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

الناز عابدینی[۱و۲]، سید مجتبی محدث اردبیلی[۳]، عباسعلی حسینپور فیضی[٤]

تاریخ دریافت ۱۳۹٤/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹٤/۱۱/۳۰

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» ایجادشده 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 آلبالویی 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 توالی‌یابی اگزون‌های ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ گزارش شد. درباره پلی‌مورفیسمِ توالی تکرارهای برای به‌دست‌آوردن اطلاعات بیشتر شش‌نوکلئوتیدی c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)، گروه کنترلی متشکل از پنجاه فرد سالم طراحی شد.

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

نتیجه‌گیری: L137P تنها جهش بیماری‌زا است که در جمعیت موردمطالعه مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: نیمن پیک، ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز۱، 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

بیماری نیمن پیک اختلال متابولیکی و نادری است که درنتیجه اختلال در روند متابولیسم اسفنگولیپیدها یا اختلال در استریفیکاسیون و حمل‌ونقل کلسترول ایجادشده و ازلحاظ بالینی به چهار نوع تقسیم‌بندی می‌شود (۱).

نیمن پیک نوع A و B در اثر اختلال و نقص در آنزیم اسفنگومیلیناز[1] ایجاد می‌شوند. آنزیم اسفنگومیلیناز در متابولیسم اسفنگومیلین دخیل است و به‌عنوان 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_1[2] (OMIM; 607623) و نیمن پیک نوع C_2[3] یا D (OMIM;

[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

[٤] 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)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

(601015 (۴) که به‌ترتیب در جایگاه کروموزومی 18q11-q12 و 14q24.3 قرارگرفته‌اند (۵، ۶). نقایص ژنی NPC1 و NPC2 موجب اختلال در حمل‌ونقل داخل سلولی کلسترول و دیگر لیپیدهای داخل سلول شده و درنتیجه تجمع غیرطبیعی کلسترول را در بافت‌هایی نظیر مغز استخوان، کبد، طحال و... 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 الحاق کلسترول به لیزوزوم نرمال می‌باشد درحالی‌که حمل‌ونقل 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 دژنرسانس عصبی در ۳ سالگی و سایرین با کاهش تونوس عضلانی تظاهر می‌کنند (۱۰).

نیمن پیک نوع A و B که در اثر نقص و کمبود آنزیم اسفنگومیلیناز ایجاد می‌شوند، ازنظر ژنتیکی به‌صورت اتوزومی مغلوب به ارث می‌رسند (۱۱). ژن مربوط به آن‌ها، اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱[4] (OMIM;607608) که در جایگاه کروموزومی 11(p15.1- p15.4) قرار گرفته است، از شش اگزون تشکیل شده و پروتئینی با ۶۳۱ اسیدآمینه کد می‌کند (۱۲، ۱۳).

اسفنگومیلیناز گلیکوپروتئینی است که در کیسه‌های ترشحی و در قسمت خارجی غشای پلاسمایی یافت می‌شود (۱۴، ۱۵) و نقش مهمی در تکثیر سلولی، تمایز سلولی، مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول و همچنین واکنش‌های ایمنی و التهابی ایفا می‌کند (۱۶، ۱۷). 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 به‌عنوان یک پیام‌بر لیپیدی، در پیشبرد این واکنش‌ها عمل می‌کند (۱۹). افزایش سطح سرامید در سلول، باعث القای مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول می‌شود؛ درحالی‌که افزایش متابولیت‌های فسفریلهٔ آن، مانند اسفنگوزین یک‌فسفات، باعث القای تکثیر سلولی می‌شود (۲۰).

