

پایان نامه



مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده‌ی علوم

گروه زیست‌شناسی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه‌ی کارشناسی ارشد در رشته‌ی ژنتیک

عنوان:

بررسی عملکردی ژن *RNFT2* در ایجاد ناتوانی ذهنی اتوزومال مغلوب

استاد راهنما:

دکتر محمد حدادی

دکتر حسین نجم آبادی

تهیه و تدوین:

رضا عطایی جلیسه

بهار ۱۳۹۷

"تقدیم به اساتید بزرگوارم پروفیسور حسین نجم آبادی و دکتر محمد حدادی."

رضا عطایی جلیسه خرداد ۱۳۹۷

چکیده

عقب افتادگی ذهنی (ID) یک اختلال رشد عصبی است که باعث مشکلات اقتصادی-اجتماعی مهمی می‌شود. ظهور تکنیک‌های توالی‌یابی‌های پیشرفته باعث افزایش شناسایی ژن‌های دخیل در بیماری‌های پیچیده ژنی شده است. یک جهش نقطه‌ای در ژن *RNFT2* با استفاده از تکنیک توالی‌یابی نسل دوم (NGS) در دو خانواده ایرانی با بیماری عقب افتادگی ذهنی اتوزومال مغلوب (ARID) تشخیص داده شده است. *RNFT2* یک پروتئین رینک‌فینگر گذرنده از غشا است که دخیل در یوبیکوئینتیه کردن و تخریب پروتئین‌ها است. این پروتئین دارای فعالیت حمل‌الکترون‌ها و اتصال به یون‌ها است. در این مطالعه توسط نرم افزار شبیه ساز پروتئینی نشان داده شده است که این جهش نقطه‌ای باعث تغییر در ساختار پروتئین و کاهش احتمال اتصال آن به یون می‌شود. بعلاوه ایجاد کاهش بیان ژن با تکنیک RNAi در ژن *CGI3605* که اورتولوگ ژن *RNFT2* در مگس سرکه می‌باشد منجر به تاثیرات رفتاری منفی در ایجاد حافظه و یادگیری در این مدل حیوانی شده است. در نتیجه این یافته می‌تواند احتمال درگیر بودن این ژن در مسیرهای رشد و نمو مغز، یادگیری و شکل‌گیری حافظه را پشتیبانی کند و منجر به ایجاد اختلالات ذهنی شود.

کلمات کلیدی: ناتوانی ذهنی اتوزومی مغلوب، *RNFT2*، *دروزوفیلا ملانوگاستر*، سلول‌های کنیونی

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه.....	۲
۱-۲- ناتوانی جسمی.....	۸
۱-۲-۱- ناتوانی ذهنی اتوزومال وابسته به ایکس.....	۱۰
۱-۲-۲- ناتوانی ذهنی اتوزومال غالب.....	۱۱
۱-۲-۳- ناتوانی ذهنی اتوزومال مغلوب.....	۱۱

فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده

۲-۱- ناتوانی ذهنی اتوزومال مغلوب.....	۱۶
۲-۲- ژن <i>RNFT2</i>	۱۹
۲-۳- بیان ژن <i>RNFT2</i> در بافت‌های مختلف.....	۲۰
۲-۴- پروتئین <i>RNFT2</i>	۲۱
۲-۵- عملکرد پروتئین <i>RNFT2</i>	۲۳
۲-۶- مگس سرکه (دروزوفیلا ملانوگاستر).....	۲۳
۲-۶-۱- سیکل زندگی مگس سرکه.....	۲۴
۲-۶-۲- ژنوم مگس سرکه.....	۲۶
۲-۶-۳- اهمیت مگس سرکه به عنوان حیوان مدل.....	۲۷
۲-۶-۴- اورتوگ‌های <i>RNFT2</i> در مگس سرکه.....	۲۷
۲-۶-۵- ژن <i>CG13605</i> مگس سرکه، اورتولوگ <i>RNFT2</i>	۲۸
۲-۶-۶- بیان <i>CG13605</i> در بافت‌های مختلف مگس سرکه.....	۲۹
۲-۷- سیستم Gal4-UAS.....	۲۹

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- دستگاه‌های مورد استفاده.....	۳۲
۳-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده.....	۳۳

