (gonadal chimerism) در گوسالهٔ ماده علت این امر است و به این گوساله **فری‌مارتین** (freemartins) گفته می‌شود.



شکل ۲۷-۳ موزائیسم سوماتیکی که در اثر عدم تفکیک میتوزی ایجاد می‌شود.

بیشتر بدانیم ۴ـ۳

سندرم پالیستر ـ کیلیان (تترازومی 12p)

سندرم پالیستر ـ کیلیان (pallister – killian) یک ناهنجاری نادر کروموزومی است که در آن افراد دارای چندین ویژگی دیسمورفیک و عقب‌ماندگی ذهنی شدید می‌باشند. این بیماری اگرچه بسیار نادر است، اما از این جهت اهمیت دارد که در آن یک نوع موزائیسم مختص بافت (tissue specific mosaicism) دیده می‌شود. در این افراد هیچ نوع ناهنجاری سیتوژنتیکی را نمی‌توان در نمونه‌های لنفوسیت‌های خون محیطی تشخیص داد و بنابراین در صورت عدم تهیه نمونه از بافت مناسب تشخیص با شکست روبرو خواهد شد.

افراد مبتلا به سندرم پالیستر ـ کیلیان دارای صورتی خشن همراه با ناهنجاری‌های رنگدانه‌ای پوست هستند. همچنین در آنها طاسی موضعی (localized alopecia)، عقب‌ماندگی ذهنی شدید و تشنج دیده می‌شود. در دوران کودکی موها، مخصوصاً در بخش شقیقه کم پشت است. این بیماران دارای پیشانی بلند و برجسته بود، گوش‌ها غیرطبیعی، دهان بزرگ و گوشه‌های آن با شیب رو به پایین است. همچنین چین‌های اپی‌کانتوس، فاصله زیاد بین چشم (hypertelorism)، پل بینی صاف (flat nasal bridge) در آنها نمایان است. گردن اغلب کوتاه و پرهدار و دارای پوست گردنی زاید است. احتمال ایجاد نقایص دیافراگمی و توک پستان (nipple) متعدد وجود دارد. نوزادان مبتلا شدیداً مُثل (هیپوتونیک) هستند. بزرگسالان مبتلا نیز دارای عقب‌ماندگی شدید، صرع، صورت خشن و زبان بزرگ هستند. چند مورد با فنوتیپ خفیف‌تر بیماری نیز گزارش شده است.

در اکثر موارد سندرم پالیستر ـ کیلیان با وجود سالم بودن لنفوسیت‌ها از نظر کروموزومی، فیبروبلاست‌ها دارای یک کروموزوم اضافی هستند که به صورت ایزوکروموزوم بازوی کوتاه کروموزوم ۱۲ [47, + i (12p)] مشاهده می‌شود. این حالت علاوه بر فیبروبلاست‌های پوست، ریه و بیضه، (12p)i در آنالیز مستقیم مغز استخوان نیز دیده می‌شود. این بیماری یک نوع موزائیسم مختص بافتی نشان می‌دهد، زیرا کروموزوم اضافه فقط در بافت‌های خاصی دیده می‌شود. با گذشت زمان درصد فیبروبلاست دارای ایزوکروموزوم اضافی کاهش می‌یابد. این کروموزوم اضافی هم از طریق پدر و هم مادر به ارث می‌رسد. اگرچه از ۶ گزارش منتشر شده، در ۵ مورد منشاء کروموزوم اضافی مادری بوده است.

با انجام FISH اینترفازی بر روی نمونه‌های گرفته شده از داخل دهان سه سیگنال قابل مشاهده است، دو سیگنال از دو کروموزوم طبیعی و یک سیگنال از ایزوکروموزوم. انجام این روش نیاز به نمونه‌گیری بافتی را برطرف می‌سازد.

همچنین ایزوکروموزوم 12p با تومورهای سلول‌های زاینده بیضه مرتبط است، زیرا ژن CCND2 که در موقعیت 12p13 قرار گرفته است، cyclin D2 را کد می‌کند. Cyclin D2 یک تنظیم کننده چرخه سلول در فاز G1 است که بیان بیش از حد آن در بسیاری از تومورهای سلول‌های زاینده بیضه نشان داده شده است.

منابع:

Emery and Rimon's principles and practice of Medical Genetics (5th ed). Churchill Livingstone

Therman E, Susman M 1993 Human chromosomes. Structure, behavior and effects, 3rd ed. New York: Springer

A useful and comprehensive introduction to human cytogenetics.

Tjio JH, Levan A 1956 The chromosome number of man. Hereditas 42:1-6

A landmark paper that described a reliable method for studying human chromosomes and gave birth to the subject of clinical cytogenetics.

سایت‌های اینترنتی

National Center for Biotechnology Information. Microarrays: chipping away at the mysteries of science and medicine. Online. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/microarrays.html

نکات مهم

۱ـ کاریوتیپ طبیعی انسان از ۴۶ کروموزوم تشکیل شده است که شامل ۲۲ جفت آتوزوم و یک جفت کروموزوم جنسی است، XX در زنان و XY در مردان.

۲ـ هر کروموزوم شامل یک بازوی کوتاه (p) و یک بازوی بلند (q) است که در سانترومر به هم متصل هستند. کروموزوم‌ها با استفاده از کشت سلول آنالیز می‌شوند و با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی خاصی می‌توان الگوی نواربندی اختصاصی را در آنها شناسایی کرد. روش‌های سیتوژنتیک مولکولی مانند تکنیک هیبریدسازی فلئورسنت درجا

مطالعات بیشتر

Barch MJ, Knutsen T, Spurbeck JL, eds 1997 The AGT cytogenetics laboratory manual, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven.

A large multiauthor laboratory handbook produced by the Association of Genetic Technologists.

Gersen SL, Keagle MB, eds 2011 The principles of clinical cytogenetics, 3rd ed. Totowa, NJ: Humana Press

A detailed multiauthor guide to all aspects of laboratory and clinical cytogenetics.

Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ, eds 2009 An international system for human cytogenetic nomenclature. Basel: Karger

A report giving details of how chromosome abnormalities should be described.

Rooney DE, Czepulkowski BH 1997 Human chromosome preparation. Essential techniques. Chichester, UK: John Wiley

A laboratory handbook describing the different methods available for chromosome analysis.

Speicher MR, Carter NP 2006 The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. Nat Rev Gen 6:782-792

A review of the exciting advances in FISH and array-based techniques.

(FISH) و Array CGH می‌توانند برای تشخیص ناهنجاری‌های کروموزومی ظریف به کار گرفته شود.

۳ـ در حین میتوز در تقسیم سلولی سوماتیک دو کروماتید خواهری هر کروموزوم از هم جدا شده و هر کدام به یک سلول دختری می‌روند. در میوز که در مراحل آخر گامت‌زایی رخ می‌دهد، جفت کروموزوم همولوگ قطعاتی را مبادله کرده و به‌طور مستقل از هم جدا شده و هر کدام به یک گامت دختری بالغ می‌روند.

۴ـ ناهنجاری‌های کروموزومی می‌تواند ساختاری یا تعدادی باشد. ناهنجاری‌های تعدادی شامل تریزومی و پلی‌پلوئیدی است. در تریزومی یک کروموزوم اضافی وجود دارد که معمولاً در نتیجه عدم تفکیک در اولین یا دومین تقسیم میوزی ایجاد می‌شود. در پلی‌پلوئیدی سه یا تعداد بیشتری مجموعه هاپلوئیدی به جای مجموعه دیپلوئیدی طبیعی وجود دارد.

۵ـ ناهنجاری‌های ساختاری شامل جابه‌جایی، واژگونی، کروموزوم حلقوی و حذف‌هاست. جابه‌جایی می‌تواند متعادل یا نامتعادل باشد. حاملین جابه‌جایی متعادل دارای خطر داشتن فرزندی با بازآرایی غیرمتعادل هستند؛ این بچه‌ها معمولاً از نظر جسمی و ذهنی معلول می‌باشند.

فصل ۴

فن‌آوری DNA و کاربردهای آن

در تاریخ ژنتیک پزشکی، «پیشرفت در بررسی کروموزوم‌ها» انقلابی را در اواسط دهۀ ۱۹۵۰ پدید آورد. در طول ۴ دهه گذشته فن‌آوری DNA نه فقط در ژنتیک پزشکی بلکه در بسیاری از حوزه‌های علوم زیستی تأثیر عمیق داشته است (شکل ۱-۴) (کادر ۱-۴). پیشرفت‌های بنیادین در زمینه فن‌آوری DNA در جدول ۱-۴ خلاصه شده است.

فن‌آوری DNA را می‌توان به دو بخش اصلی تقسیم‌بندی کرد: کلون‌سازی DNA و روش‌های آنالیز DNA.

کلون‌سازی DNA

کلون‌سازی DNA، تکثیر انتخابی یک توالی یا قطعهٔ اختصاصی از DNA برای تولید مقادیر نسبتاً انبوهی از قطعات DNA یکسان است تا با استفاده از این مقادیر بتوان ساختار و عملکرد DNA مورد نظر را به دقت بررسی کرد.

دو نوع عمده از روش‌های کلون‌سازی ژنی وجود دارد: فن‌آوری‌هایی که از مکانیسم‌های طبیعی سلول برای تکثیر DNA به‌صورت *in vivo* استفاده می‌کنند و واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مرازی در شرایط خارج از سلول و یا *in vitro* که اخیراً توسعه یافته‌اند.

کلون‌سازی DNA با استفاده از سلول

به‌صورت *in vivo*

کلون‌سازی DNA با استفاده از سلول به صورت *in vivo* شامل شش مرحله است.

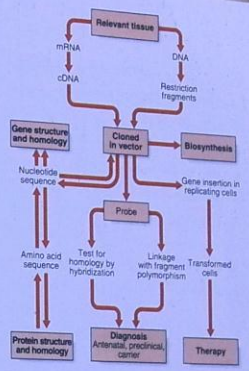
تولید قطعات DNA

اگرچه قطعات DNA می‌توانند به‌وسیله روش خردکردن میکانیکی تولید شوند، ولی این روش یک فرآیند تصادفی است و قطعاتی با اندازه متنوع ایجاد می‌کند. در اوایل دهۀ ۱۹۷۰ کشف شد که میکروب‌های خاصی حاوی آنزیم‌هایی هستند که DNA دو رشته‌ای را در نزدیکی و یا در درون یک توالی نوکلئوتیدی خاص برش می‌دهند. این آنزیم‌ها ورود قطعات بیگانه به درون سلول باکتری را محدود (restrict) می‌کنند و بنابراین **آنزیم‌های محدودکننده** (restriction enzymes) نامیده می‌شوند. آنها می‌توانند یک توالی نوکلئوتیدی پالیندرومی DNA را که بین ۴ تا ۸ نوکلئوتید طول دارد را برش دهند (توالی پالیندرومی، توالی یکسانی از نوکلئوتیدها است که بر روی دو رشته DNA مکمل قرار گرفته و هنگامی که این دو رشته در یک جهت، مثلاً، ۵ به ۳ خوانده می‌شود یکسان هستند) (جدول ۲-۴). هر چقدر طول توالی شناسایی نوکلئوتیدی یک آنزیم محدودکننده بیشتر باشد، این توالی نوکلئوتیدی خاص به احتمال کمتری تکرار خواهد شد و بنابراین اندازه متوسط قطعات تولیدی بزرگتر خواهد بود.

بیش از ۳۰۰ نوع آنزیم محدودکننده در باکتری‌های مختلف شناسایی شده‌اند. این اندونوکلئازهای محدودکننده بر طبق باکتری‌ای که از آن مشتق شده‌اند نامگذاری می‌شوند. (مثلاً EcoR1 که از *Escherichia coli* مشتق شده و اولین آنزیمی است که از این میکروب جداسازی شده است). جفت شدن مکملی بازها در مولکول DNA به معنای این است که برش DNA دو رشته‌ای به‌وسیله اندونوکلئاز محدودکننده همیشه شکست دورشته‌ای ایجاد می‌کند که وابسته به نقاط شکست آنزیم محدودکننده مورد استفاده، انتهای صاف (blunt) یا انتهای ناصاف (staggered) ایجاد می‌شود (شکل ۲-۴). هر بار که یک DNA از یک منبع خاص با یک آنزیم محدودالاثر برش داده می‌شود، مجموعه‌ای مشابه و تکرارپذیر از قطعات DNA تولید می‌کند.

قطعات DNA نوترکیب

DNA از هر منبعی که مشتق شده باشد، وقتی با یک آنزیم محدودکننده یکسان برش داده شود، تولید قطعات DNA با دو انتهای مکمل و مشابه می‌کند. وقتی که DNA به‌وسیلهٔ انواعی از آنزیم‌های محدودکننده که دو انتهای ناصاف (Staggered) ایجاد می‌کنند، برش داده می‌شود، به این دو انتها، دنبالهٔ چسبنده (Sticky or Cohesive) گفته می‌شود. زیرا این دنباله‌ها می‌توانند تحت شرایط مناسب به دنباله‌های مکمل از



شکل ۱-٤: برخی از کاربردهای فن‌آوری DNA در ژنتیک پزشکی

یک منبع متفاوت DNA که در اثر برش همان آنزیم ایجاد شده‌اند، متصل شوند. در ابتدا دو انتهای چسبنده به‌وسیلهٔ پیوندهای هیدروژنی در کنار هم نگه داشته می‌شوند، سپس به‌وسیلهٔ آنزیمی موسوم به **DNA لیگاز** (DNA Ligase) به صورت کوالان بهم می‌چسبند. اتصال دو قطعه DNA از منابع مختلف، محصولی را تولید می‌کند که به **مولکول DNA نوترکیب** (recombinant DNA molecule) مشهور است.

وکتورها

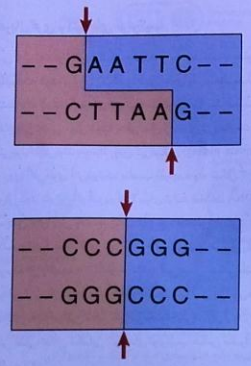
وکتور (vector) واژه‌ای است که به مولکول DNA حاملی اطلاق می‌شود که در فرآیند کلون‌سازی مورد استفاده قرار گرفته و از طریق همانندسازی مستقل در یک موجود میزبان می‌تواند نسخه‌های متعددی از خودش را تولید کند. قرار گرفتن **DNA هدف** (target DNA) در درون وکتور امکان تولید مقادیر انبوهی از این قطعه DNA را فراهم می‌کند.

برای اینکه وکتورهای طبیعی بتوانند در کلون‌سازی DNA مورد استفاده قرار گیرند، باید طوری دستکاری شوند که تضمین کنند DNA هدف در یک جایگاه خاص وارد شود و وکتور نوترکیب حاوی قطعه DNA مربوطه را نیز بتوان شناسایی کرد. بسیاری از وکتورهای اولیه طوری طراحی شده بودند که ورود DNA هدف به درون یک ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک، باعث از دست رفتن عملکرد این ژن می‌شد (شکل ۳-۴).

پنج نوع وکتوری که به‌طور فراوان مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل **پلاسمیدها** (Plasmids)، **باکتریوفاژها** (bacteriophages)، **کازمیدها** (cosmids) و **کروموزوم‌های مصنوعی باکتریایی (BAC) و مخمری (YAC)** (bacterial and yeast artificial chromosomes) هستند. انتخاب وکتور مورد نظر برای انجام کلون‌سازی به عوامل متعددی همچون نوع آنزیم محدودکنندهٔ مورد استفاده و اندازهٔ قطعه DNA مورد نظر بستگی دارد. برخی از وکتورهای اولیه همچون پلاسمیدها و باکتریوفاژها از نظر اندازهٔ قطعه DNA ای که می‌تواند در درون آنها قرار داده شود، محدودیت‌های فراوانی داشتند و وکتورهای نسل بعد، همچون کازمیدها می‌توانستند قطعاتی در حدود ۵۰ کیلوباز را در خود جای دهند. یک کازمید

کادر ۱-٤ کاربردهای فن‌آوری DNA

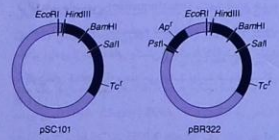
- تعیین ساختار / عملکرد / نقشهٔ ژنی
- ژنتیک جمعیت
- ژنتیک بالینی
  - تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (PGD)
  - تشخیص پیش از تولد (PND)
  - تشخیص پیش از بروز علائم
  - تشخیص حاملین
- تشخیص و بررسی آسیب‌شناسی بیماری‌ها
  - بیماری ژنتیکی
  - بیماری‌های اکتسابی – عفونی و سرطان
- بیوسنتز
  - (مثلاً تولید انسولین، هورمون رشد، اینترفرون و پروتئین‌های ایمن‌سازی)
- درمان بیماری‌های ژنتیکی
- ژن‌درمانی
- کشاورزی
  - مثلاً تثبیت ازت



شکل ۲-٤: ایجاد انتهاهای صاف و چسبنده به‌وسیله برش محدودکننده DNA دورشته‌ای به‌وسیله آنزیم‌های EcoR1 و SmaI. جایگاه‌های برش بر روی DNA دورشته‌ای با علامت پیکان مشخص شده‌اند.

جدول ۲-٤ مثال‌هایی از اندونوکلئازهای محدودکننده به همراه جایگاه شناسایی و محل برشی آنها

آنزیم	ارگانیسم	نقاط شکستگی (برش) ۵′ ۳′
BamHI	*Bacillus amyloliquefaciens* H	G·GATCC
EcoRI	*Escherichia coli* RY 13	G·AATTC
HaeIII	*Haemophilus aegyptius*	GG·CC
HindIII	*Haemophilus influenzae* Rd	A·AGCTT
HpaI	*Haemophilus parainfluenzae*	GTT·AAC
PstI	*Providencia stuartii*	CTGCA·G
SmaI	*Serratia marcescens*	CCC·GGG
SalI	*Streptomyces albus G*	G·TCGAC



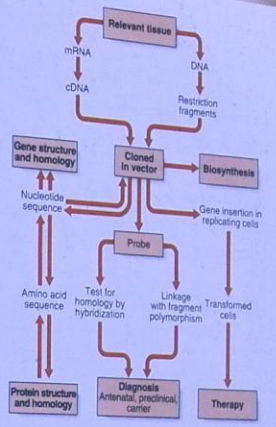
شکل ۳-٤: اشکال مربوط به دو نوع پلاسمید که از همان ابتدا در فن‌آوری DNA نوترکیب مورد استفاده قرار می‌گرفتند و ژن‌های مقاومت به دارو (Ap^r = مقاومت به آمپی‌سیلین؛ Tc^r = مقاومت به تتراسیکلین) و جایگاه‌های برش اندونوکلئازهای محدودکننده که فقط یک بار در DNA مورد نظر تکرار شده و به عنوان جایگاه کلون‌سازی مورد استفاده قرار می‌گیرند، نشان داده شده است.

اساساً پلاسمیدی است که همهٔ عوامل ضروری برای همانندسازی بجز **توالی‌های cos** (cos sequence) آن برداشته شده است، تا وکتور قادر باشد قطعات DNA بزرگتری را در خود جای دهد و باز هم قادر به همانندسازی باشد.

توسعهٔ BACs و YACs، کلون‌سازی قطعات DNA با اندازهٔ ۳۰۰ کیلوباز تا ۱۰۰۰ کیلوباز را امکان‌پذیر ساخت. YACs پلاسمیدهایی هستند که حاوی حداقل توالی‌های ضروری مورد نیاز برای ایجاد سانترومر، تلومر بعلاوه توالی‌های DNA موسوم به **توالی‌های همانندسازی مستقل** (autonomous replication sequences) هستند که همگی آنها برای همانندسازی دقیق این پلاسمید درون مخمر مورد نیاز هستند.

جدول ۱-٤ توسعهٔ فن‌آوری DNA

دهه	پیشرفت	مثالی از کاربردهای آن
۱۹۷۰	نکولوژی DNA نوترکیب، ساترن بلات تعیین توالی به روش سنگر	ارتروپوئتین نوترکیب (۱۹۸۷)، انگشت‌نگاری DNA (۱۹۸۴) و تعیین توالی ژنوم ویروس اپشتین ـ بار (۱۹۸۳)
۱۹۸۰	واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی (PCR)	تشخیص ناهنجاری‌های ژنتیکی
۱۹۹۰	تعیین توالی به روش موئینه (Capillary sequencing) و فن‌آوری Microarray	تعیین توالی نسخه اولیه ژنوم انسان (۲۰۰۱)
۲۰۰۰	Next – generation ‘Clonal’ Sequencing	برای اولین بار، ژنوم مربوط به بیمار مبتلا به (acute AML myeloid leukemia) تعیین توالی شد (۲۰۰۸)



شکل ۱-٤: برخی از کاربردهای فن‌آوری DNA در ژنتیک پزشکی

یک منبع متفاوت DNA که در اثر برش همان آنزیم ایجاد شده‌اند، متصل شوند. در ابتدا دو انتهای چسبنده به‌وسیلهٔ پیوندهای هیدروژنی در کنار هم نگه داشته می‌شوند، سپس به‌وسیلهٔ آنزیمی موسوم به **DNA لیگاز** (DNA Ligase) به صورت کوالان بهم می‌چسبند. اتصال دو قطعه DNA از منابع مختلف، محصولی را تولید می‌کند که به **مولکول DNA نوترکیب** (recombinant DNA molecule) مشهور است.

وکتورها

وکتور (vector) واژه‌ای است که به مولکول DNA حاملی اطلاق می‌شود که در فرآیند کلون‌سازی مورد استفاده قرار گرفته و از طریق همانندسازی مستقل در یک موجود میزبان می‌تواند نسخه‌های متعددی از خودش را تولید کند. قرار گرفتن **DNA هدف** (target DNA) در درون وکتور امکان تولید مقادیر انبوهی از این قطعه DNA را فراهم می‌کند.

برای اینکه وکتورهای طبیعی بتوانند در کلون‌سازی DNA مورد استفاده قرار گیرند، باید طوری دستکاری شوند که تضمین کنند DNA هدف در یک جایگاه خاص وارد شود و وکتور نوترکیب حاوی قطعه DNA مربوطه را نیز بتوان شناسایی کرد. بسیاری از وکتورهای اولیه طوری طراحی شده بودند که ورود DNA هدف به درون یک ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک، باعث از دست رفتن عملکرد این ژن می‌شد (شکل ۳-۴).

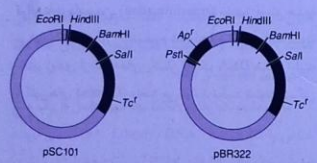
پنج نوع وکتوری که به‌طور فراوان مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل **پلاسمیدها** (Plasmids)، **باکتریوفاژها** (bacteriophages)، **کازمیدها** (cosmids) و **کروموزوم‌های مصنوعی باکتریایی (BAC) و مخمری (YAC)** (bacterial and yeast artificial chromosomes) هستند. انتخاب وکتور مورد نظر برای انجام کلون‌سازی به عوامل متعددی همچون نوع آنزیم محدودکنندهٔ مورد استفاده و اندازهٔ قطعه DNA مورد نظر بستگی دارد. برخی از وکتورهای اولیه همچون پلاسمیدها و باکتریوفاژها از نظر اندازهٔ قطعه DNA ای که می‌تواند در درون آنها قرار داده شود، محدودیت‌های فراوانی داشتند و کتورهای نسل بعد، همچون کازمیدها می‌توانستند قطعاتی در حدود ۵۰ کیلوباز را در خود جای دهند. یک کازمید

کادر ۱-٤ کاربردهای فن‌آوری DNA

- تعیین ساختار / عملکرد / نقشهٔ ژنی
- ژنتیک جمعیت
- ژنتیک بالینی
  - تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (PGD)
  - تشخیص پیش از تولد (PND)
  - تشخیص پیش از بروز علائم
  - تشخیص حاملین
- تشخیص و بررسی آسیب‌شناسی بیماری‌ها
  - بیماری ژنتیکی
  - بیماری‌های اکتسابی – عفونی و سرطان
- یوستز
  - (مثلاً تولید انسولین، هورمون رشد، اینترفرون و پروتئین‌های ایمن‌ساز)
- درمان بیماری‌های ژنتیکی
- ژن‌درمانی
- کشاورزی
  - مثلاً تثبیت ازت

جدول ۲-٤ مثال‌هایی از اندونوکلئازهای محدودکننده به همراه جایگاه شناسایی و محل برشی آنها

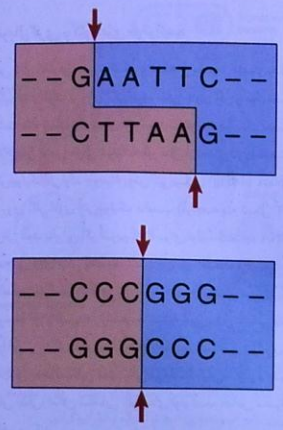
آنزیم	ارگانیسم	نقاط شکستگی (برش)	
		۳´	۵´
BamHI	*Bacillus amyloliquefaciens* H	G	GATCC
EcoRI	*Escherichia coli* RY 13	G	AATTC
HaeIII	*Haemophilus aegyptius*	GG	CC
HindIII	*Haemophilus influenzae* Rd	A	AGCTT
HpaI	*Haemophilus parainfluenzae*	GTT	AAC
PstI	*Providencia stuartii*	CTGCA	G
SmaI	*Serratia marcescens*	CCC	GGG
SalI	*Streptomyces albus* G	G	TCGAC



شکل ۳-٤: اشکال مربوط به دو نوع پلاسمید که از همان ابتدا در فن‌آوری DNA نوترکیب مورد استفاده قرار می‌گرفتند و ژن‌های مقاومت به دارو (Ap^r = مقاومت به آمپی‌سیلین؛ TC^r = مقاومت به تتراسیکلین) و جایگاه‌های برش اندونوکلئازهای محدودکننده که فقط یک بار در DNA مورد نظر تکرار شده و به عنوان جایگاه کلون‌سازی مورد استفاده قرار می‌گیرند، نشان داده شده است.

اساساً پلاسمیدی است که همهٔ عوامل ضروری برای همانندسازی بجز **توالی‌های cos** (cos sequence) آن برداشته شده است، تا وکتور قادر باشد قطعات DNA بزرگتری را در خود جای دهد و باز هم قادر به همانندسازی باشد.

توسعهٔ BACs و YACs، کلون‌سازی قطعات DNA با اندازهٔ ۳۰۰ کیلوباز تا ۱۰۰۰ کیلوباز را امکان‌پذیر ساخت. YACs پلاسمیدهایی هستند که حاوی حداقل توالی‌های ضروری مورد نیاز برای ایجاد سانترومر، تلومر بعلاوه توالی‌های DNA موسوم به **توالی‌های همانندسازی مستقل** (autonomous replication sequences) هستند که همگی آنها برای همانندسازی دقیق این پلاسمید درون مخمر مورد نیاز هستند.



شکل ۲-٤: ایجاد انتهاهای صاف و چسبنده به‌وسیله برش محدودکننده DNA دورشته‌ای به‌وسیله آنزیم‌های EcoR1 و SmaI. جایگاه‌های برش بر روی DNA دورشته‌ای با علامت پیکان مشخص شده‌اند.

جدول ۱-٤ توسعهٔ فن‌آوری DNA

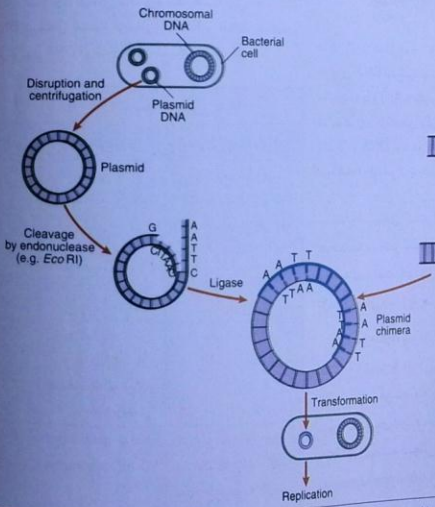
دهه	پیشرفت	مثالی از کاربردهای آن
۱۹۷۰	تکنولوژی DNA نوترکیب، ساترن بلات تعیین توالی به روش سنگر	ارتیروپوئتین نوترکیب (۱۹۸۷)، انگشت‌نگاری DNA (۱۹۸۴) و تعیین توالی ژنوم ویروس اپشتین ـ بار (۱۹۸۴)
۱۹۸۰	واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی (PCR)	تشخیص ناهنجاری‌های ژنتیکی
۱۹۹۰	تعیین توالی به روش موئینه (Capillary sequencing) و فن‌آوری Microarray	تعیین توالی نسخه اولیه ژنوم انسان (۲۰۰۱)
۲۰۰۰	Next – generation "Clonal" Sequencing	برای اولین بار، ژنوم مربوط به بیمار مبتلا به (acute AML myeloid leukemia) تعیین توالی شد (۲۰۰۸)

ترانسفورماسیون میزبان

بعد از وارد کردن قطعه DNA هدف به درون وکتور، حال این وکتور نوترکیب به درون سلول‌های میزبان مخمری و باکتریایی تغییر یافته منتقل می‌شود. غشای سلول باکتریایی به طور طبیعی به چنین قطعات عظیم DNA نفوذناپذیر است. اما این سلول‌ها به‌وسیله انواعی از روش‌های مختلف از جمله تیمار با نمک‌های خاص و یا ولتاژ بالا می‌توانند قابلیت نفوذپذیری بیشتری پیدا کنند، اصطلاحاً گفته می‌شود که این سلول‌ها **صلاحیت‌دار** (Competent) شده‌اند. معمولاً فقط یک مولکول DNA به‌وسیله سلول میزبان طی فرآیندی که به **ترانسفورماسیون** (transformation) مشهور است جذب می‌شود. اگر به سلول ترانسفورم شده اجازه تکثیر داده شود، مقادیر زیادی از نسخه‌های یکسان از یک DNA هدف اولیه یا کلون‌های (Clones) متعدد می توانند تولید شوند (شکل ۴-۴).

غربال‌گری وکتورهای نوترکیب

پس از اینکه سلول‌های ترانسفورم شده در محیط کشت سلولی تکثیر داده شوند، بر روی یک پتری دیش حاوی آگار و مواد مغذی کشت داده شدند. وکتورهای نوترکیب می‌توانند با یک سیستم تشخیصی خاص غربال شوند؛ به‌طور مثال از دست رفتن مقاومت به آنتی‌بیوتیک می‌تواند به‌وسیلهٔ روش کپی‌سازی (replica plating) بر روی آگار حاوی آنتی‌بیوتیک مناسب (مراجعه به شکل ۳-۴) غربال شود. بنابراین اگر آنزیم PstI برای تولید قطعات DNA و همچنین برای برش پلاسمید pBR322 مورد استفاده قرار گیرد، هر پلاسمید نوترکیب باعث می‌شود سلول‌های باکتریایی میزبان که به‌وسیله این پلاسمیدها ترانسفورم شده به آمپی‌سیلین حساس باشد، زیرا این ژن دیگر دارای عملکرد نخواهد بود. اما این باکتری‌ها همچنان به تتراسیکلین مقاوم باقی می‌مانند. کپی‌سازی از پتری دیش اصلی، امکان شناسایی کلون‌های نوترکیب خاص منفرد را فراهم می‌کند.



شکل ٤-٤: تولید پلاسمید نوترکیب با استفاده از EcoRI و ترانسفورماسیون سلول باکتری میزبان به‌وسیلهٔ آن

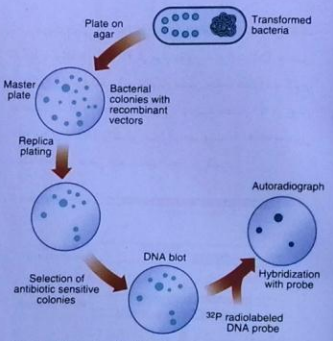
کتابخانه‌های DNA

منابع مختلفی از DNA می‌توانند برای تولید مولکول DNA نوترکیب مورد استفاده قرار گیرد. DNA سلول‌های هسته‌دار **DNA ژنومی** یا **DNA کامل** (total DNA) نامیده می‌شود. DNA حاصله از عمل آنزیم نسخه‌بردار معکوس (reverse transcriptase) بر روی RNA پیک (mRNA)، به نام **DNA مکمل** (complementary DNA) یا cDNA معروف است. در این مورد امکان دارد که بتوان توالی DNA مورد نظر را با به‌کار بردن یک نوع سلول یا بافت خاص به عنوان منبع mRNA غنی‌سازی کرد؛ برای مثال پیش‌ساز گلبول‌های قرمز (رتیکولوسیت) عمدتاً حاوی mRNA گلوبینی هستند که استفاده از آن باعث کلون‌شدن ژن‌های کدکننده زنجیره‌های هموگلوبینی شد.

مجموعهٔ مولکول‌های DNA نوترکیب حاصل از یک منبع خاص را **کتابخانه DNA** (DNA Library) می‌گویند (به‌طور مثال یک کتابخانه cDNA و یا کتابخانهٔ ژنومی). در مورد کتابخانهٔ DNA ژنوم انسان، اگر از پلاسمید برای ایجاد آن استفاده شود، برای اینکه این کتابخانه حاوی کل ژنوم انسان باشد، باید از چند صد هزار وکتور کلون‌سازی استفاده شود. استفاده از YACs به عنوان وکتورهای کلون‌سازی و استفاده از آنزیم‌های محدودکننده که دارای جایگاه‌های برش‌های کم‌تر هستند، بدان معنی است که کل ژنوم انسانی می‌تواند در کتابخانه‌ای شامل ۱۳۰۰۰ تا ۱۴۰۰۰ کلون قرار داده شود.

کلون‌سازی DNA در شرایط خارج از سلول

یکی از بنیادی‌ترین پیشرفت‌ها در فن‌آوری DNA، روشی است که ابتدا در اواسط دهه ۱۹۸۰ ایجاد شد و به‌نام **واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز** (Polymerase chain reaction) یا PCR مشهور است. PCR می‌تواند برای تولید مقادیر انبوهی از یک قطعهٔ DNA مورد نظر به کار گرفته شود، به شرط آنکه توالی DNA آن ناحیه خاص (از ژنوم) از قبل شناخته شده باشد.



شکل ٥-٤: شناسایی کلون‌های DNA نوترکیب دارای یک قطعه درج شده (insert) خاص به‌وسیلهٔ از دست رفتن مقاومت به آنتی‌بیوتیک، هیبریدسازی اسید نوکلئیک و اتورادیوگرافی.

انتخاب یک کلون خاص

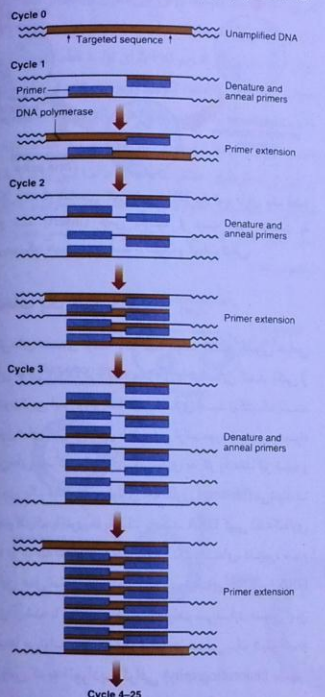
روش‌های متعددی توسعه یافته‌اند تا بتوانند حضور کلونی خاص دارای توالی DNA درج شده ویژه‌ای را شناسایی کنند. یکی از محبوب‌ترین این روش‌ها هیبریدسازی اسید نوکلئیک است. کلون‌های میزبان‌های باکتریایی ترانسفورم شده به همراه کلون‌های نوترکیب که برای کپی‌سازی به کار رفته‌اند، لیز شده و به روی یک فیلتر نیتروسلولزی لکه‌گذاری (blotting) می‌شوند تا اسیدنوکلئیک باکتری‌ها به فیلتر بچسبد. DNA کپی لکه‌گذاری شده در مرحله بعد برای ایجاد DNA تک رشته‌ای، دناتوره شده که این عمل امکان هیبریدسازی با پروب‌های RNA یا DNA نشان‌دار شده با مواد رادیواکتیو را فراهم می‌سازد. سپس این پروب‌ها می‌توانند به‌وسیله قرار گرفتن در معرض یک فیلم اشعه X روشی که به **اتورادیوگرافی** (autoradiography) مشهور است، شناسایی شوند. بدین طریق یک کلونی باکتریایی ترانسفورم شده که حاوی توالی مکمل پروب باشد، می‌تواند شناسایی شود و از روی موقعیتش بر روی کپی، می‌توان کلون اصلی بر روی پلیت اصلی را شناسایی کرده، آن را از روی دیش برداشت و به‌طور جداگانه‌ای کشت داد (شکل ۵-۴).

PCR

اطلاعات مربوط به توالی DNA برای طراحی دو پرایمر اولیگونوکلئوتیدی (موسوم به آمپلیمرها (amplimer)، با طولی حدود ۲۰ جفت باز که مکمل دو توالی احاطه‌کنندهٔ DNA مورد نظر است، مورد استفاده قرار می‌گیرد. اولین مرحله شامل دناتوره کردن (denature) DNA دو رشته‌ای به‌وسیله حرارت است. سپس پرایمرها به توالی DNA مکمل خود بر روی DNA تک‌رشته‌ای الگو متصل می‌شوند. DNA پلی‌مراز به منظور ساختن توالی DNA مکمل، پرایمرهای DNA را در حضور دئوکسی‌نوکلئوتید تری‌فسفات‌ها (dTTP , dGTP, dCTP, dATP) گسترش می‌دهد. دناتوراسیون حرارتی DNAهای دورشته‌ای و متعاقب آن اتصال توالی‌های پرایمری مشابه به DNAهای تک‌رشته‌ای حاصل در مرحلهٔ بعد، منجر به ساخته شدن نسخه‌های بیشتر از DNA مورد نظر می‌شود. انجام ۳۰ تا ۳۵ دور متوالی چرخه PCR منجر به تولید بیش از یک میلیون نسخه (موسوم به amplicon)، DNA هدف می‌شود، که برای مشاهده مستقیم، رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید با مکانیسم فلئورسانس فرانبفش کافی است و نیازی به استفاده از روش‌های غیرمستقیم نیست (شکل ۶-۴).

PCR امکان آنالیز DNA از هر نوع سلول دارای هسته را فراهم می‌آورد؛ علاوه بر خون، امکان نمونه‌گیری با استفاده از روش‌های کمتر تهاجمی همچون لایه‌برداری از سطح دهان (buccal scrapping) و نمونه‌برداری از نمونه‌های پاتولوژیک ذخیره (بایگانی‌شده) نیز وجود دارد. این امکان نیز وجود دارد که با مقادیر DNA بسیار کم در حد یک سلول منفرد مانند آنچه در تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (PGD) انجام می‌شود، کار را آغاز کنیم. در چنین مواردی باید تمام توجه خود را به کار گرفت، زیرا ممکن است DNA از منابع خارجی آلوده‌کننده همچون سلول‌های پوستی کارمند آزمایشگاه نیز به‌طور همزمان تکثیر شود. این حالت می‌تواند منجر به نتایج کاذب منفی شود، مگر اینکه مطالعات شاهد نیز برای ردیابی منبع احتمالی اشتباه نیز مورد استفاده قرار گیرد.

مزیت دیگر PCR، امکان آنالیز نمونه‌ها در یک زمان اندک است. با استفاده از DNA پلی‌مراز مقاوم به حرارت Taq حاصل از باکتری ترموفیلوس اکوآتیکوس ساکن چشمه‌های آب گرم، محصولات PCR به جای چند روز و چند هفته که در روش کلون‌سازی DNA بر مبنای سلول به‌صورت *in vivo* معمول است، فقط در عرض چند ساعت ایجاد می‌شوند.



شکل ۶-۴: تصویری از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی که نشان‌دهنده دناتوراسیون پشت سر هم DNA، اتصال پرایمر (Primer annealing) و همانندسازی همراه با دو برابر شدن تعداد قطعات DNA هدف در هر مرحله است.

بیشتر بدانیم ۱-۴ اسامی بعضی از انواع پرایمرهای به‌کار رفته در روش‌های مختلف PCR

پرایمر	کاربرد (مثال)
Anchor Primer	پرایمری که به یک توالی شناخته شده متصل می‌شود. زمانی به کار می‌رود که پرایمر دیگر به توالی‌ای ناشناخته یا متغیر متصل شود (روش Anchored- PCR)
Arbitrary sequence Primer	پرایمری با توالی تصادفی یا غیرویژه که در انواع خاصی از روش‌های تهیه ژنوتایپ به‌کار می‌روند. برخی از این پرایمرها به توالی‌های مناسب «best-fit» در DNA ژنومی متصل شده و امکان تکثیر را فراهم می‌کند (روش AP-PCR)
Broad- range Primer	پرایمری که برای تکثیر هر توالی‌ای از DNA در طیف وسیعی از گونه‌های مختلف به کار می‌رود. همهٔ گونه‌ها دارای یک توالی هدف مشترک می‌باشند برای مثال برای تشخیص حضور هر نوع گونهٔ باکتریائی می‌توان ناحیه حفظ شده‌ای از ژن 16s rRNA باکتری‌ها را تکثیر نمود.
Bumper Primer	پرایمری که طویل‌سازی آن برای جداسازی رشته‌ای که در پائین دست همان الگو قرار دارد، به‌کار می‌رود. (روش Strand displacement , SDA)
Competimer	یک پرایمر غیرقابل گسترش که در انواع خاصی از PCR کمّی کاربرد دارد.
Degenerate Primer	یک مجموعه‌ای از پرایمرها که جایگاه اتصال آنها پیش‌بینی شده است مثلاً براساس توالی اسیدآمینه‌ها در یک پلی‌پپتید (در روش DOP-PCR)
Forward Primer	پرایمری که به یک رشتهٔ غیرکدکننده متصل شده و در صورتی که گسترش یابد رشته کدکننده را تکثیر می‌دهد (همانندسازی می‌کند).
Inner Primer	یکی از جفت پرایمرهائی که در فاز دوم Nested PCR به کار می‌رود. این پرایمر به ناحیه‌ای تحت انتهائی در آمپلیکان اولیه متصل می‌شود.
Outer Primer	یکی از جفت پرایمرهای به کار رفته در اولین فاز Nested PCR
PCR Primer	یکی از هر پرایمری که در PCR مورد استفاده قرار می‌گیرد. گاهی به پرایمرهای PCR آمپلی‌مر (Amplimer) نیز می‌گویند.
Reverse Primer	پرایمری که به رشته کدکننده متصل می‌شود و در صورت گسترش یافتن رشته غیرکدکننده را همانندسازی می‌کند.
Self- reporting Primer	یک پرایمر PCR حامل یک فلئوفور خاموش‌شده که طی تشکیل آمپلیکان‌های دورشته‌ای فعال می‌شود.
Tm – shift Primer	هر نوع پرایمری که در تشکیل محصولات DNA دو رشته‌ای (ds DNA) دخیل بوده و براساس ویژگی‌های منحنی ذوب آنها قابل شناسائی باشند.
Universal Primer	یک پرایمر با طیف اتصال وسیع یا به طور کلی هر پرایمری که به یک توالی مشترک در گسترهٔ زیادی از مولکول‌های مختلف متصل شود.

منابع:

Singleton P., (2010) Dictionary of DNA Genome Technology, 2th edition, wiley-Blackwell

دستگاه Real time PCR این زمان را به کمتر از ۱ ساعت کاهش داده و فن‌آوری فلئورسانس که برای پایش (monitor) محصول PCR در هر دور به کار می‌رود، نیاز به الکتروفورز بر روی ژل را برطرف کرده است.

اما در عوض کلون‌سازی DNA با PCR نسبت به روش کلون‌سازی بر مبنای سلول به صورت *in vivo* معایب خاص خود را دارد، از جمله اینکه نیاز داریم از توالی نوکلئوتیدی قطعه DNA مورد نظر اطلاع داشته باشیم و به‌طور بهینه برای تکثیر

قطعات DNA بیش از یک کیلو باز مناسب است، اگرچه با روش long-range PCR امکان تکثیر قطعات بزرگتر DNA تا حد بیشتر از ۲۰ تا ۳۰ کیلوباز نیز وجود دارد.

روش‌های آنالیز DNA

بسیاری از روش‌های آنالیز DNA شامل استفاده از یک پروب اسید نوکلئیک و فرآیند هیبریدسازی اسید نوکلئیکی است.

پروب‌های اسید نوکلئیک

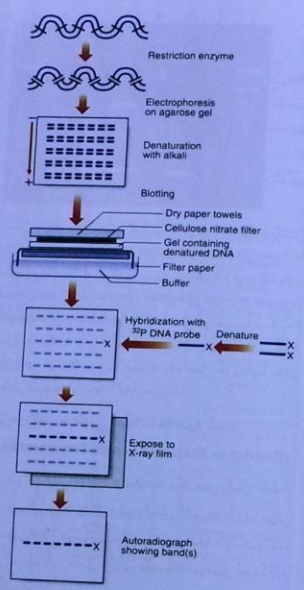
پروب‌های اسید نوکلئیک معمولاً توالی‌های DNA تک‌رشته‌ای هستند که به صورت رادیواکتیو و غیررادیواکتیو نشان‌دار شده‌اند و می‌توانند برای تشخیص قطعات RNA یا DNA با توالی مشابه به کار گرفته شوند. این پروب DNA می‌تواند از منابع مختلفی از جمله توالی‌های DNA ژنومی تصادفی، ژن‌های خاص، توالی‌های cDNA و توالی‌های اولیگونوکلئوتیدی DNA که به صورت مصنوعی بر مبنای دانش توالی آمینواسیدی پروتئین‌ها طراحی شده‌اند، تهیه شود. یک پروب DNA می‌تواند توسط انواعی از فرآیندها از جمله نشان‌دار کردن ایزوتوپی با ^{32}P و روش‌های غیر ایزوتوپی با استفاده از نوکلئوتیدهای تغییر شکل یافته حاوی فلوروفورها (مثل فلورسین یا رودامین) نشان‌دار شود. هیبریدسازی پروب DNA نشان‌دار شده توسط مواد رادیواکتیو با توالی cDNA موجود به روی کاغذ (فیلتر) نیتروسلولزی می‌توانند با روش اتورادیوگرافی تشخیص داده شود، در حالی که قطعات DNA نشان‌دار شده به‌صورت فلئورسنت با قرار گرفتن در معرض طول موج نوری مناسب همانند آنچه که در هیبریدسازی فلئورسنت در جا (fluorescent In suit hybridization) دیده می‌شود، می‌توانند تشخیص داده شوند.

هیبریدسازی اسید نوکلئیک

هیبریدسازی اسید نوکلئیک (Nucleic acid hybridization) شامل مخلوط‌کردن DNA از دو منبع مختلف (در شرایطی که این دو DNA از قبل به‌وسیله حرارت یا قلیا دناتوره شده و DNA تک‌رشته‌ای ایجاد کرده‌اند) و سپس تحت شرایط مناسب امکان جفت‌شدن بازهای مکمل در توالی‌های همولوگ فراهم می‌شود. اگر یکی از منابع DNA به طریقی نشان‌دار شود (منظور DNA پروب است)، این DNA می‌تواند امکان شناسایی توالی‌های اختصاصی DNA را در منبع دیگر فراهم آورد. دو روش عمده هیبریدسازی اسید نوکلئیک که به فراوانی مورد استفاده قرار می‌گیرند ساترن بلات (Southern blotting) و نورترن بلات (northern blotting) است.

ساترن بلات

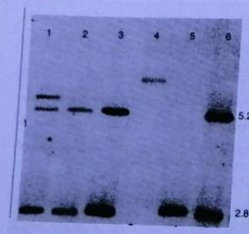
ساترن بلات برگرفته از نام ابداع‌کننده آن، ادوین ساترن (Edwin southern)، روشی است که شامل هضم DNA به‌وسیلهٔ یک آنزیم محدود کننده و سپس الکتروفورز قطعات حاصل از هضم DNA بر روی ژل آگارز است. الکتروفورز باعث جدا کردن DNAها یا قطعات محدود شده (restriction fragments) به علت تفاوت در اندازه قطعات می‌شود، به‌طوری که قطعات DNA کوچکتر، سریع‌تر از قطعات بزرگتر بر روی ژل جابه‌جا می‌شوند. در مرحله بعد قطعات DNA به‌وسیله قلیا دناتوره شده و تبدیل به DNA تک‌رشته‌ای می‌شوند. با انتقال قطعات تک‌رشته‌ای از ژل به فیلتر نیتروسلولز و اتصال این قطعه به فیلتر، یک نسخه دائمی از قطعات بر روی کاغذ ایجاد می‌شود که به این روش اصطلاحاً **ساترن بلات** (Southern blot) می‌گویند. در ساترن بلات با افزودن یک پروب DNA تک‌رشته‌ای نشان‌دار رادیواکتیو دارای ^{32}p که قادر به هیبرید شدن با قطعه DNA مکمل خود بر روی فیلتر است می‌توان قطعه DNA مورد نظر را در بین مجموعه‌ای از قطعات DNA موجود بر روی فیلتر تشخیص داد. برای مشاهده باید از اتورادیوگرافی استفاده کرد (شکل ۷-۴). روش‌های ساترن بلات غیر رادیواکتیو نیز با استفاده از پروب‌های DNA نشان‌دار شده با digoxigenin ابداع شده‌اند که در این مورد تشخیص پروب‌ها با روش شیمی لومینسانس انجام می‌پذیرد. این روش از لحاظ ایمنی مطمئن‌تر بوده و نتایج حاصله با سرعت بیشتری ایجاد می‌شوند. یک مثال از کاربرد ساترن بلات در آزمایش تشخیصی بیماران مبتلا به سندرم X شکننده می‌باشد که در شکل ۸-۴ نشان داده شده است.



شکل ۷-۴: شکلی از روش ساترن بلات که نشان‌دهنده جداسازی قطعات DNA توسط الکتروفورز ژل، به دلیل تفاوت در اندازه قطعات است. دناتوراسیون DNA دورشته‌ای باعث تک‌رشته‌ای شدن آن می‌شود و انتقال آن به کاغذ نیتروسلولز امکان هیبرید شدن این DNAهای تک‌رشته‌ای با یک پروب نشان‌دار شده با ^{32}P رادیواکتیو را فراهم می‌کند.

نورترن بلات

نورترن بلات (Northern blotting) از این لحاظ که در آن از mRNA به عنوان اسید نوکلئیک هدف در یک سری مراحل مشابه استفاده می‌شود، با ساترن بلات تفاوت دارد؛ mRNA به دلیل وجود ریبوتوکلئازهای درون سلولی بسیار ناپایدار است. استفاده از مهارکننده‌های ریبونوکلئازی امکان جداسازی mRNA را فراهم کرده و اگر این mRNA بر روی ژل



شکل ۸-۴: ساترن بلات برای تشخیص متیلاسیون پروموتور FMR1 در بیماران مبتلا به X شکننده. DNA با EcoR1 و آنزیم حساس به متیلاسیون BstZI هضم شده و با پروب Ox1.9 که با جزایر CpG درون پروموتور FMR1 هیبرید می‌شود ردیابی می‌شود. بیمار ۱ خانمی با گسترش ناحیهٔ متیله شده و نمونه‌های ۲ و ۳ و ۶ خانم‌های سالم هستند، بیمار ۴ مردی مبتلا و نمونه ۵ یک مرد سالم است.

الکتروفورز شود، می‌توان آن را در مرحله بعد به کاغذ نیتروسلولزی منتقل کرد. هیبریدسازی mRNA منتقل شده به روی کاغذ با پروب DNA امکان تخمین اندازه و مقدار رونوشت mRNA را فراهم می‌کند؛ به این روش اصطلاحاً **نورترن بلات** (Northern blot) می‌گویند. با ظهور real - time reverse-transcriptase PCR و فن‌آوری ریزآرایه (Microarray) دیگر از نورترن بلات کمتر استفاده می‌شود.

ریزآرایهٔ DNA

ریزآرایهٔ DNA (DNA microarray) که بر پایهٔ اصول مشابه‌ای از هیبریدسازی، اما در یک مقیاس بسیار کوچک ایجاد شده است، امکان آنالیز همزمان میلیون‌ها هدف مورد نظر را ایجاد می‌کند. اولیگونوکلئوتیدهای نشان‌دار شده فلئورسنت کوتاه به یک اسلاید شیشه‌ای میکروسکوپی متصل شده و می‌توان آنها را برای تشخیص هیبریدسازی DNA هدف، تحت شرایط مناسب به کار گرفت. سپس الگوی رنگ‌بندی ریزآرایه به‌طور خودکار توسط رایانه تجزیه و تحلیل می‌شود.

چهار نوع از کاربردهای ریزآرایه‌ها را می‌توان ذکر کرد: (۱)

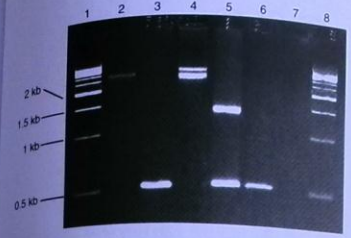
مطالعهٔ بیان ژن برای مشاهدهٔ بیان افتراقی هزاران ژن در سطح mRNA؛ (۲) آنالیز واریانت‌های DNA برای تشخیص جهش و تعیین نوع پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (SNP)؛ (۳) آزمایش تعیین حذف و اضافه‌شدن ژنومی به‌وسیله آرایه هیبریدسازی ژنومی مقایسه‌ای (array comparative genomic hybridization)؛ (۴) ترکیبی از دو مورد آخر، موسوم به SNP-CGH که امکان تشخیص ناهنجاری‌های ژنتیکی خنثی از نظر تغییر در تعداد نسخه (Copy-neutral genetic anomalies) همچون دیزومی تک‌والدی را فراهم می‌آورد.

تشخیص جهش

روش انتخابی برای تشخیص جهش بستگی به این دارد که آیا هدف تشخیص یک تغییر توالی شناخته شده است و یا روش مورد نظر برای شناسایی حضور هر نوع جهشی درون یک ژن خاص به کار می‌رود. تعدادی از روش‌ها وجود دارند که می‌توانند برای غربال‌گری جهش به کار گرفته شوند، این روش‌ها در آسانی انجام روش و قابلیت اتکا با هم متفاوت هستند. انتخاب روش انجام کار، به عوامل متعددی همچون حساسیت مورد نظر، هزینه، تجهیزات و اندازه و ساختار (شامل تعداد پلی‌مورفیسم‌های) ژن مورد نظر بستگی دارد (جدول ۳-۴). شناسایی یک واریانت توالی محتمل به‌وسیله یکی از روش‌های غربال‌گری جهش‌ها، نیاز به تأیید با روش تعیین توالی DNA (DNA Sequencing) دارد. برخی از رایج‌ترین روش‌های امروزی در ادامه توضیح داده شده‌اند.

آنالیز اندازه محصولات PCR

گاهی اوقات جهش‌های حذف و اضافه‌شدن را می‌توان به سادگی به‌وسیلهٔ تعیین اندازه محصول PCR تشخیص داد. به طور مثال، رایج‌ترین جهشی که سبب فیبروز کیستی می‌شود p.Phe508del یک حذف ۳ جفت بازی است که می‌توان آن را به‌وسیله الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریلامید مشخص کرد. برخی از جهش‌های افزایش تکرارهای سه‌نوکلئوتیدی نیز می‌توانند با روش PCR تکثیر شوند (شکل ۹-۴).



شکل ۹-۴: تکثیر جهش گسترش تکرار GAA به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای تشخیص آتاکسی فردریش. محصول با ایتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شده و بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شده‌اند. ردیف ۱ و ۸ مارکرهای استانداردهای اندازه ۵۰۰ جفت بازی (500 bp ladder size standard) را نشان می‌دهند. ردیف ۴ و ۲ بیماران هموزیگوت دارای گسترش تکرارها را نشان می‌دهند. ردیف ۳ و ۶ کنترل‌های غیرمبتلا بوده و ردیف ۵ یک حامل هتروزیگوت دارای گسترش تکرار بوده و ردیف ۷ کنترل منفی است.

پلی‌مورفیسم طولی قطعات محدود شده (Restriction Fragment Length Polymorphism)

اگر یک جایگزینی بازی باعث ایجاد یا از بین رفتن جایگاه شناسایی آنزیم محدودکننده شود، امکان آنالیز جهش با برش محصول PCR به‌وسیله یک آنزیم محدودکننده مناسب و جدا کردن محصولات حاصل از برش توسط الکتروفورز وجود دارد (شکل ۱۰-۴).

Amplification – Refractory Mutation System (ARMS) PCR

این PCR اختصاصی آلل، از پرایمرهای اختصاصی توالی‌های جهش یافته و طبیعی استفاده می‌کند. در رایج‌ترین شیوهٔ طراحی از دو لولهٔ آزمایش استفاده می‌شود که در هر لولهٔ پرایمرهای مربوط به توالی نرمال و توالی جهش یافته به طور جداگانه استفاده می‌شوند. همچنین در هر لوله از پرایمرهای شاهد (کنترل) نیز استفاده می‌شود تا اطمینان حاصل شود که واکنش PCR به درستی انجام گرفته است. مثالی از multiplex ARMS assay برای تشخیص ۱۲ نوع جهش مختلف فیبروز کیستی در شکل ۱۱-۴ نشان داده شده است.

جدول ۳-۴ روش‌های تشخیص جهش

روش	جهش‌های شناخته / ناشناخته	مثال	مزیت‌ها/ معایب
ساترن بلات	شناخته شده (یا بازآرایی ناشناخته)	گسترش سه‌نوکلئوتیدی در دیستروفی میوتونی و سندرم شکننده X	طاقت‌فرسا
تعیین اندازه محصول PCR	شناخته شده	جهش p.Phe508del ، گسترش سه‌نوکلئوتیدی در ژن‌های HD و SCA	ارزان، ساده
ARMS-PCR	شناخته شده	جهش‌های CFTR	انجام Multiplex PCR امکان‌پذیر است
Oligonucleotide ligation	شناخته شده	جهش‌های CFTR	انجام Multiplex PCR امکان‌پذیر است
Real – time PCR	شناخته شده	فاکتور V لیدن	تجهیزات گران‌قیمت
Conformation Sensitive Capillary electrophoresis	ناشناخته	هر ژنی	یک روش با امکان انجام واکنش‌های موازی و پربازده (high-throughput) که می‌تواند از پایهٔ تعیین توالی‌کنندهٔ موئینه (capillary sequencer-platform) بهره برد.
High- resolution melt	ناشناخته	هر ژنی	امکان انجام واکنش‌های متعدد موازی، حساسیت بسیار بالا
تعیین توالی به روش سنگر	شناخته یا ناشناخته	هر ژنی	استاندارد طلایی (Gold Standard) است.
Pyrosequencing	شناخته یا ناشناخته	هر ژنی	تجهیزات گران‌قیمت
ریز آرایهٔ DNA	شناخته یا ناشناخته	هر ژنی	امکان انجام واکنش‌های متعدد موازی، تجهیزات گرانقیمت، حساسیت آن به تشخیص برخی از جهش‌ها محدود است
Next-generation Clonal sequencing	شناخته یا ناشناخته	هر ژنی	تجهیزات گران‌قیمت، ظرفیت بسیار زیاد اما اطلاعات خام انبوهی ایجاد شده و تفسیر واریانت‌های جدید می‌تواند مشکل باشد.

شکل ۱۰-۴: تشخیص جهش C282Y مربوط به ژن HFE به‌وسیله روش پلی‌مورفیسم طولی قطعات محدود شده (Restriction fragment length polymorphism = RFLP). محصول PCR طبیعی با طول 387bp با آنزیم RsaI هضم شده و محصولات 247bp و 140bp ایجاد می‌کند. جهش C282Y ایجاد یک جایگاه برش اضافی برای RsaI می‌کند که باعث تولید قطعات 247، 111 و 29 جفت بازی می‌شود. ستون ۱ مارکرهای استاندارد با اندازه ۱۰۰ جفت بازی را نشان می‌دهد. ستون ۲ تا ۴ به ترتیب بیمار هموزیگوت و فرد هتروزیگوت سالم در مورد جهش C282Y را نشان می‌دهند. ستون ۵ کنترل منفی است.

سنجش اتصال اولیگونوکلئوتیدی (Oligonucleotide Ligation Assay)

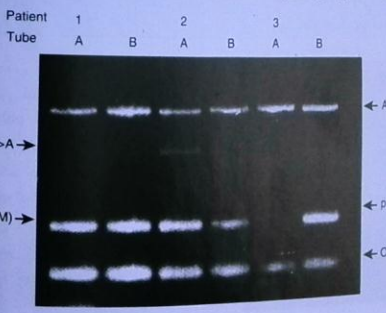
یک جفت اولیگونوکلئوتید طوری طراحی می‌شوند که بتوانند به توالی‌های مجاور هم بر روی محصول PCR متصل شوند. اگر این جفت توالی به‌طور کامل با الگوی خود هیبرید شوند، می‌توانند به‌وسیلهٔ DNA لیگاز نیز به هم متصل گردند. اولیگونوکلئوتیدهای مکمل توالی نرمال و جهش یافته که به‌طور متمایز از هم نشان‌دار شده‌اند، می‌توانند توسط نرم‌افزار رایانه‌ای شناسایی شوند (شکل ۱۲-۴).

Real – Time PCR

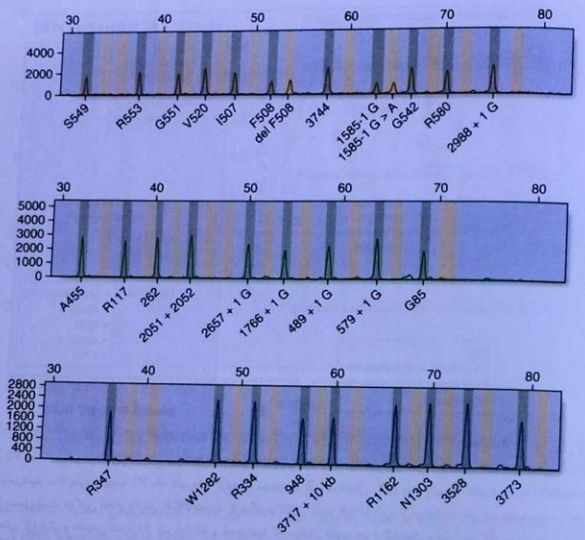
انواع مختلفی از سخت‌افزارها در مورد real time PCR وجود دارد و نسخه‌های «**سریع**» این سخت‌افزارها یک واکنش PCR را در مدت کمتر از ۳۰ دقیقه انجام می‌دهند. Taq Man™ و LightCycler™ از تکنولوژی فلئورسانس برای تشخیص جهش‌ها با مکانیسم تمایز آللی (allelic discrimination) محصولات PCR بهره می‌برند. شکل ۱۳-۴ تشخیص جهش فاکتور V لیدن را با روش TaqMan™ نشان می‌دهد.

DNA Microarrays (DNA 'Chips')

ریزآرایه‌های DNA (DNA Microarrays) نویدبخش روشی سریع برای تشخیص جهش هستند. برای ساختن آنها ابتدا توالی‌های اولیگونوکلئوتیدهای ۲۰ تا ۲۵ جفت بازی به‌طور سفارشی برای توالی‌های DNA نرمال و تغییرات جایگزینی بازی تک‌نوکلئوتیدی شناخته شده و / یا محتمل مربوط به یک ژن، ساخته می‌شوند. سپس این توالی‌ها به یک شیوه منظم به یک آرایه (Chip) متصل می‌شوند و به همین دلیل به آن **ریزآرایه** (Microarray) گفته می‌شود. نمونهٔ DNA که در آن به دنبال جهش هستیم، به‌وسیلهٔ PCR تکثیر داده می‌شود، به‌طور فلئورسنت نشان‌دار شده و با اولیگونوکلئوتیدهای موجود بر روی ریزآرایه هیبرید می‌شود (شکل ۱۴-۴). تجزیه و تحلیل رایانه‌ای الگوی رنگ ریزآرایه ایجاد شده بعد از هیبریدسازی، امکان تشخیص جهش به‌طور خودکار را فراهم می‌کند. آرایه‌های DNA مختص ژنی ممکن است در آینده تحولی عظیم در سرعت و قابلیت اتکای تشخیص جهش ایجاد کنند، به‌طوری که تکنولوژی فراهم شده مقرون به صرفه بوده و دارای قدرت زیادی باشد. تشخیص جهش‌های جایگزینی بازی و SNPs با این روش بسیار موفقیت‌آمیز بوده، اما موفقیت در غربال‌گری جهش‌های درجی (insertion) کمتر بوده است.



شکل ۱۱-۴: تشخیص جهش‌های CFTR به‌وسیله روش amplification – refractory mutation system (ARMS)-Polymerase Chain reaction (PCR) . بیمار شماره ۱ برای جهش ΔF508 (p.Phe508del) هتروزیگوت است. بیمار شماره ۲ در مورد جهش‌های p.Phe508del و c.1717-1G>A هتروزیگوت مرکب است. فرد شماره ۳ در مورد ۱۲ نوع جهش مورد بررسی، هموزیگوت سالم است. دو جفت پرایمر شاهد (کنترل) داخلی (ApoB و ODC) در هر لولهٔ افزوده شده است. (شکل پایین)



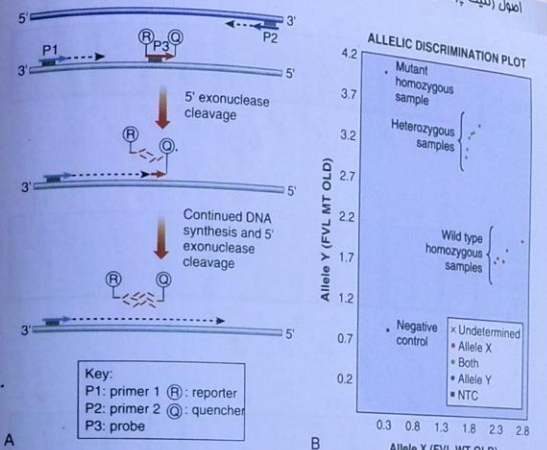
شکل ۱۲-۴: تشخیص جهش‌های CFTR با استفاده از سنجش اتصال اولیگونوکلئوتیدی. با روش Multiplex PCR پانزده اگزون ژن CFTR تکثیر می‌یابد. اولیگونوکلئوتیدها طوری طراحی شده‌اند که وقتی به محصولات PCR متصل (هیبرید) می‌شوند، خود این اولیگونوکلئوتیدها نیز می‌توانند به‌وسیلهٔ فرآیند اتصال (ligation) به هم متصل شوند. ۳۲ نوع جهش با استفاده از ترکیبی از برچسب‌های (نشانه‌های) متفاوت از لحاظ اندازه و رنگ‌های فلئورسنت، می‌توانند از هم تمایز داده شوند. این بیمار یک هتروزیگوت مرکب برای جهش‌های (p.Phe508del) ΔF508 و c.1585-1 G>A می‌باشد.

الکتروفورز موئینه حساس به کنفورماسیون

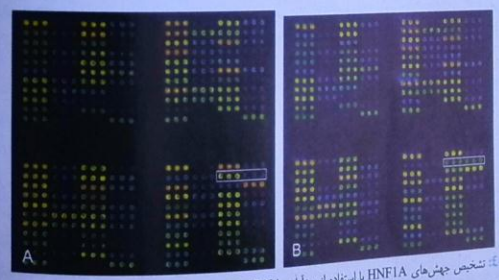
الکتروفورز موئینه حساس به کنفورماسیون (Conformation – Sensitive Capillary Electrophoresis) با بهره‌بردن از فن‌آوری فلئورسانس حضور هتروودوبلکس‌ها (heteroduplexes) را تشخیص می‌دهد. محصولات PCR را می‌توان با استفاده از رنگ‌های فلئورسنت متعدد از هم تمایز داد. تغییر در توالی DNA می‌تواند منجر به تغییر کنفورماسیون شود و با توجه به اینکه هر کنفورماسیون می‌تواند باعث تغییر الگوی حرکت الکتروفورزی شود، بدین طریق می‌توان از آن برای شناسایی پلیمر مناسب بهره گرفت.

آنالیز منحنی ذوب با حد تفکیک بالا

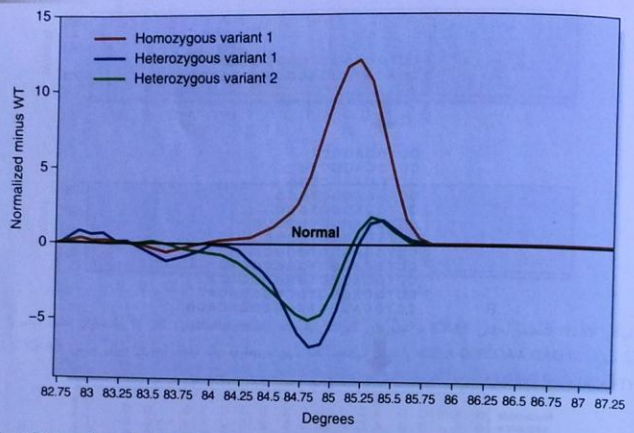
آنالیز منحنی ذوب با حد تفکیک بالا – (High Resolution Melt Curve Analysis) دسته‌ای از رنگ‌های فلئورسنت را به کار می‌گیرد که این رنگ‌ها می‌توانند به داخل DNA دو رشته‌ای وارد (اینترکاله) شوند. رنگ اینترکاله را وارد واکنش PCR می‌کنند و محصولات PCR دو رشته‌ای را حرارت می‌دهند تا دو رشته از هم تفکیک شوند. همانطور که دو رشته DNA از هم تفکیک می‌شوند، سطح فلئورسانس کاهش یافته و این پروفایل ذوب (melting profile) به اندازهٔ محصول PCR و توالی آن بستگی دارد (شکل ۱۵-۴).



شکل ۱۳-٤: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی Real time برای تشخیص جهش فاکتور V لیدن . A) روش TaqMan™. در این روش از دو پرایمر P1 و P2 که مکمل دو طرف توالی جهش مورد نظر هستند و یک پروب P3 که با دو فلئوروفور نشان‌دار شده و اختصاصی جهش مورد نظر است، استفاده می‌شود. به انتهای ۵ پروب P3 یک فلئوروفور گزارشگر موسوم به R و به انتهای ۳ آن یک فلئوروفور خاموش‌کننده (quencher) موسوم به Q متصل است. در حین انجام واکنش PCR فعالیت ۵ ـ اگزونوکلئازی آنزیم DNA پلی‌مراز می‌تواند به طور پیشرونده پروب را تجزیه کرده و رنگ‌های گزارشگر و خاموش‌کننده را از هم جدا کند و باعث شود که سیگنال فلئورسنت از گزارشگر ساطع شود. B) نمودار تعیین ژنوتیپ با روش TaqMan™، هر نمونه با دو پروب بررسی شده است که یکی برای آلل جهش یافته و دیگری برای آلل طبیعی اختصاصی می‌باشد. قدرت فلئورسانس مربوط به دو پروب بر روی نمودار ترسیم شده است (آلل طبیعی بر روی محور X و آلل جهش یافته بر روی محور Y)، هر نمونه با یک نقطه نشان داده شده است. نمونه‌ها براساس ژنوتیپ به سه دسته تقسیم‌بندی شده‌اند، هموزیگوت سالم، هموزیگوت جهش یافته و هتروزیگوت.



شکل ۱٤-٤: تشخیص جهش‌های HNF1A با استفاده از ریزآرایه DNA . یک «HNF1A chip» حاوی پروب‌های طبیعی و جهش یافته برای ۷۵ نوع جهش مختلف این ژن می‌باشد که به‌صورت سه بار تکرار (Triplicate) بر روی آرایه قرار داده شده‌اند. DNA بیمار به صورت multiplex PCR تکثیر داده می‌شود تا محصولات نشان‌دار شده به‌صورت فلئورسنت ایجاد کند که در مرحله بعد بر روی آرایه هیبرید می‌شوند A) نمونه کنترل B) نمونه فردی هتروزیگوت برای جهش HNF1A.



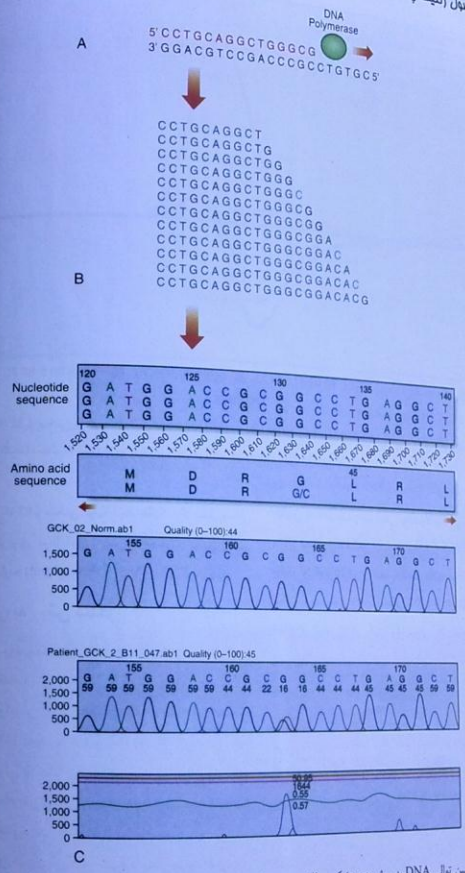
شکل ۱۵-٤: آنالیز منحنی ذوب با حد تفکیک بالا (HRM) . پروفایل ذوب مربوط برای نمونه‌های جهش یافته و سالم پس از استانداردسازی (normalization) نسبت به نمونه‌های شاهد را نشان می‌دهد. هر واریانت دارای یک پروفایل ذوب متفاوت است.

به نظر می‌رسد که آنالیز منحنی ذوب با حد تفکیک بالا بسیار حساس بوده و می‌تواند برای غربال‌گری جهش‌ها به‌صورت چندین واکنش موازی هم و پربازده (high – throughput) به کار گرفته شود.

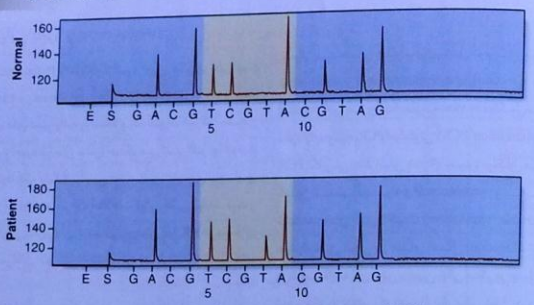
تعیین توالی به روش سنگر

استانداردترین روش (gold standard method) غربال‌گری جهش‌ها، استفاده از تعیین توالی DNA بر مبنای روش خاتمه زنجیرهٔ دی‌دئوکسی (dedeoxy chain termination) است که در دههٔ ۱۹۷۰ به‌وسیلهٔ فرد سنگر (Fred Sanger) ابداع شد. در این روش در ابتدا از نشان‌دار کردن رادیواکتیو و تفسیر اطلاعات خام غیرخودکار استفاده می‌شد. استفاده از برچسب‌های فلئورسنت که می‌توانست به وسیلهٔ سیستم‌های خودکار لیزری تشخیص داده شود باعث بهبود کاربردی، افزایش بازده و دقت آن شد. امروزه توالی‌یابی کننده‌های موئینه (Capillary Sequencers) می‌توانند حدود 1Mb (یک میلیون جفت باز) را در هر روز تعیین توالی کنند.

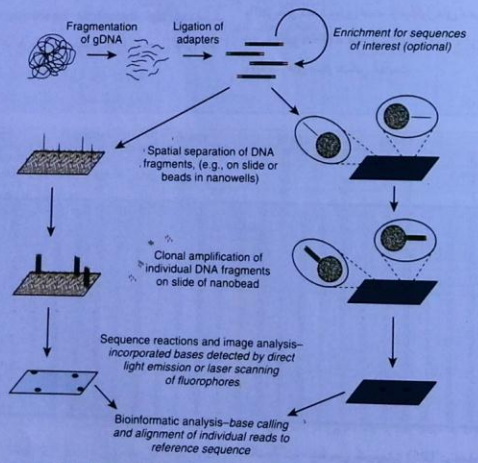
تعیین توالی به روش دی دئوکسی شامل استفاده از یک الگوی DNA تک رشته (یعنی محصولات دناتوره شدهٔ PCR) به منظور سنتز رشته مکمل جدید با استفاده از DNA پلی‌مراز و یک پرایمر اولیگونوکلئوتیدی مناسب است. علاوه بر ۴ نوع دئوکسی نوکلئوتید معمولی، بخش کوچکی از ۴ نوع دی‌دئوکسی نوکلئوتید اضافه می‌شوند که هر یک با یک نوع رنگ فلئورسنت مختلف نشان‌دار شده است. دی دئوکسی نوکلئوتیدها فاقد گروه هیدروکسیل در کربن ۳ خود هستند؛ این حالت مانع ایجاد پیوند فسفودی‌استریس از قرار گرفتن نوکلئوتید دی دئوکسی در زنجیره می‌شود. این حالت باعث تولید قطعات DNA با طول‌های متفاوت می‌شود که هر یک در شرایطی سنتزشان خاتمه پیدا کرده است که یک نوکلئوتید دئوکسی در انتها قرار گرفته و خاتمه زنجیره رخ داده است. وقتی که محصولات واکنش به‌وسیله الکتروفورز از هم تفکیک می‌شوند، ردیفی از توالی‌های DNA با طول‌های مختلف ایجاد می‌شوند. توالی DNA مکمل هر الگو تک‌رشته‌ای، به‌وسیلهٔ نرم‌افزار کامپیوتری ثبت شده و با استفاده از بسته نرم‌افزاری مناسب می‌توان موقعیت یک جهش را در آن مشخص کرد (شکل ۱۶-۴).



شکل ۱۶ـ٤: تعیین توالی DNA به روش دی دئوکسی فلئورسنت. پرایمر مختص تعیین توالی (که به رنگ قرمز نشان داده شده است) به الگو متصل شده و سنتز یک رشته مکمل DNA را در جهت نشان داده شده آغاز می‌کند A، واکنش توالی‌یابی شامل ۴ نوع dNTPs و ۴ نوع ddNTPs است که هر یک با رنگ فلوروسنت خاصی نشان‌دار شده‌اند. رقابت بین dNTPs و ddNTPs منجر به تولید مجموعه‌ای از قطعات می‌شود B. که در مرحلهٔ بعد با الکتروفورز جدا شده تا یک الکتروفروگرام (electropherogram) ایجاد شود. C، جهش هتروزیگوت p.Gly44Cys (GGC>TGC; glycine > Cysteine) توسط نرم‌افزار تشخیص داده می‌شود.



شکل ۱۷ـ٤: تشخیص جهش KRAS در تومورهای کلورکتال به‌وسیله pyrosequencing . کادر بالا یک توالی شاهد سالم را که به صورت A GGT CAA GAG G است را نشان می‌دهد. کادر پایین مربوط به یک نمونهٔ توموری دارای جهش KRAS از نوع p.Gln6l leu(c.182A>T) است.



شکل ۱۸ـ٤: Next-generation 'clonal' sequencing . ابتدا DNA قطعه قطعه شده و قبل از تکثیر به‌صورت کلونال بر روی یک گوی (bead) یا اسلاید شیشه‌ای، تطبیق‌دهنده‌ها (adaptors) به آنها متصل می‌شوند. تعیین توالی به‌صورت درجا (in situ) انجام می‌شود و بازهای وارد شده با ساطع‌کردن مستقیم نور یا به‌وسیله اسکن فلئوروفورها تشخیص داده می‌شوند. آنالیز اطلاعات خام شامل ردیف‌کردن بازها (base alignment) و مقایسه آن با یک توالی مرجع برای شناسایی جهش‌ها و یا پلی‌مورفیسم‌ها است.

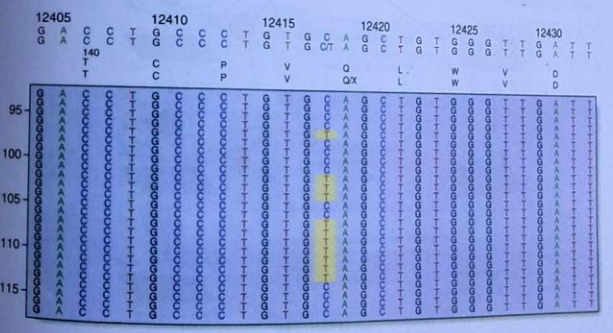
توالی‌یابی پایرو (Pyrosequencing)

Pyrosequencing یا استفاده از شیوه تعیین توالی در حین سنتز (sequencing by synthesis approach) در هر بار نوکلئوتیدهای تغییر یافته را اضافه و (در صورت شرکت نکردن در داخل زنجیره در حال سنتز) حذف می‌کند. اگر نوکلئوتید اضافه شود، یک سیگنال شیمی لومینسانس تولید می‌شود. این فن‌آوری می‌تواند به سرعت اطلاعات توالی کمّی تولید کند و یک مثال از کاربرد آن شناسایی جهش KRAS در بیماران مبتلا به سرطان کلورکتال است که در شکل ۱۷-۴ نشان داده شده است.

توالی‌یابی «کلونال» نسل آینده

نیاز به تعیین توالی با هزینه پایین باعث توسعهٔ فن‌آوری‌های توالی‌یابی با امکان انجام چندین واکنش همزمان (high-throughput sequencing technologies) شده است که می‌تواند در هر بار واکنش، میلیون‌ها باز را تعیین توالی کند.

توالی‌یاب‌های «کلونال» نسل دوم یا نسل آینده (Next [second] generation clonal sequencers) با استفاده از کلون‌سازی به صورت *in vitro* مولکول‌های DNA منفرد را به وسیله PCR امولسیونی (emulsion PCR) یا bridge PCR تکثیر می‌دهند (شکل ۱۸-۴). سپس مولکول‌های DNA کلون‌شده به‌وسیله pyrosequencing و یا به‌وسیلهٔ خاتمه‌دهنده‌های قابل برگشت (reversible terminators) و یا به‌وسیله تعیین توالی بر مبنای اتصال (Ligation)، توالی‌یابی می‌شوند. مقایسه این روش با تعیین توالی سنگر در جدول ۵-۴ قید شده و مثالی از جهشی که به‌وسیلهٔ توالی‌یابی نسل دوم شناسایی شده، در شکل ۱۹-۴ نشان داده شده است. توالی‌یاب‌های به اصطلاح نسل سوم (third generation sequencers) اخیراً عرضه شده‌اند و می‌توانند انبوهی از اطلاعات خام را که حاصل انجام واکنش‌های متعدد موازی است، از مولکول‌های منفرد DNA (بدون نیاز به تکثیر DNA به تعداد فراوان) ارائه دهند و این قابلیت به دلیل وجود لیزرهای بسیار حساس آنهاست.



شکل ۱۹-۴: تشخیص یک جهش TP53 در بیمار مبتلا به سندرم لی – فرامنی. توالی مرجع در بالا نشان داده شده است و توالی بیمار در زیر آن مشخص شده است. جهش هتروزیگوت C>T (c.430 C>T ; p.Gln144X) در ۱۱ مورد از ۲۵ قطعهٔ توالی‌یابی شده، مشخص است.

جدول ۴-۴ روش‌های تعیین تغییرات تعداد نسخه‌ها

روش	تغییرات تعداد نسخه شناخته شده / ناشناخته	مثال	مزایا / معایب
Multiplex ligation – dependent probe amplification	شناخته شده	آنالیز حذف‌های ساب‌تلومری و حذف‌های اختصاصی ژن	مناسب آزمایشگاه‌های تشخیص بالینی است، اما تکنیکی طاقت‌فرسا بوده و نیاز به DNA با کیفیت بالا دارد.
PCR فلئورسنت کمّی	شناخته شده	تست‌های قبل از تولد برای بررسی آنوپلوئیدی	سریع، اما به مارکرهای میکروساتلیتی مناسب و آگاهی‌دهنده (informative) نیاز است.
Real-Time PCR	شناخته شده	اثبات وجود حذف و مضاعف‌سازی به‌وسیله روشی متفاوت	انعطاف‌پذیر، با استفاده از پرایمرهای استاندارد PCR اما به شیوه ژن محور – (gene-centric approach)
Array CGH	شناخته شده / ناشناخته	روشی برای بررسی علت عقب‌ماندگی‌های تکوینی، مشکلات یادگیری و ناهنجاری‌های مادرزادی	هر نوع حذف و اضافه‌شدن را تشخیص می‌دهد اما تفسیر واریانت‌های جدید می‌تواند مشکل باشد.
Next-generation 'clonal' sequencing	شناخته شده / ناشناخته		تجهیزات گران‌قیمت، توانایی بسیار بالا، اما اطلاعات خام فراوانی تولید می‌کند که آنالیز و تفسیر واریانت‌های جدید می‌تواند مشکل باشد.

جدول ۵-۴ مقایسه تعیین توالی سنگر با Next-Generation 'Clonal' sequencing

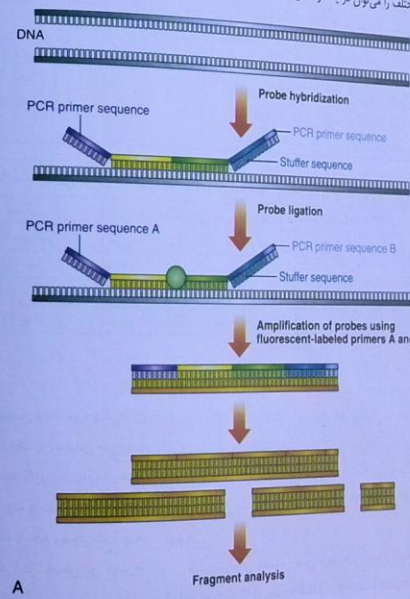
توالی‌یابی به روش سنگر	توالی‌یابی به روش Next-Generation Clonal
یک توالی در هر نمونه خوانده می‌شود	تعیین توالی چندین واکنش موازی و همزمان (massively parallel)
هر قطعه ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت باز طول دارد	هر قطعه ۱۰۰ تا ۴۰۰ جفت باز طول دارد
۱ میلیون جفت باز در هر روز در هر دستگاه	۲ میلیارد جفت باز در هر روز در هر دستگاه
هزینه ۱ پوند به ازاء هر ۱۰۰۰ جفت باز	هزینه ۰/۰۲ پوند به ازاء هر ۱۰۰۰ جفت باز

بررسی دُزاژ ژنی

اکثر روش‌هایی که تا پیش از این توضیح داده شد، جهش‌های نقطه‌ای، حذف و اضافه‌شدن‌های کوچک را تشخیص می‌دهد. جهش‌های مربوط به حذف یک یا چند اگزون در پسرهای مبتلا به دیستروفی عضلانی دوشن شایع بوده و ممکن است به‌وسیله multiplex PCR شناسایی شوند که با عدم وجود یک یا چند محصول PCR مشخص خواهد شد. اما تشخیص این جهش‌ها در زنان ناقل که یک نسخه سالم از این ژن را بر روی کروموزوم X خود دارند و از آنجا که ژن طبیعی بر روی کروموزوم X دیگر اثر حذف را می‌پوشاند، مشکل‌تر است. حذف و مضاعف‌شدن‌های بزرگتر نیز در تعدادی از ناهنجاری‌ها گزارش شده‌اند و ممکن است یک اگزون، چندین اگزون و یا کل یک ژن را در بر گیرد (مثلاً HMSN ، HNPP نوع I).

چند روش برای شناسایی چنین جهش‌هایی ابداع شده‌اند (مراجعه به جدول ۴-۴). روش MLPA (Multiplex Ligation -

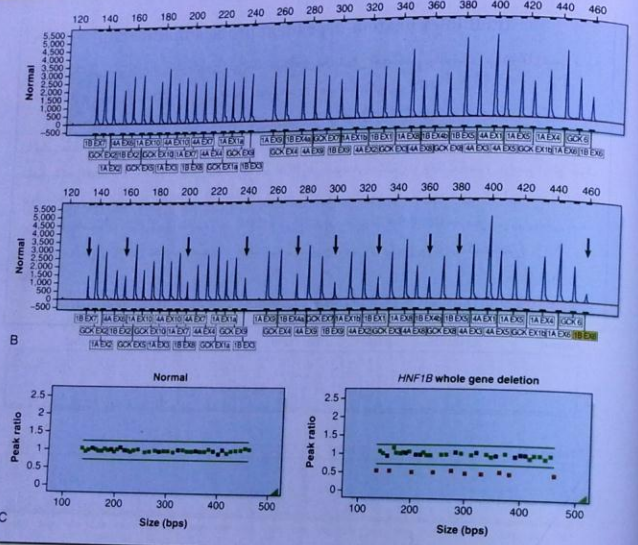
dependent probe amplification) یک روش با حد تفکیک بالاست که برای تشخیص حذف و مضاعف‌شدن‌ها به کار گرفته می‌شود (شکل ۲۰-۴). هر پروب MLPA حاوی دو اولیگونوکلئوتید نشان‌دار شده به‌صورت فلئورسنت است و می‌توانند طوری هیبرید شوند که در کنار یکدیگر بر روی توالی ژنی هدف قرار گیرند. وقتی که دو اولیگونوکلئوتید هیبرید شوند، این دو می‌توانند به‌وسیلهٔ یک لیگاز به هم متصل شده و این پروب می‌تواند به‌وسیله PCR تکثیر شود (هر اولیگونوکلئوتید دارای یک توالی اتصال به پرایمر در انتهای خود است). پروب‌ها حاوی یک توالی برگشنده (Stuffer Sequence) در اندازه‌های مختلف هستند که جداسازی محصولات مختلف PCR را به‌وسیله الکتروفورز مویینه امکان‌پذیر می‌سازد. بیش از ۴۰ پروب مختلف را می‌توان در یک واکنش منفرد تکثیر داد.



شکل ۲۰-۴: A، نموداری از روش MLPA (multiplex Ligation dependent probe amplification). B، تشخیص یک حذفی کلی ژنی شامل اگزون‌های ۱ تا ۹ ژن HNF1B (کادر پائین‌تر) در مقایسه با یک توالی مرجع سالم (کادر بالاتر). این کیت MLPA همچنین شامل پروب‌های مربوط به ژن‌های GCK، HNF1A و HNF4A است. C، نمودار نسبت قله‌ها (Peak ratio) نشان دهندهٔ شکل گرافیکی نسبت شدت‌های قله‌ای نرمال شده بین نمونه‌های بیماران و افراد مرجع سالم است. هر نقطه نشان‌دهنده یک قله (peak) است: آبی و سبز = قله‌های در حدود طیف طبیعی (0.75-1.25)، قرمز = قله‌هایی که در آنها حذف‌شدگی صورت گرفته (ratio <0.75) و یا مضاعف شده‌اند (ratio >1.25). اطلاعات خام به‌وسیله نرم‌افزار GeneMarker® مربوط به Soft Genetics LLC تجزیه و تحلیل شده‌اند.

(ادامه شکل صفحه بعد)

بررسی دُزاژ ژنی به‌وسیله PCR کمّی فلئورسنت (QF-PCR) به‌طور معمول برای غربالگری سریع آنیوپلوئیدی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ مثلاً در تشخیص پیش از تولد میکروساتلیت‌های (به بخش‌های بعدی مراجعه کنید) موجود بر روی کروموزوم‌های ۱۳، ۱۸ و ۲۱ ممکن است به‌وسیله multiplex PCR تکثیر داده شوند و تریزومی‌ها نیز توسط وجود سه آلل و یا با تأثیر دُزاژ به دلیل وجود بیش از حد یک آلل تشخیص داده می‌شوند (شکل ۲۱-۴).



بیشتر بدانیم ۴-۲

تفاوت MLPA و MAPH

(multiplex amplifiable probe hybridization) MAPH

MAPH تکنیکی برای ارزیابی تعداد نسخه (copy number) توالی مورد نظر و ارزیابی جهش‌های حذفی است، در این روش ابتدا DNA ژنومی دناتوره شده و در معرض چندین پروب قرار می‌گیرد. پروب‌ها مکمل توالی‌های هدف بوده و همگی دارای جایگاه‌های مشابه اتصال به پرایمر در انتهای ۳′ و ۵′ خود هستند.

در مرحلهٔ بعد پروب‌ها را در شرایط هیبریدسازی با DNA ژنومی قرار می‌دهند (DNA ژنوم به یک فیلتر متصل شده است). پروب‌های اتصال نیافته شسته می‌شوند و پروب‌های اتصال یافته بازیابی (recovered) می‌شوند (از DNA ژنومی جدا می‌شوند) و به وسیله یک جفت پرایمر مشترک برای همه پروب‌ها تکثیر می‌شوند. مقدار محصول PCR حاصل از هر نوع پروب نسبت مستقیم با تعداد پروب‌ها در مخلوط واکنش دارد که نمایانگر تعداد نسخه‌ها است. پروب‌هایی که مکمل توالی حذف شده در ژنوم هستند، احتمالاً هیچ محصولی در واکنش PCR تولید نمی‌کنند. همچنین اگر توالی هدف دچار جهشی شده باشد که مانع اتصال پروب شود، نیز هیچ محصولی تولید نخواهد شد.

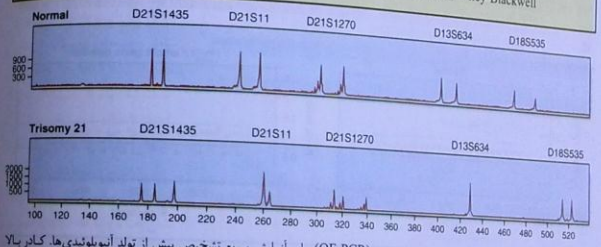
(multiplex ligation-dependent probe amplification) MLPA

MLPA تکنیکی است که برای اندازه‌گیری کمّی تعداد نسخه‌های یک توالی اختصاصی نوکلئوتیدی در DNA ژنومی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کاربرد MLPA شامل حذف، مضاعف‌سازی ژنوم، حذف اگزونی و SNPs است.

در این روش ابتدا پروب‌ها به نمونه اضافه می‌شوند. هر پروب شامل دو اولیگونوکلئوتیدی است که هر دو در مجاور یکدیگر با توالی هدف مکمل می‌شوند. اگر دو پروب الیگونوکلئوتیدی به‌درستی با توالی هدف هیبرید شوند، این دو می‌توانند به هم متصل شده (ligation)، یک پروب کامل ایجاد کرده و با PCR (با پرایمرهای مکمل دو جایگاه اتصال پرایمر در دو طرف پروب) تکثیر شوند. کمّی‌سازی PCR نیز با استفاده از پروب‌های نشان‌دار امکان‌پذیر است. محصول PCR حاصله در نمونه می‌تواند با محصولات PCR کنترل مقایسه شود. MLPA می‌تواند (به صورت multiplex) همزمان برای ارزیابی تعداد نسخه‌های، طبقی از ژن‌های مختلف با استفاده از چندین پروب به‌کار رود (بیش از ۴۰ نوع پروب در یک آزمایش).

منابع:

Singleton p.,(2010) Dictionary of DNA and genome technology, 2th edition, Wiley-Blackwell



شکل ۲۱-٤: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی کمّی فلئورسنت (QF-PCR) برای آزمایش سریع تشخیص پیش از تولد آنیوپلوئیدی‌ها. کادر بالا فرد شاهد سالمی را با دو آلل برای هر یک از میکروساتلیت‌ها نشان می‌دهد. کادر پایین فردی با تریزومی ۲۱ را نشان می‌دهد که دارای سه آلل (میکروساتلیت‌های D21s1435 ، D21s1270) و نیز دارای اثر ژراژ ژنی (D21s11) می‌باشد. مارکرهای میکروساتلیت کروموزوم‌های 13 و 18 پروفایل طبیعی را نشان می‌دهد.

روش Array CGH که در فصل ۳ معرفی شد راهی را برای بررسی تشخیص حذف‌ها و مضاعف‌سازی‌ها در مقیاس کل ژنوم به وجود آورده است (شکل ۲۲-۴). آرایه‌هایی که در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی ارائه می‌شوند، شامل پروب‌های مربوط به کل ژنوم بوده که می‌توانند جهش‌های جدید را شناسایی کنند و نیز پروب‌هایی هستند که برای بررسی سندرم‌های حذف / مضاعف‌سازی شناخته شده طراحی شده‌اند. آگاهی کامل از تنوع طبیعی تعداد نسخه‌ها (normal copy-number variation) برای تفسیر جهش‌های جدید ضروری است.

همچنین این امکان وجود دارد که اطلاعات مربوط به تعداد نسخه‌ها از تعیین توالی نسل دوم به دست آیند و این در صورتی امکان‌پذیر است که در این نوع توالی‌یابی به جای استفاده از محصول PCR از DNA ژنومی به عنوان الگوی اولیه تکثیر استفاده شود.

کاربرد پلی‌مورفیسم‌های توالی DNA

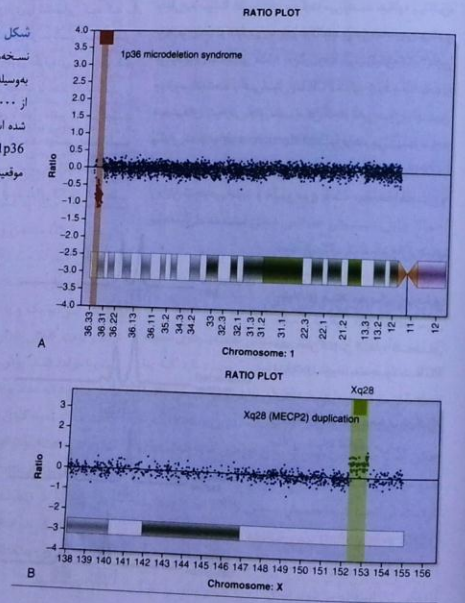
در ژنوم انسان تعداد فراوانی تنوع توالی DNA (واریانت) وجود دارد. دو نوع اصلی آنها شامل SNPs و پلی‌مورفیسم‌های طولی قطعات DNA با تعداد تکرارهای پشت سر هم بسیار متغیر

(hypervariable tandem repeat DNA length-polymorphism) است که عمدتاً در آنالیز ژنتیکی به کار می‌روند.

پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی

در حدود یک باز از هر ۱۰۰۰ باز در ژنوم انسان تنوع نشان می‌دهد. SNPs فراوان‌ترین پلی‌مورفیسم‌های دو آللی هستند که در نواحی کدکننده و غیرکدکننده وجود دارند. اگر SNPs درون جایگاه شناسایی یک آنزیم محدودکننده باشند، این حالت باعث می‌شود که قطعات DNA تولید شده به‌وسیلهٔ آن آنزیم محدودکنندهٔ در افراد مختلف دارای طولی متفاوت باشد.

این حالت می‌تواند به‌وسیلهٔ حرکت تغییر یافته قطعات محدود شده در الکتروفورز بر روی ژل شناسایی شود که به این حالت اصطلاحاً **RFLPs** یا **restriction fragment length-polymorphisms** می‌گویند. مطالعات اولیهٔ نقشه‌برداری ژنتیکی از سالها پیش برای تشخیص RFLP استفاده می‌کردند، اما فن‌آوری‌های امروزی امکان تشخیص هر نوع SNP را فراهم آورده است. ریزآرایه‌های DNA منجر به ایجاد یک نقشهٔ SNP مفصل از ژنوم انسان شده است و جستجوی ژنومی به منظور مطالعات پیوستگی برای نقشه‌برداری ناهنجاری‌های تک‌ژنی و مطالعات همراهی در بیماری‌های شایع را تسهیل کرده است.



شکل ۲۲-٤: شناسایی تغییرات تعداد نسخه‌ها (copy number changes) به‌وسیله روش array CGH (در این مورد از ۱۳۵۰۰۰ پروب اولیگونوکلئوتیدی استفاده شده است. **A**. بیماری با سندرم ریز حذف 1p36 . **B**. مضاعف‌سازی MECP2 در موقعیت کروموزومی Xq28 .

تکرارهای پشت سر هم با تعداد متغیر

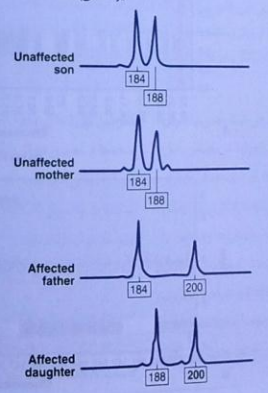
تکرارهای پشت سر هم با تعداد متغیر (Variable number-tandem repeats = VNTRs) بسیار پلی‌مورفیک بوده و این حالت به علت حضور یک توالی DNA کوچک متشکل از تکرارهای پشت سر هم با تعداد متغیر است که مشخص شده این توالی‌ها به روش مندلی و به صورت هم غالب به ارث می‌رسند. مزیت استفاده از VNTRs بر SNPs این است که هر VNTR در مقایسهٔ با SNPs عمدتاً دو آللی، دارای تعداد آل‌های فراوانی هستند.

مینی‌ساتلیت‌ها

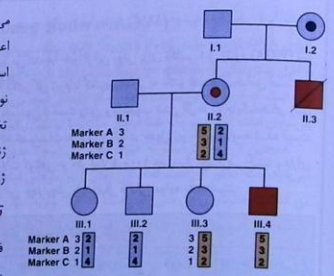
الک جفریس (Alec Jeffreys) یک توالی اصلی (Core sequence) ۱۰ تا ۱۵ جفت بازی را شناسایی کرد که با لکوس‌های تکراری متنوع و متعددی در سرتاسر ژنوم انسان همولوژی داشت. با استفاده از پروبی حاوی تکرارهای پشت سر هم از این توالی اصلی، می‌توان الگویی از قطعات با تعداد تکرار متغیر را شناسایی کرد. به چندین توالی تکراری با طول متغیر که می‌توانند به‌وسیله توالی اصلی شناسایی شوند، **مینی‌ساتلیت** (minisatellite) گفته می‌شود. این مینی‌ساتلیت‌ها بسیار پلی‌مورفیک بوده و در مورد هر فرد دارای الگوی منحصر به فردی هستند (به استثناء دوقلوهای همسان). به این پروفایل منحصر به فرد **انگشت‌نگاری DNA** (DNA fingerprinting) گفته می‌شود. روش انگشت‌نگاری DNA به‌طور گسترده‌ای در آزمایشات تشخیص ابوّت (رابطه پدر و فرزند) (Paternity test) و اهداف پزشکی قانونی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

میکروساتلیت‌ها

ژنوم انسان حاوی ۵۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ قطعه از تکرارهای پشت سر هم با تعداد تکرار متغیر از دی‌نوکلئوتیدهای CA:GT موسوم به تکرارهای CA یا **میکروساتلیت** (microsatellite) است. تفاوت در تعداد تکرارهای CA در هر جایگاهی بین افراد مختلف بسیار پلی‌مورفیک بوده و نشان داده شده است که این تکرارها به شیوهٔ مندلی به صورت هم غالب به ارث می‌رسند. علاوه بر این، تکرارهای سه نوکلئوتیدی و چهار نوکلئوتیدی نیز شناسایی شده‌اند و می‌توانند جهت اهدافی مشابه به کار گرفته شوند (شکل ۲۳-۴). این میکروساتلیت‌ها را می‌توان با PCR آنالیز کرد و استفاده از سیستم‌های تشخیص فلئورسنت امکان انجام آنالیز موازی چندین واکنش (high-throughput analysis) را فراهم می‌کند. در نتیجه آنالیز میکروساتلیت‌ها جایگزین روش انگشت‌نگاری DNA در آزمایش تشخیص ابوّت و تعیین نوع رابطه دوقلوها (همسان و غیرهمسان) شده است.



شکل ۲۳-۴: آنالیز مارکرهای میکروساتلیت چهار نوکلئوتیدی در خانواده‌ای مبتلا به یک ناهنجاری غالب. از نرم‌افزار Genotyper برای مشخص کردن اندازه قله‌های (peaks) مربوط به محصولات PCR استفاده شده است. آلل ۲۰۰ جفت بازی همراه با آلل بیماری در افراد مبتلای خانواده تفکیک می‌شود.



شکل ۲۴-۴: ردیابی ژنی در خانوادهٔ مبتلا به دیستروفی عضلانی دوشن، در حالتی که در پروباند مبتلا III.4، هیچ نوع جهشی پیدا نشده است. آنالیز مارکرهای A ، B و C امکان ایجاد یک هاپلوتیپ را فراهم کرده است: هاپلوتیپ مربوط به فرد مبتلا به صورت کادر نارنجی نشان داده شده است؛ در مورد حامل بودن هر دو خواهر پروباند خطر پیشین ۵۰٪ وجود دارد. ردیابی ژنی نشان داد که فرد III.1 هاپلوتیپ با خطر اندک را به ارث برده و احتمالاً حامل آلل بیماری نیست. اما فرد III.3 هاتلوتیپ با خطر بالا را به ارث برده و بنابراین احتمالاً حامل دیستروفی عضلانی دوشن است. احتمال خطر نوترکیبی را نیز نباید فراموش کرد.

کاربردهای بالینی ردیابی ژنی

اگر ژنی با استفاده از مطالعات پیوستگی نقشه‌برداری شود، اما شناسایی نشده باشد، این امکان وجود دارد که با استفاده از مارکرهای پیوسته بتوان هاپلوتیپ جهش یافته (mutant haplotype) را در آن خانواده ردیابی (track) کرد. ممکن است بتوان این روش را برای ژن‌های شناخته‌شده‌ای که جهش خانوادگی آن مشخص نشده نیز به کار گرفت. از آنجا که احتمال یافتن SNPs اطلاع‌دهنده (informative SNPs) درون خانواده بسیار پایین است در اغلب موارد از میکروساتلیت‌های درون ژنی یا موجود در نزدیکی ژن استفاده می‌شود. شکل ۲۴-۴ خانواده‌ای را نشان می‌دهد که در آن با استفاده از ردیابی ژنی خطر حامل بودن اعضای آن در نبود یک جهش شناخته شده تعیین شده است. استفاده از این روش دارای چند مشکل احتمالی است: نوترکیبی بین میکروساتلیت و ژن مورد نظر ممکن است باعث تخمین غیرواقعی خطر شود و همچنین باید احتمال هتروژنی ژنی را در نظر داشت (در مواردی که جهش در بیش از یک ژن می‌تواند باعث ایجاد یک بیماری شود).

تشخیص بیماری‌های غیر ژنتیکی

فن‌آوری DNA، به خصوص PCR در تشخیص و ادارهٔ بیماری‌های عفونی و سرطان کاربرد پیدا کرده است.

بیماری‌های عفونی

PCR را می‌توان برای تشخیص وجود توالی‌های DNA مختص عوامل عفونی خاص، قبل از اینکه شواهد معمول آنها همچون پاسخ آنتی‌بادی و یا قبل از اینکه نتایج کشت آنها در دسترس باشد، به کار گرفت. به‌طور مثال غربال‌گری فرآورده‌های خونی برای تشخیص وجود توالی DNA مربوط به ویروس نقص ایمنی (HIV) مطمئن‌بودن فرآورده مورد نظر را تضمین می‌کند (مثلاً غربال‌گری مخزن فاکتور VIII برای استفاده مردان مبتلا به هموفیلی A). مثال دیگر شناسایی توالی‌های DNA مختص ویروس‌ها و باکتری‌های مسئول عفونت‌های گستردهٔ حاد (acute Overwhelming infections) است، در شرایطی که تشخیص زودهنگام امکان مداخله سریع با کمک آنتی‌بیوتیک و یا عامل ضدویروسی مناسب را فراهم کرده و باعث کاهش میزان بیماری‌زایی و مرگ و میر ناشی از بیماری خواهد شد. روش‌های Real-time PCR می‌توانند نتایج سریع ارائه دهند و حتی در مواردی نتایج در ظرف یک ساعت بعد از نمونه‌گیری در دسترس خواهند بود. این روش در مبارزه علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) مورد استفاده قرار می‌گیرد، به‌طوری که بیماران در زمان پذیرش در بیمارستان با این روش سریعاً می‌توانند مورد آزمایش قرار گیرند. اشخاصی که MRSA مثبت تشخیص داده شوند برای به حداقل رساندن خطر آلودگی دیگر بیماران باید ایزوله شوند.

تکثیر کل ژنوم (WGA = whole genome amplification)

PCR روشی است که یک توالی هدف اختصاصی را تکثیر می‌کند، اما اخیراً از این روش برای تکثیر کل ژنوم (WGA) نیز استفاده می‌شود. برخلاف PCR سنتی و معمول، هدف WGA تکثیر کل ژنوم یا کمترین تمایل به تکثیر قطعه‌ای خاص است. در مورد ژنوم انسان این به معنای تکثیر بیش از سه میلیارد جفت باز، بدون از دست رفتن و یا معیوب شدن آلل‌ها یا جایگاه‌های ژنی خاص است. تا به امروز ۵ روش مختلف WGA ایجاد شده‌اند که خصوصیات هر یک از آنها در جدول زیر با هم مقایسه شده است. چهار مورد از این روش‌ها واریانت‌های PCR هستند که محصولات کوتاهی در حد کمتر از ۱۰۰۰ جفت باز تولید می‌کنند و دارای صحت همانندسازی نامطلوبی هستند. به همین دلیل استفاده از این چهار روش با استقبال فراوانی مواجه نشده است.

جدول: **خصوصیات ۵ روش معمول تکثیر کل ژنوم**

روش	MDA	PEP	iPEP	DOP	LL-DOP-PCR
محصول DNA (در هر واکنش ۱۰۰µl)	80 µg	40 ng	ND	1-6 µg	ND
آیا واکنش در هر حجمی قابل انجام است	آری	خیر	خیر	خیر	خیر
طول محصول PCR (برحسب bp)	بین ۲۰۰۰ تا بیش از ۱۰۰۰۰۰ جفت باز	بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت باز	بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت باز	بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت باز	بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰۰ جفت باز
میزان اشتباه DNA پلی‌مراز	کمتر از 10^{-6}	بین 3×10^{-4} تا 1×10^{-5}	حدود 10^{-5}	3×10^{-4}	10^{-5}
آیا این روش قادر است که تکثیر را از یک سلول منفرد انجام دهد	ND	+	+	+	ND
آیا این روش قادر است که نمونه بافتی تثبیت شده در پارافین را تکثیر کند	-	+	+	+	ND

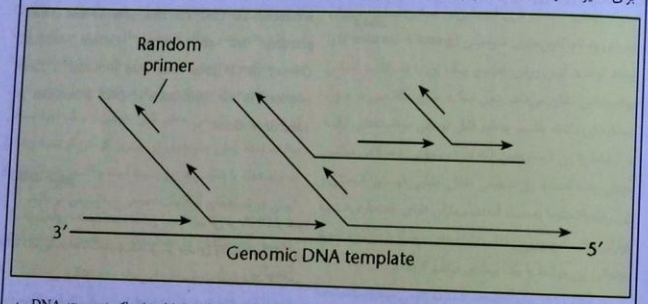
Not Determined = ND
Multiple displacement amplification = MDA
Primer extension preamplification = PEP
Improved primer extension preamplification = iPEP
Degenerate – oligonucleotide primed PCR = DOP
Long products from low DNA quantities degenerate – oligonucleotide primed PCR = LL – DOP - PCR

در روش پنجم WGA که از PCR استفاده نمی‌شود، MDA (multiple displacement amplification) نامیده می‌شود. در MDA، الگو به دفعات با استفاده از مکانیسم چندانشعابی (heperbranching) در واکنش تکثیر با جایگزینی‌های متعدد (Multiple displacement amplification) مضاعف می‌شود (شکل صفحه بعد). در این روش DNA پلی مراز همزمان با ساخت رشته در حال سنتز رشته قبلی ساخته شده را جدا می‌کند (فرآیند جایگزینی =displacement). به همین جهت در MDA

از دناتوراسیون استفاده نمی‌شود. یعنی این روش یک فرآیند هم دما (isothermal process) است. در این روش از دو مزیت کلیدی DNA پلی‌مراز مشتق شده از باکتریوفاژ φ29 استفاده می‌شود. اول اینکه پلی‌مراز در هر بار که به پرایمر متصل می‌شود، به دلیل پیشروندگی (processirity) فوق‌العاده می‌تواند تا ۷۰۰۰ نوکلئوتید را به پرایمر اضافه کند. این قابلیت توجیه کننده این نکته است که در این روش قطعات با طول زیاد تولید می‌شود. مزیت دوم این DNA پلی‌مراز، صحت فوق‌العاده انجام واکنش پلی‌مرازی است؛ این آنزیم یک خطا در هر 10^{6} تا 10^{7} نوکلئوتید انجام می‌دهد.

همچنین لازم به ذکر است که عبارت تکثیر کل ژنوم تا حدی گمراه‌کننده است. زیرا در این روش در عمل کل ژنوم تکثیر نمی‌شود، بلکه منظور این است که در این روش از پرایمرهایی استفاده می‌شود که همزمان نقاط مختلف و متعدد ژنوم را تکثیر می کنند و از نظرتئوری این بدان معنی است که کل ژنوم به عنوان الگو برای تکثیر در دسترس است.

در مورد کاربردهای روش MDA، چون متوسط طول قطعات تولید شده بیش از ۱۰ kb است و این روش به توالی‌های خاصی از ژنوم تمایل نشان نمی‌دهد، گفته می‌شود که محصولات آن مناسب مطالعات ژنومی وآنالیز SNP است. همچنین از این روش برای تکثیر مقدار DNA اندک موجود در نمونه‌های پلاسما که برای ده سال در $-40^{\circ}C$ نگهداری شده بودند، استفاده شده است.



شکل- **واکنش تکثیر با جایگزینی‌های متعدد** (multiple displacement amplification). واکنش سنتز DNA به وسیله پرایمرهای از نوع "random hexamer" انجام می‌شود. واکنش تصاعدی با مکانیسم چندانشعابی (hyperbranching) انجام می‌شود. بر خلاف PCR که نیاز به سیکل‌های دمایی برای دناتوره کردن مکرر الگو و اتصال پرایمرها دارد، DNA پلی‌مزار فاژ φ29 در دمای $30^{\circ}C$ عمل کرده و همزمان با گسترش پرایمر و طویل کردن طول رشته DNA در حال ساخت، رشته الگوی تازه ساخته شده فرودست خود را با فعالیت هلیکازی جدا می‌کند.

بیماری سرطان

PCR را می‌توان برای تشخیص لوسمی‌ها و لنفوماها، با شناسایی جابه‌جایی‌هایی همچون t(9:22) که مشخصهٔ لوسمی میلوئید مزمن (CML) است، به کار گرفت. حساسیت فوق‌العاده PCR در این مورد بدان معنی است که حتی اگر مقداری از بیماری پس از درمان باقی بماند، نیز قابل تشخیص است. همچنین امکان تشخیص علایم زودهنگام عود قریب‌الوقوع بیماری، امکان طراحی درمان خاصی را فراهم می‌کند. برای مثال همهٔ بیماران مبتلا به CML که با مهارکنندهٔ تیروزین کیناز ایماتینیب (Imatinib) درمان شده‌اند به‌طور مرتب پایش (monitor) می‌شوند زیرا ممکن است کلون مقاومی شروع به رشد کند. بعد از پیوند مغز استخوان، مارکرهای میکروساتلیتی ممکن است برای پایش موفقیت پیوند توسط روش آنالیز آلل‌های اختصاصی‌دهنده ـ گیرنده به کار گرفته شوند.

مطالعه بیشتر

Elles R, Wallace A 2010 Molecular diagnosis of genetic disease, 3rd ed. Clifton, NJ: Humana Press *Key techniques used for genetic testing of common disorders in diagnostic laboratories.*

Strachan T, Read AP 2011 Human molecular genetics, 4th ed. Garland Science, London *A comprehensive textbook of all aspects of molecular and cellular biology as related to inherited disease in humans.*

Weatherall DJ 1991 The new genetics and clinical practice, 3rd ed. Oxford: Oxford Medical *One of the original texts that provided a lucid overview of the application of DNA techniques in clinical medicine.*

نکات مهم

۱ـ آنزیم‌های محدودکننده امکان ایجاد برش در DNA از هر منبعی، به قطعات کوچک‌تر بر مبنای وجود توالی‌های شناسایی نوکلئوتیدی خاص را به‌صورت تکرارپذیر فراهم می‌کند. با بازترکیبی این قطعات و قراردادن آنها در وکتور مناسب می‌توان کلون‌های خاصی را ایجاد کرد که هر یک دارای یک توالی DNA خاص هستند.

۲ـ واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی (PCR) تحولی عظیم در ژنتیک پزشکی پدید آورده است. در عرض چند ساعت می‌توان بیش از یک میلیون نسخه از ژنی را از نمونه DNA بیمار تکثیر کرد. محصولات PCR را می‌توان برای بررسی حضور یک جهش بیماری‌زا، بازآرایی ژنی یا عامل عفونت به کار گرفت.

۳ـ روش‌هایی چون ساترن بلات، نورترن بلات، توالی‌یابی DNA، غربال‌گری جهش، Real- Time PCR و آنالیز ریزآرایه می‌تواند برای شناسایی یا آنالیز یک توالی اختصاصی مورد نظر به کار گرفته شود. این روش‌ها می‌تواند برای آنالیز ساختار و عملکرد طبیعی ژن و آسیب‌شناسی مولکولی یک بیماری ارثی به کار گرفته شوند. این روش‌ها شیوه‌ای را برای تشخیص پیش از بروز علائم بالینی، تشخیص حاملین، تشخیص پیش از تولد به صورت آنالیز مستقیم جهش و یا با آنالیز غیرمستقیم با استفاده از مارکرهای پلی‌مورفیک در مطالعات خانوادگی را فراهم می‌آورند.

۴ـ روش‌های SNP chips ،array CGH و توالی‌یاب‌های نسل آتی امکان آنالیز پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی، واریانت‌های تعداد نسخه و واریانت‌های توالی DNA را در مقیاس ژنومی فراهم می‌آورند. این روش‌ها باعث تغییر مقیاس آنالیز ژنتیکی شده‌اند و دیدگاه‌های جدیدی را در بیماری‌های ژنتیک ایجاد کرده‌اند.

فصل ۵

نقشه‌برداری و تعیین ژن‌های بیماری‌های تک‌ژنی

شناسایی ژن مرتبط با یک بیماری تک‌ژنی (**منوژنی**) و نیز کاربرد سریع آن در تشخیص بالینی باعث درک بهتر ما از اساس تکوینی پاتولوژی بیماری با هدف ارائه مداخله‌های درمانی احتمالی شده است. اساس مولکولی بیش از ۲۷۰۰ فنوتیپ بیماری اکنون شناخته شده است.

اولین ژن‌های انسانی تعیین شده اساس بیوشیمیایی داشته‌اند و امکان تخلیص و توالی‌یابی محصول ژنی امکان‌پذیر بوده است. توسعه تکنیک‌های DNA نوترکیب در دهۀ ۱۹۸۰ استراتژی‌های نقشه‌برداری فیزیکی را ممکن ساخته و روش جدیدی به نام کلون‌سازی موقعیتی (Positional Cloning) را ایجاد کردند. این روش، تعیین یک ژن را صرفاً بر اساس موقعیت‌اش نشان می‌دهد بدون اینکه هیچ اطلاعی در مورد عملکردش داشته باشیم. به‌طور قابل توجهی موفقیت‌های اولیه در ارتباط با ژن دیستروفین (که در دیستروفی عضلانی دوشن جهش یافته است)، ژن تنظیمی داخل غشایی فیبروز کیستی و ژن رتینوبلاستوما به‌دست آمدند. بیماران دارای ناهنجاری‌ها یا نوآرایی‌های کروموزومی اغلب نشانه‌های مهمی را در مورد ناحیۀ احتمالی ژن مرتبط با یک بیماری فراهم کرده‌اند.

