

بررسی موتاسیون‌های شایع ژن اسفنگومیلیناز در بیماران مبتلا به نیمن پیک نوع A و B در شمال غرب ایران

الناز عابدینی^۱، سید مجتبی محدث اردبیلی^۲، عباسعلی حسینپور فیضی^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۴/۱۱/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: نیمن پیک نوع A و B، اختلالات اتوزومال مغلوب و نادری هستند که در اثر جهش‌های موجود در ژن «اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱» ایجاد شده و موجب نقص یا کمبود فعالیت آنزیم اسفنگومیلیناز می‌شوند. نقص یا کمبود آنزیم اسفنگومیلیناز، باعث تجمع غیرطبیعی اسفنگومیلین در بافت‌های بدن شده و درنتیجه، موجب بروز علائم بالینی مختلفی همچون بزرگی کبد و طحال، عوارض تنفسی، لکه قرمز آلبالوی در ماکولای چشم و اختلالات عصبی می‌شود.

مواد و روش کار: در این مطالعه مشخصات هفت بیمار غیرخویشاوند مبتلا به نیمن پیک A و B، از اقوام آذری شمال غرب ایران، با استفاده از فن توالی‌بایی اگزون‌های ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ گزارش شد. درباره پلی‌مورفیسم توالی تکرارهای برای بدستآوردن اطلاعات بیشتر شش نوکلئوتیدی (3-8) P.37LA (3-8); c.108GCTGGC (3-8).

یافته‌ها: جهش L137P به صورت هموزیگوت در سه نفر از هفت بیمار مبتلا، پلی‌مورفیسم rs1050239 به صورت هموزیگوت در چهار نفر از بیماران و پلی‌مورفیسم rs1050228 به صورت هموزیگوت در یکی از بیماران و پلی‌مورفیسم توالی تکرارهای شش نوکلئوتیدی در شش نفر از بیماران به صورت هموزیگوت و هتروزیگوت مشاهده شد. آلل با چهار تکرار شش نوکلئوتیدی دارای بیشترین فراوانی بود. آلل با چهار تکرار شش نوکلئوتیدی دارای بیشترین فراوانی در هر دو گروه بیماران و افراد سالم بوده و سپس آلل‌هایی با پنج، شش و هفت تکرار شش نوکلئوتیدی به ترتیب دارای فراوانی‌های بعدی بودند.

نتیجه‌گیری: L137P تنها جهش بیماری‌زا است که در جمعیت موردمطالعه مشاهده شد.
واژه‌های کلیدی: نیمن پیک، ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱، آنزیم اسفنگومیلیناز

مجله دانشکده پرستاری و مامایی ارومیه، دوره سیزدهم، شماره دوازدهم، پی‌درپی ۷۷، اسفند ۱۳۹۴، ص ۱۰۵۳-۱۰۴۱

آدرس مکاتبه: تبریز، خیابان گلگشت، ساختمان آزادی، طبقه چهارم، آزمایشگاه ژنتیک پزشکی، تلفن: ۰۹۱۴۱۱۷۰۳۴۵

Email: mohaddesmo@yahoo.com

مقدمه

اسفنگومیلیناز^۱ ایجاد می‌شوند. آنزیم اسفنگومیلیناز در متابولیسم اسفنگومیلین دخیل است و به عنوان یک تنظیم‌کننده ضروری در مسیر پیامده‌ی وابسته به سرامید عمل می‌کند (۲، ۳). نیمن پیک نوع C و D در اثر جهش یا نقص در یکی از دو ژن دخیل در متابولیسم کلسترول ایجاد می‌شوند: نیمن پیک نوع C^۲ (OMIM; 607623) و نیمن پیک نوع C₂^۳ یا D (OMIM; 607623) در اثر اختلال و نقص در آنزیم نیمن پیک نوع A و B.

بیماری نیمن پیک اختلال متابولیکی و نادری است که درنتیجه اختلال در روند متابولیسم اسفنگولیپیدها یا اختلال در استریفیکاسیون و حمل و نقل کلسترول ایجاد شده و از لحاظ بالینی به چهار نوع تقسیم‌بندی می‌شود (۱).

نیمن پیک نوع A و B در اثر اختلال و نقص در آنزیم

^۱ گروه ژنتیک، واحد علوم و تحقیقات آذربایجان شرقی، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

^۲ گروه ژنتیک، واحد علوم و تحقیقات آذربایجان شرقی، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

^۳ گروه ژنتیک، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

^۴ گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

¹ sphingomyelinase

² Niemann-Pick disease, type C1(NPC1)

³ Niemann-Pick disease, type C2(NPC2)

نوع A و B بیماری، نوع متوسطی به نام A/B وجود دارد که در سنین دو تا هفت سال بروز می کند و با اختلالات عصبی، تأخیر در رشد خفیف و لکه قرمز آلبالوئی همراه است (۲۵).

ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ تنها ژنی است که در ارتباط با بیماری نیمن پیک شناسایی شده است. تا به امروز حدود صد جهش ژنتیکی مربوط به ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ و بیماری نیمن پیک یافت شده که اغلب این جهشها به صورت اختصاصی در خانواده‌ها و اقوام مختلف دیده شده است (۲۶-۲۹)؛ بنابراین تشخیص و پیش‌بینی ژنتیکی، هنگامی که فتوتیپ و علائم بالینی قادر به تعیین دقیق نوع بیماری نیست، ضروری است. در این مطالعه، مشخصات هفت بیمار غیر خویشاوند ایرانی مبتلا به نیمن پیک نوع A و B از شمال غرب ایران با نژاد ترک آذربایجانی شد. مطالعه حاضر، اولین گزارش تشخیص ژنتیک مولکولی مربوط به بیماری نیمن پیک در شمال غرب ایران است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، هفت بیمار غیر خویشاوند مبتلا به نیمن پیک نوع A و B از جمعیت شمال غرب ایران، با نژاد ترک آذربایجانی مورد بررسی قرار گرفتند. بیماران موردنظر، توسط پزشکان متخصص غربالگری شده و برای بررسی مولکولی در این مطالعه معروفی شدند. تشخیص بر اساس ویژگی‌های بالینی بیماران از جمله بزرگی کبد و طحال، تورم شکم، اختلال در رشد، لکه‌های قرمز آلبالوئی در ماقولای چشم و برخی اقدامات پاراکلینیکی شامل آزمون عملکرد کبدی، اسکن مغز بیماران، آزمون اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسفنگومیلیناز و همچنین آسپیراسیون مغز استخوان و مشاهده ماقروفاژهای انباسته از چربی به شکل حباب آب یا کف صابون در مغز استخوان بیماران، حاصل گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسفنگومیلیناز به طور مستقیم توسط محقق صورت نگرفت و توسط پزشکان متخصص کمبود فعالیت آنزیمی در بیماران تأیید شد.

