DOI: 10.48305/jims.v41.i710.0131

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و یکم/شماره‌ی ۷۱۰/هفته‌ی دوم اردیبهشت ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۹ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۲/۱۲ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۲/۱۴

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

زهرا یگانه‌دوست[۱]، آتوسا مرادزادگان[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزومی (LSDs (Lysosomal storage diseases، 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 (Whole-exome sequencing) WES با کمک به تشخیص سریع‌تر، زمینه را برای مشاوره‌ی 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 کروماس برای خوانش توالی استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج تعیین توالی اگزون 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 اگزون 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 نیمن‌پیک است.

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

واژگان کلیدی: بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزم؛ توالی کل ژنوم؛ بیماری گوچر؛ بیماری نیمن‌پیک

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

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 اتوفاژی 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 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 (٤). 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

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

Email: atousa.moradzadegan@iau.ac.ir

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 (٦). 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 ٤۰۰۰۰/۱ تا ٦۰۰۰۰/۱ تولد است که در یهودیان اشکنازی به ۸۰۰/۱ 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 ٤۰۰۰۰ نفر و در جمعیت‌های دیگر، یک در ۲۵۰۰۰۰ تخمین زده می‌شود (۱۱). میزان بروز بیماری نیمن پیک نوع C یک در ۱۵۰۰۰۰ 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 آللی بالا، 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 مرتبطی 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.

روش‌ها

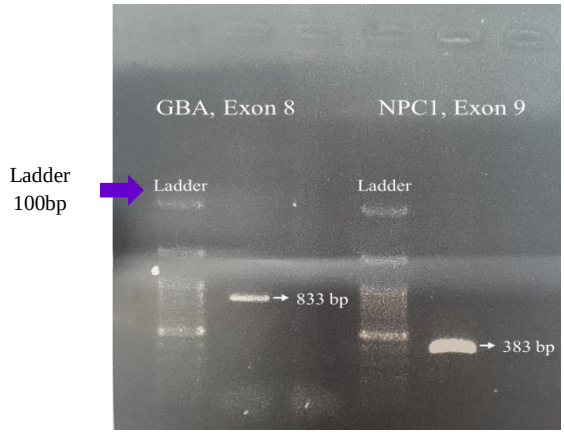
در این پژوهش مقطعی، بیماران دو خانواده‌ی مبتلا به اختلالات لیزوزومی که در سال ۱٤۰۰-۱٤۰۱ به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی نورژن اهواز مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. پس از جمع‌آوری اطلاعات کلینیکی و اخذ رضایت‌نامه از خانواده‌ها، مشاوره‌ی ژنتیک و رسم شجره‌نامه‌ی افراد انجام شد. معیارهای ورود به آزمایش تأیید تظاهرات کلینیکالی 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 فالکون 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 کروماس 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.

جدول۱. توالی پرایمرهای استفاده شده برای واکنش PCR ژن *NPC1* و *GBA*

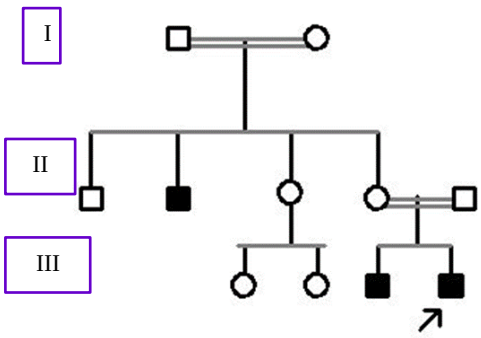
NO	Name	Sequence	Annealing Temprature	Mer
1	*GBA-EX8F833*	5'-AGCCCGAGTGACAGAGTGAC -3'	62.5	20
2	*GBA-EX8R833*	5'-AAGGTTCCAGTCGGTCCAG -3	59.5	19
3	*NPC1-EX9F393*	5'-CCTCAGGGCAATGCTGATTA -3	58.4	20
4	*NPC1-EX9R393*	5'-TGCTCATAAAACAAGCTTTTGC -3	56.6	22



شکل ۱. نتایج باندهای حاصل از الکتروفورز محصول PCR حاصل از تکثیر اگزون شماره‌ی۸ ژن GBA به طول 833 bp و اگزون شماره‌ی ۹ ژن NPC1 به طول 383bp

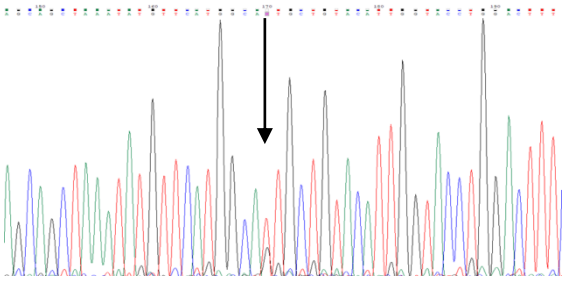
نتایج حاصل از توالی یابی نسل بعد در فرد بیمار اول، تعداد ۲۹۷۶۵۲ واریانت و در فرد دوم، تعداد ۲۸۶۵۷۲ واریانت را تحویل داد. پس از فیلتراسیون واریانت‌ها بر مبنای زیگوسیتی، همچنین فراوانی آلل‌ها در جمعیت نرمال و پاتوژنیسیتی واریانت‌ها، دو واریانت زیر در خانواده‌ها به صورت هموزیگوت یافت شد.

در خانواده‌ی اول، فرد بیمار، یک پسر ۵ ماهه با علایم 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).



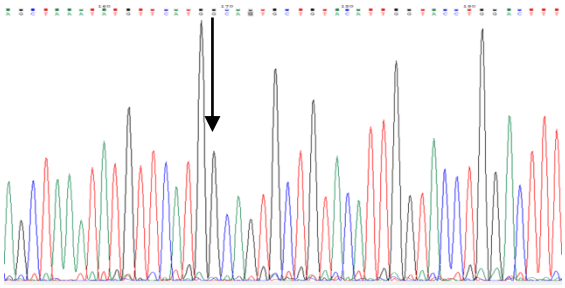
شکل ۲. شجره‌نامه‌ی خانواده‌ی اول که بیانگر وجود افراد مبتلا در نسل II و III می‌باشد.

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 عنوان CM125236 در فرد مبتلا به بیماری گاشر معرفی شده است (شکل ۳ تا ٤).



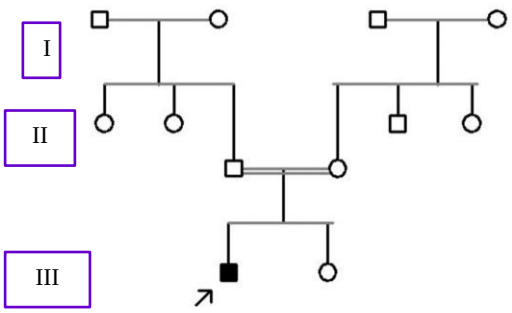
شکل ۳. تعیین توالی اگزون ۸ ژن GBA در والدین فرد بیمار نشان‌دهنده‌ی ناقل بودن ایشان برای جهش GBA: c.779T>G می‌باشد.

در خانواده‌ی دوم، فرد بیمار یک پسر ۱۲ ماهه حاصل ازدواج خانوادگی با علایم 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).

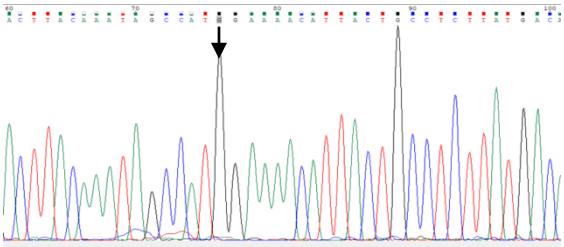


شکل ٤. تعیین توالی اگزون ۸ ژن GBA در فرد بیمار نشان‌دهنده‌ی هموزیگوت بودن وی برای جهش GBA: c.779T>G می‌باشد.

نتایج تعیین توالی اگزون ۹ ژن NPC1 نشان داد که فرد بیمار دارای جهش هوموزیگوت در ژن NPC1: c.1350C>G.p.I450M می‌باشد (شکل ٦ تا ۷).



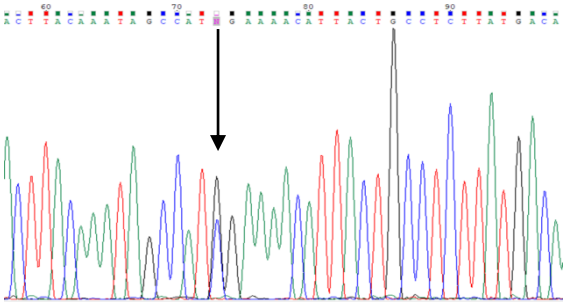
شکل ۵. شجره‌نامه‌ی خانواده‌ی دوم که نشان می‌دهد بیمار مورد بررسی اولین فردی است که فنوتیپ بیماری اختلالات لیزوزومی را نشان می‌دهد.



شکل ٦. تعیین توالی اگزون ۹ ژن NPC1 در فرد بیمار نشان‌دهنده‌ی هموزیگوت بودن وی برای جهش c.1350C>G می‌باشد.

بحث

بیماری‌های ذخیره‌ی لیزوزومی (LSDs)، نقایص ذاتی متابولیسم هستند که با تجمع بیش از حد سوبستراها در سلول های اندام های مختلف به دلیل نقص در عملکرد لیزوزوم‌ها مشخص می‌شوند (١٤). 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 (١٥).



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 (١٦). 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 (١٧). 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 توالی یابی 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 Gaucher و بیماری گاشر Niemann-pick را فراهم می‌کند (١٢).

بیماری گوچر یک اختلال ذخیره‌ی 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 سلول های با منشأ فاگوسیت تک هسته‌ای، که مشخصه «سلول‌های گوچر» در اکثر بافت‌ها هستند، وجود دارد (١٨). بیماری گوچر به طور کلاسیک از نظر فنوتیپی به ٣ 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 ٣ شکل بیماری گوچر به دلیل جهش در ژن GBA ایجاد می‌شود. در این مطالعه نتایج تعیین توالی اگزون ٨ 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) (c.1315A>G)) و همچنین (p.M455R (c.1365G>A جهش‌های p.L483P ،p.N409S ،p.W420X ،p.E379K ،p.R398Q ،p.N227S ،p.R202Q و p.D448H شناسایی شده است که می‌توانند از نظر تئوری مضر باشند. شایع‌ترین جهش GBA در جمعیت ایرانی p.L483P با فراوانی آللی ٣٢/٧ درصد و به دنبال آن p.N409S ١٩/٢ درصد گزارش شده است (١٩). در مطالعه‌ی دیگر، هادی‌پور و همکاران دو جهش جدید G289A (c.866G4C) و I466S (c.1397T4G) را به ترتیب در اگزون ٧ و ١٠ در دو بیمار (٦/٠٦ درصد) شناسایی کردند که ساختار پروتئین را بی‌ثبات می‌کنند (٢٠).

بیماری نیمن پیک نوع C (NPC)، یک اختلال ذخیره‌سازی چربی اتوزومال مغلوب است که با تخریب پیشرونده‌ی عصبی مشخص می‌شود. تقریباً ٩٥ درصد موارد مبتلا، به دلیل جهش در ژن NPC1، به نام نوع C1 ایجاد می‌شود. ٥ درصد موارد نیز توسط جهش در ژن NPC2 که به عنوان نوع C2 شناخته می‌شود، ایجاد می‌گردد (٢١).

در این مطالعه نتایج تعیین توالی اگزون ٩ 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

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 ٤ مورد از بیماری Niemann-Pick نوع A/B در ۳ خانواده با تظاهرات هپاتواسپلنومگالی، سیتوپنی، فشارخون بالا و افتادگی دریچه میترال انجام شد. نتایج حاصل از تکنیک توالی‌یابی کل ژنوم (WES) حاکی از وجود جهش درج ٤ 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 این‌رو تنوع ژنی زیادی برای بیماری‌های اختلالات لیزوزومی وجود 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.

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, Krahmer 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, Tylki-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, Tifft 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 strategie. Biomedicines 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, Baalaaji M, Thapa BR, et al. Niemann-Pick disease: an underdiagnosed lysosomal storage disorder. Case Rep Genet 2019; 2019: 3108093.

DOI: *10.48305/jims.v41.i710.0131*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 41, No. 710, 2nd Week, May 2023**

Received: 20.03.2023 Accepted: 02.05.2023 Published: 04.05.2023

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

Zahra Yegane Doust[1], Atousa Moradzadegan[2]

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