طبقه بندی بیماریهای عصبی-عضلانی بر اساس معیارهای بالینی، آنالیزهای ملکولی و ایمونوهیستوشیمی در بیماران ایرانی

*دکتر کیمیا کهریزی[۱]
متخصص اطفال، استادیار
دکتر یوسف شفقتی[۱]
متخصص اطفال، استادیار
دکتر الهه کیهانی[۱]
متخصص پاتولوژی، استادیار
ماندانا حسن زاد[۱]
دانشجوی دکترای ژنتیک
دکتر مجتبی عظیمیان[۱]
متخصص مغز و اعصاب، استادیار
دکتر فریدون لایقی[۱]
فوق تخصص جراحی ترمیمی دست، استادیار
دکتر افشین وجدانی روشن[۱]
دکتر جان آندونی اورتیزبرا[۲]
دکترای توانبخشی، استاد
دکتر دانیل هنتای[۲]
دکترای ژنتیک، استاد
دکتر حسین نجم آبادی[۱]
دکترای ژنتیک، دانشیار

۱- مرکز تحقیقات ژنتیک دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی- تهران- ایران
۲- INSERM ، پاریس

* E-mail: kkahrizi@uswr.ac.ir

چکیده

هدف: بیماریهای عصبی عضلانی یک گروه هتروژنوس از بیماریهای وراثتی است. بیش از ۱۵۰ نوع از این گروه از بیماریها تاکنون شناسایی شده است. هدف از این مطالعه طبقه بندی بیماریهای عصبی عضلانی بر اساس معیارهای بالینی و آنالیزهای مولکولی و ایمنو هیستو شیمی در بیماران ایرانی مراجعه کننده به مرکز تحقیقات ژنتیک است. از آنجایی که بیماریهای عصبی ـ عضلانی دومین معلولیت شایع می‌باشد لزوم بررسی بیشتر در مورد این گروه از بیماریها، در جمعیت ایران ضروری می‌باشد.

روش بررسی: در مجموع در این تحقیق ۱۴۳ بیمار مشکوک به نقصهای عصبی عضلانی ارجاع شده به مرکز تحقیقات ژنتیک تحت معاینه بالینی و انجام آزمایشات آنزیم‌های عضلانی و الکترومیوگرافی قرار گرفتند و پس از آن بر حسب مورد آزمایشات ملکولی و ایمونوهیستوشیمی انجام گرفت.

یافته‌ها: ۸۲ بیمار با دیستروفی عضلانی میوتونیک، ۱۹ بیمار با دیستروفی عضلانی دوشن و بکر، ۶ بیمار دیستروفی میوتونیک مادرزادی(CMD)، ۳ بیمار FSHD، ۱۰ بیمار آتروفی عضلانی نخاعی (SMA)، ۲ بیمار دیستروفی میاستنی مادرزادی (CMS) و ۲۱ بیمار مشکوک به دیستروفی عضلانی کمربند لگنی ـ شانه‌ای (LGMD) بودند.

در مورد سایر موارد نیاز به بررسی مولکولی بیشتر و بررسی دقیق‌تر برحسب علایم بود که در این تحقیق جای نمی‌گرفت.

نتیجه‌گیری: در مواردی که دیستروفی میوتونیک نوع I علیرغم ظن بالینی تایید نگردید، بررسی نوع II دیستروفی میوتونیک ضروری می‌باشد.

در بیماران مبتلا به دیستروفی عضلانی کمربند لگنی ـ شانه ای که ۵ آنتی بادی مورد بررسی طبیعی بودند، بررسی آنالیز Multiplex western-blot توصیه می‌گردد.

همچنین برای موارد دیستروفی عضلانی مادرزادی غیر از بررسی مروزین، بررسی سایر پروتئین‌های درگیر و نیز انجام آزمایشات ملکولی جهت تعیین موتاسیون لازم می‌باشد.

کلید واژه‌ها: بیماریهای عصبی- عضلانی / میوپاتی / نوروپاتی / آنالیز ایمونوهیستوشیمی / آنالیز ملکولی

مقدمه

بیماریهای عصبی عضلانی یک گروه از اختلالات هتروژن پیشرونده هستند و دارای هتروژنیتی قابل ملاحظه ای می‌باشند. بر اساس اطلاعات موجود از هر ۳۰۰۰ تا ۴۰۰۰ نوزادی که متولد می‌شوند یک‌نفر دچار یکی از بیماریهای عصبی ـ عضلانی (نوروماسکولار) می‌باشد. ویژگی مبتلایان این است که معمولاً دستگاه عصبی مرکزی و توان ذهنی طبیعی، اما بخش حرکتی بدن گرفتار است. نشانه‌های عمده در این بیماران عبارتست از: ضعف عضلات در دستها و پاها و گاهی تنه و عضلات خارجی چشم، مشکل در برخاستن، ایستادن، راه رفتن و بالا رفتن از پله‌ها، خستگی زودرس، ضعف و نارسایی عضلات قلب و تنفس در مراحل پیشرفته. تقریباً می‌توان گفت که اکثر بیماریهای عصبی ـ عضلانی ارثی ـ ژنتیکی هستند . جهش‌های ژنی و اختلال در پروتئین‌هایی که بخصوص درعضلات وجود دارند، مسئول بروز علائم می‌باشند. الگوهای توارثی در انواع مختلف این بیماریها با یکدیگر متفاوتند، ممکن است غالب جسمی، مغلوب جسمی، وراثت وابسته به جنس یا میتوکندریایی باشد. بنابراین بررسی دقیق افراد مبتلا در یک خانواده برای شناخت الگوی وراثتی بیماری و تشخیص بیماران می‌تواند بسیار مفید باشد.

بیماریهای بافت عضلانی را به هر علت که باشند، میوپاتی می‌نامند. میوپاتی‌ها انواع گوناگونی دارند که یک گروه از آنها را دیستروفی تشکیل می‌دهد. دیستروفیهای عضلانی شایعترین بیماریهای عضلات می‌باشند که از زمانهای قدیم، بشر به آنها مبتلا بوده است.

به دلیل پیچیدگی علائم و تشابه نشانه‌ها در انواع متفاوت این بیماریها، تشخیص قطعی چندان آسان نیست. بررسی‌های آزمایشگاهی شامل سنجش آنزیم‌های عضلانی، اندازه گیری سرعت هدایت امواج عصبی در اعصاب محیطی، ثبت امواج پتانسیل حرکتی در عضلات، اندازه گیری حجم توده عضلانی طبیعی و غیر طبیعی با سونوگرافی یا سی تی اسکن، و در نهایت برای تشخیص قطعی، بیوپسی از عضلات مبتلا می‌باشد. امروزه با رنگ‌آمیزی اختصاصی با روش ایمونوهیستوشیمی و به کارگرفتن آنتی بادی‌های مونوکلونال برای ترکیبات پروتئینی متنوع موجود در بافت عضله، می‌توان دقیقاًزمینه پاتوژنتیک و علت بیماریهای عضلانی را شناسایی کرد، سپس برای تعیین جهش‌های مربوطه در فرد بیمار و خانواده او گام برداشت. چنانچه جهش مسئول بیماری در یک خانواده شناسایی شود، امکان تشخیص قبل از تولد و پیشگیری از تولد مورد دیگری از بیماری فراهم خواهد شد.

بیماریهای عصبی عضلانی به چهار دسته طبقه بندی می‌شوند:

۱ـ میوپاتی‌ها که شامل دیستروفی‌های عضلانی می‌شوند ۲ـ نورو پاتی‌ها ۳ـ بیماریهای محل اتصال عصب و عضله، ۴ـ بیماریهای نورون حرکتی. از انواع دیستروفی‌های عضلانی می‌توان به دیستروفی عضلانی دوشن و بکر اشاره نمود. از انواع اختلالات محل اتصال عصب عضله می‌توان به سندرم میاستنی مادرزادی اشاره نمود و از اختلالات نورون حرکتی می‌توان به آتروفی عضلانی ـ نخاعی و از انواع نورو پاتی میتوان به CMT شارکوت ماری توث اشاره نمود.

ازانواع میوپاتی‌ها (دیستروفیهای عضلانی)، به دیستروفی میوتونیک میتوان اشاره نمود، نمای بالینی بیماری بسته به سن شروع بیماری دارد. نوع مادرزادی و ابتدای دوره کودکی (سن کمتر از ۱۰ سال) و نوع نوجوانی و بزرگسالی (کلاسیک)، سن ۵۰-۱۰ سال و دیستروفی میوتونیک خفیف، سن بالای ۵۰ سال.

علایم بالینی دیستروفی میوتونیک مادرزادی عبارت است از: مرده زایی یا ضعف عضلانی منتشر (شامل صورت)، هیپوتونی و نارسایی بلع، تنفس و مکیدن، فقدان رفلکس‌های تاندونی و پا چنبری (Club foot). علایم دیستروفی میوتونیک در مادر افزایش بیش از ۴۵ تکرار سه تایی CTG در ژن دیستروفی میوتونیک روی کروموزوم ۱۹بوده و علائم بالینی دردیستروفی میوتونیک ابتدای کودکی و دیستروفی میوتونیک نوجوانی ـ بزرگسالی و دیستروفی میوتونیک خفیف متفاوت است.

دیستروفی عضلانی دوشن نمونه دیگری از انواع میوپاتی است. علایم بالینی در دیستروفی عضلانی دوشن معمولاً قبل از ۵ سالگی ظاهر می‌شوند. علایم بالینی شامل ضعف دوطرفه پیشرونده عضلات است. عضلات پروگزیمال بیش از دیستال درگیر می‌شوند و در ابتدا فقط عضلات اندام تحتانی است. هیپرتروفی ساق پا اغلب وجود دارد. فاسیکولاسیون و اختلال حسی در این بیماران وجود ندارد. قبل از سن ۱۳ سالگی نیاز به وسایل کمکی در راه رفتن دارند. حداقل ۱۰ برابر افزایش در مقادیر SCK (کراتی تین کیناز سرم) وجود دارد (سطح آن مرتبط با سن و میزان حرکت بیمار می‌باشد) (۳، ۲، ۱).

دیستروفی عضلانی بکر نمونه دیگری از میوپاتی‌ها است، علایم بالینی شامل آتروفی و ضعف عضلانی پیشرونده قرینه، درگیری انتهای فوقانی اندام بیشتر از انتهای تحتانی و در ابتدا فقط اندام تحتانی است. ضعف عضلات چهار سر ران تا مدتها تنها علامت است. هیپرتروفی ساق پا اغلب وجود دارد. برخی بیماران کرامپ عضلانی که با حرکت شروع می‌شود، دارند. خشکی فلکسورهای آرنج در سیر بعدی بیماری رخ می‌دهد. دیستروفی نوع بکر با درد عضلانی و کرامپ، عدم تحمل فعالیت و میوگلوبینوری، افزایش کراتین کیناز (CK) بدون علامت،

کاردیومیوپاتی و اختلالات شناختی نیز ممکن است تظاهر کند. و در صورت فاسیکولاسیون و اختلال حسی، تشخیص بکر رد می‌شود. تا قبل از ۱۶ سالگی نیاز به صندلی چرخدار ندارند. فعالیت کراتین کیناز سرمی(SCK) بیش از ۵ برابر نرمال است(۵، ۴).

دیستروفی عضلانی کمربند لگنی شانه‌ای(LGMD) از انواع هتروژن دیستروفی‌های عضلانی محسوب می‌گردد، که درگیری اولیه عضلات لگنی و شانه‌ای بطور پیشرونده از علائم غالب آن می‌باشد. سیر بالینی بیماری با هوش طبیعی و گوناگونی فراوان که از فرم شدید با سن شروع دیرتر و سیر کندتر خود را نشان می‌دهد.

حداقل ۱۵ ژن برای دیستروفی عضلانی کمربند لگنی شانه ای (LGMD) شناسایی شده است که ۵ نوع آن اتوزومال غالب و ۱۰ نوع بقیه اتوزومال نهفته می‌باشند.فرم غالب بیماری نادر و فقط در ۱۰ درصد موارد مشاهده می‌شود و ۹۰ درصد باقیمانده اتوزومال مغلوب می‌باشند.جهشای ژنهای LGMD بسیار هتروژنوس هستند(۹، ۸، ۷، ۶).

دیستروفی عضلانی کمربند لگنی شانه‌ای (LGMD) یک گروه از اختلالات پیشرونده ماهیچه است که ماهیچه‌های کمربند لگنی ــ شانه‌ای در ابتدا درگیر می‌شود. اختلالاتی مانند آتروفی عضلانی نخاعی و میوپاتی‌های متابولیک و میتوکندریایی اغلب موجب اشتباه تشخیصی می‌شوند.

از بیماریهای محل اتصال عصب ـ عضله می‌توان به سندرم‌های مادرزادی میاستنی یا(Congenital Myasthenic Syndromes (CMS اشاره نمود، سندرم‌های مادرزادی میاستنی(CMS)گروهی از بیماری‌های مادرزادی ارثی است که محل اتصال عصب ــ عضله را گرفتار می‌کند. این سندرم‌ها با میاستنی گراویس با منشاء اتوایمون وسندرم lambert-Eaton که در اولی آنتی بادی بر علیه رسپتورهای استیل کولین(AchRs) و در دومی آنتی بادی بر علیه کانالهای وابسته به ولتاژ کلسیمی وجود دارد، تفاوت دارند. علیرغم اکثر بیماریهای عصبی ـ عضلانی ارثی، هنوز مکانیزم ژنتیک مولکولی این سندرم‌ها شناخته نشده است. درگذشته سندرم‌های میاستنی مادرزادی براساس محل گرفتاری به انواع پیش سیناپسی، پس سیناپسی و یا هر دو طبقه بندی می‌شد. بعدها هریک از این گروه‌ها براساس مکانیزم دخیل طبقه بندی شدند(۱۰).

از نوروپاتی‌ها می‌توان به Charcot- Marie -Tooth اشاره کرد. بیماری شارکوت ــ ماری ــ توث از نظر ژنتیکی و بالینی یک نوروپاتی محیطی هتروژن می‌باشد که علامت ضعف و تحلیل عضلانی را درانتهاهای اندام‌ها دارند.

CMT نوع I فرم demylinating و نوع II فرم axonal بیماری است که شیوع حداقل ۱/۱۰۰۰ برای آن برآورده شده است. در اکثر بیماران نحوه توارث اتوزوم غالب می‌باشد.

Positional Cloning نشان می‌دهد که CMT نوع Iاز نظر ژنتیکی هتروژن بوده وحداقل ۳ لوکوس ژنی دارد. شایعترین زیر گروه فرم غالب نوع I (CMT 1A) به کروموزوم 17p11.2 و فرم کمتر شایع CMT1B به کروموزوم 1q22-q23 متعلق می‌باشد و جایگاه نوع سوم یا CMT1C هنوز مشخص نشده است.

22 با دو پلیکاسیون تغییرنمی‌کند و dosage effect در بیماران با CMT 1A نشان می‌دهد. در CMT 1A بدون دو پلیکاسیون point mutation در PMP-22 نقش مستقیم ژن را در بروز CMT 1A تایید می‌کند(۱۱،۱۲).

در CMT 1B موتاسیون درژن MPZ (myelin protein zero) صورت می‌گیرد.

از بیماریهای عصب حرکتی یک نمونه مشخص آتروفی عضلانی ـ نخاعی می‌باشد، جایگاه ژنی آتروفی عصبی عضلانی کودکان روی بازوی بلند کروموزوم ۵ (5q) قرار دارد. سن شروع در SMA نوع I (فرم شدید) از بدو تولد تا ۶ ماهگی است. در SMA نوع II (فرم بینابینی) شروع قبل از ۱۸ ماهگی است. در SMA نوع III (فرم خفیف) شروع بعد از ۱۸ ماهگی است.

در این بیماران ضعف عضلانی در تنه و اندام‌ها (اندام تحتانی ضعیف‌تر از اندام فوقانی است و عضلات فوقانی اندامها بیش از قسمت تحتانی اندام‌ها گرفتار می‌شود) و متقارن بودن و ضعف عضلات خارج شکمی، دیافراگم و میوکارد و ضعف شدید عضلات صورت احتمال SMA را رد می‌کند(۱۸-۱۳).

روش بررسی

بیماران از مراکز مختلف و متخصصان نورولوژی به مرکز تحقیقات ژنتیک ارجاع شدند که پس از انجام مشاوره ژنتیک و کامل کردن پرسشنامه مربوطه وگرفتن فرم رضایتنامه جهت تشخیص بالینی بیماریهای عصبی عضلانی و نوع آن از سه سری روش بطور خلاصه استفاده شد: انجام کلیه روشهای آزمایشگاهی شامل آنزیمهای عضلانی شامل CPK وآلدولاز و LDH وsgpt وsgot وانجام الکترو میوگرافی، MRI و ECG بوده است. روشهای مولکولی در مرکز تحقیقات ژنتیک بر حسب نوع بیماری عصبی عضلانی صورت می‌گیرد همچنین تستهای ایمونوهیستوکمیکال با استفاده از ۶ آنتی بادی برای پروتئینهای دیستروفین (۳ آنتی بادی بر علیه سه بخش پروتئین)، گاما

سارکوگلایکن، دیسفرلین و مروزین انجام می‌شود.

استخراج DNA مرحله اساسی در انجام PCR و بررسی‌های ملکولی می‌باشد که با استفاده از روش Salting out به عنوان یک روش استاندارد انجام گرفت.

آنالیز مولکولی شامل PCR و ساترن بلات می‌باشد که در مورد آنالیز PCR برای هرکدام از این بیماریها پرایمر اختصاصی ژن طراحی شد برای مثال برای SMA و همچنین DM که البته برای بیماری دیستروفی میوتونیک آنالیز ساترن بلات برای بررسی تکرارهای ژن آن استفاده شد. آنالیز ساترن بلات در بیماری دیستروفی میوتونیک برای بررسی گسترش تعداد تکرارها استفاده می‌گردد.

یافته ها

در مجموع در این تحقیق ۱۴۳ بیمار مشکوک به نقصهای عصبی عضلانی مورد بررسی قرار گرفتند، ۸۲ بیمار با دیستروفی عضلانی میوتونیک، ۱۹ بیمار با دیستروفی عضلانی دوشن و بکر، ۶ مورد CMD، ۱۰ مورد SMA، ۲ بیمار CMS و ۲۱ مورد مشکوک به LGMD که از این تعداد ۳ مورد نقص گاما و ۲ مورد نقص در دیسفرلین داشتند و ۱۶ مورد نیز برای دیسفرلین و پروتئینهای آلفا، بتا و گاما سارکوگلایکن نرمال بودند. درمورد بیماری دیستروفی میوتونیک آنالیز PCR و ساترن بلات انجام شد که از میان بیماران مبتلا به دیستروفی میوتونیک ۵۸ بیمار تک باند بودند و ۲۴ بیمار افزایش تعداد تکرارها را نشان ندادند از میان ۳۶ بیمار تک باند شناسایی شده ۲۱ بیمار با آنالیز ساترن بلات گسترش تعداد تکرارها را نشان دادند. ۸ مورد از ۱۰ بیمار DMD توسط آنالیز ملکولی مورد تایید قرار گرفتند. همچنین یک بیمار از CMD نقص در پروتئین مروزین را توسط آنالیز ایمونوهیستوشیمی نشان دادند. یک مورد از بیماران CMS نیز توسط آنالیز ملکولی مورد بررسی قرار گرفت که جهش هموزیگوت در زیر واحد اپسیلون ژن AchR را نشان دادند. در ۳ بیمار FSHD نیز ما حذف زیرواحد اپسیلون ژن AchR را شناسایی نمودیم. مجموعه ۱۰ بیمار SMA نیز توسط آنالیز ملکولی ژن SMN1 مورد بررسی قرار گرفتند که همگی جهش در اگزون ۷ را نشان دادند (جدول ۱).

در مورد سایر موارد نیاز به بررسی مولکولی بیشتر و بررسی دقیق‌تر علایم دارد و همچنین در مورد شناسایی باقیمانده بیماران مشکوک به LGMD بررسی پروتئین Calpain با آنالیز وسترن بلات لازم می‌باشد.

جدول ۱: نتایج بررسی بیماران مشکوک به نقص‌های عصبی عضلانی مراجعه کننده به مرکز تحقیقات ژنتیک

بیماری عصبی عضلاتی	تعداد	تأیید شده با آنالیز ملکولی	تأیید شده با IHC
DM	۸۲	۲۱	
MDM/BMD	۱۹	۸	٤
CMD	٦		۱
FSHD	۳	۳	
SMA	۱۰	۱۰	
CMS	۲	۱	
LGMD	۲۱		۵
LGMD	۲۱	٤۳	۱۰
Total	۱٤۳	٤۳	۱۰

DM= Myotonic Dystrophy
DMD/BMD= Duchenne Muscular Dystrophy/ Becker Muscular Dystrophy
CMD= Congenital Muscular Dystrophy
FSHD= Fasio Scapulohumeral Muscular Dystrophy
SMA= Spinal Muscular Dystrophy
CMS= Congenital Myastenia Syndrome
LGMD= Limb Girdle Muscular dystrophy

بحث

در بررسی انجام شده در مرحله اول توانستیم پس از جمع آوری اطلاعات از خانواده‌های مشکوک به بیماریهای عصبی عضلانی و انجام مشاوره دقیق، بر اساس معیارهای موجود در انواع بیماریهای عصبی عضلانی، این بیماریها را طبقه بندی نماییم که این در واقع فاز اول می‌باشد بدلیل اینکه در مورد بعضی از این بیماریها لازم است که حتما آنالیزهای دقیق مولکولی انجام شود و باید این آزمایشها در ایران نیز راه‌اندازی شود تا بتوانیم در هنگام نیاز بلافاصله برای تعیین دقیق بیماری و بررسی ژن مربوطه آن از طریق مولکولی عمل نمائیم.

در این بررسی توانستیم که انواع دیستروفی عضلانی را با توجه به علائم شایع هر یک و همینطور انواع نوروپاتی و بیماریهای عصب عضله را نیز با توجه به علائم بارزشان شناسائی نمائیم که در بعضی موارد تشخیص علائم بالینی با روشهای مولکولی در ایران و ارسال نمونه به فرانسه تایید گردید و در بعضی از بیماران نیاز به بررسی دقیق‌تر مولکولی دارد.

در مجموع در این تحقیق ۱۴۳ بیمار مشکوک به نقصهای عصبی عضلانی مورد بررسی قرار گرفتند، ۸۲ بیمار با دیستروفی عضلانی میوتونیک، ۱۹ بیمار با دیستروفی عضلانی دوشن و بکر، ۶ موردCMD، ۱۰ مورد SMA، ۲ بیمار CMS و۲۱ مورد مشکوک بهLGMD که از این تعداد ۳ مورد نقص گاماو ۲ مورد نقص در دیسفرلین داشتند و ۱۶مورد نیز برای دیسفرلین و پروتئینهای آلفا، بتا و گاما سارکوگلایکن نرمال بودند. ۸ مورد از ۱۰ بیمار DMD توسط آنالیز ملکولی مورد تایید قرار گرفتند. همچنین یک بیمار از CMD نقص در پروتئین مروزین را توسط آنالیز ایمونوهیستوشیمی نشان داد. یک مورد از بیماران CMS نیز توسط آنالیز ملکولی مورد بررسی قرار گرفت که جهش هموزیگوت در زیر واحد اپسیلون ژن AchR را نشان داد. در ۳ بیمار FSHD نیز ما حذف زیر واحد اپسیلون ژن AchR را شناسایی نمودیم. مجموعه ۱۰ بیمار SMA نیز توسط آنالیز ملکولی ژن SMN1 مورد بررسی قرار گرفتند که همگی جهش در اگزون ۷ را نشان دادند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق و طبقه بندی بیماریهای عصبی عضلانی بیماریهای دیستروفی عضلانی شایعترین نوع این بیماریها بودند. در بعضی موارد جهت تشخیص دقیق نوع بیماری بررسی‌های بیشتر مولکولی وجود دارد.

برای مثال باید بیماران با تشخیص دیستروفی میوتونیک راکه از نظر DM1 منفی بوده‌اند، برای DM2 و همچنین بیمارانی‌که با علائم بالینی LGMD مراجعه نمودند و دارای پروتئین‌های دیسفرلین و سارکوگلایکن نرمال در تست ایمونو هیستوشیمی بودند، را برای سایر نقایص پروتئینی بررسی نمود. همچنین نیاز به راه‌اندازی تکنیک وسترن بلات برای شناسایی پروتئینهای کالپین و نیز دیسفرلین با توجه به میزان حساسیت بالای این تکنیک برای این دو پروتئین در بیماران دیستروفی عضلانی کمربند لگنی- شانه ای ضروری است. و با توجه به اینکه در مواردی نیاز به بررسی کمبود پروتئین‌های دیستـــــــروفین، سارکوگلایکن، (α, β, γ) می‌باشد، استفاده از روش وسترن بلات توصیه می‌گردد.

منابع:

1- Roberts R. G (1995): Dystrophin, its gene, and the dystophinopathies, Adv. Genet. 33: 177-231.

2- Hoffman E.P., Brown R.H., Kunkel L.M. (1987): Dystophin: The protein product of the duchenne muscular dystrophy locus, Cell 51: 917-928.

3- Forrest S M, Cross G S, Flint T, et al (1988): Futher studies of gene deletions that causes duchenne and becker muscular dystrophies Genomic 2 (2): 109-114.

4- Laing NG. (1993): Molecular genetics and genetic counselling for duchenne/Becker muscular dystrophy. Mol Cell Bio Hum Dis Ser. 3: 37-84.

5- Roberts R, Cole C, Hart K, Bobrow M. (1989): Rapid Carrier and prenatal diagnosis of Duchenne and Backer muscular dystrophy, Nucleic Ac. RES. 17: 811-817.

6- Bushby KMD (1999). The limb – girdle muscular dystrophies: multiple genes, multiple mechanisms. Hum Mol Genet; 8: 1875-82.

7- Zatz M, Vainzof M, Passos – Bueno MR, et al. (2000) Limb – girdle muscular dystrophy: one gene with different gene. Curr Opin Neurol; 13 (5): 511-7.

8- Mayana Zatz, Flavia de Paula, Alessandra Starling, et al. (2003) The 10 autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. Neuromuscular Disorders; 13: 532-544.

9- Bushby KMD. (1999) Making sense of the limb – girdle muscular dystrophies Brain; 122: 1403-1420.

10- Hanati D, Richard P, Koenig J, Eymard B. (2004) Congenital Myasthenic syndromes. Curr Opin Neurol. Oct; 17(5): 539-51. Review.

11- Szigeti K, Garci CA, Lupski JR. (2006) Charcot – Marie – Tooth disease and related hereditary polyneruropathies: molecular diagnostics determine aspects of medical management. Genet Med. Feb; 8(2): 86-92.

12- Gallardo E, Garci A, Combarros O, Berciano J. (2006) Charcot- Marie – Tooth disease type 1A duplication: spectrum of clinical and magnetic resonance imaging features in leg and foot muscles. Brain, Feb; 129 (Pt 2): 426-37.

13- Tony Frugier, Sophie Nicole, Carmen Cifuentes Diaz and Judith Melki. (2002) The molecular bases of spinal muscular atrophy. Current Opinion in Genetics & Development, 12; 294-298.

14- Shujiogino and Robert B Wilso. (2004) Spinal muscular atrophy: molecular genetics and diagnostics. Expert Rev Mol Diagn 4(1), 15-29.

15- Thomas NH, Dubowits V (1994) The natural history of type I (severe) spinal muscular atrophy. Neuromusc Disord 4: 497-502.

16- Pearn J Incidence, prevalence, and gene frequency studies of chronic childhood spinal muscular atrophy. (1978) J. Med Genet 1978 15: 409-413.

17- A Review of Spinal Muscular Atrophy Litersture, (2005) January, www.smafoundation.org

18- Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S et al, (1995) Identification and characterization of a spinal muscular atrophy – determining gene. Cell; 80: 155-165.