Archive of SID

مجلهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۲۷ شماره ۴ زمستان ۱۳۸۴ صفحات ۲۸- ۲۳

مطالعه ژن SMN1 در بیماران مبتلا به آتروفی عضلانی ـ نخاعی تیپ ۱ (Werdnig-Hoffman) و تیپ ۲ در آذربایجان شرقی

دکتر مرتضی جبارپور بنیادی: استادیار گروه ژنتیک، دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی (آزمایشگاه ژنتیک): نویسنده رابط
E-mail: bonyadim@tbzmed.ac.ir
دکتر امید عمرانی: دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه تبریز
دکتر محمد علی حسینپور فیضی: استاد گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز
دکتر محمد برزگر: دانشیار گروه آموزشی کودکان، بیمارستان کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر کاظم سخا: دانشیار گروه آموزشی کودکان، بیمارستان کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر مجتبی محدث اردبیلی: استادیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
حسین نداف نیا: دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه تبریز

دریافت: ۸۳/۹/۸، پذیرش: ۸۴/۱/۱۷

چکیده

زمینه و اهداف: بیماری(Spinal Muscular Atrophy, SMA) ، یک گروه از اختلالات ماهیچه ای ـ عصبی است که با تحلیل نورونهای حرکتی نخاع همراه بوده و سبب ضعف عضلانی می‌گردد. این بیماری بعد از بیماری فیبروز کیستیک شایعترین بیماری اتوزوم مغلوب بشمار می آید که فراوانی آن یک نوزاد از هر ۱۰۰۰۰ تولد می‌باشد. در اکثر این بیماران ژن (SMA1) متحمل حذف شدگی در اگزونهای ۷ و یا ۸ گردیده است. در این مطالعه با استفاده از روشهای مولکولی، هر دو اگزون از ژن مذکور در مبتلایان به این بیماری در منطقه مورد نظر مورد بررسی قرار گرفتند.

روش بررسی : افراد مشکوک به بیماری SMA بعد از تشخیص کلینیکی و آزمایشگاهی توسط متخصصین مغز و اعصاب، جهت مطالعه مولکولی ارجاع داده شده و پس از استخراج DNA از خون مبتلایان، حذف شدگی اگزونهای ۷ و ۸ ژن SMN1 با استفاده از تکنیک PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها : در بین بیماران تیپ یک، ۴۳/۳٪ دارای حذف شدگی در هر دو اگزون ۷ و اگزون ۸ بوده و در۴۶/۶٪ حذف شدگی در اگزون ۷ و در ۴۶/۶٪ حذف شدگی در اگزون ۸ مشاهده گردید. در تیپ دو نیز۶/۲۵٪ دارای حذف شدگی در هر دو اگزون بودند. در بین مبتلایان به این تیپ بیماری نیز حذف شدگی اگزون ۷ در۶/۲۵ ٪ و حذف شدگی اگزون ۸ در ۶/۲۵٪ مبتلایان مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری : حذف شدگی هر دو اگزون ۷ و ۸ در ژن SMN1 در اکثر مبتلایان به بیماری SMA تیپهای یک و دو مشاهده گردید.

کلید واژه ها : آتروفی عضلانی نخاعی نوع یک، آتروفی عضلانی نخاعی نوع ۲، SMN1

مقدمه:

بیماری SMA1[1] از جمله بیماریهای ماهیچه ای- عصبی محسوب میشود. این بیماری بعد از بیماری فیبروز کیستیک شایعترین اختلال اتوزومی مغلوب در دنیا است (۱). در این بیماری نورونهای حرکتی شاخ قدامی نخاع و پایه مغز تحلیل رفته و فرد مبتلا در انجام بعضی حرکات ارادی دچار مشکل می‌شود (۲).

احتمال ناقل بودن افراد ۱/۴۰ و میزان شیوع این بیماری یک در شش هزار تا ده هزار تولد است (۳).