نیمن پیک نوع A سیر حاد و شدیدی داشته و علائم بیماری در دوران شیرخوارگی بروز می‌کند (۱۳). این بیماری با علائم بالینی همچون بزرگی شدید کبد و طحال، لکه‌های قرمز آلبالویی در ماکولای چشم، اختلالات عصبی پیش‌رونده و مرگ زودهنگام در حدود دو تا سه‌سالگی مشخص می‌شود (۲۳-۲۱). نوع B بیماری سیر پیشرفت کندتری داشته و با بزرگی کبد و طحال و درگیری ریوی در سنین کودکی تا بزرگ‌سالی بروز می‌کند (۲۴). علاوه بر نوع A و B بیماری، نوع متوسطی به نام A/B وجود دارد که در سنین دو تا هفت سال بروز می‌کند 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 به‌صورت اختصاصی در خانواده‌ها و اقوام مختلف دیده شده است (۲۹-۲۶)؛ بنابراین تشخیص و پیش‌بینی ژنتیکی، هنگامی‌که فنوتیپ و علائم بالینی قادر به تعیین دقیق نوع بیماری نیست، ضروری است.

در این مطالعه، مشخصات هفت بیمار غیرخویشاوند ایرانی مبتلا به نیمن پیک نوع A و B از شمال غرب ایران با نژاد ترک آذری گزارش 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 آذری موردبررسی قرار گرفتند. بیماران موردنظر، توسط پزشکان متخصص غربالگری شده و برای بررسی مولکولی در این مطالعه معرفی شدند. تشخیص بر اساس ویژگی‌های بالینی بیماران ازجمله بزرگی کبد و طحال، تورم شکم، اختلال در رشد، لکه‌های قرمز آلبالویی در ماکولای چشم و برخی اقدامات پاراکلینیکی شامل آزمون عملکرد کبدی، اسکن مغز بیماران، آزمون اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسفنگومیلیناز و هم‌چنین آسپیراسیون مغز استخوان و مشاهده ماکروفاژهای انباشته از چربی به شکل حباب آب یا کف صابون در مغز استخوان بیماران، حاصل گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی اسفنگومیلیناز به‌طور 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 ترا استیک اسید [5] 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

[4] Sphingomyelin phosphodiesterase1(SMPD1)

[5] Ethylenediaminetetraacetic Acid(EDTA)

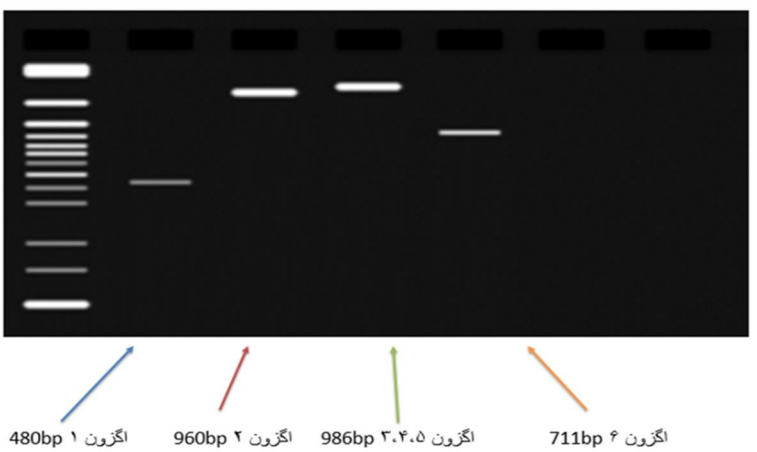
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

دیگر است. اگزون‌های یک تا ششِ ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ و نواحی مرزی اگزون- اینترون با استفاده از چهار جفت پرایمراختصاصی، 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.

برنامهٔ دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[6] به شرح زیر است: واسرشت‌سازی[7] اولیه در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه، سپس ۳۵ چرخهٔ واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه به مدت چهل ثانیه، پس‌ازآن چهل ثانیه اتصال[8] در دمای اختصاصی هر پرایمر و گسترش[9] در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت چهل ثانیه. نمونه محصولات PCR ران شده گروه بیماران روی ژل آگارز در شکل شماره یک به‌طور خلاصه نشان داده شده است.

