

فراوانی شایعترین جهش مدیترانه‌ای در بیماران فنیل کتونوری استان کرمانشاه

کیوان مرادی^۱، رضا علی بخشی^۲، کامران علی مددی^۳

۱. کارشناس ارشد ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲. دکترای تخصصی ژنتیک پزشکی (PhD)، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران، تلفن: ۷۲۱۳۳۳۰-۸۳۱
ralibakhshi@kums.ac.ir

۳. کارشناس ژنتیک معاونت پیشگیری، سازمان بهزیستی استان کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

چکیده

زمینه: فنیل کتونوری (PKU) یکی از علل مهم عقب ماندگی ذهنی در نوزادان محسوب می شود و تنها در صورت تشخیص و درمان به موقع، عواقب آن قابل پیشگیری است. جهش هایی که در ژن فنیل آلانین هیدروکسیلاز (*PAH*) رخ می دهند عامل تقریباً تمامی موارد PKU هستند. جهش $IVS10-11G>A$ در ژن *PAH*، شایعترین جهش در ایران و کشورهای حوزه مدیترانه و جنوب اروپاست. هدف از مطالعه حاضر، تعیین فراوانی جهش $IVS10-11G>A$ در بیماران PKU استان کرمانشاه و مقایسه آن با فراوانی های مشاهده شده در مطالعات صورت گرفته در سایر بخش های ایران می باشد.

روش ها: طی یک دوره دو ساله (۱۳۹۰-۱۳۸۹) تعداد ۲۷ بیمار PKU از نواحی مختلف استان کرمانشاه شناسایی شدند. قطعات DNA شامل اگزون ۱۱ ژن *PAH* و نواحی انترونی اطراف آن توسط واکنش زنجیره ای پلیمرز تکثیر یافتند و سپس تعیین توالی شدند.

یافته ها: فراوانی جهش $IVS10-11G>A$ در این مطالعه ۷/۴٪ بود. جهش مذکور در ۲ بیمار بصورت هموزیگوت رخ داده بود. این بیماران فنوتیپ فنیل کتونوری کلاسیک یا شدید داشته و والدین آنها خویشاوندان درجه چهارم بودند.

نتیجه گیری: نتیجه بدست آمده از این مطالعه از نتایج حاصل از مطالعه پیشین ما حمایت می کند. با تلفیق نتایج این دو مطالعه، بنظر می رسد طیف جهش ژن *PAH* در بیماران PKU استان کرمانشاه نسبت به طیف جهش های سایر بخش های ایران تفاوت چشمگیری داشته باشد. پیشنهاد می شود با انجام مطالعات جامع در تمامی مناطق ایران، جهش های خاص هر کدام را شناسایی و از آنها در پیشبرد اهداف آتی، از جمله غربالگری افراد ناقل PKU، استفاده کرد.

کلید واژه ها: کرمانشاه، فنیل کتونوری، جهش مدیترانه‌ای.

وصول مقاله: ۹۲/۴/۱۱ اصلاحیه نهایی: ۹۲/۹/۱۶ پذیرش: ۹۲/۹/۲۰

مقدمه

فنیل کتونوری (PKU) فراوانترین شکل هایپر فنیل آلانینمی (HPA) استو بصورت اتوزومی مغلوب به ارث می رسد (۱). این بیماری در سال ۱۹۳۴ توسط فولینگ کشف وبه عنوان یک اختلال متابولیک ارثی معرفی گردید. فنیل-کتونوری که شایعترین خطای مادرزادی بیماری های مرتبط با متابولیسم اسید آمینه بوده و میانگین شیوع آن ۱ در ۱۰۰۰۰ می باشد، در اثر کمبود آنزیم فنیل آلانین هیدروکسیلاز (PheOH) ایجاد می شود و در صورت عدم تشخیص و درمان بموقع، در نتیجه اثرات سمی افزایش فنیل آلانین در مغز، عقب ماندگی ذهنی و مشکلات روان شناختی را در پی دارد. این آنزیم واکنش تبدیل فنیل آلانین به تیروزین را در حضور کوفاکتور خود، تتراهیدروبیوپترین (BH₄)، به عهده دارد (۲).

فراوانی PKU در قفقازی ها بین ۱ در ۱۰۰۰۰ و ۱ در ۱۵۰۰۰ تخمین زده شده و در میان جمعیت ها و نژادهای دیگر متغیر است. بیشترین میزان بروز این بیماری در کشور ترکیه و کمترین میزان آن در فنلاند و تایلند دیده می شود (۲). علی رغم انجام مطالعاتی که در سال های اخیر بر روی خانواده های PKU در ایران صورت گرفته است، بدلیل عدم یک سیستم غربالگری گسترده در سطح کشور میزان دقیق بروز این بیماری نامشخص است. با این حال، نتایج بدست آمده از مطالعه اخیر حبیب و همکاران این میزان را ۱/۶ در ۱۰۰۰۰ برآورد کرده است (۳). براساس میزان فنیل-آلانین خون (phe concentration)، بیماران PKU را در سه گروه طبقه بندی می کنند: فنیل کتونوری کلاسیک یا cPKU ($\text{phe} > 1200 \mu\text{mol/l}$)، فنیل-کتونوریمتوسط یا mPKU ($\text{phe} > 600 \mu\text{mol/l}$) و هایپر فنیل آلانینمی خفیف یا mHPA ($\text{phe} < 600 \mu\text{mol/l}$) (۲ و ۴).

در سال ۱۹۸۵ لوکوس PAH انسانی بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۲ و ناحیه باندی 23.21 تعیین نقشه گردید (12q23.21). این ژن از ۱۳ اگزون و ۱۲ انترون تشکیل

شده است. مشاهده گردید که جهش های ایجاد شده در ژن PAH، در بیش از ۹۸٪ موارد، عامل وقوع PKU هستند. در ۱ تا ۲٪ موارد باقیمانده، جهش در ژن های درگیر در متابولیسم تتراهیدروبیوپترین نقش دارند (۴). تاکنون بیش از ۶۰۰ جهش مختلف در ژن PAH شناسایی و در پایگاه اطلاعاتی PAHdb ثبت شده اند (۵). این جهش ها، همانند جهش های رخ داده در بسیاری دیگر از ژن های انسانی، دو الگوی زیر را دنبال می کنند: ۱- تنها تعداد کمی از آلل ها بخش غالب جهش های عامل بیماری یافت شده در یک جمعیت خاص را به خود اختصاص می دهند (در مورد PAH، این تعداد ۵ مورد است) و بقیه موارد نادر هستند. ۲- توزیع آلل ها براساس جمعیت یا ناحیه جغرافیایی، معمولاً غیر تصادفی است به گونه ای که پیشینه یک آلل خاص اغلب با پیشینه جمعیتی که در آن یافت شده است منطبق است (۶). براساس مطالعات صورت گرفته در ایران و کشورهای حوزه مدیترانه و جنوب اروپا، جهش IVS10-11G>A (c.1066-11G>A) بیشترین فراوانی را در این جمعیت ها داشته است (۷). فراوانی این جهش تا آنجایی است که بعد از جهش R408W شایع ترین جهش گزارش شده در پایگاه اطلاعاتی ژن PAH در سراسر جهان است (۵).

نشان داده شده است که شناسایی جهش های شایع در یک جمعیت خاص، می تواند به میزان زیادی به برنامه های تشخیص پیش از تولد در خانواده های در معرض خطر تولد فرزند مبتلا به PKU در آن جمعیت کمک کننده باشد. همچنین، با شناسایی این جهش های شایع می توان تا حدودی به قرابت یا عدم قرابت پیشینه ای جمعیت های مختلف با یکدیگر پی برد (۸). هدف ما از مطالعه حاضر، تعیین فراوانی جهش IVS10-11G>A، بعنوان شایعترین جهش در ایران و حوزه مدیترانه، در بیماران PKU استان کرمانشاه و مقایسه آن با فراوانی های مشاهده شده در مطالعات صورت گرفته در سایر بخش های ایران می باشد.

