**مجله دانشکده پزشکی اصفهان**
**سال سی و دوم/شماره ۲۹۳/هفته دوم شهریور ماه ۱۳۹۳**

**تاریخ دریافت:** ۱۳۹۳/۲/۵
**تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۳/۵/۱۸

# بررسی جهش در اگزون‌های ۸ و ۳ ژن SLC۳A۱ و اگزون‌های ۴ و ۱۰ ژن SLC ۷A۹ در بیماران مبتلا به سیتینوری در ایران

لیلا کولیوند[۱]، دکتر مهرداد محمدی[۲]، دکتر رسول صالحی[۳]، بهروز عزت‌پور[۴]، دکتر مجید خیراللهی[۵]

**مقاله پژوهشی**

## چکیده

**مقدمه:** سیستینوری یکی از اولین اختلالات متابولیسمی شناخته شده می‌باشد که با افزایش ترشح سیستین، آرژنین، لیزین و اورنیتین به درون ادرار مشخص می‌شود. دو ژن در ارتباط با بیماری شناخته شده است: ژن SLC۳A۱ (۲p۱۶/۳) کد کننده‌ی زیر واحد سنگین rBAT، متعلق به ترانسپورتر کلیوی $b^{0,+}$ و ژن SLC۷A۹ (۱۹q۱۳/۱) که زیر واحد سبک ترانسپورتر را کدگذاری می‌کند. بیماران با دو جهش در ژن SLC۳A۱ به عنوان نوع A، بیماران با دو جهش در ژن SLC۷A۹ به عنوان نوع B شناخته می‌شوند. بیماران با سیستینوری نوع AB دارای یک جهش در ژن SLC۳A۱ و یک جهش در ژن SLC۷A۹ می‌باشند. با وجود توزیع اختصاصی جهش در جمعیت‌های خاص، مطالعات محدودی در خاور میانه صورت گرفته است. این مطالعه نتایج بررسی ژنتیکی در بیماران مبتلا به سیستینوری در ایران را ارایه می‌دهد.

**روش‌ها:** ۳۰ بیمار تحت عمل جراحی برداشت سنگ کلیه، توسط پزشک متخصص اورولوژیست با تشخیص سنگ‌های سیستینی انتخاب شدند. بیماران برای تعیین جهش، با استفاده از روش‌های ARMS (Amplification refractory mutation system) و PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism) مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** در مجموع چند واریانت اعم از بد معنی، پلی‌مورفیسم، هم‌معنی و واریانت اینترونی یافت شدند؛ اما جهش‌های شایع مطالعات دیگر، در بیماران این مطالعه یافت نشدند.

**نتیجه‌گیری:** شاید بتوان این مطالعه را تأییدی بر اثر نژادی روی توزیع جهش‌ها در بیماری سیستینوری دانست. امید آن می‌رود که این مطالعه بتواند در درک ژنتیک مولکولی بیماران سیستینوری در ایران روشنگر باشد.

**واژگان کلیدی:** جهش، سیستینوری، ایران

**ارجاع:** کولیوند لیلا، محمدی مهرداد، صالحی رسول، عزت‌پور بهروز، خیراللهی مجید. **بررسی جهش در اگزون‌های ۸ و ۳ ژن SLC۳A۱ و اگزون‌های ۴ و ۱۰ ژن SLC ۷A۹ در بیماران مبتلا به سیتینوری در ایران.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۳): ۱۰۸۰-۱۰۷۳

---

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۱۴۳۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه اورولوژی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات پیوند کلیه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دانشجوی دکتری، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران
۵- استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
**نویسنده‌ی مسؤول:** دکتر مجید خیراللهی
Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir

## مقدمه

سیتینوری یکی از اولین اختلالات متابولیسم مادرزادی است که توسط گارود توصیف شد (۱). بیماری با افزایش ترشح سیستین و آمینو اسیدهای دی‌بازیک در ادرار شناخته می‌شود. بیماری به علت انتقال مختل شده‌ی این آمینو اسیدها از طریق سلول‌های اپیتلیال مجرای پروکسیمال کلیوی و دستگاه گوارش ایجاد می‌شود (۳-۲). شیوع جهانی سیستینوری ۱ در ۷۰۰۰ نفر برآورد شده است، در حالی که این میزان دامنه‌ای از ۱ در ۲۵۰۰ نفر در یهودیان لیبیایی تا ۱ در ۱۰۰۰۰۰ نفر در بیماران سوئدی را دارا می‌باشد (۶-۴).

