

## شناسایی و تشخیص مولکولی جهش های ژن آلفا-۱ - ایدورونیداز در ۵ خانواده ایرانی مبتلا به سندرم هورلر ( موکوپلی ساکاریدوز ۱ )

دکتر منصور صالحی\*<sup>۱</sup>، دکتر رسول صالحی<sup>۲</sup>، دکتر بهرام نصر اصفهانی<sup>۳</sup>

### چکیده

**مقدمه:** موکوپلی ساکاریدوز نوع I ( MPS-I ) یک بیماری اتوزوم مغلوب ذخیره‌ای لیزوزمی است که به واسطه کمبود آنزیم آلفا-۱-ایدورونیداز ( IDUA ) به وجود می‌آید. تظاهرات بالینی بیماران مبتلا به MPS-I از شدید تا ملایم متفاوت می‌باشد بنابراین پیش بینی شدت بیماری دشوار است. از زمانی که ژن IDUA کلون شده بیش از ۱۰۹ جهش در آن شناسایی شده و این تعداد در حال افزایش می‌باشد. نشان داده شده است که نوع جهش با دامنه فنوتیپ مشاهده شده از بیماری ارتباط دارد. هدف از این مطالعه شناسایی و تشخیص مولکولی جهش های ژن IDUA در گروهی از بیماران مبتلای به MPS-I بوده است.

**روش بررسی:** مطالعه حاضر بر روی ۵ خانواده ایرانی که هر کدام یک بچه مشکوک به ابتلای به MPS-I داشتند، انجام گرفت. ابتدا با استفاده از اندازه گیری فعالیت آنزیم ایدورونیداز، تشخیص بیماری قطعی گردید. بعد جهش L132R با روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت در نمونه‌هایی که فاقد این جهش بودند با استفاده از تکثیر همه ۱۴ اگزون ژن با PCR و در ادامه SSCP و تعیین توالی، جهش عامل بیماری شناسایی و تشخیص مولکولی انجام گرفت.

**نتایج:** جهش های شناسایی شده عبارت بودند از L132R در ۲ بیمار و جهش های W402X، P533R و G518 در سه بیمار دیگر. نتیجه گیری: جهش L132R که برای اولین بار از مرکز آزمایش ژنتیک مولکولی اصفهان گزارش شده بود در این مطالعه نیز در ۲ خانواده مشاهده گردید و ۳ جهش دیگر جهش هایی متداول بودند. از نتایج ما و همین طور سایر مطالعات مشابه انجام شده می‌توان نتیجه گیری نمود که دامنه جهش در ژن IDUA از منطقه ای به منطقه دیگر متفاوت است. این نکته را بایستی هنگام طراحی راهکارهای شناسایی جهش برای MPS-I مورد نظر قرار داد.

**واژه های کلیدی:** موکوپلی ساکاریدوز تیپ ۱، آلفا-۱-ایدورونیداز، جهش، RFLP, SSCP

### مقدمه

بیماریهای ذخیره ای لیزوزومی حدود ۵۰ بیماری را شامل می‌شوند که نقطه اشتراک همه آنها تجمع مواد زاید در لیزوزومهاست که منجر به ایجاد واکوئل های بزرگ داخل سلولی می‌شوند. بسیاری از این بیماریها قبل از آنکه لیزوزومها در ۱۹۵۵ توسط de Duve کشف شوند، شناخته شده بودند<sup>(۱)</sup>. به عنوان

مثال، دو بیماری هانترو و هورلر ابتدا در سال ۱۹۲۰ به عنوان بیماریهای تخریب استخوان (bone dystrophy) گزارش شدند و برای سالها اطلاعات زیادی در خصوص این بیماری ارثی وجود نداشت. پیشرفت بعدی در خصوص این دسته بیماریها این بود که نشان داده شد تغییرات سلولی در این بیماریها منحصر به سلولهای استخوانی نبوده بلکه در تمام سلولهای بدن مشاهده می‌شوند<sup>(۲)</sup>.

