Archive of SID

(مقاله پژوهشی)

بررسی حذف اگزونی در ژن دیستروفین در افراد با تشخیص دیستروفی عضلانی دوشن در اهواز

حمید گله داری[1*]، محمد پدرام[2]، علی اکبر مومن[3]، غلامرضا محمدیان[4]، الهام طاهریان[5]

۱- دانشیار ژنتیک.
۲- استاد خون و سرطان کودکان.
۳- دانشیار گروه کودکان.
۴- کارشناس ارشد ژنتیک.
۵- کارشناس ژنتیک.

۱-گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز
۲- گروه خون و سرطان کودکان، مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.
۳- گروه کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.
۴- مرکز ژنتیک سازمان بهزیستی اهواز.
۵- مرکز تحقیقات سم شناسی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

*نویسنده مسوول:
اهواز- گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز ، ایران.
تلفن: ۰۹۸۹۱۶۶۱۴۹۰۲۸++

Email:
galehdari187@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: دیستروفی عضلانی دوشن یک بیماری ژنتیکی وابسته به جنس بوده و در اثرجهش و یا حذف بخشی از ژن دیستروفین بوجود می آید. هدف از این بررسی تعیین قطعی نوع بیماری در افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه تشخیص ژنتیکی بیمارستان شفا اهواز می باشد. همه بیماران دارای ضعف عضلانی پیشرونده بودند.

روش بررسی: نمونه خون وریدی از بیماران تهیه شد و پس از استخراج ژنوم، باکمک روش واکنش زنجیره ای پلیمرازی بررسی حذف های احتمالی در ژن مذکور انجام گردید.

یافته ها: نتایج این بررسی نشان می دهد که در ۵۳ درصد موارد حذف در اگزون های ۴۴ تا ۵۱ ژن دیستروفین عامل و تایید کننده تشخیص اولیه بیماری می باشد. در ۴۷ درصد دیگر حذفی مشاهده نگردید.

نتیجه گیری: به نظر می رسد که بیماران مبتلا به بیماری دوشن در اهواز صرف نظر از قومیت، حذف اگزونی را بصورت متمرکز در ناحیه پایانی ژن دیستروفین نشان می دهند. این یافته می تواند در تشخیص افتراقی بیماری و تشخیص پیش از تولد در استان خوزستان بکار گرفته شود.

م ع پ ۱۳۹۰؛۱۰(۴): ۳۸۲-۳۷۳

کلید واژگان: دیستروفی عضلانی دوشن، ژن دیستروفین، ضعف عضلانی پیشرونده.

دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۵/۱۸ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸۹/۵/۳۰ **اعلام قبولی:** ۱۳۸۹/۱۲/۱۰

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری عضلانی دوشن یک بیماری پیشرونده و درگیر کننده عضلات است که بصورت الگوی ژنتیکی مغلوب وابسته به جنس انتقال می یابد و شیوع آن یک در ۳۵۰۰۰ تولد است (۲،۱). این بیماری در اثر فقدان پروتئین دیستروفین بوجود می آید که ژن کد کننده آن بر روی کروموزوم X قرار دارد. دیستروفین در اطراف سلول های عضلانی قرار داشته و وظیفه آن حفاظت از ساختمان عضله و ممانعت از خروج عناصر درون سلولی به خارج است. بدون وجود دیستروفین، سلول ها، قابل نفوذ شده و افزایش نفوذپذیری، در نهایت تخریب سلول های بافت ماهیچه را درپی خواهد داشت (۳).

مبتلایان به دیستروفی عضلانی دوشن معمولا تا قبل از سن ۳-۲ سالگی مشکل حرکتی نداشته اما بتدریج در برخاستن از زمین، بالا رفتن از پله ها و دویدن دچار مشکل می شوند(۴). بزرگ شدن غیر طبیعی عضلات پشت ساق پا و ضعف خفیف تا متوسط عضلات ابتدای اندام تحتانی، بصورت راه رفتن اردک وار و عدم توانایی در برخاستن راحت از روی زمین تظاهر می کند(۲). پیشرفت ضعف عضلانی بصورتی است که در سن ۶ سالگی ضعف عضلات بارز می شود و اکثر مبتلایان در سن ۱۲ سالگی بطور کامل زمین گیر می شوند (۵،۴). نوع دیگری از این بیماری وجود دارد که نحوه توارث آن مانند دوشن است اما علائم آن خفیف تر و شروع بیماری دیرتر و خوش عاقبت است. این بیماری به دیستروفی بکر (Becker) معروف است (۴).

