دانشکده علوم

پایان نامهٔ کارشناسی ارشد ژنتیک

عنوان

بررسی حذف اگزون ۵ ژن NAIP در تیپهای مختلف آتروفی نخاعی- عضلانی

نگارش:

فاطمه موسوی

اساتید راهنما:

دکتر سیدرضا کاظمی نژاد

دکتر علی اکبر مومن

استاد مشاور:

دکتر حمید گله داری

اردیبهشت ماه ۹۰

پروردگارا تو را سپاس که شگفتی های بزرگیت را پایانی نیست و عظمت شأن و مقامت، مقام بندگیت را به قرب بارگاه ملکوتی ات می کشاند.

خزانه های علم و رحمت بی مانند تو چشم طمع مرا به فضل و احسانت گشوده

و نور حمالت مرا از هر آنچه غیر توست ناامید می کند.

تو را سپاس ای یگانه که بر من منت وجود نهادی و افتخار بندگی بخشیدی.

سپاس تو را ای محبوبترین صیاد که مرا در دایره امر و اراده خویش اسیر کردی تا از هر آنچه جز خیر و صلاح من است در امان داری.

اگر چه در پنجه قدرت و اختیار توام نافرمانی مرا می پوشانی و با بصیرت و حکمت خویش مرا از بلاهای رسوایی می رهانی...

و سلام بر بهترین و پاکترین بنده ات محمد مصطفی (ص)

او که عشق بازی با تو به معراجش برد و عزیزترین محبوب معبودش کرد.

او که نیکی های گفتار، پندار و رفتارش تیرگی قلب های دوستدارانش را تا ابد صیقل خواهد داد.

و سلام بر خاندان پاکش، آنان که دلیل وجود عالم و آبروی علم اند.

تقدیم به پدرم

دریای مردانگی، سکوت و صبر که آرامش نگاهش چراغ راهم

و گرمی دستانش تکیه گاه امن ترس و خستگی های من است.

تقدیم به مادرم

آیینه ی زلالی که قلب مهربان و آغوش آسمانی و دعای خیرش

گرانبهاترین دارایی من است.

تقدیم به همسرم

همراه و همسفر همیشگی دشواری های راهم

تقدیم به بزرگترین امید زندگیم، کوچولوی نازنینم، دخترم

.... و تقدیم به همه فرشته‌های دوست داشتنی کوچولویی

که خیلی زود از بین ما پرواز می کردند...

اکنون که با یاری خداوند بزرگ این پژوهش به پایان رسیده است از همه عزیزانی که در این راه مرا یاری نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می کنم:

اساتید راهنمای بزرگوار آقای دکتر سید رضا کاظمی نژاد و آقای دکتر علی اکبر مومن و

استاد مشاور آقای دکتر حمید گله داری که با راهنمایی های علمی و تجربیات ارزشمند خود یاری گر بنده بودند.

از همکاری دلسوزانه آقای غلامرضا محمدیان مسئول مرکز بهزیستی اهواز و پرسنل این مرکز همچنین

پرسنل و پرستاران بخش اطفال بیمارستان گلستان به ویژه خانم حمیرا هودجی سرپرستار بخش که ما را در جمع آوری نمونه یاری نمودند، کمال تشکر را دارم.

سپاس قلبی خود را به همه دوستان و همکلاسی های عزیزم به پاس محبت و حمایت های معنویشان تقدیم می نمایم.

از همه خانواده های محترم بیماران که با وجود تمام مشکلاتی که داشتند بزرگوارانه یاریمان دادند، سپاسگذارم.

و دست بوس همه آنانی هستم که در محضرشان آموختم.

فاطمه موسوی اردیبهشت ۱۳۹۰

چکیده

نام خانوادگی: موسوی نام: فاطمه

عنوان: بررسی حذف اگزون ۵ ژن NAIP درتیپ های مختلف آتروفی نخاعی- عضلانی (SMA) در استان خوزستان

اساتید راهنما: دکتر سید رضا کاظمی‌نژاد- دکتر علی اکبر مومن

استاد مشاور: دکتر حمید گله داری

درجه تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: ژنتیک دانشکده:علوم

محل تحصیل: دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ فارغ التحصیلی: ۹۰/۲/۲۰ تعداد صفحات: ۸۵

کلمات کلیدی: آتروفی نخاعی- عضلانی، نورون حرکتی، ژن NAIP ، ژن SMN1

آتروفی نخاعی- عضلانی از اختلالات اتوزومال مغلوب و دومین بیماری رایج کشنده ارثی در شیرخواران پس از سیستیک فیبروزیس، می‌باشد. این اختلال عصبی- عضلانی به دلیل تخریب نورون‌های حرکتی در شاخ قدامی طناب نخاعی و گاه در ساقه مغز ، منجر به تحلیل پیشرونده عضلات و فلج متقارن می‌شود. ژن SMN1 به عنوان ژن عامل بیماری شناخته شده است. نقش ژن NAIP در بیماری‌زایی کماکان مورد بررسی می‌باشد، اگر چه به نظر می‌رسد این ژن یک فاکتور تعیین کننده شدت بیماری است و در شروع زودرس علائم بیماری دخالت دارد ، اما این ادعا نیاز به تحقیق و بررسی‌های بیشتر در جمعیت‌های مختلف دارد. در این مطالعه ، به بررسی ارتباط حذف ژن NAIP با تیپ بیماری پرداختیم.

پس از تشخیص کلینیکی اختلال در ۵۰ بیمار خوزستانی مبتلا به هر سه تیپ SMA بررسی های رایج مولکولی ، حذف اگزون ۷ و ۸ از ژن SMN1 با روش PCR-RFLP ، انجام شد. علاوه بر این برای مطالعه حذف در ژن NAIP دو اگزون ۵ و ۱۳ ، به طور همزمان با روش multiplex PCR تکثیر شدند که اگزون ۵ برای بررسی حذف در نسخه اصلی ژن NAIP و اگزون ۱۳ به عنوان کنترل مثبت داخلی مورد استفاده قرار گرفت.

در این مطالعه۹۰٪ از بیماران هر سه تیپ، حذف در اگزون ۷ ژن SMN1 را نشان دادند و در۷۰٪ از این بیماران حذف در هر دو اگزون ۷ و ۸ این ژن مشاهده شد. مطالعه باندها و نتایج PCR حذف ژن NAIP را در۶۰٪ از بیماران هر سه تیپ تایید کرد. حذف در ژن NAIP در ۹۱/۳٪ از مبتلایان به تیپ I مشاهده شد.

با توجه به درصد بالای حذف ژن NAIP در بیماران هر سه تیپ، می‌توان به نقش مهم این ژن در بیماریزایی اشاره کرد و با مشاهده حذف این ژن در، در صد بالاتری از بیماران تیپ I در مقایسه با دو تیپ دیگر بیماری (۳۳/۳٪ از بیماران تیپII و III) ، می‌توان گفت یک فاکتور مهم تعیین کننده تیپ و شدت بیماری است که بررسی آن می‌تواند در پیش آگهی بیماری موثر باشد.

عنوان صفحه

فصل اول: کلیات

۱-۱ معرفی بیماری (SMA) ۱

۱-۱-۱ آتروفی نخاعی- عضلانی یا SMA ۱

۱-۱-۲ واریانت‌های مختلف بیماری SMA ۲

۱-۲ فراوانی بیماری در جهان ۳

۱-۳ طبقه بندی SMA ۴

۱-۴ تشخیص کلینیکی و آزمایش‌های تشخیصی بیماری ۷

۱-۴-۱ الکترومیوگرافی ۷

۱-۴-۲ بررسی سرعت هدایت عصبیNCV ۹

۱-۴-۳ بیوپسی عضله ۱۰

۱-۵ درمان بیماری SMA ۱۲

۱-۶ ژنتیک بیماری SMA ۱۲

۱-۶-۱منطقه SMA ۱۳

۱-۶-۲ ژن SMN ۱۴

۱-۶-۳ انواع موتاسیون‌های ژن SMN ۱۷

۱-۷ بیماری‌زایی مولکولی پروتئین SMN ۱۹
۱-۸ ژن NAIP ۲۳
۱-۸-۱ بیماری‌زایی مولکولی NAIP ۲۳
۱-۸-۲ ارتباط ژن NAIP با بیماری ۲۴

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱ نمونه گیری ۲۹
۲-۲ وسایل و دستگاههای مورد استفاده ۲۹
۲-۳ مواد بکار رفته ۳۰
۲-۳-۱ ترکیب محلول EDTA ۳۰
۲-۴ تکنیک‌های مورد استفاده ۳۱
۲-۵ استخراج DNA از خون ۳۱
۲-۵-۱ روش استخراج DNA با کیت Diatom DNA prep 100 ۳۱
۲-۵-۲ مراحل استخراجDNA ۳۲
۲-۵-۳ بررسی غلظت و کیفیت DNA تخلیص شده ۳۴
۲-۵-۳-۱ بررسی کیفیت ژنوم با الکتروفورز ۳۴
۲-۵-۳-۲ تعیین OD ۳۴
۲-۶ اساس فرایند الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۳۵

