

## جهش در ژن‌های دخیل در بیماری‌های متابولیک ذخیره‌ای لیزوزوم به روش تعیین توالی اگزوم در دو خانواده در استان خوزستان

زهرا یگانه‌دوست<sup>۱</sup>، آتوسا مرادزادگان<sup>۲</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزومی (LSDs) گروهی از بیماری‌های متابولیک هستند که در اثر جهش در آنزیم‌های لیزوزومی ایجاد شده و منجر به تجمع سوبسترای لیزوزوم می‌شود. بیماری گوچر و نیمن پیک، دو اختلال لیزوزومی اتوزومال مغلوب هستند که به ترتیب در اثر جهش در ژن بتا گلوکوزیداز و ژن اسفنگومیلین فسفودی استراز ۱ ایجاد می‌شوند. ابزار تشخیصی قدرتمند مبتنی بر فناوری توالی‌یابی اگزوم (WES (Whole-exome sequencing) با کمک به تشخیص سریع‌تر، زمینه را برای مشاوره ژنتیکی مناسب‌تر فراهم می‌کند.

**روش‌ها:** در این پژوهش، پس از نمونه‌گیری در لوله‌ی حاوی ماده‌ی ضد انعقاد EDTA و استخراج DNA، تعیین توالی نسل بعد به کمک روش WES انجام پذیرفت. بعد از یافتن ژن کاندید، به منظور تأیید واریانت از روش PCR (Poly chain reaction) برای تکثیر و از نرم‌افزار کروماتس برای خوانش توالی استفاده گردید.

**یافته‌ها:** نتایج تعیین توالی اگزوم ۸ ژن GBA در فرد بیمار خانواده اول، حاکی از جهش هموزیگوت شناخته شده‌ی بیماری گوچر در ژن GBA: c.79C>T:p.I260S بود. نتایج تعیین توالی اگزوم ۹ از ژن NPC1 در فرد بیمار خانواده‌ی دوم، نشان‌دهنده‌ی جهش هموزیگوت در ژن NPC1: c.1350C>G.p.I450M می‌باشد که یک واریانت جدید در بیماران نیمن پیک است.

**نتیجه‌گیری:** روش WES با ارزیابی هم‌زمان چندین ژن می‌تواند زمان تشخیص واریانت‌های بیماری‌زای بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزومی (LSDs) کاهش داده و به درمان بیماران کمک می‌کند.

**واژگان کلیدی:** بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزوم؛ توالی کل ژنوم؛ بیماری گوچر؛ بیماری نیمن پیک

**ارجاع:** یگانه‌دوست زهرا، مرادزادگان آتوسا. جهش در ژن‌های دخیل در بیماری‌های متابولیک ذخیره‌ای لیزوزوم به روش تعیین توالی اگزوم در دو خانواده در استان خوزستان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۱۰): ۱۳۷-۱۳۱

### مقدمه

LSDs (Lysosomal storage diseases) و بیماری‌های

نورودژنراتیو می‌شود.

بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزومی (LSDs)، در اثر نقص تک ژنی ایجاد می‌شوند. حدود ۷۰ درصد از LSDها مربوط به نقایص آنزیمی بوده و مابقی مرتبط با نقص در فعال‌کننده‌های آنزیم هستند (۳). اکثر LSDها دارای الگوی توارث اتوزوم مغلوب هستند (۴). بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزومی را می‌توان بر اساس نوع مواد انباشته شده (اسفنگولیپیدوزها، موکوپلی ساکاریدوزها، گلیکوپروتئینوزها، لیپید) یا با توجه به پروتئین‌های غشایی دخیل، نقص در اصلاحات پس از

لیزوزوم‌ها، مراکز تخریب در سلول‌ها هستند و نقش مهمی در هموستاز سلولی، رشد و پیری دارند (۱). لیزوزوم‌ها، مواد تولید شده توسط اندوسیتوز مولکول‌های کوچک و پروتئین‌های سطح سلولی، فاگوسیتوز ذرات بزرگ مانند اجساد سلول‌های آپوپتوز شده و باکتری‌های بیماری‌زا، یا اتوفازای محتویات سیتوپلاسمی شامل میتوکندری آسیب دیده و لیزوزوم‌ها را دریافت و هضم می‌کنند (۲). اختلال عملکرد لیزوزوم باعث طیف گسترده‌ای از اختلالات انسانی مانند بیماری‌های ذخیره‌سازی لیزوزومی

