



انستیتو آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی

## کشف ژنی بیماری ایدیوپاتیک ترومبوآنژییتیس انسدادی (بیماری برگر)

### شناسنامه طرح

4020233	کد رهگیری طرح
	تاریخ تصویب پیش پروپوزال
کشف ژنی بیماری ایدیوپاتیک ترومبوآنژییتیس انسدادی (بیماری برگر)	عنوان طرح
(Gene discovery of idiopathic ThromboAngiitis Obliterans (Buerger disease	عنوان لاتین طرح
09121186474	تلفن
tabatabaei.zoha@gmail.com	پست الکترونیکی
مقطعی-Cross-sectional	نوع مطالعه
1402/08/01	تاریخ شروع
1404/08/01	تاریخ خاتمه
خیر	آیا طرح چند مرکزی است؟
	مرکز/مراکز دیگر
	نام سازمان تصویب کننده اولیه پروپوزال
	محل اجرای طرح
بیمارستان قلب شهید رجایی	محل اجرای طرح
بیمارستان قلب شهید رجایی	سازمان مجری
	سازمان مجری
Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences	دانشکده/محل خدمت
پزشکی مولکولی	رشته تخصصی
	توضیحات
	نوع طرح ها

### مجری همکاران

نام و نام خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	توضیحات
سیده ضحی طباطبایی	مجری اصلی / نویسنده مقاله	بررسی ژنتیک	
سارا حسینی زواره	مجری اصلی / نویسنده مقاله	ارزیابی بالینی بیماران	

## مجری همکاران

نام و نام خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	توضیحات
مجید ملکی	مجری و نویسنده مقاله	طراحی و تدوین طرح	
مهشید ملکوتیان	همکار طرح و نویسنده مقاله	مشاور	
پرهام صادقی پور	همکار طرح و نویسنده مقاله	ارزیابی بالینی بیماران	
نوشین اشرفی	همکار طرح	بررسی آزمایشگاهی	
مریم پوری رحیم	همکار طرح	بررسی آزمایشگاهی	
بهرام محبی	همکار طرح	مشاور	

## دانشده/مرکز مربوطه

رده	نوع ارتباط با مرکز
مرکز تحقیقات کاردیوژنتیک	وارد کننده

## اطلاعات تفصیلی

آیتم ها	متن
بیان مسئله	<p>بیماری برگر [1] یا ترومبوآنژییتیس انسدادی [2] (TAO) یک بیماری التهابی سگمنتال غیر نکروزانت و غیر آترواسکروتنیک است که در غالب موارد منجر به انسداد شریان‌های با قطر کوچک تا متوسط اندام‌های فوقانی و تحتانی همراه است. بر اساس پایگاه داده ی Orphanet که مختص بیماری های نادر است، ترومبوآنژییتیس جزء بیماری‌های نادر [3] محسوب می شود. با آن که TAO در دسته بیماری های نادر طبقه بندی می شود، اما مدیریت بیماری غیرقابل کنترل و مهار ناپذیر است. پیش روندگی بیماری به گونه است که حتی در سنین جوانی، ترومبوز شریانی منتج به زخم شریانی یا قانقاریا شده و می تواند منجر به قطع عضو و حتی مرگ بیمار شود.</p> <p>معیارهای تشخیص بیماری براساس شیونویا [4] عبارتند از (1) سابقه استعمال دخانیات (2) سن ابتلای کمتر از 50 سال (3) انسداد شریانی ناحیه اینفرایوپلیتئال [5] (4) ناحیه انتهایی دست یا پا التهاب سیاهرگی (5) وجود تنها ریسک فاکتور استفاده از تنباکو در انسداد شریانی [6].</p> <p>فراوانی ترومبوآنژییتیس در سطح جهان و کشور های مختلف یکسان نیست. شیوع بیماری در اروپای غربی (5/5-6/5 درصد)، ژاپن و کره (66-16 درصد) و هند (63-45 درصد) می باشد (1). سن ابتلا به TAO از 20 تا 50 سال گزارش شده است (2, 3). نرخ ابتلای آقایان نسبت به خانمها با نسبت (3:1) است (4). با آن که اغلب مطالعات روی آقایان انجام شده است، اما خانم باردار 22 ساله مبتلا به بیماری ترومبوآنژییتیس نیز گزارش شده است (5). با توجه به مطالعه‌ی محلی صورت گرفته در خراسان رضوی کشور ایران، نرخ بیماری 3 نفر از هر 100 هزار نفر در شمال شرق ایران گزارش شده است (6).</p> <p>روش درمانی که برای این بیماران اتخاذ شده بدین صورت است که الف- از آنجا که پیشرفت و پیش آگهی بیماری با استعمال تنباکو مرتبط است و سیگار کشیدن ارتباط نزدیکی با ظهور و عود بیماری داشته است (7, 8)، بنابراین پرهیز از سیگار برای پیشگیری از شروع و پیشرفت بیماری پیشنهاد می‌شود (9). ب- رویکرد درمانی آنژیوپلاستی به دنبال روش تشخیصی آنژیوگرافی و داپلر، از راهکارهای دیگر درمانی است و مشاهده شده است حتی بعد از تعبیه کاتتر، انسداد مجدد عروق رخ می‌دهد.</p> <p>شدت بروز فنوتیپ بیماری به 5 دسته تقسیم می‌شود.</p> <p>درجه [7]: 1: احساس سردی، بی‌حسی و تغییر رنگ در اندام دست یا پا که فعالیت روزانه بدون مشکل قابل انجام است.</p>

درجه 2: بیماری با شکایات درجه 1 که درد عضلانی در هنگام استراحت که به صورت معنادار فعالیت روزانه را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد.

درجه 3: بیمار با شکایات درجه 1 و 2 که همراه با زخم/قانعاریا و درد عضلانی شدید که فعالیت روزانه و اجتماعی را تحت تاثیر قرار می‌دهد و گاهی نیاز به جراحی است.

درجه 4: بیمار به دلیل درد شدید عضلانی و زخم/قانعاریا قادر به انجام فعالیت روزانه و اجتماعی نیست. این دسته از بیماران نیاز به بستری دارند.

درجه 5: بیمار با درد طاقت فرسا و زخم/قانعاریای شدید است که منجر به قطع عضو می‌شود.

بیماری ترومبوآنژیوتیس انسدادی، یک بیماری ایدیوپاتیک است که تاکنون علت شناخته شده مشخصی برای آن ذکر نشده است. فاکتور خطر ابتلا به این بیماری، از گذشته تاکنون، مصرف تنباکو و ایجاد پاسخ های التهابی سیستم ایمنی بدن بیان شده است اما مکانیسم دقیق اثر این علت، هنوز نامشخص می‌باشد.

در پایگاه‌های داده مرجع [8] OMIM و Orphanet و Malacards علت ژنی شناخته شده در ارتباط با فنوتیپ بیماری ترومبوآنژیوتیس ذکر نشده است. از آنجاکه در مطالعات متفاوت، الف- تکرار بیماری در یک خانواده و ب- سن پایین ابتلا [9] به این بیماری مشاهده شده است، انتظار می‌رود که بروز این بیماری منشا ژنتیکی داشته که حتی با مصرف تنباکو و یا در معرض قرار گرفتن دود آن [10]، به عنوان ژن‌های مستعد کننده [11] ابتلا به بیماری، عمل کند. بدین منظور، امروزه رویکردهای متفاوت کشف ژن-بیماری در بیماری‌های نادر وجود دارد. بررسی پنل‌های ژنتیکی، ریزآرایه‌ها و توالی‌یابی اگزوم روش‌های پیشنهادی ثابت شده به منظور کشف ژنی مرتبط با بیماری است. توالی‌یابی اگزومی نسبت به سایر روش‌های تشخیصی، با دقت و کارایی بالاتر، در یافتن علت ژنتیکی بسیاری از بیماری‌های ایدیوپاتیک مفید بوده است.

براساس گزارشات جهانی، بیماری ترومبوآنژیوتیس با نرخ ابتلای پایین و نادر گزارش شده است، اما براساس مشاهدات مرکز قلب شهید رجایی، میزان مراجعه بیماران مبتلا به ترومبوآنژیوتیس، به ندرت نیست و مقداری چشمگیر دارد که این امر تاکید بر ارزشمندی و ضرورت اجرای طرح دارد.

از آنجا که الف- بیماری ترومبوآنژیوتیس، جزء بیماری‌های نادر است اما تعداد افراد مبتلا به TAO در مرکز قلب و عروق شهید رجایی چشمگیر است ب- علت ایجاد بیماری هنوز ناشناخته است، ج- علت ژنتیکی محرز برای آن معرفی نشده است، د- وجود بیش از یک فرد مبتلا در خانواده دیده است و سن ابتلا به بیماری پایین است، که انتظار می‌رود دارای علت ژنتیکی باشد، ه- برای یافتن علت ژنتیکی بیماری، توالی‌یابی اگزومی بهترین گزینه است، ز- آنالیز نتایج حاصل از توالی‌یابی اگزومی دارای استراتژی مختص کشف ژن-بیماری در بیماری‌های نادر است، بنابراین ما برآن شدیم به منظور یافتن علت ژنتیکی ایجاد بیماری نادر و ایدیوپاتیک ترومبوآنژیوتیس، با استفاده از توالی‌یابی اگزوم، کشف ژنی [12] و ارتباط ژن-بیماری [13] را دریابیم.

Buerger Disease [1]

Thromboangiitis Obliterans [2]

Rare Disease [3]

Shionoya's Clinical Diagnostic Criteria [4]

Infrapopliteal [5]

Atherosclerosis [6]

Grade [7]

Online Mendelian Inheritance in Man [8]

<p>Early Onset [9]</p> <p>Passive smoker [10]</p> <p>Predisposing Gene [11]</p> <p>Gene Discovery [12]</p> <p>Gene-Disease [13]</p>	
<p>Buerger Disease [1]</p> <p>Thromboangiitis Obliterans [2]</p> <p>Rare Disease [3]</p> <p>Male-to-female ratio [4]</p> <p>Early Onset [5]</p> <p>Passive smoker [6]</p> <p>Predisposing Gene [7]</p> <p>Gene Discovery [8]</p> <p>Gene-Disease [9]</p>	<p><b>ضرورت اجرا</b></p> <p>بیماری برگر [1] یا ترومبوآنژییتیس انسدادی [2] یک بیماری التهابی سگمنتال غیر نکروزانت و غیر آترواسکروتیک است که در غالب موارد منجر به انسداد شریان‌های با قطر کوچک تا متوسط اندام‌های فوقانی و تحتانی می‌شود. پیش روندگی بیماری به گونه است که ترومبوز شریانی منتج به زخم شریانی یا قانقاریا شده و منتهی به قطع عضو و حتی مرگ بیمار می‌گردد. ترومبوآنژییتیس انسدادی جزء بیماری‌های نادر [3] محسوب شده و اپیدمیولوژی آن به گونه ای است که فراوانی آن در سطح جهان یکسان نیست. نرخ ابتلای آقایان نسبت به خانم‌ها [4] با نسبت (3:1) بوده و از سن 20 تا 50 سال است. با آنکه براساس گزارشات جهانی، بیماری ترومبوآنژییتیس با نرخ ابتلای پایین و نادر گزارش شده است، اما براساس مشاهدات مرکز قلب و عروق شهید رجایی، میزان مراجعه بیماران مبتلا به ترومبوآنژییتیس ، به ندرت نیست و مقداری چشمگیر دارد که این امر تاکید بر ارزشمندی و ضرورت اجرای طرح دارد.</p> <p>ترومبوآنژییتیس انسدادی، یک بیماری ایدیوپاتیک است که تاکنون علت شناخته شده مشخصی برای آن ذکر نشده است. فاکتور خطر ابتلا به این بیماری، از گذشته تاکنون، مصرف تنباکو و ایجاد پاسخ های التهابی سیستم ایمنی بدن بیان شده است، اما مکانیسم دقیق اثر این علت، هنوز نامشخص می‌باشد. در پایگاه‌های داده مرجع، علت ژنی شناخته شده در ارتباط با فنوتیپ بیماری ترومبوآنژییتیس ذکر نشده است. از آنجاکه در مطالعات متفاوت، تکرار بیماری در یک خانواده و سن پایین ابتلا [5] به این بیماری مشاهده شده است، انتظار می‌رود که بروز این بیماری منشا ژنتیکی داشته که حتی با مصرف تنباکو و یا در معرض قرارگرفتن دود آن [6]، به عنوان ژن‌های مستعد کننده [7] ابتلا به بیماری، عمل کند. امروزه رویکردهای متفاوت کشف ژن-بیماری در بیماری‌های نادر وجود دارد. بررسی پنل‌های ژنتیکی، ریزآرایه‌ها و توالی‌یابی اگزوم روش‌های پیشنهادی ثابت شده به منظور کشف ژنی مرتبط با بیماری است. توالی‌یابی اگزومی نسبت به سایر روش‌های تشخیصی، با دقت و کارایی بالاتر، در یافتن علت ژنتیکی بسیاری از بیماری‌های ایدیوپاتیک مفید بوده است.</p> <p>بنابراین، ما برآن شدیم که به منظور یافتن علت ژنتیکی ایجاد بیماری نادر و ایدیوپاتیک ترومبوآنژییتیس، با استفاده از توالی‌یابی اگزوم، کشف ژنی [8] و ارتباط ژن-بیماری [9] را دریابیم تا بتوان مدیریت درمانی بهتری را پیشنهاد داد.</p>

پژوهش‌های در حوزه ترومبوآنژییتیس از سال 1911 تا 2023 صورت گرفته است و بالغ بر سه هزار مقاله در پایگاه داده PUBMED در اختیار کاربر قرار گرفته است. که در ادامه به برخی از مطالعات برجسته ی مرتبط با حوزه این طرح پژوهشی پرداخته می‌شود.

مطالعه ای در سال 2016 توسط Zhen-Feng Shi و همکاران انجام پذیرفت. در این مطالعه که با رویکرد GWAS[1] در 177 بیمار مبتلا به ترومبوآنژییتیس کشور چین انجام شد، سه عدد واریانت ژنی در دو ژن SEMA5B و IL-17RC گزارش شد که به عنوان عوامل مستعد کننده ی ایجاد TAO پیشنهاد شد.(10).

در مطالعه ای که توسط Zhiyong Chen و همکاران در سال 2011 روی 131 بیمار ژاپنی مبتلا به TAO و 90 بیمار مبتلا به TA جمعیت ژاپنی، به منظور افتراق بیماری ترومبوآنژییتیس و تاکاپاسو انجام شد. یک واریانت در ناحیه ی 3' ژن MyD88 مسبب بیماری تاکاپاسو گزارش شد که در بیماران TAO ایفای نقش متمایز نمی‌کند(11).

در مطالعه مروری که در سال 2021 توسط متخصصین ایمنی شناسی کشور ایتالیا نوشته شد، سایتوکاین‌های پیش التهابی متفاوت در بیماری ترومبوآنژییتیس گرد آوری شده است که هیچ کدام از آن ها اختصاصی تشخیص افتراقی TAO نمی‌باشند. این موارد شامل سیتوکین های ایمنی پیش التهابی و سلولی، HMGB1، IL-33، TNF- $\alpha$ ، MMPs، ICAM1، اجزای مکمل، فیبرینوژن، استرس اکسیداتیو، سطوح NO، پلی مورفیسیم eNOS، آدرنالین و نورآدرنالین، سرب، کادمیوم می‌باشد(12).

از آنجا که بیماران مبتلا به ترومبوآنژییتیس در استان خراسان مشاهده شده است، یک مطالعه در سال 2019 توسط گروه ایمنی شناسی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. این مطالعه با بررسی 55 بیمار ایرانی مبتلا به TAO و 500 فرد سالم در بیمارستان امام رضا مشهد صورت گرفت که در آن انواع محدودی از HLA بررسی شد و اولین مطالعه ای است که به بررسی بیماران مبتلا به TAO در جمعیت ایرانی می‌پردازد(6).

همچنین حدس زده می‌شود که باکتری‌های مولد عفونت دهانی[2] (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*) در افراد یا مصرف بالای سیگار، موجب افزایش شدت ابتلا به این بیماری می‌شود(13)، (14).

در مطالعات متفاوت، وجود پرپروتئینیت[3] یا باکتری های دهانی را ابتلا به بیماری ترومبوآنژییتیس مرتبط دانستند اما مکانیسم بیماری‌زایی آن مشخص نشده است. بر همین اساس، در مطالعه ای که روی 19 بیمار مبتلا به TAO در کشور ژاپن در سال 2009 صورت گرفت، ارتباط معنادار عفونت دهانی با شدت ابتلای بیماران گزارش داده شد(15).

در مطالعه ای که در سال 2020 توسط گروه جراحی عروق دانشگاه علوم پزشکی مشهد روی 80 مرد مبتلا به ترومبوآنژییتیس انجام شد، فاکتورهای ایمونوگلوبین (Ig A,M,E,G) و سایر فاکتورهای ایمونولوژیک در شدت های مختلف بیماری مورد ارزیابی قرار گرفت(16).

سابقه طرح و بررسی انواع متون در رابطه با مطالعات ترومبوآنژییتیس به منظور درک بهتر، در جدول زیر بیان شده است.

براساس مطالعات صورت گرفته تاکنون، علت ژنتیکی مشخصی برای بیماری گزارش نشده است. بنابراین نیاز است تا مطالعه ای طراحی گردد که منجر به معرفی ژن‌های مسبب بیماری شده و بتوان راهکار درمانی متناسب با آن اتخاذ کرد.

Genome Wide Association Study [1]

- Le Joncour A, Soudet S, Dupont A, Espitia O, Koskas F, Cluzel P, et al. Long-term outcome and prognostic factors of complications in thromboangiitis obliterans (Buerger's disease): a multicenter study of 224 patients. *Journal of the American Heart Association*. 2018;7(23):e010677 .1
- Igari K, Inoue Y, Iwai T. The epidemiologic and clinical findings of patients with Buerger disease. *Annals of Vascular Surgery*. 2016;30:263-9 .2
- Ohta T, Shionoya S. Fate of the ischaemic limb in Buerger's disease. *Journal of British Surgery*. 1988;75(3):259-62 .3
- Olin J, Young J, Graor R, Ruschhaupt W, Bartholomew J. The changing clinical spectrum of thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *Circulation*. 1990;82(5 Suppl):IV3-8 .4
- Karena ZV, Mehta AD, Rao R, Gowda N, Gadhia VA, Gadhia V. An Unusual Case of Buerger's Disease in a Pregnant Female. *Cureus*. 2022;14(8) .5
- Shapouri-Moghaddam A, Mohammadi M, Rahimi HR, Esmaeili H, Mahmoudi M, Modaghegh M-HS, et al. The Association of HLA-A, B and DRB1 with Buerger's Disease. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*. 2019;8(2):153 .6
- Klein-Weigel PF, Richter JG. Thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *VASA Zeitschrift für Gefasskrankheiten*. 2014;43(5):337-46 .7
- Fazeli B, Mirhosseini A, Hashemi Z, Taheri H. Detection of Rickettsia Endosymbiont Bemisia Tabaci in the amputated limbs of three Buerger's disease patients. *International Medical Case Reports Journal*. 2020;13:33 .8
- Patwa JJ, Krishnan A. Buerger's disease (thromboangiitis obliterans)-Management by Ilizarov's technique of horizontal distraction. A retrospective study of 60 cases. *Indian Journal of Surgery*. 2011;73(1):40-7 .9
- Shi Z-F, Fang Q-B, Limu S, Jiareke T, Ge X-H. Association between three SNPs and thromboangiitis obliterans in Xinjiang Uyghur Population. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2016;20(2):55-62 .10
- Chen Z, Nakajima T, Inoue Y, Kudo T, Jibiki M, Iwai T, et al. A single nucleotide polymorphism in the 3'-untranslated region of MyD88 gene is associated with Buerger disease but not with Takayasu arteritis in Japanese. *Journal of human genetics*. 2011;56(7):545-7 .11
- Fazeli B, Ligi D, Keramat S, Maniscalco R, Sharebiani H, Mannello F. Recent updates and advances in Winiwarer-Buerger disease (thromboangiitis obliterans): biomolecular mechanisms, diagnostics and clinical consequences. *Diagnostics*. 2021;11(10):1736 .12
- Iwai T, Inoue Y, Umeda M, Huang Y, Kurihara N, Koike M, et al. Oral bacteria in the occluded arteries of patients with Buerger disease. *Journal of vascular surgery*. 2005;42(1):107-15 .13
- Chen Y-W, Iwai T, Umeda M, Nagasawa T, Huang Y, Takeuchi Y, et al. Elevated IgG titers to periodontal pathogens related to Buerger disease. *International journal of cardiology*. 2007;122(1):79-81 .14

<p>Chen YW, Nagasawa T, Wara-Aswapati N, Ushida Y, Wang D, Takeuchi Y, et al. Association . 15 between periodontitis and anti-cardiolipin antibodies in Buerger disease. Journal of clinical .periodontology. 2009;36(10):830-5</p> <p>Ehteshamfar SM, Afshari JT, Modaghegh M-HS, Mahmoudi M, Kazemzadeh GH, Kermani . 16 .FS. Humoral and cellular immune response to Buerger's disease. Vascular. 2020;28(4):457-64</p>	
<p style="text-align: right;"><b>اهداف (خروجی ها) اصلی طرح 8 :</b></p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> <p>کشف ژنی بیماری ایدیوپاتیک ترومبوآنژییتیس انسدادی (بیماری برگر)</p> </div> <p style="text-align: right;"><b>اهداف (خروجی ها) اختصاصی طرح 9 :</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. تعیین ژن و واریانت‌های دخیل در بیماران مبتلا به بیماری ترومبوآنژییتیس با طرح توارث مختلف در هر خانواده</li> <li>2. ارزیابی ریسک و تشخیص بیماری در دیگر اعضای خانواده برای واریانت‌های ژنی یافت شده</li> <li>3. طراحی پنل ژنتیکی بیماری ترومبوآنژییتیس</li> </ol> <p style="text-align: right;"><b>اهداف کاربردی طرح 10 :</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. مطالعه پایلوت به عنوان یک الگو برای اجرای طرح‌های کلان منطقه ای و ملی به منظور ارزیابی و غربالگری ژنتیکی بیماری ترومبوآنژییتیس در جمعیت ایران</li> <li>2. کمک به متخصصین ژنتیک جهت ارائه مشاوره با دقت و صحت هرچه بیشتر به خانواده های درگیر در جامعه</li> <li>3. کمک به متخصصین قلب و عروق جهت ارائه اقدامات درمانی مناسب و پیشگیرانه</li> </ol>	<p><b>اهداف: هدف اصلی، اهداف اختصاصی، هدف کاربردی</b></p>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. علت ژنتیکی (شامل ژن و نوع جهش ها) مسبب بیماری ترومبوآنژییتیس چیست؟</li> <li>2. ارتباط میان ژنوتیپ های شناسایی شده با فنوتیپ بیماری ترومبوآنژییتیس این مطالعه به چه صورت است؟</li> <li>3. مکانیسم‌های اثر ژن‌های دخیل در این بیماری چیست؟</li> <li>4. مسیرهای پیام‌رسانی دخیل در این بیماری چیست؟</li> <li>5. براساس یافته‌های حاصل از این طرح، آیا می‌توان مداخله مناسب برای درمان بیماری طراحی کرد؟</li> </ol>	<p><b>فرضیات یا سوالات پژوهشی</b></p>
<p>از طریق پرونده بیمار و یا مصاحبه / مشاوره با بیمار اطلاعات آن ثبت خواهد شد.</p> <p>اطلاعات ژنتیکی حاصل از فرایند توالی یابی اگزومی که با نمونه DNA مستخرج از خون محیطی بیماران است.</p> <p>اطلاعات حاصل از ارزیابی بیوانفورماتیکی و تحلیل داده‌های زیستی</p> <p>اطلاعات حاصل از مراحل اعتبارسنجی با استفاده از توالی‌یابی سنگر</p>	<p><b>مشخصات ابزار جمع آوری اطلاعات و نحوه جمع آوری آن</b></p>
<p>پس از دریافت کد مصوبه کمیته اخلاق، فرایند اجرای طرح آغاز می‌شود. بیماران جوان مستعمل سیگار که با شکایت</p>	<p><b>روش اجرا</b></p>

زخم در اندام دست یا پا، به مرکز قلب شهید رجایی مراجعه میکنند، شرح حال گرفته می‌شود و تشخیص افتراقی که عدم ابتلا به دیابت، محرز شود و ابتلا به بیماری ترومبوآنژیوتیس، تأیید می‌شود. طبق روش روتین درمانی، به طور مثال اگر محل زخم در اندام تحتانی باشد، نیض یا، سنجیده می‌شود، در صورتی که نیضی حس نشد، تست داپلر از آنها گرفته می‌شود تا محل درگیری رگ‌ها مشخص شود. سپس تست آنژیوگرافی از آنها گرفته می‌شود و تحت آنژیوپلاستی قرار می‌گیرند تا انسداد عروقی برطرف شود. لازم به ذکر است که معیارهای پاتولوژیک و تصویربرداری بیماران، در پرونده، ثبت خواهد شد. سپس با ارجاع به پزشک متخصص ژنتیک، مشاوره ژنتیکی و ارزیابی سابقه خانوادگی این بیماری و همچنین سایر بیماری‌های موجود در خانواده، بررسی شده و شجره آنها رسم خواهد شد.

پس از دریافت رضایت نامه آگاهانه از تمام بیماران مبتلا به ترومبوآنژیوتیس و اعضای خانواده آنها، DNA حاصل از نمونه خون محیطی آن جمع‌آوری می‌شود و برای توالی‌یابی اگزوم ارسال می‌گردد.

داده خام حاصل از توالی‌یابی اگزوم آنالیز بیوانفورماتیکی می‌شود. در این مرحله، از آنجا که تا کنون پنل ژنی یا ژن شناخته شده در ارتباط با این بیماری وجود ندارد، استراتژی آنالیزی مختص یافتن ژن-بیماری [1] در بیماری‌های نادر همه بیماران همزمان با هم استفاده می‌شود.

اطلاعات فنوتیپی بیماران بر اساس شدت بیماری و سایر داده‌های کلینیکی مانند سن، خوشه‌بندی [2] می‌شود. در ادامه، با روش‌های متفاوت خوشه‌بندی، ابتدا اولویت با واریانت‌های متفاوت روی یک ژن است. سپس براساس ژن‌های مشترک دخیل در مسیرهای مختلف پیام‌رسانی سلولی بررسی می‌شود. در ادامه، براساس ژن‌های مشترک در خوشه‌بندی فنوتیپی یکسان، بررسی خواهند شد. براساس مجموعه فرایند بررسی که گفته شد، ژن‌های کاندید مسبب بیماری انتخاب می‌شوند. سپس با استفاده از توالی‌یابی سنگر که معیار اصلی [3] توالی‌یابی است، در نهایت، در مرحله ارزیابی الگوی بیانی ژن‌ها، پروفایل بیانی ژن‌های کاندید براساس مراحل تکوینی، به سه دسته Early embryonic، fetal و post-natal طبقه‌بندی شده تا شناخت بیشتری از مکانیسم بیان ژن‌های کاندید استخراج شود.

سپس ژن‌های کاندید مسبب بیماری، براساس عملکرد بیولوژیک و مکانیسم‌های سلولی و مولکولی در آنها بررسی می‌شوند. در ادامه شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین [4]، رسم و تفسیر می‌شود.

در فاز دیگر آنالیز داده‌های خام حاصل از توالی‌یابی اگزوم، روش غربالگری سیستماتیک روی تنوع تکرارکپی های [5] ژنتیکی انجام می‌شود و تمامی مراحل مذکور که در بالا شرح داده شد، بر اساس CNV های موجود در ژن‌های کاندید، تکرار خواهد شد.

مجموعه نتایج حاصل از مراحل فوق، با استفاده از توالی‌یابی سنگر، ژن‌ها و واریانت‌های ژنی کاندید محتمل مسبب بیماری، در اعضای خانواده بیماران بررسی می‌شود.

سپس ژن‌ها و واریانت‌های ژنی کاندید محتمل مسبب بیماری در جمعیت بررسی شده تا بررسی شود تا چه میزان یافته‌های حاصل، به جمعیت قابل تعمیم باشد.

Gene-Disease [1]

Phenotype Clustering [2]

Gold standard [3]

Protein-protein interaction network [4]

Copy Number Variation [5]

روش محاسبه حجم نمونه و تعداد آن

جمعیت مورد مطالعه در این طرح، در 3 فاز مجزا جمع‌آوری و ارزیابی می‌شوند.

فاز اول: روش محاسبه حجم و تعداد نمونه در این طرح براساس مطالعات مشابه جهانی که به منظور کشف ژن-بیماری



<p>در بیماری‌های نادر با تکنیک توالی‌یابی اگزوم انجام گرفته و منتج به یافته‌های ارزشمند منجر به شناخت عامل ژنتیکی بیماری شده، انتخاب می‌شود. در این مطالعات به صورت روتین تعداد نمونه 100 تا 400 فرد بیمار انجام شده است اما با تعداد حداقل 35 نمونه به عنوان پیلوت نیز مشاهده شده است. بنابراین براساس محدودیت‌های احتمالی بودجه تامین طرح، تعداد نمونه افراد مورد مطالعه برای انجام توالی‌یابی اگزومی، در این طرح به عنوان مطالعه ی پیلوت، 35 فرد مبتلا به بیماری ترومبوآنژیوتیس که هیچ نسبت خانوادگی با یکدیگر ندارند.</p> <p>فاز دوم: افراد خویشاوند فرد مبتلا به ترومبوآنژیوتیس که در فاز اول طرح، نمونه گیری برای توالی یابی اگزومی شد. تعداد افراد این بخش متغیر و تابع دسترسی و همکاری آنان خواهد بود.</p> <p>فاز سوم: مطالعه جمعیتی بیماران مبتلا به ترومبوآنژیوتیس انجام می‌شود. بدین صورت که 200 نفر (به عنوان حداقل تعداد مطالعه جمعیتی) بیماران مبتلا به ترومبوآنژیوتیس که هیچ نسبت خویشاوندی با نمونه های قبلی ندارند.</p> <p>نمونه ها با مشورت متخصصین ژنتیک و قلب و عروق، جمع آوری خواهند شد. بیماران که با آزمایشات بالینی از جمله داپلر و آنژیوگرافی و پاتولوژی توسط متخصصین بعنوان يك بیمار مبتلا به بیماری ترومبوآنژیوتیس تشخیص داده می شوند، به مطالعه وارد خواهند.</p> <p><b>معیارهای ورود به مطالعه:</b></p> <p>افراد دارای سن 20-50 سال</p> <p>با جنسیت مرد و زن</p> <p>مستعمل سیگار و تنباکو</p> <p>دارای زخم در اندام های فوقانی و تحتانی</p> <p>این افراد مبتلا به هیچ نوع دیابتی نباشند.</p> <p>براساس آزمایشات و معیارهای تشخیصی، وجود بیماری ترومبوآنژیوتیس در آنها محرز شود.</p>	
<p>در این پژوهش بمنظور رعایت اصول اخلاقی موارد زیر رعایت خواهند شد:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. تمام اطلاعات بیماران، بدون نام و محرمانه حفظ خواهند شد.</li> <li>2. انجام خونگیری جهت بررسی های ژنتیکی متناسب به پژوهش است، لذا هزینه ای بابت پژوهش به بیمار تحمیل نخواهد شد.</li> <li>3. رضایت کتبی بیمار مبتنی بر استفاده از اطلاعات پرونده، اخذ خواهد شد.</li> <li>4. سلامت ایمنی بیماران حفظ و رعایت می شود.</li> </ol>	<p><b>ملاحظات اخلاقی</b></p>
<p>ممکن است بعضی افراد شرکت کننده در مطالعه به دلیل فوت بیمار و یا عدم ادامه ی همکاری، از مطالعه خارج شوند. در صورتیکه بدلیل وضعیت ارز در کشور، هزینه بیشتر از برآورد هزینه ی طرح باشد، تعداد افراد مورد مطالعه کاهش خواهد یافت.</p>	<p><b>محدودیت‌های اجرایی طرح و روش کاهش آنها</b></p>

## جدول متغیرها

نوع اندازه گیری	تعریف کاربردی	واحد اندازه گیری	نوع متغیر کیفی - اسمی است؟	نوع متغیر کیفی - رتبه ای است؟	نوع متغیر کمی - گسسته است؟	نوع متغیر کمی - پیوسته است؟	نقش متغیر	نام متغیر
آزمایشات بالینی	ترومبوآنژیوت انسدادی	معاینه و ارزیابی بالینی	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		بیماری ترومبوآنژیوتیس
شناسنامه یا پرونده	تعداد سال های خورشیدی از زمان تولد تا زمان بستری شدن فرد بیمار	سال	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		سن
اندازه گیری توسط متر و مشاهده عدد درج شده در پرونده بیمار	بر اساس فنوتایپ بیمار	زن یا مرد	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		جنس
سنجش بوسیله تست های ژنتیکی	تغییرات در توالی DNA که صفات زیستی افراد را تغییر میدهند	وجود یا عدم وجود	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		تغییر ژنتیکی
شرح حال بیمار	مصرف دخانیات و استعمال سیگار	استعمال یا عدم استعمال	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		استعمال سیگار

## زمانبندی و اجرا

شرح مختصر مرحله	درصد مرحله	مدت زمان اجرا - ماه	از تاریخ	تا تاریخ
جمع-آوری نمونه و ارزیابی کلینیکی بیماران		4		
استخراج DNA		1		
توالی یابی اگزومی		3		
آنالیز بیوانفورماتیکی داده-های خام		3		
اعتبارسنجی نتایج حاصل از آنالیز بیوانفورماتیکی و توالی یابی سنگر		1		
تفسیر داده-های حاصل از آنالیز بیوانفورماتیکی		3		
اعتبارسنجی و مطالعه جمعیتی		2		
طراحی پتل ژنتیکی تشخیص بیماری		4		
DRUG REPOSITIONG		8		

## هزینه آزمایشات و خدمات تخصصی

نام خدمت	نام مؤسسه ارائه کننده خدمت	تعداد یا مقدار لازم	قیمت واحد - ریال	قیمت کل - ریال
توالی یابی اگزومی		35	120,000,000	4,200,000,000

## هزینه آزمایشات و خدمات تخصصی

نام خدمت	نام مؤسسه ارائه کننده خدمت	تعداد یا مقدار لازم	قیمت واحد - ریال	قیمت کل - ریال
توالی یابی سنگر		235	1,000,000	235,000,000

## جمع کل هزینه های طرح

هزینه پرسنلی (هیات علمی و غیر هیات علمی)	هزینه مواد مصرفی	هزینه مواد غیر مصرفی	هزینه تجهیزات، مواد و خدمات موجود در مرکز	هزینه مسافرت	هزینه چاپ و تکثیر	سایر هزینه ها	جمع کل هزینه - ریال
0	0	0	4,435,000,000	0	0	0	4,435,000,000