تمام بیماران با آگاهی و رضایت کامل در این مطالعه حضور یافتند. تمامی منبع مالی مطالعه حاضر توسط محقق تأمین شد. حدود دو میلی‌لیتر خون داخل وریدی، توسط کادر مجرب آزمایشگاه از بیماران گرفته شد و در ظروف مخصوص حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید^۵ جمع‌آوری گردید. در روش‌های مولکولی برای جلوگیری از انعقاد خون از هپارین استفاده نمی‌شود چون از فعالیت آنزیم تگ پلیمراز جلوگیری می‌کند. استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش استخراج دستی بدون پروتئیناز K انجام شد. علت انتخاب این روش، کم‌هزینه و سریع‌تر بودن آن نسبت به روش‌های

601015(۴) که بهترین در جایگاه کروموزومی 18q11-q12 و 14q24.3 قرار گرفته‌اند (۵)، نتایج ژنی NPC1 و NPC2 موجب اختلال در حمل و نقل داخل سلولی کلسترول و دیگر لیپیدهای داخل سلول شده و درنتیجه تجمع غیرطبیعی کلسترول را در بافت‌هایی نظیر مغز استخوان، کبد، طحال... در پی دارد (۷، ۸). این گروه احتمالاً بزرگ‌ترین گروه بیماران نیمن پیک را شامل می‌شوند. مطالعات نشان داده است در بیماران با نیمن پیک نوع C و D اتصال و الحق کلسترول به لیزوژوم نرمال می‌باشد در حالی که حمل و نقل مناسب کلسترول به شبکه اندوپلاسمی دچار اختلال است (۹). در نوع شدید زودرس، برخی از بیماران با اختلال عملکرد پیش‌رونده کبد یا آسیت قبل از بروز علائم عصبی تظاهر می‌کنند که منجر به مرگ می‌شود. برخی دیگر با تأخیر تکامل از دوره شیرخوارگی، شروع دزنسانس عصبی در ۳ سالگی و سایرین با کاهش تonus عضلانی تظاهر می‌کنند (۱۰).

نیمن پیک نوع A و B که در اثر نقص و کمبود آنزیم اسفنگومیلیناز ایجاد می‌شوند، از نظر ژنتیکی به صورت اتوزومی مغلوب به ارث می‌رسند (۱۱). ژن مربوط به آن‌ها، اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱^۴ (OMIM:607608) در جایگاه کروموزومی 11(p15.1-p15.4) قرار گرفته است، از شش اگزون تشکیل شده و پروتئینی با ۶۳۱ اسید‌آmine کد می‌کند (۱۲).

اسفنگومیلیناز گلیکوپروتئینی است که در کیسه‌های ترشحی و در قسمت خارجی غشای پلاسمایی یافت می‌شود (۱۴) و نقش مهمی در تکثیر سلولی، تمایز سلولی، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و همچنین واکنش‌های ایمنی و التهابی ایفا می‌کند (۱۵، ۱۶). اسفنگومیلیناز، اسفنگومیلین را به سرامید و فسفوریل کولین تبدیل می‌کند (۱۸). تولید سرامید یک واکنش حیاتی در مواجهه با استرس‌های محیطی و سلولی محسوب می‌شود و به عنوان یک پیامبر لیپیدی، در پیشبرد این واکنش‌ها عمل می‌کند (۱۹). افزایش سطح سرامید در سلول، باعث القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود؛ در حالی که افزایش متابولیت‌های فسفریله آن، مانند اسفنگوزین یک فسفات، باعث القای تکثیر سلولی می‌شود (۲۰).

نیمن پیک نوع A سیرحد و شدیدی داشته و علائم بالینی در دوران شیرخوارگی بروز می‌کند (۱۳). این بیماری با علائم بالینی همچون بزرگی شدید کبد و طحال، لکه‌های قرمز آلبالوئی در ماقولای چشم، اختلالات عصبی پیش‌رونده و مرگ زودهنگام در حدود دو تا سه سالگی مشخص می‌شود (۲۱-۲۳). نوع B بیماری سیر پیشرفت کنترلی داشته و با بزرگی کبد و طحال و درگیری ریوی در سنین کودکی تا بزرگ‌سالی بروز می‌کند (۲۴). علاوه بر

⁵Ethylenediaminetetraacetic Acid(EDTA)

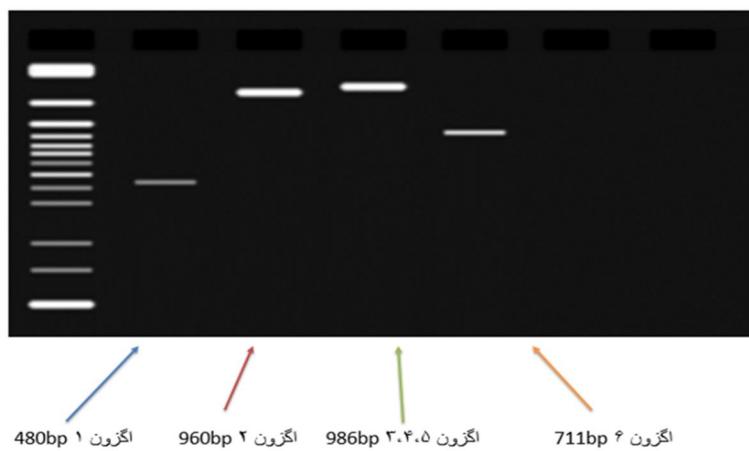
⁴Sphingomyelin phosphodiesterase1(SMPD1)

برنامه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز^۸ به شرح زیر است: واشرست‌سازی^۷ اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه، سپس ۳۵ چرخه واشرست‌سازی در دمای ۹۴ درجه به مدت چهل ثانیه، پس از آن چهل ثانیه اتصال^۹ در دمای اختصاصی هر پرایمر و گسترش^۹ در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت چهل ثانیه. نمونه محصولات PCR ران شده گروه بیماران روی ژل آگارز در شکل شماره یک به طور خلاصه نشان داده شده است.

دیگر است. اگزون‌های یک تا شش ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ و نواحی مرزی اگزون-اینترон با استفاده از چهار جفت پرایمر اختصاصی، توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، در حجم ۲۵ میکرولیتر تکثیر شد. طراحی پرایمرها با استفاده از برنامه پرایمر^۳ (http://frodo.wi.mit.edu/primer3/) انجام گرفت. سنتز پرایمرها توسط شرکت پیشگام بیوتکنولوژی انجام شد. توالی پرایمرهای طراحی شده در جدول شماره یک نشان داده شده است.

جدول (۱): آغازگرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن، پرایمرهای طراحی شده فقط ناحیه کدکننده ژن، شامل تمام اگزون‌ها و نواحی اتصال بین اگزون‌ها و اینترون‌ها را در بر می‌گیرند.

شماره اگزون	نام آغازگر	توالی	Tm
1-Reverse	SMPD1-1R	'۵-CCCCAGCACTCCTTCGG-3'	62
1-Forward	SMPD1-1F	'۵-AGAAGGGTAGGGTGTCC-3'	62
2-Reverse	SMPD1-2R	5'-GCAATCAGAGACAATGCC- '۳	61
2-Forward	SMPD1-2F	5'-CAGTTGGAAATGGAGGCC- '۳'	61
3,4,5-Reverse	SMPD1- 3,4,5R	5'-CTCCTTCCCCTATCCCACCA-' ۳'	63
3,4,5-Forward	SMPD1- 3,4,5F	-'۵ TGGGAAAGATGTCATGTATGC-3	'63
6-Reverse	SMPD1-6R	CTCCATGGCTGTGAAAGGAC--' ۳'	63
6-Forward	SMPD1-6F	5'-CCTCCCTGGAGTCCTTG-3'	63



شکل (۱): محصولات PCR ران شده گروه بیماران روی ژل آگارز. تصویر به ترتیب از سمت چپ به راست معرف ladder 50 bp مخصوص PCR اگزون ۱ که طولی در حدود ۴۸۰ جفت باز دارد، نمونه محصل PCR اگزون ۲ که طولی در حدود ۹۶۰ جفت باز دارد، نمونه محصل PCR اگزون ۳،۴،۵ که طولی در حدود ۹۸۶ جفت باز دارد و نمونه محصل PCR اگزون ۶ که طولی در حدود ۷۱۱ جفت باز دارد.