بیماران مبتلا به دوشن ممکن است دچار چاقی و عقب ماندگی ذهنی شوند. در صورت درگیر بودن عضله قلب در برخی بیماران، عوارض قلبی ناشی از آن بروز خواهد کرد. مشکلات تنفسی از دیگر مشکلات افراد مبتلا است (۵).

تا کنون درمان قطعی برای بیماری دوشن وجود ندارد و ژن درمانی هنوز در مراحل مقدماتی و تحقیقاتی است. اقدامات حمایتی فیزیوتراپی نیز فقط بصورت مقطعی می تواند بهبود نسبی وضعیت بیمار را فراهم آورد. در حال حاضر تشخیص پیش از تولد می تواند بموقع والدین را از خطرات جنین درگیر آگاه سازد و از تولد افراد بیمار جلوگیری کند(۳). البته ضرورت تشخیص پیش از تولد منوط به تشخیص مولکولی بیماری در افراد بیمار خانواده می باشد که با توجه به پیچیدگی و بزرگی ژن دیستروفین کار ساده ای نیست.

به هر صورت و با توجه به اهمیت شناخت حذف در ژن دیستروفین، یکی از راههای پیشگیری، جلوگیری از تولد افراد بیمار است. با بررسی مولکولی ژن مذکور در فرزند یا فرزندان بیمار خانواده ها می توان در تشخیص های مولکولی پیش از تولد، خانواده ها را از احتمال ابتلای فرزندان بعدی به بیماری دوشن مطلع ساخت. تشخیص ژنتیکی پیش از تولد می تواند در صورت مذکر بودن جنین آغاز گردد، چرا که همانطور که پیشتر اشاره شد و با توجه به الگوی وابسته به کروموزوم X این بیماری، بطور معمول فقط افراد مذکر می توانند با احتمال پنجاه درصد دچار بیماری شوند. البته بررسی ژنتیکی سلول های جنینی زمانی توصیه می شود که علت ژنتیکی بیماری در بستگان بیمار آن خانواده مشخص شده باشد. هدف مطالعه حاضر تعیین فراوانی و همچنین شناسایی موقعیت حذف ها در بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان شفا اهواز و مقایسه آن با دیگر نقاط ایران و جهان می باشد.

روش بررسی

جمع آوری نمونه:تعداد ۱۷ بیمار از بخش نورولوژی اطفال بیمارستان گلستان اهواز مشکوک به داشتن بیماری ضعف عضلانی پیشرونده دوشن به آزمایشگاه تشخیص ژنتیکی بیمارستان شفا اهواز ارجاع داده شدند. بیماران دارای قومیت های مختلف (۵۹ درصد عرب زبان و ۴۱ درصد فارس زبان) و سنی بین ۶ ماه تا ۲۰ سال داشتند.

www.SID.ir

Archive of SID

استخراج ژنوم: ژنوم از خون تام بیماران بر اساس استاندارد از خون وریدی و با استفاده از کیت Diatom (Genfanavaran co, Iran) استخراج شد.

بررسی حذف اگزونی: غربالگری حذف های احتمالی در ژن دیستروفین بر اساس پروتوکول چمبرلاین و بگز برای ۲۷ اگزون در سه مرحله انجام گردید (۸-۶) در مرحله اول ۱۰ اگزون ، در مرحله دوم ۹ اگزون و در مرحله سوم ۸ اگزون مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). محصولات بدست آمده از واکنش زنجیره ای پلیمرازی با توجه به طول محصولات بر روی ژل های ۲ درصد آگاروز یا ۶ درصد پلی اکریل آمید تفکیک گردیدند. رنگ آمیزی ژل ها توسط اتیدیوم بروماید و یا نیترات نقره انجام گرفت.