این بیماری از لحاظ کلینیکی دارای چهار تیپ مختلف می‌باشد. در تیپ یک (Werdnig-Hoffmann) که شدیدترین تیپ بیماری SMA محسوب می‌گردد، سن بروز علایم کلینیکی از تولد تا شش ماهگی است. در دوران جنینی، جنینهای مبتلا به بیماری SMA دارای فعالیت و حرکت نسبتاً کمی در مقایسه با جنین‌های نرمال هستند. در این تیپ از بیماری SMA، نوزاد مبتلا قادر به غلط خوردن و نشستن نبوده و معمولاً بدلیل مشکلات تنفسی قبل از سن دو سالگی فوت می‌شود (۴).

www.SID.ir

Archive of SID

در تیپ دو این بیماری، که شکل حدواسط بیماری بوده، زمان بروز علائم کلینیکی در بین نوزادان مبتلا از شش ماهگی تا بیست و چهار ماهگی است. این نوزادان مبتلا به تنهایی قادر به نشستن بوده ولی برای راه رفتن نیاز به کمک دارند. در این بیماران ندرتاً هیپرتروفی کاذب ماهیچه‌های ساق پا نظیر مبتلایان به دیستروفی عضلانی دوشن نیز دیده می‌شود (۲). با توجه به میزان ضعف عضلات تنفسی معمولاً این بیماران تا بالای ده سال عمر می‌کنند.

تیپ سه این بیماری که Kugelberg-Welander نیز نامیده می‌شود، خفیف ترین شکل بیماری است. در این بیماران سن شروع علایم کلینیکی از ۱۸ ماهگی به بعد بوده و این مبتلایان به تنهایی قادر به راه رفتن می‌باشند. در این افراد هیپرتروفی ماهیچه‌های ساق پا و رعشه دست‌ها نیز دیده می‌شود (۲).

تیپ چهار شامل افرادی است که علایم کلینیکی را در سن بالای ۳۰ سال بروز می‌دهند. در این مبتلایان ضعف عضلانی در بازو و ران مشاهده شده و هیپرتروفی کاذب ماهیچه‌های پا باعث می‌شود که علائم بالینی با بیماری دیستروفی عضلانی دوشن اشتباه گرفته شود (۲).

در سال ۱۹۹۵ ژن مربوط به بیماری SMA توسط Lefebvre و همکارانش (۵) تشخیص داده شد. این ژن که SMN نامیده می‌شود، در اکثر این بیماران دچار حذف‌شدگی است. مطالعات بعدی نشان دادند که ژنهای موثر دیگری مانندNAIP[1]، P44، H4F5(SERF1) وجود دارند که در شدت بروز این بیماری موثرند. جایگاه کروموزومی تمامی این ژنها بر روی بازوی بلند کروموزوم ۵ می‌باشد.

ژن SMN[2] دارای دو نسخه سانترومری یا SMNc (SMN1) و تلومری یا SMNt (SMN2) است. تفاوت این دو نسخه در۸ جفت باز است که دو جفت آنها در اگزون ۷ و اگزون ۸ قرار دارد. تفاوتهای مذکور امکان تشخیص نسخه سانترومری از تلومری را مقدور می‌سازد. در ۹۸/۶٪ از بیماران بدون توجه به شدت بیماری، اگزون ۷ ژن SMN1 متحمل حذف‌شدگی شده است (۶).

پروتئین کد شده توسط این دو ژن شباهت زیادی با همدیگر دارند ولی از آنجا که در اکثر بیماران نسخه سانترومری دچار حذف‌شدگی می‌باشد، بنظر میرسد که پرتئین حاصل از نسخه سانترومری دارای نقش مهمتری باشد. بر اساس مطالعات انجام شده، عدم وجود پروتئین طبیعی SMN سبب مرگ سلولی یا آپوپتوزیز در نورونهای حرکتی می‌گردد (۷). تاکنون ارتباط دقیقی بین حذف‌شدگی در ژن SMN و علائم کلینیکی بروز داده، بدست نیامده ولی بنظر می‌رسد هر چه میزان حذف‌شدگی در این ژن بیشتر باشد بیماری در سنین پایینتر و با شدت بیشتری عارض می‌شود. در این بیماری ژنهای موثر دیگری نیز گزارش شده‌اند مانند NAIP و P44 که نقش آنها تعدیل عملکرد پروتئین SMN است (۸ و۹).

