

بررسی حذف‌های ژن SMN در بیماران ایرانی مبتلا به آتروفی عضلانی نخاعی و تشخیص پیش از تولد

ماندانا حسن زاد^۱، زهرا گلکار^۲، واله هادوی^۲، رکسانا کریمی نژاد^۲، نوید المدنی^۲، فریبا افروزان^۲،
ایمان سلحشوری فر^۲، یوسف شفقتی^۳، کیمیا کهریزی^۳، حسین نجم آبادی^۴

^۱ دانشجوی PhD ژنتیک مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران

^۲ مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی نژاد - نجم آبادی، تهران

^۳ دانشیار، مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، تهران

^۴ استاد، مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، تهران

چکیده

سابقه و هدف: آتروفی عضلانی نخاعی گروهی از بیماریهای نرون حرکتی هستند. سه ژن در ایجاد بیماری نقش دارند. مهم‌ترین آنها ژن SMN می‌باشد و دارای دو نسخه سانترومری و تلومری است. در ۹۵ درصد از بیماران SMA نسخه تلومری ژن SMN به طور هوموزیگوت حذف شده است و مابقی دارای جهش‌های نقطه‌ای در ژن مذکور می‌باشند. در اکثریت بیماران، اگزون‌های ۷ و ۸ ژن SMN1 حذف می‌شود. از این رو بررسی جهش‌های این ژن در شناسایی بیماران و ناقلین حائز اهمیت بسیاری است. هدف از این پژوهش بررسی جهش‌های ژن SMN1 و فراوانی آن در بیماران ایرانی است.

روش بررسی: پس از مشاوره دقیق و ارزیابی علائم بیماران بر اساس معیارهای کنسرسیون SMA، بررسی مولکولی با استفاده از روش PCR-RFLP انجام گرفت.

یافته‌ها: بیش از ۶۰ درصد از خانواده‌ها، ازدواج فامیلی داشته که اغلب از نواحی مرکزی و شمال ایران بودند. در این تحقیق ۲۴۳ خانواده از نظر جهش اگزون ۷ ژن SMN1 مورد بررسی قرار گرفتند که ۱۹۵ خانواده با سابقه SMAI، ۳۰ خانواده SMAII و ۱۸ خانواده باقی‌مانده در SMAIII طبقه‌بندی شدند. بررسی حذف اگزون ۷ در خانواده‌های با فرزند مبتلای زنده نشان داد که ۹۴ درصد از خانواده‌های SMAI، ۹۵ درصد SMAII و ۱۰۰ درصد SMAIII دارای حذف هوموزیگوت ژن SMN1 بودند. در تشخیص پیش از تولد از مجموع ۹۲ نمونه، ۲۱ نمونه (۲۲/۸ درصد) مبتلا بودند و ختم بارداری در آنها صورت گرفت.

نتیجه‌گیری: فراوانی هوموزیگوتی حذف اگزون ۷ ژن SMN1 در هر سه نوع SMA ۹۴ درصد بود که شبیه گزارشات ارائه شده در غرب اروپا، چین، ژاپن و کویت بود.

واژگان کلیدی: آتروفی عضلانی نخاعی، SMN1، بیماران ایرانی.

مقدمه

دیستروفی عضلانی دوشن به عنوان شایع‌ترین بیماری عصبی-عضلانی محسوب می‌شود. مشخصه پاتولوژیک بیماری تحلیل نرون‌های حرکتی در شاخ قدامی نخاع و هسته‌های حرکتی قاعده مغز است (۱، ۲).

پس از بیماری فیروز کیستیک، آتروفی عضلانی نخاعی شایع‌ترین علت مرگ شیرخواران به دلیل بیماری‌های ژنتیکی با توارث اتوزومی مغلوب می‌باشد و شیوع آن تقریباً ۱ در

بیماری آتروفی عضلانی نخاعی (SMA) از بیماری‌های شایع و کشنده عصبی-عضلانی می‌باشد. این بیماری بعد از

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، مرکز تحقیقات ژنتیک. دکتر

حسین نجم آبادی (email: hnajm2@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۶/۲۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۹/۳

به SMA دیده شده است و در غرب اروپا، چین، ژاپن و کویت شایع‌تر بوده و به بیش از ۹۰٪ می‌رسد، در حالی که فراوانی کمتری در مالزی و هند گزارش شده است (۲، ۱۵-۱۰). همچنین جهش نقطه‌ای و یا حذف‌های کوچک در نسخه تلومری ژن SMN دیده شده است که در واقع تاییدی بر نقش بیماری‌زایی نسخه تلومری ژن SMN است (۱۹-۱۵).

در بررسی اخیر، فراوانی حذف‌های اگزون ۷ ژن SMN تلومری در بیماران ارجاع شده به این مرکز تعیین شد و تشخیص پیش از تولد برای خانواده‌هایی که حذف در آنها تعیین شده بود، صورت گرفت. جهش در ژن SMN1 شاخص پیشرفت بیماری است، در حالی که تعداد نسخه‌های SMN2، نسخه همولوگ SMN1 بعنوان فاکتور تغییر دهنده فنوتیپ حائز اهمیت است (۱۳). هدف از این مطالعه بررسی وضعیت جهش‌های ژن SMN1 و وفور آن در بیماران ایرانی است.

جدول ۱- طبقه بندی SMA بر اساس سن بروز علائم، عملکردهای حرکتی و زمان مرگ.

| مرگ | عملکردهای حرکتی | سن بروز | SMAI |
|-------------------|-------------------------------------|-----------------|--------|
| زیر ۲ سالگی | بدون کمک قادر به نشستن نیستند. | ۶-۰ ماهگی | SMAI |
| بالاتر از ۲ سالگی | می نشینند، قادر به راه رفتن نیستند. | قبل از ۱۸ ماهگی | SMAII |
| بزرگسالی | تا سن خاصی قادر به راه رفتن هستند. | بعد از ۱۸ ماهگی | SMAIII |

مواد و روشها

در این پژوهش کاربردی، ۲۴۳ خانواده با تشخیص SMA که در طی سالهای ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۶ به مرکز ژنتیک و پاتولوژی کریمی‌نژاد-نجم‌آبادی ارجاع شده بودند، جهت تأیید تشخیص و تعیین نوع جهش مورد بررسی قرار گرفتند. خانواده‌ها بر اساس معیارهای کنسرسیون بین المللی SMA انتخاب شدند. تشخیص بالینی بیماران با بررسی علائم بیماری و در برخی از موارد با الکترومیوگرافی (EMG) تأیید شد. پس از اخذ رضایت‌نامه مطابق با مصوبات کمیته اخلاق در پزشکی DNA ژنومی از خون محیطی بیماران و والدین خانواده با روش Salting out استخراج شد (۲۰).

همه افراد جهت شناسایی حذف همولوگ اگزون ۷ ژن SMN1 توسط پرایمرهای mismatch با روش PCR-RFLP شرح داده شده توسط van der steege مورد ارزیابی قرار گرفتند

۱۰۰۰۰-۶۰۰۰ تولد زنده است. شیوع ناقلین این بیماری بین ۱/۳۴ تا ۱/۶۰ در ۱۰۰۰۰۰ نفر می‌باشد که از نظر بالینی مبتلا نیستند (۱، ۵-۳).

کنسرسیون بین المللی SMA سه شکل SMA دوران کودکی (نوع I، II و III) را بر اساس سن بروز و شدت علائم بالینی که با آزمایشات بالینی، نمونه‌برداری عضلانی و الکتروفیزیولوژی ارزیابی می‌شود مشخص نمود (جدول ۱).

در نوع I (Werdnig Hoffmann) که شدیدترین و حادترین شکل این بیماری است، معمولاً بروز قبل از ۶ ماهگی و مرگ قبل از ۲ سالگی رخ می‌دهد و کودکان هیچگاه قادر به نشستن بدون کمک نیستند. در نوع II که شکل حد واسطی بیماری است، بروز معمولاً قبل از ۱۸ ماهگی و مرگ بعد از ۲ سالگی رخ می‌دهد و کودک قادر به نشستن یا راه رفتن بدون کمک نمی‌باشد. در نوع III یا شکل خفیف بیماری با بروز پس از ۱۸ ماهگی، بیمار همه شاخص‌های حرکتی را کسب می‌کند. نوعی از بیماری که در سنین بزرگسالی بروز می‌کند اصطلاحاً نوع IV نامیده می‌شود که سن بروز آن مختلف و از دهه دوم تا پنجم گزارش شده است (۱، ۶).