در دهۀ ۱۹۹۰ یک مجموعه گسترده ژنومی میکروساتلیت‌ها با حدود ۱ مارکر در هر ۱۰ سانتی‌مورگان (cM) تهیه شد. این ۳۵۰ مارکر را می‌توان با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر داد و مطالعات نقشه‌برداری ژنتیکی تسهیل گردید که منجر به تعیین هزاران ژن شد. این روش با روش‌های ریزآرایه DNA و تراشه‌های پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) جایگزین شده است. اگرچه SNPها کمتر از میکروساتلیت‌ها اطلاع دهنده‌اند (informative)، می‌توان آنها را به‌صورت خودکار اندازه‌گیری نموده و ریزآرایه‌ها به‌صورت تجاری برای چندین میلیون SNP پراکنده در سراسر ژنوم در دسترس می‌باشند.

مرحله مشترک تمام روش‌ها جهت تعیین ژن‌های بیماری انسانی، تعیین ژن کاندید بود (شکل ۱-۵). ژن‌های کاندید ممکن است توسط مطالعه حیوانات مدل بیماری انسانی یا از طریق **همولوژی** چه به صورت یک ژن انسانی **پارالوگ** (مثلاً اگر خانواده‌های چندژنی باشند) یا به صورت ژن **اورتولوگ** در گونه‌های دیگری، تعیین شوند. اکنون که توالی‌یابی ژنوم انسان کامل شده است، امکان یافتن ژن‌های جدید بیماری از طریق جستجو در شبکه‌های اطلاعاتی ژنتیکی (یا به عبارتی in silico) ممکن می‌باشد.

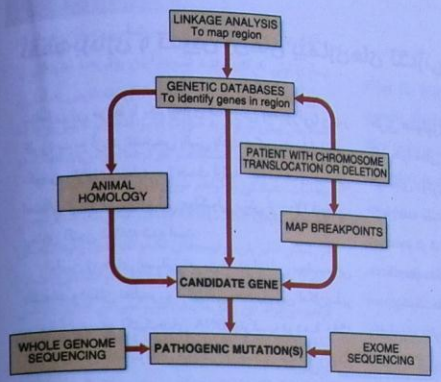
پیشرفت‌های اخیر در تکنولوژی توالی‌یابی به این مناسبت که امروزه توالی‌یابی اگزوم (exome) (یعنی آنالیز توالی‌های کدکنندۀ کل ژن‌های شناخته شده) و حتی توالی‌یابی کل ژنوم استراتژی‌های عملی برای تعیین ژن‌های بیماری می‌باشند که با تعیین مستقیم موتاسیون عامل در یک خانواده (یا خانواده‌ها) با چندین عضو مبتلا صورت می‌گیرد. در نتیجه جدول زمانی تعیین ژن‌های بیماری انسانی به‌طور قابل توجهی از یک دورۀ زمانی سالیانه (مثلاً زمان جستجوی ژن فیبروز کیستی در دهۀ ۱۹۸۰) به چند هفته یا شاید چند روز رسیده است و اکنون توالی ژنوم انسان در شبکه‌های اطلاعات عمومی در دسترس می‌باشد.

تعیین مستقل از مکان ژن‌های بیماری انسانی

قبل از آنکه تکنیک‌های نقشه‌برداری ژنتیکی توسعه یابند، اولین ژن‌های بیماری انسانی توسط اطلاعات مربوط به محصول پروتئینی آنها مشخص شدند. در مورد بیماری‌هایی با اساس بیوشیمیایی، بخصوص این روش یک استراتژی موفقیت‌آمیز بود.

کلونینگ عملکردی

کلونینگ عملکردی (Functional Cloning) تعیین ژن بیماری انسان را توسط اطلاعات مربوط به محصول پروتئینی فراهم می‌کند. با توجه به توالی آمینواسیدی یک پروتئین می‌توان پروب‌های اولیگونوکلئوتیدی را ساخته، تا به‌عنوان پروب‌هایی برای غربالگری کتابخانه‌های DNA مکمل (cDNA) به‌کار روند. روش دیگر تولید آنتی‌بادی یک پروتئین جهت غربالگری یک کتابخانۀ بیانی cDNA است.



شکل ۱-۵: مسیرهای تعیین ژن‌های بیماری در انسان

استفاده از مدل‌های حیوانی

شناخت ویژگی‌های فنوتیپی یک موجود مدل مثل موش که مشابه حالت‌های مشاهده شده در افراد مبتلا به یک بیماری توارثی است، امکان کلون کردن ژن را در موجود مدل فراهم کرده است که منجر به تعیین سریع‌تر ژن مسئول در انسان می‌شود. مثالی از این روش، نقشه‌برداری ژن مسئول بیماری توارثی پیگمانتاسیون و ناشنوایی به نام سندرم واردن‌برگ بر روی بازوی بلند کروموزوم ۲ انسانی می‌باشد. این ناحیه از کروموزوم ۲ همولوژی زیادی (که همان به اصطلاح **سین تنی** (Synteny) است) را با ناحیه‌ای از کروموزوم ۱ موش نشان می‌دهد. بر روی کروموزوم موش، ژن جهش‌یافتهٔ رنگدانه‌ای موشی به نام لکه (Splotch) مشخص شده است. نقشه‌برداری ژن موشی Pax3 در این ناحیه که کدکنندهٔ یک فاکتور رونویسی بیان شده در سیستم عصبی در حال تکوین است، پیشنهاد می‌کند که آن یک ژن کاندید موضعی برای بیماری می‌باشد. پیشنهاد شده که ناهنجاری‌های رنگدانه‌ای می‌توانند از ملانوسیت‌ها ناشی شوند که در آنها سنتز ملانین رخ می‌دهد و از سلول‌های ستیغ عصبی منشأ گرفته‌اند.

تعیین جهش‌های ژن همولوگ انسانی PAX3، آن را به‌عنوان ژن مسئول سندرم واردن‌برگ تأیید کرد.

نقشه‌برداری بیماری‌های تکرارهای سه نوکلئوتیدی

تعدادی از بیماری‌های انسانی مربوط به افزایش تکرارهای سه نوکلئوتیدی، بخصوص افزایش تکرارهای CAG می‌باشند که باعث ایجاد قطعهٔ گسترش‌یافتهٔ پلی‌گلوتامینی در بیماری هانتینگتون و بسیاری از اشکال آتاکسی مخچه‌ای ـ نخاعی می‌شود. روش بکار رفته برای جستجوی افزایش تکرارهای سه نوکلئوتیدی در DNA ژنومی بیماران ذکر شده، منجر به تعیین موقعیت‌آمیز یک تکرار افزایش یافته CTG در بیماران آتاکسی مخچه‌ای ـ نخاعی تیپ ۸ گردید.

توالی‌یابی «کلونال» نسل آینده

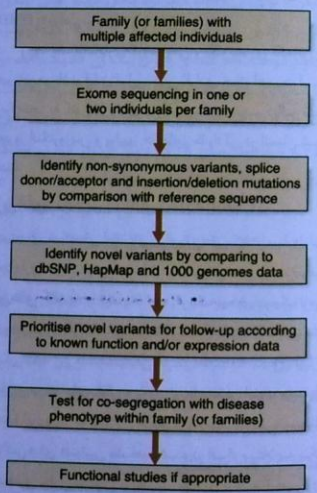
این تکنولوژی جدید توالی‌یابی، امید زیادی را برای شناسایی ۵۵٪ بیماری‌های تک‌ژنی باقیمانده که هنوز اتیولوژی ژنتیکی آنها ناشناخته است، ایجاد کرده است (شکل ۲-۵). اولین موفقیت، تعیین جهش‌های ژن DHODH توسط توالی‌یابی اگزوم (exome) است که سندرم میلر (Miller Syndrome) را ایجاد می‌کند. در حدود ۱۶۴,۰۰۰ ناحیه پیرامون اگزون‌ها و جایگاه‌های پیرایش حفظ شدهٔ آنها (در مجموع ۲۷ Mb) در یک جفت خواهر ـ برادر مبتلا و پروبانده‌های دو خانوادهٔ دیگر توالی‌یابی شدند. واریانت‌های غیرمشابه، جهش‌های جایگاه‌های

دهنده ـ پذیرنده پیرایش یا جهش‌های حذف ـ درج در تقریباً ۵۰۰۰ ژن در هر کدام از دو خواهر ـ برادر مبتلا مشخص شدند. با جدا کردن این واریانت‌ها با استفاده از شبکه اطلاعاتی جمعیت عمومی (db SNP و HapMap) واریانت‌های جدیدی در کمتر از ۵۰۰ ژن به‌دست آمد.

آنالیز منبع اطلاعات به‌دست آمده از چهار بیمار فقط یک ژن DHODH را مشخص کرد که هر کدام از چهار نفر دارای دو آلل جهش یافتهٔ آن بودند.

کلونینگ موضعی

کلونینگ موضعی (Positional Cloning) شناسایی ژن بیماری را از طریق موقعیت آن در ژنوم انسان، بدون هیچ اطلاعی در مورد عملکردش، فراهم می‌کند. همچنین به آن ژنتیک معکوس (reverse genetics) نیز گفته می‌شود زیرا برخلاف روش کلونینگ عملکردی است که پروتئین نقطه آغاز آنالیز می‌باشد.



شکل ۲-۵: استراتژی تعیین ژن بیماری با استفاده از توالی‌یابی اگزوم (exome)

آنالیز پیوستگی

نقشه‌برداری ژنتیکی یا آنالیز پیوستگی (Linkage Analysis) بر اساس فاصله ژنتیکی است که بر حسب سانتی‌مورگان (cM) اندازه‌گیری می‌شود. فاصله ژنتیکی ۱ cM فاصلهٔ بین دو ژن است که ۱٪ نوترکیبی نشان دهند. به این معنا که در ۱٪ میوزها ژن‌ها با هم به ارث نمی‌رسند و تقریباً معادل ۱ Mb (۱ میلیون جفت باز) می‌باشد. آنالیز پیوستگی اولین مرحله در کلونینگ موضعی است که فواصل ژنتیکی را برای آنالیزهای بعدی مشخص می‌کند.

آنالیز پیوستگی را می‌توان برای یک خانوادهٔ بزرگ یا چندین خانواده انجام داد، البته به این فرض که هیچ هتروژنیتی ژنتیکی وجود نداشته باشد. استفاده از مارکرهای ژنتیکی واقع در سراسر ژنوم به‌عنوان اسکن گستردهٔ ژنومی در نظر گرفته می‌شود. در دههٔ ۱۹۹۰ **اسکن‌های گستردهٔ ژنومی** با استفاده از مارکرهای میکروساتلیتی (یک مجموعه تجاری از ۳۵۰ مارکر رایج) انجام می‌شد، اما امروزه ریزآرایه‌هایی با چندین میلیون SNP امکان آنالیز با قدرت آماری بیشتر را فراهم ساخته‌اند.

نقشه‌یابی اتوزیگوسیتی (Autozygosity mapping) (همچنین به نام نقشه‌یابی هموزیگوسیتی نیز می‌باشد) شکل قدرتمندی از آنالیز پیوستگی است که برای نقشه‌برداری بیماری‌های آتوزوم مغلوب در شجره‌نامه‌هایی با ازواج خویشاوندی به‌کار می‌رود. اتوزیگوسیتی زمانی رخ می‌دهد که اعضاء مبتلای یک خانواده در یک لکوس خاص به دلیل یکسان بودن توارث از یک جد مشترک، هموزیگوت باشند.

پیوستگی فیبروزکیستی (CF) با کروموزوم ۷ با آزمایش در حدود ۵۰ خانواده، سفیدپوست و با صدها مارکر DNA مشخص شد. ژن در ناحیه‌ای حدود ۵۰۰ kb (کیلوباز) بین مارکرهای MET و D7S8 بر روی باند کروموزومی 7q31-32 نقشه‌یابی گردید. این نقشه‌یابی زمانی انجام شد که معلوم گردید اکثر کروموزوم‌های CF دارای یک مجموعه آللی ویژه برای این مارکرها (هاپلوتیپ‌های مشترک) بوده و این مارکرها تنها در ۲۵٪ کروموزوم‌های غیر CF- (non-CF Chromosomes) یافت می‌شوند. این یافته به‌عنوان **عدم تعادل پیوستگی** (Linkage Disequilibrium) در نظر گرفته می‌شود و یک

موتاسیون مشترک ناشی از یک اثر مؤسس را پیشنهاد می‌کند. مطالعات نقشه‌برداری‌های فیزیکی گسترده، در نهایت منجر به تعیین چهار ژن درون فاصله‌های ژنتیکی مشخص شده توسط آنالیز پیوستگی شد و در سال ۱۹۸۹ یک حذف ۳ bp درون ژن گیرندهٔ داخل غشایی فیبروز کیستی (CFTR) پیدا شد. این جهش (p. Phe 508 del) در حدود ۷۰٪ از کروموزوم‌های CF و ۲٪ تا ۳٪ از کروموزوم‌های غیر -CF وجود دارد که با میزان فراوانی ناقلین ۱ در ۲۵ سفیدپوستان مطابقت دارد.

آنالیز کانتیگ (Contig Analysis)

هدف آنالیز پیوستگی کاهش ناحیه پیوستگی تا حد امکان است، تا بتوان ناحیه ژن کاندید را مشخص ساخت. قبل از انتشار توالی ژنوم انسان، مرحله بعدی ساخت یک **کانتیگ** (Contig) بود. این کانتیگ حاوی یک سری قطعات همپوشان از DNA کلون شده، نمایانگر کل ناحیه کاندید خواهد بود. سپس این قطعات کلون شده برای غربالگری کتابخانه‌های DNA، به‌کار رفتند تا جزایر CpG (که معمولاً در نزدیکی ژن‌ها واقعند) بررسی شده، همچنین زوبلات (Zoo blot) (انتخاب بر اساس حفظ‌شدگی تکاملی) و دام‌گذاری اگزونی (Exon trapping) (جهت شناسایی نواحی کدکننده از طریق جایگاه‌های پیرایش عملکردی) در مورد آنها انجام شد. نیاز برای کلون کردن ناحیه مورد نظر، موجب طرح عبارت «کلون‌سازی ژن» برای یک بیماری خاص شد.

ناهنجاری‌های کروموزومی

گاهی افرادی با ناهنجاری‌های تک‌ژنی شناسایی می‌شوند که دارای ناهنجاری‌های ساختاری کروموزومی نیز می‌باشند. اولین نشانهٔ اینکه ژن مسئول دیستروفی عضلانی دوشن (DMD) بر روی بازوی کوتاه کروموزوم X واقع شده، از شناسایی تعدادی از زنان مبتلا به DMD به‌دست آمد که دارای نوآرایی‌های کروموزومی بین یک کروموزوم اتوزوم و یک ناحیهٔ خاص از بازوی کوتاه کروموزوم Xشان بودند. جداسازی کلون‌های DNA دربرگیرندهٔ آن ناحیه از کروموزوم X دارای نوآرایی، باعث شد در یکی از آن زنان اطلاعات نقشه‌یابی ژنی دقیق‌تری به‌دست آید و در نهایت ژن دیستروفین یا DMD کلون شود.

همزمان با این مشاهدات، مردی با سه بیماری وابسته به X: DMD، بیماری گرانولوماتوز مزمن و رتینیت پیگمنتوزا گزارش شد. او دارای یک گروه خونی گلبول‌های قرمز نامعمول به نام فنوتیپ مک لود (McLeod) نیز بود. پیشنهاد شد که او دارای حذف تعدادی از ژن‌ها بر روی بازوی کوتاه کروموزوم X‌اش است که دربرگیرندهٔ ژن DMD نیز می‌باشد. برای چنین حالتی امروزه اصلاح **سندرم ژنی مجاور** (Contiguous gene syndrome) را به‌کار می‌برند. آنالیز دقیق کروموزوم‌های پیش‌متافازی این حالت را تأیید کرد. DNA این فرد در مقادیر زیادی برای هیبریدسازی مجدد (reassociation) رقابتی تحت شرایط خاص مورد استفاده قرار گرفته که همراه با DNA افراد دارای چندین کروموزوم X انجام شد تا توالی‌های DNAای که در او حذف شده، تقویت شوند. اصطلاحاً به این روش، تکنیک باز اتصالی افزایش یافتهٔ فنولی (Phenol enhanced reassociation technique) یا pERT می‌گویند که امکان جداسازی کلون‌های DNA حاوی بخش‌هایی از ژن DMD را فراهم ساخت.

وجود یک ناهنجاری کروموزومی و یک بیماری تک‌ژنی با هم نادر می‌باشد، اما شناسایی چنین افرادی حائز اهمیت است زیرا منجر به کلون‌سازی چندین ژن بیماری مهم دیگر مثل توبروز اسکلروزیس و پولیپوز آدنوماتوز خانوادگی در انسان شده است.

ژن‌های کاندید (Candidate Genes)

جستجوی شبکه‌های اطلاعاتی برای ژن‌هائی که در بیماری‌زایی ناهنجاری‌های توارثی احتمالاً عملکرد دارند، نیز می‌تواند **ژن‌های کاندید** را پیشنهاد کند. اگر یک بیماری در یک ناحیه کروموزومی خاص نقشه‌برداری شده باشد، هر ژن نقشه‌یابی شده در آن ناحیه ژن کاندید موضعی است. اطلاعات الگوی بیان، زمان و توزیع انواع سلولی و بافتی ژن‌ها ممکن است پیشنهاد دهندهٔ این باشد که یک ژن یا چند ژن کاندید موضعی، مسئول ویژگی‌های فنوتیپی مشاهده شده در افراد مبتلا به یک ناهنجاری خاص تک‌ژنی می‌باشند. چندین برنامه کامپیوتری توسعه یافته‌اند که می‌توانند شبکه‌های اطلاعاتی توالی DNA ژنومی را جهت تشابه توالی با ژن‌های شناخته شده و نیز

توالی‌های خاص DNA مربوط به همهٔ ژن‌ها مثل توالی‌های اتصالات پیرایشی اگزون - اینترون حفظ شده، توالی‌های پروموتور، جایگاه‌های پلی‌آدنیلاسیون و قطعاتی از چارچوب بازخواندن (ORFs)، را جستجو نمایند. شناسایی یک ژن که با ژن شناخته شدهٔ دیگری (که عامل یک بیماری توارثی مشخص است) تشابه دارد، می‌تواند پیشنهاد کنندهٔ این باشد که ژن مربوطه یک ژن کاندید احتمالی برای سایر بیماری‌های توارثی با فنوتیپ مشابه است. برای مثال شناسایی جهش‌های ژن کانکسین ۳۶ (که یکی از پروتئین‌های سازندهٔ اتصالات باز بین سلول‌ها را کد می‌کند) به‌عنوان عامل نقص شنوایی حسی - عصبی یا ناشنوایی، باعث شناسایی سایر کانکسین‌های مسئول نقص شنوایی توارثی یا ناشنوایی شد.

آزمایشات تأییدی که یک ژن کاندید همان ژن بیماری است

جهش‌های ژن‌های کاندید را می‌توان با طیفی از روش‌ها، غربالگری و سپس با توالی‌یابی DNA تأیید کرد. یافتن جهش‌های فقدان عملکرد یا چندین جهش متفاوت که باعث ایجاد یک فنوتیپ می‌شوند شواهد متقاعدکننده‌ای را برای یک ژن کاندید بالقوه، در ارتباط با یک بیماری فراهم می‌کنند. برای مثال در نبود اطلاعات عملکردی نشان‌دهندهٔ اثر جهش p.Phe 508 del بر روی پروتئین CFTR، تأیید جهش‌های CFTR عامل فیبروز کیستی توسط جهش بی‌معنی p.Gly 542 X فراهم شد.

تأیید بیشتر با مشاهدهٔ اینکه ژن کاندید در بافت‌های مربوطه در مراحل مرتبط تکوینی بیان می‌شود، به‌دست آمد. تهیه یک حیوان مدل ترانسژنیک با ارائهٔ هدف‌گیری شدهٔ جهش درون ژن هملوگ در سایر گونه‌ها (که علائم فنوتیپی مشابه افراد مبتلا به بیماری‌های ژنتیکی را نشان می‌دهند) یا بازگرداندن یک فنوتیپ طبیعی با ترانسفکشن ژن نرمال به درون رده سلولی، تأیید نهایی را برای آنکه ژن کاندید و ژن بیماری یکسانند، فراهم نموده است.

نقشه ژن‌های انسانی

میزان نقشه‌برداری بیماری‌های تک‌ژنی و ژن‌های مرتبط با آنها در انسان به‌صورت تصاعدی افزایش یافته است (شکل ۶-۱). بسیاری از بیماری‌های منوژنی شایع و مهم از لحاظ بالینی نقشه‌یابی شده‌اند تا «آناتومی بیماری ژنوم انسان» تهیه شود (شکل ۳-۵).

پروژهٔ ژنوم انسان

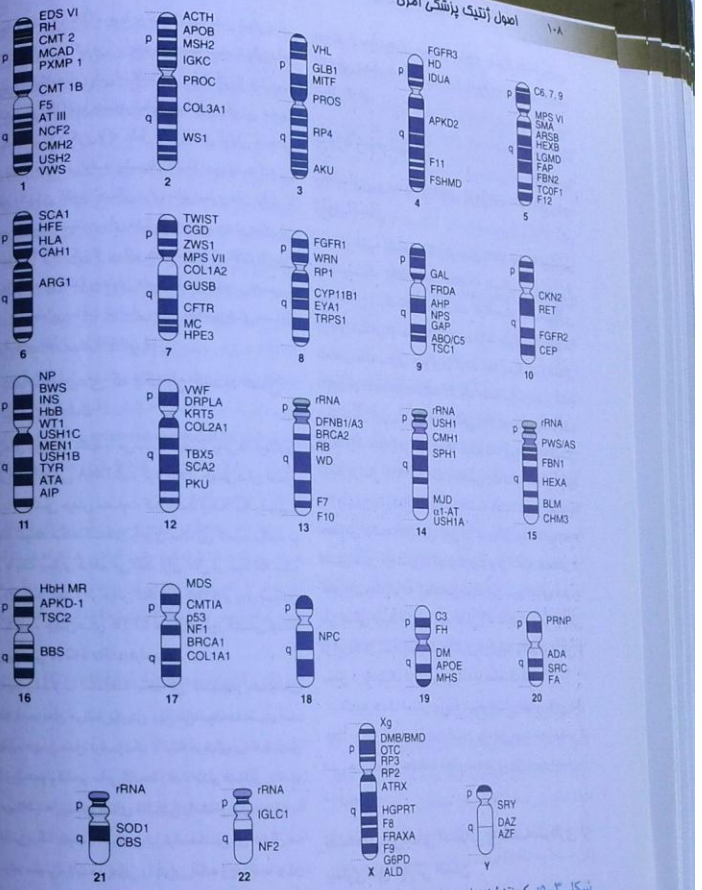
راه‌اندازی و سازمان‌دهی پروژهٔ ژنوم انسان

مفهوم نقشه ژنوم انسان در سال ۱۹۶۹ توسط ویکتور مک‌یوسیک (Victor Mckusick) (شکل ۵-۱) یکی از بنیان‌گذاران ژنتیک بالینی مطرح شد. کارگاه‌های نقشه‌برداری ژن‌های انسانی از سال ۱۹۷۳ به‌طور منظم برگزار شد تا داده‌های نقشه‌برداری جمع‌آوری گردند. ایدهٔ پروژهٔ ژنوم انسان (Human genome project) از یک جلسه سازمان‌دهی شده در ساختمان انرژی آمریکا در سانتافی (Sante Fe)، نیومکزیکو (New Mexico) در سال ۱۹۸۶ گرفته شد. پروژهٔ ژنوم انسان آمریکا در سال ۱۹۹۱ آغاز شد و تخمین زده شد که در حدود ۲/۷ بیلیون دلار آمریکا هزینه داشته باشد. سایر کشورها بخصوص فرانسه، انگلستان، ژاپن نیز به زودی برنامه‌های ژنوم انسان ملّی خودشان را آغاز کردند و در ادامه تعدادی از کشورهای دیگر نیز به آنها ملحق شدند. این پروژه‌های منفرد ملّی همگی توسط سازمان ژنوم انسان (که دارای سه مرکز: یکی در آمریکا در بتسدا (مریلند)، دیگری در اروپا واقع در لندن و سومی در پاسیلیک در توکیو می‌باشد)، هماهنگ شدند.

اگرچه هدف اصلی پروژهٔ ژنوم انسان توالی‌یابی کل 3×10^{9}bp (جفت باز) ژنوم انسان بود، این مورد تنها یکی از شش هدف اصلی تحقیقات انجام شده در پروژهٔ ژنوم انسان را شامل می‌شد.

نقشه‌های ژن‌های انسانی و نقشه‌برداری از بیماری‌های توارثی انسان

مراکز تخصصی نقشه‌یابی ژنوم با بودجه‌های کلان، در هماهنگی و تولید نقشه‌های فیزیکی و ژنتیکی (با نوترکیبی) ژنوم انسان نقش دارند. نقشه‌های ژنتیکی در ابتدا شامل تولید شاخصی با قدرت تفکیک نسبتاً کم بودند، اسکلت یا چارچوبی که بر اساس



شکل ۳-۵: یک نقشهٔ ژنی از ژنوم انسان با مثال‌هایی در مورد برخی از بیماری‌های تک‌ژنی و ژن‌های منفرد مهم و شایع.

α1-AT	14q32	α_1-Antitrypsin deficiency
ABO	9q34	ABO blood group
ACTH	2p25	Adrenocorticotrophic hormone deficiency
ADA	20q13.11	Severe combined immunodeficiency, ADA deficiency
AHP	9q34	Acute hepatic porphyria
AIP	11q23.3	Acute intermittent porphyria
AKU	3q2	Alkaptonuria

ادامه شکل ۳-۵

ALD	Xq28	Adrenoleukodystrophy
APKD1	16p13	Adult polycystic kidney disease, locus 1
APKD2	4q21-23	Adult polycystic kidney disease, locus 2
APOB	2p24	Apolipoprotein B
APOE	19q.13.2	Apolipoprotein E
ARG1	6q23	Arginase deficiency, argininemia
ARSB	5q11-13	Mucopolysaccharidosis type VI, Maroteaux-Lamy syndrome
AS	15q11-13	Angelman syndrome
ATA	11q22.3	Ataxia telangiectasia
ATIII	1q23-25	Antithrombin III
ATRX	Xq13	α-Thalassemia mental retardation
AZF	Yq11	Azoospermia factor
BBS2	16q21	Bardet-Biedl syndrome
BLM	15q26.1	Bloom syndrome
BRCA1	17q21	Familial breast/ovarian cancer, locus 1
BRCA2	13q12.3	Familial breast/ovarian cancer, locus 2
BWS	11p15.4	Beckwith-Wiedemann syndrome
C3	19p13.2-13.3	Complement factor 3
C5	9q34.1	Complement factor 5
C6	5p13	Complement factor 6
C7	5p13	Complement factor 7
C9	5p13	Complement factor 9
CAH1	6p21.3	Congenital adrenal hyperplasia, 21-hydroxylase
CBS	21q22.3	Homocystinuria
CEP	10q25.2-26.3	Congenital erythropoietic porphyria
CFTR	7q31.2	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CKN2	10q11	Cockayne syndrome 2, late onset
CMH1	14q12	Hypertrophic obstructive cardiomyopathy type 1
CMH2	1q3	Hypertrophic obstructive cardiomyopathy type 2
CMH3	15q22	Hypertrophic obstructive cardiomyopathy type 3
CMT1A	17p11.2	Charcot-Marie-Tooth disease type 1A
CMT1B	1q22	Charcot-Marie-Tooth disease type 1B
CMT2	1p35-36	Charcot-Marie-Tooth disease type 2
COL1A1	17q21.31-22	Collagen type I, α_1 chain, osteogenesis imperfecta
COL1A2	7q22.1	Collagen type I, α_2 chain, osteogenesis imperfect
COL2A1	12q13.11-13.2	Collagen type II, Stickler syndrome
COL3A1	2q31	Collagen type III, α_1 chain, Ehlers-Danlos syndrome type IV
CYP11B1	8q21	Congenital adrenal hyperplasia, 11β-hydroxylase
DAZ	Yq11	Deleted in azoospermia
DFNB1/A3	13q12	Non-syndromic sensorineural deafness, first recessive, third dominant locus
DM	19q13.2-13.3	Myotonic dystrophy
DMD/BMD	Xp21.2	Dystrophin, Duchenne and Becker muscular dystrophy
DRPLA	12p13.1-12.3	Dentatorubropallidoluysian disease
EDSVI	1p36.2-36.3	Ehlers-Danlos syndrome type VI
EYA1	8q13.3	Brachio-otorenal syndrome
F5	1q23	Coagulation protein V
F7	13q34	Coagulation protein VII
F8	Xq28	Coagulation protein VIII, hemophilia A
F9	Xq27.1-27.2	Coagulation protein IX, Christmas disease, hemophilia B
F10	13q34	Coagulation protein X
F11	Xq27.1-27.2	Coagulation factor XI
F12	5q33-qter	Coagulation factor XII
FAP	5q21-22	Familial adenomatous polyposis, Gardner syndrome
FBN1	15q21.1	Fibrillin-1, Marfan syndrome
FBN2	5q23-31	Fibrillin-2, contractural arachnodactyly
FGFR1	8p11.1-11.2	Fibroblast growth factor receptor 1, Pfeiffer syndrome
FGFR2	10q26	Fibroblast growth factor receptor 2, Crouzon, Pfeiffer, Apert syndrome
FGFR3	4p16.3	Fibroblast growth factor receptor 3, achondroplasia, thanatophoric dysplasia
FH	19p13.1-13.2	Familial hypercholesterolemia
FRAXA (FMR1)	Xq27.3	Fragile X mental retardation
FRDA	9q13-21.1	Friedreich ataxia

ادامه شکل ۳-۵

FSHMD	4q35	Facioscapulohumeral muscular dystrophy
GAL	9p13	Galactosemia
GAP	9q31	Basal cell nevus syndrome, Gorlin syndrome
GLB1	3p21.33	GM1 gangliosidosis
G6PD	Xq28	Glucose-6-phosphate dehydrogenase
GUSB	7q21.11	Mucopolysaccharidosis type VII, Sly syndrome
HbB	11p15.5	β-Globin gene
HD	4p16.3	Huntington disease
HEXA	15q23-24	Hexosaminidase A, Tay-Sachs disease
HEXB	5q13	Hexosaminidase B, Sandhoff disease
HFE	6p21.3	Hemochromatosis
HGPRT	Xq26-27.2	Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase, Lesch-Nyhan syndrome
HLA	6p21.3	Major histocompatibility locus
HPE3	7q36	Holoprosencephaly
IDUA	4p16.3	Mucopolysaccharidosis type I, Hurler syndrome
IGKC	2p12	Immunoglobulin κ light chain
IGLC1	22q11	Immunoglobulin λ light chains
INS	11p15.5	Insulin-dependent diabetes mellitus type 2
KRT5	12q11-13	Epidermolysis bullosa simplex, Koebner type
LGMD7	5q31	Limb-girdle muscular dystrophy
MCAD	1p31	Acyl coenzyme-A dehydrogenase, medium chain
MDS	17p13.3	Miller-Dieker lissencephaly syndrome
MEN1	11q13	Multiple endocrine neoplasia syndrome type 1
MHS	19q13.1	Malignant hyperpyrexia susceptibility, locus 1
MITF	3p14.1	Waardenburg syndrome type 2
MJD	14q24.3-31	Machado-Joseph disease, spinocerebellar ataxia type 3
MPS VI	5q11-13	Maroteaux-Lamy syndrome
MSH2	2p15-16	Hereditary non-polyposis colorectal cancer type 1
NCF2	1q25	Chronic granulomatous disease, neutrophil cytosolic factor-2 deficiency
NF1	17q11.2	Neurofibromatosis type I, von Recklinghausen disease
NF2	22q12.2	Neurofibromatosis type II, bilateral acoustic neuroma
NP	11p15.1-15.4	Niemann-Pick disease type A and B
NPC	18q11-12	Niemann-Pick disease type C
NPS	9q43	Nail-patella syndrome
OTC	Xp21.1	Ornithine transcarbamylase
p53	17p13.1	p53 protein, Li-Fraumeni syndrome
PKU	12q24.1	Phenylketonuria
PROC	2q13-14	Protein C, coagulopathy disorder
PROS	3p11.1-q11.2	Protein S, coagulopathy disorder
PRNP	20p12-pter	Prion disease protein
PWS	15q11	Prader-Willi syndrome
PXMP1	1p21-22	Zellweger syndrome type 2
RB	13q14.1-14.2	Retinoblastoma
RET	10q11.2	Familial medullary thyroid carcinoma, MEN 2A and 2B, familial Hirschsprung disease
RH	1p34-36.2	Rhesus null disease, Rhesus blood group
RP1	8p11-q21	Retinitis pigmentosa, locus 1
RP2	Xp11.3	Retinitis pigmentosa, locus 2
RP3	Xp21.1	Retinitis pigmentosa, locus 3
rRNA		Ribosomal RNA
SCA1	6p23	Spinocerebellar ataxia, locus 1
SCA2	12q24	Spinocerebellar ataxia, locus 2
SPH1	14q22-23.2	Spherocytosis type I
SMA	5q12.2-13.3	Spinal muscular atrophy
SOD1	21q22.1	Superoxide dismutase, familial motor neuron disease
SRY	Yp11.3	Sex-determining region Y, testis-determining factor

ادامه شکل ۳-۵

TBX5	12q21.3-22	Holt-Oram syndrome
TCOF1	5q32-33.1	Treacher-Collins syndrome
TRPS1	8q24.12	Trichorhinophalangeal syndrome
TSC1	9q34	Tuberous sclerosis, locus 1
TSC2	16p13.3	Tuberous sclerosis, locus 2
TYR	11q14-21	Oculocutaneous albinism
USH1A	14q32	Usher syndrome type IA
USH1B	11q13.5	Usher syndrome type IB
USH1C	11p15.1	Usher syndrome type IC
USH2	1q41	Usher syndrome type II
VWS	1q32	van der Woude syndrome
VHL	3p25-26	von Hippel-Lindau syndrome
VWF	12p13.3	von Willebrand disease
WD	13q14.3-21.1	Wilson disease
WRN	8p11.2-12	Werner syndrome
WS1	2q35	Waardenburg syndrome type 1
WT1	11p13	Wilms tumor 1 gene
ZWS1	7q11.23	Zellweger syndrome type 1

آن مشخص شد تکرارهای پشت‌سر هم پلی‌مورفیکی با تعداد متغیر دو، سه، و چهار نوکلئوتیدی در فواصلی حدوداً ۱۰ cM در سراسر ژنوم قرار دارند.

اطلاعات نقشه‌یابی به‌دست آمده از این نقشه‌های ژنتیکی با اطلاعات حاصل از نقشه‌های فیزیکی با قدرت تفکیک بالا ادغام شدند (شکل ۴-۵). دسترسی به اطلاعات دقیق نقشه‌های با تفکیک بالای فیزیکی و ژنتیکی، برای گروههای تحقیقاتی جداگانه که اغلب به یک بیماری یا گروهی از بیماری‌های توارثی خاص توجه دارند، امکان شناسایی دقیق‌تر و سریع‌تر موقعیت ژن یا نقشه‌برداری از یک ژن بیماری را در یک ناحیهٔ خاص کروموزومی فراهم می‌کنند.

پیشرفت تکنولوژی‌های جدید DNA

دومین هدف اصلی، توسعه فن‌آوری‌های جدید DNA برای تحقیق در مورد ژنوم انسان بود. برای مثال در شروع پروژهٔ ژنوم انسان، تکنولوژی مربوط به توالی‌یابی DNA بسیار وقت‌گیر، خسته‌کننده و نسبتاً هزینه‌بر بود. توسعه توالی‌یاب‌های موئینه خودکار یا بازدهی بالا و کیت‌های توالی‌یابی فلئورسنت قوی، سهولت و هزینهٔ پروژه‌های توالی‌یابی DNA در مقیاس بالا را دگرگون کردند.

توالی‌یابی ژنوم انسان

اگرچه توالی‌یابی کل ژنوم انسان ممکن است هدف اصلی پروژهٔ ژنوم به نظر رسیده باشد اما در ابتدا یک طرح ارائه شدهٔ مستقیم نبود. ژنوم انسان حاوی بخش‌های بزرگی از DNA تکراری است که از لحاظ تکنیکی به سختی کلون و توالی‌یابی می‌شوند. بعلاوه جمع‌آوری اطلاعات توالی کل ژنوم به نظر وقت تلف کردن است، زیرا تنها بخش کوچکی از ژنوم را توالی‌های بیان شده یا ژن‌ها تشکیل می‌دهند و بنابراین اهمیت بیولوژیکی دارند. همچنین بزرگی جنبهٔ توالی‌یابی کل ۳×۱۰^{۹} جفت باز ژنوم انسان بیش از حد نیاز به‌نظر می‌آمد.

با تکنولوژی‌های معمول توالی‌یابی همانند مواردی که در دههٔ ۱۹۹۰ به‌کار گرفته شدند، تخمین زده شد که یک تکنسین آزمایشگاه می‌تواند تقریباً تا ۲۰۰۰ bp در روز را توالی‌یابی کند.

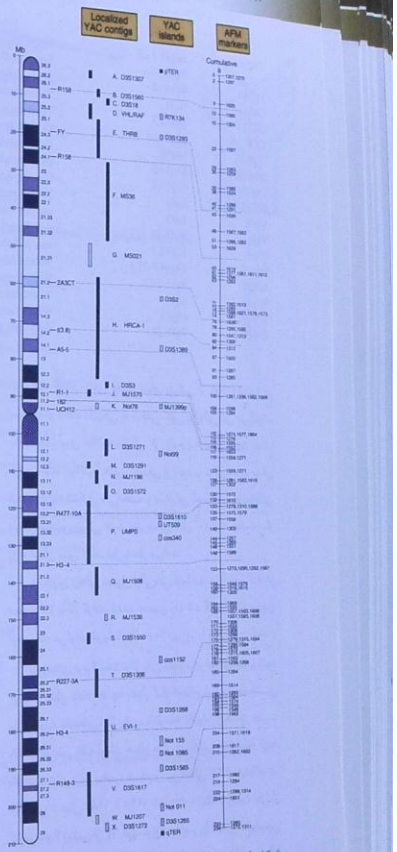
پروژه‌های دربرگیرندهٔ توالی‌یابی ژنوم سایر موجودات با ژنوم کوچکتر نشان دادند که چه مقدار کار انجام شده و همچنین میزان تولید داده‌های توالی‌یابی، با توسعه تکنولوژی‌های جدید DNA افزایش یافته است. به‌طور مثال در تلاش‌های اولیه تهیه داده‌های توالی ژنوم مخمر، همکاری بین‌المللی ۳۵ آزمایشگاه در ۱۷ کشور از سال ۱۹۸۹ تا ۱۹۹۵ تنها ۳۱۵,۰۰۰bp (جفت باز) از کروموزوم ۳ (یکی از ۱۶ کروموزوم مخمر را که ۱۴ میلیون جفت باز ژنوم مخمر را می‌سازند) توالی‌یابی شد. با این حال پیشرفت‌های تکنولوژی‌های DNA باعث شد تا اواسط ۱۹۹۵ نیمی از ژنوم مخمر، توالی‌یابی شده و در سال بعد توالی کامل ژنوم مخمر گزارش گردد.

پیشرفت‌های بیشتر در فن‌آوری‌های توالی‌یابی DNA منجر به انتشار توالی کامل نماتود سیانورابدیتیس الگانس (*Caenorabditis elegans*) در سال ۱۹۹۸ و ۵۰ میلیون جفت باز توالی DNA کروموزوم ۲۲ در انتهای سال ۱۹۹۹ شد. در نتیجهٔ این پیشرفت‌های تکنیکی، توالی طرح اولیه پروژه با پوشش ۹۰٪ ژنوم انسان در فوریه سال ۲۰۰۱ منتشر شد. توالی کامل شده (با بیش از ۹۹٪ پوشش) دو سال زودتر از برنامه در آوریل ۲۰۰۳، در پنجاهمین سالگرد کشف مارپیچ دورشته‌ای DNA اعلام شد. امروزه محققین به کاتالوگ کامل ۲۵،۰۰۰ تا ۳۰،۰۰۰ ژن دسترسی داشته و توالی ژنوم انسان در دهه‌های آتی زیربنای تحقیقات پزشکی زیستی خواهد بود.

اگرچه پروژه توالی‌یابی ژنوم انسان کامل شده است، اما تعدادی پروژه جدید در نتیجهٔ آن آغاز شده‌اند که از جمله پروژه‌های ژنوم سرطان، HapMap و ۱۰۰۰ ژنوم می‌باشند.

توسعه بیوانفورماتیک

بیوانفورماتیک (Bioinformatics) برای موفقیت کلی پروژهٔ ژنوم انسان ضروری بود. با استفاده از آن جمع‌آوری، ذخیره، سازمان‌دهی، تفسیر، آنالیز و برقراری ارتباط بین داده‌های حاصل از پروژه تسهیل گردید که می‌توانند به‌طور گسترده بین جوامع علمی به اشتراک گذاشته شود. برای هر فردی که در هر جنبه‌ای از پروژهٔ ژنوم انسان نقش داشت توانایی دسترسی آسان و سریع به اطلاعات حاصل از آن ضروری بود. این انتشار اطلاعات با تأسیس تعداد زیادی شبکه‌های اطلاعاتی الکترونیکی در دسترس، بر روی شبکه گسترده جهانی از طریق اینترنت فراهم شد (به ضمیمه مراجعه کنید). این شبکه‌ها شامل شبکه‌های اطلاعاتی توالی DNA و پروتئین (مثل EMBL و GenBank)، شبکه‌های اطلاعاتی نقشه‌های ژنتیکی انسان (مثل GDB، Genethon، CEPH، CHLC و پایگاه‌های مؤسسه Whitehead) و در مورد سایر گونه‌ها (شبکه داده‌های ژنوم موش و شبکه داده‌های C. elegans)، برنامه‌های آنالیز پیوستگی (مثل شبکه جهانی دانشگاه راکفلر)، شبکهٔ داده‌های ژنومی تفسیر شده (Ensembl و بیوانفورماتیک ژنوم UCSC) و کاتالوگ بیماری‌های توارثی در انسان (یا OMIM) می‌باشند.



شکل ٤-٥: خلاصه‌ای از نقشه کروموزوم ۲ انسان، که اندازهٔ آن ۲۱۰Mb تخمین زده شده است. داده‌های نقشه‌برداری فیزیکی توسط ۲۳ کانتیگ YAC با داده‌های نقشه ژنتیکی Genetghan حاصل از فواصل تجمعی نقشه، ادغام شده‌اند.

امروزه پیشرفت‌ها در بیوانفورماتیک امکان شناسایی توالی‌های کدکننده و تعیین عملکردهای احتمالی آنها را بر اساس تشابه‌شان با ژن‌های شناخته شده را فراهم ساخته و منجر به تعیین ژن‌های جدید بدون نیاز به کار عملی آزمایشگاهی شده است، بنابراین به آن "Cloning in Silico" می‌گویند.

ژنومیک مقایسه‌ای (*Comparative Genomics*)

علاوه بر پروژه ژنوم انسان چندین پروژه جداگانه برای تعدادی از گونه‌های دیگر که به نام موجودات مدل شناخته می‌شوند، در دست انجام می‌باشند. این موجودات شامل موجودات پروکاریوتی متنوع مثل باکتری *E.coil* و هموفیلوس آنفلونزا و نیز موجودات یوکاریوتی مثل ساکاروسیس سروزیه (مخمر)، *C. elegans* (کرم پهن) *Drosophila melanogaster* (مگس سرکه)، *Fugu rubripes rupripes* (رت)، *Rattus norvegicus* (ماهی پفکی)، پشه، *Mus musculus* (موش) و *Zebrafish* می‌باشند. این پروژه‌های ژنومی مقایسه‌ای بسیاری از ژن‌های جدید را شناسایی کرده و در پروژهٔ ژنوم انسان اهمیت قابل توجهی داشته‌اند زیرا نقشه‌برداری همولوگ‌های انسانی «ژن‌های کاندید» جدیدی را در بیماری‌های توارثی انسان مشخص می‌کنند.

ژنومیک عملکردی (Functional Genomics)

دومین مسیر اصلی (که ثابت می‌کند موجودات مدل در پروژهٔ ژنوم انسان ارزشمند می‌باشند) پیگیری بیان ژن‌ها و عملکرد محصولات پروتئینی آنها در تکوین طبیعی و نیز نقص عملکرد آنها در بیماری‌های توارثی است. به این مورد اصطلاحاً **ژنومیک عملکردی** گفته می‌شود.

توانایی وارد کردن جهش‌های هدف‌گیری‌شده در ژن‌های خاص به همراه تولید حیوانات ترانسژنیک مثلاً موش، امکان ایجاد موجودات مدل برای مطالعه اساس تکوینی - پاتولوژی بیماری‌های توارثی انسان را فراهم کرده است. همانگونه که می‌تواند به‌عنوان یک سیستم آزمایشی برای ارزیابی کارآیی و امنیت ژن درمانی و سایر روش‌های درمانی مورد استفاده قرار گیرد. در استراتژی‌هایی که از موجودات مدل به روش مکملی استفاده می‌کنند، عواملی همچون سهولت و پیچیدگی تولید حیوانات ترانسژنیک و زمان تولید گونه‌های مختلف در نظر گرفته شد. بنابراین امکان آنالیز نسبتاً سریع بیان، عملکرد و تعاملات ژنی را در درک پاتوبیولوژی پیچیدهٔ بیماری‌های توارثی انسان، فراهم می‌کنند.

جنبه‌های اخلاقی، قانونی و اجتماعی پروژه ژنوم انسان

پیشرفت‌های سریع در علم و کاربرد توسعه پروژهٔ ژنوم انسان موارد اخلاقی پیچیده‌ای را در سطح فردی و جامعه مطرح می‌کنند. این موارد شامل مشکلات آنی عملی می‌باشند مثل اینکه چه کسی و چطور (با توجه به مسائل شخصی و محرمانه بودن) می‌تواند اطلاعات ژنتیکی را کنترل کند، چه کسی می‌تواند به آنها دسترسی داشته و چگونه می‌تواند دسترسی داشته باشد و دیگر اینکه آیا می‌تواند در دسترس کارفرماها، مدارس و غیره قرار گیرد، اثرات روحی - روانی و بدنامی‌های بالقوه اجتماعی در افرادی که دارای نتیجه آزمایشات ژنتیکی مثبت می‌باشند و استفاده از آزمایشات ژنتیکی در تصمیم‌گیری تولیدمثلی است. سایر موارد دربرگیرندهٔ مفهوم ناتوانی‌ها / تفاوت‌هایی است که اساس ژنتیکی داشته و در ارتباط با درمان بیماری‌های ژنتیکی، ژن درمانی بیماری‌ها و بهبود صفات ژنتیکی (به عبارتی استفاده از ژن درمانی برای تأمین بعضی صفات خاص مثل افزایش قد) می‌باشند. در آخر مواردی باید در رابطه با مناسب و عادلانه بودن استفاده از تکنولوژی‌های ژنتیکی حاصل از پروژه ژنوم انسان در نظر گرفته شوند که اولویت در استفاده از منابع عمومی، تجاری‌سازی و در نظر گرفتن حقوق مالکیت بخصوص در مورد گرفتن حق امتیاز می‌باشد.

مطالعات بیشتر

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW 1980 Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet 32:314-331

Sulston J 2002 The common thread: a story of science, politics, ethics and the human genome. London: Joseph Henry Press

A personal account of the human genome sequencing project by the man who led the UK team of scientists.

One of the original papers describing the concept of linked restriction fragment length polymorphisms.

Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, et al 1989 Identification of the cystic fibrosis gene. Genetic analysis. Science 245:1073-1080

Original paper describing cloning of the cystic fibrosis gene.

McKusick VA 1998 Mendelian inheritance in man, 12th ed. Johns Hopkins University Press, London

A computerized catalog of the dominant, recessive, and X-linked mendelian traits and disorders in humans with a brief clinical commentary and details of the mutational basis, if known. Also available online, updated regularly.

Ng SB, Buckingham KJ, Lee C et al 2010 Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. Nat Genet 42:30-35

The first publication describing the use of next generation sequencing to elucidate the genetic aetiology of Miller syndrome.

Royer-Pokora B, Kunkel LM, Monaco AP, et al 1985 Cloning the gene for an inherited human disorder-chronic granulomatous disease-on the basis of its chromosomal location. Nature 322: 32-38

Original paper describing the identification of a disease gene through contiguous chromosome deletions.

Strachan T, Read AP 2011 Human molecular genetics, 4th ed. London: Garland Science

A comprehensive textbook of all aspects of molecular and cellular biology as related to inherited disease in humans.

نکات مهم

۱ـ روش‌های مستقل از موقعیت برای شناسایی بیماری‌های منوژنی شامل کلون‌سازی عملکردی جهت تعیین ژن‌ها بر اساس اطلاعات توالی پروتئینی و استفاده از مدل‌های حیوانی است. تکنیک‌های به‌کار رفته برای شناسایی افزایش تکرارهای سه نوکلئوتیدی جدید، منجر به تعیین لکوس بیماری SCA8 شد.

۲ـ کلونینگ موضعی تعیین یک ژن را بر اساس موقعیت‌اش در ژنوم انسان فراهم می‌کند. ناهنجاری‌های کروموزومی ممکن است با جلب توجه به نواحی کروموزومی خاص به این روش کمک نمایند. شبکه‌های اطلاعاتی ژنتیکی توالی ژنوم انسان اکنون شناسایی ژن‌ها را به صورت in silico به واقعیت تبدیل کرده است.

۳ـ تأیید اینکه یک ژن خاص مسئول یک بیماری توارثی ویژه است با استفاده از مطالعات بیان تکوینی و بافتی، مطالعات کشت سلولی در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) یا ارائه و آنالیز جهش‌ها در یک ژن همولوگ در سایر گونه‌ها به‌دست می‌آید. بنابراین در نتیجهٔ آن «آناتومی بیماری ژنوم انسان» به‌طور پیوسته در حال مشخص شدن می‌باشد.

۴ـ یکی از اهداف پروژه ژنوم انسان توالی‌یابی ژنوم انسان بود. توالی‌یابی در یک کنسرسیوم بین‌المللی در سال ۲۰۰۳ کامل شد و شناسایی ژن‌های بیماری انسان را بسیار تسهیل نمود.

۵ـ توسعه روش‌های توالی‌یابی کلونال نسل آینده، شناسایی ژن‌های بیماری تک‌ژنی جدیدی را تسهیل نموده است.

ژنتیک تکوین

تاریخچه بشر در نه ماه قبل از تولدش، احتمالاً جالب‌تر و دارای وقایع خیلی مهم‌تری از هفتاد سال پس از آن می‌باشد.

«Samuel Taylor coleridge»

در زمان لقاح، هسته یک اسپرم به غشاء سلولی یک تخمک نفوذ می‌کند تا یک زیگوت ایجاد شود. این تخم تک‌سلولی به دو، سپس چهار سلول تقسیم شده، در ادامهٔ تقسیم‌ها و دو برابر شدن سلول‌ها تا حدود ۵۰ بار، ارگانیسمی با حدود ۲۰۰ نوع سلول متفاوت و تعداد کلی حدوداً ۱۰،۰۰۰ تریلیون سلول ایجاد خواهد شد. این ارگانیسم یک انسان کامل با یک فیزیولوژی و بیوشیمی پیچیده است که می‌تواند به اکتشاف جهان رفته و ذرات ریز اتمی (subatomic) را شناسائی کند. تعجب‌برانگیز نیست که بیولوژیست‌ها و متخصصین ژنتیک محسور مکانیسم‌های اولیه تکوین می‌باشند و با اینکه اسرار زیادی باقیمانده، میزان پیشرفت در درک وقایع مهم و مسیرهای پیام‌رسانی، سریع است.

یک جنین پس از حدود هفته ۱۲ حاملگی (سه ماهه اول حاملگی) یک انسان قابل تشخیص است. تکوین طبیعی نیاز به یک محیط مادری مناسب داشته اما ثبات ژنتیکی، اهمیت بنیادی دارد. این مورد در زمینهٔ ژنتیک تکوین بررسی می‌شود. اکثر آنچه که ما در مورد فرآیندهای مولکولی می‌دانیم به‌طور اجتناب‌ناپذیری از مطالعه مدل‌های حیوانی به‌خصوص موش (که از لحاظ ژنوم خیلی نزدیک به ما می‌باشد)، به دست آمده‌اند.

زندگی پیش از تولد را می‌توان به سه مرحله اصلی تقسیم کرد: **پیش‌رویانی**، **رویانی** و **جنینی** (جدول ۱ـ۶). طی مرحله پیش‌رویانی مجموعه کوچکی از سلول‌ها قابل تشخیص‌اند. در ابتدا به صورت یک **دیسک دولایه‌ای** یا (Bilaminar disk) می‌باشد سپس به صورت یک **صفحه سه‌لایه** یا (trilaminar disc) درمی‌آید (شکل ۱ـ۶)، که سرنوشت آن تکوین یافتن به یک جنین انسانی است. طی مرحلهٔ رویانی محورهای قدامی ـ خلفی، پشتی ـ شکمی و پروکسیمو ـ دیستال ایجاد می‌شوند و تجمعات سلولی و تمایز منجر به تشکیل بافت و اندام می‌گردد. مرحله نهائی جنینی با رشد سریع و تکوین رویان شناخته می‌شود که به صورت یک نوزاد انسانی زنده متولد می‌شود.

به‌طور متوسط این فرآیند خارق‌العاده تقریباً ۳۸ هفته طول می‌کشد. به‌صورت قراردادی حاملگی معمولاً از اولین روز آخرین دورهٔ قاعدگی در نظر گرفته می‌شود که معمولاً حدود ۲ هفته پیرامون زمان لقاح می‌باشد. پس دورهٔ حاملگی طبیعی اغلب (و به اشتباه) ۴۰ هفته اعلام می‌گردد.

لقاح و گاستروﻻسیون

لقاح فرآیندی که طی آن گامت‌های مرد و زن با هم ادغام می‌شوند، در لولهٔ فالوپ رخ می‌دهد. از ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلیون اسپرم رها شده در مجرای واژن زن، تنها چند صد اسپرم می‌توانند به جایگاه لقاح برسند. از این تعداد معمولاً فقط یک اسپرم موفق می‌شود که ابتدا از لایه کورونا رادیاتا (Corona radiate) و سپس از زونا پلوسیدا (Zona pellucida) گذشته و در نهایت از غشاء سلولی اووسیت عبور کند، همزمان اووسیت دومین تقسیم میوزی‌اش را کامل می‌کند (شکل ۱۵–۳). پس از آنکه اسپرم به داخل اووسیت نفوذ کرد فرآیند میوزی کامل شده است، دو هسته که اکنون به نام پیش هسته شناخته می‌شوند با هم ادغام شده، بنابراین دوباره تعداد دیپلوئیدی ۴۶ کروموزوم را حفظ می‌کند. این فرآیند یک مواجهه مولکولی تصادفی است که با احتمال بالائی با شکست مواجه می‌شود، همانطور که در مشاهدات به دست آمده از رویان‌های اولیه انسانی در برنامه‌های لقاح خارج رحمی (*in-vitro fertilization*)، مشخص شده است. این فرآیند را شاید بتوان (که البته تا حدی مقایسه‌ای وارونه است) با پروسه «Speed dating» [یک سازمان رسمی که به همسران احتمالی امکان یک مکالمه کوتاه در رابطه با مسائل مورد علاقه‌شان را می‌دهد] مقایسه کرد، یعنی یک تست همسریابی که تنها براساس یک مکالمه چند دقیقه‌ای تصمیم بگیرند با هم سازگارند یا خیر!

تکوین بسیار اولیه رویانی و سلول زایشی دو دوره‌ای می‌باشند که با تغییرات گستردهٔ الگوهای متیلاسیون DNA (یا همان باز برنامه‌ریزی اپی‌ژنتیکی) مشخص می‌شوند. سلول‌های زایشی اولیه (primordial germ cells) به‌طور کلی زمانی که بالغ می‌گردند دمتیله شده و سپس طی گامت‌زائی، از نو (de novo) متیله می‌شوند و در این زمان بیشترین **نشان‌گذاری‌های** متیلاسیون DNA ایجاد می‌گردند. پس از لقاح دومین موج تغییرات اتفاق می‌افتد. اووسیت به سرعت نشان‌گذاری‌های متیل را از DNA اسپرم حذف می‌کند که موجب تنظیم مجدد ساعت کنترلی تکوین در نقطه آغاز می‌شود. در مقابل ژنوم مادری به‌طور غیرفعال‌تری، دمتیله می‌شود به‌طوری که علائم نشان‌گذاری در مقابل دمتیلاسیون مقاومت می‌کنند. موج سوم متیلاسیون از نو (*de novo*) الگوی متیلاسیون DNA سلول سوماتیکی را پس از لانه‌گزینی، ایجاد می‌کند. این حالت‌های مختلف متیلاسیون، زمانی که دو ژنوم متفاوت در کنار هم قرار می‌گیرند به تنظیم اینکه کدام ژن‌ها فعال باشند (یا بیان شوند) کمک می‌کنند.

تخمک لقاح یافته یا زیگوت وارد یک سری تقسیمات میتوزی می‌شود که در مدت ۳۰ ساعت دو سلول، در ۴۰ ساعت چهار سلول و در سه روز ۱۲ تا ۱۶ سلول (که در این مرحله به عنوان مورولا شناخته می‌شود) ایجاد می‌شود. نکته مهم در تکوین در تمام مراحل، وجود **قطبیت** (polarity) درون‌گروه‌های سلولی است ـ بخشی از فرآیند تمایز که چندین نوع سلول را با ماهیت‌های منحصر به فرد ایجاد می‌کند. اگرچه

جدول ۱ـ۶ وقایع اصلی در تکوین یک نوزاد انسانی

مرحله	زمان پس از لقاح	طول بدن رویان / جنین
پیش‌رویانی		
اولین تقسیم سلولی	۳۰ ساعت	
زیگوت به حفره رحمی می‌رسد	۴ روز	
لانه‌گزینی	۵-۶ روز	
تشکیل دیسک دولایه	۱۲ روز	۰/۲mm
ایونیزاسیون در دخترها	۱۶ روز	
تشکیل دیسک سه‌لایه و شیار اولیه	۱۹ روز	۱mm
مرحله رویانی		
ارگانوژنز (اندام‌زائی)	۴-۸ هفته	
تشکیل مغز، طناب نخاعی و اولین علائم قلب و جوانه‌های دست و پا	۴ هفته	۴mm
مغز، چشم، قلب و دست و پا به سرعت رشد کرده و روده‌ها و ریه شروع به تکوین می‌کنند	۶ هفته	۱۷mm
انگشتان ظاهر شده، گوش‌ها، کبد، کلیه‌ها و عضلات تشکیل می‌شوند	۸ هفته	۴cm
کام بسته شده و مفاصل شکل می‌گیرند	۱۰ هفته	۶cm
تمایز جنسیتی تقریباً کامل می‌شود.	۱۲ هفته	۹cm
مرحله جنینی		
حرکات جنینی حس می‌شوند	۱۸-۱۶ هفته	۲۰cm
پلک‌ها باز شده، جنین با کمک مراقبت‌های ویژه زنده می‌ماند	۲۶-۲۴ هفته	۳۵cm
افزایش وزن سریع به‌دلیل رشد و انباشته‌شدن چربی همزمان با بلوغ ریه‌ها	۳۸-۲۸ هفته	۴۰-۵۰cm

مکانیسم دقیق آن هنوز مشخص نیست، مشاهدات پیشنهاد می‌کنند که این فرآیند از همان ابتدا شروع می‌شود به‌طوری که در تخم لقاح یافته موش محل ورود اسپرم، جایگاه اولین تقسیم سلولی (تسهیم) را تعیین می‌کند. این پدیده بنیادی، اولین مرحله در تکوین محورهای به اصطلاح پشتی ـ شکمی یا محور اولیه بدن در رویان می‌باشد.

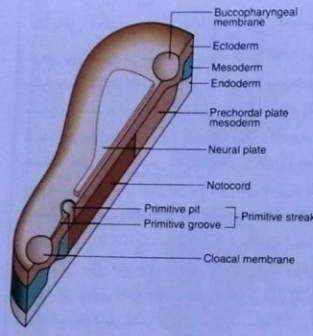
تقسیم سلولی بعدی منجر به تشکیل **بلاستوسیست** (blastocyst) شده که دارای یک توده سلولی داخلی یا **امبریوبلاست** (embryoblast) است که به رویان تبدیل می‌شود و یک لایه سلول خارجی یا **تروفوبلاست** (trophoblast) می‌باشد که جفت را ایجاد می‌کند. فرآیند تبدیل تودهٔ سلولی داخلی در ابتدا به یک صفحه دولایه‌ای و سپس سه‌لایه‌ای (شکل ۱ـ۶) تحت عنوان **گاسترولاسیون** (gastrulation) شناخته می‌شود و بین هفته‌های دوم و اواخر هفته سوم حاملگی رخ می‌دهد.

بین هفته‌های ۴ و ۸ حاملگی شکل بدن ایجاد شده که در ابتدا با تشکیل شیار اولیه در انتهای خلفی رویان آغاز می‌شود. لایه‌های زایشی دیسک سه‌لایه‌ای ساختارهای **اکتودرمی، مزودرمی و اندودرمی** را ایجاد می‌کنند (کادر ۱ـ۶). لوله عصبی تشکیل شده و سلول‌های ستیغ عصبی مهاجرت می‌کنند تا گانگلیاهای حسی، سیستم عصبی سمپاتیک، سلول‌های رنگدانه‌ای و اجزاء استخوانی و غضروفی صورت و قوس‌های حلقی را ایجاد کنند.

بیماری‌های دربرگیرندهٔ سلول‌های با منشاء ستیغ عصبی مثل نوروفیبروماتوز گاهی به عنوان **نوروکریستوپاتی** (neurocristopathies) در نظر گرفته می‌شوند. این دورهٔ بین هفته‌های ۴ و ۸ حاملگی به عنوان دورهٔ اندام‌زائی (organogenesis) توصیف می‌شود زیرا طی این فاصله زمانی کل اندام‌های اصلی بدن همزمان با پیشرفت اختصاصیت در جهت پائین‌محور قدامی ـ خلفی بدن رویان، شکل می‌گیرند.

خانواده‌های ژنی تکوینی

اطلاعات در مورد عوامل ژنتیکی دخیل در آغاز، حفظ و هدایت جنین‌زائی ناقص می‌باشد. با این حال در مطالعات گستردهٔ ژنتیکی با استفاده از مگس سرکه دروزوفیلا ملانوگاستر و



شکل ۱ـ۶: تصویر شماتیکی یک دیسک سه‌لایه‌ای که بخش‌های آن در طول محور قدامی انتهائی مشخص شده‌اند. سلول‌ها در لایه اکتودرمی آینده (لایه بالائی) از طریق شیار اولیه مهاجرت می‌کنند تا اندودرم (لایه پائینی) و مزودرم (آبی‌رنگ) را ایجاد کند. تشکیل صفحه عصبی توسط اکتودرم که به سیستم عصبی مرکزی تمایز پیدا می‌کند. دربرگیرندهٔ پیام‌رسانی Sonic hedgehog در نوتوکورد و مزودرم سطح پری‌کوردیال می‌باشد.

کادر ۱ـ۶ منشاء اندام‌ها و بافت‌ها

اکتودرم
- سیستم عصبی مرکزی
- سیستم عصبی محیطی
- پوست شامل مو و ناخن‌ها
- غدد زیرپوستی
- مینای دندان

مزودرم
- بافت پیوندی
- غضروف و استخوان
- ماهیچهٔ صاف و مخطط
- سیستم قلبی ـ عروقی
- سیستم ادراری ـ تناسلی

اندودرم
- تیموس و تیروئید
- سیستم گوارشی (معده‌ای ـ روده‌ای)
- پانکراس و کبد

بیشتر بدانیم ۶.۱ نقایص تکوین سلول‌های ستیغ عصبی (نوروکریستوپاتی)

در طی نورولاسیون، در حین جدا شدن لولهٔ عصبی (Neural tube) از لایه اکتودرم، دسته‌ای از سلول‌ها موسوم به سلول‌های ستیغ عصبی (neural crest cells) جدا شده و در مسیرهای از پیش تعیین شده به بافت‌های مختلف مهاجرت می‌کنند و پس از رسیدن به مقصد به انواع مختلفی از سلول‌ها تمایز می‌یابند (شکل ۱). یکی از مسیرهای مهاجرت سلول‌های ستیغ عصبی عزیمت این سلول‌ها به رودهٔ کوچک و رودهٔ بزرگ و تجمع در آن جا و ایجاد سیستم عصبی روده‌هاست (شکل ۲). اعصاب حاصله تا حدی حرکات طبیعی مجاری روده‌ای را کنترل و هماهنگ می‌کنند و بدین طریق باعث تسهیل در گوارش و انتقال محتویات روده می‌شوند. فقدان این نوع سلول‌های عصبی و یا تعداد اندک آنها در مجاری روده باعث ناهنجاری خاصی موسوم به **بیماری هیرشبرونگ (HSCR= Hirschsprung disease)** می‌شود.

میزان بروز HSCR یک نفر در هر ۵۰۰۰ تولد زنده است، اگر چه بروز بیماری در میان گروه‌های نژادی مختلف متغیر است. علاوه بر این میزان ابتلا در مردان چهار برابر زنان است. ویژگی مهم HSCR تحرک اندک روده است، که باعث یبوست شدید می‌شود. این بیماری اغلب در تازه متولدین ظاهر می‌شود، اگرچه آن را می‌توان در کودکان و گاهی در بزرگسالان نیز یافت. اگر تحرک کم روده درمان نشود، می‌تواند منجر به مسدود شدن و تورم شدید روده شود. به همین دلیل این بیماری را «بزرگ روده مادرزادی» (congenital megacolon) می‌نامیدند.

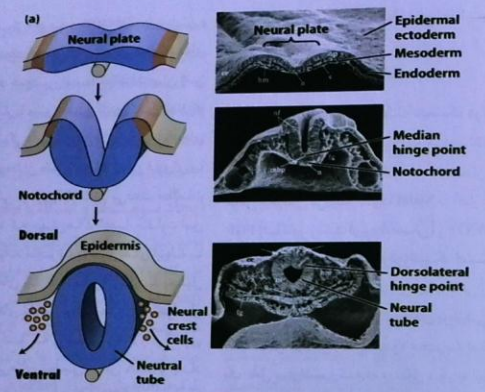
۷۰ درصد موارد HSCR، به‌صورت ایزوله (غیرسندرومی) بوده و افراد مبتلا هیچ مشکل دیگری ندارد. اگرچه HSCR همچنین می‌تواند یکی از علائم سندرم نقایص چندگانه تولد، مانند ترایزومی ۲۱ و سندرم واردنبرگ باشد. در طی چند دهه اخیر HSCR به‌صورت یک ناهنجاری با توارث چند عاملی در نظر گرفته می‌شد. اگرچه مشخص شده نیمی از موارد HSCR ارثی و ۲۰ تا ۱۵ درصد موارد اسپورادیک، در اثر جهش در یکی از حداقل ۸ ژن مختلف ایجاد می‌شوند. مطالعهٔ این ژن‌ها زمینه‌ای را برای درک نحوه تکوین سلول‌های ستیغ عصبی فراهم آورده است.

شایع‌ترین علت ایجاد HSCR، جهش غیرفعال کننده در ژن RET (rearranged during transfection) است. این ژن یک گیرنده تیروزین کینازی را کد می‌کند (جهش‌های فعال‌کننده RET سبب ایجاد سرطان می‌شوند). انواع مختلفی از جهش‌ها شامل جهش‌های بدمعنی، بی‌معنی و حذف می‌توانند باعث فعال شدن ژن RET شوند. بنابراین عدم کفایت هاپلو (haploinsufficiency) محتمل‌ترین مکانیسمی است که به وسیله آن جهش در RET سبب HSCR می‌شود. نفوذ جهش‌های RET در مردان بیشتر از زنان است که وجود تعدیل‌کننده‌های فنوتیپی وابسته به جنس (Sex specific modifiers of phenotype) را مطرح می‌کند.

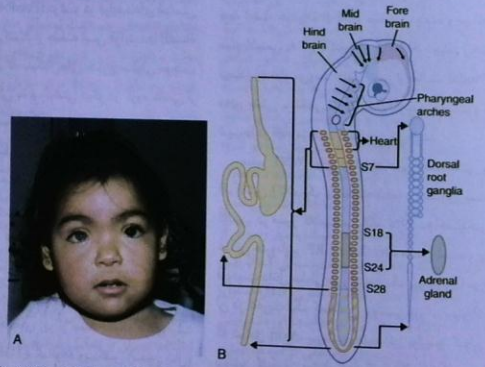
به نظر می‌رسد که سیگنال‌دهی از طریق RET برای مهاجرت سلول‌های ستیغ عصبی به نقاط دور روده و تمایز آن به سلول‌های عصبی ضروری است. لیگاندهای RET برای مهاجرت سلول‌های ستیغ عصبی به نقاط دور روده و تمایز آن به سلول‌های عصبی لازم می‌باشند. یکی از لیگاندهای RET پروتئین GDNF (glial cell line derived neurotrophic factor) است.

جهش در دیگر گیرنده‌های غشایی همجون EDNRB (endothelin-B) و یا لیگاند آن که EDN3 (endothelin-3) نام دارد نیز سبب HSCR می‌شود. نفوذ این جهش‌ها با توجه به ژنوتیپ و جنسیت متغیر است. برخی از افراد دارای جهش در EDNRB و EDN3 علاوه بر HSCR، دارای نقایص مربوط به ملانوسیت‌ها نیز هستند که باعث می‌شود پوست آنها دارای نواحی با رنگدانه‌بندی اندک (هیپوپیگمانتاسیون) بوده و دچار ناشنوایی حسی ـ عصبی شوند (وجود ملانوسیت‌ها برای تکوین شنوایی ضروری است). به این ناهنجاری **سندرم واردنبرگ – شه (Waardenburg – shah)** گفته می‌شود. سیگنال‌دهی EDN3/EDNRB برای تکوین سلول‌های ستیغ عصبی به سلول‌های عصبی روده‌ای و ملانوسیت‌ها ضروری است.

اخیراً مشخص شده است که جهش در ژن عامل رونویسی SOX10 نیز می‌تواند منجر به سندرم واردنبرگ ـ شه شود. اختلال در ژن موشی SOX10 می‌تواند باعث ایجاد لکه‌های پوستی و مگاکولون فاقد گانگلیون شود. اگرچه باید نقش SOX10 در تکوین سلول‌های ستیغ عصبی دقیقاً مشخص شود.



شکل ۱ـ نحوه ایجاد لوله عصبی (Neural tube) از اکتودرم اپیدرمی در فرآیند نورولاسیون. بر اثر القا نوتوکورد زیرین اکتودرم ضخیم شده و تبدیل به صفحهٔ عصبی (neural plate) می‌شود. با ضخیم‌شدن تدریجی، صفحه عصبی رو به درون خم می‌شود و در نهایت در اثر جداشدن از اپیدرم رویی به لوله عصبی تبدیل می‌شود. در اثر ایجاد لولهٔ عصبی تعدادی سلول نیز جدا شده و به قسمت‌های مختلف بدن مهاجرت می‌کنند، به این سلول‌ها، ستیغ عصبی (neural crest) می‌گویند.



شکل ۲ـ سرنوشت برخی از سلول‌های ستیغ عصبی که در طول محور خلفی ـ قدامی (anterior - posterior axis) در جنین در حال تکوین، مهاجرت می‌کنند. سرنوشت صحیح سلول‌های ستیغ عصبی به مهاجرت سلولی طبیعی آنها و تمایز نهایی آنها بستگی دارد. نقایص سلول‌های ستیغ عصبی می‌تواند سبب ایجاد بیماری هیرشبرونگ و یاسندرم واردنبرگ ـ شه شود.

منابع:

Jorde BL, Carey JC, Bamshad MJ, Medical Genetics, (4th ed.) Mosby, 2010.

مهره‌دارانی مثل موش، جوجه و Zebrafish، چندین ژن و خانواده ژنی تعیین شده‌اند که نقش‌های مهمی در فرآیندهای اولیه تکوینی دارند. همچنین توسط مطالعات بیان ژنی طاقت‌فرسا چندین آبشار یا مسیر تکوینی کلیدی تعیین شدند که بررسی جزئیات و پیچیدگی‌های بیشتر آن ادامه دارد. خانواده‌های ژنی تعیین شده در مهره‌داران معمولاً تشابه توالی قوی‌ای با ژن‌های تنظیمی تکوینی در دروزوفیلا نشان می‌دهند. مطالعات در انسان نشان داده‌اند که جهش‌ها در اعضاء متفاوت این خانواده‌های ژنی می‌توانند منجر به بدشکلی‌های ایزوله یا سندرم‌های نامتجاری‌های چند گانه مادرزادی گردند (جدول ۱۶-۵). بسیاری از ژن‌های تکوینی پروتئین‌هائی به نام **عوامل رونویسی** ایجاد می‌کنند که رونویسی RNA را از الگوی DNA با اتصال به توالی‌های تنظیمی خاص DNA و ایجاد کمپلکس‌هائی که رونویسی را توسط RNA پلیمراز آغاز می‌کنند، کنترل می‌نمایند. عوامل رونویسی می‌توانند با فعال یا مهار کردن بیان ژن، ژن‌ها را روشن یا خاموش کنند. احتمالاً عوامل رونویسی مهم، بسیاری از ژن‌های دیگر را در آبشارها و حلقه‌های بازخورد (Feedback) درگیر در فرآیندهای اساسی روبانی را کنترل می‌کنند از جمله این فرآیندها **القاء (induction)** (فرآیندی که سیگنال‌های خارج سلولی موجب تغییر یک سرنوشت سلولی به سرنوشتی دیگر در گروه خاصی از سلول‌ها می‌شود)، **سگمانتاسیون** (قطعه قطعه شدن؛ Segmentation)، **مهاجرت**، **تمایز** و **مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده** (یا عنوان آپاپتوز) می‌باشند. تصور می‌شود این فرآیندها توسط فاکتورهای رشد، گیرنده‌های سلولی و مواد شیمیائی شناخته شده به عنوان **مورفوژن‌ها** صورت می‌گیرند. در بین گونه‌ها مولکول‌های پیام‌رسانی درگیر، بسیار مشابه می‌باشند. سیگنال‌های پروتئینی که مرتباً در مطالعات مشخص می‌شوند جزء اعضاء خانواده‌های زیر از جمله خانواده فاکتور رشد ترانسفورم کننده β(TGF-β)، خانواده وینگلس (بدون بال) (Wnt) و خانواده هج‌هاگ (HH) می‌باشند (بخش بعدی را مطالعه کنید). بعلاوه مشخص است که در هر موجودی مسیرهای مولکولی یکسان در دومن‌های تکوینی متفاوت مجدداً به کار گرفته می‌شوند. همچنین مشخص شده که این مسیرها به دقت به یکدیگر به هم پیوسته‌اند و ارتباطات بسیاری بین آنها وجود دارد.

الگوبندی اولیه

ظهور لایه مزودرم انتقال از حالت **دیسک دولایه‌ای** به **سه‌لایه‌ای** یا **گاسترولاسیون** را نوید می‌دهد. القاء مزودرم ـ آغاز، حفظ و سپس الگودهی این لایه ـ شامل چندین خانوادهٔ مهم عوامل پیام‌رسانی می‌باشد. خانواده **Nodal** در آغاز دخیل بوده، **FGF (فاکتور رشد فیبروبلاستی)** و **WNTs** در حفظ و **BMPs (پروتئین‌های مورفوژنتیک استخوانی)** در الگودهی مزودرم نقش دارند. مسیرهای پیام‌رسانی زمانی فعال می‌شوند که یک لیگاند مهم، به گیرنده‌های پروتئینی ویژه‌ای در غشاء متصل شود. این اتصال معمولاً منجر به فسفوریلاسیون یک عامل سیتوپلاسمی شده که در مقابل منجر به اتصال آن به سایر عوامل می‌شود. این عوامل به هسته منتقل می‌شوند که در آنجا فعال‌سازی رونویسی هدف‌های خاصی رخ می‌دهد.

در مورد مسیرهای Nodal و BMP اتصال لیگاند به یک پروتئین غشائی هترومتترامر ویژه، پیام‌رسانی را آغاز می‌کند که در همهٔ اعضاء خانوادهٔ TGF-β مشترک بوده و میانجی‌گرهای سیتوپلاسمی به نام فاکتورهای SMAD دخیلند (بخش بعدی را ببینید). به نظر می‌رسد جنین شیبی از فعالیت Nodal را در طول محور پشتی ـ شکمی داشته باشد، اگرچه اهمیت و نقش این شیب‌ها در القاء مزودرم نامشخص می‌باشند.

مسیر WNT دارای دو شاخه اصلی است: یکی وابسته به β- کاتنین (کلاسیک یا شناخته شده) و دیگری مستقل از β- کاتنین. در مسیر کلاسیک، لیگاند Wnt به کمپلکس پروتئین غشائی هترودایمر Frizzled / LRP متصل شده و پیام‌رسانی فرودست داخل سلولی دربرگیرندهٔ یک پروتئین G می‌باشد. اثر آن در تخریب یک کمپلکس پروتئینی بزرگ سیتوپلاسمی است که شامل Axin، پروتئین آدنوماتوز پولیپوز کولی (APC) و پروتئین گلیکوژن سنتتاز کیناز ۳ بتا (*GSK-3β*) می‌باشد. این تخریب مانع از فسفوریلاسیون β- کاتنین شده و وقتی β- کاتنین تجزیه نشود، تجمع یافته و به هسته منتقل می‌شود، محلی که رونویسی از ژن‌های تنظیمی ویژهٔ خلفی را فعال می‌کند. اتصال لیگاند به گیرندهٔ Fgf منجر به دایمرشدن گیرنده

و فسفوریلاسیون دومن سیتوپلاسمی گیرنده همراه با فعال‌سازی Ras و سایر کینازها می‌شود که یکی از آنها به هسته رفته و فاکتورهای رونویسی هدف را فعال می‌کند. *WNT10A* جهش یافته در انسان باعث ایجاد شکلی از دیسپلازی اکتودرمی (دیسپلازی پوستی، ناخنی ـ دندانی ـ odonto – onychodermal dysplasia) می‌شود همچنین احتمال دخیل بودن *WNT4* در یک بیماری نادر به نام سندرم Mayer – Rokitansky – Kuster می‌باشد. هیچ عضو دیگری از این خانواده ژنی (WNTs) هنوز در فنوتیپ‌های بیماری‌های انسانی مشخص نشده‌اند.

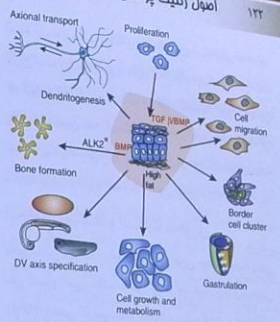
ابر خانوادهٔ TGF- β در تکوین و بیماری

تاکنون ۳۳ عضو از خانوادهٔ **سایتوکاین‌ها** مشخص شده‌اند. سایتوکاین‌ها گروهی از مولکول‌های پیام‌رسانی ـ تنظیم‌کننده‌های پپتیدی ـ هستند که سلول‌ها را قادر به برقراری ارتباط می‌سازند. آنها متفاوت از هورمون‌ها می‌باشند زیرا توسط غدد مجزا تولید نمی‌شوند. این پلی‌پپتیدهای پیام‌رسانی خارج سلولی، از طریق یک آبشار منتقل می‌شوند تا بیان ژن را درون هسته سلول تنظیم کنند. این تنظیم با اتصال به گیرنده‌های سطح سلولی در یک سری واکنش‌ها، با القاء فسفوریلاسیون و فعال‌سازی گیرنده‌های کیناز خاص فراهم می‌گردد. این واکنش‌ها موجب انتقال کمپلکس‌ها به داخل هسته می‌شوند که در آنجا فعال‌سازی یا مهار رونویسی ژن‌های هدف پاسخ‌دهنده رخ می‌دهد. خانوادهٔ TGF-β را می‌توان به دو گروه تقسیم کرد: ۱) BMPs و ۲) TGF-β ، activins ، nodal و myostatin که از طریق پروتئین‌های SMAD متفاوتی عمل می‌کنند. درنهایت این ابرخانواده فعالانه در طیف بسیار وسیعی از فرآیندهای تکوینی و سلولی دخیل می‌باشد (شکل ۲ـ۶). این فرآیندها شامل تنظیم چرخه سلول، مهاجرت سلولی، اندازهٔ سلول، گاسترولاسیون و اختصاصیت محوری و نیز فرآیندهای متابولیکی می‌باشند. در ارتباط با سلامت و بیماری پیامدهائی در سیستم ایمنی، سرطان، بیماری‌های قلبی، دیابت و سندرم مارفان وجود دارد.

پیام‌رسانی بیش‌فعال (یا بیان بیش از حد) *BMP4* در یک بیماری استخوانی نادر به نام فیبرودیسپلازی استخوانی شوندهٔ پیشرونده (fibrodysplasia ossificans progressiva) یافت شده است به‌طوری‌که رسوب‌گذاری استخوانی ناجای ناتوان‌کننده رخ می‌دهد و به دلیل *ACVR1* جهش یافته است که گیرندهٔ BMP تیپ ۱ را کد می‌کند. گیرندهٔ BMP جهش یافتهٔ ۲ مشخص شده که عامل فشار خون اولیهٔ ریوی خانوادگی است. پیام‌رسانی BMP همچنین در ایجاد دندریت‌ها (دندریت‌زایی) و نقل و انتقالات آکسونی نقش دارد.

ایجاد سومیت‌ها و اسکلت محوری

محور ستون مهره‌ها ارتباط نزدیکی با تکوین محور اولیه بدن طی گاسترولاسیون داشته و طی این فرآیند مزودرم پری‌سومیتی (PSM) [محلی که سومیت‌ها ایجاد می‌شوند] در مهره‌داران عالی مشخص می‌گردد. سیگنال‌های FGF و Wnt نقش‌های حیاتی در اختصاصیت PSMها ایفا می‌کنند. سومیت‌ها به‌صورت بلوک‌ها (قطعه‌های) بافتی از PSMها در جهت قدامی تشکیل شده (شکل ۳ـ۶) و هر کدام با یک تناوب دقیق مشخص می‌شوند به‌طوری که در دهه ۱۹۷۰ موجب ارائه مدل «**جبهه موج و ساعت**» شد. از آن زمان تکنیک‌های مولکولی به این مفهوم معنا بخشیدند و مسیر اصلی آن **پیام‌رسانی notch-delta** و «**ساعت نوسانی**» است ـ یک موج معین موقت و دقیق از بیان **ژن چرخه‌ای (یا دوره‌ای)** (که در جوجه به نام ژن *c-hairy* در موش به نام ژن‌های *hes* و *lunatic fringe* می‌باشند) از ناحیه جوانه ـ دمی (tail-bud) در جهت جوانه سر ایجاد می‌شود و نقش مهمی در فرآیند تعیین مرزهای سومیت‌ها ایفا می‌کند. مجدداً تمام اجزاء آن به خوبی شناخته نشده‌اند، اما گیرندهٔ *notch* و لیگاند شبه دلتای یک (*delta-like1*) و شبه دلتای ۳ (*delta-like3*) به همراه پره‌سینیلین یک (*Presenilin-1*) و مزودرم خلفی دو (*mesoderm posterior-2*) در هماهنگی با هم عمل کرده تا قطبیت قدامی ـ انتهائی (rostro-caudal polarity) را درون PSMها همزان با تشکیل بلوک‌های سومیت‌ها ایجاد کنند. فنوتیپ‌های انسانی حاصل از ژن‌های جهش یافته این مسیر اکنون به خوبی شناخته شده‌اند و شامل جنون پیش از پیری (Presenile dementia) (پره‌سینیلین یک) که به‌صورت غالب به ارث می‌رسد و نیز نقص استخوانی‌شدن

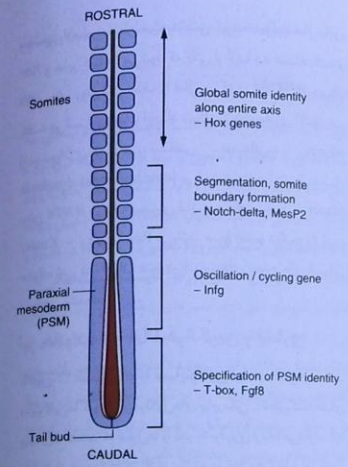


شکل ۳ـ۶: خلاصه‌ای از پاسخ‌های بیولوژیکی به پیام‌رسانی خانوادهٔ TGF-β. طیف فرآیندهائی که تحت تأثیر این ابرخانواده قرار می‌گیرند بسیار گسترده است.

مهره‌ای ـ دنده‌ای (Spondylocostal dysostosis) (شبه‌دلتای سه، مزودرم خلفی دو، Lunatic fringe و hairy enhancer of split- 7) که به شیوهٔ مغلوب به ارث می‌رسد (شکل ۴-۶)، می‌باشند. جزء دیگر این مسیر *JAGGED1* است که وقتی جهش یابد منجر به یک بیماری توارثی غالب و بسیار متغیر به نام سندرم آلاجیل (Alagille Syndrome) (یا دیسپلازی شریانی ـ کبدی) (شکل ۵-۶) می‌شود. ندرتاً جهش‌های NOTCH2 عامل برخی از موارد سندرم آلاجیل نشان داده شده‌اند که معمولاً همراه با بدشکلی‌های کلیوی می‌باشند.

مسیر Sonic Hedgehog – Patched GLI

ژن *(SHH)* Sonic hedgehog به خوبی به دلیل نام عجیب و عملکردش شناخته شده است. *SHH* تکثیر سلولی را در یک توزیع خاص یافتی القاء می‌کند و در نوتوکورد، مغز و ناحیه فعالیت قطبیتی (ZPA) اعضاء در حال تکوین بیان می‌شود. پس از برش و تغییر یا اضافه‌شدن یک بخش کلسترولی، پروتئین *SHH* به گیرنده‌اش Patched (Ptch) که یک پروتئین غشائی است، متصل می‌شود. عملکرد طبیعی Ptch مهارکردن پروتئین غشائی دیگر به نام Smoothened (smo) است، اما زمانی که به SHH متصل باشد، این مهار اعمال نشده و آبشار پیام‌رسانی داخل سلول فعال می‌شود. اهداف داخل سلولی مهم، عوامل رونویسی خانوادهٔ GLI می‌باشند (شکل ۶-۶).



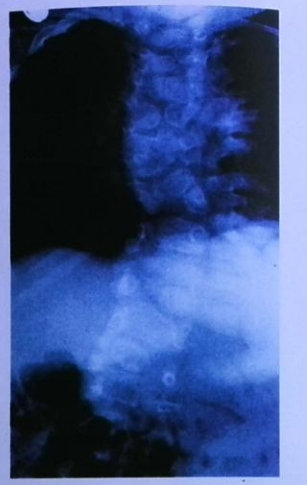
شکل ۳ـ۶: سومیت‌زائی و مسیر Notch-Delta. ژن‌های T-box در تعیین اختصاصیت PSM نقش دارند. در حالی که زمان‌بندی سگمانتاسیون (قطعه‌قطعه شدن) به ژن‌های نوسانی یا چرخه‌ای وابسته است که در تشکیل مرزهای سومیت‌ها مهم می‌باشند به‌طوری که ژن‌های مسیر Notch-Delta قطبیت قدامی ـ انتهائی را ایجاد می‌کنند. ژن‌های HOX، عملکردی کلی در ایجاد هویت سومیت‌ها در طول محور قدامی ـ انتهائی دارند.

نقائص مولکولی در هر بخشی از این مسیر منجر به تعدادی سندرم‌های بدشکلی ظاهراً متنوع می‌گردد (شکل ۶-۶). جهش‌ها یا حذف‌های *SHH* (کروموزوم 7q36) موجب هولوپروزنسفالی (شکل ۷-۶) می‌شود که نقص اولیه آن تقسیم ناکامل مغز در حال تکوین، به صورت نیمکره‌ها و بطن‌های جداگانه است. شدیدترین حالت این بدشکلی سیکلوپیا (cyclopia) ـ حضور یک چشم منفرد مرکزی ـ است. پیچیدگی تکوین اولیه با این حقیقت تأیید می‌شود که بیش از ده ناحیه کروموزومی تاکنون در بیماری‌زائی هولوپروزنسفالی تعیین شده‌اند). جهش‌ها در ژن *PTCH* (9q22) باعث ایجاد سندرم گورلین (Gorlin) (سندرم کارسینومای سلول بازال نوولید، شکل ۸-۶) می‌شود که در برگیرندهٔ چندین کارسینومای

تمام ویژگی‌های SLOS ممکن است به دلیل فقدان ثبات این مسیر باشد. بعلاوه یک کوفاکتور برای پروتئین‌های Gli، یعنی *CREBBP (16p13)* در سندرم روبن اشتاین ـ تایبی (Rubenstein – Tybi) (شکل ۹-۶) جهش یافته است. اختلال در اجزاء متفاوت SHH نیز به روشنی در بسیاری از انواع تومورها مشخص شده‌اند.

ژن‌های هومئوباکس (HOX)

در دروزوفیلا دسته‌ای از ژن‌ها به نام ژن‌های هومئوتیک نشان داده شده‌اند که هویت قطعات را تعیین می‌کنند. بیان نامناسب این ژن‌ها باعث ناهنجاری‌های ساختاری عمده می‌شود، برای مثال ژن *Antp* که به‌طور طبیعی در دومین قطعهٔ سینه‌ای بیان می‌شود اگر به‌طور نادرستی در سر بیان شود باعث تبدیل

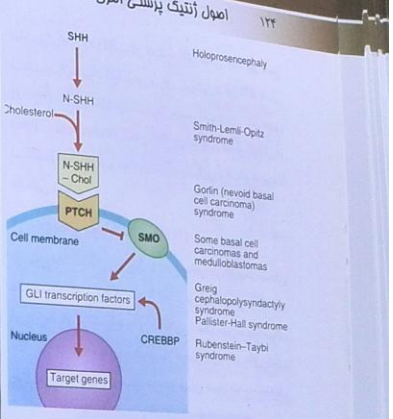


شکل ۴ـ۶: اختلال تکوینی ستون مهره‌ها در بیماری مبتلا به نقص استخوانی‌شدن مهره‌ای ـ دنده‌ای تیپ یک، که در نتیجهٔ جهش‌های ژن شبه‌دلتای سه (*delta-like3*) جزئی از مسیر پیام‌رسانی notch، ایجاد شده است.

شکل ۵ـ۶: **A**. پسری مبتلا به سندرم آلاجیل که در او جهش در ژن *JAGGED1* تأیید شده و همراه با بیماری قلبی مادرزادی است. **B**. همان پسر چند سال قبل همراه با والدینش. مادر او رتینوپاتی رنگدانه‌ای داشته و همان جهش ژنی را دارد.

سلول بازال، کراتوسیت‌های دندان‌زا، دنده‌های دوشاخه، کلسیفیه‌شدن بخش فالکس‌سربری مغز (falx cerebri) و فیبروم‌های تخمدانی می‌باشد. جهش‌های *SMO* در برخی کارسینوماهای سلول بازال و مدولوبلاستوماها یافت شده‌اند. جهش‌های *GLI-3* موجب سندرم پالیستر‌هال و گریگ (Pallister – Hall and Greig syndrome) می‌شود که بیماری‌های جداگانه‌ای بوده، اما کم و بیش سیستم‌های مشترکی را در بدن شامل می‌شوند. به هر حال همچنین ارتباط‌هائی با سایر بیماری‌ها وجود دارد به خصوص سندرم بسیار متغیر اسمیت ـ لملی ـ اپتیز (Smith – Lendi – Optiz syndrome) (یا SLOS) که شامل هولوپروزنسفالی با برخی علائم چهره‌ای مشخص، ناهنجاری‌های تناسلی و سین‌داکتیلی می‌باشد. این بیماری به دلیل نقص در مرحله نهائی بیوسنتز کلسترول ایجاد می‌شود که در ادامه اتصال SHH را به گیرنده‌اش Ptch مختل می‌کند. بنابراین برخی یا

شکل ۶ـ۷: علائم چهره در هولوپروزنسفالی. چشم‌ها در نزدیکی هم بوده و یک شکاف لب میانی به دلیل نقص در تکوین طبیعی پروالبیا وجود دارد.



شکل ۶ـ۶: مسیر Sonic hedgehog (Shh) – Patched (Ptch) – Gli و ارتباط آن با بیماری‌ها. اجزاء متفاوت در این مسیر به عنوان فعال کننده‌ها (فلش‌ها) یا مهارکننده‌ها (خطوط) عمل می‌کنند. پروتئین Shh در ابتدا به یک شکل N ـ انتهائی فعال، شکسته شده که در ادامه با اضافه‌شدن کلسترول تغییر می‌یابد. عملکرد طبیعی Ptch مهارکردن Smo است اما وقتی Ptch به Shh متصل باشد مهار برداشته شده و پیام‌رسانی در پائین دست ادامه می‌یابد. (cAMP response element – binding binding protein: CREBBP)

شکل ۶ـ۸: سندرم گورلین (کارسینومای سلول بازال نوونید). A. این دختربچه ۶ ساله از یک خانوادهٔ بزرگ مبتلا به سندرم گورلین دارای ماکروسفالی و یک ظاهر فرشته‌سان است. B. خواهر مبتلای او یک کراتوسیست دندان‌زای به سرعت در حال رشد (فلش‌ها) را در آوارهاش در سن ۹ سالگی نشان می‌دهد که ریشهٔ دندان‌های او را جابه‌جا کرده است.

سندرم روبن‌اشتاین ـ تایبی

بیشتر بدانیم ۶ـ۲

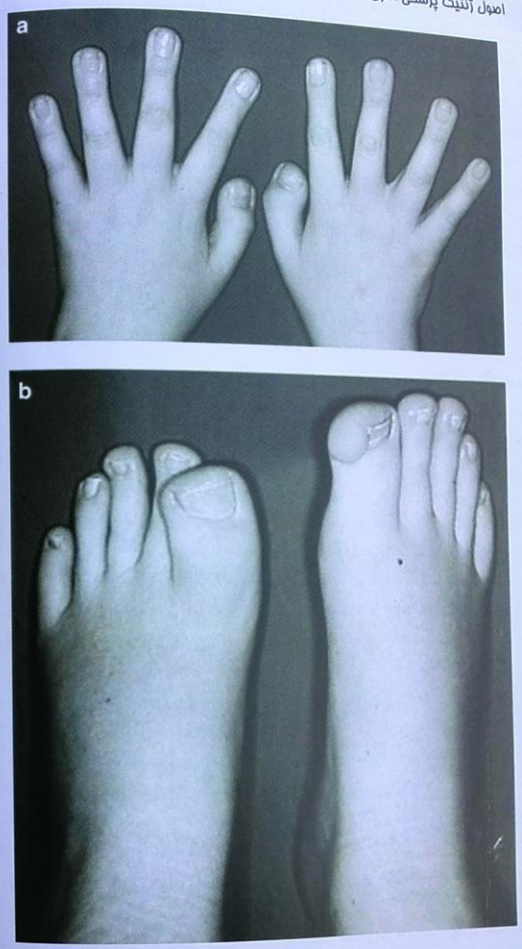
سندرم روبن‌اشتاین ـ تایبی (Rubinstein – Taybi) یا RSTS از لحاظ بالینی شناخته شده است. مبتلایان دارای عقب‌ماندگی ذهنی بوده و چهره مشخصی دارند. همچنین این افراد دارای شست دست و پای بزرگ هستند (شکل ۱ و ۲). اکثر موارد به صورت تک‌گیر (اسپورادیک) بروز کرده و خطر عود مجدد بسیار پایین است (۰/۱ درصد). بنابراین خواهر و برادر فرد مبتلا هرگز مبتلا نمی‌شوند. در مورد دوقلوهای همسان، همخوانی (Concordance) ۱۰۰ درصد وجود دارد و در تمام موارد گزارش شده هر دو نفر مبتلا بوده‌اند. در موارد نادری افراد مبتلا صاحب فرزند شده‌اند، که شانس داشتن فرزند مبتلا برای چنین افرادی ۵۰ درصد است. بنابراین بیماری از الگوی توارث اتوزوم غالب تبعیت می‌کند. از آنجا که افراد مبتلا به ندرت تولید مثل می‌کنند، بنابراین تمام موارد بروز بیماری به دلیل جهش جدید می‌باشند.

با وجود شجره‌نامه‌های مناسب، امکان نقشه‌برداری ژن(های) RTST به‌وسیله آنالیز پیوستگی وجود نداشت. اما در دو گزارش بیماران مبتلا دارای جابه‌جایی کروموزومی دو طرفهٔ متعادل بودند و این مطالعات سرنخ‌های لازم را برای کشف ژن بیماری فراهم کردند. یکی از بیماران دارای جابه‌جائی 2;16 به‌صورت [t(2;16)(p13.3;p13.3)] و دیگری دارای جابه‌جائی 7;16 به صورت [t(7;16)(p34;p13.3)] بود. از آنجا که این مطالعات که هر دو به نقطه شکست 16p13.3 اشاره داشتند، حائز اهمیت بودند. یک گروه آلمانی با تحقیق بر روی دسته‌ای از بیماران با استفاده از پروب‌های متعدد اختصاصی FISH پوشش‌دهنده آن ناحیه، مشخص کردند که ۶ نفر از ۲۴ فرد مبتلای مورد مطالعه دارای ریزحذف بودند. این ریزحذفی مربوط به یک ناحیه ۱۵۰ کیلوبازی مرتبط به ژن CREBBP بود. بررسی افراد مبتلای فاقد حذف‌شدگی، دو جهش نقطه‌ای بی‌معنی (nonsense) را نشان داد. بنابراین ژن بیماری بدون استفاده از آنالیز پیوستگی کشف شد.

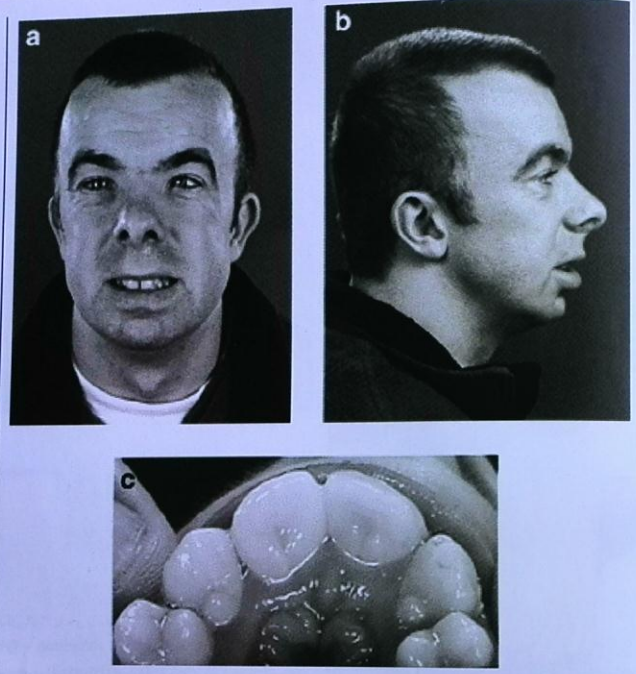
محصول پروتئینی ژن CREBBP، پروتئین متصل شونده به CREB و یک پروتئین هسته‌ای بزرگ با فعالیت هیستون استیل ترانسفرازی است که در بازآرایی کروماتینی و فعال‌سازی بسیاری از ژن‌های هدف نقش دارد. این پروتئین یادآور، محصول ژن ATRX است. مانند ATRX، RSTS نیز یک بیماری مربوط به کروماتین است. بدون آگاهی داشته از ژن‌های هدف این پروتئین، نمی‌توان فنوتیپ بالینی را به نقص ژنی ارتباط داد. تغییرات در CREBBP در ۴۰ درصد موارد RSTS شناسایی شده‌اند (۳۶/۹۲ در مطالعه اخیر) و در ۳/۹۲ موارد جهش در ژن EP300 کدکنندهٔ یک هیستون استیل ترانسفراز بسیار مرتبط، مشاهده شد. هنوز مشخص نشده که آیا در بقیهٔ موارد افراد مبتلا، نیز تغییراتی در CREBBP وجود دارد و یا اینکه جهش‌هایی در دیگر ژن‌هایی که محصول آنها با CREBBP تعامل می‌کنند، وجود دارد.

RSTS به عبارت دقیق‌تر یک سندرم ریزحذفی نمی‌باشد. سندرم‌های ریزحذف واقعی مانند سندرم ویلیامز ـ بورن همیشه به علت ریزحذف رخ می‌دهند و فنوتیپ ایجاد شده در اثر عدم کفایت هاپلو در چندین ژن مجاور هم ایجاد می‌شود. RTST در اثر عدم کفایت هاپلو در یک ژن ایجاد می‌گردد. یکی از راه‌های ایجاد این عدم کفایت هاپلو ریزحذف ژنی است و هر نوع جهش نقطه‌ای که باعث از دست رفتن عملکرد یکی از دو نسخه ژن شود نیز همین وضعیت را ایجاد می‌کند. سندرم آلاجیل (Alagille) نیز وضعیتی مانند RSTS دارد. در ۷ درصد موارد حذف 20p12 وجود دارد که ژن JAG1 نیز در آن ناحیه است. در بقیه موارد جهش در ژن JAG1 وجود دارد. ریزحذف‌ها و جابه‌جایی‌های کروموزومی ابزار ارزشمندی را برای شناسایی ژن‌های بیماری فراهم کرده است، هر چند این تغییرات بخش ضروری بیماری‌زایی نمی‌باشند.

بیماری‌های غالبی که با تولید مثل سازگار نیستند مشکلی بزرگ برای شناسایی ژن‌های عامل بیماری ایجاد کرده‌اند. آنالیز پیوستگی در مورد آنها امکان‌پذیر نبوده و اگر تغییرات کروموزومی سرنخی را در مورد جایگاه ژن فراهم نکنند، راه دیگر بررسی ژن عامل بیماری، بر مبنای شباهت بروز بیماری در اثر جهش در ژن‌های مرتبط در انسان و حیوان انجام می‌شود.



شکل ۱ـ دست‌ها و پاها در افراد مبتلا به RSTS . **A**، شست‌های برآمده به همراه استخوان‌های فالانژ برآمده، سین داکتیلی خفیف استخوانی بین انگشتان سوم و چهارم در سمت راست **B**، انگشتان شست پای برآمده.

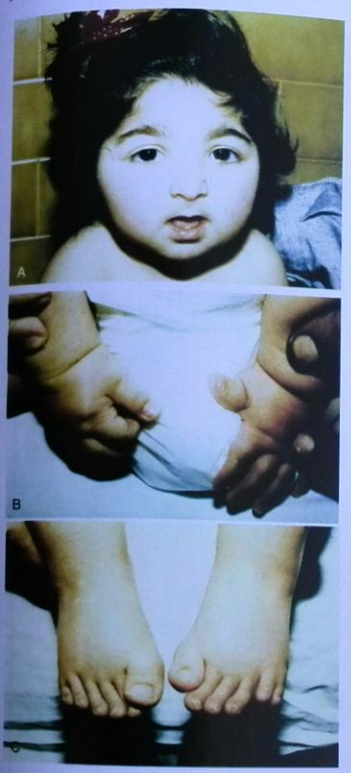


شکل ۲ـ چهره در RSTS. **A** و **B**، چهره کلاسیک افرادی که بیماری در آنها به طریقهٔ ملکولی به اثبات رسیده است. **C**، وجود برجستگی (cusp) اضافی بر روی دندان‌های جلویی (talon cusp) به‌ویژه در افرادی که ویژگی‌های خفیف‌تری از این بیماری را نشان می‌دهند، شاخص محکم وجود بیماری است.

منابع:

Henekam RC. **Rubinstein- Taybi syndrome**. Eur Hum Genet. 2006 Sep; 14(9): 981-5.

Read A. Donnai D. **New Clinical Genetics**, Scion Publinshing, 2007.



شکل ۹ـ۷: بچه‌ای با علائم چهره‌ای مشخص **A**، مبتلا به سندرم Rubenstein – Tybi. **B**، انگشت شست زاویه‌دار و **C**، پلی‌داکتیلی پس‌محوری (Postaxial) در پا. **D**، یک جوان بالغ با همان بیماری اما به‌طور خفیف‌تری مبتلاست.

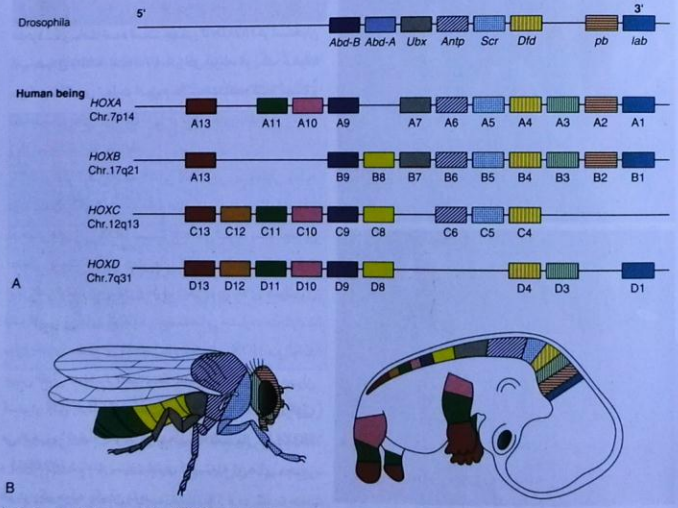
آنتن‌های یک مگس بالغ به پاها می‌شود. ژن‌های هومئوتیک حاوی یک توالی ۱۸۰bp حفظ شده به نام هومئوباکس (homeobox) می‌باشند که تصور می‌شود ویژگی ژن‌های دخیل در کنترل الگوی مکانی و تکوین می‌باشد. این توالی یک دومن اسیدآمینه‌ای را کد می‌کند که به DNA در توالی‌های افزاینده پاسخ‌دهنده -HOX متصل می‌شود. بنابراین پروتئین‌های ژن‌های حاوی هومئوباکس (یا HOX)، عوامل رونویسی مهمی هستند که ژن‌های پائین‌دست را فعال یا مهار می‌کنند. حداقل آنها شناخته شده‌اند. پروتئین‌های HOX سایر ژن‌های «**اجرائی**» را تنظیم می‌کند که کدکنندهٔ فاکتورهای رونویسی یا سیگنال‌های مورفوژنی بوده و همچنین در بسیاری از سطح‌های دیگر بر روی ژن‌های کنترل‌کنندهٔ اتصالات سلولی، میزان تقسیم سلولی، مرگ سلولی و حرکات سلولی عملکرد دارند.

این ژن‌ها سرنوشت سلولی را مشخص ساخته و به ایجاد یک الگوی رویانی در طول محور اولیه (قدامی ـ انتهائی)،

همانند محور ثانویه (تناسلی و جوانهٔ اندام‌ها) کمک می‌کند. بنابراین نقش عمده‌ای در تکوین سیستم عصبی مرکزی، اسکلت محوری و دست و پاها، مجاری گوارشی و ادراری ـ تناسلی و دستگاه تناسلی خارجی دارند.

دروزوفیلا دارای هشت ژن Hox مجتمع در یک خوشه می‌باشد، اما در انسان همانند اکثر مهره‌داران چهار خوشه‌ژنی هومئوباکس حاوی تعداد کلی ۳۹ ژن HOX وجود دارد (شکل ۱۰ـ۶). هر خوشه حاوی یک سری ژن‌های نزدیک به هم پیوسته می‌باشد. در مهره‌دارانی مثل موش نشان داده شده است که این ژن‌ها در واحدهای قطعه‌ای در مغز پسین و در الگودهی کلی سومیت‌های تشکیل‌شده از مزودرم پری‌سومیتی محوری، بیان می‌شوند. در هر خوشه *HOX*، یک ارتباط خطی مستقیم بین موقعیت ژن و بیان زمانی و مکانی‌اش وجود دارد. این مشاهدات بیان می‌کنند که این ژن‌ها نقش حیاتی در اوائل رویان‌زائی (امبریوژنز) دارند. بنابراین در جوانه‌های اندام‌های دست و پا در حال تکوین *HOXA9* در قسمت قدامی و نیز قبل از *HOX10* بیان می‌شود و بقیه موارد نیز به همین ترتیب می‌باشند.

جهش‌های HOXA13 موجب یک بیماری شناخته شده به نام سندرم دست ـ پا ـ دستگاه تناسلی (hand-foot-genital syndrome) می‌شوند. این بیماری الگوی توارث آتوزوم غالب نشان می‌دهد و با کوتاهی انگشتان اول و پنجم، هیپوسپادیاس (پازبودن زیر پیشابراه) در مردان و رحم دو شاخه در زنان مشخص می‌شود. آزمایشات با موش‌های دارای *HOXA13* جهش یافته نشان داده‌اند که بیان ژن دیگری *EphA7* به شدت کاهش می‌یابد. بنابراین اگر این ژن توسط *Hoxa13* فعال نشود، تشکیل تراکم غضروف‌سازی طبیعی در بخش دیستال اندام‌های دست و



شکل ۱۰ـ۶: A، دروزوفیلا دارای هشت ژن *Hox* در یک خوشه منفرد است در حالی که ۳۹ ژن *HOX* در انسان وجود دارد که در چهار خوشهٔ ژنی واقع بر کروموزوم‌های 7p ، 17q ، 12q و 2q به ترتیب برای خوشه‌های ژنی A ، B، C و D مرتب شده‌اند. **B**، الگوهای بیانی ژن‌های Hox و HOX در طول محور قدامی ـ انتهائی به ترتیب در بی‌مهرگان و مهره‌داران نشان داده شده است. در مهره‌داران خوشه‌ها پارالوگ بوده و به نظر می‌رسد عملکرد همدیگر را جبران می‌کنند.

پای اولیه دچار نقص می‌گردد. جهش‌های *HOXD13* منجر به یک ناهنجاری تکوینی دست و پای شناخته شده به عنوان سین‌پلی‌داکتیلی (synpolydactyly) می‌شوند. این بیماری نیز الگوی توارث آتوزوم غالب نشان می‌دهد و با درج یک انگشت اضافی بین انگشتان سوم و چهارم دست و انگشتان چهارم و پنجم پا که به هم پیوسته نیز می‌باشند، مشخص می‌گردد (شکل ۱۱ـ۶). فنوتیپ هموزیگوت‌ها شدیدتر بوده و جهش‌های گزارش شده افزایش تعداد واحدهای اسیدآمینه‌ها در یک قطعهٔ پلی‌آلانینی می‌باشند. این افزایش تکرارهای سه‌تائی احتمالاً ساختار و عملکرد پروتئین را تغییر داده و بنابراین یک جهش افزایش عملکرد (gain – of – function) می‌باشد. *HOXA1* جهش یافته، در یک سندرم نادر که به صورت مغلوب به ارث می‌رسد به نام سندرم Bosley-Saleh-Alorainy همراه با ناهنجاری‌های سیستم اعصاب مرکزی، ناشنوائی و ناهنجاری‌های قلبی و ناهنجاری‌های حنجره ـ نای یافت شده است. جهش *HOXD10* در استخوان قاب عمودی (Vertical talus) مادرزادی ایزوله، در یک خانوادهٔ بزرگ با الگوی توارث آتوزوم غالب مشاهده شده است و مضاعف‌سازی‌های HOXD اخیراً در سندرم‌های ناهنجاری دست و پای مزوملیک یافت شده‌اند.

با در نظر گرفتن اینکه ۳۹ ژن HOX در پستانداران وجود دارد، تعجب‌برانگیز است که فقط تعداد کمی سندرم یا بدشکلی به جهش‌های ژنی HOX نسبت داده می‌شوند. یک توضیح احتمالی اینست که اکثر جهش‌های HOX به قدری مخربند که رویان نمی‌تواند زنده بماند. از طرف دیگر درجه بالای همولوژی (تشابه) بین ژن‌های HOX در خوشه‌های متفاوت منجر به موازی کاری عملکردی شده، پس یک ژن HOX می‌تواند جهش فقدان عملکرد (loss-of-function) دیگری را جبران کند. در این زمینه گفته می‌شود ژن‌های HOX پارالوگ می‌باشند زیرا اعضاء خانوادهٔ خوشه‌های مختلف، مثل *HOXA13* و *HOXD13* شباهت بسیار بیشتری نسبت به ژن‌های مجاور هم در یک خوشه یکسان دارند.

چندین ژن تکوینی دیگر نیز دارای دومن شبه ـ هومئوباکس می‌باشند. این ژن‌ها شامل *MSX2* و *EMX2* هستند. جهش‌های *MSX2* موجب ادغام زودهنگام درزهای جمجمه‌ای یا کرانیوسینوزتوز (Craniosynostosis) می‌شوند. جهش‌های *EMX2* در برخی موارد اسکیزنسفالی (Schizencephaly) مشخص شده‌اند که یک شکاف بزرگ در ضخامت کلی یک یا دو نیمکره مغزی وجود دارد.

ژن‌های Paired – Box (PAX)

ژن‌های Paired – box یک توالی DNA بسیار حفظ شده است که یک دومن تنظیم رونویسی متصل شونده به DNA، ۱۳۰ اسیدآمینه‌ای را کد می‌کند. ۹ ژن *PAX* در موش و انسان، تعیین شده‌اند. در موش این ژن‌ها نقش‌های مهمی در تکوین سیستم عصبی و ستون مهره‌ها نشان داده‌اند.

شکل ۱۱ـ۶: تصویر A) بالینی و B) رادیوگرافی دست‌ها در سین‌پلی‌داکتیلی

در انسان جهش‌های فقدان عملکرد (loss-of-function) در پنج ژن PAX در ارتباط با ناهنجاری‌های تکوینی مشخص شده‌اند (جدول ۲ـ۶). سندرم واردن برگ تیپ یک (Waardenburg Syndrome Type 1) توسط جهش‌های *PAX3* ایجاد می‌شود. این بیماری الگوی توارث آتوزوم غالب نشان داده و با فقدان شنوائی حسی ـ عصبی، مناطق فاقد رنگدانه در مو و پوست، الگوهای غیرطبیعی رنگدانه‌ای در عنبیه و فاصلهٔ زیاد زوایای داخلی چشم‌ها مشخص می‌شود (شکل ۱۲ـ۶). سندرم واردن برگ هتروژنیتی ژنتیکی نشان می‌دهد، فرم شایع‌تر سندرم واردن برگ تیپ دو، که در آن زوایای داخلی چشم‌ها خیلی از هم فاصله نداشته، گاهی در اثر جهش‌های ژن میکروفتالمیای (کوچکی چشم‌ها) انسانی (MITF) واقع بر کروموزوم ۳ ایجاد می‌شود.

اهمیت بیان ژن‌های خانواده PAX در تکوین چشم توسط اثرات جهش‌های ژن‌های *PAX2* و *PAX6* توضیح داده شده‌اند. جهش‌های ژن PAX2 موجب سندرم کلیوی ـ کلوبوما (renal – coloboma syndrome) می‌شود که در آن بدشکلی‌های کلیوی در ارتباط با نقائص ساختاری بخش‌های مختلف چشم از جمله شبکیه و عصب بینائی، مشاهده می‌شود. جهش‌های PAX6 منجر به فقدان عنبیه شده که به عنوان آنیریدیا (aniridia) شناخته می‌شود (شکل ۱۳ـ۶). این مورد ویژگی اصلی سندرم WAGR است که از یک حذف ژنی پیوسته (Contiguous gene deletion) شامل لکوس PAX6 بر روی کروموزوم ۱۱ ایجاد می‌شود.

شکل ۱۲ـ۶: عدم یکنواختی رنگ عنبیه چشم‌ها و دیستوپی مشخص کانتروم (قرارگیری نادرست زاویه داخلی چشم) در یک نوزاد مبتلا به سندرم واردن برگ تیپ یک به دلیل جهش PAX3، نشان داده شده است.

شکل ۱۳ـ۶: یک چشم فاقد عنبیه (آنیریدیا aniridia). قرنیه رگ‌زائی غیرطبیعی نشان می‌دهد.

جدول ۲ـ۶ ناهنجاری‌های تکوینی مرتبط با جهش‌های ژنی PAX

ژن	موقعیت کروموزومی	ناهنجاری تکوینی
PAX2	10q24	سندرم کلیوی ـ کلوبوما
PAX3	2q35	سندرم واردن برگ تیپ یک
PAX6	11p13	آنیریدیا (فقدان عنبیه)
PAX8	2q12	فقدان یا نابجائی غده تیروئید
PAX9	14q12	تعداد کم دندان‌ها (Oligodontia)

ژن‌های SRY-Type HMG Box (SOX)

SRY یک ژن وابسته به کروموزوم Y است که نقش مهمی در تعیین جنسیت مردان ایفا می‌کند. یک خانواده ژنی به عنوان *SOX* شناخته شده‌اند که با *SRY* تشابه (همولوژی) نشان می‌دهند و در یک دومن ۷۹ اسیدآمینه‌ای به نام جعبه HMG (گروه با تحرک بالا High mobility group) مشترک می‌باشند. این دومن HMG، رونویسی را با خمیده‌کردن DNA به شیوه‌ای فعال می‌کند

که سایر عوامل تنظیمی بتوانند به نواحی پروموتور ژن‌های کدکنندهٔ پروتئین‌های ساختاری مهم متصل شوند. بنابراین ژن‌های SOX در تنظیم‌گرهای رونویسی‌اند و به صورت خاص بافتی طی رویان‌زائی (embryogenesis) بیان می‌شوند. برای مثال *SOX1*، *SOX2* و *SOX3* در سیستم عصبی در حال تکوین موش بیان می‌شوند.

در انسان نشان داده شده که جهش‌های فقدان عملکرد (loss-of-function) ژن SOX9 بر روی کروموزوم ۱۷ موجب دیسپلازی کامپومیلیک (Campomelic dysplasia) می‌شود. این بیماری بسیار نادر با خمیدگی استخوان‌های بلند و قدرت بقاء ضعیف مشخص می‌شود. مطالعات هیبریدسازی درجا (FISH) در موش نشان داده‌اند که *SOX9* در رویان در حال تکوین، در بافت‌های اولیه اسکلتی بیان می‌شود که در آنجا بیان کلاژن تیپ دو را کنترل می‌کند و در برآمدگی تناسلی (genita ridge) و گنادهای اولیه نیز بیان می‌شود. اکنون تصور می‌شود *SOX9* یکی از چندین ژنی است که پائین‌دست *SRY* در فرآیند تعیین جنسیت مردان بیان می‌شود. جهش‌های ژن SOX10 بر روی کروموزوم ۲۲ موجب شکل نادری از سندرم واردن برگ می‌شود که در آن افراد مبتلا با میزان بروز بالای بیماری هیرشسپرونگ (Hirschsprung) همراه می‌باشند. جهش‌های ژن *SOX2* (کروموزوم 3q26) به عنوان عامل فقدان چشم‌ها (anophthalmia) یا کوچکی چشم‌ها (microphthalmia) نشان داده شده‌اند. اما همچنین عامل یک سندرم با علائم گسترده‌تر و همراه با انسداد مری و هیپوپلازی تناسلی در مردان به نام سندرم فقدان چشم‌ها ـ مری ـ تناسلی (anophtalmia – esophageal – genital syndrome) می‌باشد.