روش بررسی

بیماران: این مطالعه، یک مطالعه مقطعی (Cross-Sectional) می باشد. طی یک دوره دو ساله (۱۳۹۰-۱۳۸۹) تعداد ۲۷ بیمار PKU از نواحی مختلف استان کرمانشاه شناسایی شدند. شناسایی این بیماران بر اساس پرونده های موجود در بیمارستان امام رضا (ع) شهرستان کرمانشاه، کلینیک منتخب شناسایی و حمایت از بیماران PKU در استان کرمانشاه از سوی وزارت بهداشت- درمان و آموزش پزشکی، و با همکاری سازمان بهزیستی این استان صورت گرفت. سپس از بیماران و خانواده های آنان جهت حضور در آزمایشگاه تشخیص مولکولی بیماری های ژنتیک واقع در محل آزمایشگاه رفانس کرمانشاه و شرکت در این مطالعه دعوت بعمل آمد. پس از توجیه شرکت کنندگان، فرم های رضایت نامه و پرسشنامه از سوی بیماران و یا خانواده های آنان (در مواردی که بیمار کودک و یا دارای عقب ماندگی ذهنی بود) تکمیل گردید.

حذف موارد دارای نقص در BH₄

در این مرحله، با مشورت با پزشک متخصص بیماران و مسئولین بخش بیوشیمی انستیتو پاستور تهران، از والدین بیماران خواسته شد تا به مدت سه روز رژیم درمانی بیمار را متوقف نموده و در این مدت بیمار تحت رژیم غذایی طبیعی قرار گیرد. در روز سوم، ۲۰ میلی لیتر از نمونه ادرار بیماران جهت تعیین میزان پترین های ادرار (بیوپترین و نئوپترین) به بخش بیوشیمی انستیتو پاستور تهران انتقال داده شد. مرحله اخیر به منظور شناسایی بیماران دارای نقص BH₄ انجام گردید. لازم به ذکر است که تعیین پترین های ادرار به روش HPLC انجام گرفت. از ۲۹ بیمار اولیه، در دو مورد از آنها نقص در کوفاکتور BH₄ تشخیص داده شد و از این مطالعه کنار گذاشته شدند.

خونگیری

با بررسی میزان پترین های ادرار، از بین تمام بیماران داوطلب شرکت در این مطالعه، ۲۷ بیمار بعنوان بیمار فیل کتونوری دارای جهش در ژن PAH تشخیص داده شدند. سپس ۵ تا

۱۰ میلی لیتر از خون محیطی بیمار گرفته شد. به منظور جلوگیری از انعقاد خون، از فالكون های ۱۵ میلی لیتری حاوی ۳۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۵ مولار، به عنوان ماده ضد انعقاد، استفاده شد.

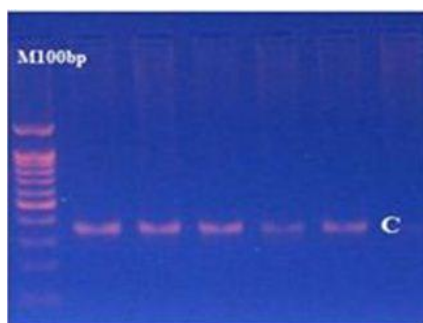
استخراج DNA: جهت استخراج DNA از کیت **QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, USA)** بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. جهت بررسی چگالی نوری (OD) نمونه های استخراج شده، از یک دستگاه نانودراپ **nanodrop spectrophotometer (ND)-1000** استفاده شد. این دستگاه نمونه را در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر خوانده و مقدار نمونه را بر حسب **ng/μL** محاسبه می کند. بر اساس پروتوکل شرکت سازنده، نسبت **260/280** برای نمونه های دارای کیفیت مناسب DNA جهت استفاده در واکنش PCR، بین ۲/۲ - ۱/۸ می باشد. برای نمونه های DNA مربوط به بیمارانی که خارج از این محدوده قرار داشتند استخراج مجدد انجام می گرفت و تا زمان رسیدن به نمونه های دارای کیفیت بالا این کار تکرار می شد.

واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR): واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystems USA) **GeneAmp PCR System 9700** انجام گرفت. پرایمرهای رفت و برگشت مورد استفاده در این واکنش به صورت زیر بودند (۹):

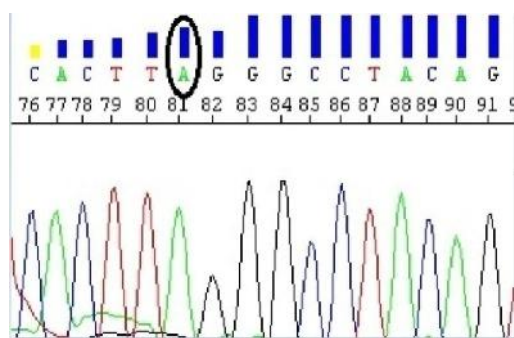
پرایمرفر: 5'-
TGAGAGAAGGGCACAAATG-3'
برگشت: 5'-
GCCAACCACCCACAGATGAG-3'

محصول نهایی بدست آمده، ۳۰۱bp بود. به منظور تنظیم شرایط این واکنش جهت تکثیر اگزون ۱۱ و نواحی انترونی اطراف آن، PCR های اولیه در تعداد سیکل های مختلف (۲۹، ۳۰، ۳۱ و ۳۲ سیکل) و محدوده دمایی ۵۳ تا ۵۹ درجه سانتیگراد جهت اتصال پرایمرها و مدت زمان لازم

جهش $IVS10-11G>A$ در مجموع در ۴ آلل (در دو بیمار هوموزیگوت) از ۵۴ آلل مورد بررسی شناسایی شد. مشخصات بیماران واجد این جهش و کروماتوگرام جهش $IVS10-11G>A$ ، توالی رفت، بترتیب در جدول ۱ و شکل ۲ نشان داده شده‌اند. همچنین، علی‌رغم اینکه در پایگاه اطلاعاتی PAHdb بیش از ۶۰ جهش مختلف در اگزون ۱۱ و نواحی انترونی اطراف آن ثبت شده‌اند، به استثنای جهش فوق، جهش دیگری در این نواحی در مطالعه حاضر یافت نشد.



شکل ۱: الکتروفورز ژل آگارز تعدادی از بیماران.



شکل ۲: کروماتوگرام توالی رفت جهش $IVS10-11G>A$

M: مارکر ۱۰۰bp، C: نمونه کنترل منفی.

برای هر کدام از مراحل واسرشتگی، چسبیدن پرایمرها و طولیل شدن قطعه مورد نظر بررسی شد. حجم نهایی مخلوط واکنش PCR ، $60 \mu l$ بود. همچنین به منظور اطمینان از عدم حضور آلودگی در مواد مورد استفاده در واکنش فوق، به همراه تکثیر نمونه‌های بیماران یک نمونه کنترل منفی نیز در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد. نتایج حاصل از تنظیم شرایط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت تکثیر اگزون ۱۱ و نواحی انترونی اطراف آن، بصورت زیر می‌باشند: دمای واسرشتگی اولیه $95^\circ C$ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه - تعداد سیکل‌های واکنش، ۳۰ سیکل که هر سیکل شامل: دمای واسرشتگی $94^\circ C$ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای چسبیدن پرایمرها $58^\circ C$ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و دمای طولیل‌سازی $72^\circ C$ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه - دمای طولیل‌سازی نهایی $72^\circ C$ درجه سانتیگراد به مدت ۷ دقیقه.

الکتروفورز محصولات PCR : جهت اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر و کیفیت آن و عدم تکثیر محصولات غیراختصاصی، $7 \mu L$ از محصولات واکنش $PCR-I$ (نمونه‌های بیماران و نمونه کنترل منفی) و مارکر ۱۰۰bp بر روی ژل آگارز 1.5% run گردید. تصویر نمونه‌ای از الکتروفورز ژل آگارز در تعدادی از بیماران در شکل ۱ ارائه شده است.

تعیین توالی اتومات: به منظور تعیین توالی نمونه‌های DNA، از دستگاه سکونسر مدل ABI 3130 ساخت شرکت Applied Biosystems استفاده شد. همچنین از نرم‌افزارهای Gene Sequencing Analysis v:5.2 و Gene Runner جهت خوانش توالی‌ها و مقایسه نتایج دستگاه سکونسر با پلات اصلی اگزون ۱۱ ژن PAH و نواحی انترونی آن استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج تعیین توالی: با بررسی توالی نوکلئوتیدی اگزون ۱۱ ژن PAH و نواحی انترونی اطراف آن در ۲۷ بیمار PKU .

جدول ۱: مشخصات بیماران واجد جهش IVS10-11G>A در این مطالعه

بیمار	جنس	محل تولد	خویشاوندی والدین	سن فعلی (سال)	سن شروع رژیم درمانی	میزان phe قبل از درمان ($\mu\text{m/l}$)	فنوتیپ	جهش شناسایی شده
							آلل پدری	آلل مادری
۱	مؤنث	استان کرمانشاه	درجه چهارم	۱۱	۱ سالگی	۱۵۴۸	cPKU	IVS10-11G>A
۲	مذکر	استان کرمانشاه	درجه چهارم	۱۱	۱۳ ماهگی	۲۲۴۶	cPKU	IVS10-11G>A

بحث

PKU یک بیماری بسیار هتروژن است. در بسیاری از جمعیت‌های مطالعه شده بیش از ۲۰ جهش مرتبط با این بیماری شناسایی شده است که فراوانی و پراکنش این جهش‌ها در هر جمعیتی مشخص و متمایز از جمعیت دیگر است. در جمعیت‌هایی که تاکنون مطالعه شده‌اند (در ایران و سایر نقاط جهان)، تنها تعداد کمی از جهش‌ها بخش غالب جهش‌های عامل بیماری را در جمعیت به خود اختصاص داده‌اند و بقیه جهش‌ها، فراوانی پایینی داشته‌اند. از میان این جهش‌های غالب نیز معمولاً یک جهش خاص بالاترین شیوع را داشته است. جهش IVS10-11G>A (c.1066-11G>A) که جهشی اسپلاسی در انتهای انترون ۱۰ ژن *PAH* است، یکی از این جهش‌های شایع است که در جمعیت‌های خاصی با فراوانی بالا مشاهده شده است. مثال‌های دیگر در مورد اینگونه جهش‌ها شامل: جهش R408W در جمعیت‌های ایرلند، آلمان، هلند، روسیه و استونی، جهش G272X در جمعیت نروژ، جهش IVS12+1 در جمعیت دانمارک و فرانسه، جهش R261Q در جمعیت سوئیس، R243Q در جمعیت چین، Y204C در جمعیت کره و R413P در جمعیت ژاپن

می‌باشند (۵). در ادامه در مورد جهش IVS10-11G>A بیشتر بحث می‌شود. علی‌رغم مطالعاتی که در برخی بخش‌های خاص ایران صورت گرفته است، مطالعه زارع کاریزی و همکاران در سال ۲۰۱۱ (۷) جامع‌ترین مطالعه‌ای است که تاکنون به بررسی جهش‌های ژن *PAH* در نواحی مختلف ایران پرداخته است. براساس این مطالعه، جهش IVS10-11G>A (c.1066-11G>A) در ایران بالاترین فراوانی را داشته است. این جهش، شایع‌ترین جهش عامل PKU در کشورهای حوزه مدیترانه است و با فراوانی‌های نسبتاً بالایی در جمعیت‌هایی مانند ایران، ترکیه (۱۰)، یونان، سیسیل و جنوب ایتالیا، اسپانیا، پرتغال (۱۱)، مصر (۱۲) و عربستان سعودی (۹) گزارش شده است (جدول ۲). به همین دلیل از این جهش با عنوان "جهش مدیترانه‌ای" نیز یاد می‌شود. با توجه به فراوانی بسیار بالای جهش IVS10-11G>A در جمعیت‌های نامبرده، این فرضیه مطرح می‌شود که منشأ این جهش از شرق حوزه مدیترانه بوده و از طریق مهاجرت‌های جمعیتی و رانش ژنتیکی به دیگر نقاط گسترش یافته است (۱۳).

جدول ۲: مقایسه فراوانی جهش IVS10-11G>A در کرمانشاه و نقاط مختلف جهان

جمعیت مطالعه شده	تعداد کل آلل های مورد بررسی	فراوانی IVS10-11 (%)	IVS10-11 بعنوان شایعترین جهش در این جمعیت؟
مطالعه حاضر	۵۴	۷/۴	نامشخص
ترکیه	۷۵	۲۵/۳	بله
ایتالیا (سیسیل)	۱۰۲	۱۶/۶۷	بله
شمال غرب اسپانیا	۷۸	۱۱/۵	بله
پرتغال	۲۲۲	۱۰/۸	بله
آلمان	۴۳۸	۶	خیر
مراکش	۵۰	۸/۳	خیر
مصر	۲۶	۳۰/۸	بله
عربستان	۴۰	۱۷/۵	بله
شمال چین	۳۷۰	<۱	خیر
کره جنوبی	۱۵۸	۰	خیر
ژاپن	-	۰	خیر

سایر مطالعاتی که تاکنون بر روی جهش های ژن *PAH* در ایران صورت گرفته اند (جدول ۳) عبارتند از: مطالعه حسینی مزینانی در تهران (۸)، مطالعه بنیادی و همکاران در آذربایجان شرقی (۲۰۱۰) (۱۳)، مطالعه حمزه لویی و همکاران در خراسان رضوی (۲۰۱۲) (۱۴)، مطالعه عجمی در خوزستان (۲۰۱۰) (۱۵) و مطالعه ولیان و همکاران در اصفهان (۲۰۰۳) (۱۶). همچنان که در جدول ۳ مشاهده می شود جهش *IVS10-11G>A* بالاترین فراوانی را در مطالعات صورت گرفته در بخش های مختلف ایران، به استثنای اصفهان و کرمانشاه، داشته است. علاوه بر نتایج ارائه شده در این جدول، در مطالعه پیشین کاریزی و همکاران (۷) به شیوع بالای این جهش در بخش های شمالی ایران (شامل استان های خراسان، سمنان، تهران، مرکزی، همدان و آذربایجان) اشاره شده است. علی رغم اینکه فراوانی های بالای بدست آمده در بیماران *PKU* آذربایجان، خراسان رضوی و تهران (بخش های شمالی ایران) از فرضیه منشأ این جهش از شرق حوزه مدیترانه حمایت می کنند به نظر می رسد که فراوانی بالای جهش نامبرده در استان خوزستان

(واقع در حوزه جنوبی کشور) در راستای این فرضیه نمی باشد. همچنین نتیجه گیری در مورد دلیل یا دلایل فراوانی پایین جهش *IVS10-11G>A* در استان های کرمانشاه (بخش غربی ایران) و اصفهان (بخش مرکزی ایران) مشکل است. در مطالعه پیشین ما که بر روی بررسی جهش های اگزون های ۶ و ۷ ژن *PAH* در بیماران فنیل کتونوری استان کرمانشاه انجام گرفت (۱۷)، تفاوت معنی داری در نوع و فراوانی جهش های یافت شده در این بیماران در مقایسه با سایر مطالعات صورت گرفته در ایران مشاهده گردید. فراوانی پایین جهش *IVS10-11G>A* در این مطالعه نیز از نتایج مطالعه پیشین ما حمایت می کند. با توجه به نتایج بدست آمده از این دو مطالعه، بنظر می رسد که طیف جهش های عامل *PKU* در بیماران فنیل-کتونوری استان کرمانشاه نسبت به سایر ایران تفاوت زیادی داشته باشد. مطالعات آینده بر روی سایر اگزون های ژن *PAH* می تواند در تأیید یا رد این فرضیه به ما کمک کند. همچنین با توجه به فراوانی پایین جهش فوق در این مطالعه، امکان استفاده از

آن جهت غربالگری افراد ناقل PKU منوط به نتایج حاصل از مطالعات آتی است.

جدول ۳: مقایسه فراوانی جهش IVS10-11G>A در استان کرمانشاه و سایر جمعیت های ایرانی

جمعیت مطالعه شده	محققان	تعداد کل آلل های مورد بررسی	تعداد آلل های IVS10-11G>A	فراوانی IVS10-11G>A (%)	IVS10-11G>A بعنوان شایعترین جهش در این جمعیت؟
مطالعه حاضر (کرمانشاه)	مرادی و همکاران	۵۴	۴	۷/۴	نامشخص
مناطق مختلف ایران	کاریزی و همکاران (۲۰۱۱)	۲۴۸	۶۱	۲۴/۶	بله
تهران	سید مهدی حسینی مزینانی	-	-	۳۲٪	بله
آذربایجان شرقی	بنیادی و همکاران (۲۰۱۰)	۸۸	۱۷	۱۹/۳	بله
خراسان رضوی	حمزه لونی و همکاران (۲۰۱۲)	۶۲	۱۲	۱۹٪	بله
خوزستان	عجمی و همکاران (۲۰۱۰)	۸۰	۸	۱۰	بله
اصفهان	ولیان و همکاران (۲۰۰۳)	۵۲	۳	۵/۷۷	خیر
جمعیت مطالعه شده	محققان	تعداد کل آلل های مورد بررسی	تعداد آلل های IVS10-11G>A	فراوانی IVS10-11G>A (%)	IVS10-11G>A بعنوان شایعترین جهش در این جمعیت؟
مطالعه حاضر (کرمانشاه)	مرادی و همکاران	۵۴	۴	۷/۴	نامشخص
مناطق مختلف ایران	کاریزی و همکاران (۲۰۱۱)	۲۴۸	۶۱	۲۴/۶	بله
تهران	سید مهدی حسینی مزینانی	-	-	۳۲٪	بله
آذربایجان شرقی	بنیادی و همکاران (۲۰۱۰)	۸۸	۱۷	۱۹/۳	بله
خراسان رضوی	حمزه لونی و همکاران (۲۰۱۲)	۶۲	۱۲	۱۹٪	بله
خوزستان	عجمی و همکاران (۲۰۱۰)	۸۰	۸	۱۰	بله
اصفهان	ولیان و همکاران (۲۰۰۳)	۵۲	۳	۵/۷۷	خیر

نتیجه گیری

با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعه پیشین ما، بنظر می رسد طیف جهش *PAH* در بخش های مختلف ایران تفاوت- های چشمگیری نسبت به هم داشته باشند. بر این اساس، احتمال اینکه بتوان تعدادی جهش خاص را بعنوان جهش- های مرجع در بررسی افراد ناقل PKU در سراسر کشور معرفی کرد بسیار پایین است. پیشنهاد می شود که با انجام مطالعات جامع در مناطق مختلف ایران، جهش های خاص هر منطقه را شناسایی و از آنها در پیشبرد اهداف آتی استفاده کرد.

یکی از مباحث اصلی در مورد PKU بررسی ارتباط بین ژنوتیپ بیماران با فنوتیپ آنهاست. براساس نوع جهش های ژن *PAH* و نقص آنزیمی حاصل از آن جهش ها، فنوتیپ بیماران PKU را در سه گروه طبقه بندی می کنند: PKU شدید، PKU متوسط و HPA خفیف. بررسی ارتباط ژنوتیپ - فنوتیپ می تواند در ارائه مشاوره ژنتیکی به خانواده های بیماران و مدیریت درمانی بیماران کمک کننده باشد. جهش IVS10-11G>A جهشی است که در صورت هوموزیگوت بودن عامل ایجاد فنوتیپ فیل- کتونوری کلاسیک می باشد (۱۸). بنابراین، فنوتیپ cPKU در بیماران دارای این جهش در این مطالعه از نتایج مطالعات پیشین حمایت می کند.

تشکر و قدردانی

دارند. این پژوهش از سوی معاونت تحقیقات دانشگاه علوم

پزشکی کرمانشاه مورد حمایت مالی قرار گرفت.

نگارندگان از تمامی بیماران و والدین آنان و پرسنل محترم

آزمایشگاه رفرنس شهرستان کرمانشاه که دست اندرکاران

این پژوهش را یاری نموده اند، کمال تشکر و قدردانی را

References

1. Mallolas J, Vilaseca MA, Campistol J, Lambruschini N, Cambra FJ, Estivill X, et al. Mutational spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in the population resident in Catalonia: genotype-phenotype correlation. *Hum Genet* 1999;105:468-73.
2. Williams RA, Mamotte CDS, Burnett JR. Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism. *ClinBiochem Rev* 2008;29:31-41.
3. Habib A, Fallahzadeh MH, Kazeroni HR, Ganjkarimi AH. Incidence of Phenylketonuria in Southern Iran. *Iran J MedSci* 2010;35:137-9.
4. Ogier BH, Abadie V, Feillet F, Parscau L. Management of Phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. *J Nutr* 2007;1:561-3.
5. Scriver CR, Prevoost L, Hurtubise M, Konecki D, Dobrowolski SF (curators). PAHdb Phenylalanine Hydroxylase Locus Knowledgebase, URL: <http://www.pahdb.mcgill.ca>, update, 2009.08.31
6. Kozak L, Hrabincova E, Kintz J, Horky O, Zapletalova P, Blahakova I, et al. Identification and characterization of large deletions in the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene by MLPA: Evidence for both homologous and non-homologous mechanisms of rearrangement. *MolGenetMetab* 2006;89:300-9.
7. Zare-Karizi S, Hosseini-Mazinani SM, Khazaei-Koohpar Z, Seifati SM, Shahsavan-Behboodi B, Akbari MT, et al. Mutation spectrum of phenylketonuria in Iranian population. *MolGenetMetab*. 2011;102:29-32.
8. Zare-Karizi S, Hosseini-Mazinani SM, Koochmeshgi J, Seifati SM, Zeinali S, Javadi G, et al. The molecular analysis of common mutations of PAH gene in Iranian population (Persian). *Genet Novin* 2011;4:54-57.
9. Tayeb MT. A preliminary study of phenylketonuria disease in Saudi patients. *UQU Med J* 2010;1:1-11.
10. Ozguc M, Ozalp I, Coskun T, Yilmaz E, Erdem H, Ayter S. Mutation analysis in Turkish phenylketonuria patients. *J Med Genet* 1993;30:129-130.
11. Zschocke J. Phenylketonuria mutations in Europe. *Hum Mutat* 2003;21:345-56.
12. Effat L, Kuzmin A, Kasem N, Meguid NA, Kotb S, Eisensmith RC. Haplotypes and mutations of the PAH locus in Egyptian families with PKU. *Eur J Hum Genet* 1999;7:259-62.
13. 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;14:233-5.
14. 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;506:230-2.
15. Agami N, Kazeminezhad SR, Foroughmand AM, Hasanpour M, Aminzadeh M. A preliminary mutation analysis of phenylketonuria in southwest Iran. *GMR J* 2013;12:4958-4966.

16. Vallian S, Barahimi E, Moeini H. Phenylketonuria in Iranian population: a study in institutions for mentally retarded in Isfahan. *Mutat Res* 2003;526:45–52.
17. 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;18:284-287.
18. Daniele A, Scala I, Cardillo G, Pennino C, Ungaro C, Sibilio M, et al. Functional and structural characterization of novel mutations and genotype–phenotype correlation in 51 phenylalanine hydroxylase deficient families from Southern Italy. *FEBS J* 2009;276:2048–59.