بسم الله الرحمن الرحيم

١٩٨٢٣

١٠٢٨١٨

دانشگاه‌تربیت مدرس

دانشکده علوم پایه

پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد زیست شناسی(ژنتیک)

بررسی همبستگی دو پلی مورفیسم ژن نوروگلین۱ با اسکیزوفرنیا

نگارش:

سید علی محمد شریعتی

استاد راهنما:

دکتر مهرداد بهمنش

استاد مشاور:

دکتر حمید گله داری

۱۳۸۷ /۵/ ۲۵

خرداد ۸۷

۱۰۲۸۱۸

بسمه تعالی

دانشکده علوم پایه

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخهٔ نهایی پایان‌نامه آقای سیدعلی‌محمد شریعتی رشته زیست‌شناسی گرایش (ژنتیک) تحت عنوان: «بررسی همبستگی دو پلی مورفیسم ژن نوروگلین ۱ با اسکیزوفرنیا » از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجهٔ کارشناسی‌ارشد مورد تائید قرار دادند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر مهرداد بهمنش	استادیار	
۲- استاد مشاور	دکتر حمید گله‌داری	استادیار	
۳- استاد ناظر داخلی	دکتر مجید صادقی‌زاده	دانشیار	
۴- استاد ناظر خارجی	دکتر محمدتقی اکبری	استادیار	
۵- استاد ناظر خارجی	دکتر سعیدرضا غفاری	استادیار	
۶- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر سیدجواد مولی	دانشیار	

۱۳۸۷ /۵/ ۲۵

۱۰-۲۸۱۸

انشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پایه

بسمه تعالی

آیین‌نامهٔ چاپ پایان‌نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

مادهٔ ۲ در صفحهٔ سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند

«کتاب حاضر حاصل پایان‌نامهٔ کارشناسی‌ارشد/رسالهٔ دکتری نگارنده در رشتهٔ است که در سال در دانشکدهٔ دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکارخانم /جناب آقای دکتر ، مشاورهٔ سرکار خانم/جناب آقای دکتر و مشاورهٔ سرکار خانم/جناب آقای دکتر از آن دفاع شده است.»

مادهٔ ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

مادهٔ ۴- درصورت عدم رعایت مادهٔ ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ‌شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس ، تادیه کند.

مادهٔ ۵- دانشجو تعهد و قبول می‌کند درصورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادهٔ ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه‌شدهٔ نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

مادهٔ ۶- اینجانب [illegible] دانشجوی رشته [illegible] مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی: [illegible]

تاریخ و امضا: ۸۷/۲/۲۵

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه‌ها / رساله‌های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هرگونه بهره‌برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین‌نامه‌ها و دستورالعمل‌های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه / رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آئین نامه های مصوب انجام می‌شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

تقدیم به همسر و خانواده عزیزم

سپاس گزاری

با سپاس فراوان از جناب آقای دکتر مهرداد بهمنش که راهنمایی های ایشان هدایت گر من در مسیر انجام این پایان نامه بوده و با شکر ویژه از دکتر حمید گله داری، دکتر مجید صادقی زاده و دکتر سید جواد مولی که از تجارب و آموخته های آنان استفاده زیادی کردم. صادقانه از تمام بیماران و افراد سالمی که نمونه های خون آنها مورد استفاده قرار گرفت قدردانی می کنم. همچنین از همیاری و همفکری های جناب آقای حسن نیا، جناب آقای فتحیان، آقای جعفری، آقای جعفرنژاد، مهندس ولیدی، آقای آقائی بختیاری، آقای نادری، کمال تشکر و قدردانی می گردد.

چکیده

اسکیزوفرنیا یک بیماری مزمن روانی با علائم مثبت (مانند کژ انگاری، توهم و پارانویا) و علائم منفی (مانند اختلالات ادراکی، نقص در توجه و تمرکز و جدائی اجتماعی) می باشد. این بیماری با شیوع ۱ درصدی یکی از نگرانی های اصلی برای سلامت عمومی می باشد. اسکیزوفرنیا یک بیماری پیچیده می باشد که عوامل محیطی و ژنتیکی در ایجاد و پیشرفت این بیماری نقش دارند. مطالعات خانوادگی، دوقلوها و فرزند خواندگی همگی حکایت از نقش مهم عوامل ژنتیکی در بیماری اسکیزوفرنیا دارد. با توجه به نقش مهم عوامل ژنتیکی در بیماری اسکیزوفرنیا، مطالعات ژنتیکی بخش مهمی از تحقیقات اسکیزوفرنیا را به خود اختصاص داده است. مطالعات همبستگی ژنتیکی که در آن فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم های ویژه در بین افراد سالم و بیمار مقایسه می شود از جمله مهمترین مطالعات ژنتیکی است. بهره گیری از این مطالعات منجر به ایجاد لیستی از ژن های دخیل در اسکیزوفرنیا شده که در این لیست ژن نوروگلین۱ به لحاظ موقعیت کروموزومی و عملکرد زیستی خود جایگاه ویژه ای را به خود اختصاص داده است. همبستگی نوروگلین۱ با اسکیزوفرنیا در جمعیت های مختلف به تایید رسیده است. با این حال هیچ مطالعه ای در جمعیت های خاورمیانه صورت نگرفته است. با توجه به اینکه تکرار مطالعات همبستگی در جمعیت های مستقل به عنوان یکی از راهکارهای اصلی برای جلوگیری از نتایج تصادفی در این دست از مطالعات مطرح می باشد، در تحقیق حاضر همبستگی بین ژن نوروگلین۱ و اسکیزوفرنیا در جمعیتی از جنوب غرب ایران مورد بررسی قرار گرفت. ۹۵ فرد مبتلا به اسکیزوفرنیا به عنوان گروه بیمار و ۹۵ فرد سالم که به صورت هماهنگ با گروه بیمار انتخاب شده بودند در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. دو پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی از انتهای '5 ژن نوروگلین۱ تعیین ژنوتیپ شدند و فراوانی آللی و ژنوتیپی در دو جمعیت بیمار و سالم مقایسه شد. نتایج این مطالعه حاکی از آن است که بین ژن نوروگلین۱ و اسکیزوفرنیا در نمونه های مورد مطالعه ما همبستگی وجود دارد. همچنین تجزیه و تحلیل ها نشان داد که هموزیگوت بودن برای آلل مرتبط با بیماری می تواند با خطر افزایش یافته ای برای ابتلا به اسکیزوفرنیا همراه باشد.

واژگان کلیدی: اسکیزوفرنیا، نوروگلین۱، همبستگی، اسنیپ،

فهرست مطالب

عنوان ..... صفحه
فصل ۱ ..... ۱
۱-۱- اسکیزوفرنیا ۲
۱-۱-۱- اسکیزوفرنیا چیست؟ ۲
۱-۱-۲- تشخیص اسکیزوفرنیا ۳
۱-۱-۲-۱- حالت هذیان ۴
۱-۱-۲-۲- اوهام ۵
۱-۱-۲-۳- عوارض منفی ۵
۱-۱-۳- انواع اسکیزوفرنیا ۵
۱-۱-۳-۱- نوع پارانویید ۶
۱-۱-۳-۲- نوع آشفته ۶
۱-۱-۳-۳- نوع کاتاتونیک ۶
۱-۱-۳-۴- نوع نا متمایز ۶
۱-۱-۳-۵- نوع باقیمانده ۷
۱-۱-۴- سن شروع بیماری ۷
۱-۱-۵- میزان شیوع و وقوع بیماری ۷
۱-۱-۵-۱- "میزان شیوع ۷
۱-۱-۵-۲- میزان وقوع ۸
۱-۱-۶- تغییراتی در ساختار و عملکرد مغز در افراد مبتلا به اسکیزوفرنیا ۸
۱-۱-۶-۱- تغییرات ساختاری ۸
۱-۱-۶-۲- تغییرات عملکردی ۱۰
۱-۱-۷- عوامل موثر بر اسکیزوفرنیا ۱۰
۱-۲- ژنتیک بیماری اسکیزوفرنیا ۱۱
۱-۲-۲ مطالعات خانوادگی ۱۲
۱-۲-۳- مطالعات مربوط به دوقلو ها: ۱۳
۱-۲-۴- مطالعات مربوط به فرزند خوانده ها ۱۵
۱-۲-۵- نحوه به ارث رسیدن اسکیزوفرنیا ۱۶
۱-۲-۵-۱- مدل تک ژنی ۱۶
۱-۲-۵-۲- مدل چند ژنی یاچند عاملی ۱۷
۱-۲-۵-۳- مدل ناهمگنی ژنتیکی ۱۸
۱-۲-۶- ناهنجاری های کروموزومی در بیماری اسکیزوفرنیا ۱۹
۱-۲-۷- مطالعات لینکاژی ۲۲
۱-۲-۸- مطالعات همبستگی ژنتیکی ۲۳

۱-۲-۹- ژن های کاندیدا برای اسکیزوفرنیا ۲۵
۱-۲-۹-۱- COMT کاته کول آمین O متیل ترانسفراز ۲۵
۱-۲-۹-۲- RGS4 ..... ۲۷
۱-۲-۹-۳- ژن DTNBP1 ..... ۲۷
۱-۲-۹-۴- دیگر ژن ها: ۲۸
۱-۲-۱۰- نوروگلین ها: ۳۰
۱-۲-۱۰-۱- ژن NRG1 و محصول پروتئینی آن ۳۰
۱-۲-۱۰-۲- پیام رسانی از طریق نوروگلین ۱ ..... ۳۲
۱-۲-۱۰-۳- عملکرد نوروگلین۱ در سیستم عصبی ۳۳
۱-۲-۱۰-۴- پیام رسانی NRG1/ErbB و اساس مولکولی بیماری اسکیزوفرنیا ۳۶
۱-۲-۱۰-۵- شناخت ارتباط ژن نورگلین۱ با اسکیزوفرنیا ۳۹
فصل ۲ ..... ۴۲
۲-۱- مواد و وسایل ۴۳
۲-۱-۱- بافرها و محلول ها ۴۳
۲-۱-۲- آنزیمها ۴۴
۲-۱-۳- الیگونوکلئوتیدها ۴۵
۲-۱-۴- کیت‌ها ۴۶
۲-۱-۵- سایر مواد ۴۶
۲-۱-۶- وسایل ۴۶
۲-۲- روشها ۴۶
۲-۲-۱- جمع آوری نمونه های خون ۴۶
۲-۲-۲- استخراج DNA از خون تام ۴۷
۲-۲-۳- کیفیت و کمیت سنجی DNA استخراج شده ۴۸
۲-۲-۳-۱- ژل آگارز ۴۸
۲-۲-۳-۲- اسپکتروفتومتری ۴۹
۲-۲-۴ تعیین ژنوتیپ برای دو اسنیپ SNP8NRG241930 و SNP8NRG221533 ..... ۵۰
۲-۲-۴-۱- Tetra-Primer-ARMS برای تعیین ژنوتیپ SNP8NRG225133 ..... ۵۰
۲-۲-۴-۲- روش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ SNP8NRG241930 ..... ۵۲
۲-۲-۴-۳- تعیین ژنوتیپ SNP8NRG221533 با روش Tetra-PrimerPCR-ARMS ۵۲
۲-۲-۴-۴- تعیین ژنوتیپ SNP8NRG241930 با روش PCR-RFLP ۵۷
۲-۲-۴-۵- تجزیه و تحلیل های آماری ۶۲
فصل ۳ ..... ۶۳
۳-۱- نمونه گیری و اطلاعات بیماران ۶۴
۳-۲- نتایج استخراج DNA ژنومی از خون تام ۶۵
۳-۳- نتایج تعیین ژنوتیپ اسنیپ SNP8NRG221533 ..... ۶۶
۳-۳-۱- نتایج تنظیم PCR چندگانه ۶۶

۳-۳-۱-۱-PCR شیب دمائی برای تکثیر قطعه 773bp حاصل از دو پرایمر خارجی (FO221533,RO221533) ۶۶
۳-۳-۱-۲-PCR شیب دمائی برای قطعه 302bp حاصل از پرایمرهای FT221533 و RO221533 ۶۷
۳-۳-۱-۳- PCR شیب دمائی برای تکثیر قطعات 522bp و و 773bp حاصل پرایمرهای FO221533,RO221533,RC221533 ۶۸
۳-۳-۱-۴- انجام واکنش های T-ARMS-PCR برای تعیین ژنوتیپ نمونه های سالم و بیمار ۶۹
3-3-2- نتایج Alignment توالی ۷۰
۳-۳-۳- نتایج نهائی مربوط به فراوانی ژنوتیپی و آللی برای SNP8NRG221533 در افراد بیمار و سالم ۷۱
۳-۴- نتایج تعیین ژنوتیپ SNP8NRG241930 توسط روش PCR-RFLP ۷۲
۳-۴-۱-PCR شیب دمائی برای SNP8NRG241930 ۷۲
۳-۴-۲- نتایج PCR برای تکثیر قطعه 897bp توسط پرایمرهای F241930 و R241930 ۷۲
۳-۴-۳- هضم آنزیمی با آنزیم محدود کننده ScaI ۷۳
۳-۴-۴- نتایج تعیین توالی و تایید روش تعیین ژنوتیپ برای اسنیپ SNP8NRG241930 ۷۴
۳-۴-۵- نتایج Aligenment نمونه های تعیین توالی شده و توالی اصلی ۷۵
۳-۴-۶- نتایج نهائی مربوط به فروانی ژنوتیپی و آللی بزای SNP8NRG241930 در افراد بیمار و سالم ۷۶
۳-۵- بررسی های آماری ۷۶
۳-۵-۱- بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در دو گروه بررسی شده و برای دو اسنیپ مطالعه شده ۷۶
۳-۵-۲- مقایسه فراوانی آللی و ژنوتیپی در دو گروه برای دو اسنیپ مطالعه شده ۷۷
فصل ۴ ۷۹
۴-۱- بحث ۸۰
۴-۲- پیشنهادها ۸۹
فصل ۵ ۹۰

فهرست شکل‌ها

عنوان.....صفحه

شکل (۱-۱) : از دست رفتن سازماندهی سلول های هیپوکامپ در مغز افراد مبتلا به اسکیزوفرنیا (سمت چپ) در مقایسه با افراد سالم(سمت راست) [۱۴] ۹

شکل (۱-۲) : تصویر MRI از مغز دوبرادر دوقلوی همسان ۲۸ ساله . اندازه بطنهای مغزی در برادر بیمار (سمت راست) نسبت به برادر سالم (سمت چپ) افزایش قابل توجهی را نشان میدهد[۱۴]..... ۹

شکل (۱-۳) : چهار قلو هائی که در بزرگسالی همگی به اسکیزوفرنیا مبتلا شدند. این تصویر مربوط به سن ۵ سالگی انهاست[۱۴]..... ۱۲

شکل (۱-۴) :میزان خطر ابتلا به بیماری را برحسب درجه خویشاوندی نشان میدهد.خطر بیماری با افزایش درجه خویشاوندی افزایش میبابد. در سمت چپ تصویر درصد ژنهای مشترک با فرد شاخص را بر حسب درجه خویشاوندی نشان می دهد[۱۷]..... ۱۳

شکل (۱-۵) :شایع ترین اختلال کروموزومی مرتبط با بیماری اسکیزوفرنیا حذف ناحیه 22q11 است[۲۶]. ۲۰

شکل (۱-۶) :شجره اسکاتلندی که در آن ترانسلوکاسیون بین ۱ و ۱۱ همراه برخی بیماریهای روانی از نسلی به نسل بعد منتقل می شود[۲۷]..... ۲۱

شکل (۱-۷) :ترانسلوکاسیون بین کروموزوم ۱ و ۱۱ در یک خانواده بزرگ اسکاتلندی در سال ۲۰۰۱ یافت شد [۵۱]..... ۲۱

شکل (۱-۸) : در این تصویر ژن نوروگلین۱ نمایش داده شده است به همراه اگزون هائی که تقسیم بندی انواع نوروگلین۱ بر اساس آنها صورت می گیرد. بخش انتهای '5 که به نام Core at-risk region مشخص شده است ناحیه ای که که پلی مورفیسم های آن با اسکیزوفرنیا همبستگی نشان می دهند. بخش شبه فاکتور رشد اپیدرمی(EGF) می تواند بسته به اگزون موجود در ساختار نهائی mRNA، α یا β باشد. توالی انتهای آمینی که می تواند نوع I,II,III باشد. و اگزون های دیگر که ترشحی بودن یا غشائی بودن نوروگلین۱ را کنترل می کنند[۵۱] ۳۱

شکل (۱-۹) :انواع پیام رسانی توسط نوروگلین۱ و قطعات موثر در این پیام رسانی. دز سمت چپ تصویر مسیر پیام رسانی توسط انتهای آمین نوروگلین۱ نشان داده شده است. در این شکل محل برش نوروگلین۱ نشان داده شده است. قطعه آزاد شده با اتصال به گیرنده ErbB منجر به فعال شدن این گیرنده تیروزین کینازی می شود. در سمت راست تصویر مسیر احتمالی پیام رسانی توسط انتهای کربوکسیل نوروگلین۱ را می توان مشاهده کرد. در این حالت انتهای کربوکسیل جدا شده و می تواند به هسته رود. EGF: Eidermallike Growth factor doamin ,CTF: C terminal fragment, NTF: N-Terminal fragment, ig: imunoglubulin domain, TMc: Transmembrane domain [۵۵]. ۳۳

شکل (۲-۱) :.نمائی شماتیک از چگونگی انجام Tetra-Primer PCR ARMS که در آن نحوه عملکرد چهار پرایمر برای تعیین ژنوتیپ در یک لوکوس مفروض نشان داده شده است..... ۵۱

شکل (۲-۲) : نمائی شماتیک از روش T-ARMS-PCR طراحی شده برای تعیین ژنوتیپ اسنیپ A SNP8NRG221533) در این بخش تکثیر قطعه 522bp حاصل از پرایمر های FO221533 وRC221533 نمایش داده شده است. B) تکثیر قطعه 302bp حاصل از پرایمر های FT221533 وRO221533 که نشان

دهنده وجود آلل T می باشد. C) پرایمرهای FO221533 و RO221533 همواره قطعه ای به طول 773bp را تکثیر می کنند. ۵۳

شکل (۲-۳): A) در این بخش نمائی شماتیک از برش قطعه تکثیر شده حاوی آلل G نشان داده شده است. دو جایگاه برش وجود دارد که سه قطعه 145bp,175bp,577bp را ایجاد می کند. B) برش قطعه تکثیر شده حاوی آلل T که تنها یک جایگاه برش خارج از محل اسنیپ وجود دارد که دو قطعه 747bp و 58145bp

شکل (۳-۱) :نتایج حاصل از استخراج DNA از خون تام که بیانگر کیفیت مناسب DNA برای انجام مراحل بعدی می باشد(مارکر 100bp) ۶۶

شکل (۳-۲) : PCR شیب دمائی برای تکثیر قطعه 773bp حاصل از دو پرایمر خارجیFO221533 و RO221533 . همانطور که مشاهده می شود تکثیر در دماهای بالاتر بهتر انجام شده است. NC بیانگر نمونه کنترل منفی PCR می باشد. ۶۷

شکل (۳-۳) :PCR شیب دمائی برای جفت پرایمر FT221533 و RO221533 که حاصل آن یک قطعه 302bp می باشد. NC بیانگر نمونه کنترل منفی PCR می باشد. ۶۸

شکل (۳-۴) : تصویر دو قطعه تکثیر شده 773bp و522bp حاصل استفاده از سه پرایمر FO221533 و RO221533، RC221533 ۶۸

شکل (۳-۵) : استفاده از روش T-PCR-ARMS برای تعیین ژنوتیپ. در این شکل نمونه های متفاوت از ژنوتیپ های CC,CT,TT مشاهده می شود. نمونه NC کنترل منفی و LM مارکر 100bp مخلوط می باشد. برخی از نمونه ها پس از تکرار و با تغییر غلظت الگوی PCR جواب می دادند. ۶۹

شکل (۳-۶) : در سمت راست سه نمونه هتروزیگوت مشاهده می شود که ژنوتیپ آنها توسط روش T-ARMS-PCR تعیین شده است. نمونه های شماره ۱ تا ۳ فقط توسط پرایمر های خارجی تکثیر شده اند(برای تعیین توالی) حال آنکه نمونه های 1m تا 3m همان نمونه ها هستند که ژنوتیپ آنها توسط روش T-ARMS-PCR تعیین شده است. در سمت چپ نتیجه تعیین توالی نمونه هتروزیگوت برای اسنیپ SNP8NRG221533 نشاندهنده صحت روش استفاده شده می باشد. موقعیتی که با فلش مشخص شده محل اسنیپ SNP8NRG221533 می باشد که در آن نمونه هتروزیگوت دو پیک مربوط به آلل های C و T را نشان می دهد. جهت آنالیز نتایج توالی از نرم افزار Chromas استفاده شد. ۷۰

شکل (۳-۷) شکل (۳-۷): بخشی از نتایج Aligenment در این شکل آورده شده است. این نتایج نشان از همخوانی بین قطعه تکثیر شده و توالی اصلی دارد ۷۱

شکل (۳-۸) : بررسی دماهای متفاوت annealing برای تکثیر قطعه ای که اسنیپ SNP8NRG241930 در آن قرار می گیرد و897bp طول آن است. دمای ۵۶ به عنوان دمای مناسب برای اتصال پرایمر در نظر گرفته شد. ۷۲

شکل (۳-۹) : در این تصویر تکثیر اختصاصی قطعه 897bp مشاهده می شود که در آن تک باندی مشاهده می شود که اسنیپ SNP8NRG24193 را در بر می گیرد. این محصولات PCR در مراحل بعدی برای هضم آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. ۷۳

شکل (۳-۱۰) : نتایج هضم آنزیمی محصولات PCR توسط آنزیم ScaI روی ژل آگارز ۳ در صد و رنگ آمیزی با اتیدیوم برماید. در این شکل نمونه های شماره ۱ ، ۲ و ۳ دارای ژنوتیپ GG نمونه های ۴، ۵، ۶، ۷، ۹ دارای ژنوتیپ هتروزیگوت و نمونه شماره ۸ دارای ژنوتیپ TT می باشد. L در این شکل مارکر 50bp می باشد. ۷۴

شکل (۳-۱۱) نتایج هضم آنزیمی محصولات PCR توسط آنزیم ScaI. نمونه های شماره ۲،۴،،۶،۷ هتروزیگوت می باشند.(GT) نمونه های شماره ۱ و۳ برای آلل G هموزیگوت می باشند. و نمونه شماره ۵ یک نمونه هموزیگوت برای آلل T است. ۷۴

شکل (۳-۱۲) : نتایج تعیین توالی نمونه هتروزیگوت دو نمونه هتروزیگوت پس از تعیین ژنوتیپ توسط روش PCR-RFLP (سمت چپ) تعیین توالی شد(سمت راست). نتایج تعیین توالی صحت روش مورد استفاده را تایید می کرد. هر دو نمونه پس از تعیین توالی هتروزیگوت گزارش شدند. جهت آنالیز نتایج توالی از نرم افزار Chromas استفاده شد. ۷۵

شکل (۳-۱۳) تایج Aligenment نشان از همخوانی بین قطعه تکثیر شده تو سط پرایمرهای F241930 R241930 و توالی اصلی دارد. ۷۵

فهرست جدول‌ها

عنوان.....صفحه

جدول (۱-۱) : لیستی از ژن های درگیر در اسکیزوفرنیا که توسط مطالعات همبستگی تا انتهای سال ۲۰۰۷ به دست آمده است. تعداد علامت های مثبت بیانگر تعداد مطالعات همبستگی که ارتباط این ژن ها با اسکیزوفرنیا را به تایید رسانده است[۳۹]..... ۲۵

جدول (۱-۲) خلاصه ای از نقش های انواع متفاوت نوروگلین۱ در سیستم عصبی در حین تکوین و پس از تکوین را نشان می دهد[۵۵]..... ۳۵

جدول (۲-۱) برنامه PCR شیب دمائی برای تکثیر قطعه حاصل از پرایمر های FOو RO..... ۵۶

جدول (۲-۲) مواد لازم برای انجام PCR چند گانه..... ۵۷

جدول (۲-۳) برنامه PCR شیب دمائی برای تکثیر قطعات حاصل از PCR چندگانه..... ۵۷

جدول (۲-۴) مواد لازم برای PCR شیب دمائی توسط پرایمرهای F241930 وR241930..... ۵۸

جدول (۲-۵) برنامه PCR شیب دمائی برای تکثیر قطعه حاصل از پرایمر های FOو RO..... ۵۹

جدول (۲-۶) مواد لازم برای PCR به کمک کیت MasterMix..... ۵۹

جدول (۲-۷) هضم آنزیمی محصولات PCR توسط آنزیم محدودکننده ScaI..... ۶۰

جدول (۳-۱) فراوانی آللی و ژنوتیپی مربوط به اسنیپ SNP8NRG221533 در افراد سالم و بیمار..... ۷۱

جدول (۳-۲) فراوانی آللی و ژنوتیپی مربوط به اسنیپ SNP8NRG241930 در افراد سالم و بیمار..... ۷۶

جدول (۳-۳) این جدول نتایج بررسی ها در مورد انحراف فراوانی ژنوتیپ ها از تعادل هاردی-واینبرگ در دو جمعیت سالم و بیمار و برای دو اسنیپ SNP8NRG241930 و SNP8NRG221533 را نشان می دهد. ۷۷

جدول (۳-۴) در جدول زیر نتایج تحلیل های آماری صورت گرفته برای دو اسنیپ مطالعه شده آورده شده است..... ۷۸

فصل ۱

مقدمه

۱-۱- اسکیزوفرنیا

۱-۱-۱- اسکیزوفرنیا چیست؟

اسکیزوفرنیا یک بیماری مزمن و شدید روانی می باشد که در حدود یک درصد افراد در طول زندگی خود علائمی از این بیماری را نشان می دهند. این اختلال با ویژگیها، علائم و نشانه های بسیار پیچیده از جمله ناتوان و ضعیف کننده ترین اختلالات روانپزشکی می باشد. علی رغم اینکه بسیاری از افراد فکر می کنند که افراد مبتلا به این بیماری خطرناک بوده و مرتکب قتل و یا رفتارهای خشونت آمیز می شوند، این افراد خود قربانی خشونت و جنایت هستند[۱].

اولین باری که اسکیزوفرنیا به عنوان یک آسیب مطرح شد، توسط امیل کرائپلین[1] در سال ۱۹۲۲ بود. کراپلئین کسی بود که این بیماری را به عنوان مجموعه ای از علائم و نشانه های ویژه تعریف کرد. او در ابتدا نام نسیان زودرس یا dementia praecox را برای مجموعه ای از علائم بیماری اسکیزوفرنیا برگزید. اما بعد ها یوگن بلولر[2] با ارائه مفاهیم جدید و تغییر زاویه دید به دسته بندی علایم این بیماری پرداخت و مفهوم جدیدی به نام اسکیزوفرنیا را مطرح کرد. واژه اسکیزوفرنیا مرکب از دو جزء است: Schizo به معنی گسست[3] و انشقاق و جزء Phrenia به معنی ذهن[4] وروان [۲، ۳].

---

[1] Emil Kraepelin
[2] Eugen Bleuler
[3]- split
[4]- mind

این کلمه برای توصیف تفکر جزءجزء شده[1] به کار می‌رود. ولی برخلاف تصور عمومی اسکیزوفرنیا به معنی چند شخصیتی بودن یا گسست شخصیت[2] نیست. تعریف اسکیزوفرنیا به طور مداوم در حال تغییر است. باید توجه داشت هم اکنون بدون شناخت عوامل دقیق این بیماری دسته بندی فقط بر مبنای مشاهده برخی علائم ونشانه ها که با هم دیده می‌شوند صورت می گیرد. در علم روانپزشکی واژه‌ای به نام روان پریشی[3] وجود دارد،روان پریشی به دسته خاصی از اختلالات روانی اطلاق می شود که "توانایی شخص را در برآوردن انتظارات عادی زندگی به شدت مختل می کند."روان پریشی از لحاظ مفهومی به معنی فقدان مرزهای خود[4]یا اختلال در واقعیت سنجی[5]تعریف شده است[۴].

۱-۱-۲- تشخیص اسکیزوفرنیا

برطبق تعریفی که در کتاب راهنمای تشخیصی و آماری اختلال های روانی ویرایش چهارم[6] آمده است: اسکیزوفرنیا اختلالی است که حداقل به مدت ۶ ماه به طول می‌انجامد و شامل نشانه های مرحله فعال[7] یعنی دو یا بیش از دومورد از نشانه های زیر باشد :

هذیان ها[8]، توهم ها[9] ،گفتار آشفته، رفتار به شدت آشفته یا کاتاتونیک[10] و نشانه های منفی به مدت حداقل یکماه است.

اختلافات زیادی بر سر تشخیص روانپزشکی اسکیزوفرنیا وجود دارد. عوارض این بیماری ممکن است مشابه مشکلات دیگر اختلالات روحی مانند «اختلال دو قطبی»[11] یا در نتیجه مشکلات جسمی معینی رخ داده باشد.

روانپزشکان این وضعیت روحی را با توجه به عوارض "مثبت" و "منفی" متفاوتی تشخیص می دهند:

---

[1]- fragmented thinking
[2]- split or multiple personality
[3] - psychosis
[4] - loss of ego boundaries
[5]- reality testing
[6]- diagnostic and statistical manual of mental disorders -4th edition (DSM-IV)
[7]- active phase
[8]- delusions
[9]- illusion
[10]- catatonic
[11]- Biopolar disorder

عوارض "مثبت" شامل اینهاست:

اغتشاش فکری[1] ،حالت هزیانی[2]، مانند شنیدن صداها و یا اصوات دیگر، اوهام[3]

عوارض "منفی" شامل اینهاست:

احساس بی تفاوتی یا بی احساسی[4] ،ناتوانی در تمرکز کردن ،اجتناب از تماس با افراد دیگر و جامعه[5] ،نیاز داشتن به حفاظت ،اغتشاش فکری

کسی در اغتشاش فکری است که نتواند رشته منطقی افکارش را دنبال کند و ایده های او درهم ریخته و یا به سختی قابل فهم توسط دیگران باشد. این وضعیت امکان محاوره را سخت کرده و ممکن است به حس تنهایی و انزوای فرد کمک کند[۳-۵].

۱-۱-۲-۱- حالت هذیان[6]

برخی افراد صداهایی را می شنوند که دیگران نمی شوند. این صداها ممکن است صداهای آشنا، دوستانه یا انتقادی باشند. این صداها ممکن است رفتار یا افکار فرد شنونده را بررسی می کنند و یا ممکن است به او بگویند چه باید بکند. صرف شنیدن این قبیل صداها به معنای داشتن اسکیزوفرنیا نیست.

بر اساس برخی تحقیقات در حدود چهار درصد جمعیت این قبیل صداها را می شنوند و برای بسیاری این وضعیت باعث مشکلی نمی شود. ولی کسانی که مبتلا به اسکیزوفرنیا هستند جزو کسانی هستند که بیشترین صداهای انتقادی و غیردوستانه را می شنوند. آنها ممکن است این صداها را همه عمرشان شنیده باشند، ولی یک واقعه سخت در زندگی ممکن است شنیدن این صداها را برای آنها شدیدتر و دشوارتر کرده باشد[۴].

---

[1] -Disordered thinking

[2]- Hallucinations

[3] -Delusions

[4] -lack of motivation

[5]- Social Isolation

[6] Hallucination

۱-۱-۲-۲- اوهام

اوهام به باورها و تجاربی می گویند که دیگران در داشتن آنها شریک نیستند. بعنوان مثال ممکن است. کسی فکرکند که او توسط افراد پلیس مخفی تعقیب می شود و یا توسط نیروهای غیبی کنترل می شود که افکار معینی را در سر او گذاشتند[۴].

۱-۱-۲-۳- عوارض منفی

به این عوارض که شامل کناره گیری اجتماعی، بی تفاوتی و ناتوانی در تمرکز می شوند، عوارض "منفی" و نه "مثبت" می گویند زیرا باعث از دست رفتن برخی توانائی های فرد می شوند. به راحتی نمی توان گفت که آیا این عوارض بخشی از عوارض اسکیزوفرنیا هستند و یا آنها عوارض عکس العمل فرد در مقابل چیزهای دیگری است که باعث سرخوردگی و ترس او شده اند. بعنوان مثال بسته به اینکه فرد از چه تجربه ای برخوردار است، ممکن است برای ساعات متمادی بی حرکت و ساکت بنشیند و یا بطور مداوم در حرکت باشد.

همچنین چنین عوارضی می توانند واکنشی نسبت به رفتار سایرین باشد. در اغلب موارد کسی که دارای مشکلات عقلی یا ذهنی است، با بی توجهی یا تبعیض مواجه می شود، و این باعث می شود که او احساس انزوا، افسردگی یا نومیدی بکند[۴].

۱-۱-۳- انواع اسکیزوفرنیا

در راهنمای تشخیصی و آماری اختلالات روانی پنج نوع فرعی از اسکیزوفرنیا شناسایی شده است که در زیر به صورت مختصر شرح داده شده است. لازم به ذکر است تشخیص انواع متفاوت اسکیزوفرنیا بسیار مشکل بوده و این طبقه بندی دائمی نیست وممکن است بر حسب زمان تغییر کند[۶-۸].

۱- نوع پارانویید[۱] ۲- نوع آشفته[۲] ۳- نوع کاتاتونیک[۳] ۴- نوع نامتمایز[۴] ۵- نوع باقیمانده[۵]

---

[1]- paranoid type
[2]- disorganized type
[3]- catatonic type
[4]- undifferentiated
[5]- residual