ایران، گروه کنترلی متشكل از پنجاه فرد سالم، با زمینه قومی یکسان با گروه بیماران، طراحی شد. مطالعه روی گروه کنترل با استفاده از

برای جمع‌آوری اطلاعات بیشتر درباره فراوانی پلی‌مورفیسم c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8) در جمعیت شمال غرب

⁸Annealing

⁹Extension/Elongation

⁶Polymerase chain reaction (PCR)

⁷Denaturation

جهت مقایسه توالی های DNA با توالی های منتشر شده در پانک زنی مورد استفاده قرار گرفت.

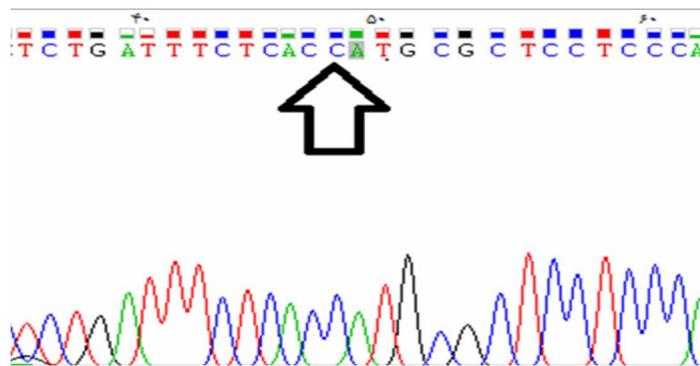
آنالیز نتایج توالی یابی محصولات PCR با استفاده از نسخه ۲،۱،۰ نرم افزار کروماس^۱ انجام گرفت.

نتایج

با بررسی و آنالیز نتایج حاصل از توالی یابی اگزون های زن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ در هفت بیمار موردمطالعه، جهش L137P که در اگزون دوم رخ می دهد (شکل ۲)، به صورت هموزیگوت در سه نفر (بیمار شماره یک، سه و چهار) از هفت بیمار مشاهده شد. شش آلل موتانت L137P، تنها آلل های موتانت بیماری را مشاهده شده در جمعیت بیماران موردمطالعه بودند. جهش های شناسایی شده در بیماران در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

تکنیک الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۳ درصد انجام پذیرفت. هر تکرار ۶ نوکلئوتیدی ۶ bp طول دارد. علت استفاده از تکنیک الکتروفورز ژل آگارز صرفه جویی در زمان و هزینه و همچنین یادگیری و استفاده از تکنیک های دیگر در این مطالعه بود. تعدادی از نمونه ها برای حصول اطمینان از نتایج به دست آمده با روش الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز، برای توالی یابی ارسال شدند.

لازم به ذکر است که برای انجام توالی یابی مقدار ۲۰ میکرولیتر از محصول PCR هر نمونه جمع آوری شد و به همراه پرایمرهای مربوطه برای توالی یابی ارسال شد. محصولات به دست آمده از PCR جهت انجام توالی یابی مستقیماً به شرکت پیشگام بیوتکنولوژی ارسال گردید و توسط شرکت کره ای ماکرۇنىڭ توالى یابى با استفاده از چهار جفت پرایمر ذکر شده انجام شد. برنامه BLAST2.0، قابل دسترسی در پایگاه (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)



شکل (۲): تصویر توالی یابی اگزون دوم بیمار شماره ۴، نشان دهنده جهش بدمعنی c.409T>C L137P می باشد. باعث جایگزینی آمینواسید لوسین با پرولین در جایگاه ۱۳۷ پروتئین می شود (CTA ->CCA).

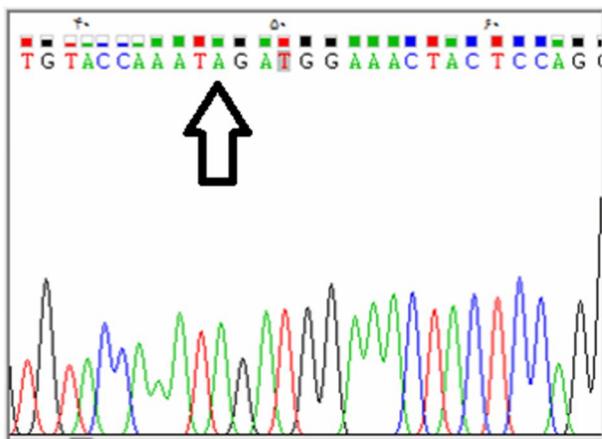
جدول (۲): جهش های شناسایی شده زن اسفنگومیلین فسفودی استراز در بیماران

تغییر در اسید آمینه	نوکلئیک اسید آلبالوپی	لکه قرمز	بزرگی کبد و طحال	آگزون	شماره بیماران	سن	جنس	شماره
c.409T>C L137P		+	+	۲	۱	۴	مرد	
c.409T>C L137P		+	+	۲	۳	۱۴	مرد	
c.409T>C L137P		+	+	۲	۴	۱۰	زن	

راجح ترین پلی مورفیسم تکنوکلئوتیدی در زن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ است که باعث جابه جایی گلایسین با آرژینین در ناحیه ۵۰۸ آنزیم اسفنگومیلیناز می شود (۳۰).

پلی مورفیسم p.G508R;c.1522G>A، که در اگزون ششم رخ می دهد (شکل ۳)، در چهار نفر (بیمار شماره یک، دو، سه و چهار) از بیماران به صورت هموزیگوت مشاهده شد. این پلی مورفیسم

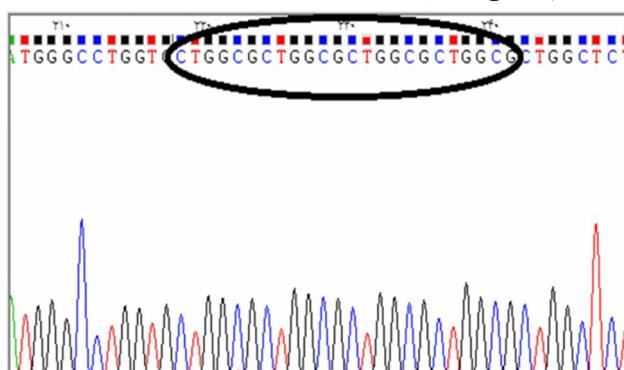
^۱ Chromas



شکل (۳): تصویر توالی یابی اگزون ششم بیمار ۲، نشان دهنده پلی مورفیسم c.1522Gly508Arg می‌باشد. باعث جایگزینی آمینواسید گلایسین با آرژنین در جایگاه ۵۰۸ پروتئین می‌شود (GGA-> AGA).

شش‌نوکلئوتیدی است که در اگزون اول رخ داده و در داخل ناحیه سیگنال پیپتید آنزیم نابالغ قرار دارد (شکل ۴) (۳۱).

