



**دانشگاه آزاد اسلامی**

**واحد اهواز**

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

**رشته:** ژنتیک

**گرایش:**

**ژنتیک**

**عنوان:**

**بررسی مولکولی به روش توالی یابی کل اگزوم برای 310 ژن درگیر در کم توانی ذهنی در خانواده‌ای با یک مبتلا در شهر عماره**

**نگارنده:**

**خلود جاسم مهاوی الطلیباوی**

**استاد راهنما:**

**دکتر حدیده معبودی**

**استاد مشاور:**

**دکتر جواد محمدی اصل**

**1401**

**عنوان:**

**عنوان پایاننامه در اینجا نوشته شود**

**نگارنده:**

**نام کامل نویسنده در اینجا نوشته شود**

**استاد/اساتید راهنما:**

**نام کامل استاد یا اساتید راهنما در اینجا نوشته شود**

**استاد/اساتید مشاور:**

**نام کامل استاد یا اساتید مشاور در اینجا نوشته شود ماه و سال**





**فرم تعهدنامه اصالت رساله یا پایان نامه**

**تاریخ : ...........................**

**شماره : .........................**

**پیوست : .......................**

**دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز**

**تعهد نامه اصالت رساله یا پایان نامه**

اینجانب ..................................................دانش آموخته مقطع کار شناسی ارشد نا پیوسته / دکترای حرفه ای / دکترای تخصصی در رشته ژنتیک که در تاریخ ......................................از پایان نامه / رساله خود تحت عنوان " بررسی مولکولی به روش توالی یابی کل اگزوم برای 310 ژن درگیر در کم توانی ذهنی در خانواده‌ای با یک مبتلا در شهر عماره"

با کسب نمره ............... و درجه .................دفاع نموده ام بدینوسیله متعهد می شوم:

1. این پایان نامه / رساله حاصل تحقیق و پژوهش انجام شده توسط اینجانب بوده و در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران ( اعم از پایان نامه ، کتاب ، مقاله و ... ) استفاده نموده ام ، مطابق ضوابط و رویه موجود ، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در فهرست مربوطه ذکر و درج کرده ام.
2. این پایان نامه / رساله قبلاً برای دریافت هیچ مدرک تحصیلی ( هم سطح، پایین تر یا بالاتر ) در سایر دانشگاه ها و موسسات آموزش عالی ارائه نشده است.
3. چنانچه بعد از فراغت از تحصیل ، قصد استفاده و هرگونه بهره برداری اعم از چاپ کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان نامه داشته باشم، از حوزه معاونت پژوهشی واحد مجوزهای مربوطه را اخذ نمایم.
4. چنانچه در هر مقطعی زمانی خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن را می پذیرم و واحد دانشگاهی مجاز است با اینجانب مطابق ضوابط و مقررات رفتار نموده و در صورت ابطال مدرک تحصیلی ام هیچگونه ادعایی نخواهم داشت.

نام و نام خانوادگی :

تاریخ و امضاء :

**تقدیم و تشکر**

**سپاس**

**.**

**چکیده**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **شماره دانشجویی: 39910630503026** | **نام:** خلود | **نام خانوادگی:** جاسم مهاوی الطلیباوی |
| **عنوان پایان نامه:** بررسی مولکولی به روش توالی یابی کل اگزوم برای 310 ژن درگیر در کم توانی ذهنی در خانواده‌ای با یک مبتلا در شهر عماره | | |
| **استاد راهنما:** دکتر حدیده معبودی | | |
| **استاد مشاور:** دکتر جواد محمدی اصل | | |
| **گرایش:** ژنتیک | **رشته:** ژنتیک | **درجه تحصیلی:** کارشناسي ارشد |
| **گروه:** ژنتیک | **دانشکده:** علوم پایه | **دانشگاه:**آزاد اسلامی واحد اهواز |
| **تعداد صفحه:** 89 | **تاریخ فارغ التحصیلی:** | |
| **کلید واژه ها:** کم توانی ذهنی، نقص ژنتیکی، موتاسیون، توالی یابی کل اگزوم | | |
| **زمینه و هدف:** ناتوانی ذهنیشایع ترین ناتوانی رشدی است. در این اختلال کودک دارای محدودیت‌های خاصی در عملکرد و مهارت‌های شناختی از جمله مهارت‌های ارتباطی، اجتماعی و مراقبت از خود می باشد. انواع مختلفی از ناتوانی ذهنی وجود دارد و دلایل زیادی برای بروز این مشکل وجود دارد. عوامل ژنتیکی عامل 70 درصد از موارد کم توانی ذهنی میباشند. ژن ZBTB16 یک فاکتور رونویسی را رمزگذاری می کند که نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی ایفا می کند. این پروتئین در تکثیر سلول های پیش ساز عصبی و تمایز عصبی در طول رشد نقش دارد. **روش‌ها:** خانواده ی مورد مطالعه از نظر موتاسیون در 310 ژن درگیر در در کم توانی ذهنی با استفاده از تکنیک توالی یابی سنگر (Sequencer ABI 3130/3130XL) توسط WES مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** والدین از نظر جهش ZBTB16 هتروزیگوت بودند و فرزند این خانواده موتاسیون c.95C>T:p.32T>I در اگزون 8 ژن ZBTB16 را به صورت همویگوت نشان داد. **نتیجه‌گیری:** نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که جهش در ژن ZBTB16 با نقص های اسکلتی، هیپوپلازی تناسلی و عقب ماندگی ذهنی مرتبط است و تست ژنتیکی جهت تایید بیماری لازم است. انجام مطالعات بیشتر با حجم نمونه بالاتر، و بررسی ارتباط موتاسیون های ZBTB16 با میزان بروز ناتوانی ذهنی پیشنهاد می شود. | | |

**فهرست مطالب**

[فصل اول 1](#_Toc103957514)

[مقدمه و بیان مسئله 1](#_Toc103957515)

[الف- مقدمه 2](#_Toc103957516)

[ب- کلیات 3](#_Toc103957517)

[ب-1- کم توانی ذهنی (Intellectual Disability) 3](#_Toc103957518)

[ب-2- علل ایجاد کم توانی ذهنی 4](#_Toc103957519)

[ب-3- انواع کم توانی ذهنی 8](#_Toc103957520)

[ب- 4- ویژگی های کودکان کم توان ذهنی 9](#_Toc103957521)

[ب-5- اختلالات شایعی که یکی از علایم آن ها کم توانی ذهنی است 12](#_Toc103957522)

[ب-5-1- سندروم داون 12](#_Toc103957523)

[ب-5-2- میکروسفالی 13](#_Toc103957524)

[ب-5-3- هیدروسفالی 13](#_Toc103957525)

[ب-5-4- اختلالات متابولیکی 14](#_Toc103957526)

[ب-5-5- اختلالات طیف اوتیسم 14](#_Toc103957527)

[ب-7- تشخیص کم توانی ذهنی 15](#_Toc103957528)

[ب-8- درمان عقب ماندگی ذهنی 17](#_Toc103957529)

[ب- 9- توانبخشی و درمان عقب ماندگی ذهنی 18](#_Toc103957530)

[ب-9- ژنتیک و ناتوانی ذهنی 20](#_Toc103957531)

[ب-9-1- ژن ZBTB16 22](#_Toc103957532)

[ب-10- توالی یابی سنگر (sanger) 24](#_Toc103957533)

[ب-11- توالی یابی کل اگزوم 29](#_Toc103957534)

[فصل دوم 33](#_Toc103957535)

[بررسی متون 33](#_Toc103957536)

[1-2. بررسی متون 34](#_Toc103957537)

[2-2. اهداف تحقيق ( شامل اهداف علمي , کاربردي و ضرورت هاي خاص انجام تحقيق ) 35](#_Toc103957538)

[1-2-2. هدف کلی 35](#_Toc103957539)

[2-2-2. اهداف جزیی: 35](#_Toc103957540)

[3-2-2. اهداف کاربردی: 36](#_Toc103957541)

[2-3. سوالات پژوهشی 36](#_Toc103957542)

[4-3. فرضیات پژوهشی 36](#_Toc103957543)

[3-6. جنبه جديد بودن و نوآوري طرح : 37](#_Toc103957544)

[فصل سوم 38](#_Toc103957545)

[مواد و روش ها 38](#_Toc103957546)

[الف- جامعه مورد مطالعه، نمونه گیری و طرح پژوهش 39](#_Toc103957547)

[ب- روش کار 39](#_Toc103957548)

[ب-1. استخراج DNA از خون محیطی 39](#_Toc103957549)

[ب-2-2 مواد مورد استفاده برای انجام واکنش PCR 40](#_Toc103957550)

[ج- الکتروفورز 42](#_Toc103957551)

[ج-1. مراحل تهیه ژل آگارز 1.5% 42](#_Toc103957552)

[ح- توالی یابی کل اگزوم (Whole-Exome Sequencing) 43](#_Toc103957553)

[د- بررسي‌های بیوانفورماتیكي جهت اولویت بندی ژن‌های کاندید 46](#_Toc103957554)

[د-1- فیلترینگ بر اساس فراوانی آللی 46](#_Toc103957555)

[د-2- فیلترنگ بر اساس متون 46](#_Toc103957556)

[د-3- فیلترینگ براساس نرم افزارهای سنجش اثر بر پروتئین 46](#_Toc103957557)

[ر- سنگر Sequencing 47](#_Toc103957558)

[د- رعایت مسائل اخلاقی 50](#_Toc103957559)

[فصل چهارم 51](#_Toc103957560)

[نتایج 51](#_Toc103957561)

[الف- اطلاعات دموگرافیک بیماران 52](#_Toc103957562)

[ب- نتایج سکانس ژنی 53](#_Toc103957563)

[ج- نتایج آنالیز سایت Polyphen-2 56](#_Toc103957564)

[د- نتایج حاصل از MutationTaster در بررسی جهش شناسایی شده 57](#_Toc103957565)

[فصل پنجم 60](#_Toc103957566)

[بحث و نتیجه گیری 60](#_Toc103957567)

[الف- بحث 61](#_Toc103957568)

[ب- نتیجه گیری 63](#_Toc103957569)

[ج- پیشنهادات 63](#_Toc103957570)

[فصل ششم 64](#_Toc103957571)

[منابع 64](#_Toc103957572)

**فهرست تصاویر**

شکل 1-1: نمودار تشخیصی برای ارزیابی بیماران کم توان ذهنی............................................... 17

شکل 1-2: عناصر دخیل در مشارکت موفق خدمات و کارکنان کم توانی ذهنی................................20

شکل 1-3: نمایش شماتیک سیگنالینگ های دخیل در کم توان ذهنی.........................................23

شکل 1-4: مسیرهای سیگنالینگ سیناپسی شماتیک درگیر در ناتوانی ذهنی................................. 24

شکل 1-5:: روش توالی سنگر در 7 مرحله...........................................................................29

شکل 1-6: گردش کار توالی Exome................................................................................ 33

شکل 3-1 : کیت استخراج DNA ....................................................................................40

شکل 3-2: مراحل توالی یابی کل اگزوم..............................................................................45

تصویر 3-3. سکانس به روش سنگر.................................................................................. 48

تصویر 3-4. مراحل انجام سکانس به روش سنگر................................................................... 49

شکل 3-5. نتیجه سکانس سنگر...................................................................................... 50

شکل 4-1: شجره ی خانواده...........................................................................................53

شکل 4-2: شکل 4-2: نتیجه بررسی ژنتیکی ژن ZBTB16 در بیمار......................................... 55

شکل 4-3: نتیجه بررسی ژنتیکی ژن ZBTB16 در پدر بیمار................................................... 55

شکل 4-4: نتیجه بررسی ژنتیکی ژن ZBTB16 در مادر بیمار.................................................. 55

شکل4-5: نتایج حاصل از انالیز سایت POLYPHEN برای جهش c.95C>T:p.32T>I.................... 56

شکل 4-6: شکل سه بعدی پروتئین و جایگاه جهش c.95C>T:p.32T>I..................................... 57

فهرست جداول

جدول 1-1: تقسیم‌بندی‌های مربوط به عقب ماندگی ذهنی با توجه به نوع و مهارت مورد نظر................4

جدول3-1. پرایمر ژن....................................................................................................41

جدول3-2 مواد مصرفی استفاده شده برای انجام واکنش PCR ..................................................41

جدول 3-3. سیکل دمایی PCR ......................................................................................42

جدول 3-4: 53 ژن بررسی شده و مرتبط با لکوانسفالوپاتی ......................................................43

جدول 4-1: مشخصات جهش کشف شده ...........................................................................54

جدول 4-2: نتایج مربوط به آنالیز سایت Mutation Taster برای جهش c.95C>T:p.32T>I ..............58

# فصل اول

# مقدمه و بیان مسئله

## الف- مقدمه

کم توانی ذهنی با شیوع 2-3 درصد یکی از مهم ترین مسائل حل نشده علم پزشکی در جوامع امروزی است (1). کم توانی ذهنی یا به تنهایی بروز می کند که به این حالت "کم توانی ذهنی غیرنشانگانی" گفته می شود یا با ناهنجاری های دیگری چون ناهنجاری های اسکلتی و بد شکلی صورت همراه است که در این مورد به آن "کم توانی ذهنی نشانگانی" گفته می شود (2). از موارد نشانگی می توان به نشانگان آپرت و بیماری های متابولیک از جمله اختلالات متابولیسم اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، و اسیدهای نوکلئیک مثل نشانگان نقص کربنیک انیدراز، نقص در سنتز بتاسیتونین و فنیل کتونوریا اشاره کرد (3).

عوامل ژنتیکی مسئول 70 درصد از موارد کم توانی ذهنی می باشند که به دو گروه اصلی تقسیم می شوند: ناهنجاری های کروموزومی و اختلالات تک ژنی. ناهنجاری های کروموزومی در 4 تا 28 درصد از موارد کم توانی ذهنی مشاهده می شوند و شامل ناهنجاری های شمارشی و ساختاری هستند (4, 5). در نوع شمارشی تغییر در تعداد کروموزوم ها و در نوع ساختاری یکی از تغییرات حذف، مضاعف شدگی، واژگونی، و یا جابجایی کروموزومی صورت می گیرد (6).

اختلالات تک ژنی از لحاظ نوع توارث به دو دسته وابسته به جنس و اتوزومی تقسیم می شوند. کم توانی ذهنی وابسته به جنس 12-5 درصد از کل موارد کم توانی ذهنی را شامل می شود و بر اثر بروز اختلال در ژن های روی کروموزوم x ایجاد می شود (7). تا کنون بیش از 82 ژن برای کم توانی ذهنی (نشانگانی و غیرنشانگانی) وابسته به جنس شناسایی شده است (8). نشانگان x شکننده با فراوانی 1 در 6000-4000 در مردان و 1 در 10000-7000 در زنان بعد از نشانگان داون شایعترین عامل ایجاد کننده کم توانی ذهنی است که در اثر جهش در ژن FMR1 واقع بر کروموزوم جنسی ایجاد می گردد (9).

آزمایشات ژنتیکی در شناسایی موارد ابتلا به بیماری کم توانی ذهنی بسیار کمک کننده است و در صورت شناسایی جهش با تکنیک توالی یابی در فرد مبتلا٬ سایر اعضاء خانواده که حتی علائم بیولوژیکی را نشان نمی‌دهند نیز می‌توانند تحت آزمایش قرار بگیرند تا از به ارث بردن اختلال و امکان بروز آن در آینده مطلع گردند.

ما در این مطالعه برای دستیابی به نتایج و جهش‌های ژنتیکی 310 ژن دخیل در مکانیسم بیماری کم توانی ذهنی خانواده‌ای با یک مبتلا در شهر عماره را مورد بررسی قرار دادیم. بدیهی است در صورت یافتن ارتباط اختلالات ژنتیکی در این خانواده می‌توان با بررسی ژنتیکی و تست‌های غربالگری، از تولد نوزادان بیمار مبتلا به کم توانی ذهنی جلوگیری کرد و یا تشخیص و درمان این بیماران را تسهیل کرد.

## ب- کلیات

## ب-1- کم توانی ذهنی (Intellectual Disability)

کم توانی ذهنی به محدودیت هاي بنیادي در کارکرد ذهنی اشاره دارد. برخی از انواع کم توانی ذهنی مانند « سندرم داون » از همان بدو تولد قابل تشخیص است و دیگر انواع آن تا قبل از 18 سالگی نمایان می شود (10).

کم توانی ذهنی، عموماً با کارکرد ذهنی پایین تر از میانگین معمول، مشخص می شود و به طور همزمان با محدودیت هایی در دو یا چند حیطه از مهارت هاي سازشی از جمله برقراری ارتباط ، زندگی خانوادگی، مهارت هاي اجتماعی، خودیاري، بهداشت و ایمنی، کارکرد تحصیلی، اوقات فراغت و کار ، همراه است (11).

كم توانی ذهنی شایع ترین اختلال رشدی است. حدود 1% كودكان 10-3 ساله دارای مشکلات ذهنی هستند. همچنین کم توانی ذهنی در پسران 5/1 برابر شایع تر از دختران است. در جمعیت ۱۵–۱۹ ساله شیوع موارد متوسط و شدید حدود ۳–۴ مورد در ۱۰۰۰ است. معادل ۶–۸ مورد در ۲۰۰۰ بیمار یک پزشک عمومی. این شیوع از سال ۱۹۳۰ اندکی تغییر کرده اما بروز موارد شدید به علت مراقبت‌های خوب نوزادی و جنینی تا حد یک سوم تا یک دوم کاهش یافته‌است. علت ثابت ماندن شیوع، زندگی طولانی‌تر افراد عقب مانده ذهنی است (12, 13).

عقب ماندگی ذهنی بر اساس میزان بهره هوشی، از خفیف تا بسیار شدید (عمیق) وجود دارد. جدول 1-1 تقسیم‌بندی‌های مربوط به عقب ماندگی ذهنی را با توجه به نوع و مهارت مورد نظر نشان می‌دهد (14).

**جدول 1-1: تقسیم‌بندی‌های مربوط به عقب ماندگی ذهنی با توجه به نوع و مهارت مورد نظر**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| مهارت مورد انتظار | نوع | بهره هوش |
| آموزش‌پذیر | خفیف | ۵۰ تا ۷۰ |
| تربیت‌پذیر بالا | متوسط | ۳۵ تا ۵۰ |
| تربیت‌پذیر پایین | شدید | ۲۵ تا ۳۵ |
| ایزوله، نیازمند نگهداری در مؤسسه | عمیق | کمتر از ۲۵ |

## ب-2- علل ایجاد کم توانی ذهنی

کم توانی ذهنی پیامد چندین علت است که برخی از آن ها شناخته شده و بسیاري دیگر ناشناخته اند. علت بروز کم توانی ذهنی براي حدود 30 درصد از تمامی افراد ناشناخته است . این درصد براي افراد با کم توانی ذهنی خفیف بسیار بیشتر است. علت هاي احتمالی شناخته شده کم توانی ذهنی عبارتند از عوامل اجتماعی- فرهنگی، ناهنجاري هاي کروموزومی، سوخت و ساز و تغذیه، اختلال هاي دوره بارداري (از جمله زود رسی ، کمبود وزن هنگام تولد، عفونت هاي دوران بارداري)، کمبود اکسیژن هنگام تولد، و... (15)

1. **عوامل قبل از تولد:**

بیشتر شامل تأثیرات ژنتیک و تغییرات کروموزومی می‌شود. ضمن این که عفونت‌های رحمی و ابتلای به بیماری سرخچه و توکسوپلاسموز (بیماری خطرناکی که از طریق گربه منتقل می‌شود) نیز در بروز عارضه نقش دارند. آنچه مسلم است بیشترین علل عقب ماندگی ذهنی همین عوامل قبل از تولد است که از نظر پیشگیری نیز اهمیت دارند، به ویژه عوامل کروموزومی مانند سندرم داون و عوامل عفونی مثل سرخچه و توکسوپلاسموز مادرزادی. در این بین عوامل حین تولد مثل زایمان مشکل و خون‌ریزی جمجمه و اشکالات تنفسی حین زایمان و … نیز مؤثر می‌باشند (16). از دیگر موارد در این مرحله می توان به

- عوامل ارثی و ژنتیکی (سندروم داون – فنیل کتوناریا)

- عوامل ناسازگاری خونی

- تأثیر مصرف الکل در والدین

- مصرف مواد مخدر در والدین بخصوص مادر

- مسمومیت های ناشی از مصرف داروها و مواد شیمیایی و مواد غذایی در دوران بارداری

- سوء تغذیه و اختلالات غدد داخلی

- عوامل هیجانی و روانی

- ابتلا به سرخجه و بیماری های عفونی

- اشعه ایکس و پرتوهای رادیو اکتیو

- ضربه های وارد به شکم مادر نیز اشاره کرد (17, 18).

**2. عوامل هنگام تولد**

- تولد زودرس

- نوزاد نارس (کودکان با وزن 5/2کیلو یا کمتر)

- زایمان های طولانی

- ضربه های وارده به سر کودک به هنگام تولد (19).

**3. عوامل پس از تولد:** شامل ضربات شدید به جمجه کودک (یرقان) سیانوز (سیاه شدن)، عفونت های دوران نوزادی به همراه تب و تشنج، [کم‌کاری تیروئید](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%A9%D9%85%E2%80%8C%DA%A9%D8%A7%D8%B1%DB%8C_%D8%AA%DB%8C%D8%B1%D9%88%D8%A6%DB%8C%D8%AF) و … است که با مواظبت از کودک بخصوص قبل از سن چهارسالگی می‌توان از بروز عقب ماندگی ذهنی تا حدی جلوگیری نمود (20). از دیگر موارد می توان به عوامل زیر نیز اشاره کرد:

- انواع مننژیت

- مسمومیت ها

- ضربه های وارده به سر کودک

- اختلالات غدد داخلی کودک

- کمبود غذا و سوء تغذیه

- خستگی های جسمی و روانی و اختلالات عاطفی (21)

**4. عوامل محیطی اجتماعی:** ت

أثیرات محدودتری در بروز عقب ماندگی ذهنی دارند و شامل فقر، تغذیه، ناپایداری خانواده، وضعیت اقتصادی – اجتماعی بد و محرومیت‌های فرهنگی و استرس‌های مکرر و فوق تحمل در محیط زندگی کودک است (22).

هر چیزی که با رشد طبیعی و نرمال مغز تداخل ایجاد کند می تواند از جمله علل ایجاد کم توانی ذهنی باشد. ولی علت در بیشتر موارد نامشخص است و تنها در یک سوم موارد می توانیم علت کم توانی را به یکی از موارد زیر نسبت دهیم:

**عوامل ژنتیکی:**

اختلالاتی مانند سندرم داون و اختلالات متابولیک منشا ژنتیکی دارند و باعث کم توانی ذهنی می شوند. لذا در خانواده هایی که سابقه ی اختلالات ژنتیکی دارند گرفتن تست های ژنتیک قبل از بارداری توصیه می شود. تست های دیگری هم مانند اولتراسوند و آمنیوسنتز وجود دارند که میتوان حین بارداری انجام داد و به جست و جوی نشانه های کم توانی ذهنی در جنین پرداخت. البته این تست ها ممکن است که اختلال را تشخیص دهند ولی برای تصحیح آنها کاری نمی توان کرد (15).

**عوامل مربوط به دوران بارداری:**

از مواردی که در این دوران با نمو مغز جنین در تداخل است میتوان مصرف الکل و مواد مخدر، سوء تغذیه مادر و بیماری های عفونی مادر را نام برد. بنابراین مهم است که در این دوره حساس، مادران از سوء مصرف داروها اجتناب کنند. مکمل های غذایی و ویتامین های لازم را دریافت کنند. خود را در برابر بیماری های عفونی واکسینه کنند و مراقبت های لازم و سالم را برای جنین فراهم کنند (23).

**عوامل مربوط به حین زایمان:**

اگر نوزاد بسیار نارس به دنیا بیاید یا اینکه در طی زایمان برای مدتی هرچند کوتاه از اکسیژن محروم شود، احتمال ایجاد کم توانی ذهنی وجود دارد (24, 25).

**بیماری یا آسیب های بعد از تولد:**

عفونت هایی مانند مننژیت، سیاه سرفه یا حتی سرخک می تواند منتهی به کم توانی ذهنی شود. ضربه های شدید وارد به سر، تجربه های نزدیک به غرق شدن، سوء تغذیه، عفونت های مغزی و قرار گرفتن در معرض مواد سمی از دیگر مواردی هستند که باعث کم توانی ذهنی می شوند. پس مراقبت های مربوط به نوزاد یا کودک، واکسینه کردن و ملاحظه علایم و نیازهای وی، باید مورد توجه مادران قرار گیرد (26).

**دلایل ناشناخته:**

همانطور که اشاره شد در دو سوم موارد، دلیل ایجاد عقب ماندگی ذهنی شناخته شده نیست بنابراین پیشگیری از آنها هم ممکن نیست (27).

## ب-3- انواع کم توانی ذهنی

سطوح کم توانی ذهنی را با اصطلاحات خفیف، متوسط، شدید و عمیق دسته بندی می کنند (به طور کلی ،85% افراد کم توان ذهنی جزء طبقه کم توان ذهنی خفیف قرار می گیرند).

* **خفیف:**

این افراد در کسب مراحل رشدی نسبت به بقیه کندترند و مهارت های اجتماعی و مهارت های روزمره زندگی را دیرتر کسب می کنند. می توانند مهارت های عملی زندگی را یاد بگیرند که به آن ها کمک کند بتوانند یک زندگی عادی را با حداقل کمک از طرف دیگران بگذرانند و کارهایشان را خودشان انجام بدهند و حتی تحت تحصیلات ویژه در مدرسه آموزش ببینند (28).

* **متوسط:**

افراد با کم توانی متوسط نسبت به گروه قبلی به کمک و نظارت بیشتری نیاز دارند. اما با آموزش و تمرین طی جلسات درمانی می توان آنها را قادر کرد تا از خود مراقبت کنند، مستقلا به مکان های آشنا سفر کنند و نیز مهارت های پایه ای برای حفظ سلامت و امنیت خودشان را بیاموزند (29).

* **شدید:**

کم توانی شدید خودش را در تاخیر های شدید رشدی نشان می دهد. این افراد اغلب می توانند حرف دیگران را بفهمند ولی خودشان مهارت ارتباطی قوی ندارند و نمی توانند خوب حرف بزنند.

علی رغم مسایلی که مطرح کردیم معمولا با تکرار و تمرین زیاد می توان روتین های ساده زندگی را به آنها آموزش داد ولی برای زندگی در اجتماع باید تحت نظارت شدید باشند (30).

* **عمیق:**

اغلب افرادی که در این سطح از کم توانی هستند مبتلا به سندرم های مادرزادی هستند. این افراد زندگی کاملا وابسته ای دارند و نمی توانند مستقل زندگی کنند و در ساده ترین کارهای شخصی خودشان به کمک و نظارت مستقیم نیاز دارند. همچنین توانایی خیلی محدودی در برقراری ارتباط دارند و اغلب مشکلات جسمانی هم دارند (31).

### ب- 4- ویژگی های کودکان کم توان ذهنی

بیشتر کودکان کم توان ذهنی از نظر ظاهری تفاوت چندانی با سایر کودکان ندارند. البته عده ای از کودکان کم توان ذهنی که دارای سندرم های خاص هستند (مانند سندرم داون، میکروسفالی، هیدروسفالی و… )، به لحاظ ظاهری هم علایم بالینی دارند (32). این کودکان از نظر رشدی در بیشتر موارد تاخیر دارند. مثلا نسبت به کودکان عادی نشستن، سینه خیز رفتن و پاگرفتن را دیرتر کسب می کنند یا به لحاظ گفتاری دیرتر به حرف زدن می رسند. و به طور کلی آهسته تر از کودکان عادی مهارت های مختلف را کسب می کنند (33).

کودکان کم توان از نظر کارکردی معمولا موفق نمی شوند مهارت هایی را که پایه ی یادگیری می شوند به خوبی کسب کنند. برخی از این مهارت ها عبارتند از:

**پردازش حسی و ادراک:**

هر حسی که بدنمان از محیط دریافت می کند، برای اینکه قابل استفاده شود، باید در مغز به خوبی پردازش شود و سازماندهی و تفسیر گردد. و به این صورت ذهنمان به آنها معنی دهد تا بتوانیم از آن حس ها اطلاعات کسب کنیم و آنها را بفهمیم (34). در کودکان با کم توانی ذهنی، اغلب این پردازش و ادراک به خوبی انجام نمی گیرد. به عنوان مثال کودکی که در پردازش حسی دچار اختلال است ممکن است به برخی حس ها کمتر یا بیشتر از حد معمول واکنش نشان دهد. مثلا با شنیدن صدای یک ماشین گوش خود را بگیرد یا جیغ بزند.

همچنین کودکی که در ادراک بینایی مشکل دارد ممکن است با وجود داشتن چشم های سالم، نتواند لباسش را از داخل یک قفسه شلوغ پیدا کند چون به لحاظ ذهنی نمی تواند به خوبی اشیا را از پس زمینه شان تشخیص دهد و جدا کند (35).

**هماهنگی حرکات درشت:**

منظور از هماهنگی حرکات درشت توانایی انجام درست، روان و ظریف حرکات بزرگ و درشت نظیر دویدن، نشستن، برخاستن، حمل کردن و جابجایی اشیا و… می باشد که می تواند در کودکان کم توان دچار ایراد باشد. این کودکان ممکن است نتوانند به خوبی حرکات بدنشان را سازماندهی کنند. مثلا اینکه به سختی بنشینند و برخیزند یا این که ممکن است حین حرکت به دیگران برخورد کنند همچنین در انجام بازی هایی مانند لی لی، پرش جفت پا، گرفتن و انداختن توپ ممکن است مهارت کافی نداشته باشند (36).

کودک دارای کم توانی ذهنی در انجام کارهایی که نیاز به هماهنگی دوطرف بدن دارد دچار مشکل است؛ مانند پدال زدن، بازکردن در قوطی، ریختن آب در لیوان درحالی که با یک دست پارچ آب را گرفته و با دست دیگر لیوان را نگه داشته است (37). کودک کم توان معمولا در حفظ یک وضعیت حرکتی مشکل دارد؛ مثلا این که مدتی بنشیند و به حرف های آموزگار گوش دهد یا مدتی پای تخته سیاه بایستد و روی آن بنویسد برایش دشوار است (38).

**هماهنگی حرکات ظریف:**

کنترل حرکتی ظریف قابلیتی برای اجرای حرکات ریز به صورت دقیق و روان با دست و انگشتان می باشد.

بریدن با قیچی، گرفتن مداد، نقاشی کشیدن، نوشتن، نخ کردن دانه های تسبیح، ورق زدن کتاب، استفاده از قاشق و چنگال و… همگی نمونه هایی از حرکات ظریف می باشند که در کم توانان ذهنی با مشکل مواجهند (39).

**گفتار و زبان:**

تکامل زبان برای یادگیری و تعامل موثر بسیار کلیدی است. یکی دیگر از حوزه هایی که در کودکان کم توان دچار مشکل است گفتار و زبان آنهاست. خصوصیاتی که در این رابطه ممکن است در کودکان کم توان مشاهده کنیم میتواند شامل موارد زیر باشد:

* در بیان نیازها و خواسته هایشان مشکل دارند.
* از زبان مختصر و جملات کوتاه استفاده می کنند.
* اشتباه های دستوری دارند.
* در به کار بردن بسیاری از کلمات مشکل دارند.
* اغلب، کلمات را توصیف می کنند یا از کلمات جانشین مانند “این”، “آن” یا “آنجا” استفاده می کنند
* خوب به حرف های دیگران گوش نمی دهند.
* در گوش دادن و فعالیت به طور همزمان مشکل دارند و… . (40, 41)

**جنبه های اجتماعی و عاطفی:**

یک کودک یا نوجوان عادی به تدریج در طی رشد با پشت سر نهادن چالش ها به طور موفقیت آمیز و دریافت تشویق دیگران احساس عزت نفس و خود ارزشمندی را به دست می آورد. ولی این دسته از کودکان به علت ناکامی های مکرر از دریافت این گونه احساس ها محروم می مانند. کودکان کم توان ذهنی به خاطر مشکلاتی که دارند، به راحتی در جمع همسالان خود پذیرفته نمی شوند. گاها آشکارا طرد می شوند چرا که فاقد مهارت های اجتماعی پایه ای هستند که آنها را قادر می کند با دیگران دوست شوند و معاشرت کنند (42). کودکان کم توان علاوه بر مشکل در مهارت های پایه ی یادگیری ویژگی های دیگری مانند توجه و تمرکز پایین، حافظه ضعیف، محدودیت در تفکر انتزاعی و استدلال، دشواری در انجام فعالیت های روزانه و… دارند (43).

## ب-5- اختلالات شایعی که یکی از علایم آن ها کم توانی ذهنی است

همان طور که گفتیم کودکان کم توان ذهنی اغلب از نمای ظاهری تفاوت چندانی با دیگر کودکان ندارند. اما بعضی سندرم ها و اختلالات هم هستند که باعث کم توانی ذهنی می شوند و علایم ظاهری هم دارند. سخن درباره ی هرکدام از این اختلالات بسیار است و توضیح هر کدام به تنهایی مقاله ای می طلبد بنابراین در ادامه تنها به بررسی مختصر بعضی از این اختلالات می پردازیم.

## ب-5-1- سندروم داون

علت ایجاد سندروم داون اختلالی ژنتیکی و کروموزومی است. این افراد در سلولهایشان یک کروموزوم اضافه دارند و آمار نشان می دهد که درصد زیادی از کودکان کم توان ذهنی را تشکیل می دهند.

کودکان با تشخیص سندروم داون مراحل رشد ذهنی و جسمی را نسبت به کودکان عادی دیرتر و با تاخیر سپری می کنند. افراد مبتلا به سندروم داون انحراف چشم، زبان بزرگ، قد کوتاه، موهای لخت، اغلب عضلاتی شل و تعادلی ضعیف دارند. علاوه بر موارد ذکر شده بیماری های قلبی و ریوی در بین افراد با این تشخیص شایع است و ابتلا به بیماری های عفونی و تنفسی نسبت به افراد عادی سریعتر اتفاق می افتد. در این افراد درجات مختلفی از کم توانی ذهنی دیده می شود (44, 45).

## ب-5-2- میکروسفالی

میکروسفالی یک بیماری مغزی نادر است. در افراد مبتلا به میکروسفالی، دور سر به دلایلی از حد طبیعی کمتر است و طبعا مغزشان هم کوچکتر است. این اختلال ممکن است در بدو تولد خود را نشان دهد یا اینکه تا چند سال اول زندگی تشخیص داده نشود. البته در بسیاری از موارد، در سه ماهه سوم بارداری با سونوگرافی قابل تشخیص می باشد. بسته به این که چه قسمتی از مغز خوب تشکیل نشده، علایم می تواند متفاوت باشد (46). این افراد دور سر کم و پیشانی کوچک و شیب دار رو به عقب دارند که با نمودار استاندارد رشدی دور سر مطابق نیست. علاوه بر علامت دور سر این افراد معمولا علایمی مثل گریه های با صدای بلند، عضلات اسپاستیک (سفت)، تشنج و فعالیت بیش از حد دارند. در اغلب موارد فرد دچار میکروسفالی، کم توان ذهنی است ولی با این وجود ۱۵ درصد افراد مبتلا هوش طبیعی دارند (47).

## ب-5-3- هیدروسفالی

اختلال هیدروسفالی که آن را تحت عنوان آب آوردگی مغز هم می شناسند، اختلالی است ناشی از افزایش حجم مایع مغزی نخاعی انباشته شده در بطن ها و سایر حفره های مغز. در حالت عادی مایعی به نام مایع مغزی نخاعی در اطراف سراسر مغز و نخاع در جریان است. این مایع وظایفی از جمله تغذیه و حفاظت از سیستم عصبی مرکزی را برعهده دارد. حالا اگر به دلایلی مثل انسداد مسیر این مایع یا تولید بیش از اندازه آن توسط مغز، حجمش افزایش یابد، باعث تورم مغز و آسیب به قسمت هایی از مغز می شود (48).

اگر شروع بیماری در سنین پایین کودکی اتفاق بیافتد چون درزهای جمجمه هنوز باز است، منجر به افزایش غیر طبیعی اندازه دور سر می شود. ممکن است باعث علایمی مانند اختلالات حسی حرکتی، تعادلی و ذهنی در آن ها شود. شروع این بیماری گاها حتی ممکن است در سنین بالاتر و پس از بسته شدن درز های جمجمه باشد که بیشتر تعادل و حافظه را درگیر می کند. درصورتی که این بیماری در نوزادی تشخیص داده شود و آب اضافه ی مغز با روش های درمانی خاص خودش تخلیه گردد، عوارض کمی به جا خواهد گذاشت و حتی ممکن است کودک بعدها از نظر ذهنی تقریبا طبیعی باشد و تفاوت چندانی با هم سالانش نداشته باشد (49, 50).

## ب-5-4- اختلالات متابولیکی

در این دسته از اختلالات، بدن کودک نمی تواند بعضی از مواد مثل پروتئین ها، قند و یا چربی را به درستی استفاده کند. در نتیجه با سوخت و ساز نامناسب مواد زایدی در بدن تولید می شود که صدمات قابل توجهی را به مغز می رساند و تمام جنبه های رشد ذهنی، جسمی و حرکتی و… کودک را تحت تاثیر قرار می دهد. ولی اگر در روزهای اول پس از تولد تشخیص داده شود و رژیم غذایی مناسب برای کودک تجویز گردد، می توان تا حد زیادی از عوارض آن جلوگیری کرد. هنوز علت مشخصی برای ایجاد این عارضه شناخته نشده است لذا والدین باید از همان دوران نوزادی به عکس العمل های کودک توجه کنند و در صورت مشاهده ی علایمی مانند بی قراری زیاد، گریه های مداوم، دل درد شدید و یا خواب آلودگی بیش از حد، برای بررسی بیشتر نوزاد به پزشک مراجعه کنند (51, 52).

## ب-5-5- اختلالات طیف اوتیسم

این اختلالات تحت عنوان اختلالات نافذ رشدی هم خوانده می شوند زیرا جنبه های مختلف رشد را تحت تاثیر قرار می دهند. ولی شاید بتوان گفت مهمترین ویژگی این افراد تاخیر یا انحراف در رشد مهارت های اجتماعی، شناختی و ارتباط کلامی و غیرکلامی است. در واقع عدم برقراری صحیح ارتباط با محیط و اطرافیان است که باعث شده است نام کودکان درخود فرومانده (اوتیسم) را برای آن ها انتخاب کنند (53).

از دیگر علایم مهم این دسته از کودکان انجام یکسری حرکات تکراری و رفتارهای کلیشه ای نظیر چرخیدن به دور خود، بال بال زدن، تکرار کردن یکسری صداهای خاص و… می باشد. نشانه های این اختلال در سنین مختلف متفاوت است ولی معمولا این نشانه ها از زمان تولد تا ۳۶ ماهگی کودک ظاهر می شوند. اختلالات موجود در این طیف از جمله مواردی هستند که به محض تشخیص باید درمان و برنامه توانبخشی برای آنها شروع شود (54).

### ب-7- تشخیص کم توانی ذهنی

برای تشخیص کم توانی ذهنی ابتدا: سابقه خانوادگی. دوم: معاینه فیزیکی. سوم: تست های تشخیصی آزمایشگاهی شامل: مطالعه سیتوژنتیک، ارزیابی سندرم X شکننده، مطالعات آرایه ای و توالی یابی کل اگزوم بررسی می شود (55) (شکل1-1).

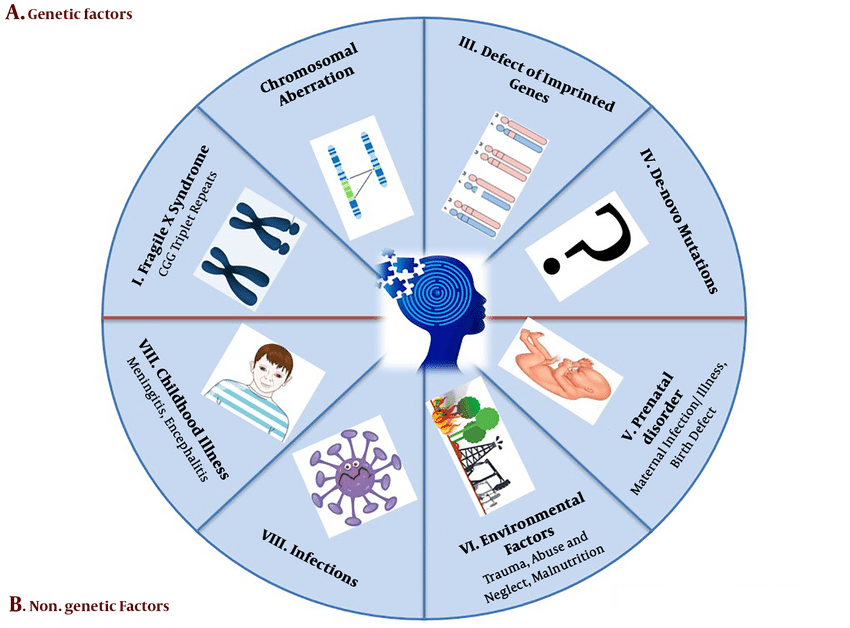
وقتی تشخیص کم توانی ذهنی روی یک فرد گذاشته می شود که این سه مورد در او صدق کند:

1) بروز این اختلال قبل از ۱۸ سالگی باشد. یعنی به کسی که بعد از ۱۸ سالگی، مثلا در اثر یک تصادف، کارکرد ذهنی اش دچار مشکل شده باشد، کم توان ذهنی نمی گوییم.

2) بهره ی هوشی فرد پایین تر از میانگین جامعه باشد. بهره هوشی یا آی کیو با تست های خاصی سنجیده می شود. میانگین نمره بهره هوشی افراد در جهان ۱۰۰ می باشد و بیشتر مردم بهره هوشی ای بین ۸۵ تا ۱۱۵ دارند. افرادی که بهره هوشی بالاتر از این مقدار دارند افراد با هوش برتر و افرادی هم که بهره هوشی شان از این مقدار پایین تر است، افراد دیرآموز ( با بهره هوشی بین ۷۰تا۹۰ ) و کم توان ذهنی ( پایین تر از ۷۰-۷۵ ) شمرده می شوند. به طور کلی شخصی که نمره بهره هوشی اش کمتر از ۷۰-۷۵ باشد کم توان ذهنی یا عقب مانده ذهنی شمرده می‌شود (56, 57).

فرد حداقل در دو مورد از حیطه های رفتارهای سازشی یا انطباقی محدودیت داشته باشد. این حیطه ها شامل مواردی چون برقراری ارتباط با دیگران، زندگی در منزل، مدیریت خود، کار، مهارت های تحصیلی، تفریح، مهارت های اجتماعی و بین فردی، مراقبت از سلامت و امنیت خود و استفاده از امکانات جامعه می باشند (58).

برای ارزیابی رفتار انطباقی کودک، روانپزشک یا یک کارشناس متخصص مهارت های روزمره او را مشاهده کرده و با همسالانش مقایسه می‌کند یا از طریق مصاحبه با مراقبین و اطرافیان فرد و ارزیابی های بالینی دیگر به اطلاعات مناسب دست می یابد (59).



**شکل 1-1: نمودار تشخیصی برای ارزیابی بیماران کم توان ذهنی (60)**

## ب-8- درمان عقب ماندگی ذهنی

متاسفانه برای بهبود وضعیت کودکانی که به کم توانی ذهنی مبتلا هستند داروی مخصوصی وجود ندارد. ولی برای توان‌بخشی به این افراد خدمات درمانی گوناگونی وجود دارد که به آن‌ها کمک می‌کند تا با محیط اطراف خود سازگارتر شوند. برخی برای درمان عقب ماندگی ذهنی از طریق طب سنتی نیز اقدام می‌کنند (61).

راه‌هایی وجود دارند که به بهبودی اوضاع کمک کرده و شرایط را برای زندگی بهتر این عزیزان فراهم می‌کنند. این راه‌ها در حالت کلی به سه اساس کلی تقسیم می‌شوند که به شرح زیر است.

* در مرحله اول باید عواملی که باعث تشدید این اختلال می‌شوند را در نظر داشت و روی آن‌ها کار کرد. برای نمونه اگر فرد به نوعی اختلال متابولیک دچار است باید با تنظیم رژیم غذایی شخص، موادی که به بدن او می‌رسند تحت کنترل باشند تا سبب تشدید اختلال در فرد نشوند (62).
* در مرحله دوم باید در نظر داشت که اگر اختلالات دیگری به همراه اختلال کم توانی ذهنی در فرد رخ می‌دهد کنترل شود. برای نمونه در برخی موارد اختلالات روانی نیز از دیگر مسائل مربوط به افراد کم توان ذهنی است که می‌توان آن را درمان یا مدیریت کرد (63).
* در مرحله سوم سرعت واکنش والدین به این موضوع است. از این جهت که در صورت اقدام به موقع می‌توان توانمند سازی کودک را زودتر شروع کرد تا کودک از جنبه‌های مختلف زندگی مانند تحصیلات، فراگیری مهارت‌ها و حمایت اجتماعی بی‌نصیب نماند (64).

### ب- 9- توانبخشی و درمان عقب ماندگی ذهنی

در رابطه با درمان کم توانی ذهنی باید گفت که درمان دارویی خاصی برای این موضوع وجود ندارد. ولی این موضوع نباید ما را از توانمند سازی آنها و کمک رساندن به آنها غافل سازد.

به طور کلی خدمات درمانی را که برای کم توانان ذهنی ارائه می شود، می توانیم به سه محور تقسیم کنیم:

1. محور اول درمان، عواملی را که سبب تشدید کم توانی می شوند هدف می گیرند. مثلا در یک فرد مبتلا به فنیل کتنوری (یک نوع اختلال متابولیک)، می توان با تنظیم رژیم غذایی مناسب، پروتئین فنیل آلانین را که زمینه ساز اختلال و کم توانی ذهنی است کاهش داد.

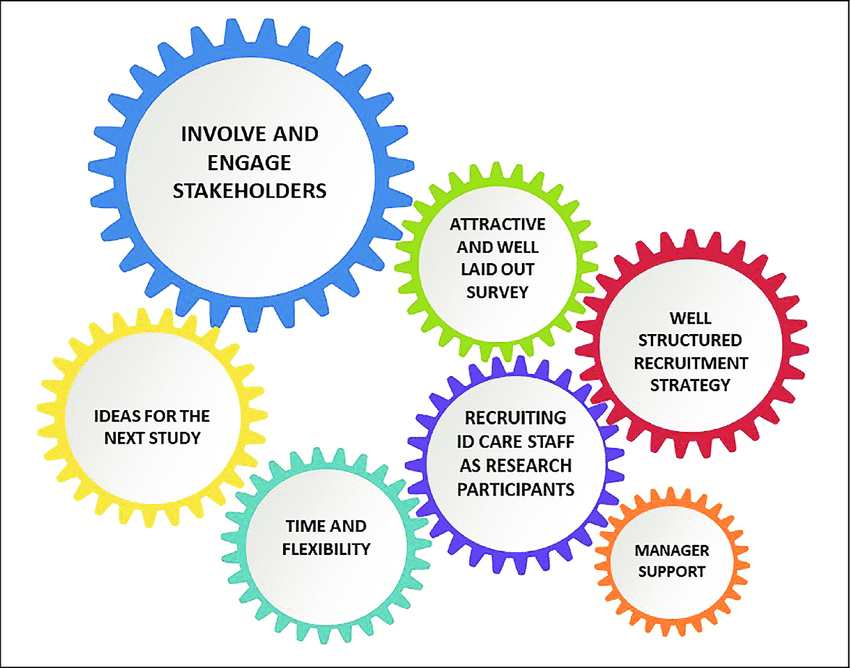
2. محور دوم اختلالات مختلفی را که با کم توانی ذهنی همراه می شوند هدف می گیرد و از این طریق به افزایش عملکرد فرد می پردازد؛ مثلا در کم توانان ذهنی اختلالات روانی مختلف شیوع دارد که باید درمان و مدیریت شوند.

3. محور سوم به مداخله ی زود هنگام روی جنبه های ذهنی، تحصیلات ویژه، آموزش مهارت های مختلف، توانمند سازی و حمایت اجتماعی این افراد می پردازد و از این طریق می کوشد تا کیفیت زندگی آنها را افزایش دهد (65-67).

اعضای اصلی تیم درمان، توانبخشی و آموزش کودکان کم توان ذهنی عبارتند از:

* پزشک های متخصص اطفال
* روانپزشکی و مغز و اعصاب
* کاردرمان
* گفتاردرمان
* روانشناس
* معلمین کودکان استثنایی و خانواده آن ها

عناصر مشارکت موفق خدمات و کارکنان کم توانی ذهنی در شکل 1-2 آورده شده است. بسته به مشکل خاص کودک ممکن است به بینایی سنج، فیزیوتراپیست، مددکار اجتماعی و متخصصین دیگر نیز ارجاع داده شود (68).



**شکل 1-2: عناصر دخیل در مشارکت موفق خدمات و کارکنان کم توانی ذهنی (69)**

## ب-9- ژنتیک و ناتوانی ذهنی

مهم ترین عامل تولد کودکان کم توان ذهنی، اختلالات ژنتیکی است که ازدواج های خویشاوندی علت بخش عمده ای از این اختلالات ژنتیکی می باشند. تا کنون بیش از ۴۵۰ نوع عقب ماندگی ذهنی با علت تک ژنی شناخته شده است و علاوه بر آن سندرم های گوناگونی شامل عقب ماندگی ذهنی با علت ناشناخته وجود دارد (70).

عوامل ژنتیکی عامل 70 درصد از موارد کم توانی ذهنی میباشند که به دو گروه اصلی تقسیم می شوند: ناهنجاری های کروموزومی و اختلالات تک ژنی. ناهنجاری های کروموزومی در 4 تا 28 درصد از موارد کم توانی ذهنی مشاهده می شوند و شامل ناهنجاری های شمارشی و ساختاری هستند (71). در نوع شمارشی تغییر در تعداد کروموزوم ها و در نوع ساختاری یکی از تغییرات حذف، مضاعف شدگی، واژگونی و یا جابجایی کروموزومی صورت می گیرد (72).

اختلالات تک ژنی از لحاظ نوع وراثت به دو دسته ی وابسته به جنس و اتوزومی تقسیم می شوند. کم توانی ذهنی وابسته به جنس 5-12 درصد از کل موارد کم توانی ذهنی را شامل می شود و بر اثر بروز اختلال در ژن ها روی کروموزوم ایکس ایجاد می شود. تا کنون بیش از 82 ژن برای کم توانی ذهنی (نشانگانی و غیرنشانگانی) وابسته به جنس شناسایی شده است (73).

کم توانی ذهنی اتوزومی از هتروژنی و درصد بالایی برخوردار است، که نوع مغلوب آن به دلیل هتروژنی زیاد و کمبود خانواده های مناسب برای آنالیز پیوستگی (خانواده های دارای شجره بزرگ و تعداد افراد مبتلای زیاد) به خوبی شناخته نشده است. تاکنون فقط 10 ژن و 24 جایگاه ژنی مختلف برای عقب ماندگی ذهنی اتوزومی مغلوب غیرنشانگانی شناسایی شده است (74).

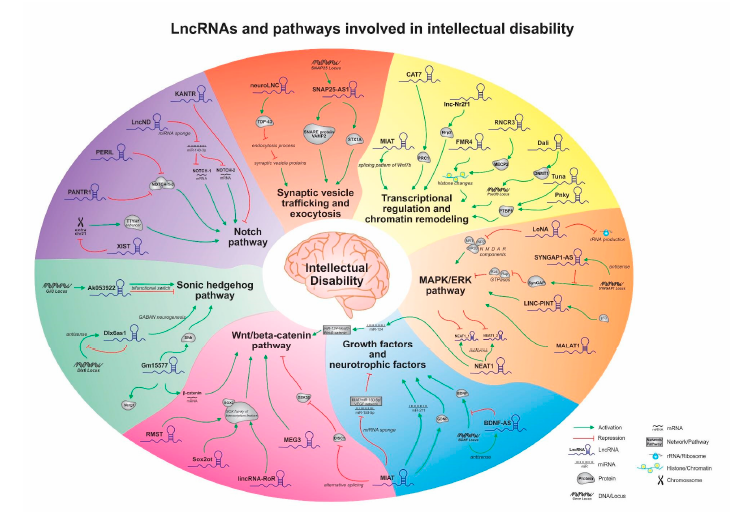
RNA های طولانی غیرکدکننده شامل گروه بزرگی از رونوشت ها هستند که می توانند از طریق مکانیسم های مختلف عمل کنند و در فرآیندهای توسعه عصبی شرکت کنند. از این نظر، درک نقش‌هایی که آن‌ها در این زمینه پیچیده ایفا می‌کنند، راه ارزشمندی برای دریافت بینش‌های جدید در مورد چگونگی پیدایش و توسعه NS-ID است (75). Isabela و همکاران (76) در مطالعه ای به بررسی RNA های طولانی غیرکدکننده و نقش آن ها در مسیرهای مولکولی دخیل در ناتوانی ذهنی و رشد عصبی پرداخته اند (شکل1-3). از طرفی شکل1-4، مسیرهای سیگنالینگ سیناپسی شماتیک درگیر در ناتوانی ذهنی مولکول های پیش سیناپسی و پس سیناپسی که در تشکیل، بلوغ و تنظیم سیناپس نقش دارند را نشان می دهد.

## ب-9-1- ژن ZBTB16

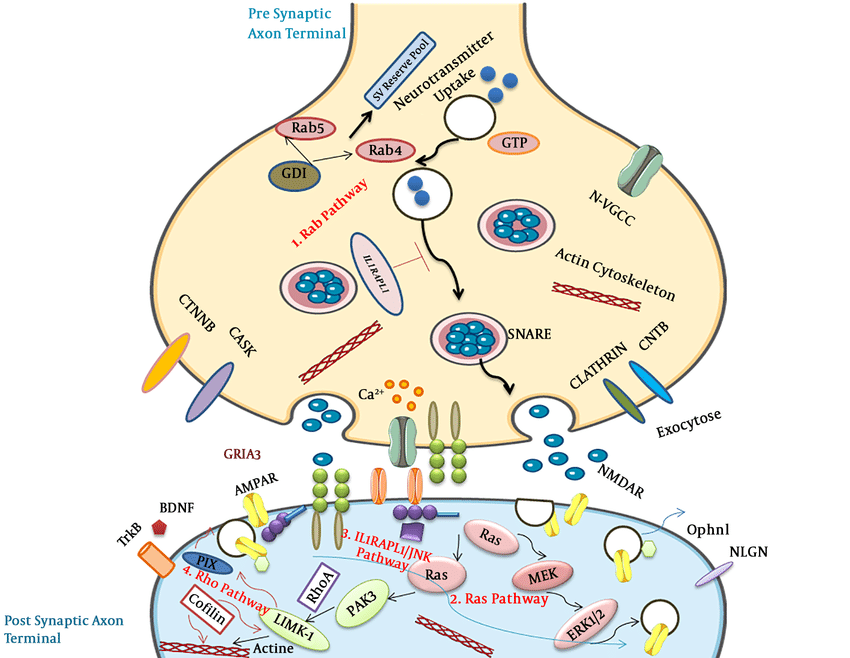
پروتئین ۱۶ حاوی دومِـین BTB و انگشت روی (Zinc finger and BTB domain-containing protein 16) یک پروتئین است که در انسان توسط ژن «ZBTB16» کُدگذاری می‌شود. این ژن که بر روی کروموزوم ۱۱ واقع شده، یک فاکتور رونویسی دارای انگشت روی را کُدگذاری می‌کند و در پیشبرد چرخه سلول نقش دارد (77). ZBTB16 (PLZF) یک فاکتور رونویسی را رمزگذاری می کند که شامل یک دامنه برهمکنش پروتئین-پروتئین BTB/POZ در N ترمینال و یک دامنه اتصال DNA انگشت روی نوع C2H2 در C ترمینال آن است که نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی ایفا می کند. نگهداری و تکثیر سلول های بنیادی، تمایز سلولی، اسپرم زایی، رشد اسکلتی عضلانی، خون سازی، آپوپتوز، بازسازی کروماتین، متابولیسم و ایمنی. این پروتئین در تکثیر سلول های پیش ساز عصبی و تمایز عصبی در طول رشد نقش دارند، با این حال، چگونگی نقش ZBTB16 در عملکرد مغز و رفتارهای ناشناخته است (78).

جنبه دیگر نقش Zbtb16 عملکرد آن در متابولیسم گلوکز است. بیان Zbtb16 بیان ژن‌های مرتبط با گلیکولیز (Hexkn2، Pkm2) را هدایت می‌کند و می‌تواند ظرفیت گلیکولیتیک را افزایش دهد. مطابق با این نقش، بیان Zbtb16 استفاده از کربوهیدرات را در شرایط آزمایشگاهی افزایش می دهد. در مجموع، این نتایج نشان می دهد که Zbtb16 متابولیسم اکسیداتیو را ترویج می کند (79).

بنابراین اولین قدم و مهمترین بخش مشاوره ژنتیک ، تشخیص نوع و علت عقب ماندگی ذهنی و در موارد ارثی تعیین نحوۀ وراثت با توجه به شجره نامه است. به طور کلی می توان گفت علت عقب ماندگی ذهنی در یکی از چهار گروه جهش های ژنی، اختلالات کروموزومی، علل محیطی و اختلالات چند عاملی جای می گیرد.



**شکل1-3: نمایش شماتیک سیگنالینگ هایی که توسط آن** **RNA های طولانی غیرکدکننده با ناتوانی ذهنی مرتبط هستند (76).**

****

**شکل1-4: مسیرهای سیگنالینگ سیناپسی شماتیک درگیر در ناتوانی ذهنی (80)**

## ب-10- توالی یابی سنگر (sanger)

توالی یابی سنگر(Sanger) زیربنای همه تکنولوژي‌های توالی یابی است که هم اکنون مورد استفاده قرار می‌گیرند و ژنومیکس (علم مطالعه ژنوم‌) را شکل داده است.

در تکنیک توالی یابی سنگر (Sanger) مولکول‌ های DNA تک‌ رشته‌ ای که فقط در حد یک نوکلئوتید با هم تفاوت دارند، می‌ توانند توسط الکتروفورز در ژل پلی آکریل آمید حاوی اوره به عنوان ترکیب دناتوره کننده و یا سایر ترکیبات دناتوره کننده که باعث می شود DNA به صورت تک رشته ای باقی بماند با ولتاژ بالا از یکدیگر جدا شوند (81).

ایجاد کتابخانه‌ های DNA، پایه تکنیک‌ های توالی یابی ژنوم بود و انجام آن را ممکن ساخت. [فردریک سنگر (Frederick Sanger)](https://en.wikipedia.org/wiki/Frederick_Sanger)  که یک زیست شیمیدان انگلیسی بود در سال ۱۹۷۴ تکنیکی را جهت تعیین توالی ژن‌ ها در محیط in vitro  ابداع کرد که تاکنون بیشتر از همه مورد استفاده قرار گرفته است، این تکینک توالی یابی Sanger نام گرفت که به روش خاتمه زنجیره سازی یا روش دی داکسی نیز معروف است و اساس آن آنزیمی می‌باشد (82).

توالی یابی Sanger زیربنای همه تکنولوژي‌های توالی یابی است که هم اکنون مورد استفاده قرار می‌گیرند و ژنومیکس (علم مطالعه ژنوم‌) را شکل داده است. جهت تعیین توالی ژنوم‌های فراوانی مانند E. Coli، مگس سرکه، کرم‌های نواری (نماتودها) ، موش و انسان از تکنیک توالی یابی Sanger استفاده شده است.

توالی یابی سنگر مثل فرایند تکثیر DNA و تکنیک  [PCR](https://darwino.ir/blogs/pcr-technique/) به پرایمر، DNA پلیمراز، توالی الگوی تک‌رشته‌ای و دئوکسی نوکلئوتیدها نیاز دارد. در ابتدا سوبسترای واکنش عمدتا DNA نوترکیبی بود که به وسیله دناتوراسیون می توانست به پرایمر توالی‌‌یابی اختصاصی رشته متصل شود. قطعات DNA در وکتورهای فاژمیدی هم چون وکتور M13 که در اثر دستکاری می‌توانستند DNA های نوترکیب تک‌رشته‌ای تولید کنند، نیز کلون می‌شدند (83).

روش جایگزینی که امروزه نیز کاربرد فراوانی دارد ایجاد DNA تک رشته ای  از طریق تعیین توالی چرخه (Cycle sequencing) یا تعیین توالی تکثیر خطی است که در این حالت روند کار شبیه PCR است ولی فقط از یک پرایمر استفاده می شود که همین امر سبب می شود که محصول PCR به صورت خطی (و نه تصاعدی) افزایش یابد و پلیمراز مورد استفاده هم نباید دارای خاصیت proofreading باشد تا سرعت الحاق نوکلئوتیدها افزایش پیدا کند (84).

در تکنیک توالی یابی سنگر، درصد معینی از نوکلئوتیدها که فاقد 3-هیدروکسیل هستند و دی دئوکسی نوکلئوتید (Dideoxynucleotide: ddNTP)  نامیده می‌شوند که با دئوکسی نوکلئوتیدهای نرمال مخلوط می‌شوند. آنزیم‌های پلیمراز نمی توانند دئوکسی نوکلئوتیدها را از دی دئوکسی نوکلئوتیدها افتراق دهند.

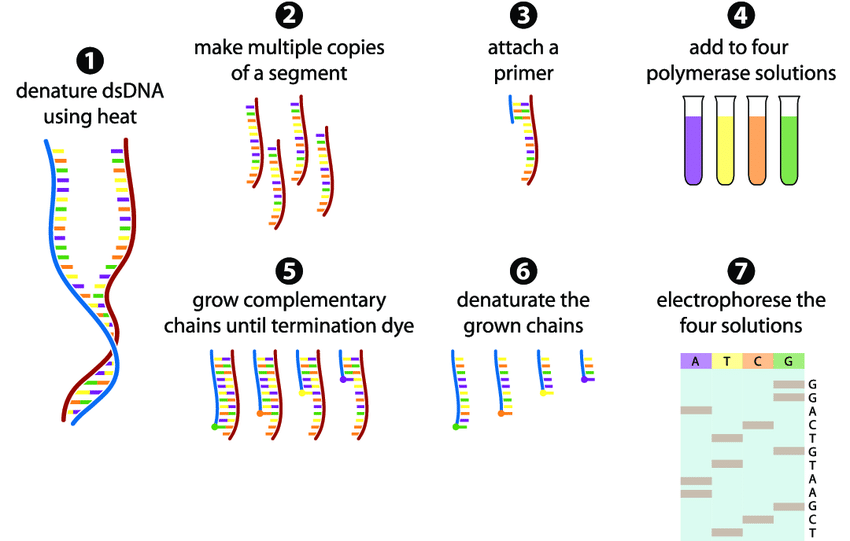
DNA پلیمراز افزودن نوکلئوتید بعدی را با اتصال فسفات روی کربن ۵ آن، به ۳-هیدروکسیل نوکلئوتید پیشین و با تشکیل پیوند فسفودی‌استر انجام می‌دهد پس صورتی که یکی از نوکلئوتیدها فاقد ۳-هیدروکسیل باشد، نوکلئوتید دیگری اضافه نخواهد شد و زنجیره به طور ناگهانی خاتمه می یابد. نسبت دئوکسی ریبونوکلئوتیدها بسیار بالاتر از  دی دئوکسی ریبونوکلئوتیدهاست، به همین دلیل خاتمه سنتز زنجیره جدید در نزدیکی پرایمر اتفاق نمی افتد (85).

این امکان  وجود دارد که پلیمریزاسیون چند صد نوکلئوتید، پیش از آن که باز خاتمه دهنده رشته اضافه شود رخ دهد. در چنین واکنش‌هایی عمدتا حداکثر طول قطعات ۸۰۰ نوکلئوتید خواهد بود. چهار واکنش جداگانه برای ddTTP، ddGTP، ddCTP، ddATP انجام می شود ( در هر واکنش یکی از نوکلئوتیدهای طبیعی از نوع نشاندار رادیواکتیو استفاده می شود).

در تکنیک توالی یابی Sanger مولکول‌های DNA تک‌رشته‌ ای که فقط در حد یک نوکلئوتید با هم تفاوت دارند، می‌ توانند توسط الکتروفورز در ژل پلی آکریل آمید حاوی اوره به عنوان ترکیب دناتوره کننده و یا سایر ترکیبات دناتوره کننده که باعث می شود DNA به صورت تک رشته ای باقی بماند با ولتاژ بالا از یکدیگر جدا شوند (86).

از [اتورادیوگرافی](https://en.wikipedia.org/wiki/Autoradiograph) جهت رؤیت نتیجه استفاده می کنند. خواندن اتورادیوگرام از سمت پایین ژل به بالا صورت می گیرد و در این حالت توالی های به دست آمده مکمل توالی اصلی می باشند.

داده‌ ها نیز به صورت دستی وارد کامپیوتر می‌شوند. به همین دلیل این پروسه بسیار طولانی است، ۱۲ ساعت برای الکتروفورز، ۱۲ ساعت برای ایجاد اتورادیوگرام و مدت زمان بسیار طولانی‌ تری برای خواندن توالی‌ها موردنیاز است هم چنین احتمال وقوع اشتباه نیز بالا و استفاده از بازهای لیبل شده با مواد رادیواکتیو خطرناک است به همین دلیل از تعیین توالی سنگر به روش اتومات استفاده می شود که کارآیی آن را افزایش می دهد. در این روش توالی های تا 400 نوکلئوتید را می توان تعیین کرد (87) (شکل 1-5).



**شکل 1-5: روش توالی سنگر در 7 مرحله. (1) قطعه dsDNA به دو قطعه ssDNA دناتوره می شود. (2) قطعه ای از ssDNA به میلیون ها نسخه تکثیر می شود. (3) یک آغازگر که مربوط به یک انتهای قطعه است متصل شده است. (4) قطعات به چهار محلول پلیمراز اضافه می شوند. هر محلول شامل چهار نوع باز است اما فقط یک نوع نوکلئوتید پایانی دارد. (5) زنجیره رشد می کند تا زمانی که یک نوکلئوتید پایانی به طور تصادفی اضافه شود. (6) قطعات dsDNA حاصل دناتوره می شوند تا یک سری ssDNA با طول های مختلف بدست آید. (7) قطعات با الکتروفورز جدا شده و دنباله خوانده می شود (88).**

تعیین توالی سنگر به روش اتومات؛ مشکل زمان بر بودن و بالا بودن احتمال وقوع اشتباه تعیین توالی سنگر را حل کرده است.

با توجه به آن چه گفته شد انجام برخی اصلاحات الزامی بودند به خصوص اگر قصد ما از توالی یابی، ژنوم های بزرگی مثل ژنوم انسان بود. به همین منظور در اوایل دهه 1990  ماشین های توالی یابی اتوماتیک به صورت تجاری به بازار عرضه شدند که هم  سریع تر بودند و هم احتمال خطا در آن ها به مراتب کم تر شد. اگر چه هزینه راه اندازی این تکنیک به دلیل گران بودن دستگاه آنالیز کننده توالی بسیار بالاست ولی از آنجایی که آنالیز چندین نمونه به صورت هم زمان است در نهایت هزینه توالی یابی هر نمونه بسیار پایین است (89).

در این نوع توالی یابی، مخلوط واکنش دارای ۴ نوع دئوکسی نوکلئوتید نرمال، ۴ نوع دی دئوکسی نوکلئوتید، یک پرایمر، DNA الگو و DNA پلیمراز می‌باشد که جهت جداسازی دی دئوکسی نوکلئوتیدها از هم، از چهار رنگ فلورسنت متفاوت به عنوان لیبل برای هر یک از چهار واکنش اختصاصی باز استفاده می‌ شوند که با استفاده از رنگ‌ هایی که طول موج نشری متفاوت دارند، می‌توان هر چهار واکنش را به صورت یک نمونه در چاهک ژل وارد کرد (90).

مراحل انجام واکنش دقیقا همانند PCR معمولی است که تکثیر در دستگاه Thermal cycler انجام می گیرد. در هنگام پلیمریزاسیون، این امکان وجود دارد که دی دئوکسی نوکلئوتیدها متصل شده و زنجیره DNA خاتمه یابد. نسبت دی دئوکسی نوکلئوتیدها به دئوکسی نوکلئوتیدها باید طوری باشد که توقف همانندسازی حتما در هر کدام از بازهای A، G، T و C صورت بگیرد (91).

بعد از آن که پلیمراز از توالی الگو هزاران نسخه که هر کدام در نوکلئوتید متفاوتی خاتمه پیدا کردند، تهیه کرد، تمام مخلوط واکنش در یک ستون الکتروفورز می شود که قطعات DNA از منبع تحریکی همانند لیزر عبور می‌کنند. در این هنگام، هم زمان با عبور قطعات DNA از نقطه‌ای مشخص در ژل، سیگنال‌های فلورسنت شناسایی و ضبط می‌شوند. در نهایت، یک intensity profile برای هر یک از فلوروفورها ایجاد می شود که در آن، هر یک از چهار رنگ باز متفاوتی را نشان می دهند. هم زمان اطلاعات به طور الکترونیکی ذخیره‌ می‌شوند.

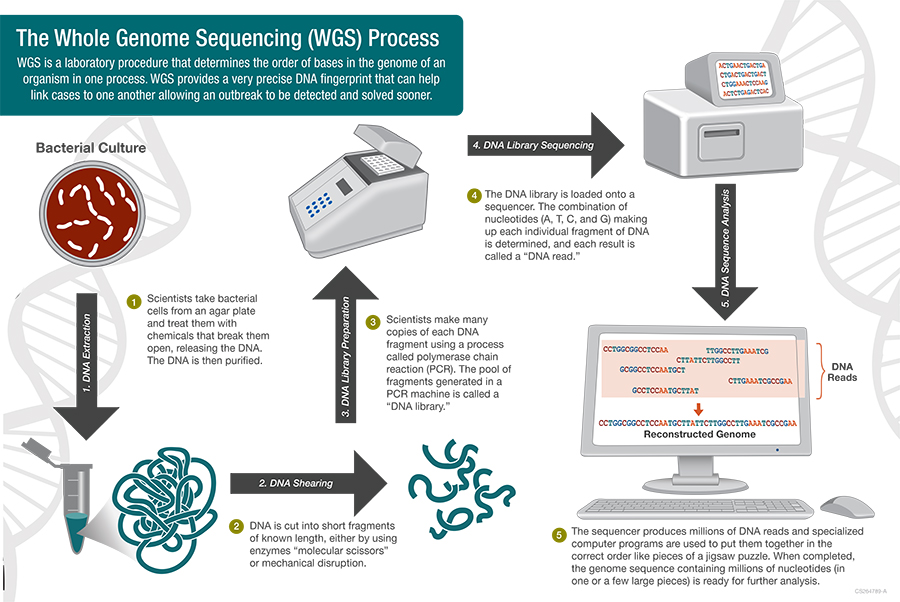
ابتدا از ژل slab پلی آکریل آمید برای این منظور استفاده می‌کردند، ولی با توالی یابی capillary که نمونه‌های DNA از طریق لوله‌های شیشه‌ای موئین بلند و بسیار نازکی که قطرشان در حدود 0/1 میلی‌متر است و دارای [ژل پلی آکریل آمید](https://darwino.ir/blogs/dna-electrophoresis-technique/) هستند، الکتروفورز می‌شوند، می توان ظرفیت فرایند توالی یابی DNA را به میزان زیادی افزایش داد (92).

## ب-11- توالی یابی کل اگزوم

ژنوم انسان حاوی حدود 3 میلیارد جفت باز است که تقریباً 1-5٪ از آن ها به پروتئین های عملکردی بدن تبدیل می شوند. جهش در این پروتئین ها به احتمال زیاد منجر به یک پیامد مستقیم فنوتیپی و یا حتی بیماری می شود. اگرچه توالی یابی کل ژنوم (WGS) اطلاعات خوبی در مورد جهش های تک نوکلئوتیدی، ساختاری یا اختلالات تعداد کپی فراهم می کند، اما توالی یابی کل اگزوم (WES) اغلب زمانی که زمان یا منابع محدود است برای شناسایی عامل ژنتیکی بیماری منطقی تر است. برای دانشمندانی که به جهش‌ها یا ژن‌های مرتبط با بیماری‌های خاص نگاه می‌کنند، توالی یابی کل اگزوم نتایج دلخواه را ارائه می‌دهد (93).

فناوری توالی یابی اولیه، به نام توالی یابی سانگر (به نام دانشمند سازنده آن، فردریک سانگر، نامگذاری شد)، پیشرفتی بود که به دانشمندان کمک کرد تا کد ژنتیکی انسان را تعیین کنند، اما این تکنیک بسیار زمان بر و پرهزینه است. برای سریع‌تر کردن روش سانگر آن را به صورت ماشینی و خودکار در آوردند. امروزه هنوز در آزمایشگاه‌ها برای تعیین توالی قطعات کوتاه DNA از توالی یابی سنگر استفاده می‌شود، اما سال‌ها طول می‌کشد تا تمام DNA یک فرد (که به عنوان ژنوم فرد شناخته می‌شود) توالی‌یابی شود. توالی یابی نسل بعدی (NGS) که شامل توالی یابی کل ژنوم (Whole-Genome Sequencing) و توالی یابی کل اگزوم (Whole-Exome Sequencing) این فرآیند را سرعت بخشیده است (تنها چند روز تا چند هفته طول می کشد تا توالی ژنوم انسان را تعیین کند) در حالی که هزینه آن را نیز بسیار کاهش داده است (94).

توالی یابی کل اگزوم بر روی مناطق کد کننده پروتئین ژنومی (اگزون) تمرکز می کند. اگرچه WES به معرف‌های اضافی (پروب) و برخی مراحل اضافی (هیبریداسیون) نیاز دارد، اما این یک روش مقرون‌به‌صرفه و پرکاربرد NGS است که به معرف‌های توالی‌یابی کمتری نیاز دارد و در مقایسه با WGS زمان کمتری برای انجام آنالیز بیوانفورماتیک می‌برد (شکل 1-6). اگرچه اگزوم انسان تنها 1 تا 5 درصد از ژنوم را نشان می دهد، اما تقریباً 85 درصد از جهش های شناخته شده مرتبط با بیماری را شامل می شود. به این ترتیب، پزشکانی که WES را انجام می دهند به پوشش جامعی از جهش های در ناحیه کد شونده مانند جهش های تک نوکلئوتیدی (SNVs) و درج ها / حذف ها (indels) دست می یابند. علیرغم آماده‌سازی طولانی‌تر نمونه به دلیل مرحله اضافی غنی‌سازی هدف، پزشکان و بیماران از توالی‌یابی سریع‌تر و تجزیه و تحلیل ساده تر داده‌ها در مقایسه با WGS بهره می‌برند. به علاوه WES عمق توالی یابی بیشتری را برای محققان علاقه مند به شناسایی جهش های ژنتیکی برای کاربردهای متعدد از جمله ژنتیک جمعیت، تحقیقات بیماری های ژنتیکی و مطالعات تحقیقاتی سرطان فراهم می کند (95, 96).



**شکل 1-6: گردش کار توالی Exome**

در حالی که تغییرات ژنتیکی بیشتری را می توان با توالی یابی کل اگزوم و کل ژنوم نسبت به توالی یابی تنها ژن های انتخابی (پانل های هدفمند ژنی) شناسایی کرد، اهمیت بسیاری از این اطلاعات ناشناخته است. از آنجایی که همه تغییرات ژنتیکی بر سلامت تأثیر نمی‌گذارند، دشوار است که بدانیم آیا گونه‌های شناسایی شده در شرایط مورد نظر و بیماری دخیل هستند یا خیر. گاهی اوقات، یک جهش شناسایی شده با یک اختلال ژنتیکی متفاوت همراه است که هنوز تشخیص داده نشده است که این یافته‌ها را یافته‌های اتفاقی یا ثانویه می‌گویند (97).

علاوه بر استفاده در کلینیک، توالی یابی کل اگزوم و کل ژنوم روش های ارزشمندی برای محققان است. مطالعه گسترده بر روی توالی‌های اگزوم و ژنوم می‌تواند به تعیین اینکه آیا تغییرات ژنتیکی جدید با شرایط سلامت انسان ها مرتبط است یا خیر و تشخیص بیماری ها در آینده کمک کند (98).

# فصل دوم

# بررسی متون

## 1-2. بررسی متون

در سال 2020، Gug و همکارانش در رومانیا در یک کیس ریپورت، یک کودک دختر هفت ساله با اختلالات کم توانی ذهنی، اوتیسم و نارسایی قلبی مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنالیز کروموزومی وجود اختلال ژنتیکی نادر De novo 8p21.3→ p23.3 Duplication With t(4;8)(q35;p21.3) را نشان داد که منجر به بروز ناتوانی ذهنی در بیمار شده بود (11).

در سال 2019، در چین Bai Z و همکارانش یک خانواده دارای کودک با کم توانی ذهنی را جهت بروز موتاسیون ژنتیکی مورد ارزیابی قرار دادند. بیمار مورد مطالعه دارای تاخیر در گفتار و عدم توانایی در مراقبت از خود داشته است. پس از بررسی کل افراد خانواده مشخص شد که مادر دارای دو واریانت c.1708dupC (p.R570Pfs\*80)  و c.1705T to C (p.S569P) و پدر دارای واریانت c.2273delA (p.N758Tfs\*22)  بوده اند. واریانت های شناخته شده واقع در ژن TRAPPC9 بوده اند که مسبب بروز کم توانی در کودک شده اند (12).

Li و همکاران در سال 2019 در چین، 76 بیمار دارای کم توانی ذهنی که تست ژنتیکی اولیه آنها از نظر بروز اختلال ژنتیکی منفی بوده اند مجددا مورد اریابی قرار گرفتند. با استفاده از روش توالی یابی کل اگزوم، 8 بیمار دارای اختلال ژنتیکی بوده اند که این نقایص شامل: IRF2BPL، PACS2، PPP3CA، SCN3A، KCNQ5، HIBCH، CAMK2A، و HDAC8 بوده اند (13).

در سال 2019 Huo و همکارانش در چین یک بیمار هفت ساله دارای کم توانی ذهنی وابسته به x نادر را شناسایی کردند که در نتیجه موتاسیون در ژن AP1S2 بوجود آمده بود. پس از بررسی شجره نامه بیمار مشخص شد که 4 نسل قبل از بیمار دارای نقص AP1S2 بوده اند. این نقص با طیف گسترده علائم بالینی همراه می باشد (14).

در سال 2018، Alsahli و همکاران در عربستان 3 خانواده که دارای فرزند مبتلا به کم توانی ذهنی بوده اند را بررسی کردند. در این مطالعه بیماران علاوه بر کم توانی دارای اختلالات دیگری همچون Cerebellar ataxia نیز بوده اند. نتایج توالی یابی کل اگزوم نشان داد که موتاسیون در امینوفسفولیپید ترانسپورترها، class I, type 8A، و ATP8A2 از شایعترین نقص های ژنتیکی بودند (15).

در سال 2015، Grozeva و همکارانش در انگلیس، در یک مطالعه کوهورت 986 بیمار دارای اختلالات ذهنی را از نظر وجود نقص ژنتیکی در 565 ژن درگیر را بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که 8 درصد از بیماران دارای موتاسیون های Loss of function و 3 درصد دارای واریانت های missense بوده اند. SETD5, ATRX, CUL4B, MECP2 و ARID1B  از شایعترین موتاسین های ژنتیکی بوده اند (16).

## 2-2. اهداف تحقيق ( شامل اهداف علمي , کاربردي و ضرورت هاي خاص انجام تحقيق )

### 1-2-2. هدف کلی

بررسی مولکولی به روش توالی یابی کل اگزوم برای 310 ژن درگیر در کم توانی ذهنی در خانواده‌ای با یک مبتلا در شهر عماره

### 2-2-2. اهداف جزیی:

1- تعیین نوع ژن جهش یافته در خانواده

2- تعیین نوع جهش ژنی شناسایی شده

3- تعيين ارتباط جهش شناسايی شده در يكي از ژن هاي مورد مطالعه با فنوتيپ بيماری

4- تعيين جهش شناسايی شده در يكي از ژن هاي مورد مطالعه در خانواده بيمار تحت مطالعه

### 3-2-2. اهداف کاربردی:

1- تشخیص بیماری احتمالی جنین حین بارداری و قبل از تولد

2- جلوگیری از تولد نوزاد مبتلا به کم توانی ذهنی

3- تشخیص و تایید بیماری

4- تعیین نوع توارث کم توانی ذهنی در خانواده با توجه به نوع ژن جهش یافته.

## 2-3. سوالات پژوهشی

-موتاسیون‌ دخیل در بروز بروز کم توانی ذهنی ژنتیکی چگونه است؟

-میزان تاثیر و قدرت تکنیک NGS در شناسایی جهش‌ درگیر در بیمار دارای کم توانی ذهنی ژنتیکی چگونه است؟

-آیا ارتباطی بین موتاسیون‌ها با علائم بالینی بیمار وجود دارد؟

### 4-3. فرضیات پژوهشی

-شیوع موتاسیون‌ دخیل در بروز کم توانی ذهنی ژنتیکی زیاد است

-تاثیر و قدرت تکنیک NGS در شناسایی جهش‌ درگیر در بیمار دارای کم توانی ذهنی ژنتیکی مناسب است

-ارتباطی بین موتاسیون‌ با علائم بالینی بیمار وجود دارد

**در صورت داشتن هدف کاربردي بيان نام بهره وران ( اعم از مؤسسات آموزشي و پژوهشي و دستگاه هاي اجرائي و غيره )**

پزشکان‌، مراکز مشاوره ژنتیک و مراکز تحقیقاتی

### 3-6. جنبه جديد بودن و نوآوري طرح :

در این مطالعه در صورت وجود ارتباط بین جهش ژنی با بیماری ناتوانی ذهنی ، می‌توان از آن‌ به عنوان یک مارکر مفید در تشخیص و کنترل بیماران مبتلا به ناتوانی ذهنی نقش دارد، برای هدفمندسازی روند درمان استفاده کرد.

# فصل سوم

# مواد و روش ها

## ****الف- جامعه مورد مطالعه، نمونه گیری و طرح پژوهش****

پژوهش حاضر از نوع مطالعه تحلیلی موردی- شاهدی می باشد. مطالعه بر روی روی خانواده‌ای با یک مبتلای مشکوک به بیماری اسکلروز جانبی آمیوتروفیک در شهر تهران صورت گرفت. گروه کنترل شامل تعدادی از افراد سالم بدون سابقه فردی یا خانوادگی از بیماری اسکلروز جانبی آمیوتروفیک هستند. بر این اساس، پس از اخذ رضایت نامه کتبی از بیماران و تمایل آن ها به شرکت در مطالعه مورد نظر حدود 2 سی سی خون از آن ها گرفته شده و در لوله ی حاوی ضد انعقاد EDTA ریخته می شود و نمونه تا انجام آزمایش در دمای 70-درجه سانتی گراد نگه داری میشود. سپس پارامترهای کلینیکی شامل: سن بروز بیماری، سابقه قبلی، سابقه خانوادگی، علایم بالینی، و علایم آزمایشگاهی از سوابق پزشکی بیماران ثبت می شود.

## ب- روش کار

## ب-1. استخراج DNA از خون محیطی

برای بررسی وجود یا عدم وجود جهش در 53 ژن های درگیر، از تعیین توالی DNA به روش سنگر که فرایندی برای تعیین دقیق ترتیب نوکلئوتیدها درون مولکول DNA می‌باشد استفاده می شود. در ابتدا محتوای DNA نمونه ها با استفاده از کیت سیناکلون و دستورالعمل شرکت سازنده استخراج می شود (شکل 3-1). در این کیت از ستون های سیلیکایی برای خالص سازی DNA استفاده شد. نمونه با کمک آنزیم و دترژنت های مختلف لیز و در شرایط نمکی بالا، DNA موجود در لیز سلولی به غشای سیلیکایی ستون ها متصل شده و ناخالصی ها از ستون خارج و در میکروتیوب جمع آوری شد. جهت حذف الکل، پروتئین ها، نمک ها و اضافات سلولی ستون توسط آب دیونیزه یا بافر با قدرت یونی پایین شستشوی و DNA خالص در میکروتیوب جمع آوری شد .برای بدست آوردن بهترین کیفیت DNA تمامی نمونه ها در همان روز استخراج شدند**.**



**شکل 3-1 : کیت استخراج DNA**

## ب-2-2 مواد مورد استفاده برای انجام واکنش PCR

ابتدا پرایمر‌های خاص جهت تکثیر قطعه مورد نظر ما با روش PCR، طراحی شدند (جدول 3-1). سپس برای انجام واکنش PCR از یک Master mix آماده شده تجاری به همراه سایر مواد اورده شده در جدول 3-2 استفاده گردید.

**جدول3-1. پرایمر ژن‌**

|  |  |
| --- | --- |
| ZBTB16 | F: GAGCACCATGGATCTGACAA |
| R: GGCGAGAGGAAGTCCAAAGT |

**جدول 3-2 مواد مصرفی استفاده شده برای انجام واکنش PCR**

|  |  |
| --- | --- |
| **مواد مصرفی** | **(μL) مقادیر** |
| Master mix 2X\* | 8 |
| DW | 12 |
| DNA | 3 |
| حجم کل | 25 |

\*شامل Taq DNA Polymerase، dNTPs، MgCL2 و Reaction Buffers می باشد.

**جدول 3-3. سیکل دمایی PCR**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| مرحله | تعداد تکرار | بخش | دما(درجه سانتیگراد) | مدت زمان |
| اول | 1 سیکل | واسرشت اولیه | 95 | 5 دقیقه |
| دوم | 29 سیکل | واسرشت ثانویه | 95 | 1 دقیقه |
| اتصال | 95 | 45 ثانیه |
| طویل شدن اولیه | 95 | 1 دقیقه |
| سوم | 1 سیکل | طویل شدن ثانویه | 95 | 1 دقیقه |

## ج- الکتروفورز

جهت دیدن نتایج PCR و اطمینان از کیفیت پرایمر‌های طراحی شده از الکتروفورز استفاده شد. در این روش از ژل آگارز 1.5% استفاده شد. مراحل تهیه محلول و روش انجام الکتروفورز در زیر شرح داده شده است.

## ج-1. مراحل تهیه ژل آگارز 1.5%

مواد مورد نیاز برای تهیه ژل اگارز

* پودر آگارز
* بافر TBE 1X
* رنگ Safe stain

درون یک بشر مقدار 2/1 گرم پودر اگارز را در داخل cc60 بافر TBE1X حل کرده و ان را بر روی یک حرارت دهنده تا زمان شفاف شدن محلول قرار می دهیم. سپس مقدار μL2 از رنگ Safe stain به ان اضافه کرده و پس از مخلوط کردن، آن را در قالب حاوی شانه ریخته و اجازه داده تا سرد شود.

## ح- توالی یابی کل اگزوم (Whole-Exome Sequencing)

شجره خانوادگی فرد مبتلا و خویشاوندان آن‌ها را با کمک نرم افزار Geno Pro ترسیم کردیم. سپس برای شناسایی جهش در 310 ژن‌ مسبب بيماری ناتوانی ذهنی، تست توالی یالی اگزوم را انجام دادیم.

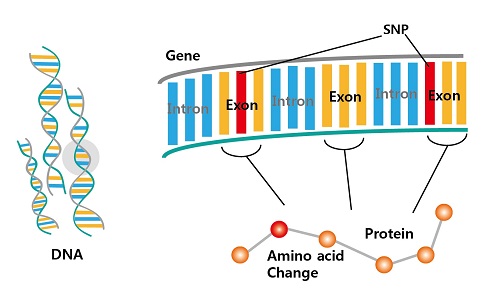
- 310 ژن درگیر در کم توانی ذهنی: (562)

ABCD1, ACAT1, ACOX1, ACSL4, ACTB, ACTG1, ACY1, ADAR, ADNP, ADSL, AFF2, AGTR2, AHDC1, AHI1, AIFM1, ALDH18A1, ALDH4A1, ALDH5A1, ALG1, ALG11, ALG12, ALG13, ALG2, ALG3, ALG6, ALX4, AMER1, ANK3, ANKRD11, AP1S1, AP1S2, AP3B1, AP4B1, AP4E1, AP4M1, AP4S1, AR, ARG1, ARHGEF6, ARHGEF9, ARID1A, ARID1B, ARX, ASAH1, ASPM, ASS1, ASXL1, ASXL3, ATL1, ATP10A, ATP13A2, ATP1A2, ATP6AP2, ATP7A, ATRX, AUH, AUTS2, AVPR1A, AVPR2, BBIP1, BBS1, BBS10, BBS12, BBS2, BBS4, BBS7, BBS9, BCL11A, BCOR, BCS1L, BDNF, BIN1, BRAF, BRSK2, BRWD3, BUB1B, CA2, CACNA1A, CACNA1C, CACNG2, CAMTA1, CANT1, CASK, CBS, CC2D1A, CC2D2A, CCDC22, CCDC88C, CDC42, CDH15, CDK13, CDK16, CDKL5, CDKN1C, CEP290, CEP41, CEP57, CHAMP1, CHD2, CHD7, CHD8, CHRNA4, CIC, CLCN4, CLIC2, CLN3, CLN5, CLN6, CLN8, CNKSR2, CNTNAP2, CNTNAP5, COG5, COG7, COG8, COL4A3BP, CP, CPA6, CPS1, CRADD, CRBN, CREBBP, CSNK2A1, CTC1, CTCF, CTNNB1, CTNND2, CTSA, CTSD, CTSF, CUL4B, CYB5R3, CYP27A1, D2HGDH, DARS2, DBT, DCX, DDX3X, DHCR24, DHCR7, DKC1, DLG3, DLGAP2, DMD, DNM1, DNMT3A, DOCK4, DPP10, DPP6, DPYD, DYNC1H1, DYRK1A, EBP, EFNB1, EFTUD2, EHMT1, EIF2S3, ELOVL4, EP300, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ERCC6, ERCC8, EZH2, FAAH2, FAM126A, FANCB, FANCG, FBN1, FBXO11, FGD1, FGF14, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FKRP, FKTN, FLNA, FMR1, FOLR1, FOXG1, FOXP1, FOXP2, FRMPD4, FTO, FTSJ1, G6PC3, GABRB3, GABRG2, GALE, GAMT, GAN, GATAD2B, GBA, GBE1, GCK, GDI1, GFAP, GFM1, GHR, GK, GLI3, GLRA1, GLUL, GLYCTK, GM2A, GNAO1, GNAS, GNPAT, GNPTAB, GNPTG, GPC3, GRIA3, GRIK2, GRIN1, GRIN2A, GRIN2B, GRM1, GRN, GSPT2, GSS, GUSB, HAX1, HCCS, HCFC1, HDAC4, HDAC8, HECW2, HEPACAM, HEXB, HOXA1, HPD, HPRT1, HRAS, HSD17B10, HSPD1, HUWE1, IDS, IGBP1, IGF1, IGF1R, IL1RAPL1, IMMP2L, IMPA1, INSR, IQSEC2, IRX5, ITGA7, ITPR1, KAT6A, KAT6B, KATNAL2, KCNB1, KCNJ10, KCNJ11, KCNK9, KCNQ2, KCTD13, KCTD7, KDM5B, KDM5C, KDM6A, KIF11, KIF1A, KIF1BP, KIF21A, KIF5A, KIF7, KIRREL3, KLF8, KMT2A, KMT2D, KMT5B, KRAS, L1CAM, LAMA2, LAMC3, LAMP2, LARGE1, LAS1L, LHX3, LIG4, LMBRD1, LYST, MACF1, MAGEL2, MAGT1, MAN1B1, MAN2B1, MANBA, MAOA, MAPK8IP3, MAT1A, MBD5, MBTPS2, MCCC1, MCCC2, MCOLN1, MCPH1, MECP2, MED12, MED13L, MED17, MED23, MEF2C, MFSD8, MGAT2, MID1, MKKS, MMADHC, MOCS2, MRAP, MTFMT, MTHFR, MTOR, MTR, MYCN, MYO5A, MYT1L, NAA10, NAGA, NALCN, NBN, NDP, NDUFA1, NDUFAF5, NDUFS1, NEGR1, NEXMIF, NF1, NGF, NGLY1, NHEJ1, NHP2, NHS, NIPBL, NLGN3, NLGN4X, NPC1, NPC2, NPHP3, NR2F1, NRXN1, NSD1, NSDHL, NSUN2, NTNG1, OCRL, OFD1, OGT, OPHN1, ORC1, OTC, PACS1, PAFAH1B1, PAH, PAK3, PAX6, PCDH19, PCDH9, PCGF2, PCNT, PDE4D, PDHA1, PDHX, PDSS1, PEX7, PGK1, PHF6, PHF8, PHKA2, PHKG2, PIGA, PIGL, PIGO, PIGV, PIP5K1B, PLA2G6, PLP1, PMM2, PNKP, POGZ, POMGNT1, POMT1, POMT2, PON3, PORCN, POU1F1, PPOX, PPP1CB, PPP2R1A, PPP2R5D, PPT1, PQBP1, PRKAR1A, PRMT7, PRPS1, PRSS12, PTCHD1, PTEN, PTPN11, PURA, PYCR1, PYGL, RAB39B, RAI1, RAPSN, RBBP8, RBFOX1, RBM10, RELN, RIT1, RORA, RPGRIP1L, RPL10, RPS6KA3, SACS, SAMHD1, SATB2, SCN1A, SCN2A, SCN8A, SDCCAG8, SETBP1, SETD5, SGSH, SHANK2, SHANK3, SHOC2, SHROOM4, SIL1, SKI, SLC16A2, SLC20A2, SLC25A12, SLC25A13, SLC25A15, SLC2A1, SLC2A2, SLC35A2, SLC35C1, SLC46A1, SLC4A4, SLC5A5, SLC6A1, SLC6A4, SLC6A8, SLC7A7, SLC9A6, SLC9A9, SLX4, SMARCA2, SMARCA4, SMARCB1, SMC1A, SMG6, SMS, SNAP25, SNIP1, SNRPN, SOBP, SOS1, SOS2, SOX10, SOX2, SOX3, SOX5, SPAST, SPATA5, SPR, SPRED1, SPTAN1, SRD5A3, SRPX2, ST3GAL3, ST7, STAT5B, STK3, STRA6, STX11, STXBP1, SUCLG1, SYN1, SYNGAP1, SYP, SYT14, TAF1, TAF6, TBC1D24, TBCE, TBL1XR1, TBR1, TBX1, TCF4, TECR, TET3, TGIF1, TH, THOC2, THRB, TIMM8A, TINF2, TMCO1, TMEM165, TMEM216, TMEM231, TMEM67, TMEM70, TPH2, TPK1, TPP1, TRAPPC9, TRHR, TRIO, TRIP12, TSC1, TSC2, TSHR, TSPAN7, TTC37, TTC8, TUBA1A, TUBA8, TUBB2B, TUBB3, TUSC3, TWIST1, UBE2A, UBE3A, UNC80, UPB1, UPF3B, UROC1, USP9X, VLDLR, VPS13B, WAC, WDR13, WDR45, WDR62, WDR73, WDR81, XPNPEP3, ZBTB16, ZBTB24, ZC4H2, ZCCHC12, ZDHHC9, ZEB2, ZFP57, ZFYVE26, ZIC2, ZMYM3, ZNF41, ZNF507, ZNF674, ZNF711, ZNF804A, ZNF81, ZNHIT6

توالی یابی کل اگزوم بر روی مناطق کد کننده پروتئین ژنومی (اگزون) تمرکز می کند. اگرچه WES به معرف‌های اضافی (پروب) و برخی مراحل اضافی (هیبریداسیون) نیاز دارد، اما این یک روش مقرون‌به‌صرفه و پرکاربرد NGS است که به معرف‌های توالی‌یابی کمتری نیاز دارد و در مقایسه با WGS زمان کمتری برای انجام آنالیز بیوانفورماتیک می‌برد. اگرچه اگزوم انسان تنها 1 تا 5 درصد از ژنوم را نشان می دهد، اما تقریباً 85 درصد از جهش های شناخته شده مرتبط با بیماری را شامل می شود. به این ترتیب، پزشکانی که WES را انجام می دهند به پوشش جامعی از جهش های در ناحیه کد شونده مانند جهش های تک نوکلئوتیدی (SNVs) و درج ها / حذف ها (indels) دست می یابند. علیرغم آماده‌سازی طولانی‌تر نمونه به دلیل مرحله اضافی غنی‌سازی هدف، پزشکان و بیماران از توالی‌یابی سریع‌تر و تجزیه و تحلیل ساده تر داده‌ها در مقایسه با WGS بهره می‌برند. به علاوه WES عمق توالی یابی بیشتری را برای محققان علاقه مند به شناسایی جهش های ژنتیکی برای کاربردهای متعدد از جمله ژنتیک جمعیت، تحقیقات بیماری های ژنتیکی و مطالعات تحقیقاتی سرطان فراهم می کند.

گزارش توالی یابی اگزوم تشخیصی حاوی یک نتیجه کلی بر اساس علائم ارائه شده توسط فرد، و همچنین اطلاعات دقیق در مورد علل ژنتیکی احتمالی بیماری با تفسیر فنوتیپ محور خواهد بود. رویکرد تجزیه و تحلیل برای هر مورد به وضوح مشخص شده است و اطلاعات پوشش برای ژن هایی که با علایم بیمار مرتبط هستند ارائه خواهد شد.

در این مطالعه کتابخانه همه ی نمونه ها با استفاده از کیت آماده سازی کتابخانه ((SureSelectXT تهیه شد. تولید خوشه، توالی یابی زوجی با استفاده از TruSeqv3 بر روی پلت فرم IlluminaHiSeq 2000 اعمال شد. فراخوانی پایه باینری (BCL) با استفاده از بسته Illumina bcl2fastq به FASTQ تبدیل شد. به منظور شناسایی ژن­های کاندید دو نرم افزار مختلف SAMtools و GATK در دو استتراتژی SSCS و MSCS به کار برده شدند.



**شکل 3-2: مراحل توالی یابی کل اگزوم (99)**

## د- بررسي‌های بیوانفورماتیكي جهت اولویت بندی ژن‌های کاندید

اولويت بندي ژن‌ها ي كانديدي در طي چند مرحله انجام گرديد:

## د-1- فیلترینگ بر اساس فراوانی آللی

در مرحله اول واریانت‌های با فراوانی آللی پایین (کمتر از 1%) در پایگاه های اطلاعاتی 1000 ژنوم https://www.internationalgenome.org/ و در پایگاه داده ExAC را فیلتر می‌شوند.

## د-2- فیلترنگ بر اساس متون

در مرحله دوم آن ژن‌ها یا موقعیت‌ها در پایگاهای اطلاعاتی معتبر مثلاً Online Mendelian Inheritance in Man OMIM )) بررسی می‌شوند. سپس علائم آن ژن با علائم بیماری کم توانی ذهنی مورد بررسي قرار گرفته و ژن‌هاي غيرمرتبط در اين مرحله حذف می‌گردند.

## د-3- فیلترینگ براساس نرم افزارهای سنجش اثر بر پروتئین

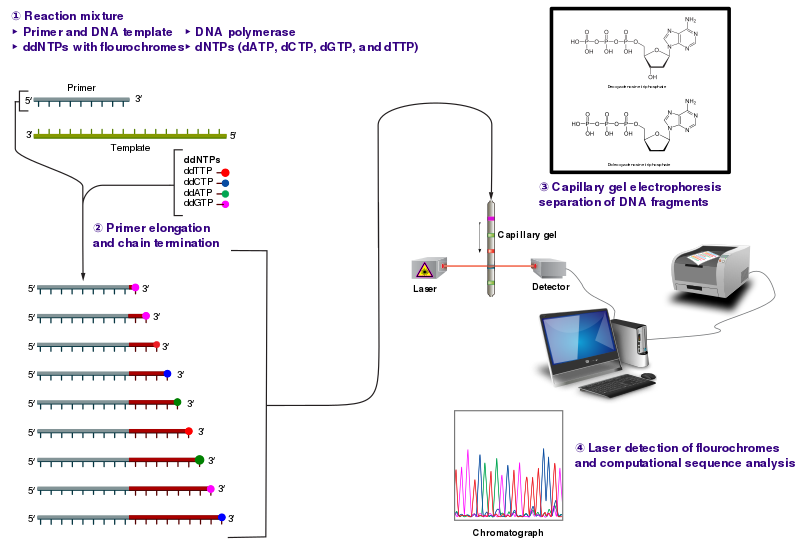
در این مرحله بر اساس نوع واریانت با استفاده از برنامه‌های In Silico مانند Polyphen2، و MutationTaster (100) اثر واریانت مورد نظر بر محصول پروتئینی ژن و فنوتیپ پیش بینی می‌کنیم. برنامه PolyPhen-2 اساساً براي بررسي تاثير واريانت‌هاي تك نوكلئوتيدي غير هم معني (Nonsynonymous SNPs) بر ساختار پروتئين بكار مي‌رود.

## ر- سنگر Sequencing

در این مرحله جهت تایید وجود جهش، تعیین توالی با روش سنگر برای افراد بیمار و سالم اعضای خانواده انجام می‌گردد. بنابراین پس از تکثیر بخش خاص DNA مورد نظر، محصولات PCR مستقیماً به وسیله دستگاه ABI 3130XL (USA) مورد بررسی قرار خواهد. توالی‌های بدست آمده توسط دستگاه Genetic analyzer ، توسط نرم افزار ChromasPro 2.1.9 مورد بررسی قرار گرفت. به منظور شناسایی واریانت‌های موجود جهت بررسی اینکه واریانت های مشاهده شده قبلا به عنوان جهش های پاتوژنیک یا پلیمورفیسم یا جهش های جدید گزارش شده اند، از پایگاه هایی مانند ENSEMBL (<https://useast.ensembl.org/index.html>) که یک پایگاه داده ژنوم مهره داران و سایر گونه های یوکاریوتی می باشد و Human Gene Mutation Database (HGMD, <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) که یک منبع منحصر به فرد با ارایه اطلاعات جامع در مورد جهش های بیماری انسانی مربوط به ژنتیک و تحقیقات انسانی می باشد استفاده شد.

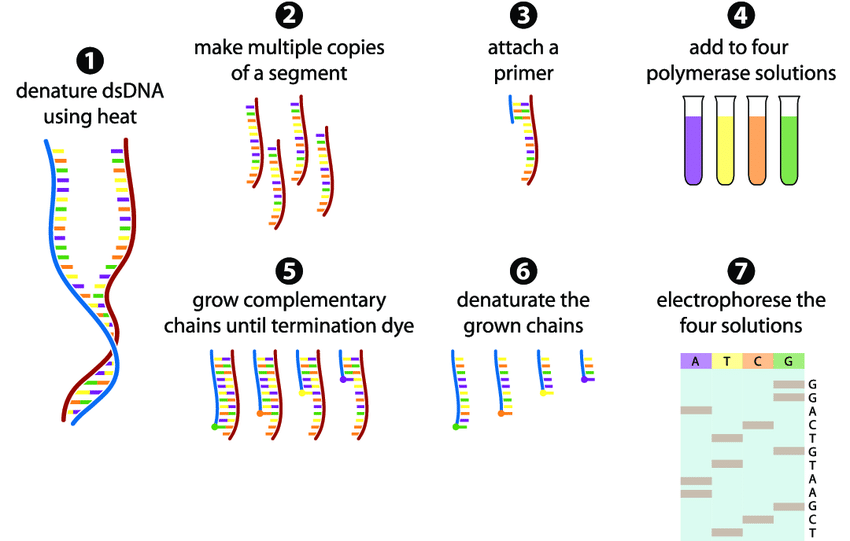
پیش بینی اثر پاتوژنیک جهش‌ به صورت این سیلیکو (In silico) و با استفاده از MutationTaster و Polyphen2 صورت گرفت (100).

تعیین توالی DNA تکنیکی است که از دهه 70 درجهان آغاز شد و روشی برای شناسایی توالی بازهای موجود در ژنوم (A,T,C,G) مي باشد. تعيين توالي تشخيصی جهت تشخيص موتاسيون (جهش) و ... وتعيين توالي تحقيقاتی معمولاً جهت شناسايي توالی ژن های جدید مورد استفاده قرارمي گیرد. روش Sanger برگرفته از نام فردریک سنگر می باشد. این دانشمند برجسته برنده جایزه نوبل در سال 1958 برای شناسایی توالی اسید آمینه پروتئین و در سال 1980 برای تعیین توالی DNA است. در شکل زیر جزئیات این روش را ملاحظه می فرمایید:



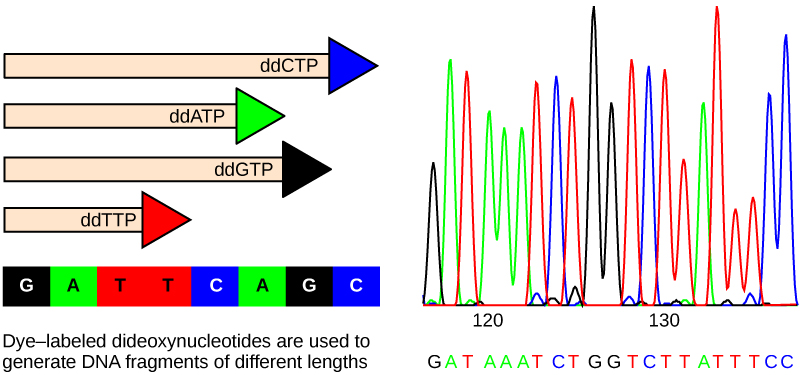
**شکل 3-3. سکانس به روش سنگر (101)**

در ابتدا با اضافه کردن "ddNTPs " واکنش های تفکیک شده انجام می گردد. سپس در 4 ستون مختلف ژل، Gel running صورت می گیرد. در انتها توالی ها از قسمت پایینی ژل خوانده می شوند: (قطعات کوتاهتر بدلیل سبک بودن از لحاظ جرم مولکولی در قسمت های پایینی ژل قرار می گیرند) (تصویر 3-4).



**شکل 3-4. مراحل انجام سکانس به روش سنگر**

در مرحله بعدی به منظور ردیابی محصولات واکنش، باید آنها را با رادیواکتیو یا فلورسانس نشاندار کرد، در این مرحله محصولات نشاندار شده تحت تابش اشعه لیزر قرار می گیرند که در نهایت با آنالیز دستگاه sequencer، نتایجی مشابه شکل زیر بدست می آید:



**شکل 3-5. نتیجه سکانس سنگر (102)**

کیفیت گراف ها و دقت نتایج بدست آمده، با چگونگی تهیه نمونه، ارتباط مستقیم دارد.نمودار فوق مربوط به نمونه ایی است که طبق الگوی پیشنهادی تهیه شده است، همانطور که در شکل ملاحظه مي شود، تمامی پیک ها کاملا واضح بوده و به درستی نوع بازهای آن تشخیص داده شده است . درحال حاضر معتبرترین شرکت سازنده دستگاه های Genetic Analyzer یا همان Sequencer فعالیت دارد Applied bioSyestems-ABI مي باشد. در این مطالعه تمامی تعیین توالی ها به روش Sanger بوسیله دستگاه 3130XL Applied bioSyestems-ABI انجام شد. در نهایت تفسیر داده های خام( خروجی دستگاه سکانسر) با استفاده از نرم افزارهای Chromas انجام گرفت.

## د- رعایت مسائل اخلاقی

از تمامی افراد مورد مطالعه پس ازکسب رضایت کامل از آنها نمونه گیری به عمل آمده و هیچ هزینه ای بر آنها تحمیل نشده است.

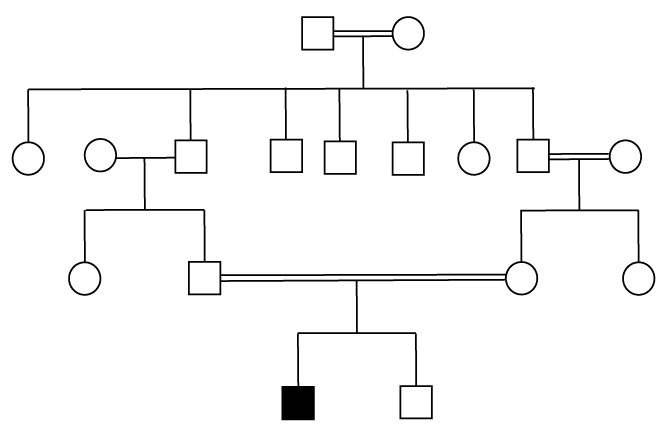
# فصل چهارم

# نتایج

## الف- اطلاعات دموگرافیک بیماران

در این مطالعه خانواده‌ای با ازدواج فامیلی (پسر عمو و دختر عمو) با یک فرزند پسر 9 ساله با علائم ناتوانی ذهنی- بیش فعالی وارد مطالعه شدند. در این خانواده سن مادر 31 و سن پدر 36 سال بود. در این بررسی پدر و مادر سالم، اما ناقل جهش بودند. این خانواده فرزند خود را با علائم مشکل، عدم توانایی در ارتباط، مشکلات رفتاری و ناتوانی در حل مسئله و تفکر منطقی به مرکز درمانی آوردند. کم توانی ذهنی این بیمار به وسیله ی تست سنجش هوش Raven تایید شد.

آزمون ماتریس های پیشرونده ریون (که عمدتا آن را ماتریس های ریون می گویند) یا به اختصار RPM، مجموعه تست های غیر-زبانی از ابزارهای رایج اندازه‌گیری استدلال قیاسی، توانایی درک مفاهیم انتزاعی و سنجش قوه ادراک است که معمولا در زمینه های آموزشی مورد استفاده قرار می گیرد. این آزمون ۶۰ سوالی، برای سنجش استدلال انتزاعی افراد به عنوان بخشی از هوش عمومی به کار گرفته می شود. آزمون بهره هوشی ریون متداول ترین و مشهورترین آزمونی است که برای بازه سنی 5 سال به بالا طراحی شده است. ساختار این آزمون از 60 سوال تشکیل شده که به صورت پاسخ چند گزینه ای (6-8 گزینه) به آن پاسخ داده می شود و ترتیب چیدمان دشواری سوالات از آسان به سخت است. این آزمون هوش استدلالی و هوش عمومی آزمون دهنده را که با عنوان «عامل هوش عمومی اسپیرمن» شناخته می شود، اندازه گیری می کند.



**شکل 4-1: شجره ی خانواده**

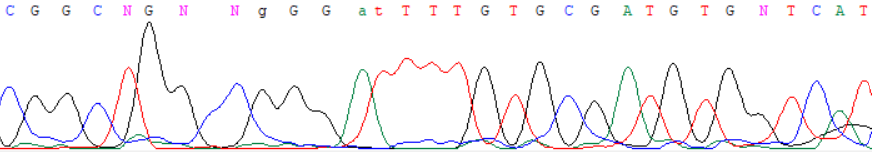
## ب- نتایج سکانس ژنی

پس از بررسی 310 ژن درگیر در کم توانی ذهنی، مشخص شد فرزند واجد موتاسیون c.95C>T:p.32T>I در ژن ZBTB16 بصورت همو‌زیگوت و و پدر و مادر واجد موتاسیون مذکور بصورت هتروزیگوت میباشند.

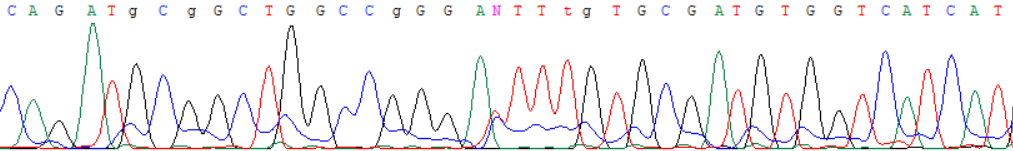
نتایج توالی یابی اگزوم نشان داد که یک جهش c.95C>T; p.Thr32Ile همو‌زیگوت در پسر مبتلای این خانواده وجود دارد که این جهش در پدر و مادر بیمار هتروزیگوت است. بررسی ها نشان داد جهش شناسایی شده در کروموزوم 11 و روی ژن ZBTB16 است. طبق نتایج توالی یابی اگزون‌های کد کننده جهش فوق منجر به تغییر اسید آمینه می‌شود (ترئونین به ایزولوسین)، که بر عملکرد یا پایداری پروتئین اثر می‌گذارد. والدین بیمار برای جهش شناسایی شده هتروزیگوت بودند. با توجه به داده های پایگاه های اطلاعاتی مانند OMIM جهش شناسایی شده مسبب skeletal defects, genital hypoplasia, and mental retardation در این بیمار است.

جدول 4-1: مشخصات جهش کشف شده

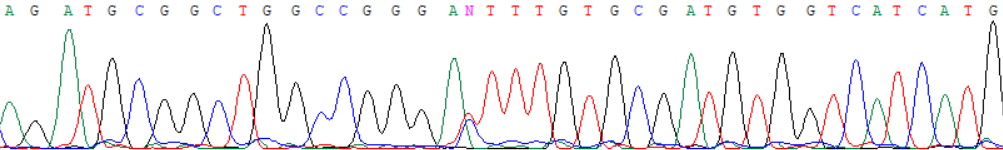
|  |  |
| --- | --- |
| Change | NM\_006006 (ZBTB16): c.95C>T; p.32T>I (in exon 8) |
| Nucleotide change | c.95C>T |
| Protein change | p.32T>I |
| Mutation type | Point mutation |
| ACMG classification | Likely pathogenic |
| Phenotype | skeletal defects, genital hypoplasia, and mental retardation |
| Inheritance | Autosomal Recessive (AR) |



**شکل 4-2: نتیجه بررسی ژنتیکی ژن ZBTB16 . بیمار جهش c.95C>T:p.32T>I را بصورت هموزیگوت حمل می کند.**



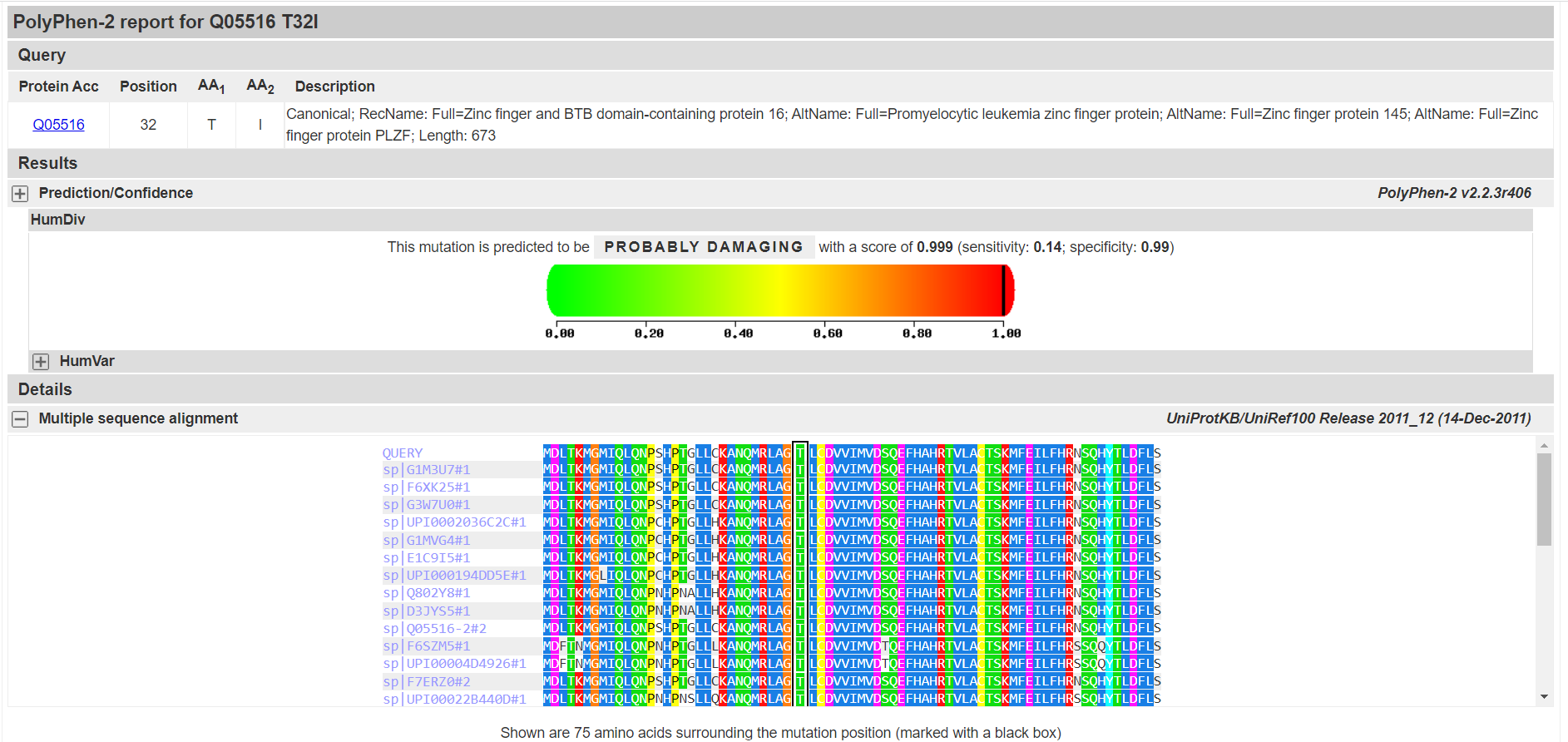
**شکل 4-3: نتیجه بررسی ژنتیکی ژن ZBTB16 در پدر بیمار. جهش c.95C>T:p.32T>I هتروزیگوت می باشد.**



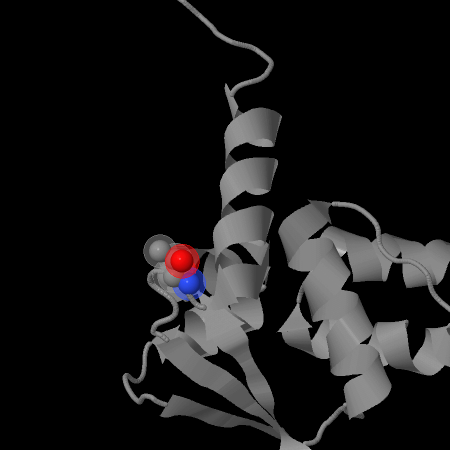
**شکل 4-4: نتیجه بررسی ژنتیکی ژن ZBTB16 در مادر بیمار. جهش c.95C>T:p.32T>I هتروزیگوت می باشد.**

## ج- نتایج آنالیز سایت Polyphen-2

با استفاده از سایت Polyphen میزان بیماری زایی جهش را بررسی کردیم. نتیجه ی حاصله برای جهش Probably damaging بود. نتایج حاصل از آنالیز جهش شناسایی شده در شکل‌‌ زیر نشان داده شده است:



**شکل 4-5: نتایج حاصل از انالیز سایت POLYPHEN برای جهش c.95C>T:p.32T>I**



**شکل 4-6: شکل سه بعدی پروتئین و جایگاه جهش**  **c.95C>T:p.32T>I**

## د- نتایج حاصل از MutationTaster در بررسی جهش شناسایی شده

نتایج حاصل MutationTaster برای جهش شناسایی شده به طور خلاصه به صورت زیر است:

MutationTaster برای جهش این بیمار Disease-causing را پیش بینی کرده است. این جهش به صورت یک جهش نقطه ای (C>T) در ناحیه کدکننده ژن ZBTB16، در موقعیت کروموزومی chr11:114063395 ایجاد شده است. تغییرات این جهش در سطح توالی cDNA به صورت (c.95C>T) بوده است. این تغییرات منجر به تغییر کدون از (Threonine>Isoleucine) در موقعیت اسیدآمینه 32 می‌شود.

**جدول 4-2: نتایج مربوط به آنالیز سایت MutationTaster برای جهش c.95C>T**

|  |  |
| --- | --- |
| Alteration (Phys, location) | chr11:114063395-C>T |
| Wild type AA sequence | MDLTKMGMIQLQNPSHPTGLLCKANQMRLAG\***T**LCDVVIMVDSQEFHAHRTVLACTSKMFEILFHRNSQHYTLDFLSPKTFQQILEYAYTATLQAKAEDLDDLLYAAEILEIEYLEEQCLKMLETIQASDDNDTEATMADGGAEEEEDRKARYLKNIFISKHSSEESGYASVAGQSLPGPMVDQSPSVSTSFGLSAMSPTKAAVDSLMTIGQSLLQGTLQPPAGPEEPTLAGGGRHPGVAEVKTEMMQVDEVPSQDSPGAAESSISGGMGDKVEERGKEGPGTPTRSSVITSARELHYGREESAEQVPPPAEAGQAPTGRPEHPAPPPEKHLGIYSVLPNHKADAVLSMPSSVTSGLHVQPALAVSMDFSTYGGLLPQGFIQRELFSKLGELAVGMKSESRTIGEQCSVCGVELPDNEAVEQHRKLHSGMKTYGCELCGKRFLDSLRLRMHLLAHSAGAKAFVCDQCGAQFSKEDALETHRQTHTGTDMAVFCLLCGKRFQAQSALQQHMEVHAGVRSYICSECNRTFPSHTALKRHLRSHTGDHPYECEFCGSCFRDESTLKSHKRIHTGEKPYECNGCGKKFSLKHQLETHYRVHTGEKPFECKLCHQRSRDYSAMIKHLRTHNGASPYQCTICTEYCPSLSSMQKHMKGHKPEEIPPDWRIEKTYLYLCYV |
| Mutated AA sequence | MDLTKMGMIQLQNPSHPTGLLCKANQMRLAG\***I**LCDVVIMVDSQEFHAHRTVLACTSKMFEILFHRNSQHYTLDFLSPKTFQQILEYAYTATLQAKAEDLDDLLYAAEILEIEYLEEQCLKMLETIQASDDNDTEATMADGGAEEEEDRKARYLKNIFISKHSSEESGYASVAGQSLPGPMVDQSPSVSTSFGLSAMSPTKAAVDSLMTIGQSLLQGTLQPPAGPEEPTLAGGGRHPGVAEVKTEMMQVDEVPSQDSPGAAESSISGGMGDKVEERGKEGPGTPTRSSVITSARELHYGREESAEQVPPPAEAGQAPTGRPEHPAPPPEKHLGIYSVLPNHKADAVLSMPSSVTSGLHVQPALAVSMDFSTYGGLLPQGFIQRELFSKLGELAVGMKSESRTIGEQCSVCGVELPDNEAVEQHRKLHSGMKTYGCELCGKRFLDSLRLRMHLLAHSAGAKAFVCDQCGAQFSKEDALETHRQTHTGTDMAVFCLLCGKRFQAQSALQQHMEVHAGVRSYICSECNRTFPSHTALKRHLRSHTGDHPYECEFCGSCFRDESTLKSHKRIHTGEKPYECNGCGKKFSLKHQLETHYRVHTGEKPFECKLCHQRSRDYSAMIKHLRTHNGASPYQCTICTEYCPSLSSMQKHMKGHKPEEIPPDWRIEKTYLYLCYV |

# فصل پنجم

# بحث و نتیجه گیری

## الف- بحث

کم توانی ذهنی با شیوع 2-3 درصد یکی از مهم ترین مسائل حل نشده علم پزشکی در جوامع امروزی است (103). کم توانی ذهنی یا به تنهایی بروز می کند که به این حالت "کم توانی ذهنی غیر نشانگانی[[1]](#footnote-1)" گفته می شود یا با ناهنجاری های دیگر چون ناهنجاری های اسکلتی و بدشکلی صورت همراه است که در این مورد به آن "کم توانی ذهنی نشانگانی[[2]](#footnote-2)" اطلاق می شود (104). عوامل ژنتیکی عامل 70 درصد از موارد کم توانی ذهنی میباشند که به دو گروه اصلی تقسیم می شوند: ناهنجاری های کروموزومی و اختلالات تک ژنی (105). ژن ZBTB16 (PLZF) یک فاکتور رونویسی را رمزگذاری می کند که شامل یک دامنه برهمکنش پروتئین-پروتئین BTB/POZ در N ترمینال و یک دامنه اتصال DNA انگشت روی نوع C2H2 در C ترمینال آن است که نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی ایفا می کند. ZBTB16 در سلول‌های بنیادی عصبی مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی انسان و بافت صفحه عصبی اولیه بیان می‌شود و در نگهداری، تکثیر و تمایز عصبی نقش دارد (106, 107). دخالت ZBTB16 در رشد مغز در چندین مطالعه گزارش شده است. بیان Zbtb16 در روز 7.5 جنینی در نوروپیتلیوم مغز جنینی موش شروع می شود و در مراحل بعدی در کل نورکتودرم بیان می شود (108).

یک واریانت تک نوکلئوتیدی (c.1849A>G; p.Met617Val) در دامنه انگشت روی نوع C2H2 از ZBTB16 به عنوان یک جهش مسبب برای نقایص اسکلتی، هیپوپلازی تناسلی، و عقب ماندگی ذهنی شناسایی شده است. این جهش هموزیگوت در ZBTB16 منجر به ناتوانی ذهنی، میکروسفالی، بدشکلی جمجمه-صورتی، کوتاهی قد، ناهنجاری های اسکلتی مانند نقص انگشت شست و هیپوپلازی استخوان زند، عقب ماندگی سن استخوان و اندام تناسلی هیپوپلاستیک می شود (109, 110). مطالعات اولیه جهش خودبه‌خودی لوکسوئید [[3]](#footnote-3)(lu) Zbtb16 در موش نشان داده است که Zbtb16 برای رشد اسکلتی و خود تجدید سلول‌های زایایی ضروری است (111). اخیراً مطالعه ای نشان داده است که یک جهش هتروزیگوتmissense (c.1319G>A; p.Arg440Gln) در برادران مبتلا به اوتیسم شناسایی شده است (112). علاوه بر این، مطالعات دیگر یک جهش هتروزیگوت بی معنی در (c.1741A>T; p.Lys581\*) در بیماران مبتلا شیزوفرنی را گزارش کردند (113, 114).

در مطالعه ی حاضر پس از بررسی310 ژن درگیر در کم توانی ذهنی به روش توالی یابی اگزوم مشخص شد، فرزند واجد موتاسیون c.95C>T:p.32T>I در ژن ZBTB16 بصورت همو‌زیگوت و و پدر و مادر واجد موتاسیون مذکور بصورت هتروزیگوت میباشند. سپس با توجه به علایم بیمار، بیماری skeletal defects, genital hypoplasia, and mental retardation را تایید کردیم. طبق نتایج توالی یابی اگزون‌های کد کننده جهش فوق منجر به تغییر اسید آمینه می‌شود (ترئونین به ایزولوسین)، که بر عملکرد یا پایداری پروتئین اثر می‌گذارد. همسو با نتایج مطالعه ی ما بسطامی و همکاران با هدف ارزیابی علل ژنتیکی کم توانی ذهنی اتوزومی مغلوب در استان همدان مطالعه ای را انجام دادند. آن ها نتیجه گرفتند که کم توانی ذهنی اتوزومی مغلوب همراه با میکروسفالی از مهم ترین عوامل بروز کم توانی ذهنی می باشد (115).

Noriyoshi Usui و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که حذف Zbtb16 در موش‌ها منجر به آسیب اجتماعی، رفتارهای تکراری، رفتارهای ریسک‌پذیر و اختلال شناختی می‌شود. برای روشن کردن مکانیسم زیربنایی فنوتیپ‌های رفتاری، آن ها آنالیزهای بافت‌شناسی را انجام دادند و اختلالاتی را در نازک شدن لایه نئوکورتیکال[[4]](#footnote-4) 6 و کاهش نورون‌های TBR1+ در موش‌های Zbtb16 KO مشاهده کردند. علاوه بر این، آن ها شاهد افزایش خارهای سلول های دندریتیک و میکروگلیا و همچنین نقص‌های رشدی در الیگودندروسیت‌ها و میلین‌سازی نئوکورتیکال در قشر جلوی مغز موش‌های Zbtb16 KO بودند. با استفاده از رویکردهای ژنومیک، رونوشت Zbtb16 را شناسایی کردند که شامل ژن‌های دخیل در بلوغ نئوکورتتیکال مانند نوروژنز و میلین‌سازی، و اختلال طیف اوتیسم و پاتوبیولوژی اسکیزوفرنی میباشد (116). با توجه به این نتایج و نقش کلیدی Zbtb16 در سیستم عصبی و اختلالات رفتاری مرتبط با حذف یا جهش در این ژن، می توان به کاهش عملکرد Zbtb16 در بیماران کم توان ذهنی و بیماری های مرتبط با آن پی برد.

یافته‌های جهش‌ Zbtb16در خانواده‌های دارای عضو مبتلا به کم توانی ذهنی می تواند طیف وسیعی از فنوتیپ‌های حاصل را نشان ‌دهد، که بر اهمیت محصول Zbtb16 در فرآیند رشد مغز دلالت دارد.

## ب- نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده ی ارتباط جهش در ژن Zbtb16 با بیماری کم توانی ذهنی یا بیماری های مرتبط مانند اوتیسم را تایید می کند. پس می توان گفت انجام تست ژنتیکی جهت تایید بیماری می تواند بسیار کمک کننده باشد. شناسایی نقص ژن Zbtb16 امکان محاسبه فراوانی ناقلین و تخمین بروز بیماری را با استفاده از روش های مولکولی برای شناسایی ناقلین فراهم می کند.

## ج- پیشنهادات

* انجام مطالعات با حجم نمونه بالاتر
* انجام مطالعات با هدف بررسی دیگر ژن های دخیل در کم توانی ذهنی
* انجام مطالعات با هدف بررسی ارتباط بروز c.95C>T:p.32T>I با فنوتیپ رفتاری بیماران و نحوه پاسخ به درمان

# فصل ششم

# منابع

**References:**

1. Boyle CA, Braun KVN, Yeargin-Allsopp M. Prevalence and genetic epidemiology of developmental disabilities. Genetics of Developmental Disabilities: CRC Press; 2019. p. 693-741.

2. Ilyas M, Mir A, Efthymiou S, Houlden H. The genetics of intellectual disability: advancing technology and gene editing. F1000Research. 2020;9.

3. Al-Mosawi A. The etiology of mental retardation in Iraqi children. autism. 2019;1:4-7.

4. Fischer J, Bourrat E. Genetics of Inherited Ichthyoses and Related Diseases. Acta dermato-venereologica. 2020;100.

5. Jepsen WM, Ramsey K, Szelinger S, Llaci L, Balak C, Belnap N, et al. Two additional males with X‐linked, syndromic mental retardation carry de novo mutations in HNRNPH2. Clinical Genetics. 2019;96(2):183.

6. Brea-Fernández AJ, Álvarez-Barona M, Amigo J, Tubío-Fungueiriño M, Caamaño P, Fernández-Prieto M, et al. Trio-based exome sequencing reveals a high rate of the de novo variants in intellectual disability. European Journal of Human Genetics. 2022:1-8.

7. Al-Mosawi A. Genetic and hereditary disorders in Iraqi children. Annals of Medical & Surgical Case Reports: AMSCR-1000011. 2019.

8. Pilch J, Koppolu AA, Walczak A, Murcia Pienkowski VA, Biernacka A, Skiba P, et al. Evidence for HNRNPH1 being another gene for Bain type syndromic mental retardation. Clinical genetics. 2018;94(3-4):381-5.

9. Somashekar PH, Narayanan DL, Jagadeesh S, Suresh B, Vaishnavi RD, Bielas S, et al. Bain type of X‐linked syndromic mental retardation in a male with a pathogenic variant in HNRNPH2. American Journal of Medical Genetics Part A. 2020;182(1):183-8.

10. Gil‐Llario MD, Morell‐Mengual V, Ballester‐Arnal R, Díaz‐Rodríguez I. The experience of sexuality in adults with intellectual disability. Journal of Intellectual Disability Research. 2018;62(1):72-80.

11. Schalock RL, Luckasson R, Tassé MJ, Verdugo MA. A holistic theoretical approach to intellectual disability: Going beyond the four current perspectives. Intellectual and developmental disabilities. 2018;56(2):79-89.

12. Reid SM, Meehan EM, Arnup SJ, Reddihough DS. Intellectual disability in cerebral palsy: a population‐based retrospective study. Developmental Medicine & Child Neurology. 2018;60(7):687-94.

13. Tummers J, Catal C, Tobi H, Tekinerdogan B, Leusink G. Coronaviruses and people with intellectual disability: an exploratory data analysis. Journal of Intellectual Disability Research. 2020;64(7):475-81.

14. Neri G, Schwartz CE, Lubs HA, Stevenson RE. X‐linked intellectual disability update 2017. American journal of medical genetics Part A. 2018;176(6):1375-88.

15. Vissers LE, Gilissen C, Veltman JA. Genetic studies in intellectual disability and related disorders. Nature Reviews Genetics. 2016;17(1):9-18.

16. Lee K, Cascella M, Marwaha R. Intellectual disability. 2019.

17. Chiurazzi P, Pirozzi F. Advances in understanding–genetic basis of intellectual disability. F1000Research. 2016;5.

18. Metzler I. Fools and idiots?: Intellectual disability in the Middle Ages. Fools and idiots?: Manchester University Press; 2016.

19. Balogh R, McMorris CA, Lunsky Y, Ouellette‐Kuntz H, Bourne L, Colantonio A, et al. Organising healthcare services for persons with an intellectual disability. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2016(4).

20. Martin GE, Lee M, Losh M. Intellectual disability. Research in clinical pragmatics: Springer; 2017. p. 109-29.

21. Iwase S, Bérubé NG, Zhou Z, Kasri NN, Battaglioli E, Scandaglia M, et al. Epigenetic etiology of intellectual disability. Journal of Neuroscience. 2017;37(45):10773-82.

22. Ellenkamp JJ, Brouwers EP, Embregts PJ, Joosen MC, van Weeghel J. Work environment-related factors in obtaining and maintaining work in a competitive employment setting for employees with intellectual disabilities: A systematic review. Journal of occupational rehabilitation. 2016;26(1):56-69.

23. Viktorin A, Uher R, Kolevzon A, Reichenberg A, Levine SZ, Sandin S. Association of antidepressant medication use during pregnancy with intellectual disability in offspring. JAMA psychiatry. 2017;74(10):1031-8.

24. Llewellyn G, Hindmarsh G. Parents with intellectual disability in a population context. Current developmental disorders reports. 2015;2(2):119-26.

25. Mueller BA, Crane D, Doody DR, Stuart SN, Schiff MA. Pregnancy course, infant outcomes, rehospitalization, and mortality among women with intellectual disability. Disability and health journal. 2019;12(3):452-9.

26. Frawley P, Wilson NJ. Young people with intellectual disability talking about sexuality education and information. Sexuality and disability. 2016;34(4):469-84.

27. McGarry A, Stenfert Kroese B, Cox R. How do women with an intellectual disability experience the support of a doula during their pregnancy, childbirth and after the birth of their child? Journal of Applied Research in Intellectual Disabilities. 2016;29(1):21-33.

28. Embregts PJ, van den Bogaard KJ, Frielink N, Voermans MA, Thalen M, Jahoda A. A thematic analysis into the experiences of people with a mild intellectual disability during the COVID-19 lockdown period. International Journal of Developmental Disabilities. 2020:1-5.

29. Morash-Macneil V, Johnson F, Ryan JB. A systematic review of assistive technology for individuals with intellectual disability in the workplace. Journal of Special Education Technology. 2018;33(1):15-26.

30. Beadle‐Brown J, Leigh J, Whelton B, Richardson L, Beecham J, Baumker T, et al. Quality of life and quality of support for people with severe intellectual disability and complex needs. Journal of Applied Research in Intellectual Disabilities. 2016;29(5):409-21.

31. Kliewer C, Biklen D, Petersen A. At the end of intellectual disability. Harvard Educational Review. 2015;85(1):1-28.

32. Munir KM. The co-occurrence of mental disorders in children and adolescents with intellectual disability/intellectual developmental disorder. Current opinion in psychiatry. 2016;29(2):95.

33. Wissink IB, Van Vugt E, Moonen X, Stams G-JJ, Hendriks J. Sexual abuse involving children with an intellectual disability (ID): A narrative review. Research in developmental disabilities. 2015;36:20-35.

34. McConnell D, Savage A. Stress and resilience among families caring for children with intellectual disability: Expanding the research agenda. Current developmental disorders reports. 2015;2(2):100-9.

35. Saunders BS, Tilford JM, Fussell JJ, Schulz EG, Casey PH, Kuo DZ. Financial and employment impact of intellectual disability on families of children with autism. Families, Systems, & Health. 2015;33(1):36.

36. Green SA, Berkovits LD, Baker BL. Symptoms and development of anxiety in children with or without intellectual disability. Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology. 2015;44(1):137-44.

37. Tonnsen BL, Boan AD, Bradley CC, Charles J, Cohen A, Carpenter LA. Prevalence of autism spectrum disorders among children with intellectual disability. American journal on intellectual and developmental disabilities. 2016;121(6):487-500.

38. Gómez LE, Alcedo MÁ, Arias B, Fontanil Y, Arias VB, Monsalve A, et al. A new scale for the measurement of quality of life in children with intellectual disability. Research in Developmental disabilities. 2016;53:399-410.

39. Shashidhara M. The Effect of Eight-Week Yoga Exercise on Balance and Gait in Girls with Intellectual Disability.

40. Marrus N, Hall L. Intellectual disability and language disorder. Child and Adolescent Psychiatric Clinics. 2017;26(3):539-54.

41. Lozano R, Vino A, Lozano C, Fisher SE, Deriziotis P. A de novo FOXP1 variant in a patient with autism, intellectual disability and severe speech and language impairment. European journal of human genetics. 2015;23(12):1702-7.

42. Beighton C, Wills J. Are parents identifying positive aspects to parenting their child with an intellectual disability or are they just coping? A qualitative exploration. Journal of Intellectual Disabilities. 2017;21(4):325-45.

43. Muzammal M, Ahmad S, Ali MZ, Khan MA. Alopecia-mental retardation syndrome: Molecular genetics of a rare neuro-dermal disorder. Ann Hum Genet. 2021;85(5):147-54.

44. Antonarakis SE, Skotko BG, Rafii MS, Strydom A, Pape SE, Bianchi DW, et al. Down syndrome. Nat Rev Dis Primers. 2020;6(1):9.

45. Mazurek D, Wyka J. Down syndrome--genetic and nutritional aspects of accompanying disorders. Rocz Panstw Zakl Hig. 2015;66(3):189-94.

46. Marangi G, Zollino M. Pitt-Hopkins Syndrome and Differential Diagnosis: A Molecular and Clinical Challenge. J Pediatr Genet. 2015;4(3):168-76.

47. Richard EM, Polla DL, Assir MZ, Contreras M, Shahzad M, Khan AA, et al. Bi-allelic Variants in METTL5 Cause Autosomal-Recessive Intellectual Disability and Microcephaly. Am J Hum Genet. 2019;105(4):869-78.

48. Wenger TL, Hing AV, Evans KN. Apert Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, et al., editors. GeneReviews(®). Seattle (WA): University of Washington, Seattle

Copyright © 1993-2022, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.

49. Specht S, Straub V. Intellectual disability in paediatric patients with genetic muscle diseases. Neuromuscul Disord. 2021;31(10):988-97.

50. Maia N, Nabais Sá MJ, Melo-Pires M, de Brouwer APM, Jorge P. Intellectual disability genomics: current state, pitfalls and future challenges. BMC Genomics. 2021;22(1):909.

51. Parenti I, Lehalle D, Nava C, Torti E, Leitão E, Person R, et al. Missense and truncating variants in CHD5 in a dominant neurodevelopmental disorder with intellectual disability, behavioral disturbances, and epilepsy. Hum Genet. 2021;140(7):1109-20.

52. Richard EM, Bakhtiari S, Marsh APL, Kaiyrzhanov R, Wagner M, Shetty S, et al. Bi-allelic variants in SPATA5L1 lead to intellectual disability, spastic-dystonic cerebral palsy, epilepsy, and hearing loss. Am J Hum Genet. 2021;108(10):2006-16.

53. Naumann K, Kernot J, Parfitt G, Gower B, Davison K. Water-Based Interventions for People With Neurological Disability, Autism, and Intellectual Disability: A Scoping Review. Adapt Phys Activ Q. 2021;38(3):474-93.

54. Rosenfeld JA, Xiao R, Bekheirnia MR, Kanani F, Parker MJ, Koenig MK, et al. Heterozygous variants in SPTBN1 cause intellectual disability and autism. Am J Med Genet A. 2021;185(7):2037-45.

55. Vasudevan P, Suri M. A clinical approach to developmental delay and intellectual disability. Clin Med (Lond). 2017;17(6):558-61.

56. Bertelli MO, Cooper SA, Salvador-Carulla L. Intelligence and specific cognitive functions in intellectual disability: implications for assessment and classification. Curr Opin Psychiatry. 2018;31(2):88-95.

57. Mulas F, Rojas M. [Intellectual developmental disability overlapping with autism spectrum disorder and attention deficit-hyperactivity disorder]. Medicina (B Aires). 2018;78 Suppl 2:63-8.

58. Constantino JN, Strom S, Bunis M, Nadler C, Rodgers T, LePage J, et al. Toward Actionable Practice Parameters for "Dual Diagnosis": Principles of Assessment and Management for Co-Occurring Psychiatric and Intellectual/Developmental Disability. Curr Psychiatry Rep. 2020;22(2):9.

59. Rujeedawa T, Zaman SH. The Diagnosis and Management of Autism Spectrum Disorder (ASD) in Adult Females in the Presence or Absence of an Intellectual Disability. Int J Environ Res Public Health. 2022;19(3).

60. Bruel AL, Vitobello A, Tran Mau-Them F, Nambot S, Sorlin A, Denommé-Pichon AS, et al. Next-generation sequencing approaches and challenges in the diagnosis of developmental anomalies and intellectual disability. Clin Genet. 2020;98(5):433-44.

61. Krysta K, Romańczyk M, Diefenbacher A, Krzystanek M. Telemedicine Treatment and Care for Patients with Intellectual Disability. Int J Environ Res Public Health. 2021;18(4).

62. Williams EM, Rose J. Nonpharmacological treatment for individuals with intellectual disability and "personality disorder". J Appl Res Intellect Disabil. 2020;33(4):767-78.

63. Chester V, Geach N, Morrissey C. Treatment outcomes from forensic intellectual disability services: The perspectives of patients and their family/carers. J Intellect Disabil. 2019;23(4):473-85.

64. Siegel M, McGuire K, Veenstra-VanderWeele J, Stratigos K, King B, Bellonci C, et al. Practice Parameter for the Assessment and Treatment of Psychiatric Disorders in Children and Adolescents With Intellectual Disability (Intellectual Developmental Disorder). J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. 2020;59(4):468-96.

65. Dean EE, Fisher KW, Shogren KA, Wehmeyer ML. Participation and Intellectual Disability: A Review of the Literature. Intellect Dev Disabil. 2016;54(6):427-39.

66. Wallace RA. National Disability Insurance Scheme, health, hospitals and adults with intellectual disability. Intern Med J. 2018;48(3):351-9.

67. Bigby C. Social inclusion and people with intellectual disability and challenging behaviour: a systematic review. J Intellect Dev Disabil. 2012;37(4):360-74.

68. Young JT, Cumming C, van Dooren K, Lennox NG, Alati R, Spittal MJ, et al. Intellectual disability and patient activation after release from prison: a prospective cohort study. J Intellect Disabil Res. 2017;61(10):939-56.

69. Williams K, Jacoby P, Whitehouse A, Kim R, Epstein A, Murphy N, et al. Functioning, participation, and quality of life in children with intellectual disability: an observational study. Dev Med Child Neurol. 2021;63(1):89-96.

70. Vissers LE, Gilissen C, Veltman JA. Genetic studies in intellectual disability and related disorders. Nat Rev Genet. 2016;17(1):9-18.

71. Kazeminasab S, Najmabadi H, Kahrizi K. Intellectual Disability and Ataxia: Genetic Collisions. Arch Iran Med. 2018;21(1):29-40.

72. Bass N, Skuse D. Genetic testing in children and adolescents with intellectual disability. Curr Opin Psychiatry. 2018;31(6):490-5.

73. Iwase S, Bérubé NG, Zhou Z, Kasri NN, Battaglioli E, Scandaglia M, et al. Epigenetic Etiology of Intellectual Disability. J Neurosci. 2017;37(45):10773-82.

74. Mehregan H, Najmabadi H, Kahrizi K. Genetic Studies in Intellectual Disability and Behavioral Impairment. Arch Iran Med. 2016;19(5):363-75.

75. Manickam K, McClain MR, Demmer LA, Biswas S, Kearney HM, Malinowski J, et al. Exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability: an evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med. 2021;23(11):2029-37.

76. Barros II, Leão V, Santis JO, Rosa RC, Brotto DB, Storti CB, et al. Non-syndromic intellectual disability and its pathways: A long noncoding RNA perspective. Non-coding RNA. 2021;7(1):22.

77. Suliman BA, Xu D, Williams BR. The promyelocytic leukemia zinc finger protein: two decades of molecular oncology. Front Oncol. 2012;2:74.

78. Šeda O, Šedová L, Včelák J, Vaňková M, Liška F, Bendlová B. ZBTB16 and metabolic syndrome: a network perspective. Physiol Res. 2017;66(Suppl 3):S357-s65.

79. Plaisier C, Bennett B, He A, Guan B, Lusis A, Reue K, et al. Zbtb16 has a role in brown adipocyte bioenergetics. Nutrition & diabetes. 2012;2(9):e46-e.

80. Küry S, van Woerden GM, Besnard T, Proietti Onori M, Latypova X, Towne MC, et al. De Novo Mutations in Protein Kinase Genes CAMK2A and CAMK2B Cause Intellectual Disability. Am J Hum Genet. 2017;101(5):768-88.

81. Verma M, Kulshrestha S, Puri A. Genome Sequencing. Methods Mol Biol. 2017;1525:3-33.

82. Kimoto M, Soh SHG, Hirao I. Sanger Gap Sequencing for Genetic Alphabet Expansion of DNA. Chembiochem. 2020;21(16):2287-96.

83. Beck TF, Mullikin JC, Biesecker LG. Systematic Evaluation of Sanger Validation of Next-Generation Sequencing Variants. Clin Chem. 2016;62(4):647-54.

84. Fridman H, Bormans C, Einhorn M, Au D, Bormans A, Porat Y, et al. Performance comparison: exome sequencing as a single test replacing Sanger sequencing. Mol Genet Genomics. 2021;296(3):653-63.

85. Crossley BM, Bai J, Glaser A, Maes R, Porter E, Killian ML, et al. Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. J Vet Diagn Invest. 2020;32(6):767-75.

86. Mardis ER. Next-generation sequencing platforms. Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif). 2013;6:287-303.

87. Sikkema‐Raddatz B, Johansson LF, de Boer EN, Almomani R, Boven LG, van den Berg MP, et al. Targeted next‐generation sequencing can replace Sanger sequencing in clinical diagnostics. Human mutation. 2013;34(7):1035-42.

88. Straiton J, Free T, Sawyer A, Martin J. From Sanger sequencing to genome databases and beyond. Biotechniques. 2019;66(2):60-3.

89. Ladouceur M, Dastani Z, Aulchenko YS, Greenwood CM, Richards JB. The empirical power of rare variant association methods: results from sanger sequencing in 1,998 individuals. PLoS Genet. 2012;8(2):e1002496.

90. Tzou PL, Ariyaratne P, Varghese V, Lee C, Rakhmanaliev E, Villy C, et al. Comparison of an In Vitro Diagnostic Next-Generation Sequencing Assay with Sanger Sequencing for HIV-1 Genotypic Resistance Testing. J Clin Microbiol. 2018;56(6).

91. Kluesner MG, Nedveck DA, Lahr WS, Garbe JR, Abrahante JE, Webber BR, et al. EditR: A Method to Quantify Base Editing from Sanger Sequencing. Crispr j. 2018;1(3):239-50.

92. Arteche-López A, Ávila-Fernández A, Romero R, Riveiro-Álvarez R, López-Martínez MA, Giménez-Pardo A, et al. Sanger sequencing is no longer always necessary based on a single-center validation of 1109 NGS variants in 825 clinical exomes. Sci Rep. 2021;11(1):5697.

93. Denisova E, Westphal D, Surowy HM, Meier F, Hutter B, Reifenberger J, et al. Whole-exome sequencing in eccrine porocarcinoma indicates promising therapeutic strategies. Cancer Gene Ther. 2021.

94. Malik R, Beaufort N, Frerich S, Gesierich B, Georgakis MK, Rannikmäe K, et al. Whole-exome sequencing reveals a role of HTRA1 and EGFL8 in brain white matter hyperintensities. Brain. 2021;144(9):2670-82.

95. Rabbani B, Tekin M, Mahdieh N. The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. J Hum Genet. 2014;59(1):5-15.

96. Srivastava S, Cohen JS, Vernon H, Barañano K, McClellan R, Jamal L, et al. Clinical whole exome sequencing in child neurology practice. Ann Neurol. 2014;76(4):473-83.

97. Atwal PS, Brennan ML, Cox R, Niaki M, Platt J, Homeyer M, et al. Clinical whole-exome sequencing: are we there yet? Genet Med. 2014;16(9):717-9.

98. Yang Y, Muzny DM, Reid JG, Bainbridge MN, Willis A, Ward PA, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders. N Engl J Med. 2013;369(16):1502-11.

99. Gilissen C, Hoischen A, Brunner HG, Veltman JA. Disease gene identification strategies for exome sequencing. European Journal of Human Genetics. 2012;20(5):490-7.

100. Dong C, Wei P, Jian X, Gibbs R, Boerwinkle E, Wang K, et al. Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. Human molecular genetics. 2015;24(8):2125-37.

101. Tsiatis AC, Norris-Kirby A, Rich RG, Hafez MJ, Gocke CD, Eshleman JR, et al. Comparison of Sanger sequencing, pyrosequencing, and melting curve analysis for the detection of KRAS mutations: diagnostic and clinical implications. The Journal of Molecular Diagnostics. 2010;12(4):425-32.

102. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? Archives of Disease in Childhood-Education and Practice. 2013;98(6):236-8.

103. Tarpey PS, Stevens C, Teague J, Edkins S, O’Meara S, Avis T, et al. Mutations in the gene encoding the Sigma 2 subunit of the adaptor protein 1 complex, AP1S2, cause X-linked mental retardation. The American Journal of Human Genetics. 2006;79(6):1119-24.

104. Chiurazzi P, Tabolacci E, Neri G. X-linked mental retardation (XLMR): from clinical conditions to cloned genes. Critical reviews in clinical laboratory sciences. 2004;41(2):117-58.

105. Basel-Vanagaite L. Clinical approaches to genetic mental retardation. The Israel Medical Association journal: IMAJ. 2008;10(11):821-6.

106. Elkabetz Y, Panagiotakos G, Al Shamy G, Socci ND, Tabar V, Studer L. Human ES cell-derived neural rosettes reveal a functionally distinct early neural stem cell stage. Genes & development. 2008;22(2):152-65.

107. Sobieszczuk DF, Poliakov A, Xu Q, Wilkinson DG. A feedback loop mediated by degradation of an inhibitor is required to initiate neuronal differentiation. Genes & development. 2010;24(2):206-18.

108. Avantaggiato V, Pandolfi P, Ruthardt M, Hawe N, Acampora D, Pelicci P, et al. Developmental analysis of murine Promyelocyte Leukemia Zinc Finger (PLZF) gene expression: implications for the neuromeric model of the forebrain organization. Journal of Neuroscience. 1995;15(7):4927-42.

109. Wieczorek D, Köster B, Gillessen-Kaesbach G. Absence of thumbs, A/hypoplasia of radius, hypoplasia of ulnae, retarded bone age, short stature, microcephaly, hypoplastic genitalia, and mental retardation. Am J Med Genet. 2002;108(3):209-13.

110. Fischer S, Kohlhase J, Böhm D, Schweiger B, Hoffmann D, Heitmann M, et al. Biallelic loss of function of the promyelocytic leukaemia zinc finger (PLZF) gene causes severe skeletal defects and genital hypoplasia. J Med Genet. 2008;45(11):731-7.

111. Buaas FW, Kirsh AL, Sharma M, McLean DJ, Morris JL, Griswold MD, et al. Plzf is required in adult male germ cells for stem cell self-renewal. Nat Genet. 2004;36(6):647-52.

112. Bacchelli E, Loi E, Cameli C, Moi L, Vega Benedetti AF, Blois S, et al. Analysis of a sardinian multiplex family with autism spectrum disorder points to post-synaptic density gene variants and identifies CAPG as a functionally relevant candidate gene. Journal of clinical medicine. 2019;8(2):212.

113. Purcell SM, Moran JL, Fromer M, Ruderfer D, Solovieff N, Roussos P, et al. A polygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia. Nature. 2014;506(7487):185-90.

114. Fromer M, Pocklington AJ, Kavanagh DH, Williams HJ, Dwyer S, Gormley P, et al. De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. Nature. 2014;506(7487):179-84.

115. Bastami M, Papari E, Abedini SS, Kahrizi K, Najmabadi H. Genetic Causes of Putative Autosomal Recessive Intellectual Disability Cases in Hamedan Province. Archives of Rehabilitation. 2012;13(1):66-70.

116. Usui N, Berto S, Konishi A, Kondo M, Konopka G, Matsuzaki H, et al. Zbtb16 regulates social cognitive behaviors and neocortical development. Transl Psychiatry. 2021;11(1):242.

|  |  |
| --- | --- |
| **Surname:** | **Name:** |
| **Title:**  Molecular study by whole exome sequencing method for 310 genes involved in mental retardation in a family with one patient in Amarah | |
| **Supervisor:**  Dr. Hadideh Mabudi | |
| **Advisor:** Dr. Javad Mohammadi Asl | |
| **Degree:** Master | |
| **University:** | |
| **Faculty:** | **Department:** Genetics |
| **Graduating Date** | **Number of Pages:** |
| **Keywords:**  Mental retardation، Genetic defects, Mutation، Whole exome sequencing | |
| **Background:**  Mental retardation is the most common developmental disability. The child has specific performance and cognitive skills limitations in this disorder, including communication, social, and self-care skills. There are different types of mental retardation, and there are many reasons for this problem. Genetic factors are responsible for 70% of cases of mental retardation. The ZBTB16 gene encodes a transcription factor that plays a crucial role in many biological processes. This protein is involved in the proliferation of nerve progenitor cells and nerve differentiation during growth. **Methods:** The study family was examined for mutations in 310 genes involved in mental retardation using the WES sequencing technique (Sequencer ABI 3130 / 3130XL) by WES. **Results:** The parents were heterozygous for ZBTB16 mutation, and the child of the family showed mutation c.95C>T: p.32T>I in exon 8 of the ZBTB16 gene as homozygous. **Conclusion:** The present study results showed that mutations in the ZBTB16 gene are associated with skeletal defects, genital hypoplasia, and mental retardation and that genetic testing is necessary to confirm the disease. Further studies with higher sample sizes and investigating the association of ZBTB16 mutations with the incidence of mental retardation are suggested. | |



**Islamic Azad University**

**Science and Research Branch**

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the MSc degree

**Subject:**

**Molecular evaluation by WES method for 35 genes involved in amyotrophic lateral sclerosis in Tehranian family**

**Supervisor:**

Dr. Hadideh Mabudi

**Advisor:**

Dr. Javad Mohammadi Asl

**By:**

2022

1. Nonsyndromic Mental Retardatio [↑](#footnote-ref-1)
2. Syndromic Intellectual disability [↑](#footnote-ref-2)
3. luxoid [↑](#footnote-ref-3)
4. Neocortical [↑](#footnote-ref-4)