با توجه به اینکه درمان این بیماری مراحل اولیه خود را طی می‌کند (۱۰) و درمان قابل اعتمادی برای آن مشخص نشده است، تشخیص مولکولی قبل از تولد راهی موثر برای جلوگیری از تولد فرزندان مبتلا در خانواده‌هایی که قبلاً سابقه بروز بیماری داشته‌اند، می‌باشد.

در این بررسی برای اولین بار فرکانس شیوع بیماری و رابطه نوع حذف‌شدگی ژنی با شدت بیماری در منطقه آذربایجانشرقی بر اساس روش ژنتیک مولکولی مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها

معرفی بیمار و استخراج DNA: از افرادیکه توسط متخصصین مغز و اعصاب بیمارستان کودکان بعنوان مشکوک به SMA به مرکز معرفی شده بودند، خونگیری توسط پرستار همکار بعمل آمد. خون سریعاً به آزمایشگاه مرکزی جهت استخراج DNA منتقل شده و یا در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگه داری تا در زمان مناسب به آزمایشگاه منتقل گردد. استخراج DNA با روش فنل- کلروفرم صورت پذیرفت. به اختصار بعد از لیز کردن سلولهای گلبولهای قرمز، گلبولهای سفید جدا و در SE buffer ، 10% SDS و Proteinase K حل و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۴۵-۶۰ درجه سانتی گراد جهت لیز کردن سلولهای سفید خون در بن ماری نگهداری گردید. بعد از اضافه کردن فنل ـ کلروفورم به اندازه یکسان، محلول حاوی DNA جدا و به این مایع به حجم ۱ به۱۰ سدیم استات(3M) و دو برابر حجم خون اولیه اتانول مطلق سرد افزوده تا رشته DNA ظاهر گردد. رشته DNA حاصل در مقدار لازمی از آب استریل شده و یا TE بافر حل شد.

تکنیک PCR : جهت تکثیر ژن SMN از روش PCR استفاده گردید. در این روش، از دو جفت پرایمر برای تکثیر اگزونهای ۷ و ۸ که قبلاً در مقالات دیگر(۱۱) گزارش شده بود، استفاده گردید. به اختصار برای انجام PCR در حجم نهایی به مقدار ۲۵ میکرو لیتر، از MgCl2 با غلظت نهایی 1.5 mM، بافر PCR با غلظت نهایی 1X، آنزیم Taq پلیمراز یک واحد (سیناژن)، dNTP با غلظت نهایی 0.2 mM استفاده گردید. برنامه ارائه شده برای چرخه های PCR به قرار ذیل بوده است:

تکثیر اگزون ۷ ژن SMN: چرخه اول با ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۷ دقیقه جهت جدا کردن رشته های DNA از همدیگر شروع شده و سپس چرخه های بعدی بصورت، ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای یک دقیقه، ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، ۷۲ درجه سانتی گراد برای یک دقیقه تنظیم شده بود که این چرخه برای ۳۵ بار تکرار شده و بعد از تکمیل چرخه ها، آخرین چرخه با ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه به اتمام رسید.

تکثیر اگزون ۸ ژن SMN: تنها تفاوت با اگزون ۷، استفاده از دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد جهت پیوستن آغازگرها (پرایمرها) به DNA بود.

محصول PCR اگزون ۷ ، ۱۸۹جفت باز (شکل ۱) و محصول PCR اگزون ۸ ، ۱۸۸ جفت باز است (شکل ۲).