پلی‌مورفیسم شایع دیگر که در شش نفر از بیماران مورد مطالعه (بیمار شماره یک، دو، سه، چهار، پنج و هفت) به صورت هموزیگوت و هتروزیگوت مشاهده شد، پلی‌مورفیسم توالی تکرارهای

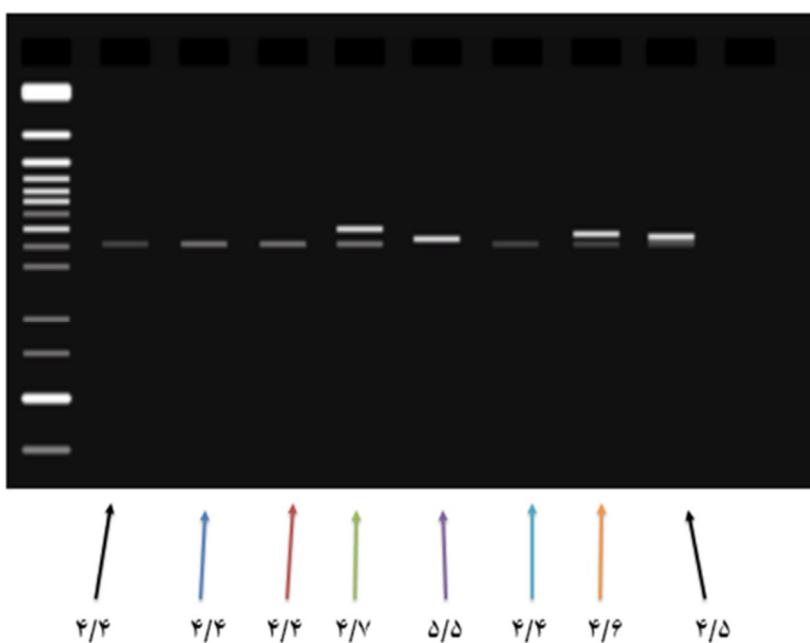


شکل (۴): نمونه توالی یابی اگزون اول بیمار شماره ۱، نشان دهنده پلی مورفیسم تکرارهای ۶ نوکلئوتیدی c.108GCTGGC(3-8); p.37LA(3-8) و آلل با ۴ تکرار ۶ نوکلئوتیدی می‌باشد.

و آلل‌هایی با پنج، شش و هفت تکرار به ترتیب با فراوانی ۱۵۰۷۸، ۱۵۰۵۲ و ۱۰۰۵۲ درصد در گروه کنترل مشاهده شد. در هر دو گروه بیماران و افراد سالم، ژنتیک (3-8) [4]+[4] P.37LA (3-8) [4]+[4] می‌تواند غالب بود. نتایج حاصل از توالی یابی تعدادی از نمونه‌های گروه کنترل، با نتایج حاصل از الکتروفورز PCR همان نمونه‌ها روی ژل آگارز ۳ درصد مطابقت داشت. تعدادی از نمونه‌های PCR گروه کنترل که روی ژل آگارز ۳ درصد ران شده، در شکل ۵ نشان داده شده است.

پلی‌مورفیسم توالی تکرارهای شش‌نوکلئوتیدی، با تکرارهایی شامل چهار، پنج، شش و هفت تکرار، در جمعیت مورد مطالعه مشاهده شد. بیشترین فراوانی مربوط به آلل با چهار تکرار شش‌نوکلئوتیدی، در هر دو گروه بیماران و افراد سالم است. طبق مطالعات صورت‌گرفته در جمعیت‌های دیگر، آلل‌هایی با پنج، شش و هفت تکرار، شایع‌ترین آلل‌ها را میان افراد سالم و بیمار تشکیل می‌دهد (۳۲).

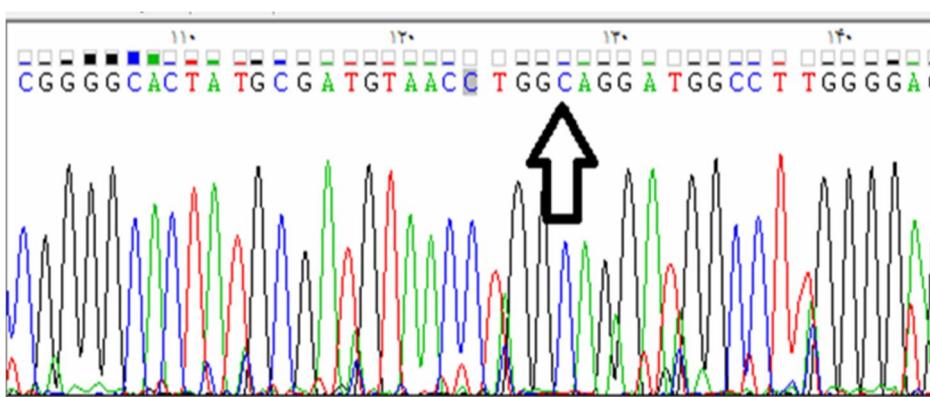
آلل با چهار تکرار شش‌نوکلئوتیدی با فراوانی آللی ۵۷۰۸۹ درصد



شکل (۵): نمونه محصولات PCR گروه کنترل مورد بررسی که روی ژل آگارز ۳ درصد ران شده است، تصویر نشان دهنده نمونه PCR نفر از افراد گروه کنترل می باشد که روی ژل آگارز ۳ درصد ران شد که به ترتیب از سمت چپ به راست نشان دهنده ۵۰ bp ladder، فرد هموزیگوت با ژنتوتیپ [4]+[4] c.108CTGGCG[4]+[4] نسبت به آلل ۴ تکرار ۶ نوکلئوتیدی، فرد با ژنتوتیپ هetroزیگوت [4]+[4] c.108CTGGCG[4]+[4] c.108CTGGCG[7] فرد با ژنتوتیپ هetrozیگوت [4]+[4] c.108CTGGCG[4]+[6] فرد با ژنتوتیپ هetrozیگوت [4]+[5] c.108CTGGCG[5]+[5] و فردی با ژنتوتیپ هetrozیگوت [4]+[5] c.108CTGGCG[4]+[4] می باشد.

حذف اولین تکرار در توالی تکرارهای شش نوکلئوتیدی در بیشتر بیماران، این پلی مورفیسم با کمترین فراوانی در جمعیت بیماران موردمطالعه مشاهده شد. پلی مورفیسم های شناسایی شده در بیماران به طور خلاصه در جدول شماره سه نشان داده شده است.

است که در داخل اولین تکرار توالی تکرارهای شش نوکلئوتیدی واقع شده است (شکل ۶). این پلی مورفیسم به صورت هموزیگوت در یکی از بیماران موردمطالعه (بیمار شماره شش) مشاهده شد. به علت



شکل ۶) تصویر توالی یابی اگزون اول بیمار شماره ۶، نشان دهنده پلی مورفیسم (p.V36A) است. باعث جایگزینی آمینواسید والین با آلانین در جایگاه ۳۶ پروتئین می شود (GTA->GCA).

جدول (۳): پلی‌مورفیسم‌های شناسایی شده ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ در بیماران

پلی مورفیسم	آبلالویی	قرمز	اگزون	جنس	شماره	سن	شماره	بزرگی کبد و طحال	لکه
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[5]+[6]		+	۱	مرد	۴	۱			
c.1522G>A; p.G508R		+	۶	مرد	۴				
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[4]		+	۱	زن	۱۱				
c.1522G>A; p.G508R		+	۶	زن	۱۱				
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[4]		+	۱	مرد	۱۴				
c.1522G>A; p.G508R		+	۶	مرد	۱۴				
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[4]		+	۱	زن	۱۰				
c.1522G>A; p.G508R		+	۶	زن	۱۰				
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[5]		-	۱	مرد	۴				
c.107T>C (p.V36A)		+	۱	زن	۲				
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[6]		+	۱	مرد	۵				

فراوانی آللی پلی‌مورفیسم‌ها و جهش‌هایی شناسایی شده در بیماران در جدول شماره چهار نشان داده شده است.

