

## Molecular Analysis of GALNS Gene in eight Iranian Patients with Mucopolysaccharidosis IVA

Saberi SH<sup>1,2</sup>, Kamalidehghan B<sup>3</sup>, Farshidi S<sup>4,5</sup>, Houshmand M<sup>1</sup>, Jazayeri R \*<sup>6</sup>

1. Department of Medical Genetics, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran
2. Unit of Genetic-counseling, Welfare organization, Karaj, Iran
3. Department of Medical Genetics, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran
4. Department of Genetics, School of Medicine, Azad University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5. Unit of Genetic-counseling, Welfare organization, Tehran, Iran
6. Non-Communicable Diseases Research Center, Faculty of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran.

\* **Corresponding author.** Tel: +989125663016, Fax: +982634287339, E-mail: roshanakjazayeri@gmail.com

Received: Jul 27, 2020

Accepted: Sep 20, 2020

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Mucopolysaccharidosis IVA (Morquio syndrome type A) is a lysosomal storage disorder caused by a mutation in the GALNS gene located on chromosome 16q24.3 and is inherited in an autosomal recessive manner. To date, more than 300 different mutations associated with MPS IVA, have been reported. Mutational heterogeneity can lead to difficulties in interpretation of molecular testing results, as novel mutations/variants of unknown significance may be detected relatively frequently. The purpose of this study is to analyze the GALNS mutations in Iranian MPS IVA patients.

**Methods:** Mutation screening of the GALNS gene was performed using direct sequence analysis on DNA samples from 8 unrelated Iranian MPS IVA patients.

**Results:** We have identified three novels and four previously reported mutations in 8 Iranian patients. We identified three novel missense mutations including: c.680T>C (p.F227S) in exon 7, c.G949C (p.G317R) and c.956G>C (p.R319T) in exon 9 in three different Iranian MPS IVA patients. Bioinformatics analysis predicted the novel mutations as being disease-causing.

**Conclusion:** Our findings indicate the molecular heterogeneity of GALNS gene in Iranian patients. We also managed to find three new mutations of MPS IVA in Iranian patients, which are helpful in diagnosis, genetic counseling and prenatal diagnosis in affected families.

**Keywords:** Mucopolysaccharidosis Type IVA; GALNS Gene; Mutation Screening; Genetic Counseling

## آنالیز مولکولی ژن GALNS در ۸ بیمار ایرانی مبتلا به موکوپلی ساکاریدوز تیپ ۴

سید حسینی صابری<sup>۱</sup>، بهنام کمالی دهقان<sup>۳</sup>، شهلا فرشیدی<sup>۵</sup>، سید مسعود هوشمند<sup>۱</sup>، روشنگ جزایری<sup>۶\*</sup>

۱. گروه ژنتیک پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی، تهران، ایران

۲. مرکز مشاوره ژنتیک پزشکی، سازمان بهزیستی، کرج، ایران

۳. گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد تهران، شعبه شمال، تهران، ایران

۴. گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۵. مرکز مشاوره ژنتیک پزشکی، سازمان بهزیستی، تهران، ایران

۶. مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۲۵۶۶۳۰۱۶ فاکس: ۰۲۶۳۴۲۸۷۳۳۹ پست الکترونیک: roshanakjazayeri@gmail.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** موکوپلی ساکاریدوز IVA (سندرم مورکیو نوع A) یک اختلال ذخیره ای لیزوزومی ناشی از جهش در ژن GALNS بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۶ است و به روش اتوزومی مغلوب به ارث می رسد. تا به امروز، بیش از ۳۰۰ جهش مختلف مرتبط با MPS IVA گزارش شده است. ناهمگونی جهش‌ها می‌تواند منجر به اختلاف در تفسیر نتایج آزمایش مولکولی شود، زیرا تغییرات و یا جهش‌های جدید با اهمیت نامعلوم، ممکن است به طور مکرر شناسایی شوند. هدف از این مطالعه، تحلیل جهش‌های GALNS در بیماران ایرانی مبتلا به MPS IVA بود.

**روش کار:** غربالگری جهش‌های ژن GALNS با استفاده از روش توالی یابی مستقیم بر روی نمونه های DNA از ۸ بیمار ایرانی MPS IVA غیر خویشاوند انجام شد.

**یافته ها:** مطالعه حاضر سه جهش احتمالاً جدید و چهار جهش قبلاً گزارش شده را شناسایی نمود. همچنین سه جهش جدید بد معنی (c.680T>C (p.F227S) در اگزون ۷، c.G949C (p.G317R) و c.956G>C (p.R319T) در اگزون ۹ در سه بیمار مختلف ایرانی MPS IVA پیدا شد. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک، جهش‌های جدید را عامل بیماری پیش بینی کرد.

**نتیجه گیری:** یافته های مطالعه حاضر نشانگر عدم تجانس مولکولی ژن GALNS در بیماران ایرانی بود، همچنین این مطالعه موفق به یافتن سه جهش جدید عامل MPS IVA در بیماران ایرانی گردید، که در تشخیص، مشاوره ژنتیک و تشخیص قبل از تولد خانواده های مبتلا کمک کننده است.

**واژه‌های کلیدی:** موکوپلی ساکاریدوز نوع IVA، ژن GALNS، غربالگری جهش، مشاوره ژنتیک

دریافت: ۱۳۹۹/۵/۶ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۳۰

### مقدمه

موکوپلی ساکاریدوز MPS IVA، سندرم مورکیو نوع (A) (OMIM#253000) یک اختلال ذخیره ای لیزوزومی است که در اثر جهش در ژن GALNS

واقع بر روی کروموزوم 16q24.3 ایجاد می‌شود و به روش اتوزومال مغلوب به ارث می‌رسد [۱]. مورکیو A در اثر کمبود گالاکتوزامین-۶-سولفاتاز (N-استیل-گالاکتوزامین-۶-سولفاتاز سولفاتاز؛

اختلافات در تفسیر نتایج آزمایش مولکولی شود. زیرا جهش‌های جدیدی با اهمیت ناشناخته ممکن است به‌طور مکرر شناسایی شوند. آنالیز مولکولی برای تأیید تشخیص و ارائه مشاوره ژنتیکی برای خانواده و آنالیزهای دوران بارداری استفاده می‌شود. تا فوریه سال ۲۰۱۸، ۳۳۴ جهش در ژن GALNS گزارش شده است که در کل ۲۰۳ جهش بدمعنی/بی‌معنی، ۳۵ حذف، ۲۲ جهش در محل اسپلایس، ۷ درج و ۳ بازآرایی پیچیده، تشکیل می‌دهند. جهش‌های متعددی شایع هستند؛ شایع‌ترین جهش‌های مکرر در ژن GALNS عبارتند از

c.901G>T (p.G301C), c.1156C>T (p.R386C), c.757C>T, c.1A>G (p.M1V), c.337A>T (p.I113F), c.935C>G, c.871G>A (p.A291T), (p.R253W), (p.T312S) و (p.M391V), c.1171A>G. به ترتیب با شیوع ۱/۸، ۸/۹، ۶/۸، ۵/۷، ۲/۳، ۲/۱، ۱/۸، ۱/۸، ۱/۸ و ۱/۸ درصد [۱۹-۱۴]. در این مطالعه آزمایش مولکولی که منجر به شناسایی اختلالات ژنتیکی در ژن GALNS در ۸ بیمار مبتلا به مورکیو A شده است گزارش می‌شود. هدف از این مطالعه، نشان دادن نقاط داغ در ژن GALNS به منظور تشخیص سریع بیماری و جلوگیری از ارجاع تمامی بیماران با علائم بالینی مشابه به تست‌های پرهزینه‌ای مانند هول اگزوم سکوتسنینگ است که این هدف کمک ارزنده‌ای را به بیماران تحت پوشش سازمان بهزیستی خواهد داشت.

## روش کار

### بیماران

این مطالعه موردی بر روی ۸ بیمار MPS IVA از بخش‌های کودکان مراکز مختلف پزشکی ایران، انجام شد. همه بیماران مورد مطالعه حاصل ازدواج فامیلی بودند و هیچ ارتباطی بین خانواده‌ها وجود نداشت. همه روش‌ها مطابق با پارامترهای اخلاقی کمیته اخلاق مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی ملی بود. قبل از ورود به مطالعه، رضایت آگاهانه از کلیه بیماران و خانواده

(GALNS) ایجاد می‌شود. نقص GALNS منجر به تجمع GAGs سولفات (KS) keratan و کندرویتین-۶-سولفات (C6S) در لیروزوم‌ها و بروز ناهنجاری‌های برجسته اسکلتی و بافت همبندی می‌شود [۲]. مورکیو A<sup>۱</sup> نوعی اختلال نادر است که تخمین زده می‌شود در جمعیت‌های مختلف بروز متفاوتی از ۶ مورد در ۶۴۰،۰۰۰ تولد زنده تا ۱ در ۷۶۰۰۰ داشته باشد. ازدواج‌های فامیلی با فراوانی بیش از حد اختلالات اتوزومی مغلوب همراه است [۳، ۴]. فنوتیپ‌ها از فرم کلاسیک (طول عمر ۲۰ تا ۳۰ سال) با کدورت قرنیه، کوتاهی تنه، بیماری دریچه قلب و دیسپلازی شدید استخوان تا اشکال خفیف‌تر با طول عمر عادی و عوارض خفیف استخوانی و احشایی متفاوت است. اختلال در سیستم عصبی مرکزی در هیچ یک از فنوتیپ‌های مورکیو A وجود ندارد [۵، ۶]. تشخیص مورکیو A با سوء ظن بالینی آغاز می‌شود و به دنبال آن آزمایش‌های غربالگری انجام می‌شود (که در صورت وجود سابقه خانوادگی شناخته‌شده بعضی اوقات حذف می‌شوند). الگوریتم تشخیصی مورکیو A، آزمایش اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GALNS را که در لکوسیت‌ها یا فیبروبلاست‌ها انجام می‌شود، به‌عنوان استاندارد طلایی برای تشخیص مورکیو A توصیه می‌کند. تشخیص مورکیو A را می‌توان با آنالیز مولکولی ژن GALNS تأیید کرد [۷، ۸]. ژن GALNS، واقع روی کروموزوم 16q24.3، حاوی ۱۴ اگزون به طول ۵۰ کیلوبایت و به 1566 bp cDNA تبدیل می‌شود، که گلیکوپپتید ۵۲۲ رمزگذاری می‌کند. تا به امروز، بیش از ۳۰۰ جهش مختلف مرتبط با MPS IVA از جمله جهش نقطه‌ای، جهش محل اسپلایس، حذف و درج شناسایی شده است [۹، ۱۰]. این ناهمگونی ممکن است تغییرات مهم فنوتیپ‌های مشاهده شده در بیماران MPS IVA را توضیح دهد [۱۱-۱۳]. این ناهمگونی جهش‌ها می‌تواند منجر به

<sup>1</sup> Morquio A

آنها اخذ شد. تشخیص بیماری MPS IVA برای و با روش آنالیز مولکولی تأیید شد (جدول ۱).

بیماران بر اساس بررسی‌های بالینی و پاراکلینی انجام

جدول ۱. متغیرهای مطالعه حاضر و مقیاس سنجش آنها

شماره	نام متغیر	نوع متغیر	نقش متغیر (وابسته، مستقل، مخدوش کننده...)	تعریف علمی - عملی	نحوه اندازه گیری	مقیاس
۱	سن	کمی پیوسته	مستقل	بر اساس سال شمسی تقویمی و پرسشنامه پیوست	پرونده	سال
۲	جنس	کیفی	مستقل	بر اساس فنوتیپ فرد	پرونده	زن / مرد
۳	علامه بالینی	کیفی	مستقل	بر اساس پرونده بالینی بیمار	پرونده	
۴	گلیکوز آمینو گلیکان	کمی	مستقل	بر اساس پرونده بالینی بیمار	پرونده	استاندارد آزمایشگاهی
۵	واریانت‌های ژنتیکی	کیفی	مستقل	شناسایی واریانت‌های ایجاد شده در DNA	سنکر سکونسینگ	توالی یابی

## آنالیز مولکولی

از هر dNTP، ۱ میلی‌متر  $MgCl_2$ ، ۰/۱ میکرومولار از هر پرایمر و ۰/۳ واحد آنزیم Taq پلیمرز با استفاده از ترموسیکلر انجام شد. DNA در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه و متعاقباً ۳۵ سیکل یک دقیقه ای دناتورده شد. درجه حرارت مرحله آنیلینگ بر اساس درجه حرارت (درجه سانتیگراد) هر پرایمر متفاوت بود (جدول ۲).

DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی PrimePrep (GeNet Bio) از نمونه خون محیطی بیماران MPS استخراج و در لوله‌های حاوی اسید اتیلن دی آمینتراستیک (EDTA) در حجم نهایی ۲ میلی لیتر جمع‌آوری شد. به طور خلاصه، واکنش PCR در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۵۰ نانوگرم DNA، ۲/۵ میکرولیتر از بافر 10 PCR، ۰/۱ میلی‌متر

جدول ۲. توالی‌های پرایمرهای ژن GALNS

Primer name	Primer sequence
Pair 1	F-GCCCCACTGGTCACGAGGCAGTCCA R-CCCACCCCGGCCCTGCCCCGTCCC
Pair 2	F-TGGCTTCCACGGTCCCCGACACGCTCT R-ATGTCCCTTGGAACCAAGGCCAGGAAGT
Pair 3	F- GTGGTATCTGTTGCTGCTCAGAACTTCCGACTGTC R- CGCACACACCCTGGGATGGCTGCAGGCCTGGACCT
Pair 4	F- TGTGAGCATGTATGCATATCTGTAGACCCA R- CCACCAAGCACGTGTGGGTATGAATAGCAACAGCA
Pair 5	F- AGTGACTGCTCACTGTGGTTCTCAGCCCGTTAGAG R- CTGCGTCTGCAGGTGCTGTCTGTCTGGCTT

**آنالیز تعیین توالی**

DNA دو زنجیره ای محصولات PCR از بیماران MPS با استفاده از دستگاه توالی یابی ABI خودکار (Applied Biosystems 3100، شرکت کاوش فناوران کوثر، تهران- ایران) مورد بررسی قرار گرفت. قطعات DNA از نظر هر گونه تغییر نوکلئوتیدی تأیید و سپس با استفاده از نرم افزار Finch TV (<http://www.geospiza.com/finchtv/>)، مورد آنالیز قرار گرفتند.

**آنالیز *in silico* واریانت‌ها**

تأثیر جهش‌های جدید از طریق پایگاه داده جهش ژن انسانی (HGMD) تأیید شد. به منظور پیش‌بینی اثرات عملکردی جهش‌های جدید، تغییرات توالی با استفاده از الگوریتم‌های پیش‌بینی‌کننده SIFT، پلی فن و I-Mutant2.0 (<http://folding.biofold.org/i-mutant/i-1-mutant2.0.html>) مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها**

جامعه آماری شامل ۵ زن و ۳ مرد مبتلا به MPS از نوع IVA بود که خصوصیات بالینی هر بیمار در جدول ۳ ارائه شده است. تمام مناطق کدکننده اگزون‌ها و مرز اینترون‌ها و اگزون‌های ژن GALNS با استفاده از PCR در کلیه بیماران ارزیابی شد. همه پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۲

نشان داده شده است. توالی یابی سنکر، ۸ واریانت را در ژن‌های این بیماران مشخص کرد، که از بین آنها ۴ تغییر تک نوکلئوتیدی (missense) قبلاً در بانک‌های اطلاعاتی بیماری گزارش شده است (کلین وار، OMIM، HGMD و ادبیات در PubMed تا ۲۹ ژوئیه، ۲۰۱۹). بعلاوه تغییر آمینواسیدی ایجاد شده در واریانت‌ها نیز در شکل ۱ نشان داده شده است.

هیچکدام از آن‌ها در پایگاه داده‌های ملی جمعیت ایران (ایران‌وم) وجود ندارد (<http://www.iranome.ir>) (جدول ۴). تمام واریانت‌ها با آنالیز Mutation Taster، به عنوان عامل بیماری پیش‌بینی شده اند. الکتروفوروگرام برخی از واریانت‌ها در شکل ۲ آورده شده است.

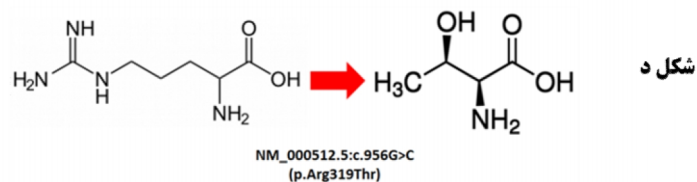
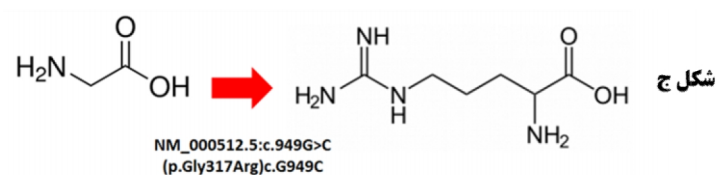
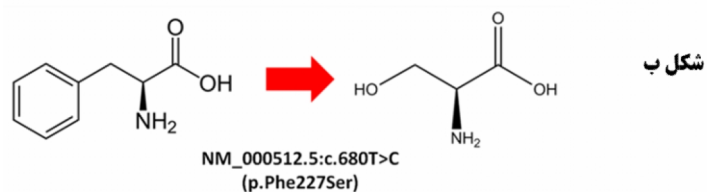
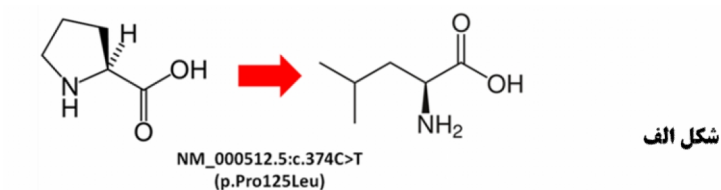
شش نفر از بیماران مورد بررسی دارای تغییر جانشینی بدمعنی در ژن GALNS بودند، ۲ مورد از این انواع شامل c.G949C و c.C>G956 در اگزون ۹ مشخص شدند و یک جایگزینی missense (c.866A>G) در اگزون ۸ در یک بیمار تشخیص داده شد. علاوه بر این، یک جایگزین تک نوکلئوتیدی (c.374 C>T) در اگزون ۴ ژن GALNS در دو بیمار پیدا شد. یک تغییر جانشینی در اگزون ۷ در یک نمونه پیدا شد. یک دوپلیکاسیون تک بازی (c.1523dup T) در اگزون ۱۳ در دو بیمار، یافت شد.

جدول ۳. خصوصیات بالینی و بیوشیمیایی بیماران MPS IVA

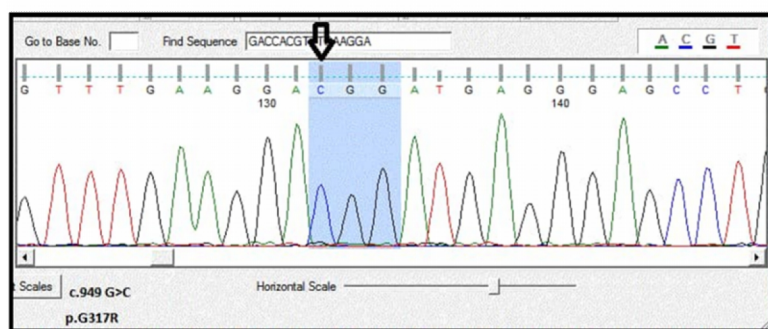
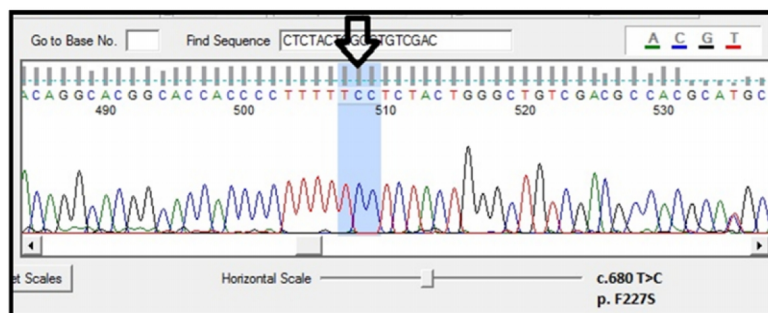
بیماران	جنس	ازدواج فامیلی والدین	علایم بالینی	علایم اصلی	ناهنجاری در چهره	تجمع گلیکوز آمینو گلیکان ادراری	عقب ماندگی ذهنی	مشکلات قلبی	ناشنوایی
1	F	+	دستوسوز پیچیده، چهره بدشکل (گار گویل)، قد کوتاهی، کیفوز پیشرونده، تغییر شکل قفسه سینه	انحراف اولنار مچ دست، مفصل شل، قرنیه ابری خفیف	ندارد	کراتان سولفات	ندارد	ندارد	ندارد
2	F	+	قد کوتاهی، کیفوز پیشرونده، تغییر شکل قفسه سینه	مفصل شل، قرنیه ابری خفیف	ندارد	کراتان سولفات	ندارد	اختلال دریچه قلب	ندارد
3	M	+	کیفوز پیشرونده، تغییر شکل قفسه سینه	مفصل شل، قرنیه ابری خفیف	ندارد	کراتان سولفات	ندارد	ندارد	ندارد
4	F	+	کیفوسکولیوز پیشرونده	انحراف اولنار مچ دست	ندارد	کراتان سولفات	ندارد	ندارد	ندارد
5	M	+	قد کوتاهی، اسکولیوز پیشرونده	فشار نخاع، مفصل شل	ندارد	#	ندارد	ندارد	ندارد
6	F	+	دستوسوز پیچیده، چهره بدشکل (گار گویل)	تغییر شکل قفسه سینه، کوتاهی قد	ندارد	کراتان سولفات	ندارد	ندارد	ندارد
7	F	+	کیفوز پیشرونده، تغییر شکل قفسه سینه	مفصل شل، قرنیه ابری خفیف	ندارد	کراتان سولفات	ندارد	ندارد	ندارد
8	M	+	کیفوز پیشرونده، اسکولیوز پیشرونده	انحراف اولنار مچ دست، مفصل شل	ندارد	#	ندارد	ندارد	ندارد

جدول ۴. واریانت‌های ژن GALNS در بیماران MPS IVA

بیماران	اگزون/اینترون	واریانت (نامگذاری HGVS)	هموزیگوت/ هتروزیگوت	تأثیر کلینیکالی
۱	۸	NM_000512.5:c.866A>G	هموزیگوت	پاتوژنیک
۲ و ۶	۱۳	NM_001323544.2:c.1525_1526dupAA	هموزیگوت	پاتوژنیک
۳ و ۵	۴	NM_000512.5:c.374C>T (p.Pro125Leu)	هموزیگوت	پاتوژنیک
۴	۷	NM_000512.5:c.680T>C (p.Phe227Ser)	هموزیگوت	پاتوژنیک
۷	۹	NM_000512.5:c.949G>C (p.Gly317Arg)	هموزیگوت	پاتوژنیک
۸	۹	NM_000512.5:c.956G>C (p.Arg319Thr)	هموزیگوت	پاتوژنیک



شکل ۱. ساختار شماتیک تغییرات آمینواسیدی (الف) پرولین به لوسین، (ب) فنیل آلانین به سرین، (ج) گلیسین به آرژنین، (د) آرژنین به ترئونین



شکل ۲. برخی از تغییرات رح داده در توالی ژن GALNS (الف) c.680T>C (p.F227S) (ب) c.949G>C (p.G317R)

**بحث**

MPS IVA به دلیل نقص آنزیم N-استیل گلاکتوزامین-۶-سولفاتاز (GALNS) ایجاد می‌شود. تجمع کوندرویتین-۶-سولفات (C6S) و KS منجر به اختلال در غضروف و رشد استخوان و نهایتاً دیسپلازی اسکلتی سیستمیک می‌شود. در این مطالعه، ژن GALNS در ۸ فرد ایرانی مبتلا به MPS IVA با استفاده از آنالیز توالی DNA مورد بررسی قرار گرفت. میانگین میزان ازدواج خویشاوندی در ایران ۳۸/۶ درصد و شایع‌ترین شکل آن، ازدواج‌های بین بستگان درجه ۳ (۲۷/۹٪) بود [۲۰، ۲۱]. بیماران مطالعه حاضر حاصل ازدواج‌های خویشاوندی بودند و هیچ ارتباطی بین خانواده‌های MPS IVA وجود نداشت. نتایج در مجموع سه جهش جدید و ۴ جهش قبلاً گزارش شده را نشان داد. جهش تغییر قاب (c.1523dupT) در دو بیمار حالت هموزیگوت یافت شد. این جهش به عنوان عامل بیماری پیش‌بینی شده است و در ExAC و G1۰۰۰ یافت نشد. فراوانی آلی این جهش در بین انواع این گروه جمعیت ایرانی ۲۵ درصد مشاهده شد. جهش missense (c.374C> T یا p.P125L) در ۴ اگزون از GALNS در دو بیمار مشاهده شد. نشان می‌دهد در چین و جمعیت ایتالیا یافت شد [۲۲]. نشان می‌دهد که این جهش جهش تکرارشونده و ناشی از اجداد متعدد است. فراوانی آلی p.P125L در بین انواع موجود در این مطالعه ۲۵ درصد بود. همچنین سه جهش جدید (p.F227S) C (c.680T> C) در ۷ اگزون، (p.G317R) c.G949C (p.R319T) و (c.956G> C) در ۹ اگزون در سه بیمار MPS IVA مختلف شناسایی گردید. همه آنها برای این جهش‌ها هموزیگوت هستند. هیچیک از این جهش‌ها پایگاه‌های داده ایرانوم وجود نداشتند [۲۳]. و به عنوان جهش‌های ایجادکننده بیماری پیش‌بینی می‌شدند و می‌توانند با فنوتیپ شدید مشاهده شده در بیمار

ارتباط داشته باشند. جهش c.G949C قبلاً در جمعیت هند توصیف شده بود [۲۴]. تجزیه و تحلیل بیشتر با تعداد بیشتری از بیماران MPSIVA برای درک بهتر همبستگی ژنوتیپ و فنوتیپ مهم خواهد بود. با این وجود، کلیه بیماران مورد مطالعه حاصل ازدواج فامیلی بودند. نتایج مولکولی در تشخیص پیش از تولد که به دلیل بالا بودن میزان ازدواج خویشاوندی هنوز در ایران مشاهده می‌شود، بسیار مفید خواهد بود. در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۷ توسط یاسایی و همکاران انجام شد، ۵ ژن درگیر در انواع مختلف موکوپلی ساکاریدوز با توالی اگزوم مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، تنها یک بیمار مبتلا به MPS از نوع IVA است که دارای جهش هموزیگوت (p.G47R) c.139G>C است [۲۵]. سیدحسینی و همکاران در بررسی توالی همه ۱۴ اگزون و اتصالات اینترون اگزون ژن GALNS در یک بیمار مبتلا به MPS IVA ناشی از ازدواج فامیلی، یک جهش missense جدید در اگزون ۵، c.542A NG (p.Y181C) یافتند که پیش‌بینی می‌شد احتمالاً بیماری‌زا باشد. [۲۶] در سال ۲۰۱۹، شفاعت و همکاران جهش c.313A>G در ژن GALNS را برای اولین بار در جهان و ایران گزارش کردند [۲۷].

**نتیجه گیری**

در این بررسی آنالیز مولکولی ژن GALNS در ۸ بیمار ایرانی مبتلا به MPS IVA و سه جهش جدید برای اولین بار شناسایی شد. جهش‌ها در اگزون‌های ۴، ۷، ۸، ۹ و ۱۳ بودند. بنابراین در نظر گرفته می‌شود که این اگزون‌ها در ژن GALNS در بیماران MPSIVA جزو نقاط داغ قابل توجه هستند و این امکان هست که بتوان این اگزون‌ها را به جای توالی کامل اگزون در ایران تعیین توالی کرد، اگر چه برای تأیید این نتایج، پیشنهاد می‌شود که این مطالعه در تعداد بیشتری از بیماران ایرانی تکرار شود. همچنین یافته‌های این مطالعه می‌تواند در تشخیص و مشاوره



این مقاله بخشی از پایان نامه دکتری است که توسط پژوهشگرده ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی (تصویب شماره IR.NIGEB.EC.1397.8.23.C)، پشتیبانی شده است. بدینوسیله از تمامی همکاران و پرسنل ان پژوهشگرده و نیز مسئولین سازمان بهزیستی و تمامی بیماران و خانواده‌های آنان که محققین را در انجام این پژوهش یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

ژنتیک و نیز تشخیص قبل از تولد خانواده‌های مبتلا کمک کننده باشد. با توجه به اینکه هزینه انجام این طرح از بودجه دانشگاهی تامین شده است، لذا محدودیت زیادی در افزایش تعداد نمونه‌ها وجود داشت و بهتر می‌بود که این مطالعه در جمعیت بزرگتری از بیماران انجام می‌شد و از طرفی بهتر می‌بود که مطالعات عملکردی (فانکشنال) بر روی این واریانت‌ها صورت می‌گرفت.

### تشکر و قدردانی

### References

- 1- Luning S, Chunyi L, Xiaoyu S, Ningning Z, Haipeng Z, Guizhang D. Three novel  $\alpha$ -L-iduronidase mutations in 10 unrelated Chinese mucopolysaccharidosis type I families. *Genet Mol Biol*. 2011 Apr; 34(2):195-200.
- 2- Ogawa T, Tomatsu S, Fukuda S, Yamagishi A, Rezvi GMM, Sukegawa K, et al. Mucopolysaccharidosis IVA: screening and identification of mutations of the N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase gene. *Hum Mol Genet*. 1995 May;4(1):341-349.
- 3- Darr A, Small N, Ahmad WI, Atkin K, Corry P, Modell B. Addressing key issues in the consanguinity-related risk of autosomal recessive disorders in consanguineous communities: lessons from a qualitative study of British Pakistanis. *J Community Genet*. 2016 Sep;7(1):65-79.
- 4- Kumar P, Henikoff S. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc*. 2009 Jun;4(7):1073.
- 5- Galimberti C, Madeo A, Di Rocco M, Fiumara A. Mucopolysaccharidoses: early diagnostic signs in infants and children. *Ital J Pediatr*. 2018 Sep;44(2):7-16.
- 6- Fu H, DiRosario J, Killedar S, Zaraspe K, McCarty DM. Correction of neurological disease of mucopolysaccharidosis IIIB in adult mice by rAAV9 trans-blood-brain barrier gene delivery. *Mol Ther*. 2011 Jun; 19(6): 1025-33.
- 7- Wood TC, Harvey K, Beck M, Burin MG, Chien YH, Church HJ, et al. Diagnosing mucopolysaccharidosis IVA. *J Inherit Metab Dis*. 2013 Feb;36(1):293-307.
- 8- Wang Z, Zhang W, Wang Y, Meng Y, Su L, Shi H, et al. Mucopolysaccharidosis IVA mutations in Chinese patients. *J Hum Genet*. 2010 Jun; 55(1):534-540
- 9- Morrone A, Tylee K, Al-Sayed M, Brusius-Facchin A, Caciotti A, Church H, et al. Molecular testing of 163 patients with Morquio A (Mucopolysaccharidosis IVA) identifies 39 novel GALNS mutations. *Mol Genet Metab*. 2014 Jun;112(2):160-70.
- 10- Morrone A, Caciotti A, Atwood R, Davidson K, Du C, Francis, et al. Morquio A syndrome-associated mutations: A review of alterations in the GALNS gene and a new locus-specific database. *Hum Mut*. 2014 Aug;35(11):1271-9.
- 11- Leong HY, Azize NAA, Chew HB, Keng WT, Thong MK, Khalid MKNM, et al. Clinical, biochemical and genetic profiles of patients with mucopolysaccharidosis type IVA (Morquio A syndrome) in Malaysia: the first national natural history cohort study. *Orphanet J Rare Dis*. 2019 Jun;14(1):143.
- 12- Tomatsu S, Nishioka T, Montañó A, Gutierrez M, Pena O, Orii K, et al. Mucopolysaccharidosis IVA: identification of mutations and methylation study in GALNS gene. *J Med Genet*. 2004 Oct;41(7):e98-e.

- 13- Tomatsu S, Montañó AM, Oikawa H, Giugliani R, Harmatz P, Smith M, et al. Impairment of body growth in mucopolysaccharidoses. *Monit Heal Dis.* 2012 Oct;1:2091–2117.
- 14- Kato Z, Fukuda S, Tomatsu S, Vega H, Yasunaga T, Yamagishi A, et al. A novel common missense mutation G301C in the N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase gene in mucopolysaccharidosis IVA. *Hum Genet.* 1997 Jun;101:97–101.
- 15- Montañó AM, Kaitila I, Sukegawa K, Tomatsu S, Kato Z, Nakamura H, et al. Mucopolysaccharidosis IVA: characterization of a common mutation found in Finnish patients with attenuated phenotype. *Hum Genet.* 2003 Mar;113:162–9.
- 16- Tomatsu S, Dieter T, Schwartz IV, Sarmient P, Giugliani R, Barrera LA, et al. Identification of a common mutation in mucopolysaccharidosis IVA: correlation among genotype, phenotype, and keratan sulfate. *J Hum Genet.* 2004; 49:490–4.
- 17- Tomatsu S, Filocamo M, Orii KO, Sly WS, Gutierrez MA, Nishioka T, et al. Mucopolysaccharidosis IVA (Morquio A): identification of novel common mutations in the N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase (GALNS) gene in Italian patients. *Hum Mutat.* 2004 Jun; 24:187–8.
- 18- Tomatsu S, Fukuda S, Cooper A, Wraith JE, Rezvi GM, Yamagishi A, et al. Mucopolysaccharidosis type IVA: identification of six novel mutations among non-Japanese patients. *Hum Mol Genet.* 1995 Apr;4:741–3.
- 19- Yamada N, Fukuda S, Tomatsu S, Muller V, Hopwood JJ, Nelson J, et al. Molecular heterogeneity in mucopolysaccharidosis IVA in Australia and Northern Ireland: nine novel mutations including T312S, a common allele that confers a mild phenotype. *Hum Mutat.* 1998 Jan; 11:202–8.
- 20- Saadat M, Zarghami M. Consanguineous marriages among Iranian Mandaean living in southwest Iran. *J Biosoc Sci.* 2018 Jun;50(4):451-6.
- 21- Rafiee L, Saadat M. Prevalence of consanguineous marriages among Iranian Georgians. *J Biosoc Sci.* 2011 Jun;43(1):47-50.
- 22- Zhao Y, Meng Y, Guo Y, Du M, Ai Y. Identification of a novel mutation of GALNS gene from a Chinese pedigree with mucopolysaccharidosis type IV A. *Chinese J Med Genet.* 2011 Jun;28(3):241-6.
- 23- Fattahi Z, Beheshtian M, Mohseni M, Poustchi H, Sellars E, Nezhadi SH, et al. Iranome: A catalog of genomic variations in the Iranian population. *Hum Mutat.* 2019 Jul;40(11):1968-84.
- 24- Bidchol AM, Dalal A, Shah H, Nampoothiri S, Kabra M, Gupta N, et al. GALNS mutations in Indian patients with mucopolysaccharidosis IVA. *American J Med Genet Part A.* 2014 Sep;164(11):2793-801.
- 25- Yassaee VR, Hashemi-Gorji F, Miryounesi M, Rezayi A, Ravesh Z, Yassaee F, et al. Clinical, biochemical and molecular features of Iranian families with mucopolysaccharidosis: A case series. *Clin Chim Acta.* 2017 Nov; 1;474:88-95.
- 26- Seyedhassani SM, Hashemi-Gorji F, Yavari M, Mirfakhraie R. Novel missense mutation in the GALNS gene in an affected patient with severe form of mucopolysaccharidosis type IVA. *Clin Chim Acta.* 2015 Oct;23: 450:121-4.
- 27- Shafaat SM, Hashemi M, Majd A, Abiri M, Zeinali S. Genetic assessment of mucopolysaccharidosis type IV and the first pathological mutation of c. 313A> G in the Iranian population. *Horizon Med Sci* 2020 spring, 26(2):182-191.