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران

۲- استادیار، گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: آتوسا مرادزادگان؛ استادیار، گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران

## روش‌ها

در این پژوهش مقطعی، بیماران دو خانوادگی مبتلا به اختلالات لیزوزومی که در سال ۱۴۰۰-۱۴۰۱ به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی نورژن اهواز مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. پس از جمع‌آوری اطلاعات کلینیکی و اخذ رضایت‌نامه از خانواده‌ها، مشاوره ژنتیک و رسم شجره‌نامه‌ی افراد انجام شد. معیارهای ورود به آزمایش تأیید تظاهرات کلینیکی توسط پزشک متخصص، آزمایش‌های بیوشیمیایی اولیه تأییدکننده‌ی اختلالات لیزومی و رضایت بیمار برای شرکت در پژوهش بود. نخست ۵ میلی‌لیتر خون محیطی از بیماران گرفته شد و در داخل فالتون حاوی ماده‌ی ضد انعقاد EDTA (Ethylenediamine-tetraacetate) ۰/۵ درصد ریخته شد. استخراج DNA به روش Salting out انجام گردید. پس از استخراج DNA، کیفیت DNAها به روش کمی و کیفی محاسبه شد. به منظور بررسی کمی، از دستگاه نانودراپ و برای بررسی کیفی DNA از الکتروفورز استفاده شد. برای توالی‌یابی ژنوم از پلتفرم Illumina HiSeq 2500 استفاده گردید. بعد از توالی‌یابی نمونه‌ها با روش WES، داده‌های حاصل با کمک نرم‌افزارهای مرتبط آنالیز شد. سپس برای تأیید واریانت، از روش توالی‌یابی سنگر استفاده گردید. توالی پرایمرهای استفاده شده در این پژوهش در جدول ۱ نشان داده شده است. به منظور انجام PCR، ۱۰ میکرولیتر از محلول Red Mix به ۰/۵ میکرولیتر از پرایمرهای R و F اضافه شد. سپس ۸ میکرولیتر آب مقطر و در مرحله‌ی آخر ۱/۵ میکرولیتر از DNAی تخلیص شده اضافه گردید. بعد از انجام PCR، محصولات آن الکتروفورز گردید (شکل ۱). در مرحله‌ی بعد محصولات به منظور خوانش توالی، در دستگاه توالی‌یابی یا سکونسر ABI 3130XL قرار داده شد و در نهایت با استفاده از نرم‌افزار کروماتس Chromas در سایت Blast NCBI و ENSEMBL مورد بررسی قرار گرفت.

## یافته‌ها

در این پژوهش، ۲ خانواده از استان خوزستان که دارای بیمار مبتلا به اختلالات لیزومی بودند، مورد بررسی قرار گرفتند، بعد از مشاوره ژنتیک و رسم شجره‌نامه‌ی خانوادگی آن‌ها نوع جهش‌های موجود در این خانواده‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

ترجمه و یا نقص متابولیسم lipofuscin طبقه‌بندی کرد (۵).

بیماری گوچر (Gaucher disease)، یک بیماری ژنتیکی نادر و اتوزومال مغلوب است که در اثر جهش در ژن GBA1، واقع در کروموزوم ۱ (1q21) ایجاد می‌شود (۶). این موتاسیون منجر به کاهش قابل توجه فعالیت آنزیم لیزوزومی گلوکوسربروزیداز شده که گلوکوزیل سرامید (GlcCer) را به سرامید و گلوکز هیدرولیز می‌کند. بیش از ۳۰۰ جهش GBA در ژن GBA1 توصیف شده است (۷). نرخ بروز بیماری گوچر در جمعیت عمومی، تقریباً ۱/۴۰۰۰۰ تا ۱/۶۰۰۰۰ تولد است که در یهودیان اشکنازی به ۱/۸۰۰ افزایش می‌یابد (۸).