۲-۷ محلول‌ها و بافرهای موردنیاز در الکتروفورز	۳۵
۲-۷-۱ TBE (۱x) (بافر الکتروفورز)	۳۵
۲-۷-۲ بافر سنگین کننده ۶x	۳۶
۲-۷-۲ محلول اتیدیوم برماید (1mg/ml)	۳۶
۲-۸ مواد و وسایل مورد نیاز برای الکتروفورز	۳۷
۲-۹ تهیه ژل آگارز	۳۷
۲-۹-۱ آماده‌سازی تانک الکتروفورز	۳۸
۲-۹-۲ Load کردن (بردن نمونه‌ها بر روی ژل)	۳۹
۲-۹-۴ Run کردن	۳۹
۲-۹-۵ رنگ‌آمیزی	۳۹
۲-۹-۶ مشاهده باندها	۴۰
۲-۱۰ اساس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)	۴۰
۲-۱۰-۱ موارد مهم جهت انجام PCR	۴۲
۲-۱۰-۲ Tm(دمای ذوب پرایمر)	۴۵
۲-۱۰-۳ روش عملی PCR	۴۵
۲-۱۰-۳-۱ مواد موردنیاز PCR	۴۵
۲-۱۰-۳-۲ بافرتکثیر یا بافرPC	۴۵

۲-۱۱ تهیه PCR mix ۴۶

۲-۱۱-۱ رقیق‌سازی پرایمرهای مورد استفاده در PCR ۴۸

۲-۱۱-۲ برنامه حرارتی و تنظیم PCR ۴۸

۲-۱۱-۲-۱ برنامه تکثیر اگزون ۷ از ژن SMN ۴۸

۲-۱۱-۲-۲ برنامه تکثیر اگزون ۸ ژن SMN ۴۹

۲-۱۲ آلودگی‌های PCR ۴۹

۲-۱۳ آنزیم‌های محدودکننده ۵۰

۲-۱۳ انواع برش‌های حاصل از آنزیم‌های محدود کننده ۵۱

۲-۱۴ تکنیک RFLP ۵۱

۲-۱۴-۱ ضرورت انجام RFLP ۵۲

۲-۱۴-۲ مواد و مقادیر مورداستفاده برای انجام RFLP ۵۲

۲-۱۵ روش بررسی حذف در ژن NAIP ۵۳

۲-۱۵-۱ برنامه حرارتی Multiplex PCR ۵۴

فصل سوم: نتایج

۳-۱ نتایج مورد انتظار ۵۶

۳-۲ نتایج استخراج DNA ۵۷

۳-۳ نتایج PCR ۵۸

۳-۳-۱ نتایج تکثیر اگزون ۷ ژن SMN ۵۸

۳-۳-۲ نتایج PCR اگزون ۸ ژن SMN ۵۹

۳-۴ نتایج RFLP ۶۰

۳-۴-۱ نتایج RFLP اگزون ۷ ژن SMN ۶۰

۳-۴-۲ نتایج RFLP اگزون ۸ ژن SMN ۶۱

۳-۵ نتایج Multiplex PCR ۶۱

فصل چهارم: بحث

۴-۱ اساس مولکولی بیماری SMA ۶۸

۴-۲ بررسی سایر مطالعات ۶۸

۴-۲-۱ بررسی مطالعات انجام شده بر حذف در اگزون ۷ یا ۷ و ۸ ژن SMN ۶۸

۴-۲-۲ بررسی مطالعات صورت گرفته بر حذف ژن NAIP ۶۸

۴-۳ مطالعات انجام شده بر بیماری SMA در ایران ۷۰

۴-۴ مقایسه نتایج ۷۲

۴-۵ محدودیت‌ها ۷۴

۴-۶ ضرورت‌ها و پیشنهادات ۷۴

منابع ۷۵

پیوست ۸۴

فهرست تصاویر و جداول

فصل اول

جدول ۱-۱- طبقه بندی آتروفی نخاعی- عضلانی ۳

تصویر۱-۱- الکترومیوگرافی وموج‌های ثبت شده از انقباض عضله ۸

تصویر۲-۱- بیوپسی عضله که با هماتوکسیلین ائوزین (HE) رنگ آمیزی شده است. ۱۱

تصویر۳-۱- رنگ آمیزی هیستوکمیکال بیوپسی عضله با ATPase، pH:4.6 ۱۱

تصویر۴-۱- شکل شماتیک از موقعیت ژن‌ها و کپی های همولگ آن ها در منطقه SMA ۱۳

تصویر ۵-۱- به طور شماتیک موقعیت دو کپی از ژن SMN را نشان می‌دهد. ۱۶

تصویر ۶-۱- سه نوع موتاسیون شناخته شده در ژن SMN1 ۱۹

جدول۲-۱نتایج مطالعات مشابه در جمعیت‌های مختلف ۲۶

فصل دوم

جدول ۲-۱- لیست وسایل و دستگاههای مورد استفاده و شرکتهای سازنده آنها ۲۶

جدول ۲-۲- تهیه محلول EDTA ۲۷

جدول ۲- ۳- تهیه بافر TBE (۱x) با pH=8 ۳۲

جدول ۲-۴- تهیه بافر سنگین کننده ۶x ۳۳

جدول۲-۵- تهیه محلول اتیدیوم برماید ۳۳

جدول۲-۶ رابطه درصد ژل آگارز با اندازه مولکول DNA ۳۴

جدول ۲-۷- توالی‌پرایمرهای استفاده شده ۴۲

جدول ۲-۸- ترکیبات مخلوط PCR و مقادیر مورد استفاده ۴۴

فهرست تصاویر و جداول

جدول ۲-۹- مواد و غلظت آن‌ها در میکس RFLP ۴۹

جدول۲-۱۰- ترکیبات مخلوط Multiplex PCR و مقادیر مورد استفاده ۵۱

فصل سوم

تصویر۳-۱- دو ژل الکتروفورز DNA استخراج شده ۵۴

تصویر۳-۲- محصولات PCR اگزون ۷ ژن SMN ۵۵

تصویر ۳-۳- دو ژل مربوط به محصولات PCR اگزون ۸ ژن SMN را نشان می‌دهند. ۵۶

تصویر ۳-۴- ژل آگارز ۲/۵ درصد حاصل از الکتروفورز محصولات RELP ۵۷

تصویر ۳-۵- باندهای حاصل از RFLP مربوط به تکرار PCR-RFLP ۵۸

تصویر ۳-۶- ژل حاصل از الکتروفورز محصولات PCR-RFLP اگزون ۸ ژن SMN ۵۹

تصویر ۳-۷- باندهای حاصل از تکثیر دو اگزون ۵ و ۱۳ ژن NAIP ۶۰

تصویر ۳-۸ – تصویری دیگر از باندهای مربوط به تکثیر در اگزون ۵ و ۱۳ ژن NAIP ۶۱

جدول۳-۱- تعداد بیماران دارای حذف‌های ژنی در اگزون‌های بررسی شده ۶۳

جدول ۳-۲ قومیت بیماران به تفکیک تیپ بیماری ۶۳

فصل چهارم

جدول ۴-۲- گستردگی مناطق حذف شده در تیپ‌های مختلف بیماری ۶۹

پیوست

جدول شماره ۱: نتایج و اطلاعات مربوط به بیماران مورد بررسی ۸۴

۱-۱ معرفی بیماری (SMA)[1]

۱-۱-۱ آتروفی نخاعی- عضلانی یا SMA

SMA گروهی از اختلالات هتروژنی هستند که همراه با تخریب نورون‌های حرکتی در سلول-های α شاخ قدامی طناب نخاعی و ساقه مغز پدیدار می‌شوند و منجر به از کار افتادگی متقارن و پیشرونده اندام‌ها به ویژه اندام‌های تحتانی و تحلیل عضلات ارادی می‌شوند (۲و۱). این اصطلاح آتروفی نخاعی- عضلانی خود بیان کننده تحلیل وآتروفی ثانوی عضلات، پس از تخریب و آتروفی سلول‌های شاخ قدامی و اختلال در عملکرد نورون‌های حرکتی است. نورون‌های حرکتی مسئول انتقال پیام‌های الکتریکی و شیمیایی به سلول‌های ماهیچه می‌باشند و بدون عملکرد مناسب، از نورون حرکتی وارد شونده به ماهیچه، سلول‌های مخصوص عضلانی، پیام‌های انقباضی را دریافت نمی‌کنند. در اثر این عدم انقباض و دریافت پیام‌های عصبی، ماهیچه تحلیل رفته و کوچک می‌شود. به دلیل تحلیل عضلات، که تحت عنوان آتروفی می‌شناسیم، ضعف عمومی عضلانی تظاهر می‌یابد (۲).

سندروم‌های زیادی وجود دارند که نورون‌های حرکتی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. این بیماری‌ها از لحاظ کلینیکی هتروژنوس هستند. SMA نیز یکی از انواع این بیماری‌ها است که نورون‌های حرکتی تحتانی را تخریب و درگیر می‌نماید. این تعریف SMA را از بیماری‌های درگیر کننده عضلات، میوپاتی‌ها و سندروم‌هایی که سایر نورون‌های حرکتی را درگیر می‌کنند، متمایز می‌کند.

تخریب و مرگ نورون‌های حرکتی که، سلول‌های شاخ قدامی طناب نخاعی نیز نامیده می‌شوند، باعث ضعف عضلات تنفسی، بلع و عضلات اندام‌ها به ویژه اندام‌های تحتانی شده و کنترل حرکات را مشکل می‌کند.این اختلال کنترل سر، نشستن و راه رفتن را در بیماران دشوار و گاه غیر ممکن می‌کند و درموارد و مراحل حاد بیماری با تحلیل ماهیچه‌های بین دنده‌ای تنفسی، باعث مرگ بیماران می‌شود (۲).

---

[1]-*Spinal Muscular Atrophy*

۱-۱-۲ واریانت‌های مختلف بیماری SMA

پیش از شناسایی ماهیت ژنتیکی و الگوی توارث بیماری‌های مختلف آتروفی نخاعی-عضلانی، ارائه یک دسته‌بندی مفید و قابل قبول که در بین همه پزشکان و متخصصان هماهنگ باشد، بسیار مشکل بود. اما مطالعات گسترده ژنتیکی که به شناخت ژن‌های مختلف درگیر در انواع مختلف بیماری‌های SMA منجر شد، تا حد زیادی این مشکلات را بر طرف نمود و پیش از تعیین نقشه ژنتیکی انسان، Talbot و Davis در سال ۲۰۰۱ نوعی از این تقسیم‌بندی را که بر اساس الگوی توارث بیماری‌ها بود، ارائه دادند که در جدول شماره ۱-۱ نشان داده شده است (۳).

اکثر واریانت‌های بیماری SMA الگوی توارث اتوزومال مغلوب دارند ولی انواع اتوزومال غالب و وابسته به جنس نیز گزارش شده است (۴).

البته علاوه بر انواع نام برده در جدول ۱-۱، چند واریانت اتوزومال مغلوب دیگر مثل Scapuloperoneal SMA، Fazio-Lande Disease، Brown-Violetto-Van Laere Disease، نیز وجود دارند که موقعیت کروموزومی آن‌ها مشخص نشده است (۱۰-۵). انواع نادرتری از SMA نیز شناخته شده که به طور خاص در ساکنان مناطق مشخصی گزارش شده‌اند (۱۱).

جدول ۱-۱- طبقه بندی آتروفی نخاعی- عضلانی (۳)

Type	Choromosomal Location
Autosomal recessive	
Proximal SMA of childhood	5q13(SMN gene)
Adult onset proximal SMA	5q13(SMN gene)
Diaphragmatic SMA	11q13-q21
SMA with congenital bone fractures	9q34
Autosomal dominant	
Distal SMA	12q24
Distal SMA with upper limb predominance	7p
Scapuloperoneal SMA	12q24
Congenital SMA	12q24
X-Linke	
Kennedy disease	Xq11-q12 (androgen receptor gene)
Infantil SMA with arthrogryphosis	Xp11.2

۱-۲ فراوانی بیماری در جهان

گزارش شده، Proximal SMA of childhood (جدول شماره ۱-۱) که نوع مورد بررسی در این مطالعه است، بیش از سایر اختلالات ژنتیکی شیرخواران و کودکان را از بین می‌برد. این بیماری در سطح جهانی، کودکان، نوجوانان وحتی بزرگسالان را درگیر می‌کند.

احتمال بروز تیپ‌های مختلف این بیماری در جهان ۱ در هر ۶۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ تولد تخمین زده شده است (۱۳و۱۲). توسعه دانش ژنتیکی در زمینه این بیماری تایید کننده ارثی بودن از طریق دریافت ژن معیوب از هر دو والد پدر و مادر است و توارث بیماری الگوی اتوزومال مغلوب دارد. از هر ۴۰ تا ۶۰ زن و مرد نرمال، یک نفر حامل ژن آتروفی نخاعی- عضلانی است و اگر هر دو والد حامل این ژن باشند، احتمال بیمار بودن فرزندشان ۲۵ درصد خواهد بود (و۱۴و۱۳و۱۲).

طبق جدیدترین آمار و پژوهش‌ها، فراوانی تیپ I این بیماری درآسیا ۱ در هر ۱۰۰۰۰ تولد و فراوانی ناقلین این بیماری ۱ نفر از هر ۵۶ نفرآسیایی است (۱۲). بنابراین رایج ترین اختلال اتوزومال مغلوب کشنده پس از سیستیک فیبروزیس و یکی از فراوانترین بیماری‌های کشنده ارثی در شیرخواران است. شیوع تیپ مزمن II وIII یک نفر در هر ۲۴۰۰۰ تولد می‌باشد (۱۲).

دو تیپ I و III هر کدام حدود یک چهارم از کل موارد بیماران را شامل می‌شوند، در حالی که تیپ II بزرگترین گروه از مبتلایان را به خود اختصاص داده و نیمی ازکل موارد بیماری را شامل می‌شود (۱۳و۱۲).

۱-۳ طبقه بندی SMA

سیستم‌های طبقه‌بندی زیادی برای تیپ‌های مختلف بیماری SMA پیشنهاد شده است که ازبین آن‌ها می‌توان سیستم‌های Emery (۱۵) و Pearn (۱۶) را نام برد، اما سیستم ISMAC[1] به دلیل سادگی، پذیرفته‌ترین سیستم است (۱۷). این سیستم براساس سن شروع بیماری و شدت علائم بالینی است که به سه تیپ یا نوع تقسیم می‌شود:

تیپ I با سن بروز از زمان تولد تا ۶ ماهگی

تیپ II با سن شروع بین ۶ تا ۱۸ ماهگی

تیپ III با سن بروز بعداز ۱۸ ماهگی

[1] -*International SMA consortium*

تیپ I بیماری (SMA I (OMIM# 253300 که تحت عنوان سندروم Werdnig-Hoffmann نیز شناخته می‌شود (۱۸)، تیپ حاد شیرخوارگی و شدیدترین تیپ بیماری است. علائم بیماری پیش از شش ماهگی و در۹۵ درصد ازموارد تا پیش از سه ماهگی بروز می‌کند. گاهی سیر بیماری از داخل رحم مادر شروع شده و حرکات جنین را کند می‌کند. مادران نیمی ازمبتلایان، کاهش حرکات جنین را به ویژه در سه ماهه سوم بارداری، گزارش داده‌اند. هیپوتونی[1] شدید (شلی عضلات) از مشخصه‌های اصلی این نوع بوده و بیش از نیمی از آن‌ها در هنگام تولد بدن شلی[2] دارند. کبود شدن نوزاد درهنگام زایمان می‌تواند قابل توجه باشد. این بیماران اغلب کنترلی روی حرکات سر ندارند و نمی‌توانند سر خود را بالا بگیرند، به اصطلاح گردن نمی‌گیرند و روی دست حالت افتاده‌ای دارند (۱۸). حرکات دست و پا به ویژه پاها بسیار محدود است. یک ویژگی غیر معمول در برخی بیماران لرزیدن انگشتان دست است که در روزهای اول تولد شاید از حرکات طبیعی نوزادان تازه متولد شده قابل تشخیص نباشد اما، با گذشت زمان و پیشرفت بیماری، می توان آن را تشخیص داد که نوعی لرزش[3] در ماهیچه‌های اسکلتی است و معمولا همراه با لرزش زبان دیده می شود. عضله قلب و ماهیچه‌های صاف درگیر نمی‌شوند، اما درگیری عضلات تنفسی باعث سخت شدن تنفس در مراحل حاد بیماری می‌شود. اکثراین کودکان به عفونت‌های مکرر ریوی مبتلا می‌شوند که می‌تواند به دلیل ورود آب یا حتی مواد غذایی به درون ریه‌های آن‌ها دراثر اختلالاتی که در بلع دارند، باشد (۲و۱). در تعدادی از آن‌ها نیز دفورمیتی‌هایی به ویژه در ناحیه مچ دست و پا دیده می‌شود و می‌تواند در دامنه‌ای از پای چمبری یا چماغی[4] شکل مادرزادی تا آرتروگریپوزیس[5] عمومی باشد. استخوان جناغ سینه فرورفته و قفسه سینه قیفی شکل با کاهش تراکم و ضعف عضلات بین دنده‌ای و تنفس شکمی از دیگر عوارضی است که قابل مشاهده است. گاه پارادوکس تنفسی دیده می‌شود، یعنی سینه بیمار در زمان دم به جای باز شدن

[1] -*Hypotonia*
[2] -*Floppy babies*
[3] -*Fasciculation*
[4]- *Club foot*
[5]- *arthrogryposis*

و بالا آمدن فرو می‌رود. البته تمامی علائم در همه بیماران مشاهده نمی‌شود و به طور کلی بیماری از لحاظ کلینیکی بسیار هتروژن است (۸و۲و۱).

از مشخصه‌های عمومی این بیماری می توان عدم انقباض عضلانی، عدم وجود رفلکس‌های تاندونی و گریه ضعیف را نام برد. کودکان مبتلا ظاهری طبیعی و هوش نرمالی دارند، اما قادر به نشستن نیستند، اغلب مشکلات بلع دارند و معمولا به دلیل مشکلات حاد تنفسی ، پیش از سن دو سالگی فوت می‌کنند. میانگین طول عمر این شیرخواران کمتر از ۶ ماه است و ۹۰ درصد ازآن‌ها تا قبل از ۱۸ ماهگی از دنیا می‌روند (۱۸و۸و۲).

نوع II بیماری SMA II (OMIM# 253550) یا نوع مزمن شیرخوارگی[1]، به نظرمی‌رسد رایج‌ترین فرم بیماری است و بیماران درسن ۶ تا ۱۸ ماهگی شناخته می‌شوند. این نوع، نسبت به نوع I آن از شدت کمتری برخوردار بوده و بیماری را با علائم خفیف‌تر نشان می‌دهد. از معمول-ترین تظاهرات بالینی که پزشکان به آن توجه می‌کنند، تاخیر تکامل حرکتی و کندی حرکات است. این کودکان دارای بدنی شل بوده و تخریب نورون‌های حرکتی را نشان می‌دهند، توانایی نشستن دارند، اما بدون کمک قادر به ایستادن و راه رفتن نیستند. بیمار ممکن است پسودوهیپرتروفی[2]و دفورمیتی‌های ماهیچه‌ای- اسکلتی[3] را به دلیل ضعف عضلات، نشان بدهد. طول عمر آن‌ها بسته به درجه درگیری عضلات تنفسی، متفاوت است و اغلب پس از دو سالگی فوت می‌کنند (۱۹و۱۸).

تیپ III (OMIM# 253400) یا نوع مزمن بیماری که تحت عنوان سندرم Kugelberg- Welander نیز شناخته می‌شود (۲۰)، تیپ خفیف SMA است و معمولاً پس از هجده ماهگی با عدم تعادل در راه رفتن و تلو تلو خوردن بروز می‌کند. این تیپ با ضعف عضلات پروگزیمال که به آهستگی پیشرفت می‌کند، مشخص می‌شود. بیماران قادر به نشستن بوده و اکثر آن‌ها می‌توانند بدون کمک دیگران بایستند و راه بروند، اما با مهارت‌های حرکتی مثل

[1]- *Chronic infantile type*
[2] -*Pseudohypertrophy*
[3] *Muscular skeletal deformities*

بالا و پایین رفتن از پله‌ها مشکل دارند. هنگام راه رفتن مرتب زمین می‌خورند و سیر پیش‌رونده بیماری آن‌ها را وابسته به صندلی چرخدار می‌کند. ممکن است بیماران مثل بیماران نوع II شواهدی از پسودوهیپرتروفی نشان دهند. این بیماری به آهستگی پیشرفت می‌کند. در کل علائم بیماری خفیف و اغلب مبتلایان طول عمری طبیعی دارند (۲۰و۱۸).

البته یک مرز بندی مشخص بین تیپ‌های مختلف SMA به دلیل تنوع قابل توجه در شدت بیماری و هتروژنیتی کلینیکی وسیع بین بیماران، مشکل است و تقسیم بندی تیپ‌ها بیشتر براساس سن شروع علائم بیماری است.

۱-۴ تشخیص کلینیکی و آزمایش‌های تشخیصی بیماری

آنچه در تیپ‌های مختلف بیماری مشترک است، تضعیف و تحلیل متقارن عضلات، ضعف عمومی ولاغری عضلات اسکلتی است و بیمار هیچ علامتی از اختلال در عملکرد مغز نشان نمی‌دهد. تشخیص بیماری از لحاظ بالینی توسط متخصص مغز و اعصاب و به کمک آزمایش‌های کلینیکی و پاراکلینیکی صورت می‌گیرد و برای تایید نهایی SMA بودن نوع آتروفی، از آزمایش مولکولی بررسی حذف اگزون ۷ ژن SMN استفاده می شود (۲۱و۱۸).

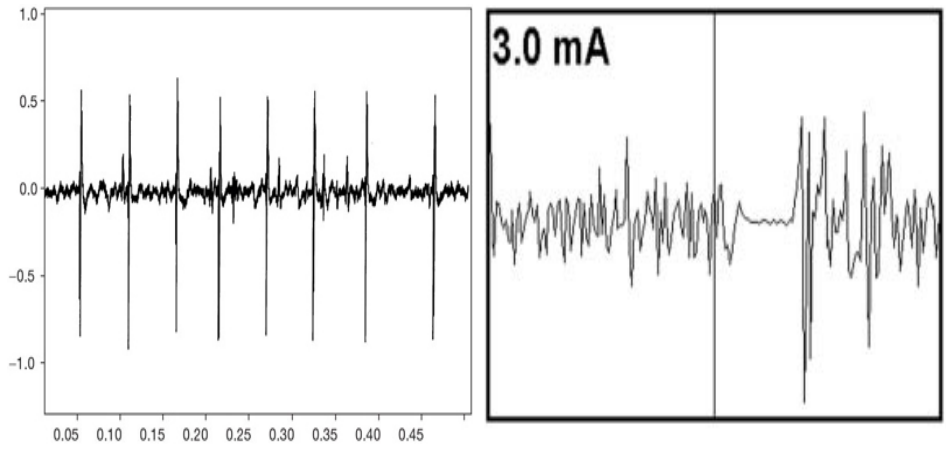
از آزمایش های تشخیصی دیگر می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱-۴-۱ الکترومیوگرافی[1]

ثبت فعالیت الکتریکی عضله، الکترومیوگرافی نامیده می شود که یکی از معمول‌ترین روش‌ها برای ارزیابی سلامت یک عضله یا عصب آن عضله انجام می‌شود و معمولاً برای بررسی بیماری های عصب و عضله به کار می‌رود. این تست برای افرادی که دچار آسیب‌های عصبی یا ضعف عضلانی شده باشند، مثل بیماران مبتلا به میوپاتی‌ها، دیستروفی‌های عضلانی، آسیب‌های شبکه عصبی، نوروپاتی محیطی و افتراق آن‌ها توصیه می‌شود (۲۰).

[1] -*Electromyography*

برای انجام این تست یک الکترود سوزنی در عضله وارد می‌شود و فعالیت الکتریکی عضله از این طریق ثبت می‌شود و سپس صدای موج و نوع موج ایجاد شده بر صفحه مانیتور، جهت تشخیص به کار می‌رود. جریان‌های کوچکی که توسط فیبرهای عضلانی به منظور فراهم کردن نیروی لازم عضلانی تولید می‌شوند، سیگنال‌هایی به نام الکترومیوگرام هستند. این جریان‌ها به وسیله تبادلات یونی که در سطوح فیبرهای ماهیچه صورت می‌گیرد، ایجاد می‌شوند. دامنه و فرکانس سیگنال‌های EMG به عواملی از جمله مدت زمان انقباض و قدرت انقباضی عضله، فاصله الکترودها و اتصال مناسب بین الکترودها و جنس آنها که عناصری رسانا هستند، بستگی دارد. این تست در اکثر موارد اطلاعات مفید و با ارزشی در مورد زمان و قدرت انقباض ماهیچه در اختیار متخصصان می‌گذارد. در بیماران مبتلا به آتروفی نخاعی- عضلانی SMA، نتیجه تفسیر EMG به نفع نوروپاتی است. تشخیص اولیه بیماری معمولا با EMG تایید می‌شود به طوری که پتانسیل‌های حاصل از پروب‌های الکتریکی ماهیچه‌ها، فقدان حمایت نورون‌ها و عصب گیری[1] از آن‌ها را نشان می‌دهد (۱۸و۲).



الف) الکترومیوگرام یک بیمار مبتلا به SMA **ب) الکترومیوگرام فرد نرمال**

تصویر۱-۱- الکترومیوگرافی وموج‌های ثبت شده از انقباض عضله و قدرت انقباضات را در یک فرد مبتلا به SMA در مقایسه با یک فرد نرمال نشان می‌دهد (۲۰).

[1] *-Abnormality of denervation*