گیتی نوبری، دکتر طاهره ناجی* (نویسنده مسئول)
* PHD تخصصی بیولوژی، مدیر گروه سلولی ملکولی دانشگاه آزاد واحد علوم دارویی

کدام داده‌های ژنوم می‌توانند ما را در مورد تنظیم بیان ژنی در ژنتیک اوتیسم آموزش بدهند– بخش اول

اختلال طیف اوتیسم ASD دارای زمینه ی ژنتیکی است. بررسی های بسیاری برای شناسایی ژن‌های خاص که منجر به ریسک ASD، با هدف تخصیص کارکرد ژن در نمود آسیب شناسی مولکولی برای ASD انجام شده است. یک پاتولوژی مولکولی یکپارچه منجر به افزایش قابل ملاحظه درک ما از این پدیده شده است که چه مشکلی در هنگام رشد به وجود می‌آید و می‌تواند منجر به جهت‌گیری‌های پیشگیرانه یا درمانی و یا بیومارکر های تشخیصی شود. ما به بررسی روش‌های نقشه‌برداری ژنتیکی گذشته و حال و بحث در مورد نتایج اصلی می‌پردازیم، که منجر به این فرض می‌شود که تنظیم نادرست بیان پروتئینی یا ژن، می‌تواند در ASD باعث آشفتگی کارکردهای خاص مغز شود. این فرض در صورتی که تصدیق شود، می‌توان نشان دهنده نیاز به روش‌های آزمایشی و تحلیلی جدیدی به منظور درک این اختلالات غیر رشدی، ایجاد بیومارکر ها و یا در نظر گرفتن روش‌های درمانی شود.

اختلال طیف اوتیسم (ASD) به عبارتی تشخیص کلی برای اختلالات عصبی رشد است که منجر به مشکلاتی در ارتباطات اجتماعی و رفتارهای تکرار پذیر می‌شود. شیوع جهانیASD ، ظاهراً برابر با ۱٪ است و یکی از رایج‌ترین اختلالات عصبی رشد به شمار می‌رود. علی‌رغم هزینه‌های اجتماعی بالای آن، هنوز هیچ درمانی برای علایم اصلی ASD و همچنین یک بیومارکر شناسایی شده برای تشخیص آن وجود ندارد، زیرا دلیل اتیولوژی آن هنوز شناخته نشده است: بدون دانش روشن از پاتولوژی مولکولی، طراحی روش‌های درمانی مؤثر و اقدامات مربوطه، کار آسانی نیست.

از آنجا کهASD در ابتدا در دهه ۴۰ توصیف شد، تلاش‌هایی از آن زمان، برای درک اتیولوژی آن شده، که منجر به تغییر تعاریف و مفهوم اختلال در طول زمان شده است. در سال ۱۹۷۷، اولین مطالعه از دوقلوها، که شامل ۱۱ زوج تک تخمکی و ۱۰ زوج دو تخمکی بود، نشان‌دهنده قابلیت وراثت بسیار بالای آن بود، طوری که نشان می‌داد فاکتور های ژنتیکی دارای اهمیت زیادی برای ASD هستند. هرچند که این بیماری به شکل مندلی به ارث نمی‌رسد. در یک متا–آنالیز جدید از همه پژوهش های دوقلوها که تا سال ۲۰۱۵ منتشر شد، وراثت ۷۴٪ از موارد را تشکیل می‌داد که تأیید می‌کند ژنتیک، نقش حیاتی در ASD دارد. هم اکنون ASD به عنوان یک اختلال چند فاکتوری با عامل‌های ریسکی ژنتیکی و زیست‌محیطی دسته‌بندی می‌شود. علیرغم فهرست رو به رشد ژن‌های ASD، هیچ توزیع عاملی تعریف نشده و مسیر بیوشیمیایی شناسایی نشده است. این عدم موفقیت، احتمالاً ناشی از اتیولوژی بیولوژیکی ASD است که به واسطه ویژگی پاتولوژی مولکولی مشخص شده است و می‌تواند ناشی از اختلالات گسترده عملکردهای عمومی مثل تنظیم ژنتیکی باشد. در این مقاله، به بحث و بررسی دانش کنونی پیرامون ژنتیک ASD از اختلالات مندلی با افزایش ریسک ASD و GWAS برای دنباله ژنوم کامل و اگزوم می‌پردازیم و نشان میدهیم که چگونه نتایج، مجموعاً به نقش غالب تنظیم بیان ژنتیکی غیرویژه در مغز اشاره می‌کند (شکل ۱). انتقال تحقیقات میدانی از جستجو به دنبال یک پاتولوژی مولکولی یکپارچه منفرد به یک الگوی عدم تنظیم عمومی، می‌تواند نیازمند کاربرد مدل‌های تجربی جدید و روش‌های نقشه‌برداری ژنتیکی باشد.

ژنتیک ASD

برپایه ی یافته‌های دهه ۷۰ مبنی بر اینکه فاکتور های ژنتیکی

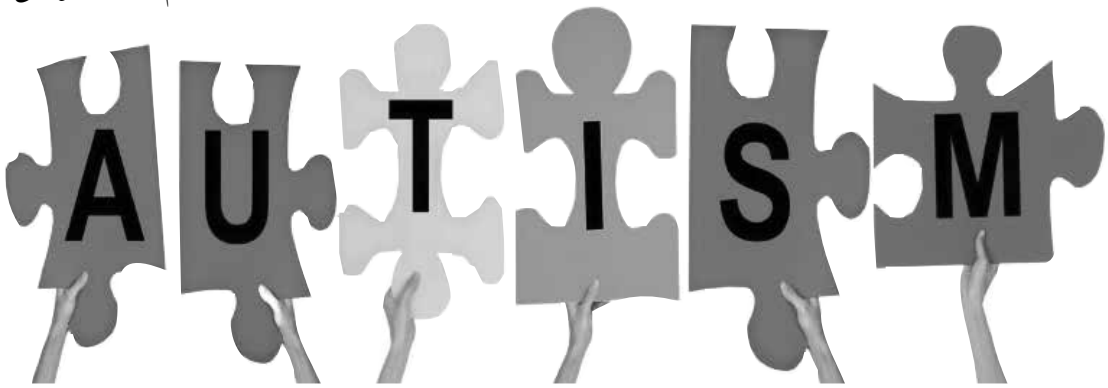
نقش مهمی در اتیولوژی ASD دارند، درمطالعه ژنتیک ASD، تلاش زیادی برای تعریف یک پاتولوژی مولکولی شده است که ناهمسانی را توجیه می‌کند. همان‌طور که در زیر گفته خواهد شد، تحقیقات روی تعیین اشتراکات میان گونه‌های مختلف ژنتیکی مرتبط با ASD ، با هدف کاهش دامنه ASD به یک ژن به خصوص یا اختلال عملیاتی، تمرکز کرده‌اند.

ناهنجاری‌های کروموزومی

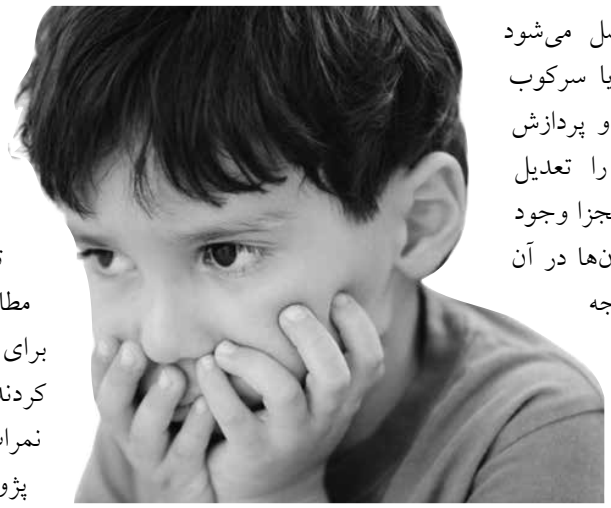
در آغاز دهه۷۰، تکنیک‌های کاریوتیپ سازی، شناسایی ناهنجاری‌های سیتوژنتیکی را در انسان‌ها با ماکزیمم رزولوشن ۵Mb ممکن ساخت. در حال حاضر، برآورد می‌شود که بی‌نظمی ها ی سیتوژنتیکی تقریباً پنج در صد از کودکان ASD را در بر می‌گیرد. سه درصد دیگر نیز مرتبط با ناهنجاری‌های قابل شناسایی کروموزوم با هیبریدسازی در جای فلورسان FISH است. اولین ناهنجاری‌های سیتوژنتیکی در افراد ASD، ناهنجاری‌های کروموزوم جنسی بود: XYY، XXY، و کروموزم بلندY. نظم بیشتر گونه‌های کروموزوم ساختاریِ قابل تشخیص توسط کاریوتیپ سازی در افراد ASD مشاهده می‌شود که تقریباً شامل همه کروموزوم‌ها و دربرگیرنده حذف، کپی برداری، و معکوس سازی انتهایی و میان لایه‌ای، کروموزوم‌های مارکر و تغییر موقعیت‌های متوازن و نامتوازن است. از آنجا که بیشتر این ناهنجاری‌ها تنها در موارد منفرد مشاهده می‌شود، نقش بیولوژی آن ها در ASD روشن نیست. رایج‌ترین ناهنجاری کروموزوم قابل تشخیص از طریق کاریوتیپ سازی در ASD مربوط به کپی برداری میان لایه‌ای در ناحیه 15q11-q13 با اندازه متغیر است. پژوهش های متعددی به منظور تعیین ژن کلیدی در این ناحیه کروموزم انجام شده‌است که می‌توانند عامل ASD باشد. چندین ژن دارای کارکردهای مرتبط در مغز است و همچنان ژن‌های احتمالی آسیب‌پذیری در برابر ASD هستند، مانند گیرنده‌های GABA، GABA5 و GABA3، مؤلفه‌های کمپلکس پروتئوزوم UBE3A و HERC2، عنصر کمپلکس ریبونوکلئو پروتئین SNRPN و پروتئین فعل و انفعالی FMRP، CYFIP1. بدین ترتیب، تقریباً دو دهه پس از شناسایی این ناحیه، توافق نظر روشنی هنوز در مورد یک ژن منفرد توجیه کننده فنوتیپ رفتاری مطابق با کپی برداری آن وجود ندارد.

سندرم های مونوژنی مرتبط با ASD

اولین موفقیت در شناسایی ژن‌های خاص مرتبط به ASD ناشی از جهش‌های ژنتیکی شناخته شده سندروم های مونوژنی و افزایش ریسک ASD، در دهه ۸۰ به دست آمد. سندروم های مرتبط با ASD درنتیجه جهش در ژن‌های FMR1، TSC1 و TSC2 و MECP2 در حدود پنج تا ۱۰٪ از افراد دارای ویژگی‌های اصلی ASD را در بر می‌گیرد. برخلاف خطاهای ذاتی متابولیسم ، تعیین یک مکانیسم ملکولی خاص و یا مسیر بیوشیمیایی دقیق، برای این سندروم ها آسان نیست. در سندروم های مونوژنی مرتبط با ASD، پروتئین‌های کدگذاری شده توسط ژن‌های جهش یافته معمولاً تنظیم کننده‌های مرکزی بیان دامنه وسیعی از ژن‌ها و پروتئین‌های دیگری هستند. برای نمونه، PTENها و TSC۱/۲ بخشی از مسیر سیگنال دهی عمومی mTOR هستند که تقویت کننده سنتز پروتئین مؤلفه‌های کدگذاری رونویسی دستگاه انتقال است. ژن FMR1، پروتئین FMRP را کدگذاری می‌کنند که یک پروتئین دارای پیوند با mRNA است و عمدتاً در مغز بیان می‌شود و منجر به تنظیم mRNA 6000 از طریق شاتلینگ، ترافیکینگ و انتقال پروتئین نوکلئوسیتوپلاسمیک خواهد شد. MECP2 یک تنظیم کننده رونویسی است که



به ۱۱-۲۹٪ از ژنوم متصل می‌شود و این می‌تواند فعالسازی یا سرکوب رونویسی، تفکیک mRNA و پردازش فرا انتقالی microRNAها را تعدیل کند. یک عملکرد نورونی مجزا وجود ندارد که هر کدام از این ژن‌ها در آن اثرگذار باشند و در نتیجه تنظیم دامنه گسترده‌ای از RNA ها و پروتئین‌ها، مختل می‌شود. در نتیجه یک فرض عمومی آن بوده است که هر کدام از این‌ها می‌توانند برای اثرگذاری روی یک ژن برای پاتوبیولوژی ASD اتفاق بیفتند. با این حال، یک فرض دیگر می‌تواند این باشد که ASD ریشه در یک هدف منفرد از این تنظیم کننده‌ها ندارد بلکه این ماهیت عمومی، عدم تنظیم بسیاری از اهداف است که روی ریسک ASD و رشد عصبی اثر گذار است، چرا که مدارات زیربنای دامنه‌های ASD حساسیت زیادی در برابر این اختلال دارند.



پژوهش های ارتباطی

پژوهش های کلون سازی موقعیت و اولیه به منظور شناسایی ژن‌های غیر سندرومیASDاز نقشه‌برداری ارتباطی استفاده کرده‌اند، که دربرگیرنده ریشه‌یابی تفکیک مشترک فنوتیپ مورد مطالعه با مارکر های ژنتیکی از طریق شجره نامه‌های پیچیده است. این طرح آزمایشی در شناسایی گونه‌های ژنتیکی نادر که اثرات زیادی دارند، موفقیت آمیز بوده است، به‌خصوص در هنگامی که یک کانون هندسی، جهش هارا در بسیاری از خانواده‌های تحت تأثیر در بر گیرد؛ که به این ترتیب در شناسایی اختلالات ژنی مندلی سودمند است، مانند HIT در بیماری هانگتینتون. بعدها، پژوهش های ارتباطی برای فنوتیپ/بیماری‌های پیچیده نیز با به کارگیری آنالیزهای غیر پارامتری، برآوردهای چند نقطه ای و مدل‌هایی که امکان نفوذ ناقص را می‌دهند، اعمال شدند. از طریق ایجاد ۱۰۰-۲۰۰ شجره نامه برای چندین فرد ASD در جهت پشتیبانی از آنالیز ارتباط ژنتیکی ، چندین کنسرسیوم در اواخر دهه۹۰ با هدف شناسایی نواحی کروموزومی وراثتی به شکل مشترک با ASD در چندین خانواده‌ای تشکیل شد، که شامل کنسرسیوم بین‌المللی مطالعه ژنتیک مولکولی اوتیسم، مطالعه بین‌المللی تحقیقات اوتیسم پاریس، مطالعه ارتباطی مشترک اوتیسم و کنسرسیوم تبادل منابع ژنتیکی اوتیسم بود. در مطالعه اول، IMGSAC، ۹۹ خانواده را برای ۳۱۶ مارکر ریز-اقماری غربالگری کردند و شش ماهی برای ایجاد ماکزیمم نمرات LOD بالای ۱٫۰ گزارش شدند. پژوهش های بعدی ارتباط نواحی کروموزومی مضاعفی را نشان دادند، در حالی که تکرارپذیرترین ناحیهٔ کروموزومی ۷q بود. پژوهش های کمی به ایجاد کانون‌های هندسی ژنومی پرداختند و حتی در مواردی که از آستانه معناداری فراتر رفتند، نتایج در پژوهش های بعدی قابل تکرار نبودند.

پژوهش های ارتباط ژن برگزیده

با توجه به موفقیت محدوده نقشه‌برداری ارتباطی برای این بیماری پیچیده عمومی که نشاندهنده نقش تعیین‌شده برای جهش‌های وراثتی تک-ژنی با سطح نفوذ بالا است، فرض گونه عمومی بیماری CDCV به‌وجودآمد. این فرض عنوان می‌کند که گونه‌های ژنتیکی دارای تناوب قابل توجه در جمعیت عمومی، که سطح نفوذ پایینی دارند، از عوامل سیاسی پذیری ژنتیکی در برابر بیماری‌های عمومی هستند. در پاسخ، پژوهش های ژن برگزیده، ارتباطی مبتنی بر پلی مورفیسم تک-نوکلئوتید SNP به انجام رسیده‌اند. ژن‌های برگزیده براساس کارکرد بیولوژیکی و یا براساس موقعیت خود در یک کانون ارتباطی انتخاب شدند. این پژوهش های در شناسایی گونه‌های ریسک در آپولی پروتئینE موفق بودند، که شامل APOE e4 در ارتباط با بیماری آلزایمر و PPARγ در ارتباط با بیماری دیابت نوع دوم است.

با این حال، اندازه نمونه ی چند صد خانواده ASD که در آن از روش ارتباطی مبتنی بر SNP ژن برگزیده مشابهی استفاده شد، نتوانست حوزه‌های ژنوم یکپارچه مورد نظر را برای ASD شناسایی کند، حتی در زمانی که نواحی کروموزومی شناسایی شده در پژوهش های ارتباطی از

طریق تیب-بندی متراکم SNPهای عمومی (مشترک) دقیقاً ارزیابی شدند. هیچ سیگنال ارتباطی که بتواند بیشینه های ارتباطی را در این نواحی شناسایی کرد، پیدانشد، بدان معنا که احتمالاً هیچ گونه ژنتیکی مشترک منصرف با اثرات گسترده وجود ندارد که حتی کانون‌های هندسی تأمین شاخص‌های معناداری را نیز به دست دهد. در حقیقت، عوامل پیش‌بینی زیادی در ارگانیسم‌های مدل برای سیگنال های ارتباطی ناشی از چندین مرکز ریسک وجود دارد که اتفاقاً به حد کافی به هم نزدیک‌تر است و به صورت یک بیشینه منفرد به نظر می‌رسد، و در نتیجه این نواحی معنادار می‌توانند نشاندهنده اثرات چند-ژنی در یک مدل مشابه CNVها باشند.

هرچند که موفقیت چندانی در یافتن گونه‌های مشترک وجود ندارد، اما تعیین دنباله گزینه‌های عاملی در نواحی کلون بندی، نشان‌دهنده برخی گونه‌های نادر در ژن‌های سیناپسی هستند که در افراد ASD (به واسطه جابجایی کروموزوم و یا جهش frameshift) کوتاه هستند، مانند SHANK3، NLGN3، و NLGN4. پژوهش هایی که از ارتباط ژنوم استفاده می‌کند نیز نشان‌دهنده سایر ژن‌های سیناپسی در ASD است، مانند ژن‌های خانواده نورکسین و CNTNAP2. این گونه‌های نادر منجر به این فرض می‌شود که سیناپتوژنی می‌تواند فرایند ویژگی اصلی متأثر و هدف بالقوه‌ای برای درمان علایم اصلی ASD باشد. پژوهش های اخیر اگزوم، از این فرض پشتیبانی کردند چرا که دریافتند عملکرد سیناپس و به خصوص تراکم فراسیناپسی گلوتاماترژیک، کارکردهای بیولوژیکی مازاد هستند. با این حال، هر چند که تراکم فراسیناپسی به یکی از تئوری‌های غالب در ASD تبدیل شده است، اما همه ژن‌های مرتبط با ASD می‌توانند به طور مستقیم با کارکرد سیناپس ارتباط داشته باشند. همچنین، می‌دانیم که سیناپس در دامنه گسترده‌ای از فرایندهای سلولی مشارکت می‌کند، مانند سیگنال دهی های رجعی از سیناپس ها تا هسته ها، که در آن‌ها پروتئین‌های مختلف سیگنال دهی محلی سیناپسی تحت ورود هسته، به شکل مبتنی بر فعالیت برای تقویت اصلاحات ترانسکریپتومیک قرار می‌گیرند. در نتیجه، عملکرد سیناپسی به عنوان یک مکانیسم پاتوفیزیولوژیکی برای ASD، در نهایت می‌تواند با تنظیم دینامیک بیان ژن انسانی ارتباط داشته باشد.

پژوهش های ارتباط ژنوم

پس از پژوهش های ارتباط ژن برگزیده و پژوهش های پیوندی، در سال ۲۰۰۰، ایجاد پلتفرم های تکنیکی برای ژنوتیپ سازی گسترده و کم‌هزینه صدها هزارSNP در یک نمونه بزرگ بی‌سابقه منجر به آن شد که پژوهش های ارتباطی مبتنی بر ژنوم GWAS به یک استاندارد طلایی آزمایشی برای ویژگی‌ها و اختلالات چندفاکتوری پیچیده انسانی تبدیل شود. از آن زمان، این طرح آزمایشی با موفقیت برای نشان دادن کانون‌های ریسک جدید برای تخریب ماکولار مبتنی بر سن، بیماری کروهن، و سایر ویژگی‌های پیچیده به‌کارگرفته شد.

اولین پژوهش های GWAS ارتباطی را در میان ASD و ANPهای قرار گرفته در بین کادهرین های CDH10 و CDH9، SEMA5A، MAROD2 و CNT-NAP2 یافتند. باز هم این SNPهای دارای ریسک عمومی، به‌راحتی قابل شناسایی و بازسازی در ASD نیستند، چرا که اندازه اثر هرگونه‌ی عمومی کوچک است و نسبت احتمالات ۱/۲ است که برای بیشتر اندازه‌های اثرات روی ویژگی‌های پیچیده مورد انتظار است؛ در حالی که اندازه‌های گروهی لازم برای شناسایی پلی‌مورفیسم های عمومی اثرات کوچک مربوط به اختلالات پیچیده، باید بزرگ‌تر باشد. در حالی که اندازه‌های نمونه مطالعه ASD در حدود ۲,۰۰۰ خانواده ASD را شامل می‌شد، پژوهش های دیگر ویژگی‌های پیچیده از تعداد بسیار بیشتری از افراد استفاده می‌کنند: بیش از ۳۰۰,۰۰۰ نفر برای چاقی، بیش از ۲۶۰۰۰ نفر برای صرع و بیش از ۳۰,۰۰۰ نفر برای شیزوفرنی.

برای نمونه، تحقیقات در حوزه شیزوفرنی یک مدل جالب توجه را برای پژوهش های آینده ASD به دست داد. برای سال‌ها، همانند ASD، GWAS شیزوفرنی تعداد کمی از کانون‌های تکرار پذیر مرتبط با این اختلاف را شناسایی کرده بود. در سال ۲۰۱۴، اندازه نمونه به ۳۶۹۸۹ مورد افزایش یافته و ۱۲۸ گونه ژنتیکی مستقل از کانون‌های حقیقی ریسک شناسایی شد. در مجموع، شواهد ژنتیکی برای اطلاعات سیگنال دهی گلوتاماترژیک، GABAergic و dopaminergic و همچنین سیگنال دهی کلسیم و عملکرد سیناپس در حال پیدایش هستند که در هماهنگی با تئوری‌های درمانی بیماری هستند. شناسایی موفقیت‌آمیز پاتولوژی های مولکولی که در تلاقی با مشاهدات کلینیکی و چندین مسیر جدید دخیل در شیزوفرنی پس از گسترش اندازه نمونه هستند، منجر به این طرح پیشنهاد می‌شود که گسترش پایگاه دادهGWAS می تواند دورنمای بهتری را برای ASD به دست بدهد.

با این حال، افزایش تعداد کانون‌های وابسته با ASD، ممکن است بطور بایسته منجر به شناسایی اختلالات عملکرد به خصوصی به شکل نشان داده شده، توسط پژوهش های اگزوم نشود. بعلاوه، نمی‌توان انتظار داشت شناسایی این کانون‌های دقیق ریسک در ASD بتواند منجر به ایجاد یک پاتولوژی مولکولی قابل تفسیر به لحاظ عاملی شود که برای ویژگی‌های پیچیده از پیش‌گفته، وجود داشته است. آلل های عمومی وراثتی مانند موردی که در GWAS مطالعه شده‌اند، می‌توانند تنها ۴۹٪ از تغییرات را در آسیب‌پذیری در برابر ASD را توجیه کنند. در بیماری‌های پیچیدهٔ دیگر، گونه‌های غیر کدگذار، ۷۹٪ از قابلیت وراثت مبتنی بر SNP مشاهده شده در GWAS را توجیه می‌کنند، در حالی که گونه‌های کدگذار، کمتر از ۱۰٪ را توجیه می‌کنند. در نتیجه این امر محتمل است که اثرات بزرگ SNP روی ASD، اساساً نمایانگر تغییرات غیرکدگذار باشند. گونه‌های غیرکدگذار، می‌توانند روی عناصر تنظیم کننده مثل پروموتورها و انهانسرها (تقویت کننده‌ها) اثر بگذارند، که می‌تواند بیان زمانی، فضایی و کمی ژن‌ها و RNA ها و غیر کدگذار را کنترل کند. در نتیجه این احتمال وجود دارد که ۴۹٪ از وراثت مبتنی بر SNP نمایانگر فعالیت‌های متوسط زیادی در نواحی تنظیم کننده در ژنوم به جای تغییرات عاملی خاص پروتئین باشد.

فرم اشتراک ماهنامه تشخیص آزمایشگاهی ۱۴۰۰

نام و نام خانوادگی: ..... رشته/تخصص: ..... کد ملی: .....

نام محل کار: ..... مسئولیت: .....

نشانی: .....

کدپستی: ..... تلفن: ..... فاکس: .....

موبایل: ..... ایمیل: .....

♦ تکمیل تمام موارد فوق الزامی است ♦

اشتراک ۶ ماهه (با پست سفارشی) ۲،۷۰۰،۰۰۰ ریال / اشتراک یکساله (با پست سفارشی) ۵،۴۰۰،۰۰۰ ریال

مبلغ اشتراک یکساله خارج از کشور با پست سفارشی ۵۰۰ دلار است.

لطفاً برای شروع یا تمدید اشتراک، رسید فیش واریزی را همراه با فرم تکمیل شده فوق به شماره زیر واتساپ نمایید.

کارت بانک پاسارگاد به شماره کارت ۷۲۲۴-۸۲۸۷-۲۹۱۰-۵۰۲۲ و شماره حساب ۱-۱۲۰۸۴۲۳۴-۸۰۰۰-۲۰۶ به نام آقای محمود اصلانی

ایمیل: matashkhis@gmail.com تلفن: ۹۱۲۷۳۳۳۴۰۷- ۸۸۹۸۷۵۰۱-۶۶۹۱۰۶۱۶