در مطالعه‌ای، شیوع سیستینوری در ایران ۶-۲ درصد ذکر شده است (۷). تاکنون دو ژن در ارتباط با این بیماری شناخته شده است: SLC۳A۱ (CSNU۱ ,MIM # ۱۰۴۶۱۴) و SLCVA۹ (CSNU۳ ,MIM # ۶۰۴۱۴۴).

ژن SLC۳A۱ که روی بازوی کوتاه کروموزوم ۲ (۲p۱۶/۳) واقع شده است، زیر واحد بزرگ (rBAT) ترانسپورتر $b^{0,+}$ را کد می‌کند. ژن SLCVA۹ روی بازوی بلند کروموزوم ۱۹ (۱۹q۱۳/۱) قرار گرفته است و کد کننده‌ی زیر واحد کوچک ترانسپورتر می‌باشد (۹-۸). ابتدا SLC۳A۱ در سال ۱۹۹۴ شناسایی شد (۱۱-۱۰). سپس SLCVA۹ توسط آنالیز پیوستگی نقشه‌یابی شد (۱۳-۱۲). در سال ۲۰۰۲، سیستینوریا بر اساس ژنتیک مولکولی به نوع A (جهش در ژن SLC۳A۱)، نوع B (جهش در ژن SLCVA۹) و نوع AB (یک جهش در SLC۳A۱ و یک جهش در SLCVA۹) طبقه‌بندی شد (۱۵-۱۴).

تاکنون بیش از ۱۰۰ جهش در ژن SLC۳A۱ و نزدیک به ۱۰۰ جهش در ژن SLCVA۹ یافت شده است (۱۴، ۱۲). این مطالعه بررسی تعیین جهش‌های شایع در بیماران سیتینوری در کشور ایران می‌باشد.

## روش‌ها

نمونه‌گیری: در این مطالعه از ۱۵۰۰ بیمار که در بیمارستان الزهرا (س) دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تحت عمل جراحی سنگ کلیه قرار گرفته بودند، ۳۰ بیمار بر اساس جنس سنگ (سیستینی) انتخاب شدند. همه‌ی بیماران دارای تاریخچه‌ی افزایش ترشح ادراری سیستین و آمینو اسیدهای دی‌بازیک بودند و سنگ‌سازی (مکرر) از نوع سیستین داشتند. پس از اخذ رضایت‌نامه، از تمام بیماران نمونه‌گیری خون انجام شد. استخراج DNA از لنفوسیت‌های خون محیطی بیماران، توسط روش‌های استاندارد مطابق با روش کیت (Biogenet kit, Korea) انجام شد.

چهار مورد از شایع‌ترین جهش‌های یافت شده در مطالعات قبلی شامل T۲۱۶M، M۴۶۷T (SLC۳A۱) و G,۱۰۵R R۳۳۳W (SLCVA۹) در بیماران مورد بررسی قرار گرفتند (۱۹-۱۶، ۱۲). به این منظور، پرایمرهای مشتق از اینترون با استفاده از داده‌های بیوانفورماتیکی تهیه شدند (جدول ۱). محصولات واکنش با استفاده از کیت BigDye terminator kit و آنالایزر ژنتیکی ۳۷۳۰ Biosystems® مورد آنالیز قرار گرفت.

