

مطالعه گستردۀ ژنومی در طرح ژنتیک کاردیومتابولیک تهران بستر مناسبی جهت گسترش پزشکی فرادقيق در ایران

دکتر مریم السادات دانشپور^۱، بهاره صداقتی خیاط^۲، کامران گیتسی^۳، دکتر فریدون عزیزی^{۴*}

۱. دکتری ژنتیک ملکولی؛ مرکز تحقیقات سلوی و مولکولی غدد، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. کارشناس ارشد ژنتیک، مرکز تحقیقات سلوی و مولکولی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. کارشناس ارشد ژنتیک، مرکز تحقیقات سلوی و مولکولی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴. فوق تخصص غدد درون ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

در چند دهه اخیر، تلاش برای شناسایی نقش تغییرات ژنتیکی و اثر آنان بر پیشگیری و بروز بیماری‌ها یکی از اساسی‌ترین اهداف علم پزشکی شده است. از آنجا که راهنمایی و دستورات پزشکی بر اساس خصوصیات میانگین تنظیم می‌شود که نمی‌تواند برای تعداد زیادی از انسانها مصدق داشته باشد، لذا پزشکی فرادقيق یا پزشکی شخص محور (precision medicine or personal medicin) جهت استفاده از یکسری خصوصیات ژنتیکی، ژنومیکی، اومیک، اپی ژنتیکی، بالینی و آزمایشگاهی هر فرد استفاده می‌شود. با پایان پروژه ژنوم برنامه‌ریزی‌های گستردۀ ای در جهت شناخت هر چه بیشتر این کتاب ژنتیکی انجام گردید. نسخه اصلی ژنوم همچون کتابی ویراستاری نشده و غیر قابل خواندن است لذا محققان در سراسر دنیا سعی در استخراج و دسته‌بندی اطلاعات آن دارند. قابل توجه است که هر فرد اطلاعات شخصی خود را در این کتاب به همراه دارد و هیچ دو نسخه‌ای کاملاً مشابهی از آن یافت نمی‌شود. بانک‌های ژنتیکی بزرگی چون HapMap و پروژه ۱۰۰۰ ژنوم به مطالعات گستردۀ ژنومی کمک می‌نمایند که خوانش این کتاب عظیم را هر چه دقیق‌تر انجام دهند. در ایران نیز بررسی گستردۀ ژنومی بر روی جمعیت مطالعه قند و لیپید تهران به عنوان بزرگترین و قدیمی‌ترین مطالعه آینده‌نگر انجام گردیده است تا توسط محققان ایرانی گامی کوچک در راستای شناخت ژنوم جمعیت ایرانی برداشته شود. در این مقاله در صدد هستیم که پس از بررسی نقش یافته‌های مطالعات گستردۀ ژنومی در پزشکی فرادقيق، به معرفی این مطالعه گستردۀ ژنومی در ایران بپردازیم.

واژگان کلیدی: مطالعه گستردۀ ژنومی، پزشکی فرادقيق، مطالعه قند و لیپید تهران

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Daneshpour MS, Sedaghatikhayat B, Guity K, Azizi F. Genome wide association study in Tehran cardio-metabolic genetic study could promotes precision medicine in Iran. Pejouhandeh 2016;21(4):210-218.

مقدمه

در هنگام مقایسه ژنوم دو فرد، تفاوت‌های بسیاری دیده می‌شود که این تفاوت‌ها حاصل تغییرات ژنومی مانند پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (Single nucleotide variation) و تغییرات بزرگتر مانند حذف (Deletion)، جایگزینی (Insertion) و تغییر در تعداد کپی‌های ژنی

(Copy number variation) هستند. هر کدام از این تغییرات می‌توانند منجر به بروز یک فنوتیپ متفاوت در فرد شوند که این فنوتیپ می‌تواند مربوط به صفات ظاهری فرد مانند قد و یا رنگ چشم و یا در ارتباط با خطر بروز یک بیماری باشد. در حدود سال ۲۰۰۰ میلادی، قبل از آنکه مطالعات گستردۀ ژنومی معرفی شوند، جهت بررسی ارتباط بین ژنوتیپ و فنوتیپ از بررسی توارث (Inheritance) در خانواده و یا مطالعات ژنتیک پیوستگی (Genetic linkage) استفاده می‌شد. این روش‌ها در بررسی بیماری‌هایی که یک ژن عامل بروز آنها بود، بسیار موفق بودند. اما این یافته‌ها در بیماری‌های چند عاملی پیچیده تکرار پذیر نبودند. مطالعات

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر فریدون عزیزی؛ فوق تخصص غدد درون ریز و متابولیسم؛ مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران؛ کد پستی: ۱۹۸۵۷۱۷۴۱۳؛ تلفن: ۰۲۱ ۲۲۴۳۲۵۶۹؛ نمبر: ۰۲۱ ۲۲۴۱۶۲۶۴؛ پست الکترونیک: azizi@endocrine.ac.ir

بررسی نشده‌اند. بدین‌وسیله تعداد مارکرهای مورد بررسی بیشتر شده و به تبع آن قدرت مطالعه افزایش می‌باید و همچنین امکان انجام آنالیز متا در میان نتایج کوهورت‌های مختلف فراهم می‌شود. نرم افزارهای MACH^(۳) و IMPUTE2^(۴) بدین منظور استفاده شده و با روش‌های آماری نتایج الی حاصل از GWAS را با ژنوم رفرانس مقایسه می‌نمایند.

هدف از ارایه مطالعه مروری حاصل، رسم تصویری شفاف از اهداف و شیوه اجرای مطالعات گستردۀ ژنومی خواهد بود. همچنین این مقاله به بررسی مزايا و معایب این نوع مطالعات و کاربست آن در پزشکی خواهد پرداخت. بانک‌های اطلاعاتی این نوع مطالعات نیز معرفی خواهد شد و سپس نمونه‌ای از این نوع مطالعات که در یکی از بزرگترین و قدیمی‌ترین کوهورت‌های ایران، مطالعه قند و لیپید تهران، انجام شده است بررسی خواهد شد.

تاریخچه

بررسی ارتباطی گستردۀ ژنومی اولین بار در سال ۱۹۹۶ توسط Merikangas جهت بررسی ژنتیکی بیماری‌های چند عاملی پیشنهاد شد^(۵) اما چون ایده آن اجرایی نبود، ۱۰ سال طول کشید تا اولین مطالعه از این نوع انجام شود. پروژه تعیین توالی ژنوم انسان (Human Genome Project-HGP) نیز در سال ۱۹۹۰ آغاز شد اما ۱۳ سال به طول انجامید تا نهایتاً در سال ۲۰۰۳، دقیقاً ۵۰ سال بعد از شناسایی اولیه DNA توسط واتسون و گریک^(۶)، گزارش کامل توالی ژنوم انسان منتشر شد. این گزارش نشان داد که ژنوم انسان حاوی حدود سه بیلیون جفت باز می‌باشد که این توالی می‌تواند حاوی ۲۰ تا ۲۵ هزار ژن کد کننده‌ی پروتئین باشند. این گزارش^(۳) سنگ بنای مهمی را در مطالعه ژنوم انسان بجا گذاشت و به دنبال آن میلیون‌ها پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی توسط کنسرسیوم (SNP Consortium-TSC) و کنسرسیوم بین المللی توالی ژنوم International Human Genome Sequencing Consortium^(۷) در بانک‌های داده گزارش گردید^(۴).

پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی و تغییرات تعداد کپی‌های ژنی

چند شکل‌ها یا پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی، از شایع‌ترین تغییرات ژنتیکی در ژنوم انسان هستند. در حال

بعدی نشان دادند که آنالیزهای ارتباطی از نوع مورد-شاهدی، قدرت بیشتری در یافتن ژنوتیپ مرتبط دارند، بدین معنا که حضور افزایش و معنا دار یک ال در افراد بیمار نسبت به افراد سالم، می‌تواند نشانه ارتباط حضور آن ال با بیماری باشد. پس از انتشار اولین نسخه از توالی کامل ژنوم انسان، ابزارهای تشخیص ژنتیکی توسعه پیدا کردند و در این راستا بیوبانک‌های متعددی تشکیل گردیدند. انجام پروره بزرگ نقشه هاپلوتیپی (International HapMap project) منجر به شناسایی پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی رایج و همچنین بلوک‌های هاپلوتیپی شد و شناخت این نواحی نشان داد که با استفاده از برخی مارکرها می‌توان اطلاعات بیشتری از تغییرات ژنوم به دست آورد. با استفاده از این اطلاعات، آرایه‌های ژنوتیپی طراحی گردید و زمینه گسترش مطالعات گستردۀ ژنومی فراهم شد.

این مطالعات از نوع مورد شاهدی انجام می‌گردد؛ بدین معنا که گروهی از بیماران در مقابل افراد سالم انتخاب می‌شوند و تمامی این افراد برای قسمت عمده پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی شناخته شده (تعداد آن بستگی به تکنولوژی مورد استفاده دارد اما به‌طور کلی یک میلیون و یا بیشتر است) تعیین ژنوتیپ می‌شوند، سپس میزان فراوانی الی هر کدام از این مارکرها در گروه‌های مورد و شاهد مقایسه می‌شود. اساس گزارش میزان اثر (Effect size) بر مبنای محاسبه نسبت شانس (Odd ratio) است بدین معنا که حضور یا عدم حضور یک ال چقدر به حضور یا عدم حضور فنوتیپ مورد بررسی در یک جامعه‌ی مشخص و معلوم، مربوط است. هنگامی که فراوانی الی در گروه مورد بیشتر از گروه شاهد است، نسبت شانس بیشتر از یک می‌شود. برای گزارش این نسبت از آزمون خی دو (Chi squared) جهت محاسبه مقدار P (P value) استفاده می‌شود. این نوع مطالعه بر اساس به روش‌های دیگری نیز قابل انجام است. یکی از این روش‌ها بررسی فنوتیپ‌های کمی مانند قد، غلظت بیومارکرها و یا بیان ژن است. روش‌های آماری مورد استفاده بسته به میزان نفوذ بیماری و الگوی غالب و یا مغلوبی آن متفاوت است که عموماً با ابزارهای بیوانفورماتیک مانند PLINK^(۸) و SNPTEST^(۹) (۱) انجام می‌شود. همانطور که می‌دانیم افراد مختلف بلوک‌های هاپلوتیپی مشابه دارند و با استفاده از این اطلاعات که در بانک‌های ژنتیکی ذخیره هستند، می‌توان با یکسری از مارکرهای مشخص، توالی این نواحی را تخمین زد و از این رو یکی از مهمترین مراحل در این نوع مطالعات تخمین ژنوتیپ (Imputation of genotypes) در پلی‌مورفیسم‌هایی است که

وجود دارد (۱۵).

پروژه بین المللی HapMap و مفهوم LD

به دنبال اتمام پروژه ژنوم و کشف میلیون‌ها SNP، یکی از این معضلات پیش رو، سختی بررسی تمامی این SNP‌ها بود. با هدف کاهش تعداد SNP‌های مورد بررسی و یافتن بلوک‌های هاپلوتیپی، پروژه HapMap در سال ۲۰۰۳ (۱۶) روی ۲۷۰ نمونه ژنومی از جمعیت‌های اروپایی، افریقایی و آسیایی آغاز گردید. فاز اول و دوم در سال‌های ۲۰۰۵ (۱۷) و ۲۰۰۷ تکمیل گردید. نتایج این مطالعه، SNP‌های نشانه را در سطح ژنوم مشخص نمود بهطوری که با تعیین ژنتیک این SNP‌ها می‌توان تغییرات دیگر نواحی ژنومی را تخمین زد و این یافته به صرفه‌جویی در وقت و زمان کمک می‌نماید. در نواحی با LD بالا ($r^2 > 0.8$), SNP‌هایی که در نزدیکی هم قرار دارند، شناسی بیشتری دارند که با الگوی توارث به ارث برستند.^۲ بازه‌ای بین صفر تا یک دارد و جهت اندازه‌گیری میزان ارتباط یا SNP مابین دو LD به کار می‌رود و بستگی به فراوانی الی و میزان نوترکیبی بین دو SNP دارد.

پیشرفت‌های کلیدی در تکنولوژی تعیین ژنوتیپ

با توسعه سریع فناوری‌های تعیین ژنوتیپ و کاهش هزینه‌ها، در حال حاضر بسیاری از مؤسسه‌های تحقیقاتی در مدت بسیار کوتاهی می‌توانند بیش از نیم میلیون SNP را تعیین ژنوتیپ نمایند. در این میان می‌توان به چیپ‌های ژنتیکی ساخته شده توسط کمپانی‌های Illumina و Affymetrix اشاره کرد که به دلیل طراحی دقیق آنها قدرت بسیار خوبی برای نقشه برداری از نواحی ژنومی داشته و بهطور گستردۀ در مطالعات گستردۀ ژنومی استفاده می‌شوند. محصولات عرضه شده مانند Illumina HumanHap550 و Affymetrix GeneChip 500K پوشش خوبی از اطلاعات HapMap در دو جمعیت قفقازی و آسیایی ارایه می‌دهند و لی پوشش ژنومی در آفریقا به دلیل تنوع ژنتیکی بیشتر و LD ضعیفتر، پایین‌تر است.

یکی دیگر از محصولات جهت ژنوتایپینگ ژنوم Omminni است که توسط شرکت Illumina تولید می‌شود. این محصول در یک چرخه کاری می‌تواند برای یک فرد تا پنج میلیون مارکر را که بر اساس نتایج پروژه ۱۰۰۰ ژنوم به دست آمده‌اند، بررسی کند.

حاضر بالغ بر ۱۰ میلیون SNP در بانک‌های داده ژنتیکی عمومی معرفی شده‌اند که پیش‌بینی می‌شود اغلب آنها تأثیر عملکردی نداشته باشند. این چند شکلی‌های ژنتیکی، اطلاعات ارزشمندی از شاخص‌های ژنتیکی را بیان می‌کنند که می‌توانند با توجه به وقوع آنها در جمعیت (Linkage Disequilibrium) در تشخیص تغییرات منجر به بیماری، مورد استفاده قرار گیرند.

در دست داشتن اطلاعات تعداد زیادی SNP از ژنوم انسانی دید وسیعی از ژنوم را (در مقایسه با سایر مارکرها مورد استفاده به عنوان شاخص‌های ژنتیکی مثل میکروستلاتیلتها و یا مینی‌ستلاتیلها) حاصل می‌کند و امکان مطالعه روی تمام ژنوم انسانی را برای محققین میسر می‌سازد. لازم به ذکر است که SNP‌ها به تنها، نه می‌توانند تمامی تغییرات ژنومی انسان را مشخص کنند و نه بیانگر کاندیداهای ژنتیکی برای بیماری‌های پیچیده و مغایرت‌های اثر دارویی هستند.

اخیراً، مطالعات انجام شده روی هزاران مورد تغییر تعداد کپی‌های ژنی (Copy Number Variations- CNVs)، که در ژنوم انسانی قرار دارند، نشانه‌های تازه‌ای از پیچیدگی تغییرات ژنوم انسانی را نمایان کرده است. محققان بر این باورند که CNVs ها نقش مهمی در اساس ژنتیکی بیماری‌های پیچیده بر عهده دارند و امید است با اطلاعات به دست آمده از SNP در مطالعات GWAS در آینده این مسئله بیشتر مشخص گردد. CNV‌ها تغییرات ساختاری یا ژنتیکی هستند که با تغییر تعداد کپی قطعات DNA بزرگ‌تر از یک کیلو باز (شامل جهش‌های حذف، الحاق و مضاعف شدن)، این تغییرات را اعمال می‌کنند.

وجود تغییرات تعداد کپی‌های ژنی در ژنوم انسانی اولین بار در سال ۲۰۰۴ گزارش شد (۸،۷). نقشه کلی CNV در سال ۲۰۰۶ انتشار یافت که بیان کننده ۱۵۰۰ ناحیه تغییرات تعداد کپی ژنی بود (۹). تغییرات تعداد کپی ژنی و سایر تغییرات ساختاری مثل جهش واژگونی که از مدت‌ها پیش شناسایی شده بودند، در بانک‌های اطلاعاتی تغییرات ژنومی قرار داده شدند (<http://projects.tcag.ca/variation/>).

هدف اصلی از تشکیل چنین بانک‌های بین‌المللی داده، ارایه فهرست جامع از ساختار و نوع تغییرات ژنومی است. تأثیر CNV‌ها بر بیان ژن‌ها نیز گزارش شده است (۱۰). همچنین، نقش این تغییرات در بیماری‌های پیچیده مثل بیماری‌های خود ایمنی، اوتیسم و دو قطبی به اثبات رسیده است (۱۱-۱۴). بحث در مورد CNV‌ها از حوزه این مقاله خارج است، اما مقالات مروری متعددی در ارتباط با تغییرات ساختاری

ژن CDKN2A/CDKN2B را با بیماری‌های قلبی عروقی و T2D نشان داد. در همان زمان، ارتباط این منطقه ژنومی با بیماری عروق کرونر قلب و انفارکتوس میوکارد توسط دو مطالعه مستقل دیگر نیز به اثبات رسید.

کاتالوگ GWAS

مؤسسه ملی تحقیقات ژنوم انسان (NHGRI) از سال ۲۰۰۶ شروع به ارایه گزارش‌هایی در مورد ارتباط بین صفات و SNP ها روی نقشه ژنومی انسان کرد. این مؤسسه با جمع‌آوری اطلاعات ۱۷۵۱ مطالعه GWAS در سطح جهان و بررسی SNP ۱۱۹۱۲ موفق به انتشار کاتالوگ برای دسترسی عموم شد. در این کاتالوگ ارتباط بین SNP ها و صفات مورد مطالعه قرار گرفته در کلیه مطالعات GWAS روی نقشه ژنوم مشخص شده‌اند و نام صفاتی که با آن در ارتباط بوده‌اند نیز نوشته شده است. به این طریق می‌توان با اسم صفت مورد نظر به همه اطلاعات ثبت شده ژنتیکی برای آن رسید (۱۸). این کاتالوگ به طور معمول هر سه ماه به روز می‌شود و اطلاعات وارد شده همواره قابل دانلود کردن هستند. همچنین این اطلاعات از طریق دیگر دیتابیس‌ها مانند UCSC (۱۹) و یا Ensembl (۲۰) و حتی PheGenI (۲۱) قابل دسترسی هستند.

پروژه ۱۰۰۰ ژنوم

در سال ۲۰۰۷ بعد از به اتمام رسیدن پروژه HapMap یک تیم بین‌المللی به جهت پوشش نقص‌های پروژه HapMap تلاش کرد تا کاتالوگ جهان در مورد تفاوت‌های ژنومی میان انسان‌ها را تولید کند. از آن‌جا که پروژه HapMap تنها به بررسی SNP های شایع در جوامع پرداخته بود، پروژه ۱۰۰۰ ژنوم به بررسی گسترده‌تر و دقیق‌تر ژنوم پرداخت. در این تحقیق، محققان به بررسی ژنوم ۲۵۰۴ نفر از ۲۶ جامعه در آفریقا، شرق و مرکز آسیا، اروپا و آمریکا پرداختند. از میان بیش از ۸۸ میلیون منطقه ژنتیکی شناسایی شده، حدود ۱۲ میلیون رایج‌تر بودند که احتمالاً در بسیاری از جوامع مشترک بودند. نتایج این تحقیق نشان داد بزرگترین تنوع ژنومی در جوامع آفریقایی است که با شواهد پیشین مبنی بر این که مهاجرت اولیه بشر از آفریقا آغاز شده و باعث ایجاد جوامع دیگر در سراسر جهان شده است، سازگار بود. این کاتالوگ تعداد مناطق شناخته شده در ژنوم انسان را به دو برابر رساند و موجب شد طیف وسیعی از پژوهش‌های زیست‌شناسی و پژوهشی انسان مورد استفاده قرار گرفته و پایه یک درک جدید را از چگونگی مشارکت تفاوت‌های به ارث رسیده در دی‌ان‌ای با خطر بیماری و واکنش به دارو ارایه کند.

کنترل کیفی داده‌ها

کنترل کیفی داده‌ها یکی از مهمترین بخش‌های مطالعات GWAS است چرا که تشخیص نابجا و کنار گذاشتن نمونه‌های مورد ارزیابی و مارکرهای ژنتیکی می‌تواند سبب بروز انحراف در نتایج مطالعه گردد. اشتباه در نتایج ژنوتایپینگ نیز می‌تواند سبب نمایان شدن ارتباطات مثبت و منفی کاذب و انحراف سیستماتیک نتیجه مطالعه گردد. بسیاری از این ایرادات با افزایش دقت کنترل کیفی روش‌های آزمایشگاهی و تعریف نقاط بحرانی نتایج قابل پیشگیری است. انتخاب جامعه مورد بررسی در مطالعات مورد-شاهدی یکی از مراحل مهم قبل از انجام محاسبات آماری است. تفاوت‌های جمعیتی در این نوع مطالعات بسیاری مهم بوده و باید در مراحل قبل از محاسبات، برای آن چاره‌جویی کرد.

اولین مرحله انجام کنترل کیفی از بررسی نتایج خروجی دستگاه‌های آزمایشگاهی با بررسی میزان و نسبت دقت ژنوتیپ آغاز می‌شود. روش‌های سنتی برای بررسی نتایج ژنوتایپ در مقیاس‌های کوچک قابل استفاده است اما برای نتایج مطالعات در مقیاس‌های بالاتر مثل مطالعات GWAS

Wellcome trust مورد شاهدی

این مطالعه یکی از بزرگترین مطالعه‌های گسترده ژنومی است که منجر به کشف مهمترین عوامل ژنتیکی مؤثر بر هفت بیماری شایع در دنیا: اختلال دو قطبی (Bipolar disorder)، (Coronary artery disease-CAD)، (BD)، بیماری عروق قلبی (Rheumatoid)، بیماری کرون (Crohn's disease-CD)، بیماری فشار خون (Hypertension-HT)، آرتریت روماتوئید (Arthritis-RA)، دیابت نوع ۱ و ۲ (Type 1 and 2 diabetes)، (T1/2D) شد. در این مطالعه، هفده هزار نفر بررسی شدند که نمونه‌های انتخاب شده برای هر کدام از هفت بیماری ۲۰۰۰ نفر بود و جهت کنترل، ۳۰۰۰ کنترل مشترک انتخاب گردیدند. این تحقیق یکی از موفقیت‌های بزرگ مطالعات گسترده ژنومی به شمار می‌رود چراکه در طی آن بسیاری از مناطق جدید ژنومی که با بیماری‌هایی چون دیابت نوع دو، سرطان و بیماری‌های قلبی در ارتباط بود کشف شدند که در تحقیقات بعدی، اثربار بودن آنها به اثبات رسید. از مجموعه لیستی که توسط مطالعه WTCCC معرفی شد یکی از جذاب‌ترین نتایج در منطقه ۹p21 بود که ارتباط دو

داده‌های حجیم GWAS به طرق مختلف، کاهش حجم دیسک اشغالی توسط برنامه، انجام مراحل پیش آزمون به صورت خودکار، امکان دستکاری داده‌های SNP و امکان انجام بسیاری از محاسبات معمول از جمله دلایل استفاده از این برنامه‌ها است.

در دسته‌بندی و تعریف زیر مجموعه‌های جمعیت مورد مطالعه، نیاز به داشتن جمعیت مرجع جهت مقایسه و تقسیم‌بندی وجود دارد و معمولاً از جمعیت‌های ارایه شده از Hapmap Project Populations (Hapmap) و Mطالعه Genome Project (Genome Project) 1000 Genome 1000 (1000) استفاده می‌شود. برای بررسی اطلاعات SNP های مطالعات GWAS بانک‌های داده مختلف ارایه گردیده است. بانک‌های داده SNPedia (۲۵)، DBSNP (۲۶)، UCSC (۲۷) و Ensemble (۲۸) از این جمله‌اند.

کاربرد در پژوهشی فرا دقیق

تا به امروز پژوهشی یک درمان ثابت برای تمام بیماران با یک تشخیص معین را پیشنهاد می‌نمود، اما بر اساس یک بیمار در حد میانگین، دستورالعمل درمان بیماری را مشخص می‌کرد اما امروزه مشخص شده است که تعداد کمی از بیماران در حد میانگین هستند. ژن‌های منحصر به فرد، محیط و شیوه‌ی زندگی باعث می‌شوند که حساسیت‌پذیری افراد جهت ایجاد بیماری و پاسخ به درمان متفاوت باشد. امروزه رویکرد علوم پژوهشی از سمت درمان به سمت پیشگیری تغییر کرده است، لذا در این راستا چهار محور پژوهشی پیشگویانه، پژوهشی شخص محور، پژوهشی پیشگیرانه و پژوهشی مشارکت گسترش یافته‌اند (۲۹). در هر فرد بیمار، شناخت ساختار بیماری، نحوه عمل، فلور طبیعی، مکانیسم تأثیر دارو و روند پیشگیری، تشخیص و درمان را در بر می‌گیرد. همان‌طور که می‌دانیم بسیاری از بیماری‌های چند عاملی از طریق داشتن اطلاعات ژنتیکی می‌توانند قابل پیش‌بینی باشند؛ از این‌رو مطالعات گستردۀ ژئومی می‌توانند در هر جمعیتی پس از یافتن نواحی ژنتیکی مرتبط با بیماری و محاسبه میزان اثر مداخلات محیطی، میزان ریسک فردی در ابتلاء به بیماری را محاسبه نمایند و یک درمان پیشگیری‌کننده مناسب همراه با تغییر شیوه‌ی زندگی پیشنهاد نماید. در همین راستا استفاده از یکسری خصوصیات ژنتیکی، ژئومیکی، اومیک، اپی‌ژنتیک، بالینی و آزمایشگاهی هر فرد در حوضه پژوهشی فرادقيق یا پژوهشی شخصی (precision medicine or personal medicin) استفاده می‌شود.

کاربردی نخواهد بود. الگوریتم بررسی دقت نتایج ژنتیپ بسته به دستگاه‌های مورد استفاده متفاوت خواهد بود و معمولاً از سوی شرکت‌های سازنده دستگاه‌ها ارایه و با تعریف نقطه برش این دقت محدود خواهد شد. انتخاب نادرست این نقاط می‌تواند سبب حذف اشتباهی قسمت‌های مهم ژنتیپ شده و Informative باقی ماندن نواحی کم‌اهمیت‌تر (missingness) در بروز یک فنوتیپ گردد. از سوی دیگر انتخاب سخت‌گیرانه این نقاط برش ممکن است سبب کاهش قدرت مطالعه و عمق پوشش ژنتیپی شود.

در مطالعات GWAS با توجه به حجم بالای مارکرهای اندازه‌گیری شده، نسبت دقت اندازه‌گیری (Call Rate) متفاوت خواهد بود. حذف افراد و مارکرهای دارای نسبت اندازه‌گیری کم بعد از بررسی دقیق نقاط برش، یکی از اولین گام‌های ارزیابی کیفیت داده‌های GWAS است. حذف مارکرها در این گونه مطالعات باید با حداکثر دقت و سخت‌گیری انجام گیرد. در صورت حذف مارکرهای مرتبط با بیماری که در جمعیت کم است، ارتباط آن با بروز بیماری نادیده گرفته خواهد شد که نتیجه آن پایین آمدن قدرت مطالعه است.

بررسی افراد مورد مطالعه بعد از تأیید نتایج آزمایشگاهی ژنتیپ صورت خواهد گرفت که به طور کلی شامل ۴ قسمت است: (۱) تطبیق جنسیت اعلام شده نمونه و نتیجه تعیین جنسیت از روی اطلاعات GWAS، (۲) مشخص کردن افراد دارای نتایج ژنتیپ با دقت کم، (۳) مشخص کردن دوقلوهای همسان، نمونه‌های تکراری و نمونه‌های اشتباه آزمایشگاهی، (۴) پیدا کردن افراد دارای نیای مشترک.

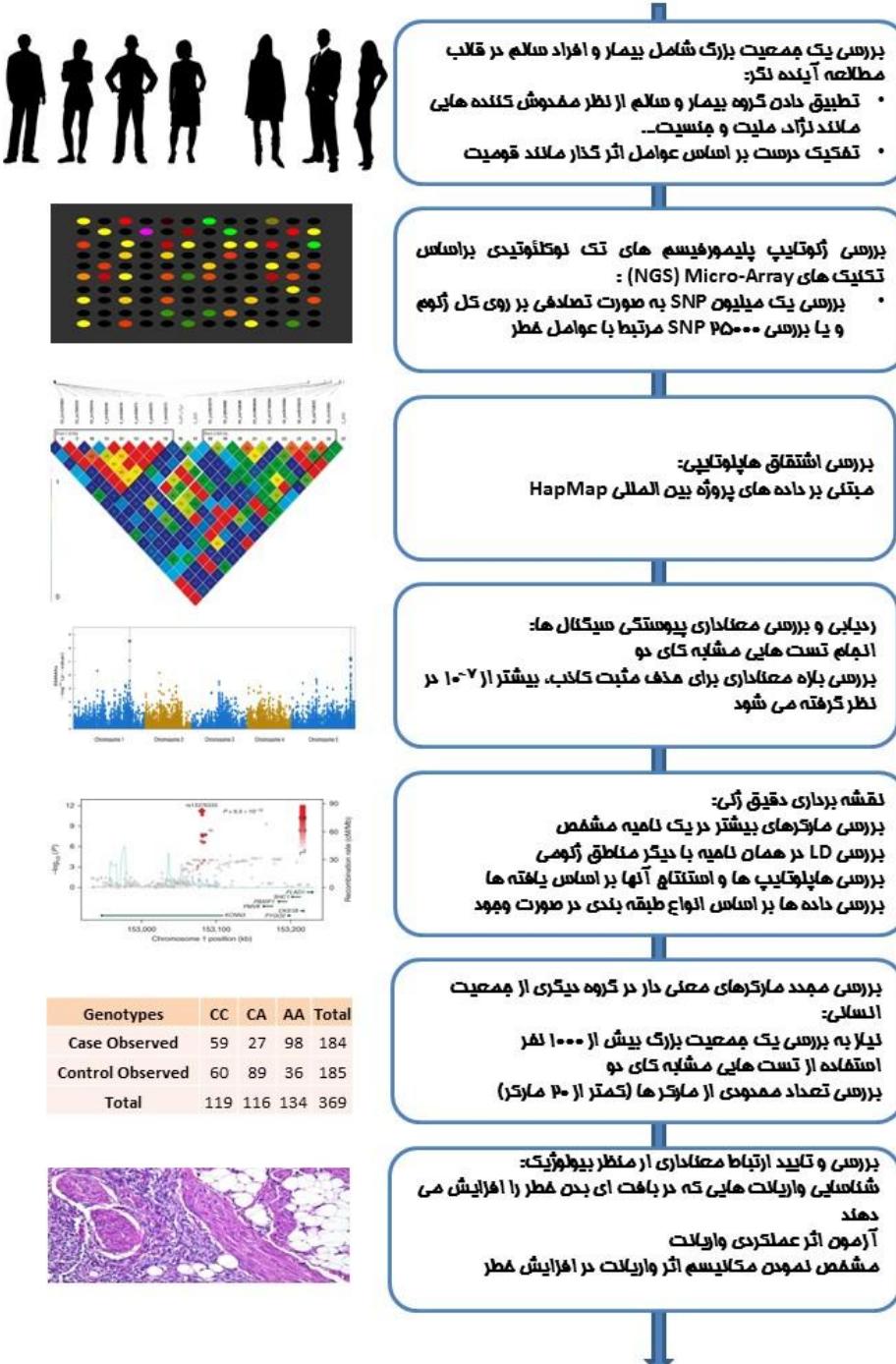
بررسی مارکرهای مورد مطالعه نیز شامل ۳ قسمت است: (۱) یافتن SNP با درصد بالای ژنتیپ ناموفق، (۲) پیدا کردن HWE: Hardy-Weinberg equilibrium هایی که از قانون هارדי واینبرگ (Weinberg equilibrium) تبعیت نمی‌کنند، (۳) جدا کردن مارکرهای دارای فراوانی الی بسیار کم.

آنالیز بیوانفورماتیک

بسیاری از برنامه‌های استاندارد محاسبات آماری (R (۲۳) و SPSS) برای محاسبات اولیه قابل بهره‌برداری است اما در مواجه با داده‌های GWAS با توجه به حجم بالای این نوع داده‌ها، بسیاری از برنامه‌های رایج غیر قابل استفاده خواهند بود. در این شرایط بسیاری از محققین از برنامه‌های متن باز و قابل تغییر استفاده می‌کنند که از جمله می‌توان به برنامه‌های GenABEL و PLINK اشاره کرد. نگهداری از

فرادقيق برداشت. یافته‌های ژنومیک از مطالعات GWAS در کنار دیگر عوامل مداخله‌کننده به پژوهشی فرادقيق کمک می‌کند تا راهبردهای درمانی ویژه هر فرد مشخص شود. تاکنون اطلاعات مربوط به ۲۱۲۹ مطالعه GWAS انجام شده در سراسر دنیا در کاتالوگ GWAS ثبت گردیده و یافته‌های این مطالعات بستر مناسبی را برای پژوهشی فرادقيق در موضوع ژنومیک فراهم کرده است.

اطلاعات ژنتیکی حاصل از این مطالعات، بستر گسترهای را جهت مدل‌سازی‌های کامپیوتی با هدف کشف ژن‌های جدید در این زمینه فراهم می‌نمایند. اغلب مقاله‌هایی که یافته‌های آنالیزهای گسترهای ژنومی را گزارش می‌کنند، لیستی از پلی‌مورفیسم‌هایی را که به‌طور معنی‌داری با فنوتیپ مورد نظر در ارتباط هستند، گزارش می‌کنند و در پی یافتن مدل‌های ریسک نیستند. لذا با یافتن مدل‌های ریسک از نتایج این مطالعات می‌توان گامی به سوی هموارسازی پژوهشی



شکل ۱. روند انجام مطالعه گستره ژنومی.

چاپ شده است (۳۲). در مطالعه مذکور، کلیه افرادی که تحت پوشش مطالعه قدرت و لیپید تهران قرار گرفته‌اند، به صورت خانوادگی بررسی شدند. در مجموع، ۳۹۵۹ خانواده شامل ۱۳۸۸۷ نفر در مطالعه گستردۀ ژنومی بررسی و هر نفر برای بیش از ۷۰۰ هزار مارکر ژنتیکی تعیین ژنوتیپ شده است. از میان ۱۹۹۳ فنوتیپ بررسی شده در کلیه GWAS هایی که تاکنون انجام شده‌اند و اطلاعات آن در کاتالوگ GWAS موجود است، ۲۰۹ فنوتیپ آن در این جمعیت بررسی شده و اطلاعات فنوتیپی و ژنوتیپی آن موجود است. امکان تعریف و یا اندازه‌گیری ۴۰۵ فنوتیپ دیگر نیز در نمونه‌های سرمی این افراد وجود دارد.

در طی سال‌های گذشته، متخصصین و صاحب نظران در پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در زمینه تأثیر تعییرات رژیم غذایی (۳۳-۳۹)، شیوع دیابت و تعییرات میزان لیپید (۴۰-۴۲)، فنوتیپ‌های مرتبط با چاقی (۴۳-۴۵) و عوامل ژنتیکی اثرگذار بر این تعییرات (۴۶، ۴۷، ۴۸) تحقیقات زیادی انجام داده‌اند. در همکاری‌های بین‌المللی، مقالات مشترکی روی این جمعیت در مجلات کاملاً معتبر بین‌المللی چاپ شده است (۴۹، ۵۰). با وجود این زیرساخت و افزوده شدن داده‌های حاصل از فناوری امیکس می‌توان گام مؤثری در جهت پژوهشی فرادقيق برداشت.

مطالعه ژنتیک کاردیومتابولیک تهران

همانطور که در این نوشتار ذکر گردید، جهت پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌های چند عاملی مؤثر بر سلامت جامعه، نیاز به شناسایی عوامل اثرگذار محیطی و ژنتیکی است. با پیشرفت سریع علم ژنتیک و توسعه دستگاه‌ها و نرم‌افزارهای مربوطه، حجم زیادی از داده‌های ژنتیک جمعیتی تولید و در بانک‌های اطلاعاتی ذخیره شده است. نتایج مطالعات گستردۀ ژنومی نشان داده است که عوامل مستعدکننده بیماری‌های ژنتیک چند عاملی مرتبط با بروز بیماری در اقوام مختلف متفاوت است و یافته‌های هر جمعیت باید در مطالعه مشابه در جمعیت‌های دیگر تأیید گردد.

مطالعه آینده‌نگر قند و لیپید تهران با رویکردی جامعه‌نگر، بر پایه اطلاعات اولیه مبنی بر شیوع پیشرونده بیماری‌های غیرواگیر، روی بیش از ۱۵۰۰۰ نفر از جمعیت ساکن در شرق تهران انجام شده است و تاکنون در ۶ مقطع زمانی با بازه‌های سه ساله از این افراد اطلاعات جمع‌آوری شده است. این مطالعه، قدیمی‌ترین، بزرگ‌ترین و معتبرترین مطالعه‌ی آینده‌نگر در ایران است (۳۰). جزئیات مطالعه گستردۀ ژنومی در مطالعه ژنتیک کاردیومتابولیک تهران که روی بیش از ۱۴۰۰۰ نفر از افراد شرکت‌کننده در طرح قند و لیپید تهران انجام شده است در مجله JMIR Research Protocols

REFERENCES

- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, et al. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. Am J Hum Genet 2007; 81 (3): 559-75.
- Marchini J, Howie B. Comparing algorithms for genotype imputation. Am J Hum Genet 2008; 83(4): 535-9.
- Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature 2004; 431(7011): 931-45. Epub 2004/10/22.
- Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. Nature 2001; 409(6822): 928-33. Epub 2001/03/10.
- Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. Science 1996; 273(5281): 1516-7.
- Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 1953; 171(4356): 737-8. Epub 1953/04/25.
- Sebat J, Lakshmi B, Troge J. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. Science 2004; 305:525-8.
- Iafrate AJ, Feuk L, Rivera MN. Detection of large-scale variation in the human genome. Nat Genet 2004; 36: 949-51.
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR. Global variation in copy number in the human genome. Nature 2006; 444: 444-54.
- Stranger BE, Forrest MS, Dunning M. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. Science 2007; 315: 848-53.
- Fanciulli M, Norsworthy PJ, Petretto E. FCGR3B copy number variation is associated with susceptibility to systemic, but not organ-specific, autoimmunity. Nat Genet 2007; 39: 721-3.
- Yang Y, Chung EK, Wu YL. Gene copy-number variation and associated polymorphisms of complement component C4 in human systemic lupus erythematosus (SLE). Am J Hum Genet 2007; 80: 1037-54.

13. Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science* 2007; 316: 445-9.
14. Lachman HM, Pedrosa E, Petruolo OA. Increase in GSK3beta gene copy number variation in bipolar disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007; 144: 259-65.
15. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet* 2006; 7: 85-97.
16. Gibbs RA, Belmont JW, Hardenbol P, Willis TD, Yu F, Yang H, et al. The international HapMap project. *Nature* 2003; 426(6968): 789-96. Epub 2003/12/20.
17. Thorisson GA, Smith AV, Krishnan L, Stein LD. The International HapMap Project Web site. *Genome research*. 2005;15(11):1592-3. Epub 2005/10/28.
18. Welter D, MacArthur J, Morales J, Burdett T, Hall P, Junkins H, et al. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations. *Nucleic Acids Res* 2014; 42(Database issue): D1001-6. Epub 2013/12/10.
19. Karolchik D, Hinrichs AS, Kent WJ. The UCSC Genome Browser. Current protocols in bioinformatics / editorial board, Andreas D Baxevanis [et al]. 2012; Chapter 1: Unit1 4. Epub 2012/12/21.
20. Flicek P, Ahmed I, Amode MR, Barrell D, Beal K, Brent S, et al. Ensembl 2013. *Nucleic Acids Res* 2013; 41(Database issue): D48-55. Epub 2012/12/04.
21. Flicek P, Amode MR, Barrell D, Beal K, Brent S, Carvalho-Silva D, et al. Ensembl 2012. *Nucleic Acid Res* 2012; 40(Database issue): D84-90. Epub 2011/11/17.
22. Ramos EM, Hoffman D, Junkins HA, Maglott D, Phan L, Sherry ST, et al. Phenotype-Genotype Integrator (PheGenI): synthesizing genome-wide association study (GWAS) data with existing genomic resources. *Eur J Hum Genet* 2014; 22(1): 144-7. Epub 2013/05/23.
23. Team RC. R: A language and environment for statistical computing. 2013.
24. Aulchenko YS, Ripke S, Isaacs A, Van Duijn CM. GenABEL: an R library for genome-wide association analysis. *Bioinformatics* 2007; 23(10): 1294-6.
25. Sherry ST, Ward M-H, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigelski EM, et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res* 2001; 29(1): 308-11.
26. Cariaso M, Lennon G. SNPedia: a wiki supporting personal genome annotation, interpretation and analysis. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(D1):D1308-D12.
27. Karolchik D, Baertsch R, Diekhans M, Furey TS, Hinrichs A, Lu Y, et al. The UCSC genome browser database. *Nucleic Acids Res* 2003; 31(1): 51-4.
28. Dietterich TG, editor. Ensemble methods in machine learning. International workshop on multiple classifier systems. Springer; 2000.
29. Hood L, Friend SH. Predictive, personalized, preventive, participatory (P4) cancer medicine. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8(3): 184-7.
30. Kheradmand M, Enayati A, Rafiei A, Moosazadeh M. Population based cohort studies in Iran: a review article. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 25(125): 171-82.
31. Azizi F, Ghanbarian A, Momenan AA, Hadaegh F, Mirmiran P, Hedayati M, et al. Prevention of non-communicable disease in a population in nutrition transition: Tehran Lipid and Glucose Study phase II. *Trials*. 2009; 10:5. Epub 2009/01/27.
32. Daneshpour M, Fallah M-S, Sedaghati-Khayat B, Guity K, Khalili D, Hedayati M, et al. Rationale and design of Genetic study in Cardio-Metabolic risk factors: Tehran Cardio-Metabolic Genetic Study (TCGS). *JMIR Res Protoc* 2017.
33. Asghari G, Eftekharzadeh A, Hosseinpahneh F, Ghareh S, Mirmiran P, Azizi F. Instability of different adolescent metabolic syndrome definitions tracked into early adulthood metabolic syndrome: Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS). *Pediatric diabetes*. 2016. Epub 2016/01/31.
34. Bahadoran Z, Mirmiran P, Tahmasebi Nejad Z, Ghasemi A, Azizi F. Serum nitric oxide is associated with the risk of chronic kidney disease in women: Tehran lipid and glucose study. *Scand J Clin Lab Invest* 2016; 76(4): 304-8. Epub 2016/03/10.
35. Cheraghi Z, Mirmiran P, Mansournia MA, Moslehi N, Khalili D, Nedjat S. The association between nutritional exposures and metabolic syndrome in the Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS): a cohort study. *Public health*. 2016. Epub 2016/08/09.
36. Farahmand M, Tehrani FR, Amiri P, Azizi F. Barriers to healthy nutrition: perceptions and experiences of Iranian women. *BMC Public Health* 2012; 12: 1064. Epub 2012/12/12.
37. Mirmiran P, Azadbakht L, Azizi F. Dietary quality-adherence to the dietary guidelines in Iranian adolescents: Tehran Lipid and Glucose Study. *Int J Vitamin Nutr Res. Internationale Zeitschrift fur Vitamin- und Ernahrungsorschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition*. 2005; 75(3): 195-200. Epub 2005/07/21.

38. Mirmiran P, Bahadoran Z, Golzarand M, Asghari G, Azizi F. Consumption of nitrate containing vegetables and the risk of chronic kidney disease: Tehran Lipid and Glucose Study. *Ren Fail* 2016; 38(6): 937-44. Epub 2016/04/09.
39. Mirmiran P, Ejtahed HS, Bahadoran Z, Bastan S, Azizi F. Sugar-sweetened beverage consumption and risk of general and abdominal obesity in Iranian adults: Tehran Lipid and Glucose Study. *Iran J Public Health* 2015; 44(11): 1535-43. Epub 2016/01/09.
40. Bandarian F, Daneshpour MS, Hedayati M, Naseri M, Azizi F. Identification of sequence variation in the apolipoprotein A2 gene and their relationship with serum high-density lipoprotein cholesterol levels. *Iran Biomed J* 2016; 20(2): 84-90. Epub 2015/11/22.
41. Moslehi N, Shab-Bidar S, Mirmiran P, Sadeghi M, Azizi F. Associations between dairy products consumption and risk of type 2 diabetes: Tehran lipid and glucose study. *Int J Food Sci Nutr* 2015; 66(6): 692-9. Epub 2015/05/07.
42. Mozaffary A, Asgari S, Tohidi M, Kazempour-Ardebili S, Azizi F, Hadaegh F. Change in fasting plasma glucose and incident type 2 diabetes mellitus: results from a prospective cohort study. *BMJ open* 2016; 6(5): e010889. Epub 2016/05/25.
43. Akbarzadeh M, Moghimbeigi A. Trajectories of change in obesity among tehranian families: multilevel latent growth curve modeling. *Int J Fam Med* 2016; 2016: 2639624.
44. Faam B, Zarkesh M, Daneshpour MS, Azizi F, Hedayati M. The association between inflammatory markers and obesity-related factors in Iranian adults: Tehran lipid and glucose study. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17(8): 577-82. Epub 2015/02/26.
45. Mahjub H, Soltanian AR, Daneshpour M, Morris N, Barzin M, Keihani S, et al. Rising trends of obesity and abdominal obesity in 10 years of follow-up among Tehranian adults: Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS). *Int J Fam Med* 2015; 18(16): 2981-9. Epub 2016/04/05.
46. Fallah MS, Sedaghatikhayat B, Guity K, Akbari F, Azizi F, Daneshpour MS. The relation between metabolic syndrome risk factors and genetic variations of apolipoprotein V in relation with serum triglyceride and HDL-C level. *Arch Iran Med* 2016; 19(1): 46-50. Epub 2015/12/26.
47. Zarkesh M, Daneshpour MS, Faam B, Fallah MS, Hosseinzadeh N, Guity K, et al. Heritability of the metabolic syndrome and its components in the Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS). *Genet Res* 2012; 94(6): 331-7. Epub 2013/02/05.
48. Holm H, Stefansson K, Gretarsdottir S, Helgason H, Helgadottir A, Sigurdsson A, et al. A splice region variant in LDLR lowers non-high density lipoprotein cholesterol and protects against coronary artery disease. *Nat Genet* 2015; 11(9): e1005379. Epub 2016/05/03.
49. Steinhorsdottir V, Thorleifsson G, Sulem P. Identification of low-frequency and rare sequence variants associated with elevated or reduced risk of type 2 diabetes. *Nat Genet* 2014; 46(3): 294-8. Epub 2015/09/04.