Archive of SID

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / پاییز ۱۳۸۷ / دوره ۱۰ / شماره ۳ (پی در پی ۲۷) / صفحات ۳۸ تا ۴۴

تحقیقی

جهش‌های شایع ژن CFTR در بیماران فیبروز کیستی استان مازندران

دکتر هاله اخوان نیاکی*[۱]، دکتر محمدرضا اسماعیلی دوکی[۲]، دکتر علی قابلی جویباری[۳]

۱- دکترای تخصصی بیولوژی سلولی و استادیار دانشگاه علوم پزشکی بابل، آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان کودکان امیرکلا. بابل. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۲- فوق تخصص گوارش و دانشیار دانشگاه علوم پزشکی بابل ، مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر کودکان دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۳- پزشک عمومی ، دانشگاه علوم پزشکی بابل.

چکیده

زمینه و هدف : *فیبروز کیستی شایع‌ترین بیماری ارثی در جمعیت سفیدپوستان می‌باشد که در اثر جهش در پروتئین تنظیم کننده عبور غشایی فیبروز کیستی (CFTR) رخ می‌دهد. نوع و توزیع جهش‌ها در بین کشورها و گروه‌های نژادی بسیار متغیر است. این مطالعه به منظور شناسایی جهش‌های دخیل در ایجاد بیماری فیبروز کیستی در استان مازندران انجام گردید.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی ۳۰ بیمار غیرخویشاوند مبتلا به فیبروز کیستی برای پنج جهش Delta F508 ، N1303K ، G542X، R347H و W1282X در ژن CFTR که به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان کودکان امیرکلا ارجاع شده بودند، طی سال‌های ۸۵-۱۳۸۳ با استفاده از روش Reverse Dot Blot غربال شدند. در این روش از محصولات PCR بیوتینیله شده برای دورگه‌گیری با چندین پروب مخصوص توالی نرمال یا جهش‌یافته مشخص که بر روی نوارهای Biodyne C قرار داده شدند، استفاده شد.*

یافته‌ها : *جهش Delta F508 ۲۱/۶ درصد از آلل‌های جهش یافته را تشکیل داد. چهار جهش دیگر مشاهده نشد. شش بیمار هموزیگوت و یک بیمار هتروزیگوت مرکب در جایگاه Delta F508 بودند.*

نتیجه‌گیری: *یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده هتروژنی بالای جهش‌های ژن CFTR در استان مازندران می‌باشد. با توجه به میزان نسبتاً پایین جهش‌های قابل تشخیص، لازم است تا مطالعات گسترده‌تری برای تشخیص مولکولی فیبروز کیستی در این استان انجام گیرد.*

کلید واژه‌ها: *فیبروز کیستی ، Delta F508 ، مازندران ، جهش ، CFTR*

* *نویسنده مسؤول : دکتر هاله اخوان نیاکی ، پست الکترونیکی : halehakhavan@yahoo.com*

نشانی : بابل ، بیمارستان کودکان امیرکلا ، آزمایشگاه ژنتیک ، تلفن : ۳۲۴۵۸۷۴ (۰۱۱۱) ، نمابر : ۳۲۴۰۶۵۶

وصول مقاله : ۸۷/۱/۲۵، پذیرش مقاله : ۸۷/۶/۱۸

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

فیبروز کیستی (Cystic Fibrosis) اختلالی مولتی سیستمیک توارثی کودکان و بالغین است که غالباً به‌صورت انسداد و عفونت مجاری هوایی و سوء هضم مواد غذایی و عوارض دیگر تظاهر می‌کند و به عنوان شایع‌ترین اختلال توارثی مغلوب و محدودکننده زندگی در میان سفیدپوستان شناخته شده است (۳-۱). اختلال در سطوح اپی‌تلیالی به عنوان غالب‌ترین عارضه این بیماری است و عامل اصلی تمام مشکلات بیمار است (۴).

فیبروز کیستی به عنوان مهم‌ترین عامل بیماری مزمن ریوی در کودکان است و عامل اکثر موارد نارسایی اگزوکرین پانکراس در اوایل زندگی است. همچنین عامل بسیاری از موارد از دست دادن نمک، پولیپ‌های بینی، سینوزیت، پرولاپس رکتوم، پانکراتیت، کله‌لیتیازیس و هایپرگلیسمی مرتبط با انسولین است. فیبروز کیستی ممکن است به صورت نارسایی رشد و به ندرت همراه با عامل سیروز و شکل‌های دیگر اختلالات کبدی ظاهر شود. لذا این بیماری در تشخیص افتراقی بسیاری از بیماری‌های کودکان مطرح می‌شود (۵).

میزان شیوع فیبروز کیستی در نژاد سفید یک از ۳۵۰۰ تولد زنده و در نژاد سیاه یک در ۱۷۰۰۰ تولد در آمریکا می‌باشد. میزان شیوع جهانی از یک مورد در هر ۳۷۷ تولد در بریتانیا تا یک مورد از ۹۰۰۰۰ تولد نژاد آسیایی در هاوایی آمریکا متغیر است. فیبروز کیستی در میان اروپایی‌های مرکزی و شمالی و همچنین در افرادی که از این مناطق مهاجرت می‌کنند، بسیار شایع است (۵و۶). فیبروز کیستی به صورت اتوزومال مغلوب به ارث می‌رسد. ژن مربوطه در لوکوس واحدی بر روی بازوی بلند کروموزوم ۷ قرار دارد و از ۲۷ اگزون تشکیل شده است (۷). این ژن کدکننده پروتئینی با ۱۴۸۰ آمینواسید است که به آن تنظیم‌کننده ترانس ممبران (CFTR) (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) گفته می‌شود. CFTR اساساً در سلول‌های اپی‌تلیال مجاری هوایی، دستگاه گوارش (شامل پانکراس و مجاری صفراوی)، غدد عرق و سیستم ادراری تناسلی تأثیر می‌گذارد. CFTR دارای کانال یونی است و فعالیت منظمی دارد که به علت جهش‌های مختلف دچار تغییراتی خواهد شد (۷).

بیش از ۱۰۰۰ جهش یا پلی‌مورفیسم به ژن CFTR نسبت داده شده است (۶). شایع‌ترین نوع جهش CFTR حذف سه نوکلئوتید در کدون ۵۰۸ و در نتیجه حذف یک فنیل‌آلانین در زنجیره آمینواسیدها است (ΔF508). این موتاسیون در جمعیت شمال اروپا شایع است و کمتر در جمعیت‌های دیگر مانند جنوب اروپا دیده می‌شود. تقریباً ۵۰ درصد افراد مبتلا به فیبروز کیستی در شمال اروپا هموزیگوت برای ΔF508 هستند. در مابقی بیماران جهش‌های متعددی مشاهده می‌شود و هیچ‌یک از آنها شیوع بیش از چند درصد را ندارند (۸).

با استفاده از ۳۰ نوع پروب که مربوط به جهش‌های مختلف است، ژنوتیپ ۸۰ درصد تا ۹۰ درصد آمریکایی‌های مبتلا به فیبروز کیستی قابل شناسایی است. با افزایش تعداد پروب‌ها تا ۷۰، بهبود امکان تشخیص جهش در تعداد کمی از بیماران تحقق می‌یابد. بنابراین در تمام کودکان مبتلا به فیبروز کیستی انجام تست DNA به طور روتین امکان‌پذیر نیست. در بعضی از موارد خاص، تعیین توالی نوکلئوتیدی ژن CFTR برای تشخیص ژنوتیپ لازم است (۷و۹و۱۰). بیماران فیبروز کیستی بسته به نوع جهش می‌توانند فنوتیپ‌های بسیار متنوعی را ظاهر سازند (۷و۹).

چندین جهش مانند ΔF508 ، G542X ، N1303K، W1282X در نقاط مختلف دنیا گزارش شده‌اند. در سفیدپوستان شمال اروپا ΔF508 از فراوانی ۷۰درصد برخوردار است، اما در جمعیت‌های عربی، هندی، ایرانی و ترک فراوانی آن بین ۱۳ تا ۴۴ درصد گزارش شده است (۲۱-۱۱).

گسترده‌ترین مطالعه‌ای که در ایران روی ۱۲۰ کروموزوم با استفاده از روش توالی‌یابی DNA (DNA sequencing) انجام گرفت، موفق به شناسایی ۵۳درصد آلل‌های جهش‌یافته در قالب ۲۰ جهش متفاوت شد (۱۵).

علاوه بر چهار جهش اشاره شده، جهش R347H نیز که در ترکیه (۱۸) و در یک مطالعه در ایران (۱۳) گزارش شده بود، انتخاب شد.

با توجه به دو مطالعه اولیه در ایران و مطالعاتی که در کشورهای همسایه از جمله ترکیه، هند، پاکستان و امارات متحده عربی و بحرین انجام شده بود، پنج جهش را برای

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ : توالی نوکلئوتیدی پروب‌های مورد استفاده

Probe name	Location in the CFTR gene	CFTR probe sequence
ΔF508-N	Exon10	5'-NH2-GAAACACCAAAGATGATA-3'
ΔF508-MUT	Exon10	5'-NH2-GGAAACACCAATGATATT-3'
G542X-N	Exon11	5'-NH2-TATAGTTCTTGGAGAAGGTG-3'
G542X-MUT	Exon11	5'-NH2-TATAGTTCTTTGAGAAGGTG-3'
W1282X-N	Exon20	5'-NH2-GCTTTCCTCCACTGTTG-3'
W1282X-MUT	Exon20	5'-NH2-CAACAGTGAAGGAAAGC-3'
N1303K-N	Exon21	5'-NH2-AGAAAAAACTTGGATCC-3'
N1303K-MUT	Exon21	5'-NH2-GGGATCCAACTTTTTTCT-3'
R347P-N	Exon7	5'-NH2-AATTGTTCTGCGCATGG-3'
R347P-MUT	Exon7	5'-NH2-CATTGTTCTGCCCATGGC-3'

بررسی در بیماران درنظر گرفتیم. این پنج جهش شامل R347H، ΔF508 ، G542X ، W1282X و N1303K بود. اکثر این جهش‌ها در سایر کشورهای جهان نیز به عنوان جهش‌های نسبتاً شایع گزارش شده‌اند (۱۱).

شناخت بهتر جهش‌های ژن CFTR علاوه بر تکمیل اطلاعات موجود در خصوص ژنتیک جمعیت، هم در تایید تشخیص بالینی بیماری و هم در تشخیص ناقلین در خانواده افراد مبتلا به این بیماری کاربرد دارد. همچنین تشخیص پیش از تولد بیماری در خانواده‌های درگیر را میسر می‌سازد.

این مطالعه به منظور تعیین فراوانی جهش‌های شایع ژن CFTR در افراد مبتلا به فیبروز کیستی در استان مازندران با استفاده از روش RDB انجام پذیرفت.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی ۱۷ پسر و ۱۳ دختر مبتلا به فیبروز کیستی اهل استان مازندران که بین ۱/۵ ماه تا ۱۱ سال سن داشتند و به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان کودکان امیرکلا بابل وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بابل طی سال‌های ۸۵-۱۳۸۳ ارجاع شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. پس از توضیح شفاهی، والدین همه بیماران فرم رضایت‌نامه کتبی شرکت در تحقیق را مطالعه و امضاء نمودند. معیارهای تشخیصی بیماران بر اساس دو تست عرق مثبت (۶۰mmol/l) و یافته‌های تیپیک ریوی-گوارشی مانند اختلال تنفسی حاد یا مداوم، اختلال در رشد، مدفوع غیرطبیعی و ایلئوس مکونیوم بود. روش نمونه‌گیری به صورت غیرتصادفی آسان بود.

استخراج DNA

بعد از جمع‌آوری نمونه خون محیطی ۳۰ کودک مبتلا به فیبروز کیستی که طی دو نسل متمادی در استان مازندران متولد شده‌اند، DNA به‌روش Alkalin Lysis استخراج گردید.

تکثیر DNA به روش PCR

اگزون‌های ۷، ۱۰، ۱۱، ۲۰ و ۲۱ با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به کمک ترموسایکلر Techgene (از کمپانی Techne انگلستان) تکثیر شدند. تکثیر هر اگزون در حجم ۵۰µl با حضور ۲۰۰µM dNTPs ، ۱/۵ mM MgCl2 ، ۲۰۰nM از هر یک از پرایمرهای بیوتینیله، ۱/۵ Units Taq DNA Polymerase انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول یک آمده است. شرایط تکثیر DNA در ترموسایکلر ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳ دقیقه، سپس ۳۸ بار ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۵۴ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و نهایتاً ۷۲درجه سانتی‌گراد ۴ دقیقه بود.

تعیین نوع جهش با استفاده از روش reverse dot blot

روش Reverse dot blot (RDB) یکی از روش‌های مهم در تعیین جهش‌های شایع در انسان است. این روش ساده، سریع، قابل اطمینان، دقیق، غیررادیواکتیو و نسبتاً ارزان است.

اصول و جزئیات این روش توسط Chehab و همکارانش توصیف شده است (۲۲). محصولات PCR بیوتینیله جهت دورگه‌گیری (hybridization) با پروب‌های مخصوص توالی نرمال و یا جهش‌یافته جایگاه‌های R347H، ΔF508، G542X، W1282X و N1303K ژن CFTR که بر روی نوارهای Biodyne C قرار داده شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند. توالی پروب‌های طبیعی و جهش‌یافته در جدول ۲ نشان داده شده است. پس از افزودن پراکسیداز کنژوگه با استرپتاویدین، واکنش شیمیایی رنگ‌زا در حضور تترامتیل بنزیدین و آب اکسیژنه اجازه رویت لکه‌های آبی رنگ و در نتیجه تشخیص چگونگی دورگه‌گیری محصول PCR با هر یک از پروب‌ها را داد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲: توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده

Cystic fibrosis mutations tested	Cystic fibrosis primer name	Cystic fibrosis primer sequence
R347H	CF7-F	5'-Biotin-AGACCATGCTCAGATCTTCCAT-3'
	CF7-R	5'-Biotin-GCAAAGTTCATTAGAACTGATC-3'
ΔF508	CF10-F	5'-Biotin-GCAGAGTACCTGAAACAGGA-3'
	CF10-R	5'-Biotin-CATTCACAGTAGCTTACCCA-3'
G542X	CF11-F	5'-Biotin-CAACTGTGGTTAAAGCAATAGTGT-3'
	CF11-R	5'-Biotin-GCACAGATTCTGAGTAACCATAAT-3'
W1282X	CF20-F	5'-Biotin-TGGGCCTCTTGGGAAGAACT-3'
	CF20-R	5'-Biotin-CTCACCTGTGGTATCACTCC-3'
N1303K	CF21-F	5'-Biotin-GGTAAGTACATGGGTGTTTC-3'
	CF21-R	5'-Biotin-CAAAAGTACCTGTTGCTCCA-3'

یافته‌ها

فنوتیپ بیماران

در این مطالعه ۳۰ بیمار (حامل جمعاً ۶۰ آلل جهش‌یافته) که به ۳۰ خانواده غیرخویشاوند تعلق داشت، بررسی شد. از این ۳۰ بیمار ۱۷ نفر مذکر و ۱۳ نفر مونث بودند که بین ۱/۵ماه تا ۱۱ سال سن داشتند. همه خانواده‌ها اهل استان مازندران بودند. ۵۰ درصد از بیماران حاصل ازدواج فامیلی بودند که درجه خویشاوندی بین والدین آنها اکثراً درجه ۳ بود. همه بیماران علایم تنفسی حاد یا مداوم داشتند. اکثر آنان اختلال در رشد و سوء تغذیه (۲۶ بیمار) و مدفوع غیرطبیعی (۲۵بیمار) داشتند.

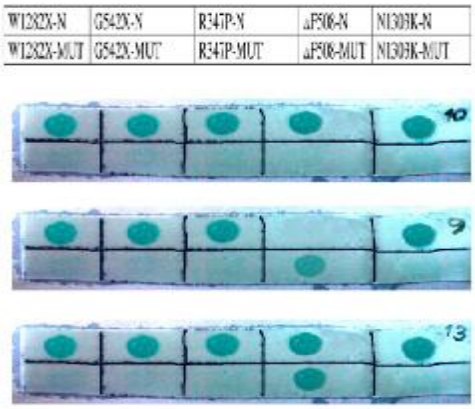
تعیین ژنوتیپ

همه بیماران برای پنج جایگاه جهش R347H، ΔF508، G542X، W1282X و N1303K مورد مطالعه قرار گرفتند.

تنها جهش در جایگاه ΔF508مشاهده شد و چهار جایگاه دیگر در هیچ‌یک از بیماران مشاهده نشد. جهش ΔF508، ۲۱/۶ درصد از آلل‌ها (۱۳ آلل) را تشکیل می‌داد. شش بیمار از نظر وجود آلل جهش‌یافته ΔF508 هموزیگوت بودند و یک بیمار هتروزیگوت مرکب (Compound Heterozygote) بود که یک آلل ΔF508 برای او یافت شد و آلل دیگر وی ناشناخته ماند. شکل یک نتیجه آزمایش reverse dot blot را برای سه بیمار نشان می‌دهد. بیمار شماره ۱۰ فاقد جهش در جایگاه‌های مورد مطالعه می‌باشد. بیمار شماره ۹ در جایگاه ΔF508 دارای دو آلل جهش یافته و در نتیجه هموزیگوت برای جهش ΔF508 است. بیمار شماره ۱۳ هتروزیگوت مرکب برای جایگاه ΔF508 است.

رابطه ژنوتیپ – فنوتیپ

جدول ۳ فنوتیپ هفت بیماری که دارای جهش در جایگاه ΔF508 بودند را نشان می‌دهد. همه این بیماران علایم تنفسی حاد یا مداوم و اختلال رشد را نشان می‌دهند. شش بیمار مدفوع غیرطبیعی و چهار بیمار ایلئوس مکونیوم داشتند. سایر اختلالات مانند بیماری کبدی، ادم و هایپوپروتئینمی، پرولاپس رکتوم و دیابت ملیتوس با فراوانی کمتر (یک یا دو مورد) در این بیماران مشاهده شد.



شکل ۱ : نتایج آزمایش reverse dot blot برای برخی بیماران مبتلا به فیبروز کیستی

با مقایسه نوارهای بیماران فوق با دیاگرام بالای صفحه مشاهده می‌شود که برای بیمار شماره ۱۰ دورگه‌گیری تنها با پروب‌های طبیعی انجام گرفته است و در نتیجه این فرد واجد آلل‌های طبیعی و فاقد جهش در جایگاه‌های بررسی شده است. برای بیمار شماره ۹ دورگه‌گیری با پروب طبیعی ΔF508 صورت نگرفته است، اما با پروب جهش‌یافته ΔF508 و سایر پروب‌های طبیعی صورت گرفته است. این بیمار در جایگاه ΔF508 دارای دو آلل جهش یافته و در نتیجه هموزیگوت برای جهش ΔF508 است. برای بیمار شماره ۱۳ دورگه‌گیری با هر دو پروب طبیعی و جهش‌یافته در جایگاه ΔF508 صورت گرفته است و در نتیجه این بیمار هتروزیگوت مرکب برای آلل ΔF508 است.

جدول ۳ : فنوتیپ هفت بیمار دارای آلل جهش‌یافته ΔF508

علایم بالینی	تعداد موارد درگیری
علایم تنفسی حاد یا مداوم	۷
اختلال رشد	۷
مدفوع غیر طبیعی	۶
ایلئوس مکونیوم	۴
بیماری کبدی	۲
ادم و هایپوپروتئینمی	۲
پرولاپس رکتوم	۱
دیابت ملیتوس	۱

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴ : مقایسه فراوانی جهش‌های ΔF508 ، W1282X ، N1303K ، G542X و R347H در اروپا و شمال آفریقا با ایران و برخی کشورهای همسایه

ناحیه یا کشور	نوع جهش					منبع
	ΔF508	W1282X	N1303K	G542X	R347H	
اروپا و شمال آفریقا	۶۶/۸	۱	۱/۶	۲/۶	۰/۸-۳/۶	۲۳
ترکیه	۲۴/۵-۲۷	گزارش‌نشده	۲/۹-۳/۷	۲/۶-۴/۹	۳-۳/۶	۱۸و۲۳و۲۴
عربستان	۱۳	گزارش‌نشده	۲	گزارش‌نشده	گزارش‌نشده	۲۹و۳۰
هند	۱۹	گزارش‌نشده	گزارش‌نشده	گزارش‌نشده	گزارش‌نشده	۲۸
ایران	۱۶-۱۷/۸	۰-۴	۴/۳-۵/۵	۱/۶-۳/۶	۱/۶-۳/۶	۱۳-۱۶
مازندران	۲۱/۶	۰	۰	۰	۰	مطالعه حاضر

بحث

پنج جهش شایع ژن CFTR در ۳۰ بیمار فیبروزکیستی غیرخویشاوند ساکن استان مازندران شامل ۱۳ پسر و ۱۷ دختر ۱/۵ ماهه تا ۱۱ سال که همگی علایم تنفسی حاد یا مداوم و اختلال در رشد را نشان می‌دادند، با استفاده از روش Reverse Dot Blot بررسی شدند. جهش ΔF508 با فراوانی ۲۱/۶ درصد (۱۳ آلل) در این بیماران مشاهده شد که ۱۲ آلل به صورت هموزیگوت و یک آلل به صورت هتروزیگوت مرکب ظاهر شدند. سایر جهش‌ها شامل W1282X، N1303K، G542X و R347H در این بیماران مشاهده نشد. این جهش‌ها در اکثر کشورهای جهان (۱۱و۱۲) در کشورهای همسایه ایران (۱۸و۲۷-۲۳) و در سایر نقاط ایران (۱۶-۱۳) گزارش شده‌اند. جدول ۴ فراوانی این جهش‌ها را در اروپا وآفریقا، برخی کشورهای همسایه ایران، مطالعات قبلی در ایران و این مطالعه نشان می‌دهد.

یک مطالعه وسیع روی ۲۷۱۷۷ کروموزم فیبروز کیستی از ۲۹کشور اروپایی و سه کشور شمالی آفریقا نشان داد که شایع‌ترین جهش‌ها شامل ΔF508 (۶۶/۸ درصد)، G542X (۲/۶درصد)، N1303K (۱/۶درصد)، G551D (۱/۵درصد) و W1282X (یک درصد) بوده است (۲۳). ΔF508 که در اولین مطالعه فیبروز کیستی در ایران بیشترین فراوانی (۱۶/۲ درصد) را داشته است، در یک مطالعه در ترکیه از فراوانی ۲۷ درصدی برخوردار بوده است (۲۴). این جهش در همه نژادها حاضر اما با فراوانی‌های متفاوت گزارش شده است. جهش W1282X که در کشورهای مدیترانه‌ای و شمال آفریقا گزارش گردید (۲۳)، در یک مطالعه در ایران دومین فراوانی (۴ درصد) را داشت (۱۳) و در مطالعه‌ای دیگر در هیچ‌یک از ۷۰ کروموزوم مورد مطالعه یافت نشد (۱۶). این جهش در کشورهای همسایه گزارش شده است (۱۱). جهش N1303K در اکثر کشورهای غربی و مدیترانه به‌خصوص در تونس که حدود ۱۷/۲ درصد از آلل‌های فیبروز کیستی را تشکیل می‌دهد، یافت شده است (۱۱و۲۳و۲۸). این جهش در مطالعات قبلی در ایران در حدود ۴/۳ تا ۵/۵ درصد گزارش شده بود (۱۴و۱۶) و در ترکیه ۳/۷ درصد از آلل‌ها را تشکیل می‌داد (۱۸). جهش G542X بین ۱/۶ تا ۳/۶ درصد از آلل‌ها را در مطالعات مختلف در ایران تشکیل می‌داد (۱۶-۱۳) و در کشورهای همسایه از جمله ترکیه نیز گزارش شده است (۱۱). جهش R347H اگرچه تاکنون تنها یک‌بار در ایران گزارش شده است (۱۳)، با توجه به برخی مطالعات در منطقه که این جهش را گزارش کرده بودند، انتخاب شد (۱۸). در این مطالعه تنها جهش ΔF508 در میان بیماران فیبروز کیستی یافت شد که در ۲۱/۶۶ درصد از کروموزم‌های مبتلایان (۱۳ آلل) وجود داشت. این فراوانی بسیار کمتر از جمعیت‌های اروپایی (۶۰ درصد) بود، اما قابل مقایسه با چندین کشور غرب آسیا و شمال آفریقا (الجزیره ۲۰درصد، لبنان ۳۷ درصد، تونس ۱۸ درصد، پاکستانی مقیم انگلیس ۱۹درصد، ترکیه ۲۴ درصد، هند ۱۹درصد و عربستان سعودی ۱۳ درصد) می‌باشد. فراوانی ΔF508 در ایران و عربستان سعودی از کمترین مقادیر گزارش شده در میان کشورها است (۱۱و۲۳و۲۷-۲۵و۲۹و۳۰). با توجه به حجم نمونه مورد مطالعه، عدم حضور چهار جهش دیگر در صورتی که فراوانی این جهش‌ها نسبتاً کم باشد، توجیه‌پذیر است.

www.SID.ir

Archive of SID

همه بیماران علایم تنفسی حاد یا مداوم و بیش از ۸۰ درصد آنان اختلال در رشد، سوء تغذیه و مدفوع غیرطبیعی داشتند. تنها ۲۳/۳ درصد بیماران (۷ نفر) ایلئوس مکونیوم و انسداد گوارشی داشتند که اکثر آنان (۴ نفر) دارای جهش ΔF508 به صورت هموزیگوت بودند. خطر بالای ابتلا به ایلئوس مکونیوم در افراد دارای جهش ΔF508 در چندین مطالعه دیگر گزارش شده است (۳۲-۳۰). بیماری کبدی واضح که حدود ۲ تا ۳ درصد از کودکان و ۵ درصد از بالغین را درگیر می‌کند، در ۲۵ درصد از بیماران فیبروز کیستی رخ می‌دهد (۳۳). در این مطالعه ۴ کودک (۱۳/۳ درصد) دچار بیماری کبدی بودند که دو نفر از آنها برای جهش ΔF508 هموزیگوت بودند.

بررسی‌های اخیر جهش‌های ژن CFTR در ایران حاکی از تنوع زیاد جهش‌ها در ایران است. به طوری که در یک مطالعه برای ۶۴ کروموزوم، در مجموع ۲۰ جهش متفاوت مشاهده شد (۱۶). با توجه به ناهمگونی جمعیت در شهرستان‌های استان مازندران و نیز تنوع علایم بیماری، شناخت اپیدمیولوژی ملکولی بیماری فیبروز کیستی در این استان می‌تواند، کمک شایانی به تشخیص بالینی، مشاوره و تشخیص پیش از تولد نماید. این مطالعه اولین مطالعه در ایران است که در آن از روش Reverse Dot Blot برای غربالگری هم‌زمان چندین جهش در بیماران فیبروز کیستی استفاده شد. با توجه به گستردگی طیف جهش‌ها در ایران، این روش می‌تواند در مرحله بعدی برای غربالگری تعداد بیشتری جهش در استان مازندران مورد استفاده قرارگیرد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه و سایر مطالعات در ایران می‌تواند گویای ناهمگونی بالای جهش‌های ژن CFTR در ایران و استان مازندران باشد. با توجه به میزان نسبتاً پایین جهش‌های قابل تشخیص در این استان و نیز تنوع علایم بیماری، لازم است تا مطالعات گسترده‌تری برای تشخیص مولکولی و ثبت فنوتیپ‌های مرتبط با آن انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه دوره پزشکی عمومی آقای علی قابلی جویباری بود. نویسندگان از کلیه بیماران و والدین آنها که امکان انجام این مطالعه بدون رضایت و همکاری آنها مقدور نبود، کمال تشکر را دارند.

References

1) Welsh MJ, Tsui L, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. (eds). The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7th. New York. McGraw-Hill. 1995; pp:3799-3876.

2) Cutting GR. Cystic fibrosis. In: Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RD. (eds). Emery and Rimoin's Principals and Practice of Medical Genetics. London. Churchill-Livingston. 1997; pp: 2685-2717.

3) Scotet V, Gillet D, Duguépéroux I, Audrézet MP, Bellis G, Garnier B, et al. Spatial and temporal distribution of cystic fibrosis and of its mutations in Brittany, France: a retrospective study from 1960. Hum Genet. 2002;111(3):247-54.

4) Welsh MJ, Fick RB. Cystic fibrosis. J Clin Invest. 1987; 80(6): 1523-1526.

5) Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Mechanisms of disease cystic fibrosis. N Engl J Med. 2005; 352(19): 1992-2001.

6) Cystic Fibrosis Foundation. Patient registry annual data report 2003. Bethesda MD: Cystic Fibrosis Foundation; 2003.

7) Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. Science. 1989;245(4922):1073-80.

8) [No authors listed]. Gradient of distribution in Europe of the major CF mutation and of its associated haplotype. European Working Group on CF Genetics (EWGCFG). Hum Genet. 1990; 85(4):436-45.

9) Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med. 2003;168(8):918-51.

10) Ratjen F, Döring G. Cystic fibrosis. Lancet. 2003; 61(9358):681-9.

11) Bobadilla JL, Macek M Jr, Fine JP, Farrell PM. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations--correlation with incidence data and application to screening. Hum Mutat. 2002; 19(6):575-606.

12) Lao O, Andrés AM, Mateu E, Bertranpetit J, Calafell F. Spatial patterns of cystic fibrosis mutation spectra in European populations. Eur J Hum Genet. 2003;11(5):385-94.

13) Jalalirad M, Houshmand M, Mirfakhraie R, Goharbari MH, Mirzajani F. First study of CF mutations in the CFTR gene of Iranian patients: detection of DeltaF508, G542X, W1282X, A120T, R117H, and R347H mutations. J Trop Pediatr. 2004; 50(6):359-61.

14) Naghizadeh R, Elahi E. Determination of the frequency of the ΔF508 mutation amongst Iranian cystic fibrosis patients and the detection of carriers of this mutation using the ARMS-PCR protocol. Med J Islam Repub Iran. 1999; 16:278-286.

www.SID.ir

Archive of SID

15) Elahi E, Khodadad A, Kupershmidt I, Ghasemi F, Alinasab B, Naghizadeh R, et al. A haplotype framework for cystic fibrosis mutations in Iran. J Mol Diagn. 2006;8(1):119-27.

16) Alibakhshi R, Zamani M. Mutation analysis of CFTR gene in 70 Iranian cystic fibrosis patients. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2006;5(1):3-8.

17) Ashavaid TF, Kondkar AA, Dherai AJ, Raghavan R, Udani SV, Udwadia ZF, et al. Application of multiplex ARMS and SSCP/HD analysis in molecular diagnosis of cystic fibrosis in Indian patients. Mol Diagn. 2005;9(2):59-66.

18) Yilmaz E, Erdem H, Ozgüç M, Coşkun T, Ozçelik U, Göçmen A, Ozalp I. Study of 12 mutations in Turkish cystic fibrosis patients. Hum Hered. 1995;45(3):175-7.

19) Kanavakis E, Tzetis M, Antoniadi T, Traeger-Synodinos J, Doudounakis S, Adam G, et al. Mutation analysis of ten exons of the CFTR gene in Greek cystic fibrosis patients: characterization of 74.5% of CF alleles including one novel mutation. Hum Genet. 1995;96(3):364-6.

20) Kambouris M, Banjar H, Moggari I, Nazer H, Al-Hamed M, Meyer BF. Identification of novel mutations in Arabs with cystic fibrosis and their impact on the cystic fibrosis transmembrane regulator mutation detection rate in Arab populations. Eur J Pediatr. 2000;159(5):303-9.

21) Eskandarani HA. Cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations in Bahrain. J Trop Pediatr. 2002;48(6):348-50.

22) Chehab FF, Wall J. Detection of multiple cystic fibrosis mutations by reverse dot blot hybridization: a technology for carrier screening. Hum Genet. 1992;89(2):163-8.

23) Estivill X, Bancells C, Ramos C. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. The Biomed CF Mutation Analysis Consortium. Hum Mutat. 1997;10(2):135-54.

24) Hundrieser J, Bremer S, Peinemann F, Stuhrmann M, Hoffknecht N, Wulf B, et al. Frequency of the F508 deletion in the CFTR gene in Turkish cystic fibrosis patients. Hum Genet. 1990; 85(4):409-10.

25) Kabra SK, Kabra M, Lodha R, Shastri S, Ghosh M, Pandey RM, et al. Clinical profile and frequency of delta f508 mutation in Indian children with cystic fibrosis. Indian Pediatr. 2003; 40(7):612-9.

26) Banjar H, Kambouris M, Meyer BF, al-Mehaidib A, Mogarri I. Geographic distribution of cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations in Saudi Arabia. Ann Trop Paediatr. 1999; 19(1):69-73.

27) Banjar H. Geographic distribution of cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations in Saudi Arabia. East Mediterr Health J. 1999; 5(6):1230-5.

28) Messaoud T, Bel Haj Fredj S, Bibi A, Elion J, Férec C, Fattoum S. [Molecular epidemiology of cystic fibrosis in Tunisia.] Ann Biol Clin (Paris). 2005;63(6):627-30. [Article in French]

29) Kilinç MO, Ninis VN, Dağli E, Demirkol M, Ozkinay F, Arikan Z, et al. Highest heterogeneity for cystic fibrosis: 36 mutations account for 75% of all CF chromosomes in Turkish patients. Am J Med Genet. 2002;113(3):250-7.

30) Desgeorges M, Mégarbané A, Guittard C, Carles S, Loiselet J, Demaille J, et al. Cystic fibrosis in Lebanon: distribution of CFTR mutations among Arab communities. Hum Genet. 1997; 100(2):279-83.

31) Navarro H, Kolbach M, Repetto G, Guiraldes E, Harris P, Foradori A, et al. [Correlation between phenotype and genotype in a group of patients with cystic fibrosis.] Rev Med Chil. 2002; 130(5):475-81. [Article in Spanish]

32) Feingold J, Guilloud-Bataille M. Genetic comparisons of patients with cystic fibrosis with or without meconium ileus. Clinical Centers of the French CF Registry. Ann Genet. 1999; 42(3):147-50.

33) Akata D, Akhan O. Liver manifestations of cystic fibrosis. Eur J Radiol. 2007;61(1):11-7.

www.SID.ir