### آنالیز PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism)

دو جهش شناخته شده‌ی G۱۰۵R (اگزون ۴) و R۳۳۳W (اگزون ۱۰) واقع در ژن SLCVA۹ با

استفاده از آنزیم‌های محدودگر ApaI و NciI به ترتیب، مورد بررسی قرار گرفتند که هر دو جهش محل برش این آنزیم‌ها را تخریب می‌کنند. این روش با توالی‌یابی تعدادی از محصولات PCR تأیید شد.

**PCR-ARMS (Polymerase chain reaction-Amplification refractory mutation system)**

دو جهش رایج دیگر شامل M۴۶۷T (اگزون ۸) و T۲۱۶M (اگزون ۳) که در ژن SLC۳A۱ وجود دارند، با این روش مورد مطالعه قرار گرفتند. پرایمرهای موتانت برای هر دو جهش دارای دو نوکلئوتید ناسازگار در هفت باز اول سر ´۳ با توالی طبیعی بودند. نتایج با توالی‌یابی مستقیم تعدادی از محصولات مورد تأیید قرار گرفتند. واکنش PCR در حجم ۲۵ µl شامل ۱۵۰ ng DNA ژنومیک، ۲/۵ µl بافر ۱۰X، ۰/۲۵ Taq پلیمراز، ۲۰۰ µmol/l dNTP (Deoxyribonucleotide) و ۴۰۰ nmol/l پرایمر انجام شد.

پروفایل دمایی برای ۳۵ سیکل واکنش با دناتوراسیون ابتدایی ۹۴ °C به مدت ۴ دقیقه آغاز شد و با ۳۵ سیکل در ۹۴ °C به مدت ۲۰ ثانیه، اتصال در ۶۲/۵-۵۵/۵ (دمای مناسب برای هر جفت پرایمر تعیین شد) به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن در ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه و طویل شدن نهایی در ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد.

## یافته‌ها

از آن جایی که چند مورد از محصولات PCR به منظور تأیید روش‌های RFLP و ARMS مورد توالی‌یابی قرار گرفتند، در مجموع چهار واریانت در ژن SLC۳A۹ یافت شد که شامل p.G۱۰۵R (اگزون ۴) رایج‌ترین جهش پاتوژن گزارش شده در ژن SLC۷A۹ (۱۷، ۸)، دو پلی‌مورفیسم p.C۱۳۷C (۱۴) و c.۴۷۸ + ۱۰T > C (اگزون ۴) (۱۴) و در نهایت، واریانت p.V۱۴۲A (اگزون ۴) (۲۰) می‌باشند (جدول ۲). از چهار جهش نقطه‌ای مورد مطالعه در بیماران، جهش‌های T۲۱۶M، M۴۶۷T و R۳۳۳W با وجود این که از رایج‌ترین جهش‌های یافت شده در سطح جهانی می‌باشند، در هیچ کدام از بیماران پیدا نشد؛ اما G۱۰۵R در دو بیمار در حالت هتروزیگوت مشخص شد.

## بحث

سیستینوری به عنوان یکی از بیماری‌های ارثی به علت نقص در بازجذب کلیوی سیستین و آمینو اسیدهای دی‌بازیک اتفاق می‌افتد. در تحقیق حاضر، از ۱۵۰۰ بیمارکه به منظور برداشت سنگ کلیه در

**جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در واکنش ARMS و RFLP**

| ژن | اگزون | پرایمر رفت | پرایمر برگشت | روش |
|---|---|---|---|---|
| SLC۳A۱ | ۳ | ATGAGGTTTGAGAGAAGCAC | RN:GAAACCAAATATGTTTATCACTCG<br>RM:GAAACCAAATATGTTTATCACTCA<br>RS:ATCTGCCTTTTACCCCTTTG | ARMS Sequence |
| | ۸ | ACCCTTTTCTTGCTCATCAG | RN:AGGGAGTGTGAAAAGAAGCA<br>RM: GGGAGTGTGAAAAGATGCG<br>RS: ATAAGCTCTCAGACCACCAA | ARMS Sequence |
| SLC۷A۹ | ۴ | CCCTTCCTCTCTGTGTTCCAG | GTCTTTTCTGACCCCTGCCC | RFLP |
| | ۱۰ | TCTCAGTGCGTTTAACCTCCTC | GCATCTGGGTCATTTGGAAGC | RFLP |

