



بررسی علل ژنتیکی ترمور (لرزش دست) در اعضای یک خانواده مبتلای ایرانی

ثمر معدن پیشه^۱، مونس رحیمیان^۲، زهرا میرزایی^۳، سید ابوالحسن شاهزاده فاضلی^{۴*}

۱- کارشناسی ارشد سلولی و مولکولی، دانشگاه علم و فرهنگ، تهران، ایران. ایمیل: samarmadanpisheh@gmail.com

۲- دکترای تخصصی ژنتیک مولکولی، دانشگاه علم و فرهنگ، تهران، ایران. ایمیل: rmouness@gmail.com

۳- کارشناس ارشد سلولی مولکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، کارشناس بخش ژنتیک مولکولی پژوهشگاه رویان، تهران، ایران. ایمیل: mirzaiee_zahra@yahoo.com

۴- دکترای تخصصی ژنتیک مولکولی پزشکی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران. ایمیل: shfazeli@yahoo.com

* نویسنده مسئول

چکیده

زمینه و هدف: لرزش دست از شایع‌ترین اختلالات حرکتی است که مهم‌ترین بیماری‌های نورودژنراتیو پارکینسون است. هدف از این مطالعه، بررسی عوامل ژنتیکی دخیل در بروز ترمور در یک خانواده ایرانی با سابقه این علائم بوده است.

روش‌ها: ابتدا شجره‌نامه خانواده با شناسایی اعضای مبتلا و سالم ترسیم شد. نمونه‌های DNA از اعضای خانواده استخراج و برای بررسی جهش‌های ژنتیکی، از روش توالی‌یابی کل اگزوم (WES) استفاده شد. داده‌های حاصل از WES به کمک تحلیل‌های بیوانفورماتیکی مورد بررسی قرار گرفتند و جهش‌های شناسایی شده با استفاده از توالی‌یابی سنگر (Sanger Sequencing) تأیید شدند. تحلیل‌های آماری برای ارزیابی همبستگی ژنتیکی بین جهش‌های شناسایی شده و علائم بالینی انجام گرفت.

نتایج: در این خانواده، دو ژن *TTN* و *SH3TC2* به‌عنوان ژن‌های کاندید شناسایی شدند. جهش در ژن *TTN* به‌صورت هتروزیگوت (GC) در پروباند (مادر) (II-2)، و پسر خانواده (III-3) مشاهده شد، در حالی که دو دختر خانواده (III-1 و III-2) دارای ژنوتیپ طبیعی (GG) بودند. تحلیل‌های بیوانفورماتیکی نشان داد که این جهش تأثیر بالقوه‌ای بر عملکرد پروتئین Titin دارد که ممکن است در بروز ترمور نقش کلیدی ایفا کند. در مقابل، جهش شناسایی شده در ژن *SH3TC2* به‌صورت هتروزیگوت (CT) تنها در پروباند شناسایی شد و در سایر اعضای خانواده وجود نداشت. توالی‌یابی سنگر جهش در ژن *TTN* را تأیید کرد، اما ارتباط معناداری بین جهش ژن *SH3TC2* و بروز بیماری مشاهده نشد. **نتیجه‌گیری:** نشان داد که جهش در ژن *TTN* ممکن است نقش کلیدی در بروز ترمور در این خانواده ایفا کند، در حالی که جهش در ژن *SH3TC2* احتمالاً عامل ثانویه‌ای است. این نتایج بر اهمیت بررسی عوامل ژنتیکی در خانواده‌های مبتلا به ترمور تأکید دارد و می‌تواند به توسعه روش‌های تشخیصی و درمانی جدید کمک کند. انجام مطالعات بیشتر در جمعیت‌های بزرگ‌تر برای تأیید این یافته‌ها توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: لرزش دست، توالی‌یابی کل اگزوم، جهش ژنتیکی، تحلیل بیوانفورماتیکی، ترمور

Investigating the genetic causes of tremor (hand tremors) in the members of an Iranian affected family

Samar Madanpisheh ¹, Mouness Rahimian ², Zahra Mirzaie ³, Seyed Abolhassan Shahzadeh Fazeli ^{4,*}

1- Department of Molecular and Cellular Biology, Faculty of Basic Sciences and Advanced Technologies in Biology, University of Science and Culture, ACECR, Tehran, Iran. samarmadanpisheh@gmail.com

2- Department of Molecular and Cellular Biology, Faculty of Basic Sciences and Advanced Technologies in Biology, University of Science and Culture, ACECR, Tehran, Iran. Email: rmouness@gmail.com

3- Department of Genetics, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran. Email: mirzaiee_zahra@yahoo.com

4- Department of Genetics, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran. Department of Molecular and Cellular Biology, Faculty of Basic Sciences and Advanced Technologies in Biology, University of Science and Culture, ACECR, Tehran, Iran.

S.A. Shahzadeh Fazeli MD, Ph.D, Professor of molecular genetic, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran. Email: shfazeli@yahoo.com

* Corresponding Author

Abstract

Background: The aim of this study was to investigate the genetic factors involved in the occurrence of tremor in an Iranian family with a history of these symptoms.

Methods: First, the family tree was drawn by identifying affected and healthy members. DNA samples were extracted from family members and whole exome sequencing was used to examine genetic mutations. Data obtained from WES were examined using bioinformatic analyses and the identified mutations were confirmed using Sanger sequencing. Statistical analyses were performed to evaluate the genetic correlation between the identified mutations and clinical symptoms.

Results: two genes, *TTN* and *SH3TC2*, were identified as candidate genes. The mutation in the *TTN* gene was observed as heterozygous (GC) in the proband (II-2), the mother (II-2), and the son (III-3), while the two daughters of the family (III-1 and III-2) had the normal genotype (GG). Bioinformatics analyses showed that this mutation has a potential impact on the function of the Titin protein, which may play a key role in the occurrence of tremor. In contrast, the mutation identified in the *SH3TC2* gene was detected as heterozygous (CT) only in the proband and the mother and was not present in other family members. Sequencing of the trench confirmed the mutation in the *TTN* gene, but no significant association was observed between the *SH3TC2* gene mutation and the occurrence of the disease.

Conclusion: mutation in the *TTN* gene may play key role in the occurrence of tremor in this family, while the mutation in the *SH3TC2* gene is probably a secondary factor. These results emphasize the importance of investigating genetic factors in families with tremor and may help develop new diagnostic and therapeutic approaches. Further studies in larger populations are recommended to confirm these findings.

Keywords: Hand tremor, whole exome sequencing, genetic mutation, bioinformatics analysis, and tremor

مقدمه

لرزش دست (ترمور) یکی از رایج‌ترین و برجسته‌ترین اختلالات حرکتی است که به‌صورت حرکات ریتمیک و غیرارادی در دست‌ها مشاهده می‌شود و می‌تواند به شدت عملکرد روزمره فرد را تحت تأثیر قرار دهد (۱). این عارضه ممکن است به دلایل مختلفی از جمله عوامل ژنتیکی، عصبی یا محیطی ایجاد شود. لرزش دست معمولاً به دو نوع اساسی تقسیم می‌شود: لرزش اولیه (Essential Tremor) که بدون همراهی با سایر علائم عصبی ظاهر می‌شود و لرزش ثانویه که معمولاً در نتیجه بیماری‌های عصبی مانند ترمور دیده می‌شود (۲). علیرغم شیوع بالا و تأثیر قابل توجه لرزش دست بر زندگی افراد، علت دقیق آن در بسیاری از موارد ناشناخته باقی می‌ماند. شواهد حاکی از آن است که عوامل ژنتیکی در بروز این اختلال نقش مهمی دارند، به‌ویژه در مواردی که سابقه خانوادگی قابل توجهی وجود دارد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که جهش در برخی ژن‌ها ممکن است با بروز لرزش دست مرتبط باشد، اما تحقیقات کافی در این زمینه انجام نشده است و بسیاری از ژن‌های دخیل هنوز شناسایی نشده‌اند (۳). اگرچه لرزش دست می‌تواند یکی از علائم اولیه بیماری ترمور نیز باشد، اما این اختلال در بسیاری از موارد به‌صورت مستقل و بدون سایر علائم ترمور بروز می‌کند. ترمور، به‌عنوان یک اختلال پیشرونده عصبی، با علائمی همچون کندی حرکات، سفتی عضلانی، و اختلال در راه رفتن همراه است، اما لرزش دست اغلب از نخستین علائم آن محسوب می‌شود. با این وجود، لرزش دست به‌تنهایی می‌تواند پیچیدگی‌هایی مستقل از ترمور داشته باشد و لزوم مطالعات دقیق‌تر در این حوزه را نشان می‌دهد. بیماری ترمور یک اختلال پیش‌رونده و مخرب در سیستم ماهیچه‌ای است که عمدتاً عملکرد حرکتی بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این بیماری با علائمی تدریجی شروع می‌شود که اغلب با لرزش خفیف دست آغاز شده و به تدریج به کاهش سرعت حرکات، و اختلال در راه رفتن منجر می‌شود (۴، ۵). علاوه بر این، علائم شناختی و رفتاری مانند افسردگی، اضطراب و فقدان انگیزه نیز در بسیاری از بیماران مشاهده می‌شود (۶). علت دقیق بروز بیماری ترمور هنوز به طور کامل مشخص نیست، اما شواهد نشان می‌دهد که عوامل ژنتیکی و محیطی در بروز آن نقش دارند (۹). لرزش دست (ترمور)، کندی حرکات، و سفتی عضلانی، از جمله علائم حرکتی کلیدی این بیماری هستند (۱۰). اگرچه عوامل محیطی مانند قرار گرفتن در معرض سموم، رادیکال‌های آزاد و اختلالات متابولیکی به بروز بیماری کمک می‌کنند، اما در حدود ۵ تا ۱۰ درصد از موارد، عوامل ژنتیکی به عنوان علت اصلی تشخیص داده شده‌اند (۱۱). به طور خاص، جهش در ژن‌هایی مانند *PARK2*، *LRRK2*، *PINK1* و *SNCA* مرتبط با بروز ترمور، به ویژه در موارد خانوادگی،

تشخیص داده شده است (۱۲). مطالعه حاضر بر روی یک خانواده ایرانی انجام شده است. چندین عضو خانواده دچار بیماری لرزش بوده اند اما هیچ مدرک پزشکی دال بر پارکینسون ندارند. در این خانواده، از میان فرزندان، پسر خانواده به تازگی دچار لرزش دست شده است، در حالی که دو دختر خانواده هنوز علائمی از بیماری نشان نمی‌دهند. هدف این پژوهش، شناسایی جهش‌های ژنتیکی است که ممکن است در بروز لرزش دست و علائم ترمور در این خانواده نقش داشته باشد. برای دستیابی به این هدف، از توالی‌یابی کل اگزوم (WES) استفاده خواهد شد تا جهش‌های احتمالی در ژن‌های مرتبط با ترمور شناسایی شود. این روش به ما امکان می‌دهد تا با دقت بالا، تغییرات ژنتیکی در سطح اگزوم‌های کدکننده ژنوم را شناسایی کنیم و به درک بهتری از نقش ژنتیک در بروز این بیماری در افراد این خانواده برسیم. در این مطالعه، ژنوتیپ اعضای خانواده مورد بررسی قرار گرفت تا بتوانیم ژن‌های دخیل در بروز ترمور و ترمور را شناسایی کنیم و ارتباط آن‌ها با علائم حرکتی و شناختی بیماری را بررسی کنیم. این تحقیق می‌تواند به روشن شدن نقش عوامل ژنتیکی در بروز بیماری ترمور در جمعیت ایرانی کمک کند و راه را برای تشخیص زودهنگام و درمان‌های هدفمند هموار سازد. نتایج این مطالعه می‌تواند به شناسایی واریانت‌های ژنتیکی نادر کمک کند که در بروز ترمور زودرس در این خانواده نقش دارند. این یافته‌ها می‌توانند به تشخیص زودهنگام بیماری در افراد مستعد کمک کرده و در نهایت به بهبود روش‌های درمانی منجر شوند. علاوه بر این، این تحقیق می‌تواند مبنایی برای انجام مطالعات گسترده‌تر در زمینه عوامل ژنتیکی ترمور در سایر خانواده‌های ایرانی باشد. بنابراین این تحقیق با هدف بررسی علل ژنتیکی ترمور (لرزش دست) در اعضای یک خانواده مبتلای ایرانی انجام شد.

روش کار

در مطالعه حاضر، یک خانواده ایرانی اهل شهرستان یزد شرکت کرده است. فرد شاخص (پروبان)، دارای ترمور بوده و پسر فرد پروبان که اخیراً دچار لرزش دست شده است و دو خواهر سالم که علائمی از بیماری ندارند، وارد این مطالعه شدند. پس از توضیح اهداف پژوهش و فواید احتمالی حاصل از آن برای اعضای خانواده و کسب رضایت‌نامه کتبی، این خانواده در مطالعه شرکت کردند. شجره‌نامه مربوطه نیز رسم گردید. در شکل ۱، شجره‌نامه خانواده نشان داده شده است. فرد II-2 به‌عنوان پروبان برای انجام توالی‌یابی کل اگزوم (WES) انتخاب شد. سایر اعضای خانواده نیز برای تأیید واریانت‌های ژنتیکی شناسایی‌شده مورد آزمایش توالی‌یابی سنگر قرار خواهند گرفت.

این مطالعه پس از تصویب در کمیته اخلاق پژوهشی (IR.ACECR.USC.REC1403051) اجرا گردید. قبل از شروع مطالعه، از تمامی اعضای خانواده رضایت‌نامه آگاهانه اخذ شد. و از تمامی اعضای خانواده نمونه خون در آزمایشگاه یزد گرفته شد و به تهران ارسال شد

استخراج DNA از نمونه‌های خون

استخراج DNA از نمونه‌های خون با استفاده از روش Salting out انجام شد. این روش نسبت به استفاده از کیت‌های تجاری آلودگی کمتری ایجاد می‌کند و غلظت بالاتری از DNA به دست می‌دهد.

آماده‌سازی نمونه برای توالی‌یابی اگزوم

در این مطالعه، توالی‌یابی کل اگزوم (WES) به‌عنوان یک روش کارآمد برای شناسایی جهش‌های ژنتیکی مرتبط با ترمور به کار گرفته شد. برای انجام این روش، DNA استخراج‌شده از نمونه‌های خون باید شرایط خاصی داشته باشد تا به کیفیت مطلوبی برای توالی‌یابی برسد.

ایجاد کتابخانه اگزومی

برای انجام توالی‌یابی، ابتدا کتابخانه اگزومی از نمونه‌های DNA تهیه می‌شود. این مرحله شامل قطعه‌قطعه کردن DNA ژنومی و اتصال آداپتورها به انتهای قطعات است تا بتوان آن‌ها را در فرآیند توالی‌یابی به کار گرفت.

فرآیند توالی‌یابی اگزوم

پس از آماده‌سازی کتابخانه، مرحله توالی‌یابی گسترده با استفاده از تکنیک Massive Parallel Sequencing آغاز می‌شود. این تکنیک امکان توالی‌یابی همزمان هزاران قطعه DNA را فراهم می‌کند که باعث افزایش سرعت و دقت تحلیل می‌شود.

تحلیل داده‌های توالی‌یابی و شناسایی جهش‌ها

داده‌های خام به‌دست‌آمده از توالی‌یابی ابتدا از نظر کیفیت خوانش بررسی می‌شوند و سپس با استفاده از ژنوم مرجع هم‌تراز (Alignment) می‌شوند.

تأیید جهش‌های کاندید با روش PCR-Sanger Sequencing

جهش‌های کاندید شناسایی‌شده توسط WES با استفاده از PCR-Sanger Sequencing تأیید می‌شوند. این روش به دلیل دقت بالا در تأیید جهش‌ها به کار گرفته می‌شود. برای این منظور، ابتدا پرایمرهای اختصاصی طراحی و سنتز می‌شوند و سپس PCR برای تقویت نواحی هدف انجام می‌شود.

پردازش و تحلیل داده‌های توالی‌یابی برای شناسایی جهش‌های مرتبط با ترمور

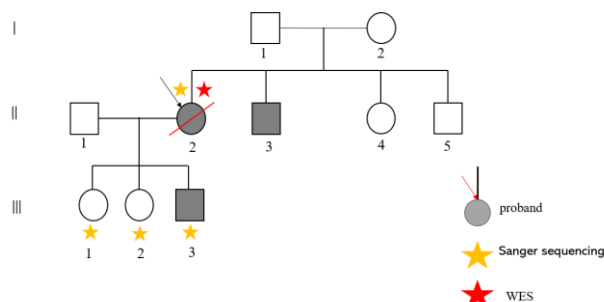
در آنالیز اولیه، داده‌های خام حاصل از توالی‌یابی اگزوم به فرمت خوانش‌های اولیه تبدیل می‌شوند. این داده‌ها ابتدا در فایل‌هایی با فرمت bcl ذخیره شده و سپس به فرمت FASTQ که استاندارد خروجی داده‌های توالی‌یابی است، تبدیل می‌گردند. در مرحله پردازش ثانویه، داده‌های حاصل از فرمت FASTQ پردازش می‌شوند. این مرحله شامل چهار بخش است: ابتدا خوانش نوکلئوتیدها و بررسی کیفیت آن‌ها انجام می‌شود و سپس توالی‌های خوانده‌شده با ژنوم مرجع هم‌تراز (Alignment) می‌شوند.

ارزیابی جهش‌های کاندید با استفاده از پایگاه‌های داده معتبر

پس از انجام فیلترینگ اولیه و شناسایی واریانت‌های کاندید، تمامی rs واریانت‌ها در پایگاه‌های داده Varsome و Franklin ارزیابی شدند. هدف این مرحله، بررسی بیماری‌زایی جهش‌ها با استفاده از اطلاعات موجود در پایگاه‌های ClinVar و ACMG بود.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای تأیید جهش‌ها

برای تأیید جهش‌های شناسایی‌شده، از PCR به عنوان روشی سریع و دقیق برای تکثیر توالی‌های هدف استفاده شد. این واکنش در شرایط بهینه با



شکل ۱. شجره نامه خانواده مورد مطالعه

شجره‌نامه بازتاب‌دهنده الگوی ژنتیکی جهش‌ها و علائم بالینی مرتبط با لرزش دست و ترمور است. افراد در نسل‌های مختلف با علائم و ویژگی‌های در جدول ۱ مشخص شده‌اند.

جدول ۱: اطلاعات اعضای خانواده مورد مطالعه

بیمار	سن (سال)	علائم	نسبت	مدت	تأیید
		بالینی	فAMILI	بروز	تشخیص
				علائم (سال)	
II-2	۸۶	لرزش دست، کندگی حرکات، سفتی عضلانی	مادر خانواده (پروبان)	۱	متخصص مغز و اعصاب
III-3	۵۵	لرزش دست، کاهش سرعت حرکات	پسر خانواده	۴	متخصص مغز و اعصاب
III-1	۶۰	بدون علائم	دختر سالم	-	-
III-2	۶۵	بدون علائم	دختر سالم	-	-

II-2 (پروبان): فرد شاخص (پروبان) خانواده که با علائم ترمور در دست‌ها و احتمال پیشرفت بیماری شناسایی شده است. این فرد برای توالی‌یابی کل اگزوم (WES) انتخاب شده و نقش کلیدی در مطالعه دارد. III-1 و III-2 (خواهران سالم): دو خواهر خانواده که هیچ‌گونه علائمی از بیماری یا لرزش دست نشان نداده‌اند و به‌عنوان نمونه‌های کنترل در مطالعه گنجانده شده‌اند. III-3 (برادر با علائم): برادر خانواده که به تازگی علائم ترمور و لرزش دست را نشان داده است و احتمال پیشرفت به علائم ترمور در وی مطرح است.

تهیه نمونه‌ها

استفاده از پرایمرهای اختصاصی، آنزیم DNA پلی‌مراز مقاوم به دما و چهار نوع دئوکسی‌نوکلئوتید تری‌فسفات (dNTPs) انجام شد. فرآیند تکثیر شامل سه مرحله اصلی بود: دناتوراسیون: در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، دو رشته DNA از هم جدا می‌شوند. واسرشتگی: اتصال پرایمرها به DNA الگو در دمای بهینه که برای هر پرایمر متفاوت است. طول‌سازی: سنتز رشته جدید DNA در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد با استفاده از آنزیم Taq Polymerase انجام می‌شود. این چرخه‌ها حدود ۳۰ تا ۳۵ بار تکرار می‌شوند و محصولات به صورت تصاعدی افزایش می‌یابند تا به میزان کافی برای تحلیل‌های بعدی برسند.

طراحی و بهینه‌سازی پرایمرها برای توالی‌یابی سنگر

پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن‌های مرتبط با ترمور مانند SNCA, PARK, LRRK2 با استفاده از نرم‌افزار Gene Runner طراحی شدند.

توالی‌یابی سنگر (Sanger Sequencing) برای تأیید جهش‌ها

در این مطالعه، از روش توالی‌یابی سنگر برای تأیید جهش‌های شناسایی شده در واریانت‌های کاندید و غربالگری ژن تأیید شده در اعضا خانواده استفاده شد.

پیش‌بینی‌های بیوانفورماتیکی برای تحلیل اثرات جهش‌های

شناسایی شده

در مرحله پایانی، واریانت‌های تأیید شده توسط توالی‌یابی سنگر در پایگاه‌های داده مختلف تحلیل شدند تا تأثیر آن‌ها بر ساختار و عملکرد پروتئین‌ها بررسی شود. از پایگاه داده Genecards و Protein Atlas برای مطالعه ژن و ارزیابی میزان بیان ژن‌ها در بافت‌های مختلف استفاده شد. همچنین، از پایگاه داده UniProt برای بررسی ساختار پروتئین‌ها، توالی‌ها و دومین‌ها استفاده گردید.

نتایج

تحلیل ژنتیکی نمونه پروباند با استفاده از توالی‌یابی اگزوم (WES)

نمونه DNA فرد پروباند برای انجام توالی‌یابی اگزوم (WES) به شرکت Genomefan ارسال شد. داده‌های تولیدشده از این فرآیند با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی تحلیل شدند و تغییرات ژنتیکی قابل‌توجه شناسایی گردیدند (جدول ۲). جهش rs75104636 (ژن TTN): جهشی در اگزون ۱۳۸ ژن TTN که به‌عنوان بیماری‌زا طبقه‌بندی شده و از الگوی وراثتی اتوزومال غالب پیروی می‌کند. جهش rs1995498 (ژن SH3TC2): واریانتی در اگزون ۱۴ ژن SH3TC2 که احتمالاً بیماری‌زا بوده و بر اساس الگوی وراثتی اتوزومال مغلوب در بیماران اثر می‌گذارد. یافته‌های به‌دست‌آمده از این تحلیل ژنتیکی، کاندید بودن این جهش‌ها در ارتباط با بیماری را نشان می‌دهد.

جدول ۲: اطلاعات ژن‌های کاندید حاصل از سنجش WES

ژن	مختصات واریانت	هموزیگوسیتی
TTN	TTN: NM-003319: exon138 c.G37621C p.D12541H,	Het
SH3TC2	SH3TC2 :NM_024577 exon14: c.G3293	Het

طراحی پرایمر برای جایگاه‌های ژنی کاندید

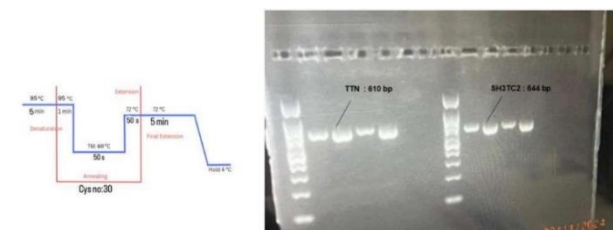
در جدول ۳، اطلاعات مربوط به پرایمرهای طراحی‌شده برای ژن‌های TTN و SH3TC2 شامل نام، توالی، دمای TM، درصد GC و طول محصول PCR ارائه شده است. این پرایمرها برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) جهت تکثیر نواحی ژنی هدف مورد استفاده قرار می‌گیرند.

نتایج الکتروفورز و سنجش باند DNA

برای بررسی تکثیر موفقیت‌آمیز ژن‌های کاندید (SH3TC2 و TTN)، محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱.۲٪ الکتروفورز شدند (جدول ۳). این آزمایش با ولتاژ ثابت ۱۲۰ ولت به مدت ۴۰ دقیقه انجام شد و با استفاده از رنگ‌آمیزی GelRed باند‌های DNA زیر نور UV مشاهده شدند (شکل ۲).

جدول ۳: نتایج الکتروفورز

شماره	ژن	اندازه باند	توضیحات باند مشاهده‌شده
چاهک		مورد انتظار (bp)	
1	Ladder	-	نشان‌دهنده اندازه مرجع برای مقایسه باند‌های مشاهده‌شده در چاهک‌های دیگر
2	TTN	610	باند واضح و مشخص در موقعیت مورد انتظار، بدون باند غیر اختصاصی
3	SH3TC2	644	باند واضح و مشخص در اندازه مورد انتظار، بدون باند غیر اختصاصی



شکل ۲: SH3TC2 (644 bp) و TTN (610 bp) ژن‌های PCR.

توالی‌یابی سنگر برای تأیید ژن‌های کاندید

شکل ۳ نمایانگر نتایج توالی‌یابی سنگر ژن SH3TC2 برای نمونه‌های مختلف اعضای خانواده است. هر بخلاف نمونه‌های دیگر، در توالی‌یابی یک نمونه خاص است و موقعیت جهش یا تغییر نوکلئوتید در توالی بررسی شده است. نواحی مشخص‌شده با کادر قرمز نمایانگر جایگاه واریانت هستند. نتایج توالی‌یابی سنگر ژن SH3TC2 در نمونه‌های مختلف اعضای خانواده نشان‌دهنده الگوهای متفاوتی از ژن جایگاه مورد نظر است. در نمونه II-2، کروماتوگرام حضور دو پیک (سبز و قرمز) در موقعیت جهش را نشان می‌دهد که بیانگر ژنوتیپ CT (هتروزیگوت) است، به اتوزومال تغییر اسید آمینه احتمالاً بیماری‌زا این معنا که این فرد ناقل دارای جهش مورد نظر است. در مقابل، نمونه‌های مغلوب و III-3، III-1 دارای یک پیک سبز در همان موقعیت (Likely pathogenic) (Missense) (AD) (AR) ژنوتیپ CC (طبیعی) را تأیید می‌کند و نشان می‌دهد که این افراد فاقد جهش مورد نظر بوده و وضعیت طبیعی دارند. این نتایج حاکی از آن است که

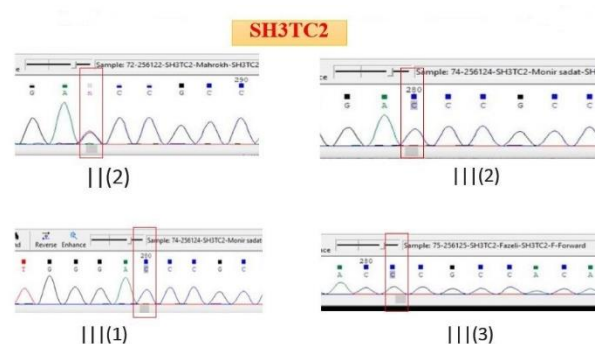
واریانت با بروز بیماری است. همچنین جهش شناسایی شده در ژن SH3TC2 به صورت CT (هتروزیگوت) در پروباند مشاهده شد، اما سایر اعضای خانواده (دو دختر و پسر) دارای ژنوتیپ CC (هموزیگوت برای آلل طبیعی) بودند. عدم وجود این جهش در سایر اعضای خانواده نشان می‌دهد که احتمالاً این واریانت تأثیر قابل توجهی در بروز بیماری ترمور ندارد. در مجموع این نتایج نشان می‌دهند که واریانت ژن TTN می‌تواند با بروز علائم بیماری مرتبط باشد، زیرا در افراد مبتلا (پروبانده و پسر خانواده) که ناقل است، مشاهده شد. اما جهش ژن SH3TC2 احتمالاً نقشی در بروز بیماری نداشته، زیرا در اعضای سالم خانواده نیز وجود ندارد. این الگوهای ژنوتیپی می‌توانند به درک بهتر نقش جهش‌های ژنتیکی در بروز بیماری ترمور کمک کنند.

جدول ۴. الگوی ژنوتیپی اعضای خانواده

GENES	TTN	SH3TC2
CASE		
II-2	PROBAND	GC
III-1	Daughter	GG
III-2	Daughter	GG
III-3	Son	GC

شکل ۷ نشان می‌دهد، در این مطالعه، شجره‌نامه خانواده مورد بررسی برای نمایش ارتباط ژنتیکی میان اعضای مختلف و توزیع جهش‌های شناسایی شده در ژن‌های TTN و SH3TC2 طراحی شده است. این شجره‌نامه علاوه بر نشان دادن ارتباط فامیلی، نتایج توالی‌یابی کل اگزوم (WES) و تایید جهش‌های شناسایی شده با روش Sanger Sequencing را به صورت تصویری ارائه می‌دهد. هدف از ارائه این شجره‌نامه، بررسی الگوی وراثتی جهش‌ها بر اساس نتایج توالی‌یابی سنگر و نقش احتمالی آن‌ها در بروز علائم بیماری ترمور و ترمور در این خانواده است. همچنین، این تصویر به درک بهتر از نحوه انتقال ژنتیکی جهش‌ها در بین نسل‌ها کمک می‌کند. بر اساس شجره‌نامه ارائه شده، جهش در ژن TTN به صورت هتروزیگوت (+/-) در پروبانده و II-2 و فرزند III-3 شناسایی شده که نشان‌دهنده انتقال اتوزومال غالب این جهش است. در مقابل، جهش در ژن SH3TC2 به صورت هتروزیگوت تنها در پروبانده شناسایی شد، اما در سایر اعضای خانواده وجود نداشت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که جهش در ژن TTN ممکن است نقش اصلی را در بروز بیماری ایفا کند، در حالی که جهش در ژن SH3TC2 احتمالاً اثرات جزئی یا غیرمرتبط با بیماری دارد. این تحلیل به روشن شدن نقش احتمالی عوامل ژنتیکی در بروز علائم این بیماری کمک کرده و مبنایی برای مطالعات بیشتر در جمعیت‌های مشابه فراهم می‌کند.

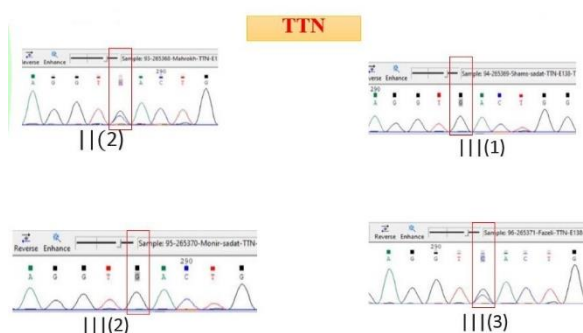
جهش در ژن SH3TC2 در برخی اعضای خانواده به صورت ناقل حضور دارد، اما در دیگر اعضا مشاهده نشده و احتمالاً ارتباط مستقیمی با بروز بیماری ترمور ندارد.



شکل ۳: نمایانگر نتایج توالی‌یابی سنگر ژن SH3TC2 برای نمونه‌های

مختلف اعضای خانواده

شکل ۴ نتایج توالی‌یابی سنگر ژن TTN در نمونه‌های مختلف اعضای خانواده نشان می‌دهد که در جایگاه مورد نظر، افراد مختلف دارای الگوهای متفاوتی از ژنوتیپ هستند. در نمونه‌های II-2 و III-3، کروماتوگرام نشان‌دهنده حضور دو پیک (سبز و قرمز) در موقعیت جهش است که ژنوتیپ GC (هتروزیگوت) را تأیید می‌کند. این وضعیت نشان‌دهنده حضور جهش در این افراد است که ممکن است با بروز بیماری مرتبط باشد. در مقابل، نمونه‌های III-1 و III-2 تنها یک پیک سبز در موقعیت جهش نشان می‌دهند که بیانگر ژنوتیپ GG (هموزیگوت طبیعی) است و نشان می‌دهد این افراد فاقد جهش بوده و وضعیت ژنتیکی آن‌ها طبیعی است. این نتایج حاکی از آن است که جهش شناسایی شده در ژن TTN در برخی اعضای خانواده با وضعیت هتروزیگوت مشاهده شده و احتمالاً با بروز علائم بیماری مرتبط است، در حالی که باقی اعضای سالم خانواده آلل هموزیگوت نرمال بوده است.



شکل ۴: نتایج توالی‌یابی سنگر ژن TTN در نمونه‌های مختلف اعضای

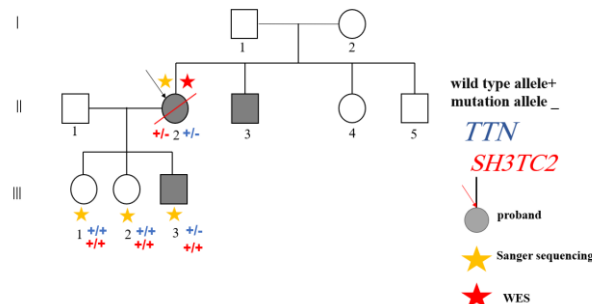
خانواده

الگوی ژنوتیپی اعضای خانواده برای جهش‌های شناسایی شده در ژن‌های

SH3TC2 و TTN

داده‌های حاصل از توالی‌یابی سنگر برای هر دو ژن تجزیه و تحلیل شد و نتایج به صورت ژنوتیپ‌های مشاهده شده (هموزیگوت یا هتروزیگوت) ارائه شده است (جدول ۴). جهش شناسایی شده به صورت GC (هتروزیگوت) در پروبانده مشاهده شد، در حالی که دو دختر سالم خانواده ژنوتیپ GG (هموزیگوت برای آلل طبیعی) را نشان دادند. پسر خانواده نیز ژنوتیپ GC (هتروزیگوت) مشابه پروبانده داشت که نشان‌دهنده ارتباط احتمالی این

به‌عنوان یک عامل احتمالی مؤثر در بروز بیماری برجسته می‌سازد. در این مطالعه، شناسایی دو ژن *TTN* و *SH3TC2* به‌عنوان کاندیدهای مرتبط با ترمور در خانواده مورد مطالعه، نقطه شروع مهمی برای بررسی عوامل ژنتیکی ناشناخته در این بیماری بود. ژن *TTN*، بزرگ‌ترین ژن شناخته‌شده در ژنوم انسانی، کدکننده پروتئینی است که نقش اساسی در حفظ کشش و پایداری عضلات ایفا می‌کند (۱۶، ۱۷). جهش در این ژن با بیماری‌های عضلانی نظیر کاردیومیوپاتی دیلاته و میوپاتی اسکلتال مرتبط است، اما شواهد جدید نشان می‌دهد که می‌تواند در بروز علائم عصبی نیز نقش داشته باشد (۱۸). تحلیل‌های بیوانفورماتیکی این مطالعه نیز تأیید کردند که جهش مذکور ممکن است عملکرد پروتئین Titin را مختل کند، که این موضوع می‌تواند به نقص در انتقال سیگنال‌های عضلانی-عصبی و در نتیجه بروز ترمور منجر شود. اساساً باید در نظر داشت که ژن *TTN* که یکی از بزرگ‌ترین ژن‌های انسانی است، کدکننده پروتئین تیتین می‌باشد. این پروتئین در ساختار عملکرد سارکوم‌های عضلانی نقش اساسی ایفا کرده و در تنظیم کشش، پایداری، و انعطاف‌پذیری عضلات اهمیت دارد (۱۹). هرگونه نقص در ساختار این پروتئین می‌تواند باعث اختلال در عملکرد عضلانی شود و به بروز علائم حرکتی مانند لرزش دست و کندی حرکات منجر گردد. تحقیقات نشان می‌دهد که پروتئین تیتین علاوه بر نقش اصلی خود در عضلات، در تعامل با پروتئین‌های سیگنال‌دهی مرتبط با عملکرد نورون‌ها نیز دخیل است (۲۰). جهش در ژن *TTN* می‌تواند منجر به نقص در انتقال سیگنال‌های بین سیستم عصبی و عضلانی شود که ممکن است به بروز علائم حرکتی در بیماری‌هایی مانند ترمور مرتبط باشد. از سوی دیگر، تأثیر جهش *TTN* بر سیستم عصبی مرکزی نیز ممکن است از طریق مسیرهای ناشناخته‌ای باشد که نیاز به بررسی بیشتری دارد. تحلیل بیوانفورماتیکی این مطالعه نشان داد که جهش شناسایی‌شده در ژن *TTN* می‌تواند منجر به تغییرات ساختاری در نواحی کلیدی پروتئین تیتین شود، که این تغییرات ممکن است عملکرد طبیعی آن را مختل کند (۲۱). این اختلالات می‌توانند باعث کاهش انعطاف‌پذیری عضلات و افزایش حساسیت به آسیب‌های مکانیکی شوند، که خود به تشدید علائم بیماری در این خانواده منجر شده است. به طور کلی، مکانیسم احتمالی تأثیر ژن *TTN* در بیماری ترمور ممکن است ترکیبی از نقص عملکردی در عضلات و تداخل در مسیرهای سیگنال‌دهی عصبی-عضلانی باشد. این مکانیسم‌ها می‌توانند به کاهش هماهنگی حرکتی و بروز علائم مرتبط با ترمور، نظیر لرزش دست و کاهش سرعت حرکات، منجر شوند. یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهند که ژن *TTN* می‌تواند به‌عنوان یک هدف بالقوه برای مطالعات بیشتر و توسعه روش‌های درمانی در بیماری‌های عصبی-حرکتی در نظر گرفته شود. در مقابل، جهش شناسایی‌شده در ژن *SH3TC2* به‌صورت هتروزیگوت (CT) تنها در پروباند مشاهده شد و در سایر اعضای خانواده (پسر و دو دختر) وجود نداشت. ژن *SH3TC2* کدکننده پروتئینی است که در انتقال سیگنال‌های نورونی در سیستم عصبی محیطی نقش دارد و جهش در آن معمولاً با بیماری شارکوت ماری توث (CMT) مرتبط است (۲۲، ۲۳). با این حال، در این مطالعه شواهد محدودی از ارتباط این جهش با بروز علائم ترمور مشاهده شد. تحلیل‌های بیوانفورماتیکی نشان دادند که این جهش احتمالاً تأثیر کمی بر عملکرد پروتئین دارد و ممکن است یک عامل ثانویه در بروز این بیماری باشد. این یافته نشان می‌دهد که جهش شناسایی‌شده در ژن *SH3TC2* ممکن است به‌عنوان یک عامل کم‌اثر یا تعدیل‌کننده در بروز علائم بیماری عمل کند. ژن *SH3TC2* عمدتاً با عملکرد نورون‌های محیطی و انتقال سیگنال‌های عصبی مرتبط است، اما نقش مستقیم آن در سیستم عصبی



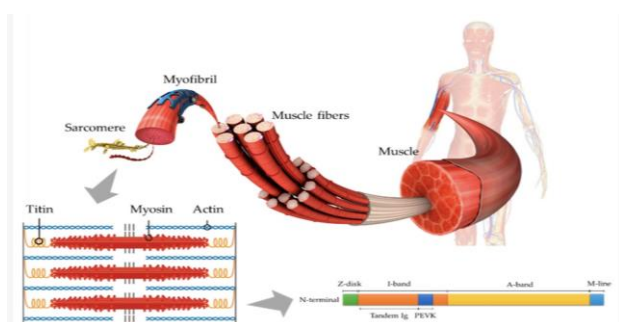
شکل ۷. نتایج توالی‌یابی سنگر در شجره‌نامه خانواده مورد بررسی

بحث

بیماری ترمور، به‌عنوان یکی از شایع‌ترین اختلالات عصبی پیش‌رونده، تأثیر عمیقی بر کیفیت زندگی بیماران و خانواده‌های آن‌ها دارد. این بیماری که با علائم حرکتی مانند لرزش دست (ترمور)، کندی حرکات، و سفتی عضلانی آغاز می‌شود، به تدریج به مشکلات شناختی و روانی نیز منجر می‌گردد. در حالی که علت دقیق بیماری همچنان ناشناخته باقی مانده است، شواهد حاکی از نقش مهم عوامل ژنتیکی و محیطی در بروز آن هستند (۱۳). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که جهش‌های ژنتیکی در ژن‌هایی نظیر *LRRK2*، *PINK1*، *PARK2* و *SNCA* ارتباط مستقیمی با بروز بیماری ترمور دارند و در بسیاری از موارد خانوادگی، به‌ویژه در سنین ۴۰ سال به بالا، شناسایی شده‌اند (۱۴). این ژن‌ها با مسیرهای بیولوژیکی کلیدی در سیستم عصبی مرتبط هستند و اختلال در عملکرد آن‌ها می‌تواند منجر به بروز علائم حرکتی و شناختی شود. لزوم شناسایی این ژن‌ها برای درک بهتر مکانیسم‌های ژنتیکی بیماری و توسعه روش‌های تشخیصی و درمانی جدید بسیار ضروری است. مطالعه حاضر با هدف بررسی عوامل ژنتیکی دخیل در بروز ترمور علائم آن در یک خانواده ایرانی طراحی شد. این خانواده شامل چند عضو مبتلا به ترمور است به گفته خودشان که این مسئله، فرضیه نقش عوامل ژنتیکی در بروز بیماری را تقویت می‌کند. در این پژوهش از روش توالی‌یابی کل اگزوم (WES) به‌عنوان یکی از ابزارهای پیشرفته و دقیق برای شناسایی واریانت‌های ژنتیکی استفاده شد. این رویکرد امکان شناسایی تغییرات ژنتیکی در نواحی کدکننده ژنوم را فراهم کرده و می‌تواند به درک بهتر مکانیسم‌های بیماری کمک کند.

در این مطالعه، ابتدا با استفاده از روش توالی‌یابی کل اگزوم (WES)، دو ژن *TTN* و *SH3TC2* به‌عنوان کاندیدهای احتمالی مرتبط با بروز ترمور در خانواده مورد مطالعه شناسایی شدند. نتایج نشان داد که جهش شناسایی‌شده در ژن *TTN* به‌صورت هتروزیگوت (GC) در پروباند، و پسر خانواده مشاهده شد، در حالی که دو دختر خانواده دارای ژنوتیپ هموزیگوت طبیعی (GG) بودند. این جهش در تحلیل‌های بیوانفورماتیکی تأثیر بالقوه‌ای بر عملکرد پروتئین Titin نشان داد و احتمالاً نقش کلیدی در بروز علائم ترمور در این خانواده ایفا می‌کند. در مقابل، جهش ژن *SH3TC2* به‌صورت هتروزیگوت (CT) تنها در پروباند مشاهده شد و سایر اعضای خانواده ژنوتیپ هموزیگوت طبیعی (CC) داشتند، که تأثیر محدود این جهش را در بروز بیماری نشان می‌دهد. توالی‌یابی سنگر نیز جهش *TTN* را در اعضای مبتلا تأیید کرد، در حالی که ارتباط جهش *SH3TC2* با بیماری مشخص نشد. الگوی وراثتی نشان‌دهنده انتقال جهش *TTN* از مادر به فرزندان مبتلا بود، در حالی که جهش *SH3TC2* محدود به فرد پروباند باقی ماند. کیفیت بالای داده‌های توالی‌یابی، دقت و صحت این نتایج را تضمین کرده و اهمیت جهش *TTN* را

می‌دهند که هرچند برخی جهش‌ها مانند TTN نقش کلیدی در بروز بیماری دارند، برای تأیید نقش سایر ژن‌ها و بررسی الگوهای وراثتی مرتبط، مطالعات عملکردی و گسترده‌تری لازم است. یافته‌های این پژوهش، مشابه سایر مطالعات، پتانسیل بالای روش‌های NGS را در شناسایی جهش‌های نادر و توسعه ابزارهای تشخیصی و درمانی در بیماری‌های عصبی برجسته می‌کند.



شکل (۸) ساختار titin در عضله (۲۸)

در شکل شماره (۸) تصویری شماتیک از titin در عضله است. که مشاهده می‌کنیم. ماهیچه از فیبرها و فیبرها از میوفیبرها و میوفیبرها از سارکومرها تشکیل شده‌اند و سارکومر شامل اکتین، تیتین و میوزین است. که تیتین شامل بخشهای Z.Disk, I.band, A.band, M.line است که قسمت I.band آن شامل Ig.Domain ها و ناحیهی PEVK است. جهش ما که در ژن TTN و پروتئین تیتین است در یکی از این ناحیه باید باشد. طبق اطلاعات و مطالعات ما از پایگاه‌های داده مختلف مانند پایگاه داده uniport جهش در قسمت I.band رخ داده است و در قسمت Ig.Domin ها یک ساختار پروتئینی است که نقش‌های اصلی آن (۱) اتصال سلولی (۲) سیگنال‌دهی (۳) ساختار عضلات است که در بخش ساختار عضلات در پروتئین‌هایی مانند Igdantitn Ig ها به کشش و بازگشت عضلات کمک می‌کنند به طور کلی IgDomain ها در پروتئین titin نقش بسیار کلیدی در ساختار و عملکرد این پروتئین دارند.

نتیجه گیری

این مطالعه با شناسایی و تحلیل دو ژن TTN و SH3TC2 به عنوان کاندیدهای احتمالی مرتبط با بروز ترمور در یک خانواده ایرانی، نقش ژنتیک در این بیماری را مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که جهش شناسایی شده در ژن TTN، با الگوی وراثتی اتوزومال غالب و تأثیر مستقیم بر عملکرد پروتئین تیتین، به‌طور قوی با بروز علائم بیماری مرتبط است. این جهش احتمالاً با اختلال در عملکرد عضلانی و نوروهای حرکتی مرتبط بوده و نقشی کلیدی در بروز ترمور در این خانواده ایفا می‌کند. در مقابل، جهش شناسایی شده در ژن SH3TC2، با تأثیر محدود بر عملکرد پروتئین و عدم تطابق کامل با الگوی بالینی خانواده، به عنوان یک عامل کم‌اثر یا بی‌تأثیر در بروز بیماری شناسایی شد. این پژوهش نشان‌دهنده اهمیت روش‌های توالی‌یابی کل اگزوم (WES) در شناسایی جهش‌های نادر و جدید است و تأکید می‌کند که ترکیب این روش با تحلیل‌های بیوانفورماتیک می‌تواند به درک بهتری از مکانیسم‌های ژنتیکی بیماری‌های عصبی-حرکتی کمک کند. علاوه بر این، یافته‌ها بر لزوم انجام مطالعات عملکردی و تحقیقات گسترده‌تر در جمعیت‌های مشابه برای تأیید نقش جهش‌های شناسایی شده تأکید دارند. این مطالعه نه تنها به شناسایی عوامل ژنتیکی جدید در ترمور خانوادگی کمک

مرکزی و بیماری‌های حرکتی مانند ترمور تاکنون به‌طور گسترده بررسی نشده است (۲۲، ۲۴). علاوه بر این، عدم وجود این جهش در سایر اعضای مبتلا (مانند پسر خانواده)، شواهد بیشتری برای کاهش اهمیت مستقیم این جهش در بروز بیماری فراهم می‌کند. احتمالاً این واریانت تأثیر قابل‌توجهی بر عملکرد پروتئین SH3TC2 نداشته و بیشتر به عنوان یک واریانت بی‌اثر یا با اثر خفیف در نظر گرفته می‌شود. برای بررسی دقیق‌تر نقش این جهش، مطالعات عملکردی بیشتر و تحلیل‌های ژنتیکی در جمعیت‌های گسترده‌تر مورد نیاز است. نتایج ما نشان داد که نقش ژن TTN در این خانواده کلیدی‌تر از SH3TC2 است. الگوی ژنوتیپی نشان داد که جهش TTN از مادر به فرزندان منتقل شده و الگوی وراثتی اتوزومال غالب (AD) را نشان می‌دهد. این یافته با مطالعاتی که نشان می‌دهد جهش‌های TTN می‌توانند به صورت غالب منتقل شوند و منجر به بیماری‌های عصبی-عضلانی شوند، همخوانی دارد (۲۶، ۲۵). در مقابل، جهش SH3TC2 که تنها در فرد پروباند از خانواده وجود داشت، نشان‌دهنده نقش محدودتر این ژن در بیماری است و احتمالاً به عنوان یک تعدیل‌کننده یا عامل خطر کم‌اثر در نظر گرفته شود. مطالعه حاضر همچنین نشان داد که ترکیب روش‌های توالی‌یابی کل اگزوم و تحلیل‌های بیوانفورماتیک ابزار قدرتمندی برای شناسایی عوامل ژنتیکی بیماری‌های نادر و خانوادگی است. کیفیت بالای داده‌های توالی‌یابی سنگر، صحت نتایج به‌دست‌آمده را تضمین کرد و اعتبار علمی یافته‌ها را افزایش داد. این نتایج با مطالعات پیشین مقایسه شدند. در حالی که جهش‌های TTN اغلب با بیماری‌های عضلانی مرتبط شده‌اند، شواهد جدید نشان می‌دهد که این جهش‌ها ممکن است در بیماری‌های عصبی-عضلانی نیز نقش داشته باشند (۲۷). از سوی دیگر، ارتباط جهش‌های SH3TC2 با بیماری‌های عصبی محیطی مانند شارکوت ماری توت شناخته شده است، اما نقش آن در بیماری‌های حرکتی و عصبی مرکزی کمتر بررسی شده است. این یافته‌ها نیازمند بررسی‌های عملکردی بیشتر و انجام مطالعات مشابه در خانواده‌های دیگر هستند تا نقش قطعی این ژن‌ها در بیماری‌های عصبی روشن شود. نتایج این مطالعه که با استفاده از توالی‌یابی کل اگزوم (WES) به شناسایی دو ژن TTN و SH3TC2 به عنوان کاندیدهای مرتبط با ترمور در یک خانواده ایرانی انجام شد، با یافته‌های مطالعات پیشین در چندین جنبه هم‌خوانی دارد و در عین حال نکات جدیدی را مطرح می‌کند. استفاده از روش‌های پیشرفته توالی‌یابی و تحلیل‌های بیوانفورماتیک، مشابه مطالعاتی نظیر تحقیق چلبان و همکاران (۲۰۲۴) و سالمی و همکاران (۲۰۲۳)، تأکید بر قدرت این ابزارها در شناسایی جهش‌های ژنتیکی نادر دارد. در مطالعه حاضر، جهش در ژن TTN به صورت هتروزیگوت با الگوی وراثتی اتوزومال غالب شناسایی شد که با نتایج تحقیقاتی مانند کابلان و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت دارد و نقش این ژن را در بیماری‌های عصبی-عضلانی تقویت می‌کند. همچنین، تحلیل‌های بیوانفورماتیک تأثیر بالقوه این جهش را بر عملکرد پروتئین تأیید کرد، همان‌گونه که در مطالعه جیالوبیزی و همکاران (۲۰۲۳) نیز تأکید شده است. در مقابل، جهش ژن SH3TC2 در این مطالعه، برخلاف نتایج مطالعاتی مانند سودیاب و همکاران (۲۰۲۲)، ارتباط قوی با بروز بیماری نشان نداد و نقش کم‌رنگ‌تری داشت که نیازمند بررسی‌های عملکردی بیشتر است. تمرکز این پژوهش بر جمعیت ایرانی، مشابه با مطالعه سیدتقی و همکاران (۲۰۲۳)، بر اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های خاورمیانه‌ای تأکید دارد. برخلاف بسیاری از مطالعاتی که بر ژن‌های شناخته شده مانند LRRK2 و GBA تمرکز داشتند، این پژوهش ژن‌های کمتر شناخته شده TTN و SH3TC2 را بررسی کرده و نقش احتمالی آن‌ها در ترمور را معرفی کرده است. این نتایج نشان

13. Wichmann T, DeLong MR, Guridi J, Obeso JAJMD. Milestones in research on the pathophysiology of Parkinson's disease. 2011;26(6): 1032-41.
14. Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, Van Broeckhoven CJHm. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update. 2010;31(7): 763-80.
15. Lim S-Y, Tan AH, Ahmad-Annuar A, Okubadejo NU, Lohmann K, Morris HR, et al. Uncovering the genetic basis of Parkinson's disease globally: from discoveries to the clinic. 2024;23(12): 1267-80.
16. Tonino P, Kiss B, Strom J, Methawasin M, Smith III JE, Kolb J, et al. The giant protein titin regulates the length of the striated muscle thick filament. 2017;8(1): 1041.
17. Granzier HL, Labeit SJC. The giant protein titin: a major player in myocardial mechanics, signaling, and disease. 2004;94(3): 284-95.
18. Chauveau C, Bonnemant CG, Julien C, Kho AL, Marks H, Talim B, et al. Recessive *TTN* truncating mutations define novel forms of core myopathy with heart disease. 2014;23(4): 980-91.
19. Linke WAJjob. Stretching the story of titin and muscle function. 2023;152: 111553.
20. Savarese M, Sarparanta J, Vihola A, Udd B, Hackman PJJond. Increasing role of titin mutations in neuromuscular disorders. 2016;3(3): 293-308.
21. Rees M, Nikoopour R, Fukuzawa A, Kho AL, Fernandez-Garcia MA, Wraige E, et al. Making sense of missense variants in *TTN*-related congenital myopathies. 2021;141: 431-53.
22. Stendel C, Roos A, Kleine H, Arnaud E, Özçelik M, Sidiropoulos PN, et al. *SH3TC2*, a protein mutant in Charcot-Marie-Tooth neuropathy, links peripheral nerve myelination to endosomal recycling. 2010;133(8): 2462-74.
23. Shchagina O, Orlova M, Murtazina A, Filatova A, Skoblov M, Dadali EJJoMS. Evaluation of pathogenicity and causativity of variants in the MPZ and *SH3TC2* genes in a family case of hereditary peripheral neuropathy. 2023;24(12): 9786.
24. Arnaud E, Zenker J, de Preux Charles A-S, Stendel C, Roos A, Médard J-J, et al. *SH3TC2*/KIAA1985 protein is required for proper myelination and the integrity of the node of Ranvier in the peripheral nervous system. 2009;106(41): 17528-33.
25. Ohlsson M, Hedberg C, Brådvik B, Lindberg C, Tajsharghi H, Danielsson O, et al. Hereditary myopathy with early respiratory failure associated with a mutation in A-band titin. 2012;135(6): 1682-94.
26. Pfeffer G, Elliott HR, Griffin H, Barresi R, Miller J, Marsh J, et al. Titin mutation segregates with hereditary myopathy with early respiratory failure. 2012;135(6): 1695-713.
27. Chauveau C, Rowell J, Ferreira AJHm. A rising titan: *TTN* review and mutation update. 2014;35(9): 1046-59.
28. Wolfgang A Linke. J Biomech. 2023 May.

کرد، بلکه بر نیاز به توسعه پنل‌های تشخیصی و درمانی مبتنی بر ویژگی‌های ژنتیکی خاص در جمعیت‌های ایرانی تأکید دارد. در نهایت، این پژوهش گامی مهم در جهت روشن‌سازی نقش عوامل ژنتیکی ناشناخته و بهبود تشخیص و مدیریت بیماری‌های عصبی-حرکتی به شمار می‌رود. پیشنهاد میشود، بررسی سایر اعضای خانواده: توالی‌یابی کل اگزوم (WES) برای سایر اعضای خانواده که تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته‌اند، انجام شود تا الگوی وراثتی و نقش دقیق جهش ژن *TTN* تأیید گردد.

مراجع

1. Jiang H-S, Wang D-M, Wang Q, Yang M, Wang W, Pan S-Y, et al. Missense mutation R1345Q in *CACNA1A* gene causes a new type of ataxia with episodic tremor: clinical features, genetic analysis and treatment in a familial case. 2016;36(7): 883-6.
2. Welton T, Cardoso F, Carr JA, Chan L-L, Deuschl G, Jankovic J, et al. Essential tremor. 2021;7(1): 83.
3. Siokas V, Aloizou A-M, Tsouris Z, Liampas I, Aslanidou P, Dastamani M, et al. Genetic risk factors for essential tremor: a review. 2020;10.
4. Cilia R, Bonvegna S, Straccia G, Andreasi NG, Elia AE, Romito LM, et al. Effects of COVID-19 on Parkinson's disease clinical features: a community-based case-control study. 2020;35(8): 1287-92.
5. Váradi CJB. Clinical features of Parkinson's disease: the evolution of critical symptoms. 2020;9(5): 103.
6. Eichel Hv, Heine J, Wegner F, Rogozinski S, Stiel S, Groh A, et al. Neuropsychiatric symptoms in Parkinson's disease patients are associated with reduced health-related quality of life and increased caregiver burden. 2022;12(1): 89.
7. Aarsland D, Batzu L, Halliday GM, Geurtsen GJ, Ballard C, Ray Chaudhuri K, et al. Parkinson disease-associated cognitive impairment. 2021;7(1): 1-21.
8. Carmichael K, Evans RC, Lopez E, Sun L, Kumar M, Ding J, et al. Function and regulation of *ALDH1A1*-positive nigrostriatal dopaminergic neurons in motor control and Parkinson's disease. 2021;15: 644776.
9. Kline EM, Houser MC, Herrick MK, Seibler P, Klein C, West A, et al. Genetic and Environmental Factors in P arkinson's Disease Converge on Immune Function and Inflammation. 2021;36(1): 25-36.
10. Silva ABRL, de Oliveira RWG, Diógenes GP, de Castro Aguiar MF, Sallem CC, Lima MPP, et al. Premotor, nonmotor and motor symptoms of Parkinson's disease: a new clinical state of the art. 2023;84: 101834.
11. Maitra U, Harding T, Liang Q, Ciesla LJCB. GardeninA confers neuroprotection against environmental toxin in a *Drosophila* model of Parkinson's disease. 2021;4(1): 162.
12. Cherian A, Divya KJANB. Genetics of Parkinson's disease. 2020: 1-9.