بررسی جهش در اگزون ۸ ژن *CLCN1* در بیماران ایرانی مبتلا به میوتونی غیر دیستروفیک

فائزه حسامی ذکایی: کارشناس ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران. F.zokaei1397@yahoo.com
***محمد مهدی حیدری**: دانشیار، دکتری ژنتیک مولکولی، گروه زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران (*نویسنده مسئول). heidarimm@yazd.ac.ir
مهری خاتمی: استادیار، دکتری ژنتیک مولکولی، گروه زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران. m.khatami@yazd.ac.ir
شهریار نفیسی: استاد، متخصص مغز و اعصاب، گروه نورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. S.naffisi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: میوتونی‌های غیر دیستروفیک علائم بالینی مشابهی از ضعف عضلانی دارند که میوتونی مادرزادی نمونه‌ی بارز آنها است و با ژن (*CLCN1* کد کننده کانال کلرید عضله) در ارتباط‌اند. این ژن دارای ۲۳ اگزون است که اگزون ۸ آن از مناطق مهم ژن به شمار می‌رود. جهش‌های ژن *CLCN1* منجر به کاهش جریان کلرید و در نهایت باعث افزایش تحرک پذیری غشاء می‌شود. با توجه به علائم پیچیده و هم پوشانی میوتونی‌های غیردیستروفیک، استفاده از روش‌های مولکولی، روش تشخیصی مهمی محسوب می‌شود. هدف از این مطالعه، یافتن ارتباط بین جهش‌های اگزون ۸ ژن *CLCN1* با این بدخیمی است.

روش کار: در این مطالعه مورد- شاهدی، از ۲۸ بیمار تک گیر ایرانی مبتلا به میوتونی غیر دیستروفیک نمونه خون گرفته شد و به منظور بررسی جهش‌های ژنومی در اگزون ۸ ژن *CLCN1*، از روش PCR-SSCP استفاده شد و برای تشخیص جایگاه دقیق جهش‌های احتمالی، نمونه بیمارانی که الگوی باندی متفاوتی روی ژل SSCP نشان می‌دادند، تعیین توالی شدند.

یافته‌ها: در بیماران مورد مطالعه و افراد کنترل، جهشی در اگزون ۸ ژن *CLCN1* یافت نشد.

نتیجه‌گیری: بررسی جهش‌های ژن *CLCN1* می‌تواند در تعیین مکانیسم بیماریزایی و ارائه روش‌های درمانی مناسب اهمیت بسزایی داشته باشد. در این تحقیق در اگزون ۸ ژن *CLCN1* جهشی شناسایی نشد که پیشنهاد می‌گردد بررسی در تعداد بیشتری بیماری و دیگر اگزون‌های دیگر این ژن صورت پذیرد.

کلیدواژه‌ها: میوتونی مادرزادی، ژن *CLCN1*، جهش، PCR-SSCP

مقدمه

بیماری‌های ارثی کانال‌های یونی (Channelopathies) ناهنجاری‌های نادر عضلات اسکلتی است که با افزایش تحریک پذیری (میوتونی) و یا کاهش تحریک پذیری (فلجی) تشخیص داده می‌شود (۱). میوتونی مادرزادی (MC) رایج ترین شکل میوتونی غیر دیستروفیک است که علت ضعف پیشرونده و علائم سیستمیک از میوتونی دیستروفی قابل تمایز است. شیوع جهانی این بدخیمی از ۱:۱۰۰۰۰۰ تا ۱:۱۰۰۰۰ گزارش شده است (۲).

MC به هر دو شکل اتوزومال غالب و اتوزومال مغلوب به ارث می رسد؛ اما هر دو نوع آن با میوتونی (گرفتگی عضلات) و بزرگ شدن عضلات مشخص می شود. صرفه نظر از الگوی وراثت آن، بیشتر موارد بیماری در اثر جهش در ژن *CLCN1* کد کننده کانال یون کلرید عضلات اسکلتی (clcn1) ایجاد می‌شود. این کانال برای رپولاریزاسیون طبیعی در پتانسیل عمل عضلات مهم است (۳-۵).

نقص در عملکرد این کانال در اثر جهش، باعث تحریک پذیری غیر طبیعی غشای پلاسمایی و در

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-06-24]

نهایت منجر به میوتونی بالینی و تظاهر در الکترومیوگرام می‌شود (۶, ۷). ژن *CLCN1* در موقعیت کروموزومی 7q35 قرار گرفته است و شامل kb ۳۵ از ژنوم با ۲۳ اگزون می‌باشد (۸، ۹). محصول این ژن دارای ۹۸۸ اسیدآمینه است (۱۰).

کانال کلرید clcn-1 از دو مونومر تشکیل شده است که به صورت آنتی پارالل در کنار هم جمع می شوند. این کانال دارای دو منفذ مستقل هدایت کننده یون است که هر کدام دارای مکانیسم باز شدن سریع، دو فیلتر انتخابی و دو حسگر حساس به ولتاژ منحصر به خود هستند. کانال کلرید دارای دو دروازه سریع است که هر کدام به صورت مستقل می توانند باز و بسته شوند (۱۱، ۱۲).

تا کنون، بیش از ۱۰۰ جهش متفاوت در ژن *CLCN1* دررابطه با بیماری MC شناسایی شده است (۱۰، ۱۳، ۱۴). جهش های عامل میوتونی در کل ناحیه کد کننده کانال پروتئینی پراکنده شده است. آنها شامل انواع بی معنی، بد معنی، پیرایش اشتباه، حذف، اضافه شدن و تغییر چارچوب خواندن می‌باشند که باعث نقص در پروتئین کانال می‌شود. ولی بر اساس نوع و محل جهش نمی توان چگونگی الگوی وراثت غالب یا مغلوب بودن آن را پیش بینی کرد (۱۴). در سال ۲۰۰۷، Fialho و همکاران، جهش هایی را در اگزون ۸ گزارش کرد که منجر به فرم غالب MS می‌گردید. آنها با بررسی ۲۳ بیمار موفق به یافتن ۲ جهش شدند. همچنین با مطالعه ۸۶ فرد بیمار نیز تنها یک تغییر نوکلئوتیدی را در این ژن یافتند. همه این جهش‌ها در اگزون ۸ ژن قرار داشت و آنها نتیجه گرفتند که این اگزون در بروز بیماری می تواند به عنوان یک نقطه داغ مطرح باشد (۱۵).

تحقیقات اخیر نیز نشان می دهد که فرکانس جهش های مغلوب ژن *CLCN1* بیشتر در جمعیت‌های اروپایی نظیر فنلاند و آلمان دیده می‌شود (۱۶). نتایج بدست آمده توسط Trip و همکارانش در سال ۲۰۰۸ نیز نشان دادند که تنها یک الل موتانت از *CLCN-1* در همه اگزون‌های کدکننده ژن قابل تشخیص است و نتیجه گرفت که شاید جهش‌ها در نواحی اینترونی و پروموتر ژن هم در بروز بیماری نقش داشته باشند (۱۷). در سال ۲۰۱۵، Liu و همکارانش نیز با مطالعه روی ۵ بیمار چینی، ۷ جهش نقطه‌ای را یافتند و بیان کردند که ارتباط قوی ژنوتیپ-فنوتیپ در بیماران با علایم میوتونی وجود دارد (۱۸).

تمام جهش های از دست دادن عملکرد که منجر به تولید پروتئین ناقص می‌شوند، به صورت مغلوب به ارث می‌رسند و جهش‌های فرم غالب بیماری، اثرات غالب منفی در بیان زیر واحد طبیعی دارند. بعضی از جهش‌ها نیمه غالب هستند به طوری که در هر دو شجره‌نامه‌های غالب و مغلوب دیده می‌شوند (۱۹)، دلیل احتمالی این امر شاید بیان و یا نفوذ متغیر ژن باشد (۷، ۲۰). فرضیه‌ای وجود دارد که احتمالا جهش‌های غالب بر روی دروازه آهسته کانال اثر می‌گذارند که در این صورت همزمان هر دو منفذ کانال کلرید را غیر فعال می‌کنند (۱۳،, ۲۱).

نتایج مطالعات بر روی ژن *CLCN1* نشان می‌دهند که اگزون‌های ۳، ۴، ۵، ۸، ۹، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۵ دارای حداقل دو جهش متفاوت هستند (۷). در بین اگزون‌های ذکر شده، اگزون‌های ۳، ۸ و ۱۱ نقاط داغ (Hot spot) به شمار می‌آیند (۲۲). اگزون ۸ ژن *CLCN1* یکی از مناطق مهم در ایجاد شکل غالب این بیماری می باشد. بیان کانال‌هایی که اگزون ۸ جهش یافته دارند، نشان می‌دهد که این ناحیه نقش مهمی در ارتباط متقابل بین دو مونومر کانال کلرید دارد (۱۵).

ناهنجاری میوتونی غیر دیستروفیک دارای علائم پیچیده و همپوشان است و این مسئله تشخیص و درمان این گروه از ناهنجاری‌ها را مشکل می‌سازد. متاسفانه تا به حال در ایران هیچ‌گونه بررسی ژنتیکی بر روی این بیماری صورت نگرفته است بنابراین برای تشخیص دقیق و ارائه بهتر خدمات درمانی و مشاوره ژنتیک، بررسی‌های ژنتیکی و مولکولی بیماران مبتلا در کنار یافته‌های بالینی کمک بسیار مهمی می‌تواند باشد. هدف این پژوهش، بررسی ژنتیکی مولکولی بیماران ایرانی مبتلا به این گروه از ناهنجاری‌ها است. به این منظور اگزون ۸ ژن *CLCN1* که از مناطق داغ در ایجاد این ناهنجاری است را مورد مطالعه قرار دادیم.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-06-24]

روش کار

بیماران: این مطالعه از نوع مورد- شاهدی است که با نمونه های بیماران در دسترس انجام شده است. در این پژوهش، ۲۸ بیمار مراجعه کننده به بخش عصب- عضله بیمارستان شریعتی تهران بررسی شدند که از تمام بیماران جهت انجام مطالعه رضایت نامه کتبی گرفته شد و سپس آز آنها به میزان ۵ میلی لیتر خون محیطی تهیه گردید؛ لازم به ذکر است که نمونه‌های مورد مطالعه تقریبا از سراسر ایران در این بیمارستان جمع‌آوری شده بودند.

تشخیص بیماری براساس پارامترهای بالینی و الکترومیوگرافی های بدست آمده توسط متخصص مغز و اعصاب بیمارستان انجام شد. ۳۰ فرد سالم و بدون هیچگونه سابقه بیماری در خود و خانوادشان نیز به عنوان گروه کنترل و سالم، انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند. این افراد از نظر جنسیت، سن و قومیت با نمونه‌های بیماران مطابقت داشتند. در جدول ۱ خلاصه‌ای از خصوصیات بیماران و گروه کنترل آورده شده است.

محصولات حاصل از واکنش PCR جهت بررسی وجود جهش، مورد آنالیز SSCP (Single Strand SSCP-Conformational Polymorphism) قرار گرفتند. به این منظور ۶ میکرولیتر از محصولات PCR به طور جداگانه با ۶ میکرولیتر از بافر دناتوره کننده SSCP (۹۵٪ فرمامید، ۱۰mM NaOH، ۰/۰۵٪ بروموفنول بلو، ۰/۰۵ زایلن سیانول) مخلوط گردید و مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه در درجه حرارت ۹۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا دو رشته DNA از دناتوره شوند و سپس نمونه‌ها سریعا به داخل ظرف یخ منتقل گردید تا از اتصال مجدد دو رشته جلوگیری شود و به مدت ۵ دقیقه در آن نگهداشته شد تا کنفورماسیون مخصوص هر رشته شکل بگیرد. تمامی مواد مصرفی در این آزمایش از شرکت سیگما تهیه شده بود. در نهایت ۵ میکرولیتر از مخلوط حاصل، به ژل پلی‌آکریل آمید ۸٪ با بافر TBE 0.5X (PH 8.3) منتقل گردید. دستگاه الکتروفورز به منبع تغذیه که بر روی جریان ۳۵ میلی‌آمپر تنظیم شده بود وصل گردید و به مدت ۱۶ ساعت الکتروفورز انجام شد.

در نهایت جهت ظهور باندها و رنگ‌آمیزی ژل از نیترات نقره استفاده گردید. نمونه‌های DNA افراد بیمار و کنترل در روی ژل، در کنار هم مورد بررسی قرار گرفت و هر تفاوتی در الگوی باندینگ بین افراد سالم و بیمار، به عنوان یک جهش احتمالی در نظر گرفته می شد. پس از غربالگری نمونه ها، جهت تایید نتایج و مشخص شدن جایگاه دقیق جهش احتمالی، تعدادی از نمونه‌ها برای تعیین توالی به شرکت ماکروژن (کره) ارسال گردید.

از آزمون آماری فیشر (Fishers exact) برای تعیین ارتباط بین دو گروه بیمار و کنترل استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم افزار GraphPad انجام گرفت و سطح معنا دار کمتر از ۰/۰۵ مد نظر قرار گرفت.

جدول ۱- علائم بالینی بیماران مورد مطالعه

	تعداد	جنس	سن	سن شروع علائم	اثر خانواده
بیماران	۲۸	۱۴ زن ۱۴ مرد	۶-۵۶	۲-۱۵	۱۶ ارثی ۱۲ انفرادی
کنترل سالم	۳۰	۱۷ مرد ۱۳ زن	۱۰-۶۰	-	-

جدول ۲- توالی پرایمرها

پرایمر	توالی	طول قطعه (bp)
Forward	5`-TGCCCCCAACCACACTTCTG-3`	۲۵۹
Reverse	5`-GCCCATTATTCCTTTTCTGA-3`	

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-06-24]

یافته‌ها

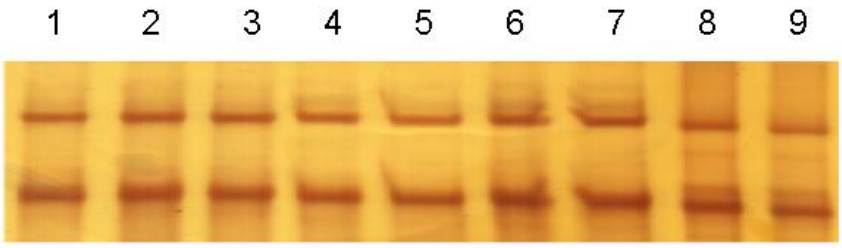
این مطالعه بر روی ۲۸ بیمار (۱۴ زن و ۱۴ مرد) مبتلا به میوتونی غیر دیستروفیک انجام شد. برای بررسی جهش های احتمالی در اگزون ۸ ژن *CLCN1* از روش های PCR-SSCP و تعیین توالی استفاده گردید. شکل ۱ نمونه‌ای از نتایج SSCP برای ۹ فرد (۳ فرد سالم و ۶ فرد بیمار) در مطالعه حاضر است. با بررسی تمامی ژل های پلی‌آکریل آمید و مشاهده باندها برای تمام نمونه‌های سالم و بیمار، هیچ تفاوت معنی‌داری در الگوی باندینگ ژل دیده نشد. با این وجود، برای اطمینان بیشتر از صحت نتایج روش SSCP در شناسایی جهش، چندین نمونه به طور تصادفی انتخاب شدند و برای تعیین توالی به شرکت مورد نظر ارسال شدند. در میان این نمونه های ارسالی، سعی شد نمونه هایی که علایم بالینی وخیم تری نیز دارند، قرار گیرد؛ اما نتایج تعیین توالی نیز، موید نتایج حاصل از ژل های پلی‌آکریل‌آمید در روش SSCP بود، به صورتی که برای تمامی بیماران، توالی قطعه ۲۵۹ در اگزون ۸ ژن *CLCN1* دقیقا مشابه توالی نرمال آن بود.

بحث و نتیجه‌گیری

میوتونی مادرزادییک ناهنجاری عضله اسکلتی است که اولین بار در دنیا توسط Bryant و همکارانش در دهه ۱۹۶۰ تحت عنوان نقص در جریان کلرید عضلات شناسایی و معرفی شد (۲۳). اولین جهش‌های CLCN1 برای هر دو فرم اتوزومال غالب و مغلوب MC در دهه ۱۹۹۰ شناسایی شد (۴, ۵). محققان بر روی مکانیسم بیماری‌زایی، بر پایه مولکولی و ژنتیکی این ناهنجاری مطالعات بیشتری انجام دادند. اگرچه به خوبی ثابت شده است که اساس بیماری زایی MC به علت جهش در کانال کلرید CLCN1 عضلات است، مطالعات فراوانی نشان می‌دهد که تنوع زیادی در چگونگی بروز این جهش ممکن است وجود داشته باشد. در سال ۲۰۰۸ Lossin و همکارانش بیش از ۱۳۰ جهش در این ژن گزارش کردند (۱۰). طبق آنچه ذکر شد میوتونی مجموعه علائمی هستند که علل متفاوت و زیادی برای آن وجود دارد. سابقه و پیشینه بالینی و الگوی وراثت همگی در تشخیص میوتونی مهم هستند (۲۴). اگرچه الکترومیوگرافی (EMG) یک ابزار تشخیصی خیلی مفید است اما نمی‌تواند به تنهایی MC را از دیگر انواع میوتونی تشخیص دهد؛ بنابراین آزمایشات ژنتیک مولکولی در کنار EMG معمولا تشخیص MC را ساده‌تر می‌کند (۲۵).

تاکنون SNP۱۲ متفاوت در اگزون ۸ ژن *CLCN1* گزارش شده است. George و همکارانش در سال ۱۹۹۴ با بررسی جهش‌های بد معنی و بی معنی ژن CLCN1 در بیماران مبتلا به MC جهش R300Q (تبدیل اسیدآمینه بزرگ و قلیایی آرژنین به اسیدآمینه قطبی و متوسط گلوتامین) را شناسایی کردند. این جهش در موقعیت حفاظت شده قرار گرفته و باعث شکل مغلوب MC می‌شود (۶).

Kubisch و همکارانش در سال ۱۹۹۸ با بررسی و غربال کامل ناحیه‌ی کد کننده و محل‌های پیرایش ژن *CLCN1*، جهش‌های دگر معنی غالب V286A (تبدیل اسیدآمینه هیدروفوب با اندازه



شکل ۱- نتیجه حاصل از تکنیکSSCP اگزون ۸ ژن CLCN1.
لاین‌های ۱-۳ نمونه کنترل سالم و لاین‌های ۴-۹ نمونه های بیمار هستند.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-06-24]

متوسط والین به اسیدآمینه کوچک و هیدوفوب آلانین)، F307S (تبدیل اسیدآمینه بزرگ و آروماتیک فنیل‌آلانین به اسیدآمینه کوچک و قطبی سرین) و مغلوب G285E (تبدیل اسیدآمینه گلایسین به اسیدآمینه کوچک و اسیدی گلوتامات) در اگزون ۸ این ژن شناسایی کردند. هر سه جایگاه ذکر شده در کانال خانواده CLC حفاظت شده است. دو جهش غالب V286 و F307S باعث تغییر موثر در حساسیت ولتاژ کانال کلرید به سمت پتانسیل مثبت می‌شود (۷).

Plassart-Schiess و همکارانش در سال ۱۹۹۸، با بررسی ژن CLCN1 ۲۰ بیمار MC در اگزون ۸ این ژن جهش A313T را شناسایی کردند که اسیدآمینه آلانین با اندازه کوچک و خاصیت هیدروفوب به ترئونین با اندازه متوسط و خاصیت قطبی تغییر گردیده است و این تغییر باعث تغییر حساسیت کانال به ولتاژ می‌شود. این جهش به هر دو فرم غالب و مغلوب به ارث می‌رسد و از رفتار کلاسیک مندلی پیروی نمی‌کند. لازم به ذکر است که جایگاه ۳۱۳ یک موقعیت حفاظت شده در کانال کلرید پستانداران است (۲۶).

Falke و همکارانش در سال ۲۰۰۲ با بررسی ژن *CLCN1* در ۸۸ بیمار مبتلا به MC، دو جهش دگر معنی L283F و T310M در اگزون ۸ ژن ۱۴ بیمار را به صورت هتروزیگوت شناسایی کردند. این دو جهش باعث تغییر حساسیت به ولتاژ شده و منحنی فعالیت کانال کلرید را به سمت پتانسیل مثبت تغییر می‌دهند و اثر غالب منفی از خود نشان می‌دهند (۲۷).

FengGao و همکارانش در سال ۲۰۱۰، با بررسی ژن CLCN1 در دو خانواده چینی مبتلا به MC، در اگزون ۸ این ژن جهش A298T را که باعث تبدیل اسیدآمینه آلانین به ترئونین می‌شود را شناسایی کردند.A298 در ارتباط بین دو مونومر کانال نقش دارد. این جهش به صورت اتوزومال غالب به ارث می‌رسد (۲۵).

Skalova و همکارانش در سال ۲۰۱۳ با بررسی ۵۱ بیمار مبتلا به MC جهش Y302C(تبدیل اسیدآمینه تیروزین به اسیدآمینه سیستئین) منجر به فرم مغلوب بیماری و W303R (تبدیل اسیدآمینه تریپتوفان به اسیدآمینه آرژنین) در ارتباط بین دو مونومر کانال نقش داشته و منجر به شکل غالب بیماری می‌شود را شناسایی کردند (۱۸).

متاسفانه تا به حال در ایران هیچ‌گونه بررسی ژنتیکی بر روی این بیماری صورت نگرفته است. یکی از دلایل این امر، محدود بودن تعداد نمونه های بیمار و دسترسی به آنها برای تهیه نمونه خون آنها است. از دیگر محدودیت های مطالعات مولکولی در این زمینه، دشوار بودن مراحل تشخیص بالینی بیماری توسط متخصصان مجرب مغز و اعصاب است. در این مطالعه اگزون ۸ ژن *CLCN1* به عنوان hot spot در ناهنجاری میوتونی غیر دیستروفیک شناسایی شده و به منظور مطالعه آن در بیماران ایرانی از روش PCR-SSCP استفاده شد. بعد از بررسی‌های انجام شده بین بیماران و گروه کنترل سالم هیچ شیفت باندی مشاهده نشد. همانطور که ذکر شد تا کنون در اگزون ۸ ژن کانال کلرید حدود ۱۲ جهش متفاوت در کدون‌های حفاظت شده گزارش شده است اما در بررسی که ما بر روی ۲۸ بیمار ایرانی مبتلا به میوتونی غیر دیستروفیک انجام دادیم، هیچ یک از این جهش ها در بیماران ما مشاهده نشد. در گذشته نیز چندین مطالعه که روی ژن CLCN1 انجام شد، با موفقیت همراه نبود که می توان دلیل آن را در وقوع جهش های بیماری زا در مناطق دیگر ژن نظیر توالی های تنظیمی، پروموتور و یا نواحی غیر کد کننده داخل ژنی دانست. علاوه بر این، طبق فرضیات جدید، نقش ژنوم خارج هسته ای مانند ژنوم میتوکندری را هم در بروز بیماری های عصبی- عضلانی نمی توان در نظر نگرفت. دلیل محکم این فرضیه نیز نقش بسیار مهم میتوکندری در تولید انرژی لازم برای فعالیت سلولهای عضلانی و به خصوص عملکرد کانال های یونی در این سلول ها است؛ بنابراین لازم است علاوه بر مطالعه روی تعداد بیشتر بیماران مراجعه کننده، شناسایی مناطق Hot spot دیگر در ژن *CLCN1* انجام شود و همچنین مطالعات گسترده تری روی ژنوم میتوکندری در بیماران ایرانی انجام شود.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-06-24]

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه یزد انجام گرفته است و مراتب امتنان خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه اعلام می‌داریم. از تمام بیماران رضایت‌نامه جهت این مطالعه دریافت شده است و از آنها بعلت همکاریشان قدردانی می‌شود.

منابع

1. Cannon SC. Pathomechanisms in channelopathies of skeletal muscle and brain. Annu Rev Neurosci. 2006;29:387-415.

2. Ivanova E, Dadali E, Fedotov V, Kurbatov S, Rudenskaya G, Proskokova T, et al. The spectrum of CLCN1 gene mutations in patients with nondystrophic Thomsen's and Becker's myotonias. Russian Journal of Genetics. 2012;48(9):952-61.

3. Sun C, Tranebjærg L, Torbergsen T, Holmgren G, Van Ghelue M. Spectrum of CLCN1 mutations in patients with myotonia congenita in Northern Scandinavia. European Journal of Human Genetics. 2001;9(12).

4. Koch MC, Steinmeyer K, Lorenz C, Ricker K, Wolf F, Otto M, et al. The skeletal muscle chloride channel in dominant and recessive human myotonia. Science. 1992;257(5071):797-800.

5. George AL, Crackower MA, Abdalla JA, Hudson AJ, Ebers GC. Molecular basis of Thomsen's disease (autosomal dominant myotonia congenita). Nature genetics. 1993;3(4):305-10.

6. George A, Sloan-Brown K, Fenichel G, Mitchell G, Spiegel R, Pascuzzi R. Nonsense and missense mutations of the muscle chloride channel gene in patients with myotonia congenita. Human molecular genetics. 1994;3(11):2071-2.

7. Kubisch C, Schmidt-Rose T, Fontaine B, Bretag AH, Jentsch TJ. ClC-1 chloride channel mutations in myotonia congenita: variable penetrance of mutations shifting the voltage dependence. Human molecular genetics. 1998;7(11):1753-60.

8. Lorenz C, Meyer-Kleine C, Steinmeyer K, Koch MC, Jentsch TJ. Genomic organization of the human muscle chloride channel CIC-1 and analysis of novel mutations leading to Becker-type myotonia. Human molecular genetics. 1994;3(6):941-6.

9. Lehmann-Horn F, Rüdel R. Molecular patho-physiology of voltage-gated ion channels. Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology, Volume 128: Springer; 1996. p. 195-268.

10. Lossin C, George Jr AL. Myotonia congenita. Advances in genetics. 2008;63:25-55.

11. Fahlke C, Rhodes TH, Desai RR, George AL. Pore stoichiometry of a voltage-gated chloride channel. Nature. 1998;394(6694):687-90.

12. Matthews E, Fialho D, Tan SV, Venance SL, Cannon SC, Sternberg D, et al. The non-dystrophic myotonias: molecular pathogenesis, diagnosis and treatment. Brain. 2010;133(Pt 1):9-22.

13. Pusch M. Myotonia caused by mutations in the muscle chloride channel gene CLCN1. Human mutation. 2002;19(4):423-34.

14. Tang C-Y, Chen T-Y. Physiology and pathophysiology of CLC-1: mechanisms of a chloride channel disease, myotonia. BioMed Research International. 2011;2011.

15. Fialho D, Schorge S, Pucovska U, Davies NP, Labrum R, Haworth A, et al. Chloride channel myotonia: exon 8 hot-spot for dominant-negative interactions. Brain. 2007;130(Pt 12):3265-74.

16. Suominen T, Schoser B, Raheem O, Auvinen S, Walter M, Krahe R, et al. High frequency of co-segregating CLCN1 mutations among myotonic dystrophy type 2 patients from Finland and Germany. J Neurol. 2008;255(11):1731-6.

17. Trip J, Drost G, Verbove DJ, van der Kooi AJ, Kuks JB, Notermans NC, et al. In tandem analysis of CLCN1 and SCN4A greatly enhances mutation detection in families with non-dystrophic myotonia. Eur J Hum Genet. 2008;16(8):921-9.

18. Liu XL, Huang XJ, Shen JY, Zhou HY, Luan XH, Wang T, et al. Myotonia congenita: novel mutations in CLCN1 gene. Channels (Austin). 2015;9(5):292-8.

19. Colding-Jørgensen E. Phenotypic variability in myotonia congenita. Muscle & nerve. 2005;32(1):19-34.

20. Simpson BJ, Height TA, Rychkov GY, Nowak KJ, Laing NG, Hughes BP, et al. Characterization of three myotonia-associated mutations of the CLCN1 chloride channel gene via heterologous expression. Human mutation. 2004;24(2):185.

21. Koty P, Pegoraro E, Hobson G, Marks H, Turel A, Flagler D, et al. Myotonia and the muscle chloride channel Dominant mutations show variable penetrance and founder effect. Neurology. 1996;47(4):963-8.

22. Trip J, Drost G, Verbove DJ, van der Kooi AJ, Kuks JB, Notermans NC, et al. In tandem analysis of CLCN1 and SCN4A greatly enhances mutation detection in families with non-dystrophic myotonia. European Journal of Human Genetics. 2008;16(8):921-9.

23. Bryant S, editor Muscle membrane of normal and myotonic goats in normal and low external chloride. FEDERATION PROCEEDINGS; 1962: FEDERATION AMER SOC EXP BIOL 9650 ROCKVILLE

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-06-24]

PIKE, BETHESDA, MD 20814-3998.

24. Pestronk A. Neuromuscular Disease Center. neuromuscular. wustl. edu. Accessed July; 2013.

25. Lakraj AA, Miller G, Vortmeyer AO, Khokhar B, Nowak RJ, DiCapua DB. novel Mutations in the cLcn1 Gene of Myotonia congenita: 2 case reports. The Yale journal of biology and medicine. 2013;86(1):101.

26. Plassart-Schiess E, Gervais A, Eymard B, Lagueny A, Pouget J, Warter J, et al. Novel muscle chloride channel (CLCN1) mutations in myotonia congenita with various modes of inheritance including incomplete dominance and penetrance. Neurology. 1998;50(4):1176-9.

27. Wu FF, Ryan A, Devaney J, Warnstedt M, Korade-Mirnics Z, Poser B, et al. Novel CLCN1 mutations with unique clinical and electrophysiological consequences. Brain. 2002; 125(11):2392-407.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-06-24]

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-06-24]

The study of mutation in exon 8 of *CLCN1* gene in Iranian non-dystrophic myotonia patients

Faezeh Hesami Zokai, MSc, Genetics Department of Biology, Science School, Yazd University, Yazd, Iran. F.zokaei1397@yahoo.com
__Mohammad Mahdi Heidari__, PhD, Molecular Genetics, Department of Biology, Science School, Yazd University, Yazd, Iran (Corresponding author). heidarimm@yazd.ac.ir
Mehri Khatami, PhD, Molecular Genetics, Department of Biology, Science School, Yazd University, Yazd, Iran. m.khatami@yazd.ac.ir
Shahriar Nafissi, MD, Department of Neurology, Medical Science, Tehran University, Tehran, Iran. S.naffisi@yahoo.com

Abstract

Background: Non-dystrophy myotonias (NDMs) have similar clinical signs of muscle weakness and congenital myotoniais typical example. This disease is caused by mutations in *CLCN1* gene. *CLCN1* gene has 23 exons and exon 8 is hotspot. Mutations in skeletal muscle chloride channel gene are associated with a group of clinically overlapping diseases by alterations in the excitability of the sarcolemma. The purpose of the study is to identify hotspot exon 8 mutations in Iranian non-dystrophic myotonic patients.
Methods: In this study, twenty eight Iranian sporadic patients with non-dystrophic myotonia analyzed for the mutation scanning in exon 8 of *CLCN1* gene by PCR-SSCP. DNA fragments showing abnormal banding patterns were sequenced for identification of exact mutations.
Results: We found no mutation in exon 8 of *CLCN1* genes.
Conclusion: Our study indicates no mutation in the *CLCN1* gene in Iranian non-dystrophic myotonia patients, but we suggest follow-up studies for finding the direct molecular relation of this gene with this disorder.

Keywords: Nondystrophic myotonia, Mutation, *CLCN1*, PCR-SSCP

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-06-24]