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

شماره اگزون	نام آغازگر	توالی	دمای Tm
1-Reverse	SMPD1-1R	'۵-CCCCAGCACTCCTTTCGG-'3	62
1-Forward	SMPD1-1F	'۵-AGAAGGGTAGGGTGTCC-'3	62
2-Reverse	SMPD1-2R	5'-GCAATCAGAGACAATGCCCC-'3	61
2-Forward	SMPD1-2F	5'-CAGTTTGGAAATGGAGGCCC-3'	61
3,4,5-Reverse	SMPD1-3,4,5R	5'-CTCCTTCCCCTATCCCACCA-'3	63
3,4,5-Forward	SMPD1-3,4,5F	-'۵ TGGGGAAGATGTCATGTATGC-3	'63
6-Reverse	SMPD1-6R	CTCCATGGCTGTGAAAGGAC--'۵ '3	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 نمونه محصول PCR اگزون ۱ که طولی در حدود ۴۸۰ جفت باز دارد، نمونه محصول PCR اگزون ۲ که طولی در حدود ۹۶۰ جفت باز دارد، نمونه محصول PCR اگزون ۳،۴،۵ که طولی در حدود ۹۸۶ جفت باز دارد و نمونه محصول PCR اگزون ۶ که طولی در حدود ۷۱۱ جفت باز دارد.

برای جمع‌آوری اطلاعات بیشتر درباره فراوانی پلی‌مورفیسم c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8) در جمعیت شمال غرب ایران، گروه کنترلی متشکل از پنجاه فرد سالم، با زمینهٔ قومی یکسان با گروه بیماران، طراحی شد. مطالعه روی گروه کنترل با استفاده از

[6] Polymerase chain reaction (PCR)
[7] Denaturation
[8] Annealing
[9] Extension/Elongation

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

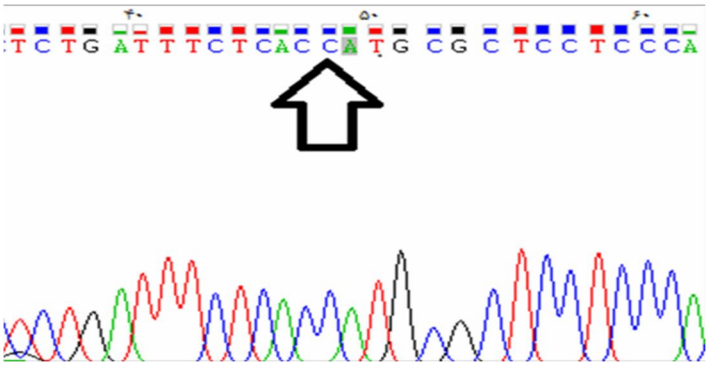
تکنیک الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۳ درصد انجام پذیرفت. هر تکرار ۶ نوکلئوتیدی bp ۶ طول دارد. علت استفاده از تکنیک الکتروفورز ژل آگارز صرفه جویی در زمان و هزینه و همچنین یادگیری و استفاده از تکنیک‌های دیگر در این مطالعه بود. تعدادی از نمونه‌ها برای حصول اطمینان از نتایج به‌دست آمده با روش الکتروفورز 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 به‌دست آمده از PCR جهت انجام توالی یابی مستقیماً به شرکت پیشگام بیوتکنولوژی ارسال گردید و توسط شرکت کره‌ای ماکروژن توالی یابی با استفاده از چهار جفت پرایمر ذکرشده انجام شد. برنامه BLAST2.0، قابل دسترسی در پایگاه (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) جهت مقایسه توالی‌های DNA با توالی‌های منتشر شده در بانک ژنی مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیز نتایج توالی یابی محصولات PCR با استفاده از نسخه ۲،۱،۱ نرم‌افزار کروماز[1] انجام گرفت.

نتایج

با بررسی و آنالیز نتایج حاصل از توالی‌یابی اگزون‌های ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ در هفت بیمار موردمطالعه، جهش L137P که در اگزون دوم رخ می‌دهد (شکل ۲)، به‌صورت هموزیگوت در سه نفر (بیمار شماره یک، سه و چهار) از هفت بیمار مشاهده شد. شش آلل موتانت L137P، تنها آلل‌های موتانت بیماری زا مشاهده‌شده در جمعیت بیماران موردمطالعه بودند. جهش‌های شناسایی شده در بیماران در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.