بیش از ۵۰ درصد از بیماران آتروفی عضلانی نخاعی دارای شدیدترین شکل این بیماری یعنی نوع یک هستند، که معمولاً منجر به اختلالات تنفسی تا ۲ سالگی می‌شود.

در اشکال خفیف‌تر بیماری، افراد با ضعف و تحلیل عضلانی پیش‌رونده مواجه هستند. آنها معمولاً جهت کنترل اختلالات و عوارض بیماری بطور مداوم نیاز به فیزیوتراپی و مراقبت‌های پزشکی دارند. در حال حاضر درمان یا معالجه قطعی برای این بیماری وجود ندارد، اما پیشرفت‌های چشم‌گیری در دانش ژنتیک و بیولوژی مولکولی این بیماری حاصل شده است که چشم‌اندازهای روشنی را برای محققین در زمینه درمان موثر این بیماری باز کرده است.

در سال ۱۹۹۰، با استفاده از آنالیز پیوستگی، جایگاه هر سه نوع آتروفی عضلانی نخاعی در کروموزوم 5q11.2-q13.3 تعیین شد (۷-۹). تاکنون سه ژن SMN، NAIP، و P44 شناخته شده‌اند که بر روی بازوی بلند کروموزوم ۵ قرار داشته و عاملی برای ایجاد بیماری هستند. ژن SMN Survival motor neuron) دارای ۹ اگزون و دو نسخه سانترومری (SMN2) و تلومری (SMN1) است که تنها نسخه تلومری فعال بوده اما از نظر ساختاری بسیار مشابه یکدیگر هستند. فقدان نسخه تلومری، معمولاً حذف خوانده می‌شود که این فقدان می‌تواند در اثر مکانیسم تبدیل ژنی یا Gene Conversion نیز ایجاد گردد. حذف اگزون ۷ ژن SMN1 در اکثریت بیماران مبتلا

SMAI، ۹۵ درصد (۱۹ از ۲۰ نفر) SMAII و ۱۰۰ درصد (۱۰ از ۱۰ نفر) SMAIII دارای حذف بصورت هموزیگوت بودند.

در تشخیص پیش از تولد از مجموع ۷۷ نمونه CVS و ۱۵ نمونه آمیوسنتز که برای حذف آگزون ۷ مورد بررسی قرار گرفتند، ۵۲ (۵۶/۵ درصد) نمونه دارای حذف هتروزیگوت و ۲۱ (۲۲/۸ درصد) نمونه هموزیگوت و ۱۹ (۲۰/۶ درصد) نمونه نیز طبیعی بودند که توزیع بیماری در نمونه‌های جنینی مورد بررسی مطابق قوانین مندل می‌باشد.

بحث

میزان ازدواج خویشاوندی در ایران بالا و در برخی نواحی به ۵۰ درصد می‌رسد که منجر به وقوع و شیوع بالای بیماری‌های ژنتیکی با توارث مغلوب می‌شود. در بررسی حاضر نیز فراوانی ازدواج خویشاوندی ۶۰ درصد برآورد شده است. به همین علت SMA یکی از علت‌های اصلی بیماری و مرگ و میر در دوران نوزادی و کودکی در ایران است. اکثر بیماران SMA با حذف‌های هموزیگوت آگزون ۷ / و یا ۸ ژن SMN1 مشخص می‌شوند (۲، ۱۳-۱۰).

پس از دیستروفی عضلانی دوشن، SMA یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عصبی-عضلانی محسوب می‌گردد. جهش در ژن SMN1 عمده‌ترین عامل ژنتیکی در ابتلا به بیماری SMA بوده، اما در شدت بیماری اثری نداشته و برای بروز فوتیپ بیماری ضروری می‌باشد.

در بعضی بیماران مبتلا به SMA، مکانیسم تبدیل ژنی، توالی ژن SMN1 را به SMN2 تبدیل می‌کند که باعث باقی ماندن آگزون ۸ و حذف آگزون ۷ می‌شود. به دلیل اهمیت آگزون ۷ ژن SMN1 در فرایند بیماری، آگزون ۸ در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفت (۲۹).

فراوانی هموزیگوتی حذف آگزون ۷ ژن SMN1 برای هر سه نوع SMA حدود ۹۴ درصد بود که مشابه گزارش‌های سایر جمعیت‌ها مثل چین، ژاپن، کویت، تونس، اروپای غربی و کانادا است (۱۰، ۱۱، ۱۶-۱۳، ۲۹-۲۲). فراوانی این حذف در میان بیماران مالزی و هند کمتر و در حدود ۸۰ درصد می‌باشد (۳۱، ۳۰). شباهت‌ها و تفاوت‌ها در فراوانی حذف آگزون ۷ ژن SMN1 بین گروه‌های بیماران از جمعیت‌های متفاوت احتمالاً به فراوانی یک جهش خاص در یک جمعیت خاص مربوط می‌شود.

(دنا توره شدن اولیه ۲ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، دمای اتصال ۵۵ درجه به مدت ۱ دقیقه و دمای گسترش ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه در ۳۵ سیکل) (۲۱).

محصولات PCR آگزون ۷ ژن SMN1 توسط آنزیم DraI مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. محصولات PCR هضم شده بر روی ژل پلی آکریل آمید ۸٪ هدایت شدند و توسط رنگ‌آمیزی نیترات نقره قابل رویت شدند. افراد طبیعی و ناقل SMA دارای قطعاتی به طول ۱۴۹ و ۳۹ جفت باز هستند ولی قطعه ۳۹ جفت بازی بر روی ژل آکریل آمید ۸ درصد قابل مشاهده نبوده و تنها دو قطعه دیگر دیده می‌شوند.

در بیماران مبتلا به SMA بعد از هضم کامل آنزیمی توسط DraI تنها یک قطعه ۱۴۹ جفت بازی قابل مشاهده است.

قطعه ۱۸۸ جفت بازی مربوط به نسخه تلومری ژن (SMN1) و قطعه ۱۴۹ به نسخه سانترومیری ژن (SMN2) مربوط می‌شود. قسمت‌های هضم نشده متعلق به نسخه تلومری و قسمت‌های هضم شده به نسخه سانترومیری تعلق دارند. بیماران مبتلا به SMA تنها ژن سانترومیری را دارا هستند. در هر بار آزمایش جهت تأیید الگوی دیده شده، نمونه‌های کنترل مثبت طبیعی، ناقل و مبتلا نیز مورد استفاده قرار گرفتند (شکل ۱).

جهت بررسی باندهای حاصل از هضم آنزیمی از نرم افزار Lab Work 4.0 استفاده شد، که قابلیت بررسی دانسیتومتریک باندها را فراهم می‌کند و امکان شناسایی ناقلین و افراد طبیعی با استفاده از آن بسیار دقیق خواهد بود.