RN: پرایمر برگشت طبیعی، RM: پرایمر برگشت جهش یافته، RS: پرایمر برگشت برای توالی‌یابی

ARMS: Amplification refractory mutation system; RFLP: Restriction fragment length polymorphism

جدول ۲. جهش‌های یافت شده در ژن‌های SLC۳A۱ و SLCvA۹ و فراوانی آللی

| ژن | اگزون/ اینترون | تغییر نوکلئوتیدی | تغییر آمینو اسید | نوع تغییر | فراوانی آللی |
|---|---|---|---|---|---|
| SLC۳A۱ | ۸ | c.۱۴۰۰T/C | M۴۶۷T | بد معنی | ۱ از ۶۰ |
| | ۳ | c.۶۴۷C/T | T۲۱۶M | بد معنی | ۱ از ۶۰ |
| SLCvA۹ | ۴ | c.۴۲۵T/C | V۱۴۲A | بد معنی | ۳ از ۶۰ |
| | ۴ | c.۴۹۸G/A | G۱۰۵R | بد معنی | ۲ از ۶۰ |
| | ۴ | c.۴۷۸ + ۱۰T/C | | واریانت اینترونی | ۳ از ۶۰ |
| | ۴ | c.۴۱۱T/C | C۱۳۷C | پلی‌مورفیسم | ۳ از ۶۰ |
| | ۱۰ | c.۱۱۸۲C/T | R۳۳۳W | بد معنی | ۱ از ۶۰ |

بیمارستان الزهرا (س) دانشگاه علوم پزشکی اصفهانتحت عمل جراحی قرار گرفتند، ۳۰ بیمار با سنگ‌های سیستینی توسط پزشک اورولوژیست انتخاب شدند. بیماران برای چهار مورد جهش شایع ژنتیکی در نواحی کد کننده‌ی ژن‌های SLC۳A۱ و SLCvA۹ بررسی شدند. در مجموع، چهار واریانت ژنومیک در ژن SLCvA۹ مشخص شد. این موارد شامل یک واریانت اینترونی، دو جهش بد معنی، یک جهش هم معنی در ژن می‌باشند.

فراوان‌ترین جهش یافت شده در ژن SLCvA۹ مربوط به G۱۰۵R بود (۲۱، ۱۹-۱۶، ۸). این جهش بعد از اولین لوپ داخل سلولی (IL۱) قرار دارد (۲۲) و افزایش شدید ترشح سیستین در هتروزیگوت‌های این واریانت را باعث می‌شود (۱۷) و در بیماران سیستینوری کشورهای اروپایی از جمله آلمان (۲۳، ۲۱، ۱۸)، ایتالیا (۲۴-۲۳، ۲۱)، چک‌اسلواکی (۹)، یونان (۲۵) و ... دیده شده است؛ اما در چین (۲۶)، ژاپن (۲۰) و آمریکا (۸) یافت نشده است. V۱۴۲A جهش بد معنی گزارش شده در کشورهایی مثل ژاپن (۲۰)، پرتغال (۱۴)، سوئد (۲۷)، یونان (۲۸، ۲۵)، کانادا و آلمان (۱۸) در بیماران مطالعه‌ی حاضر نیز دیده شد. V۱۴۲A در اگزون چهار ژن SLCvA۹ در لوپ خارج سلولی ۲ EL پروتئین $b^{0,+}$ AT قرار دارد (۲۰). از آن جایی که این جهش در افراد طبیعی بدون بروز سیستینوری دیده شده است (۲۰)، کشمکش‌هایی در خصوص بیماری‌زایی این واریانت وجود دارد (۱۴).