جدول (۴): فراوانی آللی جهش و پلی‌مورفیسم‌های شناسایی شده در بیماران

فراوانی آللی	تغییر در توکلولئیک اسید	تغییر در اسید آمینه	شماره اگزون
۴۲/۸۵	c.409T>C	L137P	۲
۶۴/۲۸	c.108GCTGGC (3-8)	P.37LA (3-8)[4]	۱
۱۴/۲۸	c.108GCTGGC (3-8)	P.37LA (3-8)[5]	۱
۲۱/۴۲	c.108GCTGGC (3-8)	P.37LA (3-8)[6]	۱
۷۱/۴۲	c.1522G>A	p.G508R	۶
۱۴/۲۸	c.107T>C	p.V36A	۱

است، ولی به ترتیب، با بیشترین فراوانی، در اقوام و جمیعت‌های یهودی اشکنازی و شمال آفریقا رخ می‌دهند (۳۶، ۳۵). بر حسب مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۲ توسط کالوگراآ و همکارانش انجام گرفته است، سه جهش L549P, fsP189, L137P و H421Y درصد آلل های مربوط به نیمن پیک نوع B در جمیعت ترکیه را شامل می‌شوند. جهش‌های K576N و R441X در حدود ۸۵ درصد آلل های مربوط به نیمن پیک B در جمیعت عربستان سعودی را تشکیل می‌دهند. همچنین جهش‌های S379P, R441X, R479W در حدود ۵۵ درصد آلل های مربوط به بیماران نیمن پیک B در جمیعت پرتغالی/برزیلی را تشکیل می‌دهند و جهش A196P بیشتر از ۴۲ درصد آلل های بیماران مبتلا به نیمن پیک B جمیعت اسکاتلندری/انگلیسی را شامل می‌شود (۳۷).

اکثر بیماران مبتلا به نیمن پیک در کشورهای اروپای غربی و ایالات متحده آمریکا شناسایی شده‌اند؛ جایی که دسترسی به اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی راحت و سریع است؛ همچنین در

بحث

نیمن پیک یک بیماری چندگانه با طیف وسیعی از علائم بالینی است. علائم بالینی این بیماری، بسته به مقدار فعالیت باقی‌مانده آنزیم متفاوت است. انواع مختلفی از اختلالات مولکولی و تفاوت در علائم بالینی و فنتوپیپ، در هر دو نوع نیمن پیک A و B شناخته شده است (۳۳، ۳۲). برآورد دقیق بروز بیماری نیمن پیک A و B در جهان ممکن نیست چون بهطور حتم عده‌ای از بیماران نا شناخته باقی مانند که این می‌تواند بدليل در دسترس نبودن تشخیص آنزیمی و یا نداشتن آگاهی کافی پزشکان باشد. اگرچه نیمن پیک یک بیماری قومی محسوب می‌شود اما بخوبی اثبات شده که نیمن پیک نوع A با فراوانی بالا در جمیعت یهودی اشکنازی رخ می‌دهد (۳۴). سه جهش L302P, fsP330 و R496L در حدود ۹۲ درصد از آلل های موتانت در بیماران یهودی اشکنازی با نیمن پیک A را شامل می‌شوند (۳۲). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد نیمن پیک نوع A و B در اقوام و جمیعت‌های مختلفی شناسایی شده

در اگزون اول، پلی مورفیسم توالی تکرارهای شش نوکلئوتیدی (3-8); P.37LA (3-8)؛ 108GCTGGC در داخل ناحیه سیگنال پیتید آنزیم اسفنگومیلیناز قرار دارد. ناحیه سیگنال پیتید آنزیم اسفنگومیلیناز برخلاف ناحیه سیگنال پیتید آنزیم های دیگر که از حدود ۲۰ آمینو اسید تشکیل شده‌اند، از ۴۸ آمینو اسید تشکیل شده است. با وجود اینکه ناحیه سیگنال پیتید در ساختار آنزیم بالغ حضور ندارد ولی نقش بسیار مهمی در شکل گیری صحیح آنزیم بالغ و فعال دارد (۳۹).

وان^۳ و اسکاچمن^۴ اولین افرادی بودند که توالی تکرارهای شش نوکلئوتیدی ای را شناسایی کردند که توالی تکرارهای لوسین-آلاتین را کد می‌کند. زمانی که ناحیه ژنومی آنزیم اسفنگومیلیناز توالی یابی شد با cDNA مربوطه به طور کامل مقایسه شد. آن‌ها پنج آلل با توالی تکرارهای مختلف شامل چهار، پنج، شش، هفت و نه تکرار شناسایی کردند که آلل با شش تکرار شش نوکلئوتیدی دارای بیشترین فراوانی بود و آلل‌هایی با پنج، هفت، چهار و نه تکرار شش نوکلئوتیدی به ترتیب دیگر فراوانی‌ها را داشتند. بنابراین تصور شد این ناحیه ممکن است ناحیه‌ای چندشکلی باشد. برای بررسی ماهیت این ناحیه و تعیین اینکه این توالی در ایجاد بیماری نیمن پیک دخیل است یا نه، این توالی در افراد سالم و بیمار کنترل شد. فراوانی آلل‌ها در هر دو گروه بیماران و افراد سالم مشابه بود و نشان دهنده این موضوع بود که این توالی نمی‌تواند دلیلی برای ایجاد بیماری نیمن پیک باشد (۴۰). طبق مطالعات انجام شده، آلل‌هایی با چهار و هشت تکرار شش نوکلئوتیدی، با کمترین فراوانی و آلل‌هایی با پنج و شش تکرار شش نوکلئوتیدی، با بیشترین فراوانی رخ می‌دهند (۴۱).

پلی مورفیسم (3-8); P.37LA (3-8)؛ 108GCTGGC در مطالعه حاضر، با تکرارهای چهار، پنج، شش و هفت تکرار شش نوکلئوتیدی رخ داد و آلل با چهار تکرار شش نوکلئوتیدی، با بیشترین فراوانی در هر دو گروه بیماران و افراد سالم مشاهده شد. وجود تفاوت چشمگیر در فراوانی آلل با چهار تکرار شش نوکلئوتیدی میان جمعیت موردمطالعه و دیگر جمعیت‌های مطالعه شده، می‌تواند مصداقی از اثر بنیان‌گذار یا تمایل به ازدواج خویشاوندی در جمعیت آذربایجان باشد. آلل با چهار تکرار شش نوکلئوتیدی [4][4] (3-8); P.37LA (3-8)؛ 108GCTGGC با فراوانی بالا برای اولین بار در جمعیت شمال غرب ایران مشاهده شد؛ بنابراین مطالعات بیشتر برای درک علت این فراوانی ضروری است. در مطالعه حاضر ارتباط معناداری میان پلی مورفیسم توالی

کشورهایی که نرخ بالایی از ازدواج‌های خویشاوندی را دارند، مانند عربستان سعودی، ترکیه و تونس (۳۷). متأسفانه در حال حاضر انداره‌گیری فعالیت آنزیمی اسفنگومیلیناز در آزمایشگاه‌های کشور عملی نیست.

بر اساس مطالعات صورت‌گرفته، بی بردیم که مطالعه حاضر، اولین گزارش در ارتباط با تشخیص مولکولی بیماری نیمن پیک در شمال غرب ایران است. هیچ‌گونه اطلاعات آماری درباره شیوع و فراوانی انواع بیماری نیمن پیک در شمال غرب ایران وجود ندارد. با آنالیز توالی‌یابی اگزون‌های هفت بیمار مبتلا به نیمن پیک A و B پی بردیم، جهش بدمعنی L137P در سه نفر از بیماران به صورت هموزیگوت وجود دارد. جهش L137P در اگزون دوم رخ داده و باعث جابجایی لوسین با پرولین در جایگاه ۱۳۷ آنزیم می‌شود. طبق مطالعات انجام شده، این جهش با فراوانی بیشتری در مبتلایان به نیمن پیک نوع B و نوع خفیفتر این بیماری دیده می‌شود (۳۷)، (۳۸). از آنجایی که علائم بالینی در بیماران دارای این جهش خفیفتر می‌باشد به نظر می‌رسد آنزیمی که در این حالت تولید می‌شود دارای فعالیت باقی مانده باشد (۳۸). L137P تنها جهش بیماری‌زای مشاهده شده در این مطالعه است. در این مطالعه فعالیت آنزیمی آنزیم اسفنگومیلیناز در بیماران به طور مستقیم مورد بررسی قرار نگرفت بنابراین نمی‌توان به طور قطع در مورد تأثیر جهش مشاهده شده روی فعالیت آنزیم اسفنگومیلیناز در جمعیت موردمطالعه نظری داد و نیاز به مطالعات و تحقیقات وسیع‌تری می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط سایمینارو و همکاران^۱ در سال ۲۰۰۲ روی ۳۹۴ نمونه بیمار از سراسر جهان و از نژادهای مختلف در نیویورک انجام شده، جهش L137P با فراوانی آللی ۳۷ درصد تنها در نژاد ترک مشاهده شده است (۳۷)؛ این نوع جهش همچنین در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ توسط آیکات و همکاران^۲ در کشور ترکیه صورت گرفت، در پنج نفر از ۱۰ بیمار مبتلا به نیمن پیک مشاهده شد (۳۸). تشابه در نتایج به دست آمده در مطالعات قبلی و مطالعه حاضر، می‌تواند به علت تشابه جغرافیایی در دو منطقه و دو جمعیت باشد.

پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (p.V36A); c.107T>C (rs1050228) که به صورت هموزیگوت در یکی از بیماران مشاهده شد، در اگزون اول رخ می‌دهد. در مطالعاتی که صورت گرفته هیچ کاهش چشم‌گیری در ارتباط با این پلی مورفیسم و فعالیت آنزیم اسفنگومیلیناز مشاهده نشده است (۴۵).

¹. Simonaro et al

². Aykut et al

³. Wan

⁴. Schuchman

استخوان و مشاهده ماکروفالزهای کف آلود اختصاصی بیماری نیمن پیک و هم چنین توسط آزمون اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی اسفنگومیلیناز به در خواست پزشکان متخصص مورد تأیید قرار گرفته بود.

مطالعات گذشته نشان داده‌اند که بیماران با فنتویپ متوسط حداقل دارای یک آلل جهش یافته می‌باشند (۴۶). اما در مطالعه حاضر تمام بیماران دارای آلل جهش یافته بیماری زا نبودند و بیماران باقی مانده علیرغم دارا بودن علائم بالینی مشابه دارای ژنتویپ متفاوت و فاقد جهش‌های بیماری زا بودند. دلیل عدم مشاهده موتاسیون در بقیه بیماران مورد مطالعه، ممکن است وجود جهش‌هایی در مناطق ژنی بررسی نشده باشد. با توجه به اینکه در این مطالعه بررسی محدود به نواحی اگزونی و مرز بین اگزون ها و اینترون ها بوده است بنابراین احتمال وجود جهش در مناطق اینترونی و مناطق ۳'UTR یا ۵'UTR ۵ منتفی نمی‌باشد و در مورد بیماران با علائم بیماری نیمن پیک که فاقد جهش بیماری زا می‌باشند، بررسی این نواحی ضروری می‌باشد. در عین حال امکان وجود رابطه‌ای میان پلی‌مورفیسم‌های مشاهده شده و بروز بیماری نیمن پیک نیز با توجه به مطالعات گذشته به طور کامل رد نمی‌شود. بنابراین مطالعات با وسعت و تعداد بیماران بیشتری برای بررسی رابطه پلی‌مورفیسم‌های ذکر شده و بروز بیماری نیمن پیک در جمعیت ایران و بخصوص جمعیت شمال غرب ایران نیاز می‌باشد.

نتیجه‌گیری

فراوانی و شیوع جهش‌های ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز،^۱ میان جمعیت‌های گوناگون و حتی میان افراد یک جمعیت، متفاوت است. بیماران با ژنتویپ یکسان، علائم بالینی و فنتویپ متفاوتی را نشان می‌دهند. بنابراین ممکن است علل و فاکتورهای دیگری در بروز علائم بالینی در بیماران مبتلا به نیمن پیک دخیل باشند. نبود رابطه روشنی میان ژنتویپ/ فنتویپ بیماران، تشخیص دقیق بیماری توسط متخصصین را دشوار می‌کند؛ بنابراین برنامه‌های غربالگری ژنتیکی، می‌تواند روش مفیدی برای شناسایی مبتلایان و حتی افرادی باشد که ممکن است در آینده از این بیماری رنج ببرند.

References:

- Vanier MT. Biochemical studies in Niemann-Pick disease. I. Major Sphingolipids of liver and spleen. *Biophys Acta* 1983; 750: 178-84.
- Schuchman EH, Desnick RJ. Niemann-Pick disease types A and B: acid sphingomyelinase

تکرارهای شش نوکلقوتبدی و بیماری نیمن پیک نوع A و B مشاهده نشد و فعالیت آنزیمی مورد بررسی قرار نگرفت بنابراین نمی‌توان در مورد ارتباط بین این پلی مورفیسم و فعالیت آنزیم اسفنگومیلیناز اظهار نظر کرد. با این حال طبق مطالعات انجام شده، فعالیت آنزیم اسفنگومیلیناز ترشحی در افراد با ژنتویپ c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[6]+[6] در مقایسه با c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[5]+[5] درصد بیشتر است. این تفاوت در مقایسه با افراد دارای ژنتویپ [4]+[4] در مقایسه با افراد c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[4]، به ۶۴درصد می‌رسد (۴۱، ۳۳).

در جمعیت موردمطالعه بود. این پلی‌مورفیسم در مجاورت یک جایگاه بالقوه فسفریلاسیون قرار دارد که دارای نقشی مهم در فعالیت و ترشح آنزیم است؛ درنتیجه، این جایگزینی می‌تواند روى عملکرد جایگاه فسفریلاسیون محاور تأثیر داشته و موجب کاهش فعالیت، ترشح و پایداری آنزیم شود (۴۲، ۴۳).

مطالعات انجام شده ارتباط چشمگیری بین فعالیت اسفنگومیلیناز ترشحی و پلی‌مورفیسم rs1050239 گزارش کرده‌اند. فعالیت اسفنگومیلیناز ترشحی در افراد با ژنتویپ GG دارای بیشترین مقدار، در افراد با ژنتویپ AG دارای مقدار متوسط و در افراد با ژنتویپ AA دارای کمترین مقدار است؛ از سوی دیگر، ارتباط این پلی‌مورفیسم با فعالیت اسفنگومیلیناز لیزوژومی هنوز مورد بحث بوده و رابطه آشکاری مشاهده نشده است؛ با این حال، فعالیت اسفنگومیلیناز لیزوژومی در افراد با ژنتویپ AA، در مقایسه با دو ژنتویپ دیگر، به طور قابل توجهی پایین است (۴۴، ۴۲).

بیماران مطالعه شده در مطالعه حاضر در محدوده سنی ۲ تا ۱۴ سال قرار داشتند و میانگین سنی آنها ۷/۱۴ سال بود. سه نفر از بیماران مطالعه شده دارای آلل جهش یافته L137P، تنها آلل جهش یافته بیماری زا مشاهده شده در این مطالعه؛ به صورت هموزیگوت بودند. این بیماران دارای علائم بالینی مشابهی از جمله بزرگی کبد و طحال، لکه قرمز آلبالوئی در ماقولای چشم، اختلال در رشد، قد و وزن پایین و تورم شکم بودند. بیماری آنها توسط آسپیراسیون مغز

deficiencies. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al. (eds) The metabolic and molecular bases of inherited disease, 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2001. P.3589-610.

- McGovern MM, Schuchman EH. Acid sphingomyelinase deficiency. In: Pagon, R.A.,

- Bird, T.D., Dolan, C.R., Stephens, K. (Eds.), GeneReviews [Internet]. 2009. University of Washington, Seattle (WA) (1993–2006 Dec 07 [updated 2009 Jun 25]).
4. Patterson MC. Niemann-Pick disease type C: a lipid trafficking disorder. In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. Scriver CR, et al. (Eds.). 2001. 8th ed. McGraw-Hill, New York; 2001.P. 3611–34.
 5. Millat G, Marcais C, Tomasetto C. Niemann-Pick C1 disease: correlations between NPC1 mutations, levels of NPC1 protein, and phenotypes emphasize the functional significance of the putative sterol-sensing domain and of the cysteine-rich luminal loop. *Am J Hum Genet* 2001; 68:1373-85.
 6. Morris JA, Zhang D, Coleman KG, et al. The genomic organization and polymorphism analysis of the human Niemann-Pick C1 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 261:493-8.
 7. Kanfer JN, Young OM, Shapiro D, Brady RO. The metabolism of sphingomyelin. I. Purification and properties of a sphingomyelin cleaving enzyme from rat liver tissue. *J Biol Chem* 1996. 241:1081–4.
 8. Breen L, Morris HH, Alperin JB, Schochet SS Jr. Juvenile Niemann-Pick disease with vertical supranuclear ophthalmoplegia. *Arch Neurol* 1981; 38:388-90.
 9. Manning DJ, Price WI, Pearse RG, Fetal A. an unusual presentation of Niemann-Pick disease type C. *Arch Dis Child* 1990;3:335-6.
 10. Kelly DA, Portmann B, Mowat Ap, Sherlock S, Lake BD. Niemann-Pick disease type C: Diagnosis and outcome in children, with particular reference to liver disease. *J Pediatr* 1993. 123: 242-7.
 11. Levran O, Desnick RJ, Schuchman EH. Niemann-Pick disease: A frequent missense mutation in the acid sphingomyelinase gene of Ashkenazi Jewish type A and B patients. *Proc Nat Acad Sci USA* 1991; 88: 3748-52.
 12. da Veiga Pereira L, Desnick RJ, Adler DA, Distechi CM, Schuchman EH. Regional assignment of the human acid sphingomyelinase gene (SMPD1) by PCR analysis of somatic cell hybrids and in situ hybridization to 11p15.1----p15.4. *Genomics*. 1991;9(2):229–34.
 13. Schuchman, E.H. The pathogenesis and treatment of acid sphingomyelinase-deficient Niemann-Pick disease. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30, 654–63.
 14. Doehner W, Bunck AC, Rauchhaus M, von Haehling S, Brunkhorst FM, Ciciora M, et al. Secretory sphingomyelinase is upregulated in chronic heart failure: A second messenger system of immune activation relates to body composition, muscular functional capacity, and peripheral blood flow. *Eur Heart J* 2007; 28:821-8.
 15. Lang PA, Schenck M, Nicolay JP, Becker JU, Kempe DS, Lupescu A, Koka S, Eisele K, Klarl BA, Rubben H, Schmid KW, Mann K, Hildenbrand S, Heftner H, Huber SM, Wieder T, Erhardt A, Haussinger D, Gulbins E, Lang F. Liver cell death and anemia in Wilson disease involve acid sphingomyelinase and ceramide. *Nat Med* 2007; 13:164-70.
 16. Ion G, Fajka-Boja R, Kovács F, Szébeni G, Gombos I, Czibula A, et al. Acid sphingomyelinase mediated release of ceramide is essential to trigger the mitochondrial pathway of apoptosis by galectin-1. *Cell Signal* 2006;18(11):1887-96.
 17. Lee CY, Tamura T, Rabah N, Lee D-YD, Ruel I, Hafiane A, et al. Carboxyl-terminal disulfide bond of acid sphingomyelinase is critical for its secretion and enzymatic function. *Biochemistry* 2007;46(51):14969–78.
 18. Brady RO, Kanfer JN, Mock MB, Fredrickson DS. The metabolism of sphingomyelin. II. Evidence of an enzymatic deficiency in Niemann-pick disease. *Proc Nat Acad Sci USA* 1966; 55: 366-9.
 19. Herr I, Wilhelm D, Böhler T, Angel P, Debatin KM: Activation of CD95 (APO-1/Fas) signaling by