ژن‌های T-Box (TBX)

ژن T در موش نقش مهمی در تعیین اختصاصیت مزودرم پاراکسیال و تمایز نوتوکورد ایفا می‌کند. هتروزیگوت‌های دارای جهش‌های فقدان عملکرد، دم کوتاه و مهره‌های خاجی بدشکل دارند. این ژن که به نام براکی‌یوری (*Brachyury*) نیز شناخته می‌شود، یک فاکتور رونویسی کد می‌کند که دارای هر دو دومن فعال‌کننده و مهارکننده است. این ژن با یک سری از ژن‌ها با وجود وجه اشتراک دومن T که به عنوان جعبه T (T-box) شناخته می‌شود، تشابه دارد. این ژن‌های TBX یا T-box در سراسر ژنوم انسان پراکنده شده‌اند و برخی از اعضاء این خانواده‌های ژنی در خوشه‌های کوچکی حضور دارند. یکی از این خوشه‌ها بر روی کروموزوم ۱۲ حاوی دو ژن *TBX3* و *TBX5* است. جهش‌های فقدان عملکرد *TBX3* موجب سندرم زند زیرین ـ پستانی (ulnar – mammary syndrome) می‌شود که در آن ناهنجاری‌های تکوینی پیش‌ساز زند زیرین در اندام‌های (دست و پاهای) فوقانی به همراه هیپوپلازی غدد پستان مشاهده می‌شود. جهش‌های فقدان عملکرد *TBX5* موجب سندرم هولت ـ اورام (Holt – Oram Syndrome) می‌گردند. این بیماری اتوزوم غالب با ناهنجاری‌های قلبی مادرزادی مشخص می‌شود که به‌خصوص شامل نقائص دیوارهٔ دهلیزی، نقائص کاهش رادیال اندام فوقانی است که می‌تواند از یک هیپوپلازی خفیف (گاهی مضاعف‌شدن) انگشتان شست تا فقدان کامل ساعد دست را در بر بگیرد.

ژن‌های انگشت روی (Zinc Finger Genes)

اصطلاح انگشت روی به برآمدگی حلقهٔ شبیه انگشت، دارای یک سری چهار اسیدآمینه‌ای گفته می‌شود که همراه با یک یون روی، یک کمپلکس تشکیل می‌دهند. ژن‌هائی که حاوی موتیف انگشت روی می‌باشند به عنوان فاکتور رونویسی (با اتصال انگشت روی به DNA) عمل می‌کنند. در نتیجه آنها نامزدهای خوبی برای بیماری‌های تکوینی تک‌ژنی می‌باشند (جدول ۳ـ۶).

جدول ۳ـ۶ ناهنجاری‌های تکوینی در ارتباط با ژن‌های دارای یک موتیف انگشت روی

ژن	موقعیت کروموزومی	ناهنجاری تکوینی
GLI3	7p13	سندرم گریگ و سندرم پالیستر هال
WT1	11p13	سندرم دنیس ـ دراش
ZIC2	13q32	هولوپروزنسفالی
ZIC3	Xq26	نقائص جانبیت

نقایص جانبیّت: نقایص مربوط به محور چپ - راست بدن

بیشتر بدانیم ۳ـ۶

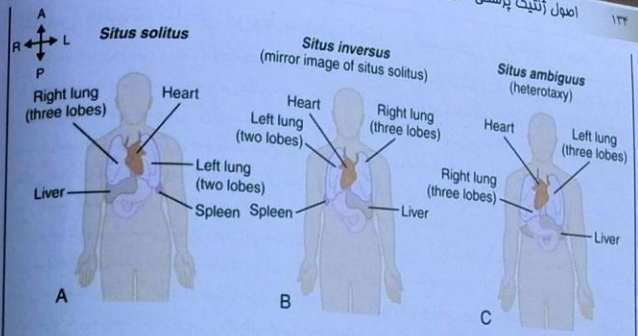
عدم تقارن چپ ـ راست (Left/Right asymmetry) در طبیعت رایج است. برای مثال همه حیوانات از L – آمینو اسیدها و D- قندها استفاده می‌کنند. به همین منوال همهٔ مهره‌داران دارای ساختارهای نامتقارنی هستند که هماهنگ با سمت راست یا چپ خط میانی بدن است. مثلاً حلقه شدن لولهٔ قلبی به سمت راست اولین نشانهٔ قابل مشاهده از عدم تقارن چپ – راست در جنین است و در همهٔ طناب (نخاع) داران دیده می‌شود. پیشرفت‌های فراوانی در درک اساس ملکولی عدم تقارن چپ ـ راست صورت گرفته است و لذا ممکن است بتوان پاسخی برای این سؤال یافت. پاسخ به این سؤال از این جهت حائز اهمیت است که نقایص مربوط به عدم تقارن چپ ـ راست در یک نفر از هر ده هزار نفر تولد زنده دیده می‌شود.

موقعیت نهایی اندام‌هایی که در مهره‌داران به‌صورت نامتقارن در بدن جای می‌گیرد حداقل با سه مکانیسم مختلف تعیین می شود. اندام‌های منفرد در سینه و شکم (مانند کبد و قلب)، تکوین شان را در خط میانی بدن آغاز کرده و سپس به موقعیت اصلی خود انتقال داده می شوند. در مورد برخی از ساختارهای دوتایی، یکی از آن دو از بین می‌رود و یک اندام فاقد جفت (تکی) یک طرفه باقی می‌ماند (مانند، برخی از رگ‌های خونی). برخی دیگر از اندام‌ها (مثلاً ریه‌ها)، زائده‌هایی از بخش میانی بدن به‌صورت نامتقارن شروع به رشد می‌کنند. هنوز مشخص نیست که آیا اساس ملکولی تعیین جانبیت در مورد این سه مکانیسم ذکر شده در بالا متفاوت است یا نه. ناهنجاری‌های عدم تقارن چپ- راست می‌تواند باعث قرار گرفتن اندام‌ها در موقعیت‌های تصادفی (situs ambiguous) و یا در موقعیت‌های معکوس (situs inversus) شود. قرار گرفتن اندام‌ها در موقعیت‌های نامناسب می‌تواند محدود به یک اندام (مانند افراد با قلب در سمت راست، حالتی که به dextrocardia مشهور است) ویا چند اندام که دارای عدم تقارن چپ ـ راست هستند باشد (مانند طحال و معده). نقایص مرکزیت (مانند کام شکافته و نقایص لولهٔ عصبی) نیز به‌طور تقریبی در نیمی از افراد دارای نقایص عدم تقارن چپ – راست دیده می‌شود.

در ابتدا برای برقراری عدم تقارن چپ ـ راست نیاز به مکانیسمی برای ایجاد عدم تقارن است. عدم تقارن ملکولی در حوالی گره (node) موجود در انتهای قدامی شیار اولیه در جنین ظاهراً نقش مهمی را در این فرایند ایفاء می‌کند. تعدادی از ژن‌ها و پروتئین‌ها که قبل از شکل‌گیری گره، از خود فعالیت نامتقارن نشان می‌دهند در جوجه، گورخر ماهی (Zebrafish) و قورباغه و نه در موش شناسایی شده‌اند. در موش برخی از سلول‌های موجود در این گره در سطح خود دارای مژه هستند. عملکرد زنشی این مژه‌ها باعث حرکت مایع اطراف گره رو به جانبین می‌شود و احتمالاً حرکت این مایع باعث رها شدن مورفوژن‌هایی (morphogens) می‌شود که در از بین بردن تقارن درگیر هستند.

عملکرد این مژه‌ها تا حدی به بیان دو پروتئین، left-right dynein(lrd) و polycystin-2 بستگی دارد. ناهنجاری‌های مربوط به dynein در انسان باعث ایجاد دسته‌ای از ناهنجاری‌ها موسوم به primary cilliary dyskinesias می‌شود، که اکثر بیماران مبتلا دارای situs inversus هستند. عملکرد غیر طبیعی مژه‌ها در این افراد با سینوزیت‌های مکرر، ناباروری و هیدروسفالی مرتبط است. جهش در PKD1 که ژن کد کننده پروتئین polycystin-2 است در موش ایجاد نقص جانبیت می‌کند و در انسان نیز باعث بیماری کلیه پلی‌کیستی با توارث آتوزومی مغلوب می‌شود.

اگر چه تا به حال مشخص شده‌است که بیش از ۷۵ ژن برای برقراری حالت عدم تقارن چپ – راست در موجودات مدل دخیل هستند، جهش تنها در چند عدد از این ژنها باعث نقایص جانبیت در انسان می‌شود. شایعترین علت ژنتیکی نقص جانبیت در انسان جهش در ژن ZIC3 (Zinc finger protein of the cerebellum) یکی از اعضای خانواده فاکتور رونویسی Gli است. ZIC3 بر روی کروموزوم X واقع شده‌است. این بیماری به صورت وابسته به X مغلوب به ارث می‌رسد و مردان مبتلا نقایص تصادفی نشان می‌دهند و برخی از زنان حامل نیز دارای situs inversus هستند. در دروزوفیلا برخی از اعضای خانواده Gli با اتصال به costal2 ایجاد کمپلکس می‌کنند. Costal یک موتور پروتئین شبیه به dynein است. این یافته می‌تواند توجیه



شکل ـ ناهنجاری‌های مربوط به عدم تقارن چپ – راست در انسان **A**، موقعیت چپ – راست اندام‌ها با توجه به خط میانی در یک انسان طبیعی (situs solitus). در این حالت نوک قلب رو به طرف چپ بدن است. ریه راست سه لوبی بوده و ریه چپ دو لوبی است. در حفره شکمی طحال و معده در طرف چپ و کبد در طرف راست جای گرفته است. روده کوچک در خلاف جهت عقربه‌های ساعت به‌صورت حلقه در آمده‌است. **B**، یک تصویر کاملاً معکوس از اندام‌های فوق‌الذکر نسبت به خط میانی در حالتی که situs inversus نامیده می‌شود. افراد دارای این ناهنجاری ممکن است فاقد علامت بالینی باشند. **C**، قرارگیری تصادفی قلب، ریه‌ها، کبد، طحال و معده نسبت به خط میانی (به این حالت situs ambiguous یا heterotaxy می‌گویند). این حالت اغلب با ناهنجاری‌های قلبی مادرزادی مرتبط است.

کننده این حالت باشد که چطور جهش در ژن‌های کد کننده در پروتئین‌هایی کاملاً متفاوت (مانند ZIC3 و dynein) می‌تواند سبب ایجاد یک فنوتیپ مشابه، مانند نقص جانبیت در انسان شود. ژنهای دیگر که باعث نقص جانبیت می‌شوند شامل LEF-TYA، CRYPTIC و ACVR2B هستند.

به محض اینکه عدم تقارن چپ – راست در جنین اولیه برقرار شد، حال نوبت به برقراری الگوی چپ–راست هر یک از اندامها می‌شود. مثلاً دو فاکتور رونویسی dHAND و eHAND نقش مهمی را ایجاد الگوی بطن‌های چپ وراست بدن ایفاء می‌کنند. در موش جهش‌های هموزیگوت dHAND باعث ایجاد حیواناتی می‌شود که فاقد بطن راست بوده و این به معنای آن است که dHAND در تمایز قلبی نقش دارد.

نقایص عدم تقارن L/R در دوقلوهای بهم چسبیده انسان، نسبت به دیگر دوقلوهای تک تخمی و دو تخمی بیشتر دیده می‌شود. در اکثر موارد جنینی که در سمت راست قرار گرفته، نقایص جانبیت نشان می‌دهد. پیشنهاد شده که نقص در جانبیت جنین سمت راست، به خاطر عدم دریافت سیگنال کافی از جنین سمت چپ است. ژن Vg1 در قورباغه یک کاندید برای این نوع ملکولهای سیگنالی است. مکانیسم پیشنهادی در بالا، یک مسیر ملکولی محتمل برای ایجاد نقایص تولد در دوقلوهای بهم چسبیده انسانی است.

منابع:

Jorde BL, Carey JC, Bamshad MJ, Medical Genetics (4th ed). Mosby, 2010

شکل ۱۴ـ۶: **A**. پای بچه‌ای مبتلا به سفالوپلی‌سین‌داکتیلی گریگ. دقت کنید که هر دو پا پلی‌داکتیلی پیش‌محوری (انگشت اضافی در کنار انگشت شست پا) و سین داکتیلی (انگشتان بهم چسبیده) نشان می‌دهند. **B**. دست چپ یک زن مبتلا به سندرم پالیستر هال که جهش در GLI3 در او تأیید شده است. به پلی‌داکتیلی پس‌محوری (در کنار انگشت کوچک) و زخم باقیمانده از جراحی در محلی که انگشت اضافی بین بندهای طبیعی استخوان‌های کف دست (پلی‌داکتیلی میان محوری) برداشته شده، دقت کنید.

برای مثال یک ژن حاوی موتیف انگشت روی به نام GLI3 بر روی کروموزوم ۷ (همانطور که اشاره شد جزئی از مسیر SHH است) به عنوان عامل دو بیماری تکوینی مشخص شده است. حذف‌های بزرگ یا جابه‌جائی‌های در برگیرندهٔ GLI3 موجب سفالوپلی‌سین‌داکتیلی گریک (Greig cephalopolysyndactyly) شده، که با ناهنجاری‌های سر، دست و پا مثل پلی‌داکتیلی و سین داکتیلی مشاهده می‌شود (شکل A ۱۴-۶). در مقابل جهش‌های تغییر چهارچوب در GLI3 در سندرم پالیستر ـ هال (Pallister-Hall syndrome) گزارش شده‌اند که علائم اصلی آن پلی‌داکتیلی، هامارتومای هیپوتالاموس و مقعد بدون منفذ می‌باشد.

جهش‌های ژن دیگر حاوی موتیف انگشت روی به نام WT1 بر روی کروموزوم ۱۱ موجب هر دو مورد تومور ویلمز و یک بیماری نادر تکوینی به نام سندرم دنیس ـ دراش (Denys-Drash syndrome) می‌شود که در آن دستگاه تناسلی خارجی مبهم بوده و نارسائی کلیوی پیشرونده به دلیل نفریت (التهاب کلیه) مشاهده می‌گردد. جهش‌های دو ژن دیگر دارای موتیف انگشت روی به نام‌های ZIC2 و ZIC3 به ترتیب به عنوان عامل هولوپروزنسفالی و نقائص جانبیّت نشان داده شده‌اند. ***قطبیت*** (Polarity) و نیز **جانبیّت** (Laterality) که در ایجاد محور طبیعی راست ـ چپ بدن دخالت دارد، ویژگی‌های اصلی در تکوین می‌باشند. در اوائل تکوین ثبات بسیاری از خانواده‌های ژنی که قبلاً به آنها اشاره شد ـ Nodal ، SHH و Notch ـ در ایجاد این محور ضروری می‌باشند. از لحاظ بالینی سیتوس سالیتوس **(Situs solitus)** اصطلاحی است که به عدم تقارن طبیعی راست ـ چپ بدن گفته می‌شود و سیتوس اینورسوس **(Situs Inversus)** به معکوس‌شدن آرایش طبیعی اندام‌های بدن اطلاق می‌گردد. بیش از ۲۵٪ افراد دارای Situs Inversus یک بیماری آتوزوم مغلوب به نام سندرم کارتاجنر (Kartagener syndrome) یا اختلال حرکتی مژه‌ای (Ciliary dyskinesia) دارند. سایر اصطلاحات به کار رفته عبارتند از: **isomerism sequence**، **heterotaxy**، **asplenia / polyasplenia** و سندرم **Ivemark**. نقائص جانبیت با موضع‌گیری غیرطبیعی اندام‌های مثل قلب، کبد و طحال مشخص می‌شوند و اکنون بیش از ۲۰ ژن در مطالعات مهره‌داران مشخص شده‌اند که تعدادی از آنها با استفاده از مطالعه خانواده‌های مبتلا در انسان همراه با تمام ویژگی‌های اصلی توارثی، تعیین شده‌اند.

ژن‌های انتقال پیام (سیگنال‌دهی)

انتقال پیام (Signal transduction) فرآیندی است که از طریق آن عوامل رشد خارج سلولی به‌وسیلهٔ یک مسیر پیچیده متشکل از مراحل حد واسط (تعیین شده به‌وسیله ژنتیک)، تقسیم و تمایز سلول را تنظیم می‌کنند. جهش در بسیاری از ژن‌های دخیل در انتقال پیام، نقش مهمی را در ایجاد سرطان ایفاء می‌کند. در برخی از موارد این جهش‌ها می‌توانند سبب ناهنجاری‌های تکوینی شوند.

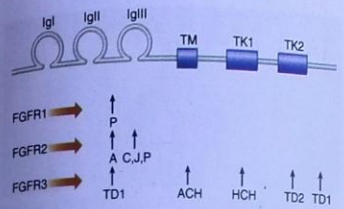
پروتوانکوژن *RET*

پروتوانکوژن *RET* واقع در 10q11.2 یک تیروزین کینـاز سطح سلولی را کد می‌کند. جهش‌های کسب عملکرد، چه اکتسابی و چه به صورت ارثی، در نسبت بالایی از سرطان‌های تیروئیدی وجود دارند. جهش‌های از دست رفتن عملکرد تقریباً در ۵۰ درصد موارد ارثی بیماری هیرشپرونگ (Hirschsprung) شناسایی شده‌اند. در این بیماری نقص در مهاجرت سلول‌های گانگلیونی به شبکه عصبی زیر غشای مخاطی و عضلانی رودهٔ بزرگ وجود دارد. علائم بالینی کمی بعد از تولد ظاهر شده و معمولاً به‌صورت تورم شکمی و انسداد روده‌ای دیده می‌شود.

گیرنده‌های *FGF*

فاکتورهای رشد فیبروبلاستی (FGFs) نقش‌های کلیدی در مراحل مختلف ایجاد جنین ایفاء می‌کنند که شامل تقسیم سلولی، مهاجرت و تمایز است. انتقال پیام‌های FGF خارج سلولی با واسطهٔ خانوادهٔ چهار عضوی از گیرنده‌های تیروزین کینازی درون غشایی انجام می‌گیرد. این خانواده گیرنده‌های عامل رشد فیبروبلاستی (FGFRs) هستند که هر یک دارای سه جزء مهم می‌باشند: یک ناحیه خارج سلولی با سه دومن شبه ـ ایمنوگلوبولینی، یک قطعه درون غشایی (transmembrane) و دو دومن تیروزین کینازی درون سلولی (شکل ۱۵ـ۶).

جهش در ژن‌های کدکننده FGFRs در دو گروه از نقایص تکوینی شناسایی شده‌اند (جدول ۴-۶). این نقایص شامل سندرم‌های کرانیوسینوستوزیس و خانواده دیسپلازی‌های اسکلتی آکندروپلازیایی هستند. در سندرم‌های

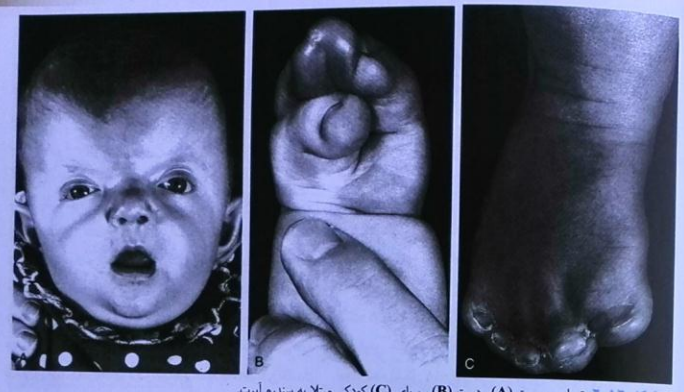


شکل ۱۵ـ۶: ساختار گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGFR). نوک پیکان‌ها نمایانگر مکان جهش‌ها در سندرم‌های بسته‌شدن زودرس درزهای جمجمه (کرانیو سینوستوزیس) و گروه دیسپلازی‌های اسکلتی آکندروپلازی.
Immunoglobulin – like domain: Ig) ؛ tyrosin kinase : TK ؛ transmembrane domain : TM ؛ Apert syndrome : A ؛ Pfeiffer syndrome : P ؛ domain Jackson – Weiss syndrome : J ؛ Crouzon syndrome : C ؛ thanatophoric dysplasia : TD ؛ hypochondroplasia : HCH ؛ achondroplasia : ACH).

جدول ۴ـ۶ ناهنجاری‌های تکوینی که در اثر جهش درگیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی ایجاد می‌شود

ژن	کروموزوم	سندرم
		سندرم‌های بسته‌شدن زودرس درزهای جمجمه (کرانیوسینوستوزیس)
FCFR1	8p11	یفایفر
FGFR2	10q25	آپرت
		کروزون
		جکسون ـ ویس
		یفایفر
FGFR3	4p16	کروزن
		(همراه با آکانتوز نیگریکانس)
		دیسپلازی‌های اسکلتی
FGFR3	4p16	آکندروپلازی
		هیپوکندروپلازی
		دیسپلازی

کرانیوسینوستوزیس که از بین آنها سندرم آپرت (Apert syndrome) به خوبی شناخته شده است، مشخصه اصلی



شکل ۱۶ـ۶: تصاویر صورت **(A)**، دست **(B)**، و پای **(C)** کودکی مبتلا به سندرم آپرت.

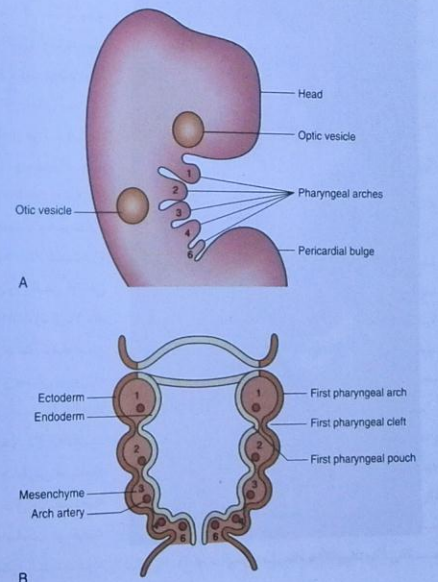
شکل ۱۷ـ۶: کودک کم‌سن و سال مبتلا به آکندروپلازی.

بسته‌شدن زودهنگام درزهای جمجمه‌ای است، که اغلب با وجود ناهنجاری در دست‌ها و پاها همچون سین‌داکتیلی (چسبیده بودن انگشت‌ها) همراه است. علت ایجاد سندرم آپرت جهش در ژن *FGFR2* در یکی از اسیدهای آمینه متعلق به پپتیدی است که حلقهٔ دوم و سوم ایمنوگلوبولینی را به هم متصل می‌کند (مراجعه به شکل ۱۵-۶). در مقابل جهش در سومین لوپ ایمنوگلوبولینی می‌تواند هم سبب ایجاد سندرم کروزون (Crouzon syndrome)، که افراد مبتلا دارای دست و پاهای نرمال هستند، و هم سندرم یفایفر (Pfeiffer syndrome)، که در افراد مبتلا شست‌ها و انگشت‌های بزرگ پا پهن هستند، شود. شایع‌ترین نقص کوتاهی قد ژنتیکی آکندروپلازی (achondroplasia) است (شکل ۱۷ـ۶). بخش پروکسیمال دست و پاها کوتاه است (کوتاه شدن ریزوملیک) و همچنین سر بزرگ بوده و پیشانی بیرون‌زده می‌باشد. هوش و امید به زندگی کاملاً طبیعی است. علت ایجاد آکندروپلازی جهش در، و یا در نزدیکی، دومن *FGFR3* است. جهش شایع دومن درون غشایی منجر به جایگزینی اسیدآمینه گلایسین توسط آرژنین می‌شود که تا به حال این اسیدآمینه (آب‌دوست)، درون غشای پلاسمایی دیده نشده است. در حقیقت به نظر می‌رسد این جهش دایمریزه شدن پروتئین را تشدید کرده

که باعث ایجاد سیگنال‌دهی در بخش فرودست گیرنده می‌شود. در فرم خفیف‌تر دیسپلازی‌های اسکلتی، یعنی هیپوکندروپلازی (hypochondroplasia) تغییرات مشابه‌ای در تنه و اندام‌ها (دست و پا) دیده می‌شود، اما اندازه و شکل سر طبیعی است. این بیماری در اثر جهش در دومین تیروزین کینازی پروکسیمال (درون سلولی) ژن *FGFR3* ایجاد می‌شود و در پایان دیسپلازی تاناتوفوریک (thanatophoric dysplasia) شکل شدیدتر و کشنده دیسپلازی اسکلتی است که در اثر ایجاد جهش در پپتید متصل‌کننده دومین و سومین دومین ایمنوگلوبولینی (خارج سلولی) ژن *FGFR3* و یا جهش در دومین تیروزین کینازی دیستال *FGFR3* ایجاد می‌شود. در حال حاضر مکانیسمی که از طریق آن، جهش‌های ذکر شده باعث کوتاه‌شدن قامت می‌شود، ناشناخته است. این جهش‌ها نمی‌توانند با مکانیسم از دست رفتن عملکرد (loss-of-function) باعث کوتاهی قامت شوند، زیرا در کودکان مبتلا به سندرم ولف - هیرشهورن که ریزحذف کروموزومی در ناحیه‌ای وجود دارد که *FGFR3* در آن قرار گرفته است، چنین ناهنجاری‌های اسکلتی دیده نمی‌شود. در عوض احتمالاً جهش‌ها با افزایش اتصال به لیگاند و یا فعال‌سازی گیرنده باعث کسب عملکرد می‌شوند.

قوس‌های حلقی

قوس‌های حلقی (pharyngeal arches) یا قوس‌های آبششی (branchial) که معادل سیستم آبشش مهره‌داران ابتدایی‌تر است، در هفته چهارم و پنجم تکوین ظاهر می‌شوند. در انسان پنج قوس حلقی (مجزا شده از یکدیگر) در طرفین ساختار سر ایجاد شده (شکل ۱۸-۶) و هر یک شامل سلول‌هایی از سه لایهٔ جنینی و سلول‌های ستیغ عصبی هستند. لایه مفروش‌کننده



شکل ۱۸-۶. دستگاه حلقی (یا آبششی). نمای جانبی **(A)** پنج قوس حلقی را در نزدیک سر رویان نشان می‌دهد و مقطع عرضی **(B)** نشان‌دهنده آرایش پایه‌ای است که از آن ساختارهای سر و گردن و قلب ایجاد می‌شوند. انسان‌ها و موش‌ها فاقد قوس شماره پنج هستند.

جدول ۶-۵ برخی از سندرم‌ها و بدشکلی‌های مرتبط با قوس‌های حلقی اول و دوم

سندرم	بدشکلی‌ها	توارث	مکانیسم‌ها
Oculo-auriculo-vertebral spectrum (OAVS)	کوچک‌بودن یک طرف صورت، ناهنجاری‌های گوش؛ کیست پوستی روی گرهٔ چشم، شکاف‌های موردی؛ (آنومالی‌های مهره‌های گردنی)	معمولاً اسپورادیک بوده و گاهی موارد ارثی AR و AD نیز گزارش شده است.	عوامل غیر ژنتیکی احتمالی - لکوس محتمل در 14q32.1
Treacher Collins Syndrome	هیپوپلازی آرواره تحتانی و فوقانی، شکاف پلکی رو به پایین همراه با کلوبوما پلک پایین، شکاف کام و اختلال در شنوایی	AD	جهش در ژن *TCOF1*
Branchio – oto – renal syndrome	صورت باریک و کشیده، آپلازی یا مسدود بودن مجاری اشکی، ناهنجاری‌های داخلی و خارجی گوش، فرورفتگی در جلوی لالهٔ گوش	AD	جهش در *EYA1* ، *SIX5* ، لکوس محتمل در 1q31
Pierre – Robin sequence	چانه کوچک ، شکاف کام، افتادگی زبان رو به سمت عقب (زبان در بخش خلقی قرار گرفته) – اگر بیماری سندرمی باشد ناهنجاری‌های دست و پا و بیماری مادرزادی قلبی نیز دیده می‌شود.	متنوع: اگر به صورت یک کمپلکس بدشکلی ایزوله باشد، اسپورادیک است. اشکال سندرمی ارثی AD و AR گزارش شده است.	موارد اسپورادیک ممکن است یک توالی دفرم‌کننده باشد که در اثر اولیگوهیدرامنیوز ایجاد شده باشد. یک فرم AD با حذف ۷۵ کیلوبازی در 17q24 پیوستگی دارد که ممکن بیان SOX9 را متأثر سازد (دیسپلازی کامپومیلیک)
Townes – Brock syndrome	گوش‌های بدشکل (کشیده، Satyr)، ناشنوائی حسی – عصبی، برجستگی‌های پوستی بر روی لاله گوش؛ مقعد بدون منفذ، شست دارای سه بند، تقایص کلیوی – قلبی	AD	جهش در *SALL1*
Auriculo – Condylar syndrome	گوش‌های بدشکل و بیرون‌زده، مفصل غیرطبیعی استخوان‌های شقیقه و فک پایینی، دهان کوچک	AD	یک جایگاه نقشه‌برداری شده در 1p21-q23
Oro – Facial – digital syndromes (type I to X)	زبان شکافته و یا قطعه شده؛ کام شکافته، فرنولوم‌ها (چین‌های کوچک) دهانی؛ (ناهنجاری‌های انگشتان، انگشتان کوتاه، پلی‌داکتیلی، سین‌داکتیلی، کلینوداکتیلی)	XLD (OFD1 , OFD7) XLR (OFD8 , OFD9) AR (OFD2 , OFD3, OFD4 , OFD5, OFD6 , OFD9) AD (OFD7)	OFD1 به دلیل جهش *CXORF5* در Xp22 ایجاد می‌شود
Otopalatodigital syndrome	برآمدگی لبهٔ بالایی کاسهٔ چشم؛ پل بینی پهن، شکاف پلکی رو به پایین؛ گوش‌های قرار گرفته در موقعیت پایین‌تر؛ دهان کوچک؛ چانهٔ کوچک؛ (ناهنجاری‌های اسکلتی - رشد محدود، قفسه سینه باریک، پلاتی اسپوندیلی (مهرهٔ مسطح)، استخوان‌های بلند خمیده)	XL نیمه غالب	جهش در *FLNA* در Xq28

X-Linked recessive : XLR ، X – Linked dominat : XLD ، Autosomal recessive : AR ، Autosomal dominant : AD

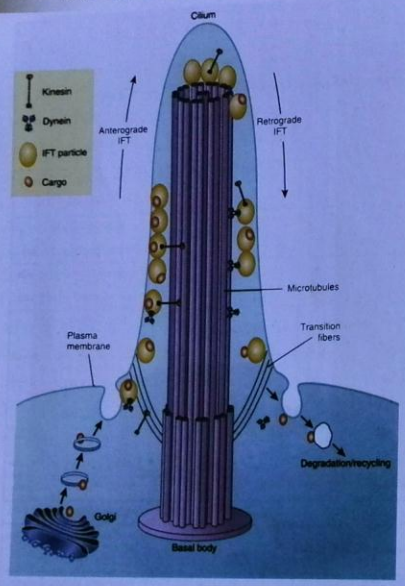
حلق، تیروئید و پاراتیروئیدها از ***اندودرم*** (endoderm)؛ لایه خارجی اپیدرمی این اندام‌ها نیز از ***اکتودرم*** (ectoderm) منشاء گرفته است، و همچنین ماهیچه‌های آنها از ***مزودرم*** (mesoderm) و بخش استخوانی‌شان نیز از سلول‌های ستیغ عصبی ایجاد می‌شود. به نواحی مجزاکنندهٔ قوس‌ها (arches)، در بیرون شکاف‌های (clefts) حلقی و در درون کیسه‌های (pouches) حلقی گفته می‌شود. این نواحی بعداً به بخش‌های مهم بدن تبدیل می‌شوند. اولین قوس از بخش قدامی، فک و ماهیچه‌های مخصوص جویدن را ایجاد می‌کند، اولین شکاف نیز تبدیل به مجاری شنوایی خارجی و اولین کیسه نیز تبدیل به دستگاه گوش میانی می‌شود. دومین قوس از انتهای قدامی، استخوان هیوئید (hyoid) و ماهیچه‌های بیان حالت‌های چهره‌ای (facial expression)، در حالی که کیسهٔ سوم تبدیل به تیموس و کیسه چهارم تبدیل به پاراتیروئیدها می‌شود. سرخرگ‌های درون قوس‌ها نیز سرنوشت مهمی داشته و پس از بازآرایی تبدیل به سیستم‌های سرخرگ ریوی و آئورتی می‌شوند. الگوی توارثی و مکانیسم ژنتیکی برخی از سندرم‌ها که با تکوین قوس‌های حلقی اول و دوم همراه هستند در جدول ۶ـ۵ فهرست شده‌اند.

هرچند مشهورترین و شاید شایع‌ترین بیماری مرتبط با تکوین نابهنجار ساختارهای حلقی ـ کیسه‌های سوم و چهارم ـ سندرم دی‌جورج (DiGeorge syndrome) یا DGS است که به سندرم کام ـ قلب ـ صورت یا سندرم ولوکاردیوفشال (Velocardiofacial syndrome = VCFS) نیز معروف است و به‌وسیلهٔ Sedláčková در سال ۱۹۵۵ در پراگ به دقت توصیف شده بود. این سندرم با جزئیات بیشتری در فصل ۱۸ توضیح داده شده است؛ سندرم در اثر حذف کروموزومی تحت میکروسکوپی ۳ میلیون بازی نوار 22q11 که باعث حذف ۳۰ ژن می‌شود، ایجاد می‌شود. مطالعه بر روی موش (بر روی ناحیه معادل یا سینتنیک [syntenic] آن که بر روی کروموزوم ۱۶ موش قرار دارد) پیشنهاد می‌کند که مهم‌ترین حذف ژنی مربوط به *Tbx1* است که بیان بسیار بالایی در تمام بخش‌های دستگاه حلقی دارد. موش‌های هتروزیگوت دارای حذف *Tbx-1* دارای هیپوپلازی سرخرگ‌های قوی حلقی چهارم و به‌طور کلی فاقد آن هستند که پیشنهاد می‌کند *TBX1* در انسان دارای نقش کلیدی است. البته نشان داده شده است که در برخی ناهنجاری‌های قلبی مادرزادی جهش در این ژن وجود دارد و این احتمال وجود دارد که ژن *TBX1*، ژن کلیدی در ایجاد دیگر علائم فنوتیپی در این سندرم نیز باشد. به هر حال هنوز سؤالات بی‌پاسخی در مورد کل قضیهٔ DGS/VCFS/Sedláčková وجود دارد.

نقش مژه‌ها در ناهنجاری‌های تکوینی

در چند سال اخیر نقش مهم و حیاتی مژه‌های کوچک در حرکت جهت‌دار یا در عبور ذرات از عرض سطوح اپیتلیومی به‌طور روزافزونی در حال مشخص‌شدن است. همانند دیگر زمینه‌های تحقیقاتی زیست‌شناسی سلولی و ملکولی محققین مطالب فراوانی را از مطالعهٔ مژه‌های ناکارآمد فرا گرفته‌اند، زیرا مژه‌های معیوب علت برخی از ناهنجاری‌های شدید تکوینی هستند.

مژه‌ها (Cilia) در نگاهی جامع‌تر در زیست‌شناسی معادل تاژک‌ها (flagella) بوده و این دو با هم دارای مشابهت ساختاری فراوانی هستند. مژه‌ها بیرون‌زدگی‌های مو مانند (hair like) سطح سلولی می‌باشند (شکل ۱۹ـ۶) که بیش از ۲۰ میکرومتر طول دارند و به تعداد فراوان در کنار هم در سطح یک اسکلت متشکل از نه عدد میکروتوبول مضاعف (دو تایی) آنها به رأسی سلول‌های پوششی قرار گرفته‌اند و زنش (beat) آنها به شیوه هماهنگ با هم انجام می‌شود. در برش عرضی، آنها دارای میکروتوبول‌های مضاعف مرکزی و پیرامونی به‌وسیلهٔ یک سری میله‌های پروتئینی عرضی به هم متصل شده‌اند که این اتصالات نیروی لازم جهت خم‌شدن مژه‌ها را تولید می‌کنند؛ بازوهای از جنس دایئین (dynein) نیز این حرکت را تسهیل می‌کنند. این مژه‌ها موکوس را از سطح اپیتلیوم مجاری تنفسی می‌زدایند، باعث حرکت اسپرم در طول لوله‌های فالوپ می‌شوند و مایع مغزی ـ نخاعی در حفره‌های دستگاه عصبی مرکزی را به حرکت درمی‌آورند. در حین تکوین مژه‌ها در تقاطع محورهای (گره‌های) سازماندهی جنین مهره‌داران یک حرکت چرخشی را هدایت کرده و حرکت یک جانبه (یک‌طرفه) ملکول‌ها را تسهیل و در برقراری محور چپ ـ راست بدن کمک می‌نمایند.



شکل ۱۹ـ۶: ساختار یک مژه، ۹ میکروتوبول مضاعف (دوتایی) پیرامونی که یک میکروتوبول مضاعف مرکزی را احاطه کرده‌اند. اسکلت اصلی مژه را تشکیل می‌دهند.

جدا از عملکرد مکانیکی آشکار مژه‌ها که از نظر مفهومی بسیار واضح و قابل فهم است، مشخص شده که مژه‌ها شبیه آنتن‌های ملکولی عمل کرده و حضور ملکول‌های سیگنال‌دهنده خارج سلولی را حس می‌کنند. مسیرهای سیگنال‌دهنده Wnt و Sonic hedgehog برای انتقال پیام به‌صورت مؤثر، تا حدی به سازماندهی و انسجام صحیح مژه‌ها وابسته هستند. بنابراین عملکرد معیوب مژه‌ها می‌تواند بر طیف وسیعی از مسیرها و فرآیندهای تکوینی تأثیر بگذارد. نقص در زواید مژه‌ای می‌تواند منجر به اثرات وسیع فنوتیپی همچون تحلیل شبکیه، عدم احساس بو (anosmia)، ایجاد کیست‌های کلیوی، کبدی و پانکراسی، وجود انگشت اضافه در کنار انگشت کوچک یا پلی‌داکتیلی پس‌محوری (postaxial polydactyly) و معکوس‌شدن محور جانبی (راست ـ چپ بدن) (situs inversus) شود. فهرست در حال رشد سندرم‌های قابل شناسایی، امروزه نقایص مژه‌ای یا «سیلیوپاتی» (Ciliopathies) نامیده می‌شود (جدول ۶ـ۶). یکی از این موارد نقایص مژه‌ای موسوم به سندرم پلی داکتیلی ـ دندهٔ کوتاه (Short- rib polydactyly) که از الگوی توارثی آتوزومی مغلوب پیروی می‌کند، به علت جهش در *DYNC2H1* است. این سندرم در شکل ۲۰ـ۶ نمایش داده شده است. ویژگی‌های سندرم‌های فهرست شده در جدول ۶ـ۶ با بسیاری از دیگر سندرم‌های نقایص مادرزادی چندگانه همپوشانی داشته و مطمئناً ما شاهد این خواهیم بود که ارتباط مژه‌ها و ژنتیک تکوین در سال‌های آتی مشخص‌تر خواهد شد.

جدول ۶-۲ ناهنجاری‌های مژه (Ciliopathies) در انسان: بیماری‌های تکوینی که به علت نقص در مژه‌ها ایجاد می‌شوند.

بیماری / سندرم	ژن	جایگاه کروموزومی	سیستم بدن که تحت تأثیر قرار می‌گیرد
سندرم آلستروم (Alstrom)	*ALMS1*	2p13	شبکیه، بافت چربی، دستگاه درون‌ریز، قلب
Jeune asphyxiating thoracic dystrophy	*IFT80*	15q13	دستگاه اسکلتی
سندرم باردت ـ بیدل (Bardet- Biedl syndrome)	*BBS1- BBS14*	جایگاه‌های کروموزومی متعدد	چندین دستگاه از جمله شبکیه، کلیه و دستگاه اسکلتی
Cranioectodermal dysplasia (Sensenbrenner syndrome)			کلیه، کبد
Ellis – Van Crefeld syndrome	*EVC1 , EVC2*	4p16	دستگاه اسکلتی، قلب
Joubert syndrome	*JBTS1* (+ دیگر ژن‌ها)	9q34.3	مغز
McKusick – Kaufman syndrome	*BBS6*	20p12	اندام‌ها (دست‌ها و پاها)، قلب، مجاری ادراری
نابینایی مادرزادی لبر Leber congenital amaurosis	*GUCY2D , RPE65* (و دیگر ژن‌ها)	17p13 , 11p31 (و دیگر ژن‌ها)	شبکیه
Meckel- Gruber syndrome	*MKS1* (و دیگر ژن‌ها)	17q23 (و دیگر جایگاه‌ها)	مغز، کلیه، کبد
Nephronophthisis (type1-4)	*Nephrocyston* (و دیگر ژن‌ها)	چندین جایگاه	کلیه
Oro-facio- digital syndrome type1	*OFD1* (و دیگر ژن‌ها)	Xp.22 (و دیگر جایگاه‌ها)	دستگاه اسکلتی (اندام‌ها و صورت)
Polycystic kidney disease	چندین ژن	چندین جایگاه	کلیه
Primary ciliary dyskinesia (kartagener syndrome)	چندین ژن	چندین جایگاه	چندین سیستم بدن
Senior- Loken syndrome	چندین ژن	چندین جایگاه	شبکیه، کلیه
Short- rib polydactyly syndrome	*DYNC2H1*	11q13	دستگاه اسکلتی، کلیه، مجاری ادراری - تناسلی

اندام‌ها (دست‌ها و پاها) به عنوان یک مدل تکوینی

چهار مرحلهٔ اصلی در تکوین اندام‌ها (limb) شناسایی شده است (۱) شروع (۲) تخصصی‌شدن (Specification) (۳) تمایز بافتی (tissue differentiation) و (۴) رشد. اگرچه هیچ کدام از این مراحل به‌طور کامل درک نشده است، اما اطلاعات جمع‌آوری شده از مطالعهٔ تکوین اندام‌ها در جوجه و موش، دیدگاهی را در مورد مکانیسم‌های احتمالی تکوین آنها فراهم آورده است.

فاز شروع و تخصصی شدن

تصور بر این است که آغاز جوانه‌زنی دست‌ها و پا حوالی روز ۲۸ با واسطه اعضای خانواده EGF آغاز می‌شود، زیرا اگر در یک طرف جنین جوجه در حال تکوین *FGF1* ، *FGF2* و یا *FGF4*

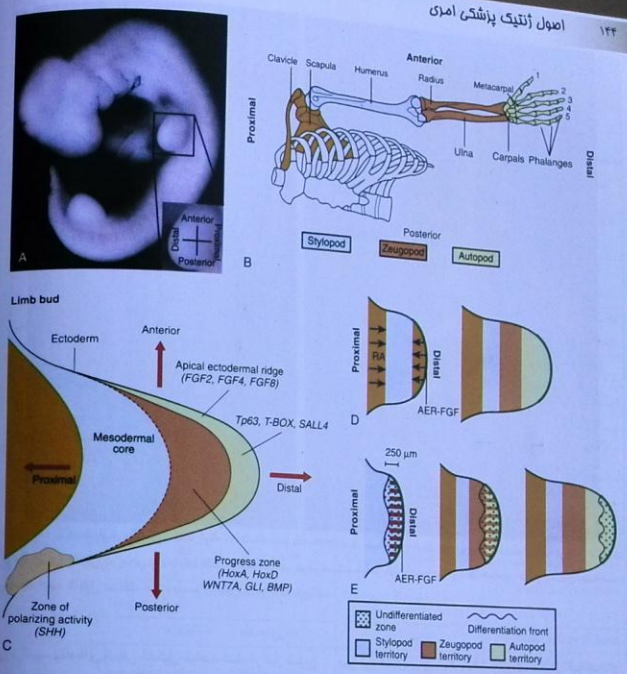
شکل ۶-۲۰ سندرم پلی‌داکتیلی ـ دندهٔ کوتاه (Short- rib polydactyly). A، سینه جنین باریک بوده و وجود انگشت اضافه در کنار انگشت کوچک یا پلی‌داکتیلی پس‌محوری (postaxial polydatyly) در هر دو دست و هر دو پای او دیده می‌شود. B. همانطور که در تصویر تهیه شده به‌وسیله اشعه X قابل مشاهده است، دنده‌های جنین بسیار کوتاه می‌باشند.

وارد کنیم، اندام‌های اضافی تشکیل خواهد شد. در فاز شروع تشکیل اندام‌ها، وجود رونوشت‌های FGF8 در مزانشیم اطراف جایگاه شروع، شناسایی شده است. بیان FGF8 احتمالاً به‌وسیله ژن‌های HOX که نوع اندام (اندام جلویی یا اندام عقبی) و تعداد آن را مشخص می‌کنند، کنترل می‌شود.

تمایز و رشد بافتی

به محض اینکه شکل‌گیری اندام‌ها آغاز شد، ناحیه‌ای از اکتودرم ضخیم شده در نوک اندام به نام **تیغه اکتودرمی رأسی** (apical ectodermal ridge = AER) ، با تولید سیگنال‌های رشد مثل *FGF4* و *FGF8* باعث حفظ رشد و برقراری محور دور ـ نزدیک (proximo – distal axis) می‌شود (شکل ۲۱-۶).

بیان ژن *TP63* برای حفظ AER ضروری است و اگر این ژن جهش پیدا کند بدشکلی دست ـ پا شکافته (Split hand- Foot malformations) یا اکترودактیلی (ectrodactyly) ایجاد می‌شود که اغلب همراه با شکاف دهانی و دیگر ناهنجاری‌ها همراه است که به آن سندرم ECC- (Ectrodactyly-ectodermal dysplasia-clefting syndrome) نیز می‌گویند. سیگنال‌ها از ناحیه‌ای دیگر در بخش حاشیهٔ خلفی (posterior margin) جوانه در حال تکوین، به نام **ناحیهٔ دارای فعالیت ایجادکننده قطبیت** (zone of polarizing activity)، باعث ایجاد محور قدامی ـ خلفی (anteroposterior axis) می‌شود. یکی از این سیگنال‌ها که به SHH معروف است، هماهنگ با دیگر ژن‌های *FGF* ، *GLI3* و



شکل ۲۱ـ۶: تصویر ساده شده‌ای از تکوین اندام‌های مهره‌داران

یک خانواده ژنی دیگر که BMPs را تولید می‌کند، فعالیت می‌کند. اعتقاد بر این است که مورفوژن دیگری موسوم به اسید رتینوئیک، در این مرحله نقش مهمی در تکوین حاشیهٔ قدامی جوانهٔ اندام‌ها را ایفاء می‌کند.

تکوین در مرحله بعدی شامل فعال‌شدن ژن‌های موجود در خوشه‌های ژنی HOXD و HOXA در سلول‌های مزانشیمی تمایز نیافته در حال تکثیر، در ناحیه تحتانی AER است. این ناحیه به نام منطقه پیشروی (Progress Zone) مشهور است. سلول‌ها در نواحی مختلف، ترکیب متفاوتی از ژن‌های HOX را بیان می‌کنند که بیان آنها تعیین کننده تکثیر موضعی سلول‌ها، اتصال و تمایز آنهاست. اهداف پایین دست خوشه‌های ژنی HOX هنوز شناسایی نشده‌اند. ژن‌های دیگر که به وضوح نقش کلیدی در این فرآیند دارند، ژن‌های خانواده *T-box* که قبلاً در مورد آنها بحث شده و ژن *SALL4* می‌باشند. جهش در *SALL4* باعث ایجاد سندرم اوکی‌هیرو (Okihiro) می‌شود. (در این سندرم نقایص زند زبرین (radial ray defects) به همراه حرکات غیرطبیعی چشم که حاصل فلج‌شدن مادرزادی عصب ششم مغزی است دیده می‌شود).

FGFs در مراحل پایانی تکوین دست‌ها و پاها نیز مهم هستند. در این رابطه به سادگی متوجه می‌شویم که چرا

ناهنجاری‌های دست و پا یک ویژگی ناهنجاری‌هایی چون سندرم آپرت (Apert) است (مراجعه به شکل ۱۶ـ۶) که در آن جهش‌هایی در ناحیهٔ خارج سلولی FGFR2 شناسایی شده است.

ژن‌های تکوینی و سرطان

نشان داده شده است که چندین ژن که نقش مهمی در رویان‌زائی (embryogenesis) دارند، در ایجاد سرطان نیز نقش مهمی را ایفاء می‌کنند (جدول ۷ـ۶). البته این موضوع تعجب‌برانگیز نیست، زیرا بسیاری از ژن‌های تکوینی که در سرتاسر زندگی انسان بیان می‌شوند در فرآیندهایی همچون رونویسی و انتقال پیام (signal transduction) نیز نقش ایفاء می‌کنند. مشخص شده که چندین مکانیسم متفاوت می‌توانند مسئول ایجاد فنوتیپ‌های مختلف ناشی از موادی باشند که به اصطلاح تراتوژن نامیده می‌شوند.

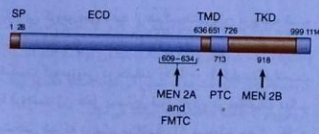
جهش‌های کسب عملکرد در مقابل جهش‌های از دست رفتن عملکرد

یک مثال مناسب در این زمینه جهش در پروتوانکوژن *RET* در بیماری ارثی هیرشپرونگ و همچنین سرطان‌های تیروئید ارثی و تک‌گیر (پراکنده) است. پروتئین کد شده توسط *RET* دارای سه دومن است: دومن خارج سلولی که به فاکتور نوتروفیلی مشتق از رده سلولی گلیال (GDNF) متصل می‌شود، دومن درون غشایی و دومن تیروزین کینازی درون سلولی که باعث فعال‌کردن مسیر انتقال پیام (Signal transduction) می‌شود (شکل ۲۲ـ۶). جهش‌های غیرفعال‌کننده که سبب از دست رفتن عملکرد ژن (loss-of-function) می‌شوند بیماری هیرشپرونگ را ایجاد می‌کنند. این نوع جهش‌ها شامل حذف کل ژن، حذف‌های درون ژنی کوچک، جهش‌های بی‌معنی (nonsense) و جهش‌های پیرایش (Splicing) که منجر به تولید پروتئین کوتاه شده می‌شود؛ می‌باشند.

در مقابل جهش‌های کسب عملکرد (gain- of- function) منجر به نئوپلازی درون‌ریز چندگانه (multiple endocrine neoplasia = MEN) تیپ 2A یا 2B می‌شود. در این ناهنجاری‌ها بروز بالای فئوکروموسیتوم (pheochromocytoma) [تومور بافت کرومافین مدولاری غدد فوق کلیه] و کارسینوم مدولاری تیروئید دیده می‌شود. جهش‌های فعال‌کننده که سبب MEN-2A می‌شود در یک بخش ۵ اسیدآمینه‌ای (حاوی ۵ سیستئین) در ناحیه خارج سلولی رخ می‌دهند. در MEN-2B برخلاف MEN-2A که افراد مبتلا بلندقد و لاغر بوده، جهش فعال‌کننده در اسیدآمینه متیونین در دومن تیروزین کینازی عامل بیماری است.

بازآرایی سوماتیکی

فعال‌شدن پروتوانکوژن *RET* می‌تواند توسط مکانیسم متفاوتی رخ دهد که طی آن ناحیهٔ ژنومی کدکننده بخش درون‌سلولی، در کنار چند ژن فعال‌کننده که به‌طور طبیعی در غده تیروئید بیان می‌شوند، قرار می‌گیرد. ژن هیبرید *RET* تازه شکل گرفته، پروتئینی جدیدی تولید می‌کند که فعالیت آن وابسته به اتصال لیگاند نیست. این بازآرایی سوماتیکی (Somatic rearrangement) در نسبت بالایی از کارسینوم‌های پاپیلاری تیروئید یافت می‌شود و این سرطان در کودکانی که در حادثه چرنوبیل ۱۹۸۶ در معرض تشعشعات رادیواکتیو قرار گرفته بودند، بروز بالائی را نشان می‌دهد.



شکل ۲۲ـ۶: پروتوانکوژن *RET*. شایع‌ترین نوع جهش‌ها در بیماری‌های مختلف مربوط به این ژن درج شده‌اند. اعداد اشاره به توالی آمینواسیدی دارد. SP = Signal Peptide (پپتید نشانه)، ECD = Extracellular domain (دومن خارج سلولی)، TMD = Transmembrane domain (دومن درون غشایی)، TKD = Tyrosine kinase domain (دومن تیروزین کینازی)، MEN = Multiple endocrine neoplasia (نئوپلازی‌های درون‌ریز چندگانه)، FMTC = Familiar medullary thyroid Carcinoma (کارسینوم ارثی مدولاری تیروئید)، PTC = علامت پیکان بالای (Papillary thyroid carcinoma) اشاره به جایگاه بازآرایی سوماتیکی در ایجاد فرم‌های هیبرید جدید RET دارد.

جدول ۶ـ۷ ژن‌هایی که در ایجاد ناهنجاری‌های تکوین و نیز سرطان نقش دارند

ژن	کروموزوم	نقص تکوینی	سرطان
PAX3	2q35	سندرم واردنبرگ تیپ I	رابدومیوسارکومای آلوئولی
KIT	4q12	دورنگی پوست (Piebaldism)	Mast cell leukemia
PTCH (Patched)	9q22	سندرم گورلین	Basal cell carcinoma
RET	10p11	بیماری هیرشپرونگ	MEN2A ، MEN2B ، کارسینوم تیروئید
WT1	11p13	سندرم دنیس – دراش	تومور ویلمز

PAX3 مثالی دیگر از ژن‌های تکوینی است که اگر به یک توالی جدید DNA متصل شود می‌تواند باعث سرطان شود. یک جابه‌جایی (ترانسلوکاسیون) بین کروموزوم‌های ۲ و ۱۳ می‌تواند منجر به ایجاد یک رونوشت کایمریک (chimeric transcript) شده که باعث تکوین یک نوع تومور نادر ریه موسوم به رابدومیوسارکومای آلوئولی (alveolar rhabdomyosarcoma) می‌شود.

اثر مکانی و ژن‌های تکوینی

کشف یک ناهنجاری کروموزومی، همانند وارونگی یا جابه‌جایی (ترانسلوکاسیون) در شخصی با یک سندرم تکوینی تک‌ژنی، دلیلی محکم برای جایگاه احتمالی ژن مسبب بیماری خواهد بود، زیرا احتمالاً یکی از جایگاه‌های شکست در بازآرایی کروموزومی باعث از هم‌گسیختگی ژن مربوطه شده است. با این حال در موارد اندکی مشخص شده که نقاط شکست کروموزومی در حقیقت ۱۰ تا ۱۰۰۰ کیلوباز فرادست یا فرودست ژن عامل بیماری قرار دارد و در مطالعات دیگر مشخص شد که در سایر مبتلایان ژن مربوطه جهش یافته است (جدول ۶ـ۸). یک توضیح احتمالی این است که نقطهٔ شکست بخش کدکننده ژن را از توالی‌های تنظیمی پیوسته به آن جدا کرده است. این مشاهدات به وضوح مشکلاتی را برای آن دسته از پژوهشگرانی فراهم آورده است که با تحقیق بر روی ژن فرضی بیماری در خانواده‌های دارای جابه‌جائی (ترانسلوکاسیون) نمی‌توانند هیچ نوع جهش درون‌ژنی ویژه‌ای را برای ژن دخیل در جابه‌جائی بیابند.

جدول ۶ـ۸ ژن‌های تکوینی که اثر مکانی را نشان می‌دهند

ژن	کروموزوم	ناهنجاری تکوینی
GLI3	7p13	سفالوپلی‌سین داکتیلی گریک
SHH	7q36	هولوپروزنسفالی
PAX6	11p13	آنیریدیا
SOX9	17q24	دیسپلازی کامپوملیک

مول‌های هیداتی فرم

گاهی لقاح می‌تواند منجر به یک حاملگی غیرطبیعی شود که در آن جفت شامل یک تودهٔ در حال تکثیر فاقد سازمان‌دهی به نام مول هیداتی‌فرم (hydatiform mole) خواهد بود. این تغییرات می‌توانند به‌صورت ناقص و یا کامل باشند (جدول ۹ـ۶).

مول هیداتی فرم ناقص

آنالیز کروموزومی از بافت‌های گرفته شده از مول‌های ناقص حضور ۶۹ کروموزوم ـ یعنی تریپلوئیدی ـ را آشکار کرد. با استفاده از پلی‌مورفیسم‌های DNA، نشان داده شده که ۴۶ عدد از این کروموزوم همیشه از پدر منشاء می‌گیرند و بقیهٔ ۲۳ کروموزوم منشاء مادری دارند. علت دو برابر شدن سهم ۲۳ کروموزومی پدری می‌تواند به دلیل لقاح با دو اسپرم باشد که به **دو اسپرمی** یا **دی‌اسپرمی** (dispermy) مشهور است و یا به دلیل مضاعف‌سازی مجموعه هاپلوئید اسپرم طی فرآیندی به نام **endoreplication** باشد.

جدول ۶ـ۹ خصوصیات مول‌های هیداتی‌فرم ناقص و کامل

	مول ناقص	مول کامل
تعداد کروموزوم‌ها	۶۹	۴۶
منشاء والدی کروموزوم‌ها	۲۳ کروموزوم مادری / ۴۶ عدد پدری	همه ۴۶ کروموزوم پدری
یا جنین وجود دارد؟	بله اما زنده نمی‌ماند	خیر
پتانسیل سرطان‌زایی	بسیار اندک	بالا

در این حاملگی‌ها حتی اگر جنین زنده هم بماند به ندرت متولد می‌شود. در مورد لقاح تریپلوئیدی، جنین‌ها تنها وقتی زنده متولد می‌شوند که مجموعه اضافی کروموزومی، منشاء مادری داشته باشد و در این موارد تغییرات هیداتی‌فرم ناقص در آنها رخ نمی‌دهد. حتی در چنین مواقعی به‌ندرت یک نوزاد تریپلوئیدی می‌تواند بیش از چند ساعت یا چند روز پس از تولد زنده بماند.

مول هیداتی‌فرم کامل

مول‌های کامل تنها ۴۶ کروموزوم داشته و همه کروموزوم‌ها منشاء پدری دارند. یک مول کامل به‌وسیلهٔ لقاح یک تخمک فاقد هسته با دو اسپرم و یا با یک اسپرم منفرد که دچار همانندسازی بدون تقسیم سلولی (endoreplication) شده، ایجاد می‌شود.

در حالتی متضاد یک تخمک می‌تواند بدون بارورشدن با اسپرم، تکوین (تقسیمات میتوزی) خود را آغاز کند، این فرآیند به بکرزایی (Parthenogenesis) مشهور است و در حیوانات ابتدایی‌تر همچون بندپایان معمول است، ولی در انسان تنها یک بار گزارش شده است که به صورت یک ادغام کایمری با یک سلول دارای مجموعه کروموزومی طبیعی مشتق از جنس مذکر، تشکیل شده بود.

اهمیت اصلی مول‌های کامل در توانایی آنها در ایجاد کوریو کارسینوم (Chorio carcinoma) تهاجمی است. این کارسینوم را به‌طور موفقیت‌آمیزی می‌توان با شیمی‌درمانی درمان کرد، اما اگر درمان نشود می‌تواند کشنده باشد. تغییرات بدخیمی مرتبط با مول‌های ناقص بسیار نادر هستند.

بیان متفاوت والدی در تروفوبلاست و امبریوبلاست

مطالعات در موش‌ها نشان داده است که اگر ژن‌های هستهٔ سلول تخم همگی از پدر به ارث برسند، علی‌رغم اینکه ترفوبلاست‌ها تقریباً به‌طور طبیعی رشد می‌کنند، رویان نمی‌تواند ایجاد شود. در مقابل اگر ژن‌های هسته‌ای در تخم همگی دارای منشاء مادری باشند، رویان به‌طور طبیعی رشد می‌کند، اما بافت‌های خارج رویانی معیوب خواهند بود. مشاهداتی که تا به حال در مورد مول‌های کامل و ناقص در مطالب قبلی ذکر شد بیانگر این است که چنین مشاهداتی در مورد انسان‌ها نیز صدق می‌کند، زیرا ژن‌های به ارث رسیده از پدر برای تکوین تروفوبلاست‌ها ضروری بوده و ژن‌های با منشاء مادری برای تکوین اولیه رویان لازم هستند. این پدیده‌ها با مفهوم اپی‌ژنتیک (مراجعه به بخش بعدی) و نشان‌گذاری ژنومی (genomic imprinting) در ارتباط می‌باشند.

تمایز و تعیین جنسیت

جنسیت افراد به‌وسیله کروموزوم‌های X و Y تعیین می‌شود. وجود یک کروموزوم Y سالم، بدون توجه به تعداد کروموزوم‌های X باعث مذکر شدن می‌شود. عدم حضور یک کروموزوم Y باعث ایجاد جنس مؤنث می‌شود.

اگرچه کروموزوم‌های جنسی از لحظه لقاح به بعد همواره حضور دارند، تمایز فنوتیپی به جنس مذکر یا مؤنث تا حدود هفته ششم آغاز نمی‌شود. تا این زمان هر دو سیستم مجاری ولفین (Wolffian) و مولرین (mullerian) در رویان وجود داشته و گنادهای رویانی اگرچه از کورتکس و مدولا تشکیل شده‌اند، هنوز تمایز نیافته‌اند. از هفتهٔ ششم به بعد جنین به جنسیت مؤنث تکوین پیدا می‌کند، مگر اینکه عامل تعیین‌کنندهٔ بیضه‌ای (testis – determininig factor) وجود داشته باشد و توالی‌ای از رخدادها را آغاز کرده که باعث تبدیل گنادهای تمایز نیافته به بیضه‌ها شود.

عامل تعیین کنندهٔ بیضه‌ای ـ SRY

در سال ۱۹۹۰نشان داده شد که ژن عامل تعیین کنندهٔ بیضه بر روی بازوی کوتاه کروموزوم Y نزدیک به ناحیهٔ شبه آتوزومی قرار گرفته است. امروزه به این ژن SRY (Sex- determining region of the Y chromosome) می‌گویند. این ژن شامل یک اگزون منفرد است که یک پروتئین ۲۰۴ اسید آمینه‌ای را کد می‌کند که شامل یک بخش ۷۹ اسید آمینه‌ای موسوم به HMG box می‌باشد که نشان‌دهنده این است که این پروتئین احتمالاً یک تنظیم‌کنندهٔ رونویسی است.

مشاهداتی که بر طبق آنها مشخص شد ژن SRY عامل اصلی تعیین‌کنندهٔ مذکر بودن است به شرح ذیل است:

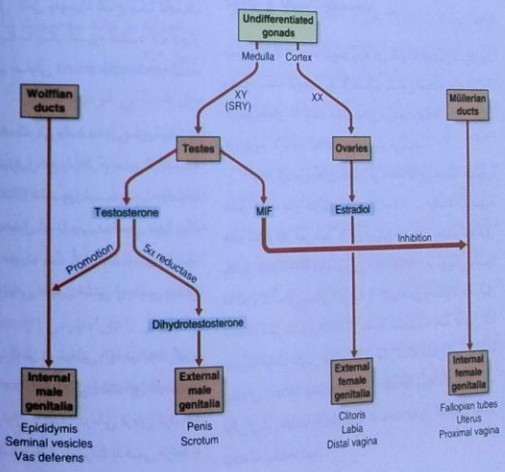
۱ـ توالی‌های SRY در مردان XX حضور دارند. این مردان دارای کاریوتایپ 46,XX بوده و نابارور هستند.

۲ـ در بسیاری از زنان XY، جهش‌ها و یا حذف‌شدگی توالی SRY دیده می‌شود. این زنان دارای کاریوتایپ 46,XY بوده و نابارور هستند.

۳ـ در موش ژن SRY فقط در تیغهٔ تناسلی در زمان تکوین بیضه‌ها در رویان بیان می‌شود.

۴ـ موش‌های ترانسژن XX که دارای بخش کوچکی که از کروموزوم Y حاوی ناحیه SRY هستند، تبدیل به جنس مذکر و دارای بیضه می‌شوند.

از نقطه نظر زیست‌شناسی (یا به عبارتی حفظ گونه‌ها) ژن SRY نمی‌تواند در کراسینگ‌اور با کروموزوم X در طول میوز I شرکت داشته باشد. البته SRY در خارج از ناحیهٔ شبه آتوزومی قرار گرفته است. اما برای تفکیک صحیح کروموزوم‌های X و Y باید با هم جفت شوند وگرنه در طول میوز، هر دو با هم به‌طور متوسط در ۵۰ درصد میوزها به یک گامت وارد می‌شوند. سازش طبیعت به این صورت بوده است که تنها بخش کوچکی از کروموزوم‌های X و Y هومولوگ باشند تا بتواند در طول میوز I جفت شوند. متأسفانه به دلیل نزدیکی بیش از حد ژن SRY به ناحیه شبه آتوزومی گاهی این ژن می‌تواند در وقایع نوترکیبی شرکت کند. این پدیده در اکثر مردان XX اتفاق می‌افتد و مطالعات ملکولی و هیبریدسازی فلئورسنت در جا شواهدی از حضور توالی‌های مربوط به کروموزوم Y را در انتهای دیستال بازوی کوتاه کروموزوم X نشان می‌دهد (مراجعه به شکل ۲۲ـ۱۸).



شکل ۲۳ـ۶: خلاصه‌ای از وقایع اصلی تعیین جنسیت. Sex determining region of the Y chromosome : SRY müllerian inhibitory factor : MIF

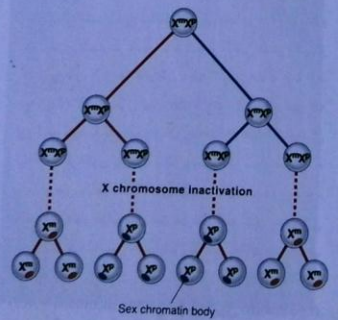
بیان SRY باعث تحریک آغاز یک توالی‌ای از رخدادها، که در آن ژن‌های دیگر همچون SOX9 (در 17q24) شرکت دارند، می‌شود که باعث تبدیل مدولای گناد تمایز نیافته به بیضه شده و سلول‌های لایدیگ (Leydig) موجود در بیضه‌ها شروع به ترشح تستوسترون می‌کنند (شکل ۲۳ـ۶). تستوسترون باعث تحریک مجاری ولفین و ایجاد دستگاه تناسلی داخلی مردانه و همچنین مردانه‌شدن دستگاه تناسلی خارجی می‌شود. تبدیل تستوسترون به دی‌هیدروتستوسترون توسط عمل آنزیم آلفا ـ ۵ ـ ردوکتاز انجام می‌شود که این محصول باعث مردانه شدن بخش بیرونی دستگاه تناسلی می‌شود. سلول‌های سرتولی بیضه تولید هورمونی موسوم به فاکتور مهاری مولرین (MIF) می‌کنند که باعث تجزیه سیستم مجاری مولرین می‌شود. در دیسپلازی کامپومیلیک که در اثر جهش در ژن SOX9 ایجاد می‌شود در کاریوتایپ‌های 46,XY ابهام جنسیتی دیده می‌شود. مجاری تناسلی مبهم یا وارونگی جنسیتی (Sex – reversal) همچنین مکرراً در سندرم حذف 9p24.3 نیز مشاهده گردیده است. این حالت احتمالاً با عدم کفالیت هاپلو در ژن *DMRT1* که یک تنظیم کنندهٔ رونویسی است و در سلول‌های سرتولی، اسپرماتوگنی‌ها و اسپرماتوسیت‌ها بیان می‌شود در ارتباط است.

در غیاب بیان طبیعی SRY ، کورتکس گناد تمایز نیافته، به تخمدان تبدیل می‌شود. مجاری مولرین دستگاه تناسلی داخلی را ایجاد می‌کند. دستگاه تناسلی خارجی بهم متصل نشده و نمی‌تواند به‌صورت مردانه رشد کند و در عوض به دستگاه تناسلی خارجی زنانه تکامل پیدا می‌کند. فرآیند تکوین طبیعی جنس مؤنث گاهی وقت‌ها تا حدی کورکورانه، حالت معمول (default) در نظر گرفته می‌شود. در غیاب اثرات تحریکی تستوسترون سیستم مجاری ولفین تحلیل می‌رود.

تمایز جنسی طبیعی بین هفتهٔ ۱۲ تا ۱۴ حاملگی تکمیل می‌شود، اگرچه بیضه‌ها تا اواخر حاملگی به درون کیسه بیضه مهاجرت نمی‌کنند. ناهنجاری‌های تمایز جنسیت شایع نبوده، اما عوامل مهمی در ناباروری و ابهام جنسیت هستند. در مورد این ناهنجاری‌ها در فصل ۱۸ بیشتر بحث شده است.

اپی‌ژنتیک و تکوین

مفهوم اپی‌ژنتیک جدید نیست. اپی‌ژنز (Epigenesis) اولین بار در سال ۱۹۴۲ توسط کنراد وادینگتون (Conrad Waddington) به صورت یک موضوع مطرح شد و در اصل به اجرای برنامه‌ها و فرآیندهای تکوینی در یک سلول تخم‌تمایز نیافته اشاره داشت، که اجرای این برنامه‌ها در مرکز فرآیند تکوین قرار دارد. این مفهوم را می‌توان معادل درک مدرن فعلی ما از کنترل بیان ژن در تکوین و کنترل مسیرهای سیگنال‌دهی در نظر گرفت. مفهوم ارائه شده بیان می‌داشت که مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی در نقطه‌ای از چرخه سلول «پاک» و «مجدداً ایجاد» می‌شوند. اگرچه این مفهوم هنوز هم معتبر است، اما مفهوم این واژه در کاربرد امروزی‌اش گسترش یافته و شامل تغییرات قابل توارث در بیان ژن است که علت این تفاوت در بیان ژن، کد ژنتیکی نیست. یک چنین وضعیت‌های بیان ژن، ممکن است به طور پایدار در طی تقسیمات سلولی ـ شامل میتوز و میوز منتقل شوند (اگرچه لزوماً این تغییرات مورد تنظیم و بازگشت به حالت اولیه قرار نمی‌گیرند). بنابراین یک ژنوتیپ وابسته به حالت اپی‌ژنتیکی یک لکوس یا لکوس‌های مورد نظر، می‌تواند بیش از یک فنوتیپ ایجاد کند.



شکل ۲۴ـ۶: غیر فعال‌سازی کروموزوم X در طول تکوین. کروموزوم‌های X به ارث رسیده از مادر و پدر به ترتیب با X^m و X^p نمایش داده شده‌اند.

رایج‌ترین نوع تغییرات (modification) در DNA ـ مکانیسم بیوشیمیایی اپی‌ژنز (epigenesis) ـ **متیلاسیون** کووالانسی نوکلئوتیدهاست. به نظر می‌رسد که متیلاسیون منجر به ایجاد یک سری از مراحل می‌شود که طی آن ساختار کروماتین تغییر پیدا می‌کند. شناخته شده‌ترین پدیدهٔ اپی‌ژنتیکی در علم ژنتیک انسانی، غیرفعال شدن کروموزوم X است که در بخش بعدی بحث خواهد شد و همچنین بیان ژن اختصاصی با توجه به منشاء والدی (نقش‌گذاری والدی) است که در سندرم‌های آنجلمن و پرادر ویلی و سندرم‌های یک ویت ـ ویدمن و راسل ـ سیلور دیده می‌شود. توجه زیادی به درک تأثیر احتمالی عوامل محیطی در وضعیت‌های اپی‌ژنتیکی وجود دارد. در مطالعات حیوانی شواهدی وجود دارد که محیط تغذیه‌ای و رفتاری ممکن است منجر به ایجاد اپی‌آلل‌های (epiallele) مختلف شود و مطالعات اپیدمیولوژیکی جمعیت‌های انسانی ارتباط متقاعدکننده‌ای بین وضعیت تغذیه‌ای مادری (و در برخی از موارد پدربزرگ و مادربزرگ‌ها) با بیماری‌های اندوکرین (درون‌ریز) ـ متابولیک و قلبی ـ عروقی با شروع دیررس را مشخص ساخته‌اند.

غیرفعال‌سازی کروموزوم X

همانطور که تکنیک‌های مطالعهٔ کروموزوم‌ها در حال توسعه و پیشرفت بودند، مشخص شد که در موش ماده یکی از کروموزوم‌های X از نظر فشردگی با بقیه کروموزوم‌ها تفاوت دارد. در سال ۱۹۶۱ دکتر ماری لیون (Mary Lyon) پیشنهاد کرد که این کروموزوم X هتروپیکنوتیک (heteropyknotic)، غیرفعال شده است. او الگوی موزائیک رنگ پوست را در موش‌هایی که برای ژن‌های وابسته به X کنترل‌کنندهٔ رنگ پوست، هتروزیگوت بودند را به عنوان دلیلی برای پیشنهاد خود ذکر کرد. رخدادهای بعدی اعتبار فرضیه لیون را به اثبات رساندند و به خاطر فراست او، فرآیند غیرفعال شدن کروموزوم X (X-chromosome- inactivation = XCI) را گاهی **لیونیزاسیون** (Lyonization) می‌نامند.

فرآیند XCI در اوایل تکوین حدود روز ۱۵ تا ۱۶ حاملگی وقتی که جنین دارای حدود ۵۰۰۰ سلول است، رخ می‌دهد. به طور طبیعی هر یک از دو کروموزوم X می‌تواند در هر سلولی غیرفعال شود. پس از آن در تمام سلول‌های دختری حاصله از آن سلول، کروموزوم X یکسانی غیرفعال می‌شود (شکل ۲۴ـ۶). در مورد کیسه‌داران وضعیت متفاوت بوده و همیشه کروموزوم X مشتق از پدر غیرفعال می‌شود.

کروموزوم X غیرفعال در طول اینترفاز به‌صورت فشرده بوده و به صورت یک توده با رنگ‌آمیزی تیره موسوم به کروماتین جنسی (Sex chromatin) یا جسم بار (Barr body) دیده می‌شود. در میتوز کروموزوم X غیرفعال دیرتر همانندسازی می‌کند. روش‌های آزمایشگاهی برای تشخیص اینکه کدام کروموزوم X در هر سلول دیرتر همانندسازی می‌کند، ابداع شده‌اند. این روش برای اثبات کروموزوم غیرطبیعی از لحاظ ساختاری مفید است، زیرا ترجیحاً کروموزوم X غیرطبیعی غیرفعال خواهد شد و به عبارت صحیح‌تر فقط سلول‌های بنیادی خون‌ساز که در آنها کروموزوم X سالم فعال است قادر به بقاء هستند. غیرفعال‌سازی غیرتصادفی همچنین زمانی که یکی از دو کروموزوم X در جابه‌جایی با کروموزوم آتوزوم شرکت دارد، دیده می‌شود.

فرآیند اپی‌ژنتیکی XCI، به‌وسیله متیلاسیون افتراقی (نوعی از نشان‌گذاری) ایجاد می‌شود و به‌وسیلهٔ ژن XIST (X-inactivation specific transcript) که در مرکز غیرفعال‌سازی X در Xq13.3 قرار گرفته آغاز می‌شود. XIST فقط از روی کروموزوم X غیرفعال بیان شده و محصول RNA ای تولید می‌کند که باعث گسترش متیلاسیون غیرفعال کننده به سمت بالا و پایین کروموزوم X (که این RNA بر روی آن قرار گرفته)، می‌شود. این متیلاسیون افتراقی (انتخابی) کروموزوم X، در شناسایی حاملین بیماری‌های نقص ایمنی وابسته به X (مانند سندرم ویسکوت ـ آلدریچ) با استفاده از آنزیم‌های محدودکنندهٔ حساس به متیلاسیون به کار می‌رود. تمام بخش‌های کروموزوم X غیرفعال نمی‌شود. ژن‌های موجود در ناحیهٔ شبه‌آتوزومی در نوک بازوی کوتاه فعال باقی می‌مانند، همچنین لکوس‌های موجود در نواحی دیگر بازوهای کوتاه و بلند مانند ژن XIST نیز فعال خواهند بود.

ژن‌هایی که از XCI می‌گریزند بیشتر بر روی Xp قرار دارند. این پدیدهٔ توضیح‌دهندهٔ مشاهدهٔ اثرات فنوتیپی شدیدتر در زنان دارای حذف‌های کوچک کروموزومی بر روی Xp در مقایسه با زنان دارای حذف‌های کوچک در Xq است. اگر همه لکوس‌های موجود در کروموزوم X غیرفعال می‌شد، در این صورت همه زنان، دارای علائم بالینی شبیه سندرم ترنر بودند و حضور بیش از یک کروموزوم X در مردان (مثلاً 47,XXY) و دو کروموزوم X در زنان (مثلاً 47,XXX) فاقد اثر فنوتیپی بود. در حقیقت در این ناهنجاری‌ها، ویژگی‌های بالینی کاملاً مشخصی دیده می‌شود. XCI توضیحات قانع‌کننده‌ای را برای چندین مشاهده فراهم می‌کند، که در ادامه شرح داده می‌شوند.

اجسام بار

در مردان و زنان دارای بیش از یک کروموزوم X، تعداد اجسام بار مشاهده شده در اینترفاز همیشه یکی کمتر از تعداد کل کروموزوم‌های X است. برای مثال مردان با کاریوتایپ 47,XXY دارای یک جسم بار هستند، در حالی که زنان دارای یک کاریوتایپ 47,XXX دارای دو جسم بار می‌باشند.

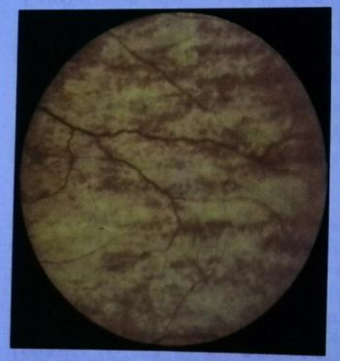
جبران مقداری (یا جبران ژن)

زنان دارای دو کروموزوم X سالم، سطح یکسانی از پروتئین‌های خونی کد شونده توسط کروموزوم X مانند فاکتور VIII را در مقایسه با مردانی که فقط یک کروموزوم X دارند، نشان می‌دهند. یک مورد استثناء در مورد این جبران مقداری (dosage compensation)، سطح استروئید سولفاتاز خون است که در زنان در مقایسه با مردان افزایش نشان می‌دهد. تعجب‌برانگیز نیست که نشان داده شده است که لکوس استروئید سولفاتاز (که نقص در آن سبب یک ناهنجاری پوستی موسوم به ایکتیوز [ichthyosis] می‌شود) در ناحیهٔ شبه آتوزومی قرار دارد.

موزائیسم

موش‌های هتروزیگوت در مورد ژن‌های وابسته به X مؤثر در ایجاد رنگ پوست، حالت موزائیسم در پوست خود نشان می‌دهند و رنگ پوست آنها به جای یک الگوی یکنواخت، از نواحی دارای رنگ‌های مختلف تشکیل شده است. نواحی مختلف پوست با رنگ‌های متفاوت هر یک دارای سلول‌های یکسانی هستند و می‌توان آنها را کلونی یک سلول بنیادی منفرد در نظر گرفت که در آن یکی از دو کروموزوم X بیان می‌شود. چنین پدیده‌ای در بافت‌های دارای منشاء کلونال در زنان دارای جهش‌های هتروزیگوت وابسته به X همانند زالی چشمی (Ocular albinism) نیز مشاهده می‌شود (شکل ۲۵ـ۶).

شواهد اثبات‌کننده دیگر در مورد اینکه فعال‌سازی کروموزوم X می‌تواند منجر به موزائیسم در زنان شود، از مطالعه بر روی آنزیم گلوکز ـ ۶ ـ فسفات دهیدروژناز در کلونی فیبروبلاست‌های کشت داده شده از زنان هتروزیگوت برای واریانت‌های این آنزیم، به‌دست آمده‌اند. هر کلون از یک سلول منفرد مشتق شده و فقط یکی از دو واریانت را بیان می‌کند. منشاء کلونال تومورها را نیز می‌توان در زنان هتروزیگوت در مورد چنین واریانت‌هایی با استفاده از نشان دادن بیان انحصاری یکی از واریانت‌ها در تومور به اثبات رساند.



شکل ۲۵ـ۶. قاعده چشم (Fundus) در فرد حامل زالی چشمی وابسته به X که نشان‌دهندهٔ الگوی موزاییک رنگدانه‌بندی شبکیه است.

بیشتر بدانیم ٦ـ٤

اهمیت بررسی الگوی متیلاسیون DNA در ژنتیک پزشکی و روش‌های آنالیز آن

الگوی متیلاسیون DNA ژنومی در کنترل بیان ژن نقش دارد. اهمیت آنالیز متیلاسیون DNA ژنومی در ژنتیک پزشکی به‌عنوان مثال در موارد زیر اشاره شده است:

۱ـ در تشخیص سندرم X شکننده (افزایش تکرارهای سه نوکلئوتیدی CGG در ژن FMR1 موجب متیله شدن پروموتور شده و این متیلاسیون ژن را خاموش ساخته و باعث بروز علائم بالینی می‌شود). ۲ـ در بررسی الگوهای غیرطبیعی متیلاسیون ویژهٔ والدی در لکوس‌های نشان‌گذاری شدهٔ ژنی (برای مثال در مورد سندرم‌های پرادرویلی و آنجلمن، بک ویت ویدمن و راسل سیلور) ۳ـ در تعیین تغییرات ژنتیکی در تومورها، زیرا ژن‌های سرکوبگر تومور اغلب توسط متیلاسیون خاموش می‌شوند.

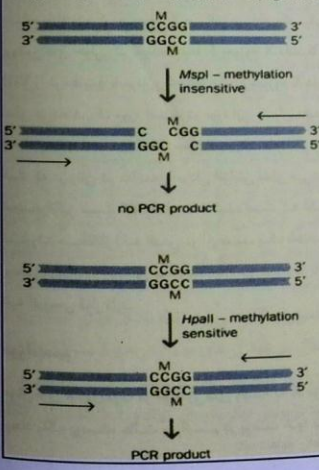
روش‌های آنالیز متیلاسیون

برای بررسی وضعیت متیلاسیون در **سطح ژنوم**، در مطالعات گستردهٔ ژنومی از روش رسوب‌گذاری ایمنی کروماتین (ChIP) توسط یک آنتی‌بادی بر ضد DNA متیله استفاده می‌شود.

اما برای بررسی وضعیت متیلاسیون در **سطح یک توالی منفرد DNA** (توالی مشخص) از دو روش اصلی استفاده می‌گردد:

۱ـ برش با آنزیم محدودکننده (Restriction Enzyme Digestion): آنزیم HpaII حساس به متیلاسیون بوده و فقط توالی CCGG غیرمتیله را برش می‌دهد درحالی‌که آنزیم MspI حساس به متیلاسیون نبوده و توالی را چه متیله و چه غیرمتیله برش می‌دهد. توالی DNA مربوطه قبل از انجام PCR توسط این آنزیم‌ها برش داده می‌شود. در صورتی‌که متیله باشد توسط آنزیم HpaII برش نخورده و محصول PCR به‌دست می‌آید (شکل)

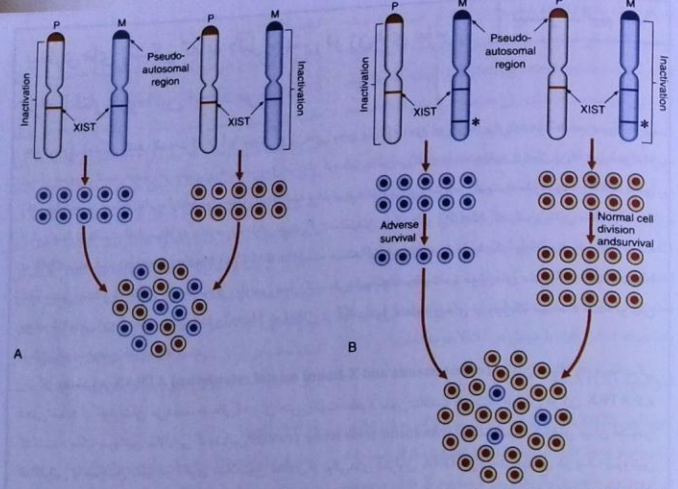
۲ـ تغییر توسط بی‌سولفیت (Bisulfite Modification): زمانی که DNA در معرض بی‌سولفیت سدیم قرار می‌گیرد نوکلئوتید سیتوزین (و نه 5ـ متیل سیتوزین 5meC) به یوراسیل تبدیل می‌شود. با روش‌های مختلفی می‌توان نوکلئوتید تغییر یافته را بررسی کرد: الف) توسط روش توالی‌یابی مرسوم که سیتوزین و 5 متیل سیتوزین پس از تیمار با بی‌سولفیت در توالی‌یابی به ترتیب به‌صورت تیمین (T) و سیتوزین (C) خوانده می‌شوند. ب) روش دیگر طراحی پرایمرهایی است که توالی‌های تغییر یافته و تغییر نیافته را بتوانند در PCR تکثیر نمایند. به‌هرحال یک آزمون کمّی برای سنجش میزان متیلاسیون نیاز است، تا معلوم شود که تا چه حدی دی‌نوکلئوتیدهای CpG یک توالی خاص متیله شده‌اند. برای این منظور از دو روش Pryosequencing و آنالیز منحنی ذوب (Melting Curve Analysis) استفاده می‌گردد.



شکل – استفاده از آنزیم‌های محدوده کننده برای آنالیز وضعیت متیلاسیون یک توالی DNA. آنزیم محدودکنندهٔ HpaII توالی CCGG را تنها زمانی برش می‌دهد که سیتوزین متیله نباشد. MspI همان توالی را بدون توجه به متیله بودن یا نبودن برش می‌دهد. اگر DNA ژنومی توسط HpaII قبل از تکثیر با PCR برش داده شود، هیچ محصول PCR (یا آمپلیکانی) حاوی توالی CCGG تکثیر نمی‌یابد. اما اگر توالی مربوطه متیله باشد، جایگاه CCGG از برش با آنزیم محافظت شده و محصول PCR حاصل می‌گردد.

منابع:

Strachant, Read AP (2010) Human Molecular Genetics, 4th edition. Garland Science. London



شکل ٦ـ٢٦: **A**، غیرفعال‌سازی طبیعی کروموزوم X منجر به بقای تقریباً مساوی سلول‌های دارای کروموزوم X فعال با منشاء پدری (P) و مادری (M) می‌شود. **B**، در این مورد کروموزوم X با منشاء مادری دارای یک جهش (*) است که منجر به انتخاب برعلیه سلول‌هایی می‌شود که این کروموزوم در آنها فعال است. بنابراین سلول‌هایی که زنده می‌مانند دارای بیان ترجیحی کروموزوم X با منشاء پدری هستند.

مشکلات تشخیص حاملین

تشخیص حاملین بیماری‌های وابسته به X مغلوب تنها براساس بررسی ویژگی‌های بالینی و یا سنجش غیرمستقیم عملکرد ژن بسیار مشکل بوده و نتایج به‌دست آمده قابل اعتماد نمی‌باشند. سلول‌های دارای کروموزوم X فعال با ژن سالم می‌توانند دارای مزیت انتخابی بوده و یا این سلول‌ها می‌توانند نقص ایجاد شده توسط سلول‌های مجاور که دارای کروموزوم X فعال با ژن جهش یافته می‌باشند را پوشش دهند. به‌طور مثال تنها بخشی از حاملین دیستروفی عضلانی دوشن (DMD) شواهدی از آسیب ماهیچه‌ای، را که از طریق بررسی سطح کراتین کیناز ماهیچه‌ای در خون مشخص شده، نشان می‌دهند. به‌طور مشابهی، نسبت‌های نامناسب مقدار اسیدهای چرب با زنجیره بسیار بلند در بسیاری و نه همهٔ افراد حامل آدرنولوکودیستروفی وابسته به X دیده می‌شود.

خوشبختانه با توسعهٔ تکنیک‌های ملکولی برای تشخیص حاملین ناهنجاری‌های وابسته به X، این مشکلات را می‌توان با استفاده از پرایمرهای PCR که می‌توانند محصولات DNA متیله شده و غیرمتیله شده را از هم تشخیص دهند، برطرف ساخت. اگر انتخابی برعلیه ردهٔ سلولی که در آن کروموزوم X جهش یافته فعال است، صورت گرفته باشد با این روش قابل تشخیص خواهد بود. (شکل ۲۶ـ۶).

هتروزیگوت‌های تظاهرکننده (یا بروز دهنده) (Manifesting Heterozygotes)

گاهی زنانی وجود دارند که بیان کامل یا جزئی یک بیماری وابسته

بیشتر بدانیم ۵ـ۶

بیماری‌های ژنتیکی که به دلیل جهش در ژن‌های مؤثر بر ساختار کروماتین ایجاد می‌شوند

چند بیماری ژنتیکی کشف شده‌اند که در آنها جهش در ژن‌هایی وجود دارد که وجود این ژن‌ها برای حفظ تنظیم اپی‌ژنتیکی نرمال ضروری است. جهش در چنین ژن‌هایی بر روی ساختار کروماتین تأثیر می‌گذارد و باعث تغییر در بیان ژن‌ها می‌شود. در اکثر موارد چنین بیماری‌هایی، ارتباط بین جهش ایجاد شده و فنوتیپ حاصل از آن نامشخص است. **سندرم رت (Rett)** یکی از این بیماری‌هاست. افراد مبتلا به سندرم رت دارای جهش از دست رفتن عملکرد در MeCP2، که یک پروتئین متصل‌شونده به CpG متیله شده (methyl-CpG binding protein) است، هستند. این پروتئین می‌تواند به یک جایگاه منفرد CpG متیله شده متصل شود و به عنوان یک سرکوبگر رونویسی عمل کند. علی‌رغم ایجاد موفقیت‌آمیز موش‌های مدل که فاقد Mecp2 بودند، شناسایی ژن‌های پایین‌دست هدف Mecp2 که اختلال در آنها مسئول ناهنجاری‌های نورولوژیک مشاهده شده در این بیماری است، موفقیت‌آمیز نبوده است.

در **سندرم ATRAX (α-thalassemia and X-linked mental retardation)** مردان مبتلا عقب‌ماندگی ذهنی شدید از خود نشان می‌دهند، درحالی‌که زنان هتروزیگوت معمولاً بدون علامت هستند. جهش در ژن ATRX که کدکننده یک پروتئین بازآرایی کروماتین (chromatin remodeling protein) است، سبب کاهش بیان لکوس آلفاگلوبین و همچنین تغییر در الگوی متیلاسیون تعدادی از توالی‌های تکراری DNA می‌شود. جهش در یک پروتئین بازآرایی کروماتین فرضی دیگر که SMARCAL1 نامیده می‌شود، سبب ایجاد **Schimike immune – osseous dysplasia** می‌شود. **سندرم ICF** (Immunodeficiency – Centromeric instability - Facial anomaly) که یک بیماری اتوزومی مغلوب است در آن علائم عقب‌ماندگی ذهنی، ناپایداری هتروکروماتین پری سانتریک (اطراف سانترومری)، مخصوصاً کروموزوم‌های ۱، ۹ و ۱۶ دیده می‌شود. در این بیماران جهش در DNMT3B که کدکننده نوعی DNA متیل ترانسفراز ازنو (de novo DNMT) است باعث هیپومتیلاسیون DNA و ناپایداری کروموزومی می‌شود. در **سندرم روبن‌اشتاین ـ تایبی (Rubenstein – Taybi)** فعالیت هیستون استیل ترانسفرازی پروتئین متصل‌شونده به GREB (GREB binding protein) یا P300/CBP دچار نقص می‌شود. در **سندرم Coffin-Lowry** نقص در فسفریلاسیون هیستون‌هاست.

در دیگر بیماری‌های ژنتیکی ممکن است نوع خاصی از جهش، بر وضعیت اپی‌ژنتیکی یک ژن تأثیر بگذارد. بهترین مثال در این مورد سندرم X شکننده همراه با عقب‌ماندگی ذهنی است که در آن گسترش تکرارهای سه‌تایی در ژن FMR1 مشاهده می‌شود. گسترش تکرارهای سه‌تایی مرتبط با متیلاسیون و خاموش شدن ژن ذکر شده است. موارد نادری از این بیماری وجود دارد که در آن علی‌رغم گسترش تکرارهای سه‌تایی، تغییرات اپی‌ژنتیکی مرتبط با متیلاسیون DNA و تغییر بیان ژن دیده نمی‌شود و این افراد دارای هوش طبیعی هستند.

منابع:

Emery and Rimoin's Principles and practice of Medical Genetics 5Th edition. Churchill Livingstone: Edinburgh

به X مغلوب مانند DMD یا هموفیلی را نشان می‌دهند. یک توضیح احتمالی این است که این فرد یک هتروزیگوت تظاهرکننده (manifesting heterozygote) است که به‌طور شانسی کروموزوم X حاوی ژن طبیعی در بیش از ۵۰ درصد سلول‌های مربوطه غیرفعال شده است. به این پدیده غیرفعال‌سازی X یک‌طرفه (Skewed X-inactivation) می‌گویند. شواهدی وجود دارد که غیرفعال‌سازی کروموزوم X خود می‌تواند تحت کنترل ژنتیکی باشد، زیرا چندین خانوادهٔ مبتلا به DMD و بیماری فابری که در آنها چند عضو خانواده، هتروزیگوت (حامل) تظاهرکننده بودند، گزارش شده است. همچنین در معدودی از خانواده‌ها نشان داده شده است که غیرفعال‌شدن X یک طرفه، در این افراد با جهش در XIST مرتبط است.

فنوتیپ 46,Xr(X)

کاریوتایپ 46,Xr(X) در برخی از زنان با ویژگی‌های بالینی سندرم ترنر وجود دارد. این یافته با این حقیقت سازگار است که در کروموزوم حلقوی، توالی‌هائی از کروموزوم X حذف می‌شوند که به‌طور طبیعی غیرفعال نشده و برای ایجاد فنوتیپ طبیعی لازم می‌باشند. به‌طور جالبی تعداد معدودی از زنان 46,Xr(X) دارای ناهنجاری‌های مادرزادی بوده و دارای عقب‌ماندگی ذهنی هستند. در این زنان *XIST* بر روی کروموزوم حلقوی بیان نمی‌شود و بنابراین فنوتیپ نسبتاً شدید آنها به خاطر دیزومی عملکردی (functional disomy) ژن‌های موجود بر روی کروموزوم حلقوی است. مطالعات دیگر در مورد سندرم ترنر با کاریوتایپ 45,X، وابسته به اینکه کدام کروموزوم X (با منشاء پدری و یا مادری) غیرفعال شود، تفاوت‌هائی را در درک اجتماعی و سطوح بالاتر مهارت‌های عملکردی و اجرائی را نشان دادند. از آنجا که افراد دارای کروموزوم X با منشاء پدری نتایج بهتری را نشان دادند، بنابراین می‌توان وجود لکوسی را بر روی کروموزوم X فرض کرد که در ادراک اجتماعی نقش دارد. اگر چنین لکوسی بر روی کروموزوم X مادری بیان نمی‌شود، پس تا حدی می‌تواند توجیه‌کننده مشکلات بیشتر مشاهده شده در مهارت‌های اجتماعی و گفتاری مردان 46,XY باشد، زیرا آنها همیشه کروموزوم X خود را از مادر دریافت می‌کنند.

تحقیقات اخیر

تحقیقات پیشنهاد می‌کند که XCI یک پدیدهٔ همه یا هیچ برای کل کروموزوم X نیست و احتمالاً برای هر ژن نیز فرآیند همه یا هیچ صدق نمی‌کند. در یک مطالعه بر روی فیبروبلاست‌های پوست که بیش از ۶۰۰ عدد ژن از ۱۰۹۸ ژن موجود بر روی کروموزوم X را بیان می‌کردند، مشخص شد که حدود ۲۰ درصد ژن‌ها در برخی از نمونه‌ها و البته نه در همهٔ آنها غیرفعال می‌شوند. حدود ۱۵ درصد به‌طور کامل از XCI می‌گریزند و فقط ۶۵ درصد ژن‌ها به‌طور کامل خاموش شده و فقط در یک دُز بیان می‌شوند. علاوه بر XCI غیرتصادفی، دُزاژ متغیر ژن‌هایی که از XCI می‌گریزند ممکن است توضیحی برای تنوع مشاهده شده در زنان طبیعی و در زنان هتروزیگوت برای ژن‌های بیماری‌های وابسته به X باشد.

دوقلوزایی

دوقلوزایی (twining) در انسان رایج بوده، اگرچه نرخ بروز دوقلوزایی در اوایل حاملگی که به‌وسیله اولتراسونوگرافی مشخص می‌گردد بیش‌تر از نرخ تولد دوقلوهاست و احتمالاً علت آن مرگ و میر و جذب یکی از آنها در تعدادی از حاملگی‌های دوقلو می‌باشد. بروز کلی دوقلوزایی در انگلستان تقریباً ۱ در ۸۰ بوده و براین اساس حدود ۱ نفر در هر ۴۰ نفر (یعنی ۲ در ۸۰) به‌صورت دوقلوزایی به دنیا آمده است. با این حال نرخ دوقلوزایی خود به خودی در جمعیت‌های مختلف تفاوت بسیار زیادی دارد و از میزان تقریبی ۱ در هر ۱۲۵ حاملگی در ژاپن تا میزان ۱ در ۲۲ حاملگی در نیجریه را شامل می‌شود.

دوقلوها بسته به اینکه از یک لقاح و یا دو لقاح جداگانه منشاء گرفته باشند، می‌توانند به ترتیب باعث ایجاد **دوقلوهای یکسان (identical) یا تک‌زیگوتی** (monozygote = MZ) و **دوقلوهای ناهمسان یا دوزیگوتی** (dizygotic = DZ) شوند (جدول ۱۰-۶). مقایسه بیماری در دوقلوهای MZ و DZ که هر دو دچار بیماری شده‌اند و یا یکی از آنها مبتلا شده است، می‌تواند اطلاعاتی را در مورد سهم نسبی محیط و ژنتیک در مورد بسیاری از بیماری‌های شایع زندگی بزرگسالان (فصل ۱۵)، به‌خصوص در مورد مطالعهٔ رفتار و سلامت روانی فراهم کند.

جدول ۱۰ـ۶ خلاصه‌ای از تفاوت‌های بین دوقلوهای تک‌تخمی و دوتخمی

	تک‌زیگوتی	دوزیگوتی
منشاء	یک تخمک بارور شده	دو تخمک که هر یک به‌طور جداگانه به‌وسیله اسپرم مجزایی بارور شده است
میزان بروز	۱ در ۳۰۰ حاملگی	متغیر، از ۱ به ۱۰۰ تا ۱ به ۵۰۰ حاملگی
نسبت ژن‌های مشترک	۱۰۰ درصد	۵۰ درصد (به‌طور متوسط)
بافت‌های خارج روبانی	۷۰ درصد موارد تک‌کوریونی و دو آمنیونی بوده، در ۳۰ مورد دو کوریونی و دو آمنیونی هستند. موارد نادر تک‌آمنیونی و تک کوریونی نیز مشاهده شده است.	همیشه دو کوریونی و دو آمنیونی هستند.

دوقلوهای تک‌زیگوتی

دوقلوزایی تک‌زیگوتی (MZ) در همهٔ جمعیت‌های مطالعه‌شده، بروز تقریبی یک در ۳۰۰ تولد را نشان می‌دهد. دوقلوهای MZ از یک تخمک بارور شده به‌وسیلهٔ یک اسپرم منفرد ایجاد می‌شود. تفکیک اولیهٔ در سلول‌های توده، قبل از جدا شدن سلول‌هایی که کوریون را می‌سازند منجر به ایجاد دوقلوهای دوکوریونی (dichorionic) می‌شود. تفکیک در مرحله بلاستوسیست طی روزهای ۳ تا ۷ منجر به تولید دوقلوهای تک‌کوریونی و دو آمنیونی (monochorionic diamniotic) می‌شود. تفکیک پس از هفتهٔ اول باعث ایجاد دوقلوهای تک‌آمنیونی می‌شود. به‌طور کلی دلیل ایجاد دوقلوزایی MZ در انسان مشخص نیست. بروز دوقلوزایی در بین بچه‌هایی که با روش لقاح در شیشه متولد (*in – vitro fertilization*) می‌شوند دو تا پنج برابر افزایش نشان می‌دهد. همچنین موارد نادری از دوقلوزایی MZ ارثی وجود دارد که از طریق پدر و مادر به ارث می‌رسد و پیشنهاد می‌کند که یک نقص تک‌ژنی باعث افزایش استعداد دوقلوزایی می‌شود.

تمایل داریم که دوقلوهای MZ را از نظر ژنتیکی یکسان در نظر بگیریم و البته این تصور درست است. اما آنها می‌توانند در مورد نقایص ساختاری تولد که مربوط به خود فرآیند دوقلوزایی است، مخصوصاً آن دسته از ناهنجاری‌هایی که در محور میانی اتفاق می‌افتد، عدم همخوانی (discordance) نشان دهند. در دوقلوهای MZ افزایش ریسک ۲ تا ۳ برابری نقایص مادرزادی دیده می‌شود (یعنی در ۵ تا ۱۰ درصد تمام دوقلوهای MZ). عدم هم‌خوانی در مورد صفات تک‌ژنی یا ناهنجاری‌های کروموزومی نیز ممکن است دیده شود، که به ترتیب به علت جهش سوماتیکی پس از تشکیل تخم و عدم تفکیک (non-disjunction) ایجاد می‌شود. یک مثال از مورد عدم تفکیک، وقوع نادر جنسیت‌های مختلف در دوقلوهای MZ است: یکی به صورت 46,XY بوده ودیگری 45,X است. دوقلوهای مؤنث MZ می‌توانند تفاوت قابل ملاحظه‌ای را در غیر فعال‌سازی کروموزوم X نشان دهند. چندین مطالعه در مورد دوقلوهای MZ مؤنث وجود دارد که در آن یکی از دو نفر به بیماری‌های وابسته به X مغلوب همچون هموفیلی و DMD مبتلا شده است. در این موارد نادر، هر دو نفر دارای جهش بوده‌اند و هر دو غیرفعال شدن غیرتصادفی کروموزوم X را در دو جهت مختلف نشان داده‌اند.

به‌طور معمول دوقلوهای MZ ابزار تحقیقاتی ایده‌آلی برای مطالعات تأثیرات ژنتیکی در مقابل تأثیرات محیطی بوده‌اند. در مطالعه ۴۰ جفت دوقلوی MZ، متخصصان ژنتیک سطح دو نوع تغییر اپی‌ژنتیکی یعنی متیلاسیون DNA و استیلاسیون هیستون‌ها را بررسی کردند. دو سوم دوقلوها دارای پروفایل یکسانی بوده و بقیه تفاوت‌های قابل توجهی از خود نشان دادند. این تفاوت‌ها همچنین با سن افراد، مقدار زمانی که هر دو نفر به دور از هم سپری کرده بودند و تفاوت در تاریخچه پزشکی‌شان ارتباط داشت، که پیشنهاد می‌کند تغییرات DNA در طول زمان انباشته می‌شوند. همچنین این مطالعه پیشنهاد کننده یک ارتباط سببی محتمل نیز بین تغییرات اپی‌ژنتیک و استعداد ابتلاء به بیماری است.

تفکیک دیرهنگام پس از روز چهاردهم بعد از لقاح، می‌تواند منجر به ایجاد دوقلوهای بهم چسبیده شود. نرخ بروز این حالت

یک در هر ۱۰۰۰۰۰ حاملگی و تقریباً ۱ در ۴۰۰ تولد دوقلوهای MZ است. گاهی اوقات به دوقلوهای بهم چسبیده به یاد چنگ و انگ (Chang and Eng) که در سال ۱۸۱۱ در تایلند متولد شده و به نام سیام (Siam) معروف شدند، سیامی (Siamese) می‌گویند. آنها از ناحیه بالایی شکم بهم چسبیده بودند و به عنوان افرادی مشهور در نمایش‌های مسافرتی در ایالات متحده (جائی که آنها در آن سکنی گزیده و ازدواج کردند)، زندگی موفقی داشتند. این دو علی‌رغم بهم پیوسته بودنشان تعداد زیادی بچه داشتند و هر دوی آنها در ۶۱ سالگی به فاصله چند ساعت فوت کردند.

نسبت جنسیتی در دوقلوهای بهم چسبیده به‌طور قابل توجهی نابرابر بوده و در ۷۵ درصد موارد جنسیت مؤنث است. هر چه واقعهٔ تفکیک دوقلوهای MZ دیرتر رخ دهد، نسبت جنسیتی به نفع مؤنث‌شدن منحرف شده و مطالعات غیر فعال‌سازی کروموزوم X پیشنهاد می‌کند که ایجاد دوقلوهای MZ در دوقلوهای MZ مؤنث تقریباً با غیرفعال‌سازی کروموزوم X همزمان می‌باشد.

دوقلوهای دوزیگوتی

دوقلوهای دو زیگوتی (DZ) حاصل لقاح دو تخمک با دو اسپرم بوده و شباهت آنها از لحاظ ژنتیکی مانند شباهت خواهر و برادرها به همدیگر است و به‌طور متوسط دارای ۵۰ درصد ژن‌های یکسان مشترک با والدین خود هستند. البته به آنها گاهی اوقات **دوقلوهای برادری** (fraternal twins) گفته می‌شود. دوقلوهای DZ دو کوریونی و دو آمنیونی هستند و اگر لانه‌گزینی در مکان‌های نزدیک بهم اتفاق بیفتد، دوقلوهای دو زیگوتی می‌توانند دارای یک جفت منفرد بهم چسبیده باشند. نرخ بروز در جمعیت‌های گوناگون متغیر بوده و تقریباً ۱ در ۱۰۰ تولد در بین جمعیت‌هایی سیاه‌پوستان کارائیب تا ۱ در ۵۰۰ تولد در آسیا و ژاپن است. در بین سفیدپوستان اروپای غربی نرخ بروز ۱ در ۱۲۰ حاملگی است و مشاهده شده که عواملی چون شهرنشینی و قحطی باعث کاهش نرخ تولد دوقلوهای DZ شده، اما افزایش مقدار نور فصلی باعث افزایش میزان بروز این تولدها (مثلاً در اسکاندیناوی در تابستان) می‌شود.

عوامل مستعدکننده دوقلوزایی DZ عبارتند از: سن بالاتر مادر، پیشینهٔ خانوادگی مثبت (به علت افزایش ارثی سطوح هورمون تحریک‌کننده فولیکولی) و استفاده از داروهای القاءکننده تخمک‌گذاری مانند کلومیفن (Clomiphene).

تعیین نوع دوقلوزایی

تعیین نوع دوقلوها (Zygosity) با بررسی جفت و قسمت‌های خارج جنینی و همچنین آنالیز سیستم‌های پلی‌مورفیک همچون گروههای خونی و آنتی‌ژن‌های لکوسیت انسانی و دیگر مارکرهای بیوشیمیایی انجام می‌شود. امروزه با استفاده از مارکرهای ملکولی (DNA) بسیار پلی‌مورفیک و پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) با اطمینان بالایی نوع دوقلوها را تعیین می‌کنند.

مطالعات بیشتر

Baker K, Beales PL 2009 Making sense of cilia in disease: the human ciliopathies. Am J Med Genet 151C:281-295.

Dreyer SD, Zhou G, Lee B 1998 The long and the short of it: developmental genetics of the skeletal dysplasias. Clin Genet 54:464-473

A short review of developmental genes known to cause abnormal skeletal development.

Hall JG 2003 Twinning. Lancet 2003; 362:735-743

Hammerschmidt M, Brook A, McMahon AP 1997 The world according to hedgehog. Trends Genet 13:14-20

A comprehensive account of the role of the hedgehog gene family in early vertebrate development.

Kleinjan DJ, van Heyningen V 1998 Position effect in human genetic disease. Hum Mol Genet 7:1611-1618

An outline of the various theories and mechanisms that have been proposed to account for observed positional effects in developmental gene expression.

Kornak U, Mundlos S 2003 Genetic disorders of the

skeleton: a developmental approach. Am J Hum Genet 73:447-474

An up-to-date summary of current knowledge.

Lacombe D 1999 Transcription factors in dysmorphology. Clin Genet 55:137-143

As the title indicates, a description of the role of transcription regulatory genes in causing multiple congenital abnormality syndromes.

Lindor NM, Ney JA, Gaffey TA, et al 1992 A genetic review of complete and partial hydatidiform moles and nonmolar triploidy. Mayo Clin Proc 67:791-799

A detailed review of the mechanisms that can lead to the formation of hydatidiform moles.

Lyon MF 1961 Gene action in the X chromosome of the mouse (*Mus musculus* L). Nature 190:372-373

The original proposal of X-inactivation-very short and easily understood.

Manouvrier-Hanu S, Holder-Espinasse M, Lyonnet S 1999 Genetics of limb anomalies in humans. Trends Genet 15:409-417

A detailed and well-illustrated account of vertebrate limb development.

Muenke M, Schell U 1995 Fibroblast-growth-factor receptor mutations in human skeletal disorders. Trends Genet 11:308-313

A concise review of the functions of the fibroblast growth factors and their receptors.

Muragaki Y, Mundlos S, Upton J, Olsen BR 1996 Altered growth and branching patterns in synpolydactyly caused by mutations in *HOXD13*. Science 272:548-551.

The long-awaited first report of a human malformation caused by a mutation in a HOX gene.

Passos-Bueno MR, Ornelas CC, Fanganiello RD 2009 Syndromes of the first and second pharyngeal arches: a review. Am J Med Genet Part A 149A:1853-1859.

An excellent short overview of pharyngeal arches and associated syndromes.

Saga Y, Takeda H 2001 The making of the somite: molecular events in vertebrate segmentation. Nature Rev Genet 2:835-844

An excellent review of somite development.

Tickle C, ed 2003 Patterning in vertebrate development. Oxford University Press, Oxford

A detailed, multi-author collection handling very early development, from mainly molecular perspectives.

Villavicencio EH, Walterhouse DO, Iannaccone PM 2000 The Sonic hedgehog-patched-Gli pathway in human development and disease. Am J Hum Genet 67:1047-1054

An excellent short overview of the Sonic hedgehog pathway.

نکات مهم

۱ـ چندین خانواده ژنی تکوینی که در ابتدا در دروزوفیلا و موش شناسایی شدند در ریخت‌زایی (morphogenesis) انسان نیز نقش دارند. این ژن‌ها شامل ژن‌های ایجادکننده قطبیت در قطعات (Segment polarity genes)، ژن‌های حاوی هومئوباکس (HOX) و ژن‌های حاوی Paired box (PAX) هستند. بسیاری از این ژن‌ها، فاکتورهای رونویسی می‌باشند که فرآیندهای تکوینی پشت سر هم را تنظیم می‌کنند. ژن‌های دیگر در سیگنال‌دهی سلولی اهمیت دارند. جهش در این ژن‌ها سبب ایجاد چندین نوع بدشکلی و سندرم‌های بدشکلی متعدد می‌شود.

۲ـ امروزه مشخص شده که چند نوع سندرم به خوبی شناخته شده، با مسیرهای سیگنالی تکوینی (مانند Sonic hedgehog) مرتبط می‌باشند

۳ـ برای تکوین طبیعی نیاز است که از هر یک از والدین یک

مجموعه کروموزوم هاپلوئیدی به ارث برسد. به ارث‌رسیدن یک مجموعه دیپلوئیدی پدری در صورت عدم حضور کروموزوم مادری منجر به ایجاد مول هیداتی فرم کامل می‌شود و اگر یک مجموعه هاپلوئیدی مادری هم به ارث برسد مول هیداتی فرم ناقص تریپلوئیدی ایجاد می‌شود.

۴ـ عامل تعیین‌کنندهٔ بیضه که بر روی کروموزوم Y قرار گرفته و به نام SRY شناخته می‌شود، باعث تبدیل گنادهای تمایز نیافته به بیضه می‌گردد. این پروتئین باعث ایجاد یک توالی‌ای از رخدادها می‌شود که در نهایت منجر به تکوین مردانه می‌شود. در غیاب بیان SRY جنین انسان تبدیل به جنس مؤنث می‌شود.

۵ـ در جنس مؤنث یکی از کروموزوم‌های X در اوایل مراحل رویانی در هر سلول غیرفعال می‌شود. این کروموزوم X می‌تواند منشاء پدری و یا منشاء مادری داشته باشد. از آن پس همه سلول‌های دختر حاصل از آن سلول اولیه، دارای کروموزوم X غیرفعال شدهٔ یکسانی هستند. این پدیده که به لیونیزاسیون نیز مشهور است علت وجود جسم بار در هسته سلول‌های جنس ماده را توضیح می‌دهد و باعث برقراری جبران مقداری (جبران دُز) محصولات ژن‌های واقع بر روی کروموزوم‌های X در زنان و مردان می‌شود.

۶ـ دوقلوها هم می‌توانند دارای منشاء تک‌زیگوتی (یکسان) یا دو زیگوتی (برادری) باشند. دوقلوهای تک‌زیگوتی از یک سلول تخم منفرد منشاء گرفته و در حدود هفته دوم پس از لقاح به دو فرد تفکیک می‌شوند. دوقلوهای تک‌زیگوتی از لحاظ ژنتیکی یکسان هستند. دوقلوهای دوزیگوتی از دو سلول تخم مجزا از هم منشاء گرفته‌اند و شباهت ژنتیکی آنها به یکدیگر بیشتر از شباهت خواهرها و برادرها نسبت به هم نیست.

فصل ۷

الگوهای توارث

اینکه جنبه‌های *بنیادی* توارث بسیار ساده به نظر آمده‌اند امیدمان را در مورد این موضوع که کل طبیعت قابل دستیابی است، بیشتر می‌کند.
«توماس مورگان، ۱۹۱۹»

مطالعات خانوادگی

معمولاً تحقیق در مورد اینکه یک صفت یا بیماری خاص در انسان ژنتیکی و توارثی است یا خیر، وابسته به مشاهداتی است که از نحوهٔ انتقال آن از یک نسل به نسل دیگر یا براساس مطالعه فراوانی آن در بین خویشاوندان، به دست آمده‌اند.

یک دلیل مهم برای مطالعه الگوهای توارث بیماری‌ها درون خانواده‌ها اینست که بتوان به اعضاء یک خانواده در مورد احتمال مشاهده بیماری یا انتقال آن به فرزندانشان توصیه‌هائی ارائه کرد (به‌عبارتی **مشاورهٔ ژنتیک**، به فصل ۱۷ مراجعه شود). با داشتن سابقه خانوادگی می‌توان به تشخیص یک بیماری رسید. مثلاً بچه‌ای به دلیل یک شکستگی پس از یک آسیب به ظاهر جزئی، مورد توجه پزشک قرار گرفته است. سابقه خانوادگی با گرایش مشابه به شکستگی و صلبیه آبی‌رنگ، تشخیص استئوژنز ایمپرفکتا (osteogenesis imperfecta) را پیشنهاد می‌کند. در نبود یک سابقه خانوادگی سایر تشخیص‌ها نیز در نظر گرفته می‌شوند.

رسم شجره‌نامه و اصطلاحات

یک شجره‌نامه خانوادگی سیستم خلاصه‌ای از ثبت اطلاعات در مورد یک خانواده است. معمولاً با فردی از خانواده شروع می‌شود که توسط او کل خانواده مورد توجه محقق قرار گرفته است. این فرد به عنوان **مورد شاخص**، **پروباند** یا **پروپوزیتوس** (propositus) و اگر مؤنث باشد **پروپوزیتا** (proposita) نامیده می‌شود. جایگاه پروباند در شجره‌نامه خانوادگی با یک فلش مشخص می‌شود. اطلاعات در رابطه با سلامتی سایر اعضاء خانواده با پرسش‌های مستقیم در مورد خواهرها، برادرها، والدین و خویشاوندان مادری و پدری به دست می‌آید که همراه با اطلاعات مناسب در مورد جنسیت افراد، وضعیت ابتلاء و ارتباط فرد با سایر افراد به دقت در نمودار شجره‌نامه (pedigree) ثبت می‌شود (شکل ۱-۷). توجه به جزئیات می‌تواند حیاتی باشد زیرا بیماران همیشه به تفاوت بین برادرها و خواهرها و خواهر- برادرهای ناتنی توجه نمی‌کنند و ممکن است از این حقیقت چشم‌پوشی کنند. برای مثال بچهٔ برادر فردی که در خطر بیماری هانتینگتون است در واقع می‌تواند فرزند خوانده بوده و یک خویشاوند بیولوژیک نباشد.

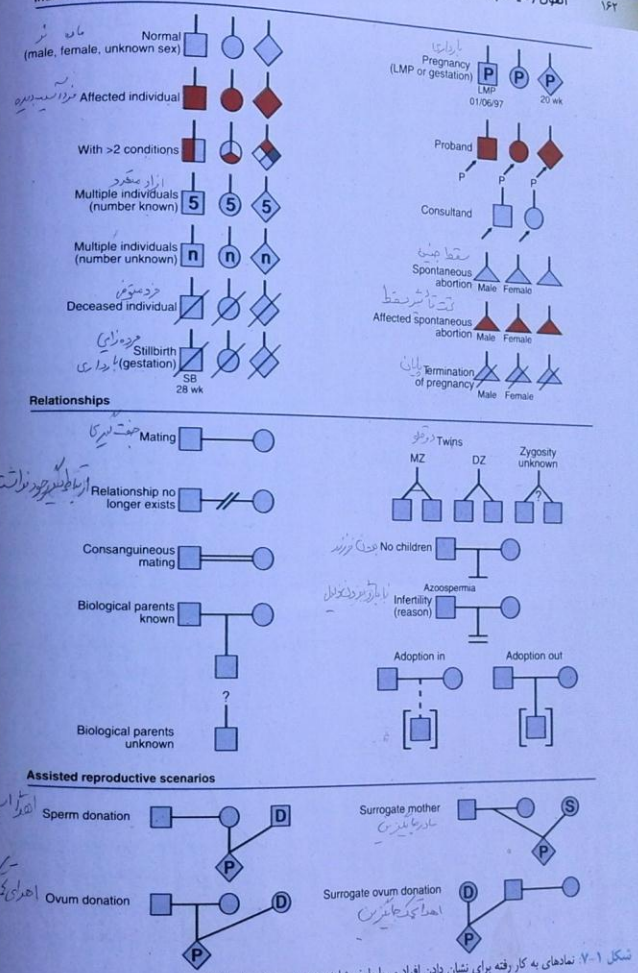
توارث مندلی

بیش از ۱۶،۰۰۰ صفت یا بیماری در انسان **توارث مندلی یا تک‌عاملی - تک‌ژنی** نشان می‌دهند. با این حال ویژگی‌هائی مثل قد و بسیاری از بیماری‌های خانوادگی شایع مثل دیابت و یا فشار خون معمولاً از یک الگوی ساده توارث مندلی تبعیت نمی‌کنند (به فصل ۹ مراجعه شود).

یک صفت یا بیماری که توسط یک ژن آتوزومی تعیین می‌شود اصطلاحاً **توارث آتوزومی** دارد در حالی که یک صفت یا بیماری تعیین شده با یک ژن وابسته به یکی از کروموزوم‌های جنسی گفته می‌شود که **توارث وابسته به جنس** نشان می‌دهد.

الگوی توارث آتوزوم غالب

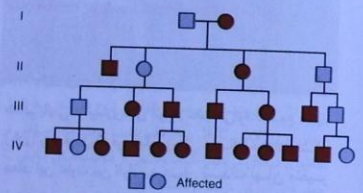
یک صفت آتوزوم غالب صفتی است که در حالت هتروزیگوت تظاهر می‌کند و فرد دارای هر دو آلل طبیعی و غیرطبیعی (یا جهش یافته) می‌باشد. اغلب امکان دارد که یک صفت یا بیماری توارثی غالب را در چندین نسل از خانواده پیگیری کرد (شکل ۲-۷). در آفریقای جنوبی اکثر موارد پورفیری متغیر (porphyria variegata) را می‌توان تا یک زوج در اواخر قرن هفدهم ردیابی کرد. این بیماری یک بیماری متابولیکی است که با تاول‌های پوستی در نتیجهٔ افزایش حساسیت به نور آفتاب مشخص می‌شود (شکل ۳-۷) و به دلیل ترشح پورفیرین‌ها، ادرار آنها به رنگ شرابی درمی‌آید. این الگوی توارث گاهی «انتقال عمودی» نامیده می‌شود و با مشاهدهٔ انتقال مرد به مرد (یا به عبارتی پدر به پسر) تأیید می‌شود.



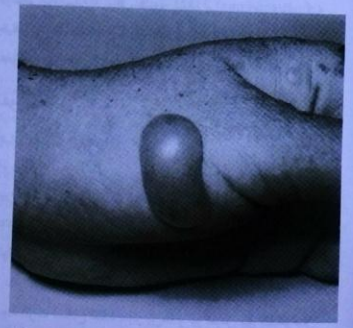
شکل ۱-۷. نمادهای به کار رفته برای نشان دادن افراد و روابط خویشاوندی در شجره‌نامه‌های خانوادگی

خطرات ژنتیکی

هر گامت یک فرد دارای یک صفت یا بیماری غالب، آلل طبیعی و یا آلل جهش‌یافته را دریافت می‌کند. اگر آلل جهش‌یافته را با D و آلل طبیعی را با d مشخص کنیم، ترکیبات احتمالی گامت‌ها در شکل ۴-۷ نشان داده شده‌اند. هر بچه‌ای که از یک والد مبتلا به یک صفت یا بیماری غالب متولد می‌شود ۱/۲ (یا ۵۰٪) احتمال به ارث بردن و بنابراین ابتلاء به آن بیماری یا صفت را خواهد داشت. این دیاگرام‌ها اغلب در کلینیک ژنتیک به کار می‌روند تا تفکیک این آلل‌ها را برای بیماران توضیح داده و معمولاً بیشتر از یک مربع پانت (Punnett square) کاربرپسند می‌باشند (شکل‌های ۳-۱ و ۸-۱ را ببینید).



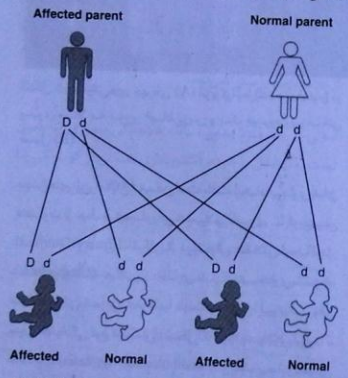
شکل ۲-۷: شجره‌نامه خانوادگی یک صفت آتوزوم غالب. به انتقال مرد به مرد توجه کنید.



شکل ۳-۷: لزیون‌های تاول پوستی بر روی دست در بیمار مبتلا به پورفیری متغیر

پلیوتروپی

صفات آتوزوم غالب ممکن است تنها یک عضو یا بخشی از بدن مثلاً چشم را در کاتاراکت (آب‌مروارید) مادرزادی درگیر نماید. با این حال معمول است که بیماری‌های آتوزوم غالب در سیستم‌های متفاوت بدن با روش‌های مختلفی تظاهر نمایند. این حالت **پلیوتروپی** (Pleiotropy) است که یک ژن می‌تواند دو یا چند اثر ظاهراً نامرتبط به هم ایجاد کند. در مورد افراد مبتلا به توبروز اسکلروزیس (tuberous sclerosis) افراد مبتلا مشکلات متعددی از جمله ناتوانی‌های یادگیری، صرع، راش‌های چهره‌ای به نام آدنوم سباسئوم (adenoma sebaceum) (از لحاظ هیستولوژی (بافت‌شناسی) ترکیبی از رگ‌های خونی و بافت‌های فیبروز به نام آنژیوکراتوما است) یا فیبروماهای زیر ناخن‌ها را نشان می‌دهند (شکل ۵-۷). بعضی از افراد مبتلا همهٔ علائم را نشان می‌دهند در حالی که سایر بیماران تقریباً هیچ علائمی را بروز نمی‌دهند. برخی کشف‌ها، درک مفهوم اصطلاح پلیوتروپی را در مورد سندرم‌های بسیار متنوع به چالش کشیده‌اند. این سندرم‌ها می‌توانند در اثر جهش‌های متفاوت در یک ژن یکسان ایجاد شوند برای مثال ژن *LMNA* (که لامین A/C را کد می‌کند) و ژن فیلامین A وابسته به X (*FLNA*).



شکل ٤-۷: تفکیک آلل‌ها در الگوی توارث آتوزوم غالب. D نمایانگر آلل جهش یافته است در حالی که d نشان‌دهندهٔ آلل طبیعی است.

شکل ۵-۷: رانش‌های چهره‌ای (A) آتزیوکراتوما (آدنوم سباسئوم) در پسری مبتلا به توبروز اسکلروزیس و یک فیبروم زیر ناخنی معمول (B).

جهش‌های ژن *LMNA* ممکن است باعث ایجاد بیماری‌های متفاوت از جمله دیستروفی عضلانی امری ـ دریفوس (Emery-Dreifuss)، شکلی از دیستروفی عضلانی لیمب‌گردل (Limb girdle)، حالتی از بیماری شارکوت ـ ماری ـ توث، کاردیومیوپاتی اتساعی همراه با نارسائی قلبی، لیپودیستروفی نسبی خانوادگی نوع دانیگان (شکل ۶-۷)، دیسپلازی آرواره ـ دست و پا (mandibuloacral dysplasia) و یک بیماری خیلی نادر که توجه زیادی به خود را جلب کرده به نام هاتچینسون گیلفورد پروجریا (Hutchinson- Gilford Progeria) شوند. این بیماری‌ها به دلیل جهش‌های هتروزیگوت ایجاد می‌شوند به استثناء بیماری شارکوت ـ ماری ـ توث و دیسپلازی آرواره ـ دست و پا که مغلوب می‌باشند و بنابراین افراد مبتلا برای جهش‌های *LMNA* هموزیگوت هستند. گاهی نیز فردی با وجود یک جهش کاملاً سالم است. جهش‌ها در ژن فیلامین A در بیماری‌هائی مجزا اما همپوشان با هم نقش دارد از جمله حالت‌های دیسمورفیک غالب وابسته به X سندرم گوش ـ کام ـ انگشت (oto-plato-digital syndrome)، سندرم ملنیک نیدل (Melnick- Needles Syndrome) و دیسپلازی فرونتومتافیزی (Frontometaphyseal dysplasia). با این حال پیش‌بینی نشده بود که شکلی از یک صرع غالب وابسته به X در زنان به نام هتروتوپی گرهی دور بطنی (Periventricular nodular heterotopia) نیز به دلیل جهش در این ژن باشد.

شدت بیان متغیر

علائم بالینی در بیماری‌های آتوزوم غالب می‌توانند تنوع بسیار زیادی را از فردی به فرد دیگر (حتی در یک خانواده) نشان دهند. این تفاوت بین افراد به عنوان **شدت بیان متغیر** (Variable expressivity) در نظر گرفته می‌شود. در بیماری کلیه پلی‌کیستیک آتوزوم غالب برای مثال بعضی از افراد مبتلا در اوائل بزرگسالی نارسائی کلیوی نشان می‌دهند، در حالی که بقیه ممکن است تنها چند کیست کلیوی داشته باشند بدون آنکه عملکرد کلیه خیلی تحت تأثیر قرار بگیرد.

نفوذ کاهش یافته

در برخی افراد هتروزیگوت برای جهش‌های ژنی، در بیماری‌های آتوزوم غالب ممکن است هیچکدام از علائم بالینی غیرطبیعی بروز نکنند، که به آن **نفوذ کاهش یافته** (Reduced Penetrance) می‌گویند یا آنچه که معمولاً به عنوان «حذف شده در یک نسل» (skipping a generation) در نظر گرفته می‌شود. به نظر می‌رسد نفوذ کاهش یافته در نتیجهٔ اثرات اصلاح‌کنندهٔ سایر ژن‌ها و نیز تعامل ژن با عوامل محیطی ایجاد شود. فردی که هیچ یک از علائم یک بیماری را علی‌رغم هتروزیگوت‌بودن برای یک جهش ژنی خاص بروز

شکل ۶-۷: لیپودیستروفی نسبی خانوادگی نوع دانیگان به دلیل جهش در ژن لامین A/C . بیمار فاقد بافت چربی به‌خصوص در اندام‌های دیستال می‌باشد. طیف وسیعی از فنوتیپ‌های بالینی با جهش‌های این ژن مرتبط می‌باشند.

شکل ۷-۷: بچه در این تصویر دارای سندرم تریچر ـ کولین می‌باشد که دارای جهش در ژن *TCOF1* است. فک تحتانی کوچک بوده، شکاف‌های پلکی رو به پائین بوده و معمولاً نقص پلک پائینی (کلوبوما) همراه با نقائص شنوائی و گوش میکروتیا [هیپوپلازی لاله گوش همراه با بسته بودن سوراخ گوش خارجی] نشان می‌دهد که این علائم شایع می‌باشند. بیماری از الگوی توارث آتوزوم غالب پیروی می‌کند اما بسیار متغیر است. مادر بچه نیز جهش را دارد، اما هیچکدام از علائم واضح را نشان نمی‌دهد.

نمی‌دهد، اصطلاحاً گفته می‌شود که **عدم نفوذ** (non-penetrance) را نشان می‌دهد. نفوذ کاهش یافته و شدت بیان متغیر همراه با اثرات پلیوتروپیک یک آلل جهش یافته، همگی باید در تفسیر اطلاعات سابقه خانوادگی بیماری‌هائی با الگوی توارث آتوزوم غالب، در نظر گرفته شوند. مثال خوبی از یک بیماری بسیار متغیر که اغلب در مورد آن عدم نفوذپذیری مشاهده می‌شود سندرم تریچر ـ کولین (Treacher- Collins Syndrome) است. یکی از مشخص‌ترین علائم آن ویژگی‌های چهره‌ای خیلی واضح می‌باشند (شکل ۷-۷)، به هر حال مادر بچه نیز دارای جهش ژن (*TCOF1*) است و همچنین دارای تعدادی خویشاوند نزدیک با همان بیماری می‌باشد.

جهش‌های جدید

در بیماری‌های آتوزوم غالب یک فرد مبتلا، معمولاً دارای یک والد مبتلا است. با این حال همیشه اینطور نمی‌باشد. مشاهده صفتی در یک فرد بدون سابقه خانوادگی بیماری نامعمول نیست. یک مثال برجسته، آکندروپلازی شکلی از کوتولگی با دست و پای کوتاه است که در مورد آن والدین معمولاً قد طبیعی دارند. ظهور ناگهانی و غیرمنتظره یک بیماری که در نتیجهٔ ایجاد اشتباه در انتقال یک ژن ناشی می‌شود را یک **جهش جدید** می‌نامند. الگوی توارث آتوزوم غالب آکندروپلازی را تنها با مشاهده اینکه فرزندان فردی مبتلا به آکندروپلازی دارای ۵۰٪ احتمال مبتلاشدن به بیماری می‌باشند، می‌توان تأیید کرد. در مواردی که کمتر شدید می‌باشند احتمالات دیگر برای ظهور ناگهانی یک بیماری باید در نظر گرفته شوند. این موارد شامل عدم نفوذ و شدت بیان

متغیر است چنانچه در بخش قبلی اشاره شدند. با این حال پزشکان باهوش نیاز دارند از روابط خانوادگی مطلع باشند ـ به عبارت دیگر ممکن است عدم رابطه پدر ـ فرزندی (**ناپدری**) و یا گاهی عدم رابطه مادر ـ فرزندی (**نامادری**) وجود داشته باشد که به آن اشاره‌ای نشده است.

جهش‌های غالب جدید در موارد خاصی در ارتباط با افزایش سن پدر می‌باشند. تصور می‌شود این مورد در نتیجهٔ تعداد زیادی تقسیمات میتوزی است که سلول‌های بنیادی گامت مذکر در طول دورهٔ تولید مثلی یک فرد متحمل می‌شوند. با این حال ممکن است این تصور یک دیدگاه بسیار ساده باشد. در ارتباط با جهش‌های ژن *FGFR2* (سندرم‌های کرانیوسینوستوزیس یا بسته شدن زودرس درزهای استخوان‌های جمجمه)، کار بنیادین گروه ویلکی (Wilkie) در آکسفورد نشان داد که جهش‌های عامل افزایش عملکرد (gain-of-function) موجب برتری انتخابی سلولی‌های بنیادی اسپرماتوگنی شده، بنابراین رده‌های سلولی جهش یافته تجمع می‌یابند.

هم‌غالبی

هم‌غالبی (Co-dominance) اصطلاحی است که وقتی هر دو صفت آللی با هم در حالت هتروزیگوت بیان شوند، به کار می‌رود. در افرادی با گروه خونی AB می‌توان مواد هر دو گروه خونی A و B را بر روی سلول‌های قرمز خون مشخص کرد. بنابراین گروه‌های خونی A و B نسبت به همدیگر هم غالب می‌باشند.

هموزیگوسیتی در مورد صفات آتوزوم غالب

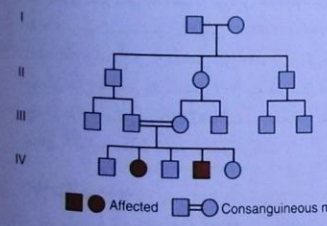
نادر بودن اکثر بیماری‌های آتوزوم غالب به این معناست که آنها معمولاً در حالت هتروزیگوت یافت می‌شوند. به هر حال چند گزارش از تولد بچه‌هائی با والدین هتروزیگوت برای یک بیماری توارثی غالب وجود دارد. در بعضی مثال‌ها افراد مبتلا ممکن است شدیدتر مبتلا شوند مثل آنچه که در آکندروپلازی گزارش شده، یا ممکن است سن بروز زودتری داشته باشند مثل هایپرکلسترولمیای خانوادگی. حالت هتروزیگوت، با فنوتیپی حد واسط بین هموزیگوت‌های آلل‌های طبیعی و جهش یافته، مطابق با جهش فقدان عملکرد همراه با عدم کفایت هاپلوئیدی (haploinsufficiency) است. در مقابل در سایر بیماری‌های آتوزوم غالب، افراد هموزیگوت با شدت بیشتری از هتروزیگوت‌ها مبتلا نمی‌شوند مثل بیماری هانتیگتون و دیستروفی میوتونیک.

الگوی توارث آتوزوم مغلوب

صفات و بیماری‌های مغلوب تنها زمانی بروز می‌کنند که آلل جهش یافته دارای دُز دوگانه (یا به عبارتی **هموزیگوسیتی**) باشد. افراد هتروزیگوت که برای چنین آلل‌های جهش یافته‌ای هیچکدام از ویژگی‌های بیماری را نشان نداده و کاملاً سالم می‌باشند، به عنوان **ناقلین** (Carriers) نامیده می‌شوند. شجره‌نامه خانوادگی صفات مغلوب (شکل ۸-۷) به طور قابل توجهی از آنچه که در صفات آتوزوم غالب مشاهده می‌شد، متفاوت است. نمی‌توان یک صفت یا بیماری آتوزوم مغلوب را در یک خانواده دنبال کرد زیرا تمام افراد مبتلا در یک خانواده معمولاً در یک رابطهٔ خواهر ـ برادری (sibship) می‌باشند (به عبارتی مبتلایان در یک نسل و خواهر ـ برادرهای همدیگرند). گاهی این مورد به عنوان «انتقال افقی» در نظر گرفته می‌شود که اصطلاحی اشتباه و گمراه‌کننده است.

ازدواج خویشاوندی (هم‌خونی)

بررسی سابقهٔ خانوادگی افراد مبتلا به صفات یا بیماری‌های مغلوب نادر، ممکن است مشخص نماید که والدین آنها خویشاوند می‌باشند (به عبارتی **ازدواج خویشاوندی**

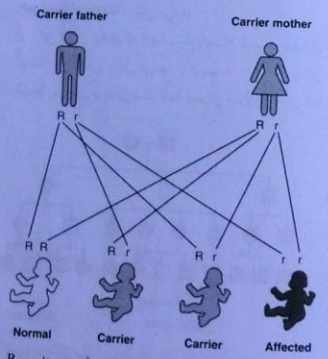


شکل ۸-۷: شجره‌نامه خانوادگی یک صفت آتوزوم مغلوب.

(consanguineous) دارند). هر چه صفت یا بیماری نادرتر باشد، فراوانی ازدواج‌های خویشاوندی بین والدین افراد مبتلا نیز بیشتر است. در فیبروز کیستی شایع‌ترین بیماری آتوزوم مغلوب «جدی» در اروپای غربی، فراوانی ازدواج‌های خویشاوندی والدین تنها کمی بیشتر از آنچه که در جمعیت عمومی مشاهده می‌شود، می‌باشد. در مقابل در آلکاپتونوریا یکی از بیماری‌های مادرزادی متابولیسم که یک بیماری مغلوب بسیار نادر است، باتسون و گارود در شرح اولیه‌شان از بیماری مشاهده کردند که ۱/۴ یا بیشتر والدین، کازین‌های درجه یک همدیگر بوده‌اند. آنها استدلال کردند که آلل‌های نادر در مورد بیماری‌هائی مثل آلکاپتونوریا به احتمال زیاد بیشتر در فرزندان کازین‌ها با هم جفت می‌شوند تا در فرزندان والدینی که با هم خویشاوند نیستند. در بستگانی با ازدواج‌های خویشاوندی زیاد یک بیماری آتوزوم مغلوب معمولاً در بیش از یک شاخهٔ (انشعاب) شجره‌نامه در خانواده مشاهده می‌شود.

خطرات ژنتیکی

اگر آلل طبیعی غالب را با R و آلل جهش یافته مغلوب را با r نشان دهیم، آنگاه هر گامت والدی، حامل آلل طبیعی یا جهش یافته خواهد بود (شکل ۹-۷). ترکیبات احتمالی گامت‌ها به این



شکل ۹-۷: تفکیک آلل‌ها در الگوی توارث آتوزوم مغلوب. R نمایانگر آلل سالم و r آلل جهش‌یافته است.

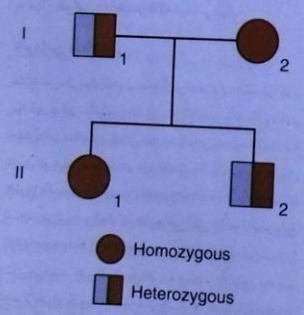
معناست که فرزندان دو فرد هتروزیگوت احتمال دارد ۱/۴ (یا ۲۵٪) هموزیگوت مبتلا، ۱/۲ (یا ۵۰٪) هتروزیگوت سالم و ۱/۴ (یا ۲۵٪) هموزیگوت سالم باشند.

غالبیت کاذب

اگر فردی که برای یک بیماری آتوزوم مغلوب هموزیگوت است با فردی ناقل همان بیماری ازدواج کند، آنگاه فرزندان آنها به احتمال ۱/۲ (یا ۵۰٪) مبتلا خواهند بود. اصطلاحاً گفته می‌شود چنین شجره‌نامه‌ای **غالبیت کاذب** (Pseudodominance) نشان می‌دهد (شکل ۱۰-۷).

هتروژنی لکوسی

بیماری‌ای که با یک الگو به ارث می‌رسد ممکن است به دلیل جهش‌هائی در بیش از یک ژن ایجاد شده باشد، که به آن **هتروژنی لکوسی** (Locus Heterogeneity) گفته می‌شود. برای مثال مشخص شده که معمول‌ترین الگوی توارث ناشنوائی یا نقص شنوائی حسی ـ عصبی، الگوی توارث آتوزوم مغلوب است. افراد ناشنوا، با توجه به شرایط تحصیل و ورودشان به



شکل ۱۰-۷: شجره‌نامه‌ای با یک ژن هموزیگوت (I_2) برای یک بیماری آتوزوم مغلوب که شوهرش برای همان بیماری هتروزیگوت است. آنها یک دختر هموزیگوت مبتلا دارند، بنابراین شجره‌نامه الگوی توارث غالب کاذب را نشان می‌دهد.

جامعه ناشنوایان، اغلب تمایل به بچه‌دار شدن با یک فرد ناشنوا را دارند. پس انتظار می‌رود دو فرد ناشنوا برای همان ژن مغلوب هموزیگوت باشند و تمام فرزندان آنها نیز به‌طور مشابه مبتلا شوند. خانواده‌هائی گزارش شده‌اند که همهٔ فرزندان والدین ناشنوا با الگوی توارث آتوزوم مغلوب، کاملاً شنوائی طبیعی داشته‌اند، زیرا آنها **هتروزیگوت‌های دوگانه** (double Heterozygotes) می‌باشند. توضیح این حالت این است که والدین برای آلل‌های جهش یافته در لکوس‌های متفاوتی هموزیگوت‌اند (به عبارت دیگر ژن‌های متفاوتی می‌توانند ناشنوائی حسی - عصبی آتوزوم مغلوب ایجاد کنند). در حقیقت، طی ۱۰ تا ۱۵ سال گذشته تقریباً ۳۰ ژن و ۵۰ لکوس ژنی دیگر نیز مشخص شده‌اند که در این بیماری نقش دارند. داستان مشابه دیگری در مورد رتینیت پیگمنتوزا (retinitis pigmentosa) آتوزوم مغلوب وجود دارد و تا حد کمتری نیز در مورد میکروسفالی اولیه آتوزوم مغلوب. بیماری‌هائی با یک فنوتیپ که در نتیجهٔ لکوس‌های ژنتیکی متفاوت ایجاد شده‌اند به عنوان **ژنوکپی‌ها (Genocopy)** شناخته می‌شوند در حالی که وقتی فنوتیپ‌های مشابه ناشی از عوامل محیطی باشند به عنوان **فنوکپی (Phenocopy)** نامیده می‌شوند.

هتروژنی موتاسیونی

هتروژنی می‌تواند در سطح آللی نیز رخ دهد. در اکثر بیماری‌های تک‌ژنی (مثل بتا تالاسمی) تعداد زیادی جهش‌های متفاوت شناسائی شده‌اند. افرادی وجود دارند که دارای دو جهش متفاوت در یک لکوس یکسانند و به عنوان **هتروزیگوت مرکب** (Compound Heterozygotes) شناخته می‌شوند و آنچه که **هتروژنی آللی یا موتاسیونی** (allelic or mutational heterogeneity) نامیده می‌شود را نشان می‌دهند. اکثر افراد مبتلا به بیماری آتوزوم مغلوب احتمالاً هتروزیگوت مرکب می‌باشند تا هموزیگوت‌های حقیقی، مگر آنکه والدینشان خویشاوند باشند. در آن صورت با احتمال بیشتری برای یک جهش یکسان توسط نیای مشترک هموزیگوت بوده و یک جهش یکسان را از یک جد مشترک به ارث برده‌اند.

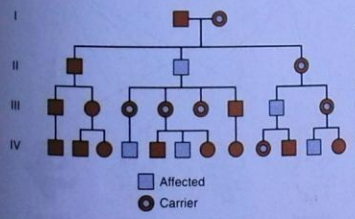
الگوی توارث وابسته به جنس

توارث وابسته به جنس به الگوئی از توارث اشاره دارد که توسط ژن‌های واقع بر روی کروموزوم‌های جنسی نشان داده می‌شود. ژن‌ها واقع بر روی کروموزوم X به عنوان وابسته به X و ژن‌های واقع بر روی کروموزوم Y به عنوان وابسته به Y یا با **توارث هولاندریک** در نظر گرفته می‌شوند.

الگوی توارث وابسته به X مغلوب

یک صفت وابسته به X مغلوب توسط ژن‌های واقع بر روی کروموزوم X تعیین می‌شود و معمولاً تنها در مردان بروز می‌کند. مردی با یک آلل جهش‌یافته بر روی تنها کروموزوم X خود، اصطلاحاً برای آن **آلل همی‌زیگوت** (hemixygous) نامیده می‌شود. بیماری‌های توارثی به روش وابسته به X توسط زنان ناقل سالم به مردان مبتلا منتقل شده، همانگونه که توسط مردان مبتلا به دختران **ناقل اجباری** (obligate carrier) آنها منتقل شده و بنابراین از طریق این دخترها خطر داشتن نوهٔ پسر مبتلا وجود دارد (شکل ۱۱-۷). در مورد این نوع شجره‌نامه گاهی گفته می‌شود که الگوی انتقال «حرکت شوالیه‌ای» (knight's move) یا «مورب» (diagonal) نشان می‌دهد.

این الگوی توارث که تنها مردان مبتلا باشند و بیماری توسط زنان طبیعی منتقل می‌شود در قریب به ۲۰۰۰ سال پیش توسط یهودیان بررسی شد. آنها پسران خواهران زنی که

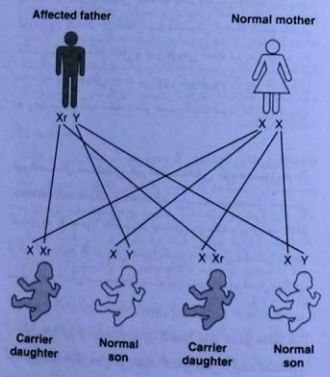


شکل ۱۱-۷: شجره‌نامه خانوادگی یک صفت وابسته به X مغلوب که در آن مردان مبتلا تولیدمثل می‌کنند.

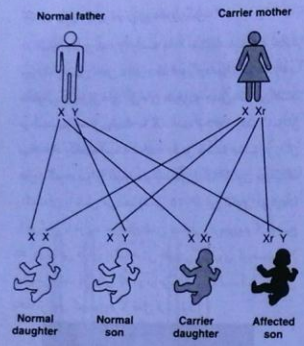
پسرهای مبتلا به «بیماری خونریزی» یا به عبارت دیگر هموفیلی بودند را از ختنه معاف می‌کردند. پسران خواهر - برادرهای پدری معاف نمی‌شدند. ملکه ویکتوریا ناقل هموفیلی بود و دختران ناقل او که کاملاً سالم بودند ژن را به خانواده‌های سلطنتی اسپانیا و روسیه نیز منتقل کردند. خوشبختانه در مورد خانواده سلطنتی انگلستان، پسر ملکه ویکتوریا، ادوارد هفتم ژن را به ارث نبرده و بنابراین نمی‌توانست آن را به فرزندانش منتقل کند.

خطرات ژنتیکی

یک مرد کروموزوم X خود را به همه دخترانش و کروموزوم Y خود را به همهٔ پسرانش منتقل می‌کند. اگر مردی مبتلا به هموفیلی با زنی طبیعی بچه‌دار شوند، آنگاه همهٔ دختران او ناقل اجباری و هیچکدام از پسرهای او مبتلا نمی‌شوند (شکل ۱۲-۷). یک مرد نمی‌تواند یک صفت وابسته به X را به پسرش منتقل کند مگر در استثناهای نادر هترودیزومی تک‌والدی.



شکل ۱۲-۷: تفکیک آل‌ها در یک الگوی توارث وابسته به X مغلوب در ارتباط با فرزندان یک مرد مبتلا. r نمایانگر آلل جهش یافته است.



شکل ۱۳-۷: تفکیک آل‌ها در الگوی توارث وابسته به X مغلوب در ارتباط با فرزندان یک زن ناقل. r نمایانگر آلل جهش یافته است.

اگر زنی ناقل یک بیماری وابسته به X مغلوب با مردی سالم بچه‌دار شوند هر پسر ۱/۲ (یا ۵۰٪) خطر مبتلاشدن و هر دختر ۱/۲ (یا ۵۰٪) خطر ناقل‌بودن خواهد داشت.

بعضی بیماری‌های وابسته به X با بقاء تا سن تولیدمثلی سازگار نبوده و بنابراین نمی‌توانند توسط مردان مبتلا منتقل شوند. دیستروفی عضلانی دوشن شایع‌ترین دیستروفی عضلانی بوده و یک بیماری شدید می‌باشد. اولین علامت، تأخیر در راه‌رفتن و در ادامه، قدم‌ها ناموزون و با مشکل در بالارفتن از پله‌ها بدون کمک و گرایش به زمین‌خوردن مشخص می‌شود. در حدود ۱۰ سالگی پسران مبتلا معمولاً نیاز به ویلچر دارند. ضعف عضلانی به آرامی پیشرفت کرده و در نهایت پسران مبتلا، محدود به رختخواب شده و اغلب در اواخر دهه نوجوانی یا اوائل دهه ۲۰ سالگی می‌میرند (شکل ۱۴-۷). از آنجا که پسران مبتلا معمولاً تا زمان تولیدمثل زنده نمی‌مانند، بیماری توسط زنان ناقل (شکل ۱۵-۷) یا به‌صورت یک جهش جدید منتقل می‌گردد.

شدت بیان متغیر در زنان هتروزیگوت

در انسان چندین بیماری وابسته به X شناخته شده‌اند که در مورد آنان زنان ناقل دارای یک فنوتیپ موزائیک همراه با مخلوطی از ویژگی‌های آل‌های طبیعی و جهش‌یافته می‌باشند. در آلبینیسم چشمی وابسته به X ، عنبیه و قاعدهٔ چشم در مردان مبتلا فاقد رنگدانه است. معاینه دقیق قاعدهٔ چشم در زنان هتروزیگوت برای آلبینیسم چشمی یک الگوی موزائیک رنگدانه‌ای را نشان می‌دهد (شکل ۲۵-۶). این الگوی موزائیک را می‌توان با فرآیند غیرفعال شدن تصادفی کروموزوم X توضیح داد. در نواحی دارای رنگدانه، ژن طبیعی بر روی کروموزوم X فعال می‌باشد، در حالی که در نواحی فاقد رنگدانه، آلل جهش یافته بر روی کروموزوم X فعال قرار دارد.

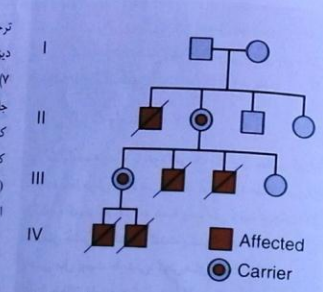
شکل ۱۴-۷: پسری مبتلا به دیستروفی عضلانی دوشن، به بزرگ‌شدگی ساق پاها و تحلیل رفتن عضلات ران‌ها توجه کنید.

زنان مبتلا به بیماری‌های توارثی وابسته به X

گاهی ممکن است زنی علائم یک صفت وابسته به X مغلوب را نشان دهد. چندین دلیل برای اینکه چگونه این حالت می‌تواند رخ دهد، وجود دارد.

هموزیگوسیتی برای بیماری‌های وابسته به X مغلوب. یک صفت وابسته به X مغلوب شایع، کوررنگی سبز ـ قرمز (ناتوانی در تشخیص بین رنگ‌های سبز و قرمز) است. در حدود ۸٪ مردان، مبتلا به کوررنگی سبز ـ قرمز بوده و اگرچه نامعمول است به دلیل فراوانی بالای این آلل در جمعیت، ۱/۱۵۰ زنان، مبتلا به کوررنگی سبز ـ قرمز می‌باشند و در حقیقت هر دو والد آنها آلل مربوطه را بر روی کروموزوم X خود داشته‌اند. بنابراین یک زن می‌تواند به بیماری وابسته به X مغلوب مبتلا شود که در نتیجه هموزیگوسیتی یک آلل وابسته به X است، اگرچه به دلیل نادر بودن اکثر بیماری‌های وابسته به X این پدیده نامعمول می‌باشد. همچنین یک زن می‌تواند هموزیگوت شود، اگر پدر او مبتلا و مادر او طبیعی بوده اما یک جهش جدید بر روی کروموزوم X مادر در انتقال به دخترش ایجاد شده باشد. حالت دیگر که مادر ناقل و پدر طبیعی است نیز می‌تواند رخ دهد، اما یک جهش جدید بر روی کروموزوم X پدر در انتقال به دخترش موجب شده، دختر هموزیگوت شود. اما این موارد نادر می‌باشند.

غیرفعال شدن غیرتصادفی کروموزوم X (Skewed X-inactivation). فرآیند غیرفعال شدن کروموزوم X معمولاً به صورت تصادفی رخ داده و برای هر کدام از دو کروموزوم X در زنان هتروزیگوت با احتمال یکسانی در هر سلول غیرفعال می‌شوند. بنابراین پس از غیرفعال‌سازی کروموزوم X در زمان تشکیل جنین (رویان‌زائی) تقریباً در نیمی از سلول‌ها یکی از کروموزوم‌های X فعال و در سایر سلول‌ها کروموزوم X دیگر فعال می‌باشد. گاهی این فرآیند تصادفی نبوده و اکثر سلول‌های یک زن هتروزیگوت ناقل، کروموزوم X ای فعال است که حاوی آلل جهش یافته می باشد. اگر این حالت پیش بیاید یک زن ناقل برخی از علائم و نشانه‌های

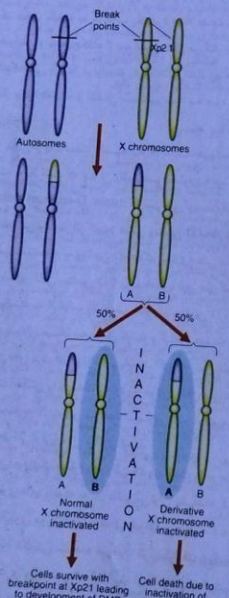


شکل ۱۵-۷: شجره‌نامه خانوادگی دیستروفی عضلانی دوشن که بیماری توسط زنان ناقل منتقل شده و مردان مبتلا برای انتقال بیماری به نسل بعد زنده نمی‌مانند.

بیماری را بروز می‌دهد که اصطلاحاً به او **ناقل** یا **هتروزیگوت تظاهر کننده (بروزدهنده)** (Manifesting Heterozygote) گفته می‌شود. این مورد در تعدادی از بیماری‌های وابسته به X از جمله دیستروفی عضلانی دوشن و هموفیلی A گزارش شده است. بعلاوه گزارشاتی از چندین بیماری وابسته به X وجود دارد که در آنها تعدادی ناقلین بروز دهنده در یک خانواده وجود داشته و با توارث همزمان غیرفعال شدن غیرطبیعی کروموزوم X مطابقت می‌کنند.

ناهنجاری‌های تعدادی کروموزوم X. یک زن می‌تواند یک بیماری وابسته به X مغلوب را نشان دهد در صورتی که ناقل یک جهش وابسته به X مغلوب بوده و تنها یک کروموزوم X داشته باشد (به عبارتی مبتلا به سندرم ترنر باشد). زنانی مبتلا به سندرم ترنر همراه با هموفیلی A یا دیستروفی عضلانی دوشن گزارش شده‌اند.

جابه‌جائی X ـ آتوزوم. زنانی با جابه‌جائی‌های بین یک کروموزوم X و یک کروموزوم آتوزوم نیز می‌توانند به یک بیماری وابسته به X مغلوب مبتلا شوند. اگر نقطه شکستگی در جابه‌جائی، یک ژن را بر روی کروموزوم X مختل کند، آنگاه یک زن می‌تواند مبتلا شود. این مورد به این دلیل است که ترجیحاً کروموزوم X درگیر در جابه‌جائی فعال باقی می‌ماند، تا دیزومی عملکردی ژن‌های آتوزومی را حفظ نماید (شکل ۱۶-۷). مشاهده زنانی مبتلا به دیستروفی عضلانی دوشن با جابه‌جائی‌های X ـ آتوزوم در همان ناحیه در بازوی کوتاه کروموزوم X به نقشه‌برداری از ژن دیستروفی عضلانی دوشن کمک کرده است. این نوع مشاهدات در کلونینگ موضعی (Positional cloning) تعدادی از ژن‌ها در انسان، بسیار حائز اهمیت بوده‌اند.



شکل ۱۶-۷: ایجاد یک جابه‌جائی X – آتوزوم همراه با نقطه شکستگی در یک زن و اینکه چگونه این حالت موجب بروز دیستروفی عضلانی دوشن می‌شود.

الگوی توارث وابسته به X غالب

اگرچه شایع نمی‌باشند، بیماری‌هائی وجود دارند که در زنان هتروزیگوت همانند مردان دارای آلل جهش یافته، بروز می‌کنند. این مورد به عنوان توارث وابسته به X غالب شناخته می‌شود (شکل ۱۷-۷). الگوی توارث وابسته به X غالب در ظاهر شبیه یک صفت آتوزوم غالب است زیرا هم دختران و هم پسران یک زن مبتلا به احتمال ۱/۲(یا ۵۰٪) احتمال دارد بیمار شوند. با این حال یک تفاوت مهم وجود دارد. در مورد یک صفت وابسته به X غالب یک مرد مبتلا صفت را به همهٔ دخترانش و به هیچکدام از پسرانش منتقل می‌کند. بنابراین در خانواده‌هائی با بیماری وابسته به X غالب تعداد زیادی دختر بیمار وجود داشته و انتقال مستقیم مرد به مرد مشاهده نمی‌شود.

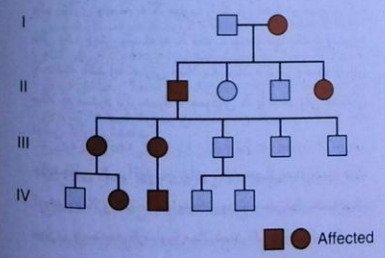
مثالی از یک صفت وابسته به X غالب، هیپوفسفاتمیای وابسته به X است که به آن راشیتیسم مقاوم به ویتامین D (Vitamin D-resistant rickets) نیز می‌گویند. راشیتیسم همچنین می‌تواند در اثر کمبود غذائی ویتامین D ایجاد شود اما در راشیتیسم مقاوم به ویتامین D، علائم بیماری، حتی با وجود جذب مقادیر کافی ویتامین D از رژیم غذائی، بروز می‌کنند. در شکل وابسته به X غالب راشیتیسم مقاوم به ویتامین D ، هر دو زنان و مردان مبتلا به دلیل کوتاه و گاهی خمیده بودن استخوان‌های بلند، قد کوتاه می‌باشند. اگرچه زنان معمولاً مشکلات اسکلتی را با شدت کمتری از مردان نشان می‌دهند. شکل وابسته به X بیماری شارکوت ـ ماری ـ توث (نوروپاتی حسی و حرکتی ارثی) مثال دیگری است.

الگوی موزائیک بیماری در زنان هتروزیگوت را در مورد برخی بیماری‌های وابسته به X غالب می‌توان مشاهده کرد. یک مثال الگوی موزائیک رنگدانه‌ای غیرطبیعی پوست که در امتداد خطوط تکوینی مشاهده می‌شود، در زنان هتروزیگوت برای بیماری وابسته به X غالب اینکانتینتا پیگمنتی (incontinentia pigmenti) است (شکل ۱۸-۷). این مورد همچنین مثالی از یک بیماری است که معمولاً برای جنین‌های پسری که آلل جهش یافته را به ارث برده‌اند، کشنده است.

سایر موارد شامل بیماری‌های عصبی (نورولوژیکی) مثل سندرم رت (Rett Syndrome) و هتروتوپی گرهی دور بطنی (Periventricular nodular Heterotopia) می‌باشد.

الگوی توارث وابسته به Y

توارث وابسته به Y یا هولاندریک به این مطلب اشاره دارد که فقط مردان مبتلا می‌باشند. یک فرد مبتلا، صفات وابسته به کروموزوم Y را به همهٔ پسرانش و به هیچکدام از دخترانش منتقل می‌کند. در گذشته پیشنهاد شده که بیماری‌های عجیبی مثل پوست خارپشتی، گوش‌های مودار و انگشتان پا پرده‌دار صفاتی وابسته به کروموزوم Y می‌باشند. با توجه به استثناء گوش‌های مودار بقیه موارد در ارتباط با توارث هولاندریک مورد مطالعه دقیق قرار نگرفته‌اند. با این حال شواهد به روشنی مشخص کرده‌اند که آنتی‌ژن سازگاری بافتی H-Y و ژن‌های دخیل در اسپرماتوژنز بر روی کروموزوم Y بوده و بنابراین توارث هولاندریک نشان می‌دهند. ژن‌های دخیل در اسپرماتوژنز اگر حذف گردند موجب ناباروری در مردان به دلیل آزواسپرمی (فقدان اسپرم در مایع منی) می‌شوند. با ظهور تکنیک‌های جدید باروری کمک شده (assisted reproduction)، به خصوص تکنیک تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) مشخص شده است که ایجاد یک حاملگی زیگوت مذکر با استفاده از این روش، منجر به تولد بچه‌ای می‌شود که ضرورتاً نابارور خواهد بود.



شکل ۱۷-۷: شجره‌نامه خانوادگی یک صفت وابسته به X غالب

شکل ۱۸-۷: الگوی موزائیک رنگدانه‌بندی پوستی در زنی مبتلا به یک بیماری وابسته به X غالب به نام اینکانتی نتاپیگمنتی. بیمار یک جهش در ژنی بر روی کروموزوم X داشته، نواحی رنگدانه‌ای نمایانگر بافت‌هائی است که در آنها کروموزوم X طبیعی غیرفعال شده است. این الگوی تکوینی از خطوط بلاسکو (Blaschko's lines) پیروی می‌کنند (به فصل ۱۸ مراجعه شود).

پیوستگی به جنس نسبی

پیوستگی به جنس نسبی (Partial Sex-Linkage) در گذشته برای بیماری‌های خاصی به کار می‌رفت که به نظر می‌رسید در بعضی خانواده‌ها الگوی توارث آتوزوم غالب و در بعضی دیگر توارث وابسته به X نشان می‌دهند. اکنون مشخص شده احتمالاً به دلیل ژن‌های واقع بر بخشی از کروموزوم X می‌باشد که با کروموزوم Y تشابه دارند و تحت تأثیر غیرفعال شدن کروموزوم X قرار نمی‌گیرند. هنگام میوز جفت‌شدن بین بخش‌های همولوگ دیستال بازوهای کوتاه کروموزوم‌های X و Y که اصطلاحاً **ناحیه کاذب آتوزومی (یا ناحیه شبه‌آتوزوم)** نامیده می‌شود، صورت می‌گیرد. در نتیجهٔ کراسینگ اور، یک ژن می‌تواند از کروموزوم X به کروموزوم Y یا بالعکس منتقل شود و بنابراین امکان انتقال مرد به مرد را فراهم کند. بنابراین این مورد با الگوی توارث آتوزوم غالب مطابقت می‌کند. یک دیسپلازی اسکلتی نادر به نام دیسکوندرو ستوزیس لری ـ ویل (Leri- Weil dyschondrosteosis) که در آن افراد مبتلا قد کوتاه بوده و دارای دفورمیتی مچ دست (دفورمیتی مدلانگ) می‌باشند، مشخص شده که هر دو الگوی توارث آتوزوم غالب و وابسته به X را نشان می‌دهد. معلوم شده که این بیماری به دلیل حذف‌ها یا جهش‌هائی در ژن هومئوباکس کوتاهی قد (*SHOX*) رخ می‌دهد که در ناحیه کاذب آتوزوم (یا شبه‌آتوزوم) قرار دارد.

تحت تأثیر جنس

برخی صفات آتوزومی در یک جنس بیشتر از جنس دیگر بیان می‌شوند که اصطلاحاً **تحت تأثیر جنس** (Sex influence) نامیده می‌شوند. نقرس و طاسی زودهنگام مثال‌هائی از صفات آتوزوم غالب تحت تأثیر جنس می‌باشند که در هر دو مورد غالباً مردان مبتلا می‌شوند. تأثیر جنسیت در این دو مثال احتمالاً توسط اثر هورمون‌های مردانه رخ می‌دهد. برای مثال نقرس در زنان قبل از یائسگی خیلی نادر است، اما فراوانی آن در سال‌های بعدی افزایش می‌یابد. طاسی در مردانی که غدد جنسی آنها برداشته شده رخ نمی‌دهد. در مورد هموکروماتوز شایع‌ترین بیماری آتوزوم مغلوب در جوامع غربی، زنان هموزیگوت خیلی کمتر از مردان هموزیگوت، مبتلا به افزایش بار آهن و علائم مرتبط با آن می‌شود. توضیح آن معمولاً این است که زنان به صورت طبیعی طی قاعدگی خون از دست می‌دهند.

محدود به جنس

توارث محدود به جنس (Sex Limitation) به بروز برخی علائم تنها در افرادی با یک جنسیت خاص اشاره دارد. برای مثال مردانه‌شدن نوزادان دختر مبتلا به بیماری اندوکرین آتوزوم مغلوب به نام هیپرپلازی مادرزادی آدرنال می‌باشد.

یافتن الگوی توارث یک بیماری ژنتیکی

در حیوانات آزمایشگاهی می‌توان انواع خاصی از آمیزش‌ها را ترتیب داد تا بتوان الگوی توارث یک صفت یا بیماری را مورد ارزیابی قرار داد. در انسان زمانی که یک بیماری به تازگی مشخص می‌شود، ژنتیک‌دانان به‌طور غیرمستقیم مسئله را بررسی می‌کنند و الگوهای توارث احتمالی را با نتایج مشاهده شده در فرزندان مطابقت می‌دهند. تعیین الگوی توارث معمولاً تنها با مطالعه یک خانواده تأیید نمی‌شود و طبیعتاً به مطالعه تعداد بیشتری از خانواده‌ها نیاز دارد (کادر ۱-۷).

کادر ۱-۷ ویژگی‌هائی که از الگوی توارث مندلی یا تک‌ژنی حمایت می‌کنند

آتوزوم غالب

زنان و مردان با نسبت‌های مساوی مبتلا می‌شوند.
افراد مبتلا در چندین نسل مشاهده می‌گردند.
انتقال توسط افراد هر دو جنسیت (یعنی مرد به مرد، زن به زن، مرد به زن و زن به مرد) صورت می‌گیرد.

آتوزوم مغلوب

زنان و مردان به نسبت مساوی مبتلا می‌شوند.
افراد مبتلا معمولاً تنها در یک نسل مشاهده می‌گردند.
والدین می‌توانند خویشاوند باشند (ازدواج خویشاوندی).

وابسته به X مغلوب

معمولاً فقط مردان مبتلا هستند.
انتقال از طریق زنان سالم صورت می‌گیرد.
مردان نمی‌توانند بیماری را به پسرانشان منتقل کنند (به عبارتی انتقال مرد به مرد وجود ندارد).

وابسته به X غالب

زنان و مردان مبتلا می‌شوند، اما تعداد زنان مبتلا بیشتر است.
زنان با شدت کمتری از مردان مبتلا می‌شوند.
مردان مبتلا می‌توانند بیماری را به دخترانشان و نه به پسرانشان منتقل کنند.

توارث وابسته به Y

فقط مردان مبتلا می‌باشند.
مردان مبتلا بیماری را به پسرانشان منتقل می‌کنند.

توارث آتوزوم غالب

برای تعیین آنکه آیا یک صفت یا بیماری به روش آتوزوم غالب به ارث رسیده است یا خیر، سه ویژگی خاص باید مشاهده شوند. اول اینکه باید هر دو جنس زنان و مردان به نسبت مساوی مبتلا شوند. دوم اینکه از یک نسل به نسل بعد منتقل گردد. سوم همهٔ حالت‌های انتقال بین جنسیت‌ها مشاهده شود (یعنی مرد به مرد، زن به زن، مرد به زن، زن به مرد). انتقال بیماری از مرد به مرد احتمال آنکه ژن بر روی کروموزوم X واقع باشد را منتفی می‌سازد. در مورد بیماری‌هائی که به‌صورت تک‌گیر رخ می‌دهند افزایش سن پدر می‌تواند عامل یک جهش جدید آتوزوم غالب باشد.

توارث آتوزوم مغلوب

سه ویژگی پیشنهادکنندهٔ احتمال الگوی توارث آتوزوم مغلوب می‌باشند. اول بیماری با نسبت مساوی در زنان و مردان مبتلا مشاهده می‌شود. دوم، معمولاً تنها بیماری در افراد یک نسل در یک رابطه خواهر - برادرها (sibship) دیده می‌شود و در نسل‌های قبلی و بعدی نمی‌باشد. سوم، ازدواج خویشاوندی در والدین تأییدی بر الگوی توارث آتوزوم مغلوب است.

توارث وابسته به X مغلوب

سه ویژگی اصلی برای تأیید الگوی توارث وابسته به X مغلوب نیاز می‌باشند. اول صفت یا بیماری می‌بایست تنها در مردان مبتلا مشاهده شود. دوم بیماری‌های وابسته به X مغلوب توسط زنان سالم ناقل به پسرانشان منتقل می‌شود. مردان مبتلا اگر تا زمان تولید مثل زنده بمانند، می‌توانند بیماری را به نوه‌های پسری خود از طریق دخترانشان که حاملین اجباری (obligate carriers) می‌باشند، منتقل کنند. سوم انتقال مرد به مرد مشاهده نمی‌شود (یا به عبارتی مردان مبتلا نمی‌توانند بیماری را به پسرانشان منتقل کنند).

توارث وابسته به X غالب

سه ویژگی ضروری برای تأیید توارث وابسته به X غالب وجود دارند. اول مردان و زنان مبتلا می‌باشند اما زنان مبتلا فراوانی بیشتری نسبت به مردان مبتلا دارند. دوم زنان معمولاً با شدت

کمتری از مردان مبتلا می‌شوند. سوم اگرچه زنان مبتلا می‌توانند بیماری را به هر دو فرزندان دختر و پسر منتقل کنند اما مردان مبتلا بیماری را تنها به دخترانشان منتقل می‌کنند (به استثناء پیوستگی جنسی نسبی) که همهٔ آنها مبتلا خواهند شد. در مورد بیماری‌های وابسته به X غالب که اکثراً به‌طور ثابتی در جنین‌های مذکر کشنده‌اند (مثل اینکانتی‌نتاپیگمنتی)، فقط زنان مبتلا بوده و خانواده‌ها ممکن است تعداد بیشتری زن مبتلا نسبت به مرد مبتلا نشان دهند، زیرا تعدادی از حاملگی‌های مذکرهای مبتلا، سقط شده‌اند.

توارث وابسته به Y

دو ویژگی ضروری برای تأیید الگوی توارث وابسته به Y وجود دارد. اول فقط مردان مبتلا می‌شوند. دوم مردان مبتلا باید بیماری را به پسرانشان منتقل کنند (مثل ناباروری مرد که توسط ICSI منتقل می‌شود).

آل‌های چندگانه و صفات پیچیده

تاکنون هر کدام از صفاتی که مورد نظر قرار گرفتند فقط دارای دو آل طبیعی و یا جهش‌یافته بودند. با این حال برخی صفات و بیماری‌ها، **تک‌ژنی (منوژنی)** یا **پلی‌ژنی** نمی‌باشند. بعضی از ژن‌ها بیش از دو شکل آللی دارند (به عبارتی چند آللی‌اند). آل‌های چند گانه نتیجهٔ جهش یافتن یک ژن طبیعی است که چندین آلل متفاوت ایجاد می‌شود، بعضی از آنها نسبت به آلل طبیعی غالب و بعضی دیگر مغلوب می‌باشند. در مورد سیستم گروه‌های خونی ABO حداقل چهار آلل (A_1 ، A_2 ، B و O) وجود دارند. هر فرد تنها دارای دو تا از این آل‌ها می‌باشد که ممکن است یکسان یا متفاوت باشند (مثل A_2B ، AO ، OO و غیره). آل‌ها بر روی کروموزوم‌های هومولوگ قرار داشته و بنابراین یک فرد فقط می‌تواند یک آلل را برای یک صفت خاص به فرزندانش منتقل کند. مثلاً فردی با ژنوتیپ AB به هر کدام از فرزندانش یا آلل A و یا آلل B و هیچ‌وقت هر دو آنها را با هم منتقل نمی‌کند (جدول ۱-۷). این مورد در ارتباط با ژن‌هائی است که بر روی کروموزوم آتوزوم بوده و در مورد آل‌های واقع بر کروموزوم X، به کار نمی‌رود. در مورد آل‌های واقع بر کروموزوم X زنی که دو آلل دارد یکی از دو آلل را می‌تواند به فرزندانش منتقل کند در حالی که مردان تنها یک آلل برای انتقال به فرزندانشان دارند.

پیشرفت‌های مهم در بررسی‌های گسترده ژنومی با استفاده از پروب‌های چندگانه DNA امکان بررسی صفات پیچیده (یا به عبارتی بیماری‌هائی که معمولاً شایع‌تر از بیماری‌های مندلی بوده و احتمالاً به دلیل تعامل بیش از یک ژن می‌باشند) را فراهم کرده‌اند. اثرات ژن‌ها بر عملکرد هم ممکن است افزایشی یا تا حدی محدودکننده باشد، یا یکی اثر دیگری را تقویت یا چند برابر نماید. این موضوع با جزئیات بیشتر در فصل ۱۵ بررسی خواهد شد. احتمال اینکه تعداد کمی از لکوس‌های ژنی در رابطه با بعضی بیماری‌ها می‌باشند، منجر به ارائه مفهوم **توارث اولیگوژنیک** (Oligogenic inheritance) شده است که مثال‌های آن در ادامه آمده است.

توارث دی‌ژنیک

این مورد به حالتی گفته می‌شود که بیماری به دلیل اثرات افزایشی جهش‌های هتروزیگوت در دو لکوس ژنی متفاوت مشاهده شود که مفهومی به نام **توارث دی‌ژنیک** (digenic inheritance) در نظر گرفته می‌شود. این حالت در موش‌های ترانسژنیک خاصی دیده شده است.

جدول ۱-۷ ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌های احتمالی و گامت‌های تشکیل شده از چهار آلل A_1 ، A_2 ، B و O در لکوس ABO

ژنوتیپ	فنوتیپ	گامت
A_1A_1	A_1	A_1
A_2A_2	A_2	A_2
BB	B	B
OO	O	O
A_1A_2	A_1	A_2 یا A_1
A_1B	A_1B	B یا A_1
A_1O	A_1	O یا A_1
A_2B	A_2B	B یا A_2
A_2O	A_2	O یا A_2
BO	B	O یا B

موش‌های هموزیگوت برای ژن‌های *Tw* (مهره ـ دنده) یا *Dll1* (شبه دلتای ۱) فنوتیپ غیرطبیعی نشان می‌دهند، در حالی که هتروزیگوت‌های هر کدام از این ژن‌ها، طبیعی می‌باشند. با این حال موش‌هائی که برای ژن‌های *Tw* و *Dll1* **هتروزیگوت دوگانه‌اند** (double heterozygotes)، نقائص مهره‌ای نشان می‌دهند. در انسان یکی از اشکال رتینیت پیگمنتوزا یک بیماری نقص بینائی پیشرونده در حالت هتروزیگوت دو گانه برای جهش‌های دو ژن نامرتبط بهم (unlinked): *ROM1* و پریفرین که هر دو پروتئین‌های گیرنده‌های نوری را کد می‌کنند، ایجاد می‌شود. افرادی که تنها یکی از این جهش‌ها را دارند مبتلا نمی‌باشند. در مورد آریتمی‌های قلبی و کاردیومیوپاتی‌های توارثی مشخص شده که بعضی از موارد دیسپلازی بطن راست آریتموژنیک (arrhythmogenic right ventricular dysplasia) توارث دی‌ژنیک نشان می‌دهند.

توارث سه آللی

سندرم باردت ـ بیدل یک بیماری دیسمورفیک نادر است [اگرچه در بعضی از جوامع خالص شده (با درون‌آمیزی) نسبتاً شایع می‌باشند] که همراه با چاقی، پلی‌داکتیلی، ناهنجاری‌های کلیوی، پیگمانتاسیون شبکیه‌ای و مشکلات یادگیری می‌باشد. هفت لکوس ژنی متفاوت تعیین شده‌اند و تا همین اواخر تصور می‌شد این سندرم مستقیماً از الگوی توارث آتوزوم مغلوب تبعیت می‌کند. به هر حال اکنون مشخص شده که یکی از اشکال آن تنها زمانی ایجاد می‌شود که فرد برای جهش‌های یک لکوس هموزیگوت و برای جهش در لکوس دیگر باردت ـ بیدل هتروزیگوت باشد. حالتی که به آن **توارث سه‌آللی (Triallelic inheritance)** گفته می‌شود. سایر الگوهای توارث که از لحاظ کلاسیکی مندلی نمی‌باشند، نیز شناخته شده و برخی وقایع ناممعمول شرح داده شده‌اند.

افزایش شدت (Anticipation)

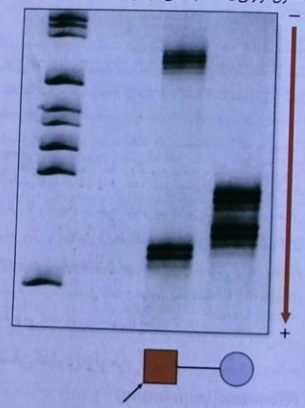
در بعضی صفات یا بیماری‌های آتوزوم غالب مثل دیستروفی میوتونیک، شروع بیماری در سنین زودتری در فرزندان نسبت به والدین رخ می‌دهد، یا بیماری با شدت بیشتری در نسل‌های بعدی مشاهده می‌شود. این پدیده را **افزایش شدت** (Anticipation) می‌نامند. تصور می‌شد که این اثر در نتیجهٔ خطا در محاسبات به دلیل شیوهٔ جمع‌آوری نمونه‌ها از خانواده‌ها، ایجاد شده باشد. این موضوع مورد بحث بود که دلیل ایجاد خطا در محاسبات اینست که بروز بیماری در افراد مبتلا در سنین کمتر یا با شدت بیشتر، زودتر شناسائی شده و فقط افرادی که با شدت کمتری مبتلا می‌باشند، تمایل به بچه‌دار شدن دارند. بعلاوه فکر می‌کردند از آنجا که مشاهدهٔ محقق در همان نسل پروباندهای مبتلا است، بسیاری از افراد ضرورتاً در سال‌های بعدی زندگی، بیماری را بروز می‌دهند. با این حال مطالعات اخیر نشان داده‌اند که در تعدادی از بیماری‌ها از جمله بیماری هانتینگتون و دیستروفی میوتونیک، افزایش شدت در حقیقت یک پدیدهٔ بیولوژیکی است که در نتیجهٔ افزایش توالی‌های تکراری سه نوکلئوتیدی ناپایدار ایجاد می‌شود. افزایش تکرارهای سه تائی CTG در انتهای ناحیه ترجمه نشدهٔ ۳′ ژن دیستروفی میوتونیک غالباً در **میوز مادری** رخ می‌دهد که توضیحی برای شکل شدید نوزادی دیستروفی میوتونیک فراهم می‌کند و معمولاً فقط وقتی ژن از طرف مادر منتقل شود چنین حالتی ایجاد می‌شود (شکل ۱۹-۷). سندرم X شکننده (تکرارهای CGG) نیز رفتار مشابهی دارد که ناپایداری عمده

شکل ۱۹-۷: نوزاد مبتلا به هیپوتونی شدید که به دلیل به‌ارث‌رسیدن بیماری دیستروفی میوتونیک از طرف مادرش، نیاز به سیستم‌های کمک تنفسی دارد.

افزایش تکرارها در **میوز مادری** رخ می‌دهد. افزایش مشابهی در تکرارهای CAG در انتهای ۵′ ژن بیماری هانتینگتون در **میوز پدری** هنگامی که ژن توسط پدر منتقل می‌شود (شکل ۲۰-۷)، مسئول افزایش خطر سن شروع زودتر بیماری هانتینگتون معمولاً در کودکی یا دوران نوجوانی می‌باشد. بیماری‌های گروه آتاکسی مغزی ـ نخاعی توارثی نیز مثال دیگری می‌باشند.

موزائیسم

یک فرد یا یک بافت از بدن او، می‌تواند بیش از یک نوع یا رده سلولی داشته باشد که به دلیل خطا طی تقسیم میتوز در هر مرحله‌ای بعد از لقاح ایجاد می‌شود. این حالت به عنوان **موزائیسم** شناخته می‌شود. موزائیسم به‌صورت سوماتیکی یا در سلول‌های زایشی، می‌تواند مسئول بعضی موارد الگوهای ناممعمول توارثی یا علائم بالینی در افراد مبتلا باشد.



شکل ۲۰-۷: رنگ‌آمیزی نیترات نقره یک ژل دناتوره‌کنندهٔ ۵٪ از محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکرارهای سه‌تائی CAG در انتهای ۵′ ترجمه نشده ژن بیماری هانتینگتون از یک مرد مبتلا و همسر او. همسر وی دو تکرار با اندازه مشابه در طیف طبیعی (۲۰ و ۲۳ کپی) دارد و مرد دارای یک تکرار سه‌تائی با اندازه طبیعی (۱۸ کپی) و یک تکرار سه تائی افزایش یافته (۴۴ کپی) است. باندها در سمت چپ مارکرهای استاندارد برای تعیین اندازه تکرارهای CAG می‌باشند.

موزائیسم سوماتیکی

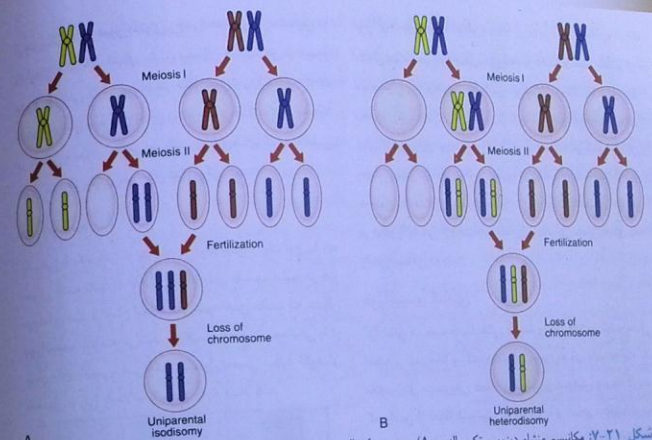
احتمال موزائیسم سوماتیکی، در رابطه با علائم با شدت کمتر از حد معمول یک بیماری تک‌ژنی در فردی مبتلا یا در مورد محدود بودن بیماری در بخشی از بدن با توزیع قطعه‌ای برای مثال گاهی برای نوروفیبروماتوز تیپ ۱، پیشنهاد می‌شود. زمان رخداد جهش در اوائل تکوین تعیین می‌کند که آیا با بیان کامل به نسل بعد منتقل می‌شود یا خیر ـ این مورد به حضور جهش در تمام یا بخشی از بافت‌های گنادی و بنابراین سلول‌های رده زایشی بستگی دارد.

موزائیسم گنادی

گزارشاتی در مورد خانواده‌هائی با بیماری‌های آتوزوم غالب مثل استئوژنز ایمپرفکتا و آکندروپلازیا و بیماری‌های وابسته به X مغلوب مثل دیستروفی عضلانی دوشن و هموفیلی وجود دارند که والدین از لحاظ فنوتیپی سالم بوده و نتایج تحقیقات یا آزمایشات ژنتیکی آنها نیز طبیعی بوده، اما در این خانواده‌ها بیش از یک فرزند مبتلا مشاهده شده است. مناسب‌ترین توضیح برای این مشاهدات، موزائیسم گنادی یا ردهٔ زایشی در یکی از والدین است، به‌طوری که جهش در بخشی از سلول‌های رده زایشی یا گنادی وجود دارد. مثالی از این مورد با جهش در ژن کلاژن، مسئول بیماری استئوژنز ایمپرفکتا ارائه شده است که در بخشی از اسپرم‌های یک پدر سالم از لحاظ بالینی اما دارای دو پسر مبتلا از دو همسر متفاوت، مشخص شد. زمانی که خطر عود مجدد را در مشاوره ژنتیک در مورد جهش‌های جدید در توارث‌های وابسته به X مغلوب و آتوزوم غالب محاسبه می‌کنیم، توجه به موزائیسم ردهٔ زایشی حائز اهمیت می‌باشد.

دیزومی تک‌والدی

هر فرد به‌طور طبیعی یکی از جفت کروموزوم‌های همولوگ را از هر کدام از والدین به ارث می‌برد. طی دهه گذشته با ظهور تکنولوژی DNA بعضی از افراد نشان داده‌اند که هر دو همولوگ یک کروموزوم را تنها از یکی از والدین به ارث برده‌اند، که اصطلاحاً به آن **دیزومی تک‌والدی** (Uniparental disomy) می‌گویند. اگر فردی هر دو کپی یک همولوگ را از یک والد، به دلیل خطا در میوز II به ارث ببرد به آن



شکل ۲۱-۷: مکانیسم منشاء دیزومی تک والدی. A) دیزومی تک‌والدی توسط لقاح یک گامت دی‌یزومی حاصل از عدم تفکیک صحیح کروموزوم‌ها در میوز II، با یک گامت منوزومی و سپس حذف کروموزوم والدی که فقط یک همولوگ را به زیگوت منتقل کرده، ایجاد می‌شود. B) هتروديزومی تک والدی توسط لقاح یک گامت دیزومی حاصل از عدم تفکیک صحیح کروموزوم‌ها در میوز I، با یک گامت منوزومی و سپس حذف کروموزوم والدی که فقط یک همولوگ را به زیگوت منتقل کرده، ایجاد می‌گردد.

ایزودیزومی تک‌والدی (Uniparental isodisomy) می‌گویند. (شکل ۲۱-۷). با این حال اگر فردی دو هموسوگ متفاوت را از یک والد، به دلیل خطا در میوز I به ارث ببرد به آن **هتروديزومی تک‌والدی** (Uniparental Heterodisomy) می‌گویند. در هر دو مورد فرض بر این است که زیگوت لقاح یافته در ابتدا تریزومیک بوده و باحذف یک کروموزوم به صورت حالت دیزومی طبیعی درآمده است. ۱/۳ چنین حذف‌های کروموزومی در صورتی که با فراوانی یکسانی رخ دهند، می‌توانند منجر به حالت دیزومی تک‌والدی شوند. از طرف دیگر مطرح شده که دیزومی تک‌والدی می‌تواند در نتیجهٔ لقاح گامتی از یکی از والدین که فاقد یک هموسوگ کروموزومی خاص است (به عبارتی گامتی که **نولی‌زومیک** است) با گامتی از والد دیگر که به دلیل خطای میوزی دیزومی است، «حفظ» شود.

با استفاده از تکنیک‌های DNA، دیزومی تک‌والدی در مورد پدری مبتلا به هموفیلی که پسری مبتلا داشته و همچنین بچه‌ای مبتلا به فیبروز کیستی که فقط مادرش ناقل بوده (با آزمایش تأیید ابوّت)، نشان داده شده است. دیزومی تک والدی (یکی از والدین[1]) در مورد کروموزوم ۱۵ می‌تواند با سندرم‌های پرادر ویلی یا آنجلمن مرتبط باشد و دیزومی تک‌والدی پدری کروموزوم ۱۱ در بخشی از موارد بیماری رشد بیش از حد، به نام سندرم بکویت ویدمن (Beckwith- Wiedmann Syndrome) مطرح می‌گردد (بخش بعدی را مطالعه کنید).

نشان‌گذاری ژنومی
(Genomic Imprinting)

نشان‌گذاری ژنومی یک پدیده **اپی‌ژنتیکی** است که در فصل ۶ به آن اشاره شده است. اپی‌ژنتیک و نشان‌گذاری ژنومی، نقل قول توماس مورگان را که در ابتدای فصل آمده، تکذیب می‌کنند. اگرچه در ابتدا تصور می‌شد که ژن‌های واقع بر کروموزوم‌های

۱- تصحیح اشتباه در کتاب اصلی توسط مترجم

هموسوگ به‌طور یکسانی بیان می‌شوند اکنون مشخص شده برخی علائم بالینی متفاوت، وابسته به اینکه ژن از پدر یا مادر به ارث رسیده باشد، ایجاد می‌شوند.

اثر «منشاء والدی» به عنوان **نشان‌گذاری ژنومی** در نظر گرفته شده و تصور می‌شود **متیلاسیون DNA** مکانیسم اصلی تغییر بیان ژن باشد. متیلاسیون، **نشان‌گذاری** به کار رفته در توالی‌های خاصی از DNA در هنگام گامت‌زائی (گامتوژنز) است. اگرچه تنها بخش کمی از ژنوم انسان در حقیقت در معرض این فرآیند قرار می‌گیرد. بیان آللی متفاوت (به عبارتی با منشاء پدری یا مادری) در تمام سلول‌های سوماتیکی یا در بافت‌ها و مراحل تکوینی خاص رخ می‌دهد. تاکنون حداقل ۸۰ ژن انسانی شناخته شده‌اند که نشان‌گذاری شده و نواحی دخیل در این فرآیند، تحت عنوان نواحی متیله‌شدهٔ متفاوت (DMRs) نامیده می‌شوند. این DMRها شامل نواحی کنترل نشان‌گذاری (ICR) است، که بیان ژن را در دومن‌های نشان‌گذاری شده کنترل می‌کنند.

شواهد نشان‌گذاری ژنومی در دو جفت سندرم دیسمورفیک شناخته شده، مشاهده شده‌اند: سندرم‌های پرادر ویلی و آنجلمن (کروموزوم 15q) و سندرم‌های راسل ـ سیلور و بکویت‌ویدمن (کروموزوم 11p). مکانیسمی که منجر به این بیماری‌ها می‌شود اگرچه پیچیده است، مطالب زیادی را در مورد نشان‌گذاری فراهم کرده‌اند و در ادامه با کمی جزئیات بیشتر بررسی می‌شوند.

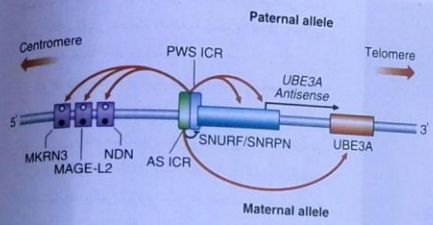
سندرم پرادر ـ ویلی
(Prader- Willi Syndrome)

سندرم پرادر ویلی (PWS) تقریباً با فراوانی ۱ در ۲۰،۰۰۰ تولد رخ می‌دهد و با قد کوتاه، چاقی، هیپوگنادیسم و مشکلات یادگیری مشخص می‌شود. تقریباً ۵۰٪ تا ۶۰٪ افراد مبتلا به PWS دارای یک حذف بینابینی در بخش پروکسیمال بازوی بلند کروموزوم ۱۵ حدوداً ۲Mb در موقعیت 15q11-q13 می‌باشند، که با روش‌های سیتوژنتیکی مرسوم قابل رؤیت بوده و ۱۵٪ از موارد حذف تحت میکروسکوپی دیگر را می‌توان با روش هیبریدسازی فلئورسنت در جا (FISH) یا روش‌های ملکولی مشخص نمود. آنالیز DNA نشان داده که کروموزوم حذف شده تقریباً همیشه هموسوگ به ارث رسیدهٔ پدری است.

شکل ۲۲-۷: دختر بچه‌ای مبتلا به سندرم پرادر ویلی

۲۵٪ تا ۳۰٪ بقیه موارد مبتلا به PWS که حذف کروموزومی ندارند، دارای دیزومی تک‌والدی مادری می‌باشند. از لحاظ عملکردی این حالت معادل حذف در کروموزوم ۱۵ به ارث رسیده پدری است.

اکنون مشخص شده که تنها آلل به ارث رسیدهٔ پدری در ناحیهٔ بحرانی 15q11-q13 بیان می‌شود. سازمان‌دهی ملکولی این ناحیه در شکل ۲۳-۷ نشان داده شده است. PWS یک بیماری چند ژنی است و در حالت طبیعی پلی‌پپتید ریبونوکلئوپروتئین کوچک هسته‌ای N (*SNRPN*) و ژن‌های مجاورش (*MKRN3* و غیره) از طرف پدر بیان می‌شوند. بیان ژن‌ها تحت کنترل یک ICR خاص می‌باشد. آنالیز DNA بیماران مبتلا به PWS و حذف‌های تحت میکروسکوپی متفاوت امکان نقشه‌برداری ICR را در قطعه‌ای حدود ۴kb در برگیرندهٔ اولین اگزون و پروموتور ژن *SNRPN* و نیز چارچوب خواندن بالادست ژن (*SNURF*) را فراهم نمود. انتهای ۳ ICR، برای بیان ژن‌هائی که از طرف پدری بیان می‌شوند و نیز آغاز رونویسی از رونوشت بلند *SNURF/SNRPN* مورد نیاز می‌باشد. ژن‌هائی که از طرف

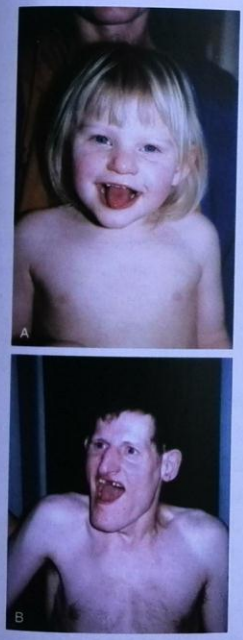


شکل ۲۳-۷: سازمان‌دهی ملکولی (ساده شدهٔ) جایگاه 15q11-q13 : در رابطه با سندرم‌های پرادر ویلی (PWS) و آنجلمن (AS). ناحیه کنترلی نشان‌گذاری (ICR) این لکوس دو جزء دارد. جزء نزدیک‌تر به تلومر به عنوان PWS ICR عمل کرده و حاوی پروموتور *SNURF/SNRPN* می‌باشد. *SNURF/SNRPN* چندین رونوشت بلند و پیچیده تولید می‌کند که تصور می‌شود یکی از آنها یک RNA آنتی‌سنس مهار کننده برای *UBE3A* باشد. ICR نزدیک‌تر به سانترومر به عنوان AS ICR برای *UBE3A* عمل می‌کند. UBE3A تنها ژنی می‌باشد که بیان آن از طرف مادری در AS حذف شده است. AS ICR ، همچنین PWS ICR را بر روی آلل مادری مهار می‌کند. PWS ICR همچنین بر روی ژن‌های بالادست یعنی *MKRN3* ، *MAGE-L2* و *NDN* اثر می‌گذارد که بر روی آلل پدری غیرمتیله (○) اما بر روی آلل مادری متیله (●) می‌باشند.

مادری بیان می‌شوند به صورت متفاوتی متیله نشده‌اند، اما بر روی آلل پدری احتمالاً توسط RNA آنتی‌سنس ایجاد شده از ژن SNURF/SNRPN خاموش شده‌اند. در سلول‌های طبیعی، انتهای 5' ICR برای بیان ژن‌های مادری لازم بوده و در سندرم آنجلمن دخیل می‌باشد که بر روی آلل مادری متیله شده است (قسمت بعد را ببینید).

سندرم آنجلمن (Angelman Syndrome)

سندرم آنجلمن (AS) تقریباً با فراوانی ۱ در ۱۵،۰۰۰ تولد رخ می‌دهد و همراه با صرع، مشکلات شدید یادگیری، قدم‌های آتاکسیک یا نامتوازن و چهره‌ای خندان مشخص می‌شود (شکل ۲۴-۷). تقریباً ۷۰٪ افراد مبتلا به سندرم AS دارای یک حذف بینابینی در همان ناحیه 15q11-q13 دخیل در PWS ، اما در این مورد در هومولوگ به ارث رسیدهٔ مادری می‌باشند. در ۵٪ دیگر موارد مبتلایان AS، سندرم در اثر دیزومی تک‌والدی پدری ایجاد شده است. برخلاف PWS علائم AS توسط حذف یک ژن *UBE3A* می‌باشد. در بیش از ۱۰٪ افراد مبتلا به AS، جهش‌ها در ژن *UBE3A* یکی از ژن‌های یوبی‌کوئیتین



شکل ۲۴-۷: **A**، دختر بچه‌ای مبتلا به سندرم آنجلمن. **B**، یک مرد بالغ مبتلا به سندرم آنجلمن.

شناسائی شده‌اند، که به نظر می‌رسد ترجیحاً یا منحصراً از آلل به ارث رسیدهٔ مادری کروموزوم ۱۵ در مغز بیان شود. اینکه چگونه جهش‌های *UBE3A* منجر به علائم مشاهده شده در افراد مبتلا به AS می‌شود، مشخص نیست اما می‌تواند در رابطه با تخریب پروتئین‌ها در سیستم اعصاب مرکزی در زمان تکوین باشد، به خصوص در مکان‌هائی به نام‌های هیپوکامپ (Hippocampus) و سلول‌های پورکینژ (purkinje cells) در مخچه، که *UBE3A* به شدت در آنجا بیان می‌شود. *UBE3A* تحت کنترل AS ICR است (شکل ۲۳-۷)، که در آنالیز افراد مبتلا به AS که دارای ریزحذف‌های متفاوتی بودند، کمی بالادست *SNURF/SNRPN* نقشه‌برداری شده است.

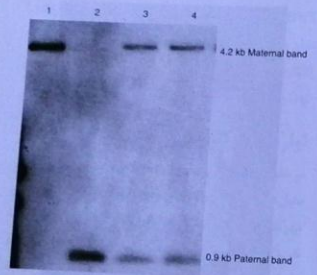
در حدود ۲٪ افراد مبتلا به PWS و تقریباً ۵٪ افراد مبتلا به AS دارای ناهنجاری‌هائی در ICR می‌باشند و این بیماران فنوتیپ‌های خفیف‌تری نشان می‌دهند. بیماران این گروه برخلاف سه گروه دیگر دارای خطر عود مجدد می‌باشند. در مورد AS اگر مادر ناقل همان جهش مانند فرزندش باشد، خطر عود مجدد ۵۰٪ است. حتی اگر نتیجه تست مادر برای جهش منفی باشد، خطر عود مجدد قابل توجهی در رابطه با موزائیسم گنادی می‌تواند وجود داشته باشد.

خانواده‌های نادری گزارش شده‌اند که یک جابجائی در ناحیه پروکسیمال بازوی بلند کروموزوم ۱۵ در آنها به ارث رسیده است. براساس اینکه جابجائی از طرف پدر یا مادر منتقل شود فرزندان مبتلا در خانواده به ترتیب PWS یا AS خواهند بود. تقریباً در ۱۰٪ موارد AS ، نقائص ملکولی ناشناخته است. ممکن است بعضی از این مواردی که ادعا می‌شود AS هستند اگرچه از لحاظ فنوتیپی مشابه‌اند، ولی دارای تشخیص متفاوت باشند.

در بسیاری از آزمایشگاه‌های خدمات ژنتیکی، یک آزمایش ساده DNA برای تشخیص هر دو بیماری PWS و AS ، بر پایه ویژگی‌های متفاوت متیلاسیون DNA در لکوس 15q11-q13 به‌کار می‌رود. (شکل ۲۵-۷).

سندرم بک ویت ویدمن (Bechwith- Wiedemann Syndrome)

سندرم بک ویت ویدمن (BWS) یک بیماری هتروژن از لحاظ



شکل ۲۵-۷: سانترن بلات جهت تشخیص متیلاسیون ژن SNRPN . DNA توسط آنزیم‌های XbaI و NotI برش داده شده و پروب KB17 ، با نواحی جزائر CpG درون یک اگزون SNRPN هیبرید می‌شود. بیمار ۱ سندرم پرادر ویلی، بیمار ۲ سندرم آنجلمن و نمونه‌های ۳ و ۴ سالم می‌باشند.

بالینی است که ویژگی اصلی آن رشد بیش از حد می‌باشد. اولین بار در سال‌های ۱۹۶۳ و ۱۹۶۴ توصیف شد که ویژگی‌های عمده آن بزرگی بدن (رشد زیاد قبل و یا بعد از تولد)، ماکروگلوسیا (بزرگی زبان)، نقائص دیواره شکمی [امفالوسل، فتق نافی و از هم فاصله گرفتن ماهیچه‌های راست شکمی به موازات محور میانی دیوارهٔ شکم (diastasis recti)] و هیپوگلیسمی نوزادی می‌باشند (شکل ۲۶-۷). همی هیپرپلازی [رشد بیش از حد نیمی از یک بافت خاص یا کل یک بافت و قسمت‌هائی در یک طرف بدن] ممکن است همانند بزرگ‌شدن احشاء شکمی، ناهنجاری‌های کلیوی، ناهنجاری‌های گوش (فرورفتگی‌های قدامی لاله گوش، حفره‌های مارپیچی خلقی) و شکاف کام مشاهده شود و ممکن است تومورهای جنینی (به‌خصوص تومور ویلمز) وجود داشته باشند.

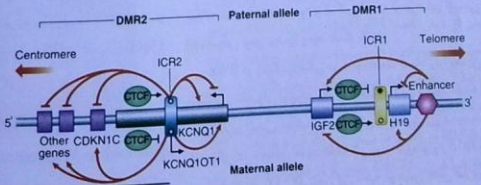
BWS در ژنتیک پزشکی مورد توجه بوده است، زیرا چندین مکانیسم ملکولی (و پیچیده) در رابطه با آن وجود دارند. نشان‌گذاری ژنومی، موزائیسم سوماتیکی و چندین ژن دخیلند، که همگی در ناحیه‌ای حدود 1Mb بر روی کروموزوم 11p15 قرار دارند (شکل ۲۷-۷). درون این ناحیه دو دومن نشان‌گذاری

شکل ۲۶-۷: دختر بچه‌ای مبتلا به سندرم بک ویت ویدمن. به بزرگی زبان و فتق نافی توجه کنید.

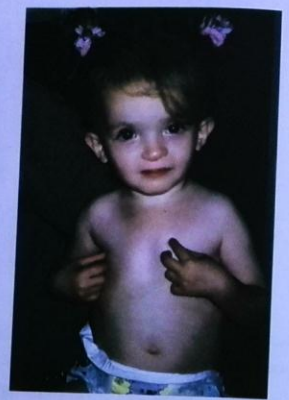
شده که به طور مستقل تنظیم شده‌اند، وجود دارند. دومین نزدیک‌تر به تلومر [ناحیهٔ متیله شدهٔ متفاوت ۱ (DMR1) تحت کنترل ICR1] حاوی ژن بیان‌شدهٔ آلل پدری *IGF2* (فاکتور رشد انسولینی ۲) و ژن بیان‌شدهٔ آلل مادری *H19* می‌باشد. دومین نشان‌گذاری شدهٔ نزدیک‌تر به سانترومر [DMR2 تحت کنترل ICR2] حاوی آلل‌های ژنی *KCNQ1* (قبلاً به نام *KvLQT1* شناخته می‌شد) و *CDKN1C* بیان شده از طرف مادر و نیز رونوشت آنتی‌سنس *KCNQ1OT1* بیان شده از طرف پدر که پروموتور آن درون ژن *KCNQ1* قرار دارد، می‌باشد.

اختلال در تنظیم طبیعی متیلاسیون می‌تواند منجر به بیان ژن یا ژن‌های متفاوت و در نتیجه بروز علائم BWS شود. در ناحیهٔ DMR1 **افزایش متیلاسیون** در آلل مادری منجر به ضعف بیان *H19* و بیان دو آللی *IGF2* (یا به عبارتی دو کپی از اپی‌ژنوتیپ‌های پدری عملکرد دارند) می‌شود. این مورد در بیش از ۷٪ موارد BWS اتفاق افتاده و معمولاً به صورت تک‌گیر می‌باشد. در ناحیهٔ DMR2 **عدم متیلاسیون**، منجر به ایجاد دو کپی اپی‌ژنوتیپ پدری و کاهش بیان ژن *CDKN1C* می‌شود، که این مکانیسم در ۵۰٪ تا ۶۰٪ موارد تک‌گیر BWS مشخص شده است. ژن *CDKN1C* ممکن است یک ژن مهارکنندهٔ رشد باشد و جهش‌های آن در ۵٪ تا ۱۰٪ موارد BWS یافت شده‌اند. در حدود ۱۵٪ موارد BWS، خانوادگی بوده و جهش‌های *CDKN1C* در نیمی از آنها پیدا شده‌اند. علاوه بر اشتباهات نشان‌گذاری در نواحی DMR1 و DMR2، مکانیسم‌های دیگری نیز مسئول ایجاد BWS می‌باشند: ۱) مضاعف‌سازی‌های به ارث رسیدهٔ پدری در کروموزوم 11p15.5[1] (این موارد اولین بار به عنوان لکوس BWS تعیین شدند)، ۲) دیزومی تک‌والدی پدری در مورد کروموزوم ۱۱ ـ همیشه به صورت موزائیک بوده ـ که اغلب با هیپوگلیسمی نوزادی و همی‌هیپرتروفی و بیشترین خطر (حدود ۲۵٪) تومورهای روبانی به خصوص تومور ویلمز، همراه است و ۳) جابجائی‌های متعادل به ارث رسیدهٔ مادری در بر گیرندهٔ نوآرائی‌هائی در جایگاه 11p15.

شکل ۲۷-۷: سازمان‌دهی ملکولی (ساده شدهٔ) جایگاه 11p15.5 در رابطه با سندرم‌های راسل ـ سیلور و بکویت‌ویدمن. این ناحیه شامل دو دومن نشان‌گذاری شده (DMR1 و DMR2) است که به طور مستقل تنظیم می‌شوند. ICR ها به طور متفاوتی متیله می‌باشند (● متیله شده، ○ متیله نشده). فاکتور متصل شونده به CCCTC (CTCF) به آلل متیله نشدهٔ هر دو ICR متصل می‌شود. در ناحیهٔ DMR1 تنظیم هماهنگ، باعث بیان *IGF2* تنها آلل پدری و بیان *H19* فقط از آلل مادری می‌شود. در ناحیهٔ DMR2 تنظیم هماهنگ، منجر به بیان آلل مادری ژن‌های *KCNQ1* و *CDKN1C* (به همراه سایر ژن‌ها) و بیان آلل پدری ژن *KCNQ1OT1* (یک RNA غیر کد کننده که رونویسی آنتی‌سنس ژن *KCNQ1* است) می‌شود. فلش‌های سیاه‌رنگ جهت رونویسی را نشان می‌دهند.



۱ـ اشتباه اشتباه در کتاب اصلی توسط مترجم



شکل ۲۸-۷: دختری مبتلا به سندرم راسل ـ سیلور. به پیشانی برآمده، صورت مثلثی شکل و ظاهر هیدروسفالیک کاذب توجه کنید.

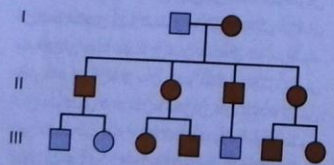
سندرم راسل ـ سیلور
(Russel- Silver Syndrome)

یک بیماری به خوبی شناخته شده است که دارای ویژگی‌های مخالف BWS بوده و در واقع با تأخیر رشد قبل و بعد از تولد مشخص می‌گردد. محیط پیرامون سر نسبتاً طبیعی، صورت کمی کوچک و مثلثی شکل است که ایجاد یک ظاهر هیدروسفالیک کاذب می‌کند (شکل ۲۸-۷) و ممکن است بدن نامتقارن باشد. در حدود ۱۰٪ موارد به دلیل دیزومی تک والدی مادری ایجاد شده که نمایانگر اینست که کروموزوم مربوطه نشان‌گذاری می‌شود. برخلاف مضاعف‌سازی‌های پدری 11p15 که باعث رشد بیش از حد و BWS می‌شود، مضاعف‌سازی‌های مادری این ناحیه با تأخیر رشد همراه است. اخیراً نشان داده شده که در حدود ۱/۳ موارد سندرم راسل سیلور (RSS) به دلیل ناهنجاری‌های نشان‌گذاری در لکوس 11p15.5 می‌باشد. در حالی که هایپرمتیلاسیون DMR1 موجب تنظیم بیان بیشتر *IGF2* و رشد بیش از حد می‌شود، اما هیپومتیلاسیون *H19* باعث تنظیم بیان کمتر *IGF2* شده و به دلیل پیامدهای بیوشیمیائی و ملکولی مخالف حالت قبل، برخلاف BWS، بیماران علائم مربوط به سندرم راسل ـ سیلور (RSS) را نشان می‌دهند. به طور جالبی، برخلاف BWS هیچ موردی از RSS در رابطه با متیلاسیون ناحیه DMR2 که به سانترومر نزدیک‌تر است، وجود ندارد.

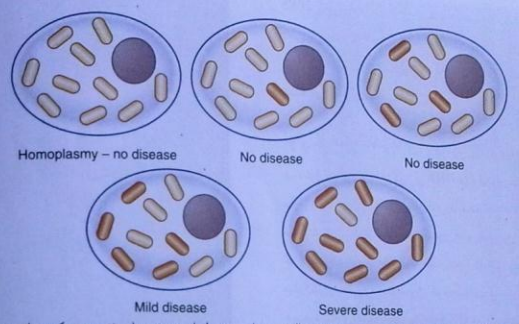
توارث میتوکندریائی

هر سلول دارای هزاران کپی از DNA میتوکندری است که در سلول‌هائی که نیاز به انرژی زیادی دارند، تعداد DNA های میتوکندریائی بیشتر است. میتوکندری‌ها و بنابراین DNA آنها تقریباً همیشه توسط اووسیت مادر به ارث می رسند. DNA میتوکندری، ضریب موتاسیون خودبخودی بیشتری از DNA هسته داشته و تجمع جهش‌ها در DNA میتوکندری به عنوان عاملی برای برخی اثرات سوماتیکی مشاهده شده در ارتباط با پیری پیشنهاد شده است. در انسان **توارث سیتوپلاسمی یا میتوکندریائی** به عنوان توضیحی برای الگوی توارث مشاهده شده در برخی بیماری‌های نادر که هم زنان و هم مردان را مبتلا ساخته و فقط از طریق مادر منتقل می‌شوند، مطرح شده است که اصطلاحاً به آن **توارث مادری یا از طرف مادری (matrilineal)** می‌گویند (شکل ۲۹-۷).

گاهی تعدادی بیماری نادر با ترکیبی از علائم میوپاتی و عصبی، در ارتباط با سایر بیماری‌ها مثل کاردیومیوپاتی و نقائص هدایت قلبی، دیابت یا ناشنوائی مشخص شده‌اند که به دلیل جهش در ژن‌های میتوکندریائی ایجاد شده‌اند. از آنجا که میتوکندری‌ها نقش مهمی در متابولیسم سلولی از طریق فسفریلاسیون اکسیداتیو دارند، تعجب‌برانگیز نیست که اندام‌های حساس به جهش‌های میتوکندریائی سیستم اعصاب مرکزی، ماهیچه اسکلتی و قلب باشند.



شکل ۲۹-۷: شجره‌نامه خانوادگی هماهنگ با توارث میتوکندریائی



شکل ۳۰-۷. اثرات پیشرونده هتروپلاسمی بر شدت بالینی بیماری به دلیل جهش‌های ژنوم میتوکندریائی. نسبت کم میتوکندری‌های جهش یافته به خوبی تحمل می‌شوند، اما همانطور که نسبت میتوکندری‌های جهش یافته بیشتر می‌شود آستانه نقص عملکرد سلولی و بنابراین بافتی متفاوتی نیز ایجاد می‌شوند (دایره‌های بنفش نمایانگر هسته سلول می‌باشند).

در اکثر افراد DNA میتوکندریائی در میتوکندری‌های مختلف، یکسان می‌باشند و یا به عبارتی **هموپلاسمی** (homoplasmy) نشان می‌دهند. اگر جهشی در DNA میتوکندریائی یک فرد رخ دهد، در ابتدا دو جمعیت از DNA میتوکندریائی وجود خواهد داشت که اصطلاحاً **هتروپلاسمی** (heteroplasmy) نامیده می‌شود. نسبتی از میتوکندری‌ها که جهش در DNA آنها وجود دارد، بین سلول‌ها و بافت‌ها متفاوت بوده و این مورد همراه با هتروژنیتی جهشی، توضیح مناسبی را برای طیف شدت فنوتیپی مشاهده شده در افراد مبتلا به بیماری‌های میتوکندریائی، فراهم می‌کند (شکل ۳۰-۷).

در حالی که توارث از طرف مادری در مورد بیماری‌هائی به کار می‌رود که مستقیماً به دلیل جهش‌های DNA میتوکندریائی می‌باشند، همچنین مهم است توجه شود که پروتئین‌های میتوکندریائی عمدتاً توسط ژن‌های هسته‌ای کد می‌شوند. جهش‌ها در این ژن‌ها اثر مخربی بر عملکرد زنجیره تنفسی درون میتوکندری دارند. مثال‌ها شامل ژن‌های کدکنندهٔ پروتئین درون سیستم سیتوکروم c (COX) که از توارث اتوزوم مغلوب پیروی می‌کند و ژن *G4.5* (*TAZ*) وابسته به X که باعث ایجاد سندرم بارت (Barth Syndrom) (فیبروالاستوز اندوکاردیال) در مردان می‌شود، می‌باشند. همچنین یک میوپاتی میتوکندریائی با توارث اتوزوم غالب وجود دارد که چندین حذف DNA میتوکندریائی در آن قابل تشخیص می‌باشد. در فصل ۱۱ بیشتر در رابطه با بیماری‌های میتوکندریائی بحث شده است.

مطالعات بیشتر

Bateson W, Saunders ER 1902 Experimental studies in the physiology of heredity, pp 132-134. Royal Society Reports to the Evolution Committee, 1902

Early observations on mendelian inheritance.

Bennet RL, Steinhaus KA, Uhrich SB, et al 1995 Recommendations for standardized human pedigree nomenclature. Am J Hum Genet 56:745-752

Goriely A, McVean GAT, Rojmyr M, et al 2003 Evidence for selective advantage of pathogenic *FGFR2* mutations in the male germ line. Science 301:643-646

Hall JG 1988 Somatic mosaicism: observations related to clinical genetics. Am J Hum Genet 43:355-363

Good review of findings arising from somatic mosaicism in clinical genetics.

Hall JG 1990 Genomic imprinting: review and relevance to human diseases. Am J Hum Genet 46:857-873

Extensive review of examples of imprinting in inherited diseases in humans.

Heinig RM 2000 The monk in the garden: the lost and found genius of Gregor Mendel. London: Houghton Mifflin

The life and work of Gregor Mendel as the history of the birth of genetics.

Kingston HM 1994 An ABC of clinical genetics, 2nd ed. London: British Medical Association

A simple outline primer of the basic principles of clinical genetics.

Reik W, Surami A, eds 1997 Genomic imprinting (frontiers in molecular biology). London: IRL Press

Detailed discussion of examples and mechanisms of genomic imprinting.

Vogel F, Motulsky AG 1996 Human genetics, 3rd ed. Berlin: Springer

This text has detailed explanations of many of the concepts in human genetics outlined in this chapter.

نکات مهم

۱ـ مطالعات خانوادگی اغلب برای تعیین الگوی توارث یک صفت یا بیماری و نیز برای ارائه مشاورهٔ ژنتیکی مناسب، ضروری می‌باشند. یک قرارداد خلاصه استاندارد، برای ثبت شجره‌نامه و تاریخچهٔ خانوادگی وجود دارد.

۲ـ بیماری‌های تک‌ژنی یا مندلی می‌توانند به روش‌های مختلفی به ارث برسند: اتوزوم غالب، اتوزوم مغلوب، وابسته به X غالب، وابسته به X مغلوب و به ندرت توارث وابسته به Y.

۳ـ آلل‌های اتوزوم غالب در حالت هتروزیگوت بروز کرده و معمولاً از یک نسل به نسل بعد منتقل می‌شود. اما گاهی می‌تواند نتیجهٔ یک جهش جدید باشد. این آلل‌ها معمولاً هر دو جنس زن و مرد را به نسبت مساوی مبتلا می‌سازد. هر فرزند یک والد دارای یک ژن اتوزوم غالب، ۱/۲ احتمال به ارث‌بردن آن را از والد مبتلا دارد. آلل‌های اتوزوم غالب می‌توانند نفوذپذیری کاهش یافته، شدت بیان متغیر و محدودیت جنسیتی نشان دهند.

۴ـ بیماری‌های اتوزوم مغلوب تنها در حالت هموزیگوت بروز کرده و به‌طور طبیعی فقط افراد یک نسل و معمولاً یک رابطهٔ خواهر ـ برادری (Sibship) در یک خانواده را مبتلا می‌سازند. این بیماری‌ها هر دو جنس زن و مرد را به طور مساوی مبتلا می‌کنند. فرزندان والدینی که برای آلل اتوزوم مغلوب، هتروزیگوت می‌باشند ۱/۴ احتمال دارد برای آن آلل بیماری، هموزیگوت شوند. وجود آلل اتوزوم مغلوب با شیوع کمتر، نمایانگر احتمال بیشتر خویشاوندبودن والدین یک فرد هموزیگوت می‌باشد.

۵ـ آلل‌های وابسته به X مغلوب به‌طور طبیعی فقط در مردان بروز می‌کند. فرزندان زنان هتروزیگوت برای یک آلل وابسته به X مغلوب، ۱/۲ احتمال به ارث‌بردن آلل را از مادر دارند. دختران مردی که دارای آلل وابسته به X مغلوب است همگی هتروزیگوت‌های اجباری بوده، اما پسرها نمی‌توانند آلل را از پدر به ارث ببرند. به ندرت زنان یک صفت وابسته به X مغلوب را به دلائل زیر نشان می‌دهند: زیرا برای آلل هموزیگوتند، یک کروموزوم X دارند، دارای نوآرائی‌های ساختاری در یکی از کروموزوم‌های X شان هستند، هتروزیگوتند اما غیرفعال‌سازی غیرتصادفی X یا یک‌طرفه (Skewed) را نشان می‌دهند.

۶ـ فقط چند بیماری وجود دارند که به صورت وابسته به X غالب به ارث می‌رسند. در مورد بیماری‌های وابسته به X غالب، مردان همیزیگوت معمولاً شدیدتر از زنان هتروزیگوت مبتلا می‌شوند.

۷ـ ویژگی‌های نامعمول در الگوهای توارث تک‌ژنی را می‌توان با پدیده‌هائی مثل هتروژنیتی ژنتیکی، موزائیسم، افزایش شدت، نشان‌گذاری، دیزومی تک‌والدی و توارث میتوکندریائی توضیح داد.

فصل ۸

ژنتیک محاسباتی و جمعیت

در مورد مشکلات ریاضی‌تان نگران نباشید، می‌توانم به شما اطمینان دهم هنوز مشکلات من بیشتر است.

«آلبرت انیشتن»

در این فصل برخی از جنبه‌های محاسباتی توارث ژنی، به همراه چگونگی توزیع ژن‌ها و حفظ یک فراوانی ژنی خاص در جمعیت بررسی می‌شوند. این مبحث به عنوان **ژنتیک جمعیت** (Population Genetics) در نظر گرفته می‌شود. ژنتیک برپایه یک روش محاسباتی می‌باشد و بسیاری از محققین پیشگام و اثرگذار در ژنتیک انسانی از یک زمینهٔ محاسباتی استفاده کرده‌اند. آنها به‌ویژه جذب چالش‌هائی شده‌اند که سعی بر تعیین فراوانی‌های ژنی در جمعیت‌ها و بررسی میزان بروز جهش در ژن‌ها بوده است. بسیاری از این کارهای اولیه بر تخصص ژنتیک پزشکی و به‌خصوص مشاوره ژنتیک تأثیر داشته‌اند و در انتهای این فصل امید است خوانندگان درکی از موارد زیر به دست آورده باشند:

۱ـ چرا یک صفت غالب به هزینهٔ یک صفت مغلوب در یک جمعیت افزایش پیدا نمی‌کند.

۲ـ چگونه فراوانی ناقلین و نرخ جهش می‌تواند میزان بروز بیماری را تعیین کند.

۳ـ چرا یک بیماری ژنتیکی خاص در یک جمعیت با جامعه شایع‌تر است.

۴ـ چگونه می‌توان ثابت کرد که یک بیماری ژنتیکی یک الگوی خاص توارث را نشان می‌دهد.

۵ـ مفهوم پیوستگی ژنتیکی و تفاوت آن با عدم تعادل پیوستگی

۶ـ اثرات مداخلات پزشکی

فراوانی‌های آللی در جمعیت‌ها

در نظر اول منطقی است که پیش‌بینی شود صفات و ژن‌های غالب در یک جمعیت به هزینهٔ صفات مغلوب افزایش می‌یابند. به‌طور متوسط ۳/۴ فرزندان دو فرد هتروزیگوت، صفت غالب را نشان خواهند داد، اما فقط ۱/۴ صفت مغلوب را بروز می‌دهند. ممکن است تصور شود که در نهایت تقریباً همهٔ افراد در جمعیت صفت غالب را خواهند داشت. به هر حال نشان داده شده است که در یک جمعیت بزرگ با ازدواج‌های تصادفی که هیچ عاملی از خارج بر آن تأثیر نمی‌گذارد، صفات غالب به هزینه صفات مغلوب افزایش پیدا نمی‌کنند. در واقع در چنین جمعیتی، نسبت‌های تقریبی ژنوتیپ‌های متفاوت (و فنوتیپ‌ها) از یک نسل به نسل دیگر ثابت باقی می‌ماند. این مورد به عنوان **اصل هاردی ـ واینبرگ** (Hardy-Weinberg Principle) شناخته می‌شود. زیرا به طور مستقل توسط یک ریاضیدان انگلیسی به نام G.H.Hardy و یک پزشک آلمانی به نام W.Weinberg در سال ۱۹۰۸ مطرح شد. این مورد یک اصل خیلی مهم در ژنتیک انسانی است.

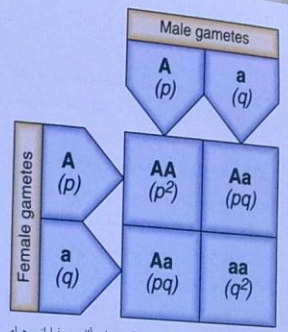
اصل هاردی ـ واینبرگ

یک جمعیت ایده‌آل را در نظر بگیرید که در آن یک لکوس آتوزومی با دو آلل A و a، هر کدام به ترتیب با فراوانی‌های p و q وجود دارد. اینها تنها آلل‌های یافت‌شده در این لکوس بوده، بنابراین $p + q = 100\%$ یا ۱ می‌باشد. فراوانی هر ژنوتیپ در جمعیت را می‌توان با تهیهٔ یک مربع پانت که نشان می‌دهد چگونه ژن‌های مختلف ترکیب می‌شوند، محاسبه کرد (شکل ۱-۸).

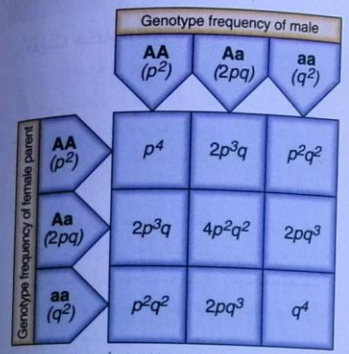
با توجه به شکل ۱-۸ می‌توان مشاهده کرد که فراوانی‌های ژنوتیپ‌های مختلف به صورت زیر است:

ژنوتیپ	فنوتیپ	فراوانی
AA	A	p^2
Aa	A	2pq
aa	a	q^2

اگر آمیزش‌های تصادفی اسپرم و تخمک وجود داشته باشد، فراوانی‌های ژنوتیپ‌های مختلف در اولین نسل همانند آنچه نشان داده شده، می‌باشد. اگر این افراد با یکدیگر ازدواج نمایند و



شکل ۱–۸: مربع پانت نمایانگر فراوانی‌های آللی و فراوانی‌های ژنوتیپ‌های حاصل برای یک سیستم دو آللی در نسل اول.



شکل ۲–۸: مربع پانت نمایانگر فراوانی‌های آمیزش‌های متفاوت در نسل دوم.

نسل دوم را ایجاد کنند، مربع پانت را می‌توان دوباره برای نشان‌دادن آمیزش‌های مختلف و فراوانی‌های آنها به کار برد (شکل ۲–۸). با توجه به شکل ۲–۸ فراوانی کل هر ژنوتیپ در نسل دوم را می‌توان به دست آورد (جدول ۱–۸). این مورد نشان می‌دهد که فراوانی نسبی یا کسری از هر ژنوتیپ، در نسل دوم همانند نسل اول می‌باشد. در واقع بدون توجه به تعداد نسل‌های مطالعه شده، فراوانی نسبی ثابت باقی خواهد ماند. تعداد واقعی افراد با هر ژنوتیپ با افزایش یا کاهش اندازهٔ جمعیت تغییر خواهد کرد، اما فراوانی‌ها یا کسرهای نسبی آنها ثابت باقی می‌ماند. این مورد، ایدهٔ بنیادین اصل هاردی واینبرگ می‌باشد. اگر مطالعات تأیید کنند که کسرهای نسبی هر ژنوتیپ با فراوانی‌های p^2، $2pq$ و q^2 ثابت باقی می‌مانند، آنگاه گفته می‌شود آن جمعیت برای آن ژنوتیپ خاص در **تعادل هاردی ـ واینبرگ** است.

عواملی که تعادل هاردی ـ واینبرگ را بر هم می‌زنند

مباحثی که تاکنون ذکر شدند مربوط به یک جمعیت «ایده‌آل» می‌باشند. از لحاظ تعریف چنین جمعیتی بزرگ است و در آن ازدواج‌های تصادفی بدون هیچ جهش جدید و بدون انتخابی موافق یا مخالف یک ژنوتیپ خاص، مشاهده می‌شود. در مورد بعضی صفات انسانی مثل ژن‌های خنثی در مورد گروه‌های خونی یا واریانت‌های آنزیمی، این معیارها قابل بررسی می‌باشند. با این حال، چندین عامل می‌توانند تعادل هاردی ـ واینبرگ را با اثرگذاری بر توزیع ژن‌ها در جمعیت یا با تغییر فراوانی‌های ژنی، بر هم بزنند. این عوامل شامل موارد زیر می‌باشند:

۱ـ ازدواج غیرتصادفی

۲ـ جهش

۳ـ انتخاب

۴ـ اندازهٔ کوچک جمعیت

۵ـ جریان ژنی (مهاجرت)

ازدواج غیرتصادفی

ازدواج تصادفی یا Panmixis به انتخاب همسر بدون توجه به ژنوتیپ او گفته می‌شود. ازدواج غیرتصادفی می‌تواند باعث افزایش فراوانی هموزیگوت‌های مبتلا توسط دو مکانیسم شود: ازدواج‌های جور شده (assortative mating) یا ازدواج‌های خویشاوندی (Consanguinity).

ازدواج‌های جور شده (Assortative Mating)

ازدواج‌های جور شده، به گرایش انسان برای انتخاب همسری

جدول ۱–۸ فراوانی انواع گوناگون زاده‌ها از آمیزش‌های نشان‌داده شده در شکل ۲–۸

انواع آمیزش‌ها	فراوانی	فراوانی زاده‌ها		
		AA	Aa	aa
AA×AA	p^4	p^4	$2p^3q$	-
AA×Aa	$4p^3q$	$2p^3q$	$2p^2q^2$	-
Aa×Aa	$4p^2q^2$	p^2q^2	$2p^2q^2$	q^2p^2
AA×aa	$2p^2q^2$	-	$2p^2q^2$	-
Aa×aa	$4pq^3$	-	$2pq^3$	$2pq^3$
aa×aa	q^4	-	-	q^4
Total		$p^2(p^2+2pq+q^2)$	$2pq(p^2+2pq+q^2)$	$q^2(p^2+2pq+q^2)$
Relative frequency		p^2	2pq	q^2

مشابه از لحاظ ویژگی‌هائی مثل قد، هوش و منشاء نژادی گفته می‌شود. اگر ازدواج جور شده را به مواردی مثل ناشنوائی آتوزوم مغلوب (AR) تعمیم دهیم که بخش زیادی از ناشنوائی‌های مادرزادی را شامل می‌شود، بنابراین موجب افزایش کمی در فراوانی نسبی هموزیگوت‌های مبتلا خواهد شد.

ازدواج‌های خویشاوندی

ازدواج خویشاوندی اصطلاحی است که برای توصیف ازدواج‌های بین خویشاوندان خونی به کار می‌رود که حداقل یک جد مشترک، اما نه با نسبتی دورتر از والدین ــ والدین پدربزرگ و مادربزرگ دارند. ازدواج‌های خویشاوندی گسترده در یک جامعه، منجر به افزایش نسبی فراوانی هموزیگوت‌های مبتلا، اما کاهش نسبی فراوانی هتروزیگوت‌ها می‌شوند.

جهش

ارزش اصل هاردی ـ واینبرگ براساس این فرض است که هیچ جهش جدیدی رخ ندهد. اگر یک لکوس خاص، میزان جهش بالائی نشان دهد، آنگاه افزایش ثابتی در نسبت آل‌های جهش یافته در یک جمعیت وجود خواهد داشت. در عمل جهش‌ها در اکثر همهٔ آل‌ها (اگرچه در مقادیر متفاوتی) رخ می‌دهند، اما اثر بروز آنها معمولاً با حذف آل‌های جهش یافته، به دلیل کاهش قدرت بقاء افراد مبتلا متعادل می‌گردد. اگر جمعیتی در تعادل هاردی ـ واینبرگ باشد، معمولاً فرض می‌شود که این دو عامل مخالف، تقریباً اثرات یکسانی داشته باشند. این مورد در بخش بعدی، در موارد تخمین میزان جهش با جزئیات بیشتر بحث شده است.

انتخاب

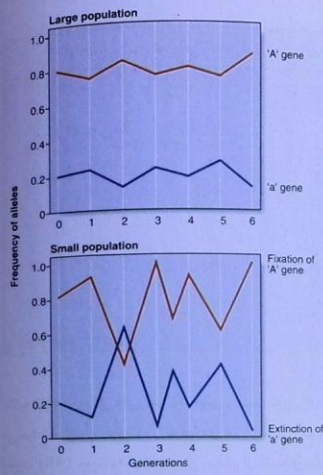
در یک جمعیت ایده‌آل هیچ انتخابی موافق یا مخالف یک ژنوتیپ خاص وجود ندارد. در حقیقت در مورد صفات مخرب احتمالاً انتخاب منفی وجود دارد، که افراد مبتلا قدرت تولید مثل (یا قدرت بیولوژیکی و یا ژنتیکی) کمتری دارند. این مورد به این معناست که آنها به اندازهٔ اعضاء سالم یک جمعیت، فرزند ندارند. در نبود جهش‌های جدید، کاهش قدرت بقاء منجر به کاهش آهسته فراوانی ژن جهش یافته شده و بنابراین تعادل هاردی ـ واینبرگ بر هم می‌خورد.

انتخاب می‌تواند در جهت مخالف با افزایش قدرت بقاء عمل کند. در مورد بعضی بیماری‌های آتوزوم مغلوب شواهدی وجود دارد که هتروزیگوت‌ها افزایش کمی در قدرت بقاء بیولوژیکی، در مقایسه با هموزیگوت‌های سالم نشان می‌دهند، که اصطلاحاً **برتری هتروزیگوت** (Heterozygote advantage) نامیده می‌شود. بهترین مثال شناخته شدهٔ آن بیماری آنمی داسی‌شکل است و هموزیگوت‌های مبتلا به شدت کم‌خونی داشته و اغلب بیماری مدت زیادی طول می‌کشد. با این حال هتروزیگوت‌ها نسبتاً به عفونت مالاریا توسط پلاسمودیوم فالسی پاروم مقاومند، زیرا گلبول‌های قرمز آنها به صورت داسی شکل درآمده و زمانی

که توسط انگل مورد تهاجم قرار می‌گیرند، به سرعت تخریب می‌شوند. در مناطقی که این شکل از مالاریا اندمیک می‌باشد، حاملین کم‌خونی داسی‌شکل (صفت سلول داسی) دارای یک برتری هتروزیگوتی در مقایسه با هموزیگوت‌های سالم می‌باشند. بنابراین در این نواحی نسبت هتروزیگوت‌ها نسبت به تعداد هموزیگوت‌های سالم و بیمار افزایش نشان می‌دهد و تعادل هاردی ـ واینبرگ از بین می‌رود.

اندازه کوچک جمعیت

در جمعیت‌های بزرگ تعداد فرزندان افراد با ژنوتیپ‌های متفاوت ـ با فرض اینکه قدرت بقاء یک ژنوتیپ خاص تغییر نیافته باشد ـ متعادل بوده، بنابراین فراوانی‌های ژنی ثابت باقی می‌مانند. با این حال در یک جمعیت کوچک امکان دارد توسط نوسانات آماری تصادفی، یک آلل بتواند به نسبت بیشتری از فرزندان به صورت اتفاقی منتقل شود که منجر به تغییرات قابل توجه در فراوانی آللی از یک نسل به نسل بعد شده و تعادل هاردی ـ واینبرگ را برهم می‌زند. این مورد به عنوان **رانش تصادفی ژنتیکی** (random genetic drift) نامیده می‌شود. اگر یک آلل کاملاً از بین برود، اصطلاحاً گفته می‌شود **منقرض شده** (extinguished) و آلل دیگر به عنوان آلل **تثبیت شده** (fixed) توصیف می‌گردد (شکل ۳-۸).



شکل ۳-۸: اثرات احتمالی رانش تصادفی ژنتیکی در جمعیت‌های کوچک و بزرگ

جریان ژنی (مهاجرت)

اگر آلل‌های جدید در نتیجهٔ مهاجرت وارد یک جمعیت شوند، بعداً با ازدواج‌های بین افراد وارد شده و افراد آن جمعیت، فراوانی آلل‌های مربوطه تغییر خواهد کرد. این انتشار آهسته آلل‌ها در بین مرزهای نژادی و جغرافیائی به عنوان **جریان ژنی**(gene flow) شناخته می‌شود. مثالی که بیشتر ارائه می‌شود شیب نشان‌دهندهٔ میزان بروز آلل گروه خونی B در سراسر دنیا است (شکل ۴-۸). این آلل به نظر می‌رسد از آسیا منشاء گرفته باشد و به آرامی به دلیل مخلوط‌شدن در اثر تهاجم‌ها به سمت غرب گسترش یافته است.

اعتبار تعادل هاردی ـ واینبرگ

در صورتی که بتوان تمام ژنوتیپ‌های ممکن را در مورد یک صفت خاص در یک جمعیت تعیین کنیم، تشخیص آن که این جمعیت در تعادل هاردی ـ واینبرگ می‌باشد یا خیر، نسبتاً آسان است. سیستمی را با دو آلل در نظر بگیرید A و a که دارای سه ژنوتیپ AA ، Aa/Aa و aa است. در بین ۱۰۰۰ نفر که به صورت اتفاقی انتخاب شده‌اند، توزیع ژنوتیپ‌های زیر مشاهده می‌شوند:

AA	۸۰۰
Aa/aA	۱۸۵
aa	۱۵

با توجه به این اعداد میزان بروز آلل A (p) برابر با ۰/۸۹۲۵ = [(۱۸۵/۲) + (۸۰۰ × ۲)]/۲۰۰۰ و میزان بروز آلل a (q) برابر با ۰/۱۰۷۵ = [(۱۵×۲)/۲۰۰۰] + ۱۸۵] خواهد بود. اکنون در نظر بگیرید اگر جمعیت در تعادل هاردی واینبرگ باشد، فراوانی ژنوتیپ‌های مورد انتظار چه خواهد بود و آنها را با مقادیر مشاهده شده مقایسه کنید:

ژنوتیپ	مشاهده شده	مورد انتظار
AA	۸۰۰	۷۹۶/۵ (p^2×۱۰۰۰)
Aa/aA	۱۸۵	۱۹۲ (۲pq×۱۰۰۰)
aa	۱۵	۱۱/۵ (q^2×۱۰۰۰)

شکل ٤-٨: توزیع گروه خونی B در سراسر دنیا.

مقادیر مشاهده شده و مورد انتظار تقریباً با هم مطابقت دارند و آنالیز رسمی آماری توسط آزمون X^2 تأیید می‌کند که اگر جمعیت در تعادل هاردی ـ واینبرگ باشد مقادیر مشاهده شده با مقادیر مورد انتظار تفاوت قابل توجهی ندارند.

سپس سیستم متفاوت دیگری را با دو آلل B و b در نظر بگیرید. در بین ۱۰۰۰ نفر که به صورت تصادفی انتخاب شده‌اند توزیع ژنوتیپ‌های مشاهده شده به صورت زیر خواهد بود:

BB	۴۳۰
Bb/bB	۵۴۰
bb	۳۰

با توجه به این مقادیر میزان بروز آلل B (p) برابر با ۰/۷ = [(۵۴۰/۲) + (۴۳۰×۲)]/۲۰۰۰ و میزان بروز آلل b (q) برابر با ۰/۳ = [(۳۰×۲)/۲] + (۵۴۰)]/۲۰۰۰ خواهد بود.

با استفاده از مقادیر p و q، توزیع ژنوتیپ‌های مورد انتظار و مورد مشاهده را می‌توان با هم مقایسه کرد:

ژنوتیپ	مورد مشاهده	مورد انتظار
BB	۴۳۰	۴۹۰ (p^2×۱۰۰۰)
Bb/bB	۵۴۰	۴۲۰ (۲pq×۱۰۰۰)
bb	۳۰	۹۰ (q^2×۱۰۰۰)

این مقادیر به طور قابل توجهی با هم تفاوت دارند به‌طوری که تعداد هتروزیگوت‌ها به هزینه هموزیگوت‌ها افزایش یافته است. در مورد چنین انحرافی از تعادل هاردی ـ واینبرگ می‌بایست عواملی که موجب افزایش تعداد هتروزیگوت‌ها می‌شوند همانند برتری هتروزیگوت یا ازدواج‌های جور شده منفی (negative assortative mating) (یا به عبارتی جذب مخالف‌ها) مورد بررسی قرار گیرند.

علی‌رغم تعداد عواملی که می‌توانند تعادل هاردی واینبرگ را بر هم بزنند، اکثر جمعیت‌ها برای بیشتر صفات ژنتیکی در تعادل بوده و انحراف قابل توجه در نسبت ژنوتیپ‌های مورد انتظار، نامعمول می‌باشد.

کاربردهای اصل تعادل هاردی ـ واینبرگ

تخمین فراوانی‌های ناقلین

اگر میزان بروز یک بیماری AR شناخته شده باشد، می‌توان فراوانی ناقلین را با یک فرمول نسبتاً ساده جبر، محاسبه کرد. برای مثال اگر میزان بروز بیماری ۱ در ۱۰،۰۰۰ باشد، آنگاه $q^2 = \frac{1}{10000}$ و $q = \frac{1}{100}$ خواهد بود. از آنجا که $p + q = 1$ می‌باشد، بنابراین $p = \frac{99}{100}$ است. سپس فراوانی ناقلین را می‌توان به صورت $2 \times \frac{99}{100} \times \frac{1}{100}$ (یا به عبارتی

$2pq$) به‌دست آورد که تقریباً ۱ به ۵۰ می‌شود. بنابراین یک تخمین تقریبی از فراوانی ناقلین را می‌توان با دو برابر کردن ریشه دوم (جذر) میزان بروز بیماری، محاسبه کرد. مقادیر تقریبی فراوانی ژنی و فراوانی ناقلین براساس میزان بروز بیماری می‌توانند در مشاورهٔ ژنتیکی محاسبه خطر، بسیار سودمند باشند (جدول ۲-۸). با این حال اگر میزان بروز بیماری شامل مواردی باشد که حاصل ازدواج‌های خویشاوندی‌اند، آنگاه استفاده از اصل هاردی ـ واینبرگ برای محاسبه فراوانی ناقلین صحیح نمی‌باشد، زیرا میزان بالای ازدواج‌های خویشاوندی تعادل را بر هم زده و منجر به افزایش نسبی تعداد هموزیگوت‌های مبتلا می‌شود.

در مورد بیماری‌های وابسته به X مغلوب (XLR) فراوانی مردان مبتلا برابر با فراوانی آلل جهش یافته (q) است. بنابراین در مورد صفتی مثل کوررنگی سبز ـ قرمز که تقریباً با فراوانی ۱/۱۲ مردان سفیدپوست اروپای غربی را مبتلا می‌کند $q = \frac{1}{12}$ و $p = \frac{11}{12}$ خواهد بود. این بدان معناست که فراوانی مردان مبتلا (q^2) و زنان ناقل ($2pq$) به ترتیب ۱/۱۴۴ و ۲۲/۱۴۴ است.

تخمین میزان جهش‌ها

روش مستقیم

اگر یک بیماری آتوزوم غالب (AD) نفوذ کامل نشان دهد، بنابراین همیشه در هتروزیگوت‌ها بیان می‌شود و تخمین میزان جهش آن را می‌توان نسبتاً به آسانی، با شمارش تعداد موارد جدید در یک تعداد معین تولدها محاسبه کرد. مجموعه‌ای با ۱۰۰،۰۰۰ بچه را در نظر بگیرید که ۱۲ مورد از آنها دارای یک بیماری AD خاص، مثل آکندروپلازی می‌باشند. تنها دو مورد از این کودکان دارای یک والد مبتلا بوده بنابراین ۱۰ مورد باقیمانده باید بیماری‌شان را در نتیجهٔ جهش جدید کسب کرده باشند. پس ۱۰ جهش جدید در بین ۲۰۰،۰۰۰ ژن به ارث رسیده به این کودکان رخ داده است (زیرا هر کودک دو کپی از هر ژن را به ارث می‌برد). که میزان جهش ۱ در هر ۲۰،۰۰۰ گامت در هر نسل می‌شود. در حقیقت این مثال نامعمول است، زیرا همهٔ جهش‌های جدید در آکندروپلازی در کروموزوم ۴ پدری رخ می‌دهند. بنابراین میزان جهش ۱ در ۱۰،۰۰۰ اسپرماتوژنز بوده و تا آنجا که ما می‌دانیم در اووژنز صفر می‌باشد.

روش غیرمستقیم

در مورد یک بیماری AD با قدرت بقاء و تولیدمثلی (f) برابر با صفر، همهٔ موارد باید نتیجهٔ جهش‌های جدید باشند. اگر میزان بروز یک بیماری را با I و نرخ جهش را با m نشان دهیم، آنگاه از آنجا که هر کودک دو آلل را به ارث می‌برد و هر کدام از آنها می‌تواند جهش یافته و بیماری را ایجاد کنند، میزان بروز بیماری دو برابر مقدار جهش (یا به عبارتی $I = 2\mu$) خواهد شد.

اگر قدرت بقاء (fitness) بزرگتر از صفر و بیماری نیز در تعادل هاردی ـ واینبرگ باشد، آنگاه ژن‌های حذف شده توسط قدرت بقاء کاهش یافته، باید با جهش‌های جدید متعادل شوند. بنابراین $\mu = I(1-f)/2$ یا $2\mu = I(1-f)$.

پس اگر بتوان میزان قدرت بقاء ژنتیکی را در مقایسهٔ میانگین فرزندان متولد شده از والدین مبتلا با میانگین فرزندان والدین کنترل (مثل خواهر ـ برادرهای سالم) به دست آورد، محاسبه نرخ جهش ممکن می‌گردد.

روش‌های مشابهی را می‌توان برای تخمین میزان جهش در مورد بیماری‌های XLR و AR به کار برد. در مورد بیماری‌های AR در صورتی که فرد بیمار نتواند تولیدمثل کند، دو ژن در هر فرد هموزیگوت حذف می‌شوند. این موارد با جهش‌های جدید به تعادل می‌رسند. بنابراین $2\mu = I(1-f) \times 2$ یا $\mu = I(1-f)$ می‌باشد.

در مورد بیماری‌های XLR که میزان بروز بیماری در مردان I^M است، سه کروموزوم X توسط هر زوج در هر نسل منتقل می‌شود، پس $3\mu = I^M(1-f)$ یا $\mu = I^M(1-f)/3$ می‌باشد.

چرا دانستن نرخ جهش‌ها سودمند می‌باشد؟

گرایشاتی همراه با علاقه یا عدم علاقه به فرمول‌های ریاضی وجود دارند، اما ارتباط بین نرخ جهش‌ها، میزان بروز بیماری‌ها و قدرت بقاء دارای ارزش کاربردی است.

تخمین اندازه ژن

اگر یک بیماری، نرخ جهش بالائی داشته باشد، ممکن است ژن بزرگ باشد. از طرف دیگر ممکن است نسبت نوکلئوتیدهای GC زیادی داشته و مستعد خطا در هنگام همانندسازی باشد، یا

حاوی مقادیر زیادی توالی‌های تکراری بوده که می‌تواند مستعد جفت‌شدن ناجور (misalignment) طی میوز باشد و منجر به حذف یا مضاعف‌سازی شود.

تعیین پتانسیل جهش‌زائی

روش‌های دقیق تعیین نرخ جهش‌ها ممکن است در ارتباط با تفاوت‌های پیش‌بینی شده و مشاهده شدهٔ میزان بروز بیماری‌ها، پس از حوادثی مثل وقایع هسته‌ای (از جمله واقعه چرنوبیل در سال ۱۹۸۶) سودمند باشند.

پیامدهای درمان بیماری‌های ژنتیکی

همانطور که بعداً بحث می‌شود، درمان پیشرفته بیماری‌های ژنتیکی جدی، ممکن است قدرت بقاء بیولوژیکی را افزایش داده که منجر به افزایش میزان بروز بیماری می‌گردد.

چرا برخی بیماری‌های ژنتیکی شایعتر می‌باشند؟

اگر ژنی نرخ جهش بالائی داشته باشد، آنگاه میزان بروز بیماری ممکن است نسبتاً بالا باشد. با این حال عواملی دیگر علاوه بر نرخ جهش و قدرت بقاء بیولوژیکی دخالت دارند، همانطور که قبلاً به آنها اشاره شد، این موارد با توجه به اندازه جمعیت در نظر گرفته می‌شوند.

جمعیت‌های کوچک

چندین بیماری AR نادر میزان بروز نسبتاً بالائی را در گروه‌های جمعیتی خاص نشان می‌دهند (جدول ۳-۸). فراوانی‌های آللی زیاد معمولاً در ترکیبی از **اثر بنیان‌گذار** (Founder effect) همراه با جدائی جغرافیایی یا مذهبی، اجتماعی توضیح داده می‌شوند ـ بنابراین **ایزوله‌های ژنتیکی** (genetic isolates) نامیده می‌شوند.

برای مثال چندین بیماری بسیار نادر AR با فراوانی نسبتاً بالائی در جمعیت Old Order Amish که در پنسیلوانیا زندگی می‌کنند (مسیحی‌هائی که از حرکت Anabaptist منشاء گرفته و به دلیل آنکه در قرن هیجدهم به دلائل مذهبی تحت پیگرد بودند از اروپا فرار کردند)، مشاهده می‌شوند. اولین بنیانگذاران

جدول ۲-۸ مقادیر تقریبی فراوانی ژنی و فراوانی ناقلین که براساس میزان بروز بیماری توسط فرمول تعادل هاردی ـ واینبرگ محاسبه شده‌اند.

میزان بروز بیماری (q^2)	فراوانی ژنی (q)	فراوانی ناقلین ($2pq$)
۱/۱۰۰۰	۱/۳۲	۱/۱۶
۱/۲۰۰۰	۱/۴۵	۱/۲۳
۱/۵۰۰۰	۱/۷۱	۱/۳۶
۱/۱۰،۰۰۰	۱/۱۰۰	۱/۵۰
۱/۵۰،۰۰۰	۱/۲۲۴	۱/۱۱۲
۱/۱۰۰،۰۰۰	۱/۳۱۶	۱/۱۵۸

گروه جمعیتی می‌بایست حامل آلل‌های غیرطبیعی بوده باشند که به دلیل تعداد محدود همسران موجود در اعضاء آن جامعه، این آلل‌ها با فراوانی نسبتاً بالائی حفظ شده‌اند.

اثرات بنیانگذار در بیماری‌های AD نیز مشاهده می‌شوند. پورفیری متغیر که با حساسیت به نور و اختلالات عصبی ـ احشائی القا شده با دارو مشخص می‌شود، میزان بروز بالائی در جمعیت Afrikaner در آفریقای جنوبی داشته و تصور می‌شود که یکی از اولین ساکنان هلندی، بیماری را به تعداد زیادی از فرزندانش منتقل کرده است.

به طور جالبی جمعیت Hopi Indians در آریزونا، میزان بروز بالای بیماری آلبینیسم را نشان می‌دهد. مردان مبتلا به دلیل مشکلات بینائی و سلامتی‌شان در رابطه با تور خورشید از فعالیت‌های کشاورزی در خارج از خانه معاف شدند، بنابراین فرصت بیشتری برای تولیدمثل در مقایسه با اعضاء سالم جمعیت داشته‌اند.

جمعیت‌های بزرگ

وقتی یک بیماری AR جدی، موجب کاهش قدرت بقاء در افراد هموزیگوت مبتلا شود، در یک جمعیت بزرگ میزان بروز بالائی داشته و به نظر می‌رسد علت آن نرخ جهش بالا و یا یک برتری

هتروزیگوتی باشد. مورد دوم برای اکثر بیماری‌های AR محتمل‌تر می‌باشد (جدول ۴-۸).

برتری هتروزیگوتی

در مورد کم‌خونی داسی‌شکل (SC) و تالاسمی شواهد بسیار خوبی وجود دارند که برتری هتروزیگوتی در نتیجهٔ کاهش حساسیت به مالاریا توسط پلاسمودیوم فالسی پاروم ایجاد می‌شود، چنانچه در فصل ۱۰ توضیح داده شده است. آمریکائی‌ها با منشاء Afro-Caribbean دیگر در معرض مالاریا نمی‌باشند، بنابراین انتظار می‌رود که آلل SC در این جمعیت به آهستگی کاهش یابد. با این حال مقدار کاهش پیش‌بینی شده، أنقدر آهسته رخ می‌دهد که نسل‌های بسیاری باید ایجاد شوند تا این کاهش قابل تشخیص گردد.

در مورد چندین بیماری AR مکانیسم پیشنهاد شده در مورد برتری هتروزیگوتی، عمدتاً به صورت فرضیه می‌باشند (جدول ۴-۸ را ببینید). کشف ژن فیبروز کیستیک (CF) همراه با مشخص‌شدن نقش محصول پروتئینی آن در نفوذپذیری غشائی، از فرضیه برتری هتروزیگوتی با افزایش مقاومت به تأثیرات عفونت‌های معده‌ای - روده‌ای (گوارشی) مثل وبا و اسهال خونی در هتروزیگوت‌ها حمایت می‌کند. این مقاومت نسبی می‌تواند موجب کاهش از دست رفتن مایعات و الکترولیت‌ها شود. احتمالاً این برتری هتروزیگوتی طی چند صد سال گذشته که این عفونت‌ها در اروپا اندمیک بوده‌اند، ارزش زیادی داشته است. در این صورت یک کاهش آهسته در میزان بروز بیماری CF مورد انتظار بوده است. با این حال، اگر این تئوری صحیح باشد، باید پرسش شود چرا CF در سایر بخش‌های دنیا که عفونت‌های گوارشی در آنجا اندمیک بوده (به خصوص در مناطق استوائی)، نسبتاً شایع نمی‌باشد. در حقیقت وضعیت مخالف آن وجود داشته و CF در این نواحی نادر می‌باشد.

از طرف دیگر گرچه به صورت تئوری مطرح می‌شود، مکانیسم میزان بروز بالای یک بیماری مثل CF آن است که ترجیحاً آلل جهش یافته در میوز منتقل می‌شود. این نوع انحراف در تفکیک آلل‌ها به طوری که یک آلل در یک لکوس خاص، بیشتر از آنچه که به صورت شانسی پیش‌بینی شده (به عبارتی در بیش از ۵۰٪ گامت‌ها) انتقال یابد، اصطلاحاً **رانش میوزی** (meiotic drive) نامیده می‌شود. شواهد محکمی در رابطه با این پدیده در CF وجود ندارد. اگرچه در مورد بیماری AD دیستروفی میوتونیک نشان داده شده است.

مشکل کاربردی عمده، هنگام مطالعه برتری هتروزیگوتی اینست که حتی یک افزایش جزئی در قدرت بقاء هتروزیگوت‌ها در مقایسه با قدرت بقاء هموزیگوت‌های سالم می‌توانند برای حفظ فراوانی آللی بالا کافی باشد. برای مثال در مورد CF با فراوانی آللی تقریبی $^1/_{50}$ ، یک برتری هتروزیگوتی ۲٪ تا ۳٪ کافی است تا فراوانی آللی بالا باشد.

پلی‌مورفیسم ژنتیکی

پلی‌مورفیسم وجود دو یا چند شکل مشخص ژنتیکی (آلل‌ها یا واریانت‌های آللی) در یک جمعیت است که نادرترین آنها از لحاظ فراوانی، تنها توسط جهش حفظ نمی‌شود. به‌صورت قراردادی یک لکوس پلی‌مورفیک، لکوسی است که حداقل دو آلل و هر کدام را با فراوانی بیشتر از ۱٪ داشته باشد. آلل‌هائی با فراوانی کمتر از ۱٪ به عنوان واریانت‌های نادر در نظر گرفته می‌شوند. در انسان حداقل ۳۰٪ لکوس‌های ژنی ساختاری پلی‌مورفیک بوده، که هر فرد بین ۱۰٪ تا ۲۰٪ احتمال دارد در همهٔ لکوس‌ها هتروزیگوت باشد. سیستم‌های پروتئینی پلی‌مورفیک شناخته شده شامل گروه‌های خونی ABO و بسیاری از پروتئین‌های سرمی می‌باشند که ممکن است تفاوت‌های الکتروفورزی پلی‌مورفیکی نشان دهند و ایزوزیم (isozyme) نامیده می‌شوند.

پلی‌مورفیسم‌های DNA از جمله SNPs نقش بسیار مهمی در کلونینگ موضعی (Positional Cloning) ، نقشه‌برداری ژنی و جداسازی بسیاری از ژن‌های بیماری‌ها داشته‌اند. آنها همچنین در ردیابی (پیگیری) ژنی در موارد بالینی آزمایشات تشخیصی پیش از علائم، تشخیص پیش از تولد و تعیین ناقلین در رابطه با بیماری‌های تک‌ژنی که آنالیز مستقیم جهش ممکن نبوده، به کار رفته‌اند. ارزش یک سیستم پلی‌مورفیک خاص با تعیین **محتوای اطلاعاتی پلی‌مورفیکی** (Polymorphic- (PIC) (information content) آن مشخص می‌گردد. هر چه مقدار PIC بیشتر باشد، با احتمال بیشتری یک مارکر پلی‌مورفیک خاص در مطالعات آنالیز پیوستگی و پیگیری ژنی دارای ارزش می‌باشد.

جدول ۳-۸ بیماری‌های مغلوب نادر که در بعضی گروه‌های جمعیتی نسبتاً شایعند

گروه	بیماری	علائم بالینی
Finns	سندرم نفروتیک مادرزادی	ادم، دفع پروتئین در ادرار، حساسیت به عفونت‌ها
	آسپارتیل گلیکوز آمینوریا	اختلال ذهنی و حرکتی پیشرونده همراه با چهره‌های خشن
	نانیسم مولیبری	همراه با اختلالات چشم، مغز، کبد و ماهیچه
	اسهال کلرید مادرزادی	کاهش جذب Cl^- ، اسهال
	دیسپلازی دیاستروفیک	دیسپلازی اپی‌فیزی پیشرونده همراه با کوتولگی و اسکولیوز
Amish	هیپوپلازی مو - غضروف	کوتولگی با موهای نازک، روشن و کم‌پشت
	سندرم الیس - وان - کرولد	کوتولگی، پلی‌داکتیلی، بیماری قلبی مادرزادی
	اسیدوری گلوتاریک تیپ یک	انسفالوپاتی دوره‌ای و دیستونی شبه فلج مغزی
Hopi and san Blas Indians	آلبینیسم	فقدان رنگدانه
Ashkenazi Jews	بیماری تای ساکس	اختلال ذهنی و حرکتی پیشرونده، نابینائی
	بیماری گوشه	هیاتواسپلنومگالی، آسیب‌های استخوانی، رنگدانه‌های پوستی
	دیس‌أتونومی	بی‌تفاوتی به درد، گرایشات احساسی، عدم وجود اشک، هایپرهیدروز
Karaite Jews	بیماری وردینگ - هافمن	آتروفی ماهیچه‌ای نخاعی نوزادی
Afrikaners	اسکلروستئوزیس	قد بلند، رشد بیش از حد استخوان‌های جمجمه صورت همراه با فلج اعصاب جمجمه‌ای و سین داکتیلی
	لیپوئید پروتئینوزیز	ضخیم‌شدن پوست و غشاءهای موکوسی
Ryukyan islands (off Japan)	آتروفی ماهیچه‌ای نخاعی (Ryukyan)	ضعف عضلانی، پاچنبری، اسکولیوز

جدول ٤-٨ افزایش مقاومت فرضی در هتروزیگوت‌ها که می‌تواند مسئول حفظ بیماری‌های ژنتیکی مختلف در جمعیت‌های خاص باشد

بیماری	الگوی توارث	ناحیه / جمعیت	مقاومت یا برتری
بیماری سلول داسی‌شکل	AR	مناطق گرمسیری آفریقا	مالاریای فالسی پاروم
α و β - تالاسمی	AR	مدیترانه و جنوب شرقی آسیا	مالاریای فالسی پاروم
نقص G6PD	XLR	مدیترانه	مالاریای فالسی پاروم
فیبروز کیستی	AR	اروپای غربی	توبرکلوزیس (سل)
			طاعون
			وبا
بیماری تای‌ساکس	AR	یهودیان اروپای شرقی	توبرکلوزیس (وبا)
هیپرپلازی مادرزادی آدرنال	AR	اسکیموهای یوپیک	آنفلوآنزا B
دیابت تیپ ۲	AD	سرخپوستان پریما و سایرین	گرسنگی‌های دوره‌ای
فنیل کتونوری	AR	اروپای غربی	کاهش سقط‌های خودبخودی

AR : آتوزوم مغلوب، XLR : وابسته به X مغلوب، AD : آتوزوم غالب، G6PD : نقص گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز

آنالیز تفکیک

آنالیز تفکیک (Segregation Analysis) به مطالعهٔ الگوی انتقال یک بیماری در خانواده‌ها اشاره می‌کند، به‌طوری که بتوان الگوی توارث آن را مشخص نمود. جنبه محاسباتی آنالیز تفکیک بسیار پیچیده بوده و از محدودهٔ این کتاب و حیطه عمل بسیاری از دکترها! خارج است. با این حال حائز اهمیت است، کسانی که با خانواده‌های دارای بیماری‌های ژنتیکی مواجه می‌شوند با برخی از اصول مربوطه آشنائی داشته و از بعضی مشکلات و مسائل، آگاهی داشته باشند.

توارث آتوزوم غالب

در مورد یک بیماری AD ساده‌ترین روش، مقایسه تعداد موارد مشاهده شدهٔ فرزندان مبتلا از والدین مبتلا با آنچه که براساس نفوذپذیری بیماری پیش‌بینی می‌شود (یا به عبارتی ۵۰٪ در صورتی که نفوذپذیری کامل باشد)، است. یک آزمون χ^2 می‌تواند به‌کار برود تا مشخص گردد آیا تعداد موارد مشاهده و مورد انتظار خیلی با هم تفاوت دارند یا خیر. باید دقت شود با حذف والدینی که توسط فرزند مبتلایشان شناسائی شده‌اند، انحرافی در محاسبات وارد نشود.

توارث آتوزوم مغلوب

در مورد بیماری‌هائی که از الگوی توارث AR پیروی می‌کنند، آنالیز تفکیک رسمی بسیار مشکل‌تر می‌باشد. زیرا برخی زوج‌هائی که هر دو ناقل بوده، اما برحسب اتفاق هیچ فرزند مبتلائی ندارند، در محاسبات وارد نشده‌اند. برای توضیح این مورد، ۶۴ گروه خواهر ـ برادری (Sibships) را با تعداد ۳ نفر که والدین آنها هر دو ناقلند، از یک جمعیت بزرگ فرضی، در نظر بگیرید (جدول ۵–۸). ساختار خواهر ـ برادرهای نشان داده شده در جدول ۵–۸ مواردی می‌باشند که به‌صورت میانگین پیش‌بینی شده‌اند. در این جمعیت به‌طور متوسط از ۶۴ رابطه خواهر ـ برادرها ۲۷ مورد هیچ فرد مبتلائی را در بر نمی‌گیرند.

این مورد را به راحتی با به توان سوم رساندن (۳/۴) (یا به عبارتی ۲۷/۶۴ = ۳/۴ × ۳/۴ × ۳/۴) می‌توان محاسبه کرد. بنابراین وقتی خانواده‌ها بررسی می‌شوند، این ۲۷ مورد خواهر ـ برادرها که فقط در برگیرندهٔ افراد سالم می‌باشند در محاسبات آورده نمی‌شوند و اصطلاحاً به این حالت **ارزیابی ناقص** (incomplete ascertainment) گفته می‌شود. اگر این مورد در نظر گرفته نشود، یک نسبت تفکیک کاذب زیاد ۰/۴۳ به جای ۰/۲۵ به دست خواهد آمد.

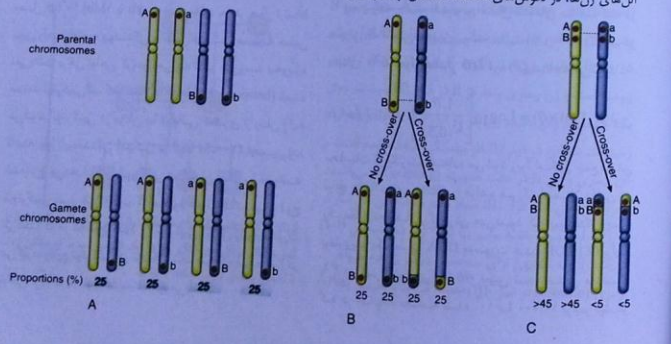
جدول ۵–۸ ساختار مورد انتظار خواهر ـ برادرها در یک جمعیت فرضی که حاوی ٦٤ گروه خواهر ـ برادری و هر کدام با ۳ نفر می‌باشد که والدین آنها هر دو ناقل یک بیماری آتوزوم مغلوب هستند. اگر به ارزیابی ناقص توجه نشود، به‌طوری که ۲۷ مورد خواهر ـ برادرها (بدون فردی بیمار) در محاسبات وارد نشوند، آنگاه یک نسبت تفکیک کاذب زیاد (۰/۴۳ = ۴۸/۱۱۱) بدست خواهد آمد.

تعداد افراد مبتلا در رابطه خواهر ـ برادرها	ساختار رابطه خواهر ـ برادرها	تعداد روابط خواهر ـ برادرها	تعداد افراد مبتلا	کل تعداد افراد در ساختار خواهر ـ برادری
۳	■■■	۱	۳	۳
۲	□□■	۳	۶	۹
	□■■	۳	۶	۹
	■□■	۳	۶	۹
۱	■□□	۹	۹	۲۷
	□■□	۹	۹	۲۷
	□□■	۹	۹	۲۷
۰	□□□	۲۷	۰	۸۱
جمع کل		۶۴	۴۸	۱۹۲

روش‌های محاسباتی برای لحاظ‌کردن «ارزیابی ناقص» ابداع شده‌اند، اما آنالیز معمولاً به دلیل مشکلات بیشتر در دستیابی به یک ارزیابی کامل یا دقیق، پیچیده‌تر می‌گردد. در عمل «اثبات» الگوی توارث AR در تشخیص حاملین نیاز به مارکرهای ملکولی یا بیوشیمیایی دقیق دارد. خواهر ـ برادرهای مبتلا (بخصوص اگر حداقل یکی از آنها زن باشد) که از والدین سالم متولد شده‌اند، معمولاً الگوی توارث AR را پیشنهاد می‌کنند، اما احتمال موزائیسم سوماتیکی و ردهٔ زایشی، عدم رابطه ابوّت (پدر ـ فرزندی) و نیز سایر احتمالات لازم است در نظر گرفته شوند. چند مثال خوب از بیماری‌هائی وجود دارد که در ابتدا با الگوی توارث AR گزارش شدند، اما بعداً مشخص شد که همراه با موزائیسم سوماتیکی یا رده زایشی، غالب می‌باشند (مثلاً استئوژنز ایمپرفکتا و آکندروپلازی کاذب). با این حال میزان بروز بالای ازدواج‌های خویشاوندی بدون شک شواهدی را در حمایت از الگوی توارث آتوزوم مغلوب (AR) فراهم می‌کند، همانطور که اولین بار توسط باتسون و گارود در سال ۱۹۰۲ اشاره شد.

پیوستگی ژنتیکی (Genetic Linkage)

قانون سوم مندل ـ اصل جور شدن مستقل صفات ـ بیان می‌کند اعضاء جفت ژن‌های متفاوت به‌طور مستقل از هم در گامت‌ها جفت و جور می‌شوند (یا همایش می‌یابند). با بیان ساده‌تر آلل‌های ژن‌ها، در لکوس‌های مختلف، مستقل از هم تفکیک می‌شوند. اگرچه این مورد برای ژن‌های واقع بر کروموزوم‌های متفاوت صدق می‌کند، همیشه در مورد ژن‌های واقع در بر روی یک کروموزوم یکسان صحیح نمی‌باشد (یا به عبارتی در مورد ژن‌هائی که در نزدیکی هم قرار داشته یا با هم سین‌تنیک (Syntenic) می‌باشند). دو لکوس مجاور هم یا نزدیک هم بر روی یک کروموزوم یکسان تمایل دارند با هم به ارث برسند و اصطلاحاً گفته می‌شود به هم **پیوسته (Linked)** می‌باشند. هر چه دو لکوس به هم نزدیک‌تر باشند، با احتمال کمتری توسط کراسینگ‌اور یا نوترکیبی طی میوز I از همدیگر جدا خواهند شد (شکل ۵–۸). آلل‌های به هم پیوسته بر روی یک کروموزوم یکسان به عنوان **همبسته** (Coupling) در نظر گرفته شده، در حالی که آلل‌های متفاوت واقع بر روی کروموزوم‌های همولوگ گفته می‌شود **متضاد** (Repulsion) می‌باشند. این حالت به عنوان **فاز پیوستگی** (Linkage phase) شناخته می‌شود. بنابراین در کروموزوم‌های والدی در شکل (C ، ۵–۸) آلل‌های A و B همانند a و b همبسته بوده در حالی که آلل‌های A و b همانند a و B متضاد هم می‌باشند.



شکل ۵–۸: تفکیک آلل‌های دو لکوس در میوز. **A**، لکوس‌ها بر روی کروموزوم‌های متفاوتند و در **B**، آنها بر روی یک کروموزوم یکسانند اما با فاصله زیادی از هم قرار دارند. این لکوس‌ها به هم پیوسته نبوده و به‌طور مستقل از هم تفکیک می‌شوند. در **C**، لکوس‌ها در نزدیکی هم قرار دارند، پس جدا شدن آنها توسط کراسینگ‌اور بعید است (لکوس‌ها به هم پیوسته‌اند) (شکل زیر).

کسر نوترکیبی

کسر نوترکیبی (Recombination Fraction) معمولاً به صورت θ (حرف یونانی تتا) نشان داده شده و مقیاسی از فاصله بین دو لکوس است، یا به عبارتی دقیق‌تر شاخصی از احتمال اینکه بین آنها کراسینگ‌اور رخ دهد، می‌باشد. اگر دو لکوس به هم پیوسته نباشند، آنگاه θ برابر 0.5 است، زیرا به‌طور متوسط ژن‌ها در لکوس‌های ناپیوسته در ۵۰٪ تمام میوزها با هم تفکیک می‌شوند. اگر θ = ۰/۵ باشد به این معناست که به‌طور میانگین آلل‌های سین‌تنیک در ۱۹/۳۰ موارد با هم تفکیک می‌شوند (یا به عبارتی به‌طور متوسط فقط در ۱/۳۰ میوزها بین آنها کراسینگ‌اور رخ می‌دهد).

سانتی‌مورگان

واحد اندازه‌گیری برای پیوستگی ژنتیکی به عنوان **واحد نقشه یا سانتی‌مورگان (cM)** شناخته می‌شود. اگر دو لکوس ۱cM از هم فاصله داشته باشند، به‌طور میانگین یک کراسینگ‌اور در هر ۱۰۰ میوز بین آنها رخ می‌دهد (یا به عبارتی ۰/۰۱ = θ). سانتی‌مورگان مقیاس فاصله ژنتیکی یا پیوستگی بین دو لکوس می‌باشد. این فاصله با فاصله فیزیکی که در مقیاس جفت باز اندازه‌گیری می‌شود یکسان نمی‌باشد [kb : کیلو باز معادل ۱۰۰۰ جفت باز (bp) – Mb : مگاباز معادل ۱,۰۰۰,۰۰۰ جفت باز (bp)].

با مطالعات نوترکیبی تخمین زده شده که ژنوم انسان در مردان در حدود ۳۰۰۰ cM طول دارد. از آنجا که طول فیزیکی ژنوم هاپلوئیدی انسان تقریباً 3×10^9 bp است، ۱cM تقریباً معادل 10^6 bp (۱Mb یا ۱۰۰۰kb) می‌باشد. به هر حال ارتباط بین واحد نقشه پیوستگی و طول فیزیکی همیشه خطی نمی‌باشد. برخی نواحی کروموزومی به نظر می‌رسد به‌ویژه مستعد نوترکیبی‌اند، که اصطلاحاً **نقاط داغ** (hotspots) نامیده می‌شوند. نوترکیبی در مردان با فراوانی کمتری از زنان (که فاصله طول پیوستگی ژنتیکی در آنها ۴۲۰۰cM تخمین زده شده) رخ می‌دهد. به طور کلی در انسان یک یا دو واقعه نوترکیبی بین هر جفت کروموزوم هومولوگ در میوز I رخ می‌دهد، که در مجموع حدود ۴۰ نوترکیبی در کل ژنوم صورت می‌گیرد. وقایع نوترکیبی در نزدیکی سانترومر نادر بوده، اما در نواحی نزدیک به تلومرها نسبتاً شایع می‌باشند.

آنالیز پیوستگی

ثابت شده که آنالیز پیوستگی (Linkage Analysis) در نقشه‌برداری ژنی ارزشمند بوده است (به فصل ۵ مراجعه شود). این آنالیز بر پایه مطالعه تفکیک بیماری همراه با مارکرهای پلی‌مورفیک در هر کروموزوم ـ ترجیحاً در خانواده‌های بزرگ ـ می‌باشد. در نهایت یک مارکر مشخص خواهد شد که همراه با بیماری بیش از آنچه مورد انتظار است، همزمان تفکیک (Co-segregate) می‌گردد (یا به عبارتی لکوس بیماری و مارکر به‌هم پیوسته‌اند). آنالیز ریاضی نسبتاً پیچیده بوده، به خصوص اگر تعداد زیادی مارکرهای مجاور و نزدیک هم، همانند **آنالیز پیوستگی چند نقطه‌ای** (Multipoint Linkage Analysis)، مورد استفاده قرار گیرند. با این حال، اصل پایه‌ای آن نسبتاً مستقیم بوده و شامل استفاده از نسبت‌های احتمال است، لگاریتمی که به‌عنوان مقادیر LOD (لگاریتم احتمالات: logarithm of odds) شناخته می‌شود.

مقادیر LOD

در هنگام مطالعه تفکیک آلل‌ها در دو لکوس که می‌توانند به هم پیوسته باشند، مجموعه‌ای از نسبت‌های احتمالات را می‌توان برای مقادیر متفاوتی از کسر نوترکیبی (θ) [محدوده‌ای از ۰ = θ تا ۰/۵ = θ] محاسبه کرد. نسبت احتمالات در یک مقدار مورد نظر از θ برابر است با: احتمال داده‌های مشاهده شده در حالتی که لکوس‌ها با مقدار نوترکیبی θ بهم پیوسته باشند، تقسیم بر احتمال داده‌های مشاهده شده در صورتی که لکوس‌ها بهم پیوسته نباشند (۰/۵ = θ). لگاریتم در مبنای ۱۰ به عنوان **مقدار LOD** یا (Z) شناخته می‌شود - به عبارت دیگر $\mathrm{LOD}(\theta) = \mathrm{Log}_{10}\left[\frac{L\theta}{L_{(0.5)}}\right]$. در این محاسبات از لگاریتم استفاده می‌شود زیرا امکان جمع‌بستن نتایج خانواده‌های مختلف را فراهم می‌کند. مثلاً وقتی در یک مقاله تحقیقاتی گزارش می‌شود که پیوستگی یک بیماری با یک مارکر DNA به‌صورت عدد LOD (Z) برابر با ۴ در کسر نوترکیبی (θ) ۰/۵ تعیین شده، بدین معناست که در خانوادهٔ مطالعه شده 10^4 یا ۱۰,۰۰۰ برابر بیشتر

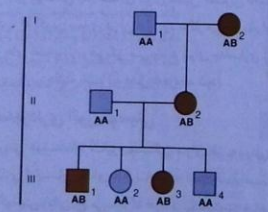
احتمال دارد که لکوس‌های بیماری و مارکر پیوستگی نزدیک داشته باشند (یعنی 5cM از هم فاصله داشته باشند)، نسبت به اینکه با هم پیوسته نباشند. توافق عمومی بر این است که مقدار LOD برابر با ۳+ و بیشتر را تأییدی بر پیوستگی در نظر بگیرند. این مقدار با نسبت ۱۰۰۰ به ۱ به نفع پیوستگی است، با این حال از آنجا که یک احتمال پیشین وجود دارد که تنها به احتمال ۱/۵۰ دو لکوس مشخص با هم پیوسته باشند، یک مقدار۳+ = LOD به این معناست که احتمال کلی آنکه دو لکوس بهم پیوسته باشند تقریباً ۲۰ به ۱ است (یا به عبارتی ۱: $\left[\frac{1}{50}\times1000\right]$ می‌باشد). اهمیت در نظر گرفتن احتمالات پیشین در تئوری احتمالات در بخش تئوری بیز (Bayes') بحث شده است.

یک مثال ساده

یک خانواده با سه نسل را در نظر بگیرید که چندین عضو آن یک بیماری AD دارند (شکل ۶-۸). آلل‌های A و B در لکوسی می‌باشند که جهت پیوستگی با لکوس بیماری، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. برای تعیین آنکه احتمالاً این دو لکوس پیوسته باشند یا نباشند عدد LOD برای مقادیر متفاوت θ محاسبه می‌شود. مقدار θ که بیشترین عدد LOD را نتیجه می‌دهد، به عنوان بهترین تخمین کسر نوترکیبی در نظر گرفته می‌شود. این مورد به عنوان یک روش تعیین **حداکثر احتمال** (maximum likelihood) نامیده می‌شود. برای مشخص‌ساختن اصل زیربنائی آن، مقدار LOD را برای ۰/۰۵ = θ محاسبه می کنیم. اگر ۰/۰۵ = θ باشد، آنگاه لکوس پیوسته است و ژن بیماری و مارکر B در فرد II2 باید بر روی یک کروموزوم واقع باشند، زیرا هر دو این صفات از مادر به ارث رسیده‌اند. بنابراین در فرد II2 فاز پیوستگی شناخته شده است و آلل بیماری و آلل B در حالت همبسته (Coupling) می‌باشند. بنابراین احتمال آنکه فرد III1 مبتلا باشد و همچنین آلل مارکر B را به ارث برده باشد برابر با ۰/۹۵ (یا به عبارتی θ=1) می‌باشد. نتیجه مشابهی برای سه عضو دیگر رابطه خواهر - برادری (Sibship) در نسل III به‌دست می‌آید و مقدار $(0/95)^4$ را در صورت کسر نتیجه می‌دهد. اگر لکوس‌ها به هم پیوسته نباشند احتمال مشاهده هر دو آلل بیماری و مارکر B در فرد III1 برابر با ۰/۵ خواهد بود. نتیجه مشابهی برای سه خواهر - برادر او به دست می‌آید و مقدار $(0/5)^4$ را در مخرج کسر نتیجه می‌دهد.

بنابراین عدد LOD برای این خانواده، با مقدار ۰/۰۵ = θ، برابر با ۱/۱۲ = $\mathrm{Log}_{10}\frac{(0/95)^4}{(0/5)^4}$ = ۱۳/۰۳۲ Log_{10} خواهد بود. برای ۰ = θ، مقدار LOD برابر با ۱/۲۰ = Log_{10} ۱۶ خواهد شد. برای ۱ = θ، مقدار LOD برابر با $\mathrm{Log}_{10}\frac{(1)^4}{(0/5)^4}$ = ۱/۰۲ $\mathrm{Log}_{10}\frac{(0/9)^4}{(0/5)^4}$ = ۱۰/۴۹۸ Log_{10} خواهد بود. بیشترین مقدار LOD برای ۰ = θ به‌دست می‌آید که مطابق این حقیقت است، که اگر لکوس‌های بیماری و مارکر بهم پیوسته باشند، آنگاه هیچ نوترکیبی‌ای بین دو لکوس در اعضاء نسل III رخ نمی‌دهد.

جهت تأیید پیوستگی سایر خانواده‌ها، با جمع‌بندی همهٔ نتایج، مطالعه انجام می‌شود تا مقدار ۳+ = LOD و یا بیشتر به دست آید. یک مقدار ۲- = LOD یا کمتر به عنوان تأییدی بر پیوسته‌نبودن لکوس‌ها در نظر گرفته می‌شود. این تأیید نه چندان دقیق برای عدم پیوستگی (یا به عبارتی مقدار ۲- = LOD در مقایسه با ۳+ که تأییدی بر پیوستگی است)، به دلیل احتمال پیشین زیاد $\frac{49}{50}$ برای عدم پیوستگی دو لکوس می‌باشد.



شکل ۶-۸: شجره‌نامه با سه نسل، نمایانگر تفکیک یک بیماری اتوزوم غالب و آلل‌های (B و A) در یک لکوس است، که ممکن است یا لکوس بیماری پیوسته باشد یا نباشد.

آنالیز پیوستگی چند نقطه‌ای (Multipoint Linkage Analysis)

آنالیز پیوستگی دو نقطه‌ای اغلب برای نقشه‌برداری یک لکوس بیماری در یک ناحیه کروموزومی خاص به‌کار می‌رود. این روش به‌صورت تقریبی یا حدودی شاخصی از موقعیت لکوس بیماری را نشان می‌دهد. مرحله بعدی اغلب شامل آنالیز پیوستگی چند نقطه‌ای با استفاده از مجموعه‌ای از مارکرهای پلی‌مورفیک است، که در ناحیه آلل بیماری نقشه‌برداری شده‌اند. این فرآیند امکان تعیین دقیق موقعیت احتمالی لکوس بیماری را درون فواصل تقریبی تعیین شده، توسط تعداد کمی از لکوس‌های مارکرهای پلی‌مورفیک، فراهم می‌کند.

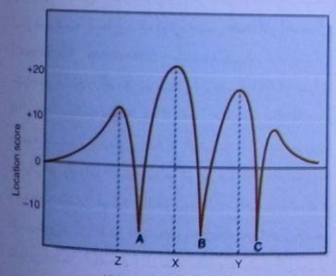
با استفاده از این روش، نتایج مطالعات پیوستگی با مارکرهای مختلف در یک برنامه کامپیوتری بررسی می‌شوند و احتمال کلی موقعیت لکوس بیماری را در ارتباط با لکوس‌های مارکر محاسبه می‌کند. نتایج به شکل نسبت احتمالات نشان داده می‌شود که **عدد موقعیت** (Location Score) نامیده می‌شود. این مقدار برای موقعیت‌های متفاوت لکوس بیماری محاسبه شده و یک نمودار از عدد موقعیت در مقابل فاصله نقشه، رسم می‌شود (شکل ۷-۸). در این نمودار قله‌ها نمایانگر موقعیت احتمالی لکوس بیماری است، که بلندترین قله محتمل‌ترین موقعیت می‌باشد. فرورفتگی‌های بین دو قله نشانگر موقعیت‌های مارکرهای پلی‌مورفیک می‌باشند.

آنالیز پیوستگی چند نقطه‌ای برای تعیین کمترین فاصله ممکن، که لکوس بیماری در آن قرار دارد به‌کار می‌رود، بنابراین روش‌های نقشه‌برداری فیزیکی می‌توانند برای جداسازی ژن بیماری کاربرد داشته باشند (به فصل ۵ مراجعه شود).

نقشه‌برداری اتوزیگوسیتی

این روش هوشمندانه آنالیز پیوستگی، برای نقشه‌برداری بسیاری از بیماری‌های AR نادر به کار رفته است. اتوزیگوسیتی زمانی رخ می‌دهد که افراد در یک لکوس خاص در اثر داشتن یک جد مشترک، هموزیگوت باشند. در یک شجره‌نامه با ازدواج‌های خویشاوندی (درون‌آمیزی) شامل دو یا چند بچه با یک بیماری AR نادر، خیلی محتمل است که بچه‌ها نه تنها در لکوس بیماری بلکه در یک لکوس پیوسته نزدیک به آن نیز هموزیگوت باشند. به بیان دیگر تمام افراد مبتلا در یک خانواده با ازدواج خویشاوندی (درون‌آمیزی) برای مارکرهای درون ناحیهٔ پیرامون لکوس بیماری هموزیگوت خواهند بود. پس نواحی مشترک هموزیگوسیتی در خویشاوندان مبتلا، با استفاده از مارکرهای بسیار پلی‌مورفیک مثل میکروساتلیت‌ها مورد جستجو قرار می‌گیرند. در شجره‌نامه‌ای با تعداد نسبتاً زیاد افراد مبتلا، تنها تعداد کمی از نواحی هموزیگوت مشترک تعیین خواهند شد، که سپس با استفاده از استراتژی‌های نقشه‌برداری فیزیکی قابل جداسازی می‌باشند.

نقشه‌برداری اتوزیگوسیتی (Autozygosity mapping) را می‌توان در مورد خانواده‌های درون‌آمیز کوچک (با ازدواج‌های خویشاوندی) (شکل ۸-۸) و نیز در ایزوله‌های ژنتیکی با یک جد ژنتیکی مشترک (مثل گروه جمعیتی Old Order Amish)، به کار برد. این یک تکنیک به‌ویژه قدرتمند در خانواده‌های بزرگ با ازدواج‌های خویشاوندی است که در آنها بیش از یک شاخه (انشعاب) در شجره‌نامه دارای افراد مبتلا می‌باشد. چندین ژن که موجب ناشنوائی حسی ـ عصبی AR می‌شوند، به این روش نقشه‌برداری شده‌اند. همانطور که برای مثال در مورد تعدادی از دیسپلازی‌های اسکلتی و میکروسفالی‌های اولیه انجام شد.

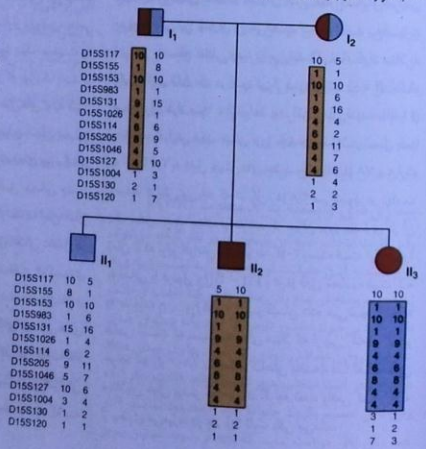


شکل ۷-۸: آنالیز پیوستگی چند نقطه‌ای. A ، B و C نشان‌دهندهٔ ارتباط پیوستگی سه لکوس مارکرهای پلی‌مورفیک می‌باشند. X ، Y و Z ترتیب احتمالات موقعیت‌های ممکن لکوس بیماری می‌باشند.

عدم تعادل پیوستگی (Linkage Disequilibrium)

عدم تعادل پیوستگی به عنوان همراهی دو آلل در یک لکوس پیوسته با فراوانی بیشتر از مقدار مورد انتظار، تعریف می‌گردد و به آن **همراهی آللی** (allelic association) نیز می‌گویند. این مفهوم و اصطلاح بیشتر در ارتباط با مطالعه بیماری در **جمعیت‌ها** است تا در **خانواده‌ها**. در مورد خانواده‌ها، همراهی بین آلل‌های خاص و بیماری‌های مورد بررسی، تنها در مورد یک خانواده منفرد صحیح است و در یک خانوادهٔ مبتلای مجزا، الگوی متفاوتی از آلل‌ها یا مارکرها در همان لکوس با بیماری همراهی نشان می‌دهند ـ زیرا خود آلل‌ها نیز **پلی‌مورفیک** می‌باشند. منطق مطالعه همراهی آللی در جمعیت‌ها، براساس این فرض است که یک جهش در فرد مؤسس (founder) چندین نسل قبل رخ داده است و هنوز این جهش عامل بیماری است. اگر چنین موردی حقیقت داشته باشد الگوی مارکرها در ناحیهٔ کوچکی در نزدیک ژن جهش یافته حفظ شده‌اند که اصطلاحاً به آن **هاپلوتیپ مؤسس** (founder Haplotype) می‌گویند. اصول بنیادین به‌کار رفته در نقشه‌برداری، مشابه موارد آنالیز پیوستگی در خانواده‌ها است و تفاوت در درجه خویشاوندی افراد مورد مطالعه می‌باشد. در شجره‌نامه نشان داده شده در شکل ۶-۸ تأییدی بر پیوستگی ژن بیماری با آلل مارکر B به دست آمد. فرض کنید مطالعات بیشتر، پیوستگی این لکوس‌ها و اینکه فراوانی آلل‌های A و B با هم برابر و معادل ۰/۵ می‌باشد را تأیید کرده‌اند. منطقی است که انتظار داشته باشیم ژن بیماری با آلل A در حدود ۵۰٪ خانواده‌ها و با آلل B در بقیه موارد (۵۰٪ باقیمانده) به صورت همبسته (Coupling) باشند. به هر حال، اگر آلل بیماری منحصراً با یک آلل مارکر خاص به صورت همبسته (Coupling) باشد، این مورد مثالی از عدم تعادل پیوستگی است.

تعیین عدم تعادل پیوستگی در یک بیماری خاص پیشنهاد می‌کند که جهش عامل بیماری اخیراً اتفاق افتاده و لکوس مارکر مورد مطالعه در پیوستگی نزدیک با لکوس بیماری است. با این حال ممکن است مشکلاتی در تفسیر داده‌های هاپلوتیپ‌ها، که عدم تعادل پیوستگی را پیشنهاد می‌کنند، وجود داشته باشد. سایر دلائل عدم تعادل پیوستگی شامل موارد زیر می‌باشند: ۱) رشد سریع جمعیت‌های ایزوله ژنتیکی که منجر به همراهی‌های آللی در بخش‌های زیادی در کل ژنوم می‌شود. ۲) انتخاب به‌صورتی که آلل‌های خاصی قدرت بقاء و تولید مثل



شکل ۸-۸: نقشه‌برداری اتوزیگوسیتی در یک خانواده با بیماری تشکیل استخوان‌های مهره‌ای ـ دنده‌ای (Spondylocostal dysostosis)، پدر فرد I_1، برادر پدربزرگ فرد I_2 است. ناحیه هموزیگوسیتی توسط مارکرهای D15S155 و D15S127 تعیین شده است. بعداً مشخص شد که جهش در ژن *MESP2* علت بیماری در این شجره‌نامه است.

را افزایش یا کاهش دهند. ۳) مخلوط‌شدن جمعیت‌ها به‌طوری که زیر گروه‌های جمعیتی با الگوهای متفاوت فراوانی‌های آللی، در یک مطالعه منفرد با هم ترکیب شده باشند. برای بررسی مشکل سوم می‌توان از کنترل‌های بر پایه خانواده‌ها و آنالیز انتقال آل‌ها با استفاده از روشی به نام **آزمون عدم تعادل / انتقال** (Transmission/ disequilibrium test) بهره برد. آزمون مربوطه از این حقیقت استفاده می‌کند که آل‌های منتقل شده و منتقل نشده از یک والد مشخص، مشاهداتی دو تائی بوده و انتقال ترجیحی یک آل را نسبت به سایر آل‌ها در همهٔ والدین هتروزیگوت بررسی می‌کند. در بین سایر روش‌ها، این روش برای مطالعه جفت‌های خواهر ـ برادرها (Sibling pairs) که برای بیماری و یا صفت مورد مطالعه ناهماهنگ بودند، به‌کار رفته است.

مداخله‌های پزشکی و اجتماعی

پیشرفت‌های اخیر در زیست‌شناسی ملکولی مثل پروژه ژنوم انسان و مطالعات مقدماتی با استفاده از ژن درمانی، باعث ایجاد نگرانی‌هائی شده‌اند که نسل‌های آینده باید بتوانند از عهدهٔ بیماری‌های ژنتیکی بیشتری برآیند. اصطلاح **یوژنیک** (eugenics) اولین بار توسط کازین چارلز داروین، یعنی فرانسیس گالتون مطرح شد و به بهبود یک جمعیت با آمیزش‌های انتخابی گفته می‌شود. این مورد که یوژنیک باید در جمعیت‌های انسانی به کار گرفته شود، طی سال‌های اولیه قرن بیستم مقبول بود و در اعمال وحشیانه نازی‌های آلمان به اوج خود رسید. نفرت ایجاد شده موجب توقف برنامه‌های یوژنیک در مورد انسان‌ها شد و با محکوم‌سازی و توافق جهانی چنین برنامه‌هائی هیچ جائی در پزشکی پیشرفته ندارند. با این حال به‌طور غم‌انگیزی این برنامه‌ها توسط گروه‌های دخیل در درگیری‌های منطقه‌ای ادامه یافته و به آن اصطلاح «پاکسازی نژادی» (ethnic cleansing) را می‌دهند.

پزشکانی که به بیماران و خانواده‌های دارای بیماری‌های توارثی اهمیت می‌دهند، اولویت را در درمان و افزایش قدرت بقاء می‌دانند. بنابراین ممکن است قدرت بقاء و تولید مثلی افزایش یافته، منجر به افزایش تعداد «ژن‌های بد» در جامعه شود که به صورت بالقوه اثرات نامطلوبی را به بار ژنتیکی نسل‌های آینده بشر اضافه می‌کند. چنین پیامدهای بلندمدتی معمولاً در نظر گرفته نشده و این مورد گاهی به عنوان **دیسژنیک** (dysgenic) تفسیر می‌گردد. بحث‌های اخلاقی مهم هستند، اما در نظر گرفتن اثرات بلندمدت انتخاب مصنوعی موافق یا مخالف بیماری‌های ژنتیکی مطابق با الگوهای توارث آنها ارزشمند می‌باشند.

بیماری‌های آتوزوم غالب (AD)

اگر هر فرد مبتلا به بیماری آتوزوم غالب (AD) با موفقیت ترغیب شود که بچه‌دار نشود، میزان بروز بیماری به سرعت کاهش یافته و تمام موارد جدید در آینده فقط نتیجهٔ جهش‌های جدید می‌باشند. این مورد یک اثر به‌خصوص و قابل توجه در میزان بروز بیماری‌های نسبتاً خفیف مثل هایپرکلسترولمیای فامیلی دارد که قدرت بقاء ژنتیکی نزدیک به ۱ می‌باشد.

از طرف دیگر اگر درمان موفقیت‌آمیز برای همهٔ بیماران مبتلا به یک بیماری AD جدی که همراه با کاهش قابل توجه قدرت بقاء ژنتیکی است در دسترس قرار گیرد، آنگاه افزایش سریع فراوانی ژن بیماری رخ می‌دهد، که در ادامه به‌صورت تدریجی به سطح تعادلی جدیدی می‌رسد. اگر تمام افراد مبتلا به یک بیماری AD حاد در کودکی از بین بروند ($f = 0$)، آنگاه میزان بروز افراد مبتلا 2μ خواهد بود. اگر درمان قدرت بقاء را از ۰ به ۰/۹ افزایش دهد، میزان بروز بچه‌های مبتلا در نسل بعد به اندازهٔ 2μ به دلیل جهش‌های جدید به اضافه $1/8\,\mu$ به ارث رسیده، افزایش می‌یابد که در کل $3/8\,\mu$ می‌شود. در نهایت یک تعادل جدید ایجاد خواهد شد که میزان بروز بیماری در آن زمان تا ده برابر افزایش یافته و به 20μ رسیده است. این مورد به آسانی با فرمول $\mu = [\,I\,(1-f)]/2$ قابل محاسبه است که به صورت $I = 2\mu/(1-f)$ نیز نشان داده می‌شود. نتیجه خالص اینست که نسبت بچه‌های مبتلا که از بین رفته‌اند کمتر خواهد شد (از ۱۰۰٪ به ۱۰٪ کاهش یافته)، اما تعداد کلی مبتلایان خیلی بیشتر خواهد بود. اگرچه تعداد واقعی کسانی که از بیماری می‌میرند در حد 2μ ثابت باقی می‌ماند.

بیماری‌های آتوزوم مغلوب (AR)

برخلاف بیماری‌های AD ، انتخاب مصنوعی علیه بیماری‌های AR تنها اثر بسیار آهسته‌ای خواهد داشت. دلیل این تفاوت آنست که در بیماری‌های AR اکثر ژن‌ها در جمعیت، در هتروزیگوت‌های سالم حضور دارند که تحت تأثیر مسائل یوژنیک قرار نمی‌گیرند. نشان داده شده که اگر انتخاب کاملی علیه یک بیماری AR وجود داشته باشد به‌طوری که هیچ هموزیگوتی تولیدمثل نکند، تعداد نسل‌های مورد نیاز (n) برای آنکه فراوانی آللی از q_0 به q_n تغییر یابد برابر است با $\frac{1}{q_n} = \frac{1}{q_0}$. پس در مورد بیماری‌ای با میزان بروز تقریبی ۱ در ۲۰۰۰ و فراوانی آللی تقریبی ۱ در ۴۵، اگر تمام بیماران از تولید مثل خودداری کنند، آنگاه بیش از ۵۰۰ سال (۱۸ نسل) زمان لازم است تا میزان بروز بیماری به نصف کاهش یافته و بیش از ۱۲۰۰ سال (۴۵ نسل) زمان لازم است تا فراوانی ژنی به نصف برسد البته با فرض اینکه هر نسل به‌طور متوسط ۲۷ سال باشد.

اکنون وضعیت مخالف آن را در نظر بگیرید، وقتی که اثر انتخاب علیه یک بیماری AR حاد، به دلیل پیشرفت‌های درمان‌های پزشکی کاهش یابد. افراد مبتلای بیشتری به سن بزرگسالی رسیده و آل جهش یافته را به فرزندانشان منتقل می‌کنند. نتیجه آنست که فراوانی آلل جهش یافته تا زمانی که به یک تعادل جدید برسد، افزایش پیدا می‌کند. با استفاده از فرمول $\mu = I\,(1-f)$ می‌توان نشان داد که وقتی در نهایت تعادل جدید ایجاد شود، افزایش قدرت بقاء از ۰ به ۰/۹ منجر به افزایش ده برابری میزان بروز بیماری می‌گردد.

بیماری‌های وابسته به X مغلوب (XLR)

وقتی اثرات انتخاب علیه این بیماری‌ها در نظر گرفته می‌شوند، لازم است به این حقیقت توجه شود که نسبت زیادی از ژن‌های مربوطه در تمام زنان سالم ناقل که اغلب از حالت ناقلی خود بی‌خبرند، حضور دارند. در مورد یک بیماری جدی مثل دیستروفی عضلانی دوشن که قدرت بقاء در مردان مبتلا برابر با صفر است انتخاب هیچ اثری نخواهد داشت، مگر آنکه زنان ناقل تصمیم بگیرند خانوادهٔ خود را محدود نمایند. اگر همهٔ زنان ناقل موافقت نمایند که بچه‌دار نشوند، میزان بروز بیماری به اندازهٔ ۲/۳ کاهش می‌یابد (یا به عبارتی از 3μ به μ می‌رسد).

احتمال توجیه‌پذیر دیگر اینست که درمان مؤثر به زودی برای این بیماری‌ها فراهم شود. این حالت موجب افزایش یکنواخت میزان بروز بیماری می‌شود. مثلاً افزایش قدرت بقاء از ۰ تا ۰/۵ منجر به دوبرابر شدن میزان بروز بیماری همزمان با ایجاد یک تعادل جدید می‌گردد. این مقدار را می‌توان با استفاده از فرمول $\mu = [I^M(1-F)]/3$ محاسبه کرد.

نتیجه‌گیری

در حقیقت پیش‌بینی اثرات بلندمدت مداخله‌های پزشکی بر میزان بروز و بار بیماری‌های ژنتیکی، بسیار مشکل است. اگرچه پیشرفت‌های درمان‌های پزشکی می‌توانند منجر به افزایش بار ژنتیکی در نسل‌های آینده شوند. به همان اندازه احتمال دارد که ژن درمانی موفقیت‌آمیز، بار کلی این بیماری‌ها را از لحاظ رنج‌های انسانی کاهش دهد. بعضی از این بحث‌ها در رابطه با سایر پیشرفت‌های عمدهٔ پزشکی، در سال‌های گذشته مطرح شده‌اند، مثل کشف انسولین و آنتی‌بیوتیک‌ها که مسائل مهالی قابل توجهی را در ارتباط با صنعت داروئی و افزایش سن جمعیت به دنبال داشته‌اند. در نهایت اینکه چگونه جامعه‌ای بتواند با این پیشرفت‌ها و چالش‌ها کنار بیاید، شاخصی از تمدن می‌باشد.

مطالعات بیشتر

Allison AC 1954 Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. BMJ i:290-294

A landmark paper providing clear evidence that the sickle-cell trait provides protection against parasitemia by falciparum malaria.

Emery AEH 1986 Methodology in medical genetics, 2nd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone

A useful handbook of basic population genetics and mathematical methods for analyzing the results of genetic studies.

Francomano CA, McKusick VA, Biesecker LG, eds 2003 Medical genetic studies in the Amish: historical perspective. Am J Med Genet C Semin Med Genet 121:1-4

Haldane JBS 1935 The rate of spontaneous mutation of a human gene. J Genet 31:317-326
The first estimate of the mutation rate for hemophilia using an indirect method.

Hardy GH 1908 Mendelian proportions in a mixed population. Science 28:49-50
A short letter in which Hardy pointed out that in a large randomly mating population dominant 'characters' would not increase at the expense of recessives.

Khoury MJ, Beaty TH, Cohen BH 1993 Fundamentals of genetic epidemiology. New York: Oxford University Press
A comprehensive textbook of population genetics and its areas of overlap with epidemiology.

Ott J 1991 Analysis of human genetic linkage. Baltimore: Johns Hopkins University Press
A detailed mathematical explanation of linkage analysis.

Vogel F, Motulsky AG 1997 Human genetics, problems and approaches, 3d ed. Berlin: Springer
The definitive textbook of human genetics with extensive coverage of mathematical aspects.

نکات مهم

۱ـ بر طبق اصل هاردی ـ واینبرگ مقادیر احتمالی ژنوتیپ‌های ممکن در یک لکوس خاص از یک نسل به نسل بعد ثابت باقی می‌ماند.

۲ـ عواملی که ممکن است تعادل هاردی ـ واینبرگ را بر هم بزنند شامل ازدواج غیرتصادفی، جهش، انتخاب موافق یا مخالف یک ژنوتیپ خاص، اندازه کوچک جمعیت و مهاجرت می‌باشند.

۳ـ اگر یک بیماری آتوزوم مغلوب در تعادل هاردی ـ واینبرگ باشد فراوانی ناقلین را می‌توان با دو برابر کردن ریشه دوم (جذر) میزان بروز بیماری محاسبه کرد.

۴ـ نرخ جهش برای یک بیماری آتوزوم غالب را می‌توان مستقیماً یا تخمین مقدار جهش‌های جدید در بین اعضاء یک نسل محاسبه کرد. تخمین‌های غیرمستقیم میزان جهش‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر انجام می‌شوند:

برای توارث آتوزوم غالب $\frac{[I(1-f)]}{2}$

برای توارث آتوزوم مغلوب $I\ (1-f)$

برای توارث وابسته به X مغلوب $[I^{M}(1\text{-}F)]/3$

۵ـ گاهی بیماری‌های تک‌ژنی نادر، میزان بروز بالائی را در جمعیت‌های کوچک نشان می‌دهند که به دلیل یک اثر مؤسس همراه با جدائی ژنتیکی است.

۶ـ وقتی یک بیماری آتوزوم مغلوب جدی، میزان بروز بالائی در یک جمعیت بزرگ دارد، احتمالاً به دلیل برتری هتروزیگوتی است.

۷ـ لکوس‌های ژنی مجاور و نزدیک به هم بر روی یک کروموزوم یکسان به عنوان پیوسته در نظر گرفته می‌شوند در صورتی که این لکوس‌ها در بیش از ۵۰٪ میوزها با هم تفکیک شوند. کسر نوترکیبی (θ) نمایانگر اینست که چگونه دو ژن پیوسته در میوز تفکیک (نوترکیب) می‌شوند.

۸ـ مقدار لگاریتم احتمالات (LOD) یک شاخص ریاضی از احتمالات نسبی پیوسته بودن دو لکوس است. یک مقدار ۳+ = LOD و بیشتر، به عنوان تأییدی بر پیوستگی در نظر گرفته می‌شود. آنالیز پیوستگی دو نقطه‌ای برای نقشه‌برداری یک لکوس بیماری در یک ناحیه کروموزومی به کار می‌رود. سپس آنالیز پیوستگی چند نقطه‌ای را می‌توان برای تعیین ترتیب‌های احتمالی لکوس‌های پلی‌مورفیک درون آن ناحیه به کار برد و اندازه فواصل را با مطالعات نقشه‌برداری فیزیکی کاهش داد.

فصل ۹

توارث پلی‌ژنی و چند عاملی

بسیاری از بیماری‌ها تجمع خانوادگی نشان می‌دهند که با هیچ‌کدام از الگوهای توارث مندلی مطابقت ندارند. مثال‌ها شامل تعدادی از شایع‌ترین بدشکلی های مادرزادی و بسیاری از بیماری‌های اکتسابی رایج می‌باشند (کادر ۱-۹). این بیماری‌ها یک گرایش خانوادگی مشخص نشان می‌دهند، اما میزان بروز در خویشاوندان نزدیک افراد بیمار، خیلی کمتر از میزان بروز بیماری در خویشاوندان افرادی است که بیماری در آنها که توسط موتاسیون‌های تک‌ژنی ایجاد شده است. از آنجا که احتمالاً بسیاری از عوامل ژنتیکی و محیطی در ایجاد این بیماری‌ها دخیل می‌باشند معمولاً گفته می‌شود که **توارث چندعاملی** (multifactorial inheritance) نشان می‌دهند.

تا همین اواخر دیدگاه غالب در مورد توارث چندعاملی این بود که عوامل محیطی با بسیاری از ژن‌ها تعامل نموده و یک منحنی استعداد با توزیع طبیعی ایجاد می‌کنند. بر طبق این تئوری افراد مبتلا در انتهای نادرست منحنی توزیع قرار می‌گیرند. مفهوم ایجاد یک توزیع طبیعی توسط بسیاری از ژن‌ها که به‌عنوان **پلی‌ژن** شناخته می‌شوند و هر کدام به‌صورت افزایشی عمل می‌کند از جمله برای صفات فیزیولوژیکی مثل قد و احتمالاً فشار خون، قابل توجیه می‌باشد. با این حال در مورد بیماری‌هایی مثل دیابت شیرین تیپ یک (T1DM) توزیع ژنتیکی شامل بسیاری از لکوس‌ها بوده که بعضی از آنها نقش بسیار مهم‌تری از سایرین دارند.

توالی‌یابی ژنوم انسان نشان داد که تشابه ژنوم ۳ میلیارد جفت بازی در افراد مختلف ۹۹/۹٪ است. به عبارت دیگر هر فردی به‌طور متوسط ۰/۱٪ از لحاظ ژنتیکی از سایر افراد کره زمین متفاوت می‌باشند. در این تفاوت ۰/۱٪ رازی وجود دارد که توضیح می‌دهد چرا بعضی از افراد به برخی بیماری‌های خاص مستعدتر می‌باشند، یا چرا با احتمال بیشتری نسبت به سایر افراد جمعیت، سالم می‌مانند. افزایش آگاهی ما از تغییرات ژنتیکی در سطح پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP_s) در کنار فن‌آوری‌های تعیین ژنوتیپ SNP به صورت موازی و پربازده، اخیراً توانایی ما را در تعیین لکوس‌های مستعدکننده ابتلا به بیماری‌های شایع متحول ساخته است.

توارث پلی‌ژنی و توزیع طبیعی

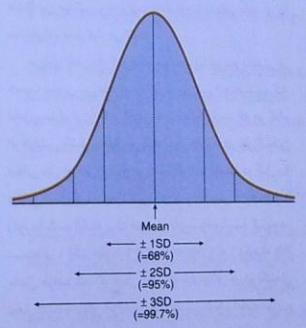
قبل از در نظر گرفتن جزئیات اثرات تحقیقات اخیر، لازم است به اختصار اساس علمی آنچه که به‌عنوان توارث **کمّی** یا **پلی‌ژنی** (Polygenic or quantitative inheritance) شناخته می‌شود را توضیح دهیم. این مورد شامل توارث و بیان یک فنوتیپ مشخص شده توسط بسیاری از ژن‌ها در لکوس‌های متفاوت است، که هر ژن یک اثر افزایشی کوچک اعمال می‌کند. **اثر افزایشی** (additive) به این معناست که اثرات ژن‌ها تجمعی بوده، به عبارت دیگر هیچ ژنی غالب یا مغلوب نمی‌باشد. چندین صفت انسانی در جمعیت عمومی، منحنی توزیع طبیعی را نشان می‌دهند (کادر ۲-۹). این منحنی به شکل یک منحنی زنگوله‌ای شکل متقارن است که به‌طور مساوی پیرامون میانگین، در دو سمت توزیع می‌شود (شکل ۱-۹). فاصله توزیع‌ها از میانگین توسط انحراف از معیار مشخص می‌شود. تقریباً ۶۸٪، ۹۵٪ و ۹۹/۷٪ مشاهدات در فاصلهٔ بین میانگین و به ترتیب به اضافه یا منهای یک، دو یا سه انحراف معیار قرار می‌گیرند.

می‌توان نشان داد که یک فنوتیپ با توزیع طبیعی در جمعیت عمومی، می‌تواند توسط توارث پلی‌ژنی ایجاد شود که شامل بسیاری از ژن‌ها در لکوس‌های متفاوت است که هر کدام اثر افزایشی یکسانی اعمال می‌کنند. این حالت با در نظر گرفتن صفاتی مثل قد قابل توضیح می‌باشد. اگر قد توسط دو آلل با فراوانی نسبتاً یکسان ایجاد شود، در یک لکوس a (بلند) و b (کوتاه) باشد آنگاه یک فنوتیپ نایوسته با سه گروه در نسبت‌های ۱ (بلند aa) به ۲ (متوسط ab/ab) و به ۱ (کوتاه bb) حاصل خواهند شد. اگر همان صفت توسط دو آلل در دو لکوس تعامل کنند، به روش افزایشی ساده، تعیین شوند آنگاه توزیع فنوتیپی، پنج گروه را در نسبت ۱ (۴ ژن بلند) به ۴ (۳ بلند + ۱

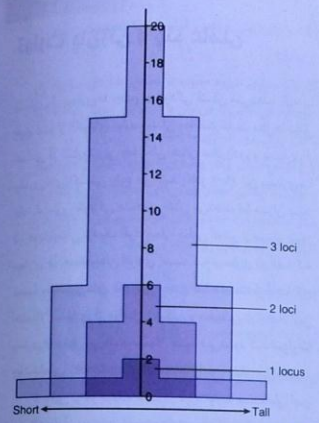
کوتاه) به ۶ (۲ بلند + ۲ کوتاه) به ۴ (۱بلند + ۳ کوتاه) بـه ۱ (۴ کوتاه) نشان می‌دهد. برای سیستمی با سه لکوس هر کدام با دو آلل، نسبت‌های فنوتیپی ۱:۶:۱۵:۲۰:۱۵:۶:۱ خواهد بود.

همانطور که تعداد لکوس‌ها افزایش می‌یابد، منحنی توزیع نیز بیشتر شبیه یک منحنی طبیعی می‌شود، بنابراین این مفهوم را تأیید می‌کند که صفاتی مثل قد توسط اثرات افزایشی بسیاری از ژن‌ها در لکوس‌های متفاوت تعیین می‌شوند. تأیید بیشتر برای این مفهوم از مطالعهٔ همبستگی‌های خانوادگی برای صفاتی مثل قد حاصل شده است. **همبستگی** (Correlation) مقیاسی آماری از میزان شباهت یا ارتباط بین دو پارامتر است. خویشاوندان درجه یک به‌طور متوسط در ۵۰٪ ژن‌هایشان با هم مشترک می‌باشند (جدول ۹-۱). بنابراین اگر قد پلی‌ژنی باشد، همبستگی بین خویشاوندان درجه یک می‌بایست ۰/۵ باشد. چندین مطالعه نشان داده‌اند که همبستگی خواهر ـ برادرها برای قد در حقیقت نزدیک به ۰/۵ می‌باشد.

در واقع صفات انسانی نظیر قد و ضریب هوشی تحت تأثیر محیط نیز می‌باشند و امکان دارد که ژن‌هایی که اثر افزایشی ندارند، یک اثر غالب اعمال کنند. این عوامل احتمالاً مسئول تمایل فرزندان به پدیده‌ای به نام **بازگشت به میانگین** (regression to the mean) می‌باشد. این حالت با مشاهدهٔ



شکل ۹-۱: منحنی توزیع طبیعی (گاسین؛ Gaussian)



شکل ۹-۲: توزیع ژنوتیپ‌ها برای صفاتی مثل قد با ۱، ۲ و ۳ لکوس هر کدام با دو آلل با فراوانی یکسان. مقادیر هر کدام از ژنوتیپ‌ها را می‌توان از بسط دوجمله‌ای $(p+q)^{2n}$ که $p=q=\frac{1}{2}$ و n برابر با تعداد لکوس‌هاست، به‌دست آورد.

جدول ۹-۱ درجه خویشاوندی

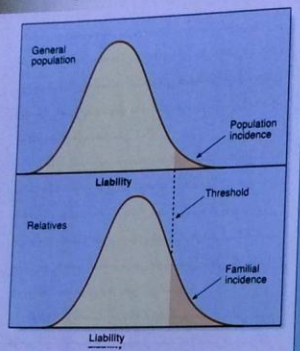
رابطه خویشاوندی	درصد ژن‌های مشترک
درجه یک	
والدین	۱/۲
خواهر ـ برادرها	
فرزند	
درجه دوم	
عمه، خاله، عمو، دایی	۱/۴
خواهرزاده و برادرزاده‌ها	
نوه‌ها	
پدربزرگ و مادربزرگ‌ها	
خواهر و برادر ناتنی	
درجه سه	
عموزاده‌ها، عمه‌زاده‌ها، خاله‌زاده‌ها، دایی‌زاده‌ها	۱/۸
جد پدربزرگ و مادربزرگ‌ها	
نتیجه‌ها	

کادر ۹-۱ بیماری‌هایی که توارث چندعاملی نشان می‌دهند

بدشکلی‌های مادرزادی
شکاف لب / کام
جابه‌جایی مادرزادی لگن
تقایص مادرزادی قلبی
تقایص لوله عصبی
تنگی پیلور
پاچنبری
بیماری‌های اکتسابی دوران کودکی و بزرگسالی
آسم
اوتیسم
دیابت شیرین
صرع
گلوکوما (آب سیاه)
فشار خون
بیماری التهابی روده (بیماری کرون و کولیت اولسراتیو)
بیماری قلبی ایسکمی
سکته ایسکمی
افسردگی شیدایی
اسکلروزیس چندگانه (MS)
بیماری پارکینسون
پسوریازیس (درماتوز راجعه ارثی و مزمن)
آرتریت روماتوئید
اسکیزوفرنی

کادر ۹-۲ صفات انسانی که یک توزیع طبیعی پیوسته نشان می‌دهند

فشار خون
خطوط سرانگشتان (شمارش خطوط)
محیط پیرامون سر
قد
هوش
رنگ پوست



شکل ۹-۳: منحنی‌های فرضی استعداد در جمعیت عمومی و خویشاوندان، برای یک بیماری توارثی که در آن استعداد ژنتیکی، چندعاملی است.

والدینی بلندقد یا باهوش (دو صفت مستقل از هم می‌باشند) که دارای فرزندانی با قد متوسط یا هوش کمتر از حد متوسط یا کمتر از میانگین والدین، مشخص می‌شود. به‌طور مشابه والدینی که هر دو بسیار قد کوتاه یا دارای هوش کمتر می‌باشند دارای فرزندانی باهوش متوسط بالا یا هوش کمتر از جمعیت عمومی، اما بیشتر از متوسط مقادیر والدین هستند. اگر صفتی توارت پلی‌ژنی واقعی را بدون اثرات خارجی نشان دهد، آنگاه مقادیر در فرزندان، به‌طور یکسانی در دو طرف میانگین مقادیر والدین، توزیع خواهند شد.

توارث چندعاملی – مدل آستانه / استعداد

تلاش‌هایی در جهت گسترش فرضیهٔ پلی‌ژنی در مورد توارت صفات کمّی یا پیوسته انجام شده تا برای بیماری‌های چندعاملی ناپیوسته نیز به‌کار رود. بر طبق مدل **آستانه / استعداد** (liability/threshold) همهٔ عوامل محیطی و ژنتیکی که بر تکوین یک بیماری چندعاملی اثر می‌گذارند می‌توانند به‌عنوان یک ماهیت واحد، به‌عنوان استعداد (liability) در نظر گرفته شوند. استعدادهای همهٔ افراد در یک جمعیت، یک متغیر پیوسته را

تشکیل می‌دهند که یک توزیع طبیعی در جمعیت عمومی و نیز در خویشاوندان افراد مبتلا نشان می‌دهد. با این حال منحنی‌ها برای این خویشاوندان به سمت راست منحنی جابه‌جا می‌شود به حدی که میزان تغییر آنها متناسب با نسبت خویشاوندی آنها با فرد شاخص مبتلا می‌باشد (شکل ۳ـ۹).

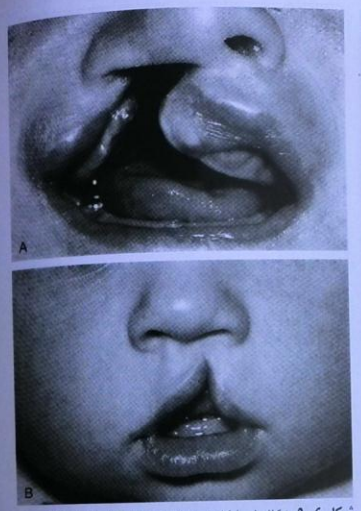
در مورد یک فنوتیپ ناپیوسته (به عبارت دیگر مبتلا باشد یا نباشد) با یک اساس توزیع پیوسته، پیشنهاد شده که یک حد آستانه‌ای وجود دارد که بالاتر از آن حد، فنوتیپ غیرطبیعی بیان می‌شود. در جمعیت عمومی نسبتی که بالاتر از حد آستانه باشد میزان بروز جمعیتی است و در بین خویشاوندان نسبتی که بالاتر از حد آستانه باشد، میزان بروز خانوادگی است.

دوباره حائز اهمیت است که تأکید کنیم استعداد شامل تمام عواملی است که به علل بیماری نسبت داده می‌شوند. اگر بخواهیم بسیار ساده در نظر بگیریم، یک استعداد مضر می‌تواند به‌عنوان مجموعه‌ای از چندین ژن «بد» و عوامل محیطی نامطلوب باشد. استعداد را نمی‌توان اندازه‌گیری کرد اما میانگین استعداد یک گروه را می‌توان از میزان بروز بیماری در آن گروه با استفاده از آمارههای توزیع طبیعی به‌دست آورد. واحد اندازه‌گیری، انحراف از معیار بوده و از آن می‌توان برای تخمین همبستگی بین خویشاوندان استفاده کرد.

نتایج مدل آستانه / استعداد

بخشی از جذابیت این مدل (لازم به تأکید مجدد است که یک فرضیه می‌باشد تا یک واقعیت اثبات شده) این است که توضیح ساده‌ای را برای الگوهای مشاهده شده خطرات خانوادگی در بیماری‌هایی مثل شکاف لب / کام، تنگی پیلور و اسپینابیفیدا فراهم می‌کند.

۱- میزان بروز بیماری‌ها در بین خویشاوندان با وجود شدیدترین حالت بیماری، بیشترین مقدار است. احتمالاً به خاطر آنکه آنها بیشترین انحراف را در طول منحنی استعداد نشان می‌دهند. برای مثال در شکاف لب / کام، اگر فرد بیمار شکاف لب و کام دوطرفه داشته باشد، میزان خطر برای خویشاوندان درجه یک مبتلا (والدین، خواهر – برادرها و فرزندان) ۶٪ خواهد بود اگر فرد شاخص بیماری شکاف لب یک طرفه داشته باشد،



شکل ٤ـ۹: شکاف لب / کام در اشکال شدید (**A**) و خفیف (**B**).

خویشاوندان درجه یک تنها ۲٪ در معرض خطر می‌باشند (شکل ۴ـ۹).

۲- میزان خطر در خویشاوندان نزدیک‌تر فرد بیمار بیشتر است و با افزایش فاصله خویشاوندی، این میزان به سرعت کاهش می‌یابد. مثلاً در مورد اسپینابیفیدا میزان خطر برای خویشاوندان درجه اول، دوم و سوم شاخص بیمار به ترتیب ۴٪، ۱٪ و کمتر از ۰/۵٪ می‌باشد.

۳- اگر بیش از یک خویشاوند مبتلا وجود داشته باشد آنگاه میزان خطر برای سایر خویشاوندان نیز افزایش می‌یابد. در مورد اسپینابیفیدا اگر یکی از خواهر ـ برادرها مبتلا باشد میزان خطر برای خواهر ـ برادر بعدی (در صورتی که مادر قبل از شروع حاملگی اسید فولیک دریافت کرده باشد) تقریباً ۴٪ است و اگر دو خواهر ـ برادر مبتلا باشند میزان خطر برای فرزند بعدی تقریباً ۱۰٪ خواهد بود.

۴- اگر بیماری در یک جنسیت خاص شایع‌تر باشد آنگاه خویشاوندان یک فرد مبتلا با جنسیتی که کمتر مبتلا

می‌شود در معرض خطر بیشتر نسبت به خویشاوندان فردی با جنسیتی که بیشتر مبتلا می‌شوند، می‌باشند. این مورد با بیماری تنگی پیلور توضیح داده می‌شود. تنگی پیلور نسبت جنسیتی مرد به زن را به‌صورت ۵ به ۱ نشان می‌دهد. نسبت فرزندان مبتلای فرد بیمار مذکر برای پسرها ۵/۵٪ و برای دخترها ۲/۴٪ است در حالی‌که میزان خطر برای فرزندان فرد بیمار مؤنث برای پسرها ۱۹/۴٪ و برای دخترها ۷/۳٪ خواهد بود. توضیح احتمالی این تفاوت میزان خطر، این‌گونه است: برای آنکه زنی مبتلا شود باید در انتهای منحنی استعداد قرار داشته باشد، بنابراین خویشاوندان نزدیک او نیز دارای استعداد بسیار بالایی برای بروز بیماری خواهند بود. از آنجا که مردان استعداد بیشتری برای بروز بیماری دارند، بدون توجه به جنسیت والد مبتلا، میزان خطر در فرزندان پسر بیشتر از فرزندان دختر می‌باشد.

۵- میزان خطر عود مجدد بیماری در خویشاوندان درجه یک (مثل فرزندان و خواهر ـ برادرها) تقریباً ریشه دوم (جذر) میزان بروز جمعیت عمومی است. بنابراین اگر میزان بروز ۱ در ۱۰۰۰ باشد میزان خطر خواهر ـ برادرها و فرزندان تقریباً برابر با $\frac{1}{32}$ یا ۳٪ خواهد بود.

توارث‌پذیری

اگرچه ارزیابی استعداد ابتلاء یک فرد برای یک بیماری خاص امکان‌پذیر نمی‌باشد، اما می‌توان بخشی از اتیولوژی را که به عوامل ژنتیکی در مقابل عوامل محیطی نسبت داده می شود را تخمین زد. به این مورد **توارث‌پذیری** (Heritability) می‌گویند که می‌تواند به‌عنوان بخشی از کل واریانس فنوتیپی یک بیماری در نظر گرفته شود که توسط واریانس ژنتیکی افزایشی، ایجاد می‌گردد. در اصطلاحات آماری، واریانس معادل توان دوم انحراف از معیار است. توارث‌پذیری اغلب با استفاده از علامت h^2 نشان داده شده و به‌صورت نسبتی از ۱ یا به صورت درصد مشخص می‌شود.

تخمین‌های توارث‌پذیری یک بیماری یا یک صفت، شاخصی را در مورد میزان نسبی اهمیت عوامل ژنتیکی در سبب‌شناسی بیماری فراهم می‌کند، بنابراین هرچه مقدار توارث‌پذیری بیشتر باشد نقش عوامل ژنتیکی نیز بیشتر خواهد بود. توارث‌پذیری از میزان شباهت بین خویشاوندان تخمین زده می‌شود که بر اساس ضریب همبستگی بیان می‌گردد و با استفاده از آمارههای توزیع طبیعی محاسبه می‌شود. از طرف دیگر توارث‌پذیری را می‌توان با استفاده از اطلاعات به‌دست آمده از مقادیر همخوانی (Concordance) دوقلوهای تک‌تخمی و دوتخمی به‌دست آورد. در عمل بهتر است مقادیر تخمینی توارث‌پذیری با استفاده از انواع متفاوت خویشاوندان محاسبه شود و میزان بروز بیماری در خویشاوندانی که با هم و نیز جدا از هم زندگی می‌کنند، اندازه‌گیری شود تا امکان تفکیک اثرات عوامل محیطی مشترک وجود داشته باشد. مقادیر تخمینی توارث‌پذیری برای بعضی از بیماری‌های شایع در جدول ۲ـ۹ آمده است.

میزان تجمع خویشاوندی نشان داده شده در بیماری‌های چندعاملی را می‌توان با اندازه‌گیری میزان خطر خواهر ـ برادرهای افراد مبتلا، در مقایسه با میزان بروز جمعیت عمومی به‌دست آورد. نسبت میزان خطر بروز بیماری در خواهر ـ برادرها، به میزان خطر بروز بیماری در جمعیت عمومی λ_s نامیده می‌شود. برای مثال در دیابت نوع یک، میزان خطر بروز بیماری

جدول ۲ـ۹ تخمین توارث‌پذیری بیماری‌های مختلف

بیماری	فراوانی (٪)	توارث‌پذیری
اسکیزوفرنی	۱	۸۵
آسم	۴	۸۰
شکاف لب ± شکاف کام	۰/۱	۷۶
استنوز پیلور	۰/۳	۷۵
اسپوندیلیت انکلوزیون	۰/۲	۷۰
پاچنبری	۰/۱	۶۸
بیماری عروق کرونر	۳	۶۵
فشار خون بالا	۵	۶۲
دررفتگی مادرزادی لگن	۰/۱	۶۰
آنسفالی و اسپینابیفیدا	۰/۳	۶۰
زخم معده	۴	۳۷
بیماری قلبی مادرزادی	۰/۵	۳۵

در جمعیت انگلستان ۰/۴٪ است و میزان خطر بروز بیماری در خواهر ـ برادرها ۶٪ است، بنابراین ۱۵ = λ_s خواهد بود. در مورد دیابت نوع دو در اروپا میزان λ_s با مقدار کمتری تخمین زده شده و ۳/۵ می‌باشد (۳۵٪ خطر بروز بیماری در خواهر ـ برادرها در مقایسه با ۱۰٪ خطر بروز بیماری در جمعیت عمومی).

شناسایی ژن‌هایی که باعث ایجاد بیماری‌های چند عاملی می‌شوند

بیماری‌های چند عاملی شایع بوده و بخش زیادی از بیماری‌زایی و مرگ و میر در انسان را شامل می‌شوند. بنابراین تعجب‌برانگیز نیست که تلاش‌های زیادی در جهت تعیین ژن‌های این بیماری‌ها صورت می‌گیرد. چندین استراتژی برای جستجوی ژن‌های استعداد ابتلا به این بیماری‌ها به‌کار رفته‌اند.

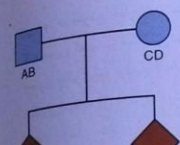
آنالیز پیوستگی

آنالیز پیوستگی (Linkage analysis) در نقشه‌برداری ژنی در بیماری‌های تک‌ژنی که در آنها آلل بیماری با مارکر ژنتیکی با هم بین گامت‌ها توزیع می‌شوند بسیار ارزشمند است. با این حال، اجرای این روش در مورد بیماری‌های چندعاملی خیلی مشکل‌تر می‌باشد. زیرا از لحاظ ریاضیات ارائه استراتژی‌هایی برای تعیین پیوستگی پلی‌ژن‌های افزایشی، که هر کدام تنها نقش کمی در ایجاد فنوتیپ دارند، بسیار مشکل است. به‌علاوه بسیاری از بیماری‌های چندعاملی سن بروز متغیری نشان می‌دهند، بنابراین وضعیت ژنتیکی اعضای سالم یک خانواده با قطعیت مشخص نمی‌شود.

علی‌رغم محدودیت‌ها، تعداد کمی از لکوس‌های مستعدکننده با استفاده از تغییراتی در روش‌های به‌کار رفته در نقشه‌یابی لکوس‌های ژنی منفرد، شناسایی شده‌اند. مثال‌ها در فصل ۱۵ آمده‌اند.

آنالیز خواهر ـ برادرهای مبتلا

آنالیز پیوستگی استاندارد، نیاز به اطلاعاتی همچون الگوی توارث، فراوانی‌های ژنی و نفوذپذیری دارد. در مورد بیماری‌های چندعاملی این اطلاعات معمولاً در دسترس نمی‌باشند. یک



Alleles in common	Ratio
2	1
1	2
0	1

شکل ۵-۹: احتمال آنکه خواهر ـ برادرها دارای ۲، ۱ یا ۰ آلل مشترک والدی باشند. انحراف قابل توجه از نسبت ۱:۲:۱ نشان‌دهندهٔ این است که لکوس در ایجاد بیماری نقش دارد.

راه‌حل ممکن، جستجوی نواحی ژنومی یکسان است که در خواهر ـ برادرهای مبتلا به دلیل وجود یک **نیای مشترک**، **یکسان** (Identical by descent) باشند. اگر خواهر ـ برادرهای مبتلا یک آلل خاص را بیش از آنچه مورد انتظار است به ارث ببرند، نشان‌دهندهٔ این است که آن آلل یا لکوس به طریقی در ایجاد بیماری نقش دارد.

والدینی را در نظر بگیرید که در یک لکوس خاص، پدر آلل‌های AB و مادر آلل‌های CD دارد. احتمال آنکه هر کدام از فرزندان آنها هر دو آلل را به‌صورت مشترک داشته باشند ۱ به ۴ خواهد بود (شکل ۵-۹). احتمال آنکه آنها تنها یک آلل مشترک داشته باشند ۱ به ۲ و احتمال آنکه هیچ آلل مشترکی نداشته باشند برابر با ۱ به ۴ خواهد بود. اگر خواهر ـ برادرهای مبتلا به یک بیماری خاص در مورد واریانت ویژه‌ای، از نسبت مورد انتظار ۱:۲:۱ انحراف نشان دهند، نمایانگر این است که یک ارتباط سببی بین آن لکوس و بیماری وجود دارد.

نقشه‌برداری عدم تعادل پیوستگی

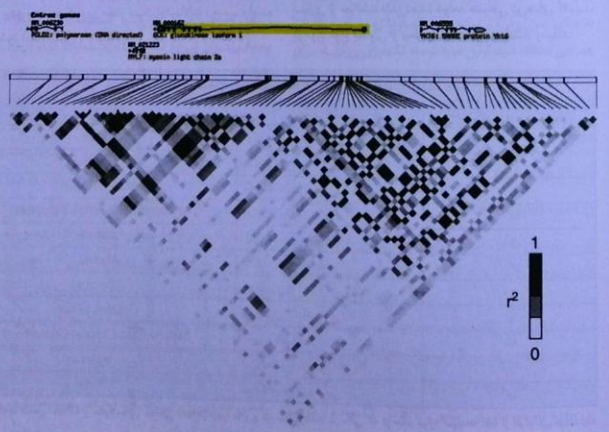
پس از تعیین ناحیهٔ کروموزومی که به نظر می‌رسد مرتبط با استعداد ابتلا به بیماری است، مرحلهٔ بعدی کاهش ناحیه مورد نظر توسط **نقشه‌یابی دقیق** (fine mapping) می‌باشد. در قوی‌ترین روش، از نقشه‌برداری **عدم تعادل پیوستگی** (linkage disequlibrium) استفاده می‌شود تا

هاپلوتیپ‌ها را توسط تهیه ژنوتیپ‌های SNP درون ناحیه مربوطه تعیین کند. سابقه نقاط کراسینگ‌اور، توسط تعیین بلوک‌های LD فواصل ژنتیکی را کاهش می‌دهد (شکل ۶-۹). سپس ژن‌های کاندید درون آن ناحیه توالی‌یابی می‌شوند تا واریانت‌های DNA، جهت بررسی همراهی آنها با بیماری پیدا شوند.

بسیاری از اسکن‌های پیوستگی گسترده ژنومی برای بیماری‌های مختلف انجام شده و اگرچه تعدادی از لکوس‌ها نقشه‌یابی شده‌اند، اما تعداد ژن‌های مستعدکنندهٔ بیماری تعیین شده با این روش، تا حد ناامیدکننده‌ای کم می‌باشند. یک دلیل محتمل آن، ماهیت پیچیدهٔ بیماری چندعاملی است که چندین واریانت ژنتیکی با کمترین اثر با همدیگر و نیز با عوامل محیطی در تعامل می‌باشند. اکثر مطالعات پیوستگی کم‌توان‌تر از آن هستند که بتوانند این اثرات اندک را شناسایی کنند. روش دیگری به نام **مطالعه همراهی** توسط Risch و Merikangas ارائه شد که روش قدرتمندتری برای یافتن واریانت‌های ژنتیکی در بیماری‌های پیچیده می‌باشد.

مطالعات همراهی

مطالعات همراهی (Association studies) با مقایسه فراوانی یک واریانت خاص در افراد مبتلا با فراوانی آن در یک گروه کنترل که به دقت با بیماران هماهنگ شده‌اند، انجام می‌شود. این روش اغلب به‌عنوان مطالعه **مورد ـ کنترل** (Case-Control study) در نظر گرفته می‌شود. اگر فراوانی‌ها در دو گروه به‌طور قابل توجهی با هم متفاوت باشند، شواهدی را برای همراهی فراهم می‌کند. در این راستا بر روی کمپلکس سازگاری بافتی پلی‌مورفیک HLA واقع بر کروموزوم ۶ مطالعات فراوانی صورت گرفته است.



شکل ۶-۹: ساختار عدم تعادل پیوستگی (LD) ژن گلوکوکیناز. مقادیر r^2 بین ۸۴ پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (SNP_s) در طول یک ناحیه kb ۱۱۶ مشخص شده‌اند. مقدار r^2 برابر ۱ یعنی دو SNP با هم پیوسته‌اند. دو بلوک از LD درون ژن گلوکوکیناز (که با رنگ قرمز آورده شده‌اند) وجود دارند. (شکل زیر)

جدول ۳-۹ محاسبه نسبت احتمالات برای همراهی یک بیماری

	الل ۱	الل ۲
بیماران	A	b
کنترل‌ها	C	d
نسبت احتمالات	$\frac{a}{c} \div \frac{b}{d} = \frac{ad}{bc}$	

یکی از شناخته‌شده‌ترین همراهی‌های HLA بین اسپوندیلیت آنکلیزیون و آلل B27 می‌باشد، این همراهی در تقریباً ۹۰٪ همهٔ بیماران و تنها در ۵٪ افراد کنترل وجود دارد. قدرت همراهی با نسبت احتمال ایجاد بیماری در افراد دارای آنتی‌ژن، به احتمال ایجاد بیماری در افراد فاقد آنتی‌ژن مشخص می‌شود (جدول ۳-۹). این مورد به‌عنوان **نسبت احتمالات** (odds ratio) شناخته می‌شود و به‌عنوان شاخصی است که چقدر احتمال دارد، بیماری در افراد دارای یک مارکر خاص نسبت به افراد فاقد آن مارکر ایجاد شود. در مورد همراهی اسپوندیلیت آنکلیزیون، نسبت احتمالات ۱۷۱ می‌باشد. با این حال، برای اکثر مارکرهای مرتبط با بیماری چندعاملی، تفاوت فراوانی در بین موارد بیمار و کنترل‌ها کم بوده، منجر به کمترین مقدار نسبت احتمالات به‌دست آمده می‌شود (معمولاً بین ۱/۱ و ۱/۵).

اگر شواهدی مبنی بر وجود همراهی در دسترس باشد پیشنهادکنندهٔ آن است که آلل کد شده توسط مارکر یا به‌طور مستقیم در ایجاد بیماری دخیل است (یا به عبارت دیگر واریانت مستعدکننده است) یا آن مارکر در عدم تعادل پیوستگی با یک واریانت مستعدکنندهٔ پیوسته در نزدیکی‌اش می‌باشد. زمانی‌که همراهی بیماری‌ها در نظر گرفته می‌شوند، حائز اهمیت است به‌خاطر داشته باشیم که شناسایی یک لکوس مستعدکننده به معنای شناسایی دقیق ژن بیماری نیست. برای مثال با وجود آنکه همراهی مربوط به HLA B27 و اسپوندیلیت آنکلیزیون، قوی‌ترین همراهی بیماری شناخته شده می‌باشد، تنها ۱٪ از تمام افراد دارای HLA B27 ، به بیماری اسپوندیلیت آنکلیزیون مبتلا می‌شوند. بنابراین بسیاری از عوامل ژنتیکی یا محیطی دیگر باید در ایجاد بیماری نقش داشته باشند.

قبل از سال ۲۰۰۶ مطالعات همراهی در ابتدا با انتخاب یک ژن کاندید یا ناحیه ژنومی انجام می‌شد که می‌توانست دارای پیوستگی‌های بیولوژیکی قابل توجیه با بیماری مورد نظر باشد یا در ناحیه‌ای از پیوستگی واقع شده باشد. یک یا چند واریانت ژنتیکی از ناحیهٔ ژنی یا ژن مربوطه انتخاب شده و ژنوتیپ موارد بیماری و کنترل‌ها جهت بررسی همراهی با بیماری تهیه می‌شدند. بسیاری از مطالعات نشان‌دهندهٔ شواهد همراهی ژن‌های کاندید در مورد انواع متفاوتی از بیماری‌ها و صفات، به انتشار رسیدند

جدول ٤-۹ جمعیت‌های مطالعه شده در پروژه بین‌المللی Hap Map

نیاکان	محل اقامت	تعداد افراد بررسی شده
Yoruba	ایبادان در نیجریه	۱۸۰*
Japanese	توکیو، ژاپن	۹۱
Han Chinese	بیجینگ، چین	۹۰
Northern & Western European	آمریکا، یوتا	۱۸۰*
Luhya	کنیا	۹۰
Maasai	کنیا	۱۸۰*
Tuscan	ایتالیا	۹۰
Gujarati Indian	هوستون، تگزاس، آمریکا	۹۰
Metropolitan Chinese Community	دنوور، کلورادو	۹۰
Mexican	لس‌آنجلس، کالیفرنیا آمریکا	۹۰*
African	آمریکای جنوب غربی	۹۰*

* نمونه‌ها شامل DNA از خانواده‌های سه‌تائی (trios) (پدر، مادر و فرزند) می‌باشد، در حالی که در سایر موارد نمونه‌ها فقط از افراد غیرخویشاوند گرفته شده است.

با این حال در موارد متعددی این همراهی‌ها در مطالعات مستقل دیگر تکرار نشدند، بنابراین اعتبار یافته‌های اولیه همراهی‌ها نامشخص باقی ماند. دلایل این ناهماهنگی می‌تواند شامل این موارد باشد: ۱) تعداد نمونه کم ۲) تأیید آماری ضعیف و ۳) احتمالات اولیه ضعیف برای تعداد کمی از واریانت‌های انتخاب شده که واقعاً با بیماری همراهی داشته باشند. همهٔ این موارد می‌توانند احتمال نتایج همراهی‌های مثبت کاذب را افزایش دهند. دلیل دیگر همراهی‌های مثبت کاذب، طبقه‌بندی‌های جمعیتی است که جمعیت دربرگیرندهٔ زیرگروه‌هایی از نیاکان متفاوت بوده و بیماری و آلل مورد نظر در یک زیرگروه مشترک باشند. مثال معروفی در مطالعهٔ Schork و Lander گزارش شد که در جمعیت سان‌فرانسیسکو بین HLA-A1 با توانائی غذاخوردن با چوب، همراهی وجود دارد. این همراهی به آسانی با این حقیقت که HLA-A1 در بین چینی‌های شایع‌تر از اروپایی‌هاست، توضیح داده می‌شود!

روش ژن کاندید (Candidate gene approach) در تعداد زیادی از همراهی‌های تکرار شده، به‌طور گسترده انجام شده است. دو پیشرفت حائز اهمیت این امکان را فراهم کردند که در مطالعات به جای این روش، از یک روش گستردهٔ ژنومی در مطالعات همراهی استفاده شود: اولین مورد توسعه تکنولوژی ریزآرایه برای تهیه سریع و ارزان ژنوتیپ صدها هزار SNPs در هزاران نفر و دومین روش ایجاد کاتالوگ مرجع از SNPs، عدم تعادل پیوستگی و نقشه هاپلوتیپ‌های بین‌المللی (Hap Map) می‌باشند.

پروژهٔ HapMap (www.hapmap.org)

اگرچه تخمین زده شده است که بیش از ۱۰ میلیون SNP در ژنوم انسان وجود دارد. بسیاری از SNPها در عدم تعادل پیوستگی بوده و بنابراین با هم به ارث می‌رسند. نواحی SNPهای پیوسته به‌عنوان **هاپلوتیپ** (Haplotypes) شناخته می‌شوند. در پروژه بین‌المللی HapMap تعیین فراوانی‌های SNPها و هاپلوتیپ‌ها در جمعیت‌های مختلف انجام می‌شود (جدول ۴-۹). تا سال ۲۰۰۷ در این پروژه، ژنوتیپ بیش از ۳ میلیون SNP در ۲۷۰ نمونه از اروپا، آسیای شرقی و آفریقای غربی تهیه شد.

این نتایج نشان دادند که اکثر SNPها با یک یا چند SNP مجاورشان قویاً مرتبط می‌باشند. به این معنا که با تهیه ژنوتیپ تقریباً ۵۰۰،۰۰۰ SNP در اکثر جوامع، می‌توانیم اطلاعاتی در مورد اکثر SNPهای شایع ژنوم انسان (با فراوانی آللی کم ۵٪<) به‌دست آوریم. در جوامع آفریقایی تعداد مورد نیاز تقریباً ۱ میلیون SNP است، زیرا عدم تعادل پیوستگی کلی کمتری دارند.

از سال ۲۰۰۷ داده‌های ژنوتیپی به پروژهٔ HapMap اضافه شده‌اند که از هفت جمعیت دیگر به‌دست آمده بودند، به‌طوری‌که نمونه‌های جمعیتی HapMap اولیه گسترش یافتند. با تهیه ژنوتیپ SNPها در مقیاس بالا، این منبع ارزشمند نسل جدیدی از مطالعات همراهی را ممکن می‌سازد، که می‌توان تغییرات SNPهای شایع کل ژنوم را فقط در یک آزمایش به‌دست آورد.

مطالعات همراهی گسترده ژنومی

در **مطالعات همراهی گستردهٔ ژنومی** (GWA) محققین واریانت‌ها را در کل ژنوم در یک مطالعه مورد -کنترل، با هم مقایسه می‌کنند، به جای آنکه هر بار فقط یک واریانت را در ژنوم جستجو کنند. از سال ۲۰۰۶ با این روش جدید و قدرتمند، تعداد زیادی همراهی‌های تکرارپذیر گسترده در بین SNPها و بیماری‌های شایع به‌دست آمده‌اند که در سایت www.genome.gov/gwastudies/ به‌صورت کاتالوگ آمده است. تا سال ۲۰۰۹ در مطالعات GWA صدها همراهی تکرارپذیر در بیش از ۸۰ صفت و بیماری شایع تعیین شده‌اند. مثال‌هایی از این همراهی‌ها در فصل ۱۵ آمده است. نتایج یک مطالعه GWA در مورد بیماری اوتیسم در شکل ۷-۹ نشان داده شده است. در یک مطالعهٔ GWA معمول، ژنوتیپ ۵۰۰،۰۰۰ تا یک میلیون SNP در هر فرد با استفاده از یک ریزآرایه (SNP chip) تهیه می‌شود.

یکی از مزایای مطالعات GWA بر روش ژن کاندید این است که آنها «فاقد فرضیه» (hypothesis-free) می‌باشند. هیچ فرض قبلی دربارهٔ اینکه ژن‌ها احتمالاً در بیماری نقش دارند، وجود نداشته و در نتایج همراهی‌ها مشخص می‌شوند، که دیدگاه‌های جدیدی را در مسیرهای بیولوژیکی فراهم نموده و راه‌های جدیدی را برای تحقیقات باز می‌کنند. مثال‌هایی در فصل ۱۵ آورده شده‌اند.

همراهی‌ها نامشخص باقی ماند. دلایل این ناهماهنگی می‌تواند شامل این موارد باشد: ۱) تعداد نمونه کم ۲) تأیید آماری ضعیف و ۳) احتمالات اولیه ضعیف برای تعداد کمی از واریانت‌های انتخاب شده که واقعاً با بیماری همراهی داشته باشند. همهٔ این موارد می‌توانند احتمال نتایج همراهی‌های مثبت کاذب را افزایش دهند. دلیل دیگر همراهی‌های مثبت کاذب، طبقه‌بندی‌های جمعیتی است که جمعیت دربرگیرندهٔ زیرگروه‌هایی از نیاکان متفاوت بوده و بیماری و آلل مورد نظر در یک زیرگروه مشترک باشند. مثال معروفی در مطالعهٔ Schork و Lander گزارش شد که در جمعیت سان‌فرانسیسکو بین HLA-A1 با توانائی غذاخوردن با چوب، همراهی وجود دارد. این همراهی به آسانی با این حقیقت که HLA-A1 در بین چینی‌های شایع‌تر از اروپایی‌هاست، توضیح داده می‌شود!

روش ژن کاندید (Candidate gene approach) در تعداد زیادی از همراهی‌های تکرار شده، به‌طور گسترده انجام شده است. دو پیشرفت حائز اهمیت این امکان را فراهم کردند که در مطالعات به جای این روش، از یک روش گستردهٔ ژنومی در مطالعات همراهی استفاده شود: اولین مورد توسعه تکنولوژی ریزآرایه برای تهیه سریع و ارزان ژنوتیپ صدها هزار SNPs در هزاران نفر و دومین روش ایجاد کاتالوگ مرجع از SNPs، عدم تعادل پیوستگی و نقشه هاپلوتیپ‌های بین‌المللی (Hap Map) می‌باشند.

پروژهٔ HapMap

(www.hapmap.org)

اگرچه تخمین زده شده است که بیش از ۱۰ میلیون SNP در ژنوم انسان وجود دارد، بسیاری از SNPها در عدم تعادل پیوستگی بوده و بنابراین با هم به ارث می‌رسند. نواحی SNPهای پیوسته به‌عنوان **هاپلوتیپ** (Haplotypes) شناخته می‌شوند. در پروژه بین‌المللی HapMap تعیین فراوانی‌های SNPها و هاپلوتیپ‌ها در جمعیت‌های مختلف انجام می‌شود (جدول ۴-۹). تا سال ۲۰۰۷ در این پروژه، ژنوتیپ بیش از ۳ میلیون SNP در ۲۷۰ نمونه از اروپا، آسیای شرقی و آفریقای غربی تهیه شد.

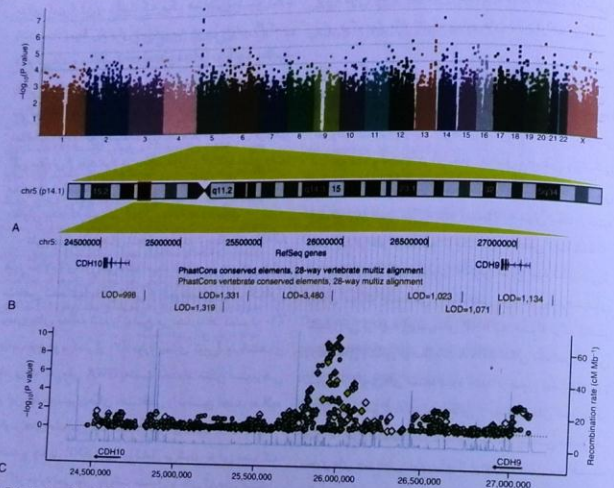
این نتایج نشان دادند که اکثر SNPها با یک یا چند SNP مجاورشان قویاً مرتبط می‌باشند. به این معنا که با تهیه ژنوتیپ تقریباً ۵۰۰,۰۰۰ SNP در اکثر جوامع، می‌توانیم اطلاعاتی در مورد اکثر SNPهای شایع ژنوم انسان (با فراوانی آللی کم ۵٪) به‌دست آوریم. در جوامع آفریقایی تعداد مورد نیاز تقریباً ۱ میلیون SNP است، زیرا عدم تعادل پیوستگی کلی کمتری دارند.

از سال ۲۰۰۷ داده‌های ژنوتیپی به پروژهٔ HapMap اضافه شده‌اند که از هفت جمعیت دیگر به‌دست آمده بودند، به‌طوری‌که نمونه‌های جمعیتی HapMap اولیه گسترش یافتند. با تهیه ژنوتیپ SNPها در مقیاس بالا، این منبع ارزشمند نسل جدیدی از مطالعات همراهی را ممکن می‌سازد، که می‌توان تغییرات SNPهای شایع کل ژنوم را فقط در یک آزمایش به‌دست آورد.

مطالعات همراهی گسترده ژنومی

در **مطالعات همراهی گستردهٔ ژنومی** (GWA) محققین واریانت‌ها را در کل ژنوم در یک مطالعه مورد -کنترل، با هم مقایسه می‌کنند، به جای آنکه هر بار فقط یک واریانت را در ژنوم جستجو کنند. از سال ۲۰۰۶ با این روش جدید و قدرتمند، تعداد زیادی همراهی‌های تکرارپذیر گسترده در بین SNPها و بیماری‌های شایع به‌دست آمده‌اند که در سایت www.genome.gov/gwastudies/ به‌صورت کاتالوگ آمده است. تا سال ۲۰۰۹ در مطالعات GWA صدها همراهی تکرارپذیر در بیش از ۸۰ صفت و بیماری شایع تعیین شده‌اند. مثال‌هایی از این همراهی‌ها در فصل ۱۵ آمده است. نتایج یک مطالعه GWA در مورد بیماری اوتیسم در شکل ۷-۹ نشان داده شده است. در یک مطالعهٔ GWA معمول، ژنوتیپ ۵۰۰,۰۰۰ تا یک میلیون SNP در هر فرد با استفاده از یک ریزآرایه (SNP chip) تهیه می‌شود.

یکی از مزایای مطالعات GWA بر روش ژن کاندید این است که آنها «فاقد فرضیه» (hypothesis-free) می‌باشند. هیچ فرض قبلی دربارهٔ اینکه ژن‌ها احتمالاً در بیماری نقش دارند، وجود نداشته و در نتایج همراهی‌ها مشخص می‌شوند، که دیدگاه‌های جدیدی را در مسیرهای بیولوژیکی فراهم نموده و راه‌های جدیدی را برای تحقیقات باز می‌کنند. مثال‌هایی در فصل ۱۵ آورده شده‌اند.



شکل ۷-۹: نتایج یک مطالعه همراهی گستردهٔ ژنومی در مورد طیفی از بیماری‌های اوتیسم. **A**، طرح Manhattan (Manhattan Plot) بر اساس $-\log 10$ (P value) در مقابل موقعیت ژنومی. هر نقطه از داده‌ها نمایانگر همراهی بین یک پلی‌مورفیسم تکنوکلئوتیدی (SNP) و اوتیسم است که بر طبق موقعیت آنها در ژنوم مرتب شده و هر کروموزوم با رنگ متفاوتی نشان داده شده است. هرچه موقعیت آن بر روی محور Yها بالاتر باشد، دلیل قوی‌تری بر همراهی است. SNPها بر روی کروموزوم 5p14.1 بیشترین همراهی را نشان می‌دهند. **B**، ناحیهٔ ژنومی 5p14.1 در جستجوگر ژنومی UCSC نشان داده شده است. (http://genome .ucsc.edu). **C**، بزرگ‌نمایی در ناحیهٔ 5p14.1: هر دو مورد SNP ژنوتیپ شده (سفیدرنگ) و SNPهای وارد شده (استنباط شده از عدم تعادل پیوستگی با SNPهای ژنوتیپ شده: دایره‌های خاکستری) به‌صورت نمودار درآمده‌اند که مقادیر $-\log 10$ (مقادیر P) بر روی محور Y در مقابل موقعیت ژنومی بر روی محور X نشان داده شده‌اند. رنگ SNPهای ژنوتیپ شده، بر اساس ارتباط آنها با قوی‌ترین همراهی SNP می‌باشد (قرمز = زیاد، زرد = متوسط و سفید = کم). مقادیر نوترکیبی تخمین زده شده از داده‌های HapMap به‌صورت نمودار درآمده‌اند تا ساختار عدم تعادل پیوستگی موضعی را منعکس نمایند.

توسعه معیارهای آماری جدید برای مطالعات GWA حائز اهمیت بوده است. اگر بخواهیم یک آزمون آماری را در مورد مقایسه همراهی فراوانی یک SNP بین موارد بیمار و کنترل انجام دهیم، احتمالاً باید مقادیر P کمتر از ۰/۵ را به‌عنوان حالتی که بعید است به‌صورت تصادفی رخ دهد، تفسیر کنیم. به‌هرحال در آزمایشات همراهی‌ها با تعداد در حال افزایش SNP، مقادیر P آستانه‌ای نیاز به تغییر دارند: ۱ آزمایش در هر ۲۰ آزمایش مقادیر P کمتر از ۰/۵ تصادفی خواهد داشت. بر اساس اطلاعات HapMap اروپا، تقریباً ۱ میلیون SNP شایع در ژنوم وجود دارند که مستقل از هم می‌باشند (به عبارت دیگر در عدم تعادل پیوستگی کمی با سایر SNPها می‌باشند). بنابراین یک مطالعهٔ جامع GWA در مورد واریانت‌های شایع، معادل بررسی تقریباً یک میلیون فرضیه است. در نتیجه در مطالعات GWA $P = 5 \times 10^{-8}$ به‌عنوان حد آستانه پذیرفته شده است که در

مقادیر کمتر از آن بعید است که یک همراهی، مثبت کاذب باشد. تعداد نمونهٔ زیاد برای دستیابی به چنین مقادیر P کمی لازم می‌باشد و متاآنالیز (Meta - analysis) دو یا چند مطالعه، روش معمولی برای افزایش تعداد نمونه‌ها می‌باشد. داده‌های متراکم SNP را می‌توان برای تعیین طبقه بندی جمعیتی در مطالعات GWA مورد استفاده قرار داد. مثلاً اگر فردی فراوانی آللی متفاوتی از بقیه افراد در مطالعهٔ هزاران SNP را نشان دهد، ممکن است نمایانگر این مطلب باشد که آنها دارای نیاهای متفاوتی بوده، که سبب می‌شود از مطالعه حذف شوند.

علی‌رغم موفقیت‌های به‌دست‌آمده از مطالعات GWA، هنوز سؤالات زیادی باقی‌مانده است. تا امروز همراهی‌های مشخص شده، تنها بخش کمی از توارث‌پذیری هر کدام از بیماری‌های مطالعه شده را توضیح می‌دهند (مثلاً کمتر از ۱۰٪ دیابت نوع دو و کمتر از ۲۰٪ موارد بیماری کرون). واریانت‌های نادری که به روش GWA به‌دست نیامده‌اند ممکن است برخی از این توارث‌پذیری‌های نامشخص را توضیح دهند. بعلاوه لکوس‌های مشخص شده معمولاً اندازه‌ای حدود ۱۰ تا ۱۰۰ kb داشته و چندین SNP مرتبط را شامل می‌شوند. به این معنا که در اکثر موارد نمی‌توان واریانت مسئول یا حتی ژن‌های مسئول در بیماری را شناسایی کرد. تکنیک‌های بیشتری از جمله توالی‌یابی مجدد (resequencing) نواحی مرتبط به هم، برای درک کامل همراهی‌ها ضروری می‌باشند.

پروژه هزار ژنوم

(www.1000genomes.org)

پروژه هزار ژنوم که یک نوآوری جدید در مقیاس زیاد است، در سال ۲۰۰۸ آغاز شد. هدف این پروژه، گسترش دسترسی عمومی به کاتالوگ تغییرات انسانی به‌دست آمده از توالی‌یابی ژنوم ۱۰۰۰ نفر در سراسر دنیا می‌باشد. این مورد با نقشه‌یابی دقیق آلل‌ها با فراوانی کم، در حدود ۱٪ فراهم شده و نه تنها SNP، بلکه سایر انواع واریانت‌ها از جمله پلی‌مورفیسم‌های تعداد کپی (حذف‌ها و مضاعف‌سازی‌ها) را نیز شامل می‌شود. همراه با مطالعات در حال انجام GWA و پیشرفت‌های تکنولوژی توالی‌یابی‌های موازی با بازدهی بالا (high – throughput)، پروژه هزار ژنوم در چند سال آینده، نوید دیدگاه‌های جدیدی را برای درک بهتر ما از ژنتیک بیماری‌های شایع فراهم می‌کند.

نتیجه‌گیری

اصطلاح چندعاملی برای توصیف الگویی از توارث به‌کار می‌رود که توسط بسیاری از بیماری‌های شایع با تجمع خانوادگی مشاهده شده و احتمالاً در اثر تعامل عوامل محیطی و ژنتیکی ایجاد می‌گردند. اساس مکانیسم ژنتیکی این بیماری‌ها به‌خوبی شناخته نشده است. مدل آستانه / استعداد به‌عنوان یک فرضیه جالب باید در نظر گرفته شود تا یک حقیقت علمی ثابت شده.

تحقیقات در زمینه بیولوژی ملکولی شروع شده تا برخی از رازهای توارث چندعاملی را مشخص نمایند. پیشرفت‌های تکنولوژیکی در تهیه ژنوتیپ‌های SNP به همراه درک بیشتر واریانت‌های ژنتیکی در مطالعات GWA، امکان مشخص نمودن بسیاری از لکوس‌های مستعدکنندهٔ جدید در مورد بیماری‌های پلی‌ژنی را فراهم کرده‌اند. نمونه‌هایی از پیشرفت‌های امروزی در فصل ۱۵ شرح داده شده‌اند. تأکید بر، اساس ژنتیکی دخیل در بیماری‌های چندعاملی، نباید مانع از توجه محققین به اهمیت شناسایی عوامل محیطی مسئول شود. این مورد به‌خوبی در مورد اثرات سودمند مصرف مکمل‌های اسید فولیک در جلوگیری از نقایص لوله عصبی نشان داده شده است.

مطالعات بیشتر

Botstein D, Risch N 2003 Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for Mendelian disease, future approaches for complex disease. Nature Genet Suppl 33:228-237

Comprehensive review article that suggests future strategies for identifying genes underlying complex disease.

Falconer DS 1965 The inheritance of liability to certain diseases estimated from the incidence among relatives. Ann Hum Genet 29:51-76

The original exposition of the liability/threshold model and how correlations between relatives can be used to calculate heritability.

Fraser FC 1980 Evolution of a palatable multifactorial threshold model. Am J Hum Genet 32:796-813

An amusing and 'reader-friendly' account of models proposed to explain multifactorial inheritance.

McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, et al 2008 Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. Nat Rev Genet 9:356-369

Detailed review article on genome-wide association studies, which gives a comprehensive overview of the methods and highlights the various challenges which still need to be addressed in the search for complex disease genes.

نکات مهم

۱- مفهوم توارث چندعاملی برای بدشکلی‌های مادرزادی شایع و بیماری‌های اکتسابی مطرح شد که تجمع خانوادگی غیرمندلی نشان می‌دهند. این بیماری‌ها به نظر می‌رسد در اثر تعامل عوامل محیطی و ژنتیکی ایجاد شوند.

۲- صفات انسانی مثل قد و هوش که توزیع طبیعی پیوسته در جمعیت عمومی نشان می‌دهند احتمالاً در اثر، اثرات افزایشی بسیاری از ژن‌ها (یا به عبارتی توارث پلی‌ژنی) ایجاد می‌گردند.

۳- بر طبق مدل آستانه / استعداد برای توارث چند عاملی، استعداد پذیری محیطی و ژنتیکی جمعیت، که به‌عنوان استعداد شناخته می‌شود، توزیع طبیعی دارد. در افراد مبتلا، استعدادشان از حد آستانه، بر روی منحنی استعداد می‌گذرد.

۴- میزان خطر عود مجدد در خویشاوندان برای بیماری‌های چندعاملی تحت تأثیر شدت بیماری، درجه خویشاوندی با فرد شاخص بیمار، تعداد خویشاوندان نزدیک مبتلا و اگر میزان بروز بیماری در جنسیتی خاص بیشتر باشد به جنسیت فرد شاخص بیمار، بستگی دارد.

۵- توارث‌پذیری مقیاسی است از نسبت کل واریانس یک صفت یا بیماری که به دلیل واریانس ژنتیکی ایجاد شده باشد.

۶- لکوس‌هایی که به استعدادپذیری به بیماری‌های چندعاملی نسبت داده می‌شوند را می‌توان توسط (a) جستجوی همراهی بیماری‌ها با واریانت‌ها و ژن‌های کاندید (b) آنالیز پیوستگی، مثلاً با جستجو نواحی کروموزومی که در جفت خواهر ـ برادرهای مبتلا، از نیای مشترک به ارث رسیده باشند و (c) انجام مطالعات همراهی گستردهٔ ژنومی برای مقایسه واریانت‌های ژنتیکی در طول کل ژنوم، در مطالعات مورد بیمار ـ کنترل در تعداد زیاد. روش (c) تاکنون موفق‌ترین روش بوده است.

بخش ۲
ژنتیک در
پزشکی

فصل ۱۰

هموگلوبین و هموگلوبینوپاتی‌ها

«خون معجون بسیار مخصوصی است»

«یوهان ولفگانگ فون گوته، در کتاب "Fausti"»

حداقل سالیانه دویست و پنجاه هزار نفر در جهان با نوعی ناهنجاری ساختار و عملکرد هموگلوبین (Hb) که به **هموگلوبینوپاتی** «hemoglobinopathy» مشهور است متولد می‌شوند. بنابراین هموگلوبینوپاتی‌ها به عنوان یک گروه منفرد از ناهنجاری‌هایی که از توارث مندلی پیروی می‌کنند، دارای بیشترین تأثیر در بیماری‌زایی و مرگ و میر هستند. مفهوم حرکت (mobility) در یک جامعه مدرن به معنای این است که اجتماعات جدید با فراوانی بالای هموگلوبینوپاتی‌ها در کشورهایی ایجاد شده‌اند که نرخ فراوانی این بیماری در جمعیت بومی در آن کشورها پایین است. بنابراین وجود این دسته از بیماری‌ها حائز اهمیت بوده و در همین راستا بسیاری از کشورها برنامه‌های غربال‌گری را به اجرا گذاشته‌اند. تخمین زده می‌شود که در انگلستان و والز (Wales) حدود ششصد هزار فرد سالم که حامل واریانت‌های Hb باشند، وجود دارد. قابل توجه اینکه هموگلوبینوپاتی‌ها به عنوان الگویی برای فهم ما از آسیب‌شناسی بیماری‌های ارثی در سطح بالینی، پروتئین و DNA به‌کار گرفته شده‌اند. برای درک بهتر هموگلوبینوپاتی‌ها و اثرات بالینی آنها ضروری است که ابتدا ساختار، عملکرد و ساخته‌شدن Hb را مد نظر قرار دهیم.

ساختار هموگلوبین (Hb)

Hb پروتئینی است که در گلبول‌های قرمز خون وجود دارد و مسئول حمل اکسیژن است. در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر خون حدود ۱۵ گرم Hb وجود دارد که همین موضوع مطالعه هموگلوبین را تسهیل کرده است.

آنالیز پروتئین

اینگرام (Ingram) در سال ۱۹۵۶ با تفکیک محصولات حاصل از تجزیهٔ Hb انسانی در اثر تیمار با آنزیم پروتئولیتیک تریپسین، ۳۰ قطعه پلی‌پپتید مجزا از هم به‌دست آورد. تریپسین زنجیره‌های پلی‌پپتیدی را در محل اسیدهای آمینه آرژنین و لیزین برش می‌دهد. تا قبل از آن، آنالیز ۵۸۰ اسید آمینه Hb انسانی نشان داده بود که در این پروتئین در کل ۶۰ لیزین و آرژنین وجود دارد که با توجه به این موضوع پیشنهاد شد که Hb از دو زنجیره پلی‌پپتیدی یکسان پپتیدی که هر یک دارای ۳۰ لیزین و آرژنین است، تشکیل شده است.

در همین زمان گزارشی منتشر شد که در یک خانواده دو واریانت هموگلوبین Hb Hopkins II ، HbS هر دو با هم در برخی از اعضای خانواده وجود داشتند. چندین عضو این خانواده که دارای هر دو واریانت بودند، فرزندانی با Hb طبیعی داشتند، که بچه‌هایی هتروزیگوت برای یک واریانت Hb و همچنین زاده‌هایی همانند والدین خود به‌صورت هتروزیگوت‌های دوگانه برای هر دو واریانت هموگلوبینی بودند. این مشاهدات شواهدی را در مورد پیشنهاد این که حداقل دو جایگاه ژنی در تولید Hb انسانی نقش دارند، فراهم کرد.

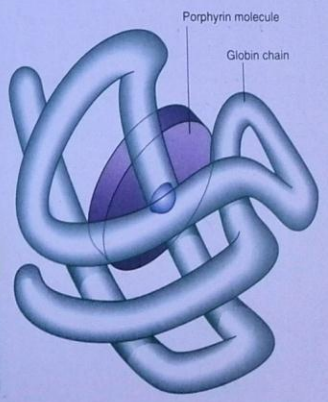
کمی بعد توالی آمینواسیدی انتهای آمین Hb انسانی تعیین شد و مشخص شد توالی‌های والین ـ لوسین و والین ـ هیستیدین با نسبت مولی یکسان، طوری که دو مول از هر یک از این توالی‌ها از هر مول Hb حاصل می‌شود، در انتهای آمین قرار می‌گیرند. این نتایج با حالتی که در آن Hb انسانی از یک تترامر شامل دو جفت پلی‌پپتید مختلف موسوم به زنجیره‌های آلفا گلوبین و بتاگلوبین تشکیل شده باشد، سازگار است.

آنالیز آهن موجود در Hb انسانی آشکار کرده که آهن ۰/۳۵ درصد وزن آن را تشکیل می‌دهد و از این طریق تخمین زده شد که Hb انسانی دارای وزن ملکولی حدود ۱۶۰۰۰ دالتون است. اما تعیین وزن ملکولی Hb انسانی با روش‌های فیزیکی مقدار ۶۴۰۰۰ دالتون را تخمین زد که با ساختار تترامری $\alpha_2\beta_2$ پیشنهادشده (که در این ساختار هر زنجیرهٔ گلوبینی دارای گروه هم حاوی آهن مربوط به خود است)، سازگار بود (شکل ۱-۱۰).

محققین بعدی نشان دادند که Hb انسان‌های بالغ همچنین حاوی یک بخش کوچک شامل ۲ تا ۳ درصد از کل Hb است که حرکت الکتروفورزی آن متفاوت از بخش دیگر می‌باشد. بخش عمده HbA و بخش کمتر HbA_2 نامیده شد. مطالعات بعدی آشکار کرد که HbA_2 یک تترامر متشکل از دو زنجیره آلفا و دو زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی دیگر است که توالی آمینواسیدی آن شباهت زیادی به زنجیره بتا داشته و این زنجیره دلتا (δ) نامیده شد.

بیان هموگلوبین در طول تکوین

آنالیز Hb جنین انسان مشخص کرد که عمدتاً حاوی Hb با حرکت الکتروفورزی متفاوت از HbA طبیعی انسان بالغ است و Hb جنینی یا HbF نامیده شد. آنالیزهای بعدی نشان داد که HbF تترامری است که از دو زنجیره آلفا و دو زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی دیگر که توالی آن شبیه زنجیره بتا بوده و گاما (γ) نامیده می‌شود، تشکیل شده است. HbF حدود ۰/۵ درصد هموگلوبین خون یک فرد بالغ را تشکیل می‌دهد.



شکل ۱-۱۰: شکل شماتیک یکی از زنجیره‌های گلوبینی و ملکول پورفیرین متصل به هموگلوبین انسانی

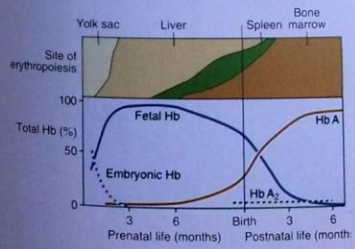
آنالیز Hb جنین‌های با سنّ حاملگی کمتر، ماهیّت (انتولوژی) و ترتیب ایجاد انواع Hb های جنینی را آشکار ساخت: Hb Gower I، Hb Gower II و Hb Portland که به طور موقتی در مقادیر مختلف در سنین مختلف حاملگی در جنین ساخته می‌شوند. این Hbها تترامرهای متشکل از ترکیب متنوعی از زنجیره‌های آلفا (α) و شبه آلفا (α-like) موسوم به زتا (ζ) که با زنجیره‌های بتا (β) و شبه بتا (β-like) مانند گاما (γ) و اپسیلون (ε) ترکیب شده‌اند. هستند (جدول ۱-۱۰). اگرچه هر دو زنجیره ζ و ε به‌طور موقتی در اوایل حیات رویان بیان می‌شوند، ولی زنجیره‌های α و γ در سرتاسر تکوین بیان شده و با رفتن به سمت پایان انتهای دوره جنینی سطح بیان زنجیره بتا افزایش می‌یابد (شکل ۲-۱۰).

ساختار زنجیرهٔ گلوبینی

آنالیز ساختار زنجیره‌های گلوبینی منفرد در ابتدا در سطح پروتئین انجام شد.

مطالعات پروتئین

توالی اسیدآمینه‌ای پلی‌پپتیدهای گلوبینی مختلف در دهه ۱۹۶۰ نشان داد که زنجیره آلفا ۱۴۱ اسیدآمینه طول دارد، در حالی که زنجیرهٔ بتا یک زنجیرهٔ ۱۴۶ اسیدآمینه‌ای است. توالی آمینواسیدی این دو زنجیره اگرچه مشابه بود، ولی به هیچ وجه یکسان نبود. توالی زنجیره δ با زنجیره β ده اسیدآمینه اختلاف دارد و بررسی زنجیره γ نشان داد بسیار شبیه زنجیره β است و با آن در ۳۹ اسیدآمینه اختلاف دارد. علاوه بر این مشخص



شکل ۲-۱۰: ساخته شدن هموگلوبین در طول تکوین قبل و بعد از تولد. چندین نوع هموگلوبین رویانی وجود دارد.

جدول ۱-۱۰ هموگلوبین‌های انسانی

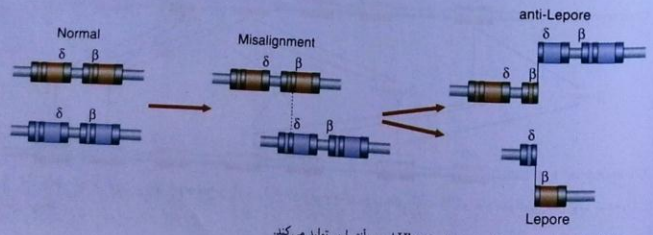
مرحله تکوینی	هموگلوبین	ساختار	مقدار هموگلوبین در انسان بالغ (٪)
رویانی (embryonic)	Gower I	$\zeta_2\varepsilon_2$	-
	Gower II	$\alpha_2\varepsilon_2$	-
	Portland I	$\zeta_2\gamma_2$	-
جنینی (Fetal)	F	$\alpha_2\gamma_2$	<۱
بالغین	A	$\alpha_2\beta_2$	۹۸-۹۷
	A_2	$\alpha_2\delta_2$	۳-۲

گردید که دو نوع HbF وجود دارد، که در آنها زنجیره γ در موقعیت اسیدآمینه ۱۳۶ می‌تواند حاوی گلایسین یا آلانین باشد که به ترتیب این دو نوع هموگلوبین γ(G) و γ(A) نامیده شدند. آنالیز نسبی توالی زنجیره‌های ε و ζ در Hb رویانی پیشنهاد می‌کند که ζ از نظر توالی آمینواسیدی به α شبیه است، در حالی که زنجیره‌های ε و β شبیه یکدیگرند.

نقشه‌برداری و تعیین موقعیت ژن گلوبین

شواهد اولیه در مورد سازماندهی انواع مختلف ژن‌های ساختاری هموگلوبین بر روی کروموزوم‌های انسان، در آنالیز یک واریانت الکتروفورزی Hb موسوم به Hb لپور، حاصل شد. مقایسه Hb لپور تجزیه شده با تریپسین با Hb طبیعی آشکار کرد که زنجیره‌های آلفا طبیعی بوده، در حالی که زنجیره‌های غیرآلفا شامل توالی آمینواسیدی شبه دلتا در انتهای آمین خود و توالی آمینواسیدی شبه‌بتا در انتهای کربوکسیل خود هستند. بنابراین پیشنهاد شد که Hb لپور یک زنجیرهٔ هموگلوبینی ادغامی است که به دلیل یک کراس‌اور نابرابر که در نتیجه جفت‌شدن اشتباه ژن‌های بتاگلوبین و دلتاگلوبین در حین میوز به دلیل شباهت توالی دو ژن و نزدیک‌بودن جایگاه ژن‌های بتاگلوبین و دلتاگلوبین موجود بر روی یک کروموزوم ایجاد شده است (شکل ۳-۱۰). اگر این فرضیه درست باشد، بنابراین باید Hb ادغامی «آنتی لپور» (یعنی محصول ادغامی β-δ globin که در آن زنجیره‌های غیرآلفا حاوی توالی‌های زنجیره β در انتهای آمین خود و توالی زنجیره δ در انتهای کربوکسیل خود است) نیز باید وجود داشته باشد. همانطور که پیش‌بینی شده بود در اواخر دهه ۱۹۶۰ در ژاپن یک واریانت الکتروفورزی Hb جدید، موسوم به Hb Miyada (Hb میادا) شناسایی شد، که آنالیز تجزیهٔ تریپسین آن نشان داد که حاوی توالی بتاگلوبین در انتهای آمینو و توالی دلتا گلوبین در انتهای کربوکسیل می‌باشد.

شواهد بیشتر در سطح پروتئین برای نقشه‌برداری فیزیکی ژن‌های هموگلوبین انسانی، با گزارشی در مورد یک واریانت



شکل ۳-۱۰: مکانیسم کراس‌اور نابرابر که Hb لپور و آنتی‌لپور تولید می‌کند.

الکترفورزی دیگر به نام Hb کنیا فراهم گردید. آنالیز توالی آمینواسیدی مشخص کرد که محصول ادغامی γ-β حاصل کراس‌اُوری است که در بین اسید آمینه ۸۱ و ۸۶ دو زنجیره گلوبینی اتفاق افتاده است. استدلال شد که به دلیل تولید این پلی‌پپتید ادغامی، پس ژن ساختاری گاماگلوبین باید از نظر فیزیکی در نزدیک ژن بتاگلوبین قرار داشته باشد. شواهد اندکی از مطالعات پروتئین دربارهٔ نقشه ژنی آلفاگلوبین به دست آمد. در طی مطالعات خانوادگی، وجود HbA طبیعی در افرادی که باید برای یک واریانت خاص زنجیره α هموزیگوت یا هتروزیگوت مرکب اجباری باشند، پیشنهاد کرد که احتمالاً بیش از یک ژن آلفاگلوبین وجود دارد. علاوه بر این در نسبت کلی Hb ، مقدار واریانت‌های زنجیره α در هتروزیگوت‌های این واریانت، کمتر (کمتر از ۲۰٪) از مقداری بود که در مورد زنجیره β دیده می‌شد (معمولاً بیش از ۳۰٪)، که پیشنهاد شد که این امکان وجود دارد که بیش از یک ژن ساختاری آلفا ـ گلوبین وجود داشته باشد.

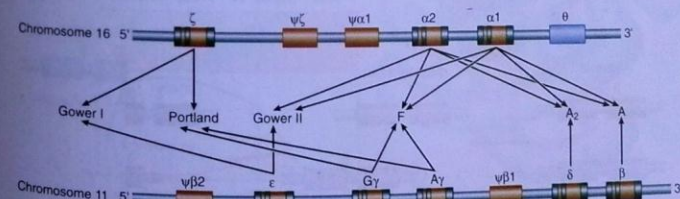
ساختار ژن گلوبین

تعیین جزئیات ساختاری ژن‌های گلوبین به وسیلهٔ آنالیز DNA امکان‌پذیر شد. گلبول‌های قرمز نابالغ یا رتیکولوسیت‌ها که منبع غنی از RNA پیک (mRNA) گلوبین هستند برای ساختن DNA مکمل (cDNA)، مورد استفاده قرار گرفتند. استفاده از cDNA بتاگلوبین در مطالعات نقشه‌برداری محدود شده (restriction mapping) ملکول DNA افراد سالم نشان داد که ژن‌های گلوبینی شبه‌بتا (غیر آلفا) در یک گسترهٔ ۵۰ کیلوبازی در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۱ قرار گرفته‌اند (شکل ۴-۱۰). کل توالی این ناحیه ۵۰ کیلوبازی که حاوی ژن‌های ساختاری گلوبینی مختلفی است، شناخته شده است. در این ناحیه توالی‌های غیرعملکردی که توالی آن مشابه ژن‌های ساختاری گلوبینی است وجود دارد. این توالی‌ها هیچ پیام قابل شناسایی و یا محصول پروتئینی تولید نمی‌کنند و بنابراین ژن‌های کاذب (pseudogenes) هستند.

مطالعه ژن‌های ساختاری آلفاگلوبین نشان داد که دو ژن ساختاری α ـ گلوبین موسوم به α_1 و α_2 بر روی کروموزوم 16p واقع شده‌اند (شکل ۴-۱۰). توالی DNA تفاوت‌های نوکلئوتیدی موجود در بین این دو ژن ساختاری را آشکار کرد، اگرچه زنجیره‌های α ـ گلوبین بیان شده دارای توالی آمینواسیدی یکسانی هستند که این حالت، مشاهده‌ای به نفع پدیده لغزش (انحطاط) (degeneracy) کد ژنتیکی بود. علاوه بر این دو ژن ساختاری، ژن‌های pseudo-α ، pseudo-ζ و ژن ζ در طرف 5' ژن‌های آلفاگلوبین واقع شده‌اند. همچنین ژن گلوبین θ نیز در طرف ۳ ژن α_1 ـ گلوبین واقع شده است. ژن θ- گلوبین که نقش آن ناشناخته مانده است از این جهت جالب است که برخلاف ژن‌های کاذب گلوبینی که رونویسی نمی‌شوند، دارای ساختار ژنی سازگار با بیان ژن است. پیشنهاد شده است که این ژن می‌تواند در بافت‌های اولیه سازنده گلبول قرمز (erythroid) همچون کبد جنین و کیسه زرده بیان شود.

ساخته‌شدن و تنظیم بیان هموگلوبین

مطالعه ترجمه بر روی mRNA رتیکولوسیت‌ها نشان داد که زنجیره‌های α و β گلوبین به نسبت تقریباً برابری سنتز



٤-١٠: نواحی α و β گلوبین بر روی کروموزوم‌های ۱۶ و ۱۱ که ژن‌های ساختاری و ژن‌های کاذب (Ψ) و انواع هموگلوبین‌های تولید شده را نشان می‌دهد.

جدول ۲-۱۰ واریانت‌های ساختاری هموگلوبین

نوع جهش	مثال‌ها	تغییرات زنجیره / اسیدآمینه (ها)
نقطه‌ای (بیش از ۲۰۰ واریانت)	HbS	زنجیرهٔ β، تبدیل glu (اسیدآمینه ۶) به val
	HbC	زنجیرهٔ β، تبدیل glu (اسیدآمینه ۶) به lys
	HbE	زنجیرهٔ β، تبدیل glu (اسیدآمینه ۲۶) به lys
حذف (زنجیرهٔ کوتاه شده)	Hb Freiburg	زنجیرهٔ β، حذف ۲۳ تا صفر
	Hb Lyon	زنجیرهٔ β، حذف ۱۷ یا ۱۸ تا صفر
	Hb Leiden	زنجیرهٔ β، حذف ۶ یا ۷ تا صفر
	Hb Gun hill	زنجیرهٔ β، حذف ۹۲-۹۶ یا ۹۳-۹۷ تا صفر
اضافه‌شدن (زنجیرهٔ طویل شده)	Hb Grady	زنجیرهٔ α، مضاعف شدن از ۱۱۶ تا ۱۱۸ (glu ، phe و thr)
تغییر چارچوب (حذف یا اضافه‌شدن مضارب غیر از ۳ نوکلئوتید)	Hb Taks Hb Cranston	زنجیرهٔ *β، 11+ اسیدآمینه، از دست رفتن کدون پایان، افزودن شدت ۲ جفت باز بین کدون‌های ۱۴۶ و ۱۴۷
	Hb Wayne	زنجیرهٔ *α، 5+ اسیدآمینه، به دلیل از دست رفتن کدون پایان به‌وسیله حذف یک جفت باز منفرد بین کدون‌های ۱۳۸ و ۱۳۹
	Hb McKees Rock	زنجیرهٔ *β، 2- اسیدآمینه، جهش نقطه‌ای در اسیدآمینه ۱۴۵ باعث ایجاد کدون پایان زودهنگام می‌شود.
خاتمهٔ زنجیره	Hb Constant Spring	زنجیرهٔ *α، 31+ اسیدآمینه، یک جهش نقطه‌ای در کدون پایان
زنجیره ادغامی (در اثر کراس‌اور نابرابر)	Hb Lepore/anti-lepore	زنجیره غیر α که دارای اسیدآمینه‌های متعلق به زنجیره شبه ـ δ در انتهای N و اسیدهای‌آمینه متعلق به زنجیره شبه ـ β در انتهای کربوکسیل خود است. در Hb آنتی‌لپور برعکس است.
	Hb Kenya/anti-kenya	زنجیره غیرα که دارای اسیدآمینه‌های متعلق به زنجیره شبه ـ γ در انتهای N و اسیدهای‌آمینه متعلق به زنجیره شبه ـ β در انتهای کربوکسیل خود است. در Hb آنتی‌کنیا برعکس است.

* اسیدهای آمینه اضافه‌شده (+) یا اسیدهای آمینه حذف شده (-).

می‌شوند. ولی مطالعات در شیشه (*in vitro*) نشان داد که mRNA بتاگلوبین نسبت به mRNA آلفاگلوبین کمی پربازده‌تر ترجمه می‌شود و این تفاوت در ترجمه با حضور مقادیر نسبی بیشتر mRNA آلفاگلوبین در سلول‌های پیش‌ساز قرمز خون جبران می‌شود. مهم‌ترین سطح تنظیم بیان ژن‌های گلوبین مانند دیگر ژن‌های یوکاریوتی در سطح رونویسی اتفاق می‌افتد. مطالعات DNA بر روی ژن‌های بتاگلوبین و توالی‌های احاطه‌کننده دو طرف آنها آشکار کرد که علاوه بر توالی

پروموتور در طرف ۵′ ژن‌های مختلف گلوبینی، توالی‌هایی به فاصلهٔ ۶ تا ۲۰ کیلوباز از ۵′ ژن ε-گلوبین وجود دارد که برای بیان انواع مختلف ژن‌های گلوبینی ضروری هستند. این بخش **ناحیه کنترل جایگاه** (locus control region = lcr) نامیده می‌شود و تنظیم کننده اختصاصیت بافتی و زمان‌بندی بیانی، یا تبدیل (switching) ژن‌های گلوبین شبه‌بتا در طول تکوین است. ناحیهٔ مشابه‌ای در ۵′ ژن آلفاگلوبین قرار گرفته که در تنظیم بیان این ژن‌ها نقش دارد. هر دو این توالی‌ها در اتصال پروتئین‌ها و فاکتورهای رونویسی دخیل در تنظیم بیان ژن‌های گلوبینی نقش مهمی ایفاء می‌کنند.

ناهنجاری‌های هموگلوبین

ناهنجاری‌های Hb انسانی را می‌توان در دو گروه اصلی دسته‌بندی کرد: (۱) واریانت‌های ساختاری زنجیرهٔ گلوبینی همانند بیماری سلول داسی و (۲) ناهنجاری‌های مربوط به سنتز ژن‌های هموگلوبین که به آن تالاسمی می‌گویند.

ناهنجاری‌های / واریانت‌های ساختاری

اینگرام در سال ۱۹۷۵ نشان داد که تفاوت HbA و HbS به علت جایگزینی والین به جای اسیدگلوتامیک در زنجیره بتا است. از آن به بعد بیش از ۳۰۰ واریانت الکتروفورزی گزارش شده است که به علت طیفی از انواع جهش‌ها ایجاد می‌شوند (جدول ۲–۱۰). ۲۰۰ عدد از این واریانت‌های الکتروفورزی به دلیل جایگزینی‌های تک‌آمینواسیدی در اثر ایجاد جهش‌های نقطه‌ای ایجاد می‌شوند. اکثر واریانت‌ها نادر بوده و با یک بیماری بالینی مرتبط نیستند. معدودی از آنها مرتبط با بیماری بوده و در برخی از جمعیت‌ها نسبتاً شایع هستند.

انواع جهش‌ها

جهش نقطه‌ای

یک جهش نقطه‌ای که منجر به جایگزینی یک اسیدآمینه به جای دیگری شده می‌تواند باعث ایجاد یک هموگلوبین تغییر یافته مانند HbS، HbC یا HbE شود. جهش در این هموگلوبین‌ها از نوع بدمعنی (missense) است.

حذف

تعدادی واریانت Hb وجود دارد که در آن یک یا چند اسیدآمینه در یکی از زنجیره‌های هموگلوبینی حذف شده است (مانند Hb Freiburg).

اضافه‌شدن

بالعکس واریانت‌هایی وجود دارند که در آنها زنجیره‌های گلوبینی به دلیل مضاعف‌شدن، طویل‌تر از حد معمول هستند، مانند Hb Grady.

جهش‌های تغییر چارچوب

جهش‌های تغییر چارچوب شامل بهم خوردن قالب خواندن طبیعی کدون‌های سه‌تایی است که در اثر حذف یا اضافه‌شدن تعداد بازهایی که مضرب صحیحی از سه نباشند، ایجاد می‌شود. در این مورد، ترجمهٔ mRNA تا زمانی که یک کدون پایان در چارچوب جدید خوانده شود ادامه پیدا می‌کند. این واریانت‌ها می‌توانند منجر به تولید زنجیره‌های گلوبینی کوتاه‌تر یا بلندتر شوند.

خاتمهٔ زنجیره

جهش در خود کدون خاتمه می‌تواند منجر به ایجاد یک زنجیره گلوبینی طویل‌تر شود (مانند Hb Constant Spring).

پلی‌پپتیدهای ادغامی

کراس‌اور نابرابر در میوز می‌تواند منجر به ایجاد واریانت ساختاری موسوم به **پلی‌پپتید ادغامی** (fusion polypeptide) شود که Hb Lepore و Hb Kenya مثال‌هایی از این نوع پلی‌پپتیدها هستند.

جنبه‌های بالینی

برخی از واریانت‌های Hb با بیماری‌ها مرتبط هستند، اما بسیاری از آنها بی‌ضرر بوده و عملکرد طبیعی Hb را مختل نمی‌کنند و به‌طور تصادفی در حین بررسی‌های جمعیتی شناسایی شده‌اند. اشکالی از هموگلوبین که در آنها عملکرد طبیعی مختل شده است در جدول ۳–۱۰ فهرست شده‌اند.

جدول ۳–۱۰ ناهنجاری‌های عملکردی واریانت‌های ساختاری هموگلوبین

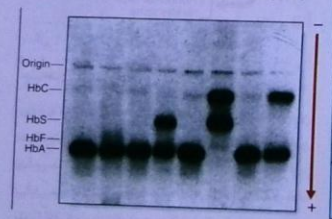
کم‌خونی همولیتیک	
ناهنجاری‌های داسی‌شکل	بیماری HbS/S ، HbS/C یا HbS/O (عرب)، HbS/D (پنجاب)، β-thalassemia / Hbs ، HbS/Lepore ، دیگر جهش‌های نادر هموزیگوت داسی شامل HbS- Hb S-Oman ، Antilles
هموگلوبین ناپایدار	Hb Kölen Hb Gun Hill Hb Bristol
سیانوز	
هموگلوبین M (متموگلوبینمی)	HbM (Boston) HbM (Hyde Park)
هموگلوبین با تمایل کم به اکسیژن	Hb Kansas
پلی‌سیتمی	
هموگلوبین با تمایل زیاد به اکسیژن	Hb Chesapeake Hb Heathrow

اگر جهش درون زیرواحدهای گلوبینی در مجاورت پاکت هم، یا در نواحی تماس بین‌زنجیره‌ای ایجاد شود، یک ملکول Hb ناپایدار تولید می‌کند که در گلبول قرمز می‌تواند باعث آسیب به غشاء و در نتیجه همولیز سلول شود. همچنین جهش می‌تواند با عملکرد طبیعی Hb در انتقال اکسیژن مداخله کرده و باعث تمایل کمتر یا بیشتر به اکسیژن شده و یا باعث ایجاد Hb شود که در فرم احیاء شده خود پایدار است و به آن **مت‌هموگلوبین** (methemoglobin) می‌گویند.

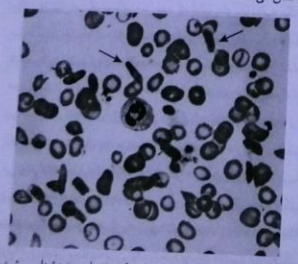
واریانت‌های ساختاری Hb که توسط روش‌های الکتروفورزی شناسایی شده‌اند تنها بخشی از تمام واریانت‌هایی است که وجود دارند، زیرا تخمین زده می‌شود که تنها یک سوم جهش‌های محتمل در Hb می‌تواند باعث تغییر بار در ملکول Hb شده و با الکتروفورز قابل تشخیص می‌باشند (شکل ۵–۱۰).

بیماری سلول داسی

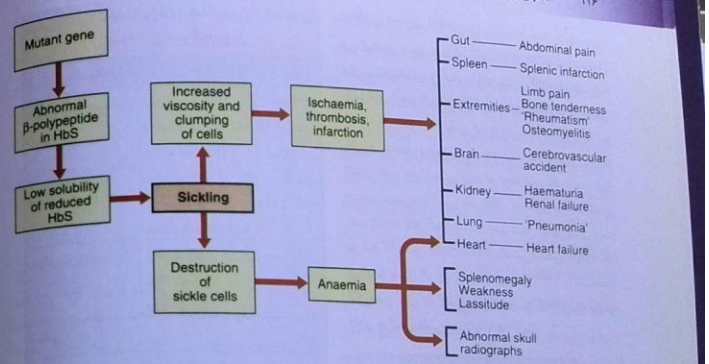
این کم‌خونی همولیزکننده ارثی ابتدا از لحاظ بالینی در اوایل قرن بیستم شناسایی شد، اما در سال ۱۹۴۰ بیان شد که گلبول‌های قرمز افراد مبتلا به بیماری سلول داسی‌شکل (Sickle Cell = SC) وقتی که در زیر میکروسکوپ با نور پلاریزه مشاهده می‌شود نور را به صورت مضاعف می‌شکند (تبدیل به دو نوع اشعه می‌کند)، که ایجاد این حالت به دلیل پلی‌مریزاسیون هموگلوبین داسی‌شکل است. این نوع هموگلوبین تحت شرایط فاقد اکسیژن باعث تغییر شکل گلبول‌های قرمز می‌شود که به این حالت اصطلاحاً **داسی‌شدن** (Sickling) می‌گویند (شکل ۶–۱۰). پائولینگ در سال ۱۹۴۹ با استفاده از الکتروفورز نشان داد که این هموگلوبین که HbS نامیده می‌شود دارای حرکت متفاوتی نسبت به HbA است.



شکل ۵–۱۰: الکتروفورز هموگلوبین، که هموگلوبین‌های A ، C و S را نشان می‌دهد.



شکل ۶–۱۰: پوشش (فیلم) خون که نشان‌دهندهٔ داسی‌شدن گلبول‌های قرمز در بیماری سلول داسی است. سلول‌های داسی‌شکل با پیکان مشخص شده‌اند.



شکل ۷-۱۰: اثرات پلیوتروپیک ژن بیماری سلول داسی

جنبه‌های بالینی بیماری SC

بیماری SC که از توارث اتوزومی مغلوب پیروی می‌کند شایع‌ترین هموگلوبینوپاتی است. در انگلستان حدود ۳۱۰،۰۰۰ نفر حامل این بیماری هستند و سالانه ۴۰۰ حاملگی، دارای فرزندی مبتلا به این بیماری هستند. بیماری مخصوصاً در مناطقی از جهان که در آنجا مالاریا اندمیک است شایع است. به دلیل اینکه سلول‌های قرمز داسی هتروزیگوت، آنتی‌ژن مالاریا یا آنتی‌ژن خودی را به‌طور مؤثرتری بیان می‌کنند، باعث می‌شود که سلول‌های آلوده به انگل سریعاً از جریان خون حذف شوند. بنابراین، این شرایط برای انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم نامطلوب است و هتروزیگوت‌های SC تا حدی نسبت به حملهٔ مالاریا محافظت می‌شوند. چون این افراد در این شرایط از لحاظ بیولوژیک قوی‌تر و لایق‌تر (fitter) هستند، ژن SC می‌تواند به نسل بعد منتقل شود و در طول زمان این حالت می‌تواند منجر به فراوانی نسبتاً بالای ژنی در نواحی آلوده به مالاریا شود (مراجعه به فصل ۸). تظاهرات بالینی بیماری سلول داسی شکل متعدد بوده و شامل **بحران سلول داسی** (Sickle Cell crisis) دردناک، بحران سینه، بحران آپلاستیک، بحران جداسازی طحال (Splenic sequestration crisis)، نعوظ دائم (Priapism)، بیماری کلیوی و سکته (Cerebrovascular accident) هستند.

فشار خون بالای ریوی ممکن است ایجاد شده و از کار افتادگی قلبی می‌تواند با کم‌خونی شدید در طول بحران آپلاستیک یا بحران جداسازی طحال همراه شود. همهٔ این موارد نتیجهٔ سلول‌های قرمز داسی‌شکل با شکلی معیوب است که در حین عبور از رگ‌ها کمتر می‌توانند تغییر شکل داده و تمایل دارند که سرخرگ‌های کوچک را مسدود کنند و بنابراین سبب کاهش ذخیرهٔ اکسیژن به بافت‌ها می‌شوند (شکل ۷-۱۰). سلول‌های داسی با غشاهای سلولی آسیب‌دیده به‌وسیلهٔ سیستم رتیکولو اندوتلیال از جریان خون برداشت می‌شوند. مدت بقای کوتاه‌تر گلبول قرمز منجر به برداشت و جایگزینی سریع‌تر سلول‌های قرمز و در نتیجه کم‌خونی (anemia) می‌شود.

بحران داسی باعث کاهش امید به زندگی می‌شود، بنابراین شناسایی و درمان زودهنگام علایم بسیار اهمیت دارد. پنی‌سیلین پیشگیری‌کننده که از خطر عفونت ناشی از انفارکتوس طحال ممانعت می‌کند، بسیار موفق عمل کرده و بقاء بیماران را افزایش داده است. روش سودمند دیگر استفاده از **هیدروکسی‌اوره** (hydroxyurea) است. این داروی شیمیایی ساده به صورت خوراکی هر روز یک بار مصرف می‌شود و نشان داده شده است که باعث افزایش سطح HbF با مکانیسم القای فارماکولوژیک

می‌شود. مشخص شده است که درصد HbF خون می‌تواند شدت بالینی بیماری SC را پیشگویی کند. HbF مانع داسی‌شدن درون سلولی می‌شود و باعث ممانعت از مسدود شدن رگ‌ها و همولیز می‌شود. پیشنهاد شده است که برای ممانعت از مسدودشدن مکرر رگ‌ها حد آستانه ۲۰ درصد HbF لازم است. هیدروکسی اوره در بدن به خوبی تحمل می‌شود، ایمن بوده و بسیاری از ویژگی‌های یک داروی ایده‌آل را داراست. مدیریت دارو و غذای ایالات متحده استفاده از هیدروکسی اوره را چند سال قبل برای بیماران بالغ دارای علائم بالینی شدید تأیید کرد، اما استفاده از آن محدود بوده است. در حال حاضر بحث‌هایی در مورد استفاده وسیع‌تر در کودکان و افراد مبتلای با بیماری خفیف‌تر وجود دارد.

صفت SC

به افراد حامل یا هتروزیگوت آلل SC، **صفت داسی‌شکل** (Sickle Cell trait) می‌گویند و به ارث‌بردن این آلل به طور کلی با هیچ خطر قابل توجهی برای سلامتی همراه نیست. اگرچه ممکن است خطر افزایش یافته اندکی در مورد مرگ ناگهانی مرتبط با تمرین‌های شدید بدنی، خطر احتمالی هیپوکسی در حین پرواز با هواپیما و بیهوشی در زنان باردار مبتلا به صفت SC وجود داشته باشد.

اساس جهش در بیماری SC

اسید آمینه والین در موقعیت ششم زنجیره بتاگلوبین جایگزین اسید گلوتامیک می‌شود. بنابراین، این جهش تغییر یک جفت باز در یک کدون سه نوکلئوتیدی در مکانی است که GAG به GTG تغییر می‌کند. این تغییر در آزمایشگاه با استفاده ازآنزیم محدودکنندهٔ MstII تشخیص داده می‌شود، که در این مورد جایگاه شناسایی آنزیم به‌وسیلهٔ جهش نقطه‌ای موجود در HbS از بین می‌رود و منجر به (Restriction fragment length polymorphism) RFLP تغییر یافته بر روی ژل می‌شود. استفاده از PCR، جایگزین استفاده از این روش شده است.

اختلالات مربوط به سنتز هموگلوبین

تالاسمی‌ها (thalassemias)، شایع‌ترین گروه منفرد بیماری‌های ارثی در انسان هستند که در مردمان سواحل مدیترانه، خاورمیانه، شبه قاره هند و آسیای جنوب شرقی دیده می‌شود. تالاسمی‌ها هتروژن بوده و می‌توان آنها را براساس زنجیره یا زنجیره‌های گلوبینی خاص که به مقدار کمتر ساخته می‌شود طبقه‌بندی کرد (مثلاً α-/α- و $\beta\delta$ تالاسمی).

شباهت‌هایی بین پاتوفیزیولوژی تمام اشکال تالاسمی وجود دارد، اگرچه زنجیره‌های آلفا اضافی معمولاً همولیتیک‌تر از زنجیره‌های B اضافی هستند. عدم تعادل در تولید زنجیره‌های گلوبینی می‌تواند منجر به تجمع زنجیره‌های گلوبینی آزاد در سلول‌های پیش‌ساز قرمز خون شود، که این حالت باعث نامحلول شدن و رسوب‌کردن آنها و همولیز سلول‌های قرمز خون می‌شود (کم‌خونی همولیتیک). از جمله عواقب این حالات، هیپرپلازی مغز استخوان برای جبران همولیز خواهد بود.

آلفا ـ تالاسمی

این بیماری نتیجهٔ تولید کم زنجیره‌های آلفا ـ گلوبین است و عمدتاً در آسیای جنوب شرقی شایع است، همچنین در نواحی مدیترانه‌ای، خاورمیانه، هند و کشورهای جنوب صحرای آفریقا این بیماری شایع بوده و فراوانی حاملین از ۱۵ تا ۳۰ درصد است. دو نوع اصلی آلفا تالاسمی وجود دارد که این دو از نظر شدت بیماری متفاوت هستند. در فرم شدید هیچ زنجیره آلفا ـ گلوبینی تولید نمی‌شود و با مرگ جنینی که به آن **هیدروپس فتالیس** (*hydrops fetalis*) می‌گویند (شکل ۸-۱۰)، مرتبط است. مرگ جنین در اثر ادم وسیع رخ می‌دهد، این ادم به علت از کار افتادگی قلبی در اثر آنمی شدید ایجاد می‌شود. آنالیز Hb چنین جنین‌هایی نشان داد که Hb آنها از نوع Hb Barts بوده و تترامری از زنجیره‌های γ است.

نوع خفیف‌تر تالاسمی که با حیات سازگار است، اگرچه مقداری زنجیرهٔ α تولید می‌شود، اما هنوز مقدار بیش از حد نسبی زنجیره β وجود دارد که باعث ایجاد تترامری از β گلوبین موسوم به HbH و ایجاد **بیماری HbH** می‌شود. تترامرهای گلوبینی HbH و Hb Barts دارای تمایل به اکسیژن مشابه به میوگلوبین بوده و نمی‌توانند به‌صورت طبیعی اکسیژن را در بافت‌های محیطی رها کنند. همچنین HbH ناپایدار بوده و در اثر رسوب باعث همولیز گلبول‌های قرمز خون می‌شود.

شکل ۸-۱۰: اسکن اولتراسونوگرافی طولی از یک سطح تاجی سر (به سمت راست) و سینهٔ یک جنین دارای هیدروپس‌فتالیس که ناشی از شکل شدید آلفا تالاسمی می‌باشد، هموگلوبین بارت (Hb barts) تجمع مایع زیادی را در پرده جنب (فلش) نشان می‌دهد.

اساس جهش در آلفا ـ تالاسمی

عدم سنتز زنجیره‌های آلفا، در هیدروپس فتالیس و کمبود نسبی آلفاگلوبین در بیماری HbH به‌وسیله مطالعات کمّی mRNA در رتیکولوسیت‌ها اثبات شد. مطالعاتی که در آن هیبریدسازی کمّی cDNA آلفاگلوبین نشان‌دار با مواد رادیواکتیو با DNA جنین‌های هیدروپیک و DNA حاصل از بیماران مبتلا به بیماری HbH، حذف ژن‌های آلفا گلوبین را تأیید کردند. مطالعات نقشه‌برداری با آنزیم‌های محدودکننده (restriction mapping) ناحیه آلفا گلوبین، آشکار کرد که بر روی کروموزوم 16p دو ژن ساختاری آلفا-گلوبینی وجود دارد. انواع مختلف α ـ تالاسمی عمدتاً نتیجه حذف یک یا چند عدد از این ژن‌های ساختاری است (شکل ۹-۱۰). تصور بر این است که این حذف‌ها نتیجه رخداد کراس‌اور نابرابر در حین میوز است که بیشتر در مکان‌هایی رخ می‌دهد که ژن‌ها و توالی‌های همولوگ آنها در مجاورت هم قرار گرفته باشند. وجود افرادی با سه زنجیره آلفاگلوبین بر روی یک کروموزوم حمایت‌کننده این فرض است، زیرا می‌توان چنین کروموزومی را محصول دیگر کراس‌اور در نظر گرفت.

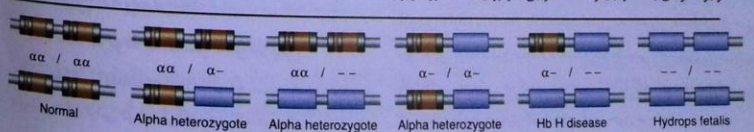
این مشاهدات منجر به شناسایی دو فرم خفیف‌تر تالاسمی شد که با کم‌خونی مرتبط نبوده و با حضور موقتی Hb Barts در تازه متولدین قابل تشخیص است. مطالعات نقشه‌برداری ناحیه آلفاگلوبینی نشان داد که این اشکال خفیف‌تر آلفا ـ تالاسمی در اثر حذف یک یا دو نسخه از ژن‌های α ـ گلوبین ایجاد می‌شوند. گاهی جهش‌های نقطه‌ای غیرحذفی در داخل ژن‌های آلفاگلوبین و همچنین در سمت ۵' ناحیه رونویسی شده، می‌تواند منجر به α ـ تالاسمی شوند.

یک استثناء در مورد این دسته‌بندی واریانت Hb Constant Spring است که علت نامگذاری آن شهری است در ایالات متحده، که فرد مبتلای بررسی شده متعلق به آن شهر بود. این هموگلوبین به صورت یک واریانت الکتروفورزی در فرد دارای بیماری HbH شناسایی شد. Hb Constant Spring حاصل ایجاد یک جهش در کدون پایان طبیعی در موقعیت ۱۴۲ در ژن آلفا ـ گلوبین است که منجر به تولید زنجیره آلفا طویل‌تر می‌شود. ترجمه mRNA آلفا ـ گلوبین تا رسیدن به کدون پایانی بعدی ادامه پیدا می‌کند. همچنین ملکول mRNA آلفاگلوبین ناپایدار بوده و باعث نقص نسبی زنجیره‌های α و حضور تترامر بتاگلوبینی موسوم به HbH می‌شود.

بتا تالاسمی

تا بدین جا خواننده نتیجه‌گیری خواهد کرد که بتاتالاسمی در اثر کاهش تولید زنجیره بتاگلوبین Hb ایجاد می‌شود. تولید زنجیره‌های بتاگلوبین ممکن است کاهش یابد (β^+) و یا اصلاً وجود نداشته باشد (β^0). افراد هموزیگوت برای جهش‌های β^0 ـ

شکل ۹-۱۰: ساختار ژن‌های ساختاری آلفاگلوبین حذف شده و نرمال در انواع مختلفی از آلفا ـ تالاسمی‌ها. (شکل زیر)



سندرم آلفاتالاسمی/عقب‌ماندگی ذهنی: یک بیماری مرتبط با کروماتین بیشتر بدانیم ۱-۱۰

آلفا ـ تالاسمی در نتیجهٔ نقص جزء آلفا ـ گلوبین مولکول هموگلوبین ایجاد می‌شود. نقص کامل تولید زنجیره‌های آلفا سبب ایجاد هیدروپس فتالیس (Hydrops fetalis) می‌شود، در حالی که نقص نسبی سبب ایجاد بیماری HbH می‌شود که همراه با میکروسیتوز و همولیز است. آلفا ـ تالاسمی میلیون‌ها نفر در مناطق مالاریاخیز در سرتاسر جهان، مخصوصاً در آسیای جنوب شرقی را مبتلا می‌کند. علت ایجاد آن حذف یا گاهی اوقات جهش نقطه‌ای ژن‌های آلفا ـ گلوبین در کروموزوم 16p می‌باشد. این بیماری در بین جمعیت‌هایی که مالاریاخیز نیستند، فوق‌العاده نادر است.

در طول دهه ۱۹۸۰ چند مورد از افراد در اروپای شمالی گزارش شدند که علاوه بر اینکه دارای آلفاتالاسمی (بیماری HbH) بودند، مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی نیز بودند. عقب‌ماندگی ذهنی یکی از علائم آلفا تالاسمی نیست. بررسی‌ها نشان داد که چند نفر از این افراد دارای حذف‌شدگی‌های بزرگی بر روی کروموزوم 16p بودند که ژن آلفاگلوبین را نیز در بر می‌گرفت. بنابراین حذف‌شدگی ژن‌های دیگری که باعث عقب‌ماندگی ذهنی می‌شدند، را نیز شامل می‌شد. هر چند برخی از مبتلایان فاقد هر گونه ناهنجاری شناخته شده 16p بودند. این بیماران همیشه مذکر بوده و گاهی در خانواده آنها افراد مذکر مبتلا نیز یافت می‌شدند که توارث وابسته به X مغلوب را در آنها تأیید می‌کرد. این افراد همچنین دارای ویژگی‌های چهره‌ای خاص بودند. اگرچه بیماری HbH در آنها مشاهده می‌شد، ولی اغلب به‌طور نامعمولی خفیف بوده و تنها از طریق انجام آزمایش قابل تشخیص بود. افراد مبتلا اغلب دارای ویژگی‌های دیگری همچون تغییر جنسیت از حالت مذکر به مؤنث نیز بودند. نقشه‌برداری ژنی و کلون‌سازی موضعی در نهایت منجر به شناسایی جهش‌هایی در ژن ATRX در موقعیت Xq13 شد. چطور جهش بر روی ژنی بر روی کروموزوم X می‌تواند منجر به آلفا ـ تالاسمی همراه با ویژگی‌های دیگر شود؟ بر مبنای توالی آمینواسیدی مشخص شد که پروتئین ATRX یکی از اعضای خانواده پروتئین‌های SWI2/SNF است که باعث تنظیم بیان ژن و تغییر رفتار کروموزوم از طریق اعمال تغییر بر روی ساختار کروماتین می‌شود.

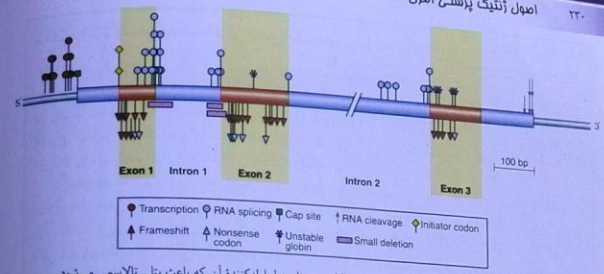
ATRX یک هلیکاز است، پروتئینی که ماریچ دورشته‌ای DNA را از هم باز می‌کند. اعتقاد بر این است که این پروتئین جزئی از یک کمپلکس چند پروتئینی است که به‌وسیله فرآیند بازآرایی کروماتینی (Chromatin remodeling) باعث تغییر ساختار موضعی کروماتین می‌شود. در حقیقت این کمپلکس بیان ژن را در یک DNA فشرده، کنترل می‌کند. مخصوصاً ATRX با سانترومرها که دارای ساختار فشرده هتروکروماتینی می‌باشند در ارتباط است. دیگر نواحی موضعی کروماتین نیز می‌توانند ساختار فشرده‌ای ایجاد کنند که باعث سرکوب بیان ژن‌های این ناحیه می‌شود. ATRX احتمالاً در ایجاد و حفظ ساختار فشرده هتروکروماتینی نقش دارد.

ATRX مثالی از یک بیماری مرتبط با کروماتین است. از دیگر بیماری‌های مرتبط با کروماتین سندرم ICF و سندرم Rett می‌باشند. در این بیماری‌ها جهش در ژن‌های کدکنندهٔ پروتئین کنترل کننده ساختار کروماتین مشاهده می‌شود و به همین دلیل نقص در این ژن‌ها باعث می‌شود که بیان تعداد بسیار زیادی از دیگر ژن‌ها (به دلیل تغییر ساختار کروماتینی آن ناحیه) تحت تأثیر قرار گیرد. در حال حاضر با میزان دانش فعلی ما، امکان ارتباط بین نوع ژن‌های تحت تأثیر قرار گرفته و فنوتیپ‌های بالینی ایجاد شده وجود ندارد. اما این بیماری‌ها این دیدگاه را برای ما ایجاد کرده‌اند که اختلال در عملکرد کروموزوم می‌تواند اهمیت بالینی داشته باشد. یعنی اینکه کروموزوم‌ها چیزی بیش از یک وسیله برای حمل ژن‌ها و توزیع آنها بین سلول‌های دختری در میتوز و میوز می‌باشند. از طریق تغییر موضعی در ساختار کروماتین، محیطی پویا برای تنظیم بیان ژن‌ها ایجاد می‌شود.

کروماتین دارای ساختاری پویا است. کمپلکس بازآرایی کروماتینی (Chromatin remodeling complex) که پروتئین ATRX یکی از اجزای آن است، باعث تغییر موضع نوکلئوزوم‌های موجود بر روی DNA و ایجاد مکان‌هایی بر روی کروماتین می‌شود که در این نواحی DNA و هیستون‌ها مورد تغییر قرار می‌گیرند. کروماتین فعال و غیرفعال به‌وسیلهٔ الگوهای مختلفی از متیلاسیون DNA مشخص می‌شوند، همچنین انواعی از تغییرات هیستون‌ها شامل استیلاسیون، متیلاسیون و فسفریلاسیون اسیدهای آمینه خاص باعث ایجاد کروماتین فعال و غیرفعال می‌شود.

منابع

Emery and Rimoin's principles and practice of Medical Genetics, (5th ed) 2007. Ehurchill Livingstone.



شکل ۱۰-۱۰: موقعیت و انواع مختلف جهش‌ها در درون ژن بتاگلوبین و ناحیه احاطه‌کنندهٔ آن که باعث بتا ـ تالاسمی می‌شود.

تالاسمی دارای کم‌خونی شدید هستند که نیاز به انتقال خون دارند. حاملین بتاتالاسمی در بین مردمان اروپای شمالی دارای فراوانی حدود ۱ به ۱۰۰۰ هستند و در انگلستان سالیانه به‌طور متوسط ۲۲ کودک مبتلا به β^0 ـ تالاسمی متولد می‌شوند و تقریباً ۸۶۰ بیمار مبتلا به این بیماری وجود دارد. تخمین زده می‌شود که ۳۲۷۰۰۰ حامل این بیماری وجود دارد.

اساس جهش‌های بتاتالاسمی

بتاتالاسمی به ندرت در نتیجهٔ حذف ژنی ایجاد می‌شود و برای تعیین پاتولوژی ملکولی آن اغلب تعیین توالی DNA ضروری است. تا به حال مشخص شده است که بیش از ۱۰۰ جهش مختلف می‌تواند باعث ایجاد بتاتالاسمی شود، از جملهٔ این جهش‌ها می‌توان به جهش‌های نقطه‌ای، اضافه‌شدن، حذف‌های تک‌جفت بازی اشاره کرد. این جهش‌ها هم در ناحیهٔ کدکننده و هم ناحیهٔ غیرکدکننده ژن بتاگلوبین، ناحیه پروموتوری ۵، توالی ۵ کلاهک و توالی ۳ پلی‌آدنیلاسیون رخ می‌دهند. (شکل ۱۰-۱۰).

جهش‌های مختلف اغلب مختص جمعیت خاصی هستند و می‌توان آنها را در شش گروه عملکردی طبقه‌بندی کرد.

جهش‌های رونویسی: جهش‌هایی در ۵ جعبه TATA یا نواحی پروموتور ژن بتاگلوبین، می‌تواند منجر به کاهش سطح رونویسی mRNA بتاگلوبین شود.

جهش‌های پیرایش mRNA: جهش‌ها در دی‌نوکلئوتیدهای ثابت GT- 5′ و AG- 3′ اینترون‌های ژن بتاگلوبین یا به عبارت دیگر توالی‌های مورد توافق، دهنده (donor) و پذیرنده (acceptor) منجر به پیرایش غیرطبیعی و در نتیجه کاهش سطح بیان بتاگلوبین می‌شود. شایع‌ترین جهش بتاتالاسمی مدیترانه‌ای منجر به ایجاد یک جایگاه پیرایش دونوکلئوتیدی پذیرنده AG جدید درون اولین اینترون ژن بتاگلوبین می‌شود که نتیجه آن ایجاد جایگاه پیرایش پنهان (cryptic splice site) است. این جایگاه پیرایش پنهان با جایگاه پیرایش طبیعی رقابت کرده و منجر به کاهش سطح mRNA بتاگلوبین طبیعی می‌شود. جهش در نواحی کدکنندهٔ ژن بتاگلوبین همچنین می‌تواند منجر به ایجاد جایگاه پیرایش پنهان درون توالی کدکننده شود.

جهش‌های توالی پلی‌آدنیلاسیون: جهش‌ها در انتهای ۳′ ناحیهٔ غیرقابل ترجمه (UTR- 3′) ژن بتاگلوبین می‌تواند منجر به از دست رفتن سیگنال لازم برای برش و پلی‌آدنیلاسیون رونوشت ژن بتاگلوبین شود.

جهش‌های پردازش RNA: جهش در توالی‌های DNA در بخش ۵′ و ۳′ که به ترتیب در کلاهک‌گذاری و پلی‌آدنیلاسیون ملکول mRNA نقش دارند، می‌توانند منجر به پردازش و انتقال نادرست mRNA بتاگلوبین به سیتوپلاسم و بنابراین کاهش سطح ترجمه شوند.

جهش‌های خاتمهٔ زنجیره: اضافه شدن‌ها، حذف‌ها و جهش‌های نقطه‌ای همگی می‌توانند یک جهش بی‌معنی (nonsense) یا کدون خاتمهٔ زنجیره تولید کنند که منجر به

پایان زودرس ترجمهٔ mRNA بتاگلوبین می‌شود. معمولاً این حالت باعث ایجاد mRNA بتاگلوبینی کوتاه شده و ناپایدار می‌شود، که به سرعت تجزیه شده و مجدداً منجر به کاهش سطح ترجمه یک بتاگلوبین غیرطبیعی می‌شود.

جهش‌های بدمعنی: به ندرت جهش‌های بدمعنی (missense) منجر به تولید بتاگلوبین بسیار ناپایدار (مانند Hb Indianapolis) می‌شود.

جنبه‌های بالینی بتا تالاسمی

کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور (thalassemia major) که در ابتدا آنمی کولی (Cooley's anemia) نامیده می‌شد، معمولاً در کودکی مبتلا به کم‌خونی بوده و نیازمند انتقال خون هستند. در صورت عدم انتقال مقادیر کافی خون، افزایش مغز استخوان آنها برای جبران کم‌خونی، منجر به ایجاد صورت و جمجمهٔ با شکل نامعمول می‌شود. (شکل ۱۱-۱۰). در گذشته افراد مبتلا در سنین نوجوانی یا اوایل بزرگسالی در اثر عوارض حاصل از سربار آهن به دلیل انتقال خون مکرر فوت می‌کردند. ولی استفاده روزانه از داروهای شلاته‌کننده آهن همچون دزفری اکسامین (desferrioxamine) به طور قابل توجهی باعث بقاء بلندمدت آنها شده است.

شکل ۱۱-۱۰: چهرهٔ کودک مبتلا به بتاتالاسمی که برجستگی‌های پیشانی او به دلیل تغییرات در جمجمه‌اش در نتیجهٔ هیپرتروفی مغز استخوان بارز است.

مبتلایان هتروزیگوت که مبتلا به **تالاسمی مینور** (thalassemia minor) یا **صفت تالاسمی** (thalassemia trait) هستند، معمولاً فاقد علائم (symptoms and signs) بوده، اما دارای کم‌خونی میکروسیتیک، هیپوکرومیک خفیف هستند. این حالت به راحتی با آنمی کمبود آهن اشتباه گرفته می‌شود.

δβ تالاسمی

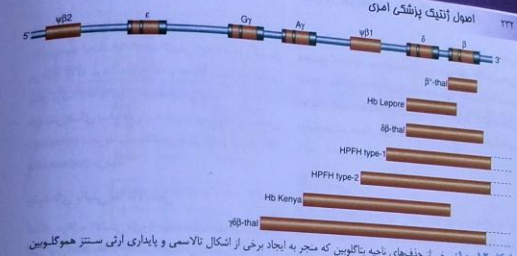
در این نوع هموگلوبینوپاتی، کاهش تولید زنجیره‌های بتا و دلتا دیده می‌شود. افراد هموزیگوت هیچ نوع زنجیره‌های بتا یا دلتا را تولید نمی‌کنند که انتظار بر این است که بیماری شدیدی ایجاد شود. اما برخلاف انتظار این افراد فقط کم‌خونی مختصری نشان می‌دهند که علت آن افزایش تولید زنجیره‌های γ است که باعث می‌شود سطح HbF بسیار بالاتر از افزایش جبرانی مختصری که در β^0 ـ تالاسمی دیده می‌شود، باشد.

اساس جهش در δβ تالاسمی

علت این بیماری حذف‌های وسیع در ناحیه بتاگلوبین می‌باشد که شامل ژن‌های ساختاری بتا و گاما است (شکل ۱۲-۱۰). برخی حذف‌های بزرگ، ژن Aγ ـ گلوبین را نیز شامل می‌شوند، بنابراین در این افراد فقط زنجیره Gγ گلوبین سنتز می‌شود.

پایداری ارثی سنتز هموگلوبین جنینی

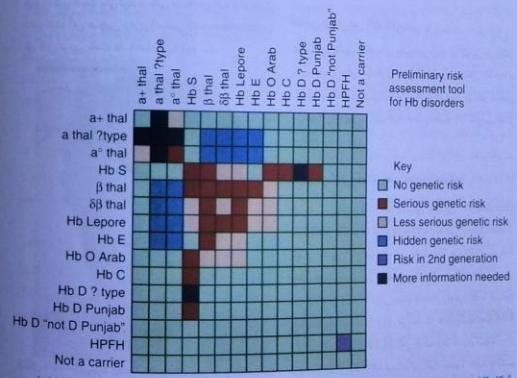
پایداری ارثی سنتز هموگلوبین جنینی (hereditary persistence of fetal Hb = HPFH) که در آن تولید HbF تا کودکی و پس از آن نیز ادامه می‌یابد، نیز جزء تالاسمی‌ها طبقه‌بندی می‌شود. این حالت معمولاً شکلی از δβ تالاسمی در نظر گرفته می‌شود که در آن سنتز ادامه‌دار زنجیره گاما کمبود زنجیره‌های بتا و دلتا را جبران می‌کند. در هتروزیگوت‌ها HbF ۲۰ تا ۳۰ درصد از Hb را شامل شده و در هموزیگوت ۱۰۰ درصد Hbها از نوع HbF هستند. این افراد معمولاً فاقد علائم بالینی می‌باشند.



شکل ۱۲-۱۰: برخی از حذف‌های ناحیه بتاگلوبین که منجر به ایجاد برخی از اشکال تالاسمی و پایداری ارثی سنتز هموگلوبین جنینی می‌شود.

اساس جهش در HPFH

برخی از اشکال HPFH به علت جهش‌هایی در ژن‌های دلتا و بتا ایجاد می‌شوند، در حالی که انواع فاقد حذف ممکن است دارای جهش نقطه‌ای در ناحیه پروموتوری واقع در انتهای ۵ ژن‌های گلوبینی Gγ و Aγ واقع در نزدیکی توالی جعبهٔ CAAT که در تنظیم بیان ژن Hb نقش دارند، باشند.



شکل ۱۳-۱۰: یک ابزار هموگلوبینوپاتی که شدت بالینی پیش‌بینی شده مربوط به وقوع حالت‌های مختلف هتروزیگوت مرکب یا هموزیگوت را نشان داده است.

تنوع بالینی هموگلوبینوپاتی‌ها

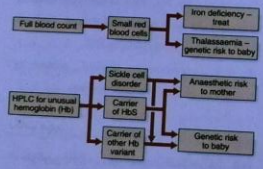
هتروزیسته قابل توجه در جهش‌های بتاتالاسمی بدان معنی است که افراد مبتلا اغلب هتروزیگوت مرکب می‌باشند، یعنی افراد دارای جهش‌های مختلفی در دو آلل مربوط به ژن بتاگلوبین هستند. این حالت منجر به طیف وسیعی از تنوع‌ها در شدت بیماری از جمله حالت‌های حد واسط - **تالاسمی اینترمدیا** - می‌شود که نیاز به انتقال خون کمتر دارد.

برخی از نقاط جهان شیوع بالای هموگلوبینوپاتی‌ها را نشان می‌دهند و دور از انتظار نیست که در آنجا افراد همزمان مبتلا به دو بیماری مختلف Hb باشند. در گذشته تشخیص دقیق مشکل بود و ارائه تعیین توالی DNA تا حد زیادی به حل این معما کمک کرده است، مثلاً در افراد هتروزیگوت برای هر دو آلل بتالاسمی و HbS (هتروزیگوت مرکب). به ارث بردن ترکیبی خاص می‌تواند منجر به شکل خفیف از بیماری شود، که به‌طور منطقی پیش‌بینی می‌شد که یک هموگلوبینوپاتی شدید باشد. به طور مثال جهش یک یا دو ژن آلفاگلوبین در یک فرد هموزیگوت بتاتالاسمی منجر به ایجاد بیماری خفیف‌تر می‌شود، زیرا عدم تعادل در تولید زنجیره گلوبینی به حداقل می‌رسد. به‌طور مشابه‌ای حضور HPFH در فرد هموزیگوت بتاتالاسمی یا بیماری داسی‌شکل می‌تواند باعث تعدیل بیماری شود، به این دلیل که افزایش تولید زنجیره‌های گاما گلوبین نقص تولید زنجیره‌های بتاگلوبین را جبران می‌کند. شدت‌های نسبی حالت‌های هموگلوبینوپاتی هموزیگوت و هتروزیگوت مرکب در ابزار ارزیابی خطر، که توسط برنامهٔ غربال‌گری تالاسمی و کم‌خونی داسی‌شکل NHS ارائه شده، خلاصه شده است (شکل ۱۳-۱۰).

غربال‌گری قبل از تولد و تازه متولدین برای هموگلوبینوپاتی‌ها

در سال ۲۰۰۵ برنامهٔ غربال‌گری تالاسمی و SC در مورد تازه متولدین به اجرا گذاشته شد و در برخی از مناطق، غربال‌گری قبل از تولد نیز در راه است. هدف شناسایی نوزادان مبتلا به هموگلوبینوپاتی‌های جدی در مراحل اولیه است، طوری که بتوان آنها را در مراحل اولیه درمان کرد و عوارض طولانی‌مدت ناشی از بیماری را به حداقل رساند. خطر ژنتیکی برای حاملگی‌های آینده نیز در مراحل اولیه شناسایی خواهد شد. در این برنامه‌ها در صورت شناسایی حالت حامل بودن نوزاد، آزمایش بر روی والدین و غربال‌گری آبشاری بر روی افراد بیشتری از خانواده و مشاوره ژنتیک نیز پیشنهاد می‌شود.

تصمیم برای انجام غربال‌گری پیش از تولد در برخی از نواحی براساس یافته‌های قومی و استفاده از پرسش‌نامه‌های مربوط به تاریخچهٔ خانوادگی به زنان باردار توصیه می‌شود. غربال‌گری اولیه با شمارش ساده کل سلول‌های خونی جهت بررسی کم‌خونی (Hb< ۱۱g/dl) و MCH (میانگین هموگلوبین گلبول قرمز <27pg) که شاخصی برای میکروسیتوز است، انجام می‌شود، همانطور که در شکل ۱۴-۱۰ خلاصه شده است، این یافته‌ها باعث درخواست انجام الکتروفورز با روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا می‌شوند. همانند همه برنامه‌های غربال‌گری هدف این برنامه کاهش بار (burden) مراقبت‌های بهداشتی در درازمدت است که کاملاً مناسب رایج‌ترین بیماری‌های تک‌ژنی شایع در انسان می‌باشد.



شکل ۱۴-۱۰: غربال‌گری قبل از تولد هموگلوبینوپاتی‌ها

مطالعات بیشتر

Cay JC, Phillips JA, Kazazian HH 1996 Haemoglobinopathies and thalassemias. In: Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE eds. Principles and practice of medical genetics, 3 ed, pp 1599-1626. Edinburgh: Churchill Livingstone

A useful, up-to-date, concise summary of the hemoglobinopathies.

Cooley TB, Lee P 1925 A series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes. Trans Am Pediatr Soc 37:29-40

The original description of β-thalassemia.

Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC 1949 Sickle-cell anaemia, a molecular disease. Science 110:543-548

The first genetic disease in which a molecular basis was described, leading to a Nobel Prize.

Serjeant GR 1992 Sickle cell disease, 2 ed. Oxford: Oxford University Press

Excellent, comprehensive text covering all aspects of this important disorder.

Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Woods WG 1995 The hemoglobinopathies. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D eds. The metabolic and molecular basis of inherited disease, 7 ed, pp. 3417-3484. New York: McGraw Hill

A very comprehensive, detailed account of hemoglobin and the hemoglobinopathies.

نکات مهم

۱ـ هموگلوبین (Hb) ، پروتئین موجود در گلبول‌های قرمز خون، مسئول حمل اکسیژن است. این پروتئین تترامر از دو جفت زنجیره پلی‌پپتیدی نامشابه و ملکول هم حاوی آهن تشکیل شده است.

۲ـ Hb انسانی هتروژن است. در طول تکوین، هموگلوبین از زنجیره‌های مختلف گلوبینی تشکیل می‌شود، که این زنجیره‌ها هر یک در دوره‌ای خاص از تکوین شامل مراحل رویانی، جنینی و بزرگسالی بیان می‌شوند (مانند $\alpha_2\varepsilon_2$ ، $\alpha_2\gamma_2$ ، $\alpha_2\delta_2$ ، $\alpha_2\beta_2$).

۳ـ ناهنجاری‌های مربوط به Hb یا هموگلوبینوپاتی‌ها را می‌توان در دو گروه اصلی دسته‌بندی کرد: ناهنجاری‌های ساختاری مانند Hb سلولی داسی‌شکل (یا HbS) و اختلالات مربوط به سنتز یا تالاسمی‌ها. دسته اول را می‌توان با توجه به اختلال در عملکرد طبیعی Hb و یا گلبول قرمز به زیرگروه‌های مختلفی طبقه‌بندی کرد (مثلاً تمایل غیرطبیعی اکسیژن، آنمی همولیتیک). گروه دوم را نیز بر این اساس که کدام زنجیره گلوبینی به‌طور غیرطبیعی ساخته می‌شود می‌توان دسته‌بندی کرد (مثلاً $\alpha-$ ، $\beta-$ یا $\delta\beta$ تالاسمی).

۴ـ مطالعات خانوادگی بیماری‌های مختلف Hb انسانی و آنالیز جهش‌های مسئول این بیماری‌ها در سطح پروتئین و DNA، منجر به فهم ساختار طبیعی، عملکرد و سنتز Hb شده است. این مورد پاتولوژی ملکولی این بیماری‌ها را مشخص ساخته و تشخیص پیش از تولد تعدادی از بیماری‌های ارثی Hb انسانی را امکان‌پذیر کرده است.

فصل ۱۱

ژنتیک بیوشیمیایی

«زندگی، ارتباط بین ملکول‌هاست»

«لنیوس پائولینگ»

«وجود هویت شیمیائی ضرورتاً ناشی از اختصاصیت شیمیائی است، اما باید انتظار داشته باشیم که تفاوت‌های بین افراد بسیار ظریف و جزئی بوده و تشخیص این تفاوت‌ها کار آسانی نیست.»

«آرچیبلد گارود» (۱۹۰۸)

در این فصل بیماری‌های متابولیسمی یا بیوشیمیایی تک‌ژنی از جمله بیماری‌های میتوکندریایی را مورد بحث قرار می‌دهیم. طیف بیماری‌های شناخته شده در این حیطه وسیع بوده و بنابراین تنها مروری کلی امکان‌پذیر است، به هر حال امید است که خواننده تا حدی با مطالب این بخش از رشتهٔ پزشکی آشنایی پیدا کند. در شروع قرن بیستم گارود (Garrod) مفهوم «فردیت شیمیایی» (Chemical individuality) را مطرح نمود که منجر به ظهور مفهوم نقایص مادرزادی متابولیسم **(inborn error of metabolism)** یا IEM شد. بعدها بیدل و تاتوم (Beadle and Tatum) ایده‌ای را مطرح کردند که بیان می‌داشت فرآیندهای متابولیسمی چه در انسان و چه در بقیه موجودات زنده مرحله به مرحله پیش می‌رود. آنها پیشنهاد کردند که هر مرحله به‌وسیلهٔ یک آنزیم اختصاصی کنترل می‌شود که در حقیقت این آنزیم خود محصول ژن خاصی است. این حالت به مفهوم *یک ژن ـ یک آنزیم (یا پروتئین)* مشهور شد.

نقائص مادرزادی متابولیسم

بیش از ۲۰۰ نوع IEM شناخته شده است که می‌توان آنها را براساس متابولیت، مسیر متابولیسمی و عملکرد آنزیم یا اندامک سلولی مربوطه تقسیم‌بندی کرد (جدول ۱ـ۱۱). اکثر آنها از الگوی توارث اتوزومی مغلوب و یا توارث وابسته به X پیروی می‌کنند و در موارد معدودی هم از الگوی اتوزومی غالب تبعیت می‌کنند. علت این است که در اکثر موارد، پروتئین معیوب یک آنزیم قابل انتشار است و معمولاً در حالت هتروزیگوت (از دست رفتن عملکرد) فعالیت آنزیمی باقیمانده برای اینکه آنزیم در اکثر موقعیت‌ها فعالیت طبیعی داشته باشد، کفایت می‌کند اما اگر واکنشی که توسط آنزیم مورد نظر کاتالیز می‌شود یک واکنش محدودکنندهٔ سرعت (rate limiting) باشد (ایجاد عدم کفایت هاپلوئیدی) و یا اگر محصول ژن، بخشی از یک کمپلکس چند زیرواحدی باشد (ایجاد جهش غالب منفی)، ناهنجاری می‌تواند در وضعیت هتروزیگوت تظاهر پیدا کند و بنابراین از الگوی توارثی غالب تبعیت می‌کند.

بیماری‌های مربوط به متابولیسم اسیدهای آمینه

چندین بیماری مرتبط با متابولیسم اسیدهای آمینه وجود دارد که شناخته‌شده‌ترین آنها فنیل کتونوری است.

فنیل کتونوری

کودکان مبتلا به فنیل کتونوری (phenylketonuria) یا PKU در صورت عدم درمان، از نظر ذهنی شدیداً دچار ناتوانی شده و اغلب دچار تشنج می‌شوند. در این بیماری آنزیم مورد نیاز برای تبدیل فنیل‌آلانین به تیروزین یعنی آنزیم فنیل آلانین هیدروکسیلاز (PAH) دچار نقص شده و باعث ایجاد یک «مانع ژنتیکی» (gentic block) در یک مسیر متابولیسمی می‌شود (شکل ۱ـ۱۱).

PKU اولین ناهنجاری ژنتیکی در انسان بود که توسط Jervis در سال ۱۹۵۳ نشان داده شد که به علت یک نقص آنزیمی اختصاصی ایجاد می‌شود. در نتیجه نقص آنزیمی، فنیل آلانین تجمع پیدا کرده و به اسید فنیل پیرورویک و دیگر متابولیت‌ها تبدیل شده و توسط ادرار دفع می‌شوند. نقص آنزیمی سبب کمبود تیروزین، در نتیجه کاهش تولید ملانین شده و بنابراین کودکان مبتلا دارای موهای بور و چشمان آبی هستند (شکل ۲ـ۱۱). علاوه بر این مناطقی از مغز مانند ماده سیاه (substantia nigra) که به‌طور طبیعی رنگدانه دارند، در این افراد فاقد رنگدانه می‌باشند.

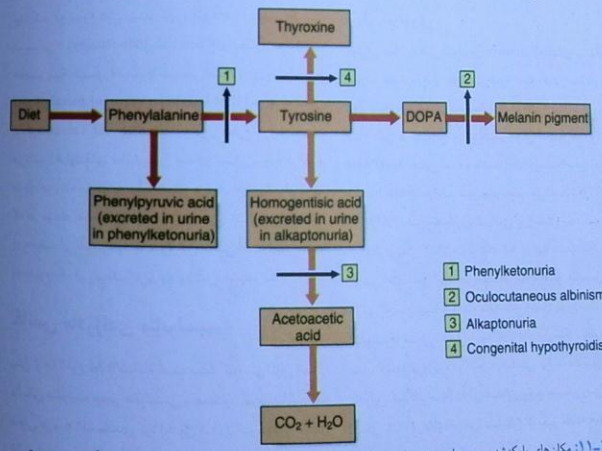
درمان PKU

یک روش معمول درمان کودکان مبتلا به PKU جایگزینی آنزیم از دست رفته است، اما این کار به سادگی قابل انجام نیست. بیکل (Bickel) درست یک سال پس از اینکه نقص آنزیمی این بیماری شناخته شد، پیشنهاد کرد که می‌توان PKU را با حذف فنیل‌آلانین از رژیم غذایی درمان کرد و اثبات شده است که این کار روش مؤثری است. اگر PKU در دوران نوزادی، به موقع تشخیص داده شود، می‌توان با ارائه یک رژیم غذایی با فنیل آلانین اندک از ایجاد عقب‌ماندگی ذهنی جلوگیری کرد. به دلیل اینکه فنیل آلانین یک اسیدآمینهٔ ضروری است، نمی‌توان آن را به‌طور کامل از رژیم غذایی حذف کرد. با پایش منظم فنیل آلانین در خون این امکان وجود دارد که در صورت نیاز، مقادیر لازم فنیل آلانین را برای فرد مبتلا تأمین کرد و از سمیّتی که باعث عقب‌ماندگی ذهنی می‌شود، نیز جلوگیری گردد. پس از تکمیل رشد مغزی می‌توان از دوران نوجوانی به بعد، محدودیت‌های فنیل آلانین رژیم غذایی را کاهش داد.

اختلالات ذهنی مشاهده شده در کودکان مبتلا به فنیل کتونوری احتمالاً بیشتر به دلیل وجود مقادیر بالا و سمّی فنیل‌آلانین و متابولیت‌های حاصل از آن است تا کمبود تیروزین، که مقادیر کافی از آن در رژیم غذایی طبیعی وجود دارد. هم عوامل پیش از تولد و هم عوامل پس از تولد ممکن است مسئول ایجاد تأخیر رشد در PKU درمان نشده باشند.

تشخیص PKU

PKU در اروپای غربی نرخ بروز تقریبی ۱ در ۱۰۰۰۰ نفر دارد و اولین IEM است که کودکان را در مورد آن غربال می‌کنند. آزمایش حضور متابولیت‌های حاصل از فنیل آلانین همچون اسید فنیل پیرویک در ادرار از طریق واکنش با کلریدفریک سنجش می‌شود. در آزمایش دیگر سطح فنیل آلانین خون را اندازه‌گیری می‌کنند. این تست که به آزمایش گوتری (Guthrie test) مشهور است با سنجش خون تازه متولدین و مقایسهٔ مقدار القای رشد سویهٔ باکتریایی باسیلوس سوبتیلیس (که برای رشد نیاز به فنیل آلانین دارد)، انجام می‌شود. فرد مبتلا در مقایسه با نمونه شاهد سطح بالای فنیل آلانین خون را نشان می‌دهد.



شکل ۱ـ۱۱: مکان‌های بلوکه‌شدن مسیرهای بیوشیمیایی در فنیل کتونوری، آلکاپتونوری، هیپوتیروئیدیسم مادرزادی و آلبینیسم پوستی - چشمی.

جدول ۱ـ۱۱ خصوصیات برخی از ناهنجاری‌های مادرزادی متابولیسم

نوع بیماری	ژنتیک	نقص	ویژگی‌های اصلی بالینی
متابولیسم اسیدآمینه			
فنیل کتونوری	AR	فنیل آلانین هیدروکسیلاز	عقب‌ماندگی ذهنی، پوست بور، اگزما، صرع
الکاپتونوری	AR	اسید هموجنتیسیک اکسیداز	آرتریت
آلبینیسم پوستی ـ چشمی	AR	تیروزیناز	فقدان رنگدانه در پوست و چشم، نقایص چشمی
هموسیستینوری	AR	سیستاتیون ـ آلفا ـ سنتاز	عقب‌ماندگی ذهنی، دررفتگی عدسی چشم، ترومبوز، نقایص اسکلتی
بیماری ادرار شربت افرا	AR	بتاکتواسید دکربوکسیلاز شاخه‌دار	عقب‌ماندگی ذهنی
نقایص چرخهٔ اوره			
کمبود کرباميل سنتاز	AR	کرباميل سنتاز	هایپر آمونمی، کما، مرگ
کمبود اورنیتین کرباميل ترانسفراز	XD	اورنیتین کرباميل ترانسفراز	هایپر آمونمی، مرگ در اوایل نوزادی
سیترولینمی	AR	آرژینوسوکسینیک اسید سنتاز	علائم بالینی متغیر
آرژینوسوکسینیک اسیدوری	AR	آرژینو سوکسینیک اسید لیاز	هایپرآمونمی، عقب‌ماندگی ذهنی مختصر، عدم تحمل پروتئین
هایپرآرژینمی	AR	آرژیناز	هایپرآمونمی، اسپاستیسیته پیشرونده، زوال عقلی
متابولیسم کربوهیدرات (متابولیسم منوساکاریدها)			
گالاکتوزمی	AR	گـالاکتوز-۱- فسـفات یوریـدیل ترانسفراز	آب‌مروارید، عقب‌ماندگی ذهنی، سیروز
عدم تحمل ارثی فروکتوز	AR	فروکتوز-۱- فسفات آلدولاز	نارسایی رشد، استفراغ، یرقان، تشنج
بیماری‌های ذخیره گلیکوژنی			
بیماری‌هایی که عمدتاً کبد را درگیر می‌کند			
بیماری وُن ژیرکه (GSD-I)	AR	گلوکز ـ ۶ ـ فسفاتاز	هیپوتمگالی، سطح پایین گلوکز خون (هیپوگلیسمی)
بیماری کری (GSD-III)	AR	آمیلو ـ ۱ و ۶ ـ گلوکوزیداز	هیپوتمگالی، سطح پایین گلوکز خون (هیپوگلیسمی)
بیماری آندرسون (GSD-IV)	AR	آنزیم شاخه‌شکن گلیکوژن	نارسایی / عملکرد غیرطبیعی کبد
نقص فسفریلاز کبدی (GSD-VI)	AR/X-linked	فسفریلاز کبدی	هیپوتمگالی، هیپوگلیسمی و نارسایی رشد
بیماری‌هایی که عمدتاً عضلات را درگیر می‌کند			گرفتگی (کرامپ) عضلانی
بیماری مک‌آردل (GSD-V)	AR	فسفریلاز ماهیچه‌ای	نارسایی قلبی، ضعف ماهیچه‌ای
بیماری پمپه (GSD-II)	AR	آلفا ـ ۱، ۴ گلوکوزیداز لیزوزومی	

ادامه جدول ۱ـ۱۱ خصوصیات برخی از ناهنجاری‌های مادرزادی متابولیسم

نوع بیماری	ژنتیک	نقص	ویژگی‌های اصلی بالینی
متابولیسم استروئیدی			
هیپرپلازی آدرنال مادرزادی	AR	۲۱ هیدروکسیلاز، ۱۱- بتا هیدروکسیلاز، ۳ـ بتا دهیدروژناز	مردانه‌شدن، از دست دادن نمک
عدم حساسیت آندروژن	XR	گیرنده آندروژن	دستگاه تناسلی خارجی زنانه، وجود بیضه، کروموزوم‌های مردانه
متابولیسم لیپید			
هایپرکلسترولمی خانوادگی	AD	گیرنده لیپوپروتئین با چگالی اندک (LDLR)	بیماری زودهنگام شریان کرونر
بیماری ذخیرهٔ لیزوزومی			
موکوپلی ساکاریدوزها			
سندرم هورلر (MPS-I)	AR	آلفا ـ ال ـ یدوورونیداز	عقب‌ماندگی ذهنی، نقایص اسکلتی، هپاتواسپلنومگالی، تیرگی قرنیه
سندرم هانتر (MPS-II)	XR	ایدورونات سولفات سولفاتاز	عقب‌ماندگی ذهنی، نقایص اسکلتی، هپاتواسپلنومگالی
سندرم سان فیلیپو	AR	هپاران ـ اس ـ سولفامینیداز-III- (MPS (A، ان ـ استیل ـ آلفا ـ دی‌گلوکوز آمینیداز (MPS-III-B)، استیل — کوآ ـ آلفا ـ گلوکوزآمینیداز، ان ـ استیل ترانسفراز (MPS-III-C)، ان ـ استیل — گلوکز آمین ـ۶ ـ سولفات سولفاتاز (MPS-III-D)	مشکلات رفتاری، جنون، حملات تشنجی
سندرم موركيو (MPS-IV)	AR	گالاکتوز آمین ـ۶ ـ سولفاتاز (MPS-IVA)، بتا گالاکتوزیداز (MPS-IVB)	کدورت قرنیه، قامت کوتاه، ناهنجاری‌های اسکلتی
MPS-V (بیماری شی سابق که امروز به آن قرم آللی خفیف MPS- I می گویند) یا سندرم ماروتوکس ـ لامی	AR	اریل سولفاتاز، ان ـ استیل گالاکتوزآمین آلفا ـ ۴ ـ سولفات سولفاتاز	کدورت قرنیه، ناهنجاری‌های اسکلتی، نقایص قلبی (MPS-VI)
سندرم اسلای (MPS-VII)	AR	بتا گلوکورونیداز	تظاهرات متغیر، نقایص اسکلتی و قلبی، هپاتواسپلنومگالی، کدورت قرنیه، عقب‌ماندگی ذهنی
اسفنگولیپیدوز			
بیماری تای ـ ساکس	AR	هگزوآمینیداز A	تأخیر تکوینی، نابینایی، لکه‌های قرمز آبالوئی، ناشنوایی
بیماری گوشه	AR	گلوکوزیل سرآمید بتا ـ گلوکوزیداز	نوع I ـ درد مفاصل و اندام‌ها (دست و پا)، اسپلنومگالی نوع II ـ اسپاسم، حملات تشنجی، مرگ
بیماری نیمن ـ پیک	AR	اسفنگومیلیناز	نارسایی رشد، هپاتومگالی، لکه‌های قرمز آبالوئی، تأخیر تکوینی

ادامه جدول ۱ـ۱۱ خصوصیات برخی از ناهنجاری‌های مادرزادی متابولیسم

نوع بیماری	ژنتیک	نقص	ویژگی‌های اصلی بالینی
متابولیسم پورین / پیریمیدین			
بیماری لش نیهان	XR	هیپوگزانتین ـ گوآنین فسفوریبوزیل ترانسفراز	عقب‌ماندگی ذهنی، حرکات غیرقابل کنترل، آسیب‌زنی و معلول‌کردن خود
نقص آدنوزین دآمیناز	AR	آدنوزین دآمیناز	نقص ایمنی مرکب شدید
پورین نوکلئوزید فسفریلاز	AR	پورین نوکلئوزید فسفریلاز	عفونت شدید ویروسی به دلیل اختلال در عملکرد سلول‌های T
اوروتیک اسیدوری ارثی	AR	اوروتات فسفوریبوزیل ترانسفراز اوروتیدین ـ ۵ـ فسفات دکربوکسیلاز	آنمی مگالوبلاستیک، نارسایی رشد، تأخیر تکوینی
متابولیسم پورفیرین			
پورفیری‌های کبدی			
پورفیری متناوب حاد (AIP)	AD	اروپورفیرینوژن I سنتاز	درد شکمی، تأثیرات بر روی CNS
کوپروپورفیری ارثی	AD	کوپروپورفیرینوژن اکسیداز	علائم مانند AIP ، حساسیت به نور
پورفیری متغیر	AD	پروتو پورفیرینوژن اکسیداز	علائم مانند AIP، حساسیت به نور
پورفیری اریتروپوئیتیک			
پورفیری اریتروپوئتیک مادرزادی	AR	اروپورفیرینوژن سنتاز III	آنمی همولیتیک، حساسیت به نور
پورفیری اریتروپوئتیک	AD	فروشلاتاز	حساسیت به نور، بیماری کبدی
ناهنجاری‌های اسید آلی			
اسیدمی متیل مالونیک	AR	متیل مالونیل ـ کوآ موتاز	هیپوتونی، تغذیه ضعیف، اسیدوز، تأخیر تکوینی
اسیدمی پروپیونیک	AR	پروپیونیل ـ کوآ کربوکسیلاز	تغذیه نامناسب، نارسایی رشد، استفراغ، اسیدوز، هیپوگلیسمی
متابولیسم مس			
بیماری ویلسون	AR	پروتئین ATPase غشایی انتقال‌دهنده مس	اسپاسم، سفتی، دیس‌قازی (دشواری در بلعیدن)، سیروز
بیماری منکز	XR	پروتئین ATPase غشایی انتقال‌دهنده مس	نارسایی رشد، تحلیل عصبی
بیماری‌های پراکسی زومی			
ناهنجاری بیوژنز پراکسی‌زوم			
سندرم زلوگر	AR	همه آنزیم‌های پراکسیزومی	صورت دیس‌مورفیک، هیپوتونی، کبد بزرگ، کیست‌های کلیوی
نقص آنزیمی پراکسی‌زومی ایزوله			
آدرنولوکو دیستروفی	XR	اسید چرب ـ کوآستنتاز زنجیره بلند	تحلیل عصبی، حملات تشنجی، تغییرات رفتاری، از کارافتادگی غده فوق‌کلیه

ادامه جدول ۱ـ۱۱ خصوصیات برخی از ناهنجاری‌های مادرزادی متابولیسم

نوع بیماری	ژنتیک	نقص	ویژگی‌های اصلی بالینی
بیماری‌های مرتبط با میتوکندری			
MERFF	Mt	جهش در tRNA لیزین، جایگزینی‌های m.8344G>A و m.8356T>C	میوکلونوس، تشنج، آتروفی بینایی، نقص شنوایی، جنون میوپاتی
MELAS	Mt	جهش در tRNA لوسین (UUR) (جهش m.3243A>G) جهش در زیر واحد ۶ پروتئین	انسفالومیوپاتی، حملات متناوب شبه‌سکته، تشنج، جنون میگرن، اسیدوز لاکتیک
بیماری لی	Mt	ATPase (معمولاً جهش m.8993T>A، جهش NARP)	هیپوتونی ـ تحلیل روانی حرکتی، آتاکسی، ضعف اسپاسمی عضلات دست و پا
نوروپاتی بینایی ارثی لبر	Mt	جهش در ND4 ، ND6 (جهش‌های m.11778A)	تحلیل شکیه، نقایص هدایت قلبی موقتی
سندرم بارت	XR	نامشخص، کاردیولیپین‌های میتوکندریایی معیوب، افزایش سطح اسید ۳ متیل گلوتاکونیک در ادرار	میوپاتی عضلات اسکلتی و قلبی، عقب‌ماندگی رشد، کمبود نوتروفیل
نقایص اکسیداسیون اسیدهای چرب			
MCAD	AR	اسیل کوآ دهیدروژناز زنجیره متوسط	هیپوگلیسمی هیپوکتونی دوره‌ای (اپیزودیک)
اسیدوری گلوتاریک نوع I	AR	گلوتاریل ـ کوآ ـ دهیدروژناز	انسفالوپاتی‌های دوره‌ای، دیستونی شبه فلج مغزی
اسیدوری گلوتاریک نوع II	AR	اسیل کوآ دهیدروژناز چندگانه	هیپوتونی، هیپوتومگالی، اسیدوز، هیپوگلیسمی

AR : آتوزومی مغلوب، AD : آتوزومی غالب، CNS : سیستم عصبی مرکزی، MCAD : اسیل کوآ دهیدروژناز زنجیره متوسط، MELAS : انسفالوپاتی میتوکندریایی، اسیدوز لاکتیک، حملات دوره‌ای شبیه سکته، MERRF : صرع میوکلونیک مرتبط با فیبرهای قرمز خشن، XR : وابسته به X مغلوب، XD : وابسته به X غالب، Mt : میتوکندریایی

هتروژنیتی هیپرفنیل آلانینمی

سطح فنیل آلانین خون تازه متولدین نیز ممکن است به دلایلی دیگر به غیر از PKU افزایش یابد. نوزادان در موارد نادر ممکن است به هیپرفنیل آلانینمی خوش‌خیم مبتلا شوند که علت ایجاد آن عدم بلوغ موقتی سلول‌های کبد است که عمل آن متابولیزه کردن فنیل آلانین است. در این مورد درمان ضروری نیست، زیرا این افراد در معرض خطر ایجاد عقب‌ماندگی ذهنی نیستند. اما هیپرفنیل آلانینمی می‌تواند به دو علت نادر، اما جدی دیگر نیز ایجاد شود که در هر دو مورد آنزیم PAH طبیعی بوده، اما نقص در دی‌هیدروپتریدین ردوکتاز و یا دی هیدروپتریدین سنتاز وجود دارد. این دو آنزیم در سنتز تتراهیدروبیوپترین، کوفاکتور ضروری برای عملکرد طبیعی PAH ، نقش دارند. هر دو این ناهنجاری‌ها شدیدتر از PKU کلاسیک بوده و علی‌رغم مدیریت مطلوب سطح فنیل آلانین احتمال ایجاد عقب‌ماندگی ذهنی در آنها بیشتر است.

اساس جهش در PKU

بیش از ۴۵۰ جهش مختلف در ژن PAH شناسایی شده است، برخی از جهش‌ها در گروه‌های جمعیتی خاص شایع‌تر است. در اروپای غربی در ارتباط با PKU جهش‌ها در زمینهٔ تعداد محدودی از هاپلوتیپ‌های DNA یافت شده‌اند، جالب اینکه طیفی از جهش‌های مختلف منفرد، در ارتباط با برخی از این هاپلوتیپ پیدا شده‌اند.

فنیل کتونوری مادری

کودکان متولد شده از مادران مبتلا به فنیل کتونوری، در معرض خطر افزایش یافته ابتلا به عقب‌ماندگی ذهنی هستند، حتی وقتی که مادران محدودیت‌های رژیم غذایی کنترل شده را رعایت می‌کنند. پیشنهاد شده است که عدم توانایی مادر در تأمین مقادیر تیروزین مورد نیاز برای جنین خود در رحم، ممکن است سبب کاهش رشد مغز جنین شود.

آلکاپتونوری

آلکاپتونوری (alkaptonuria) یک IEM آتوزومی مغلوب اولیه بود که به‌وسیلهٔ گارود گزارش شد. در این بیماری، در مسیر تجزیه اسید هموجنتیسیک که یک متابولیت تیروزین است، به دلیل کمبود آنزیم اسید هموجنتیسیک اکسیداز، نقص وجود دارد (مراجعه به شکل ۱ـ۱۱). در نتیجه اسید هموجنتیسیک تجمع پیدا کرده، به ادرار ترشح شده و اگر این ادرار در معرض هوا قرار گیرد تیره می‌شود. همچنین رنگدانهٔ تیره در برخی از بافت‌ها مانند موم گوش، غضروف و مفاصل تجمع می‌یابد و باعث ایجاد آکرونوز (Ochronosis) شده که بعدها باعث ایجاد آرتریت در مفاصل می‌شود.

شکل ۲ـ۱۱: چهرهٔ مردی مبتلا به فنیل کتونوری، به صورت بور او توجه کنید.

بیشتر بدانیم ۱ـ۱۱

غربال‌گری تازه متولدین برای تشخیص فنیل‌کتونوری

غربال‌گری جمعیتی (population screening) تازه متولدین برای شناسایی موارد فنیل کتونوری (PKU) یک مثال عالی از کاربرد مدل غربال‌گری در مورد بیماری‌های ژنتیکی است. شیوع این ناهنجاری آتوزومی مغلوب متابولیسم فنیل‌آلانین ۱ به ۱۰۰۰۰ تا ۱ به ۱۵۰۰۰ تولد در بین سفیدپوستان است. روند ایجاد PKU به خوبی درک شده است. بیش از ۹۵ درصد افراد مبتلا به PKU که درمان نشده‌اند دچار عقب‌ماندگی ذهنی متوسط تا شدید می‌شوند. بیماری در سال اول زندگی از لحاظ بالینی غیر قابل شناسایی است، زیرا علائم فیزیکی شدید نبوده و PKU معمولاً فقط به صورت تأخیر تکوینی ظاهر می‌شود. محدود کردن رژیم غذایی فنیل آلانین که قبل از سن ۴ هفتگی اعمال می‌شود در تغییر روند بیماری بسیار مؤثر است. اگر چه رژیم غذایی فنیل‌آلانین اندک خوشایند ذائقه نیست، اما کاهش IQ را تا حد زیادی تقلیل می‌دهد (یک استثنای مهم افرادی هستند که دارای نقص در متابولیسم بیوپترین بوده و در آنها درمان متفاوت خواهد بود).

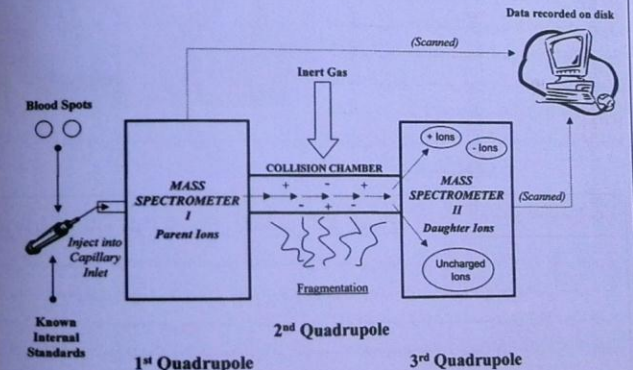
PKU به‌طور معمول با سنجش فنیل آلانین خون با استفاده از آزمایش مهار باکتریایی که تست‌گوتری (Guthrie test) نامیده می‌شود تشخیص داده می‌شود. خون نوزاد پس از تولد به‌وسیله فروبردن سوزنی در پاشنه جمع‌آوری شده و بر روی یک کاغذ فیلتر قرار داده می‌شود. خون خشک شده در سطح آگار قرار داده می‌شود و با سویه‌ای از باکتری یاسیلوس سوبتیلیس انکوبه می‌شود. این باکتری برای رشد نیاز به فنیل آلانین دارد. سنجش رشد باکتری امکان کمّی کردن مقدار فنیل‌آلانین نمونهٔ خون را فراهم می‌آورد. در حال حاضر به‌طور روز افزونی از روش اسپکترومتری جرمی پشت‌سرهم (tandem mass spectrometry) برای غربال‌گری PKU استفاده می‌شود (شکل). نتایج تست در صورت مثبت بودن تکرار شده و در مرحله بعد با روش کمّی سنجش

مقدار فنیل آلانین و تیروزین پلاسما، نتایج حاصله تأیید می‌شود. اگر تست ۲ روز پس از تولد و پس از تغذیه با یک رژیم غذایی پروتئینی انجام شود، نرخ تشخیص (حساسیت) حدود ۹۸٪ است. اگر تست در کمتر از ۲۴ ساعت پس از تولد انجام شود، حساسیت ۸۴٪ بوده و یک آزمایش تکرار نیز پس از چند هفته پس از تولد نیز توصیه می شود. اختصاصیت تست نزدیک ۱۰۰٪ است.

به دلیل اینکه در رژیم غذایی باید به‌قدرکافی پروتئین وجود داشته باشد، در بسیاری از موارد تشخیص PKU، غربال‌گری دوباره در سن ۲ تا ۴ هفتگی انجام می‌شود. در این بازه زمانی حساسیت تست به ۱۰۰٪ می‌رسد. حساسیت بالای تست اهمیت فراوانی دارد، زیرا در صورت تشخیص نادرست اثرات شدید بر سلامت فرد ایجاد خواهد شد.

سطح فنیل آلانین در کودکان مبتلا به PKU کلاسیک معمولاً از ۲۰mg/dl تجاوز می‌کند. در هر ۲۰ نتیجه مثبت غربال‌گری PKU فقط یک نوزاد مبتلا به PKU کلاسیک است. موارد دیگر نتایج کاذب مثبت بوده (به‌خاطر تیروزینمی موقتی) و یا نوزاد مبتلا به نوعی از هیپرفنیل‌آلانینمی (افزایش فنیل‌آلانین) است که به‌دلیل PKU کلاسیک نیست.

هزینهٔ تست گوتری کمتر از چند دلار است. چندین مطالعه نشان داده‌است که هزینه غربال‌گری PKU در سطح ملی بسیار کمتر از هزینه‌ای است که بیماران بر سیستم بهداشت و درمان تحمیل می‌کنند.



شکل- اسپکتروسکوپی جرمی پشت سرهم در غربال‌گری تازه متولدین برای بیماریهای متابولیک ارثی. با این روش می‌توان به‌طور همزمان در یک آزمایش منفرد بیشتر ناهنجاری مربوط به متابولیسم اسیدهای آمینه و بسیاری از بیماریهای مربوط به اکسیداسیون اسیدهای چرب واسیدهای آلی را غربال کرد. این فن‌آوری از دو اسپکترومتر جرمی به‌صورت پشت سر هم که بین آنها یک اتاقک تصادم (collision chamber) قرار گرفته است بهره می‌برد. جرم ملکول‌های یونیزه شده توسط اسپکترومتر اول تعیین شده و پس از تفکیک در اتاقک تصادم بر مبنای پروفایل تفکیک در اسپکترومتر دوم شناسایی می‌شوند. اطلاعات خام بوسیله یک برنامه کامپیوتری آنالیز شده و به نمودارهایی تبدیل می‌شود که هر یک از قله‌ها نمایانگر یک متابولیت خواهد بود.

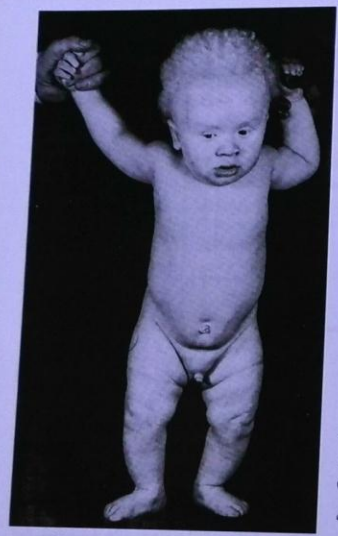
منابع:

Jorde BL, Carey JC, Bamshad MJ, **Medical Genetics**, (4th ed). Mosby. 2010, Chapter 13

Erbe RW. Levy HL. (2006) Neonatal Screening. **In Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics**, (5th ed). Churchill Livingstone.

زالی پوستی - چشمی

زالی پوستی چشمی (Oculocutaneous albinism) یا OCA یک بیماری آتوزومی مغلوب است که در نتیجهٔ نقص در آنزیم تیروزیناز (که برای ساخته شدن ملانین از تیروزین ضروری است)، ایجاد می‌شود (شکل ۱-۱۱). در OCA رنگدانه در پوست، مو، عنبیه و قاعدهٔ چشم (Ocular fundus) وجود ندارد (شکل ۳-۱۱) و فقدان رنگدانه‌های چشم منجر به کاهش دقت بینایی و حرکات چشم آونگی غیرقابل کنترل - نیستاگموس - می‌شود. کاهش رنگدانه‌بندی قاعده چشم منجر به تکامل ناقص بخشی شبکیه که برای بینایی دقیق لازم است - لکه زرد (fovea) - می‌شود. کاهش رنگدانه همچنین منجر به برقراری ارتباط نامناسب مسیرهای بینایی با قشر بینایی مغز می‌شود.



شکل ۳-۱۱: زالی پوستی - چشمی در کودک با نژاد آفریقایی - کارائیبی

هتروژنیتی در OCA

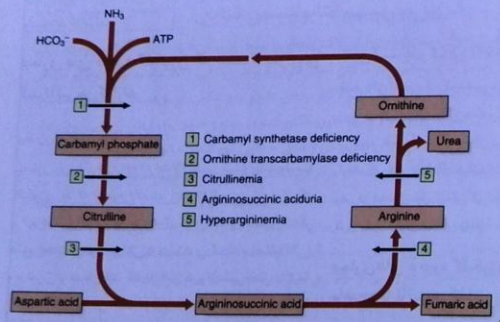
OCA از نظر ژنتیکی و بیوشیمیایی هتروژن است. سلول‌های افراد مبتلا به زالی کلاسیک فاقد فعالیت آنزیمی قابل سنجش تیروزیناز بوده و لذا ***تیروزیناز منفی*** (tyrosine- negative) خوانده می‌شوند. اما سلول‌های گرفته شده از برخی از اشخاص مبتلا به زالی، اندکی فعالیت آنزیم تیروزیناز نشان می‌دهد و بنابراین ***تیروزیناز مثبت*** نامیده می‌شود. این نوع بیماری از نظر بالینی، به‌وسیلهٔ تکوین متغیر وابسته به سن الگوی رنگدانه‌بندی پوست و مو مشخص می‌شود. هر دو نوع به OCA مرتبط با ژن تیروزیناز نوع I معروف هستند.

OCA نوع I به دلیل جهش در ژن تیروزیناز موجود بر روی کروموزوم 11q ایجاد می‌شود. هر چند مطالعات پیوستگی در برخی از خانواده‌های OCA تیروزیناز مثبت نشان داد که ژن تیروزیناز آنها سالم است. برخی از این افراد در ژن P جهش دارند. این ژن، همولوگ ژن موشی *pink-eyed dilution* یا *pink-eye* است که بر روی کروموزوم 15q واقع شده است. این ژن OCA نوع II نامیده می‌شود. علاوه بر این برخی از خانواده‌های مبتلا به OCA در هر دو ژن سالم هستند و بنابراین در آنها لکوس سومی هم وجود دارد که مسئول ایجاد OCA است.

هموسیستینوری

هموسیستینوری یک IEM مرتبط با اسیدهای آمینه سولفوردار است که مشخصه‌های آن عبارتند از ناتوانی در یادگیری، تشنج، ترومبوفیلی، اسکولیوز، فرورفتگی جناغ سینه (pectus excavatum) ، انگشتان بلند دست و پا (آراکنوداکتیلی) و همچنین دررفتگی عدسی‌های چشم می‌باشند. بنابراین ویژگی‌های بدنی شبیه سندرم مارفان با توارث آتوزومی غالب است.

هموسیستینوری به علت نقص در آنزیم سیستاتیونین - بتا - سنتاز ایجاد می‌شود و می‌توان آن را با آزمایش سیانید نیتروپروساید مثبت، که قادر است حضور غلظت افزایش یافته هموسیستین (homocystine) در ادرار را بسنجد،



شکل ۴ـ۱۱: طرحی که نشان‌دهنده جایگاه ایجاد انواعی از نقایص مادرزادی چرخه اوره است.

با شیر جایگزین که فاقد گالاکتوز یا لاکتوز (این قند موجود در شیر در اثر تجزیه گالاکتوز ایجاد می‌کند) است، می‌توان از ایجاد عوارض ذکر شده جلوگیری کرد. تشخیص اولیه ضروری بوده و گالاکتوزمی را می‌توان در حضور مواد احیاءکننده در ادرار، طی آزمایشی که برای گالاکتوز اختصاصی است، غربال کرد.

عدم تحمل ارثی فروکتوز

عدم تحمل ارثی فروکتوز (hereditary fructose intolerance) یک ناهنجاری آتوزومی مغلوب است که در نتیجه نقص در آنزیم فروکتوز ـ ۱ـ فسفات آلدولاز ایجاد می‌شود. فروکتوز در رژیم غذائی روزانه در عسل، میوه، برخی از سبزیجات و در ترکیب با گلوکز در ساکارُز دی‌ساکاریدی موجود در قند نیشکر وجود دارد. افراد مبتلا به عدم تحمل ارثی فروکتوز در هر سنّی می‌توانند باشند، بسته به اینکه چه زمانی فروکتوز وارد رژیم غذایی آنها شده باشد. علائم ممکن است خفیف و یا مانند گالاکتوزمی بسیار شدید باشد که در این افراد نارسایی رشد، استفراغ، یرقان و تشنج دیده می‌شود. تشخیص با تأیید وجود فروکتوز در ادرار و سنجش آنزیمی صورت گرفته بر روی موکوس روده و یا بیوپسی کبد، قطعی می‌شود. محدود کردن مصرف فروکتوز در رژیم غذایی با پیش‌آگهی طولانی‌مدت خوب مرتبط می‌باشد.

بیماری‌های ذخیره گلیکوژن

گلیکوژن شکل ذخیره گلوکز در ماهیچه و کبد به‌صورت پلی‌مر است، که به عنوان منبع ذخیره انرژی عمل می‌کند. در بیماری‌های ذخیره گلیکوژن (GSDs)، گلیکوژن به مقدار فراوان در ماهیچهٔ اسکلتی، ماهیچه قلبی و یا کبد تجمع می‌یابد و این به دلیل انواعی از نقایص مادرزادی آنزیم‌هایی است که در ساخته شدن و تجزیه گلیکوژن نقش دارند. بعلاوه به دلیل این نقص متابولیک، گلیکوژن دیگر به عنوان منبع طبیعی گلوکز در دسترس نبوده، که این حالت می‌تواند منجر به هیپوگلیسمی، اختلال در عملکرد کبد و ناهنجاری‌های عصبی شود.

در هر یک از ۶ نوع اصلی GSD، یک نقص آنزیمی اختصاصی وجود دارد که این آنزیم‌ها هر کدام، یکی از مراحل مسیر متابولیسمی سنتز و تجزیه گلیکوژن را کاتالیز می‌کنند. انواع نقایص را می‌توان براساس اینکه آنها عمدتاً بر روی کبد یا ماهیچه تأثیر می‌گذارند، طبقه‌بندی کرد. همه این شش نوع ناهنجاری به‌صورت بیماری‌های با توارث آتوزومی مغلوب به

غربال کرد. تشخیص با افزایش سطح هموسیستین پلاسما تأیید می‌شود. درمان شامل رژیم غذایی با میتونین اندک است که با سیستین (Cystine) تقویت شده است. تعدادی از افراد مبتلا به هموسیستینوری به کوفاکتور آنزیمی پیرودوکسین پاسخگو می‌باشند (یعنی این افراد انواع پاسخگو به پیریدوکسین هستند). یک بخش کوچکی از افراد مبتلا دارای جهش‌هایی در ژن‌هایی هستند که منجر به نقص آنزیم‌های دخیل در سنتز کوفاکتورهای لازم برای سیستاتیونین ـ بتا ـ سنتاز می‌شود.

نقایص مربوط به متابولیسم اسیدهای آمینه شاخه‌دار

اسیدهای آمینهٔ شاخه‌دار لوسین، ایزولوسین و والین در بخشی از مسیر متابولیسمی خود مشترک هستند. نقص در آنزیم موجود در این مسیر مشترک منجر به ایجاد بیماری ادرار شربت افرا (maple syrup urine disease) می‌شود.

بیماری ادرار شربت افرا

نوزادان مبتلا به این ناهنجاری آتوزومی مغلوب در هفتهٔ اول زندگی خود دچار استفراغ می‌شوند، سپس تغییر در تون (tone) و در صورت عدم درمان منجر به مرگ در هفته‌های اول زندگی می‌شود. نام بیماری از بوی ادرار مبتلایان که شبیه شربت افرا است، مشتق شده است.

بیماری در اثرنقص کتواسید دکربوکسیلاز شاخه‌دار ایجاد می‌شود که نبود آن باعث افزایش ترشح اسیدهای آمینه شاخه‌دار لوسین، والین و ایزولوسین به درون ادرار می‌شود که وجود آنها در ادرار پیشنهاد دهندهٔ تشخیص بوده و تأیید تشخیص با نشان دادن حضور این اسیدهای آمینه شاخه‌دار در خون حاصل می‌شود. درمان شامل یک رژیم غذایی است که در آن مصرف این سه اسید آمینه تا میزان ضروری برای رشد کاهش یافته است. افراد مبتلا، مخصوصاً در ارتباط با بیماری‌هایی که منجر به تجزیهٔ کاتابولیتی پروتئین شده و همزمان با بیماری ادرار شربت افرا رخ می‌دهند، مستعد وخیم‌تر شدن بیماری هستند.

بیماری‌های چرخهٔ اوره

چرخه اوره (Urea cycle) یک مسیر متابولیسمی پنج مرحله‌ای است که عمدتاً در سلول‌های کبدی وجود دارد و نیتروژن اضافی از گروه‌های آمین اسیدهای آمینه حاصل از تجزیهٔ طبیعی پروتئین‌ها را از بدن دفع می‌کند. در این چرخه با اتصال دو ملکول آمونیوم به یک بی‌کربنات، یک اوره تولید می‌شود. (شکل ۴ـ۱۱). نقایص آنزیم‌های چرخهٔ اوره منجر به عدم تحمل پروتئین، به دلیل تجمع آمونیوم در بدن ـ هایپرآمونمی ـ می‌شود. افزایش سطح آمونیوم برای سیستم عصبی مرکزی سمّی بوده و می‌تواند منجر به کما (Comma) و در صورت عدم درمان باعث مرگ شود. این نقایص مجموعاً و هر یک به تنهایی نادر بوده و به استثناء نقص وابسته به X اورنیتین ترانس کربامیلاز، به‌صورت صفت آتوزومی مغلوب به ارث می‌رسند.

بیماری‌های مربوط به متابولیسم کربوهیدرات‌ها

نقایص مادرزادی متابولیسم کربوهیدرات را می‌توان در دو گروه اصلی مورد مطالعه قرار داد: ناهنجاری‌های مربوط به متابولیسم مونوساکاریدها و بیماری‌های ذخیره گلیکوژنی.

ناهنجاری‌های مربوط به متابولیسم مونوساکاریدها

دو مثال از بیماری‌های متابولیسم مونوساکاریدها، گالاکتوزمی و عدم تحمل ارثی فروکتوز هستند.

گالاکتوزمی

گالاکتوزمی (galactosemia) یک بیماری آتوزومی مغلوب است که در اثر نقص در آنزیم گالاکتوز ـ ۱ ـ فسفات یوریدیل ترانسفراز (که برای متابولیسم قند گالاکتوز موجود در رژیم غذایی ضروری است)، ایجاد می‌شود. نوزادان مبتلا به گالاکتوزمی در دومین هفتهٔ زندگی دچار علائمی چون استفراغ، ضعف و سستی، نارسایی رشد و یرقان می‌شوند و اگر درمان نشوند عوارضی همچون عقب‌ماندگی ذهنی، آب‌مروارید و سیروز کبدی از خود نشان می‌دهند. با تشخیص اولیه و تغذیه نوزادان

ارث می‌رسند، اگرچه واریانت‌های فسفریلاز کبدی الگوی توارث وابسته به X دارند.

بیماری‌های ذخیره گلیکوژن که عمدتاً بر روی کبد تأثیر می‌گذارند

بیماری وُن‌ژیرکه (GSD-I)

بیماری وُن‌ژیرکه (Von Gierke) اولین بیماری متابولیسم گلیکوژن بود که توضیح داده شد و در اثر نقص در آنزیم گلوکز ـ ۶ ـ فسفاتاز که مسئول تجزیه گلیکوژن کبد و رهاسازی گلوکز است، ایجاد می‌شود. نوزادان دارای کبد بزرگ شده (هپاتومگالی) و یا تعریق و ضربان قلب تند به دلیل هیپوگلیسمی پس از ۳ یا ۴ ساعت ناشتایی، می‌باشند. درمان ساده است و شامل تغذیه با دفعات زیاد و پرهیز از ناشتاماندن برای حفظ غلظت قند خون است.

بیماری کری (GSD-III)

بیماری کُری (Cori disease) به علت نقص آنزیم آمیلو ـ ۱، ۶ـ گلوکوزیداز که به آنزیم شاخه‌شکن (debrancher) نیز معروف است، ایجاد می‌شود. نقص منجر به تجمع گلیکوژن در کبد و دیگر بافت‌ها به دلیل عدم توانایی شکستن پیوندهای شاخه‌ای پلی‌مر گلیکوژن می‌شود. نوزادان ممکن است به دلیل تجمع گلیکوژن در کبد به هپاتومگالی مبتلا شوند و همچنین در آنها ضعف ماهیچه‌ای نیز دیده می‌شود. درمان شامل پرهیز از هیپوگلیسمی با تغذیه مکرر و پرهیز از ناشتاماندن طولانی‌مدت است.

بیماری اندرسون (GSD-IV)

بیماری اندرسون (Anderson disease) در نتیجه نقص در آنزیم شاخه‌ساز گلیکوژن ایجاد شده و منجر به شکل‌گیری گلیکوژن غیرطبیعی با زنجیره‌های طولانی و شاخه‌های اندک می‌شود، که نمی‌تواند به درستی توسط آنزیم‌های تجزیه‌کننده گلیکوژن تجزیه شود. در نوزادان علائمی همچون هیپوتونی و عملکرد غیرطبیعی کبد که در اولین سال زندگی سریعاً تبدیل به نارسایی کبدی می‌شود، دیده می‌شود. به جز پیوند کبد، هیچ درمان مؤثری در حال حاضر در دسترس نمی‌باشد.

نقص فسفریلاز کبدی (GSD-VI)

فسفریلاز کبدی یک کمپلکس آنزیمی چند زیرواحدی است که زیرواحدهای آن توسط ژن‌های آتوزومی و وابسته به X کد می‌شوند. نقص آنزیم فسفریلاز کبدی تجزیه گلیکوژن را مختل کرده، که منجر به ایجاد هپاتومگالی، هیپوگلیسمی و نارسایی رشد در دو سال اول زندگی می‌شود. درمان شامل فراهم کردن کربوهیدرات برای شخص بیمار است.

بیماری‌های ذخیره گلیکوژن که عمدتاً بر روی ماهیچه‌ها تأثیر می‌گذارند

بیماری پمپه (GSD-III)

نوزادان مبتلا به بیماری پمپه (pompe disease) معمولاً در ماه‌های اولیه زندگی خود مبتلا به شلی (هیپوتونی) و تأخیر در حرکات به دلیل ضعف ماهیچه‌ای هستند. سپس قلب آنها بزرگ شده و در اثر نارسایی قلبی در سال اول یا دوم زندگی فوت می‌کنند. به دلیل نقص در آنزیم لیزوزومی آلفا ـ ۱، ۴ گلوکوزیداز لیزوزومی که برای تجزیه گلیکوژن ضروری است، گلیکوژن در عضلات قلبی و ارادی‌شان تجمع پیدا می‌کند. تشخیص با سنجش آنزیمی فیبروبلاست‌ها یا گلبول‌های سفید خون امکان‌پذیر است. گزارشات اولیه از درمان جایگزینی آنزیم، امیدوارکننده به نظر می‌رسد.

بیماری مک آردل (GSD-V)

افراد مبتلا به بیماری مک آردل (McArdle disease) در سال‌های نوجوانی در هنگام ورزش گرفتگی عضلات را نشان می‌دهند. بیماری در اثر نقص در آنزیم فسفریلاز ماهیچه‌ای که برای تجزیه گلیکوژن ماهیچه‌ای ضروری است، ایجاد شود. درمان مؤثری وجود ندارد، اگرچه در برخی از افراد در صورت ادامه یافتن تمرینات، گرفتگی عضلانی کاهش می‌یابد و این حالت احتمالاً به دلیل در دسترس قرار گرفتن منابع دیگر انرژی حاصل از مسیرهای متابولیسمی ثانویه می‌باشد.

عدم تحمل لاکتوز ـ یک پلی‌مورفیسم متابولیسمی شایع

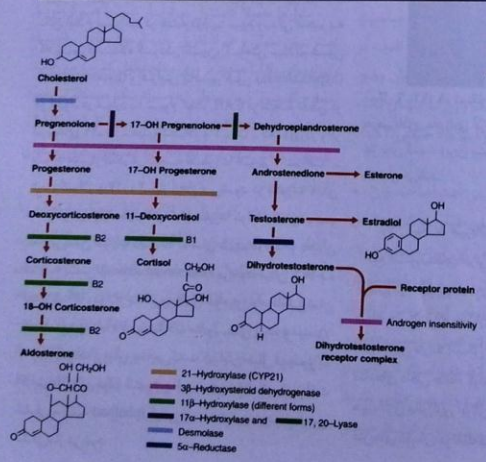
بیشتر بدانیم ۲-۱۱

اکثر افراد بزرگسال در اروپای شمالی دارای صفت پایداری ارثی لاکتاز رودهای با توارث غالب می‌باشند. بنابراین آنها می‌توانند رژیم غذایی غنی از شیر را به راحتی تحمل کنند. برعکس اکثر ساکنان آسیای شرقی و نواحی استوایی و تحت استوایی در اوایل کودکی آنزیم لاکتاز رودهای را دیگر تولید نمی‌کنند. در افراد فاقد آنزیم لاکتاز رودهای علائم تورم شکمی، درد و اسهال در صورت مصرف شیر تازه مشاهده می‌شود. محصول لبنی همچون پنیر و ماست حاوی لاکتوز کمتری بوده و کمتر ایجاد مشکل می‌کند. رابطه نزدیکی بین مصرف شیر و میزان لاکتاز وجود دارد. برای مثال برخی از قبایل آفریقایی کوچ‌کننده که شیر تازه مصرف می‌کنند دارای سطح بالایی از پایداری لاکتاز رودهای هستند، در حالی که اکثر مردم آفریقا فاقد پایداری بیان این آنزیم هستند.

پایداری یا عدم پایداری در بیان لاکتاز یک نقص مادرزادی نیست، بلکه یک پلی‌مورفیسم رایج است: هر دو حالت در بین افراد شایع است. بدون شک حالت اجدادی، وضعیت عدم پایداری در بیان لاکتاز در بزرگسالی در اکثر پستانداران است. به‌طور آشکار یک انتخاب قوی برای واریانت‌های بیان پایدار در میان جمعیت‌هایی که از محصولات لبنی استفاده می‌کنند، وجود دارد. این انتخاب در طول ۹۰۰۰ سال گذشته اتفاق افتاده و یکی از مؤثرترین تغییرات انتخابی اخیر را در انسان ایجاد کرده است.

مشکل می‌توان واریانت DNA عامل این حالت را شناسایی کرد. اما اطلاعات اخیر به یک پلی‌مورفیسم C/T حدود ۱۴ کیلوباز فرادست کدون آغاز ژن لاکتاز در موقعیت کروموزومی 2q21 اشاره دارد. در بررسی ۲۳۶ نفر از ۴ جمعیت، هر فرد دارای یک یا چند آلل T وضعیت بیان پایدار لاکتاز را نشان می‌داد، در حالی که هر فرد هموزیگوت برای آلل C وضعیت ناپایدار بیان لاکتاز بود. این واریانت از آن نوع واریانت‌هایی است که احتمالاً به عنوان عوامل مستعدکنندهٔ بیماری‌های شایع عمل می‌کنند. بیماری‌های مندلی معمولاً در نتیجه جهش‌هایی ایجاد می‌شوند که سبب از دست رفتن یا کسب عملکرد یک ژن می‌شوند. اما در مثال مطرح شده در اینجا از آن نوع تغییراتی است که زمان بیان یک ژن را بدون اینکه بر انسجام محصول ژنی اثر بگذارد، تحت تأثیر قرار می‌دهد.

منابع:
Read A.Donnai D. New **Clinical Genetics**, Scion Publishing, 2010



شکل ۵ـ۱۱: بیوسنتز استروئیدها که در نقایص مادرزادی رایج بیوسنتز استروئیدها، شده است.

ناهنجاری‌های مربوط به متابولیسم استروئیدها

بیماری‌های مرتبط با متابولیسم استروئیدها شامل تعدادی از ناهنجاری‌های مادرزادی مسیرهای بیوسنتز کورتیزول با توارث آتوزومی مغلوب است. مردانه شدن (Virilization) جنین‌های مؤنث، به همراه از دست دادن املاح در نوزادان مؤنث و مذکر به دلیل نقص هورمون آلدسترون ممکن است رخ دهد. بعلاوه نقص درگیرنده آندروژن منجر به فقدان مردانگی در افراد دارای کروموزوم‌های مردانه می‌شود (شکل ۵ـ۱۱).

هیپرپلازی مادرزادی آدرنال (سندرم آدرنوژنیتال)

تشخیص هیپرپلازی مادرزادی آدرنال (Congenital adrenal-hyperplasia) یا CAH را باید در مورد هر نوزاد مؤنث تازه متولد شده که مردانه‌شدن دستگاه تناسلی خارجی را نشان می‌دهد، مورد توجه قرار دارد. زیرا CAH شایع‌ترین علت ایجاد ابهام دستگاه تناسلی خارجی در نوزادان دختر است (شکل ۶ـ۱۱). در بیش از ۹۰٪ موارد CAH نقص ۲۱ هیدروکسیلاز رخ می‌دهد. تقریباً ۲۵٪ افراد مبتلا، بیماری‌شان از نوع از دست دادن املاح است که در هفته دوم یا سوم زندگی منجر به کلاپس دستگاه گردش خون، کاهش سدیم خون (hyponatremia) و افزایش پتاسیم خون (hyperkalemia) می‌شود. در موارد با شیوع کمتر CAH در نتیجهٔ نقص در آنزیم‌های ۱۱ـ بتا ـ هیدروکسیلاز و ۳ ـ بتا ـ دهیدروژناز و در موارد بسیار نادر در نتیجهٔ نقص در آنزیم ۱۷ـ الفا ـ هیدروکسیلاز و ۱۷، ۲۰ـ لیاز ایجاد می‌شود. در صورت نقص دسمولاز در موارد بسیار نادر، تمام مسیرها بلوکه شده و موجب معکوس‌شدن فنوتیپ دستگاه تناسلی مبهم مردانه و بحران شدید آدیسونی (addisonian crises) می‌شود. مردان مبتلا به نقص ۵ـ آلفا ردوکتاز به طور قابل توجهی از مردانگی‌شان کاسته می‌شود، اما فاقد مشکلات متابولیسمی بوده و احتمالاً به‌عنوان مؤنث پرورش پیدا می‌کنند. با این حال در بلوغ با افزایش ناگهانی تولید آندروژن که برای تحریک رشد آلت تناسلی مردانه (phallus) کافی است، تعیین هویت جنسی مشکل‌ساز می‌شود.

شکل ۶ـ۱۱: A، دستگاه تناسلی خارجی مردانه در یک دختر مبتلا به هیپرپلازی مادرزادی آدرنال B، یک نوزاد پسر دارای هیپوسپادیاس (باز بودن قسمت زیرین پیشابراه) که بیضه‌ها در کیسه‌های بیضه او مشخص می‌باشد.

زنان مبتلا به هیپرپلازی مادرزادی آدرنال (CAH) در اثر تجمع استروئیدهای آدرنوکورتیکال در نزدیکی جایگاه انسداد آنزیمی در مسیر بیوسنتزی استروئیدها، دارای دستگاه تناسلی مردانه می‌باشند که بسیاری از این استروئیدها فعالیت مشابه تستوسترون دارند (شکل ۵ـ۱۱ را ببینید). با این حال آنها اندام‌های داخلی منشاء گرفته از مولرین طبیعی دارند. البته احتمال هیپرپلازی مادرزادی آدرنال (CAH) نباید در نوزادان پسر دارای غش‌های دوره‌ای در هفته‌های اول زندگی فراموش شود.

نوزادان مبتلا علاوه بر نیاز به تعیین جنسیت فوری، توسط جایگزینی کورتیزول درمان می‌شوند و اگر شکل از دست‌دهنده املاح بلند مدت را داشته باشند، توسط فلادروکورتیزون درمان می‌شوند. دختران دارای اندام‌های تناسلی مردانه ممکن است در سال‌های بعدی زندگی نیاز به جراحی داشته باشند. این دختران در تمام طول عمرشان درمان جایگزینی استروئیدی را دریافت کرده و طی دوره‌های متناوب بیماری یا در زمان استرس همانند جراحی‌ها باید مصرف آنها را افزایش دهند. قاعدگی در دختران دارای هیپرپلازی مادرزادی آدرنال (CAH) نوع از دست دهنده املاح، با تأخیر بوده و قاعدگی نامنظم است و معمولاً میزان بارداری آنها کمتر می‌باشد.

سندرم عدم حساسیت به آندروژن

افراد مبتلا به سندرم عدم حساسیت به آندروژن دارای دستگاه تناسلی خارجی زنانه بوده و در زمان بلوغ رشد پستان‌ها در آنها رخ می‌دهد. آنها به صورت کلاسیکی، آمنوره اولیه نشان می‌دهند و یا دارای یک فتق نافی هستند که این فتق دربرگیرندهٔ یک گناد است، که معمولاً یک بیضه می‌باشد. فتق نافی در دختران نامعمول است و اگر چنین حالتی (به‌خصوص اگر دوطرفه باشد) مشاهده شود باید مورد سندرم عدم حساسیت به آندروژن مد نظر قرار گیرد. هم‌چنین اغلب، موهای ثانویه در آنها کم‌پشت بوده و بررسی دستگاه تناسلی داخلی، فقدان وجود رحم و لوله‌های فالوپ را به همراه یک واژن با انتهای بسته نشان می‌دهد. آنالیز کروموزومی کاریوتایپ مرد طبیعی 46,XY را مشخص می‌کند.

تولید آندروژن توسط بیضه‌ها طبیعی است اما آندروژن به دلیل غیرطبیعی بودن گیرندهٔ آن، به‌طور طبیعی به گیرنده متصل نمی‌شود (به شکل ۵ـ۱۱ مراجعه شود). ژن گیرنده آندروژن واقع بر کروموزوم X، جهش یافته است. این ژن را از لحاظ عملکردی می‌توان در فیبروبلاست‌های پوست بررسی کرد. برخی از افراد، عدم حساسیت به آندروژن را به صورت کامل یا نسبی دارند و میزان مردانه‌شدن دستگاه تناسلی در آنها متغیر است. افراد بیمار ممکن است جهت‌گیری جنسی زنانه داشته و نابارور باشند. بیضه‌ها به دلیل میزان خطر بالای بدخیمی باید توسط جراحی برداشته شوند و تجویز استروژن برای بروز صفات ثانویه جنسی و چلوگیری از پوکی استخوان بلندمدت صورت می‌گیرد.

بیماری‌های متابولیسم لیپیدی

هایپرکلسترولمی خانوادگی شایع‌ترین بیماری تک‌ژنی آتوزومی غالب در دنیای غرب است و با نرخ بالای بیماری‌زایی و مرگ و میر توسط ایجاد بیماری شریان کرونری زودهنگام، همراه است.

هایپرکلسترولمی خانوادگی

افراد مبتلا به هایپرکلسترولمی خانوادگی (FH) دارای سطوح افزایش یافتهٔ کلسترول، همراه با خطر قابل توجه ابتلا به بیماری شریان کرونر زودهنگام هستند. آنها در کودکی یا نوجوانی دارای تجمعات لیپیدی زیرپوستی موسوم به گزانتوم (Xanthomata) می‌باشند (شکل ۷ـ۱۱). براون و گلدشتاین (Brown and Goldestein) کار خود را با مطالعهٔ دو خانوادهٔ مبتلا به بیماری شریان کرونر زودرس آغاز کردند و زیست‌شناسی گیرنده LDL (لیپوپروتئین با چگالی اندک) و اساس آسیب‌شناسی FH را کشف کردند.

سلول‌ها معمولاً کلسترول مورد نیاز خود را هم از طریق سنتز درون سلولی و هم از طریق جذب از مواد غذایی به‌وسیله گیرنده‌های LDL موجود بر روی سطح سلول کسب می‌کنند. سطوح کلسترول درون سلولی به‌وسیله یک سیستم بازخورد (Feedback system) از طریق مهار سنتز گیرنده LDL و همچنین کاهش سنتز از نو *(de novo)* کلسترول درون سلولی تنظیم می‌شود.

سطوح بالای کلسترول در FH به دلیل عملکرد ضعیف یا کاملاً معیوب گیرنده‌های LDL است که منجر به افزایش سطوح سنتز کلسترول درون سلولی می‌شود. چهار کلاس اصلی جهش‌ها در گیرنده LDL شناسایی شده‌اند: (۱) کاهش بیوسنتز یا ساخته‌شدن ناقص گیرنده (۲) کاهش انتقال یا انتقال معیوب گیرنده از شبکهٔ اندوپلاسمی به دستگاه گلژی (۳) اتصال غیرطبیعی LDL به گیرنده خود و (۴) ورود ناقص LDL به‌وسیله گیرنده خود به درون سلول (شکل ۸ـ۱۱).

شکل ۷ـ۱۱: پاهای فردی مبتلا به هایپرکلسترولمی خانوادگی هموزیگوت، که چندین گزانتوم بر روی آن دیده می‌شود.

جهش‌های خاصی در برخی از گروه‌های نژادی خاص به دلیل اثرات بنیان‌گذار (founder effects) شایع‌تر هستند.

مدیریت بیماری عمدتاً بر مبنای محدودکردن مصرف روزانه کلسترول و دارو درمانی با استاتین‌ها (Statins) است که باعث کاهش سنتز کلسترول درون سلولی با مهار آنزیم ۳ـ هیدروکسی ـ ۳ ـ متیل گلوتاریل کوآنزیم A (HMG-CoA) ردوکتاز می‌شوند. سطوح کلسترول در افراد مبتلا متغیر بوده و سنجش‌های لیپیدی لزوماً نمی‌توانند افراد جهش یافته را شناسایی کنند. بنابراین تمایل فراوانی به ارائه گسترده تست‌های ژنتیکی وجود دارد، اگرچه اکثر جهش‌ها از نوع بدمعنی (missense) بوده و م

می‌کنند.

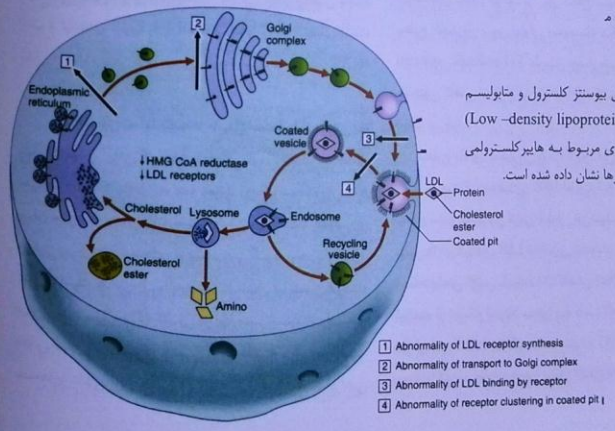
شکل ۸ـ۱۱: مراحل بیوسنتز کلسترول و متابولیسم گیرنده‌های LDL (Low –density lipoprotein) که انواعی از جهش‌های مربوط به هایپرکلسترولمی خانوادگی در این مسیرها نشان داده شده است.

بیماری‌های ذخیره لیزوزومی

علاوه بر IEMs که در آنها یک نقص آنزیمی منجر به کمبود متابولیت‌های اساسی و تجمع پیش‌سازهای متابولیک حد واسط می‌شود، چندین بیماری وجود دارد که در آنها نقص آنزیم‌های لیزوزومی دخیل در تجزیهٔ کمپلکس‌های درشت ملکولی (ماکروملکول‌ها) باعث تجمع آنها می‌شود. این تجمع به این دلیل اتفاق می‌افتد که درشت ملکول‌ها به‌طور طبیعی در یک وضعیت ثابت در جریان هستند، به‌طوری که تعادل ظریفی بین سرعت ساخته‌شدن و تجزیه آنها وجود دارد. کودکان مبتلا به بیماری‌های ذخیرهٔ لیزوزومی در ابتدا طبیعی بوده، اما با گذشت زمان یک دورهٔ سراشیبی با مدت زمان متغیر را آغاز می‌کنند که به دلیل تجمع یک یا انواع مختلفی از انواع درشت ملکول‌هاست.

موکوپلی‌ساکاریدوزها

در کودکان مبتلا به یکی از انواع موکوپلی‌ساکاریدوز (mucopolysaccharidoses) یا MPS، نقایص اسکلتی، عروقی و دستگاه عصبی مرکزی، همراه با ویژگی‌های چهره‌ای خشن دیده می‌شود. این ویژگی‌ها به دلیل تجمع پیشرونده پلی‌ساکاریدهای سولفاته (مشهور به گلیکوز آمینوگلیکان‌ها) است که به‌وسیلهٔ تجمع معیوب زنجیره جانبی کربوهیدراتی موکوپلی‌ساکاریدهای اسیدی رخ می‌دهد.



ع نوع MPS بر مبنای تفاوت‌های ژنتیکی و بالینی شناخته شده‌اند، هر نوع MPS دارای الگوی خاص ترشح گلیکوز آمینوگلیکان‌ها، درماتان، هپاران، کراتان و کندروئتین سولفات به داخل ادرار است. مطالعات بیوشیمیایی بعدی آشکار کرد که انواع مختلف به دلیل نقص در انواع متفاوتی از آنزیم‌ها ایجاد می‌شوند و همه آنها بجز سندرم هانتر که الگوی وابسته به X نشان می‌دهد، از الگوی توارثی اتوزومی مغلوب تبعیت می‌کنند.

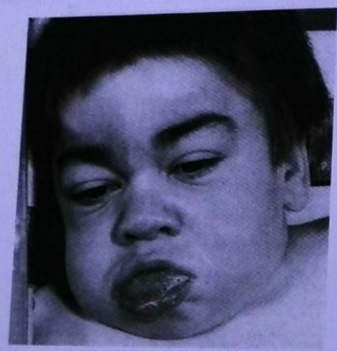
سندرم هورلر (MPS-I)

سندرم هورلر (Hurler) شدیدترین MPS است. در کودکان مبتلا در سال اول زندگی کدورت قرنیه، خمیدگی بخش تحتانی نخاع و رشد ضعیف مشاهده می‌شود. آنها در دومین سال زندگی خود دچار ناشنوایی، ویژگی‌های خشن صورت، کبد و طحال بزرگ شده، سختی مفاصل و تغییرات مهره‌ها می‌شوند. این ویژگی‌ها همراه با زوال عقلی هر روز وخیم‌تر شده و در نهایت در اواسط نوجوانی به دلیل نارسایی قلبی و عفونت‌های تنفسی فوت می‌کنند.

تشخیص سندرم هورلر در ابتدا با نشان دادن حضور گرانول‌های متاکروماتیک در سلول (یعنی لیزوزوم‌ها با ذخیرهٔ موادی که عمدتاً از جنس درماتان سولفات بودند، متورم می‌شدند) انجام می‌گرفت. بررسی افزایش ترشح ادراری درماتان و هپاران سولفات به‌طور رایج برای تست غربال‌گری مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما تأیید تشخیص شامل نشان دادن فعالیت کاهش یافتهٔ هیدرولاز لیزوزومی آلفا ـ ال ـ یودورونیداز (α-L-iduronidose) و آنالیز مستقیم ژن مربوطه است. انواع آللی خفیف‌تر سندرم هورلر که در آنها سطوح مختلف فعالیت آلفا ـ ال ـ یودورونیداز مشاهده می‌شود قبلاً به صورت سندرم جداگانه به نام بیماری شی (Scheie) (MPS-IS) و بیماری هورلر ـ شی (MPS-I H/S) طبقه‌بندی می‌شد.

سندرم هانتر (MPS-II)

مردان مبتلا به سندرم هانتر (Hunter) معمولاً در سنین ۲ تا ۵ سالگی دچار ناشنوایی، عفونت‌های مکرر، اسهال و رشد ضعیف می‌شوند. ویژگی‌های چهره منحصر به فرد و خشن است



شکل ۹ـ۱۱: چهرهٔ پسری مبتلا به موکوپلی ساکاریدوز، از نوع سندرم هانتر.

(شکل ۹ـ۱۱)، کبد و طحال بزرگ شده و سختی مفاصل ایجاد می‌شود. رادیوگراف‌های نخاعی شکل نامعمول مهره‌ها را آشکار می‌سازند، تحلیل جسمی و ذهنی پیشرونده وجود دارد که در نهایت مرگ در نوجوانی رخ می‌دهد. تشخیص به‌وسیله تأیید مقادیر اضافی درماتان و هپاران سولفات در ادرار، فعالیت ناقص یا کاهش یافتهٔ آنزیم ایدورونات سولفات سولفاتاز (iduronate sulfate sulfatase) در سرم یا گلبول‌های قرمز خون و با آنالیز مستقیم ژن انجام می‌شود.

سندرم سان‌فیلیپو (MPS-III)

سندرم سان‌فیلیپو (Sanfilippo) رایج‌ترین MPS است. افراد مبتلا در دومین سال زندگی خود دارای ویژگی‌های چهره‌ای خشن خفیف، تغییرات اسکلتی، زوال عقلی پیشرونده همراه با مشکلات رفتاری و تشنج هستند و مرگ در اوایل بزرگسالی رخ می‌دهد. تشخیص به‌وسیلهٔ وجود مقادیر افزایش یافتهٔ ترشحات ادراری هپاران و کندروئیتین سولفات و نقص یکی از ۴ آنزیم دخیل در تجزیه هپاران سولفات تأیید می‌شود: سولفامینیداز (MPS-IIIA)، ان ـ استیل ـ آلفا ـ دی ـ گلوکز آمینیداز (MPS-IIIB)، استیل کوآ، آلفا گلوکز آمینیداز ـ ان ـ استیل

ترانسفراز (MPS-IIIC)، یا آن ـ استیل گلوکزآمین ـ ۶ ـ سولفات سولفاتاز (MPS-IIID). افراد دارای نقص در هر کدام از این آنزیم‌ها را نمی‌توان از لحاظ بالینی از هم متمایز کرد. آنالیز مستقیم ژن نیز خیلی قابل اطمینان نیست.

سندرم مورکیو (MPS-IV)

کودکان مبتلا به سندرم مورکیو (Morquio) در سن ۲ تا ۳ سالگی دارای قامت کوتاه، بدریختی سینه و انحنای ستون فقرات (کیفواسکولیوز) هستند. هوش طبیعی بوده و بقاء طولانی‌مدت است، اما خطر فشار بر روی نخاع از طریق پیشرفت نقایص اسکلتی وجود دارد، تشخیص توسط وجود کراتان سولفات در ادرار و نقص گالاکتوز آمین ـ ۶ ـ سولفاتاز (MPS-IVA) یا بتاگالاکتوزیداز (MPS-IV B) صورت می‌گیرد.

سندرم ماروتکس ـ لامی (MPS-VI)

این MPS ویژگی‌های شبه‌هورلر در اوایل دوران کودکی، شامل ویژگی‌های خشن چهره‌ای، قامت کوتاه به همراه بدریختی سینه‌ای کیفوز (kyphosis) و محدود شدن حرکات مفاصل را نشان می‌دهد. علاوه بر این کدورت قرنیه و ناهنجاری‌های دریچه‌های قلبی ایجاد می‌شود، اما هوش طبیعی است. شکل خفیف‌تر آن با بقای طولانی مدت تا اواخر دوران بزرگسالی همراه است، در حالی که در شکل شدید این نوع MPS بقا تا دهه سوم زندگی امکان‌پذیر است، تشخیص با تأیید مقادیر افزایش یافته درمانان سولفات در ادرار و نقص آریل سولفاتاز بی (arylsulfatase B) در گلبول‌های سفید یا فیبروبلاست‌ها امکان‌پذیر است.

سندرم اسلای (MPS-VII)

این MPS فوق‌العاده متغیر است، طیف علائم شامل ویژگی‌های اسکلتی همچون کیفواسکلیوز خفیف، دیسپلازی باسن، ویژگی‌های خشن چهره‌ای، هیاتواسپلنومگالی، کدورت قرنیه، ناهنجاری‌های قلبی، عقب‌ماندگی ذهنی و مرگ در کودکی یا نوجوانی است. تأیید تشخیص با افزایش ترشح گلیکوز آمینوگلیکان‌ها در ادرار و نقص بتاگلوکورونیداز در سرم، گلبول‌های سفید و فیبروبلاست‌ها صورت می‌گیرد.

درمان MPS

درمان این ناهنجاری‌ها به‌وسیله جایگزینی آنزیم، در عمل دارای مشکلاتی است. هر چند پیوند مغز استخوان در ارتباط با علائم مغزی و اسکلتی، با موفقیت‌های متغیر بیوشیمیائی و بالینی همراه بوده است.

اسفنگولیپیدوزها (بیماری‌های ذخیره لیپیدها)

در اسفنگولیپیدوزها ناتوانی در تجزیه اسفنگولیپیدها مشاهده شده که منجر به تجمع پیشرونده لیپیدها یا گلیکولیپیدها ابتدا در مغز، کبد و طحال می‌شود. درگیری سیستم اعصاب مرکزی منجر به تحلیل پیشرونده ذهنی شده و اغلب همراه با حملات تشنجی در کودکی باعث مرگ می‌شود. حداقل ۱۰ نوع مختلف نقائص آنزیمی ویژه وجود دارند که شایع‌ترین آنها بیماری تای ـ ساکس (Tay - Sachs)، گوشه (Gaucher) و نیمن ـ پیک (Niemann – Pick) می‌باشند.

بیماری تای ـ ساکس (Tay – sacks)

این اسفنگولیپیدوز که به‌خوبی شناخته شده، میزان بروز $\frac{۱}{۳۶۰۰}$ در جمعیت یهودیان اشکنازی دارد. نوزادان معمولاً در ۶ ماهگی علائم تغذیه نامناسب، بی‌حالی و شل‌بودن را نشان می‌دهند. تأخیر تکوینی معمولاً در اواخر دوران نوزادی مشخص می‌شود که تغذیه نوزاد بسیار مشکل شده و تحلیل سریع همراه با ناشنوائی، نابینائی و اسپاسم‌های عضلانی به همراه سفتی عضلات مشاهده می‌گردد. بیماران در حدود ۳ سالگی به دلیل عفونت‌های تنفسی می‌میرند. فرم‌های خفیف‌تر جوانی، بزرگسالی و مزمن این بیماری نیز گزارش شده‌اند.

تشخیص از لحاظ بالینی با وجود لکه‌های «قرمز ـ آلبالوئی» در مرکز ماکولای قاعدهٔ چشم تأیید می‌گردد. تأیید بیوشیمیایی بیماری تای ـ ساکس با کاهش سطح هگزوآمینیداز A در سرم، گلبول‌های سفید یا فیبروبلاست‌های کشت شده مشخص می‌شود و آنالیز مستقیم ژن امکان‌پذیر است. کاهش فعالیت هگزوآمینیداز A به دلیل نقص یک زیر واحد آنزیم β ـ هگزوآمینیداز است که باعث تجمع گانگلیوزید GM_2 اسفنگولیپیدی می‌شود. این نقص منجر به کاهش فعالیت

ایزوزیم (هگزوآمینیداز B) نیز شده و گانگلیوزیدوز GM_2 دیگری، به نام بیماری سندهوف (Sandhoff disease) را که علائم بالینی مشابهی دارد، ایجاد می‌کند.

بیماری گوشه (Gaucher Didease)

شایع‌ترین اسفنگولیپیدوز بوده و مثل تای ـ ساکس در بین جمعیت یهودیان اشکنازی نسبتاً شایع می‌باشد. براساس سن شروع، بیماری به دو نوع اصلی تقسیم می‌شود. تیپ یک با سن بروز بزرگسالی شایع‌تر بوده و با حملات تب‌دار، درد در اندام‌ها، مفاصل یا تنه بدن و همراه با شکستگی‌های پاتولوژیکی مشاهده می‌شود. در معاینات بالینی معمولاً هپاتواسپلنومگالی (بزرگی کبد ـ طحال) مشخص شده و بررسی‌ها کم‌خونی خفیف و تغییرات رادیولوژیکی را در مهره‌ها و استخوان فمور پروکسیمال نشان می‌دهند. سیستم اعصاب مرکزی تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد.

در تیپ دو، بیماری گوشه نوزادی درگیری سیستم اعصاب مرکزی یک ویژگی اصلی است و در ۳ تا ۶ ماهگی با نارسائی در رشد و هپاتواسپلنومگالی مشخص می‌شود. در ۵ ماهگی تأخیر تکوینی و تحلیل عصبی همراه با اسپاسم عضلانی و حملات تشنجی رخ می‌دهد. عفونت‌های مکرر ریوی در دومین سال زندگی موجب مرگ بیمار می‌شود. تشخیص بیماری توسط کاهش فعالیت آنزیم گلوکوزیل سرامید β ـ گلوکوزیداز در گلبول‌های سفید یا فیبروبلاست‌های کشت شده تأیید می‌گردد.

درمان در تیپ یک شامل تسکین علائم درد و گاهی اسپلنکتومی (برداشت طحال)، جهت پیشگیری زودهنگام تجمع گلبول‌های سفید (هایپراسپلنیسم) می‌باشد. تلاش‌های اولیه برای درمان بزرگسالان توسط جایگزینی آنزیم به دلیل مشکل تهیه مقادیر کافی آنزیم و هدف‌گیری در جایگاه‌های مناسب با موفقیت کمی همراه بوده‌اند. با این حال، تغییر β ـ گلوکوزیداز با اضافه کردن مانوز ۶ ـ فسفات که موجب هدف‌گیری آنزیم به لیزوزوم‌های ماکروفاژها می‌شود، تا حد قابل توجهی علائم را کاهش داده و موجب پس‌رفت بزرگی بافت‌ها (organomegaly) می‌گردد. درمان پرهزینه بوده و استفاده از رژیم‌های با دُزهای کم و روش‌های دیگر هدف‌گیری آنزیم منطقی‌تر می‌باشند.

بیماری نیمن‌پیک (Niemann – Pick disease)

نوزادان مبتلا به بیماری نیمن‌پیک نارسائی رشد و هپاتومگالی نشان داده و ممکن است لکه‌های قرمز آلبالوئی در قاعدهٔ چشم آنها مشاهده شود. تأخیر تکوینی به سرعت در پایان اولین سال زندگی رخ داده و تا ۴ سالگی می‌میرند. یک یافتهٔ مشخص وجود سلول‌های اسفنجی (foam cells) در مغز استخوان به دلیل تجمع اسفنگومیلین می‌باشد. تأیید تشخیص با تعیین نقص آنزیم اسفنگومیلیناز صورت می‌گیرد. شکل خفیف‌تر آن بدون درگیری عصبی (نورولوژیکی) گزارش شده است. همانند بیماری‌های تای ـ ساکس و گوشه، در جمعیت یهودیان اشکنازی شایع‌تر از جمعیت اروپای شرقی می‌باشد.

بیماری‌های متابولیسم پورین‌ها / پیریمیدین‌ها

نقرس (Gout) بیماری کلاسیک متابولیسم غیرطبیعی پورین‌ها می‌باشد. درد مفاصل، تورم و حساسیت در نتیجه پاسخ التهابی بدن به رسوبات کریستالی نمک اسید اوریک ایجاد می‌شوند. در حقیقت تنها نسبت کمی از بیماران مبتلا به نقرس دارای ناهنجاری مادرزادی متابولیسمی (IEM) می‌باشند. علت بیماری در اکثر موارد ناشی از ترکیبی از عوامل ژنتیکی و محیطی است، به هر حال در نظر گرفتن بیماری‌هائی که می‌توانند موجب افزایش نیمه عمر پورین‌ها (یک بدخیمی مثل لوسمی) یا کاهش ترشح متابولیت‌ها (مثل نقص کلیوی) شوند [به عنوان یک عامل اساسی تقویت کنندهٔ بیماری]، حائز اهمیت می‌باشد.

سندرم لش ـ نیهان

(Lesch – Nyhan syndrome)

یک بیماری ناتوان‌کنندهٔ ویژهٔ متابولیسم پورین‌ها، سندرم لش نیهان است که از الگوی توارث وابسته به X پیروی کرده و به دلیل نقص آنزیم هیپوگزانتین گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز (HGPRT) ایجاد می‌شود که موجب افزایش سطح فسفوریبوزیل پیروفسفات می‌گردد. فسفوریبوزیل پیروفسفات یک ماده محدودکنندهٔ سرعت واکنش، در سنتز پورین‌ها می‌باشد. مقادیر اضافی آن باعث افزایش میزان سنتز پورین‌ها و

تجمع اسید اوریک و برخی از پیش‌سازهای متابولیکی آن می‌شود. تأثیر عمدهٔ آن عصبی (نورولوژیکی) بوده که همراه با حرکات کنترل نشده، اسپاسم‌های عضلانی، عقب‌افتادگی ذهنی و آسیب‌رسانی و معلول کردن وسواسی خود، مشاهده می‌شود. اگرچه داروهائی مثل آلوپورینول (که از تشکیل اسید اوریک جلوگیری می‌کند) می‌توانند سطح اسید اوریک را کاهش دهند، اما هیچکدام از آنها خیلی رضایت‌بخش نمی‌باشند.

بیماری‌های نقص ایمنی که ناشی از نقائص متابولیسم پورین‌ها می‌باشند

شاید تعجب‌برانگیز باشد که دو بیماری نقص ایمنی توارثی جزء نقائص مادرزادی متابولیسم پورین‌ها می‌باشند.

نقص آدنوزین دآمیناز

در حدود نیمی از تمام کودکان مبتلا به شکل آتوزوم مغلوب نقص ایمنی مرکب شدید (SCID) همراه با نقص عملکرد سلول‌های B و T، دارای کمبود آنزیم آدنوزین دآمیناز می‌باشند. تظاهر بیماری در نوزادی همراه با عفونت‌های مکرر ویروسی و باکتریائی است که اگر درمان نشود در زمان کوتاهی به دلیل عفونت‌های بیش از حد، باعث مرگ بیمار می‌شود. تشخیص با کمبود فعالیت آدنوزین دآمیناز گلبول‌های قرمز تأیید می‌شود. پیوند مغز استخوان ـ حتی در مورد جنین در داخل رحم (in utero) ـ موفقیت‌آمیز بوده است.

نقص پورین نوکلئوزید فسفوریلاز

بخشی از کودکان مستعد به عفونت‌های کشنده، مکرر و حاد ویروسی که دارای نقص عملکرد سلول‌های T می‌باشند، کمبود آنزیم پورین نوکلئوزید فسفوریلاز را نشان داده‌اند. درمان با گلبول‌های قرمز پرتو تابی شده، گزارش شده که منجر به بهبودی موقت در عملکرد ایمنی گردید.

بیماری‌های متابولیسم پورفیرین‌ها

چندین بیماری متفاوت متابولیسم پورفیرین وجود دارند که اشکالی از کمبود آنزیم‌ها در مسیر بیوسنتزی گروه حاوی آهن در هموگلوبین ـ یعنی هِم (Heme) ـ می‌باشند. همهٔ این بیماری‌ها الگوی توارث آتوزوم غالب دارند به استثناء پورفیری اریتروپوئتیکی مادرزادی آتوزوم مغلوب. در این بیماری‌ها از آنجا که آنزیم‌ها، محدودکنندهٔ سرعت واکنش می‌باشند، بنابراین عدم کفایت هاپلوئیدی باعث بروز بیماری به‌صورت بالینی می‌شود.

انواع متفاوت پورفیری، به‌طور متغیری با درگیری عصبی یا احشائی و نیز حساسیت پوستی به نور در اثر تجمع پیش‌سازهای متفاوت پورفیرین در اندام‌ها همراه می‌باشند. پورفیری‌ها را وابسته به اینکه مقادیر اضافی پورفیرین‌ها بیشتر در کبد یا در سیستم اریتروپوئتیکی ایجاد شوند، می‌توان به دو نوع تقسیم کرد.

پورفیری کبدی

این بیماری‌ها شامل پورفیری متناوب حاد (AIP)، کوپروپورفیری توارثی و پورفیری متغیر می‌باشند.

پورفیری متناوب حاد

(Acute intermittent porphyria)

پورفیری متناوب حاد با حملات دردهای شکمی، ضعف، استفراغ و آشفتگی‌های ذهنی به شکل سردرگمی، آزردگی احساسی یا توهمات مشخص می‌شود. حتی ممکن است کما رخ دهد و زنان شدیدتر از مردان مبتلا می‌شوند، که علائم بیماری گاهی با دوره‌های قاعدگی مرتبط می‌باشد. حملات ممکن است با استفادهٔ داروهای خاصی مثل استروئیدهای اگزوژن (خارجی)، ضد تشنج‌ها و باربیتورات‌ها تسریع شوند. این بیماری به دلیل کمبود نسبی آنزیم پورپورفیرینوژن I سنتاز ایجاد می‌شود، که منجر به افزایش دفع پیش‌سازهای پورفوبیلینوژن و δ ـ آمینولولینیک اسید در ادرار می‌گردد. آزمایش مستقیم ژن امکان‌پذیر است.

کوپروپورفیری توارثی

(Hereditary Coproporphyria)

در کوپروپورفیری توارثی که یک بیماری مرتبط با پورفیری‌ها است، نیز الگوی توارث به‌صورت آتوزوم غالب بوده و کمبود نسبی آنزیم کوپروپورفیرینوژن اکسیداز وجود دارد. بیماری از لحاظ بالینی از پورفیری حاد متناوب غیرقابل تشخیص است،

اگرچه تقریباً یک سوم افراد مبتلا نیز، پوست حساس به نور دارند.

پورفیری متغیر (Porphyria Variegata)

افراد مبتلا به این شکل از پورفیری که به‌خصوص در آفریقائی‌های آفریقای جنوبی شایع می‌باشد، دارای پوست‌هائی با حساسیت متغیر به نور همراه با ویژگی‌های نورولوژیکی (عصبی) و احشائی می‌باشند که علائم می‌توانند با مصرف داروها نیز ایجاد شوند. افزایش دفع پیش‌سازهای پورفیرین مثل پروتوپورفیرین و کوپروپورفیرین در مدفوع قابل تشخیص بوده و بیماری به دلیل نقص آنزیم پروتوپورفیرینوژن اکسیداز ایجاد می‌گردد.

پورفیری اریتروپوئتیکی

پورفیری اریتروپوئتیکی شامل پورفیری اریتروپوئتیکی مادرزادی و پروتوپورفیری اریتروپوئتیکی می‌باشد.

پورفیری اریتروپوئتیکی مادرزادی

ویژگی اصلی پورفیری اریترو پوئتیکی مادرزادی حساسیت بیش از حد به نور همراه با تاول زدن پوست است که منجر به زخم‌های گسترده می‌شود، تا حدی که افراد مبتلا در نور معمولی روز نمی‌توانند بیرون بروند. بعلاوه بسیاری از افراد کم‌خونی همولیتیک داشته و به انتقال خون و گاهی اسپلنکتومی (برداشت طحال) نیاز دارند. افراد مبتلا دندان‌هائی به رنگ قرمز ـ قهوه‌ای داشته که در زیر نور ماوراء بنفش، فلئورسنت قرمز را نشان می‌دهد. پورفیری اریتروپوئتیکی مادرزادی به دلیل نقص آنزیم یوروپورفیرینوژن III سنتاز ایجاد می‌شود.

پروتوپورفیری اریتروپوئتیکی

پروتوپورفیری اریتروپوئتیکی در اثر کمبود آنزیم فروشلاتاز ـ که مسئول واردسازی یون آهن داخل پیش‌ساز پورفیرین جهت تشکیل هم (Heme) است ـ ایجاد می‌شود. افراد مبتلا، حساسیت به نور و گاهی بیماری‌های مزمن کبدی دارند. درمان موفقیت‌آمیز حساسیت به نور توسط β ـ کاروتن گزارش شده است.

بیماری‌های اسیدهای آلی

بچه‌های مبتلا به یکی از ناهنجاری‌های اسیدهای آلی وقایع دوره‌ای تغذیه نامناسب، استفراغ و خواب‌آلودگی را به همراه اسیدوز متابولیکی حاد، کاهش تعداد گلبول‌های سفید (نوتروپنی) و پلاکت‌ها (ترومبوسیتوپنی)، کاهش قند خون (هیپوگلیسمی) و افزایش سطح آمونیوم خون (هایپرآمونمی) را نشان می‌دهند. این علائم اغلب با وقوع بیماری‌های دیگر یا افزایش جذب پروتئین، تشدید شده و پس از چنین حالت‌هائی بچه‌های مبتلا معمولاً مهارت‌های تکوینی‌شان را از دست می‌دهند. آنالیز خون بچه‌ها در زمان این حملات دوره‌ای، سطح بالای گلایسین (هایپرگلایسینمی) را نشان داد. سپس مشخص شد که اسیدوز در این حملات دوره‌ای، به دلیل افزایش سطح اسیدهای آلی اسید پروپیونیک یا اسید متیل مالونیک می‌باشد.

دو بیماری اسیدهای آلی آتوزوم مغلوب، متیل مالونیک اسیدمی و پروپیونیک اسیدمی به ترتیب به دلیل کمبود آنزیم‌های متیل مالونیل کوآموتاز و پروپیونیل کوآ کربوکسیلاز ایجاد می‌شوند. نقص آنزیمی منجر به تجمع متابولیت‌های سمّی اسیدهای آلی ناشی از دآمیناسیون بعضی از اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب بلند زنجیره خاص و زنجیره‌های جانبی کلسترول، می‌شود. درمان حملات حاد شامل درمان هر نوع عفونت، جایگزینی مایعات بدن، اصلاح اسیدوز متابولیکی و جلوگیری از جذب پروتئین می‌باشد. درمان پیشگیرانه بلندمدت شامل محدودیت جذب پروتئین، مدیریت و شناخت سریع هر بیماری دیگری است. بخشی از افراد مبتلا به پروپیونیک اسیدمی به بیوتین پاسخ داده، در حالی که بعضی از افراد مبتلا به متیل مالونیک اسیدمی به ویتامین B_{12} حساس می‌باشند.

بیماری‌های متابولیسم مس

دو ناهنجاری مادرزادی متابولیسم مس وجود دارند. بیماری منکز (Menkes Disease) و بیماری ویلسون (Wilson Disease).

بیماری منکز (Menkes Disease)

بیماری منکز یک ناهنجاری وابسته به X مغلوب است که در آن مردان مبتلا در چند ماه اول زندگی مشکلات تغذیه‌ای، استفراغ

و ضعف در افزایش وزن را نشان می‌دهند. سپس هیپوتونی، تشنج و تحلیل پیشروندهٔ عصبی رخ می‌دهد و فرد بیمار معمولاً در ۳ سالگی به دلیل عفونت‌های مکرر ریوی می‌میرد. یک ویژگی مشخص، فقدان رنگدانه در موها است که به صورت مجعد و شکننده نیز می‌باشد. این حالت شبیه پشم گوسفندانی است که دارای کمبود مس هستند. سطح مس و سروپلاسمین سرم خیلی پائین است. کلون‌سازی ژن در مورد بیماری منکز توسط زنان مبتلای دارای جابه‌جائی کروموزوم‌های X ـ آتوزوم تسهیل شد و مشخص گردید ژن مربوطه یک پروتئین انتقال کاتیون ATPase را برای مس کد می‌کند. رژیم‌های درمانی با منابع مس خارجی تاکنون مزایای کمی به همراه داشته‌اند.

بیماری ویلسون (Wilson Disease)

بیماری آتوزوم مغلوب ویلسون معمولاً در کودکی یا اوائل نوجوانی همراه با حملات ناگهانی و یافته‌های غیرطبیعی نورولوژیکی شامل ناهماهنگی، حرکات غیرارادی، تون غیرطبیعی عضلات، مشکل در تکلم (دیس آرتری)، مشکل در بلع (دیسفاژی) و تغییر در رفتار یا آشفتگی‌های آشکار روحی، مشخص می‌شود.

در معاینات بالینی ممکن است «حلقه کیزر ـ فلیشر» (Kayser – Fleischer ring) مشاهده شود که یک رنگبندی سبز یا قهوه‌ای طلائی در حاشیهٔ قرنیه می‌باشد. تحقیقات وجود عملکرد غیرطبیعی کبدی را که منجر به سیروز کبدی می‌شود را نشان داده‌اند.

سطح بالای مس در کبد، کاهش غلظت پروتئین انتقال‌دهنده مس در سرم یعنی سروپلاسمین و آزمایش بارگذاری غیرطبیعی مس، پیشنهادکنندهٔ تشخیص بیماری می‌باشند. ژن بیماری ویلسون براساس تشابه پیش‌بینی شدهٔ آن با ژن منکز کلون شد و محصول ژنی یک پروتئین انتقال دهنده کاتیونی ATPase دخیل در انتقال مس از هپاتوسیت‌ها (سلول‌های کبدی) به سیستم جمع‌آوری صفراوی، نشان داده شد. گزارشات جالبی از بهبودی‌های قابل توجه علائم عصبی، با استفاده از معرف‌های شلاته‌کننده D ـ پنی‌سیلامین (D- Penicillamine) و تری‌اَنتین (trientine) وجود دارند.

بیماری‌های پراکسی زومی

پراکسی زوم‌ها ارگانل‌های داخل سلولی می‌باشند که توسط یک غشاء دو لایه لیپیدی[1] محصور شده و در تمام سلول‌ها حضور دارد. پراکسی زوم‌ها به خصوص در کبد و سلول‌های پارانشیم کلیوی فراوان می‌باشند. ماتریکس اندامک، حاوی بیش از ۴۰ آنزیم است که در تعدادی از واکنش‌های دخیل در اکسیداسیون اسیدهای چرب و بیوسنتز کلسترول که با مسیرهای متابولیکی خارج از پراکسی زوم در تعامل می‌باشند، نقش دارند. آنزیم‌های ماتریکس پراکسی زومی بر روی پلی‌زوم‌ها در سیتوزول ساخته شده و به داخل پراکسی‌زوم‌ها منتقل می‌شوند. دو گروه اصلی از بیماری‌های پراکسی‌زومی وجود دارند: بیماری‌های بیوژنز پراکسی زومی مثل سندرم زلوگر (Zellweger syndrome) که به شدت تعداد پراکسی‌زوم‌ها در تمام سلول‌ها کاهش یافته و کمبود آنزیمی‌های پراکسی‌زومی ایزولهٔ منفرد مثل آدرنولوکودیستروفی وابسته به X

سندرم زلوگر (Zellweger syndrome)

نوزادان مبتلا به سندرم زلوگر هیپوتونی و ضعف نشان داده و ویژگی‌های چهره‌ای دیسمورفیک خفیف (شکل ۱۰-۱۱) از جمله پیشانی برآمده و ملاج قدامی بزرگ (جایگاه نرم؛ soft spot)، دارند. همچنین ممکن است کاتاراکت (آب مروارید) و یک کبد بزرگ شده مشاهده گردد.

شکل ۱۰ـ۱۱: چهره نوزادی مبتلا به سندرم زلوگر که یک پیشانی برجسته را نشان می‌دهد.

۱ـ تصحیح اشتباه در کتاب اصلی توسط مترجم

بیماری همراه با حملات ناگهانی و تأخیر تکوینی ادامه می‌یابد و بیماران معمولاً تا یک سالگی می‌میرند. بررسی‌ها کیست‌های کلیوی و کلسیفیه شدن غیرطبیعی انتهاهای در حال رشد غضروفی استخوان‌های بلند را مشخص نمودند (شکل ۱۱ـ۱۱). طیف شدت این بیماری متغیر بوده و تشخیص‌های متفاوت بالینی مرتبط با انواع خفیف‌تر بیماری وجود دارد. تشخیص بیماری توسط سطح اسیدهای چرب بلند زنجیره پلاسما تأیید می‌گردد. این بیماری از لحاظ ژنتیکی هتروژن بوده، زیرا می‌تواند به دلیل نقص یک ژن از چندین ژن مهم در بیوژنز پراکسی‌زوم ایجاد شود. این مورد که یک ناهنجاری مادرزادی متابولیسم (IEM) منجر به یک سندرم دیسمورفیک (بدشکلی) شود نامعمول است، اما مورد دیگر سندرم اسمیت ـ لملی ـ اپتیز یک ناهنجاری مادرزادی بیوسنتز کلسترول است که در اثر جهش در ژن استرول دلتا ـ ۷ ردوکتاز (*DHCR7*) ایجاد می‌شود.

آدرنولوکودیستروفی (Adrenoleukodystrophy)

مردان مبتلا به بیماری وابسته به X آدرنولوکودیستروفی (ALD) به‌صورت کلاسیک در اواخر کودکی با ضعف در عملکرد تحصیلی مشخص می‌شوند. اگرچه این مورد می‌تواند در هر سنی رخ دهد، گاهی هم هیچ علائمی بروز نمی‌کند. بعضی از مردان مبتلا در زندگی بزرگسالی علائم خفیف‌تر عصبی و عدم کفایت آدرنال را نشان می‌دهند که اصطلاحاً آدرنومیلونوروپاتی (adrenomyeloneuropathy) گفته می‌شود. آدرنولوکودیستروفی (ALD) در ارتباط با نقص آنزیم اسیدهای چرب بسیار بلند زنجیر CoA ـ سنتاز نشان داده شد، اما می‌تواند به دلیل نقص دیگری به‌صورت کمبود یک پروتئین غشائی پراکسی‌زومی به دلیل جهش در ژن *ABCD1* نیز ایجاد گردد.

درمان ALD با یک رژیم غذایی با استفاده از میزان کم اسیدهای چرب بسیار بلند زنجیر ـ روغن لورنزو (Lorenzo's oil) ـ تاکنون موفقیت‌آمیز نبوده است.

شکل ۱۱ـ۱۱: رادیوگراف زانوی نوزاد مبتلا به سندرم زلوگر که نشان‌دهندهٔ کلسیفیه شدن غیرطبیعی دانه‌ای در اپی‌فیزهای استخوان ران (فمور) دیستال می‌باشد.

بیماری‌های اثرگذار بر عملکرد میتوکندریائی

بیماری میتوکندریائی اولین بار در سال ۱۹۶۲ در بیماری دارای میتوکندری‌هایی با ناهنجاری‌های ساختاری و عدم هماهنگی بین اکسیداسیون و فسفریلاسیون، تعیین گردید. اگرچه ۲۰ سال پس از آن، ارتباط DNA میتوکندریائی جهش یافته (mt-DNA) با بیماری‌های انسانی مورد توجه قرار گرفت. ملکول mt-DNA کوچک دورشته‌ای حلقوی (شکل ۷ـ۲ را ببینید) دارای ژن‌های کدکنندهٔ RNA ریبوزومی (rRNA) و چندین RNA ناقل (t-RNA) لازم جهت بیوسنتز پروتئین‌های میتوکندریائی مثل پروتئین‌های دخیل در زنجیره انتقال الکترون، می‌باشد. DNA میتوکندری دارای ۵۵۲۳ کدون و در مجموع ۳۷ محصول ژنی می‌باشد. نوکلئوتیدهای گوانین و سیتوزین به‌طور نامتقارنی بین دو رشته mt-DNA توزیع شده‌اند ـ یک رشته غنی از گوانین است که رشته سنگین (H) نامیده شده و رشته غنی از سیتوزین به عنوان رشته سبک نامیده می‌شود. همانندسازی و رونویسی توسط یک توالی ۱۱۲۲bp از ملکول mt-DNA کنترل می‌شود که تحت عنوان لوپ جایگزینی (Displacement loop : D- loop) شناخته می‌شود. فسفریلاسیون اکسیداتیو (OXPHOS)، فرآیند بیوشیمیائی مسئول تولید مقادیر زیاد ATP مورد نیاز برای انرژی سلولی است. این فرآیند توسط پنج کمپلکس آنزیمی داخل میتوکندریائی انجام می‌شود که به عنوان کمپلکس‌های I-V در نظر گرفته شده و mt-DNA ، ۱۳ زیر واحد OXPHOS ، ۲۲ ملکول tRNA و ۲ ملکول rRNA را کد می‌کند.

کمپلکس‌ها به‌طور مناسبی نامگذاری شده‌اند. مثلاً بررسی کمپلکس I تقریباً ۴۱ زیرواحد مختلف را نشان داد که ۷ مورد از آنها پلی‌پپتیدهای کد شده توسط ژن‌های mt-DNA به نام‌های ND1، ND2، ND3، ND4L ، ND4 ، ND5 و ND6 است و ۳۴ زیر واحد باقیمانده توسط ژن‌های DNA هسته‌ای کد می‌گردند. کمپلکس V از ۱۲ یا ۱۳ زیرواحد تشکیل شده که دو زیرواحد، ATPase 6 و ATPase 8 توسط mt-DNA کد می‌شوند. حداکثر فعالیت کمپلکس V، نیاز به پیوند محکم آن با کاردیولیپین [سندرم بارت (Barth Syndrome) را ببینید] دارد که توسط DNA هسته‌ای کد می‌شود.

از آنجا که اکثر پروتئین‌های میتوکندریائی از جمله زیرواحدهای درگیر در انتقال الکترون توسط ژن‌های هسته‌ای کد می‌شوند، اکثر آنها از الگوی توارث آتوزوم مغلوب پیروی می‌کنند. همانند سایر بیماری‌های آتوزوم مغلوب متابولیکی دیگر، بیماری‌های ناشی از جهش‌های این ژن‌ها تمایل دارند خالص باشند. با این حال بیماری‌های ناشی از جهش‌های mt-DNA به دلیل پدیدهٔ هتروپلاسمی، بسیار متغیر می‌باشند (شکل ۳۰ـ۷). ویژگی‌های بالینی عمدتاً ترکیبی از علائم عصبی (آنسفالوپاتی، جنون، آتاکسی، دیستوفی، نوروپاتی و تشنج) و علائم میوپاتیک (هیپوتونی، ضعف و کاردیومیوپاتی همراه با نقائص هدایتی) می‌باشند. سایر علائم و نشانه‌ها ممکن است شامل ناشنوائی، دیابت شیرین، پیگمانتاسیون شبکیه‌ای و اسیدوز باشند. تظاهرات بالینی نیز بسیار متغیر بوده، به‌طوری که یک سیتوپاتی میتوکندریائی می‌بایست به عنوان یک احتمال در هر سن (هنگامی که بیماری دارای یک جزء عصبی یا میوپاتیک است) در نظر گرفته شود. چندین ماهیت بالینی مجزا تعیین شده‌اند و اگرچه بعضی از آنها به‌طور قابل توجهی با هم هم‌پوشانی دارند؛ اما درجه‌ای از همبستگی فنوتیپ ـ ژنوتیپ وجود دارد.

بیماری صرع میوکلونیک و فیبرهای قرمز ناهموار (MERRF)

بیماری صرع میوکلونیک و فیبرهای قرمز ناهموار (MERRF) اولین بار در سال ۱۹۷۳ توصیف شد و به دلیل رنگ‌آمیزی سه‌رنگی گوموری (Gomori) بافت عضله که رسوب‌های غیرطبیعی میتوکندری‌ها را به صورت قرمز ناهموار (ragged red) مشخص نمود، به این نام خوانده شد. در سال ۱۹۸۸ مشخص شد بیماری از طرف مادر به ارث می‌رسد. تصویر کلاسیک آن شامل صرع میوکلونیک پیشرونده، میوپاتی و جنون با پیشروندگی کند می‌باشد. آتروفی بینائی اغلب مشاهده شده و الکتروآنسفالوگرام به‌ویژه غیرطبیعی می‌باشد. معاینات پس از مرگ مغز، تحلیل عصبی گسترده‌ای را آشکار ساختند. در سال ۱۹۹۰ گزارش شد که MERRF از یک جهش نقطه‌ای در ژن tRNA لیزین (t-RNA lys) ایجاد می‌شود.

انسفالومیوپاتی میتوکندریائی، اسیدوز لاکتیکی و حملات شبه سکته‌ای (MELAS)

اولین بار در سال ۱۹۸۴ شرح داده شد، این بیماری بسیار متغیر اکنون به عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های میتوکندریائی شناخته می‌شود. قد کوتاه ممکن است یکی از ویژگی‌های آن باشد، اما حملات شبه‌سکته‌ای به‌ویژه این بیماری را برجسته می‌سازند، اگرچه این حملات ضرورتاً در همهٔ اعضاء مبتلای یک خانواده رخ نمی‌دهند. زمانی که حملات اتفاق می‌افتند ممکن است به صورت استفراغ، سردرد یا اختلال در بینائی بروز کند و گاهی منجر به همی‌پلژی (فلج یک طرف بدن) یا همی‌آنوپی (کاهش بینائی یا کوری در نیمی از میدان بینائی یک یا دو چشم) می‌شود. یک ویژگی شایع در MELAS ، دیابت شیرین تیپ دو بوده و ممکن است ناشنوائی حسی ـ عصبی نیز رخ دهد (که به صورت ناشنوائی و دیابت با توارث مادری شرح داده می‌شود). این علائم بالینی در ارتباط با شایع‌ترین جهش (یک جایگزینی A>G در نوکلئوتید m.3243) است که $tRNA^{UUR}$ لوسین را تغییر می‌دهد. این جهش در ۸۰٪ بیماران یافت شده و در ادامه یک انتقال (Transition) T>C در نوکلئوتید m.3271 که $tRNA^{UUR}$ لوسین را تغییر می‌دهد، مشخص شد.

تحلیل عصبی، آتاکسی و رتینیت پیگمنتوزا (NARP)

ویژگی اولیه آن شب‌کوری است که احتمال دارد در سال‌های بعدی همراه با علائم عصبی باشد. جنون نیز ممکن است در بیماران مسن‌تر رخ دهد، اما تشنج‌ها در هر سنی مشاهده شده و بیماران جوان‌تر تأخیر تکوینی نشان می‌دهند. اکثر موارد به دلیل یک جهش منفرد جایگزین T>G در نوکلئوتید m.8993 است که در ناحیه کدکنندهٔ زیر واحد ۶ ATPase ایجاد می‌شود. این تغییر اغلب به عنوان جهش NARP در نظر گرفته می‌شود.

بیماری لی (Leigh Disease)

این بیماری با علائم نوروپاتولوژی از جمله لزیون‌های اسفنجی شکل معمول گانگلیای بازال، تالاموس، ماده خاکستری و پوشش ساقه مغز، مشخص می‌گردد. در شکل شدید آن مرگ در نوزادی یا اوائل کودکی اتفاق افتاده و در یکی از این بیماران اولین بار جهش m.8993 T>G NARP تعیین شد. بنابراین، در واقع یک شکل از بیماری لِی (Leigh disease) به سادگی یک شکل شدید NARP است و نسبت بیشتری از mt-DNA جهش یافته در این موارد گزارش شده‌اند. با این حال شدت بروز بیماری گاهی قابل توجه بوده و نویسندگان اصلی کتاب خانواده‌ای را می‌شناسند که در آن مادری که دخترش در اوائل کودکی فوت شده بود، دارای مقادیر کمی از جهش 8993 بوده و تنها علامتی که بروز می‌داد بهبودی کُند پس از یک بیهوشی عمومی بود.

پاتولوژی یکسان یا بسیار مشابه و نیز یک دورهٔ بالینی همسان اکنون در بیمارانی با نقایص ملکولی متفاوت شرح داده شده‌اند. نقص سیتوکروم C در تعدادی از بیماران گزارش شده و بعضی از آنها جهش‌هائی را در ژن هسته‌ای *SURF1* نشان داده‌اند. این موارد از الگوی توارث آتوزوم مغلوب پیروی می‌کنند. بنابراین بیماری لی (Leigh disease) از لحاظ ژنتیکی هتروژن بوده و حتی یک شکل با توارث وابسته به X نیز وجود دارد.

نوروپاتی بینائی توارثی لبر (Leber Hereditary optic Neuropathy)

نوروپاتی بینائی توارثی لبر اولین بیماری انسانی است که مشخص شد در نتیجهٔ یک جهش نقطه‌ای در mt-DNA ایجاد شده و اکنون حدود ۱۲ جهش مختلف آن توصیف شده‌اند. شایع‌ترین جهش در نوکلئوتید m.11778 (ژن ND4) رخ می‌دهد که مسئول بیش از ۷۰٪ موارد در اروپا و بیش از ۹۰٪ موارد در ژاپن می‌باشد. این بیماری با فقدان دقت بینائی به‌صورت حاد یا تحت حاد و بدون درد بروز می‌کند که معمولاً بین سنین ۱۲ و ۳۰ سالگی رخ می‌دهد. مردان در شجره‌نامه‌های مبتلا با احتمال بیشتری نسبت به زنان نابینا می‌شوند. در بعضی شجره‌نامه‌های نوروپاتی بینائی توارثی لبر، مشکلات نورولوژیکی دیگری هم اتفاق می‌افتند.

سندرم بارت (Barth Syndrome)

به عنوان میوپاتی قلبی ـ اسکلتی وابسته به X نیز نامیده شده و با کاردیومیوپاتی اتساعی مادرزادی (شامل فیبروالاستوز اندوکاردیالی)، یک میوپاتی عمومی و تأخیر در رشد مشخص می‌شود. میتوکندری‌های غیرطبیعی با کمبود کاردیولیپین در بسیاری از بافت‌ها بافت شده و ماهیچه اسکلتی مقادیر افزایش یافته چربی را نشان می‌دهند. افزایش متغیر و نوسانی ۳ـ متیل گلوتاکونیک اسید در ادرار گاهی می‌تواند به تشخیص بیماری کمک کند و جهش‌هائی در ژن (*G4.5*(*TAZ* یافت شده‌اند، اما نقص آنزیمی که باعث ۳ ـ متیل گلوتاکونیک اسیدوری می‌شود، ناشناخته است.

بیماری‌های اکسیداسیون اسیدهای چرب میتوکندریائی

در دهه ۱۹۷۰ اولین گزارش‌ها از بیماران دارای ضعف عضلات اسکلتی و متابولیسم غیرطبیعی اسیدهای چرب ماهیچه‌ای همراه با کاهش کارنیتین ماهیچه‌ای، ارائه شدند. چرخه کارنیتین یک مسیر بیوشیمیائی مورد نیاز برای انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیره به درون ماتریکس میتوکندریائی است و سپس اسیدهای چرب با طول کمتر از ۱۰ کربن فعال شده، تا استرهای آسیل ـ کوآ (acyl-COA) را تشکیل دهند. چرخه کارنیتین یک بخش از مسیر اکسیداسیون ـ بتا میتوکندریائی است که نقش مهمی در تولید انرژی به‌خصوص در دوران روزه‌داری (گرسنگی) ایفا می‌کند. به استثناء نقص انتقال کارنیتین، کمبود کارنیتین یک ویژگی ثانویه از بیماری‌های β ـ اکسیداسیون می‌باشد. نقص انتقال کارنیتین یک نقص اولیه است و این بیماری نادر به‌طور

چشمگیری به جایگزینی کارنیتین پاسخ می‌دهد. بیماری‌های شایع‌تر اکسیداسیون اسیدهای چرب در ادامه فهرست شده‌اند.

نقص آسیل ـ کوآ دهیدروژناز زنجیره متوسط

کمبد آسیل ـ کوآ دهیدروژناز زنجیره متوسط، شایع‌ترین بیماری در این گروه از بیماری‌ها بوده، که اغلب به‌صورت حملات ناگهانی هیپوگلیسمی هیپوکتونی (که با گرسنگی بیشتر ایجاد می‌شوند) بروز می‌کند. شروع بیماری اغلب در دو سال اول زندگی و به‌طور غم‌انگیزی معمولاً کشنده است، که شبیه سندرم مرگ ناگهانی نوزادی می‌باشد. مدیریت بیماری در حفظ جذب کالری کافی و پرهیز از گرسنگی است که می‌تواند در بچه‌های خردسال با بیماری‌های همراه، مشکل‌ساز باشد.

نقائص دهیدروژناز ۳ـ هیدروکسی آسیل ـ کوآ بلند زنجیره و دهیدروژنازهای آسیل ـ کوآ کوتاه زنجیره (SCAD) و آسیل ـ کوآ بلند زنجیره

این بیماری‌های نادر همگی الگوی توارث آتوزوم مغلوب نشان داده و در اوائل زندگی با ترکیب متغیری از علائم اسکلتی و کاردیومیوپاتی، نقص عملکردی سلول‌های کبدی همراه با هیپوتومگالی و انسفالوپاتی بروز می‌کنند. درمان شامل حفظ تغذیه و پرهیز از گرسنگی است اما در رابطه با نقائص آسیل ـ کوآ دهیدروژناز کوتاه زنجیره خیلی مفید نبوده است.

اسیدوری‌های گلوتاریک

اسیدوری‌های گلوتاریک تیپ یک (کمبود دهیدروژناز گلوتاریل ـ کوآ) و تیپ دو (کمبود دهیدروژناز آسیل-کوآ چند گانه) به‌عنوان مثال‌هائی از اسیدوری‌های آلی در نظرگرفته می‌شوند که در مسیر اکسیداسیون اسیدهای چرب حد واسط بوده و هر دو آنها الگوی توارث آتوزوم مغلوب نشان می‌دهند. در تیپ یک در زمان تولد ماکروسفالی وجود داشته و نوزادان مبتلا حملات ناگهانی انسفالوپاتی همراه با اسپاسم عضلانی، دیستونی، تشنج و تاخیر تکوینی نشان می‌دهند. درمان با محدودیت رژیم غذائی حاوی اسیدهای آمینه گلوتاریزنیک ـ لیزین، تریپتوفان و هیدروکسی لیزین ـ می‌باشد. این بیماری در بین جمعیت Old Order Amish در پنسیلوانیا شایع بوده و غربالگری نوزادی در این ناحیه ارائه می‌شود.

اسیدوری گلوتاریک تیپ دو متغیر بوده و دو شکل شدید آن سن شروع نوزادی داشته که یکی از آنها همراه با آنومالی‌های ادراری ـ تناسلی می‌باشد. در هر دوی این انواع شدید، هیپوتونی، هیاتومگالی، اسیدوز متابولیکی، هیپوگلیسمی هیپوکتونی (Hypoketotic) رخ می‌دهد. شکل با سن شروع دیرتر، ممکن است بیشتر در اوائل کودکی نسبت به دوران نوزادی بروز کند که همراه با نارسائی رشد، اسیدوز متابولیکی هیپوگلیسمی و انسفالوپاتی است. درمان اشکال شدید تنها حمایتی است، اما در اشکال خفیف‌تر ریبوفلاوین، کارنیتین و رژیم‌های غذایی با پروتئین و چربی کم موفقیت‌آمیزتر بوده‌اند.

تشخیص پیش از تولد نقائص مادرزادی متابولیسم

در مورد اکثر ناهنجاری‌های مادرزادی متابولیسمی که در آنها یک محصول ژنی نامعیوب یا غیرطبیعی تعیین شده است، تشخیص پیش از تولد امکان‌پذیر می‌باشد. آنالیزهای بیوشیمیائی آمنیوسیت‌های کشت شده که از آمنیوسنتز سه ماهه دوم بارداری به دست آمده‌اند ممکن می‌باشد، اما روشی که عمدتاً برای آزمایش زودتر به کار می‌رود با استفاده از نمونه مستقیم پرزهای کوریونی (CV) یا نمونهٔ (CV) کشت شده انجام می‌گردد که امکان تشخیص را در هفته‌های ۱۲ تا ۱۴ حاملگی فراهم می‌کند. در بسیاری از بیماری‌ها یک آنالیز بیوشیمیائی بر روی بافت کشت شدهٔ پرزهای کوریونی (CV) آزمایشی مناسب است، اما به‌طور روزافزونی آنالیز مستقیم جهش نیز امکان‌پذیر می‌باشد. این روش از تأخیر موجود در کشت بافت پرزهای کوریونی (CV) جلوگیری کرده و ارزش زیادی در مورد ناهنجاری‌های مادرزادی متابولیسمی‌ای دارد که اساس بیوشیمیائی آنها به خوبی تعیین نشده‌اند، یا زمانی که آنزیم مربوطه در آمنیوسیت‌ها یا پرزهای کوریونی بیان نگردد.

تشخیص پیش از تولد ناهنجاری‌های میتوکندریائی ناشی از جهش‌های mt-DNA با مشکلات ویژه‌ای مواجه می‌شود که به دلیل مشکل هتروپلاسمی و ناتوانی در پیش‌بینی بیماری از نتایج

به‌دست آمده است، حال چه نتایج آزمایش برای جهش مورد نظر مثبت باشند یا منفی.

این موارد در مشاوره مشکل برانگیز بوده و در نظر گرفتن سایر گزینه‌های تولیدمثلی مثل تخمک اهدائی و شاید در آینده استفاده از تکنولوژی انتقال هسته‌ای برای برطرف‌کردن مشکل mt-DNA مادری، را مطرح می‌کنند.

مطالعات بیشتر

Benson PF, Fensom AH 1985 Genetic biochemical disorders. Oxford: Oxford University Press

A good reference source for detailed basic further information on the inborn errors of metabolism.

Clarke JTR 1996 A clinical guide to inherited metabolic diseases. Cambridge: Cambridge University Press

A good basic text, problem based and clinically oriented.

Cohn RM, Roth KS 1983 Metabolic disease: a guide to early recognition. Philadelphia: WB Saunders

A useful text as it considers the inborn errors from their mode of presentation rather than starting from the diagnosis.

Garrod AE 1908 Inborn errors of metabolism. Lancet ii:1-7, 73-79, 142-148, 214-220

Reports of the first inborn errors of metabolism.

Nyhan WL, Ozand PT 1998 Atlas of metabolic diseases. London: Chapman & Hall

A detailed text but very readable and full of excellent illustrations and clinical images.

Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR eds 2001 Principles and practice of medical genetics, 4th edn. Edinburgh: Churchill Livingstone

The section on metabolic disorders includes 13 chapters covering in succinct detail the various groups of metabolic disorders.

Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D eds 2000: The metabolic basis of inherited disease, 8 edn. New York: McGraw Hill

A huge multi-author three-volume comprehensive detailed text on biochemical genetics with an exhaustive reference list and, with this edition, a CD-ROM.

نکات مهم

۱ـ فرآیندهای متابولیکی در همهٔ گونه‌ها در مراحلی رخ می‌دهند، که توسط یک آنزیم ویژه که محصول یک ژن خاص است، کنترل می‌گردند و منجر به ارائه مفهوم یک ژن ـ یک آنزیم شده است.

۲ـ یک مانع در مسیر متابولیکی منجر به تجمع حد واسط‌های متابولیکی و یا کمبود محصول نهائی یک مسیر ویژه متابولیسمی می‌شود، که اصطلاحاً به آن نقص مادرزادی متابولیسمی (IEM) می‌گویند.

۳ـ اکثر نقائص مادرزادی متابولیسمی به‌صورت صفاتی آتوزومی مغلوب یا وابسته به X مغلوب به ارث می‌رسند. تعداد کمی از آنها به‌صورت یک بیماری آتوزوم غالب به ارث می‌رسند که در برگیرندهٔ آنزیم‌های محدودکنندهٔ سرعت واکنش‌ها، گیرنده‌های سطح سلولی یا آنزیم‌های چند زیر واحدی بوده و توسط جهش‌های عدم کفایت هاپلوئیدی یا منفی غالب ایجاد می‌شوند.

۴ـ تعدادی از نقایص مادرزادی متابولیسمی را می‌توان در دوران نوزادی غربالگری کرده و با موفقیت با محدودیت رژیم غذایی یا مکمل‌های غذایی درمان می‌شوند.

۵ـ تشخیص پیش از تولد بسیاری از نقائص مادرزادی متابولیسمی توسط روش‌های مرسوم بیوشیمیایی یا با استفاده از مارکرهای پیوسته DNA و تعیین مستقیم جهش، امکان‌پذیر می‌باشد.

فصل ۱۲

علم فارماکوژنتیک

اگر تفاوت‌های عمیق بین افراد وجود نداشت ممکن بود پزشکی علم باشد و نه یک هنر.

«Sir William Osler» (۱۸۹۲)

تعریف

برخی از افراد به‌طور ویژه‌ای به تأثیرات یک داروی خاص حساس بوده، در حالی‌که افراد دیگری هم هستند که به آن دارو کاملاً مقاوم هستند. این تفاوت‌های افراد [در پاسخ به دارو] می‌تواند به علت عوامل غیرژنتیکی باشد. مثلاً افراد جوان و مسن مانند افراد مبتلا به بیماری کبدی به مورفین و مشتقات آن حساس هستند البته تفاوت‌های فردی در پاسخ به داروها در انسان غالباً توسط ژنتیک تعیین می‌شود.

واژهٔ **فارماکوژنتیک** (pharmacogenetics) در سال ۱۹۵۹ توسط وگل (vogel) در هنگام مطالعهٔ گروهی از تنوع‌های ژنتیکی که منحصراً به وسیله اثرات دارو آشکار می‌شوند، پیشنهاد شد. امروزه واژهٔ فارماکوژنتیک برای توضیح نقش ژن‌ها بر بازدهی و تأثیرات جانبی داروها به‌کار می‌رود. **فارماکوژنومیک** (pharmacogenomics) تعامل بین داروها و ژنوم (یعنی چندین ژن) را توضیح می‌دهد، اما هر دو واژه اغلب معادل هم به‌کار می‌روند. فارماکوژنتیک و فارماکوژنومیک از این جهت که پاسخ‌های نامطلوب دارویی از عوامل اصلی بیماری‌زایی و مرگ و میر است، حائز اهمیت هستند. در آینده نیز احتمالاً بر اهمیت آن افزوده خواهد شد، زیرا تولید داروهای جدید مبتنی بر اطلاعات حاصله از پروژهٔ ژنوم انسان است (مراجعه به فصل ۵). ژنوم انسان به سه روش اثرات داروها را بر بدن تغییر می‌دهد. **فارماکوکینتیک** (pharmacokinetics) توصیف‌کننده متابولیسم داروست که شامل جذب دارو، تبدیل آن به متابولیت‌های فعال و سم‌زدایی یا تجزیه آن است. **فارماکودینامیک** (pharmacodynamics) به تعامل بین داروها و اهداف مولکولی آنها اشاره دارد، یک مثال از این دست اتصال یک دارو به گیرنده خود است. سومین روش مربوط به داروهای آرامش‌بخش است که به‌طور مستقیم بر علت بیماری اثر نمی‌گذارند، بلکه علائم بیماری را کاهش می‌دهند. برای مثال مسکّن‌ها (analgesics) بدون تأثیر بر درد، مطلقاً بر روی درک درد توسط مغز تأثیر می‌گذارند.

متابولیسم دارو

متابولیسم یک دارو معمولاً از یک توالی مشترکی از وقایع تبعیت می‌کند (شکل ۱-۱۲). ابتدا دارو از طریق دستگاه گوارش جذب دستگاه گردش خون می‌شود و بدین ترتیب بین بافت‌های مختلف و مایعات بافتی توزیع می‌شود. تنها بخش کوچکی از دُز داروی تجویز شده مسئول ایجاد یک اثر فارماکولوژیکی خاص خواهد بود و عمدهٔ این دارو وارد شده به بدن تجزیه شده و یا بدون تغییر دفع خواهد شد.

اعمال تغییرات بیوشیمیایی

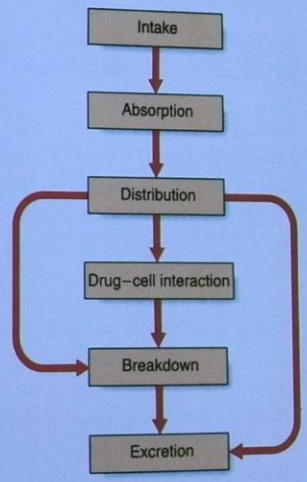
فرآیند تجزیه دارو که معمولاً در کبد اتفاق می‌افتد، در مورد داروهای مختلف، متفاوت است. برخی از آنها اکسید شده و تولید دی‌اکسید کربن می‌کنند و از طریق تنفس دفع می‌شوند. داروهای دیگر به اشکال مختلفی تغییر یافته و به وسیله کلیه‌ها به درون ادرار و یا به وسیله کبد به درون صفرا و سپس مدفوع وارد می‌شوند. بسیاری از داروها دچار تغییرات بیوشیمیایی‌ای می‌شوند که باعث افزایش حلالیّت آنها و دفع سریع‌ترشان می‌شود.

یکی از مهم‌ترین تغییرات بیوشیمیایی در داروها کونژوگاسیون (conjugation) می‌باشد که شامل اتصال دارو به اسید گلوکورونیک کربوهیدراتی است. کونژوگاسیون گلوکورونیدی عمدتاً در کبد انجام می‌شود. حذف مورفین و مشتقات آن مانند کدئین تقریباً به‌طور کامل به این فرآیند وابسته است. ایزونیازید (Izoniazid) که در درمان سل به‌کار می‌رود و یک تعدادی دیگر از داروها شامل سولفونامیدها با اتصال به یک گروه استیل طی فرآیندی موسوم به استیلاسیون دچار تغییر بیوشیمیایی می‌شوند (شکل ۲-۱۲).

کینتیک متابولیسم دارو

مطالعهٔ متابولیسم و اثرات یک داروی خاص معمولاً شامل تجویز دُز استانداردی از یک دارو و سپس تعیین پاسخ دارو، پس از یک بازه زمانی مناسب، سنجش مقدار داروی موجود در خون یا تعیین سرعت متابولیزه شدن آن است. چنین مطالعاتی نشان می‌دهد که تنوع قابل توجهی در شیوه‌ای که افراد مختلف به یک داروی خاص پاسخ می‌دهند، وجود دارد. این تنوع در پاسخ می‌تواند پیوسته یا ناپیوسته باشد.

اگر یک آزمایش پاسخ به دُز (dose-response test) بر روی تعداد زیادی از افراد انجام گیرد، و نتایج حاصله به‌صورت نموداری ترسیم شود، تعداد پاسخ‌های محتمل متفاوتی را می‌توان مشاهده کرد (شکل ۳-۱۲). در پاسخ‌های دارویی که تنوع پیوسته‌ای را در توزیع فراوانی نشان می‌دهند، نتایج یک منحنی توزیع تک‌نمایی (Unimodal) یا زنگوله‌ای شکل ایجاد می‌کنند. در تنوع ناپیوسته منحنی دونمایی (bimodal) و گاهی اوقات سه‌نمایی (Trimodal) است. پاسخ ناپیوسته پیشنهاد



شکل ۱-۱۲: مراحل متابولیسم یک دارو

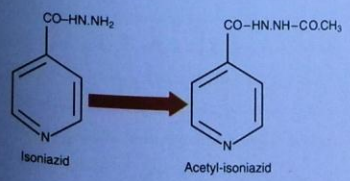
می‌کند که متابولیسم آن دارو به‌صورت تک‌ژنی کنترل می‌شود. برای مثال، اگر متابولیسم طبیعی یک دارو به وسیلهٔ ژن غالب R کنترل شود و برخی از افراد به دلیل اینکه برای ژن مغلوب r هموزیگوت هستند نتوانند دارو را متابولیزه کنند، بنابراین سه دسته از افراد وجود خواهند داشت: RR، Rr و rr. اگر پاسخ‌های افراد RR و Rr غیرقابل تمایز از هم باشد یک توزیع دونمایی به‌دست خواهد آمد. اگر RR و Rr قابل تمایز از هم باشند، یک توزیع سه‌نمایی ایجاد خواهد شد که هر قله یا نما (mode) میین یک ژنوتیپ خاص است. توزیع تک‌نمایی بیانگر این است که متابولیسم داروی مورد نظر تحت کنترل ژن‌هایی متعدد است، یعنی متابولیسم آن چندژنی است.

برخی از تنوع‌های ژنتیکی که به وسیلهٔ تأثیرات داروها آشکار گردید

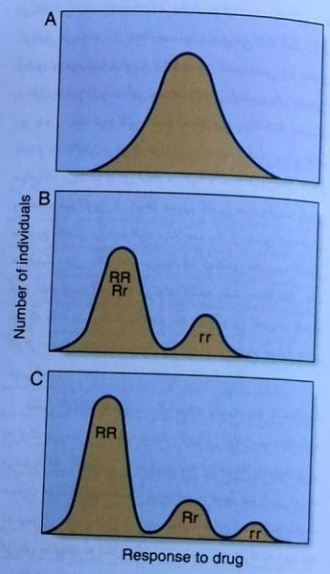
در میان مثال‌های مشهور از داروهایی که باعث آشکار شدن برخی از تنوع‌های ژنتیکی بین افراد شده است، می‌توان به پاسخ به ایزونیازید سوکسینیل کولین، پریماکوئین، داروی ضدانعقاد خون کومارین، برخی از عوامل بیهوشی، تیوپورین‌ها و دبریزوکوئین‌ها اشاره کرد.

فعالیت N- استیل ترانسفراز

ایزونیازید یکی از داروهایی است که در درمان سل به‌کار گرفته می‌شود. این دارو به سرعت از مجاری گوارشی جذب شده و باعث ایجاد یک سطح اولیهٔ بسیار بالا در خون می‌شود. سطح دارو در خون همراه با غیرفعال‌شدن و دفع آن به آهستگی کاهش می‌یابد. متابولیسم ایزونیازیدها نشان‌دهندهٔ وجود دو گروه



شکل ۲-۱۲: استیلاسیون داروی ضد سل ایزونیازید



شکل ۳-۱۲: پاسخ‌های متنوع به داروهای متفاوت با شیوه تک‌ژنی و چندژنی کنترل متابولیسم داروها، سازگار است. **A**، تنوع پیوسته و کنترل چندعاملی (multifactorial) متابولیسم دارو. **B**، تنوع دونمایی غیرپیوسته. **C**، تنوع سه‌نمایی غیرپیوسته.

از افراد است: غیرفعال‌کننده‌های آهسته و سریع. در غیرفعال‌کننده‌های سریع سطح دارو در خون پس از تجویز یک دُز خوراکی سریعاً افت می‌کند؛ در غیرفعال‌کننده‌های آهسته سطح دارو در خون برای مدتی در یک مقدار بالا باقی می‌ماند. مطالعات خانوادگی نشان داده است که غیرفعال‌کننده‌های آهستهٔ ایزونیازید در یک آلل آنزیمی مغلوب مربوط به آنزیم کبدی N- استیل ترانسفراز با سطح فعالیت پایین هموزیگوت هستند. فعالیت N استیل ترانسفراز در جمعیت‌های مختلف متفاوت است. در آمریکا و اروپای غربی در حدود ۵۰٪ از جمعیت، غیرفعال‌کننده‌های آهسته بوده، در حالی‌که ژاپنی‌ها عمدتاً غیرفعال‌کننده‌های سریع هستند.

در برخی از افراد ایزونیازید می‌تواند سبب تأثیرات جانبی همچون پلی‌نوریت (polyneuritis)، ناهنجاری‌ای مشابه به اریتماتوز لوپوس منتشر (systematic lupus erythematosus) یا آسیب کبدی شود. سطح ایزونیازید در خون غیرفعال‌کننده‌های آهسته، نسبت به غیرفعال‌کننده‌های سریع در دُزهای برابر برای مدت طولانی‌تری بالاتر می‌ماند. غیرفعال‌کننده‌های آهسته در معرض خطر افزایش یافتهٔ قابل توجهی در بروز تأثیرات جانبی در اثر دریافت دُزهایی می‌باشند که غیرفعال‌کننده‌های سریع برای درمان سل (جهت تضمین مقادیر کافی سطوح دارو در خون) به آن نیاز دارند. برعکس غیرفعال‌کننده‌های سریع در معرض خطر افزایش یافتهٔ ابتلا به آسیب کبدی حاصل ایزونیازید هستند. چندین داروی دیگر نیز به وسیلهٔ N- استیل ترانسفراز متابولیزه می‌شود و بنابراین غیرفعال‌کننده‌های آهستهٔ ایزونیازیدها همچنین احتمالاً تأثیرات جانبی بیشتری از خود نشان می‌دهند. این داروها شامل هیدرالازین (hydralazine)، یک داروی ضد فشار خون و سولفاسالازین (sulfasalazine) مشتق شده از سولفونامید که در درمان بیماری کرون (crohn) به‌کار می‌رود، هستند.

مطالعات در دیگر گونه‌های حیوانی منجر به کلون‌سازی ژن‌های مسئول فعالیت N- استیل ترانسفراز در انسان شد. این مطالعات آشکار کرد که سه ژن وجود دارد که یکی از آنها بیان نمی‌شود و یک ژن کاذب است (*NATP*)، ژن دیگر بین اشخاص مختلف تفاوت فعالیت نشان نمی‌دهد (*NAT1*) و جهش در ژن سوم (*NAT2*) مسئول تنوع‌های پلی‌مورفیسمی توارثی در انسان است. گزارش شده است که تنوع‌های توارثی در *NAT2* باعث تغییر در خطر ابتلا به تعدادی از سرطان‌ها از جمله سرطان‌های مثانه، کلورکتال، پستان و ریه می‌شود. تصور بر این است که این تغییر در خطر ابتلا به بیماری‌ها از طریق تفاوت در استیلاسیون کارسینوژن‌های آمینی‌هتروسیکلیک و کارسینوژن‌های آروماتیکی حاصل می‌شود.

حساسیت به سوکسینیل کولین

کورار (Curare) یک عصارهٔ گیاهی است که توسط برخی از قبایل سرخ‌پوستی آمریکای جنوبی در شکار به‌کار می‌رفته و باعث فلج ماهیچه‌ای عمیق می‌شود. کورار به دلیل شل کردن ماهیچه‌ها در عمل‌های جراحی مورد استفاده قرار می‌گیرد. سوکسینیل کولین (Succinyl choline) که به سوکسامتونیوم (Suxamethonium) نیز مشهور است، داروی دیگری است که با مکانیسمی متفاوت از کورار باعث شل شدن کوتاه مدت عضلات اسکلتی و تنفسی می‌شود و آپنهٔ (apnea) متعاقب آن (قطع تنفس) کوتاه است. بنابراین این دارو در فاز تحریک بیهوشی به منظور لوله‌گذاری در مجاری بدن (intubation)، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. زیرا این دارو متخصص بیهوشی را قادر می‌سازد که تنفس را قبل از اینکه به‌طور خودبخودی به حالت اولیه خود بازگردد به مدت دو تا سه دقیقه به‌طور مصنوعی قطع کند. اما از هر ۲۰۰۰ بیمار، یک نفر دارای یک دورهٔ آپنه‌ای است که می‌تواند بعد از مصرف سوکسامتونیوم یک ساعت یا بیشتر دوام آورد. مشخص شده است که در چنین وضعیتی آپنه می‌تواند با انتقال خون یا پلاسما از یک فرد طبیعی تصحیح شود. وقتی که آپنه القا شده توسط سوکسامتونیوم رخ می‌دهد، متخصص بیهوشی باید تا از بین رفتن اثرات دارو تنفس را حفظ کند.

سوکسینیل کولین به‌طور طبیعی در بدن به‌وسیلهٔ آنزیم سودوکولین استراز پلاسمایی تخریب می‌شود. در بیمارانی که به سوکسینیل کولین بسیار حساس هستند، سودوکولین استراز پلاسمایی موجود در خونشان، دارو را با سرعتی بسیار پایین‌تر از حد معمول تجزیه می‌کنند و یا در برخی از موارد بسیار نادر، تجزیه دارو انجام نمی‌شود. حساسیت به سوکسینیل کولین به دلیل ایجاد جهش‌هایی در ژن *CHE1* است که به‌صورت صفت آتوزومی مغلوب به ارث می‌رسد و می‌توان آزمایش ژنتیکی به را بستگان شخصی که استعداد ژنتیکی او مشخص شده است، پیشنهاد داد.

واریانت‌های گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز

مدت‌های مدیدی کوئینین (quinine) داروی ترجیحی در درمان مالاریا بود. هرچند این دارو در جلوگیری از حملات ناگهانی مؤثر بوده، ولی در ممانعت از عود مجدد ناکارآمد است. در ۱۹۲۶ پریماکوئین (primaquine) عرضه شد و اثبات شد که نسبت به کوئینین در ممانعت از عود مجدد بهتر عمل می‌کند. اما مدت زیادی از عرضهٔ پریماکوئین نگذشته بود که مشخص شد برخی از افراد به این دارو حساس هستند. دارو می‌تواند برای چندین روز بدون اینکه هیچ تأثیر نامطلوب واضحی ایجاد کند مصرف شود و بعد ناگهان برخی از افراد شروع به تولید ادرار تیره و اغلب سیاه‌رنگ می‌کنند، زردی ایجاد می‌شود و تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین در نتیجهٔ همولیز گلبول‌های قرمز خون به‌تدریج کاهش می‌یابد. افراد مبتلا معمولاً از چنین دوره‌های همولیتیک جان سالم به‌در می‌برند، اما گهگاهی تخریب گلبول قرمز آنقدر وسیع است که می‌تواند کشنده باشد. بعدها نشان داده شد که علت چنین حساسیت‌هایی به پریماکوئین نقص در آنزیم گلوکز -۶- فسفات دهیدروژناز (G6PD) موجود در سلول‌های خونی است.

نقص G6DP به‌صورت یک صفت وابسته به X مغلوب به ارث می‌رسد و در سفیدپوستان اروپایی نادر بوده، اما ده درصد مردان آفریقایی - کارائیبی به آن مبتلا هستند و در جمعیت مدیترانه‌ای‌ها نسبتاً شایع است. تصوّر بر این است که بیماری به این دلیل در این جمعیت شایع است که باعث افزایش مقاومت به انگل مالاریا می‌شود. این افراد نه تنها به پریماکوئین حساس هستند بلکه به دیگر ترکیبات همچون فناستین (phenacetin)، نیتروفورانتوئین (nitrofurantion) و برخی سولفونامیدها (sulfonamilds) نیز حساسیت نشان می‌دهند. تصور بر این است که نقص G6PD اولین ناهنجاری فارماکوژنتیکی شناخته شده است که به وسیلهٔ فیثاغورث در حدود ۵۰۰ سال قبل از میلاد توضیح داده شده است.

متابولیسم کومارین

داروهای ضد انعقاد کومارین (Coumarin)، مانند وارفارین در درمان تعدادی از ناهنجاری‌های مختلف به کار می‌رود تا مانع لخته شدن خون شود (مثلاً پس از یک ترومبوز عمیق وریدی (deep venous thrombosis)). وارفارین به‌وسیلهٔ آنزیم سیتوکروم *P450* کد شده به وسیلهٔ ژن *CYP2C9* متابولیزه

می‌شود. وجود دو واریانت این ژن (CYP2C9*2 و CYP2C9*3) منجر به متابولیسم کاهش یافته دارو می‌شود. در نتیجه این بیماران نیاز به دُز پایین‌تر وارفارین نسبت به دُز توصیه شده بین‌المللی دارند و ممکن است در معرض خطر افزایش یافته خونریزی باشند.

متابولیسم دبریزوکوئین

دبریزوکوئین (debrisoquine) دارویی است که در گذشته به فراوانی در درمان فشار خون مورد استفاده قرار می‌گرفت. یک توزیع دونمایی در پاسخ به این دارو در جمعیت عمومی دیده می‌شود. تقریباً ۵ تا ۱۰ درصد افراد نژاد اروپایی متابولیزه‌کننده‌های ضعیف بوده و این افراد هموزیگوت‌های یک ژن آتوزومی مغلوب (که دارای فعالیت هیدروکسیلاسیون کاهش یافته است)، هستند.

مطالعات ملکولی آشکار کرد که ژن دخیل در متابولیسم دبریزوکوئین یکی از ژن‌های خانواده ژنی P450 است که به *CYP2D6* معروف بوده و بر روی کروموزوم ۲۲ قرار دارد. جهش‌های مسئول فنوتیپ متابولیزه کننده‌های ضعیف هتروژن بوده و تا به حال ۱۸ واریانت مختلف از آن گزارش شده است.

تنوع‌های مربوط به *CYP2D6* به دلیل دخیل بودن آنزیم در متابولیسم بیش از ۲۰ درصد داروهای تجویز شده از جمله بتابلاکرهایی از نوع متوپرولول (metoprolol) و کارودیلول (carvedilol)، داروهای ضدافسردگی فلوکستین (fluoxetine) و ایمیپرامین (imipramine)، داروهای ضد جنون تیوریدازین (thioridazine) و هالوپریدول (haloperidol)، مسکن درد کدئین و داروی ضد سرطان تاموکسیفن (tamoxifen) دارای اهمیت است.

هایپرترمی بدخیم

هایپرترمی بدخیم (Malignant hyperthermia=MH) یکی از عوارض نادر بیهوشی است. افراد مستعد در حین بیهوشی دچار سخت‌شدگی عضلات و افزایش دمای بدن (هایپرترمی)، اغلب تا ۴۲/۳°C (۱۰۸°F) می‌شوند. این حالت وقتی اتفاق می‌افتد که هالوتان به عنوان یک مادهٔ بیهوشی به‌کار می‌رود، مخصوصاً وقتی‌که سوکسینیل کولین به همراه آن برای شل کردن عضلات برای لوله‌گذاری (intubation) مورد استفاده قرار گیرد. اگر این حالت سریعاً شناسایی نشود و بیمار با تیمار شدید سرما درمان نشود، فرد مبتلا فوت خواهد کرد.

حساسیت به MH به صورت یک صفت آتوزومی غالب به ارث می‌رسد و در هر ۱۰۰۰۰ نفر یکی را مبتلا می‌کند. در مطمئن‌ترین روش برای آگاهی از وضعیت حساسیت افراد، نیاز به نمونه‌گیری (بیوپسی) از ماهیچهٔ فرد و انجام آزمایش انقباض عضلانی به‌صورت *in vitro* در پاسخ به تیمار هالوتان و کافئین است.

MH از لحاظ ژنتیکی هتروژن است، اما شایع‌ترین علت یک جهش در ژن گیرنده ریانودین (ryanodine receptor) موسوم به ژن *RYR1* است. هفت ژن کاندید دیگر نیز شناسایی شده‌اند و ممکن است واریانت‌های این ژن‌ها در حساسیت افراد یک خانواده تأثیر داشته باشند. یک چنین یافته‌هایی ممکن است توجیه‌کننده عدم همخوانی بین نتایج آزمایش انقباض عضلانی *in vitro* و ژنوتیپ اعضای برخی از خانواده‌های دارای جهش *RYR1* باشد.

تیوپورین متیل ترانسفراز

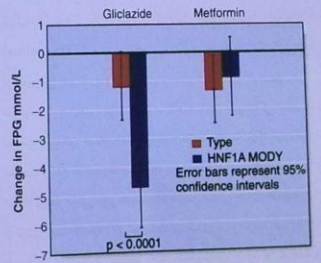
یک دسته از مواد بالقوه سمّی، مشهور به تیوپورین‌ها (Thiopurines) که شامل ۶- مرکاپتوپورین، ۶ – تیوگوانین و آزاتیوپورین هستند، به‌طور گسترده‌ای در درمان لوسمی، در سرکوب پاسخ ایمنی در بیماران با ناهنجاری خودایمنی مانند لوپوس اریتماتوز منتشر (systemic lupus erythematosus) و ممانعت از دفع اندام پیوند زده شده، مورد استفاده قرار می‌گیرد. این داروها از نظر بالینی مؤثر هستند، اما اثرات جانبی جدی همچون لوکوپنی (leukopenia) و آسیب جدی کبدی دربر دارند. گزارش شده است آزاتیوپورین سبب ایجاد سمیّت در ۱۰ تا ۱۵ درصد بیماران شده و ممکن است این امکان وجود داشته باشد که بتوان بیماران مستعد به اثرات جانبی این دارو را از پیش با آنالیز تنوع‌های ژنتیکی ژن تیوپورین متیل ترانسفراز (*TPMT*) تشخیص داد. این ژن کد کنندهٔ آنزیم مسئول متیلاسیون تیوپورین‌ها است. تقریباً دو سوم بیمارانی که سمیّت این دارو را تجربه کرده‌اند دارای یک یا چند واریانت آللی از این آنزیم هستند.

دی‌هیدروپیریمیدین دهیدروژناز

دی‌هیدروپیریمیدین دهیدروژناز (DPYD)، اولین آنزیم و آنزیم محدودکننده سرعت مسیر کاتابولیسم داروی شیمی درمانی ۵- فلوروپیراسیل (5FU) است. نقص DPYD به‌عنوان یک عامل فارماکوژنتیک مهم، در سم‌شناسی (انبولوژی) سمّیت شدید مرتبط با 5FU، شناخته شده است. سنجش فعالیت DPYD در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون یا آزمایش ژنتیکی شایع‌ترین جهش ژن DPYD (یک جهش جایگاه پیرایش، IVS14+1G>A، که منجر به حذف اگزون ۱۴ می‌شود) در بیماران سرطانی قبل از تجویز 5FU ممکن است سودمند باشد.

فارماکوژنتیک

افزایش درک ما از تأثیر ژن‌ها در مؤثر بودن داروها و تأثیرات جانبی منجر به امیدواری‌هایی همچون **پزشکی فرد محور** یا **پزشکی شخصی** (personalized or individualized-medicine) شده است، که در آن درمان یک بیماری خاص به ژنوتیپ فرد بستگی دارد.



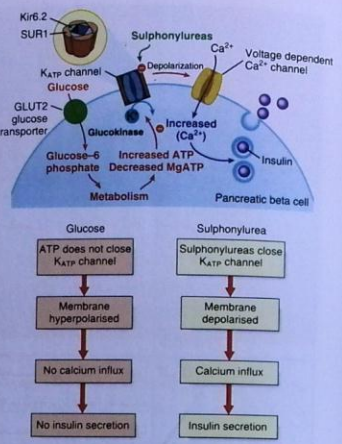
شکل ۴-۱۲: پاسخ به سولفونیل اوره گلیکلازید (Sulphonylurea gliclazide) و داروی متفورمین (metformin) مربوط به دیابت نوع II در بیماران مبتلا به دیابت جوانان با شروع در بلوغ (MODY) و بیماران مبتلا به دیابت نوع II. FPG، گلوکز پلاسما در حالت ناشتا است. بیماران (در هر گروه n = ۱۸). به مدت ۶ هفته با هر یک از داروها در یک کارآزمایی تصادفی (randomized trial) تیمار شدند.

دیابت جوانان با شروع در بلوغ (MODY)

دیابت جوانان با شروع در بلوغ (Maturity – onset diabetes-of the young) شکل تک‌ژنی دیابت است که با سن شروع جوانی (معمولاً قبل از سن ۲۵ سالگی)، توارث آتوزومی غالب و عملکرد غیرطبیعی سلول‌های بتا مشخص می‌شود. بیماران دارای جهش در ژن‌های *HNF4A* و *HNF1A* به سولفونیل اوره حساس هستند (شکل ۴-۱۲) و ممکن است در تجویز دُز استاندارد از این دارو دوره‌های هیپوگلیسمی را تجربه کنند. هرچند این حساسیت در دُزهای پایین سودمند بوده و در این زیرگروه ژنتیکی از دیابت سولفونیل اوره داروی تجویزی توصیه شده است.

دیابت نوزادی

شایع‌ترین علت دیابت‌های نوزادی دائمی (permanent-neonatal diabetes)، جهش‌های فعال‌کننده در ژن‌های *ABCC8* یا *KCNJ11* است که به ترتیب کدکننده زیرواحدهای SUR1 و Kir6.2 مربوط به کانال پتاسیم حساس به ATP (ATP Sensitive potassium (K-ATP) channel) در سلول‌های بتا پانکراس هستند. تأثیرات چنین جهش‌هایی ممانعت از بسته شدن کانال K-ATP در پاسخ به افزایش ATP است. زیرا بسته شدن کانال محرکی برای ترشح انسولین است، این جهش‌ها باعث دیابت خواهند شد. تعیین علت ژنتیکی برای این نوع از دیابت‌های نادر منجر به درمان بهبود یافته شده است. زیرا اکثر این نوع بیماران می‌توانند به‌طور موفقیت‌آمیزی با قرص‌های سولفونیل اوره به‌جای تزریق انسولین درمان شوند. این داروها به گیرنده سولفونیل اوره که زیرواحد کانال K-ATP است متصل شده و سبب بسته شدن کانال به‌طور مستقل از ATP می‌شوند و بدین ترتیب ترشح انسولین را تحریک می‌کنند (شکل ۵-۱۲). درمان با دُز بالای سولفونیل اوره منجر به کنترل بهبود یافته قند خون با دوره‌های هیپوگلیسمی با دفعات کمتر می‌شود. در مورد برخی از بیماران نیز باعث می‌شود که سطح Hb A1c (که تخمینی از سطح قند خون فراهم می‌کند) در طیف طبیعی قرار گیرد.



شکل ۵-۱۲: ترشح انسولین در سلول‌های بتای پانکراس. جهش‌های فعال‌کننده در ژن‌های کدکنندهٔ زیرواحدهای SUR1 و Kir6-2 کانال K_{ATP} مانع بسته شدن کانال در حضور گلوکز می‌شود. سولفونیل اوره با اتصال به زیرواحد SUR1 باعث بسته شدن کانال و از سرگیری ترشح انسولین می‌شود.

فارماکوژنومیک

فارماکوژنومیک به مطالعهٔ تعامل بین ساختار ژنتیکی یک فرد و پاسخ به دارو در او می‌پردازد. تمایز کلیدی بین فارماکوژنتیک و فارماکوژنومیک در این است که اولی مطالعهٔ تنوع در پاسخ به داروها که به یک ژن منفرد مرتبط می‌شود را توضیح می‌دهد و دومی مطالعهٔ کل ژنوم و ارتباط آن در پاسخ به دارو را توصیف می‌کند. انتظار بر این است که تنوع‌های به ارث رسیده در سطح DNA منجر به ایجاد تنوع عملکردی در محصول ژنی شده که نقش اساسی در تعیین تنوع در پاسخ‌های درمانی و اثرات جانبی مربوط به یک دارو دارد. اگر تنوع پلی‌مورفیسمی توالی DNA در بخش کدکننده یا توالی تنظیمی یک ژن باشد، احتمالاً منجر به ایجاد تنوع در محصول ژنی از طریق تغییر عملکرد و سطح بیان ژن می‌شود. آنالیز خودکار پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی سرتاسر ژنوم (genome-wide single nucleotide-polymorphisms) امکان شناسایی ژن‌های درگیر در متابولیسم، انتقال دارو و گیرنده‌های دارویی را که احتمالاً نقش مهمی در تعیین تنوع، بازده، اثرات جانبی و سمیّت دارو ایفا می‌کنند، فراهم کرده است.

در دسترس بودن نقشه‌های SNP سرتاسر ژنوم، امکان تهیه پروفایل SNP (SNP Profile) را برای بیمارانی که تجربیات نامطلوب در استفاده از دارو داشته‌اند و یا تعداد افرادی که از نظر بالینی به یک دارو پاسخ می‌دهند (بازده دارو)، را فراهم کرده است. تعیین کل SNPهای ژنومی یک فرد به "SNP print" مشهور است. اما تعیین کل SNPهای یک فرد مسائلی را در ارتباط با افشای اطلاعات با اهمیت نامشخص، که بعداً نشان داده خواهد شد با نتایج نامطلوب (نامرتبط با آزمایش اولیه) همراه است مطرح می‌کند. به‌طور مثال در مورد تعیین ژنوتیپ آپولیپو پروتئین E (ApoE)، اولین بار گزارش شد که ApoE ε4 با تنوع در سطح کلسترول همراه است، اما بعداً مطرح شد که با سن شروع آلزایمر نیز در ارتباط است.

وقایع نامطلوب

تخمین زده می‌شود که حدود ۱۵٪ بستری‌های بیمارستانی تحت تأثیر واکنش‌های نامطلوب دارویی ایجاد شده‌اند. هدف فارماکوژنتیک اثرات نامطلوب (adverse event pharmacogenetics)، شناسایی پروفایل ژنتیکی است که باعث شناسایی بیمارانی می‌شود که به احتمال بیشتری تحت تأثیر چنین اثرات نامطلوب دارویی قرار خواهند گرفت. مشهورترین مثال آباکاویر (abacavir)، مهارکننده آنزیم نسخه‌بردار معکوس است که در درمان عفونت ویروس نقص ایمنی (HIV) انسانی به‌کار می‌رود. تقریباً ۵ درصد بیماران حساسیت بیش از حد (کشنده) نسبت به آباکاویر نشان می‌دهند و این مسأله باعث محدود شدن استفاده از این دارو می‌شود. در سال ۲۰۰۲ یک همراهی بسیار قوی بین آلل B*5701 آنتی‌ژن لکوسیت انسانی و این حساسیت بیش از حد گزارش شد. امروزه انجام آزمایش برای تعیین وجود آلل B*5701 قبل از تجویز آباکاویر شیوهٔ مرسومی است.

حداقل ۱۰ درصد آفریقایی‌ها، اروپایی‌ها و ساکنان آمریکای شمالی در مورد یک واریانت در پروموتور ژن *UGT1A1* (*UGT1A1*28*) هموزیگوت هستند. وجود این حالت باعث کاهش گلوکورونیداسیون ایرینوتکان (irinotecan)، یک داروی مورد استفاده در درمان سرطان کلورکتال شده و این حالت باعث افزایش خطر نوتروپنی شدید در برابر دُزهای تجویز شده استاندارد می‌شود. یک آزمایش ساده بر مبنای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی (PCR) در مورد آلل *UGT1A1*28* می‌تواند برای تعیین دُز درمانی مناسب به‌کار رود.

بازدهی

در صورتی که دارو فقط به بیمارانی که واقعاً به آن پاسخ می‌دهند تجویز شود، هیچ شکّی وجود ندارد که مقرون به صرفه‌بودن داروها بهبود می‌یابد. چندین دارو برای درمان سرطان‌های مختلف ایجاد شده‌اند که بسته به زیست‌شناسی مولکولی تومور دارای بازده متفاوتی هستند (مراجعه به جدول ۱-۱۲). برای مثال هرسپتین (تراستوزومب) پادتنی است که بیان بیش از حد پروتئین *HER2/neu* که تقریباً در یک سوم بیماران مبتلا به سرطان پستان مشاهده می‌شود را مورد هدف قرار می‌دهد. در نتیجه هرسپتین فقط در صورتی‌که بیماران دارای توموری باشند که *Her2/neu* را بیش از حد بیان می‌کند، تجویز می‌شود.

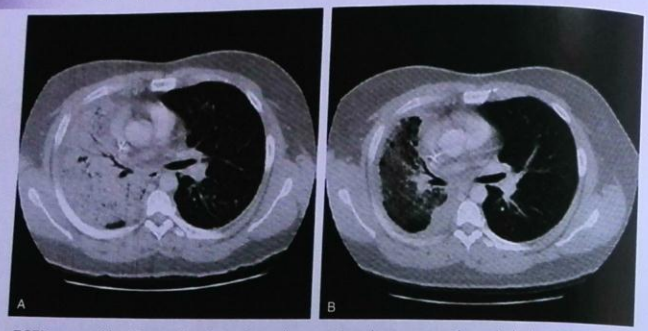
گلیوک (ایماتینیب) یک مهارکننده پروتئین تیروزین کیناز است که از سال ۲۰۰۱ در درمان لوسمی میلوئید مزمن (Chronic myeloid leukemia) به‌کار رفته است. این دارو درمان بسیار مؤثری را ایجاد می‌کند و به پروتئین ادغامی BCR-ABL حاصل از جابه‌جایی t(9, 22) متصل می‌شود. این ترکیب مثالی از یک طراحی دارویی مؤثر است که در طراحی آن از دانش زیست‌شناسی مولکولی استفاده شده است. اخیراً نشان داده شده است که این دارو همچنین می‌تواند به‌طور مؤثری در درمان تومورهای استرومایی معده‌ای - روده‌ای (gastrointestinal stromal tumours) که حاوی جهش KIT می‌باشند، به‌کار رود.

جدول ۱-۱۲ مواردی از داروهای مؤثر در درمان سرطان‌های خاص

نوع سرطان	خصوصیت	دارو
پستان	بیان بیش از حد HER2	هرسپتین [تراستوزومب] (Herceptin/trastuzumab)
لوسمی میلوئید مزمن	t(9;22)، ادغام BCR-ABL	گلیوک [ایماتینیب] Gleevec/Imatinib
سرطان ریه از نوع Non-small-cell	جهش فعال‌کنندهٔ EGFR	ایرسا [گفیتینیب] Irressa/gefitinib تارسوا [ارلوتینیب] Tarceva / erlotinib
تومور استرومایی معده‌ای - روده‌ای	KIT یا جهش فعال‌کننده PDGFRA یا KIT	گلیوک [ایماتینیب]

تقریباً ۱۳ درصد بیماران مبتلا به سرطان ریه از نوع "non- small – cell" دارای جهش‌های فعال‌کننده EGFR هستند. این جهش‌ها سبب افزایش فعالیت ناحیه تیروزین کینازی گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی شده و بنابراین گیرنده در غیاب فاکتور رشد اپیدرمی به‌طور دائمی فعال است. این افزایش دائمی فعالیت سبب افزایش تکثیر سلولی، رگ‌زایی و متاستاز می‌شود. داروهایی ایجاد شده‌اند که دومن تیروزین کینازی EGFR را بلوکه می‌کنند و باعث ممانعت از فعالیت‌های ذکر شده در بالا می‌شوند. همانطور که در شکل ۶-۱۲ نشان داده شده است بیمارانی که دارای تومورهای ریه حاوی جهش فعال‌کننده EGFR هستند، پاسخ قابل توجهی به درمان با این داروها نشان می‌دهند (گفیتینیب و ارلوتینیب).

تعیین پروفایل ژنتیکی یک قدم به سوی پزشکی فرد محور است. این اطلاعات می‌توانند در انتخاب مناسب‌ترین شیوه درمانی و تعیین مؤثرترین دُز، به‌کار رفته و از پاسخ‌های دارویی نامطلوب جلوگیری کند.



شکل ۶-۱۲: مثالی از پاسخ به گفیتینیب در بیمار مبتلا به سرطان ریه از نوع Non-small-cell و دارای جهش EGFR فعال‌کننده. سی‌تی اسکن (Computed tomographic scan) سینه نشان‌دهنده یک تودهٔ بزرگ در ریهٔ راست قبل از درمان است **A**، بهبود قابل توجه شش هفته بعد از شروع تجویز گفیتینیب **B**، است.

مطالعات بیشتر

Beutler E 1991 Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. N Engl J Med 324: 169-174.

Review of an important ethnic phamacogenetic polymorphism.

Goldstein DB, Tate SK, Sisodiya SM 2003 Phamacogenetics goes genomic. Nature Genet Rev 4:937-947.

Review of phamacogenetics/genomics.

Neumann DA, Kimmel CA 1998 Human variability in response in chemical exposures: measures, modelling, and risk assessment. London: CRC Press

A detailed discussion of the inherited human variability to exposure to the toxic effects of environmental chemicals.

Newman W. Payne K 2008 Removing barriers to a clinical phamacogenetics service. Personalized Med 5:471-480.

A review article describing the application of phamacogenetics to current clinical practice.

Pearson ER, Flechtner I, Njolstad PR, et al 2006 Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. Neonatal Diabetes International Collaborative Group. N Engl J Med 355:467-477

Pharmacogenetic treatment of monogenic diabetes

Roses AD 2008 Phamacogenetics in drug discovery and development: a translational perspective. Nat Rev Drug Discovery 7:807-817

A recent article describing the role of phamacogenetics in drug development.

Vogel F, B selmaier W, Reichert W, Kelleman G, Berg P eds 1978 Human genetic variation in response to medical and environmental agents: phamacogenetics and ecogenetics. Berlin: Springer One of the early definitive outlines of the field of phamacogenetics.

نکات مهم

۱- فارماکوژنومیک به مطالعهٔ تعامل بین ساختار ژنتیکی یک فرد و پاسخ او به دارو گفته می‌شود. تمایز کلیدی بین فارماکوژنتیک و فارماکوژنومیک در این است که اولی اشاره به مطالعهٔ تنوع در پاسخ‌های دارویی مرتبط با ژن‌های منفرد دارد، در حالی که دومی پاسخ دارویی مرتبط به کل ژنوم را مطالعه می‌کند.

۲- متابولیسم بسیاری از داروها شامل تغییرات بیوشیمیایی است که غالباً شامل کونژوگاسیون (اتصال) دارو به مولکول دیگری بوده و معمولاً این عمل در کبد انجام می‌شود. این تغییر (ترانسفورماسیون) شیمیایی، دفع دارو را تسهیل می‌کند.

۳- نحوهٔ متابولیزه کردن دارو از شخصی به شخص دیگر متفاوت بوده و توسط ژنتیک فرد تعیین می‌شود. در برخی از موارد اساس بیوشیمیایی این تفاوت‌ها درک شده است. برای مثال افراد در سرعت غیرفعال‌سازی داروی ضد سل ایزونیازید طی فرآیند استیلاسیون در کبد متفاوت بوده، برخی غیرفعال‌کننده آهسته و دیگران غیرفعال‌کننده‌های سریع هستند. غیرفعال‌کننده‌های آهسته افزایش خطر ابتلا به تأثیرات جانبی سمّی مرتبط با درمان ایزونیازید را نشان می‌دهند.

۴- در برخی موارد، تنوع ژنتیکی می‌تواند منحصراً توسط پاسخ به داروها نمایان شود. یکی از این موارد هایپرترمی بدخیم است. این اختلال نادر هنگامی بروز می‌کند که یک داروی بیهوشی خاص به همراه داروی شل‌کننده عضلانی در بیهوشی عمومی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۵- دانش مرتبط با اتیولوژی ژنتیکی بیماری‌ها می‌تواند منجر به درمان اختصاصی (tailored treatment) شود. مثال‌هایی از کاربرد چنین دانشی شامل درمان برخی از اشکال تک‌ژنی دیابت با استفاده از سولفونیل اوره، درمان سرطان‌های پستان که *HER2* را بیش از حد بیان می‌کنند با استفاده از هرسپتین (Herceptin) و درمان لوسمی میلوئید مزمن با استفاده از گلیوک (Gleevec) یا ایماتینیب (Imatinib) هستند. در حال حاضر تعیین آلل B*5101 قبل از تجویز آباکاویر برای درمان بیماران مبتلا به عفونت HIV، باعث کاهش خطر ایجاد حساسیت بیش از حد و بالقوه کشنده می‌شود.

فصل ۱۳

ایمنوژنتیک

کشفیات پزشکی با گام‌های عظیمی همچنان پیش می‌رود، اما به سادگی از کنار یک سرماخوردگی معمولی گذشت و آن را برای همیشه برایمان به یادگار گذاشت.

«Pam Ayers»

ایمنی

سیستم ایمنی در همهٔ اشکال خود، مکانیسم دفاعی ما برعلیه سلاح‌های میکروارگانیسم‌ها، حشرات و دیگر عوامل عفونی است، که باعث کاهش جمعیت انسانی می‌شوند. مکانیسم دفاعی مؤثر از ضروریات مطلق بقای بشر است؛ به‌منظور درک بیماری‌های ارثی سیستم ایمنی ابتدا باید با اساس ژنتیکی سیستم ایمنی آشنا شویم.

مکانیسم‌های دفاعی سیستم ایمنی را می‌توانیم به دو گروه اصلی تقسیم‌بندی کنیم: **ایمنی ذاتی** (innate immunity) شامل تعدادی از سیستم‌های غیراختصاصی که برای فعال شدن به برخورد قبلی با عوامل عفونی نیاز ندارند و **ایمنی اختصاصی اکتسابی** *(specific aquired)* یا **ایمنی تطبیقی** *(adaptive)* شامل یک پاسخ ایمنی جور شده (براساس آنتی‌ژن) است که می‌تواند بعد از قرارگیری در معرض عوامل عفونی به کار بیافتد. هر دو نوع ایمنی شامل هم **ایمنی هموورال***(humoral immunity)*، که با عوامل خارج سلولی مبارزه می‌کند، و هم ***ایمنی با واسطه سلول‌ها*** (cell – mediated immunity) است که برعلیه عفونت‌های داخل سلولی می‌جنگد.

ایمنی ذاتی

اولین سد دفاعی ساده در مقابل عفونت، یک سد مکانیکی است. پوست در اکثر مواقع به‌عنوان یک سد نفوذناپذیر عمل می‌کند، بعلاوه PH اسیدی عرق نیز برای رشد باکتری نقش مهاری دارد. غشاهای مفروش‌کننده مجاری گوارشی و تنفسی به وسیله موکوس محافظت می‌شوند. حرکات مژه‌ای در مجاری تنفسی حفاظت بیشتری را ایجاد می‌کنند، همچنین دیگر مایعات بدن حاوی طیفی از عوامل ضد باکتریایی هستند، همانند لیزوزیم‌های اشک. اگر یک ارگانیسم موفق شود که وارد بدن شود یک سیستم ایمنی سالم فوراً با شناسایی بیگانه مهاجم به آن پاسخ داده و زنجیره‌ای از پاسخ‌ها ایجاد می‌شود.

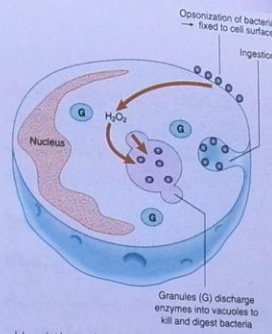
ایمنی ذاتی سلولی

فاگوسیتوز

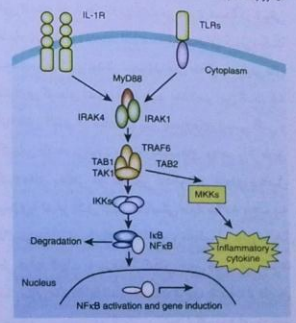
وقتی یک میکروارگانیسم بیگانه به بدن حمله می‌کند دو نوع سلول مهمی که فعال می‌شوند، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها هستند. ماکروفاژ شکل بالغ مونوسیت‌های موجود در گردش خون هستند که به *بافت‌ها مهاجرت* می‌کنند و عمدتاً در حوالی *غشاء پایه* (basement membrane) رگ‌های خونی، بافت پیوندی، ریه، کبد و پوشش سینوزوئیدهای طحال و سینوس‌های مدولاری گره‌های لنفاوی وجود دارند. اعتقاد بر این است که آنها نقش کلیدی در هماهنگی بین پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی داشته، می‌توانند میکروارگانیسم‌های مهاجم را از طریق گیرنده‌های سطحی خود شناسایی کرده و بین خودی و عامل بیماری‌زا تمایز قائل شوند. شناسائی مواد بیگانه منجر به فاگوسیتوزشان توسط ماکروفاژها شده و متعاقب آن نوتروفیل‌ها طی فرآیند التهاب به سرعت از گردش خون جذب می‌شوند. فعال‌سازی ماکروفاژها باعث تحریک فرآیند التهاب از طریق رهاسازی حد واسط‌های التهابی می‌شود. ارگانیسم‌های مهاجم در درون فاگوسیت‌ها از طریق ادغام با گرانول‌های درون سلولی و قرار گرفتن در معرض پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیلی و اکسید نیتروژ تخریب می‌شوند (شکل ۱-۱۳).

مسیر گیرنده شبه تال

یک جزء کلیدی ایمنی ذاتی سلولی مسیر **گیرنده شبه تال** (Toll – like receptor = TLR) است. TLRs گیرنده‌های حفظ‌شده غشایی هستند که در جنین‌های مگس سرکه نقش اساسی در تکوین پشتی ـ شکمی (dorsal – ventral) دارند.



شکل ۱ـ۱۳: فاگوسیتوز و مسیرهای دخیل در کشتن داخل سلولی میکروارگانیسم‌ها.



شکل ۲ـ۱۳: مسیرهای گیرنده شبه تال (TLR) و گیرنده اینترلوکین ۱ (IL-1R) که دارای چندین پروتئین یکسان مشترک هستند. فعال‌سازی TLR2 و دیگر TLRs باعث فعال‌سازی NFκB و القای بیان ژن می‌شود، در نتیجه منجر به بلوغ سلول‌های دندریتیک، افزایش بیان کمپلکس اصلی سازگاری بافتی و ملکول‌های کمک تحریک‌کننده و تولید سیتوکین‌های تحریک‌کننده ایمنی می‌شود. IKK: Kappa kinase : I inhibitor : IKB : NFκB : IRAK : IL-1R – associated protein kinases : MKK : Map kinase : MyD88 : adapter molecule : TAB1 : TAK1-binding protein 1 : TAB2 : TAK-1 : transforming growth : TAK-1 : binding protein 2 : TRAF6 : tumor necrosis factor - β- activated kinase factor – associated factor 6

هر چند هومولوگ‌های TLR در پستانداران در پاسخ ایمنی ذاتی و شناسایی میکروب‌ها نقش دارد (در دروزوفیلای بالغ، این مسیر مسئول ساخت پپتیدهای ضدمیکروبی است) و به ابرخانواده Interleukin-1 / TLR تعلق دارد. این ابرخانواده را بر مبنای خصوصیت بخش خارج سلولی گیرنده ـ یعنی اینکه این بخش دارای دومن شبه‌ایمنوگلوبینی و یا دارای تکرارهای غنی از لوسین باشد ـ می‌توان در دو زیر گروه طبقه‌بندی کرد ـ TLRs معمولاً دارای تکرارهای غنی از لوسین خارج سلولی هستند.

در انسان ۱۰ نوع TLRs وجود دارد، هر گیرنده مسئول شناسایی یک دستهٔ اختصاصی از الگوهای ملکولی (molecular patterns) مرتبط با پاتوژن است. TLR2 به خوبی بررسی شده و دارای نقش اساسی در شناسایی پاتوژن‌های مهاجم، شناسایی پپتیدوگلیکان‌ها و لیپوپروتئین‌های مرتبط با باکتری‌های گرم مثبت و دیگر لیگاندهای با منشاء خودی و میکروبی است. بنابراین عملکرد اصلی TLR2 سیگنال‌دهی با واسطهٔ لیپو پروتئین و فعال‌سازی مسیر با واسطه شناسایی لیگاندش که منجر به فعال‌شدن فاکتور رونویسی NFκB می‌شود و نتیجه آن افزایش بیان ملکول‌های کمک تحریک کننده (co- Stimulatory) و سیتوکین‌های التهابی است (شکل ۳ـ۱۳). این سیتوکین‌ها به مهاجرت سلول‌های دندریتیک از بافت‌های آلوده به گره‌های لنفاوی کمک می‌کنند. در این گره‌ها سلول‌های دندریتیک ممکن است با لکوسیت‌ها برخورد کرده و این سلول‌های درگیر در پاسخ ایمنی اکتسابی را فعال کنند. مسیرهای سیگنال‌دهی که توسط TLRs به کار گرفته می‌شوند از چند پروتئین مشابه با مسیر گیرنده اینترلوکین 1 (IL-1R) استفاده می‌کنند (شکل ۲ـ۱۳). فعال‌سازی TLR باعث به خدمت گرفتن MyD88 (به همین خاطر گاهی به مسیر، مسیر وابسته به MyD88 می‌گویند) می‌شود که این پروتئین واسطه اتصال به کینازهای مرتبط با IL-1R نوع ۱ و ۴ (IRAK4 و IRAK1) است.

فعال‌سازی مسیر تال دارای چند اثر مهم بر روی القای ایمنی ذاتی است. این اثرات شامل تولید سیتوکین‌ها و کموکاین‌ها (Chemokines)، از جمله IL-1، IL6 و TNF-α (Tumor necrosis factor – alpha) است که دارای

اثرات موضعی در محدود کردن عفونت و اثرات سیستمیک با تولید تب و القای پاسخ‌های فاز حاد شامل پروتئین واکنش‌گر ـ C هستند. یکی از حالات مهم بالینی مرتبط با مسیر Toll، شوک سپتیک (Septic Shock) به‌صورت فعال‌سازی مسیر تال به‌وسیلهٔ لیگاندهای خاصی است که باعث القای رهاشدن سیستمیک TNF-α می‌شود. همچنین جهش یا نقص در TLR2 دارای پیامدهای جدی در ارتباط با سلامتی می‌باشد. موش‌های دارای نقص در TLR2 مستعد عفونت به‌وسیلهٔ باکتری‌های گرم مثبت و منتژیت حاصل از استرپتوکوکوس پنومونی هستند.

کشتن میکروب‌های خارج سلولی

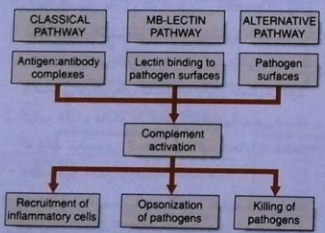
سلول‌های آلوده شده ویروسی می‌توانند به‌وسیله لنفوسیت‌های دارای گرانول بزرگ، موسوم به **سلول‌های کشنده طبیعی** NK (Natural killer) کشته شوند. این سلول‌ها در سطح خود دارای گیرنده‌های شناسایی‌کننده کربوهیدرات هستند که می‌توانند گلیکو پروتئین‌های با وزن ملکولی بالا را شناسایی کنند. این گلیکو پروتئین‌ها درسطح سلول‌های آلوده، در نتیجهٔ کنترل‌کردن عملکردهای همانندسازی سلول توسط ویروس، بیان می‌شوند. سلول‌های NK در طی عفونت‌های ویروسی زودهنگام وارد عمل شده و به‌وسیله سیتوکین‌های تولید شده از ماکروفاژها فعال می‌شوند. آنها سلول‌های آلوده به ویروس را از طریق تغییر در گلیکوپروتئین‌های ویروسی و یا بیان کمپلکس اصلی سازگاری بافتی (MHC) کلاس ۱ در سطح سلول‌های میزبان آلوده به ویروس شناسایی می‌کنند. اتصال سلول‌های NK به سلول‌های آلوده منجر به رهاسازی تعدادی از عوامل می‌شود که در حقیقت منجر به آسیب غشای سلول‌های آلوده و مرگ سلولی می‌شوند.

ایمنی ذاتی هومورال

چندین فاکتور محلول در ایمنی هومورال نقش دارند؛ آنها با محدودکردن گسترش میکروارگانیسم‌های عفونی آسیب بافتی را به حداقل می‌رسانند. این فاکتورها **پروتئین‌های فاز حاد** (acute- phase proteins) نامیده می‌شوند و شامل پروتئین واکنشگر C، پروتئین‌های متصل شونده به مانوز و جزء P آمیلوئیدی سرم (Serum amyloid P component) است. دو تای اول با تسهیل اتصال یکی از اجزای کمپلمان موسوم به C3b به سطح میکروارگانیسم باعث اپسونیزه (آماده) شدن میکروارگانیسم برای اتصال به فاگوسیت شده، در حالی که پروتئین آخری باعث اتصال آنزیم‌های لیزوزومی به بافت پیوندی می‌شود. علاوه بر این سلول‌های آلوده به ویروس، اینترفرون آلفا و اینترفرون بتا را ساخته و ترشح می‌کنند، که این پروتئین‌ها در القای پاسخ سلولی نسبت به عفونت ویروسی با واسطهٔ فعال‌سازی سلول‌های NK و افزایش بیان MHC کلاس I نقش دارند. علاوه بر این، **اینترفرون** (interferon) به‌وسیله کاهش پایداری RNA پیک (mRNA) و اختلال در ترجمه باعث اختلال در همانندسازی ویروس می‌شود.

کمپلمان

سیستم کمپلمان کمپلکسی متشکل از ۲۰ پروتئین پلاسمایی و بیشتر است که با همکاری یکدیگر به پاتوژن‌های خارج سلولی حمله می‌کنند. هر چند نقش اصلی آن اپسونیزه‌کردن پاتوژن‌هاست، این سیستم از طریق بکارگیری سلول‌های التهابی و از طریق ایجاد کمپلکس حمله به غشاء (membrane attack complex) باعث از بین بردن عوامل بیماری‌زا می‌شود. سیستم کمپلمان از طریق سه مسیر می‌تواند فعال شود: مسیر کلاسیک، مسیر آلترناتیو و مسیر لکتین متصل شونده به مانوز (mannose – binding lectin (MBL)) (مراجعه به شکل ۳ـ۱۳).



شکل ۳ـ۱۳: مسیرهای کلاسیک و آلترناتیو فعال‌سازی کمپلمان، عملکرد اصلی کمپلمان به خدمت گرفتن سلول‌های التهابی، اپسونیزه‌کردن پاتوژن‌ها و کشتن عوامل بیماری‌زاست. MB : mannose binding.

نامگذاری کمپلمان مانند خیلی از اسامی دیگر در ایمنولوژی می‌تواند گیج‌کننده باشد. هر جزء با حرف C و یک عدد نامگذاری می‌شود. اما شماره‌گذاری اجزاء به ترتیب کشف‌شان است، تا اینکه براساس عملکردشان باشد. توالی واکنش به صورت C1، C4، C3، C5، C6، C7، C8 و C9 است. محصولات حاصل از برش با حروف مشخص می‌کنند، قطعه بزرگ را با «b» که b از big گرفته شده است و قطعه کوچکتر را با «a» نشان می‌دهند. در مسیر لکتینی، MBL در خون به پروتئین MASP : (MBL associated serine protease) که یک سرین پروتئاز است متصل می‌شود. وقتی که MBL به هدف خود متصل می‌شود (برای مثال، مانوز موجود بر روی سطح باکتری)، پروتئین MASP شبیه یک تبدیل‌کننده (Convertase) عمل کرده و باعث برش C3 به C3a و C3b می‌شود. چون C3 در خون فراوان است، پس این واکنش با بازده بالایی انجام می‌گیرد. دو مسیر دیگر کمپلمان نیز به تبدیل‌کننده C3 ختم می‌شوند و آنها نیز باعث برش C3 می‌شوند. C3a واسطه ایجاد التهاب است، در حالی که C3b با اتصال به سطح عامل بیماری‌زا و پوشاندن آن باعث اپسونیزه‌کردن آن می‌شود. نقش‌های اجرائی پروتئین‌های اصلی کمپلمان را می‌توان به‌صورت زیر خلاصه کرد (شکل ۴ـ۱۳):

۱ـ اپسونیزاسیون: C3b و C4b اپسونین (Opsonin) بوده و سطح میکروارگانیسم‌های بیگانه را پوشانده و فاگوسیتوز آنها را تشدید می‌کنند. فاگوسیت‌ها دارای گیرنده‌هایی هستند که با شناسایی پروتئین‌های کمپلمان به پاتوژن متصل می‌شوند.

۲ـ التهاب: C5a و C4a و C3a فعال‌کننده‌های التهابی هستند که باعث نفوذپذیری رگ‌ها شده و فاگوسیت‌ها را به خدمت گرفته و آنها را فعال می‌کنند.

۳ـ لیز سلولی: C5b اتصال یافته و C6 و C7 را به خدمت گرفته و در نهایت با C8 کمپلکسی را ایجاد می‌کنند که به‌صورت C5b678 بوده و پلی‌مریزاسیون نهایی C9 را کاتالیز کرده و یک منفذ درون غشایی با قطر حدودی ۱۰ نانومتر ایجاد می‌کنند که باعث لیز سلول می‌شود. این ساختار به کمپلکس حمله‌کننده به غشاء = membrane attack complex) (MAC معروف است.

۴ـ حذف کمپلکس ایمنی: کمپلمان نقش مهمی در حذف کمپلکس ایمنی (immune complex) از گردش خون دارد. کمپلکس ایمنی به C4b و C3b متصل شده و سپس به گیرنده‌هایی بر سطح گلبول‌های قرمز متصل می‌شود و سپس این کمپلکس‌ها به کبد و طحال انتقال داده شده که در آنجا کمپلکس‌ها توسط فاگوسیت‌ها تخریب می‌شوند.

ایجاد جهش در ژن‌های دخیل در این مسیرها دارای عوارض بالینی است. فراوانی جهش‌ها در ژن MBL2 در جمعیت عمومی ممکن است بین ۵ تا ۱۰ درصد باشد. اگرچه اکثر افراد دارای نقص MBL (ناشی از جهش یا پلی‌مورفیسم در پروموتور)، سالم‌اند اما خطر افزایش‌یافته‌ای در شدت و فراوانی عفونت‌ها و بیماری‌های خودایمنی در آنها دیده می‌شود. نقص MBL مخصوصاً در کودکان با عفونت‌های مکرر مجرای تنفسی، التهاب و عفونت گوش میانی (Otitis media) و اسهال مزمن گزارش شده است.

ایمنی اکتسابی اختصاصی

بسیاری از میکروارگانیسم‌های عفونت‌زا از طریق جهش و فشار انتخابی، استراتژی‌هایی را برای غلبه یا گریز از مکانیسم‌های مرتبط با ایمنی ذاتی ایجاد می‌کنند. بنابراین نیاز به ایجاد یک ایمنی تطبیقی یا اکتسابی اختصاصی (Specific acquired and adoptive immunity) وجود دارد. این نوع ایمنی را نیز مانند ایمنی ذاتی می‌توان به دو فرآیند ایمنی وابسته به سلول و هومورال تقسیم‌بندی کرد.

ایمنی اکتسابی اختصاصی هومورال

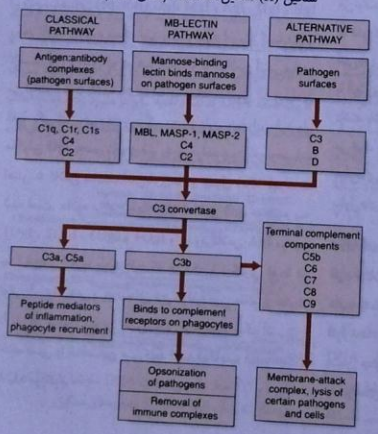
میانجی‌گر اصلی ایمنی اکتسابی اختصاصی هومورال ایمنوگلوبولین‌ها یا آنتی‌بادی‌ها هستند. آنتی‌بادی‌ها قادر به شناسایی و اتصال به آنتی‌ژن‌های سطحی میکروارگانیسم‌های عفونت‌زا هستند که باعث فعال‌شدن فاگوسیت‌ها و آغاز **مسیر کلاسیک کمپلمان** و تولید MAC (شکل ۴ـ۱۳) و در دسترس قرار گرفتن دیگر عملکردهای مؤثر کمپلمان می‌شوند.

قرار گرفتن در معرض آنتی ژن خاص باعث تکثیر کلونال (Clonal proliferation) یک لنفوسیت کوچک مشتق شده از مغز استخوان (البته لنفوسیت B) و ایجاد یک سلول بالغ تولیدکننده آنتی‌بادی یا **پلاسماسل** (Plasma cell) می‌شود.

لنفوسیت‌های قادر به تولید آنتی‌بادی، نسخه‌ای از ایمنوگلوبولین (Ig) اختصاصی را در سطح خود بیان می‌کنند که این Ig در نقش یک گیرنده سطحی برای آنتی‌ژن فعالیت می‌کند. اتصال آنتی‌ژن متصل شده به دیگر MASPs، باعث فعال‌شدن مسیر سیگنال‌دهی‌ای می‌شود که منجر به تکثیر کلونال و تولید آنتی‌بادی می‌شود. در وهله اول یک **پاسخ اولیه** (primary response) ایجاد می‌شود که در آن ابتدا IgM و سپس IgG تولید می‌شوند. قرار گرفتن مجدد در معرض آنتی‌ژنی یکسان، باعث افزایش سطح آنتی‌بادی در یک بازهٔ زمانی کوتاه‌تر می‌شود که به **پاسخ ثانویه** (secondary response) معروف است و بازتاب حالتی است که به آن **پاسخ ایمنولوژیک اختصاصی آنتی‌ژن** (antigen- specific immunological memory) می‌گویند.

ایمنوگلوبولین‌ها

ایمنوگلوبولین‌ها یا آنتی‌بادی‌ها یکی از کلاس‌های مهم پروتئین‌های سرمی هستند، عملکرد آنها در شناسایی انواع متفاوت آنتی‌ژنی و نیز در انجام فعالیت‌های مؤثر در ابتدا با مطالعه ساختار پروتئین و بعدها نیز با مطالعات DNA مشخص شد.

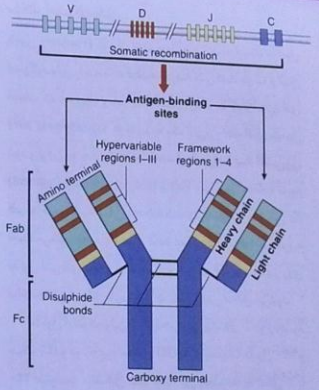


شکل ٤ـ۱۳: کلیاتی از اجزای اصلی و عملکردهای مؤثر کمپلمان. توجه داشته باشید که مسیر MBL شامل پروتئین MBL، MASP-1، MASP-2، C4 و C2 است. MASP به عنوان C3 Convertase عمل کرده و باعث تولید قطعه C3b از C3 می‌شود. C3b به سطح عامل بیماری‌زا و به گیرنده‌های موجود بر روی فاگوسیت متصل شده و باعث اپسونیزاسیون می‌شود. C3b همچنین می‌تواند در ترکیب با پروتئین‌های دیگر، بر سطح پاتوژن، کمپلکس حمله به غشاء ایجاد کند.

ساختار ایمنوگلوبولین

پاپایین (Papaine) که یک آنزیم پروتئولیز کننده است، ملکول ایمنوگلوبولین را به سه قطعه تجزیه می‌کند. دو تا از این قطعات مشابه بوده و هر یک حاوی یک جایگاه آنتی‌بادی (antibody site) بوده که قادرند به یک آنتی‌ژن اختصاصی متصل شود و از این رو به اینها **قطعه متصل شونده به آنتی‌ژن** (antigen- binding fragment) یا **Fab** می‌گویند. قطعهٔ سوم قادر به کریستالیزه شدن (Crystalization) بوده و بنابراین *Fc* نامیده می‌شود. قطعه Fc تعیین‌کنندهٔ عملکردهای بیولوژیک ثانویه ملکول آنتی‌بادی بوده و به کمپلمان و گیرنده **Fc** موجود بر روی انواع مختلفی از سلول‌های دخیل در پاسخ ایمنی متصل می‌شود.

ملکول ایمنوگلوبولین از ۴ زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی ـ دو زنجیره سبک (L) و دو زنجیره سنگین (H) به ترتیب با طول ۲۲۰ و ۴۴۰ آمینواسید ـ تشکیل شده است. این زنجیره‌ها به شکل Y یا کمک پیوندهای دی سولفیدی و تعاملات غیرکوالان در کنار هم نگه داشته می‌شوند. هر قطعه Fab از زنجیره L متصل به بخش انتهای آمین زنجیره H تشکیل شده است، در حالی که هر قطعه Fc فقط از بخش‌های انتهای کربوکسیل زنجیره‌های سنگین (H) تشکیل شده است (شکل ۵ـ۱۳).



شکل ۵ـ۱۳: مدلی از ساختار ملکولی آنتی‌بادی

ایزوتایپ‌ها، زیرکلاس‌ها و ایدیوتایپ‌های ایمنوگلوبولین

پنج نوع مختلف از زنجیره‌های سنگین موسوم به γ، μ، α، δ و ε، به ترتیب در ۵ کلاس اصلی آنتی‌بادی یا *ایزوتایپ‌های* (isotype) IgG، IgM، IgA، IgD و IgE وجود دارند. زنجیره سبک نیز بر دو نوع است: کاپا (k) و لامبدا (λ) و این دو در هر یک از ۵ کلاس آنتی‌بادی می‌توانند وجود داشته باشند، اما در یک ملکول آنتی‌بادی فقط یکی از زنجیره‌های سبک وجود دارد. بنابراین فرمول ملکولی IgG به‌صورت $k_2\gamma_2$ و $\lambda_2\gamma_2$ خواهد بود. خصوصیات اصلی ۵ کلاس مختلف آنتی‌بادی‌ها در جدول ۱ـ۱۳ فهرست شده است. علاوه بر این چهار زیر کلاس IgG موسوم به IgG1، IgG2، IgG3 و IgG4 و دو زیرکلاس IgA موسوم به IgA1 و IgA2 وجود دارد که هر یک با دیگری فقط در توالی آمینواسیدی و پیوندهای دی‌سولفید بین ملکولی تفاوت دارند. هر ملکول منفرد آنتی‌بادی که فقط یک آنتی‌ژن اختصاصی را شناسایی می‌کند **ایدیوتایپ** (idiotype) نامیده می‌شود.

آلوتایپ‌های ایمنوگلوبولین

پنج کلاس مختلف ایمنوگلوبولین در همه افراد سالم وجود دارد، اما واریانت‌های آللی و یا آن چیزی که به *آلوتایپ‌های* (allotype) آنتی‌بادی هر یک از این ۵ کلاس مشهور است، نیز شناسایی شده‌اند. این‌ها شامل سیستم *Gm* است که به زنجیرهٔ سنگین IgG ارتباط دارد، سیستم *Am* مرتبط با زنجیره سنگین IgA، سیستم *Km* و *Inv* مربوط به زنجیرهٔ سبک k، سیستم *Oz* برای زنجیره سبک λ و آلوتایپ *Em* مرتبط با زنجیرهٔ سنگین IgE هستند. سیستم‌های *Gm* و *Km* مستقل از یکدیگر بوده، پلی‌مورفیک هستند و فرکانس آلل‌های مختلف آنها در گروه‌های قومیتی مختلف تنوع زیادی نشان می‌دهد.

ایجاد تنوع در آنتی‌بادی

اینکه یک ملکول پروتئینی منفرد به اندازه کافی هتروژنی ساختاری از خود نشان دهد، که در مورد تعداد زیادی از آنتی‌ژن‌های مختلف دارای اختصاصیت باشد، متناقض به نظر می‌رسد. ترکیبات مختلف زنجیره‌های سبک و سنگین تا حدی می‌توانند توجیه‌کننده این تنوع باشند. برای آنکه هر نوع زنجیره به قدر کافی تنوع داشته باشد که بتواند تعداد بسیار زیادی آنتی‌بادی در پاسخ به تعداد بسیار زیادی آنتی‌ژن که فرد می‌تواند با آنها روبرو شود تولید کند، باید هزاران ژن ساختاری وجود داشته باشد. درک اولیه ما از اینکه چطور این تنوع ایجاد می‌شود، حاصل مطالعهٔ افراد مبتلا به سرطانی موسوم به **میلومای چندگانه** (multiple myeloma) مرتبط با بدخیمی سلول‌های تولیدکننده آنتی‌بادی، است.

میلومای چند گانه

افراد مبتلا به میلومای چندگانه به مقدار زیادی، یک آنتی‌بادی منفرد یا مونوکلونال (monoclonal) را تولید می‌کنند که در ادرار تعدادی از بیماران قابل تشخیص است. به این پروتئین بنس جونز (Bence Jones protein) گفته می‌شود و از زنجیره‌های L تشکیل شده است. توالی آمینواسیدی انتهای

جدول ۱ـ۱۳ کلاس‌های مختلف ایمنوگلوبولین (Ig) انسانی

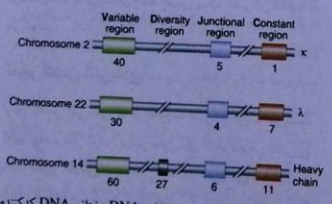
کلاس	وزن ملکولی (Da)	غلظت سرمی (mg/mL)	فعالیت آنتی‌بادی	تثبیت کمپلمان	انتقال از جفت
IgG	۱۵۰,۰۰۰	۸–۱۶	اتصال به میکروارگانیسم‌ها و خنثی‌کردن سموم باکتریایی	+	+
IgM	۹۰۰,۰۰۰	۰/۵–۲	در اوایل پاسخ ایمنی تولید می‌شود، مخصوصاً در باکتریمی (وجود باکتری در خون)	+	–
IgA	۱۶۰,۰۰۰	۱/۴–۴	محافظت از سطوح موکوسی	+	–
IgD	۱۸۵,۰۰۰	۰–۰/۴	بر روی سطح لنفوسیت بوده و در کنترل فعال‌سازی و مهار نقش دارد	–	–
IgE	۲۰۰,۰۰۰	ناچیز	در پاسخ‌های آلرژی و انگلی نقش دارد	–	–

کربوکسیل این پروتئین در بیماران مختلف متنوع بوده و این در حالی است که انتهای کربوکسیل پروتئین نسبتاً ثابت است. این نواحی به ترتیب **متغیر** (Variable) یا **V** و **ثابت** (Constant) یا **C** نامیده می‌شوند. هر چند ناحیه V پروتئین‌های میلومایی مختلف دارای ۴ ناحیه بودند که تفاوت‌های اندکی از یک پروتئین به پروتئین دیگر نشان می‌دادند به این نواحی (FR1-4) نواحی چارچوب **Framework regions** و سه ناحیهٔ بسیار متغیر که بین این ۴ ناحیه پخش شده‌اند، به نواحی بسیار متغیر (HV I-III) hypervariable regions معروف هستند (مراجعه به شکل ۵ـ۱۳).

مطالعات DNA بر روی تنوع آنتی‌بادی

در ۱۹۵۶ Dreyer و Bennett پیشنهاد کردند که یک آنتی‌بادی می‌تواند توسط ژن‌های مجزا در سلول‌های ردهٔ زاینده کد شوند. این ژن‌ها در طی تکوین لنفوسیت‌ها دچار بازآرایی شده و بنابراین به این ژن‌ها تغییر سازمان یافته (scrambling) می‌گفتند. مقایسهٔ نقشه‌های محدود شدهٔ (restriction map) قطعات DNA کدکنندهٔ نواحی C و V زنجیرهٔ سبک ایمنوگلوبولینی در سلول‌های جنینی و سلول‌های تولیدکنندهٔ آنتی‌بادی آشکار کرد که این قطعات در سلول‌های جنینی دورتر از هم قرار گرفته ولی در سلول‌های تولیدکنندهٔ آنتی‌بادی در کنار یکدیگر واقع شده‌اند. آنالیزهای بیشتر آشکار کرد که قطعات DNA کدکنندهٔ نواحی C و V زنجیرهٔ سبک در سلول‌های تولیدکننده آنتی‌بادی در حدود ۱۵۰۰ جفت باز از هم فاصله دارند. مشخص شد که این قطعه کدکننده **Joining** یا **J** است که دقیقاً پس از ناحیه V زنجیرهٔ سبک قرار گرفته است. نشان داده شد که زنجیره سبک κ نیز ساختار مشابهی دارد. کلون‌سازی و تعیین توالی DNA ژن‌های زنجیره H در سلول‌های ردهٔ زاینده، آشکار کرد که این ژن‌ها دارای ناحیه چهارمی نیز هستند که **diversity** یا **D** نامیده می‌شود و بین نواحی V و J قرار گرفته است.

تخمین زده می‌شود که در حدود ۶۰ قطعه DNA کدکننده ناحیه V زنجیرهٔ سنگین، ۴۰ قطعه DNA کدکنندهٔ ناحیه V زنجیره سبک κ و ۳۰ قطعه کدکننده ناحیه V زنجیرهٔ λ وجود دارد. ۶ قطعه DNA کدکنندهٔ ناحیه J زنجیره سنگین، ۵ ناحیه J زنجیره سبک κ و ۴ ناحیه J زنجیره سبک λ نیز وجود دارند. در مورد زنجیره سبک κ یک قطعه DNA کدکننده ناحیه C و در مورد زنجیره λ هفت ناحیه کدکننده C و ۱۱ قطعه DNA، کدکننده ناحیهٔ C کلاس‌های مختلف زنجیرهٔ سنگین هستند. (شکل ۶ـ۱۳).



شکل ۶ـ۱۳: تعداد تخمینی قطعات DNA مختلف DNA کدکننده زنجیره‌های κ و λ و انواع مختلفی از زنجیره‌های سنگین.

ناحیه ژنومی مورد نظر همچنین حاوی تعداد زیادی توالی‌های DNA فاقد بیان یا ژن‌های کاذب است. اگرچه برای هر یک از قطعات DNA کد کنندهٔ نواحی مختلف یک ملکول آنتی‌بادی می‌توان واژهٔ ژن را اطلاق کرد، استفاده از این کلمه در ارتباط با آنتی‌بادی‌ها اجتناب می‌شود، زیرا آنها را می‌توان به عنوان یک استثناء برای قانون عمومی یک ژن ـ یک آنزیم (یا یک پروتئین) به حساب آورد.

بازآرایی ژن آنتی بادی

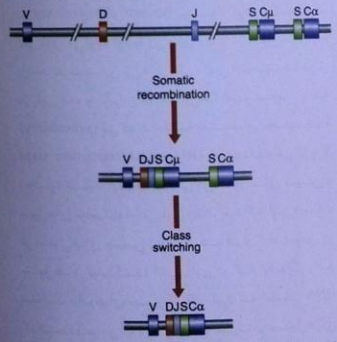
ژن‌های کدکنندهٔ زنجیره‌های سبک κ و λ و زنجیره سنگین به ترتیب بر روی کروموزوم ۲، ۲۲ و ۱۴ واقع شده‌اند. تنها یکی از هر یک از انواع قطعات DNA مرتبط به هم، در هر نوع ملکول منفرد آنتی‌بادی بیان می‌شود. قطعات DNA کدکنندهٔ قسمت‌های مختلف یک زنجیره آنتی‌بادی که بر روی این کروموزوم‌ها قرار گرفته‌اند، به‌وسیله DNA غیر کدکننده از هم جدا شده‌اند. رخدادهای نوترکیبی سوماتیک دخیل در تولید آنتی‌بادی شامل توالی‌های سیگنال نوترکیبی کوتاه و حفظ‌شده‌ای هستند که اطراف هر قطعه DNA را در سلول‌های رده زاینده فرا گرفته‌اند (شکل ۷ـ۱۳). تنوع بیشتر در اثر پیرایش متنوع mRNA در اتصال V-J در حین پردازش RNA و همچنین با مکانیسم جهش سوماتیک در ژن‌های آنتی‌بادی ایجاد می‌شود. در حال حاضر این مکانیسم‌ها را به عنوان دلایلی برای وجود تنوع موجود در طبیعت برای آنتی‌بادی‌ها ذکر می‌کنند، اگرچه هنوز به طور کامل مشخص نیست که چطور قطعات خاص DNA برای تولید یک آنتی‌بادی اختصاصی یک آنتی‌ژن انتخاب می‌شوند.

تغییر کلاس آنتی‌بادی

اولین کلاس آنتی‌بادی که در پاسخ به آنتی‌ژن تولید می‌شود IgM بوده و قرار گرفتن بیشتر سلول‌های B در معرض آنتی‌ژن باعث **تغییر کلاس** (Class Switch) **آنتی‌بادی** از IgM به IgA یا IgG می‌شود. این تغییر کلاس مستلزم حفظ اختصاصیت آنتی‌بادی به آنتی‌ژن خاص است. آنالیز تغییر کلاس در جمعیت‌های مشتق شده از یک سلول B منفرد نشان داد که هر دو کلاس آنتی‌بادی دارای جایگاه اتصال به آنتی‌ژن و ناحیه V یکسان و ناحیه C متفاوتی هستند. تغییر کلاس در اثر رخداد نوترکیبی سوماتیک ایجاد می‌شود و شامل قطعات DNA موسوم به S (برگرفته شده از Switching) است، که منجر به ایجاد حلقه و حذف نواحی میانی اضافی می‌شود. نتیجه، حذف قطعه DNA کدکنندهٔ ناحیه C زنجیرهٔ H ملکول IgM و نزدیک‌شدن قطعه ژنی کدکنندهٔ ناحیه C کلاس جدید زنجیره H به کنار قطعه کدکننده ناحیه V است (به شکل ۷ـ۱۳ مراجعه شود).

ابرخانواده ژنی ایمنوگلوبولین

نشان داده شده است که چندین ملکول دیگر که در پاسخ ایمنی نقش دارند از نظر ساختاری و توالی DNA با ایمنوگلوبولین‌ها شباهت دارند. این توالی ۱۱۰ اسیدآمینه‌ای دارای یک پل‌دی‌سولفیدی قرار گرفته در مرکز است و باعث پایدار شدن یک سری از رشته‌های بتا (β Strand) موازی ناهمسو، به یک صورت یک تاخوردگی آنتی‌بادی (antibody fold) می‌شود. این دسته از ملکول‌ها که از لحاظ ساختاری شبیه هم هستند **ابر خانواده ایمنوگلوبولینی** (immunoglobulin super- family) نامیده می‌شوند. این ابر خانواده شامل ۸ خانواده چند



شکل ۷ـ۱۳: بازآرایی و تغییر کلاس زنجیره سنگین ایمنوگلوبولین

ژنی است. علاوه بر زنجیره‌های λ ، κ و کلاس‌های مختلف زنجیره H، زنجیره‌های گیرنده سلول T و MHC کلاس I و II یا آنتی‌ژن لکوسیت انسانی HLA در این ابر خانواده قرار می‌گیرند. دیگر ملکول‌های موجود در این ابر خانواده شامل گیرنده‌های سطح سلولی CD4 و CD8 بر روی سلول‌های T هستند که در شناسایی آنتی‌ژن با گیرنده‌های سلول T همکاری می‌کنند، همچنین ملکول‌های چسبندگی بین سلول‌های ۱، ۲ و ۳ (intercellular adhesion molecules) که در چسبندگی لکوسیت به اندوتلیوم و خروج از رگ (extravasation)، فعال شدن سلول T و فراخوانی (homing) سلول‌های T نقش دارند، در این ابرخانواده قرار می‌گیرند.

مهندسی آنتی‌بادی

در آغاز قرن بیستم ایدهٔ «گلوله جادوئی» (magic bullet) توسط Paul Ehrlich مطرح شد. او امیدوار بود که روزی ترکیبی به وجود آید که با آن بتوان به‌طور انتخابی یک ارگانیسم مسبب بیماری را مورد هدف قرار داد. امروزه ما به آنتی‌بادی مونوکلونال (mAb) دسترسی داریم و تقریباً می‌توانیم برای مورد هدف قرار دادن هر نوع ماده‌ای یک آنتی‌بادی اختصاصی ایجاد کنیم، که به آن ماده متصل شود. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال با هم یکسان هستند، زیرا همه آنها به‌وسیلهٔ یک نوع از سلول‌های ایمنی که همگی کلون یک سلول والدی منحصر به فرد هستند، تولید می‌شوند.

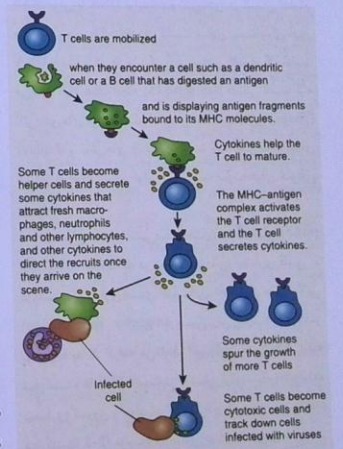
در دهه ۱۹۷۰ مشخص شد که سرطان میلومای چندگانه سلول‌های B یک نوع آنتی‌بادی ـ یک پاراپروتئین تولید می‌کنند. ساختار آنتی‌بادی‌ها از روی این پروتئین مطالعه شد، اما امکان تولید آنتی‌بادی‌های یکسان که اختصاصی آنتی‌ژن مورد نظر بودند، فراهم نبود. سلول‌های میلوما به دلیل فقدان هیپوگزانتین ـ گوانین ـ فسفوریبوزیل ترانسفراز که برای تکثیر DNA ضروری است، نمی‌توانند رشد کنند. به‌طور معمول می‌توان با الحاق سلول‌های میلوما با سلول‌های طحال برگرفته از یک موش (یا خرگوش) که با آنتی‌ژن مورد نظر ایمونیزه شده است، mAb تولید کرد. سپس سلول‌ها را در محیطی که انتخاب کننده سلول‌های هیبریدی است، کشت می‌دهیم. سلول طحال تأمین‌کننده هیپوگزانتین ـ گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز بوده و سلول میلوما به دلیل سرطانی بودن، نامیرا است. مخلوط سلولی رقیق شده و کلونی از هر یک از سلول‌های والدی کشت داده شده تولید می‌شود. آنتی‌بادی‌های ترشح شده به‌وسیله هر کلون، برای بررسی توانایی اتصالشان به آنتی‌ژن مورد نظر سنجش می‌شوند و مناسب‌ترین کلون برای استفاده‌های بعدی انتخاب می‌شود. همچنین هیبریدها را می‌توان به حفره صفاقی موش تزریق کرد تا تومورهای حاوی مایع آسیتی (ascetic fluid) غنی از آنتی‌بادی از آن تولید کرد. سپس mAb باید از این مایع استخراج و تخلیص شود.

برای غلبه بر مشکل خالص‌سازی از دهه ۱۹۸۰ تکنولوژی‌های DNA نوترکیب در این زمینه مورد استفاده قرار گرفته است. DNA کدکننده قسمت اتصال یابنده در mAb موش با DNA تولیدکننده آنتی‌بادی در انسان ادغام می‌شود. سپس با استفاده از کشت سلول پستانداران این DNA را بیان کرده و یک آنتی‌بادی کایمریک تولید می‌شود. البته هدف ایجاد یک mAb کاملاً انسانی است که آنتی‌بادی‌های تولید شده با روش نمایش فاژی (phage display) و موش‌های دستکاری شده که آنتی‌بادی‌های شبیه‌تر به انواع انسانی تولید می‌کنند، نمونه‌های موفقی می‌باشند.

در حال حاضر آنتی‌بادی‌های منوکلونال (mAb) تولید و تأیید شده‌اند که در درمان سرطان، بیماری قلبی ـ عروقی، بیماری‌های التهابی، تحلیل ماکولایی (macular degeneration)، پس زدن پیوند و دیگر بیماری‌ها به کار گرفته می‌شوند. آنتی‌بادی منوکلونالی که مهارکننده TNF-α است در درمان آرتریت روماتوئید، بیماری کرون و کولیت اولسراتیو کاربرد دارد. mAb مهارکنندهٔ IL-2 موجود در سلول‌های T فعال شده در ممانعت از پس زدن کلیه‌های پیوند زده شده به کار می‌رود و mAb مهارکننده فاکتور رشد اندوتلیال رگی (VEGF) در درمان ضد رگ‌زایی سرطان نقش ایفاء می‌کند.

ایمنی اکتسابی اختصاصی وابسته به سلول

برخی از میکروارگانیسم‌ها مانند ویروس‌ها و انگل‌ها درون سلول‌های میزبان زندگی می‌کنند. در نتیجه شکل مجزایی از ایمنی اکتسابی اختصاصی برای مقابله با این عفونت‌های درون سلولی ابداع شده است که شامل لنفوسیت‌های تمایز یافته و بالغ شده در تیموس به نام *سلول‌های T* می‌باشد. لنفوسیت‌های T دارای گیرنده‌های اختصاصی بر روی سطح خود هستند که به آنها **گیرنده‌های آنتی‌ژنی سطح سلول‌های T** گفته می‌شود که کارشان اتصال به MHC موجود بر سطح سلول‌های آلوده شده است. انواع مختلفی از سلول‌های T که هر یک عملکرد مجزایی دارند به نام **سلول‌های T سیتوتوکسیک** و **سلول‌های T یاری‌دهنده** یا کمکی نامیده می‌شوند. مبارزه بر علیه عفونت‌های درون سلولی یک پاسخ هماهنگ و مشارکتی از طرف هر یک از این اجزای سیستم ایمنی است که منجر به مرگ سلول‌های عفونی می‌شود (شکل ۸ـ۱۳).



شکل ۸ـ۱۳: سلول‌های T و پاسخ‌های مشارکتی آنها منجر به مرگ سلول‌های آلوده شده می‌شود. MHC: Major histocompatibility complex.

گیرنده آنتی‌ژن سطح سلول T

سلول‌های T بر روی سطح خود یک گیرنده آنتی‌ژن بیان می‌کنند، که این سلول‌ها را از بقیه لنفوسیت‌ها مانند سلول‌های B و سلول‌های NK متمایز می‌کند. گیرنده آنتی‌ژن حاوی دو زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی مختلف است که به‌وسیله پیوند دی‌سولفیدی به هم متصل می‌شوند، هر دو زنجیره دارای دومن شبه ایمنوگلوبولینی هستند، یکی از دو زنجیرهٔ دارای ساختار تقریباً ثابتی است و دیگری شبیه بخش Fab ایمنوگلوبولین بسیار متغیر است. تنوع در گیرندهٔ سلول T برای شناسایی طیفی از تنوع‌های آنتی‌ژنی نیاز است، که این تنوع به‌وسیله فرآیندی مشابه تولید ایمنوگلوبولین‌ها ایجاد می‌شود. بازآرایی قطعات DNA موسوم به Variable (V)، diversity (D)، junctional (J) و Constant (C) در حین بلوغ سلول‌های T از طریق یک مکانیسم نوترکیبی مشابه به آنچه در سلول‌های B رخ می‌دهد، منجر به ایجاد توالی VDJ می‌شود. اتصال آنتی‌ژن به گیرنده سلول T در همراهی با کمپلکسی از پپتیدهای درون غشایی، منجر به سیگنال‌دهی به سلول‌های T برای تمایز و تقسیم می‌شود.

کمپلکس اصلی سازگاری بافتی

MHC نقش محوری در سیستم ایمنی دارد. نقش آن اتصال به پپتیدهای آنتی‌ژنی پردازش شده درون سلول و عرضه این پپتیدها در سطح سلول در کنار ملکول‌های کمک تحریکی (co- Stimulatory molecules) برای شناسایی این آنتی‌ژن‌ها توسط سلول‌های T است. ملکول‌های MHC دارای سه کلاس هستند: کلاس I که تقریباً بر سطح هر سلولی وجود دارند و مسئول عرضه آنتی‌ژن به سلول‌های T سیتوتوکسیک هستند؛ کلاس II که بر روی سلول‌های B و ماکروفاژها حضور دارند و در سیگنال‌دهی به سلول‌های T کمکی برای ایجاد سلول‌های B و ماکروفاژهای بیشتر نقش دارند؛ و ملکول‌های کلاس III غیرکلاسیک که شامل تعدادی از پروتئین‌های دارای انواع مختلفی از عملکردهای ایمنولوژیک می‌باشند. از جمله این پروتئین‌ها می‌توان به میانجی‌گرهای التهابی همچون TNF و

پروتئین‌های شوک حرارتی و اجزای مختلف کمپلمان اشاره کرد.

آنالیز ساختاری ملکول‌های MHC کلاس I و II آشکار کرد که آنها هترودایمر بوده و با ایمنوگلوبولین دارای همولوژی هستند. ژن‌های کدکنندهٔ ملکول‌های MHC کلاس I (C,B,A)، کلاس II (DR ، DQ و DP) و کلاس III که به سیستم آنتی‌ژن لکوسیتی انسان (HLA) نیز معروف می‌باشد بر روی کروموزوم ۶ واقع شده‌اند.

ژنتیک پیوند

پیوند عضو شیوه‌ای مرسوم در پزشکی بالینی است و به استثنای پیوند قرنیه و استخوان، موفقیت در عمل پیوند بستگی به درجهٔ تشابه آنتی‌ژنی بین گیرنده و دهنده پیوند دارد. هر چه این شباهت بیشتر باشد احتمال اینکه بافت یا عضو پیوند زده شده (یا هموگرافت) پذیرفته شود بسیار بیشتر است. دفع **هموگرافت** بین دوقلوهای همسان و دوقلوهای غیرهمسانی که جریان خون جفت در آنها قبل از تولدشان مخلوط شده است، رخ نمی‌دهد. در بقیهٔ موارد تشابه آنتی‌ژنی دهنده و گیرنده باید به‌وسیله آزمایش آنها با آنتی‌سرم یا آنتی‌بادی منوکلونال مناسب برای آنتی‌ژن‌های بافت دهنده و گیرنده بررسی شود. این آنتی‌ژن‌ها به‌طور سنتی آنتی‌ژن‌های پیوند نامیده می‌شد، اما امروزه مشخص شده است که آنها MHC هستند. به عنوان یک قانون کلی، دریافت پیوند از هر فردی که دارای آنتی‌ژنی باشد که در فرد گیرنده وجود نداشته باشد، منجر به دفع پیوند خواهد شد. تعیین HLA یک فرد با استفاده از تکنیک‌های بر مبنای PCR انجام می‌گیرد.

سیستم HLA بسیار پلی‌مورفیک است (جدول ۲ـ۱۳). از نظر تئوری تعداد نامحدودی فنوتیپ در نتیجه ایجاد ترکیبات متفاوت از آلل‌های مختلف در این جایگاه‌ها امکان‌پذیر است. بنابراین دو فرد *نامرتبط* بعید است که دارای فنوتیپ‌های HLA یکسانی باشند. پیوستگی لکوس‌های HLA به این معنی است که این لکوس‌ها تمایل دارند به‌صورت یک بلوک با هم به ارث برسند. واژه **هاپلوتایپ** (haplotype) برای بیان کردن آلل‌های HLA خاصی که یک فرد بر روی هر یک از دو کروموزوم خود حمل می‌کند به کار می‌رود. بنابراین هر فردی دارای شانس ۲۵ درصدی برای داشتن HLA یکسان با خواهر یا برادرش است. زیرا فقط ۴ ترکیب احتمالی از دو هاپلوتایپ پدری (حروف P و Q را در این مورد بکار ببرید) و دو هاپلوتایپ مادری (R و S) امکان‌پذیر است و اینها عبارتند از: PR ، PS و QR و QS. خواهرها و برادرهای یک دریافت‌کننده پیوند از نظر ژنتیکی به او شبیه‌تر هستند تا پدر و مادر او. پدر و مادر شخص دریافت‌کننده پیوند نیز نسبت به افراد غیرخویشاوند شباهت بیشتری با او دارند. بنابراین خواهر و برادر مکرراً به عنوان یک دهنده بالقوه انتخاب می‌شوند.

اگرچه درون ناحیهٔ HLA نوترکیبی رخ می‌دهد، اما برخی از آلل‌ها تمایل دارند که بیشتر از آنچه که انتظار می‌رود با هم به یک گامت منتقل شوند، به این معنا که این آلل‌ها از خود عدم تعادل پیوستگی (linkage disequilibrium) نشان می‌دهند. یک مثال همراهی آنتی‌ژن‌های A1 و B8 مربوط به HLA در جمعیت‌های با منشاء اروپای غربی است.

آنتی‌ژن Y-H

مشاهده شده بود که پیوند بافت از یک فرد مذکر به سویه‌های مادهٔ درون زادآوری شده یا خالص‌شده (inbred) مشابه در برخی از گونه‌های حیوانی پس زده می‌شود. مشخص شد که اساس این ناسازگاری‌ها، یک آنتی‌ژن سازگاری بافتی موسوم به Y-H است. به نظر می‌رسد که Y-H نقش کمی در پیوند در انسان‌ها دارد. آنتی‌ژن H-Y (که متفاوت از ژن SRY است) برای عملکرد و تمایز بیضه‌ها دارای اهمیت است، اما بیان آن به حضور یا عدم حضور بافت بیضه ارتباطی ندارد.

جدول ۲ـ۱۳ آلل‌های هر یک از لکوس‌های* HLA

لکوس HLA	تعداد آلل‌ها
A	۵۷
B	۱۱۱
C	۳۴
D	۲۲۸

* HLA: Human leukocyte antigen

پلی‌مورفیسم‌های HLA و بیماری‌هایی که با آنها همراهی نشان می‌دهند

همراهی (association) برخی از بیماری‌ها با انواع خاصی از HLA (جدول ۳ـ۱۳) می‌بایست موجب شناخته شدن مکانیسم پاتوژنز آن بیماری شود، اما در عمل اساس این همراهی به خوبی شناخته نشده است. بهترین موردی که با مشاهدات بسیاری حمایت شده است، همراهی بین اسپوندیلیت آنکیلزیون و HLA-B27 است. بیماری خواب (narcolepsy)، یک بیماری با اتیولوژی ناشناخته بوده و مشخصهٔ اصلی آن تمایل به خواب‌رفتن به‌صورت غیرقابل کنترل و راجعه (پریودیک) است و تقریباً در همه موارد با HLA-DR2 همراهی نشان می‌دهد. داشتن یک آنتی‌ژن HLA خاص به معنای این نیست که فرد ضرورتاً باید به بیماری مربوطه گرفتار شود، تنها ریسک نسبی (relative risk) فرد مورد نظر، بیش‌تر از جمعیت عادی است. در یک خانواده، خطر مربوط به خویشاوندان درجهٔ اول فرد مبتلا پایین بوده و بیش از ۵٪ نمی‌باشد.

دلائل مربوط به استعداد ابتلاء به بیماری و همراهی با HLA به شرح زیر است: پیوستگی نزدیک یک ژن مستعدکننده با کمپلکس HLA، واکنش متقاطع (Cross-reactivity) آنتی‌بادی‌هایی که برعلیه یک آنتی‌ژن محیطی یا یک پاتوژن ساخته شده‌اند با یک آنتی‌ژن HLA خاص و شناسایی غیرطبیعی آنتی‌ژن‌های خودی به دلیل نقایص موجود در گیرنده‌های سلول T یا پردازش آنتی‌ژن. این بیماری‌های دستهٔ آخر به **بیماری‌های خودایمنی** (autoimmune diseases) معروف هستند. یک مثال در موردی پیوستگی نزدیک، بیماری هیپرپلازی مادرزادی آدرنال است که به دلیل نقص ۲۱ـ هیدروکسیلاز ایجاد می‌شود. چون ژن *CYP21* جهش یافته درون لکوس سازگاری بافتی اصلی HLA قرار گرفته است. این فرم هیپرپلازی مادرزادی آدرنال همراهی بسیار قوی با HLA-A3/Bw47/DR7 در جمعیت اروپای شمالی نشان می‌دهد. نقص ۲۱ـ هیدروکسیلاز غیرکلاسیک با HLA-B14/DR1 همراهی نشان می‌دهد و HLA-A1/B8/DR3 همراهی منفی با نقص ۲۱ هیدروکسیلاز نشان می‌دهد.

جدول ۳ـ۱۳ برخی از بیماری‌های مرتبط با HLA*

بیماری	HLA
Ankylosing spondylitis	B27
بیماری سلیاک	DR4
نقص ۲۱ـ هیدروکسیلاز	DR27/Bw47/A3
هموکروماتوز	A3
دیابت وابسته به انسولین (نوع I)	DE3/4
Myasthenia gravis	B8
بیماری خواب	DR2
آرتریت روماتوئید	DR4
Systemic lupus erythematosus	DR2/DR3
Thyrotoxicosis (Graves disease)	DR3

* HLA: Human leukocyte antigen

پاسخ ایمنی به عنوان یک مسابقه تسلیحاتی

بیشتر بدانیم ۱ـ۱۳

اکثر عوامل بیماری‌زایی که بدن انسان مورد هجوم قرار می‌دهند، به‌وسیله سیستم ایمنی تخریب می‌شوند. در نتیجه یک انتخاب طبیعی بسیار قوی، در مورد پاتوژن‌هایی که می‌توانند از نظارت و تخریب سیستم ایمنی فرار کنند، وجود دارد. این میکروب‌ها اغلب دارای نرخ بالای جهش بوده و تعداد آنها زیاد می‌باشد. بنابراین ویروس‌ها و دیگر عوامل بیماری‌زا، علی‌رغم سادگی‌شان راه‌هایی هوشمندانه برای غلبه بر پاسخ ایمنی ابداع کرده‌اند. در حقیقت سیستم ایمنی ما دائماً در حال خلق راه‌های تازه برای مقابله با نبوغ عوامل بیماری‌زاست. در اینجا سه مثال این مسابقه تسلیحاتی ملکولی بحث خواهد شد.

سایتومگالوویروس (CMV) یک عامل عفونی شایع است که می‌تواند منونوکلئوز (mononucleosis) [وجود تعداد بیش از حد مونوسیت‌ها در خون]، کم‌خونی همولیتیک، التهاب ریه (پنومونیت)، عفونت‌های مادرزادی و ترومبوسیتوپنی (کاهش تعداد پلاکت‌ها) ایجاد کند. سلول‌های آلوده به CMV به‌وسیلهٔ سلول‌های T سیتوتوکسیک، هدف تخریب قرار می‌گیرند. هر چند برخی

از سویه‌های CMV (و دیگر ویروس‌ها و سلول‌های توموری) می‌توانند به‌وسیله کاهش بیان ملکول‌های کلاس I بر روی سطح سلول‌های آلوده از شناسایی توسط سلول‌های T گریز کنند. بدون عرضهٔ پپتیدهای ویروسی به‌وسیله ملکول‌های کلاس I، سلول‌های T سیتوتوکسیک دیگر قادر به تشخیص حضور CMV نبوده و نمی‌توانند سلول‌های آلوده را تخریب کنند. در این صورت سلول‌ها به طور طبیعی هدف سلول‌های کشنده طبیعی (NK) قرار می‌گیرند و سلول‌های NK به سلول‌های فاقد MHC کلاس I حمله می‌کنند. اما CMV نیز راهی رابرای مقابله با سلول‌های NK ابداع کرده است. ویروس یک پروتئین سطح سلولی را که مشابه ملکول‌های کلاس I است، کد می‌کند. به‌طوری که سلول‌های NK، پروتئین ویروسی را به جای ملکول MHC کلاس I واقعی اشتباه می‌گیرند. پروتئین ویروسی تا حدی از ملکول‌های MHC کلاس I متفاوت است اما توسط سلول‌های T سیتوتوکسیک تخریب نمی‌گردد. بدین ترتیب CMV می‌تواند از تخریب به‌وسیله سلول‌های T و NK در امان باشد.

حاملگی یک چالش ایمونولوژیک دیگر است که در آن سلول‌های جفت ملکول‌های MHC کلاس I با منشاء پدری را بیان می‌کنند. به‌طور معمول چنین سلوهایی باید به‌وسیلهٔ سلول‌های T سیتوتوکسیک مادر حذف شوند. برای اجتناب از این حالت بیان MHC کلاس I در این سلول‌ها کاهش می‌یابد. همانند کاهش بیان ملکول‌های MHC کلاس I در سلول‌های آلوده به ویروس، سلول‌های جفت نیز مستعد تخریب به‌وسیله سلول‌های NK مادری می‌باشند. در این مورد سلول‌ها با ارائه ملکول‌های HLA-G بر روی سطح خود نجات پیدا می‌کنند. این ملکول MHC نسبتاً ثابت، برخلاف ملکول‌های MHC از نوع HLA-A ، HLA-B و HLA-C نمی‌توانند پاسخ سلول‌های T را تحریک کنند. بنابراین جنین مانند CMV راه‌هایی را برای اجتناب از تخریب به‌وسیله سلول‌های T و NK ایجاد کرده است.

سومین مثال از مسابقه تسلیحات ملکولی، این بار در مورد یکی از هولناک‌ترین عوامل عفونی عصر حاضر یعنی ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) ذکر می‌شود. برخی از سویه‌های این ویروس می‌توانند از طریق یک گیرنده سطح سلولی موسوم به CCR5 (CC chemokine receptor 5) وارد ماکروفاژها و سلول‌های T یاری‌گر شوند. به محض ورود به سلول، HIV می‌تواند ژنوم خود را به درون هستهٔ سلول وارد کرده و دستگاه همانندسازی سلول را برای تکثیر خود به کار گیرد. سلول‌های T یاری‌گر یک جزء ضروری دستگاه ایمنی بدن بوده و تخریب این سلول‌ها به‌وسیله HIV می‌تواند منجر به نقص ایمنی شدید ثانویه شود. افراد هموزیگوت برای حذف ۳۲ جفت بازی ژن CCR5 فاقد گیرنده CCR5 بوده و بنابراین مقاوم به عفونت HIV هستند. همچنین در افراد هتروزیگوت برای این حذف، بروز علائم AIDS پس از تبدیل سرمی (Seroconversion) کند شده و ۲ تا ۴ سال طول می‌کشد. این حذف در جمعیت‌های اروپائی‌های شمال شرقی شایع بوده و در آن نواحی فراوانی ژنی به ۰/۲ نیز می‌رسد. این آلل در جمعیت‌های آفریقایی و آسیایی وجود ندارد.

آنالیز عدم تعادل پیوستگی در نواحی کروموزومی که حاوی CCR5 هستند، نشان می‌دهد که این حذف ۳۲ جفت بازی در جمعیت اروپایی تنها ۷۰۰ تا ۲۰۰۰ سال پیش اتفاق افتاده است. از آنجا که HIV تنها در چند دهه گذشته در جمعیت‌های انسانی ظاهر شده است، فراوانی ژنی بالا در اروپای شمال شرقی نمی‌تواند به دلیل وجود HIV بوده باشد و ممکن است نیروهای انتخابی دیگر و یا رانش ژنتیکی باعث افزایش فراوانی این آلل شده باشند. با توجه به زمان ایجاد حذف، ممکن است این آلل تحت گزینش مثبت، باعث ایجاد مقاومت به پاتوژن‌هایی همچون آبله باشد که در گذشته باعث از بین رفتن جمعیت اروپائی‌ها شده است. در حال حاضر آشکارا یک انتخاب قوی به نفع این آلل در جمعیت‌هایی که به طور گسترده در معرض عفونت HIV قرار گرفته‌اند، وجود دارد و این حذف در نهایت از نظر فراوانی در جمعیت افزایش خواهد یافت.

پلی‌مورفیسم‌های HLA و بیماری‌هایی که با آنها همراهی نشان می‌دهند

همراهی (association) برخی از بیماری‌ها با انواع خاصی از HLA (جدول ۳ـ۱۳) می‌بایست موجب شناخته شدن مکانیسم پاتوژنز آن بیماری شود، اما در عمل اساس این همراهی به خوبی شناخته نشده است. بهترین موردی که با مشاهدات بسیاری حمایت شده است، همراهی بین اسپوندیلیت آنکیلزیون و HLA-B27 است. بیماری خواب (narcolepsy)، یک بیماری با اتیولوژی ناشناخته بوده و مشخصهٔ اصلی آن تمایل به خواب‌رفتن به‌صورت غیرقابل کنترل و راجعه (پریودیک) است و تقریباً در همه موارد با HLA-DR2 همراهی نشان می‌دهد. داشتن یک آنتی‌ژن HLA خاص به معنای این نیست که فرد ضرورتاً باید به بیماری مربوطه گرفتار شود، تنها ریسک نسبی (relative risk) فرد مورد نظر، بیش‌تر از جمعیت عادی است. در یک خانواده، خطر مربوط به خویشاوندان درجهٔ اول فرد مبتلا پایین بوده و بیش از ۵٪ نمی‌باشد.

دلائل مربوط به استعداد ابتلاء به بیماری و همراهی با HLA به شرح زیر است: پیوستگی نزدیک یک ژن مستعدکننده با کمپلکس HLA، واکنش متقاطع (Cross-reactivity) آنتی‌بادی‌هایی که برعلیه یک آنتی‌ژن محیطی یا یک پاتوژن ساخته شده‌اند با یک آنتی‌ژن HLA خاص و شناسایی غیرطبیعی آنتی‌ژن‌های خودی به دلیل نقایص موجود در گیرنده‌های سلول T یا پردازش آنتی‌ژن. این بیماری‌های دستهٔ آخر به **بیماری‌های خودایمنی** (autoimmune diseases) معروف هستند. یک مثال در موردی پیوستگی نزدیک، بیماری هیپرپلازی مادرزادی آدرنال است که به دلیل نقص ۲۱ـ هیدروکسیلاز ایجاد می‌شود. چون ژن *CYP21* جهش یافته درون لکوس سازگاری بافتی اصلی HLA قرار گرفته است. این فرم هیپرپلازی مادرزادی آدرنال همراهی بسیار قوی با HLA-A3/Bw47/DR7 در جمعیت اروپای شمالی نشان می‌دهد. نقص ۲۱ـ هیدروکسیلاز غیرکلاسیک با HLA-B14/DR1 همراهی نشان می‌دهد و HLA-A1/B8/DR3 همراهی منفی با نقص ۲۱ هیدروکسیلاز نشان می‌دهد.

جدول ۳ـ۱۳ برخی از بیماری‌های مرتبط با HLA*

بیماری	HLA
Ankylosing spondylitis	B27
بیماری سلیاک	DR4
نقص ۲۱ـ هیدروکسیلاز	DR27/Bw47/A3
هموکروماتوز	A3
دیابت وابسته به انسولین (نوع I)	DE3/4
Myasthenia gravis	B8
بیماری خواب	DR2
آرتریت روماتوئید	DR4
Systemic lupus erythematosus	DR2/DR3
Thyrotoxicosis (Graves disease)	DR3

* HLA: Human leukocyte antigen

پاسخ ایمنی به عنوان یک مسابقه تسلیحاتی

بیشتر بدانیم ۱ـ۱۳

اکثر عوامل بیماری‌زایی که بدن انسان مورد هجوم قرار می‌دهند، به‌وسیله سیستم ایمنی تخریب می‌شوند. در نتیجه یک انتخاب طبیعی بسیار قوی، در مورد پاتوژن‌هایی که می‌توانند از نظارت و تخریب سیستم ایمنی فرار کنند، وجود دارد. این میکروب‌ها اغلب دارای نرخ بالای جهش بوده و تعداد آنها زیاد می‌باشد. بنابراین ویروس‌ها و دیگر عوامل بیماری‌زا، علی‌رغم سادگی‌شان راه‌هایی هوشمندانه برای غلبه بر پاسخ ایمنی ابداع کرده‌اند. در حقیقت سیستم ایمنی ما دائماً در حال خلق راه‌های تازه برای مقابله با نبوغ عوامل بیماری‌زاست. در اینجا سه مثال این مسابقه تسلیحاتی ملکولی بحث خواهد شد.

سایتومگالوویروس (CMV) یک عامل عفونی شایع است که می‌تواند منونوکلئوز (mononucleosis) [وجود تعداد بیش از حد مونوسیت‌ها در خون]، کم‌خونی همولیتیک، التهاب ریه (پنومونیت)، عفونت‌های مادرزادی و ترومبوسیتوپنی (کاهش تعداد پلاکت‌ها) ایجاد کند. سلول‌های آلوده به CMV به‌وسیلهٔ سلول‌های T سیتوتوکسیک، هدف تخریب قرار می‌گیرند. هر چند برخی

از سویه‌های CMV (و دیگر ویروس‌ها و سلول‌های توموری) می‌توانند به‌وسیله کاهش بیان ملکول‌های کلاس I بر روی سطح سلول‌های آلوده از شناسایی توسط سلول‌های T گریز کنند. بدون عرضهٔ پپتیدهای ویروسی به‌وسیله ملکول‌های کلاس I، سلول‌های T سیتوتوکسیک دیگر قادر به تشخیص حضور CMV نبوده و نمی‌توانند سلول‌های آلوده را تخریب کنند. در این صورت سلول‌ها به طور طبیعی هدف سلول‌های کشنده طبیعی (NK) قرار می‌گیرند و سلول‌های NK به سلول‌های فاقد MHC کلاس I حمله می‌کنند. اما CMV نیز راهی رابرای مقابله با سلول‌های NK ابداع کرده است. ویروس یک پروتئین سطح سلولی را که مشابه ملکول‌های کلاس I است، کد می‌کند. به‌طوری که سلول‌های NK، پروتئین ویروسی را به جای ملکول MHC کلاس I واقعی اشتباه می‌گیرند. پروتئین ویروسی تا حدی از ملکول‌های MHC کلاس I متفاوت است اما توسط سلول‌های T سیتوتوکسیک تخریب نمی‌گردد. بدین ترتیب CMV می‌تواند از تخریب به‌وسیله سلول‌های T و NK در امان باشد.

حاملگی یک چالش ایمونولوژیک دیگر است که در آن سلول‌های جفت ملکول‌های MHC کلاس I با منشاء پدری را بیان می‌کنند. به‌طور معمول چنین سلوهایی باید به‌وسیلهٔ سلول‌های T سیتوتوکسیک مادر حذف شوند. برای اجتناب از این حالت بیان MHC کلاس I در این سلول‌ها کاهش می‌یابد. همانند کاهش بیان ملکول‌های MHC کلاس I در سلول‌های آلوده به ویروس، سلول‌های جفت نیز مستعد تخریب به‌وسیله سلول‌های NK مادری می‌باشند. در این مورد سلول‌ها با ارائه ملکول‌های HLA-G بر روی سطح خود نجات پیدا می‌کنند. این ملکول MHC نسبتاً ثابت، برخلاف ملکول‌های MHC از نوع HLA-A ، HLA-B و HLA-C نمی‌توانند پاسخ سلول‌های T را تحریک کنند. بنابراین جنین مانند CMV راه‌هایی را برای اجتناب از تخریب به‌وسیله سلول‌های T و NK ایجاد کرده است.

سومین مثال از مسابقه تسلیحات ملکولی، این بار در مورد یکی از هولناک‌ترین عوامل عفونی عصر حاضر یعنی ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) ذکر می‌شود. برخی از سویه‌های این ویروس می‌توانند از طریق یک گیرنده سطح سلولی موسوم به CCR5 (CC chemokine receptor 5) وارد ماکروفاژها و سلول‌های T یاری‌گر شوند. به محض ورود به سلول، HIV می‌تواند ژنوم خود را به درون هستهٔ سلول وارد کرده و دستگاه همانندسازی سلول را برای تکثیر خود به کار گیرد. سلول‌های T یاری‌گر یک جزء ضروری دستگاه ایمنی بدن بوده و تخریب این سلول‌ها به‌وسیله HIV می‌تواند منجر به نقص ایمنی شدید ثانویه شود. افراد هموزیگوت برای حذف ۳۲ جفت بازی ژن CCR5 فاقد گیرنده CCR5 بوده و بنابراین مقاوم به عفونت HIV هستند. همچنین در افراد هتروزیگوت برای این حذف، بروز علائم AIDS پس از تبدیل سرمی (Seroconversion) کند شده و ۲ تا ۴ سال طول می‌کشد. این حذف در جمعیت‌های اروپائی‌های شمال شرقی شایع بوده و در آن نواحی فراوانی ژنی به ۰/۲ نیز می‌رسد. این آلل در جمعیت‌های آفریقایی و آسیایی وجود ندارد.

آنالیز عدم تعادل پیوستگی در نواحی کروموزومی که حاوی CCR5 هستند، نشان می‌دهد که این حذف ۳۲ جفت بازی در جمعیت اروپایی تنها ۷۰۰ تا ۲۰۰۰ سال پیش اتفاق افتاده است. از آنجا که HIV تنها در چند دهه گذشته در جمعیت‌های انسانی ظاهر شده است، فراوانی ژنی بالا در اروپای شمال شرقی نمی‌تواند به دلیل وجود HIV بوده باشد و ممکن است نیروهای انتخابی دیگر و یا رانش ژنتیکی باعث افزایش فراوانی این آلل شده باشند. با توجه به زمان ایجاد حذف، ممکن است این آلل تحت گزینش مثبت، باعث ایجاد مقاومت به پاتوژن‌هایی همچون آبله باشد که در گذشته باعث از بین رفتن جمعیت اروپائی‌ها شده است. در حال حاضر آشکارا یک انتخاب قوی به نفع این آلل در جمعیت‌هایی که به طور گسترده در معرض عفونت HIV قرار گرفته‌اند، وجود دارد و این حذف در نهایت از نظر فراوانی در جمعیت افزایش خواهد یافت.

بیماری‌های نقص ایمنی ارثی

بیماری‌های نقص ایمنی ارثی شایع نیستند و گاهی بسیار شدید می‌باشند. تشخیص زودهنگام و مدیریت صحیح باعث می‌شود که بسیاری از بیماران مبتلا به نقص ایمنی اولیه (Primary immune deficiency = PID) در سلامتی باقی بمانند. تشخیص سریع برای درمان بسیار مهم است. زیرا در این صورت می‌توان از مواد ضد میکروبی، آنتی‌بادی و پیوند معز استخوان قبل از اینکه آسیب برگشت‌ناپذیر و قابل توجهی به اندام برسد، جهت درمان بهره برد. بیماری در کودکی اغلب متغیر بوده، اما نقص ایمنی شدیدتر مخصوصاً وقتی بروز می‌کند که *مزایای* ایمنی‌ای که از مادر از طریق جفت حاصل شده کاهش پیدا کند. گاهی هم در بزرگسالان موارد جدید تشخیص PID دیده می‌شود. تحقیقات مربوط به عملکرد سیستم ایمنی باید در تمام بیماران با عفونت‌های مکرر و در کودکانی که قادر به رشد طبیعی نیستند، لحاظ شود. نارسایی در رشد، اسهال و بزرگی کبد و طحال (hepatosplenomegaly) ممکن از ویژگی‌های نقص ایمنی اولیه باشد.

بیماری‌های ایمنی ارثی اولیه

علت تظاهرات حداقل برخی از بیماری‌های PID انسانی را با در نظر گرفتن اینکه آیا آنها ناهنجاری‌های یا ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی اختصاصی هستند، می‌توان درک کرد. ناهنجاری‌های ایمنی هومرال با کاهش مقاومت در برابر عفونت‌های باکتریایی مرتبط بوده و ممکن است در دوران کودکی کشنده باشند. اختلالات ایمنی اکتسابی وابسته به سلول نیز با افزایش ابتلا به عفونت‌های ویروسی مرتبط بوده و فقدان این ایمنی را در حیوانات آزمایشگاهی با پایداری طولانی‌مدت هموگرافت‌های پوستی می‌توان مشاهده کرد.

ناهنجاری‌های ایمنی ذاتی

اختلالات ایمنی ذاتی اولیه را می‌توان در دو گروه ایمنی هومرال ذاتی و وابسته به سلول مورد بررسی قرار داد.

اختلالات ایمنی ذاتی هومرال

طیفی از نقایص کمپلمان، می‌تواند منجر به ایمنی ذاتی مختل شده شوند.

اختلالات کمپلمان: اگر احتمال نقص کمپلمان مطرح شود، تحقیق در مورد انسجام مسیرهای کلاسیک و آلترناتیو را باید به‌وسیله آزمایشات مربوط به فعالیت مسیرها آغاز کرد و به کل مسیر توجه داشت. اگر اختلالات عملکردی مسیر مشخص شد، حال باید بررسی تک‌تک اجزای مسیر را آغاز کرد.

اثرات بالینی نقص MBL پیش از این، مورد بحث قرار گرفته است. نقایص مربوط به سومین جزء کمپلمان یعنی پروتئین C3 باعث ایجاد اختلال در اپسونیزاسیون باکتری‌ها شده و منجر به ایجاد مشکلاتی در مبارزه با عفونت‌های چرکزا می‌شود. همچنین نقص در اجزای بعدی کمپلمان که در ایجاد MAC شرکت دارند، منجر به حساسیت به عفونت‌های باکتریایی مخصوصاً نایسریا (عفونت منتگوکوکسی) می‌شود. از جمله اینها نقص در پروپردین (Properdin) یا فاکتور P است، که یک پروتئین پلاسمایی فعال در مسیر آلترناتیو کمپلمان می‌باشد.

نقص مهارکنندهٔ C1 الگوی توارث آتوزومی غالب را نشان می‌دهد و به دو شکل است ـ نوع ۱ که نقص به علت غلظت اندک مهارکننده C1 است و نوع ۲ که در اثر وجود پروتئین فاقد عملکرد ایجاد می‌شود. فعال‌سازی نابجا و کنترل ضعیف مسیر کمپلمان، در اثر تجزیه C2 و C4 و تولید میانجی‌گرهای التهابی، رخ می‌دهد. همچنین مهارکنندهٔ C1، مسیر کینین ـ برادی کینین (kinin- brady kinin pathway) را کنترل کرده و در صورت نقص، تجمع برادی‌کینین در بافت‌ها رخ می‌دهد و اعتقاد بر این است که این حالت عامل اصلی ایجاد ادم بوده که با جراحی، کار بر روی دندان، آسیب و برخی از داروها تحریک می‌شود. حملات از لحاظ شدت متغیر بوده و از شکل خفیف پوستی تا دردهای شکمی و تورم که می‌تواند ادم حنجره‌ای شدید و بالقوه کشنده ایجاد کند، را شامل می‌شود. این حالت به **آنژیو ادم ارثی** (hereditary angio – edema) مشهور است. حملات حاد را می‌توان با کنسانتره مهارکننده C1 (که یک فرآورده خونی است) درمان کرد، که بر پلاسمای خون منجمد و تازه ارجحیت دارد. در آینده مهارکننده C1 نوترکیب،

ممکن است به‌عنوان انتخاب اول برای درمان مورد استفاده قرار گیرد. داروی Danazol که یک آندروژن است، داروی پشتیبان جهت جلوگیری از این اختلال در درازمدت است.

نقص هموزیگوت C2 نیز با بیماری در ارتباط است. چندین گزارش موردی از افرادی وجود دارد که به واسکولیت پوستی (Cutaneous Vasculitis) [التهاب عروق لنفی و خونی مربوط به پوست]، پوریورای هنوخ ـ شون لاین (Henoch-Schonlein purpura)، روماتوئید آرتریت سرم مثبت (seropositive rheumatoid arthritis)، پلی‌آرتریت (Polyarteritis) [ضایعات مخرب و التهابی متعدد شریان‌ها]، گلومرولونفریت مامبرانو پرولیفراتیو (membranoproliferative-glomerulonephritis) مبتلا شده‌اند و ارتباطاتی نیز با اریتماتوز لوپوس منتشر (systemic lupus erythematosus = SLE) نشان داده‌اند. همچنین C4 نیز با SLE در ارتباط است. تعدات نسخه‌های (Copy number) ژن‌های C4 در ژنوم دیپلوئید انسان، در جمعیت سفیدپوستان از ۲ تا ۶ متغیر است. هر یک از این ژن‌ها هر دو پروتئین C4A و یا C4B را کد می‌کنند. افراد دارای دو نسخه از C4 به‌طور قابل توجهی در خطر افزایش یافته ابتلا به SLE قرار دارند، در حالی که آنهایی که دارای ۵ نسخه و یا بیشتر از ژن C4 هستند، در معرض خطر کاهش یافته می‌باشند.

نقایص مربوط به مسیر سیگنال‌دهی NFκB

فعال‌سازی نامناسب فاکتور هسته‌ای کاپا ـ بی (nuclear factor kappa – B = NF-κB) با التهاب وابسته به آرتریت خودایمنی (autoimmue artheritis)، آسم، شوک سپتیک (Septic shock) فیبروزه‌شدن ریه، گلومرولونفریت، تصلب شرایین (atheroscherosis) و ایدز در ارتباط است. برعکس مهار دائمی NF-κB به‌طور مستقیم با آپاپتوز، تکوین غیرطبیعی سلول‌های ایمنی و تأخیر رشد سلول مرتبط می‌باشد.

از سال ۲۰۰۰ گاهی در کودکان دارای اختلال رشد و مبتلا به عفونت‌های مکرر مجاری گوارشی، اسهال‌های مهارنشدنی و زخم‌های مکرر، عفونت‌های مجاری تنفسی، برونشکتازی (bronchiectasis) و عفونت‌های پوستی مکرر در دوران نوزادی جهش‌هایی در ژن وابسته به X موسوم به IKK-gamma (جزئی از مسیر TLR) مشاهده شده است، که وجود این علائم پیشنهاد می‌کند در این افراد حساسیت به باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی گوناگون وجود دارد. کم‌بیشتی موهای پس‌سری نیز گاهی اوقات یک نشانه بوده و در بچه‌های با سنّ بیشتر نیز به مشاهدهٔ تعداد دندان‌های کمتر (oligodontia) و دندان‌های پیشین جانبی فوقانی مخروطی‌شکل اشاره شده است. در یک مطالعه طول مدت بقاء از ۹ ماهگی تا ۱۷ سالگی گزارش شده است. سطح IgG پایین بوده و سطح IgM معمولاً بالاست. جالب اینکه IKKg همان *NEMO* است که در بیماری وابسته به X اینکانتی‌نتا پیگمنتی جهش پیدا می‌کند. ولی در این بیماری سیستم ایمنی، جهش‌ها در اگزون ۱۰ ژن مورد نظر رخ می‌دهد.

IRAK4 عضو دیگری از مسیر TLR است و نقص در آن عمدتاً منجر به عفونت‌های مکرر در اثر باکتری‌های گرم مثبت و گاهی هم قارچ‌ها می‌شود. پاسخ التهابی ضعیف شده نیز وجود دارد. عفونت‌ها در اوایل زندگی فرد شروع می‌شوند و رفته رفته با افزایش سن فراوانی ابتلای به عفونت‌ها در فرد کاهش می‌یابد و برخی از بیماران در اواخر کودکی نیازی به درمان ندارند. الگوی توارث این حالت آتوزومی مغلوب است.

اختلالات ایمنی ذاتی وابسته به سلول

یک مکانیسم مهم در ایمنی ذاتی وابسته به سلول، فاگوسیتوز است و همانگونه که قبلاً توضیح داده شد منجر به کشته‌شدن میکروارگانیسم‌ها با مکانیسم وابسته به سلول خواهد شد.

بیماری گرانولوماتوز مزمن. بیماری گرانولوماتوز مزمن (CGD) بهترین مثال از اختلال در عملکرد فاگوسیتوزی است و از الگوی توارث آتوزومی مغلوب و وابسته به X مغلوب پیروی می‌کند. این اختلال در نتیجهٔ ناتوانی فاگوسیت‌ها در از بین بردن میکروب‌های بلعیده شده، ایجاد می‌شود. این ناتوانی به علت نقص در کمپلکس آنزیم NADPH اکسیداز است که انفجار تنفسی (respiratory burst) ضد میکروبی را ایجاد می‌کند (مراجعه به شکل ۱ـ۱۳). ممکن است هایپرگاماگلوبولینمی نیز وجود داشته باشد. بنابراین CGD با

عفونت‌های باکتریایی و قارچی مکرر مرتبط بوده و در آن لنفادیت چرکزا (suppurative lymphadenitis)، بزرگ شدن کبد و طحال، ترشحات ریوی (pulmonary infilterate) و یا التهاب پوستی شبه‌اگزما دیده می‌شود. تا قبل از ظهور درمان‌های حمایتی و آنتی‌بیوتیک‌های پیشگیری‌کننده نرخ مرگ و میر در کودکان در اثر این بیماری بالا بود. پیوند مغز استخوان و پیوند سلول‌های بنیادی خون محیطی به دست آمده از برادر یا خواهر دارای HLA یکسان، موفقیت‌آمیز بوده است. ژن وابسته به X جهش یافته در CGD، ژن *CYBB* است؛ اولین ژن انسانی که با روش کلون‌سازی موضعی (positional cloning) کلون شد.

نوتروپنی. نوتروپنی‌ها (neutropenias) گروهی هتروژن از بیماری‌های با شدت متغیر هستند و الگوی توارثی مختلفی دارند و مشخصهٔ اصلی آنها کاهش شدید نوتروفیل‌های خون است. نوتروپنی آتوزومی غالب یا مادرزادی اسپورادیک (SCN1) در اثر جهش در ژن الاستاز نوتروفیلی (*ELA2*) ایجاد می‌شود و جهش در پروتوانکوژن *GFI1* که *ELA2* را مورد هدف قرار می‌دهد، نیز سبب ایجاد نوتروپنی با توارث غالب (SCN2) می‌شود. جهش در ژن HAX1 سبب SCN3 آتوزوم مغلوب می‌شود (که به آن بیماری SCN-Kostmann کلاسیک نیز می‌گویند). SCN4 با توارث آتوزومی مغلوب در اثر جهش در ژن *G6PC3* به وجود می‌آید. بیماران SCN با جهش‌های **اکتسابی** در ژن گیرندهٔ فاکتور تحریک‌کنندهٔ کلونی گرانولوسیتی (*CSF3R*) در سلول‌های خون‌ساز، در معرض خطر افزایش یافتهٔ ابتلا به لوسمی میلوئید حاد هستند.

در SCN طی فرآیند خون‌سازی، توقف بلوغ در زمان ساخته‌شدن گرانولوسیت‌ها (granulopoiesis) در سطح پرومیلوسیت‌ها مشخص می‌شود؛ تعداد نوتروفیل‌های خون محیطی کمتر از $0/5\times10^9$ عدد نوتروفیل در هر لیتر است و عفونت‌های باکتریایی شدید با شروع زودرس رخ می‌دهد. همانند SCN1 با توارث غالب، فرم وابسته به X در اثر جهش فعال‌کننده دائمی در ژن WAS به وجود می‌آید. این ژن در سندرم ویسکوت-آلدریچ نیز جهش می‌یابد (مراجعه به بخش بعدی).

نوتروپنی نادر نوسانی (cyclic neutoropenia) که مشخصهٔ اصلی آن نوسان منظم ۲۱ روزه در تعداد نوتروفیل‌ها، منوسیت‌ها، ائوزونوفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، پلاکت‌ها و رتیکولوسیت‌های خون است، باعث می‌شود بیماران علائمی همچون تب، کسالت، زخم‌های موکوسی و گهگاهی عفونت‌های تهدیدکننده حیات را به‌طور دوره‌ای تجربه کنند. مانند SCN1، علت بیماری جهش در ELA2 است.

نقایص در چسبندگی لکوسیت‌ها. افراد مبتلا به نقص چسبندگی لکوسیتی (leukocyte adhesion deficiency = LAD) به عفونت‌های باکتریایی تهدیدکنندهٔ حیات در پوست و غشاهای موکوسی مبتلا شده و ایجاد چرک در آنها مختل می‌شود. افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌ها به دلیل نقص در مهاجرت فاگوسیت‌ها در اثر عملکردهای کموتاکسی و فاگوسیتوز مرتبط با چسبندگی غیرطبیعی رخ می‌دهد. این ناهنجاری کشنده است، مگر اینکه از آنتی‌بیوتیک به صورت پیشگیرانه برای مهار عفونت تا زمان انجام پیوند مغز استخوان استفاده شود. سه شکل LAD شناسایی شده‌اند و هر یک ویژگی‌های بالینی خاصی دارند، اما افزایش لکوسیت‌های خون (leukocytosis) یک مشخصهٔ ثابت هر سه نوع است. LADI و LADII از الگوی آتوزومی مغلوب تبعیت می‌کنند، در حالی که نحوه توارث LADIII نامشخص است. LADII و LADIII بسیار نادر هستند.

مشخصه‌های LADI جدا شدن دیرهنگام بند ناف، التهاب بند ناف (Omphalitis)، عفونت‌های مکرر شدید بدون تولید چرک هستند. علت ایجاد بیماری جهش در *ITGB2* واقع در کروموزوم ۲۱ است که زیرواحد β_2 ملکول اینتگرین را کد می‌کند.

بیماران مبتلا به LADII دارای گروه خونی نادر بمبئی هستند و از عقب‌ماندگی روانی - حرکتی (Psychomotor retardation) و تأخیر رشد رنج می‌برند، علت جهش در ژن کدکنندهٔ انتقال دهنده GDP-Fucose ویژهٔ گلژی است.

LADIII مشابه LADI بود، اما تمایل به خون‌ریزی شدید در تازه متولدین دیده می‌شود. نقایص مختلف در کموتاکسی لکوسیت‌ها و اتصال آنها به سلول‌های اندوتلیال دیده می‌شود و

تشخیص قطعی با نشان‌دادن نقایصی در فرآیند فعال‌شدن اینتگرین، (در حالی که ملکول CD18 از نظر ساختاری سالم است)، فراهم می‌شود. نقص ژنتیکی LADIII به‌طور دقیق مشخص نیست.

سندرم اختلالات اندوکرینی چندگانه خودایمنی - کاندیدوزیز - دیسپلازی اکتودرمی

(Autoimmune – poly Endocrinopathy – Candidosis – Ectodermal Dysplasia Syndrome)

مشخصهٔ اصلی سندرم اختلال اندوکرینی چندگانه خودایمنی وجود دو عدد از سه علامت بالینی اصلی است: بیماری آدیسون (Addison)، هیپوپاراتیروئیدیسم، کاندیدیاز موکوسی - پوستی مزمن که در اثر جهش‌هایی در ژن تنظیم‌کننده خودایمنی (Autoimmune regulator = *AIRE*) ایجاد می‌شود. سوءجذب و اسهال قابل توجه بوده و از علائم بالینی مشاهده شده در اکثر موارد است، ناهنجاری‌های ایمنی نیز ممکن است وجود داشته باشند، اگرچه همراهی با دیابت شیرین و بیماری تیروئیدی نادر است. شروع بیماری آدیسون عمدتاً در خردسالی و اوایل دورهٔ بزرگسالی بوده و مکرراً با هپاتیت فعال مزمن، جذب ناقص از دیواره روده و کم‌خونی کشنده با شروع در جوانی، طاسی و هیپوگنادیسم اولیه همراه است.

بیماری‌های ایمنی اکتسابی اختصاصی

مجدداً تأکید می‌شود که بهتر است بیماری‌های ایمنی اکتسابی اختصاصی را در دو گروه از اختلالات ایمنی اکتسابی اختصاصی هومورال و سلولی بحث کنیم.

اختلالات ایمنی اکتسابی هومورال

اختلالات عملکرد ایمنوگلوبولین، منجر به افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌های باکتریایی می‌شود.

آگاماگلوبولینمی نوع بروتون - (Bruton – type agammaglobulinemia) . پسرهای مبتلا به این نقص ایمنی وابسته به X، معمولاً چند ماه پس از تولد به عفونت‌های متعدد باکتریایی پوست و مجاری تنفسی مبتلا می‌شوند، مصونیت چند ماه اول زندگی آنها وابسته به انتقال IgG مادری از طریق جفت است. علائمی شبیه آرتریت روماتوئید در بسیاری از آنها ایجاد شده و این افراد مستعد ابتلا به عفونت‌های ویروسی نیستند. درمان عفونت‌های تهدیدکنندهٔ حیات با آنتی‌بیوتیک و استفادهٔ پیشگیرانه از تزریق درون رگی ایمنوگلوبولینی باعث افزایش بقاء شده است، اما کودکان مبتلا به این بیماری هنوز هم در اثر نارسایی تنفسی که به دلیل عوارض عفونت‌های مکرر ریوی ایجاد می‌شود، از بین می‌روند. تشخیص این نوع بیماری نقص ایمنی با نشان‌دادن نقص ایمنوگلوبولین و فقدان لنفوسیت‌های B قطعی می‌شود. نشان داده شده که بیماری در اثر جهش در یک پروتئین کیناز اختصاصی سلول‌های B (Btk) ایجاد می‌شود که باعث از دست رفتن سیگنال‌های لازم برای تمایز سلول‌های B به پلاسماسل‌های بالغ تولیدکننده آنتی‌بادی می‌شود. یک شکل نادرتر آگاماگلوبولینمی با توارث آتوزومی مغلوب، کاهش قابل توجه لنفوسیت‌های در حال گردش را نشان می‌دهد و لنفوسیت‌ها در بافت‌های لنفوئیدی نیز حضور ندارند.

سندرم ازدیاد IgM (Hyper – IgM Syndrome = HIGM) . یک بیماری دارای هتروژنی ژنتیکی است که در آن سطح افزایش یافته IgM و معمولاً IgD دیده می‌شود و همچنین سطح دیگر ایمنوگلوبولین‌ها کاهش یافته و یا اصلاً این پروتئین‌ها حضور ندارند. بیماران مستعد عفونت‌های چرکزا و عفونت‌های فرصت‌طلب همچون پنوموکیستیس و کریپتواسپورودیوم هستند و علت آن اختلالات سلول‌های T اولیه است. در شکل وابسته به X (HIGM1) ژن جهش یافته یک ملکول غشایی را در سطح سلول‌های T فعال کد می‌کند که به این پروتئین لیگاند CD40 می‌گویند (که به TNFSF5 تغییر نام یافته است). وقتی که ژن عملکردی ندارد تغییر کلاس آنتی‌بادی ناکارآمد بوده و بنابراین IgM نمی‌تواند به سادگی به IgA و IgG تغییر کلاس دهد. بنابراین سطوح IgM بالا بوده و سطوح IgG کاهش پیدا می‌کند. حداقل ۴ نوع دیگر از این بیماری شناخته شده که شامل اشکال آتوزومی مغلوب HIGM2 (نقص در CD40) و نقص HIGM3 (جهش در

(Activation- induced cytidine deaminase = AICDA) می‌باشند.

سندرم ازدیاد IgE (hyper- IgE Syndrome) . این بیماری (HIES) نیز هتروژن بوده و گاهی به آن سندرم Job می‌گویند و یک PID است که علائم اصلی آن عبارتند از اگزمای مزمن، عفونت‌های مکرر استافیلوکوکی، افزایش سطح IgE سرم و ائوزینوفیل‌ها. آبسه‌ها ممکن است «سرد» باشند، یعنی اینکه در اطراف آنها گرما، اریتم (erythema) یا حساسیت (tenderness) دیده نمی‌شود. بیماران دارای یک چهره خاص و خشن، آرایش غیرطبیعی دندان‌ها، انعطاف‌پذیری بیش از حد مفاصل و شکستگی استخوان هستند. HIES با توارث آتوزومی غالب به علت جهش در ژن *STAT3* و شکل آتوزومی مغلوب به علت جهش در *DOCK8* ایجاد می‌شود.

نقص ایمنی متغیر شایع (Common variable- immunodeficiency = CVID) . CVID شامل شایع‌ترین دسته از نقایص سلول‌های B است، اما بسیار هتروژن بوده و عامل ایجاد آن ناشناخته است. تظاهرات آن مشابه دیگر اشکال نقص ایمنی است و شامل هیپرپلازی گره لنفی نیز می‌باشد. هر دو جنس به طور مساوی مبتلا شده و تظاهرات بیماری می‌تواند در هر سنی آغاز شود. نرخ ابتلا در سفیدپوستان ۱ در ۸۰۰ است، کمبود انتخابی IgA شایع‌ترین PID شناخته شده است. بسیاری از افراد مبتلا هیچ نوع مشکل سلامتی ندارند، اما برخی دیگر ممکن است به عفونت‌های مکرر، ناهنجاری‌های معده‌ای - روده‌ای، بیماری خودایمنی، آلرژی‌ها یا بدخیمی دچار شوند. بیماری‌زایی شامل توقف تمایز سلول‌های B است که باعث تولید تعداد طبیعی پیش‌سازهای سلول‌های B حاوی IgA می‌شود، اما نقص قابل توجهی در تعداد پلاسماسل‌های تولیدکننده IgA وجود دارد. پاسخ به ایمنی‌زایی با آنتی‌ژن‌های پروتئینی و پلی‌ساکاریدی غیرطبیعی است.

CVID را به عنوان یک گروه «سطل زباله» (wastebasket) در نظر می‌گیرند که شامل تعدادی از ناهنجاری‌های ایمنی است؛ هر چند اکثر افراد مبتلا به CVID فنوتیپی خاصی را نشان می‌دهند که مشخصه آن تعداد طبیعی سلول‌های پیش‌ساز B حاوی ایمنوگلوبولین و نقص گسترده ایزوتایپ‌های ایمنوگلوبولین است. در برخی از بیماران این گروه، نقص در لیگاند CD40 گزارش شده است.

نقایص مربوط به ایمنی اکتسابی اختصاصی سلولی

شایع‌ترین اختلال توارثی ایمنی اکتسابی اختصاصی سلولی نقص ایمنی مرکب شدید (Severe Combined immunodeficiency) یا SCID است.

نقص ایمنی مرکب شدید. SCID همانطور که از نامش پیداست با افزایش ابتلاء به عفونت‌های باکتریایی و ویروسی به دلیل اختلال شدید ایمنی سلولی و هومورال همراه است. آنچه که بین تمام انواع SCIDها رایج است، فقدان ایمنی سلولی وابسته به سلول T به دلیل تکوین معیوب سلول‌های T است. تظاهرات در دوران کودکی بروز می‌کند و شامل عفونت‌های فرصت‌طلب مکرر و پایدار، شامل بسیاری از میکروب‌ها از جمله کاندیدا آلبیکانس، پنوموکیستیس کارینی و ساتیومگالو ویروس است. نرخ بروز تمام انواع SCID یک در ۷۵۰۰۰ است. مرگ معمولاً در اوایل نوزادی به دلیل وجود عفونت‌های متعدد رخ می‌دهد، مگر اینکه پیوند مغز استخوان انجام شود. SCID از لحاظ ژنتیکی هتروژن است و می‌تواند هم به صورت وابسته به X و هم آتوزومی مغلوب به ارث برسد. شکل وابسته به X (SCIDX1) شایع‌ترین شکل SCID در مردان است و به‌طور کلی ۵۰ تا ۶۰٪ موارد را شامل می‌شود و نشان داده شده است که به علت ایجاد جهش در زنجیره γ گیرنده سیتوکاین IL2 (*IL2RG*) ایجاد می‌شود. تقریباً حدود یک سوم تا نیمی از کودکان مبتلا به SCID الگوی توارث وابسته به X نشان نمی‌دهند و توارث‌شان آتوزومی مغلوب است (SCID1) و اشکال مختلف بر طبق اینکه فاقد سلول B نیز باشند (-T-B) و یا دارای سلول B باشند (+T-B) تقسیم‌بندی می‌شوند. وجود یا عدم وجود سلول‌های NK متغیر است.

SCID از نوع +T-B متفاوت از SCIDX1 بوده، دارای نقص گیرنده پروتئین تیروزین فسفاتاز نوع C (یا نقص CD45) است. CD45 مهارکننده JAK (Janus kinase) بوده و همچنین یک نوع SCID دارای سلول B وجود دارد که به علت

نقص در JAK3 ایجاد می‌شود و تظاهرات آن بسیار متغیر بوده و از فرم تحت بالینی (Subclinical) تا حالت تهدیدکننده حیات در اوایل خردسالی در این بیماری دیده می‌شود. انواع دیگر اشکال آتوزومی مغلوب نادر SCID شامل جهش در ژن IL7R است، IL2RG که در بالا در مورد آن بحث شد عملکردش وابسته به یک گیرنده اینترلوکین ۷ (IL7R) دارای عملکرد می‌باشد.

SCID از نوع -T-B دارای نقص در آنزیم آدنوزین دآمیناز است که تقریباً ۱۵٪ همه موارد SCID و یک سوم همه موارد SCID با توارث آتوزومی مغلوب را شامل می‌شود. طیف فنوتیپی متغیر است، در شدیدترین حالت SCID در دوران نوزادی بروز کرده و معمولاً منجر به مرگ زودرس می‌شود. ۱۰ تا ۱۵ درصد همه بیماران دارای تأخیر در شروع تظاهرات بالینی تا سن ۶ تا ۲۴ ماهگی هستند و درصد کمی از افراد مبتلا نیز دارای سن شروع دیرتر بوده و از ۴ سالگی تا بزرگسالی تشخیص داده می‌شوند. این افراد کمتر به عفونت‌های شدید مبتلا شده و سیستم ایمنی آنها به‌طور تدریجی مختل می‌شود. سیستم ایمنی تحت تأثیر محصولات پورینی در حال تجزیه قرار گرفته و این مواد به‌طور انتخابی برای سلول‌های T سمّی می‌باشند. اشکال نادر SCID فاقد سلول B شامل RAG2/RAG1 جهش یافته (آنزیم‌های فعال‌کننده نوترکیبی) می‌باشند که به‌طور طبیعی مسئول نوترکیبی‌های VDJ بوده، در تولید زنجیره‌های بالغ ایمنوگلوبولینی و گیرنده سلول‌های T نقش ایفاء می‌کنند. به‌علاوه مواردی از SCID وجود دارند که به علت جهش در ژن Artemis (ژن DNA cross- link repair protein1c = DCLRE1C) ایجاد می‌شود. در این مورد، افراد به اشعهٔ یونیزان حساس هستند. در آخر نیز reticular dysgenesis معرفی می‌گردد که یک شکل نادر و خیلی شدید SCID بوده و مشخصهٔ اصلی آن آگرانولوسیتوز مادرزادی، کمبود لنفوسیت‌ها (لنفوپنی)، هیپوپلازی لنفوئیدی و تیموسی و فقدان عملکردهای ایمنی سلولی و هومورال است. علت جهش در ژن آدنیلات کیناز ۲ (*AK2*) میتوکندریائی است.

نقص ایمنی وابسته یا ثانویه

تعدادی از ناهنجاری‌های ارثی وجود دارند که در آنها اختلالات ایمنولوژیک یکی از چندین ویژگی مرتبط است که این ویژگی‌ها جزئی از یک سندرم می‌باشند.

سندرم دی جورج ـ سدلاکوآ

در کودکان مبتلا به **سندرم دی جورج** (این سندرم ۱۰ سال قبل از دی جورج توسط سدلاکوآ توصیف شده بود) به‌طور مکرر بیماری‌های ویروسی دیده می‌شود و مشخص شده است که این افراد ایمنی سلولی غیرطبیعی دارند و در آنها تعداد لنفوسیت‌های T کاهش یافته و تولید آنتی‌بادی غیرطبیعی است. این حالت تا حدی به دلیل فقدان غدهٔ تیموس ایجاد می‌شود که منجر به نقص در ایمنی سلولی و تولید آنتی‌بادی وابسته به سلول‌های T شده است. معمولاً این نقایص نسبتاً خفیف بوده و با گذر زمان و با بلوغ سیستم ایمنی بهبود می‌یابند، اما گاهی نقص ایمنی به دلیل فقدان سلول‌های T بسیار شدید بوده و در این مورد پیوند مغز استخوان توصیه می‌شود. برای تشخیص دقیق بیماران شمارش کل سلول‌های خونی با تمایز بین CD3، CD4 و CD8 و ایمنوگلوبولین‌ها لازم است. سطح آنتی‌بادی دیفتری و کزاز می‌تواند بیانگر قدرت پاسخ ایمنی باشد. این بیماران معمولاً دارای چند ناهنجاری مادرزادی خاص از جمله بیماری قلبی و فقدان غدد پاراتیروئید هستند. فقدان این غدد در افراد مبتلا، منجر به ایجاد حالت تتانی (tetany) به دلیل سطح کم کلسیم خون و سطوح اندک هورمون پاراتیروئید می‌شود. مشخص شده که این سندرم بخشی از طیف فنوتیپ‌های ایجاد شده ناشی از ناهنجاری‌های کیسه‌های حلقی سوم و چهارم به‌دلیل زیرحذف باند 22q11.2 می‌باشد.

آتاکسی تلانژکتازی

یک ناهنجاری آتوزومی مغلوب است که در دوران خردسالی با علائمی چون آتاکسی مغزی، اتساع عروق خونی صلیبه چشم، گوش و صورت (تلانژکتازی چشمی - پوستی) و حساسیت به عفونت‌های سینوسی و تنفسی مشخص می‌شود. سطح سرمی IgA پایین بوده و در نتیجهٔ نقایص موجود در پاسخ سلولی به

آسیب DNA در افراد مبتلا، تیموس هیپوپلاستیک (ناقص) دیده می‌شود. تشخیص با نشان دادن سطح پایین یا عدم وجود IgA و IgG و ناهنجاری‌های کروموزومی موجود در کشت لنفوسیت‌های خون محیطی به دلیل وجود شکل خاصی از ناپایداری کروموزومی صورت می‌گیرد. بیماران در معرض خطر افزایش یافتهٔ ابتلا به بدخیمی‌های لوسمی یا لنفوئیدی هستند.

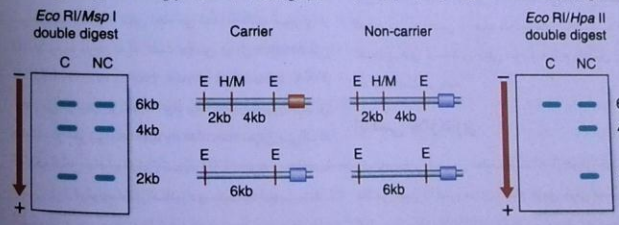
سندرم ویسکوت ـ آلدریچ

سندرم ویسکوت آلدریچ (Wiskott- Aldrich syndrome) یک بیماری وابسته به X مغلوب است که در آن پسران مبتلا دارای علائمی چون اگزما، اسهال، عفونت‌های مکرر، ترمبوسیتوپنی، سطح پایین IgM سرمی و اختلال در تعداد و عملکرد سلول‌های T هستند. نشان داده شده که جهش در ژن مسئول منجر به از دست رفتن پاسخ سلول‌های T سیتوتوکسیک و سلول‌های T یاریگر در پاسخ سلول‌های B شده و باعث اختلال در پاسخ به عفونت‌های باکتریایی می‌شود. تا قبل از ابداع روش پیوند مغز استخوان، اکثر پسران مبتلا در اثر خونریزی یا سرطان سلول‌های B تا اواسط نوجوانی فوت می‌کردند.

تعیین وضعیت حاملین در نقائص ایمنی وابسته به X

تا قبل از ابداع تعیین توالی ژن‌های مسئول ایجاد سندرم ویسکوت آلدریچ، هیپوگاماگلوبولینمی نوع بروتون و SCID وابسته به X، در دسترس‌بودن مارکرهای پیوسته به این ژن‌ها، امکان تعیین وضعیت حاملین را به‌وسیله مطالعات الگوی غیرفعال‌سازی X در لنفوسیت‌های افراد مؤنث در معرض خطر را فراهم ساخته بود. یک خویشاوند مؤنث یک مرد مبتلا به نقص ایمنی وابسته به X اسپورادیک وقتی حامل تشخیص داده می‌شود که بتوان در جمعیت لنفوسیت‌های او الگوی غیرفعال شدن X غیرتصادفی را نشان داد که بیانگر این حالت است که همه لنفوسیت‌های T خون محیطی او دارای کروموزوم غیرفعال یکسانی هستند (شکل ۹ـ۱۳).

هم افراد حامل و هم غیرحاملین (NC) هر دو برای جایگاه برش پلی‌مورفیسمی *HpaII/MspI* هتروزیگوت هستند Hpa-II و MspI هر دو دارای جایگاه شناسایی نوکلئوتیدی یکسان بوده اما MspI ، DNA دو رشته‌ای متیله و غیرمتیله را شناسایی می‌کند، در حالی که HpaII فقط DNA غیرمتیله (یعنی کروموزوم X فعال) را شناسایی می‌کند. در حاملین مؤنث جهش ژن SCID بر روی کروموزوم X ، درون جایگاه شناسایی *HpaII/MspI* وجود دارد. هضم DNA لنفوسیت حاملین و غیرحاملین مؤنث با دو آنزیم *EcoRI/MspI* تولید قطعات DNA دو، چهار و شش کیلو بازی (kb) بر روی ژل آنالیزکننده قطعات محدود شده می‌کند. ولی هضم DNA لنفوسیت حاملین مؤنث با دو آنزیم محدودالاثر *EcoRI/HpaII* باعث ایجاد قطعات ۶ کیلوبازی می‌شود. اینحالت به این دلیل است که در حاملین تنها سلول T دارای ژن طبیعی بر روی کروموزوم X غیرمتیلهٔ فعال، می‌تواند زنده بماند. بنابراین به نظر می‌رسد که غیرفعال‌سازی در یک حامل غیرتصادفی باشد، هر چند اگر بخواهیم دقیقاً صحبت کنیم این بقای جمعیت‌های سلولی است که غیرتصادفی است.



شکل ۹ـ۱۳: غیرفعال‌سازی غیرتصادفی لنفوسیت‌های T در حاملینی که SCID وابسته به X در آنها بررسی می‌شود.

گروه‌های خونی

گروه‌های خونی بازتابی از گروه‌های آنتی‌ژنیک موجود بر روی گلبول‌های قرمز می‌باشند و یکی از نخستین زمینه‌هایی است که درک زیست‌شناسی پایه، منجر به پیشرفت چشمگیری در پزشکی بالینی شد. دانش ما در مورد گروه‌های خونی ABO و رزوس (Rhesus) منجر به انتقال خون مطمئن و ممانعت از بیماری همولیزکننده رزوس نوزادان شده است.

گروه‌های خونی ABO

گروه‌های خونی ABO در اوایل قرن بیستم توسط لنداستینر (Landsteiner) کشف شدند. در برخی از موارد انتقال خون به دلیل ناسازگاری، منجر به همولیز سریع می‌شد. چهار گروه خونی ABO کشف شدند: A، B، O و AB. افراد با گروه خونی A دارای آنتی‌ژن A در سطح گلبول‌های قرمزشان بود و افراد دارای گروه خونی B دارای آنتی‌ژن B و گروه خونی AB هر دو آنتی‌ژن را دارا می باشند و افراد با گروه خونی O هیچکدام از آنتی‌ژن‌ها را ندارند. به‌طور طبیعی افراد با گروه خونی A دارای آنتی‌بادی‌های ضد B بوده و افراد دارای گروه خونی B دارای آنتی‌بادی‌های ضد A هستند، در حالی که گروه خونی O دارای هر دو نوع آنتی‌بادی ضد A و B هستند. آلل‌های B و A گروه خونی ABO در لکوس فوق به شیوهٔ هم غالب (Codominant) به ارث می‌رسند و هر دو نسبت به O غالب هستند. بنابراین در این رابطه ۶ ژنوتیپ امکان‌پذیر است (جدول ۴ـ۱۳).

افراد دارای گروه خونی AB ، آنتی‌بادی‌های ضد A و ضد B را تولید نمی‌کنند و بنابراین می‌تواند از همه افراد دارای دیگر گروه‌های خونی ABO ، خون دریافت کنند و به همین جهت به آنها **دریافت‌کننده‌های همگانی** (Universal recipients) گفته می‌شوند.

در طرف مقابل به افراد دارای گروه خونی O که هیچ کدام از آنتی‌ژن‌های A و B را بر روی سطح گلبول‌های قرمز خود بیان نمی‌کند، **اهدا کننده همگانی** (Universal donors) می‌گویند. در آنتی‌سرم‌ها می‌توان دو زیر گروه خونی A یعنی A1 و A2 را از هم متمایز کرد؛ اگر چه این حالت از نقطه نظر انتقال خون دارای اهمیت عملی اندکی است.

افراد دارای گروه خونی A، B و AB دارای آنزیم‌های با فعالیت گلیکوزیل ترانسفرازی هستند که یک گروه خونی پایه را که به نام آنتی‌ژن H معروف است، را به آنتی‌ژن‌های الیگوساکاریدی A و B تبدیل می‌کنند. آلل‌های گروه خونی A و B در هفت عدد جایگزینی بازی با هم متفاوتند که منجر به فعالیت‌های ترانسفرازی متفاوت A و B شده است، به‌طوری که آلل A با افزوده‌شدن گروه‌های N ـ استیل گالاکتوز آمین و آلل‌های B با افزوده‌شدن گروه‌های D ـ گالاکتوز مرتبط هستند. آلل O که دارای حذف جفت‌بازی منفرد است پروتئین غیرفعالی را تولید می‌کند که قادر به تغییر آنتی‌ژن H نیست.

گروه خونی رزوس

سیستم گروه خونی رزوس (Rh) شامل سه آنتی‌ژن به هم پیوسته Cc، Dd و Ee است. D بسیار آنتی‌ژنیک بوده و برای اهداف عملی، اشخاص Rh مثبت (دارای آنتی‌ژن D) و یا Rh منفی (فاقد آنتی‌ژن D) هستند.

جدول ۴ـ۱۳ فنوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌های گروه خونی ABO

گلبول‌های قرمز خون		واکنش با آنتی‌سرم‌ها		
فنوتیپ	ژنوتیپ	آنتی‌بادی‌ها	آنتی A	آنتی B
O	OO	آنتی A و آنتی B	–	–
A	AO , AA	آنتی B	+	–
B	BO , BB	آنتی A	–	+
AB	AB	–	+	+

بیماری‌های همولیتیک رزوس نوزادان

درصدی از زنان Rh منفی در معرض خطر داشتن فرزندی می‌باشند که یا در رحم می‌میرد و یا به دلیل همولیز، با آنمی شدید به دنیا خواهد آمد مگر آنکه در رحم به او خون انتقال داده شود. این حالت وقتی پیش می‌آید، که خون افراد Rh مثبت به اشخاص Rh منفی انتقال داده شود. در این صورت اکثر افراد دریافت‌کننده، آنتی‌بادی ضد Rh خواهند ساخت. چنین حساسیتی وقتی ایجاد می‌شود که فردی در معرض مقادیر اندکی از خون قرار گیرد و زمانی که شخص حساس شد، انتقال خون بیشتر باعث تولید مقادیر فراوانی آنتی‌بادی خواهد شد.

در مورد مادران Rh منفی که حامل جنین Rh مثبت هستند، گلبول‌های قرمز جنین با ورود به گردش خون مادر می‌توانند باعث ایجاد آنتی‌بادی‌های Rh مادری شوند. در حاملگی‌های بعدی این آنتی‌بادی‌ها با عبور از جفت، از مادر به جنین منتقل شده و باعث همولیز و آنمی شدید می‌شوند. شدیدترین حالت به **اریتروبلاستوز جنینی** (erythroblastosis fetalis) یا **بیماری همولیتیک نوزادان** (hemolytic disease of newborn) مشهور است. پس از اینکه زنی حساس شد، احتمال خطر بیشتری وجود دارد که در حاملگی بعدی اگر فرزند Rh مثبت باشد، خیلی شدیدتر مبتلا شود.

برای جلوگیری از حساس شدن زنان Rh منفی، در انتقال خون باید به آنها خون سازگار با Rh انتقال داده شود. علاوه بر این پس از زایمان برای جلوگیری از ایجاد حساسیت و ناسازگاری Rh در زنان، می‌توان به آنها آنتی‌بادی Rh (anti-D) تزریق کرد. با این کار سلول‌های جنینی موجود در گردش خون مادر قبل از حساس شدن مادر تخریب می‌شوند.

مرسوم است که همه زنان Rh منفی را در طول حاملگی برای ایجاد آنتی‌بادی‌های Rh غربال کنند. علی‌رغم همه این اقدامات بخش کوچکی از زنان حساس می‌شوند. اگر آنتی‌بادی‌های Rh رؤیت شدند، تست‌هایی انجام می‌شوند که از طریق آنها می‌توان مشخص کرد که آیا جنین مبتلا شده است یا خیر. اگر جنین باشد یک تعادل ظریفی بین گزینه زایمان زودرس که دارای خطراتی همچون ایجاد نوزاد زودرس و گزینهٔ انتقال تعویضی خون (exchange transfusion) و درمان جنین در رحم به‌وسیله انتقال خون وجود دارد.

اساس ملکولی گروه خونی Rh

دو نوع پلی‌پپتید Rh در غشای گلبول‌های قرمز وجود دارد یکی معادل آنتی‌ژن D و دیگر معادل آنتی‌ژن‌های سری E و C می‌باشد. امروز می‌دانیم که دو ژن کدکننده در سیستم Rh وجود دارد: یکی برای D و d و دیگری برای هر دو آنتی‌ژن C و c و E و e. لکوس D در اکثر افراد وجود دارد و آنتی‌ژن D اصلی را در افراد Rh مثبت، کد می‌کند. افراد Rh منفی دارای حذف در ژن D هستند و بنابراین هیچ آنتی‌بادی‌ای علیه d ساخته نمی‌شود!

آنالیز cDNA رتیکولوسیت‌ها در افراد Rh منفی که در مورد dCe، dcE و dce هموزیگوت بودند، امکان شناسایی توالی‌های DNA ژنومی مسئول واریانت‌های آنتی‌ژنی مختلف در لکوس دوم را فراهم کرد و آشکار کرد که آنها در اثر پیرایش متناوب (Alternative splicing) رونوشت‌های mRNA ایجاد می‌شوند. پلی‌پپتید Ee یک محصول کامل از ژن CcEe است که شباهت زیادی از لحاظ توالی به پلی‌پپتید D دارد، آنتی‌ژن E و e در یک جهش نقطه‌ای در اگزون ۵ تفاوت دارند. در مقابل پلی‌پپتیدهای Cc محصولات رونوشت کوچکتر همان ژن بوده و از طریق پیرایش متناوب ایجاد می‌شوند. تفاوت C و c در ۴ جایگزینی اسیدآمینه‌ای در اگزون‌های ۱ و ۲ است.

گروه‌های خونی دیگر

حداقل ۱۲ سیستم گروه خونی رایج دیگر و دارای اهمیت بالینی در انسان وجود دارند، که شامل Duffy ، Lewis ، MN و S هستند. این گروه‌های خونی معمولاً در تعیین سازگاری (Cross matching) خون در مورد شخصی که به دلیل انتقال مکرر خون، آنتی‌بادی‌هایی را بر ضد یکی از این آنتی‌ژن‌های گروه خونی ایجاد کرده است، مورد توجه قرار می‌گیرند. تا قبل از ابداع انگشت‌نگاری DNA ، این گروه‌های خونی در مطالعات پیوستگی و آزمایش ابوّت (تعیین رابطه پدر و فرزندی) مورد استفاده قرار می‌گرفتند.

مطالعات بیشتر

Bell JI, Todd JA, McDevitt HO 1989 The molecular basis of HLA-disease association. Adv Hum Genet 18:1-41

Good review of the HLA-disease associations.

Dreyer WJ, Bennet JC 1965 The molecular basis of antibody formation: a paradox. Proc Natl Acad Sci 54:864-869

The proposal of the generation of antibody diversity.

Hunkapiller T, Hood L 1989 Diversity of the immunoglobulin gene superfamily. Adv Immunol 44:1-63

Good review of the structure of the immunoglobulin gene superfamily.

Lachmann PJ, Peters K, Rosen FS, Walport MJ 1993 Clinical aspects of immunology, 5 edn. Oxford: Blackwell

A comprehensive three-volume multiauthor text covering both basic and clinical immunology.

Murphy KM, Travers P, Walport M 2007 Janeway's immunobiology, 7 edn. Oxford: Garland Science

Good, well-illustrated, textbook of the biology of immunology.

Roitt I 1997 Essential immunology, 9th edn. Oxford: Blackwell

Excellent basic immunology textbook.

نکات مهم

۱ـ پاسخ ایمنی را می‌توان به دو گروه دسته‌بندی کرد: ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی اختصاصی (یا ایمنی تطبیقی). هر یک از این گروه‌ها را می‌توان به زیرگروه‌های ایمنی همورال و ایمنی وابسته به سلول تقسیم‌بندی کرد.

۲ـ ایمنی ذاتی همورال شامل پروتئین‌های فاز حاد است که عمل آنها در جهت کاهش آسیب بافتی با محدودکردن گسترش میکروب‌های عفونی است. این کار از طریق مسیر آلترناتیو فعال‌سازی کمپلمان صورت می‌گیرد که منجر به پاسخ التهابی موضعی می‌شود و باعث جذب فاگوسیت‌ها و ایسونیزه‌کردن میکروارگانیسم‌ها می‌شود. کمپلمان شامل یک سری از پروتئین‌های غیرفعال در خون است که به‌صورت آبشاری، به نوبت فعال شده و همچنین می‌توانند با اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن از طریق مسیر کلاسیک فعال شوند.

۳ـ ایمنی ذاتی سلولی شامل فاگوسیتوز میکروب‌ها به‌وسیله ماکروفاژها و تخریب درون سلولی آنهاست.

۴ـ ایمنی اکتسابی اختصاصی همورال شامل تولید آنتی‌بادی‌ها به‌وسیله سلول‌های B بالغ یا پلاسماسل‌ها در پاسخ به آنتی‌ژن می‌باشد. آنتی‌بادی‌های ملکول‌های Y شکل هستند که از دو زنجیره سنگین (H) یکسان و دو زنجیره سبک (L) یکسان تشکیل شده‌اند. ملکول آنتی‌بادی دارای دو بخش متفاوت از لحاظ عملکرد هستند: دو جایگاه یکسان اتصال به آنتی‌ژن موسوم به (Fab) و یک جایگاه منفرد اتصال به کمپلمان (Fc). پنج کلاس آنتی‌بادی وجود دارد: ایمنوگلوبین‌های (Ig) نوع IgA ، IgD ، IgE ، IgG و IgM که هر یک دارای یک زنجیره سنگین اختصاصی هستند. زنجیرهٔ L در هر یک از کلاس‌های آنتی‌بادی می‌تواند به هر یک از زنجیره‌های کاپا (κ) و لامبدا (λ) متصل شود.

۵ـ هر یک از زنجیره‌های L و H دارای ناحیه متغیر (V) به طول ۱۱۰ اسیدآمینه در انتهای آمین خود هستند. ناحیهٔ انتهای C حاوی یک ناحیهٔ ثابت (C) به طول حدود ۱۱۰ اسیدآمینه در زنجیره‌های κ و λ و طولی حدود سه برابر زنجیرهٔ H است. اکثر تنوع‌های آمینواسیدی در هر دو زنجیرهٔ H و L در درون چند ناحیهٔ به شدت متغیر کوچک رخ می‌دهد که اعتقاد بر این است که این نواحی محل اتصال آنتی‌ژن هستند. زنجیره‌های Ig حاصل ترکیب گروه‌های مختلف قطعات DNA می‌باشند. این قطعات شامل یک قطعه از بین تعداد متغیری از قطعات کدکنندهٔ DNA برای نواحی C (Constant) ، V (Variable) و J (Joining) بین

نواحی V و C زنجیره سبک λ و κ و انواع زنجیره‌های سنگین می‌باشند. همچنین زنجیره H حاوی ناحیه D (diversity) است که بین V و J قرار گرفته است. تعداد آنتی‌بادی‌های محتمل که می‌تواند به‌وسیله ترکیب متنوعی از قطعات DNA تولید شود توجیه‌کنندهٔ تنوع آنتی‌بادی مشاهده در انسان است.

۶ـ ایمنی اکتسابی اختصاصی سلولی عمدتاً شامل سلول‌های T است که از طریق گیرنده آنتی‌ژنی در سطح سلول T به همراه ملکول‌های کمپلکس اصلی سازگاری بافتی (MHC) موجود بر سطح سلول‌های آلوده به میکروب و یا به خدمت گرفتن سلول‌های T یاریگر و سلول‌های T سیتوتوکسیک علیه عفونت‌های درون‌سلولی مبارزه می‌کند.

۷ـ سیستم آنتی‌ژن لکوسیت انسانی HLA یا MHC حاوی یک سری لکوس‌های بهم پیوسته بر روی کروموزوم ۶ هستند. آلل‌های متفاوت فراوانی که در هر لکوس وجود دارند به معنای این است که تعداد بسیار زیادی از ترکیبات مختلف می‌توانند ایجاد شوند. لکوس HLA به‌صورت یک بلوک موسوم به هاپلوتایپ به ارث می‌رسد. هر چه آنتی‌ژن‌های HLA بین دهنده و گیرنده پیوند عضو به یکدیگر شبیه‌تر باشند احتمال بقای هموگرافت به مدت طولانی‌تر بیشتر است. وجود آنتی‌ژن‌های HLA خاص با ریسک نسبی افزایش یافته برای ابتلاء به بیماری‌های خاصی همراهی دارد.

۸ـ درک گروه‌های خونی ABO و رزوس منجر به انتقال خون مطمئن و ممانعت از ابتلاء به بیماری همولیتیک رزوس نوزادان شده است.

فصل ۱۴

ژنتیک سرطان

«همهٔ سرطان‌ها ژنتیکی‌اند، اما برخی سرطان‌ها بیشتر از بقیه ژنتیکی‌اند».

نقل شده از مزرعهٔ حیوانات نوشتهٔ جورج اورول

در سال‌های اخیر ژنتیک مولکولی و زیست‌شناسی سلولی درک ما را در مورد سرطان متحول ساخته‌اند، تمام سرطان‌ها بیماری ژنتیکی سلول‌های سوماتیکی می‌باشند زیرا ناشی از تقسیم سلولی غیرطبیعی یا فقدان مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده طبیعی می‌باشند. اما بخش کمی از موارد سرطان توسط موتاسیون‌های **رده زایشی** توارثی، استعداد ابتلا را افزایش داده و همانند صفات مندلی رفتار می‌کنند. با این حال این موضوع با درک سنتی ما در مورد اینکه در اتیولوژی (سبب‌شناسی) بسیاری از سرطان‌ها، فاکتورهای محیطی نقش بیشتری از توارث دارند، در تناقض نمی‌باشد. نقش فاکتورهای محیطی قطعاً در مورد «سرطان‌های صنعتی» مشخص شده است که ناشی از تماس بلندمدت با مواد شیمیایی کارسینوژن می‌باشند. مثال‌هایی از آن شامل سرطان پوست در کارگران آسفالت‌کار، سرطان مثانه در کارگرانی که با رنگ‌های آنیلین در تماس‌اند، آنژیوسارکومای کبد در کارگران تولیدکننده پلی‌وینیل کلراید و سرطان ریه (مزوتلیوم) در کارگران در تماس با آزبستوز می‌باشد. حتی افرادی که در معرض این مواد قرار گرفته و آنقدر خوش‌شانس بوده‌اند که مبتلا نشوند، ممکن است برای فعالیت کارسینوژن دارای استعداد ژنتیکی باشند. ارتباط بین مصرف سیگار و سرطان ریه (همانند سرطان‌های دیگر) نزدیک به پنجاه سال است که شناخته شده، اما همهٔ سیگاری‌ها بدخیمی‌های مرتبط با تنباکو را نشان نمی‌دهند. مطالعات نشان داده‌اند که سیگاری‌های دارای کروموزوم‌های با تلومرهای کوتاه نسبت به غیرسیگاری‌های با تلومرهای کوتاه یا سیگاری‌های با تلومرهای بلند شانس بیشتری برای ابتلا به سرطان‌های مرتبط با تنباکو دارند. همچنین واریانت‌های ژنی مستعدکننده دیگر در غیرسیگاری‌های مبتلا به سرطان ریه یافت شده‌اند.

آگاهی از اینکه تعدادی از سندرم‌های مستعدکننده به سرطان‌های نادر، همانند بخش کم اما قابل توجهی از سرطان‌های شایع دارای یک اساس توارثی‌اند، در ۲۵ سال گذشته باعث شناخت بیشتر اساس ژنتیکی و بیولوژی سلولی سرطان در انسان شده است. به‌عنوان یک اصل کلی امروزه معلوم شده است که سرطان‌ها در نتیجهٔ تجمع جهش‌های توارثی و سوماتیکی در ژن‌های سرکوبگر تومور و پروتو آنکوژن‌ها ایجاد می‌شوند. دسته سوم ژن‌ها ـ ژن‌های تعمیر جفت باز ناجور DNA ـ نیز حائز اهمیت‌اند. زیرا به نظر می‌رسد غیرفعال‌سازی آنها در ایجاد جهش در سایر ژن‌ها نقش داشته باشد که مستقیماً بقا و تکثیر سلول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. موتاسیون‌های رده زایشی در حداقل ۷۰ ژن و جهش‌های سوماتیکی در حداقل ۳۵۰ ژن شناخته شده‌اند که به کل موارد مربوط به سرطان‌های انسانی نسبت داده می‌شوند.

تمایز بین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در سرطان

در بسیاری از سرطان‌ها، افتراق بین سبب‌شناسی عوامل محیطی و ژنتیکی همیشه واضح نمی‌باشد. در اکثر سرطان‌های انسانی روش توارث قطعی یا یک عامل محیطی معین وجود ندارد. در بعضی موارد ویژهٔ سرطان‌های شایع مثل سرطان پستان و روده فاکتورهای ژنتیکی نقش مهمی دارند، اما منحصراً عوامل ژنتیکی در سبب‌شناسی بیماری مسئول نمی‌باشند. شواهدی در جهت تمایز بین عوامل ژنتیکی و محیطی در ترکیبی از مطالعات از جمله مطالعات اپیدمیولوژیکی، مطالعات خانوادگی و دوقلوها، همراهی بیماری‌ها، فاکتورهای بیوشیمیایی و مطالعهٔ حیوانات به‌دست آمده‌اند.

مطالعات اپیدمیولوژیکی (همه‌گیرشناسی)

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان می‌باشد. سوابق قاعدگی و باروری، فاکتورهای خطر شناخته شده‌ای هستند. زنانی که بچه‌دار شده‌اند، نسبت به زنانی که فرزندی ندارند، خطر کمتری برای بروز سرطان پستان دارند. به‌علاوه هرچه سن