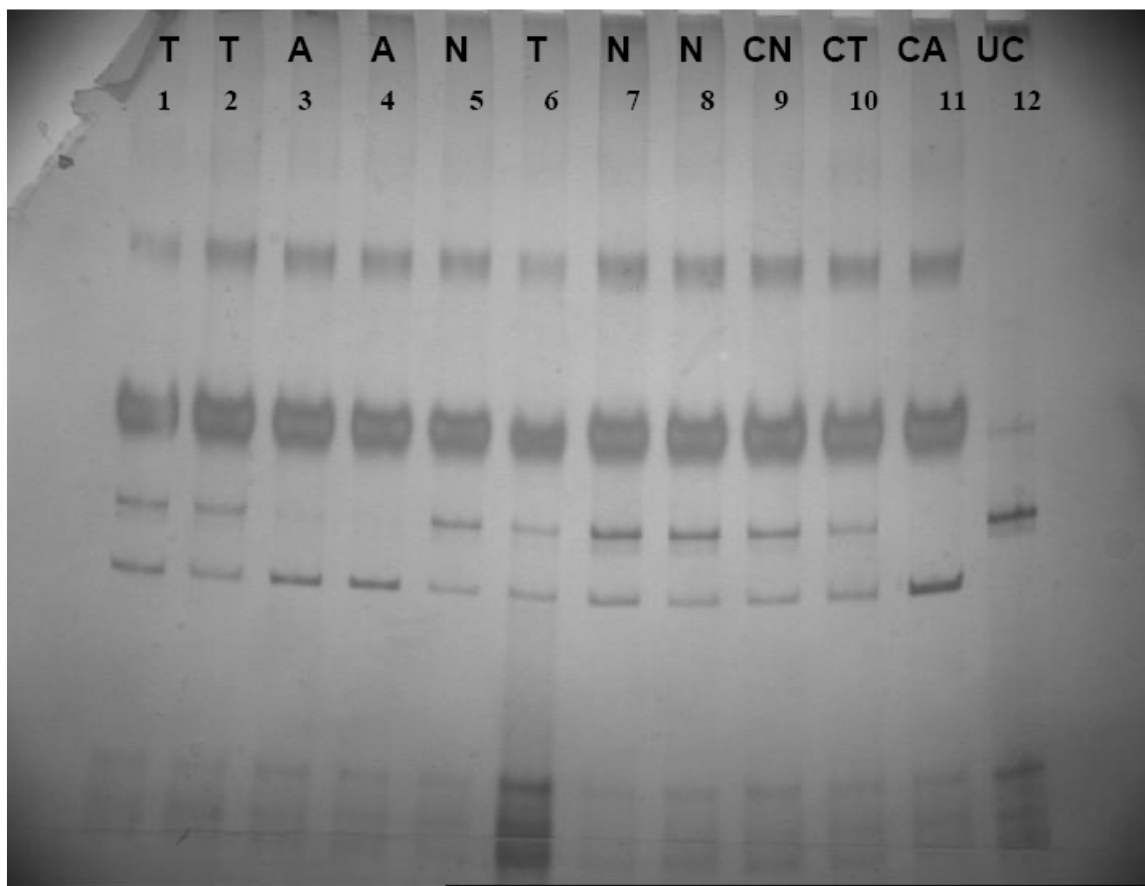
تشخیص پیش از تولد برای خانواده‌هایی که حداقل یک کودک مبتلا داشتند صورت گرفت. نمونه‌های جنینی از پرزهای کوریونی (CVS) و مایع آمنیون (AF) گرفته شد. DNA از ۷۷ نمونه CVS توسط روش نمک اشباع و ۱۵ نمونه آمنیونی با استفاده از کیت Viennalab استخراج شد.

یافته‌ها

در این بررسی ۲۴۳ خانواده برای آتروفی عضلانی نخاعی و ارزیابی حذف آگزون ۷ ژن SMN1 مورد بررسی قرار گرفتند. فراوانی ازدواج خویشاوندی در این مطالعه ۶۰ درصد و اغلب بیماران از نواحی مرکزی و شمال ایران بودند.

در میان ۲۴۳ خانواده، ۱۹۵ خانواده با سابقه SMAI، ۳۰ خانواده SMAII و ۱۸ خانواده باقی مانده در SMAIII طبقه‌بندی شدند. این طبقه‌بندی بر اساس سن بروز علائم انجام گردید.

بررسی حذف آگزون ۷ در میان خانواده‌های با فرزند مبتلای زنده نشان داد که ۹۴ درصد (۶۲ از ۶۶ نفر) از خانواده‌های



شکل ۱- محصولات هضم آنزیمی لود شده روی ژل پلی آکریل آمید ۸٪. در هر ردیف دو باند مشهود است

که باند بالایی مربوط به ژن **SMN1** (۱۸۸bp) و باند پایینی مربوط به ژن **SMN2** (۱۴۹bp) می باشد،

نمونه های کنترل طبیعی، ناقل، مبتلا و همچنین نمونه برش نخورده با آنزیم محدود کننده شاخص سایر نمونه ها در هر بار آزمایش می باشد.
(N : طبیعی، T : ناقل، A : مبتلا، CN : کنترل طبیعی، CT : کنترل ناقل، CA : کنترل مبتلا، UC : نمونه برش نخورده با آنزیم محدود کننده)

تشخیص بیماری مورد قبول محققین است. این امر نیاز به انجام تشخیص‌های تهاجمی نظیر نمونه برداری عضله را در کودک مبتلا به SMA مرتفع می‌سازد. از طرف دیگر در صورتی که در فرد مبتلا حذف‌هایی بصورت هموزیگوت دیده شود، تشخیص پیش از تولد دقیقی را می‌توان از طریق بررسی **SMN1** برای خانواده انجام داد. همچنین با استفاده از تشخیص پیش از تولد می‌توان از تولد نوزادان مبتلا جلوگیری نمود و به این ترتیب از طریق آگاه سازی والدین با توضیح ریسک خطر پیشگیری از این بیماری ممکن می‌گردد.

از ۹۲ نمونه جنینی، ۲۲/۸ درصد دارای حذف اگزون ۷ به صورت هموزیگوت بودند که ختم بارداری صورت گرفت. کلیه جنین‌هایی که با بررسی حذف اگزون ۷ غیرمبتلا تشخیص داده شده بودند، پس از تولد نیز از نظر بیماری SMA سالم بودند.

طبق یافته‌های این پژوهش، روش بررسی DNA بطور قابل-ملاحظه‌ای به تأیید بیماری SMA در افرادی با علائم بالینی غیرمعمول یا نتایج غیرعادی نمونه برداری عضله یا EMG کمک می‌کند. تشخیص حذف هموزیگوتی اگزون ۷ **SMN1** در کودک مبتلا به همراه علائم بالینی بیماری به عنوان

REFERENCES

1. Talbot K. Spinal muscular atrophy. *J Inherited Metab Dis* 1999;22:545-54.
2. Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, Clermont O, Burlet P, Viollet L, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995;80:155-65.
3. Roberts DF, Chavez J, Court SD. The genetic component in child mortality. *Arch Dis Child* 1970; 45:33-8.
4. Pearn J. The genetic frequency of acute Werdnig-Hoffmann disease (SMA type I). A total population survey in North-East England. *J Med Genet* 1973;10:260-65.
5. Pearn J. Incidence, prevalence and gene frequency studies of chronic childhood spinal muscular atrophy. *J Med Genet* 1978;15:409-13.
6. Dubowitz V. Chaos in the classification of SMA: a possible resolution. *Neuromuscul Disord*. 1995;5:3-5.
7. Melki J, Sheth P, Abdelhak S, Burlet P, Bachelot MF, Lathrop MG, et al. Mapping of acute (type I) spinal muscular atrophy to chromosome 5q12-q14. The French Spinal Muscular Atrophy Investigators. *Lancet* 1990;336:271-73.
8. Wirth B, Pick E, Leutner A, Dadze A, Voosen B, Knapp M, et al. Large linkage analysis in 100 families with autosomal recessive spinal muscular atrophy (SMA) and 11 CEPH families using 15 polymorphic loci in the region 5q11.2-q13.3. *Genomic* 1994;20:84-93.
9. Wirth B, Voosen B, Rohrig D, Knapp M, Piechaczek B, Rudnik-Schoneborn S, et al. Fine mapping and narrowing of the genetic interval of the spinal muscular atrophy region by linkage studies. *Genomics* 1993;15:113-18.
10. Chang JG, Jong YJ, Huang JM, Wang WS, Yang TY, Chang CP, et al. Molecular basis of spinal muscular atrophy in Chinese. *Am J Hum Genet* 1995;57:1503-505.
11. Akutsu T, Nishio H, Sumino K, Takeshima Y, Tsuneishi S, Wada H, et al. Molecular genetics of spinal muscular atrophy: contribution of the NAIP gene to clinical severity. *Kobe J Med Sci* 2002;48:25-31.
12. DiDonato CJ, Ingraham SE, Mendell JR, Prior TW, Lenard S, Moxley RT 3rd, et al. Deletion and conversion in spinal muscular atrophy patients: is there a relationship to severity? *Ann Neurol* 1997;41:230-37.
13. Rodrigues NR, Owen N, Talbot K, Ignatius J, Dubowitz V, Davies KE. Deletions in the survival motor neuron gene on 5q13 in autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 1995;4:631-34.
14. Simard LR, Rochette C, Semionov A, Morgan K, Vanasse M. SMN(T) and NAIP mutations in Canadian families with spinal muscular atrophy (SMA): genotype/phenotype correlations with disease severity. *Am J Med Genet* 1997;72:51-58.
15. 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 cBCD541 and SMA phenotype. *Hum Mol Gene* 1996;5:257-63.
16. Bussaglia E, Clermont O, Tizzano E, Lefebvre S, Burglen L, Cruaud C, et al. A frame-shift deletion in the survival motor neuron gene in Spanish spinal muscular atrophy patients. *Nat Genet* 1995;11:335-37.
17. Parsons DW, McAndrew PE, Monani UR, Mendell JR, Burghes AH, Prior TW. An 11 base pair duplication in exon 6 of the SMN gene produces a type I spinal muscular atrophy (SMA) phenotype: further evidence for SMN as the primary SMA-determining gene. *Hum Mol Genet* 1996;5:1727-32.
18. Wirth B, Herz M, Wetter A, Moskau S, Hahnen E, Rudnik-Schoneborn S, et al. Quantitative analysis of survival motor neuron copies: identification of subtle SMN1 mutations in patients with spinal muscular atrophy, genotype-phenotype correlation, and implications for genetic counseling. *Am J Hum Genet* 1999;64:1340-56.
19. Brahe C, Clermont O, Zappata S, Tiziano F, Melki J, Neri G. Frameshift mutation in the survival motor neuron gene in a severe case of SMA type I. *Hum Mol Genet* 1996;5:1971-76.
20. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
21. Van der Steege G, Grootsholten 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;345:985-86.
22. Cobben JM, van der Steege G, Grootsholten P, de Visser M, Scheffer H, Buys C. Deletions of the survival motor neuron gene in unaffected siblings of patients with spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet* 1995;57:805-808.
23. Hahnen E, Forkert R, Marke C, Rudnik-Schoneborn S, Schonling J, Zerres K, et al. Molecular analysis of candidate genes on chromosome 5q13 in autosomal recessive spinal muscular atrophy: evidence of homozygous deletions of the SMN gene in unaffected individuals. *Hum Mol Genet* 1995;4:1927-33.

24. Burllet P, Burglen L, Clermont O, Lefebvre S, Viollet L, Munnich A, et al. Large scale deletions of the 5q13 region are specific to Werdnig-Hoffmann disease. *J Med Genet* 1996;33:281-83.
25. Matthijs G, Schollen E, Legius E, Devriendt K, Goemans N, Kayserili H, et al. Unusual molecular findings in autosomal recessive spinal muscular atrophy. *J Med Genet* 1996;33:469-74.
26. Erdem H, Pehlivan S, Topaloglu H, Yalnyzoglu D, Akcoren Z. Deletions in the survival motor neuron gene in Turkish spinal muscular atrophy patients. *J Inher Metab Dis* 1996;19:724-28.
27. Samilchuk E, De Souza B, Bastaki L, Al-Awadi S. Deletion analysis of the SMN and NAIP genes in kuwaiti patients with spinal muscular atrophy. *Hum Genet* 1996;98:524-27.
28. Mrad R, Dorboz I, Ben Jemaa L, Maazoul F, Trabelsi M, Chaabouni M, et al. Molecular analysis of the SMN1 and NAIP genes in 60 Tunisian spinal muscular atrophy patients. *Tunis Med* 2006;84:465-69.
29. Van der Steege G, Grootscholten PM, Cobben JM, Zappata S, Scheffer H, den Dunnen JT, et al. Apparent gene conversions involving the SMN gene in the region of the spinal muscular atrophy locus on chromosome 5. *Am J Hum Genet* 1996;59:834-38.
30. Wathiyati MS, Zabidi-Hussin AM, Tang TH, Matsuo M, Nishio H, Zilfalil BA. Deletion analyses of SMN1 and NAIP genes in Malaysian spinal muscular atrophy patients. *Pediatr Int* 2007;49:11-14.
31. Kesari A, Idris MM, Chandak GR, Mittal B. Genotype-phenotype correlation of SMN locus genes in spinal muscular atrophy patients from India. *Exp Mol Med* 2005;37:147-54.

Archive of SID