گرچه هر کدام از بیماریهای ذخیره‌ای بیماریهای کمیابی هستند ولی همگی به عنوان یک گروه، فراوانی نسبت زیادی (  $\frac{1}{8000}$  ) تولد زنده دارند<sup>(۳)</sup>، لذا مسئله مهمی در سیستم های بهداشتی

\* نویسنده مسئول: دانشیار گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی  
تلفن: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۲۸۶ ، ۰۳۱۱ ، نمابر: ۰۳۱۱-۶۶۸۸۵۹۷

Email: salehi@med.mui.ac.ir

۲- استادیار گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی ، دانشکده پزشکی

۳- استادیار گروه میکروپ شناسی ، دانشکده پزشکی

۱، ۲، ۳- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۱۲/۳

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۶/۸

بیماری انجام شده و از تشدید عوارض جلوگیری کند گرچه محدودیت اصلی این روش یافتن دهنده مناسب می باشد<sup>(۷،۸)</sup>. به علاوه درمان با جایگزینی آنزیم ( Enzyme Replacement Therapy) نیز امروزه مطرح می باشد<sup>(۹)</sup>. جدیدترین روشی که توانایی بالقوه بسیار خوبی برای درمان هورلر دارد ژن درمانی است که مطالعات بالنسبه مناسبی<sup>(۱۰)</sup> برای ژن درمانی این بیماری انجام شده است.

بیماری هورلر (MIM# 252800) برای اولین بار در سال ۱۹۱۹ توسط Gertrud Hurler توصیف شد<sup>(۱۱)</sup>. بیمار هنگام تولد ظاهری طبیعی دارد و اولین علائم چند هفته یا چند ماه بعد از تولد ظاهر می شود. عوارض بیماری به تدریج شدیدتر می شود به طوری که معمولاً بیمار قبل از بلوغ فوت می کند. کوتاهی قد در بین کودکان بیمار که ناهنجاریهای متعددی دارند بسیار فراوان دیده می شود. در بین علائم کلینیکی کدر شدن قرنیه از علائم مهم است که می تواند در تمایز بین انواع مختلف موکوپلی ساکاریدوز به کار رود. در این بیماری همچنین دندانها نامنظم و با فاصله بوده و لثه ها دچار هیپرتروفی هستند و بیمار از ترشحات مزمن بینی رنج می برد. گردن معمولاً کوتاه، قفسه سینه پهن و شکم بزرگ است. استخوانهای بزرگ معمولاً کوتاه و ضخیم هستند. تحرک مفاصل معمولاً محدود، پوست ضخیم و موها معمولاً زمخت اند (Coarse). ناهنجاریهای متعدد قلبی شامل میوکاردیوم، پری کاردیوم و آندوکاردیوم و از همه شایع تر ناهنجاریهای درجه های قلب وجود دارند. اختلالات عصبی به صورت از کارافتادگی تدریجی سایکوموتور مشاهده می شود. افزایش حساسیت در ابتلای به عفونت ها در این بیماری مشابه با سایر موکوپلی ساکاریدوزها وجود دارد<sup>(۲)</sup>. شدت بیماری توسط سن بروز بیماری Age at onset، بقا (survival) و عقب افتادگی ذهنی تعیین می شود به طوری که بیماری به شکل شدید (Severe) در صورتیکه شروع بیماری قبل از ۱۲ ماهگی، بقا کمتر از ۱۰ سال و عقب افتادگی ذهنی قبل از ۳ سالگی مشهود باشد. متوسط (intermediate) وقتی که شروع بیماری بین ۶-۱ سال، بقا طولانی تر و متفاوت و با عقب افتادگی ذهنی یا وجود ندارد و یا خفیف است ولی در هر صورت قبل از ۳ ماهگی بروز

محسوب می شوند. بیماریهای مادرزادی لیزوزومی دارای مشخصه های مشترکی اند از جمله اینکه علائم بیماری به تدریج تشدید می شوند، تغییرات حاصل از اثر مواد ذخیره شده در لیزوزوم را می توان توسط مطالعات ساختمانی بررسی کرد و در نهایت مواد ذخیره شده ماهیت ناهمگون دارند زیرا بسیاری از آنزیمهای لیزوزومی اختصاصیت کمی داشته و روی دسته وسیعی از سوبستراهای لیپیدی، پلی ساکاریدی و یا گلیکوپروتئینی اثر می گذارند<sup>(۴)</sup>. این گروه بیماری معمولاً به علت عدم وجود یک هیدرولاز، عدم وجود فعال کننده آن هیدرولاز و یا انتقال دهنده آن هیدرولاز و در نتیجه تجمع سوبسترای تجزیه نشده در لیزوزوم، به وجود می آیند<sup>(۱)</sup>. موکوپلی ساکاریدوزها گروهی از بیماری های مادرزادی ذخیره ای لیزومی اند که در آنها موکوپلی- ساکاریدها درون لیزوزومها تجمع می یابند.