۳-۳- نوع مطالعه.....	۳۴
۳-۴- جوامع مورد مطالعه.....	۳۴
۳-۵- روش نمونه گیری.....	۳۴
۳-۶- روش‌های جمع‌آوری داده‌ها.....	۳۴
۳-۷- متغیر مستقل	۳۵
۳-۸- متغیر وابسته.....	۳۵
۳-۹- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها	۳۵
۳-۱۰- ملاحظات اخلاقی.....	۳۵
۳-۱۱- روش انجام کار.....	۳۵
۳-۱۱-۱- استخراج DNA از خون محیطی.....	۳۵
۳-۱۱-۲- وسایل و دستگاه‌های مورد نیاز.....	۳۶
۳-۱۱-۳- روش کار	۳۶
۳-۱۱-۴- تعیین غلظت DNA استخراج شده	۳۷
۳-۱۲- انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز PCR.....	۳۸
۳-۱۳- طراحی پرایمر	۴۰
۳-۱۴- الکتروفورز ژل آگارز	۴۲
۳-۱۴-۱- مواد لازم جهت تهیه ژل آگارز	۴۳
۳-۱۴-۲- روش تهیه ژل آگارز.....	۴۳
۳-۱۴-۳- بارگذاری ژل آگارز.....	۴۳
۳-۱۴-۴- روش الکتروفورز ژل آگارز.....	۴۴
۳-۱۴-۵- تعیین توالی قطعات به روش کاپیلاری الکتروفورز بر اساس ختم زنجیره.....	۴۴
۳-۱۵- شرایط نگهداری و تغذیه مگس سرکه.....	۴۵
۳-۱۶- نحوه جداسازی Single Male و Virgin Female	۴۷

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
۳-۱۷- لاین های مگس سرکه.....		۴۹
۳-۱۷-۱- آمیزش مگس های سرکه جهت بررسی کارایی سیستم UAS-Gal4 در ناک داون ژن <i>RNFT2</i>		۴۹
۳-۱۸- استخراج RNA از بافت مگس سرکه.....		۵۰
۳-۱۸-۱- بررسی کمی RNA استخراج شده.....		۵۲
۳-۱۹- ساخت DNA مکمل.....		۵۳
۳-۲۰- طراحی پرایمرها.....		۵۳
۳-۲۱- Real-time PCR.....		۵۴
۳-۲۲- آنالیز کمی.....		۵۷
۳-۲۲-۱- مقایسه مطلق.....		۵۷
۳-۲۲-۲- مقایسه نسبی.....		۵۷
۳-۲۳- واکنش Real time PCR.....		۵۸
۳-۲۴- تجزیه و تحلیل داده ها.....		۵۹
۳-۲۵- تست رفتاری.....		۶۰
۳-۲۶- روش setup اولیه.....		۶۲
۳-۲۷- روش انجام آزمایش.....		۶۳
۳-۲۸- تجزیه تحلیل داده ها.....		۶۶
۳-۲۹- آمیزش مگس سرکه جهت بررسی تعداد سلول های کنیونی.....		۶۷
۲-۳۰- تشریح مغز مگس سرکه.....		۶۷
۲-۳۱- رنگ آمیزی مغز و سلول های کنیونی در مگس سرکه.....		۶۸
۲-۳۲- تصویربرداری میکروسکوپی.....		۶۹

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- بررسی شجره خانواده ها و Co-segrigation	۷۱
۴-۲- بررسی <i>In silico</i> جهش در سطح پروتئین	۷۳
۴-۳- بررسی بیان ژن اورتولوگ <i>RNFT2</i> بعد از ایجاد ناک داون در مگس سرکه	۷۶
۴-۴- بررسی رفتاری مگس سرکه	۷۷
۴-۵- بحث	۸۱
۴-۶- نتیجه گیری	۸۲
پیشنهادات	۸۴

فهرست جداول

جدول ۱-۱ طبقه بندی شدت ناتوانی ذهنی براساس میزان بهره هوشی	۷
جدول ۲-۱ ژن های جدید در ارتباط با ناتوانی ذهنی اتوزمال مغلوب غیر سندرمی	۱۸
جدول ۲-۲ ژن های جدید در ارتباط با ناتوانی ذهنی اتوزمال مغلوب سندرمی	۱۹
جدول ۲-۳ رونوشت های مختلف ژن <i>RNFT2</i>	۲۰
جدول شماره ۲-۴ جدول دومین های پروتئین <i>RNFT2</i>	۲۲
جدول ۲-۵ اورتولوگ های ژن انسانی <i>RNFT2</i> در دروزوفیلا	۲۸
جدول ۳-۱ دستگاه های مورد استفاده	۳۲
جدول ۳-۲ مواد شیمیایی مورد استفاده	۳۳
جدول ۳-۳ مقادیر و مواد لازم جهت انجام واکنش PCR در حجم ۳۰ میکرولیتر	۳۹
جدول ۳-۴ مواد لازم جهت ساخت مستر میکس آزمایشگاهی برای واکنش PCR	۴۰
جدول ۳-۵ توالی پرایمر جهت بررسی Co-segregation جهش در ژن <i>RNFT2</i>	۴۱
جدول ۳-۶ برنامه PCR جهت تکثیر قطعه ای از ژن <i>RNFT2</i>	۴۱
جدول ۳-۷ درصد مناسب ژل آگارز جهت الکتروفورز قطعات با طول های متفاوت	۴۲

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
جدول ۸-۳. مواد مقادیر لازم جهت تهیه محیط کشت مگس سرکه.....	۴۶	۴۶
جدول ۹-۳. لاین‌های مگس سرکه مورد استفاده.....	۴۹	۴۹
جدول ۱۰-۳. پرایمرهای مورد استفاده برای بررسی بیان ژن <i>CG13605</i> در مگس سرکه.....	۵۴	۵۴
جدول ۱۱-۳. مواد و مقادیر مورد نیاز جهت انجام واکنش Real Time PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر.....	۵۹	۵۹
جدول ۱۲-۳. برنامه PCR مربوط به واکنش Real Time PCR.....	۵۹	۵۹
جدول ۱۳-۳. فواصل در تست رفتاری olfactory.....	۶۶	۶۶

فهرست اشکال

شکل ۱-۱. نمودار پراکندگی طبیعی هوش بر اساس بهره هوشی.....	۶	۶
شکل ۱-۲. موقعیت کروموزومی ژن <i>RNFT2</i>	۲۰	۲۰
شکل ۲-۲. بیان ژن <i>RNFT2</i> در بافت‌های مختلف بدن.....	۲۱	۲۱
شکل شماره ۲-۳. نمای شماتیک سه بعدی پروتئین <i>RNFT2</i>	۲۲	۲۲
شکل ۲-۴. مگس سرکه.....	۲۴	۲۴
شکل ۲-۵. چرخه زندگی مگس سرکه.....	۲۵	۲۵
شکل ۲-۶. دیاگرام کروموزوم‌های مگس سرکه.....	۲۶	۲۶
شکل ۲-۷. موقعیت ژن <i>CG13605</i> در ژنوم مگس سرکه.....	۲۸	۲۸
شکل ۲-۸. بیان <i>CG13605</i> در بافت‌های مختلف مگس سرکه.....	۲۹	۲۹
شکل ۲-۹. سیستم Gal4-UAS در مگس سرکه.....	۳۰	۳۰
شکل ۳-۱. محیط کشت مگس سرکه.....	۴۷	۴۷
شکل ۳-۲. جنس نر ماده.....	۴۸	۴۸
شکل ۳-۳. آمیزش مگس سرکه.....	۵۰	۵۰
شکل ۳-۴. مراحل مختلف واکنش Real Time PCR.....	۵۶	۵۶
شکل ۳-۵. یونیت تست رفتاری با تمامی ملحقات و اتصالات.....	۶۱	۶۱
شکل ۳-۶. پد CO_2 برای بیهوشی مگس سرکه.....	۶۲	۶۲

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
شکل ۷-۳. کراس های مختلف برای انجام تست رفتاری	۶۵	۶۵
شکل ۱-۴. شجره خانواده اول مورد مطالعه	۷۱	۷۱
شکل ۲-۴. شجره خانواده دوم مورد مطالعه	۷۲	۷۲
شکل ۳-۴. نتایج sanger sequencing در بررسی Co-segrigation خانواده ۱۵۷	۷۲	۷۲
شکل ۴-۴. نتایج sanger sequencing در بررسی Co-segrigation خانواده ۲۰۹	۷۳	۷۳
شکل ۵-۴. پروتئین نرمال <i>RNFT2</i>	۷۴	۷۴
شکل ۶-۴. پروتئین تغییر یافته <i>RNFT2</i>	۷۵	۷۵
شکل ۷-۴. نتیجه R-T PCR ناک داون	۷۶	۷۶
شکل ۸-۴. نتیجه Real-time PCR ناک داون	۷۷	۷۷
شکل ۹-۴. نتایج تست حرکتی	۷۸	۷۸
شکل ۹-۴. نتایج تست یادگیری و حافظه	۷۹	۷۹
شکل ۱۰-۴. نتایج confocal microscopy Kenyon cells	۸۰	۸۰

فصل اول

مقدمه و کلیات



۱-۱- مقدمه

ناتوانی ذهنی^۱ براساس تعریف انجمن ناتوانی‌های تکاملی و عقلانی آمریکا^۲ در سال ۲۰۱۱، به اختلال در تکامل سیستم عصبی اطلاق می‌گردد که به صورت اختلال در یادگیری و مهارت‌های تطبیقی در تمام طول عمر فرد بروز می‌کند. این عارضه قبل از بلوغ و تا سن هجده سالگی بروز می‌کند. ضریب هوشی^۳ مبتلایان به ناتوانی ذهنی زیر هفتاد است، این بیماری پیش از این عقب ماندگی ذهنی^۴ نامیده می‌شد. شیوع این اختلال در جمعیت عمومی ۱-۳٪ گزارش شده است (Kaufman et al., 2007, Schallock et al., 2010, Schallock and et al., 2010). علل بروز ناتوانی ذهنی به دو دسته عوامل ژنتیکی و عوامل غیرژنتیکی تقسیم‌بندی می‌شود. از میان عوامل غیر ژنتیکی می‌توان به مواردی مثل عوامل عفونت‌زای دوران بارداری، آسیب‌های دوران کودکی و فاکتورهای محیطی مثل سوء تغذیه اشاره کرد (Luckasson et al., 2002). بهبود سطح مراقبت‌های بهداشتی، سبب کم‌رنگ شدن نقش عوامل غیر ژنتیکی شده و از طرفی با پیشرفت‌های چشمگیر در زمینه تحقیقات ژنتیک در سال‌های اخیر مشخص شده است که قسمت اعظم ناتوانی‌های ذهنی در حدود ۷۰٪ ناشی از عوامل ژنتیکی می‌باشد. بیش از هفتصد بیماری ژنتیکی در همراهی با ناتوانی ذهنی شناسایی شده است و ۵۰٪ از ژن‌های بیان شده در بدن انسان، در مغز بیان می‌شوند (Frints et al., 2002). ناتوانی ذهنی اثرات جبران‌ناپذیری از لحاظ اقتصادی، اجتماعی و عاطفی بر جامعه و خانواده‌ها تحمیل می‌کند و یکی از شایع‌ترین علل مراجعه به مراکز مشاوره ژنتیک است. در طبقه‌بندی بین‌المللی بیماری‌ها^۵، به عنوان پر هزینه‌ترین بیماری طبقه‌بندی می‌گردد. با وجود سهم بالای علل ژنتیکی در بروز ناتوانی‌های

¹ Intellectual Disability

² American Association of Intellectual and Developmental Disabilities (AAIDD)

³ Intelligence Quotient

⁴ Mental Retardation

⁵ International classification of diseases



ذهنی، شناسایی ژن‌های موثر در بروز این بیماری می‌تواند اثرات قابل توجهی در پیشگیری از ابتلا به این بیماری ایفا کند. ناتوانی ذهنی اتوزومال مغلوب^۱، شایع‌ترین و هتروژن^۲‌ترین الگوی توارثی در فرم ژنتیکی اختلالات ناتوانی ذهنی می‌باشد. متأسفانه در کشور ما با توجه به شیوع بالای ازدواج فامیلی، ۴۰ درصد، مجال بیشتری برای بروز این قبیل بیماری‌ها وجود دارد (Najmabadi *et al.*, 2007) و علاوه بر بار عاطفی، بار اقتصادی سنگینی نیز بر خانواده‌ها و جامعه تحمیل می‌شود. پیشرفت‌های اخیر در زمینه تکنیک‌های مولکولی از جمله توالی‌یابی نسل جدید^۳ و بدنبال آن توالی‌یابی کل‌اگزون‌ها^۴ سبب افزایش سرعت شناسایی ژن‌های دخیل در این فرم از بیماری شده و روز به روز بر تعداد ژن‌های جدید افزوده می‌شود. از این رو امروزه باتوجه به افزایش تعداد ژن‌های دخیل در ناتوانی ذهنی اتوزومال مغلوب، تحقیقات گسترده‌ای در جهت بررسی عملکرد این ژن‌ها و تأثیرات جهش‌های شناسایی شده بر روی مسیرهای سلولی و عملکرد مغز انجام می‌گردد. امروزه حیوانات مدل^۵ کاربرد فراوانی در شناسایی ژن‌های موثر و مکانیسم‌های ملکولی در ایجاد بیماری و مسیرهای درمانی دارند (2011 Scorza *et al.*). از سیستم‌های حیوانی در بیماری‌های هتروژن همانند ناتوانی‌های ذهنی به وفور استفاده می‌گردد.

دروزوفیلا ملانوگاستر^۶ یا مگس سرکه یکی از مدل‌های پرکاربرد در بیماری‌های ژنتیکی به ویژه ناتوانی ذهنی است. بررسی مناطقی از مغز دروزوفیلا که در ارتباط با یادگیری و حافظه هستند در شناسایی مکانیسم ملکولی و اثرات ساختاری ژن‌ها حائز اهمیت می‌باشد (Oortveld MA *et al.*, 2013). شناسایی مسیرهای بیولوژیکی پروتئین‌های تولید شده توسط این ژن‌ها تا قسمتی از معمای پیچیده چگونگی شکل‌گیری ساختمان مغز، مسیرهای عملکردی سلول‌های عصبی،

¹ Autosomal Recessive Intellectual Disability (ARID)

² Heterogeneous

³ Next-generation sequencing (NGS)

⁴ whole exome sequencing (WES)

⁵ Animal Models

⁶ *Drosophila melanogaster*



تنظیم ادراک و شناخت و یادگیری را روشن خواهد ساخت که این امر نه تنها منجر به افزایش دانش کنونی در این حیطه خواهد شد بلکه با روشن شدن قطعات این پازل می‌توان قدمی در جهت ارائه خدمات دقیق‌تر مشاوره ژنتیک قبل از ازدواج و پیش از بارداری و تشخیص قبل از تولد برای خانواده‌های درگیر، برداشت. در مطالعات اخیر انجام شده در مرکز تحقیقات ژنتیک دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، با بکارگیری روش نقشه یابی بر اساس هموزیگوسیتی^۱ به همراه استفاده از تکنیک توالی‌یابی نسل جدید ژن‌های متعددی در ارتباط با ناتوانی ذهنی اتوزومال مغلوب شناسایی شده است (Najmabadi *et al.*, 2007). در این راستا هدف از این پژوهش، بررسی اثر ملکولی جهش *RNFT2* و عملکرد اورتولوگ این ژن در دروزوفیلاملانوگاستر در ارتباط با ناتوانی ذهنی است.

ناتوانی ذهنی یکی از مهم‌ترین مشکلات مطرح در حوزه سلامت و مراقبت‌های بهداشتی کشورهای مختلف است. دست‌اندرکاران این حوزه در گذشته، ناتوایی‌های ذهنی را به جای طبقه‌بندی در حوزه سلامت و بهداشت، در ردیف مقوله‌های اجتماعی و آموزشی طبقه‌بندی می‌کردند، بنابراین توجه کمی در حوزه سلامت به این اختلالات شایع شده است. ناتوانی ذهنی نه تنها برای افراد مبتلا مشکلاتی ایجاد می‌کند بلکه هزینه‌های هنگفت مالی و عاطفی بر جامعه و خانواده فرد تحمیل می‌کند. ناتوانی ذهنی به تنهایی ۱۰٪ هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی را در بیشتر جوامع اروپایی به خود اختصاص می‌دهد (Katz *et al.*, 2008). با وجود هزینه‌های هنگفت مالی و اجتماعی ناتوانی‌های ذهنی که در سال‌های اخیر از بیماری‌هایی مثل dementia نیز پیشی گرفته است، توجه کمی به این بیماری معطوف شده است (Leonard *et al.*, 2002). شیوع ناتوانی ذهنی و هزینه‌های کلان آن بر جوامع و خانواده‌ها در سال‌های اخیر سبب تمرکز بیشتری برای شناسایی علل ژنتیکی ناتوانی ذهنی شده است (Ellison *et al.*, 2013). تا به امروز بیشتر مطالعات در شناسایی ژن‌های وابسته به X در ناتوانی ذهنی انجام شده است. ولی در

¹ Homozygosity



بیماران با توارث اتوزومال غالب و مغلوب مطالعات کمتری صورت گرفته است. مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر نشان می‌دهد که ناتوانی ذهنی با وراثت اتوزومال مغلوب ۲۵٪ از ناتوانی‌های ذهنی را به خود اختصاص می‌دهد ولی به علت مشکلاتی نظیر هتروژنیتی یا کمبود خانواده‌های بزرگ با تعداد افراد مبتلا بیش از یک نفر برای آنالیزهای پیوستگی و ازدواج‌های خویشاوندی کمتر در بعضی از جوامع، کمتر مورد تحقیق و بررسی قرار گرفته است. بنابراین شناسایی جهش‌های موثر در این دو گروه چالش جدیدی است که در حوزه ناتوانی‌های ذهنی از چندین سال قبل آغاز شده است (Basel et al., 2007). در این راستا پروژه بزرگی که در مرکز تحقیقات ژنتیک در جهت شناسایی عوامل ژنتیکی دخیل در ناتوانی ذهنی از سال ۲۰۰۷ آغاز شده است. اما تنها با استفاده از تکنیک‌های موجود برای بررسی و آنالیز عملکرد ژن‌های مربوطه ما توانستیم که ژن احتمالی مسئول را شناسایی نمائیم. لذا می‌توان این‌گونه بیان نمود که اگر چه تکنیک‌های جدید سرعت شناسایی ژن‌هایی جدید را افزایش داده‌است، اما شناسایی این ژن‌ها، خود آغاز انجام مطالعات کاربردی و پایه‌ای در زمینه عملکرد و تاثیر گذاری آنها در فرایندهای سلولی بویژه سلول‌های عصبی می‌باشد. در این پژوهش بر روی بررسی عملکرد ژن جدید *RNFT2* که توسط همین مرکز در سال ۲۰۱۸ گزارش شد، (Hu et al., 2018) تمرکز شده است. ژن *RNFT2* به عنوان تنها ژن کاندید در دو خانواده ایرانی مبتلا به ناتوانی ذهنی سندرمی شناسایی شده است. این مطالعه براساس بررسی تاثیر اورتولوگ این ژن در رفتار مدل دروزوفیلا پی‌ریزی شده است.

تعریف واژه‌ها

هوش^۱: یکی از جنبه‌های اصلی عملکرد مغز انسان توانایی استدلال، تصمیم‌گیری، تفکر

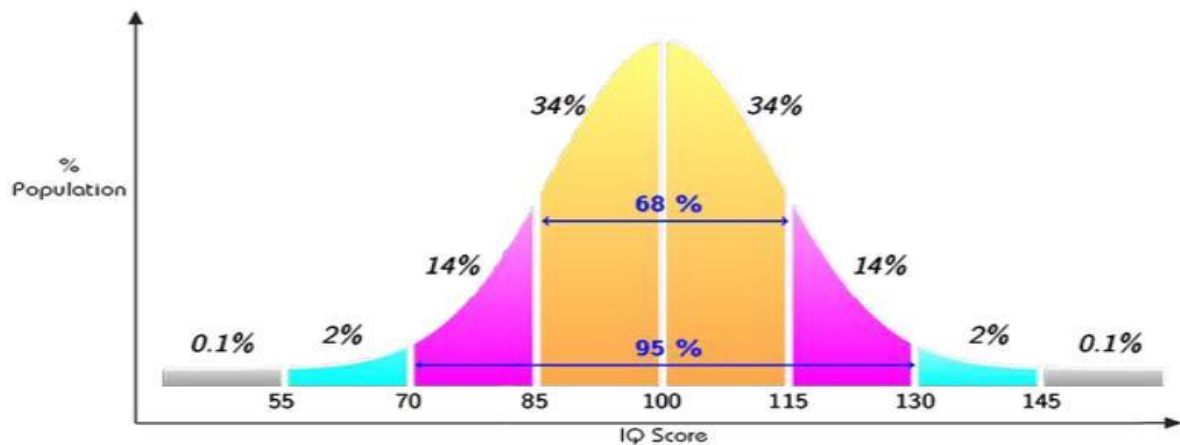
انتزاعی و یادگیری سریع از تجربیات است. به این توانایی هوش گفته می‌شود (Neisser et al.,)

¹ Intelligence



1996). بهره هوشی^۱: میزان توانایی شخص در استفاده از منطق، کار با اعداد، تشخیص شباهت‌ها و توانایی تجسم فضایی و مهارت‌های کلامی است. نیمکره چپ مغز مرکز فعالیت‌های بهره هوشی است. برای سنجش بهره هوشی افراد از تست‌های استاندارد مانند WAIS^۲ و WISC^۳ استفاده می‌شود (Bulmer et al., 1999).

شکل ۱-۱. نمودار پراکندگی طبیعی هوش بر اساس بهره هوشی



ناتوانی ذهنی: به ناتوانی شدید در ادراک و یادگیری مفاهیم جدید و پیچیده اطلاق می‌گردد که پیش از هجده‌سالگی شروع شده و اثر پایداری بروی تکامل دارد. براساس طبقه بندی سازمان جهانی بهداشت^۴، ناتوانی ذهنی از نظر شدت طبق میزان بهره هوشی به پنج دسته تقسیم بندی می‌گردد:

- ¹ Intelligence Quotient (IQ)
- ² Wechsler Adult Intelligence Scales
- ³ Wechsler Intelligence Scales for children
- ⁴ World Health Organization



جدول ۱-۱. طبقه بندی شدت ناتوانی ذهنی براساس میزان بهره هوشی

ناتوانی ذهنی	IQ
عمیق ^۱	۲۰ >
شدید ^۲	۲۰-۳۴
متوسط ^۳	۳۵-۴۹
خفیف ^۴	۵۰-۶۹
حد مرزی ^۵	۷۰-۷۹

هدف کلی:

بررسی عملکرد و اثرات حاصله از جهش ژنتیکی ایجاد شده در ژن *RNFT2* به عنوان عامل

احتمالی در بروز ناتوانی ذهنی اتوزومال مغلوب

هدف اختصاصی:

بررسی اثر رفتاری کاهش بیان ژن *CG13605* اورتولوگ ژن *RNFT2* در سیستم عصبی

دروزوفیلا

هدف کاربردی:

در صورت شناسایی عملکرد ژن‌های درگیر، می‌توان جهش‌های این ژن را به عنوان یکی از

¹ Profound

² Severe

³ Moderate

⁴ Mild

⁵ Borderline



علل ناتوانی ذهنی اتوزومی مغلوب دانست و با آگاه‌سازی خانواده‌های درگیر و ارائه خدمات مشاوره ژنتیک از طریق توضیح درصد خطر و استفاده از روش‌های تشخیص پیش‌از تولد، از ابتلای فرزندان دیگر به ناتوانی ذهنی پیشگیری کرد. همچنین شناسایی ژن‌های درگیر می‌تواند به شناسایی سایر ژن‌های مرتبط با این ژن که می‌توانند در ایجاد ناتوانی ذهنی نقش داشته باشند، کمک نماید.

فرضیات:

نقص در ژن *RNFT2* می‌تواند مسبب بروز ناتوانی ذهنی شود.

ژن *CG13605* در دروزوفیلا به عنوان ژن اورتولوگ با *RNFT2* در انسان، در تغییر رفتار طبیعی و فرایند یادگیری طبیعی مغز در این مدل حیوانی موثر است.

۲-۱- ناتوانی جسمی

ناتوانی ذهنی به محدودیت واضح در عملکرد ذهنی (ضریب هوشی کمتر از ۷۰) و تاخیر یا محدودیت در رفتارهای تطابقی نسبت به همسان، که قبل از هیجده سالگی شروع شده باشد، اطلاق می‌شود (Popper et al., 1994). میلیون‌ها نفر در دنیا مبتلا به ناتوانی‌های ذهنی‌اند و شیوع آن در کشورهای توسعه یافته بین ۱-۳٪ تخمین زده می‌شود (Katz et al., 2008). ناتوانی ذهنی را می‌توان به انواع سندرومی^۱ و غیرسندرومی^۲ تقسیم‌بندی کرد. در انواع سندرومی، بیماران علاوه بر ناتوانی ذهنی دارای یک یا چند علامت بالینی دیگر و علائم و نشانه‌های رفتاری هستند، ولی در ناتوانی ذهنی غیر سندرومی، ناتوانی ذهنی به عنوان تنها علامت بالینی، تعریف می‌شود. ولی چالش‌های متعددی در شناسایی آنومالی‌های نورولوژیک جزئی‌تر و بیماری‌های روانی در این بیماران وجود دارد، زیرا که ممکن است، سایر علائم بالینی تظاهر کمتری داشته و یا به دلیل اختلالات شناختی شناسایی آن‌ها دشوار باشد. به علاوه، ممکن است علائم بعضی از سندرم‌ها آن قدر جزئی و خفیف باشد که تشخیص‌شان فوق العاده

¹ Syndromic

² Nonsyndromic



مشکل باشد. بنابراین، مرز بین ناتوانی ذهنی سندرمی و غیرسندرومی اغلب نامشخص است (Basel, 2007). علل بروز ناتوانی ذهنی به دو دسته عوامل غیرژنتیکی و عوامل ژنتیکی تقسیم می‌گردد. عوامل عفونت‌زا و تروما در دوران بارداری، بیماری‌ها و آسیب‌های دوران کودکی و فاکتورهای محیطی مثل تشعشعات رادیواکتیو و سوء تغذیه از بارزترین عوامل غیرژنتیکی در بروز ناتوانی ذهنی می‌باشند (Luckasson *et al.*, 2007) فاکتورهای ژنتیکی دخیل در ناتوانی ذهنی به سه گروه تقسیم می‌شوند:

(۱) ناهنجاری‌های کروموزومی بزرگ از جمله آنیوپلوئیدی‌ها، حذف‌ها و اضافه‌شدن‌های بزرگ کروموزومی، وارونه شدن و ترانسلوکاسیون‌ها: این دسته در حدود ۱۵٪ از تمامی موارد ناتوانی ذهنی را شامل می‌شوند (Rauch *et al.*, 2006). ناهنجاری‌های کروموزومی در ناتوانی‌های ذهنی با شیوع نسبتاً بالایی دیده می‌شود، تری زومی‌های اتوزومی سازگار با حیات در انسان و آنیوپلوئیدی‌های کروموزوم‌های جنسی با درجه‌ای از ناتوانی ذهنی همراه‌اند که عنوان انواع سندرمی مطرح‌اند. سندرم داون تری زومی ۲۱ شایع‌ترین فرم ناتوانی‌های ذهنی ژنتیکی است (Kaufman *et al.*, 2010).

(۲) نوآرایی‌های ساب‌تلومریک و تغییر در تعداد واریانت‌های دارای تکرار^۱ در سال‌های اخیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند و تغییر تعداد کپی بعضی از این واریانت‌ها در ارتباط با بیماری‌ها شناسایی شده است. CNV در ۱۲٪ از کل ژنوم دیده می‌شوند، ولی انواع نادر آنها در ارتباط با بیماری‌های روانی مثل اسکیزوفرنی و اوتیسم شناسایی و همچنین در ناتوانی ذهنی دیده شده‌است (Rdon *et al.*, 2006; Marshall *et al.*, 2008). با استفاده از تکنیک microarray در جهت شناسایی عامل پاتوژنیک این گروه، مشخص شده‌است که تغییر در تعداد واریانت‌های دارای تکرار (CNVs) خیلی ریز و ساب

¹ Copy Number variation (CNV)



میکروسکوپیک، مسئول ایجاد ناتوانی ذهنی در ۲۰-۱۵٪ از موارد می‌باشند (Li *et al.*, 2009; Miller *et al.*, 2010). نوآرایی‌های ساب‌میکروسکوپی در ناحیه ساب‌تلومریک کروموزوم‌ها از سال‌های گذشته در ارتباط با بروز ناتوانی ذهنی غیرسندرمی مطرح بوده‌است. نواحی ساب‌تلومریک از نظر چگالی ژنی در مقایسه با سایر نواحی کروموزمی غنی‌تر هستند (Saccone *et al.*, 1992). این نوآرایی‌ها می‌تواند شامل حذف‌شدگی یا ترانس‌لوکاسیون بالانس و یا سایر نوآرایی‌های کروموزومی باشد که در سطح ساب‌میکروسکوپی قابل شناسایی نمی‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد نوآرایی‌های ساب‌تلومریک در ۶-۳٪ از ناتوانی‌های ذهنی دیده می‌شوند (Knight *et al.*, 1990; Ledbetter *et al.*, 2007). نتایج یک مطالعه متاآنالیز در سال ۲۰۰۲ بر روی بیماران ناتوانی ذهنی نشان داد که نوآرایی‌های ساب‌متاسانتریک در ۶٪ ناتوانی‌های ذهنی دیده می‌شود، که از این میان ۵۰٪ از نوع ارثی بودند. امروزه استفاده از تکنیک‌های CGH شناسایی نوآرایی‌های ساب‌تلومریک را تسهیل کرده‌است (Biesecker *et al.*, 2002).

۳) نقایص تک ژنی: در سال‌های اخیر اختلالات تک‌ژنی بسیاری که منجر به ناتوانی ذهنی می‌شوند،

شناخته شده‌اند. ناتوانی ذهنی تک‌ژنی به سه دسته تقسیم می‌گردد:

- ناتوانی ذهنی وابسته به ایکس^۱
- ناتوانی ذهنی اتوزومال غالب^۲
- ناتوانی ذهنی اتوزومال مغلوب^۳

۱-۲-۱- ناتوانی ذهنی وابسته به ایکس:

^۱ X-Linked Intellectual Disability (XLID)

^۲ Autosomal dominant intellectual disability (ADID)

^۳ Autosomal Recessive Intellectual Disability (ARID)