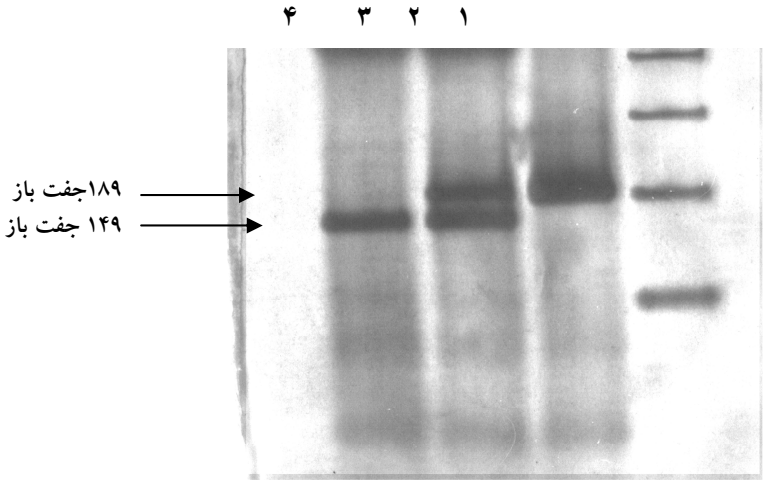
هضم آنزیمی : برای تشخیص اگزونهای دو ژن SMN1 و SMN2 از آنزیمهای محدودالاثر استفاده شد. در مورد اگزون ۷ از

1. Spinal muscular atrophy, SMA

www.SID.ir

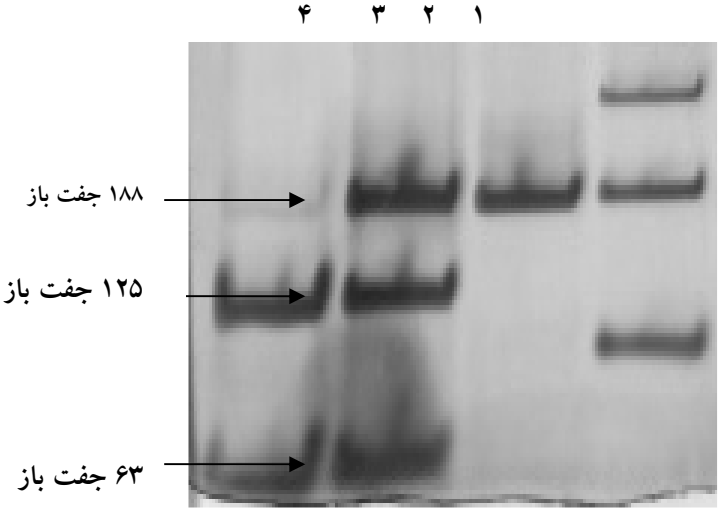
Archive of SID

آنزیم محدودالاثر DraI استفاده شد که این آنزیم اگـزون ۷ نـسخه سانترومری ژن SMN (SMN2) را بـرش داده و دو قطعـه ۱۴۹ و ۴۰ جفت بازی ایجاد می کند(شکل ۱) و به منظـور تـشخیص دو اگزون ۸ تکثیـر یافتـه از آنـزیم DdeI اسـتفاده گردیـد کـه نـسخه سانترومری اگـزون ۸ را بـرش داده و دو قطعـه ۱۲۵ و ۶۳ جفـت بازی تولید میکند (شـکل ۲). بـرای هـضم آنزیمـی در حجـم ۲۰ میکرولیتر از ۱۰ میکرولیتر محصول PCR، آنزیم محـدودالاثر یـک واحد و بافر آنزیم محدودالاثر با غلظـت 1X اسـتفاده شـد. هـضم آنزیمی در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد به مـدت ۱۸ سـاعت انجـام گردید. بـرای مـشاهده محـصولات PCR و هـضم آنزیمـی از ژل آگاروز ۱/۵٪ و در صورت لزوم از ژل پلی‌آکریلآمیـد ۸ درصـد بـا رنگ آمیزی اتیدیوم برماید استفاده شد.



شکل ۱: مطالعه اگزون ۷ ژن SMN1 در افراد مشکوک به بیماری SMA با استفاده از روش PCR-RFLP.

لاین ۱، نشانگر یا Ladder است. لاین ۲، محصول PCR از اگزون ۷ است که مربوط به هر دو آلل SMN1 و SMN2 است. جهت تمییز اگزون ۷ در این دو آلل، محصول PCR توسط آنزیم محدودالاثر DraI قطع شده و بر روی ژل پلی آکریل آمید الکتروفورز گردید. در لاین ۳، محصول این هضم شدگی مشاهده می‌شود که دو باند مربوط به دو آلل کاملاً از هم تمیز داده می‌شود. لاین ۴، مربوط به بیماری مبتلا به SMA است که فاقد اگزون ۷ ژن SMN1 بوده و ژن SMN2 سالم است.



شکل ۲: مطالعه اگزون ۸ ژن SMN1 در افراد مشکوک به بیماری SMA با استفاده از روش PCR-RFLP.

لاین ۱، نشانگر یا Ladder است. لاین ۲، محصول PCR از اگزون ۸ است که مربوط به هر دو آلل SMN1 و SMN2 است. جهت تمییز اگـزون ۸ در این دو آلل، محصول PCR توسط آنزیم محدودالاثر DdeI برش داده شده و بر روی ژل پلی آکریل آمید الکتروفورز گردید. در لاین ۳، محـصول ایـن هـضم شدگی مشاهده می‌شود که دو باند مربوط به دو آلل کاملاً از هم تمییز داده می‌شوند. لاین ۴، مربوط به بیماری مبتلا بـه SMA اسـت کـه فاقـد اگـزون ۸ ژن SMN1 بوده و ژن SMN2 سالم میباشد.

جدول ۱: تعداد حذف شدگی اگزونهای ۷ و ۸ از ژن SMN در بیمارانی با آتروفی عضلانی نخاعی

تیپ بیماری	تعداد بیمار	حذف شدگی اگزون ۷	حذف شدگی اگزون ۸	حذف شدگی هر دو اگزون ۷	فاقد حذف شدگی در

www.SID.ir

Archive of SID

				و ۸	اگزونهای ۷ و ۸
تیپ یک	۳۰ نفر	١٤ نفر	١٤ نفر	۱۳ نفر	۱۵ نفر
تیپ دو	١٦ نفر	۱ نفر	۱ نفر	۱ نفر	۱۵ نفر

یافته ها

در این پژوهش ۴۶ بیمار(۳۰ بیمار تیپ یک و ۱۶ بیمار تیپ دو) که توسط متخصصین مغز و اعصاب بیمارستان کودکان تبریز معرفی شده بودند، مورد بررسی مولکولی قرار گرفتند. ١٤ نفر از بیماران تیپ یک (۴۶/۶٪) و یک نفر از بیماران تیپ دو (۶/۲۵٪) دارای حذف شدگی اگزون ۷ بودند. حذف شدگی اگزون ۸ در بین بیماران تیپ یک در ١٤ نفر (۴۶/۶٪) و در بین بیماران تیپ دو در یک نفر (۶/۲۵٪) مشاهده گردید. بطور کلی در١٤ نفر از مبتلایان (۳۰/۴٪) حذف شدگی در هر دو اگزون ۷ و اگزون ۸ وجود داشت(جدول ۱). در بین مبتلایان ۳۱ مورد(۶۹/۳٪) محصول ازدواج فامیلی بوده که ۲۱ مورد(۶۷/۷٪) از آنها مبتلا به بیماری تیپ یک بوده و ۱۰مورد دیگر(۳۲/۳٪) مبتلا به بیماری تیپ دو بودند. از ۴۶ بیمار بررسی شده ۳۰ مورد (۶۵/۲٪) فاقد هر گونه حذف شدگی در اگزونهای ۷ و ۸ ژن SMN1 بودند.

بحث

بطور کلی بر اساس مطالعات انجام شده توسط Lefebvre و همکارانش در سال۱۹۹۵ مشخص شده است که در ۹۸/۶ درصد بیماران مبتلا به SMA حذف شدگی در ژن SMN وجود دارد. در این میان حذف شدگی اگزون ۷ به تنهایی برابر ۹۵ الی ۹۸ درصد است. در واقع بیش از ۹۰ درصد بیماران تیپ یک و تیپ دو در جمعیت های مختلف مانند ایالات متحده، آلمان، ایتالیا، اسپانیا و چین دارای حذف شدگی در اگزون ۷ و اگزون ۸ می باشند(۱۵-۱۲). البته درصد های کمتر حذف شدگی همانگونه که در مطالعه ما دیده شده است در مطالعات دیگر بر روی جمعیتهایی نظیر جمعیت کانادا، ایالات متحده، لهستان نیز دیده شده است (۱۸-۱۶). بر اساس مطالعه ای که ما بر روی جمعیت آذربایجان شرقی و مناطق مجاور انجام دادیم، میزان حذف شدگی ژن SMN برابر ۳۵ درصد میباشد که این حذف شدگی در ۵۰ درصد بیماران تیپ یک و در ۶/۲۵ درصد بیماران تیپ دو مشاهده شده است. از آنجا که نیمی از بیماران حذف شدگی اگزونهای ژن SMN1 را نشان می دهند، بنظر می رسد همانگونه که توسط Lefebvre و همکارانش پیشنهاد شده است، جهش در این ژن نقش تعیین کننده و اساسی در بروز این بیماری داشته باشد. بر اساس مطالعه ای که در سال ۱۹۹۸ در عربستان سعودی انجام گرفته است ۸۳ درصد حذف شدگی در اگزون ۷ و ۸۳ درصد حذف شدگی در اگزون ۸ ژن SMN1 مربوط به بیماران تیپ یک مشاهده شده است (۱۸)، که این میزان در مطالعه ما به ۴۶/۶ درصد در مورد هر دو حذف شدگی کاهش یافته است. در برزیل نیز، بر اساس مطالعات انجام شده مشخص شده است که مبتلایان تیپ یک ، ۵ درصد حذف‌شدگی اگزون ۷ به تنهایی و ۷۵ درصد حذف‌شدگی در هر دو اگزون را نشان می دهند (۴). در این مطالعه ۴۵ درصد بیماران تیپ دو دارای حذف‌شدگی در هر دو اگزون ۷ و ۸ می باشند ولی حذف شدگی در مورد هر اگزون به تنهایی در هیچ کدام از بیماران تیپ دو مشاهده نشده است. در این مطالعه در بیماران تیپ دو فقط در یک مورد (۶/۲۵ درصد) حذف‌شدگی در هر دو اگزون دیده شده است در صورتی که بقیه بیماران فاقد حذف‌شدگی قابل تشخیص می‌باشند. در اکثر بیماران تیپ یک هر دو اگزون ۷ و ۸ از ژن SMN1 حذف شده‌اند که این نشان می‌دهد هر چه میزان حذف‌شدگی در این ناحیه از کروموزوم بیشتر باشد شدت بیماری نیز افزایش می یابد. حذف‌شدگی ژن SMN1 در بعضی از بیماران ارجاع داده شده مشاهده نشد. بر اساس مطالعات انجام شده درصد کمی از بیماران، فاقد حذف‌شدگی قابل تشخیص در اگزونهای ۷ و ۸ ژن SMN1 هستند. این می تواند ناشی از جهش در توالی های پروموتوری یا اینترونی ژن مربوطه و یا جهش نقطه ای در اگزونهای مورد مطالعه باشد که قابل تشخیص با تکنیک PCR-RFLP نیست. بنابراین بررسی توالی های دیگر این ژن در آینده پیشنهاد میشود. دلیل دیگر می تواند مربوط به هتروژنی ژنتیکی باشد یعنی اینکه جهش در ژن یا ژنهای دیگر، فنوتیپی مشابه با فنوتیپ بیماری SMA را ایجاد کند.

در بین مبتلایان دو مورد فاقد ژن SMN2 بودند درحالیکه هیچ گونه حذف شدگی در اگزون ۷ و اگزون ۸ ژن SMN1 را نشان ندادند. مطالعه والدین، برادران و خواهران سالم دیگر این افراد نشانگر وجود حذف شدگی در همین ژن در بعضی از اقوام درجه یک این افراد بوده که از نظر کلینیکی این افراد هیچگونه علائمی نشان نداده بودند. بنابراین، حذف شدگی ژن SMN2 به تنهایی تاثیری در بروز بیماری ندارد ولی احتمال داده می‌شود که در صورت حذف شدگی در ژنهای ناشناخته دیگر، حذف شدگی در این ژن باعث افزایش شدت بیماری گردد.

تقریباً در نیمی از بیماران اگزون ۷ و یا اگزون ۸ ژن SMN1 حذف شده است که نشان می دهد این اگزون‌ها نقش مهمی در ایجاد این بیماری دارند و احتمالاً بخشی از پروتئین SMN را کد می کنند که نقش اصلی را در عمل این پروتئین بازی می‌کند. بنابراین برای تشخیص مولکولی این بیماری در وهله اول بررسی حذف شدگی این اگزون‌ها ضروری است. دلیل دیگر بر این پیشنهاد این است که در بعضی بیماران حذف شدگی تنها در اگزون ۷ و در بعضی دیگر تنها در اگزون ۸ دیده می شود، ولی هر دو گروه دارای فنوتیپ‌های مشابه می باشند و البته در اکثر بیماران مطالعه شده، بیمار برای هر دو اگزون حذف شدگی نشان داده است. بر اساس یافته های موجود ٦٩/٣٪ از بیماران محصول ازدواج فامیلی بوده و بقیه موارد حاصل ازدواجهایی بودند که هر

www.SID.ir

Archive of SID

دو والدین آنها متعلق به یک منطقه کوچک (روستا) خاصی بودند که این نشانگر تاثیر اثر بنیان گذاری (Foundation Effect) است. بنابراین به نظر می رسد ازدواج های فامیلی، خویشاوندی و درون قومی تاثیر بالایی بر شیوع این بیماری، در این منطقه از کشور دارد.

نتیجه گیری

برای تشخیص مولکولی بیماری SMA مطالعه حذف شدگی اگزونهای ۷ و ۸ ژن SMN1 در منطقه مورد مطالعه در قدم اول نقش مهمی دارد. همچنین تشخیص بالینی دقیق در طبقه بندی بیماری SMA که از نظر کلینیکی با بعضی بیماریهای تحلیل عصبی دیگر تشابه زیاد دارد، خیلی مهم است. فرکانس حذف شدگی ژن SMN1 در مبتلایانی که بعنوان بیماری SMA به آزمایشگاه معرفی شده بودند، در مقایسه با مطالعات دیگر اندکی کم بوده که این ناشی از دخالت ژنهای موثر دیگر در بروز بیماری (هتروژنی ژنی)، جهشهای نقطه ای غیرقابل تشخیص در مناطق مختلف ژن و یا عدم تشخیص دقیق کلینیکی بیماری SMA توسط پزشکان متخصص است. از آنجا که هنوز درمان قطعی برای این بیماری وجود ندارد، فقط می توان از بروز بیماری در فرزندان دیگر جلوگیری کرد که البته این امر به کمک روش های تشخیص قبل از تولد امکان پذیر است. بر اساس یافته‌های این مطالعه، درصد بالای از مبتلایان محصول ازدواج فامیلی و خویشاوندی بوده‌اند. بنابراین، توصیه به کاهش ازدواجهای فامیلی می‌گردد که این تنها با افزایش آگاهی مردم (خصوصاً مناطق روستایی) میتوان به این هدف رسید.

تقدیر و تشکر

مولفین از ریاست مرکز تحقیقات کاربردی دارویی و دیگر همکاران در این مرکز و آزمایشگاه رادیوبیولوژی دانشکده علوم دانشگاه تبریز کمال تشکر را دارند. مولفین همچنین از خانم رقیه ابراهیمی پرستار بیمارستان کودکان تبریز بدلیل همکاری صمیمانه در خونگیری از مبتلایان کمال تشکر را دارند. بودجه مورد نیاز برای این پروژه تحقیقاتی توسط این مرکز، کد طرح پژوهشی (۸۳-۸۲)، تامین گردید.

References

1. Lefebvre S, Burglan L, Frezal J, Munnich A, Mel KJ. The role of the SMN gene in proximal spinal muscular atrophy. *Human Molecular Genetics*.1998; **7** (10): 1531- 1536.
2. Panigrahi I, Kesari A, Phadke SR, Mittal B. Clinical and molecular Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy. *Neurology India*. 2002; **50**:117-122.
3. Velasco E, Valero C, Valero A, Moreno F, Hernandez-Chico C. Molecular analysis of the SMN and NAIP genes in Spanish spinal muscular atrophy (SMA) families and correlation between number of copies of BCD541 and SMA phenotype. *Human Molecular Genetics*.1996; **5**: 257-263.
4. kim CA, Passos-Bueno MR, Marie SK, Cerqueira A, Conti U, Marques-Dias MJ, Gonzalez C, Zatz M. Clinical and molecular analysis of spinal muscular atrophy in Brazilian patients. *Genetics and Molecular Biology* 1999; **22** (4): 487-492.
5. Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, Clermon O, Burlet P, Viollet L, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell*.1995; **80**:155-66.
6. Zatkova A, Hahnan E, Wirth B, Kadasi L. Analysis of the SMN and NAIP Genes in Solvake Spinal Muscular Atrophy Patients. *Human Heredity*. 2000; **50** :171-174.
7. Vyas Sh, Bechade C, Riveau B, Downward J, Triller A. Involvement of survival motor neuron (SMN) protein in cell death. *Human Molecular Genetics*.2002; **11**:2751-2754.
8. Akutsu T, Nishio H, Sumino K, Takeshima Y, Tsuneishi S, Wada H, et al. Molecular Genetics of spinal muscular atrophy: Contribiotion of the NAIP gene to clinical severity. *Kobe J. Med. Sci*. 2002; **48**: 25-31.
9. Carter TA, Bonnemann CG, Wang CH, Silvana O, Parano E, Bonaldo MF, et al. The multicopy transcription-repair gene, BTF2p44, maps to the SMA region and demonstrates SMA associated deletions. *Human Molecular Genetics*.1997; **6**: 229-236.
10. Chang J, Hsieh-Li H, Jong Y, Wang NM, Tsai Ch, Li H. Treatment of spinal muscular atrophy by sodium butyrate. *PNAS*. 2001.98, **17**: 9808-9813.
11. Van der steege G, Grootscholten PM, Van der vlies P, Draaijers TG, Osinga J, Cobben JM, et al. PCR-based DNA test to confirm clinical diagnosis of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Lancet* 1995; **345**: 985-986.
12. Wang CH, Xu J, Carter TA, Ross BM, Sugarman EA, Alitto BA, Penchaszadeh GK, Munsat TL, Gilliam TC. Analysis of the survival motor neuron (SMN) gene in spinal muscular atrophy families. *Am. J. Hum. Genet*. 1995. **57** : A253.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Wirth B, Rudnik-Schöneborn S, Hahnen E, Rohrig D, Zerres K. Prenatal prediction in families with autosomal recessive proximal spinal muscular atrophy (5q11.2-q13.3): molecular genetics and clinical experience in 109 cases. *Prenat. Diagn*.1995. **15**: 407- 417.
14. Brahe C, Bertini E. Spinal muscular atrophies: recent insights and impact on molecular diagnosis. *J. Mol. Med*.1996. **74**: 555-562.
15. Bussaglia E, Clermont O, Tizzano E, Lefebvre S, Bürglen L, Cruaud C, Urtizberea JA, Colomer J, Minnich A, Baiget M, Melki J. A frame-shift deletion in the survival motor neuron gene in Spanish spinal muscular atrophy patients. *Nat*. Genet. 1995. **11**: 335-337.
16. Brzustowicz LM, Ricketts AH, Hausmanowa-Petrusewicz I. Extended haplotype analysis and deletions in the SMN gene in Polish families with spinal muscular atrophy. *Am. J. Hum*. Genet.1995. **57**: A209.
17. Aubry HL, Mackenzie AE, Surth LC. Delineating the mutations in spinal muscular atrophy: improved molecular detection and genotype-phenotype correlations. Am. J. Hum. Genet.1995. **57**: A234.
18. Kant JA, Rennert H, Joshi I, Wilson RB. Sensitivity of direct testing for SMN gene deletions in autosomal spinal muscular atrophy. *Am. J. Hum. Genet*. 1995. **57**: A331.
19. Al Rajeh S, Majumdar R, Awada A, Adeyokunnu A, Al Jumah M, Al Bunyan M, Snellen A. Molecular analysis of the SMN and NAIP genes in Saudi spinal muscular atrophy patients. *Neurological Sciences*.1998; **158**: 43-46.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir