



بررسی جهش در ژن NEU1 و ارتباط آن با بیماری سیالیدوز در یک خانواده خوزستانی به روش توالی‌یابی کامل اگزوم

نیکو سادات جلالی^۱، آتوسا مرادزادگان^{۱*}

^۱ گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران

*نویسنده‌ی مسئول: گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران. ایمیل: a.moradzadegan@iaud.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۵ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۰

چکیده

مقدمه و اهداف: سیالیدوز (MIM 256550) یک اختلال ارثی نادر و اتوزومال مغلوب است که ناشی از کمبود α -N استیل نورآمینیداز به دلیل جهش در ژن نورآمینیداز (NEU1) واقع در جایگاه کروموزومی 6p21.33 است. این تغییر ژنتیکی منجر به تجمع غیرطبیعی داخل سلولی و همچنین دفع ادراری سیالیولولیکوساکاریدها می‌شود. روش تشخیصی مبتنی بر فناوری توالی‌یابی اگزوم (WES (Whole-Exome Sequencing) با صرفه‌جویی در زمان و هزینه زمینه را برای مشاوره ژنتیکی مناسب‌تر فراهم می‌کند. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه موردی توصیفی پس از نمونه‌گیری از بیماران و والدین آن‌ها در لوله حاوی ماده ضد انعقاد EDTA، استخراج DNA به روش نمک اشباع انجام شد و ژنوم افراد بیمار با تکنیک توالی‌یابی کامل ژنوم مورد بررسی قرار گرفت. واریانت پیدا شده جهت تایید در والدین با تکنیک استاندارد توالی‌یابی سانگر بررسی گردید. برای این منظور از تکنیک PCR (polymerase chain reaction) برای تکثیر قطعه مورد نظر و از برنامه کروماتاس برای خوانش داده‌ها استفاده گردید. **نتایج:** واریانت NM_00043:exon3:c.G451A:p.V151I در فرد بیمار خانواده اول به صورت هموزیگوت شناسایی گردید. این واریانت در والدین فرد بیمار تایید شد. **نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که شناسایی واریانت‌های آسیب‌زای جدید در این ژن می‌تواند به تکمیل پانل ژنتیکی مربوطه و تسریع در شناسایی افراد بیمار با فنوتیپ سیالیدوز کمک کند. **کلمات کلیدی:** بیماری سیالیدوز، ژن NEU1، توالی‌یابی اگزوم، ضعف عضلانی

۱. مقدمه

سیالیدوز (MIM 256550) که به عنوان یک بیماری ذخیره‌ای لیزوزومی نادر و چندوجهی در نظر گرفته می‌شود، به دلیل تظاهرات بالینی متنوع و شدت متغیر آن، با چالش‌های تشخیصی قابل توجهی روبه‌رو است (۱). این اختلال متابولیکی ارثی که به صورت اتوزوم مغلوب به ارث می‌رسد، ناشی از کمبود آنزیم نورآمینیداز است (۲). نورآمینیداز آنزیمی ضروری برای تجزیه اسیدسیالیک است، که یک مولکول قندی موجود در کربوهیدرات‌های پیچیده مختلف است (۳). ژن نورآمینیداز انسانی در جایگاه کروموزوم 6p21.3 قرار دارد، جایی که لوکوس HLA نیز گزارش شده است (۴).

عدم وجود یا اختلال عملکرد این آنزیم حیاتی منجر به تجمع گلیکوکنژوگه‌های سیالیه در بافت‌های مختلف می‌شود، عملکرد سلولی را مختل کرده و طیف گسترده‌ای از تظاهرات بالینی را به دنبال دارد (۵). تظاهرات بالینی سیالیدوز به طور شگفت‌آوری متغیر است، از موارد خفیف که تنها با اختلالات عصبی جزئی مشخص می‌شود تا اشکال شدید که چندین سیستم اندامی، از جمله مغز، چشم، قلب و سیستم اسکلتی را درگیر می‌کند (۶، ۷). این طیف متنوع از علائم، که اغلب با سایر اختلالات همپوشانی دارد، چالش‌های تشخیصی را برای پزشکان ایجاد نموده و منجر به تشخیص دیر هنگام و تاخیر در مداخلات می‌شود (۸). روش‌های تشخیصی سنتی که عمدتاً به آزمون‌های آنزیمی و تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی متکی هستند، اغلب در ارائه تشخیص قطعی، به‌ویژه در موارد خفیف، با مشکل مواجه می‌شوند. این روش‌ها می‌توانند زمان‌بر، پرهزینه و گاهی نامشخص باشند و ضرورت وجود یک روش تشخیصی قوی‌تر و کارآمدتر را برجسته می‌کنند، به همین دلیل امروزه، بررسی ابعاد ژنتیکی در اختلالات متفاوت حائز اهمیت در نظر گرفته می‌شود (۹، ۱۰). ظهور فناوری توالی‌یابی اگزوم، WES (Whole-Exome Sequencing)، انقلابی در تشخیص بیماری‌های ژنتیکی ایجاد کرده است و

سیالیدوز (MIM 256550) که به عنوان یک بیماری ذخیره‌ای لیزوزومی نادر و چندوجهی در نظر گرفته می‌شود، به دلیل تظاهرات بالینی متنوع و شدت متغیر آن، با چالش‌های تشخیصی قابل توجهی روبه‌رو است (۱). این اختلال متابولیکی ارثی که به صورت اتوزوم مغلوب به ارث می‌رسد، ناشی از کمبود آنزیم نورآمینیداز است (۲). نورآمینیداز آنزیمی ضروری برای تجزیه اسیدسیالیک است، که یک مولکول قندی موجود در کربوهیدرات‌های پیچیده مختلف است (۳). ژن نورآمینیداز انسانی در جایگاه کروموزوم 6p21.3 قرار دارد، جایی که لوکوس HLA نیز گزارش شده است (۴).

