مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره ششم ـ شماره چهارم ـ زمستان ۹۱
صفحه ۱ الی۷

مقاله پژوهشی
(Original Article)

بررسی اگزون ۱ ژن FRDA در بیماران با علائم بالینی فردریش آتاکسیا

مریم ناصرالاسلامی[۱]، کاظم پریور[۲]، سارا سنجریان[۱]، الهام خلیلی[۳]، امید آریانی[۴]، محسن اخوان سپهی[۵]، مسعود هوشمند[۶]

چکیده

زمینه و هدف: فردریش آتاکسیا (FA) یک بیماری آتوزومال مغلوب است که معمولاً با دیس آرتریا، ضعف عضله، اسپاسم در اندام‌های تحتانی، اسکولیوز، عملکرد بد مثانه، نداشتن رفلکس در اندام‌های تحتانی و از دست دادن تعادل و لرزش همراه است. تقریباً دوسوم افراد FRDA (Friedreich's Ataxia) کاردیومیوپاتی دارند و بیشتر از ۳۰٪ مبتلا به دیابت شیرین هستند. افراد دارای FRDA، موتاسیون‌های قابل‌شناسایی در ژن FXN می‌باشند. رایج‌ترین نوع موتاسیونی که در بیش از ۹۸٪ افراد دارای FRDA مشاهده می‌شود، گسترش تکرار سه‌تایی GAA در اینترون ژن FXN است. تقریباً ۲٪ افراد مبتلا به FRDA هتروزیگوت مرکب‌اند که دارای گسترش GAA در محدوده بیماری‌زا در یک آلل و موتاسیون غیرفعال‌کننده ژن FXN در آلل دیگر هستند، این مطالعه با هدف بررسی اگزون ۱ در ژن FRDA در بیماران دارای علائم فردریش آتاکسیا، که فاقد گسترش تکرار سه‌تایی GAA در اینترون ۱ ژن FXN بودند، انجام شد.

روش بررسی: در این پژوهش اگزون ۱ در ۵۰ بیمار مشکوک به فردریش آتاکسیا توسط PCR و توالی‌یابی بررسی شد.

یافته‌ها: در این مطالعه با بررسی اگزون ۱، تغییر نوکلئوتید A به G در تمام بیماران به شماره نوکلئوتید ۸۱۵۲۸۴ مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد به دلیل ازدواج‌های فامیلی ممکن است جهش‌های هموزیگوت باعث بیماری FA شود. بنابراین، بررسی تعیین توالی تمامی اگزون‌های این ژن ضروری به‌نظر می‌رسد.

کلید واژه‌ها: سندرم آتاکسی فردریش؛ اگزون‌ها؛ ژن‌ها.

[۱]دانشجوی کارشناس ارشد زیست‌شناسی، گرایش علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران.
[۲]استاد زیست‌شناسی علوم جانوری سلولی- تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران.
[۳]کارشناس ارشد بیوشیمی، آزمایشگاه ژنتیک مولکولی، مرکز پزشکی خاص، تهران، ایران.
[۴]پزشک عمومی، آزمایشگاه ژنتیک مولکولی، مرکز پزشکی خاص، تهران، ایران.
[۵]دانشیار نفرولوژی کودکان، بیمارستان حضرت معصومه(س)، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.
[۶]استادیار ژنتیک پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن‌آوری، تهران، ایران.

نویسنده مسئول مکاتبات:
پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن‌آوری، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
massoudh@nigeb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲۶

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱/۳۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

**Naseroleslami M, Parivar K, Sanjarian S, Khalili E, Aryani O, Akhavan Sepahi M, Houshmand M. Investigation of Exon 1 in FXN Gene in Patients with Clinical Symptomatic of Friedreich Ataxia.
Qom Univ Med Sci J 2013;6(4):1-7.**

www.SID.ir

مقدمه

FRDA شایع‌ترین نوع آتاکسی ارثی است (۱)، که به‌علت کاهش میزان پروتئین میتوکندریایی فراتاکسین در اثر گسترش تکرارهای سه‌نوکلئوتیدی در ژن FXN ایجاد می‌شود (۳،۲). در گذشته به دلیل آنکه انجام آزمایشها و تشخیص بیماری به روش مولکولی امکان‌پذیر نبود، تعداد مبتلایان به FRDA حدود ۱ در ۵۰۰۰۰ (۱:۵۰۰۰۰) نفر و تعداد افرادی که ناقل این بیماری بودند ۱ در هر ۱۱۰ نفر (۱:۱۱۵) بوده است (۴). ولی مطالعاتی که اخیراً بر پایه تشخیص مولکولی بنا شده، شیوع بیشتری از این بیماری را نشان می‌دهد. طبق تحقیقات Koeppen، تعداد ناقلین این بیماری در جوامع اروپایی ۱:۵۰ می‌باشد (۵)، و در برخی از جوامع نیز به دلیل ازدواج‌های فامیلی شیوع بیشتری داشته است. این بیماری بیشتر در اروپا، آفریقای شمالی و خاورمیانه وجود دارد، و شیوع آن در آسیا و آفریقا بسیار کم گزارش شده است (۶) FRDA در میان بیماری‌های دژنراتیو ایدیوپاتیک که موجب آتاکسی مخچه‌ای می‌شوند، شیوع بیشتری دارد، همچنین دارای تظاهرات بالینی و پاتولوژیک منحصر به فردی است که برخلاف آتاکسی‌های نخاعی مخچه‌ای اتوزومال غالب دیررس، در کودکی آغاز می‌شود.

جهش در ژن (FXN) مستقیماً در پاتوژنز بیماری دخالت داشته و حاوی ۷ اگزون (۱، ۲، ۳، ۴، ۵a، ۵b) به طول ۴۰kb است که در ناحیه ۱۳-۱۲، 9q قرار دارد (۷). حدود ۲٪ از بیماران FRDA، دارای جهش نقطه‌ای در یکی از آلل‌های این ژن و گسترش تکرارهای گسترش‌یافته GAA در آلل دیگر این ژن هستند. عدم وجود افرادی با ژنوتیپ هموزیگوت برای جهش‌های نقطه‌ای می‌تواند دلیل کم بودن وقوع این جهش‌ها باشد (۹،۸). لذا به دلیل افزایش ازدواج‌های فامیلی در ایران و مشاهده افرادی با علائم این بیماری و عدم افزایش تکرارهای سه‌گانه در این افراد؛ این مطالعه با هدف بررسی اگزون ا در ژن FRDA در بیماران با علائم بالینی فردریش آتاکسیا انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه از خون ۵۰ فرد مشکوک به بیماری فردریش آتاکسیا که از سال ۱۳۸۶ به مرکز پزشکی خاص مراجعه کرده بودند و از لحاظ فنوتیپی خصوصیات بیماری FA (شامل: ضعف عضلانی، عدم تعادل، اختلال در تکلم در ۳۱ مرد و ۲۹ زن با محدوده سنی ۳۵-۱۰ سال) داشتند با اخذ رضایت‌نامه از آنان، توسط روش نمک اشباع (کیت شرکت ژن فناوران پویا) DNA استخراج شد. جهت اطمینان از کیفیت DNA استخراج‌شده و مشاهده قطعات آن؛ از ژل آگاروز ۱٪ و دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. سپس به‌منظور تشخیص مولکولی این بیماری با استفاده از پرایمرهای

GAA-R3 GATCAAGACCATCATGGCCACACTGCC
GAA-F3 GGGATGGTGCCAGTCTTAAAAGTTAG

و براساس برنامه حرارتی طبق جدول شماره ۱، PCR گذاشته شد. برای انجام واکنش از ۲/۵µl بافر ۱۰x، ۰/۵µl $MgCl_2$، ۵۰mM و dNTP۰/۵µl ، ۰/۵µl پرایمر F، ۰/۵µlپرایمر R، DNA ۲µl، ۱µl Taq Polymerase و ۱۷/۵µl آب مقطر استفاده شد.

به‌منظور کنترل و صحت انجام هر تست PCR، از نمونه‌های کنترل منفی و مثبت استفاده شد. (برای کنترل مثبت از DNA افرادی استفاده گردید که فاقد علائم بیماری بوده و سابقه بیماری فردریش در خانواده نداشتند).

در مرحله بعد ۵µl از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ قرار داده شد و الکتروفورز با ولتاژ ۱۱۰v به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. سپس برای بررسی افرادی که از باند سالم نرمال مشاهده نشده بود، با استفاده از پرایمرهای

Bam-3 GGAGGGATCCGTCTGGGCAAAGG
2500-F 3-R CAATCCAGGACAGTCAGGGGCTTT

و طبق برنامه حرارتی (جدول شماره ۲)، Long PCR گذاشته شد. برای انجام Long PCR حجم نهایی واکنش ۲۵µl برآورد شد که شامل: DNA ۲۵ng ژنومیک، dNTP ۰/۵mM، $MgCl_2$ ۱/۶mM، ۸pM از هر آغازگر و ۱/۴ واحد آنزیم Expand High Fidelity بود.

سپس برای یافتن افراد FRDA هموزیگوت برای اگزون ۱ ژن FXN با استفاده از پرایمرهای

F: agcacccagcgctggagg R: ccgcggctgttcccgg

و طبق برنامه حرارتی (جدول شماره ۳)، PCR گذاشته شد. از موادی شامل ۵µl بافر، ۰/۵µl $Mgcl_2$، ۰/۳µl Tag پلیمراز، ۰/۵µl dNTP و DNA ۲µl برای این واکنش استفاده شد. (چون این اگزون غنی از باز سیتوزین و گوانین است؛ ۱۰٪ حجم واکنش نهایی (5ML) DMSO اضافه شد)

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۱: برنامه حرارتی PCR معمولی برای تشخیص بیماران

تعداد سیکل	مدت زمان	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	مراحل PCR
۱	۵ دقیقه	۹۵	مرحله دناتوراسیون اولیه
۳۰	۴۵ ثانیه	۹۴	مرحله دناتوراسیون
	۳۰ ثانیه	۶۸	مرحله اتصال
	۲دقیقه	۷۲	مرحله طویل شدن
۱	۱۰دقیقه	۷۲	مرحله طویل شدن نهایی

۲۰ سیکل برنامه‌ای به شرح زیر:

جدول شماره ۲: برنامه حرارتی Long PCR در دستگاه MWG

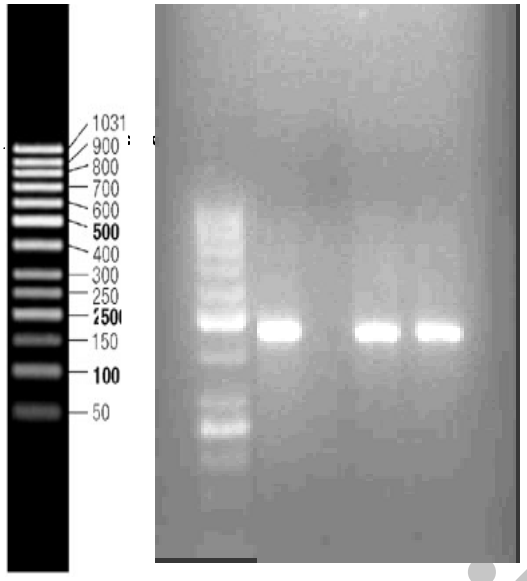
مدت زمان	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	مراحل PCR
۵ دقیقه	۹۴	مرحله دناتوراسیون اولیه
۲۰ ثانیه	۹۴	مرحله دناتوراسیون
۲/۵ دقیقه	۶۸	اتصال و طویل شدن
۲۰ ثانیه	۹۴	مرحله دناتوراسیون
۲/۵ دقیقه+ ۱۵ ثانیه در هر سیکل	۶۸	اتصال و طویل شدن

جدول شماره ۳: برنامه حرارتی مربوط به PCR اگزون ۱ ژن FXN

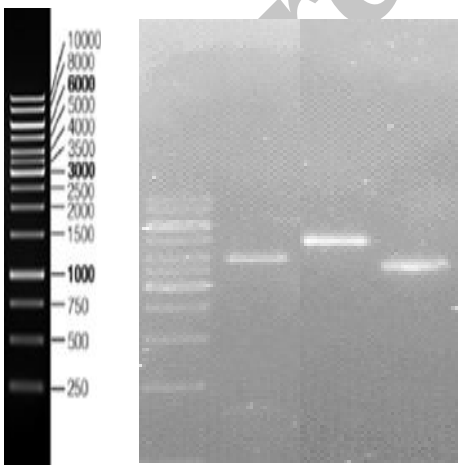
تعداد سیکل	مدت زمان	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	مراحل PCR
۱	۵ دقیقه	۹۴	مرحله دناتوراسیون اولیه
۳۰	۵۰ ثانیه	۹۴	مرحله دناتوراسیون
	۵۰ ثانیه	۶۸	مرحله اتصال
	۳۵ ثانیه	۷۲	مرحله طویل شدن
۱	۱ دقیقه	۷۲	مرحله طویل شدن نهایی

یافته‌ها

در این مطالعه DNA بیماران مشکوک به FRDA توسط روش PCR بررسی شد. برای ۱۵ فرد، باند نرمال گرفته نشد و برای ۳۵ فرد، باند نرمال (حدود ۵۰۰bp) گرفته شد. برای افرادی که باند نرمال داشتند یا از لحاظ بیماری فردریش آتاکسیا سالم بودند و یا از موارد نادر بیماری FRDA که نیاز به بررسی بیشتری دارد، محسوب می‌شدند (شکل شماره ۱)؛ برای اطمینان و تمایز از افرادی که باند نرمال نداشتند، Long PCR گذاشته شد که باندهای گسترش‌یافته برای این افراد قابل مشاهده بود و نشان داد این افراد FRDA هموزیگوت بوده که ۹۸٪ موارد فردریش آتاکسیا را شامل می‌شود (شکل شماره ۲). سپس برای بررسی بیشتر افرادی که باند نرمال داشتند برطبق نظر پزشک معالج (براساس علائم فنوتیپی) از میان ۳۵ نفر، ۵ فرد انتخاب شد، و اگزون ۱ ژن FXN در این افراد توسط روش PCR مورد بررسی قرار گرفت (شکل شماره ۳). تغییر نوکلئوتید آدنین به گوانین در اینترون اول ژن FRDA در تمام بیماران به شماره نوکلئوتید ۸۱۵۲۸۴ مشاهده شد (شکل شماره ۴).



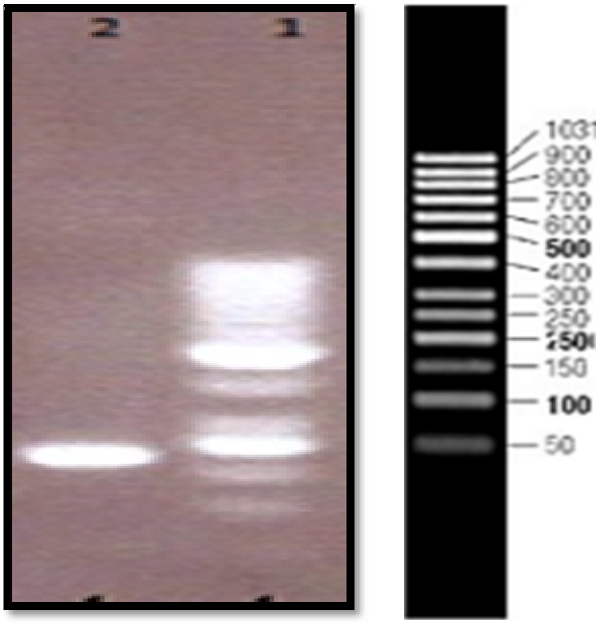
شکل شماره ۱: تشخیص افراد بیمار از سالم: C^- **کنترل منفی، ۲ و ۳ افراد سالم، ٤: فرد بیمار،** C^+**: کنترل مثبت، M: مارکر مولکولی** (Fermentas 50bp)



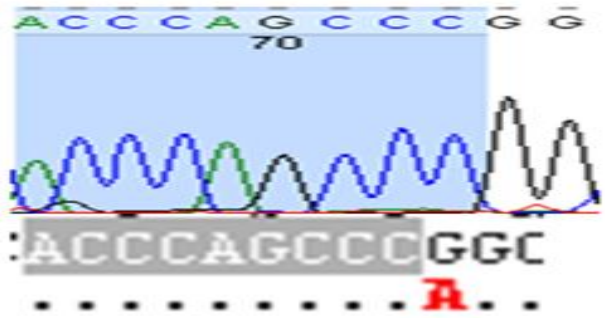
شکل شماره ۲: M مارکر مولکولی (Fermentas 1Kb). **۱، ۲ و ۳ بیمار فردریش آتاکسیای هموزیگوت**

Archive of SID

www.SID.ir



شکل شماره ۳: اگزون ۱ ژن FXN: ۱ مارکر مولکولی 50bp، ۲: اگزون ۱ (240bp)



شکل شماره ٤: پلی‌مورفیسم در اگزون ۱ : A815284G

بحث

گسترش تکرارهای سه‌نوکلئوتیدی باعث ایجاد بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو مانند هانتینگتون، سندرم X شکننده، اسپینوسربلار آتاکسیا و فردریش آتاکسیا می‌شود (۱۱،۱۰). بیماری فردریش آتاکسیا به‌صورت تدریجی و کند پیشرفت می‌کند، به‌طوری‌که پس از ۱۵ سال از مشاهده اولین علائم، بیمار ویلچرنشین شده و علائم روز به روز بدتر می‌شود و بیمار در سن متوسط ۱۴/۴±۳۷/۷ سال طبق تحقیقات Harding از بین می‌رود. اکثر موارد مرگ و میر نیز به دلیل ایجاد کاردیومیوپاتی (۷) در اثر نارسایی قلبی بوده است (۱۲).

بیشتر جمعیت FRDA در میان سفیدپوستان دیده شده، و چنین پنداشته می‌شود که اکثر بیماران و ناقلین FRDA همگی دارای یک نسل مشترک از یک جمعیت اروپایی هستند و حدود ۱۵۰۰ سال پیش می‌زیسته‌اند (۱۳).

اهمیت بررسی مولکولی این بیماری نیز از آن‌جهت است که در میان اکثر بیماری‌های نورولوژیکی، خصوصیات مشترک فنوتیپی زیادی مشاهده می‌شود، و این مسئله تشخیص بیماری را تنها بر پایه خصوصیات کلینیکی دچار مشکل می‌کند. از خصوصیات مشترک در بیماری‌های نورولوژیکی، مشاهده علائمی مانند ضعف و سستی، عدم تعادل در حرکت دستها و پاها، شل عمل کردن عضلات و در نهایت مرگ است که این موضوع را نیز می‌توان به نقص در عملکرد میتوکندری در این افراد ارتباط داد؛ زیرا همان‌طورکه مشخص است میتوکندری مسئول تولید بیش از ۹۰٪ انرژی مورد نیاز بدن برای رشد و ادامه حیات است. از طرفی، به دلیل اینکه این بیماری از لحاظ برخی صفات فنوتیپی و علائم بالینی با سایر بیماری‌های عصبی عضلانی و به‌ویژه آتاکسی‌های دیگر مشابه است، لذا اگر از محصول PCR باند نرمال گرفته شود براساس علائم فنوتیپی بیمار، تست‌های تشخیصی سایر بیماری‌های مشابه را نیز برای فرد می‌گذارند و این درحالی است که شاید فرد مذکور حالت غیرمعمول FRDA را داشته باشد (۲٪ موارد)؛ یعنی در یک آلل به‌علت گسترش تکرارهای GAA طول باند افزایش یافته و در PCR عادی باندی مشاهده نشود و باند نرمال هم دارای جهش نقطه‌ای باشد (باند حدود ۵۰۰bp). بدین‌منظور در این طرح، اگزون ۱ چند بیمار مشکوک به FRDA که در مطالعه پیشین سایر اگزون‌های آنها موتاسیونی مشاهده نشده بود؛ توسط ترادف‌یابی بررسی شد. در اگزون ۱، تغییر کدون CCA به CCG باعث تغییر اسیدآمینه نمی‌شود؛ چون هر دوی کدون‌ها مربوط به اسیدآمینه پرولین است، اما با توجه به ازدواج‌های فامیلی در جامعه به‌نظر می‌رسد بیماران FRDA هموزیگوت در ایران در هر دو آلل ژن FXN، موتاسیون نقطه‌ای دارند که تا به حال گزارش نشده است، لذا پیشنهاد می‌شود ترادف‌یابی برای سایر بیماران FA نیز انجام شود.

در راستای این طرح مطالعاتی در سایر کشورها نیز صورت گرفته که بدین شرح است:

Archive
www.SID.ir

تاکنون ۱۷ جهش نقطه‌ای مرتبط با FRDA یافت شده است (۱۵،۱۴)، همچنین هیچ بیمار هموزیگوتی با جهش‌های نقطه‌ای، مشاهده نشده است (۱۶). Cossee و همکاران در سال ۱۹۹۷ تغییر نوکلئوتید گوانین به تیمین را در اگزون ۱ گزارش کردند (M1I)، که سبب نقص در شروع ترجمه می‌شود (۱۷). Gellera و همکاران نیز در سال ۱۹۹۷ حذف نوکلئوتید گوانین را در اگزون ۱ مشاهده کردند، که این تغییر در پایان ترجمه پروتئین فراتاکسین نقص ایجاد می‌کند (100delG)، و در همان سال Gellera و همکاران نیز حذف نوکلئوتید سیتوزین را در اگزون ۱ مشاهده کردند که این تغییر هم در پایان زودرس ترجمه پروتئین فراتاکسین نقش دارد (104delC) (۱۸).

همچنین Pook و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان دادند تغییر نوکلئوتید آدنین به گوانین در اینترون ۱ رخ می‌دهد که در اسپلایسینگ نقص ایجاد می‌کند (Splice Donor) (۱۹). Forrest و همکاران در سال ۱۹۹۸ تغییر نوکلئوتید تیمین به گوانین را در اینترون ۴ مشاهده نمودند که موجب نقص در پدیده اسپلایسینگ می‌شود (Splice Donor) (۲۰). Cossee و همکاران نیز در سال ۱۹۹۹ تغییر نوکلئوتید آدنین به سیتوزین را در اگزون ۱ گزارش کردند (M1L)، و در همان سال هم تغییر نوکلئوتید تیمین به سیتوزین در اگزون ۱ توسط آنها مشاهده شد (M1T)، که هر دوی این موتاسیون‌ها باعث نقص در شروع ترجمه می‌شود، همچنین در همان سال حذف نوکلئوتید سیتوزین در اگزون ۱ گزارش شد که این تغییر نیز در پایان ترجمه پروتئین فراتاکسین نقص ایجاد می‌کند (158delC) (۲۱). Potter و همکاران در سال ۲۰۰۰ تغییر نوکلئوتید گوانین به آدنین را در اگزون ۱ مشاهده کردند که این تغییر در پایان زودرس ترجمه پروتئین فراتاکسین نقش دارد (M1I) (۲۲). همچنین De Castro و همکاران در سال ۲۰۰۰، حذف نوکلئوتید سیتوزین را در اگزون ۱ گزارش نمودند که این تغییر نیز در پایان ترجمه پروتئین فراتاکسین نقص ایجاد می‌کند (118delC) (۲۳). McCormack و همکاران در سال ۲۰۰۰ تغییر نوکلئوتید گوانین به سیتوزین را در اینترون ۱ مشاهده کردند که سبب نقص در اسپلایسینگ می‌شود (Splice donor) (۲۴). Pook و همکاران در سال ۲۰۰۰ تغییر GTCA>TTG را در اگزون ۲ گزارش کردند که این تغییر نیز در پایان ترجمه پروتئین فراتاکسین نقص ایجاد می‌کند (202GTCA→TTG) (۲۵).

De Castro و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند اضافه شدن نوکلئوتید تیمین در اگزون ۳ رخ می‌دهد که این تغییر در پایان ترجمه پروتئین فراتاکسین و عدم تولید این پروتئین نقش دارد (297insT) (۲۳). همچنین Dominick و همکاران در سال ۲۰۰۲، به بیماری هتروزیگوت مرکب با موتاسیون G130V دست یافتند، که این موتاسیون سبب نقص عصبی و ماهیچه‌ای در بیمار شده بود (۲۶). Zühlke و همکاران نیز در سال ۲۰۰۴، حذف اگزون ۵a را گزارش نمودند (g.120032_1222808del) (۲۷). Porter و همکاران در سال ۲۰۰۷، موتاسیون Gly130Val را در یکی از بیماران که سبب کاهش شدید بینایی شده بود، مشاهده کردند (۲۸). Cossée و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ بیان کردند جهش(D122Y and G130V)، باعث علائم غیرمعمول در بیماران FRDA می‌شود (۲۱).

تمامی گزارشهای ذکر شده نشان‌دهنده عامل ایجاد بیماری فردریش آتاکسیا می‌باشد و با توجه به اینکه اکثر موتاسیون‌های گزارش‌شده در اگزون ۱ واقع شده است، لذا پیشنهاد می‌گردد در بیماران واجد علائم فردریش آتاکسیا که در ژن FXN تکرارهای GAA نرمال دارند ابتدا اگزون ۱ در این ژن به‌منظور یافتن موتاسیون نقطه‌ای بررسی شود.

مطالعه حاضر نشان داد اگزون ۱ در ژن فراتاکسین، به‌عنوان اولین نقطه جهت جستجو برای پیدا نمودن جهش در بیماران آتاکسی فردریش می‌تواند مورد نظر قرار گیرد. همچنین طبق نتایج این مطالعه، به دلیل ازدواج‌های فامیلی ممکن است جهش‌های هموزیگوت باعث بیماری فردریش آتاکسی شود. بنابراین، بررسی تعیین توالی تمامی اگزون‌های این ژن ضروری به‌نظر می‌رسد.

Archive of SID

www.SID.ir

References:

1. Gottesfeld JM. Small Molecules Affecting Transcription in Friedreich Ataxia. Pharmacol Ther 2007;116(2):236-48.

2. Schmucker S, Puccio H. Understanding the Molecular Mechanisms of Friedreich's Ataxia to Develop Therapeutic Approaches. Hum Mol Genet 2010;21(16):R1-R8.

3. Bouhlal Y, Euch-Fayeche G, Hentati F. Clinical and Molecular Genetic Finding in Friedreich's Ataxia Tunisian Family. J Medicine Medical Sci 2010;1(1):10-15.

4. Finnila S, Majamma K. Phylogenetic Analysis of mtDNA Haplogroup TJ in a Finish Poplaton. J Hum Genet 2001;46(2):64-9.

5. Koeppen AH. Friedreich's Ataxia: Pathology, Pathogenesis and Molecular Genetics. J Neurol Sci 2011;303(1-2):1-12.

6. Filla A, De Michele G, Cavalcanti F. The Relationship Between Tri Nucleo Tide (GAA) Repeat Length and Clinical Features in Friedreich Ataxia. Am J Hum Genet 1996;59(3):554-560.

7. Van Driest SL, Gakh O, Ommen SR, Isaya G, Ackerman MJ. Molecular and Functional Characterization of a Human Frataxin Mutation Found in Hypertrophic Cardiomyopathy. Mol Genet Metab 2005;85(4):280-5.

8. Stumpf DA, Parks JK, Eguren LA, Haas R. Friedreich Ataxia 111 Mitochondrial Malic Enzyme Deficiency. Neurology 1982;32(3):221-227.

9. Lilian MJ, Zatz M, Kim A, Bertola D, Sugayama M, Marques-Dias M, Kok F, Ferraretto, Rosemberg S, Cocozza S, Monticelli A. Friedreichs Ataxia: Clinical and Molecular Study f 25 Brazilan Cases. Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo 2001;56(5):143-48.

10. Wood N. Diagnosing Friedreich's Ataxia. Arch Dis Child 1998;78(3):204-207.

11. Colombo R, Carobene A. Age of the Intronic GAA Triplet Repeat Expansion Mutationin Friedreich Ataxia. Hum Genet 2000;106(4):455-458.

12. Castaldo I, Pinelli M, Monticelli A, Acquaviva F, Giacchetti M, Filla A, et al. DNA Methylation in Intron 1 of the Frataxin Gene Is Related to GAA Repeat Length and Age of Onset in Friedreich Ataxia Patients. J Med Genet 2008;45(12):808-812.

13. Ohshima K, Montermini L, Wells RD, Pandplfo M. Inhibitory Effects of Expanded GAA. TTC Triplet Repeats from Intron 1 of the Friedreich Ataxia Gene on Transcription and Replication in Vivo. J Biol Chem 1998;273(23):14588-14595.

14. Harding AE, Zilkha KJ. Pseudo-dominant Inheritance in Friedreich's Ataxia. J Med Genet 1981;18(4):285-7.

15. Halliwell B. Reactive Oxygen Species and the Central Nervous System. J Neurochem 1992;59(5):1623.

16. Pandolfo M, Montermini L. Prenatal Diagnosis of Friedreich's Ataxia. Prenat Dign 1998;18(8):831-3.

17. Cossee M, Campuzano V, Koutnikova H, Fischbeck K, Mandel JL, Koenig M, et al. Frataxin Fracas. Nat Genet 1997;15(4):337-8.

18. Gellera C, Pareyson D, Castellotti B, Mazzucchelli F, Zappacosta B, Pandolfo M, Di Donato S. Very Late Onset Friedreich's Ataxia without Cardiomyopathy Is Associated with Limited GAA Expansion in the X25 Gene. Neurology 1997;49(4):1153-5.

19. Pook MA, Carvajal JJ, Doudney K, Hillermann R, Chamberlain S. Exon-intron Structure of a 2.7-kb Transcript of the STM7 Gene with Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase Activity. Genomics 1997 May 15;42(1):170-2.

Archive of SID

www.SID.ir

20. Forrest SM, Knight M, Delatycki MB, Paris D, Williamson R, King J, Yeung L, Nassif N, Nicholson GA. The Correlation of Clinical Phenotype in Friedreich Ataxia with the Site of Point Mutations in the FRDA Gene. Neurogenetics 1998;1(4):253-7.

21. Cossee M, Durr A, Schmitt M, Dahl N, Nivelon-Chevallier A, Gustavson KH, Kohlschutter A, Muller U, Mandel JL, Brice A, Koenig M, Cavalcanti F, Tammaro A, De Michele G, Filla A, Cocozza S, Labuda M, Montermini L, Poirier J, Pandolfo M. Friedreich's Ataxia: Point Mutations and Clinical Presentation of Compound Heterozygotes. Ann Neurol 1999;45(2):200-6.

22. Potter NT, Miller CA, Anderson IJ. Mutation Detection in an Equivocal Case of Friedreich's Ataxia. Pediatr Neurol 2000;22(5):413-5.

23. De Castro M, Garcia-Planells J, Monros E, Canizares J, Vazquez-Manrique R, Vilchez JJ, Urtasun M, Lucas M, Navarro G, Izquierdo G, Molto MD, Palau F. Genotype and Phenotype Analysis of Friedreich's Ataxia Compound Heterozygous Patients. Hum Genet 2000;106(1):86-92.

24. McCormack ML, Guttmann RP, Schumann M, Farmer JM, Stolle CA, Campuzano V, Koenig M, Lynch DR. Frataxin Point Mutations in Two Patients with Friedreich's Ataxia and Unusual Clinical Features. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2000;68(5):661-4.

25. Pook M, Al-Mahdawi SAH, Thomas NH, Appleton R, Norman A, Mountford R, Chamberlain S. Identification of Three Novel Frameshift Mutations in Patients with Friedreich's Ataxia. J Med Genet 2000;37(11):e38.

26. Dominick JH. McCabe, MRCPI, Nicholas W. Intrafamilial Phenotypic Variability in Friedreich Ataxia Associated With a G130V Mutation in the FRDA Gene. Arch Neurol 2002;59(2):296-300.

27. Zühlke CH, Dalski A, Habeck M, Straube K, Hedrich K, Hoeltzenbein M, Konstanzer A, Hellenbroich Y, Schwinger E. Extension of the Mutation Spectrum in Friedreich's Ataxia: Detection of An Exon Deletion and Novel Missense Mutations. Eur J Hum Genet 2004;12(11):979-82.

28. Porter N, Downes SM, Fratter C, Anslow P, Németh AH. Catastrophic Visual Loss in a Patient With Friedreich Ataxia. Arch Ophthalmol 2007;125(2):273-274.

Archive of SID

www.SID.ir

Investigation of Exon 1 in FXN Gene in Patients with Clinical Symptomatic of Friedreich Ataxia

Naseroleslami M.[1]; Parivar K.[2]; Sanjarian S.[1]; Khalili E.[3]; Aryani O.[4]; Akhavan Sepahi M.[5]; Houshmand M.[6]

[1]MSc Student of Cellular & Molecular Biology, Islamic Azad University, Science & Research Branch, Tehran, Iran.

[2]Professor of Zoology, Islamic Azad University, Science & Research Branch, Tehran, Iran.

[3]Master of Sciences in Biochemistry, Molecular Genetic Laboratory, Special Medical Center, Tehran, Iran.

[4]General Practitioner, Molecular Genetic Laboratory, Special Medical Center, Tehran, Iran.

[5]Associate Professor of Pediatric Nephrology, Hazrat Masumeh Hospital, Qom University of Medical Sciecnes, Qom, Iran.

[6]Assistant Professor of Medical Genetic, National Institute for Genetic Engineering & Biotechnology, Tehran, Iran

Corresponding Author:
National Institute for Genetic Engineering & Biotechnology, Tehran, Iran.

Email:
massoudh@nigeb.ac.ir

Received: 16 Jan, 2011

Accepted: 20 Apr, 2011

Abstract

Background and Objectives: Friedreich's ataxia (FRDA) is an autosomal recessive disorder that is typically associated with dysarthria, muscle weakness, spasticity in the lower limbs, scoliosis, bladder dysfunction, absent lower limb reflexes, and loss of position and vibration sense. Approximately two-thirds of these patients suffer from cardiomyopathy and more than 30% have diabetes mellitus. Individuals with FRDA have identifiable mutations in the *FXN* gene. The most common type of mutation which is observed on both alleles in more than 98% of patients is an expansion of a GAA triplet-repeat in intron of *FXN* gene. Approximately 2% of individuals with FRDA are compound heterozygotes, who have a GAA expansion in the disease-causing range in one *FXN* allele and an inactivating *FXN* mutation in another allele. Aim of the present study was to investigate exon 1 in FRDA gene in patients with clinical symptoms of Friedreich's Ataxia that have not GAA triplet-repeat expansion in intron 1 of *FXN* gene.

Methods: In this study**,** exon 1 in 5 patients suspected of FRDA analyzed using PCR and sequencing.

Results: An A to G transition at nucleotide number 815284, in exon 1 was observed in all patients.

Conclusion: The results of this study showed that disease-causing homozygous mutations could be because of consanguinity marriage in Iran. Therefore, sequencing of all exons of the gene is necessary.

Keywords: Friedreich Ataxia; Exons; Genes.

www.SID.ir