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

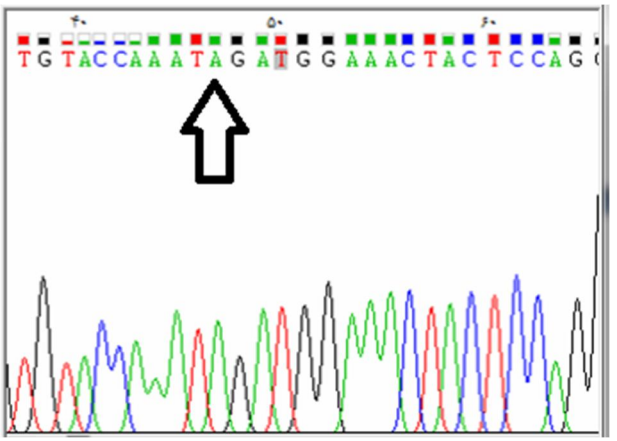
جدول (۲): جهش‌های شناسایی شده ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز در بیماران

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

پلی‌مورفیسم c.1522G>A; p.G508R که در اگزون ششم رخ می‌دهد (شکل ۳)، در چهار نفر (بیمار شماره یک، دو، سه و چهار) از بیماران به‌صورت هموزیگوت مشاهده شد. این پلی‌مورفیسم رایج‌ترین پلی‌مورفیسمِ تک‌نوکلئوتیدی در ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ است که باعث جابه‌جایی گلایسین با آرژنین در ناحیه ۵۰۸ آنزیم اسفنگومیلیناز می‌شود (۳۰).

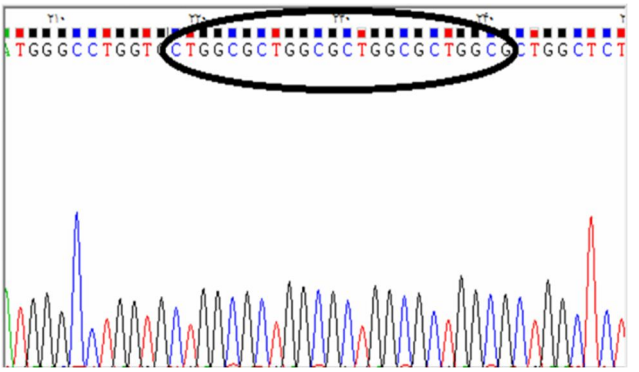
[1] Chromas

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]



شکل (۳): تصویر توال 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).

پلی‌مورفیسم شایع دیگر که در شش نفر از بیماران موردمطالعه (بیمار شماره یک، دو، سه، چهار، پنج و هفت) به‌صورت هموزیگوت و هتروزیگوت مشاهده شد، پلی‌مورفیسم توالی تکرارهای شش‌نوکلئوتیدی است که در اگزون اول رخ داده و در داخل ناحیه سیگنال‌پپتیدِ آنزیم نابالغ قرار دارد (شکل ۴) (۳۱).

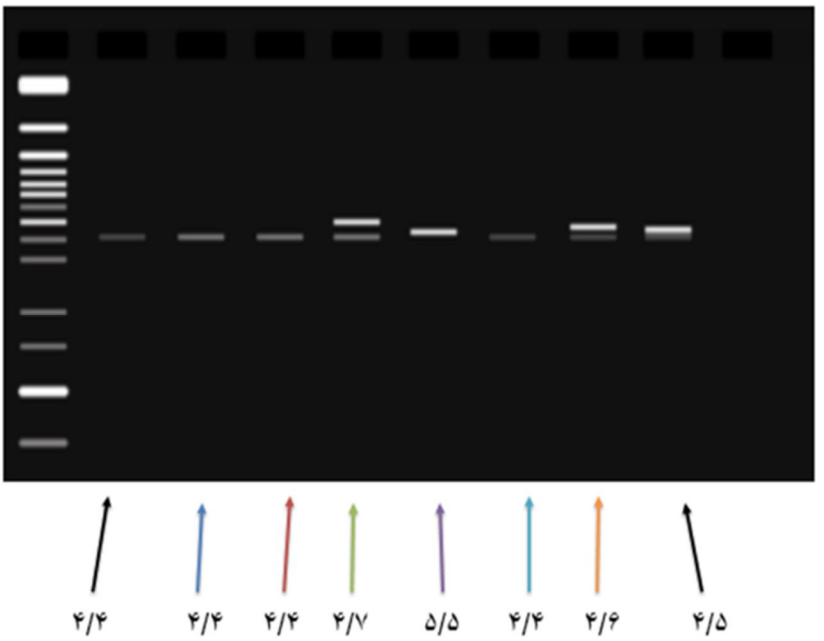


شکل (۴): نمونه توالی یابی اگزون اول بیمار شماره ۱، نشان دهنده پلی مورفیسم تکرارهای ۶ نوکلئوتیدی c.108GCTGGC(3-8); p.37LA(3-8) و آلل با ۴ تکرار ۶ نوکلئوتیدی می‌باشد.

پلی‌مورفیسم توالی تکرارهای شش‌نوکلئوتیدی، با تکرارهایی شامل چهار، پنج، شش و هفت تکرار، در جمعیت موردمطالعه 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).

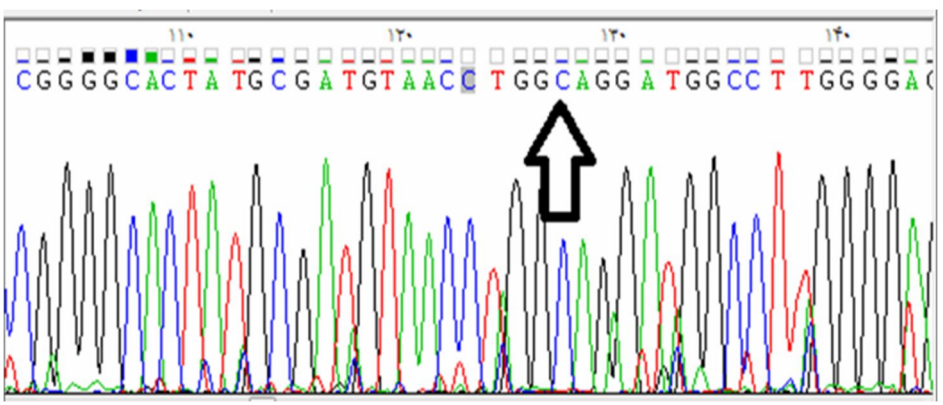
آلل با چهار تکرار شش‌نوکلئوتیدی با فراوانی آللی ۵۷٫۸۹ درصد و آلل‌هایی با پنج، شش و هفت تکرار به ترتیب با فراوانی ۱۵٫۷۸، ۱۵٫۷۸ و ۱۰٫۵۲ درصد در گروه کنترل مشاهده شد. در هر دو گروه بیماران و افراد سالم، ژنوتیپ c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[4]، ژنوتیپ غالب بود. نتایج حاصل از توالی یابی تعدادی از نمونه‌های گروه کنترل، با نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات PCR همان نمونه‌ها روی ژل آگارز ۳ درصد مطابقت داشت. تعدادی از نمونه محصولات PCR گروه کنترل که روی ژل آگارز ۳ درصد ران شده، در شکل ۵ نشان داده شده است.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]



شکل (۵): نمونه محصولات PCR گروه کنترل مورد بررسی که روی ژل آگارز ۳ درصد ران شده است، تصویر نشان دهنده نمونه PCR ۸ نفر از افراد گروه کنترل می‌باشد که روی ژل آگارز ۳ درصد ران شد که به ترتیب از سمت چپ به راست نشان دهنده ladder 50 bp، فرد هموزیگوت با ژنوتیپ [4]+[4]c.108CTGGCG نسبت به آلل ۴ تکرار ۶ نوکلئوتیدی، فرد با ژنوتیپ هموزیگوت [4]+[4]c.108CTGGCG، فرد با ژنوتیپ هموزیگوت [4]+[4]c.108CTGGCG، فرد با ژنوتیپ هتروزیگوت [7]+[4]c.108CTGGCG، فرد با ژنوتیپ هموزیگوت [5]+[5]c.108CTGGCG، فرد با ژنوتیپ هموزیگوت [4]+[4]c.108CTGGCG، فرد با ژنوتیپ هتروزیگوت [6]+[4]c.108CTGGCG و فردی با ژنوتیپ هتوزیگوت [5]+[4]c.108CTGGCG می‌باشد.

c.107T>C (p.V36A); rs1050228 پلی‌مورفیسم دیگری است که در داخل اولین تکرار توالی تکرارهای شش‌نوکلئوتیدی واقع شده است (شکل ۶). این پلی‌مورفیسم به‌صورت هموزیگوت در یکی از بیماران موردمطالعه (بیمار شماره شش) مشاهده شد. به علت حذف اولین تکرار در توالی تکرارهای شش‌نوکلئوتیدی در بیشتر بیماران، این پلی‌مورفیسم با کم‌ترین فراوانی در جمعیت بیماران موردمطالعه مشاهده شد. پلی‌مورفیسم‌های شناسایی شده در بیماران به‌طور خلاصه در جدول شماره سه نشان داده شده است.



شکل ۶) تصویر توالی یابی اگزون اول بیمار شماره ۶، نشان دهنده پلی مورفیسم c.107T>C (p.V36A) است. باعث جایگزینی آمینواسید والین با آلانین در جایگاه ۳۶ پروتئین می‌شود (GTA->GCA).

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

جدول (۳): پلی‌مورفیسم‌های شناسایی شده ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز۱ در بیماران

پلی مورفیسم	لکه قرمز آلبالویی	بزرگی کبد و طحال	شماره اگزون	جنس	سن	شماره بیماران
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[5]+[6]	+	+	۱	مرد	۴	۱
c.1522G>A; p.G508R	+	+	۶	مرد	۴	۱
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[4]	+	+	۱	زن	۱۱	۲
c.1522G>A; p.G508R	+	+	۶	زن	۱۱	۲
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[4]	+	+	۱	مرد	۱۴	۳
c.1522G>A; p.G508R	+	+	۶	مرد	۱۴	۳
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[4]	+	+	۱	زن	۱۰	۴
c.1522G>A; p.G508R	+	+	۶	زن	۱۰	۴
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[5]	+	-	۱	مرد	۴	۵
c.107T>C (p.V36A)	+	+	۱	زن	۲	۶
c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[6]	+	+	۱	مرد	۵	۷

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

بحث

نیمن پیک یک بیماری چندگانه با طیف وسیعی از علائم بالینی است. علائم بالینی این بیماری، بسته به مقدار فعالیت باقی‌ماندهٔ آنزیم متفاوت است. انواع مختلفی از اختلالات مولکولی و تفاوت در علائم بالینی و فنوتیپ، در هر دو نوع نیمن پیک A و B شناخته شده است (۲، ۳۳). برآورد دقیق بروز بیماری نیمن پیک A و B در جهان ممکن نیست چون به‌طور حتم عده‌ای از بیماران نا شناخته باقی می‌مانند که این می‌تواند بدلیل 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 جمعیت یهودی اشکنازی رخ می‌دهد (۳۴). سه جهش L302P, fsP330 و R496L حدود ۹۲ درصد از آلل های موتانت در بیماران یهودی اشکنازی با نیمن پیک A را شامل می‌شوند (۲). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد نیمن پیک نوع A و B در اقوام و جمعیت‌های مختلفی شناسایی شده است، ولی به ترتیب، با بیشترین فراوانی، در اقوام و جمعیت‌های یهودی اشکنازی و شمال آفریقا رخ می‌دهند (۳۵، ۳۶). بر حسب مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۲ توسط کالوگرا و همکارانش انجام گرفته است، سه جهش L137P, fsP189 و L549P بیشتر از ۷۰ درصد آلل های مربوط به نیمن پیک نوع B در جمعیت ترکیه را شامل می‌شوند. جهش‌های H421Y و K576N ۸۵ درصد آلل های مربوط به نیمن پیک B در جمعیت عربستان سعودی را تشکیل می‌دهند. همچنین جهش‌های S379P, R441X, R479W و F480L در حدود ۵۵ درصد آلل های مربوط به بیماران نیمن پیک B در جمعیت پرتغالی/ برزیلی را تشکیل می‌دهند و جهش A196P بیشتر از ۴۲ درصد آلل های بیماران مبتلا به نیمن پیک B جمعیت اسکاتلندی/ انگلیسی را شامل می‌شود (۳۷).

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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

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

بر اساس مطالعات صورت‌گرفته، پی 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 به‌صورت 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 مشاهده‌شده در این مطالعه است. در این مطالعه فعالیت آنزیمی آنزیم اسفنگومیلیناز در بیماران به‌طور مستقیم مورد بررسی قرار نگرفت بنابراین نمی‌توان به‌طور قطع در مورد تأثیر جهش مشاهده شده روی فعالیت آنزیم اسفنگومیلیناز در جمعیت مورد مطالعه نظری داد و نیاز به مطالعات و تحقیقات وسیع‌تری می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط سایمینارو و همکاران[1] 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[2] در کشور ترکیه صورت گرفت، در پنج نفر از ۱۰ بیمار مبتلا به نیمن پیک مشاهده شد (۳۸). تشابه در نتایج به‌دست‌آمده در مطالعات قبلی و مطالعه حاضر، می‌تواند به علت تشابه جغرافیایی در دو منطقه و دو جمعیت باشد.

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

در اگزون اول، پلی‌مورفیسمِ توالی تکرارهای شش‌نوکلئوتیدی c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8) در داخل ناحیهٔ سیگنال‌پپتیدِ آنزیم اسفنگومیلیناز قرار دارد. ناحیه سیگنال پپتید آنزیم اسفنگومیلیناز برخلاف ناحیه سیگنال پپتید آنزیم های دیگر که از حدود ۲۰ آمینو اسید تشکیل شده‌اند، از ۴۸ آمینو اسید تشکیل شده است. با وجود اینکه ناحیه سیگنال پپتید در ساختار آنزیم بالغ حضور ندارد ولی نقش بسیار مهمی در شکل گیری صحیح آنزیم بالغ و فعال دارد (۳۲، ۳۹).

وان[3] و اسکاچمن[4] اولین افرادی بودند که توالی تکرارهای شش‌نوکلئوتیدی‌ای را شناسایی کردند که توالی تکرارهای لوسین-آلانین را کد می‌کند. زمانی که ناحیه ژنومی آنزیم اسفنگومیلیناز توالی یابی شد با cDNA مربوطه به‌طور 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 آلل هایی 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 انجام‌شده، آلل‌هایی با چهار و هشت تکرارِ شش‌نوکلئوتیدی، با کم‌ترین فراوانی و آلل‌هایی با پنج و شش تکرار شش‌نوکلئوتیدی، با بیشترین فراوانی رخ می‌دهند (۳۳، ۴۱).

پلی‌مورفیسم c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8) در مطالعه حاضر، با تکرارهای چهار، پنج، شش و هفت تکرار شش‌نوکلئوتیدی رخ داد و آلل با چهار تکرار شش‌نوکلئوتیدی، با بیشترین فراوانی در هر دو گروه بیماران و افراد سالم مشاهده شد. وجود تفاوت چشمگیر در فراوانی آللی آلل با چهار تکرار شش‌نوکلئوتیدی میان جمعیت موردمطالعه و دیگر جمعیت‌های مطالعه‌شده، می‌تواند مصداقی از اثر بنیان‌گذار یا تمایل به ازدواج خویشاوندی در جمعیت آذربایجان باشد. آلل با چهار تکرار شش‌نوکلئوتیدی c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4] با فراوانی بالا، برای اولین‌بار 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

1. Simonaro et al
2. Aykut et al
3. Wan
4. Schuchman

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

تکرارهای شش نوکلئوتیدی 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 انجام‌شده، فعالیت آنزیم اسفنگومیلینازِ ترشحی در افراد با ژنوتیپ c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[6]+[6] در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[5]+[5]، ۵۲درصد بیشتر است. این تفاوت در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ c.108GCTGGC (3-8); P.37LA (3-8)[4]+[4] ، به ۶۶درصد می‌رسد (۳۳، ۴۱).

c.1522; Gly508Arg rs1050239 دیگر پلی‌مورفیسم شایع در جمعیت موردمطالعه بود. این پلی‌مورفیسم در مجاورت یک جایگاه بالقوهٔ فسفریلاسیون قرار دارد که دارای نقشی مهم در فعالیت و ترشح آنزیم است؛ درنتیجه، این جایگزینی می‌تواند روی عملکرد جایگاه فسفریلاسیونِ مجاور تأثیر داشته و موجب کاهش فعالیت، ترشح و پایداری آنزیم شود (۴۲، ۴۳).

مطالعات انجام‌شده ارتباط چشمگیری بین فعالیت اسفنگومیلینازِ ترشحی و پلی‌مورفیسم rs1050239 گزارش کرده‌اند. فعالیت اسفنگومیلیناز ترشحی در افرادِ با ژنوتیپ GG دارای بیشترین مقدار، در افراد با ژنوتیپ AG دارای مقدار متوسط و در افراد با ژنوتیپ AA دارای کم‌ترین مقدار است؛ از سوی دیگر، ارتباط این پلی‌مورفیسم با فعالیت اسفنگومیلیناز لیزوزومی هنوز موردبحث بوده و رابطهٔ آشکاری مشاهده نشده است؛ بااین‌حال، فعالیت اسفنگومیلیناز لیزوزومی در افراد با ژنوتیپ AA، در مقایسه با دو ژنوتیپ دیگر، به‌طور قابل‌توجهی پایین است (۴۲، ۴۴).

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؛ به‌صورت هموزیگوت بودند. این بیماران دارای علائم بالینی مشابهی ازجمله بزرگی کبد و طحال، لکه قرمز آلبالوئی در ماکولای چشم، اختلال در رشد، قد و وزن پایین و تورم شکم بودند. بیماری آن‌ها توسط آسپیراسیون مغز استخوان و مشاهده ماکروفاژهای 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 فنوتیپ 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 ژنوتیپ 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 3'UTR یا 5'UTR 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 به‌طور 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 ژنوتیپ یکسان، علائم بالینی و فنوتیپ متفاوتی را نشان می‌دهند. بنابراین ممکن است علل و فاکتورهای دیگری در بروز علائم بالینی در بیماران مبتلا به نیمن پیک دخیل باشند. نبودن رابطهٔ روشنی میان ژنوتیپ/ فنوتیپ 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:

1. Vanier MT. Biochemical studies in Niemann- Pick disease. I. Major Sphingolipids of liver and spleen. Biophys Acta 1983; 750: 178-84.
2. Schuchman EH, Desnick RJ. Niemann-Pick disease types A and B: acid sphingomyelinase 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.
3. McGovern MM, Schuchman EH. Acid sphingomyelinase deficiency. In: Pagon, R.A.,

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

Bird, T.D., Dolan, C.R., Stephens, K. (Eds.), GeneReviews [Internet]. 2099. 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 signifi cance 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. Purifi cation and properties of a sphingomyelincleaving 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 ontcome in children, with particular reference to live disease. J Pediatr 1993. 123: 242-7.
11. Levran O, Desnick RJ, Schuchman EH. Nimann-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, Disteche 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 sphingomyelinasedeficient Niemann–Pick disease. J Inherit Metab Dis 2007; 30, 654–63.
14. Doehner W, Bunck AC, Rauchhaus M, von Haehling S, Brunkhorst FM, Cicoira 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, Hefter 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, Szebeni 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, Fredickson DS. The metabolism of sphingomyelin. II. Evidence of an enzymatic deficiency in Niemann-pick disease. Proc NatAcad 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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

ceramide mediates cancer therapy-induced apoptosis. Embo J 1997; 16:6200-8.

20. Spiegel S, Cuvillier O, Edsall LC, Kohama T, Menzeleev 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-Pascau L, Gort L, Schuchman EH, Vilageliu L, Grinberg D, Chab´as 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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

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, Kornhuberb J. Secretion of Acid Sphingomyelinase is Affected by its Polymorphic Signal Peptide. Cell Physiol Biochem 2014;34:1385-401.
42. Reichela M, Richter-Schmidingera T, Mühlea C, Rheina C, Alexopoulosa 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, Mühle 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.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

Original Article

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 Feizi[4]*

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*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]