در set-C قطعه ۱۹۵ جفت بازی (جدول ۱) مربوط به اگزون ۴۲ و ۲۷۴ جفت بازی مربوط به اگزون ۴۱ در نمونه بیمار در مقایسه با نمونه فرد سالم مشاهده نمی شود که دلالت بر حذف اگزون های ۴۱ و ۴۲ در بیمار را دارد.

در set-B قطعه ۱۸۱ جفت بازی (جدول ۱) مربوط به اگزون ۴۷ در نمونه بیمار دیگر حذف گردیده است.

یافته ها

در این بررسی از بین ۱۷ بیمار مذکر مشکوک به ضعف عضلانی دوشن، ۹ بیمار حذف بین یک تا شش اگزون را نشان دادند. در یک بیمار ۱۲ ساله عرب زبان فقط حذف اگزون ۴۴ مشاهده گردید. در دو بیمار ۵ ساله و ۶ ساله با قومیت عرب حذف اگزون ۴۵ دیده شد. در دو بیمار ۳ ساله و ۲۰ ساله عرب زبان حذف اگزون های ۵۱-۴۶ یافته شد. دو بیمار ۷ ساله و ۵ ساله دیگری با قومیت بختیاری (فارس) به ترتیب حذف چهار اگزون ۴۷-۴۴ و ۴۹-۴۶ را نشان دادند. بیمار فارس زبان ۹ ساله دیگری دارای حذف اگزون های ۴۱ و ۴۲ بود. در ۸ مورد مراجعه کننده دیگر هیچگونه حذفی دیده نشد. البته یکی از بیماران فاقد حذف، نوزاد ۶ ماهه ایی بوده که گردن نمی گرفته است. در کل ۵۳ درصد بیماران دارای حذف و ۴۷ درصد دیگر فاقد حذف بودند (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: خصوصیات پرایمرهای مورد استفاده در مرحله اول واکنش زنجیره ای پلیمرازی که در سه واکنش مستقل پلیمرازی و جهت تکثیر اختصاصی اگزون های ژن دیستروفین استفاده گردیدند.

EXON	LENGTH	FORWARD PRIMER	REVERSE PRIMER
EXON 45	547	AAACATGGAACATCCTTGTGGGGAC	CATTCCTATTAGATCTGTCGCCCTAC
EXON 48	506	TTGAATACATTGGTTAAATCCCAACATG	CTGAATAAAGTCTTCCTTACCACAC
EXON 19	459	GATGGCAAAAGTGTTGAGAAAAAGTC	TTCTACCACATCCCATTTTCTTCCA
EXON 17	416	GACTTTCGATGTTGAGATTACTTTCCC	AAGCTTGAGATGCTCTCACCTTTTCC
EXON 51	388	GAAATTGGCTCTTTAGCTTGTGTTTC	GGAGAGTAAAGTGATTGGTGGAAAATC
EXON 8	360	GGCCTCATTCTCATGTTCTAATTAG	GTCCTTTACACACTTTACCTGTTGAG
EXON 12	331	GATAGTGGGCTTTACTTACATCCTTC	GAAAGCACGCAACATAAGATACACCT
EXON 44	268	CTTGATCCATATGCTTTTACCTGCA	TCCATCACCCTTCAGAACCTGATCT
EXON 4	196	TTGTCGGTCTCTCTGCTGGTCAGTG	CAAAGCCCTCACTCAAACATGAAGC
EXON 46	148	GCTAGAAGAACAAAAGAATATCTTGTC	CTTGACTTGCTCAAGCTTTTCTTTTAG
		SET A PRIMERS	
EXON 1A	535	*GAAGATC*TAGACAGTGGATACATAACAAATGCATG	TTCTCCGAAGGTAATTGCCTCCCAGATCTGA
EXON 3	410	TCATCC***A***TCATCTTCGGCAGATTAA	CAGGCGGTAGAGTATGCCAAATGAAAATCA
EXON 43	357	GAACATGTCAAAGTCACTGGACTTCATGG	ATATATGTGTTACCTACCCTTGTCGGTCC
EXON 50	271	CACCAAATGGATTAAGATGTTCATGAAT	TCTCTCTCACCCAGTCATCACTTCATAG
EXON 13	238	AATAGGAGTACCTGAGATGTAGCAGAAAT	CTGACCTTAAGTTGTTCTTCCAAAGCAG
EXON 6	202	CCACATGTAGGTCAAAAATGTAATGAA	GTCTCAGTAATCTTCTTACCTATGACTATGG
EXON 47	181	CGTTGTTGCATTTGTCTGTTTCAGTTAC	GTCTAACCTTTATCCACTGGAGATTTG
EXON 60	139	AGGAGAAATTGCGCCTCTGAAAGAGAACG	CTGCAGAAGCTTCCATCTGGTGTTCAGG
EXON 52	113	AATGCAGGATTTGGAACAGAGGCGTCC	TTCGATCCGTAATGATTGTTCTAGCCTC
		SET B PRIMERS	
EXON 49	439	GTGCCCTTATGTACCAGGCAGAAATTG	GCAATGACTCGTTAATAGCCTTAAGATC
EXON 1B	332	TCTGGCTCATGTGTTTGCTCCGAGGTATAG	CTTCCATGCCAGCTGTTTTTCCTGTCACTC
EXON 16	290	TCTATGCAAATGAGCAAATACACGC	GGTATCACTAACCTGTGCTGTACTC
EXON 41	274	GTTAGCTAACTGCCCTGGGCCCTGTATTG	TAGAGTAGTAGTTGCAAACACATACGTGG
EXON 32	253	GACCAGTTATTGTTTGAAAGGCAAA	TTGCCACCAGAAATACATACCACACAATG
EXON 53	212	TTGAAAGAATTCAGAATCAGTGGGATG	CTTGGTTTCTGTGATTTTCTTTTGGATTG
EXON 42	195	CACACTGTCCGTGAAGAAACGATGATGG	CTTCAGAGACTCCTCTTGCTTAAAGAGAT
EXON 34	171	GTAACAGAAAGAAAGCAACAGTTGGAGAA	CTTTCCCCAGGCAACTTCAGAATCCAAA
		SET C PRIMERS	