- ceramide mediates cancer therapy-induced apoptosis. *Embo J* 1997; 16:6200-8.
20. Spiegel S, Cuvillier O, Edsall LC, Kohama T, Menzeliev R, Olah Z, et al: Sphingosine-1-phosphate in cell growth and cell death. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 845:11-8.
 21. McGovern MM, Aron A, Brodie SE, Desnick RJ, Wasserstein MP. Natural history of type A Niemann-Pick disease: possible endpoints for therapeutic trials. *Neurology* 2006; 66:228-32.
 22. Wasserstein MP, Desnick RJ, Schuchman EH. The natural history of type B Niemann-Pick disease: results from a 10-year longitudinal study. *Pediatrics* 2004; 114: e672-7.
 23. Mikati MA, Zeinieh M, Habib RA, El Hokayem J, Rahmeh A, El Sabban M, et al. Changes in sphingomyelinases, ceramide, Bax, Bcl2, and caspase-3 during and after experimental status epilepticus. *Epilepsy Res* 2008; 81:161-6.
 24. McGovern MM, Wasserstein MP, Giugliani R, Bembi B, Vanier MT, Mengel E, et al. A prospective, crosssectional survey study of the natural history of Niemann-Pick disease type B. *Pediatrics* 2008; 122:e341-e349.
 25. Wasserstein MP, Aron A, Brodie SE, Simonaro C, Desnick RJ, McGovern MM: Acid sphingomyelinase deficiency: prevalence and characterization of an intermediate phenotype of Niemann-Pick disease. *J Pediatr* 2006; 149:554-9.
 26. Desnick JP, Kim J, He X, Wasserstein MP, Simonaro CM, Schuchman EH. Identification and characterization of eight novel SMPD1 mutations causing types A and B Niemann-Pick disease. *Mol Med* 2010;16(7-8):316-21.
 27. Rodríguez-Pascual L, Gort L, Schuchman EH, Vilageliu L, Grinberg D, Chabás A. Identification and characterization of SMPD1 mutations causing Niemann-Pick types A and B in Spanish patients. *Hum Mutat* 2009; 30 (7): 1117-22.
 28. Dardis A, Zampieri S, Filocamo M, Burlina A, Bembi B, Pittis M.G. Functional in vitro characterization of 14 SMPD1 mutations identified in Italian patients affected by Niemann Pick Type B disease. *Hum. Mutat* 2005; 26, 164.
 29. Pittis MG, Ricci V, Guerci VI, Marçais C, Ciana G, Dardis A, et al. Acid sphingomyelinase: identification of nine novel mutations among Italian Niemann Pick type B patients and characterization of in vivo functional in-frame start codon. *Hum Mutat* 2004;24(2):186-7.
 30. Reichel M, Richter-Schmidinger T, Mühle C, Rhein C, Alexopoulos P, Schwab SG, et al. The common acid sphingomyelinase polymorphism G508R is associated with self-reported allergy. *Cell Physiol Biochem* 2014; 34:82-91.
 31. Ferlinz K, Hurwitz R, Vielhaber G, Suzuki K, Sandhoff K: Occurrence of two molecular forms of human acid sphingomyelinase. *Biochem J* 1994; 301:855-62.
 32. Hjelm LN, Chin ELH, Hegde MR, Coffee BW, Bean LJH. A simple method to confirm and size deletion, duplication, and insertion mutations detected by sequence analysis. *J Mol Diagn* 2010;12(5):607-10.
 33. Schuchman EH. The pathogenesis and treatment of acid sphingomyelinase-deficient Niemann-Pick disease. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2009; 47:S48-57.
 34. Meikle P, Hopwood JJ, Clague AR, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999; 281 (3):249-54.
 35. Goodman RM. Genetic Disorders among the Jewish People. Johns Hopkins University Press: 1979.
 36. Vanier MT, Ferlinz K, Rousson R, Duthel S, Louisot P, Sandhoff K, et al. Deletion of arginine (608) in acid sphingomyelinase is the prevalent mutation among Niemann-Pick disease type B

- patients from northern Africa. *Hum. Genet.* 1993; 92, 325-30.
37. Simonaro CM, Desnick RJ, McGovern MM, Wasserstein MP, Schuchman EH. The demographics and distribution of type B Niemann-Pick disease: novel mutations lead to new genotype/phenotype correlations. *Am J Hum Genet* 2002;71(6):1413-9.
38. Aykut A, Karaca E, Onay H, Ucar SK, Coker M, Cogulu O, et al. Analysis of the sphingomyelin phosphodiesterase 1 gene (SMPD1) in Turkish Niemann-Pick disease patients: mutation profile and description of a novel mutation. *Gene* 2013;526(2):484-6.
39. Strom TM, TF W: DeFinetti program. 2004.
40. Wan Q, Schuchman EH. A novel polymorphism in the human acid sphingomyelinase gene due to size variation of the signal peptide region. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1270:207-10.
41. Rheina C, Reichela M, Mühlea C, Rottera A, Schwaba G S, Kornhuber J. Secretion of Acid Sphingomyelinase is Affected by its Polymorphic Signal Peptide. *Cell Physiol Biochem* 2014;34:1385-401.
42. Reichela M, Richter-Schmidinger T, Mühlea C, Rheina C, Alexopoulous PG, Schwaba S, et al. The Common Acid Sphingomyelinase Polymorphism p.G508R is Associated with Self-Reported Allergy, *Cell Physiol Biochem* 2014;34:82-91.
43. Dastani Z, Ruel IL, Engert JC, Genest J Jr, Marcil M: Sphingomyelin phosphodiesterase-1 (SMPD1) coding variants do not contribute to low levels of high-density lipoprotein cholesterol. *BMC Med Genet* 2007; 8:79.
44. He X, Chen F, Dagan A, Gatt S, Schuchman E.H. A fluorescence-based, high-performance liquid chromatographic assay to determine acid sphingomyelinase activity and diagnose types A and B Niemann-Pick disease. *Anal Biochem* 2003, 314, 116-20.
45. Rhein C, Mühlle C, Kornhuber J, Reichel M. Alleged Detrimental Mutations in the SMPD1 Gene in Patients with Niemann-Pick Disease. *Int J Mol Sci* 2015;16(6):13649-52.
46. Pittis MG, Ricci V, Guerci VI, Marcais C, Ciana G, Dardis A, Gerin F, Stroppiano M, Vanier MT, Filocamo M, Bembi B: Acid sphingomyelinase: identification of nine novel mutations among Italian Niemann Pick type B patients and characterization of in vivo functional in-frame start codon. *Hum Mutat* 2004, 24:186-7.

SPHINGOMYELINASE GENE MUTATION COMMON IN PATIENTS WITH TYPE A AND B NIEMANN PICK DISEASE IN NORTH WEST, IRAN

Elnaz Abedini^{1,2}, Seyed Mojtaba Mohaddes Ardebili^{3}, Abbas Ali Hosseinpour Feizi⁴*

Received: 22 Dec 2015; Accepted: 19 Feb , 2016

Abstract

Background & Aims: Niemann-Pick disease (NPD) types A and B are rare autosomal recessive disorders that occur due to mutations in the sphingomyelin phosphodiesterase 1 (SMPD1) gene, which result in the deficiency or shortage of lysosomal acid sphingomyelinase (ASM) activity. The disorder is characterized by the accumulation of sphingomyelin in the endolysosomal sections, and patients often present with hepatosplenomegaly, atherogenic lipid profiles, respiratory complications, and sometimes progressive neurodegeneration.

Materials & Methods: In this study, we report the molecular characterization of seven unrelated Iranian Azeri Turk patients with types A and B NPD by sequencing SMPD1 exons. For collecting more information about the frequency of the polymorphic hexanucleotide sequence, P.37LA (3-8), residing within the signal peptide of ASM, we also designed a control group consisting of 50 healthy participants with the same ethnic background.

Results: L137P missense mutation was observed in three of the seven patients in a homozygous state. Four patients were homozygous for rs1050239. In the case of P.37LA (3-8), the allele contained four hexanucleotide repeat units, the most frequent in both patients and healthy participants, followed by five, six, and seven repeats. However, five repeats were found for both cases in the ENSEMBLE and UCSC databases, whereas in the NCBI database, seven repeats are considered as a common allele.

Conclusion: L137P was the only pathogenic mutation found in this investigation. The existence of an allele with four repetitions with a high frequency for P.37LA (3-8) in our population can be an example of the founder effect.

Keywords: Niemann Pick disease, Sphingomyelin phosphodiesterase1, Acid sphingomyelinase

Address: Department of Medical Genetics, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Tel: +984133374322

Email: mohaddesmo@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016: 26(12): 1053 ISSN: 1027-3727

¹ Department of Genetics, East Azarbaijan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

² Department of Genetics, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

³ Department of Medical Genetics, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran(Corresponding Author)

⁴ Hematology and Oncology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran