DOI: 10.48305/jims.v40.i695.0924

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهلم/شماره‌ی ۶۹۵/هفته‌ی سوم دی ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۱۹ تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۱۰/۲۱

توالی ژنتیکی اگزون‌ها و توالی‌های اتصالی اگزون– اینترون ژن CFTR به روش PCR در خانواده‌های مشکوک به بیماری سیستیک فیبروزیس در استان خوزستان

لیلی دلفی فلاح[۱]، مریم مهدی ساسان[۲]، زهرا شاه‌پوری ارانی[۲]، مهین برات‌وند[۱]، هاشم کاظمی[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری سیستیک فیبروزیس، یکی از کشنده‌ترین اختلالات چندسیستمی و شایع‌ترین بیماری اتوزومال مغلوب در جمعیت سفیدپوستان است که به علت جهش در پروتئین‌های تنظیم‌کننده‌ی غشایی فیبروزکیستی (Cystic fibrosis transmembrane conductive regulate) CFTR رخ می‌دهد. فراوانی این جهش‌ها بر اساس موقعیت جغرافیایی و نژاد متفاوت می‌باشد. شایع‌ترین موتاسیون در این ژن، F508del می‌باشد. این مطالعه به منظور شناسایی سایر جهش‌های احتمالی ژن دخیل در بیماری فیبروزسیستیک در استان خوزستان انجام گردید.

روش‌ها: در این مطالعه ابتدا خون محیطی در لوله‌ی حاوی ضد انعقاد EDTA گرفته شد و پس از استخراج DNA، مرحله‌ی PCR با پرایمرهای اختصاصی و الکتروفورز انجام شد. بعد از آن توالی‌یابی DNA با استفاده از دستگاه سکانس صورت گرفت و در نهایت آنالیز داده‌ها برای اگزون‌های مورد نظر انجام گردید.

یافته‌ها: شایع‌ترین جهش در بیماری سیستیک فیبروزیس جهش F508del می‌باشد. دو موتاسیون جدید در بین بیماران شناسایی شد که این جهش‌ها در اگزون ۲۶ ناحیه‌ی IVS25-1 و اگزون ۱۸ در ناحیه‌ی IVS18+42 قرار دارند.

نتیجه‌گیری: جهش‌های به‌دست آمده از این مطالعه به هر دو شکل هتروزیگوت و هموزیگوت بوده و می‌تواند برای تشخیص ناقلین، تشخیص پیش از تولد و انجام اقدامات درمانی حائز اهمیت باشد.

واژگان کلیدی: ژن؛ CFTR؛ سیستیک فیبروزیس؛ اگزون؛ توالی ژنتیکی

ارجاع: دلفی فلاح لیلی، مهدی ساسان مریم، شاه‌پوری ارانی زهرا، برات‌وند مهین، کاظمی هاشم. **توالی ژنتیکی اگزون‌ها و توالی‌های اتصالی اگزون–اینترون ژن CFTR به روش PCR در خانواده‌های مشکوک به بیماری سیستیک فیبروزیس در استان خوزستان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۹۵): ۹۳۰-۹۲۴

مقدمه

بیماری سیستیک فیبروزیس یا (Cystic fibrosis) CF یکی از کشنده‌ترین اختلالات چند سیستمی و شایع‌ترین بیماری اتوزومال مغلوب در جمعیت سفیدپوستان است. علت اصلی این بیماری جهش در ژن پروتئینی به نام (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductive Regulate) CFTR است (۱).

در سال ۱۹۸۹ ژن تنظیم‌کننده‌ی عبور غشایی فیبروزکیستی (CFTR) شناسایی شد (۲). نتایج اختلال عملکرد در ژن CFTR اغلب قبل از تولد شروع می‌شود در نتایج اولترا سونوگراف جنین، هایپروژنیک شکم با یا بدون التهاب پرده‌ی صفاق، شکم متورم و یا کیسه‌ی صفرا غیرقابل مشاهده مرتبط با بیماری CFTR است. (۳). مشکلات ریوی معمولاً عامل اصلی مرگ در میان مبتلایان به این بیماری می‌باشد (۱).

هیپوگلایسمی در افراد بزرگ‌سال مبتلا به CFTR وجود دارد و شیوع هیپوگلایسمی در این بیماری به فراوانی مشاهده شد و این خطر وجود دارد که در افراد بزرگ سال مبتلا به CFTR به دلیل آسیب به سلول‌های جزایر لانگرهانس به دیابت نوع ۲ مبتلا شوند (٤). ۹۵ درصد مردان مبتلا نیز نازایی از نوع آزواسپرمی دارند که ناشی از

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

۲- کارشناس ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده‌ی علوم، گروه ژنتیک، اهواز، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: هاشم کاظمی: کارشناس ارشد، گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران

Email: hashemkazmi@yahoo.com

فقدان، آترفه شدگی و یا تصلب مجرای ولفین است. دم و بدنه‌ی اپیدیدیم و کیسه‌های منی دچار اتروفی وفیبروزه می‌شوند (۵).

بعضی از علائم CF مثل تأخیر در رشد غیراختصاصی هستند. یکی از موارد ضروری که در درمان اشخاص با این بیماری ضروری است، تحت نظر داشتن رشد و وضعیت تغذیه می‌باشد. بر اساس آمار Foundation Patient Registry Report که در سال ۲۰۰۵ منتشر شد، ۲۳ درصد کودکان مبتلا به CF زیر دهمین صدک وزن، سن و جنس هستند و ۲۲ درصد از بالغین (۱۸ تا ۳۰ سال) دارای وزن پایین با (Body mass index) BMIکمتر از ۱۸/۵ می‌باشند. در بیماران CF، به دلیل کمبود اکسیژن در بافت دارای انگشتان گرز مانند می‌باشند (۳).

پاتوفیزیولوژی اختلال اولیه الکترولیتی عرق مربوط به ناتوانی در جذب کلراید در طول مجرای غده‌ی عرق است که باعث ایجاد عرق شور می‌شود به طوری‌که غلظت کلراید به بیش از mEq/۱۶۰ می‌رسد و الکالوز هیپوکلرمیک را موجب می‌شود (۶).

پس از اینکه تست عرق کشف شد و به طور عمومی مورد استفاده قرار گرفت تشخیص بر پایه‌ی غلظت کلراید عرق پایه‌گذاری شد که در این آزمایش میزان سدیم و کلر موجود در عرق کودک مبتلا، از افراد معمولی بالاتر است و غلظت mEq/۱۶۰ و یا بیشتر مثبت در نظر گرفته شد (۳).

درمان در CF از درمان‌های اولیه‌ی عفونت مزمن راه هوایی تحتانی تا رفع نقص اولیه در CF با اصلاح پروتئین CFTR جهش یافته با تأیید Ivacaftor و Lumacaftor / Ivacaftor توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده تکامل یافته است (۷-۹).

تست‌های ژنتیکی، تغییرات اتفاق افتاده در سطح کروموزوم، ژن و پروتئین را شناسایی می‌کنند. این تست به منظور رد بیماری ژنتیکی و تعیین شانس ابتلا به بیمار در آینده و احتمال انتقال بیمار به نسل بعد انجام می‌شود (۲).

تقسیم‌بندی جهش‌ها به کلاس‌های متفاوت مبتنی بر اختلال عملکرد پروتئین، یک رویکرد مفید برای درمان بیماری بشمار می رود. تقسیم‌بندی جهش‌ها بر اساس مکانیسم‌هایی که فعالیت پروتئین را مختل می‌کنند به پنج گروه مختلف تقسیم می‌شوند:

الف- جهش‌هایی که مانع ساخت پروتئین CFTR می‌شوند. حدود نیمی از انواع جهش ها از ساخت پلی پپتید دارای طول کامل جلوگیری می‌کنند این جهش‌ها باعث رمز خاتمه‌ی زودرس، تغییر علائم پیرایش یا تغییر چارچوب می‌شوند جهش‌هایی که در این گروه قرار می‌گیرند شامل (G542X، 394delTT، W1282X و lvs8-65T) می‌باشد. جهش‌های این گروه در ۵ تا ۲۱ درصد جمعیت CF دیده شده است.

ب- جهش‌هایی که مانع بلوغ پروتئین می‌شوند که در این جهش‌ها، پروتئین شکل سه بعدی صحیح و مقاوم به پروتئاز خود را در شبکه‌ی آندوپلاسمی به دست نمی‌آورد و در بخش‌های پیش‌گلژی از بین می رود که گلیکوزیلاسیون ناکامل آن باعث از بین رفتن پروتئین می‌شود مانند جهش F508del. این گروه در ۹۰ درصد جمعیت CF دیده می‌شود.

ج- جهش‌هایی که مانع از تنظیم کانال کلر می‌شوند. پروتئین‌ها جهش‌یافته از این نوع به‌طور کامل پردازش می‌شوند و در محل طبیعی خود در غشاء پلاسمایی قرار می‌گیرند، اما کانال کلر در آن‌ها فعالیت ندارد. این جهش ها یا باعث عدم فعالیت پروتئین یا کاهش فعالیت آن می شوند مانند جهش G551D که حدود ۵ درصد از جمعیت CFTR را شامل می‌گردد.

د- جهش‌هایی که بر باز و بسته شدن یا هدایت کلر در کانال اثر می گذارند. در این نوع جهش ها که اغلب در نواحی رمزگردان حوزه‌های تراغشائی پروتئین CFTR ایجاد می‌شود باعث تغییر هدایت یا باز و بسته شدن کانال می‌شوند. این مقدار کاهش فعالیت کانال کلر می تواند متفاوت باشد. برای مثال های این گروه جهش R117H و R347P را می‌توان نام برد.

ر- جهش‌هایی که موجب کاهش ساخت پروتئین می‌شوند. این جهش ها ممکن است باعث دگر پیرایش mRNA شوند مانند جهش‌های A455E و KbC>T۱۰+۳۸۴۹ (۲).

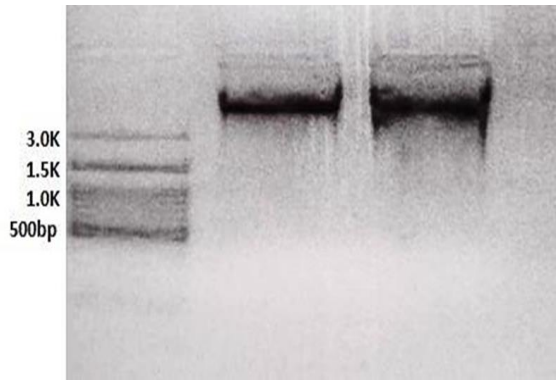
امروزه به دلیل تشخیص زودهنگام، درمان تهاجمی و ارائه‌ی مراقبت در مراکز تخصصی، امید به زندگی در این بیماران تا حد زیادی افزایش پیدا کرده است. در ایران بعد از استان مرکزی، استان آذربایجان شرقی و خوزستان با داشتن پراکندگی جهش ٤/٤ درصدی، بیشترین آمار بیماری را دارند. با توجه به شیوع بالای بیماری در استان خوزستان؛ مطالعه‌ی حاضر به بررسی وضعیت ژنتیکی خانواده های مبتلا به این بیماری پرداخته و نوع تغییرات ژنتیکی مرتبط با آن را در این افراد مشخص می‌کند.

روش‌ها

بیماران مورد مطالعه، عبارت بودند از ٦ خانواده‌ی مبتلا به سیستیک فیبروزیس که بین سال های ۱۳۹۸-۱۳۹۹ به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی نورژن اهواز مراجعه کرده بودند. معیارهای ورود به مطالعه شامل داشتن علائم بیماری سیستیک فیبروز، تأیید فنوتیپ بیماری توسط پزشک متخصص و رضایت بیمار برای حضور در مطالعه بود. پس از جمع‌آوری اطلاعات کلینیکی و اخذ رضایت‌نامه از خانواده‌ها، مشاوره‌ی ژنتیک و رسم شجره نامه‌ی افراد انجام شد. ابتدا ۵ میلی لیتر خون محیطی از بیماران گرفته و در داخل فالکون حاوی ماده ضد

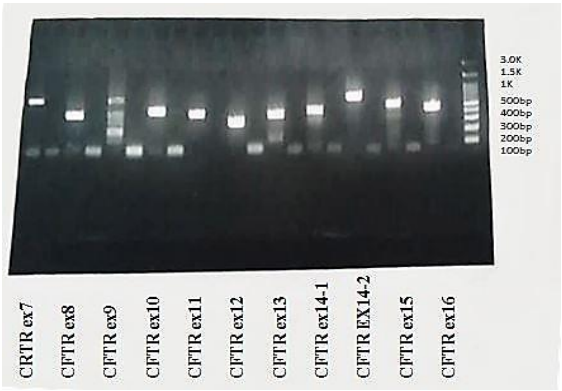
انعقـــاد (Ethylenediamine-tetraacetate) EDTA ۰/۵ درصـــد ریخته شد. برای استخراج DNA از روش نمـک اشـباع (Salting out) انجام گردید.

پس از استخراج DNA، کیفیت DNAها به روش کمـی و کیفـی محاسبه گردید. به منظور بررسی کمـی از دسـتگاه نـانودراپ و بـرای بررسی کیفی DNA از الکتروفورز استفاده شد (شکل ۱).



شکل ۱. عکس ژل محصولات استخراج DNA که نشان دهنده‌ی باندهای ایجاد شده از DNAی انسانی است. اولین باند ایجاد شده باند 500bp است که قطعات DNA با وزن مولکولی پایین در اینجا رسوب می‌کنند. باندهای بعدی قطعات DNA با وزن‌های سنگین‌تر می‌باشند. باندهای سمت چپ نشانگر یا ladder است.

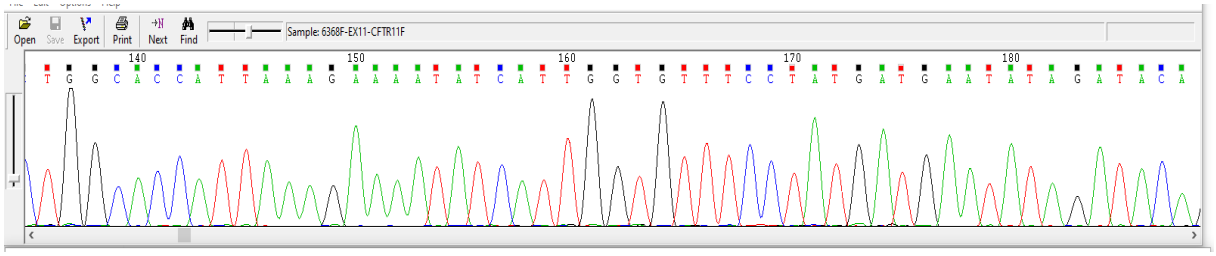
توالی پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه در جـدول ۱ نشـان داده شـده اسـت. بـه منظـور انجـام PCR، ۱۰ میکرولیتـر از محلـول Red Mix به ۰/۵ میکرولیتر از پرایمرهای R و F اضافه شـد. سـپس ۷/۵ میکرولیتر آب مقطر و در مرحله‌ی آخر، ۲ میکرولیتـر از DNAی تخلـیص شـده اضـافه گردیـد. بعـد از انجـام PCR، محصـولات آن الکتروفورز شد (شکل ۲). در مرحلـه‌ی بعـد، محصـولات بـه منظـور خوانش توالی، در دستگاه توالی‌یابی یا سکونسر ABI 3130XL قرار داده شد و در نهایت با اسـتفاده از نـرم‌افـزار کروماس Chromas در سایت Blast NCBI و ENSEMBL مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۲. عکس ژل محصولات PCR نشان‌دهنده‌ی PCR موفق اگزون‌های مختلف ژن CFTR و رسوب هر کدام از اگزون‌های این ژن در باندهای مختلف می‌باشد که بر اساس وزن مولکولی از هم جدا می‌شوند و رسوب می‌دهند.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش.

اگزون	پرایمر	توالی
Ex-7	Forward	5'-CTG TAC AGC GTC TGG CACAT-3'(20mer)
	Reverse	5'-CTG TAC AGC GTC TGG CACAT-3'(20mer)
Ex-8	Forward	5'-AGA CCA TGC TCA GAT CTT CC-3'(20mer)
	Reverse	5'-CAA AGT TCA TTA GAA CTG ATC-3'(21mer)
Ex-9	Forward	5'-GCTTGGCAAATTAACTTTAGAACA-3'(24mer)
	Reverse	5'-GTGAGTGATCCTCCTTCCAG-3'(20mer)
Ex-10	Forward	5'-CAT GTC CTC TAG AAA CCG TA-3'(20mer)
	Reverse	5'-CCC ATA CAT TCT CCT AAT GC-3'(20mer)
EX-11	Forward	5'-CAA GTG AAT CCT GAG CGT GA-3'(20mer)
	Reverse	5'-TTT CAT GTG TTT GCA AGC TCC T-3'(22mer)
EX-12	Forward	5'-TTA GAA GGA AGA TGT GCC-3'(18mer)
	Reverse	5'-AAA GCA ATA GAG AAA TGTCTG TAA T-3'(25mer)
EX-13	Forward	5'-TTT CAG TGA ATC GAT GTG GTG-3'(21mer)
	Reverse	5'-GTT TAG CAT GAG GCG GTG AG -3'(20mer)
EX-14-1	Forward	5'TCT GTT AAC ATG CAA CTT TTC AA -3'(23mer)
	Reverse	5'-TCC AGG AGA CAG GAG CAT CT -3'(20mer)
EX-14-2	Forward	5'-TGA GAC CTT ACA CCG TTT CTC A -3'(22mer)
	Reverse	5'-CTC TTC CCA CAG AGG GTT CA -3'(20mer)
EX-18	Forward	5'-TTG AGG TGT TTA AAG TAT GCA AAA A-3'(25mer)
	Reverse	5'-GCA GCA CTA TCC TTG TTT AAT TTG-3'(24mer)
EX-15	Forward	5'-GCT GTG TTG CTC CAG TAG ACA T-3'(22mer)
	Reverse	5'-TGG TTC TAC TTG TTG ATT TTT CAGA-3'(25mer)
EX-25	Forward	5'-ATT TGT CCT GTT TAT TTA TGG ATA CTT-3(27mer)
	Reverse	5'-CAC CAC ATG GCT CAG ATC AA-3'(20mer)



شکل ۳. نتایج حاصل از نرم‌افزار کروماس که حذف یک اسیدآمینه فنیل الانین (فلش: جایگاه حذف سه نوکلئوتید CTT) را نشان می‌دهد.

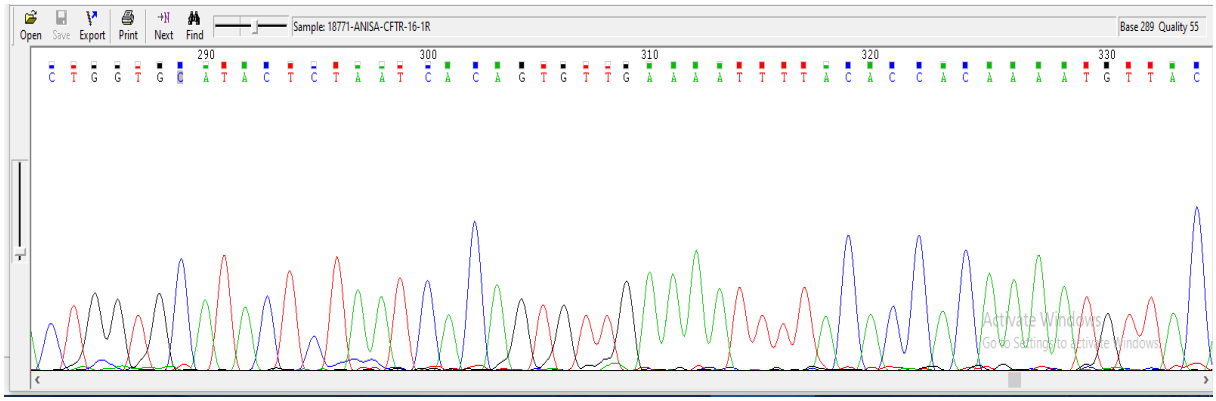
یافته‌ها

در این مطالعه، ٦ خانواده از نقاط مختلف استان خوزستان مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از مشاوره‌ی ژنتیک و رسم شجره‌نامه‌ی خانوادگی آن‌ها نوع جهش‌های موجود در این خانواده‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد جهش شایع delF508 در اغلب افراد مشاهده شد که حاصل حذف اسیدآمینه‌ی فنیل‌آلانین می‌باشد (چهار خانواده) (شکل ۳).

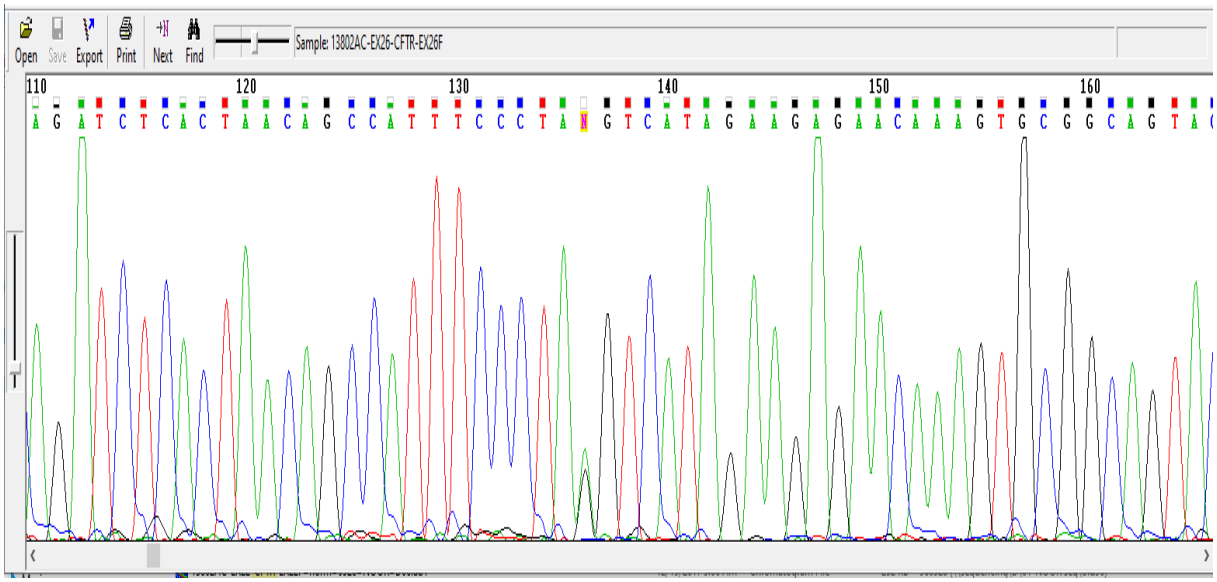
جهش‌های شناخته شده‌ی دیگری نیز مانند CFTR: p.S945L:c.C2834T در این مطالعه شناسایی شد (یک خانواده) (شکل ٤). همچنین در این مطالعه دو جهش جدید که تاکنون در دنیا گزارش نشده بود نیز شناسایی گردید که در اگزون ٢٦ در ناحیه‌ی IVS25-1 و اگزون ١٨ در ناحیه‌ی IVS18+42 قرار داشت که به احتمال زیاد پاتوژن بوده و به صورت هتروزیگوت مرکب، منجر به بیماری زایی در فرد مورد نظر گردیده است و می تواند به عنوان یک موتاسیون جدید معرفی گردد (یک خانواده) (شکل ٥ و ٦). در این خانواده که دارای یک فرزند دختر ١٦ ساله‌ی سالم، یک فرزند پسر ١١ ساله همراه با علایم شوری عرق، دفع چربی و کاهش وزن و همچنین یک فرزند ٣ ماهه‌ی فوت شده مورد بررسی قرار گرفتند. مادر این خانواده ١١ هفته باردار بود. برای فرزند پسر به عنوان کاندید بیماری CF، بررسی مولکولی تمامی اگزون ها و نواحی اگزون-اینترونی در ژن CFTR انجام گرفت و مشخص شد بیمار فاقد موتاسیون شناخته شده‌ای در ژن CFTR می‌باشد. اما در بررسی تمامی اگزون‌ها و نواحی اگزون اینترونی مشخص شد که بیمار دارای دو موتاسیون به شکل هتروزیگوت مرکب است که به احتمال زیاد می تواند ازنظر پاتولوژیکی ایجاد بیماری CFTR می کند. بررسی اگزون‌های ١١ تا ٢٦ هیچ جهش شایع و شناخته شده‌ای را نشان نداد ولی دو جهش ناشناخته یکی در اگزون ١٨ ناحیه‌ی IVS18+42 شناسایی شد که آدنین به تیمین تبدیل شده بود و دیگری در اگزون ٢٥ در ناحیه‌ی IVS25-1 شناسایی گردید که گوانین به آدنین تبدیل شده بود.

بحث

یافته های زیادی در مورد بیماری CFTR از زمان شناسایی آن تا به امروز منتشر شده است. در مطالعه‌ی اخوان نیاکی و همکاران، ناهمگونی بالایی از جهش‌های ژن CFTR در استان مازندران را نشان دادند که نشان‌دهنده‌ی هتروژنی بالای جهش‌های ژن CFTR بود و جهش delF508 ٢١/٦ درصد از الل‌های جهش‌یافته را تشکیل می‌داد (١٠).



شکل ٤. نتایج حاصل از نرم افزارکروماس که در کدون ٩٤٥ نوکلئوتیدی سیتیدین به تیمین تبدیل شده و باعث تبدیل اسیدآمینه سرین به لایزین به شکل هموزیگوت (فلش: جایگاه جایگزینی) را نشان می‌دهد.

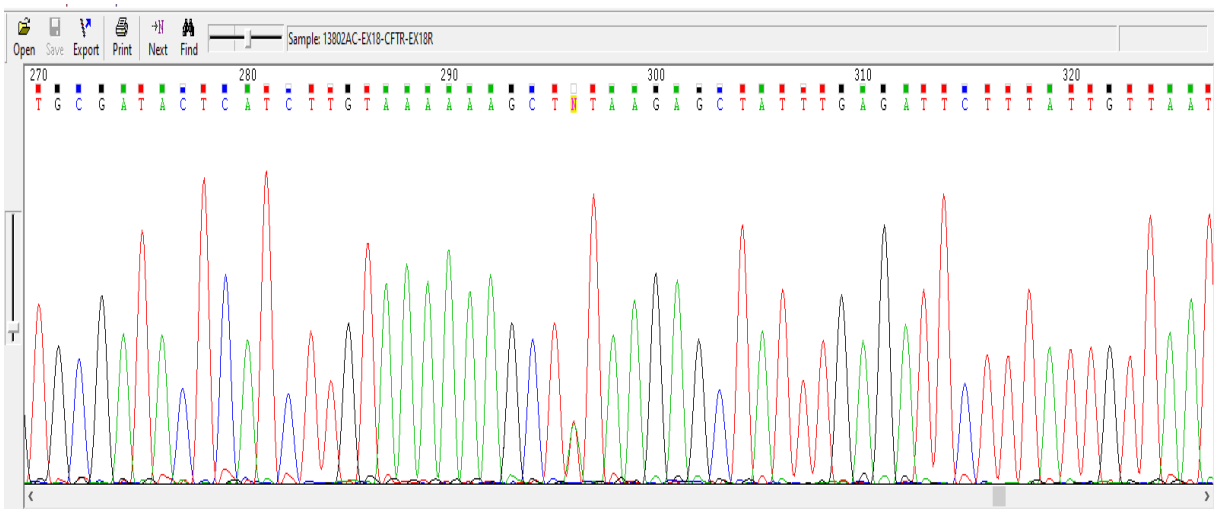


شکل ۵. سکانس مربوط به موتاسیون IVS 25-1 G>A Het در اگزون ۲۵ نوکلئوتید گوانین جایگزین ادنین به صورت هتروزیگوت (فلش: جایگاه جایگزینی) را نشان می‌دهد.

محمدی و همکاران، در بیماری مبتلا به CFTR تمامی ۲۷ اگزون و نواحی اینترونی اطراف آن را تکثیر و توالی یابی کردند و یک جهش هموزیگوت IVSII+12T>C در بیمار پیدا نمودند که نقش مهمی در ایجاد اثرات پاتوژنیک داشت و به احتمال خیلی زیاد بیماری CF را ایجاد می کرد. آنالیز DNAی ژن CFTR یک بیمار، واریانتی پاتوژنیک (IVSII+12T>C) در ناحیه‌ی اسپیلایس سایت نشان داد که برای تشخیص بیماری، تشخیص ناقلین و تشخیص پیش از تولد مفید می‌باشد (۳).

هواسیان و همکاران، هفت جهش شایع در ایران را نشان دادند که شامل delF508 (۳۳/۳ درصد)، c.1677delITA (۷/٤۱ درصد)، c.2183-2184delAAinsG (٥/٥٦ درصد)، PN1303K (٤/۸۱ درصد)، c.2789+5G>A (٤/٤٤ درصد)، PS.466X (٤/٤٤ درصد) و PG.542X (٤/۰۷ درصد)، می‌باشد و شایع‌ترین جهش همان جهش مورد اول می‌باشد.

یافته های این مطالعات گویای ناهمگونی بالای جهش های این ژن می‌باشد و این نشان می دهد که در بررسی ها باید اگزون‌های دیگر نیز بررسی شوند تا موتاسیون‌های جدید و نادر شناسایی و در غربالگری‌ها مدنظر قرار گرفته شوند (۱).



شکل ٦. سکانس مربوط به موتاسیون IVS18+42 A>T Het در اگزون ۱۸ نوکلئوتیدی ادنین به تیمین تبدیل شده به صورت هتروزیگوت (فلش: جایگاه جایگزینی) را نشان می‌دهد.

رفیعی و همکاران دریافتند که بیماری CFTR در شمال غرب کشور ماهیتی کاملاً هتروژنی دارد و انواعی از جهش ها و ژنوتیپ را به دست آوردند. نتایج نشان داد از ٤٣٨ الل جهش‌یافته، ٣٢ نوع واریانت با تنوع بالایی وجود دارند. بیشتر این واریانت‌ها از نوع بیماری زا بوده و واریانت‌های مربوط به پلی‌مورفیسم و پیرایشی نیز مشاهده گردید. delF508 همچنان شایع ترین جهش در این منطقه بود و با توجه به بالا بودن ازدواج‌های فامیلی والدین و نقش آن‌ها در ظهور بیماری‌های ژنتیکی به خصوص از نوع مغلوب بایستی آموزش‌های لازم و همچنین برنامه‌ریزی برای تشخیص و غربالگری این بیماری قبل از ازدواج انجام شود (١١).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه دو موتاسیون جدید شناسایی شده در بین این خانواده‌ها تاکنون گزارش نشده بود. یکی از این دو موتاسیون در اگزون ٢٦ ناحیه‌ی IVS25-1 و دیگری در اگزون ١٨ ناحیه‌ی IVS18+42 قرار داشت و از نظر پاتولوژیکی به احتمال زیاد ایجاد بیماری CFکرده و پاتوژن بود.

نتایج این پژوهش نشان داد که این موتاسیون‌های جدید می‌توانند در کنار جهش های مرسوم شناخته شده مورد غربالگری قرار گرفته و به شناخت کامل تر این بیماری در سطح تشخیص و حتی مولکولی نیز کمک شایانی داشته باشد.

پیشنهاد می‌شود با توجه به شیوع ژن CFTR در استان خوزستان و اهمیت تشخیص پیش از تولد این اختلال ژنتیکی، غربالگری و مشاوره‌ی ژنتیک قبل از ازدواج در خانواده‌هایی که افراد مبتلا در آن‌ها دیده شده است، انجام گیرد. مواردی همچون افزایش تعداد خانواده ها در پژوهش‌های بعدی، بررسی اگزون‌های دیگر برای یافتن جهش‌های دیگر پاتوژنیک با استفاده از تکنیک های مولکولی برای تشخیص پیش از تولد در خانواده‌های درگیر، بررسی هتروزیگوتی جهش‌ها در قومیت‌های مختلف به صورت جداگانه و استفاده از تست عرق به عنوان غربالگری قبل از انجام تست مولکولی به دلیل هزینه‌بر بودن تست‌های مولکولی نیز می‌تواند کمک‌کننده باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی ٩٧٠٢٢١٨٨٣ در مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی سلولی و مولکولی می‌باشد که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول به تصویب رسیده است.

References

1. Havasian MR, Panahi J, Mahdieh N. Cystic fibrosis anddistribution and mutation analysis of CFTR gene in Iranian patients [in Persian]. Koomesh 2014: 15(4): 431-40.
2. Alibakhshi R KR, Cassiman JJ, Zamani M, Cuppens H. Analysis of the CFTR gene in Iranian cystic fibrosis patients: identification of eight novel mutations .J Cyst Fibros 2008; 7(2): 102-9.
3. Mohammadi-Anaei SM, Sangtarash MH, Gallehdari M, Shariati G. Identification of an intronic mutation in the CFTR gene in an Iraqi family. Proceeding of the 1st National Conference on New Findings in Biology. Zahedan, Iran: University of Sistan and Baluchistan; 2015 [in Persian].
4. Mannik LA, Chang KA, Annoh PQK, Sykes J, Gilmour J, Robert R, et al. Prevalence of hypoglycemia during oral glucose tolerance testing in adultswith cystic fibrosis and risk of developing cystic fibrosis-related diabetes. J Cyst Fibros 2018; 17(4): 536-41.
5. Mirfakhraie R, Kalantar S, Salsabili N, Montazeri M, Fazli H, Houshmand M, et al. Analysis of CFTR gene mutations in Iranian non-obstructive azoospermic patients [in Persian]. Zahedan J Res Med Sci 2008; 10(4): e94501.
6. Madrasi MR, Faqihinia J, Baharzadeh Farideh. Prevalence of cystic fibrosis in a group of children under 15 years of age in Iran [in Persian]. J Isfahan Med Sch 2013; 30(180): 248-54.
7. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Dřevínek P, et al. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. N Engl J Med 2011; 365(18): 1663-72.
8. Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW. Lumacaftor-ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del CFTR. N Engl J Med 2015; 373(18): 1783-4.
9. Heltshe SL, Cogen J, Ramos KJ, Goss CH. Cystic fibrosis: The dawn of a new therapeutic era. Am J Respir Crit Care Med 2017; 195(8): 979-84.
10. Akhwan-Niaki H, Esmaeili Dooki DR, Ghabeli Juibari A. Common CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients of Mazandaran province [in Persian]. J Gorgan Univ Med Sci 2008; 10(3): 38-44.
11. Rafiei M, Jabarpoor-Bonyadi M, Vahedi A, Vahedi L. Genetic mutations of cystic fibrosis disease in northwest Iran according to the cystic fibrosis disease registration unit [in Persian]. Med J Tabriz Uni Med 2017; 40(4): 31-7.

DOI: *10.48305/jims.v40.i695.0924*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 40, No. 695, 3rd Week, January 2023**

Received: 03.10.2022 Accepted: 10.12.2022 Published: 11.01.2023

Investigating the Genetic Sequence of Exons and Exon-intron Junction Sequences of CFTR Gene by PCR Method in Families Suspected of Cystic Fibrosis in Khuzestan Province

Leili Delfi Fallah[1], Maryam Mehdi Sasan[2], Zahra Shahpouri Arani[2], Mahin Baratvand[1], Hashem Kazemi[1]

Original Article

Abstract

Background: Cystic fibrosis is one of the most fatal multisystem disorders and the most common autosomal recessive disease in the white population, which occurs due to mutations in cystic fibrosis membrane regulatory proteins (CFTR). The frequency of these mutations varies based on geographic location and race. The most common mutation in this gene is F508del. This study was conducted to identify other possible gene mutations involved in fibrocystic disease in Khuzestan province.

Methods: In this study, initially peripheral blood was taken on EDTA anticoagulant and after DNA extraction, the PCR stage was performed with specific primers and electrophoresis. After that, DNA sequencing was done using Chromas software and finally, data analysis was done for the desired exons.

Findings: The most common mutation in cystic fibrosis is the F508del mutation. Two new mutations were identified among the patients, and these mutations are located in exon 26 of the IVS25-1 region and exon 18 in the IVS18+42 region.

Conclusion: The mutations obtained from this study are both heterozygous and homozygous and can be important indicators for carrier detection, prenatal diagnosis, and treatment.

Keywords: CFTR; Genes; Cystic fibrosis; Exons; Genetic sequence

Citation: Delfi Fallah L, Mehdi Sasan M, Shahpouri Arani Z, Baratvand M, Kazemi H. **Investigating the Genetic Sequence of Exons and Exon-intron Junction Sequences of CFTR Gene by PCR Method in Families Suspected of Cystic Fibrosis in Khuzestan Province.** J Isfahan Med Sch 2023; 40(695): 924-30.

1- MSc, Department of Biology, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran
2- MSc, Shahid Chamran University of Ahvaz, Faculty of Science, Department of Genetics, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Hashem Kazemi, MSc, Department of Biology, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran; Email: hashemkazmi@yahoo.com