عدم وجود یا اختلال عملکرد این آنزیم حیاتی منجر به تجمع گلیکوکنژوگه‌های سیالیه در بافت‌های مختلف می‌شود، عملکرد سلولی را مختل کرده و طیف گسترده‌ای از تظاهرات بالینی را به دنبال دارد (۵). تظاهرات بالینی سیالیدوز به طور شگفت‌آوری متغیر است، از موارد خفیف که تنها با

ترشح غده هیپوفیز TSH با استفاده از کیت نویان (شرکت نویان نگین پارسیان) و با استفاده از دستگاه Immulite (2000XPI, Germany) اندازه‌گیری شد. سطح این هورمون به منظور اطمینان از عملکرد صحیح غده هیپوفیز و تیروئید سنجیده شد. سطح کلسیم خون نیز با استفاده از کیت MTB (شرکت من) و با استفاده از دستگاه زمینس آلمان (Siemens ADVIA 1800 Chemistry System) بر اساس روش کمی لومینسانس ارزیابی شد. کلسیم یک ماده معدنی مهم است که در بدن برای عملکرد صحیح اعصاب، عضلات، قلب و سایر سلول‌ها و بافت‌ها ضروری است. در مرحله بعد ماده‌ی ژنتیکی DNA با استفاده از روش نمک اشباع استخراج و کیفیت و کمیت آن به ترتیب با استفاده از روش الکتروفورز و دستگاه نانودراپ بررسی گردید. استخراج DNA به صورت نمک اشباع انجام شد. پس از ارزیابی کیفیت DNA، نمونه DNA ژنومی واجد شرایط به طور تصادفی با استفاده از روش سونوشیمی غیر تماسی قطعه قطعه گردید. پردازش کتابخانه توالی‌یابی با اضافه کردن آداپتورهای توالی‌یابی به هر دو انتهای قطعات DNA تهیه شد. واکنش (PCR) مناطق مورد نظر (اگزون‌ها و اهداف اینترونیک) با استفاده از جذب هدف مبتنی بر هیبریداسیون انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های اولیه با استفاده از پردازش تصاویر انجام شد.

داده‌های توالی‌یابی خام با استفاده از نرم‌افزار (bcl2fastq) Illumina به فرمت FASTQ تبدیل شد. توالی خوانده شده از هر نمونه با ژنوم مرجع انسان (GRCh37/hg19) همتراز گردید. برای تراز خواندن از نرم‌افزار Burrows-Wheeler Aligner (BWA-MEM) استفاده شد.

داده‌های به دست آمده با کمک مجموعه‌ای از ابزارها (VcfAnno و VEP) و با استفاده از انواع پایگاه‌های اطلاعاتی شامل gnomAD، ClinVar و HGMD حاشیه‌نویسی شدند. به منظور تایید واریانت شناسایی شده، از تکنیک سانگر^۱ استفاده گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. به منظور انجام PCR، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول Red Mix به ۰/۵ میکرولیتر از پرایمرهای F و R اضافه گردید. سپس ۷/۵ میکرولیتر آب مقطر و ۲ میکرولیتر از DNA استخراج شده به تیوب واکنش اضافه گردید و PCR گردید. سپس محصولات بر روی ژل آگارز بارگذاری گردید. در مرحله بعد به منظور خوانش توالی از دستگاه سکونسر ABI 313XL استفاده و با نرم‌افزار کروماتس خوانش توالی هدف انجام گردید. برای بررسی بیوانفورماتیکی داده‌ها از پایگاه داده‌ای NCBI و ENSEMBL استفاده گردید.

ابزاری جامع و قدرتمند برای رمزگشایی علل پیچیده ژنتیکی بیماری‌هایی مانند سیالیدوز را ارائه می‌دهد (۱۱). WES امکان تحلیل همزمان مناطق کدکننده پروتئین ژنوم را فراهم می‌کند و اطلاعات ژنتیکی گسترده‌ای را ارائه می‌دهد که می‌تواند نقص ژنتیکی عامل بیماری را شناسایی کند (۱۲). از آنجایی که اندازه اگزوم انسان فقط ۱ درصد از ژنوم است، توالی‌یابی اگزوم روشی بسیار مقرون به صرفه برای مطالعه تغییرات در مناطق کدگذاری در مقایسه با توالی‌یابی کل ژنوم است. در مورد هیبریداسیون آرایه، پروب‌ها به یک ریزآرایه ثابت می‌شوند. پس از استخراج و تکه‌تکه شدن DNA، آداپتورهای توالی‌یابی به قطعات DNA متصل می‌شوند. هنگامی که قطعات DNA روی ریزآرایه اعمال می‌شوند، تنها قطعاتی که از مناطق اگزومی می‌آیند با پروب‌های روی ریزآرایه هیبرید می‌شوند و بقیه قطعات شسته می‌شوند. سپس DNA خارجی هیبرید شده از ریزآرایه جدا شده و توالی‌یابی می‌شود. هیبریداسیون در محلول رویکرد مشابهی است، با این تفاوت که پروب‌ها به دانه‌های مغناطیسی متصل می‌شوند و به DNA داخل محلول هیبرید می‌شوند. کاوشگرها که با قطعات DNA اگزومیک هیبرید می‌شوند، سپس به پایین کشیده می‌شوند و DNA توالی‌یابی می‌شود (۱۳، ۱۴).