یکی از پلی‌مورفیسم‌های یافت شده در بیماران C۱۳۷C (c.۴۱۱T > C) می‌باشد که در بیماران سیستینوری کشورهایی مانند پرتغال (۱۴)، یونان (۲۵) و سوئد (۲۷) گزارش شده است. امروزه مطالعات نشان دهنده‌ی وجود جهش‌های خاموشی می‌باشد که بر خلاف نامشان، عواقب بسیار مخربی مانند تخریب نواحی تنظیمی یا اختلال در عمل پیرایش را ایجاد می‌کنند (۳۰-۲۹، ۱۴).

R۳۳۳W جهش رایج در اگزون ۱۰ ژن SLCvA۹ می‌باشد (۳۱، ۲۲، ۱۷، ۱۲) که در بیماران این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. این جایگاه در خانواده‌ی ترانسپورترهای آمینو اسیدی هترو دایمریک در انسان بسیار حفاظت شده است (۲۰). این جهش در مطالعات انجام شده در آلمان (۳۲، ۲۳، ۱۸، ۱۶)، چک اسلواکی (۹)، یونان (۳۳، ۲۵)، ژاپن (۲۰) و ... گزارش شده است، اما در بیماران مطالعه‌ی کنونی دیده نشد.

جهش M۴۶۷T به عنوان رایج‌ترین تغییر در ژن SLC۳A۱، اولین بار در یک بیمار اسپانیایی شناخته شد (۱۰). این جهش در آلمان (۲۱، ۱۸، ۱۶)، سوئد (۳۴)، چک اسلواکی (۹)، ترکیه (۴)، اسپانیا (۳۶–۳۵) و آمریکا (۳۷) گزارش شده است. با این وجود، این جهش در هیچ یک از بیماران مطالعه‌ی حاضر همانند بیماران ژاپنی مشخص نشد (۳۸).

تغییر T۲۱۶M به عنوان دیگر جهش شایع که در بیماران مورد بررسی قرار گرفت، اولین بار در یک بیمار مصری–ایتالیایی (۳۹) یافت شد. این جهش رایج‌ترین جهش در یونان (۴۰، ۳۳، ۱۶)، ترکیه (۱۶)، آلمان (۱۸) و دیگر کشورها ذکر شده است. این جهش نیز در مطالعه‌ی حاضر پیدا نشد. علاوه بر این، واریانت اینترونی c.۴۷۸ + ۱۰T > C (اگزون ۴) (۱۴) در ژن SLCVA۹ از جمله واریانت‌های یافت شده بود.

به طور خلاصه، در این مطالعه چهار واریانت ژنتیکی یافت شد. از چهار جهش رایج در سطح جهانی، در این مطالعه فقط G۱۰۵R در دو آلل یافت شد. با توجه به این که نتایج ژنتیک مولکولی ممکن است بر پیش‌آگهی و سیر درمان بیماری مؤثر باشد (۱۸)، امید می‌رود این مطالعه در روشن شدن ژنتیک مولکولی بیماران ایرانی کمک کند.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از استادان ارجمند دانشکده ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و تمام بیمارانی که در این طرح ما را یاری رساندند، تقدیر و تشکر می‌شود.

## References

1. Garrod AE. Inborn errors of metabolism (lectures I–IV). Lancet 1908; 2: 214–20.
2. Palacin M, Goodyear P, Nunes V, Gasparini P. Cystinuria. In: Scriver C, Baudet AL, Sly WS, Valle D, editors. The metabolic and molecular basis of inherited disease. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2001.
3. Palacin M, Borsani G, Sebastio G. The molecular bases of cystinuria and lysinuric protein intolerance. Curr Opin Genet Dev 2001; 11(3): 328-35.
4. Tanzer F, Ozgur A, Bardakci F. Type I cystinuria and its genetic basis in a population of Turkish school children. Int J Urol 2007; 14(10): 914-7.
5. Saravakos P, Kokkinou V, Giannatos E. Cystinuria: current diagnosis and management. Urology 2014; 83(4): 693-9.
6. Knoll T, Zollner A, Wendt-Nordahl G, Michel MS, Alken P. Cystinuria in childhood and adolescence: recommendations for diagnosis, treatment, and follow-up. Pediatr Nephrol 2005; 20(1): 19-24.
7. Akhavan sepahi M, Sharifian M, Shajari A, Heidary A. Clinical manifestations and etiology of renal and urethra stone in children less than 14 years old referring to Fatemi-e-Sahamieh pediatric hospital in Qom, 2007-2008. J Arak Univ Med Sci 2009; 12(3): 1-7. [In Persian].
8. Feliubadalo L, Font M, Purroy J, Rousaud F, Estivill X, Nunes V, et al. Non-type I cystinuria caused by mutations in SLC7A9, encoding a subunit (bo,+AT) of rBAT. Nat Genet 1999; 23(1): 52-7.
9. Skopkova Z, Hrabincova E, Stastna S, Kozak L, Adam T. Molecular genetic analysis of SLC3A1 and SLC7A9 genes in Czech and Slovak cystinuric patients. Ann Hum Genet 2005; 69(Pt 5): 501-7.
10. Calonge MJ, Gasparini P, Chillaron J, Chillon M, Gallucci M, Rousaud F, et al. Cystinuria caused by mutations in rBAT, a gene involved in the transport of cystine. Nat Genet 1994; 6(4): 420-5.
11. Pras E, Raben N, Golomb E, Arber N, Aksentijevich I, Schapiro JM, et al. Mutations in the SLC3A1 transporter gene in cystinuria. Am J Hum Genet 1995; 56(6): 1297-303.
12. Eggermann T, Venghaus A, Zerres K. Cystinuria: an inborn cause of urolithiasis. Orphanet J Rare Dis 2012; 7: 19.
13. Wartenfeld R, Golomb E, Katz G, Bale SJ, Goldman B, Pras M, et al. Molecular analysis of