بیماری نیمن‌پیک (Niemann-Pick disease)، گروهی دیگر از اختلالات متابولیک ارثی شدید است که در آن اسفنگومیلین در لیزوزوم‌های سلولی تجمع می‌یابد. جهش در ژن SMPD1 باعث بیماری نیمن پیک نوع A و B می‌شود که بر اثر کمبود در فعالیت آنزیم لیزوزومی اسید اسفنگومیلیناز ایجاد می‌شوند (۹). جهش در NPC1 یا NPC2 نیز باعث بیماری Niemann-Pick نوع C (NPC) می‌شود که بر پروتئینی که برای انتقال لیپیدها استفاده می‌شود، تأثیر می‌گذارد (۱۰). میزان بروز بیماری نیمن‌پیک نوع A در میان یهودیان اشکنازی حدود یک در ۴۰۰۰ نفر و در جمعیت‌های دیگر، یک در ۲۵۰۰۰ تخمین زده می‌شود (۱۱). میزان بروز بیماری نیمن پیک نوع C یک در ۱۵۰۰۰ تخمین زده شده است (۱۱).

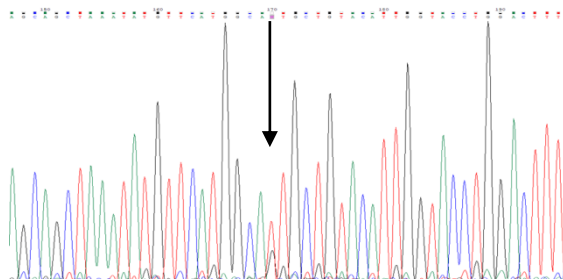
بیماری‌های ذخیره‌ی لیزوزومی (LSDs)، یک گروه ناهمگن از حدود ۷۰ اختلال متابولیک تک ژنی هستند که تشخیص آن‌ها به دلیل تنوع در نفوذ فنوتیپ، تظاهرات بالینی و ناهمگنی آلی بالی، چالشی سخت برای پزشکان است. در سال‌های اخیر، تأیید درمان‌های خاص بیماری و ظهور سریع روش‌های تشخیصی سریع جدید، امکان شناسایی این بیماری را سریع کرده است (۱۲).

جستجوی واریانت‌های عامل ژنتیکی عمدتاً به توالی‌یابی Sanger سپرده می‌شد. خوشبختانه، ظهور توالی‌یابی نسل بعدی (Next-generation sequencing) NGS انقلابی در زمینه‌ی تشخیص و غربالگری ایجاد کرده است و نقش مرتبگی را به عنوان یک ابزار حمایتی ژنتیکی در تشخیص LSDها در ترکیب با داده‌های بیوشیمیایی و بالینی ایفا می‌کند (۱۳). هدف از این مطالعه، تجزیه و تحلیل همزمان تعداد زیادی مکان ژنتیکی مرتبط به بیماران مورد پژوهش در کوتاه‌ترین زمان ممکن و با صرف حداقل هزینه می‌باشد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده برای واکنش PCR ژن NPC1 و GBA

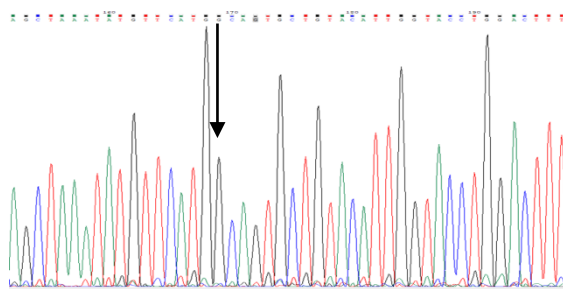
NO	Name	Sequence	Annealing Temperature	Mer
1	GBA-EX8F833	5'-AGCCCCGAGTGACAGAGTGAC -3'	62.5	20
2	GBA-EX8R833	5'-AAGGTTCCAGTCGGTCCAG -3	59.5	19
3	NPC1-EX9F393	5'-CCTCAGGGCAATGCTGATTA -3	58.4	20
4	NPC1-EX9R393	5'-TGCTCATAAAACAAGCTTTTGC -3	56.6	22

عنوان CM125236 در فرد مبتلا به بیماری گاشر معرفی شده است (شکل ۳ تا ۴).