این فناوری این پتانسیل را دارد که بر محدودیت‌های روش‌های سنتی غلبه کند و منجر به تشخیص سریع‌تر و دقیق‌تر و در نهایت، بهبود مراقبت از بیمار شود (۱۵).

۲. اهداف

هدف از این پژوهش تجزیه و تحلیل همزمان کل اگزوم‌های مرتبط به بیماران مورد بررسی در کوتاه‌ترین زمان ممکن و با صرف حداقل هزینه است.

۳. مواد و روش‌ها

در این پژوهش موردی-مقطعی به بررسی یک خانواده از استان خوزستان پرداخته شد. بیمار پس از تایید اولیه توسط پزشک متخصص انتخاب و پس از تکمیل فرم رضایت‌نامه در پژوهش شرکت داده شد. مشاوره ژنتیکی به منظور رسم شجره‌نامه انجام گردید. به منظور تشخیص دقیق بیماری، آزمایش‌های بیوشیمیایی و ژنتیکی بر روی بیمار صورت گرفت. این پژوهش در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۲ در آزمایشگاه ژنتیک پزشکی نورژن اهواز و تحت حمایت معنوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول انجام شد. در ابتدا فاکتور

^۱ Sanger Sequencing

جدول ۱. توالی پرایمرها برای ژن *NEU1*

نام ژن	توالی پرایمر (۵'→۳')	طول	Tm	GC%	اتصال به خود-۵	اتصال به خود-۳
<i>NEU1-Ex3-Forward</i>	5'TGGGAAATTAACGGGAAGTG3'	۲۰	۵۵/۶۴	۴۵	۴	۰
<i>NEU1-Ex3-Reverse</i>	5'TGCCCTGTCTTTCAAGGAAT3'	۲۰	۵۷/۰۲	۴۵	۵	۲

۴. نتایج

بود. علاوه بر این میزان کلسیم نیز در خون بیمار سنجیده شد (جدول ۲).

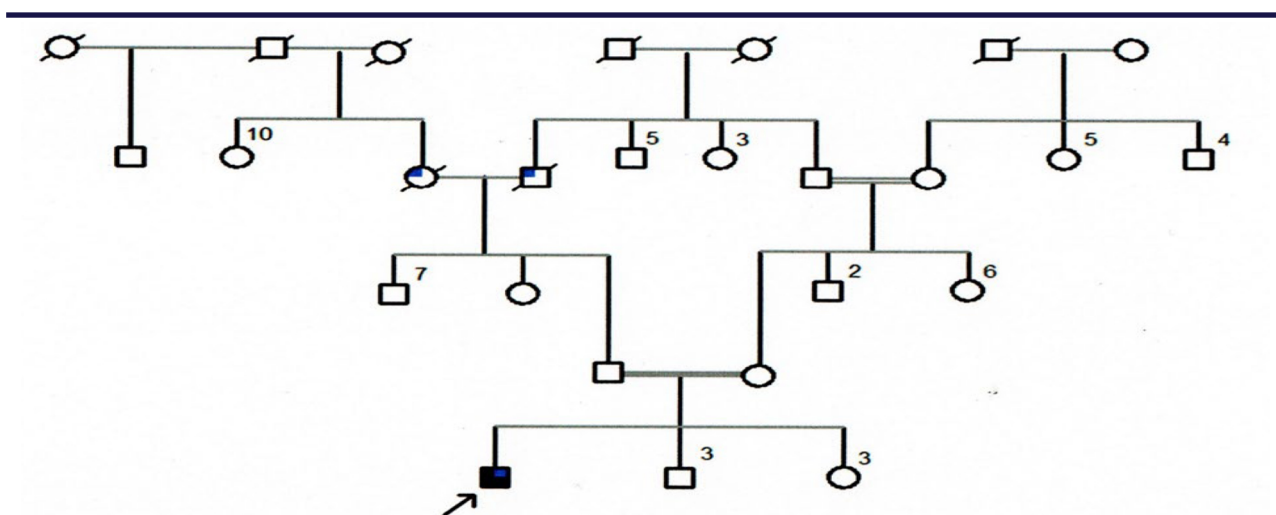
در این پژوهش، سطح هورمون TSH در بیمار کاندید، اندازه‌گیری شد که نشان‌دهنده سطح نرمال در این بیمار

جدول ۲. بررسی سطح هورمون TSH و کلسیم (واحد mg/dg).

متغیر	کلسیم نرمال	کلسیم بیمار	TSH نرمال	TSH بیمار
بیمار	۸/۶ - ۱۰/۲	۱۰/۱۴	۰/۳۴ - ۵/۶	۳/۳۹۳

فرد بیمار یک پسر ۱۸ ساله با علائم مختلفی مانند فلج پا (ناتوانی در حرکت)، ضعف دست و ناتوانی در صحبت (در حد کلمه) و صرع بود. سایر اعضای خانواده فاقد علائم مشابه بودند. شجره‌نامه این خانواده در تصویر ۱ نشان داده شده است. واریانت شناسایی شده در این فرد به صورت جهش هموزیگوت در ژن *NEU1 NM_00043:exon3:c. G451A:p.V151I* است. این جهش ناشناخته در دسته VUS طبقه‌بندی می‌گردد.

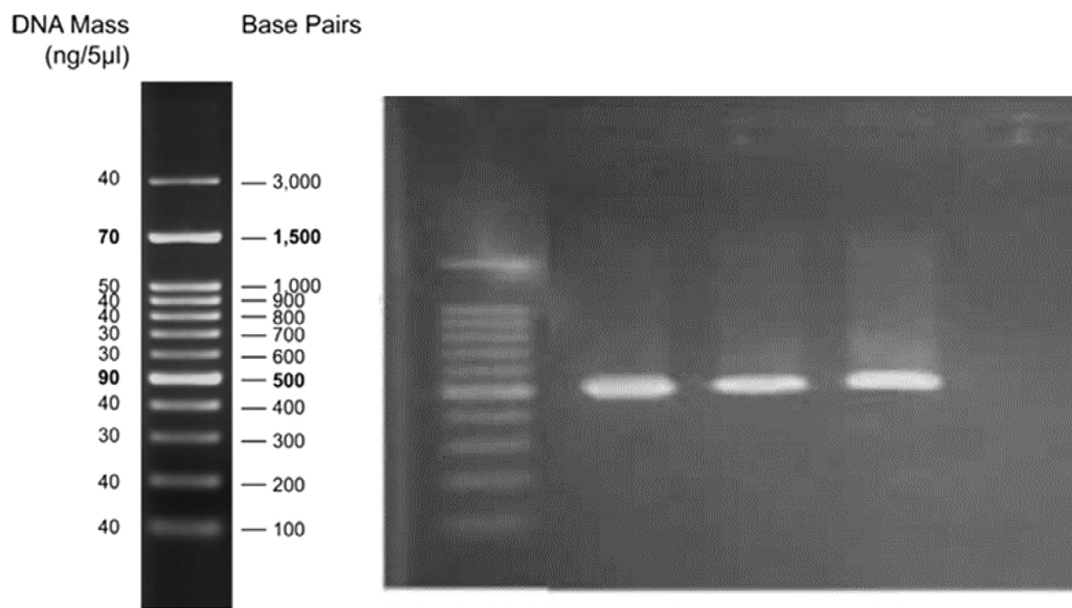
بعد از مشاوره ژنتیک و رسم شجره‌نامه‌ی خانوادگی، نوع واریانت شناسایی شده در این خانواده مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های حاصل از توالی‌یابی نسل بعد تعداد ۲۶۷۸۴۱ واریانت را در فرد بیمار شناسایی کرد که پس از فیلتراسیون بر مبنای زیگوسیتی و پاتوژنوسیتی واریانت‌ها، یک واریانت در فرد بیمار به صورت هموزیگوت شناسایی شد.



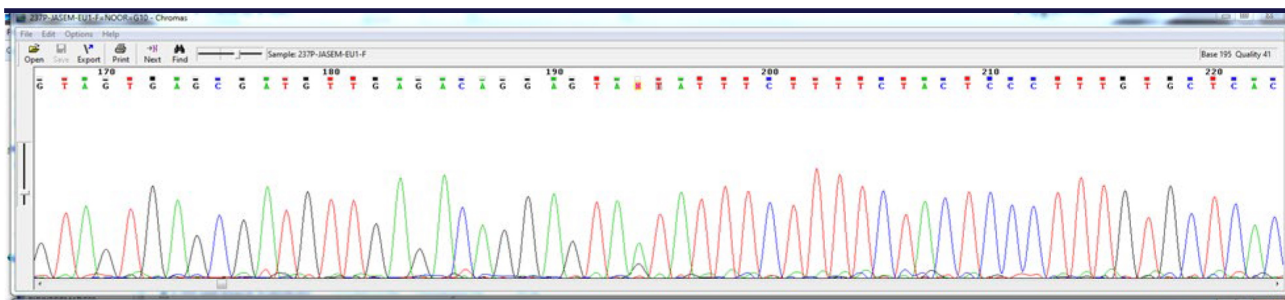
تصویر ۱. شجره‌نامه خانواده فرد بیمار. پدر بزرگ و مادر بزرگ پدری فرد بیمار اندکی ضعف پا را نشان داده بودند.

خوانش توالی به کمک تکنیک سانگر استفاده گردید. نتایج توالی‌یابی حضور واریانت شناسایی شده به صورت هموزیگوت در فرد بیمار و به صورت هتروزیگوت در والدین فرد بیمار را تایید کرد (تصویر ۳).

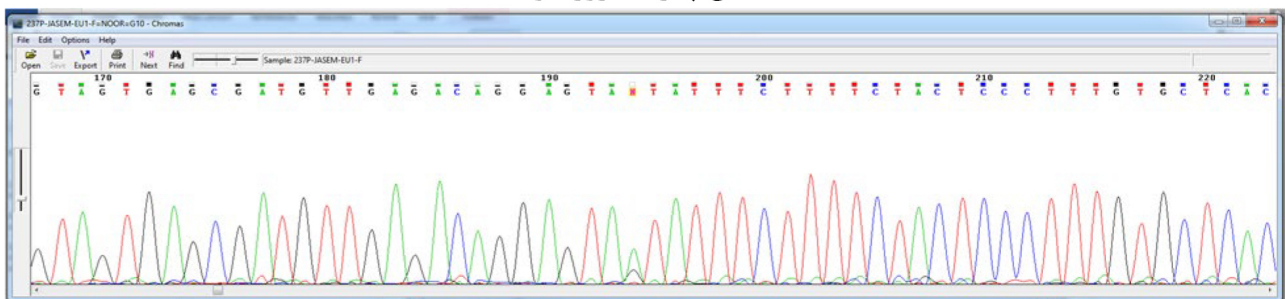
نتایج باندهای حاصل از الکتروفورز محصول PCR حاصل از تکثیر اگزون شماره ۳ ژن *NEU1* به طول 480 bp در کنار استفاده از 100bp ladder، بر روی ژل آگارز ۱/۷ درصد در تصویر ۲ نشان داده شده است. به منظور تایید واریانت شناسایی شده از



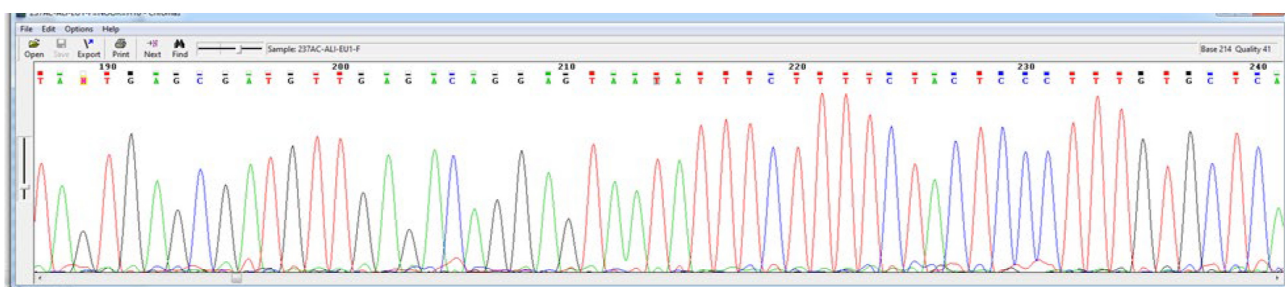
تصویر ۲. نتایج باندهای حاصل از الکتروفورز محصول PCR



سکانس پدر (هتروزایگوت)



سکانس مادر (هتروزایگوت)



سکانس فرد بیمار (هموزایگوت)

تصویر ۳. تعیین توالی اگزون ۳ ژن NEU1 در والدین فرد بیمار نشان‌دهنده هتروزایگوت و ناقل بودن ایشان برای جهش c.G451A:p.V151I است. در حالی که تعیین همین توالی در فرد بیمار نشان‌دهنده بیمار هموزایگوت بودن ایشان برای جهش c.G451A:p.V151I است.

۵. بحث

بیمار دوم برای یک جهش شناخته شده و یک جهش جدید هتروزایگوت مرکب $c.A839G(p.Arg280Gln)$ بود. این تیم در مورد تاثیر این جهش‌های جدید بر ویژگی‌های ساختاری *NEUI* مطالعه کردند (۲۰). نتایج این مطالعه همانند پژوهش حاضر بر اهمیت حفظ توالی ژن *NEUI* تاکید دارد و نشان می‌دهد جهش در این ژن می‌تواند پیامدهای بالینی مختلفی را به دنبال داشته باشد.

یافتن واریانت‌های متفاوت در این ژن و ارتباط آن با بیماری سیالیدوز می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت این ژن باشد. تغییر در توالی این ژن و به دنبال آن تغییر کنفورماسیون پروتئین حاصل از رونویسی آن می‌تواند به طور بالقوه منجر به تغییر پاتوژنیک و ایجاد اختلال در عملکرد سلول گردد.

تشخیص سیالیدوز به ویژه در سیستم‌های بهداشتی با منابع محدود کشورهای در حال توسعه چالش برانگیز است. در نتیجه، لازم است از ابزارهای تشخیصی مولکولی با کارایی بالا استفاده گردد تا امکان تشخیص دقیق آن فراهم گردد. با توجه به مقرون به صرفه بودن و سرعت بالای تشخیص با این تکنیک، نیاز به استفاده از آن در کنار روش‌های بیوشیمیایی مرسوم فعلی احساس می‌شود.

نکته قابل توجه این است که تعدادی از ویژگی‌های بالینی دیده شده در سیالیدوز (هر دو نوع) در بسیاری از اختلالات لیزوزومی دیگر نیز وجود دارد و این واقعیت که تست‌های آزمایشگاهی معمول در اکثر سیستم‌های بهداشتی کشورهای در حال توسعه و/یا کشورهای با درآمد متوسط و کم محدود است، اغلب لازم است به ابزارهای جایگزین تشخیصی مولکولی با توان عملیاتی بالا مانند توالی‌یابی کل اگزوم (WES) پرداخته شود تا امکان تشخیص دقیق فراهم گردد (۲۱).

۱.۵. محدودیت های پژوهش

محدودیت مطالعه حاضر، تعداد کم افراد مورد بررسی به علت نادر بودن بیماری است. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی به منظور اطمینان از نتایج بررسی سطح فعالیت آنزیم *NEUI* بررسی گردد. علاوه بر این به سایر اعضای خانواده پیشنهاد گردید پیش از ازدواج خویشاوندی و بارداری از نظر این واریانت مورد بررسی قرار گیرند.

۲.۵. نتیجه گیری

ایجاد یک پنل تشخیصی برای بیماران سیالیدوز یک چالش است که عمدتاً به این دلیل است که برخی از ویژگی‌های بالینی موجود در این بیماران با مواردی که در سایر بیماری‌های لیزوزومی (مانند موکوپلی ساکاریدوز) یا موکولیپیدوزها دیده می‌شوند همپوشانی دارند. علاوه

در این پژوهش به بررسی یک خانواده خوزستانی پرداخته شد که پروباند مورد بررسی با علائم سیالیدوز مراجعه کرده بود. پس از بررسی‌های بیوشیمیایی و انجام MRI و EEG، برای تشخیص قطعی بیماران از آزمایش توالی‌یابی کامل ژنوم استفاده گردید. نتایج نشان‌دهنده واریانت $c.G451A:p.VI5111$ در فرد بیمار خانواده بود. تعیین توالی والدین بیمار نشان‌دهنده هتروزایگوت بودن ایشان برای واریانت شناسایی شده و تایید آن بود.

سیالیدوز یک بیماری ذخیره سازی لیزوزومی اتوزومی مغلوب است که در اثر جهش در ژن نورآمینیداز-۱ (*NEUI*) کد کننده آنزیم نورآمینیداز ایجاد می‌شود (۱۶). جهش در این آنزیم منجر به کمبود فعالیت لیزوزومی آلفا-N-استیل نورآمینیداز (لیزوزومی سیالیداز) می‌گردد که باعث تجمع سوبستراهای آن، یعنی الیگوساکاریدها، در لیزوزوم‌های اندام‌ها و بافت‌های مختلف و افزایش حضور مایعات آلی در ادرار و سایر موارد می‌شود (۱۶، ۱۷).

سیالیدوز از نظر بالینی بر اساس سن شروع و شدت آن به دو نوع تقسیم می‌شود. سیالیدوز نوع I که به عنوان "سندرم میوکلونوس لکه قرمز گیلاسی" نیز شناخته می‌گردد، شکل خفیف با فنوتیپ شروع دیررس است. سیالیدوز نوع II شکل زودرس این بیماری است و با فنوتیپ مشابه هورلر ظاهر می‌شود (۱۸، ۱۹).

فلورس و همکاران (۲۰۲۱) در پژوهشی یک شجره ۴ عضوی را بررسی کردند و با استفاده از تکنیک توالی‌یابی کامل اگزوم، توانستند یک واریانت بدمعنی ($c.1109A < G;p.Tyr370Cys$) شناسایی نمودند. دو خواهر و برادر، که با ویژگی‌های بالینی که پیش از این گزارش نشده بودند پس از بررسی، مبتلا به سیالیدوز نوع II تشخیص داده شدند. علاوه بر این، این تیم یک مدل مولکولی جدید ارائه کردند که پیامدهای این نوع واریانت را در ساختار سه‌بعدی *sialidase-1* نشان دادند. این مطالعه به این تیم اجازه داد تا یک تشخیص قطعی برای بیماران سیالیدوز ارائه دهند، درک متخصصین را از این واریانت بیماری‌زا افزایش دهند و روند مشاوره ژنتیکی را بهبود بخشند (۱۷). نتایج این مطالعه با پژوهش حاضر همسو بود و نشان‌دهنده اهمیت تکنیک WES در کمک به تشخیص دقیق بیماری‌های بیوشیمیایی با منشا ژنتیکی است.

در پژوهشی دیگر، کاسیوتی و همکاران (۲۰۲۰)، دو بیمار با جهش‌های جدید در *NEUI* را نشان دادند. یکی از این بیماران برای دو جهش جدید *NEUI* هتروزایگوت مرکب بود: $c.T530A(p.Asp177Val)$ و $c.G1010A(p.His337Arg)$ ، در حالی که

References

1. Khan A, Sergi C. Sialidosis: A Review of Morphology and Molecular Biology of a Rare Pediatric Disorder. *Diagnos-tics (Basel)*. 2018;**8**(2). [PubMed ID:29693572]. [PubMed Central ID:PMC6023449]. <https://doi.org/10.3390/diag-nostics8020029>.
2. Seyrantepe V, Poupetova H, Froissart R, Zabot MT, Maire I, Pshezhetsky AV. Molecular pathology of NEU1 gene in sialidosis. *Hum Mutat*. 2003;**22**(5):343-52. [PubMed ID:14517945]. <https://doi.org/10.1002/humu.10268>.
3. Hunter CD, Porter EM, Cairo CW. Human neuramin-idases have reduced activity towards modified sialic acids on glycoproteins. *Carbohydr Res*. 2020;**497**:108139. [PubMed ID:32911203]. <https://doi.org/10.1016/j.car-res.2020.108139>.
4. Bonten E, van der Spoel A, Fornerod M, Grosveld G, d'Azzo A. Characterization of human lysosomal neur-aminidase defines the molecular basis of the metabolic storage disorder sialidosis. *Genes Dev*. 1996;**10**(24):3156-69. [PubMed ID:8985184]. <https://doi.org/10.1101/gad.10.24.3156>.
5. Khan SA, Tomatsu SC. Mucopolidoses Overview: Past, Present, and Future. *Int J Mol Sci*. 2020;**21**(18). [PubMed ID:32957425]. [PubMed Central ID:PMC7555117]. <https://doi.org/10.3390/ijms21186812>.
6. Coppola A, Ianniciello M, Vanli-Yavuz EN, Rossi S, Sim-onelli F, Castellotti B, et al. Diagnosis and Management of Type 1 Sialidosis: Clinical Insights from Long-Term Care of Four Unrelated Patients. *Brain Sci*. 2020;**10**(8). [PubMed ID:32752208]. [PubMed Central ID:P-MC7465165]. <https://doi.org/10.3390/brainsci10080506>.
7. Lukong KE, Elsliger MA, Chang Y, Richard C, Thom-as G, Carey W, et al. Characterization of the sialidase molecular defects in sialidosis patients suggests the structural organization of the lysosomal multienzyme complex. *Hum Mol Genet*. 2000;**9**(7):1075-85. [PubMed ID:10767332]. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.7.1075>.
8. Lee W, Lee SYL. Diagnostic challenges in distinguishing autism spectrum disorder from psychosis: A case re-port. *European Psychiatry*. 2023;**66**(S1):S1092-S3.
9. Ortiz-Martinez M, Flores-DelaToba R, Gonzalez-Gon-zalez M, Rito-Palomares M. Current Challenges and Future Trends of Enzymatic Paper-Based Point-of-Care Testing for Diabetes Mellitus Type 2. *Biosensors (Basel)*. 2021;**11**(12). [PubMed ID:34940239]. [PubMed Central ID:PMC8699572]. <https://doi.org/10.3390/bios11120482>.
10. Abtahi H, Salmanian AH. [Antigenicity of recombi-nant L7/L12 in patients with brucellosis]. *Koomesh*. 2012;**13**(2):e152504. Persian.
11. Goh G, Choi M. Application of whole exome sequencing to identify disease-causing variants in inherited human diseases. *Genomics Inform*. 2012;**10**(4):214-9. [PubMed ID:23346032]. [PubMed Central ID:PMC3543920]. <https://doi.org/10.5808/GI.2012.10.4.214>.
12. Vilarinho S, Mistry PK. Exome Sequencing in Clini-cal Hepatology. *Hepatol*. 2019;**70**(6):2185-92. [PubMed

بر این، آزمایشات بیوشیمیایی در سیستم بهداشتی موجود محدود بوده و فقط دسترسی به تعدادی از آن‌ها در یک مرکز مرجع منحصر به فرد در کشور وجود دارد. از این‌رو، ما معتقدیم که ابزارهای تشخیصی جایگزین مانند فناوری‌های توالی‌یابی نسل بعدی می‌توانند به ویژه با توجه به مقرون به صرفه و سریع بودن، پندل تشخیصی سیالیدوز را در کشور ما بهبود بخشند.

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل از طرح تحقیقاتی به شماره پژوهانه‌ی IR.IAU.D.REC.1403.064 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.

مشارکت نویسندگان:

ن. ج.: جمع‌آوری داده‌ها، آنالیز و تفسیر نتایج؛ آ. م.: ایده‌پردازی و نظارت بر مطالعه.

تضاد منافع:

نویسندگان اظهار داشتند که فاقد هرگونه تضاد منافع هستند.

باز یابی داده‌ها:

مجموعه داده ارائه شده در مطالعه به درخواست نویسندگان مربوطه در حین ارسال یا پس از انتشار در دسترس است. به دلیل حفظ حریم خصوصی خانواده، داده‌ها برای عموم در دسترس نیستند.

کد اخلاق:

IR.IAU.D.REC.1403.064

حمایت مالی / معنوی:

این پژوهش در سال ۱۴۰۱ - ۱۴۰۲ در آزمایشگاه ژنتیک پزشکی نورژن اهواز و تحت حمایت مالی-معنوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول انجام شد.

فرم رضایت آگاهانه:

رضایت آگاهانه از شرکت کنندگان در این پژوهش اخذ شده است.

- ID:31222768]. [PubMed Central ID:PMC6885087]. <https://doi.org/10.1002/hep.30826>.
13. Jakubek YA, Cutler DJ. A model of binding on DNA microarrays: understanding the combined effect of probe synthesis failure, cross-hybridization, DNA fragmentation and other experimental details of affymetrix arrays. *BMC Genomics*. 2012;**13**:737. [PubMed ID:23270536]. [PubMed Central ID:PMC3548757]. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-737>.
 14. Bumgarner R. Overview of DNA microarrays: types, applications, and their future. *Curr Protoc Mol Biol*. 2013;**Chapter 22**:Unit 22 1. [PubMed ID:23288464]. [PubMed Central ID:PMC4011503]. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb2201s101>.
 15. Esplin ED, Oei L, Snyder MP. Personalized sequencing and the future of medicine: discovery, diagnosis and defeat of disease. *Pharmacogenomics*. 2014;**15**(14):1771-90. [PubMed ID:25493570]. [PubMed Central ID:PMC4336568]. <https://doi.org/10.2217/pgs.14.117>.
 16. d'Azzo A, Machado E, Annunziata I. Pathogenesis, Emerging therapeutic targets and Treatment in Sialidosis. *Expert Opin Orphan Drugs*. 2015;**3**(5):491-504. [PubMed ID:26949572]. [PubMed Central ID:PMC4777310]. <https://doi.org/10.1517/21678707.2015.1025746>.
 17. Flores-Contreras EA, Garcia-Ortiz JE, Robles-Espinoza CD, Zomosa-Signoret V, Becerra-Solano LE, Vidaltamayo R, et al. Clinical Exome Sequencing Enables Congenital Sialidosis Type II Diagnosis in Two Siblings Presenting with Unreported Clinical Features from a Rare Homozygous Sequence Variant p.(Tyr370Cys) in NEU1. *Mol Syndromol*. 2021;**12**(4):250-7. [PubMed ID:34421504]. [PubMed Central ID:PMC8339489]. <https://doi.org/10.1159/000515081>.
 18. Rodriguez Criado G, Pshezhetsky AV, Rodriguez Becerra A, Gomez de Terreros I. Clinical variability of type II sialidosis by C808T mutation. *Am J Med Genet A*. 2003;**116A**(4):368-71. [PubMed ID:12522793]. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.10710>.
 19. Mosca R, van de Vlekkert D, Campos Y, Fremuth LE, Cadaoas J, Koppaka V, et al. Conventional and Unconventional Therapeutic Strategies for Sialidosis Type I. *J Clin Med*. 2020;**9**(3). [PubMed ID:32143456]. [PubMed Central ID:PMC7141319]. <https://doi.org/10.3390/jcm9030695>.
 20. Caciotti A, Melani F, Tonin R, Cellai L, Catarzi S, Procopio E, et al. Type I sialidosis, a normosomatic lysosomal disease, in the differential diagnosis of late-onset ataxia and myoclonus: An overview. *Mol Genet Metab*. 2020;**129**(2):47-58. [PubMed ID:31711734]. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2019.09.005>.
 21. Maroofian R, Schuele I, Najafi M, Bakey Z, Rad A, Antony D, et al. Parental Whole-Exome Sequencing Enables Sialidosis Type II Diagnosis due to an NEU1 Missense Mutation as an Underlying Cause of Nephrotic Syndrome in the Child. *Kidney Int Rep*. 2018;**3**(6):1454-63. [PubMed ID:30450471]. [PubMed Central ID:PMC6224678]. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2018.07.015>.



Research Article

Investigation of the Biochemical Changes of Sialidosis Disease and Its Relationship with NEU1 Gene in Two Khuzestanian Families by WES Method

Niko Sadat Jalali¹, Atosa Moradzadegan^{1*}

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

Corresponding author: Department of Experimental Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran. Email: a.moradzadegan@iaud.ac.ir

Received 15/09/2024; Accepted 11/10/2024

Abstract

Background and Objectives: Sialidosis (MIM 256550) is a rare, autosomal recessive inherited disorder caused by α -N-acetyl neuraminidase deficiency due to a mutation in the neuraminidase gene (NEU1) located at chromosomal locus 6p21.33. This genetic change leads to abnormal intracellular accumulation and urinary excretion of sialyloligosaccharides. The diagnostic method based on WES (Whole-Exome Sequencing) technology saves time and cost and provides the basis for more appropriate genetic counseling.

Methods: In this case-descriptive study, after taking samples from patients and their parents in a tube containing EDTA anticoagulant, DNA extraction was performed using the saturated salt method, and the genomes of the patients were analyzed using the whole genome sequencing technique. The found variant was checked for confirmation by the parents using the standard Sanger sequencing technique. For this purpose, the PCR (polymerase chain reaction) method was used to amplify the target fragment, and the Chromas program was used to read the data.

Results: The NM_00043: exon3: c. G451A: p.V151I variant was identified as homozygous in the patient of the first family. This variant was confirmed in the patient's parents.

Conclusion: The results of this study showed that the identification of new harmful variants in this gene can help to complete the relevant genetic panel and accelerate the identification of patients with sialidosis phenotype.

Keywords: Sialidosis, NEU1, Gene, Exome Sequencing, Muscle Weakness