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: نتایج بدست آمده از بیماران تحت مطالعه به همراه سن و قومیت آنان.

	سن	قومیت	حذف یا عدم حذف اگزون
۱	۱۲ سال	عرب	۴۴
۲	۵ سال	عرب	۴۵
۳	۶ سال	عرب	۴۵
۴	۳ سال	عرب	۴۶ تا ۵۱
۵	۲۰ سال	عرب	۴۶ تا ۵۱
۶	۵ سال	فارس	۴۴ تا ۴۷
۷	۶ سال	فارس	۴۶ تا ۴۹
۸	۸ سال	فارس	۴۶ تا ۴۸
۹	۷ سال	فارس	۴۱ تا ۴۲
۱۰	۶ ماهه	عرب	حذفی مشاهده نشد
۱۱	۱۵ سال	فارس	حذفی مشاهده نشد
۱۲	۴ سال	عرب	حذفی مشاهده نشد
۱۳	۷ سال	عرب	حذفی مشاهده نشد
۱۴	۳ سال	عرب	حذفی مشاهده نشد
۱۵	۴ سال	فارس	حذفی مشاهده نشد
۱۶	۵ سال	فارس	حذفی مشاهده نشد
۱۷	۱۲ سال	عرب	حذفی مشاهده نشد

بحث و نتیجه گیری

بیماری دیستروفی عضلانی دوشن یک بیماری ژنتیکی با الگوی وابسته به جنس مغلوب می باشد. به عبارت دیگر اگر خانمی در یکی از دو کروموزوم X خود در ژن دیستروفین دچار نقص باشد، نسخه دوم ژن بر روی کروموزوم X دیگر می تواند وظیفه خود را انجام داده و در نتیجه خانم از نظر کلینیکی سالم، اما ناقل ژن بیماری دوشن خواهد بود. در نتیجه ۵۰ درصد دختران این مادر ناقل و فرزندان پسر این خانواده با احتمال ۵۰ درصد مبتلا خواهند بود (۷).

شناسایی جهش های احتمالی در ژن دیستروفین در بیماران مبتلا به دوشن با توجه به وجود بیش از ۷۹ اگزون کار دشوار، پرهزینه و وقت گیری می باشد(۷). ژن دیستروفین با طول ۲/۳ مگاباز بزرگترین ژن شناخته شده در انسان می باشد و حدود یک درصد کل حجم کروموزوم X را به خود اختصاص می دهد. از طرف دیگر بطور میانگین در بیش از ۶۵ درصد مبتلایان به دوشن، حذف های کوچک منجر به غیر فعال شدن ژن می شوند. به همین دلیل در بررسی های مولکولی ابتدا به تشخیص حذف های مذکور پرداخته می شود. یک روش مناسب جهت تعیین حذف های ژن دیستروفین در سال ۱۹۸۸ میلادی پیشنهاد گردید که به Multiplex-PCR معروف می باشد(۷). در این روش که از تکنیک واکنش زنجیره ای پلیمرازی بهره می جوید، برای

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین حذف در هر اگزون از یک جفت پرایمر تخصصی استفاده می گردد. این متد در سال ۱۹۹۰ بهینه سازی شده و امروزه می توان با این روش در بیش از ۹۵ درصد موارد حذف اگزونی را در بیماران شناسایی کرد (۸).

در تحقیق حاضر نیز با کمک روش مذکور، حذف های اگزونی در ۹ بیمار شناسایی شد. خانواده ها و بیماران مورد بررسی در این تحقیق از قومیت های عرب زبان (۱۰ نفر) و فارسی زبان (۷ نفر) استان خوزستان می باشند.

حذف اگزون ۴۵ در ژن دیستروفین طبق گزارشات قبلی پس از اگزون های ۴۷، ۴۸ و ۵۰ چهارمین حذف رایج در ایران می باشد (۹). بطور کل بنظر می رسد که درصد وجود حذف در ژن دیستروفین در قومیت های مختلف متفاوت باشد(۱۰) . بعنوان مثال در آمریکای شمالی و اروپا در بیش از ۷۰ درصد موارد بررسی شده، حذف ژنی عامل دوشن گزارش شده است (۱۴-۱۱). در کشور های آسیایی ۴۰ تا ۶۰ درصد موارد را حذف ژنی به خود اختصاص می دهد (۱۵-۱۲). در این بین بیشترین آمار متعلق به کشورهای عربی با ۸۶ درصد می باشد (۱۶). در بررسی حاضر حذف ژنی در ۵۳ درصد موارد دیده شده است که اگر تشخیص بالینی و اولیه صحیح باشد، تقریبا نیمی از مبتلایان را شامل می شود. البته لازم بذکر است که یکی از بیماران مورد بررسی در این تحقیق نوزادی۶ ماهه بوده که به علت نگرفتن گردن و کم تحرکی کاندید بیماری دوشن شده است. در این نوزاد حذفی مشاهده نگردید. در این مورد خاص می توان اذعان کرد که بیماری شایع دیگری مانند آتروفی عضلانی عصبی می تواند عامل اصلی بیماری در نوزاد باشد که دارای الگوی ژنتیکی اتوزوم مغلوب است و بر خلاف بیماری دوشن وابسته به جنس نمی باشد. تحقیق دیگری که اخیرا در تهران صورت گرفته نشانگر حذف در ۵۲ درصد بیماران مبتلا به دوشن بوده است که با نتایج حاضر مطابقت دارد (۱۷).

نکته جالب دیگری که می توان به آن اشاره کرد، موقعیت ژنی حذف ها در مطالعه حاضر است. همانگونه که در شکل ۲ مشاهده می شود، همه حذف های شناسایی شده بین اگزون های ۴۴ تا ۵۲ می باشند . در مقایسه، گزارشات مربوط به دیگر نقاط ایران منطقه گسترده تری از حذف ها را در دو منطقه شامل اگزون های ۳ تا ۱۹ و ۴۴ تا ۵۲ را نشان می دهند (۱۷،۹).

همچنین فراوانی حذف های اگزونی در ژن دیستروفین در جمعیت های مختلف مقایسه شده (خطوط مشکی رنگ افقی محدوده حذف ها در جمعیت های مختلف را نشان می دهد). در بررسی حاضر حذف ها محدود به اگزون های ۴۱ تا ۵۲ باشند. در دیگر گزارشات، حذف اگزون های پایین تر از اگزون ۴۰ نیز در بیماران ایرانی نشان داده شده است. در آسیای شرقی اکثر حذف ها در نیمه ابتدایی ژن رخ می دهد اما در آسیای غربی، اروپا و آمریکا بیشترین حذف ها در وسط و نیمه دوم ژن اتفاق می افتد (۱۷).

با توجه به اینکه در ۴۷ درصد بیماران با تشخیص بالینی دوشن حذفی مشاهده نشده است، بررسی جهش های نقطه ای در بقیه بیماران مبتلا به ضعف عضلانی دوشن توصیه می گردد که با توجه به اینکه ژن دیستروفین یکی از بزرگ ترین ژن های شناخته شده در انسان بشمار می رود، کاری پرهزینه و وقت گیر اما اجتناب ناپذیرخواهد بود (۷).

علاوه بر این، انواع دیگری از بیماری های عضلانی ممکن است با دیستروفی عضلانی دوشن اشتباه شوند. تشخیص و تمایز این گونه بیماری ها نیاز به ارجاع بیمار به پزشک متخصص و انجام پاره ای آزمایشات تخصصی و در صورت امکان بررسی مولکولی از نظر ژن مسوول بیماری دارد.

به هر حال نتایج بدست آمده از سه منظر حائز اهمیت است: ۱) مطالعه حاضر نشان داد که با استفاده از روش multiplex-PCR می توان علت ژنتیکی بخش قابل توجه ای از بیماران مبتلا به دیستروفی عضلانی دوشن

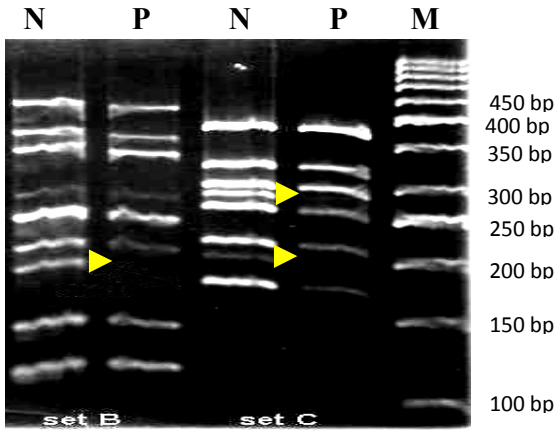
www.SID.ir

Archive of SID

را در اهواز تشخیص داد. البته روش های نوین تری نیز وجود دارند که به واسطه آن می توان طیف وسیعی از حذف ها و نوآرایی ژنی شناخته شده در ژن دیستروفین را در اسرع وقت بررسی نمود. یکی از این روش ها MLPA (multiple ligation- dependent probe amplification) نام دارد (۱۸) که متاسفانه هنوز در ایران امکان استفاده آن بسیار محدود است. ۲) به نظر می رسد که تمرکز حذف های رایج در اهواز بین اگزون های ۴۰ تا ۵۰ باشد و قومیت، نقش چندانی ایفا نمی کند. (البته با نمونه های بیشتر می توان قطعی تر در این مورد اظهار نظر نمود). با توجه به این اطلاعات می توان تست های سریع تری را طراحی نمود که با کمک آن بتوان این ناحیه را در اسرع وقت بررسی کرد. ۳) همچنین با بررسی هایی مانند آنالیز پیوستگی می توان خانم های خویشاوندی را (مانند خواهر، خاله و بچه های آنان) که احتمال ناقل بودن آنها داده می شود، ردیابی کرده و در صورت تمایل از نحوه تشخیص پیش از تولد آگاه ساخت.

آنالیز پیوستگی می تواند با استفاده از مارکرهای STR(short tandem repeat) یا توالی های کوتاه تکراری پشت سرهم در نزدیکی یا در ژن دیستروفین و در خانواده هایی که دارای حداقل یک بیمار هستند انجام شود. هدف از اینگونه بررسی ها بطور معمول شناسایی ناقلین مونث در یک خانواده می باشد (۱۷).

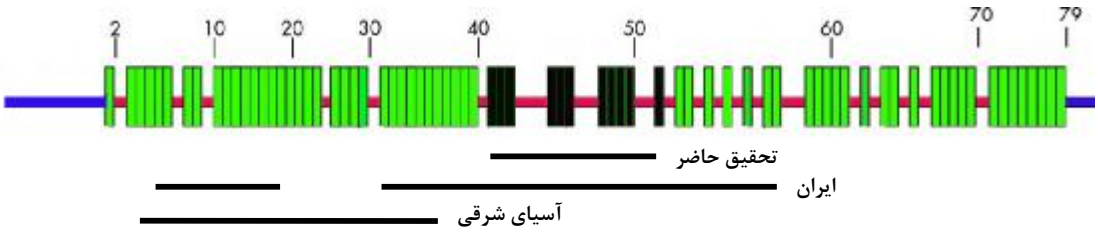
البته باید اذعان نمود که بیش از ۳۰ درصد بیماران دوشن حاصل جهش های جدید یا *de novo* در ژن دیستروفین می باشند (۳). در نتیجه پیش آگهی بیماری همیشه امکان پذیر نیست.



شکل ۱: نتایج بدست آمده از Multiplex PCR با استفاده از پرایمرهای تخصصی جهت تکثیر اگزون های ژن دیستروفین که طی آن ۲۷ اگزون در سه واکنش مستقل بررسی شدند. نمونه ها ی set-B و set-C بر روی ژل آگاروز دیده می شوند. N: نمونه فرد سالم، P: نمونه بیمار دوشن،M : 50 bp DNA ladder.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: ساختار ژن دیستروفین با ۷۹ اگزون. اگزون ها بصورت جعبه های عمودی سبز رنگ و اینترون ها بصورت خطوط افقی قرمز رنگ نشان داده شده اند. بخش های تنظیمی ژن بصورت خطوط افقی آبی رنگ مشخص شده اند. جعبه های عمودی مشکی رنگ نشان دهنده تمرکز حذف ها در بررسی حاضر می باشد.

منابع

1-Maheshwari M, Vijaya R, Kabra M, Arora S, Shastri SS, Deka D, et al. Prenatal diagnosis of duchenne muscular dystrophy. Natl Med J India. 2000 May-Jun;13(3):129-31. [PMID=11558111]

2-Emery AE. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases - a world survey. Neuromuscul Disord. 1991;1(1):19-29. [PMID=1822774]

3-Roberts RG, Cole CG, Hart KA, Bobrow M, Bentley DR. Rapid carrier and prenatal diagnosis of Duchenne and Becker muscular dystrophy. Nucleic Acids Res. 1989 Jan 25;17(2):811. [PMID=2563578]

4-Buzin CH, Feng J, Yan J, Scaringe W, Liu Q, den Dunnen J, et al. Mutation rates in the dystrophin gene: a hotspot of mutation at a CpG dinucleotide. Hum Mutat. 2005 Feb; 25(2):177-88. [PMID=15643612]

5-Evans MI, Krivchenia EL, Johnson MP, Quintero RA, King M, et al. In utero fetal muscle biopsy for diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. Fetal Diagn Ther. 1995 Mar-Apr; 10(2):71-5. [PMID=7794517]

6-Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Nelson Text book of Pediatrics. 17th ed. Philadelphia (PA): Saunders; 2003. P. 174.

7-Prior TW, Bridgeman SJ (2005). Experience and strategy for the molecular testing of Duchenne muscular dystrophy. J Mol Diagn. 2005 Aug;7(3):317-26. [PMID=16049303]

8-Beggs AH, Koenig M, Boyce FM, Kunkel LM. Detection of 98% of DMD/ BMD gene deletions by polymerase Chain reaction. Hum. Genet.1990 Nov;86(1):45-8. [PMID=2253937]

9-Kheradmand kia S, Farhud DD, Zeinali S, Mowjoodi AR, Najmabadi H. Molecular Analysis of Iranian Pateints with Duchenne/Becker muscular dystrophy. Iranian J Publ Health. 2003; 32(3):47-53.[Cross Ref]

10-Banerjee M, Verma IC. Are there ethnic differences in deletions in the dystrophin gene? Am J Med Genet. 1997 Jan 20;68(2):152-7.[PMID=9028449]

11-Wang X, Wang Z, Yan M, Huang S, Chen TJ, Zhong N. Similarity of DMD gene deletion and duplication in the Chinese patients compared to global populations. Behav Brain Funct. 2008 Apr;4:20. [PMID=18445268]

12-Jabbarpour Bonyadi M, Barzegar M, Ayremlo H, Khandagi R, Esmaily M. Screening and genetic diagnosis of Duchenne-Becker muscular dystrophy in east Azarbaijan by multiplex-PCR. Medical journal of Tabriz university of medical sciences. 2006 Spring;28(4):33-9.[Cross Ref]

13-Mutirangura A, Jongpiputvanich S, Norapucsunton T, Theamboonlers A, Srivuthana S, Promchainant C, et al. Multiplex PCR to detect the dystrophin gene deletion in Thai patients. J Med Assoc Thai. 1995 Sep;78(9):460-5. [PMID=7561572]

14-Battaloğlu E, Telatar M, Deymeer F, Serdaroğlu P, Kuseyri F, Ozdemir C, et al. DNA analysis in Turkish Duchenne and Becker muscular dystrophy Families. Hum Genet. 1992 Aug;89(6):635-9. [PMID=1355068]

www.SID.ir

Archive of SID

15-Gokgoz N, Kuseyri F, Topaloğlu H, Yüksel-Apak M, Kirdar B. Screening of deletions and RFLP analysis in Turkish DMD/BMD families by PCR. Clin Genet. 1993 May;43(5):261-6. [PMID=8104108]
16-Haider MZ, Bastaki L, Habib Y, Moosa A. Screening 25 dystrophin gene exons for deletions in Arab children with Duchenne muscular dystrophy. Hum Hered. 1998 Mar-Apr; 48(2):61-6. [PMID=9526164]
17-Akbari MT, Zare Kariz Sh, Nafisi Sh, Zamani GR . Molecular diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy: Analysis of exons deletion and carrier detection.cell journal (yakhteh) 2010 Fall; 12(3 (47)):421-8. [Cross Ref]
18-Zeng F, Ren ZR, Huang SZ, Kalf M, Mommersteeg M, Smit M, et al. Array-MLPA: comprehensive detection of deletions and duplications and its application to DMD patients. Hum Mutat. 2008 Jan;29(1):190-7. [PMID=17854090]

www.SID.ir

Archive of SID

Study of Exon Deletion in the Dystrophin Gene in Individuals Being Diagnosed with Duchenne Muscular Dystrophy in Ahvaz

Galehdari H[1*], Pedram M[2], Momen AA[3], Mohammadian GH R[4], Taherian E[5]

1-Associated Professor of Genetics
2-Professor of Pediatrics Hematology & Oncology
3- Associated Professor of Pediatrics
4- M.Sc.of Genetics
5- B.S of Genetics

1-Department of Genetics, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz
2-Research Center for Thalassemia And Hemoglobinopathies of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences Ahvaz, Iran.
3- Department of Pediatric - Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences Ahvaz, Iran.
4-Genetic Center of The Welfare Organization, Ahvaz
5-Toxicology Research Center of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences Ahvaz, Iran.

**Corresponding author:*
Department of Genetics, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Tel: ++989166149028
Email:
galehdari187@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Duchenne muscular dystrophy is an X-linked genetic disorder resulting from mutation or deletion in the Dystrophin gene. The aim of this study was to evaluate the primary diagnosis of affected individuals that have been referred to the genetic lab of the Shafa hospital in Ahvaz. Progressive muscle weakness was present in all the patients.

Subjects and Methods: DNA from peripheral blood was extracted from affected patients and subsequent multiplex-PCR was performed to determine putative deletions in the Dystrophin gene.

Results: in 53% of cases were deletions identified in exons 44-51 in the Dystrophin gene and therefore the clinical diagnosis could be confirmed. On the other hand, we found no deletion in 47% of cases.

Conclusion: it seems that the patients suffering Duchenne muscular Dystrophy in Ahvaz show, independent to their ethnicity, the gene inactivating deletion in the end part of the Dystrophin gene. These results would be used for the differential and for the prenatal diagnosis in the Khuzestan province.

Sci Med J 2011;10(4):373-382

Keywords: Duchenne muscular Dystrophy,Dystrophin gene, progressive muscle weakness.

Received: Aug 9, 2010 **Revised: Aug 21, 2010** **Accepted: Mar 1, 2011**

www.SID.ir