cystinuria in Libyan Jews: exclusion of the SLC3A1 gene and mapping of a new locus on 19q. Am J Hum Genet 1997; 60(3): 617-24.
14. Barbosa M, Lopes A, Mota C, Martins E, Oliveira J, Alves S, et al. Clinical, biochemical and molecular characterization of cystinuria in a cohort of 12 patients. Clin Genet 2012; 81(1): 47-55.
15. Dello SL, Pras E, Pontesilli C, Beccia E, Ricci-Barbini V, de SL, et al. Comparison between SLC3A1 and SLC7A9 cystinuria patients and carriers: a need for a new classification. J Am Soc Nephrol 2002; 13(10): 2547-53.
16. Schmidt C, Vester U, Hesse A, Lahme S, Lang F, Zerres K, et al. The population-specific distribution and frequencies of genomic variants in the SLC3A1 and SLC7A9 genes and their application in molecular genetic testing of cystinuria. Urol Res 2004; 32(2): 75-8.
17. Font MA, Feliubadalo L, Estivill X, Nunes V, Golomb E, Kreiss Y, et al. Functional analysis of mutations in SLC7A9, and genotype-phenotype correlation in non-Type I cystinuria. Hum Mol Genet 2001; 10(4): 305-16.
18. Eggermann T, Spengler S, Wirth J, Lahme S. Molecular genetic testing in cystinuria. Int J Human Genet 2011; 11(1): 41-4.
19. Di PM, Louizou E, Fischetti L, Dedoussis GV, Stanziale P, Michelakakis H, et al. Twenty-four novel mutations identified in a cohort of 85 patients by direct sequencing of the SLC3A1 and SLC7A9 cystinuria genes. Genet Test 2008; 12(3): 351-5.
20. Shigeta Y, Kanai Y, Chairoungdua A, Ahmed N, Sakamoto S, Matsuo H, et al. A novel missense mutation of SLC7A9 frequent in Japanese cystinuria cases affecting the C-terminus of the transporter. Kidney Int 2006; 69(7): 1198-206.
21. Botzenhart E, Vester U, Schmidt C, Hesse A, Halber M, Wagner C, et al. Cystinuria in children: distribution and frequencies of mutations in the SLC3A1 and SLC7A9 genes. Kidney Int 2002; 62(4): 1136-42.
22. Chillaron J, Font-Llitjos M, Fort J, Zorzano A, Goldfarb DS, Nunes V, et al. Pathophysiology and treatment of cystinuria. Nat Rev Nephrol 2010; 6(7): 424-34.
23. Schmidt C, Albers A, Tomiuk J, Eggermann K, Wagner C, Capasso G, et al. Analysis of the genes SLC7A9 and SLC3A1 in unclassified cystinurics: mutation detection rates and association between variants in SLC7A9 and the disease. Clin Nephrol 2002; 57(5): 342-8.
24. Bisceglia L, Fischetti L, Bonis PD, Palumbo O, Augello B, Stanziale P, et al. Large rearrangements detected by MLPA, point mutations, and survey of the frequency of mutations within the SLC3A1 and SLC7A9 genes in a cohort of 172 cystinuric Italian patients. Mol Genet Metab 2010; 99(1): 42-52.
25. Chatzikyriakidou A, Sofikitis N, Georgiou I. Identification of novel cystinuria mutations and polymorphisms in SLC3A1 and SLC7A9 genes: absence of SLC7A10 gene mutations in cystinuric patients. Genet Test 2005; 9(3): 175-84.
26. Yuen YP, Lam CW, Lai CK, Tong SF, Li PS, Tam S, et al. Heterogeneous mutations in the SLC3A1 and SLC7A9 genes in Chinese patients with cystinuria. Kidney Int 2006; 69(1): 123-8.
27. Harnevik L, Fjellstedt E, Molbaek A, Denneberg T, Soderkvist P. Mutation analysis of SLC7A9 in cystinuria patients in Sweden. Genet Test 2003; 7(1): 13-20.
28. Chatzikyriakidou A, Sofikitis N, Giannakis D, Tsambalas S, Georgiou I. 466 Six novel polymorphic variants in SLC3A1 and SLC7A9 genes: New approaches to the study of cystinuria. European Urology Supplements 2004; 3(2): 119.
29. Raponi M, Baralle D. Alternative splicing: good and bad effects of translationally silent substitutions. FEBS J 2010; 277(4): 836-40.
30. Pagani F, Raponi M, Baralle FE. Synonymous mutations in CFTR exon 12 affect splicing and are not neutral in evolution. Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102(18): 6368-72.
31. Font-Llitjos M, Jimenez-Vidal M, Bisceglia L, Di PM, de SL, Rousaud F, et al. New insights into cystinuria: 40 new mutations, genotype-phenotype correlation, and digenic inheritance causing partial phenotype. J Med Genet 2005; 42(1): 58-68.
32. Schmidt C, Tomiuk J, Botzenhart E, Vester U, Halber M, Hesse A, et al. Genetic variations of the SLC7A9 gene: allele distribution of 13 polymorphic sites in German cystinuria patients and controls. Clin Nephrol 2003; 59(5): 353-9.
33. Chatzikyriakidou A, Louizou E, Dedousis GV, Bisceglia L, Michelakakis H, Georgiou I. An overview of SLC3A1 and SLC7A9 mutations in Greek cystinuria patients. Mol Genet Metab 2008; 95(3): 192-3.
34. Harnevik L, Fjellstedt E, Molbaek A, Tiselius HG, Denneberg T, Soderkvist P. Identification of 12 novel mutations in the SLC3A1 gene in Swedish cystinuria patients. Hum Mutat 2001; 18(6): 516-25.
35. Guillen M, Corella D, Cabello ML, Gonzalez JI, Sabater A, Chaves JF, et al. Identification of novel SLC3A1 gene mutations in Spanish cystinuria families and association with clinical phenotypes. Clin Genet 2005; 67(3): 240-51.
36. Gasparini P, Calonge MJ, Bisceglia L, Purroy J, Dianzani I, Notarangelo A, et al. Molecular

genetics of cystinuria: identification of four new mutations and seven polymorphisms, and evidence for genetic heterogeneity. Am J Hum Genet 1995; 57(4): 781-8.

**37.** Endsley JK, Phillips JA, III, Hruska KA, Denneberg T, Carlson J, George AL, Jr. Genomic organization of a human cystine transporter gene (SLC3A1) and identification of novel mutations causing cystinuria. Kidney Int 1997; 51(6): 1893-9.

**38.** Egoshi KI, Akakura K, Kodama T, Ito H. Identification of five novel SLC3A1 (rBAT) gene mutations in Japanese cystinuria. Kidney Int 2000; 57(1): 25-32.

**39.** Bisceglia L, Calonge MJ, Dello SL, Rizzoni G, de SL, Gallucci M, et al. Molecular analysis of the cystinuria disease gene: identification of four new mutations, one large deletion, and one polymorphism. Hum Genet 1996; 98(4): 447-51.

**40.** Albers A, Lahme S, Wagner C, Kaiser P, Zerres K, Capasso G, et al. Mutations in the SLC3A1 gene in cystinuric patients: frequencies and identification of a novel mutation. Genet Test 1999; 3(2): 227-31.

**Journal of Isfahan Medical School**

**Vol. 32, No. 293, 2nd Week, September 2014**

Received: 25.04.2014

Accepted: 09.08.2014

# Detection of Mutation in Exons 3 and 8 of SLC3A1 and Exons 4 and 10 of SLC7A9 Genes in Patients with Cystinuria in Iran

Leila Koulivand[1], Mehrdad Mohammadi MD[2], Rasoul Salehi MD[3], Behrouz Ezatpour MSc[4], Majid Kheirollahi PhD[5]

**Original Article**

## Abstract

**Background:** Cystinuria, one of the first diagnosed inborn errors of metabolism, recognized by hyperexcretion of cystine, lysine, ornithine and arginine into the urine. So far, two genes associated with cystinuria have been identified: SLC3A1 (2p16.3) that encodes the heavy subunit rBAT of the renal $b^{0,+}$ transporter and SLC7A9 (19q13.1), which encodes the light subunit $b^{0,+}$AT. Patients with type A cystinuria have two SLC3A1 mutations, whereas patients with type B have two SLC7A9 mutations and finally patients with type AB have one mutation in each gene. Considering the population-specific distribution of mutations in disease, limited studies on the genetic bases of the cystinuria have been done in Middle East. This research presents the results of mutation analysis on patients with cystinuria in Iran.

**Methods:** Thirty unrelated patients with cystinuria operated to remove kidney stones were screened by urologist .The patients were analyzed for mutation using amplification refractory mutation system (ARMS) and polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism-polymerase chain reaction (RFLP-PCR) methods.

**Findings:** We found some variations including missense mutations, polymorphism and intron variant, but the most frequent mutations, M467T and also T216M and R333W, were not detected in our patients.

**Conclusion:** Our research may confirm the ethnic distribution of mutations in cystinuria and this study can expand our concept of the genetic basis of cystinuria in Iranian patients.

**Keywords:** Cystinuria, Mutation, Iran

**Citation:** Koulivand L, Mohammadi M, Salehi R, Ezatpour B, Kheirollahi M. **Detection of Mutation in Exons 3 and 8 of SLC3A1 and Exons 4 and 10 of SLC7A9 Genes in Patients with Cystinuria in Iran.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(293): 1073-80

* This paper is derived from a MSc thesis No. 391433 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- MSc Student, Pediatrics Inherited Diseases Research Center AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Urology, School of Medicine AND Urology and Kidney Transplantation Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Pediatrics Inherited Diseases Research Center AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- PhD Student, Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
5- Assistant Professor, Pediatrics Inherited Diseases Research Center AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
**Corresponding Author:** Majid Kheirollahi PhD, Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir