

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجهٔ دکترای تخصصی بیماری های داخلی

عنوان:

تطبیق جهش های ژنتیکی با ویژگی های بالینی بیماران مبتلا به

اوکرونوزیس در اردبیل

نگارش:

دکتر یوسف ایمانی مرنی

استاد راهنما:

دکتر احد اعظمی

اساتید مشاور:

دکتر بهزاد داورنیا

دکتر افسانه انتشاری مقدم

آذر ۱۴۰۱

شماره پایان نامه: ۰۱۸۶

گواهی اصالت پایان نامه

اینجانب دانشجوی مقطع دکتری رشته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تایید می نمایم که:

- این پایان نامه بر اساس نتایج بررسیها/ تحقیقات انجام یافته توسط اینجانب تحت راهنمای بوده و بوسیله **خودم** انشا گردیده است و در صورت استفاده از نتایج پژوهش ها و یا آثار دیگران بلافاصله به مرجع مورد استفاده استناد شده است و در قسمت منابع و مأخذ مشخصات مرجع به طور کامل ذکر گردیده است.

- مسئولیت صحت مطالب مندرج در این پایان نامه به طور کامل با اینجانب است.
- این پایان نامه قبلا برای دریافت هیچ مدرک تحصیلی (هم سطح، پایین تر یا بالاتر) در سایر دانشگاه ها و موسسات آموزش عالی ارائه نشده است.

- کلیه حقوق مادی و معنوی این پایان نامه و هر گونه محصول مستخرج از آن اعم از مقالات، چاپ کتاب و ثبت اختراع به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تعلق دارد و هرگونه استفاده از اطلاعات و یا نتایج، واگذاری اطلاعات به افراد دیگر، چاپ، تکثیر، نسخه برداری، ترجمه و اقتباس از این پایان نامه بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه علوم پزشکی اردبیل ممنوع است.

- کلیه مقالات مستخرج از این پایان نامه تحت نام دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (Ardabil University of Medical sciences) به عنوان وابستگی نویسنده اول یا مسئول و با اطلاع و اجازه تمامی اساتید راهنما و مشاور به چاپ رسیده یا خواهد رسید.

- چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن را می پذیرم و دانشگاه مجاز است با اینجانب مطابق با ضوابط و مقررات رفتار نموده و در صورت برخورد قانونی، هیچ گونه ادعایی نخواهم داشت.

نام و نام خانوادگی دانشجو

امضا و تاریخ

- بدینوسیله **اصال و صحت** نتایج این پایان نامه مورد تایید اینجانب، استاد راهنما می باشد.

نام و نام خانوادگی استادراهنما

امضا و تاریخ

پروردگارا

نه می توانم موهایشان را که در راه عزت من
سفید شد، سیاه کنم و نه برای دستهای پینه بسته
شان که ثمره تلاش برای افتخار من است،
مرهمی دارم. پس توفیقم ده که هر لحظه شکر
گزارشان باشم و ثانیه های عمرم را در عصای
دست بودنشان بگذرانم.

تقدیم به پدرم که زندگی را از دستانش،
مادرم که محبت را از نگاهش آموختم

سپاسگزاری

اکنون که به یاری پروردگار و یاری و راهنمایی اساتید بزرگ موفق به پایان این رساله شده‌ام وظیفه خود دانسته که نهایت سپاسگزاری را از تمامی عزیزانی که در این راه به من کمک کرده‌اند به عمل آورم:

در آغاز از اساتید فرهیخته دکتر احد اعظمی که راهنمایی و دکتر بهزاد داورنیا و دکتر افسانه انتشاری مقدم که مشاوره این پایانامه را به عهده داشته‌اند کمال تشکر را دارم.

از داوران گرامی که زحمت داوری و تصحیح این پایانامه را به عهده داشتند کمال سپاس را دارم. خالصانه از تمامی معلمان، مدرسان و اساتیدی که در مقاطع مختلف تحصیلی به من علم آموخته و مرا از سرچشمه دانایی سیراب کرده‌اند متشکرم.

از کلیه شرکت کنندگان در این پژوهش به جهت
همکاری صمیمانه شان نهایت سپاس را دارم.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده.....
۳	فصل اول مقدمه.....
۴	۱-۱- اهمیت موضوع و انگیزه تحقیق.....
۸	۱-۲- اهداف پژوهش.....
۸	۱-۲-۱- هدف کلی.....
۸	۱-۲-۲- اهداف اختصاصی.....
۸	۱-۳- سوالات و فرضیات مطالعه.....
۸	۱-۴- تعریف واژه‌ها.....
۱۰	فصل دوم بررسی متون.....
۱۱	۲-۱- آلکاپتونوریک اوکرونوزیس.....
۱۱	۲-۱-۱- تاریخچه.....
۱۴	۲-۱-۲- اپیدمیولوژی.....
۱۴	۲-۱-۳- پاتوفیزیولوژی.....
۱۵	۲-۱-۴- تظاهرات بالینی و عوارض.....
۱۶	۲-۱-۵- تشخیص.....

- ۱۷.....۲-۱-۶- مبنای ژنتیکی
- ۱۹.....۲-۱-۷- اثر موتاسیون ها بر پروتئین HGD
- ۲۰.....۲-۱-۸- مدل های حیوانی آلکاپتونوری
- ۲۱.....۲-۱-۹- همبستگی ژنوتیپ- فنوتیپ
- ۲۲.....۲-۱-۱۰- مدیریت آلکاپتونوری
- ۲۴.....۲-۲- بررسی متون
- ۲۷.....فصل سوم مواد و روش کار
- ۲۸.....۳-۱- نوع پژوهش
- ۲۸.....۳-۲- جمعیت مورد مطالعه
- ۲۸.....۳-۳- نمونه برداری و روش نمونه گیری و گردآوری اطلاعات
- ۲۹.....۳-۳-۱- استخراج DNA
- ۳۱.....۳-۳-۲- طراحی پرایمر
- ۳۲.....۳-۳-۳- PCR
- ۳۲.....۳-۳-۴- الکتروفورز با ژل آگارز
- ۳۲.....۳-۳-۵- تعیین توالی با روش الکتروفورز کاپیلاری بر اساس روش تعیین توالی SANGER
- ۳۳.....۳-۴- روش تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی آماری
- ۳۴.....۳-۵- معیارهای ورود به مطالعه
- ۳۴.....۳-۶- معیار خروج از مطالعه

۳۴.....	۳-۷- ملاحظات اخلاقی.....
۳۵.....	۳-۸- جدول متغیرهای مطالعه.....
۳۶.....	فصل چهارم نتایج.....
۵۸.....	فصل پنجم بحث.....
۵۹.....	۵-۱- بحث.....
۶۵.....	۵-۲- محدودیت‌های مطالعه.....
۶۶.....	۵-۳- نتیجه‌گیری.....
۶۷.....	۵-۴- پیشنهادات.....
۶۸.....	منابع.....

فهرست جدول‌ها

- جدول ۱-۲: شیوه‌های مدیریت حمایتی و تسکین دهنده برای AKU ۲۳
- جدول ۱-۳: لیست پرایمرها ۳۱
- جدول ۲-۳: متغیرهای مطالعه ۳۵
- جدول ۱-۴: مشخصات بالینی در ۱۴ پروباند ۳۹ ۴۲
- جدول ۲-۴: واریانت‌های ژن HGD در ۱۴ پروباند ۴۵
- جدول ۳-۴: ارتباط واریانت‌ها با Dark Urine در بیماران ۵۳
- جدول ۴-۴: ارتباط واریانت‌ها با Eye pigmentation در بیماران ۵۳
- جدول ۵-۴: ارتباط واریانت‌ها با Ear pigmentation در بیماران ۵۴
- جدول ۶-۴: ارتباط واریانت‌ها با Nail pigmentation در بیماران ۵۴
- جدول ۷-۴: ارتباط واریانت‌ها با Hand pigmentation در بیماران ۵۵
- جدول ۸-۴: ارتباط واریانت‌ها با Lumbar pain در بیماران ۵۵
- جدول ۹-۴: ارتباط واریانت‌ها با Osteoporosis/Osteopenia در بیماران ۵۶
- جدول ۱۰-۴: ارتباط واریانت‌ها با Joint pain در بیماران ۵۶
- جدول ۱۱-۴: ارتباط واریانت‌ها با Skeletal involvement در بیماران ۵۷

فهرست شکل ها

- شکل ۱-۲: ساختار شیمیایی (a) جنتیسیک اسید و (b) هموجنتیسیک اسید..... ۱۳
- شکل ۲-۲: مسیر متابولیک تیروزین..... ۱۳
- شکل ۴-۱: شجره نامه خانواده ۱..... ۴۶
- شکل ۴-۲: شجره نامه خانواده ۲..... ۴۶
- شکل ۴-۳: شجره نامه خانواده ۴..... ۴۷
- شکل ۴-۴: شجره نامه خانواده ۵..... ۴۷
- شکل ۴-۵: شجره نامه خانواده ۶..... ۴۸
- شکل ۴-۶: شجره نامه خانواده ۷..... ۴۸
- شکل ۴-۷: شجره نامه خانواده ۸..... ۴۹
- شکل ۴-۸: شجره نامه خانواده ۹..... ۴۹
- شکل ۴-۹: شجره نامه خانواده ۱۰..... ۵۰
- شکل ۴-۱۰: شجره نامه خانواده ۱۱..... ۵۰
- شکل ۴-۱۱: شجره نامه خانواده ۱۲..... ۵۱
- شکل ۴-۱۲: شجره نامه خانواده ۱۳..... ۵۱
- شکل ۴-۱۳: شجره نامه خانواده ۱۴..... ۵۲

فهرست نمودارها

- نمودار ۱-۴: توزیع فراوانی بیماران از لحاظ جنس ۳۷
- نمودار ۲-۴: توزیع فراوانی بیماران از لحاظ گروه سنی ۳۸
- نمودار ۳-۴: توزیع فراوانی بیماران از لحاظ اولین علامت بالینی ۳۹
- نمودار ۴-۴: توزیع فراوانی علائم بالینی شایع در بیماران ۴۰

فهرست علائم اختصاری

AKU: Alkaptonuria

BGQ: Benzoquinone acetic acid

ENU: N-ethyl-N-nitrosourea

HGA: Homogentisic acid

HGD: Homogentisate 1,2-dioxygenase

MLPA: Multiplex Ligation-dependent probe amplification

MRI: Magnetic resonance imaging

NGS: Next-generation sequencing

تطبیق جهش های ژنتیکی با ویژگی های بالینی بیماران مبتلا به اوکرونوزیس در اردبیل

چکیده

زمینه: آنالیز مولکولی ژن کد کننده هموجنتیسات ۱و۲-دی اکسیژناز (HGD) در بیماران مبتلا به اوکرونوزیس آلکاپتونوریک (AKU) طیف وسیعی از جهش ها را نشان داده است اما اطلاعات چندانی در این زمینه در بیماران ایرانی وجود ندارد.

هدف: تعیین جهش های ژنتیکی در بیماران مبتلا به اوکرونوزیس در اردبیل و تطبیق آن با ویژگی های بالینی

مواد و روش کار: مطالعه از نوع گزارش موردها بود. بیماران با تشخیص قطعی اوکرونوزیس آلکاپتونوریک در اردبیل که تعداد آنها ۲۷ نفر و از ۱۴ خانواده بودند، وارد این مطالعه شدند. این ۱۴ خانواده از لحاظ تظاهرات بالینی مورد بررسی قرار گرفتند و همچنین به منظور بررسی جهش های ژن HGD، توالی یابی کامل نواحی کدینگ ژن بر اساس روش تعیین توالی Sanger انجام شد.

یافته‌ها: میانگین سنی پروباندهای مورد بررسی $53/1 \pm 11/1$ سال و شامل ۸ زن (۵۷/۱٪) و ۶ مرد (۴۲/۹٪) بود. شایع ترین علائم بالینی درد کمر و درد مفصلی بود. ۷ ژنوتایپ مختلف در ژن HGD دیده شد: c.325_328del / c.840G>A در ۴ پروباند (۲۸/۶٪)، c.342+5G>A / c.175del(A) / c.175del(A) در ۲ پروباند (۱۴/۳٪)، c.342+5G>A در ۲ پروباند (۱۴/۳٪)، c.113del(A) / c.113del(A) در ۲ پروباند (۱۴/۳٪)، c.325_328del / c.321G>A در ۲ پروباند (۱۴/۳٪)، c.325_328del / c.140C>T در ۱ پروباند (۷/۱٪) و c.334T>G / c.334T>G در ۱ پروباند (۷/۱٪). ارتباط معناداری بین نوع واریانت با علائم بالینی بیماران دیده نشد (در همه موارد $P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: در این مطالعه برای اولین بار طیف واریانت های ژن HGD در ۱۴ خانواده مبتلا به AKU در ایران بررسی شد. نتایج نشان دهنده ۵ واریانت جدید مختص این جمعیت در ژن HGD بود که قبلا در هیچ بیمار AKU ای در جهان گزارش نشده بود. شایع ترین واریانت، واریانت جدید c.325_328del در اگزون ۵ و از نوع deletion frameshift بود که در نیمی از بیماران شناسایی شد. ارتباط معناداری بین ژنوتیپ و فنوتیپ بدست نیامد.

کلمات کلیدی: اوکرونوزیس، جهش ژنتیکی، ویژگی بالینی.