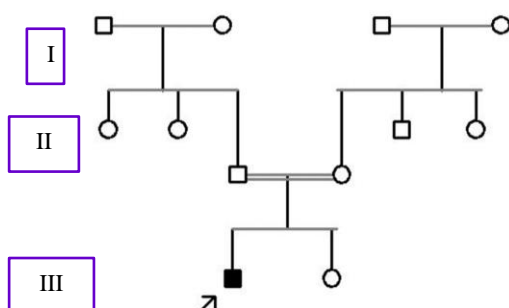
شکل ۳. تعیین توالی آگزون ۸ ژن GBA در والدین فرد بیمار نشان‌دهنده‌ی ناقل بودن ایشان برای جهش GBA: c.779T>G می‌باشد.

در خانواده‌ی دوم، فرد بیمار یک پسر ۱۲ ماهه حاصل ازدواج خانوادگی با علائم مختلف شامل اختلالات کبدی، آتاکسی، اختلالات ماهیچه‌ای و ریوی بود. بررسی شجره‌نامه‌ی ایشان نشان داد، در خانواده‌ی آن‌ها قبلاً فرد بیمار مشابهی وجود نداشته است (شکل ۵).

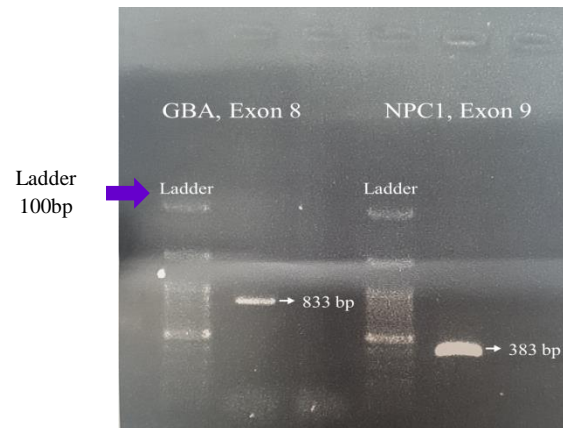


شکل ۴. تعیین توالی آگزون ۸ ژن GBA در فرد بیمار نشان‌دهنده‌ی هموزیگوت بودن وی برای جهش GBA: c.779T>G می‌باشد.

نتایج تعیین توالی آگزون ۹ NPC1 نشان داد که فرد بیمار دارای جهش هموزیگوت در ژن NPC1: c.1350C>G.p.I450M می‌باشد (شکل ۶ تا ۷).



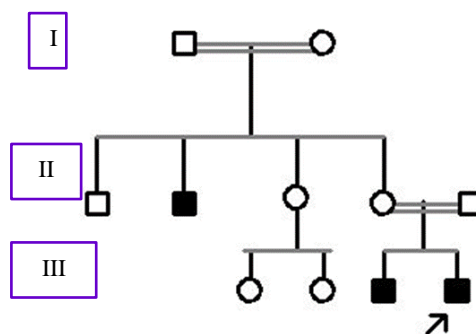
شکل ۵. شجره‌نامه‌ی خانواده‌ی دوم که نشان می‌دهد بیمار مورد بررسی اولین فردی است که فوتبپ بیماری اختلالات لیروزومی را نشان می‌دهد.



شکل ۱. نتایج باندهای حاصل از الکتروفورز محصول PCR حاصل از تکثیر آگزون شماره‌ی ۸ ژن GBA به طول 833 bp و آگزون شماره‌ی ۹ ژن NPC1 به طول 383bp

نتایج حاصل از توالی یابی نسل بعد در فرد بیمار اول، تعداد ۲۹۷۶۵۲ واریانت و در فرد دوم، تعداد ۲۸۶۵۷۲ واریانت را تحویل داد. پس از فیلتراسیون واریانت‌ها بر مبنای زیگوسیتی، همچنین فراوانی آلل‌ها در جمعیت نرمال و پاتوژنیسیته واریانت‌ها، دو واریانت زیر در خانواده‌ها به صورت هموزیگوت یافت شد.

در خانواده‌ی اول، فرد بیمار، یک پسر ۵ ماهه با علائم مختلف شامل بزرگی کبد و طحال، آنمی و همچنین اختلالات استخوانی بود. بررسی شجره‌نامه‌ی این خانواده نشان داد که برادر بزرگتر وی و همچنین دایی او نیز واجد همین علائم بوده‌اند (شکل ۲).



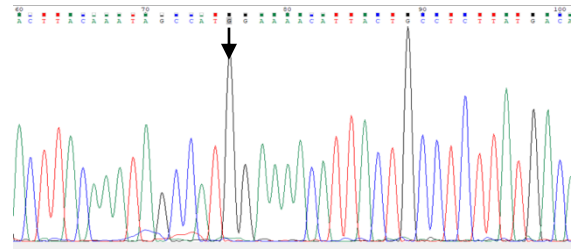
شکل ۲. شجره‌نامه‌ی خانواده‌ی اول که بیانگر وجود افراد مبتلا در نسل II و III می‌باشد.

آنالیز نتایج سکانس، بیانگر وجود جهش در ژن GBA: c.799C>T.p.I260S به صورت هموزیگوت در بیمار و به صورت هتروزیگوت در والدین می‌باشد. این جهش شناخته شده به

Gaucher و بیماری گاشر Niemann-pick را فراهم می‌کند (۱۲). بیماری گوچر یک اختلال ذخیره‌ای لیزوزومی اتوزوم مغلوب است که به دلیل فعالیت کم بتا گلوکوسربروزیداز ایجاد می‌شود. در نتیجه این کمبود، تجمع درون سلولی گلوکوزیل سرامید (GlcCer, glucosylcerebroside) عمدتاً در سلول‌های با منشأ فاگوسیت تک هسته‌ای، که مشخصه «سلول‌های گوچر» در اکثر بافت‌ها هستند، وجود دارد (۱۸). بیماری گوچر به طور کلاسیک از نظر فنوتیپی به ۳ زیر گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شود: نوع I غیر نورونوپاتیک، نوع II نورونوپاتیک حاد و نورونوپاتیک تحت حاد نوع III. نوع I شایع‌ترین شکل بیماری گوچر است و فاقد درگیری اولیه سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. نوع II و III دارای درگیری سیستم عصبی مرکزی و تظاهرات عصبی هستند. هر ۳ شکل بیماری گوچر به دلیل جهش در ژن GBA ایجاد می‌شود. در این مطالعه نتایج تعیین توالی اگزون ۸ ژن GBA در خانواده‌ی اول حاکی از آن بود که فرد بیمار دارای جهش هموزیگوت در ژن GBA: c.79C>T:p.I260S می‌باشد. این جهش شناخته شده به عنوان واریانت ایجاد بیماری گوچر معرفی شده است. در مطالعات گذشته نیز در جمعیت ایرانی جهش‌های تازه‌ای در بیماران مبتلا به بیماری گوچر شامل p.L325S p.H312D (c.934C>G), p.I200T (c.599T>C) p.S439G p.L393V (c.1177C). >G), (c.974T>C) و همچنین (c.1315A>G) و (p.M455R (c.1365G>A) جهش‌های p.E379K p.W420X p.N409S p.L483P p.R398Q p.D448H و p.R202Q p.N227S p.R398Q شناسایی شده است که می‌توانند از نظر تئوری مضر باشند. شایع‌ترین جهش GBA در جمعیت ایرانی p.L483P با فراوانی آلی ۳۲/۷ درصد و به دنبال آن p.N409S ۱۹/۲ درصد گزارش شده است (۱۹). در مطالعه‌ی دیگر، هادی‌پور و همکاران دو جهش جدید (G289A (c.866G4C) و (I466S (c.1397T4G) را به ترتیب در اگزون ۷ و ۱۰ در دو بیمار (۶/۰۶ درصد) شناسایی کردند که ساختار پروتئین را بی‌ثبات می‌کنند (۲۰).

بیماری نیمین پیک نوع C (NPC)، یک اختلال ذخیره‌سازی چربی اتوزومال مغلوب است که با تخریب پیشرونده‌ی عصبی مشخص می‌شود. تقریباً ۹۵ درصد موارد مبتلا، به دلیل جهش در ژن NPC1، به نام نوع C1 ایجاد می‌شود. ۵ درصد موارد نیز توسط جهش در ژن NPC2 که به عنوان نوع C2 شناخته می‌شود، ایجاد می‌گردد (۲۱).

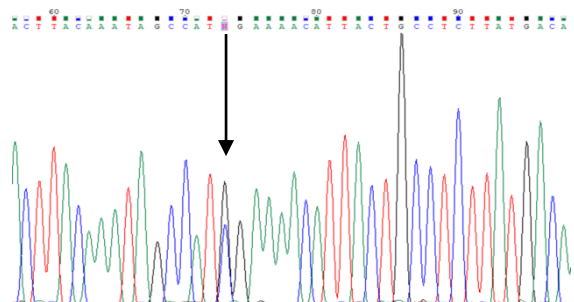
در این مطالعه نتایج تعیین توالی اگزون ۹ از ژن NPC1 در خانواده‌ی دوم نشان داد که فرد بیمار دارای جهش هموزیگوت در ژن NPC1: c.1350C>G.p.I450M می‌باشد. جهش یافت شده در ژن



شکل ۶. تعیین توالی اگزون ۹ ژن NPC1 در فرد بیمار نشان‌دهنده‌ی هموزیگوت بودن وی برای جهش c.1350C>G می‌باشد.

### بحث

بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزومی (LSDs)، نقایص ذاتی متابولیسم هستند که با تجمع بیش از حد سوبستراها در سلول‌های اندام‌های مختلف به دلیل نقص در عملکرد لیزوزوم‌ها مشخص می‌شوند (۱۴). تشخیص اولیه‌ی این گروه از بیماری‌ها اغلب از طریق عدم وجود یک هیدرولاز یا عدم حضور فعال‌کننده آن هیدرولاز رخ می‌دهد. این بیماری‌ها عموماً باعث مرگ و میر کودکان در ماه‌ها و سال‌های ابتدایی زندگی می‌شوند. لذا تشخیص قبل از تولد بیماری و شناخت جهش‌های جدید می‌تواند در بحث مشاوره‌ی ژنتیک و غربالگری اولیه بسیار سودمند باشد (۱۵).



شکل ۷. تعیین توالی اگزون ۹ ژن NPC1 در والدین فرد بیمار نشان‌دهنده‌ی هتروزیگوت بودن ایشان برای جهش c.1350C>G می‌باشد.

توالی یابی نسل بعد، امکان تجزیه و تحلیل همزمان بسیاری از ژن‌ها را فراهم می‌کند (۱۶). در اصل، مفاهیم پشت فن‌آوری‌های Sanger در مقابل توالی‌یابی نسل بعدی (NGS) مشابه هستند، اما تفاوت اساسی بین توالی‌یابی Sanger و NGS حجم توالی‌یابی است (۱۷). در حالی که روش سانگر فقط یک قطعه DNA را در یک زمان توالی‌بندی می‌کند، NGS به طور گسترده و موازی میلیون‌ها قطعه را به طور همزمان توالی‌یابی می‌کند. روش NGS با توالی‌یابی عمیق، قدرت کشف بیشتری برای تشخیص انواع جدید یا نادر واریانت‌ها را امکان‌پذیر می‌نماید. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل ژن‌های خاص در گروه‌های بزرگتر برای مطالعه‌ی بیماری‌های ژنتیکی مانند بیماری

دارد. از آنجایی که WES می‌تواند چندین ژن را در یک سنجش واحد ارزیابی نماید، نیاز به انجام آزمایش‌های متعدد برای شناسایی واریانت‌ها را مرتفع می‌سازد. این رویکرد مطالعه‌ی چند ژنی، زمان پاسخگویی را کاهش داده و راه‌حل اقتصادی‌تری را ارائه می‌دهد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی جامعه‌ی آماری بالاتری مورد مطالعه قرار گیرد تا میزان شیوع این بیماری در قومیت‌های مختلف سنجیده شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره پژوهانه‌ی IR.IAU.D.REC.1401.031 رشته‌ی زیست‌شناسی مصوب شورای پژوهش طرح‌های گروه علوم و فناوری‌های زیستی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول می‌باشد و با حمایت‌های مالی و معنوی این دانشگاه انجام شده است.

NPC1 جدید است. فراوانی و شیوع جهش‌ها در میان جمعیت‌های گوناگون، متفاوت است و از طرف دیگر بیماران با ژنوتیپ یکسان، علائم بالینی و فنوتیپ متفاوتی را نشان می‌دهند. بنابراین برنامه‌های غربالگری ژنتیکی، می‌تواند روش مفیدی برای شناسایی مبتلایان باشد. همچنین اخیراً در مطالعه‌ای که توسط Panigrahi و همکاران بر روی ۴ مورد از بیماری Niemann-Pick نوع A/B در ۳ خانواده با تظاهرات هیپتواسپلنومگالی، سیتوپنی، فشارخون بالا و افتادگی دریچه میترا انجام شد. نتایج حاصل از تکنیک توالی‌یابی کل ژنوم (WES) حاکی از وجود جهش درج ۴ جفت باز (C>CCTGG) در اگزون شماره ۲ ژن SMPD1 بود (۲۲، ۲۳).

### نتیجه‌گیری

بسیاری از انواع جهش‌ها می‌توانند یک آنزیم معیوب تولید کنند. از این رو تنوع ژنی زیادی برای بیماری‌های اختلالات لیزوزومی وجود

### References

1. Yang C, Wang X. Lysosome biogenesis: Regulation and functions. *J Cell Biol* 2021; 220(6): e202102001.
2. Cinque L, De Leonibus C, Iavazzo M, Kraemer N, Intartaglia D, Salierno FG, et al. MiT/TFE factors control ER-phagy via transcriptional regulation of FAM134B. *EMBO J* 2020; 39(17): e105696.
3. Parenti G, Medina DL, Ballabio A. The rapidly evolving view of lysosomal storage diseases. *EMBO Mol Med* 2021; 13(2): e12836.
4. Corrêa T, Feltes BC, Giugliani R, Matte U. Disruption of morphogenic and growth pathways in lysosomal storage diseases. *WIREs Mechanisms of Disease* 2021; 13(5): e1521.
5. Rabbo MA, Khodour Y, Kaguni LS, Stiban J. Sphingolipid lysosomal storage diseases: from bench to bedside. *Lipids Health Dis* 2021; 20(1): 1-9.
6. Stirnemann J, Belmatoug N, Camou F, Serratrice C, Froissart R, Caillaud C, et al. A review of gaucher disease pathophysiology, clinical presentation and treatments. *Int J Mol Sci* 2017; 18(2): 441.
7. Vaccaro AM, Motta M, Tatti M, Scarpa S, Masuelli L, Bhat M, et al. Saposin C mutations in Gaucher disease patients resulting in lysosomal lipid accumulation, saposin C deficiency, but normal prosaposin processing and sorting. *Hum Mol Genet* 2010; 19(15): 2987-97.
8. Sidransky E. Gaucher disease: Insights from a rare Mendelian disorder. *Discov Med* 2012; 14(77): 273-81.
9. Schuchman EH, Desnick RJ. Types A and B Niemann-Pick disease. *Mol Genet Metab* 2017; 120(1-2): 27-33.
10. Sitarska D, Tyłki-Szymańska A, Ługowska A. Treatment trials in Niemann-Pick type C disease. *Metab Brain Dis* 2021; 36(8): 2215-21.
11. Sitarska D, Ługowska A. Laboratory diagnosis of the Niemann-Pick type C disease: an inherited neurodegenerative disorder of cholesterol metabolism. *Metab Brain Dis* 2019; 34(5): 1253-60.
12. La Cognata V, Guarnaccia M, Morello G, Ruggieri M, Polizzi A, Cavallaro S. Design and validation of a custom NGS panel targeting a set of lysosomal storage diseases candidate for NBS applications. *Int J Mol Sci* 2021; 22(18): 10064.
13. Ki SC. Recent advances in the clinical application of next-generation sequencing. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* 2021; 24(1): 1-6.
14. Platt FM, d'Azzo A, Davidson BL, Neufeld EF, Tiffit CJ. Lysosomal storage diseases. *Nat Rev Dis Primers* 2018; 4(1): 27.
15. Sheth J, Patel P, Sheth F, Shah R. Lysosomal storage disorders. *Indian Pediatr* 2004; 41(3): 260-5.
16. Koto Y, Sakai N, Lee Y, Kakee N, Matsuda J, Tsuboi K, et al. Prevalence of patients with lysosomal storage disorders and peroxisomal disorders: A nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab* 2021; 133(3): 277-88.
17. Fang X, Zhu C, Zhu X, Feng Y, Jiao Z, Duan H, et al. Molecular analysis and novel variation identification of Chinese pedigrees with mucopolysaccharidosis using targeted next-generation sequencing. *Clinica Chimica Acta* 2022; 524: 194-200.
18. De Pasquale V, Scarcella M, Pavone LM. Molecular mechanisms in lysosomal storage diseases: From pathogenesis to therapeutic strategies. *Biomedicine* 2022; 10(4): 922.
19. Shafaat SM, Hashemi M, Majd A, Abiri M, Zeinali S. Genetic assessment of mucopolysaccharidosis type IV and the first pathological mutation of c. 313A>G in the Iranian population [in Persian]. *Intern Med Today* 2020; 26(2): 182-91.
20. Hadipur F, Hadipur Z, Tavasoli A, Shafghati Y. Farber disease or lipogranulomatosis; Report of 4 new mutations in acid ceramidase gene [in Persian].

- Sarem Med Res J 2018; 3(2): 133-6.
21. Sun A. Lysosomal storage disease overview. *Ann Transl Med* 2018; 6(24): 476.
22. Xu J, Li Z, Liu Y, Zhang X, Niu F, Zheng H, et al. Danon disease: a case report and literature review. *Diagn Pathol* 2021; 16(1): 39.
23. Panigrahi I, Dhanorkar M, Suthar R, Kumar C, Baalaji M, Thapa BR, et al. Niemann-Pick disease: an underdiagnosed lysosomal storage disorder. *Case Rep Genet* 2019; 2019: 3108093.

## Investigating Mutations in Genes Involved in Lysosomal Storage Metabolic Diseases by Next-Generation Sequencing in Two Families in Khuzestan Province

Zahra Yegane Doust<sup>1</sup>, Atousa Moradzadegan<sup>2</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Lysosomal storage diseases (LSDs) are a group of metabolic disorders caused by mutations in lysosomal enzymes and lead to the accumulation of lysosomal substrates. Gaucher's disease and Niemann-Pick are two autosomal recessive lysosomal disorders caused by mutations in the beta-glucosidase gene and sphingomyelin phosphodiesterase 1 gene, respectively. A powerful diagnostic tool based on Whole-Exome Sequencing (WES) technology paves the way for more appropriate genetic counseling by helping with faster diagnosis.

**Methods:** In this study, Whole-Exome sequencing was done using the WES method after sampling in a tube containing EDTA anticoagulant and DNA extraction. After identifying the candidate gene, in order to confirm the variant, the PCR method was used for amplification, and Chromas software was used for sequence reading.

**Findings:** The results of sequencing exon 8 of the GBA gene in the first family patient indicated the known homozygous mutation of Gaucher disease in the GBA gene: c.79C > T:p.I260S. The results of sequencing the exon 9 of the NPC1 gene in the patient of the second family indicated a homozygous mutation in the NPC1 gene: c.1350C>G.p.I450M, which is a new variant in Niemanpik patients.

**Conclusion:** The WES method can reduce the time required to diagnose pathogenic variants of lysosomal storage diseases (LSDs) by simultaneously evaluating multiple genes and helping to treat patients.

**Keywords:** lysosomal storage diseases; Exome sequencing; Gaucher disease; Niemann Pick disease

**Citation:** Yegane Doust Z, Moradzadegan A. Investigating Mutations in Genes Involved in Lysosomal Storage Metabolic Diseases by Next-Generation Sequencing in Two Families in Khuzestan Province. J Isfahan Med Sch 2023; 41(710): 131-7.

1- MSc, Department of Experimental Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran

2- Assistant Professor, Department of Experimental Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran

**Corresponding Author:** Atousa Moradzadegan, Assistant Professor, Department of Experimental Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran; Email: atousa.moradzadegan@iau.ac.ir