Archive of SID

REVIEW ARTICLE

Genetics of Phenylketonuria in Iran: A Review Study

Sima Binaafar[1],
Nejat Mahdieh[2]

[1] Msc in Biology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
[2] Assistant Professor, Cardiogenetic Research Laboratory, Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received August 24, 2016; Accepted November 14, 2016)

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017

Abstract

Background and purpose: Phenylketonuria (PKU), a genetic disorder with an autosomal recessive pattern of inheritance, is mainly due to phenyalanine hydroxylase deficiency. In Iran, many studies have investigated the genetics of this disease among different populations. This study aimed to report the frequencies of the mutations for each population as determined in different studies.

Materials and methods: The studies that were published during 2003-2015 in online databases including PubMed, ISI Web of Science, SCOPUS, Science Direct, SID, Wiley Online Library, and Elsevier were searched. To this aim, a combination of the following keywords was employed: 'phenylketonuria', 'phenylketonuria + Iran', 'mutation + phenylketonuria + Iran', and 'phenylketonuria + genetics and Iran'.

Results: Totally, 11 studies were on the genetics of PKU. According to the results, 53 mutations were reported in different populations of Iran. Nonsense, deletion, missense, and splice-site mutations, were detected in 6, 6, 28, and 30 cases, respectively. Furthermore, IVS10-11G>A and p.Pro281Leu, p.Gln383Ter and IVS10-11G>A, and p.Arg252Trp were found to be the most prevalent mutations in Azerbayjan and Kermanshah, Khorasan, and Isfahan, repectively. Additionally, p.Gln375Arg and p.Gln383Ter were the two mutations observed in Khuzestan and Khorasan for the first time.

Conclusion: Considering the prevalence of consanguineous marriage in Iran, determining the common PAH gene mutations is important for designing screening panels.

Keywords: gene mutations, genetics, iranian populations, pah, phenylketonuria

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(147): 446-455 (Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

مروری

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره ۱۴۷ فروردین سال ۱۳۹۶ (۴۵۵-۴۴۶)

ژنتیک فنیل‌کتونوری در ایران: مرور مطالعات گذشته

سیما بینافر[۱]
نجات مهدیه[۲]

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017

چکیده

سابقه و هدف: فنیل‌کتونوری که بیماری ژنتیکی با وراثت مغلوب اتوزومی است، به‌طور عمده به‌دلیل نقص آنزیم کبدی فنیل‌آلانین هیدروکسیلاز رخ می‌دهد. تاکنون مطالعات متعددی بر روی ژنتیک این بیماری در جمعیت‌های مختلف ایرانی انجام شده است. در این پژوهش، فراوانی جهش‌های گزارش‌شده در هر منطقه بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: مقالات منتشرشده از سال ۱۳۸۲ تا ماه مهر سال ۱۳۹۴ در پایگاه‌های اطلاعاتی Pubmed، Science Direct، Wiley Online Library، Elsevier و SID به کمک واژه‌های فنیل‌کتونوری، فنیل‌کتونوری + ایران، جهش + فنیل‌کتونوری + ایران، فنیل‌کتونوری و ژنتیک + فنیل‌کتونوری، برای بررسی انتخاب شدند.

یافته‌ها: به‌طور کلی، ۱۱ مقاله منطبق با معیارهای این مطالعه بر روی ژنتیک بیماری فنیل‌کتونوری منتشر شده بود. تعداد ۵۳ جهش مختلف در ژن فنیل‌آلانین هیدروکسیلاز (PAH) در اقوام مختلف ایرانی گزارش شده است. تعداد جهش‌های بدمعنی (Missense) و پردازشی (Splicing) به‌ترتیب ۲۸ و ۱۳ مورد و تعداد جهش‌های حذفی (Deletion) و بی‌معنی (Nonsense) هر کدام ۶ مورد بود. جهش‌های IVS10-11G>A و p.Pro281Leu در آذربایجان و کرمانشاه، جهش‌های p.Gln383Ter و IVS10-11G>A در خراسان و جهش p.Arg252Trp در اصفهان شایع بودند. جهش‌های p.Gln375Arg در خوزستان و p.Gln383Ter در خراسان برای اولین بار گزارش شدند.

استنتاج: شناسایی جهش‌های ژن PAH به‌ویژه جهش‌های بومی هر خطه کشور با توجه به رواج ازدواج خویشاوندی در آن، برای طراحی برنامه غربالگری ضرورت ویژه‌ای دارد.

واژه‌های کلیدی: جمعیت‌های ایرانی، جهش ژنی، ژنتیک، فنیل‌آلانین هیدروکسیلاز، فنیل‌کتونوری

مقدمه

فنیل‌کتونوری (Phenylketonuria: PKU)، یک اختلال شایع متابولیکی با الگوی وراثتی مغلوب اتوزومی است که نخستین بار در سال ۱۹۳۴ معرفی گردید (۲،۱). فراوانی این خطای ذاتی متابولیسم در بین سفیدپوستان برابر ۱ به ۱۰۰۰۰ و در جمعیت ایرانی با فراوانی ۱ به ۸۰۰۰-۶۰۰۰ گزارش شده است (۴،۳). البته آمارهای منطقه‌ای در جمعیت ایرانی با توجه به رواج ازدواج فامیلی، بروز نسبتاً بالای ۱ به ۳۶۲۷ تا ۱ به ۴۶۹۸ در استان فارس را نشان می‌دهد (۶،۵).

افراد مبتلا به این اختلال در بدو تولد فاقد علامت ظاهری می‌باشند و در صورت عدم تشخیص و درمان به‌هنگام تظاهرات بالینی از جمله: میکروسفالی، صرع، بوی خاص بدن (Musty body odor)، کاهش رنگدانه پوست، اگزما، کم‌توانی شدید ذهنی، مشکلات رفتاری و همچنین تغییرات ساختاری مغز را نشان خواهند داد. به‌طور عمده، بیماری PKU به‌دلیل نقص آنزیم کبدی فنیل‌آلانین

مولف مسئول: نجات مهدیه– تهران: دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات ژنتیک قلب و عروق شهید رجایی، آزمایشگاه کاردیوژنتیک Email: nmahdieh@gmail.com

۱. کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران

۲. استادیار آزمایشگاه کاردیوژنتیک، مرکز تحقیقات ژنتیک قلب و عروق شهید رجایی، مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۷/۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۸/۲۴

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017

هیدروکسیلاز (PAH; EC1.14.16.1) و نیز با شیوع کمتر در برخی موارد به‌دلیل کمبود تتراهیدروبیوپترین ناشی از نقص بیوسنتز فعالیت آنزیم دی‌هیدروفولات ردوکتاز پدید می‌آید. نقص فنیل‌آلانین هیدروکسیلاز، تبدیل فنیل‌آلانین به تیروزین را دچار مشکل می‌کند و طیف گسترده فنوتیپی را سبب می‌گردد. در نتیجه‌ی این نقص، فنیل‌آلانین تجمع یافته و به فنیل پیرورویک اسید و دیگر متابولیت‌ها تبدیل می‌گردد که در ادرار وارد می‌شوند. از سوی دیگر، عدم سنتز تیروزین، سبب عدم ایجاد رنگدانه ملانین می‌شود و درنتیجه با علائمی از قبیل فنوتیپ موهای بور و چشمان آبی، فقدان رنگدانه در مو، چشم همراه می‌گردد. تصویرنگاری به روش تشدید مغناطیسی (Magnetic Resonance Imaging: MRI)، شدت بالای Dysmyelination در ماده سفید اطراف بطن را نشان می‌دهد (۷).

محققان از دیرباز، براساس معیارهایی مانند: سطح پلاسمایی، تحمل و همچنین محدوده امن سطح فنیل‌آلانین به دسته‌بندی این بیماری پرداخته‌اند. گروهی از محققان (۱۹۹۸)، این بیماری را در چهار دسته شامل: Classic PKU، Moderate PKU، Mild PKU و Mild hyperphenylalaninemia قرار داده‌اند. در سال ۲۰۱۴، Camp و همکاران دسته‌بندی جدیدی از این بیماری را با توجه به سطح فنیل‌آلانین قبل از درمان (Pretreatment Phe level)، میزان فنیل‌آلانین و فنیل‌آلانین/تیروزین در نوزاد (Phe and Phe:Tyr ratio in newborn period) و تحمل فنیل‌آلانین (Phe tolerance)، ارائه دادند (جدول شماره ۱) (۸).

جدول شماره ۱: تقسیم‌بندی بیماری فنیل‌کتونوری (Camp و همکاران در سال ۲۰۱۴) (۸)

احتمال پاسخ به BH4	ژنوتیپ PAH	میزان تحمل فنیل‌آلانین: بالاتر از ۵ سال	۲-۵ سال تا	نوزاد < ۱ سال (mg/kg/day)	نرخ فنیل‌آلانین و فنیل‌آلانین/تیروزین در نوزاد (غربالگری نوزاد / طیف سنجی جرمی پشت سر هم)[2]	سطح فنیل‌آلانین قبل از درمان (سنتی—اصلاح‌شده)[1]	اختلالات مرتبط با فنیل‌آلانین
بسیار زیاد	–	متغیر	متغیر	متغیر	Phe ۲-۳۵ mg/dL (۱۲۰-۲۱۲۰ µmol/L) (some normal)	نرمال به بالا[3]	نقایص تتراهیدروبیوپترین
نقایص PAH نیازمند درمان							
کم	۲ جهش کلاسیک (اغلب نول)	<۱۲ mg/kg/day	<۲۰ mg/kg/day ۲۵۰-۳۵۰ mg/day	۲۵-۴۵ mg/kg (۱۳۰-۳۳۰ mg/day)	Phe ≥۷mg/dL(≥۴۲۰ µmol/L); Phe:Tyr >۵	>۱۲۰۰ µmol/L (>۲۰ mg/dL)	PKU کلاسیک
کم	کلاسیک + متوسط یا ۲ جهش متوسط	۱۲-۱۸ mg/kg/day	۲۰-۲۵ mg/kg/day ۳۵۰-۴۰۰ mg/day	۴۵-۵۰ mg/kg	محدودیت اطلاعات	۹۰۰-۱۲۰۰ µmol/L (۱۵-۲۰ mg/dL)	PKU متوسط
متوسط	کلاسیک، متوسط، یا ملایم + ۱ جهش ملایم PAH	>۱۸ mg/kg/day	۲۵-۵۰ mg/kg/day ۴۰۰-۶۰۰ mg/day	۵۵ mg/kg	محدودیت اطلاعات	۶۰۰-۹۰۰ µmol/L (۱۰-۱۵ mg/dL)	PKU ملایم
زیاد	کلاسیک، متوسط، یا ملایم + ۱ جهش ملایم PAH	No data	>۵۰ mg/kg/day	۷۰ mg/kg	محدودیت اطلاعات	۳۶۰-۶۰۰ µmol/L (۶-۱۰ mg/dL)	منطقه خاکستری ملایم HPA[4]
بدون نیاز به درمان PAH نقص							
–	کلاسیک، متوسط، یا جهش ملایم + ۱ جهش ملایم HPA	رژیم غذایی بدون محدودیت	رژیم غذایی بدون محدودیت	رژیم غذایی بدون محدودیت	Phe ۱۵۱-۳۶۰ µmol/L (avg ۲۴۴); Phe:Tyr ۰/۸-۸/۲۵ (avg ۳/۳)	۱۲۰-۳۶۰ µmol/L (۲-۶mg/dL)	HPA-NT ملایم[5]

[1] Traditional-modified, [2] Newborn screening/ tandem mass spectrometry, [3] Normal to elevated, [4] Mild HPA-gray zone, [5] Mild HPA-NT

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017

مدیریت مؤثر این بیماری، مستلزم شناسایی زودهنگام و آغاز درمان به‌هنگام می‌باشد. برای شناسایی بیماری در غربالگری بدو تولد به‌طور عمده از روش بیوشیمیایی آزمایش گاتری (Guthrie card bacterial inhibition assay: BIA)، Fluorometric analysis و Tandem mass spectrometry (MS/MS) استفاده می‌شود؛ اما تأیید نهایی صرفاً با کمک روش‌های ژنتیک مولکولی بررسی ژن فنیل‌آلانین هیدروکسیلاز میسر می‌باشد.

ژن مسبب فنیل‌کتونوری بر روی کروموزوم ۱۲در ناحیه q22-q24.1 با ۱۳ اگزون قرار گرفته است. بلندترین اگزون و اینترون این ژن به‌ترتیب اگزون شماره ۱۳ (۸۹۲ bp) و اینترون شماره ۲ (۱۷۸۷۴ bp) می‌باشد. هتروژنی جهشی در جمعیت‌های مختلف دیده می‌شود.

با توجه به اینکه در هر جمعیتی ممکن است یک یا چند جهش خاص شایع باشد، بررسی این جهش‌های شایع در تشخیص مولکولی از نظر زمانی و اقتصادی مقرون‌به‌صرفه‌تر است؛ بنابراین، شناسایی جهش‌های شایع این آنزیم به‌طور بومی، عامل مفید و مؤثری در طراحی برنامه ژنتیکی مورد نیاز آزمایش تشخیصی مولکولی این بیماری می‌باشد. در این پژوهش، مطالعات متعدد ژنتیک مولکولی مختلفی که بر روی ژنتیک این بیماری در جمعیت ایرانی صورت گرفته، مرور و بحث شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مروری با بهره‌گیری از مقالات منتشرشده از سال ۱۳۸۲ تا ماه مهر سال ۱۳۹۴ در مجلات معتبر علمی پژوهشی داخلی و خارجی و نمایه شده در پایگاه‌های اطلاعاتی Pubmed، Science Direct، Wiley Online Library، Elsevier و SID تهیه و تنظیم شده است. جستجو در پایگاه‌های اطلاعاتی براساس واژه‌های انگلیسی PAH mutation IRAN، PAH gene IRAN و PKU gene IRAN و نیز کلیدواژه‌های فارسی فنیل‌کتونوری، فنیل‌کتونوری + ایران، جهش + فنیل‌کتونوری + ایران، فنیل‌کتونوری، ژنتیک + فنیل‌کتونوری صورت گرفت. از بین مقالات موجود در این بازه زمانی، مقالاتی که مشمول معیارهای سه‌گانه ذیل بودند، انتخاب شدند: ۱- مطالعه بر روی جمعیت ایرانی انجام شده باشد ۲- مطالعه بر روی جهش‌های ژن PAH صورت گرفته باشد ۳- از روش‌های مولکولی برای شناسایی جهش استفاده شده باشد. پس از انتخاب مطالعات، فراوانی هرکدام از جهش‌ها براساس نوع جمعیت بررسی و مشخص گردید.

یافته‌ها

درمجموع، حاصل بررسی پایگاه‌های اطلاعاتی داخلی و خارجی در بازه زمانی سال‌های ۱۳۹۴-۱۳۸۲، ۴۲ مقاله با محوریت فنیل‌کتونوری در جمعیت ایرانی بود که از ابعاد مختلف ژنتیکی، تغذیه‌ای، اختلالات رشد و نموی به این بیماری پرداخته بودند. از این تعداد، ۱۱ مقاله‌ی منطبق با معیارهای این مطالعه انتخاب شدند (جدول شماره ۲). کلیه این مطالعات به‌صورت مقطعی (Cross sectional) طراحی و اجرا شده بودند.

جدول شماره ۲: مطالعات منتشرشده که بر روی ژنتیک بیماری انجام شده است.

ردیف	تعداد افراد گروه مطالعه	استان / منطقه مورد مطالعه	منبع
۱	۱۲۴	-	زارع کاریزی در سال ۲۰۱۱ (۳)
۲	۱۰	روستای مستعلی کرمانشاه	مرادی در سال ۲۰۱۴ (۹)
۳	۲۶	اصفهان	ولیان در سال ۲۰۰۳ (۱۰)
۴	۴۴	آذربایجان شرقی	بنیادی در سال ۲۰۱۰ (۱۱)
۵	۲۰	آذربایجان غربی	باقری در سال ۲۰۱۴ (۱۲)
۶	۷	کرمانشاه	مرادی در سال ۲۰۱۲ (۱۳)
۷	۲۷	کرمانشاه	علی‌بخشی در سال ۲۰۱۴ (۱۴)
۸	۴۰	خوزستان	عجمی در سال ۲۰۱۳ (۱۵)
۹	۳۱	خراسان رضوی	حمزه‌لوئی در سال ۲۰۱۲ (۱۶)
۱۰	۱	تهران	رایزی در سال ۲۰۱۳ (۱۷)
۱۱	۲۴	قزوین	بیگلری و همکاران در سال
	۱۵	زنجان	۲۰۱۵ (۱۹)

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017

درمجموع، ۵۳ جهش متفاوت در ژن PAH، در اقوام مختلف گزارش شده است (جدول شماره ۳). تعداد جهش‌های بدمعنی (Missense) و پردازشی (Splicing) به‌ترتیب ۲۸ و ۱۳ مورد و تعداد جهش‌های حذفی (Deletion) و بی‌معنی (Nonsense) هرکدام ۶ مورد مشاهده شد. صرفاً در یک گزارش موردی، PKU ناشی نقص کوفاکتور هیدروبیوپترین مورد ارزیابی ژنتیکی قرار گرفته بود که از مطالعه حاضر حذف گردید (۱۸).

جدول شماره ۳: فراوانی آللی جهش‌های PAH به تفکیک استان محل مطالعه

ردیف	نام جهش		محل	جمعیت ایران (۳)	زنجان و قزوین (۱۹)	آذربایجان شرقی (۱۱)	آذربایجان غربی (۱۲)	کرمانشاه (۱۳)	کرمانشاه (۱۴)	اصفهان (۱۰)	خوزستان (۱۵)	خراسان (۱۶)	مجموع
	Protein	DNA											
	Missense												
۱	p.Leu48Ser	c.143T>C	Exon 2	۲/۲۴۸	۲/۷۸								۴/۳۲۶
۲	p.Ser67Pro	c.199T>C	Exon 3	۱/۲۴۸			۱/۴۰			۲/۵۲			۴/۳۴۹
۳	p.Arg158Gln	c.473G>A	Exon 5			۲/۸۸							۲/۸۸
۴	p.Tyr179His	c.535T>C	Exon 6	۶/۲۴۸									۶/۲۴۸
۵	p.Leu194Arg	c.581G>T	Exon6	۲/۲۴۸									۲/۲۴۸
۶	p.His201Gln	c.603T>G	Exon 6	۱/۲۴۸									۱/۲۴۸
۷	p.Ile224Thr	c.671T>C	Exon6								۲/۸۰	۲/۶۲	۴/۱۴۲
۸	p.Val230Ile	c.688G>A	Exon 6						۱/۵۴				۱/۵۴
۹	p.Ser231Pro	c.691T>C	Exon6								۷/۸۰	۴/۶۲	۱۱/۱۴۲
۱۰	p.Arg243Gln	c.728G>A	Exon 7	۳/۲۴۸	۲/۷۸			۲/۱۴	۲/۵۴				۹/۳۹۴
۱۱	p.Gly247Asp	c.740G>A	Exon 7	۴/۲۴۸		۲/۸۸							۶/۳۳۶
۱۲	p. Arg252Gln	c.755G>A	Exon 7		۴/۷۸								۴/۷۸
۱۳	p.Arg252Trp	c.754C>T	Exon7	۱۲/۲۴۸			۱/۴۰			۸/۵۲	۲/۸۰	۱/۶۲	۲۴/۴۸۲
۱۴	p.Arg261Glu	c.781G>A	Exon 7						۱/۵۴				۱/۵۴
۱۵	p.Arg261Gln	c.782G>A	Exon7	۳۰/۲۴۸	۶/۷۸	۵/۸۸	۹/۴۰	۱/۱۴		۴/۵۲	۲/۸۰		۵۷/۶۰۰
۱۶	p.Arg270Lys	c.809G>A	Exon7			۱/۸۸							۱/۸۸
۱۷	p.Glu280Lys	c.838G>A	Exon7	۲/۲۴۸	۲/۷۸	۲/۸۸						۴/۶۲	۱۰/۴۷۶
۱۸	p. Pro281Ser	c.842C>T	Exon 7		۸/۷۸								۸/۷۸
۱۹	p.Pro281Leu	c.842C>T	Exon7	۲۱/۲۴۸		۱۷/۸۸						۸/۶۲	۴۶/۳۹۸
۲۰	p. Ile283Asn	c.848T>A	Exon 8		۲/۷۸								۲/۷۸
۲۱	p.Ala300Ser	c.898G>T	Exon 8	۱/۲۴۸									۱/۲۴۸
۲۲	p.Leu333Phe	c.997C>T	Exon 10	۲/۲۴۸						۳/۵۲			۵/۳۰۰
۲۳	p. Cys357Arg	c.1069T>C	Exon 11		۱/۷۸								۱/۷۸
۲۴	p.Gln375Arg	c.1124A>G	Exon 11								۱/۸۰		۱/۸۰
۲۵	p.Val388Met	c.1162G>A	Exon 11								۱/۸۰		۱/۸۰
۲۶	p.Glu390Gly	c.1169A>G	Exon11						۱/۵۴			۱/۶۲	۲/۱۱۶
۲۷	p.Arg408Gln	c.1223G>A	Exon 12	۱/۲۴۸									۱/۲۴۸
۲۸	p.Arg408Trp	c.1222C>T	Exon 12	۱/۲۴۸									۱/۲۴۸
	Nonsense												
۲۹	p.Arg176Ter	c.526C>T	Exon6	۴/۲۴۸	۸/۷۸			۲/۱۴	۲/۵۴		۲/۸۰	۶/۶۲	۲۴/۵۳۶
۳۰	p.Arg243Ter	c.727C>T	Exon7	۱۷/۲۴۸		۴/۸۸		۱/۱۴	۱/۵۴		۵/۸۰	۲/۶۲	۲۴/۵۳۶
۳۱	p.Arg261Ter	c.781T>C	Exon 7	۱۲/۲۴۸		۴/۸۸		۷/۱۴	۴/۵۴				۲۷/۴۰۴
۳۲	p.Tyr356Ter	c.1068C>A	Exon 11								۷/۸۰		۷/۸۰
۳۳	p.Gln383Ter	c.1147C>T	Exon11									۲/۶۲	۲/۶۲
۳۴	p. Arg261Ter	c.781C>T	Exon 7		۴/۷۸								۴/۷۸
	Deletion												
۳۵	p.Phe55>Lfs	c.165delT	Exon 2						۲/۵۴				۲/۵۴
۳۶		c.590_612del	Exon 6			۵/۸۸							۵/۸۸
۳۷		c.592_613del22	Exon 6								۲/۸۰		۲/۸۰
۳۸	p.Lys363Asnfs	c.1089delG	Exon 11	۱۸/۲۴۸									۱۸/۲۴۸
۳۹	p. 364del Leu	c.1090-1092delCTT	Exon 11	۲/۲۴۸						۴/۵۲			۶/۳۰۰

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۳.

				۲/۷۸									۲/۷۸
٤٠	p. Pro 211>Hfs	c.632delC	Exon 6										
	Splicing												
۴۱	IVS2+5G>C	c.168+5G>C	Intron 2	۱۵/۲۴۸	۲/۷۸	۳/۸۸			۱۴/۵۴				۳۴/۴۶۸
۴۲	.IVS4 + 1G>C	c.441+1G>C	Intron 4						۲/۵۴				۲/۸۴
۴۳	IVS4+1G>A	c.441+1G>A	Intron 4			۳/۸۸							۳/۸۸
۴۴	IVS4+5G>T	c.441+5G>T	Intron 4	۲/۲۴۸									۲/۲۴۸
۴۵	IVS7+1G>A	c.842+1G>A	Intron 7	۲/۲۴۸									۲/۲۴۸
۴۶	IVS7-5 T>C	c.843-5T>C	Intron 7						۴/۵۴				۴/۵۴
۴۷	IVS8-7A>G	c.913-7A>G	Intron 8						۱/۵۴				۱/۵۴
۴۸	IVS9+5G>A	c.969+5G>A	Intron9	۱/۲۴۸	۲/۷۸				۹/۵۴				۱۲/۳۸۰
۴۹	IVS10-11G>A	c.1066-11G>A	Intron10	۶۱/۲۴۸		۱۷/۸۸	۲۰/۴۰		۴/۵۴	۳/۵۲	۸/۸۰	۱۲/۶۲	۱۲۵/۵۸۴
۵۰	IVS11+1G>C	c.1199+1G>C	Intron11	۲۱/۲۴۸	۱/۷۸	۱/۸۸					۲/۸۰	۴/۶۲	۲۹/۵۵۶
۵۱	IVS11-2A>G	c.1200-2A>G	Intron11								۲/۸۰		۲/۸۰
۵۲	IVS2+5G>A	c.168+5G> A	Intron 2		۲/۷۸								۲/۷۸
۵۳	IVS9+1G>A	c.969+1G>A	Intron 9		۱۲/۷۸								۱/۷۸
۵۴	Unknown			۴/۲۴۸	۲/۷۸	۲۲/۸۸	۹/۴۰	۱/۱۴۱	۶/۵۴	۲۸/۵۲	۳۷/۸۰	۱۶/۶۲	۵۶۴/۷۱۶

روش‌های متفاوت تشخیص جهش‌های PAH

روش عمده تشخیص جهش‌های PAH، روش DNA sequencing می‌باشد (۱۹-۱۳)؛ اما ولیان و همکاران (۲۰۰۳) از روش PCR-RFLP و باقری و همکاران (۲۰۱۴) از روش PAH VNTR استفاده نموده‌اند (۱۲،۱۰). در دو مطالعه دیگر نیز، تلفیق دو روش SSCP و DNA sequencing برای شناسایی جهش‌های PAH مورد استفاده قرار گرفت (۱۱،۳).

پراکنش جغرافیایی مطالعات PKU

در هفت استان کشور با پراکنش جغرافیایی مرکز، شمال غرب، غرب، جنوب غرب و شمال شرق با توجه به قومیت، جهش‌های شایع محتمل محلی بررسی شدند. تنها در یک مطالعه، بدون تفکیک قومیت و منطقه جغرافیایی، طیفی از جهش‌های ژن PAH در کشور بررسی گردیده است (۳). همان‌طورکه در جدول شماره ۲ گزارش شد، بیشترین مطالعات صورت‌گرفته در این زمینه تا زمان تنظیم مطالعه حاضر، به‌ترتیب در استان‌های کرمانشاه و آذربایجان شرقی اجرایی گشته است. همچنین گزارشی از نرخ شیوع و بررسی تنوع جهش‌های ژن PKU در نواحی شمالی و مرکزی کشور منتشر نشده است. در جدول شماره ۴، شایع‌ترین/ جدیدترین جهش PAH بومی هر استان

جدول شماره ٤: شایع‌ترین / جدیدترین جهش بومی هر استان

ردیف	استان	جهش‌های شایع و یا جدید استانی	منبع
۱	کرمانشاه	p.Arg243Gln p.Arg176Ter IVS4+1G>C IVS7-5T>C	مرادی و همکاران درسال ۲۰۱۲ (۱۳) علی‌بخشی و همکاران در سال ۲۰۱۴ (۱۴)
۲	خراسان رضوی	p.Gln383Ter	حمزه‌لوئی و همکاران در سال ۲۰۱۲ (۱۲،۱۶)
۳	خوزستان	p.Gln375Arg	عجمی و همکاران در سال ۲۰۱۳ (۱۵)
۴	آذربایجان غربی	IVS10-11G>A	باقری و همکاران در سال ۲۰۱۴ (۱۲)
۵	آذربایجان شرقی	IVS10-11G>A p.Pro281Leu	بنیادی و همکاران در سال ۲۰۱۰ (۱۱)
۶	اصفهان	p.Arg252Trp	ولیان و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۱۰)

گزارش شده است.

بحث

به‌طور عمده، بیماری مونوژنیک فنیل‌کتونوری با الگوی توارثی اتوزومی مغلوب با پیش‌آگهی خوب به‌دلیل نقص آنزیم PAH و نیز نقص کوفاکتور هیدروبیوپترین ایجاد می‌گردد. تاکنون بیش از ۶۰۰ جهش مختلف ژن PAH شناسایی شده است (۱۸). تا سال ۲۰۰۳ هیچ گزارشی از بررسی ژنتیکی PKU در جمعیت ایرانی وجود نداشت. در سال ۲۰۰۳ ولیان و همکاران در شهر اصفهان به بررسی ۱۸ جهش شایع در بین ۲۶ فرد مبتلا پرداختند. آن‌ها ابتدا از ۱۵۴۱ فرد

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017

عقب‌مانده ذهنی ساکن در مؤسسات نگهداری بیماران عقب‌ماده ذهنی با کسب رضایت‌نامه آگاهانه و آزادانه از قیمین افراد، ۶۱۱ فرد با دلیل نامشخص عقب‌ماندگی و نیز با فنوتیپ PKU شدید را انتخاب کردند و از آن‌ها نمونه خون برای آزمایش گاتری گرفتند. نتایج آن‌ها، ۳۴ مورد مثبت (فنیل‌آلانین بالای mg/dl ۷) نشان داد. کمیت فنیل‌آلانین سرمی را با HPLC بررسی و ۲۶ فرد با فنیل‌آلانین سرمی بالاتر از mg/dl ۲۰ را انتخاب کردند. در مرحله بعد، حضور ۱۸ جهش شایع ژن PAH در ۲۶ بیمار مبتلا به PKU کلاسیک (فنیل‌آلانین سرم <mg/dl ۲۰) بررسی نمودند؛ به‌طوری‌که ۶۵/۳۸ درصد آلل‌های موتانت مورد بررسی، ۸ جهش را به این صورت نشان دادند: ۱۵/۳۸ درصد p.Arg252Trp، ۷/۶۹ درصد p.Arg261Gln، ۷/۶۹ درصد c.364delLeu، ۵/۷۷ درصد IVS10-11G>A، ۵/۷۷ درصد p.Leu333Phe و ۳/۸۵ درصد p.Ser67Pro (۱۰).

در مناطق آذری‌زبان شمال غرب کشور نیز، بنیادی و همکاران (۲۰۱۰) و باقری و همکاران (۲۰۱۴) مطالعات مشابهی را انجام دادند. بنیادی و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی ۱۳ جهش مختلف PAH در بین ۴۴ فرد مبتلا از نژاد ترک آذری پرداختند. در مطالعه آنان که اولین مطالعه در این منطقه از کشور محسوب می‌شود، جهش‌های IVS10-11G>A (۱۹/۳ درصد) و p.Pro281Leu (۱۹/۳ درصد)، فرکانس بالایی را نشان دادند که نشان‌دهنده ازدواج فامیلی و رانش ژنتیکی است. جهش متداول IVS10-11G>A (۱۹/۳ درصد) در جمعیت ترک آذری نیز همانند جمعیت‌های دیگر از جمله: اسپانیا، ایتالیا، یونان، ترکیه، فلسطین، مراکش و دیگر جمعیت یهودی منطقه غلبه نسبی دارد.

در غرب کشور، در استان کرمانشاه سه مطالعه مختلف توسط مرادی و همکاران (۱۳۹۳-۱۳۹۱) و علی‌بخشی و همکاران (۲۰۱۴) انجام شده است (۱۴).

مرادی و همکاران (۲۰۱۲) با مطالعه ۲۵ فرد مبتلای غیرخویشاوند مراجعه‌کننده به بیمارستان امام رضا (ع) کرمانشاه (۲۰۱۱-۲۰۱۰)، اگزون‌های ۶ و ۷ و مناطق اتصال اگزون اینترونی را ارزیابی نمودند. در هفت نفر از این شرکت‌کنندگان، جهش‌های مورد مطالعه شناسایی شد. نتایج آن‌ها نشان داد که پنج جهش، ۲۰ درصد آلل‌های موتانت این تحقیق (۴ درصد p.Arg261Ter، ۴ درصد p.Arg176Ter، ۲ درصد .Arg243Gln p و ۲ درصد p.Arg261Gln) را شامل می‌گردد. همچنین، دو جهش ویژه استان گزارش شد (۱۳).

علی‌بخشی و همکاران (۲۰۱۴) در بازه‌ای دو ساله (۲۰۱۲-۲۰۱۰) به بررسی ۲۷ بیمار مبتلا به بیماری فنیل‌کتونوری پرداختند. آن‌ها ۱۳ اگزون به‌علاوه مناطق مرزی اگزون- اینترون را آنالیز و ۱۵ جهش مختلف در ۵۱ آلل از ۵۴ آلل را با دقت ۹۴/۴ درصد تشخیص دادند (۱۴). تفاوت بارز در ویژگی‌های جهش PAH بین استان کرمانشاه و دیگر نقاط مطالعه‌شده در ایران می‌تواند به توزیع منحصربه‌فرد جهش‌های این ژن اشاره داشته باشد. با توجه به اینکه کرمانشاه با نام باستانی دروازه آسیا، مسیر باستانی عمده‌ی مردم قفقازی به حوزه مدیترانه بوده است، انتظار می‌رود که بسیاری از جهش‌های مشخص‌شده در این مطالعات، در منطقه مدیترانه شایع باشد که نشان‌دهنده‌ی ارتباط تاریخی و جغرافیایی بین مردم ایران و جمعیت منطقه مدیترانه می‌باشد؛ اما مرادی و همکاران (۲۰۱۲) (۱۳) جهش‌های p.Arg۱۷۶Ter و p.Arg۲۴۳Gln و علی‌بخشی و همکاران (۲۰۱۴) نیز دو جهش IVS4+1G>C (c.441+1G>C) و IVS7-5T>C (c.843-5T>C) را برای اولین بار، ویژه استان گزارش نمودند. با توجه به اینکه، مطالعه حاضر در جمعیت کرد ایرانی بوده است و هیچ گزارش مشابهی در اصفهان و جمعیت ترک آذری وجود ندارد؛ بنابراین، احتمالاً این دو جهش، ویژه جمعیت کرد باشد. تفاوت فرکانس

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017

شایع‌ترین جهش مدیترانه‌ای در این مطالعه مشهود است که ضرورت به‌دست آوردن شایع‌ترین فرکانس جهش‌های بومی را تبین می‌نماید.

در جنوب غرب کشور، عجمی و همکاران (۲۰۱۳) نیز به مطالعه اگزون‌های ۶، ۷ و ۱۲-۱۰ ژن PAH در ۴۰ فرد مبتلا به بیماری فنیل‌کتونوری را پرداختند و ۱۳ جهش مختلف p.Ile224Thr، p.Ser231Pro، p.Arg176Ter، c.592_613del22، p.Arg243Ter، p.Arg252Trp، p.Arg261Gln، p.Tyr356Ter، p.Val388Met، IVS10-11G>A، IVS11+1G>C، IVS11-2A>G و p.Gln375Arg را که با ۲۳ ژنوتیپ همراه بودند، گزارش نمودند. در این مطالعه، برای اولین بار همراهی واریته (c.1124A>G) p.Gln375Arg، واقع در اگزون ۱۱ با PKU و نیز در یک بیمار ژنوتیپ بارزی (Typical Genotype) با بیش از دو جهش (Arg243X/Ser231Pro/Ser231Pro) مشاهده گردید. هفت پلی‌مورفیسم مختلف و سه واریته جدید در مناطق اینترونی PAH تشخیص داده شد. طیف گسترده جهش در منطقه جنوب غرب ایران با توجه به ناهمگونی قومی به‌ویژه در استان خوزستان قابل‌پیش‌بینی است که نرخ جهش ۵۳/۷۵ درصدی این ۱۳ جهش مختلف گواه آن می‌باشد (۱۵).

در شمال شرق کشور، حمزه‌لوئی و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی اگزون‌های ۶،۷،۱۰ و ۱۱ ژن PAH در ۳۱ فرد مبتلا به بیماری فنیل‌کتونوری از استان خراسان رضوی، جهش IVS10-11G>A را با فرکانس ۱۹ درصد، شایع‌ترین جهش گروه مطالعه معرفی نمودند. جهش p.Gln383Ter واقع در قلمرو کاتالیتیک آنزیم (residues143–410) به‌عنوان جهش جدید در این مطالعه گزارش شد. نویسندگان با توجه به نتایج به‌دست آمده، این چهار اگزون را در اولویت تشخیص برای حاملین این ژن در خطه مورد بررسی معرفی نمودند (۱۶).

همان‌طورکه در جدول شماره ۲ گزارش شد، تنها در یک مطالعه، تنوع جهش‌های PAH بدون تفکیک قومیتی بررسی شده است. در این مطالعه، زارع کاریزی و همکاران (۲۰۱۱) به کمک هضم آنزیمی محصول PCR، جهش‌های p.Arg408Gln، p.364delLeu، IVS11+1G>C، IVS10-11G>A، p.Leu333Phe، p.Arg261Ter، p.Arg261Gln، p.Arg252Trp، p.Ser67Pro و p.Arg408Trp اگزون‌های ۳، ۷، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ را بررسی نمودند. همچنین، از تکنیکSSCP برای آنالیز اگزون‌های ۲، ۶، ۷ و ۱۱ و از تکنیک توالی‌یابی برای ۱۳ اگزون ژن PAH در موارد PKU ناشناخته استفاده کردند. آن‌ها سه جهش جدید p.Gly247Asp، p.Leu194Arg و p.His201Gln با فرکانس پائین (۱/۶-۰/۴ درصد) با استفاده از تکنیک توالی‌یابی پیدا کردند. همچنین، جهش‌های IVS10-11G>A، p.Arg261Gln، p.Pro281Leu و IVS11nt1G>C را با نرخ بیش از ۵۰ درصد در جمعیت انتخابی خود از بین مبتلایان به PKU گزارش نمودند. آن‌ها در دو بیمار مبتلا به PKU کلاسیک، با وجود توالی‌یابی ۱۳ اگزون و مناطق مرزی اگزون- اینترونی، جهشی تشخیص ندادند. هر دو بیمار در اگزون‌های ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ هتروزیگوسیتی، پلی‌مورفیسمی نشان دادند که احتمال حذف در این اگزون‌ها را رد می‌کند. در این موارد، کروموزوم موتانت می‌تواند نقص دیگری مانند جهش در توالی اینترونیک (Intronic Sequences) دور از اگزون یا در مناطق تنظیمی جایگاه ژنی PAH داشته باشد (۳).

پراکنش ژنتیکی جهش‌های مختلف PAH، موضوع جالب توجه دیگری است. همان‌طورکه در جدول شماره ۳ گزارش شد، مناطق اگزونی سه برابر بیشتر از مناطق اینترونی هدف مطالعه قرار گرفته‌اند و اگزون‌های ۶ و ۷ محوریت این موضوع می‌باشند. بیشترین نوع جهش در مناطق اگزونی از نوع بدمعنی و

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017

کلیه جهش‌های ناحیه اینترونی از نوع پردازشی می‌باشد. غالبیت نوع و پراکنش منطقه‌ای ژنتیکی جهش‌ها به‌طور مشابهی در مطالعه کاریزی و همکاران (۲۰۱۱) که بدون تفکیک پراکنش جغرافیایی و قومیت به مطالعه ۱۲۴ فرد غیرخویشاوند مبتلا به PKU پرداخته است نیز، مشاهده شد. در این مطالعه، بیشترین تغییر در اگزون ۷ (۳۶ درصد) سپس، در اگزون‌های ۶ و ۱۱ بود. در اگزون‌های ۱، ۵ و ۱۳ جهشی گزارش نشد. بیشتر جهش‌ها از نوع بدمعنی و جهش‌های بی‌معنی، پردازشی و حذفی به‌ترتیب بیشترین تنوع جهش‌های این مطالعه را سبب می‌گردند و جهش درجی مشاهده نشد (۳).

یکی از مهم‌ترین بیماری شایع متابولیک، فنیل‌کتونوری است. امکان درمان مؤثر بهنگام و پیشگیری مؤثر از عواقب این نقص ژنتیکی، اهمیت شناسایی دقیق مبتلایان را به‌خوبی نمایان می‌سازد. شناسایی جهش‌های ژن PAH به‌ویژه جهش‌های بومی هر خطه کشور با توجه به رواج ازدواج خویشاوندی در کشور برای طراحی برنامه غربالگری ضرورت ویژه‌ای دارد. بهتر است در غرب کشور جهش‌های p.Pro۲۸۱Leu و IVS۱۰-۱۱G>A، در مناطق مرکزی ایران جهش p.Arg۲۵۲Trp و در شرق کشور جهش IVS۱۰-۱۱G>A در ابتدای کار تشخیص ژنتیکی غربالگری شوند. طیف گسترده جهش‌های مشاهده‌شده در منطقه جنوب غرب ایران با توجه به ناهمگونی قومی به‌ویژه در استان خوزستان، نیازمند مطالعات جامع جمعیتی با نگرش قومیتی می‌باشد. امید است با شناسایی این جهش‌ها و تشخیص بهنگام و درمان مؤثر مبتلایان، از رنج خانواده‌های آنان کاسته شود.

سپاسگزاری

از زحمات همکاران آزمایشگاه کاردیوژنتیک مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی قدردانی می‌گردد.

References

1. Scriver CR. The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. Hum Mutat 2007; 28(9):831-845.
2. Yu W, He J, Yang X, Zou H, Wang J, Yang L, et al. Characterization of phenylalanine hydroxylase gene mutations in phenyl-ketonuria in Xinjiang of China. Int J Clin Exp Med. 2014;7(11):4406-4412.
3. Zare-Karizi Sh, Hosseini-Mazinani SM, Khazaei-Koohpar Z, Seifati SM, Shahsavan-Behboodi B, Akbari MT, etal Mutation spectrum of phenylketonuria in Iranian population. Mol Genet Metab.2011; 102(1): 29-32.
4. Zendehdel M, Tamini M, Zadkarami M, Karandish M , Aminzadeh M. Anthropometric Assessment and some of Contributing Factors in Control of Phenylketonuria Patients in Khuzestan Province. Jundishapur Sci Med J. 2014;13(1):21-30.
5. Golbahar J, Honardar Z.Selective Screening of Phenylketonuria, Tyrosinemia and Maple Syrup Urine Disease in Southern Iran. IJMS. 2002; 27(30): 134-135.
6. Senemar S, Ganjekarimi H, Fathzadeh M, Tarami B, Barzgar M. Epidemiological and clinical study of phenylketonouria (PKU) disease in the national screening program of neonates, Fars Province, Southern Iran. Iran J Public Health. 2009;38 (2):58-64.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 9:56 +0430 on Wednesday May 31st 2017

7. Karimzadeh P. Approach to Neurometabolic Diseases from a Pediatric Neurological Point of View. Iran J Child Neurol. 2015; 9(1): 1-16.
8. Camp KM, Parisi MA, Acosta PB, Berry GT, Bilder DA, Blau N, et al. Phenylketonuria Scientific Review Conference: State of the science and future research needs. Mol Genet Metab 2014; 112(2):87-122.
9. Moradi K, Alibakhshi R. High risk of birth defects with PKU in Mast-e Ali village, Kermanshah province. J Kermanshah Univ Med Sci. 2014;18(1): 62-65.
10. Vallian S, Barahimi E, Moeini H. Phenylketonuria in Iranian population: a study in institutions for mentally retarded in Isfahan. Mutat Res. 2003; 15:526(1-2):45-52.
11. Bonyadi M, Omrani O, Moghanjoghi SM, Shiva S. Mutations of the phenylalanine hydroxylase gene in Iranian Azeri Turkish patients with phenylketonuria. Genet Test Mol Biomarkers. 2010; 14(2): 233-235.
12. Bagheri M, Rad IA, Jazani NH, Zarrin R, Ghazavi A. Association Between PAH Mutations and VNTR Alleles in the West Azerbaijani PKU Patients. Maedica (Buchar). 2014; 9(3): 242-247.
13. Moradi K, Alibakhshi R, Ghadiri K, Khatami SR, Galehdari H. Molecular analysis of exons 6 and 7 of phenylalanine hydroxylase gene mutations in Phenylketonuria patients in Western Iran. Indian J Hum Genet.2012; 18(3): 290-293.
14. Alibakhshi R, Moradi K, Mohebbi Z, Ghadiri K. Mutation analysis of PAH gene in patients with PKU in western Iran and its association with polymorphisms: identification of four novel mutations. Metab Brain Dis. 2014; 29(1): 131-138.
15. Ajami N, Kazeminezhad SR, Foroughmand AM, Hasanpour M, Aminzadeh M. A preliminary mutation analysis of phenyl-ketonuria in southwest Iran. Genet Mol Res.2013; 12(4): 4958-4966.
16. Hamzehloei T, Hosseini SA, Vakili R, Mojarad M. Mutation spectrum of the PAH gene in the PKU patients from Khorasan Razavi province of Iran. Gene.2012; 506: 230-232.
17. Raeisi M, Mahdieh N, Yousefzadeh A, Vahidi R, Rahimi N, Zeinali S. A novel PCBD gene mutation in an Iranian patient with hyperphenylalaninemia. Clin Lab. 2013; 59(7-8): 925-928.
18. Djordjevic M,Klaassen K, Sarajlija A, Tosic N, Zukic B, Kecman B, et al.Molecular Genetics and Genotype-Based Estimation of BH4-Responsiveness in Serbian PKU Patients: Spotlight on Phenotypic Implications of p.L48S. JIMD Rep. 2012;9: 49-58.
19. Biglari A, Saffari F, Rashvand Z, Alizadeh S, Najafipour R ,Sahmani M. Mutations of the phenylalanine hydroxylase gene in Iranian patients with phenylketonuria. SpringerPlus. 2015; 4: 542-547.

www.SID.ir