عامل ایجاد بیماری کمبود یا عدم وجود آنزیم آلفا- ال - ایدورونیداز می باشد که برای اولین بار توسط Matalon در سال ۱۹۷۱ گزارش شده است<sup>(۵)</sup>. عدم وجود این آنزیم به خوبی نشان دهنده علت تجمع درماتان سولفات و هپاران سولفات نیمه هضم شده در سلول های بیمار مبتلا به هورلر می باشد زیرا هر دو این موکوپلی ساکاریدها حاوی اسیدایدرونیك هستند. نشان داده شده است که در هورلر گلیکوزآمین گلیکان های درماتان سولفات و هپاران سولفات پلی ساکاریدهای دفع شده از طریق ادرار می باشند.

مکانیسمی که به واسطه آن تجمع مواد در لیزوزومها منجر به اختلال در عملکرد سلول می شوند عمدتاً شناخته نشده است<sup>(۶)</sup> عوارض کلینیکی هورلر شامل عقب افتادگی شدید ذهنی، اختلال در سلولهای سوماتیک و مرگ در کودکی می باشد. این عوارض در فرم های دیگر MPS-I خفیف تر است. با یافتن جهش ژن می توان به بررسی این نکته پرداخت که آیا جهش جدید است و یا جهش شناخته شده و لذا می توان به خانواده مشاوره لازم در خصوص احتمال ابتلای سایر فرزندان خانواده و به خصوص امکان استفاده از تشخیص پیش از تولد را ارایه نمود.

درمان هورلر عمدتاً شامل پیوند مغز استخوان می باشد که روش بسیار موثری است به خصوص که می تواند در مراحل اولیه

می‌شدند. در مرحله اول میزان فعالیت آنزیم IDUA براساس روش توضیح داده شده قبلی<sup>(۱۸)</sup> با استفاده از کشت فیبروبلاستهای پوست بیمار و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در این سلولهای کشت داده شده اندازه مورد بررسی قرار می‌گرفت. با این اندازه‌گیری تشخیص کلینیکی قطعی می‌گردید. این مرحله از این نظر ضروری بود که بتوان از بین تعداد نسبتاً زیاد بیماریهای ذخیره ای لیزوزومی به طور قطعی آنزیمی که کمبود آن باعث بیماری شده است را مشخص نمود.

در مرحله دوم از بیمار خون گرفته می‌شد و از خون جمع‌آوری شده طبق روشهای متداول در آزمایشگاه، DNA استخراج می‌گردید. بدین منظور از روش استخراج با بافر حاوی پروتئیناز K و تخلیص با فنل کلروفرم استفاده می‌گردید. پس از آن کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با روشهای UV اسپکتروفتومتری و الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز مورد بررسی قرار می‌گرفت و برای یافتن محل وجود جهش در ژن با توجه به گزارش وجود جهش L132R در منطقه، ابتدا آگزون ۴ ژن با استفاده از PCR تکثیر و با به کار بردن RFLP و اثر دادن آنزیم محدود کننده Fok I وجود این جهش مورد مطالعه قرار می‌گرفت<sup>(۱۸)</sup>. هضم آنزیمی Fok I در حجم ۲۰ μl حاوی ۲ μl بافر ۱۰×، بر روی ۸ μl از محصول PCR انجام می‌گردید و نتیجه توسط ژل آگارز ۱٪ مورد بررسی قرار گرفت.

واکنش PCR حاوی ۲mM از هر کدام از dNTPs، ۲ pmol از هر کدام از پرایمرها، ۱/۵mM MgCl<sub>2</sub> و ۱U آنزیم Taq Polymerase بود. همه آنزیم‌های مورد استفاده از شرکت سینا ژن تهیه گردید که ساخت شرکت فرمتاز بودند.

در بیمارانی که جهش فوق‌الذکر در آنها وجود نداشت هر ۱۴ آگزون ژن با استفاده از ۱۳ جفت پرایمر (دو آگزون ۱۱ و ۱۲ با یک جفت پرایمر تکثیر می‌شوند) تکثیر شدند<sup>(۱۸)</sup> و برای یافتن وجود جهش در محصولات PCR از روش غربالگری با استفاده از SSCP استفاده شد. بدین منظور ۱۰ μl از محصول PCR با ۲ μl بافر بارگذاری (۶×) مخلوط و پس از حرارت در ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه و سرد کردن فوری با روی یخ، DNA واسرشت می‌گردید. این DNA بلافاصله روی ژل پلی‌اکریل آمید ۶٪

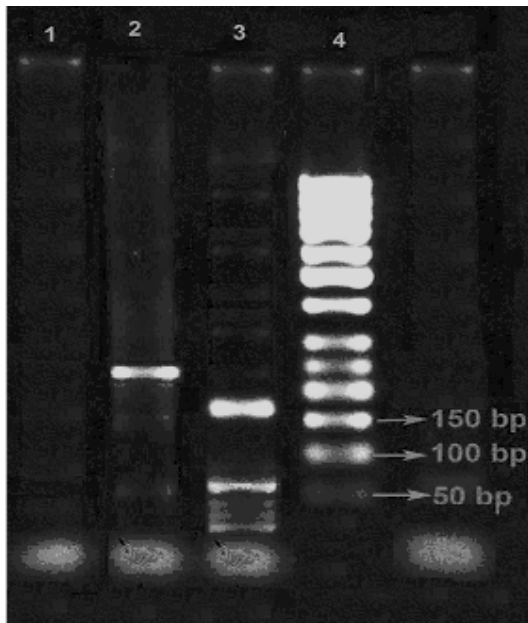
نکرده باشد و نهایتاً ملایم اگر بیماری پس از ۵ سالگی بروز کند، بقا طبیعی است و عقب افتادگی ذهنی مشاهده نشود<sup>(۱۲)</sup>.

در بیماری هورلر پیشرفته، مطالعه با میکروسکوپ نوری در اکثر سلولها و اکوتلهای گسترده‌ای را نشان می‌دهند. مطالعات سلولی در همه انواع سلولها، وجود بیش از حد لیزوزومها را نشان داده است که تأییدی است بر اینکه در هورلر همه دستگاههای بدن درگیر می‌شوند<sup>(۲)</sup>. مطالعات Van Hoof در حوالی سالهای ۱۹۷۲ نشان داد که حجم لیزوزومها در سلولهای مبتلایان به هورلر بین ۳۰ تا ۷۷ بار بیشتر از افراد سالم است به طوری که گاه تا بیش از ۲۰٪ حجم یک سلول را لیزوزومهای آن تشکیل می‌دهند<sup>(۱۳)</sup>. به طور کلی موکوپلی ساکاریدی که در بافت ذخیره می‌شود از طریق ادرار نیز دفع می‌شود این افزایش بین ۱۰ تا ۲۰ برابر افراد سالم است.

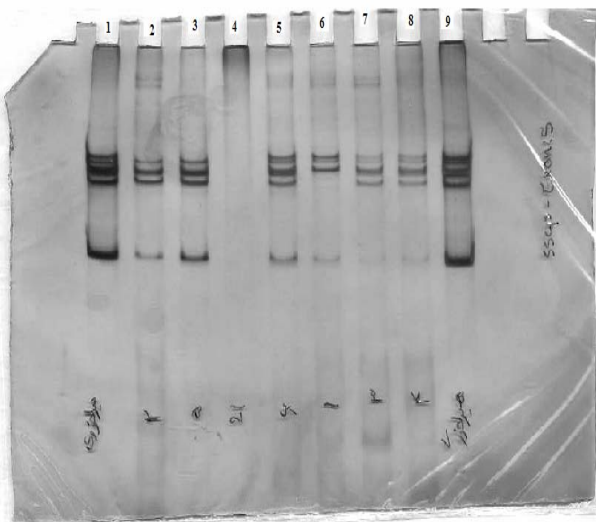
از زمان کلون شدن ژن ایدورونیداز<sup>(۱۴)</sup> حدود ۱۰۹ نوع جهش مختلف در این ژن گزارش شده است. مطالعات متعدد نشان داده اند که جهش‌های شایع در مناطق مختلف متفاوت اند مثلاً در بیماران جمعیت قفقازی و بیماران ژاپنی این تفاوت به خوبی نشان داده شده است<sup>(۱۵،۱۶)</sup>. از طرف دیگر شدت بیماری ارتباط مستقیم با نوع جهش عامل بیماری دارد<sup>(۱۷)</sup>. به خصوص که هموارتر شدن مسیر روشهای پیشرفته درمان نظیر جایگزینی آنزیم و یا ژن درمانی، آینده روشنی در مقابله با این بیماری نشان می‌دهد. هدف از این مطالعه یافتن جهش‌های عامل بیماری در بیماران مبتلا به MPS-I در منطقه اصفهان بوده است. در خصوص این بیماری یافتن جهش ژن بسیار اهمیت دارد و لذا بایستی هر گاه در خانواده‌های این بیماری مشاهده گردید، مشاوره مناسب به اعضای آن خانواده داده شود و به خصوص ناقل و یا مبتلا بودن خواهران و برادران کودک بیمار مورد بررسی قرار گرفته و در صورت لزوم برای PND در صورت حاملگی مجدد مادر برنامه ریزی نمود.

### روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی-تحلیلی و بر روی کودکان مشکوک به ابتلای به سندرم هورلر ۵ خانواده مختلف انجام گرفت. ابتدا بیماران با تشخیص کلینیکی موکوپلی ساکاریدوز، توسط پزشکان معالج به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی معرفی



شکل ۱: بررسی وجود جهش L132R در اگزون ۴ ژن ایدورونیداز. محصول PCR با آنزیم Fok I هضم شده و سپس روی ژل آگارز الکتروفورز گردید. در صورت وجود عدم جهش DNA بریده نشده و فقط ۱ باند ۲۴۱ جفت بازی ایجاد می شد (شماره ۲) و در صورت وجود جهش DNA بریده شده دو باند ۱۷۴ و ۶۷ جفت بازی ایجاد می گردید. شماره ۱ کنترل منفی، شماره ۲ محصول PCR بدون جهش، شماره ۳ محصول PCR دارای جهش و شماره ۴ مارکر وزن مولکولی ۵۰ جفت بازی



شکل ۲: نمونه ای از ژل اکریل آمید استفاده شده برای غربالگری جهش در اگزون های مختلف ژن ایدورونیداز توسط روش SSCP. نوارهایی که الگوی مهاجرت متفاوتی روی ژل نشان می دهند احتمالاً واجد جهش بوده و لذا توسط روش استخراج DNA از ژل و تعیین توالی مورد بررسی بیشتر قرار می گرفتند. در این ژل، نمونه الکتروفورز شده در ردیف ۶ چنین مهاجرت متفاوتی را در مقایسه با نمونه کنترل مثبت (ردیف های ۱ و ۹) نشان می دهد.

بار گذاری می گردید.

سیکلهای حرارتی PCR عبارت بود از: ۱ سیکل واسرشتی اولیه ( $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴ دقیقه) به علاوه ۳۰ سیکل شامل  $94^{\circ}\text{C}$  برای ۱ دقیقه،  $61^{\circ}\text{C}$  تا  $64^{\circ}\text{C}$  (بسته به نوع پرایمر) برای ۱ دقیقه و  $72^{\circ}\text{C}$  برای ۱/۵ دقیقه و در نهایت ۱ سیکل واسرشت نهایی ( $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷ دقیقه).

پس از اتمام الکتروفورز، ژل توسط نیترا نقره رنگ آمیزی می شد و وجود یا عدم وجود جهش در مقایسه با یک نمونه از فرد سالم بررسی می گردید. روش SSCP طبق پروتکل گزارش شده قبلی<sup>(۱۸)</sup> انجام گردید.

### نتایج

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم ایدورونیداز در مورد هر ۵ بیمار نشان داد که میزان فعالیت آنزیم کمتر از یک دهم میزان فعالیت آنزیم طبیعی بود. این میزان فعالیت آنزیم تأییدی بر وجود بیماری هورلر در بیماران بود.

میزان فعالیت آنزیم حداقل  $0.220$  و حداکثر  $0.35$  ( $\mu\text{min/mg}$ ) بود. دامنه طبیعی فعالیت این آنزیم در افراد طبیعی بین  $2/2$  تا  $12$  ( $\mu\text{min/mg}$ ) می باشد. نتایج اندازه گیری فعالیت آنزیم در بیماران ۱ تا ۵ به ترتیب:  $0.22$ ،  $0.20$ ،  $0.15$ ،  $0.65$  و  $0.35$  بود.

در مرحله بعدی غربالگری بیماران با استفاده از اثر دادن آنزیم Fok I روی محصولات PCR اگزون ۴ نمونه ها نشان داد در ۲ نمونه از ۵ نمونه مورد مطالعه جهش عامل بیماری L132R است که T483 را به G تغییر داده است (شکل ۱).

در خصوص ۳ بیمار دیگر از روش غربالگری SSCP هر ۱۴ اگزون ژن استفاده شد. نمونه ای از ژل اکریل آمید استفاده شده در SSCP در شکل (۲) آورده شده است. سپس اگزونهایی را که توسط SSCP انتخاب شده بودند تعیین توالی شدند و پس از Align نمودن توالی نمونه با توالی ژن طبیعی جهش موجود در هر نمونه شناسایی گردید. ژنوتیپ و فنوتیپ بیماران در جدول (۱) خلاصه شده است.

در مورد هر کدام از ۵ بیمار تنها یک نوع جهش یافت گردید. این مسئله می تواند به دلیل فراوانی بالای ازدواج های فامیلی به خصوص در مناطق روستایی باشد.

جدول ۱: ژنوتیپ ژن ایدورونیداز، فنوتیپ و خصوصیات جهش در ۵ بیمار مبتلا به سندرم هورلر

شماره	ژنوتیپ	فنوتیپ	تغییر نوکلئوتیدی	محل جهش	نوع جهش
۱	L132R	شدید (severe)	483T>G	اگزون ۴	Missense
۲	L132R	شدید (severe)	483T>G	اگزون ۴	Missense
۳	W402X	شدید (severe)	1293G>A	اگزون ۹	Nonsense
۴	P533R	Intermediate	1686E>G	اگزون ۱۱	Nonsense
۵	G51D	شدید (severe)	247C>A	اگزون ۲	Nonsense

## بحث

گزارشات متفاوتی از جهش های شایع در ژن ایدورونیداز در جوامع مختلف وجود دارد. ولی در جمعیت قفقازی (Caucasion) جهش های W402X و Q70X ظاهراً عامل بیماری در بیش از ۵۰٪ موارد است<sup>(۱۴)</sup> در حالی که در ژاپنی ها جهش 704ins5 و R89Q در ۴۲٪ بیماران عامل بیماری بوده است<sup>(۱۶)</sup>. انواع مختلفی از اختلالات ژنی مثل حذف، جایگزینی، اضافه شدن نوکلئوتید و همین طور جهش در جایگاه های پردازش (splicing site) در این بیماری گزارش شده اند<sup>(۱۹)</sup> این مطالعات نشان داده اند که در این لوکاس درجه بالایی از هتروژنی آللی وجود دارد.

باید به این نکته نیز توجه داشت که شدت بیماری در درجه اول بستگی به نوع جهش اتفاق افتاده در ژن ایدورونیداز، که در بازوی کوتاه کروموزوم ۴ واقع شده است، دارد به عنوان مثال جهشی نظیر W402X شدیدترین فرم بیماری را ایجاد می کند<sup>(۱۷)</sup>. این جهش، یک جهش nonsense است و تغییر نوکلئوتیدی آن شامل TAG → TGG در نوکلئوتید ۱۲۹۳ در اگزون ۹ می باشد که باعث تغییر Term → Trp می شود و عوارض کلینیکی شدید (هورلر) را ایجاد می نماید<sup>(۲۰)</sup>. جهش W402X در کشورهای انگلیسی زبان بسیار شایع است به طوری که فراوانی آن در استرالیا، انگلستان و آمریکا حدود ۴۴-۵۵٪<sup>(۲۱)</sup> و در اروپای مرکزی حدود ۳۰٪ گزارش شده است<sup>(۲۲)</sup> در حالی که فراوانی همین جهش در اسپانیا به حدود ۶۰٪ افزایش می یابد<sup>(۲۳)</sup>. جهش دیگر به دست آمده در این تحقیق P533R<sup>(۲۰)</sup> نام داشت که یک جهش missense است. این جهش در بیش از ۹۲٪ بیماران مراکشی (Morocan) نیز گزارش شده است<sup>(۲۲)</sup>. تغییر نوکلئوتیدی حاصل از این جهش شامل CCG → CGG در نوکلئوتید ۱۶۸۶ در اگزون ۱۱ ژن می باشد که باعث تغییر

Pro → Arg ایجاد می شود. جهش P533R شیوع بالنسبه کمی در اروپای مرکزی و شمالی دارد در حالی که در اسپانیا و ایتالیا شایع تر می باشد و لذا گفته می شود که این جهش از شمال آفریقا منشای گرفته و از آنجا به اروپا گسترش یافته است<sup>(۱۲)</sup>.

در خصوص جهش L132R چون تاکنون از هیچ نقطه دیگری از دنیا به جزء مطالعه قبلی انجام شده توسط این گروه گزارش نشده است اطلاعات زیادی در دست نیست ولی به نظر می رسد که در ناحیه ما شیوع بالنسبه بالایی داشته باشد<sup>(۱۸)</sup>. با توجه به اینکه ناهمگونی فنوتیپی در این بیماری به نظر می رسد به علت جهش های متفاوت در ژن IDUA باشد. بنابراین تشخیص مولکولی MPS-I در بیماران از این نظر که می تواند بیماری را از نظر شدید یا خفیف بودن در هر بیمار پیش گویی نماید و همین طور هتروزیگوتها را شناسایی نماید بسیار مهم قلمداد شده است<sup>(۱۲)</sup>.

جهش های گزارش شده برای ژن IDUA در حال حاضر طبق Database جهش های ژنوم انسان قابل دسترسی از <http://www.hgmd.org> برابر ۱۰۹ جهش می باشد که ارتباط هر جهش را با فنوتیپ بیمار نشان داده اند. اکثر جهش های گزارش شده (۷۳ عدد) از نوع Missense/Nonsense و پس از آن حذف های کوچک (۱۸ عدد)، Splicing (۸ عدد)، Insertion های کوچک (۶ عدد) و در نهایت حذف های بزرگ (Gross deletion) (۲ عدد) بوده اند. از این جهش ها ۹۵ عدد واجد فنوتیپ هورلر، ۷ جهش واجد فنوتیپ شای، ۵ عدد واجد فنوتیپ هورلر - شای و یک عدد واجد فنوتیپ به خصوصی معروف به "نقص کاذب ایدورونیداز" (Alpha-L-Iduronidase pseudodeficiency) مشاهده شده اند.

## پیشنهاد

توصیه می شود در خصوص تمام بیماران مبتلا به MPS-I

شرط آنکه دقت شود مشخصه های فنوتیپی مناسبی به این منظور مورد استفاده قرار گیرد. به طور کلی بسیار حیاتی می نماید که در خصوص هر بیمار ابتدا جهش عامل بیماری شناسایی گردد تا بتوان اقدامات بعدی، شامل اظهار نظر در خصوص سایر اعضای خانواده و احتمالاً تشخیص قبل از تولد و حتی تشخیص قبل از لانه گزینی (PGD) را در خصوص آن خانواده مورد استفاده قرار داد.

جهش عامل بیماری مورد شناسایی قرار گیرد. این مسئله کمک می کند تا بتوانیم در خصوص فنوتیپ مورد انتظار از بیماری اظهار نظر کنیم از طرف دیگر شناسایی جهش به تشخیص بیماری در کودکان خانواده در معرض خطر کمک کند و در نهایت مطالعه جهش های شایع کمک به ایجاد درک صحیح تر از بیماری و مکانیسم ایجاد آن می نماید. برقرار نمودن ارتباط بین نوع جهش و شدت بیماری نیز می تواند بسیار سودمند واقع شود به

## References

- 1- Sheth J, Patel P, Sheth F, and Shah R. *Lysosomal storage disorders*. Indian Pediatr. 2004; 41(3):260-5.
- 2- Dhaunsi GS. *Molecular mechanisms of organelle biogenesis and related metabolic diseases*. Med Princ Pract. 2005; 14 Suppl 1:49-57.
3. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, and Carey WF. *Prevalence of lysosomal storage disorders*. JAMA 1999; 281; (3) 249-54.
- 4- Tomatsu S, Okamura K, Maeda H, Taketani T, Castrillon SV, et al. *Keratan sulphate levels in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses*. J Inherit Metab Dis. 2005 ; 28(2);187-202.
- 5- Matalon R, Cifonelli JA, Dorfman A. *L-iduronidase in cultured human fibroblasts and liver*. Biochem Biophys Res Commun. 1971; 22;42(2):340-5.
- 6- Jeyakumar M, Butters TD, Dwek RA, Platt FM.. *Glycosphingolipid lysosomal storage diseases: therapy and pathogenesis*. Neuropathol Appl Neurobiol. 2002; Oct 28(5); 343-57.
- 7- Fleming DR, Henslee-Downey PJ, Ciocci G, Romond EH, Marciniak E. *The use of partially HLA-mismatched donors for allogeneic transplantation in patients with mucopolysaccharidosis-I*. Pediatr Transplant. 1998; 2(4); 299-304
- 8- Navarro C, Dominguez C, Costa M, Ortega JJ. *Bone marrow transplant in a case of mucopolysaccharidosis I Scheie phenotype: skin ultrastructure before and after transplantation*. Acta Neuropathol (Berl). 1991; 82(1); 33-8.
- 9- Tokic V, Barisic I, Huzjak N, Petkovic G, Fumic K, et. al. *Enzyme replacement therapy in two patients with an advanced severe (Hurler) phenotype of mucopolysaccharidosis I*. Eur J Pediatr. Jul. 2007; 166(7):727-732. Epub 2006 Oct 17.
- 10- Pastores GM, Barnett NL. *Current and emerging therapies for the lysosomal storage disorders*. Expert Opin Emerg Drugs. 2005 ; Nov;10(4): 891-902.
- 11- Dorfman A, Matalon R. *The mucopolysaccharidoses (a review)*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1976; 73(2): 630-637.
- 12- Venturi N, Rovelli A, Parini R, Menni F, Brambillasca F, et. al. *Molecular analysis of 30 mucopolysaccharidosis type I patients: evaluation of the mutational spectrum in Italian population and identification of 13 novel mutations*. Hum Mutat. 2002; 20(3):231.
- 13- Van Hoof F. *Mucopolysaccharidoses and*

- mucopolidoses*. J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol). 1974; 8,64-93.
- 14- Li P, Wood T, Thompson JN. *Diversity of mutations and distribution of single nucleotide polymorphic alleles in the human alpha-L-iduronidase (IDUA) gene*. Genet Med. 2002 Nov-Dec;4(6):420-6.
- 15- Li P, Wood T, Thompson JN. *Diversity of mutations and distribution of single nucleotide polymorphic alleles in the human alpha-L-iduronidase (IDUA) gene*. Genet Med. 2002; 4(6); 420-6.
- 16- Yamagishi A, Tomatsu S, Fukuda S, Uchiyama A, Shimozawa N, et. al. *Mucopolysaccharidosis type I: identification of common mutations that cause Hurler and Scheie syndromes in Japanese populations*. Hum Mutat. 1996; 7(1):23-9.
- 17- Terlato NJ, Cox GF. *Can mucopolysaccharidosis type I disease severity be predicted based on a patient's genotype? A comprehensive review of the literature*. Genet Med. 2003; 5(4); 286-94.
- ۱۸- صالحی ر. گزارش جهش جدیدی از ژن *آلفا-۱-ایدورونیداز (IDUA)* در یک خانواده ایرانی مبتلا به سندرم هورلر (موکوپولی ساکاریدوز تیپ I). مجله زیست شناسی ایران جلد ۱۷ شماره ۱ - بهار ۱۳۸۳
- 19- Teng YN, Wang TR, Hwu WL, Lin SP, Lee-Chen GJ. *Identification and characterization of -3c-g acceptor splice site mutation in human alpha-L-iduronidase associated with mucopolysaccharidosis type IH/S*. Clin Genet. 2000; 57(2):131-6.
- 20- Li P, Wood T, Thompson JN. *Diversity of mutations and distribution of single nucleotide polymorphic alleles in the human alpha-L-iduronidase (IDUA) gene*. Genet Med. 2002; 4(6), 420-6.
- 21- Scott HS, Bunge S, Gal A, Clarke LA, Morris CP, Hopwood JJ. *Molecular genetics of mucopolysaccharidosis type I: diagnostic, clinical, and biological implications*. Hum Mutat. 1995; 6(4); 288-302.
- 22- Bunge S, Kleijer WJ, Steglich C, Beck M, Zuther C, et. al. *Mucopolysaccharidosis type I: identification of 8 novel mutations and determination of the frequency of the two common alpha-L-iduronidase mutations (W402X and Q70X) among European patients*. Hum Mol Genet. 1994; 3(6); 861-6.
- 23- Gort L, Chabas A, Coll MJ. *Analysis of five mutations in 20 mucopolysaccharidosis type I patients: high prevalence of the W402X mutation*. Mutations in brief no. 121. Online. Hum Mutat. 1998; 11(4):332-3.