مقاله آموزشی

دیدگاه ژنتیکی در مورد فیبروز کیستیک

فرشته قاسمی، مسعود هوشمند*

چکیده

فیبروز کیستیک (CF) شایع‌ترین بیماری ژنتیکی اتوزومی مغلوب در کشورهای غربی است. این بیماری بر اثر جهش در ژن رمزگردان پروتئین "تنظیم‌کننده تراغشائی فیبروز کیستیک" (CFTR) ایجاد می‌شود. این ژن منطقه‌ای به طول ۲۵۰ کیلوباز را بر روی بازوی بلند کروموزوم ۷ اشغال می‌کند. ژن CFTR که در غشاء اپیکال سلول‌های اپی‌تلیال مترشحه بیان می‌شود، به‌عنوان کانال کلر عمل می‌کند و فعالیت آن توسط cAMP تنظیم می‌شود. بیش از ۱۴۰۰ جهش مختلف در ژن CFTR گزارش شده است. فراوانی این جهش‌ها در جمعیت‌های مختلف به‌طور قابل توجهی متفاوت است. فراوان‌ترین جهش در اغلب کشورها حذف اسید آمینه فنیل‌آلانین در موقعیت ۵۰۸ پروتئین (ΔF508) است. طی بررسی‌هایی که تاکنون بر روی بیماران ایرانی انجام گرفته است، فراوانی جهش ΔF508 بیش از جهش‌های دیگر است، اما فراوانی آن از کشورهای غربی کمتر است. به نظر می‌رسد ناهمگونی جهش‌ها بین بیماران ایرانی زیاد باشد و اغلب بیماران هتروزیگوت مرکب هستند. آزمایش‌های ما بر روی بیماران دچار فیبروز کیستیک (CF) که تمام اگزون‌های ژن *CFTR* آنها توالی‌یابی شده‌اند، نشانگر آن است که اغلب بیماران ایرانی هتروزیگوت‌های مرکب از یک جهش شدید و یک جهش ملایم یا دو جهش ملایم هستند. این امر سبب شده فنوتیپ بیماران ایرانی نسبت به بیماران کشورهای غربی ملایم‌تر باشد. توالی‌یابی بهترین روش برای تشخیص بیماران دچار فیبروز کیستیک (CF) در ایران است. در این مقاله، به‌طور مختصر با این بیماری و مسایل آن در ایران آشنا می‌شویم.

واژه های کلیدی: سیستیک فیبروزیس؛ جهش؛ ژنوتیپ؛ فنوتیپ

مقدمه

فیبروز کیستیک (CF)[1] فراوان‌ترین بیماری ژنتیکی اتوزومی مغلوب در کشورهای غربی است. فراوانی بیماری در این کشورها یک مورد در هر ۲۵۰۰ نفر است. این بیماری به‌سبب عملکرد غیرطبیعی غدد مترشحه خارجی ایجاد می‌شود و با انسداد شدید راه‌های هوایی در ریه‌ها، ناکارایی لوزالمعده و افزایش غلظت کلر در عرق (بیش از ۶۰ mg/lit) مشخص می‌شود. انتقال غیرطبیعی الکترولیت‌ها در سلول‌های اپی‌تلیال این اعضاء، به غلیظ و کم‌آب شدن مخاط مجاری و انسداد آنها منجر می‌شود. این ترشحات غلیظ در ریه مانع عمل مژک‌های مجاری تنفسی می‌شود و به بروز عفونت‌های شدید ریوی می‌انجامد (۱).

این بیماری بر اثر جهش‌هایی در دو آلل ژن رمزگردان پروتئین "تنظیم‌کننده تراغشائی فیبروز کیستیک" (CFTR)[2] ایجاد می‌شود. ژن *CFTR* که در غشاء اپیکال بیشتر سلول‌های اپی‌تلیال بیان می‌شود، یک کانال کلر است و فعالیت آن توسط AMP حلقوی (cAMP) تنظیم می‌شود (۲).

ژنتیک بیماری

■ ساختار ژنی، رونوشت و پروتئین CFTR

ژن نسبتاً بزرگ CFTR منطقه‌ای به طول حدود ۲۵۰ کیلوباز را روی بازوی بلند کروموزوم ۷ (7q31.2) اشغال می‌کند. این ژن ۲۷ اگزون

* مسعود هوشمند Ph.D
تهران، کیلومتر ۱۷ جاده کرج، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری
تلفن: ۴۴۵۸۰۳۹۹ / E.mail: houshd62@yahoo.com

1. Cystic Fibrosis
2. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator

دارد که طول آنها در محدوده ۳۸ تا ۷۲۴ جفت‌باز است. راه‌انداز (پروموتر) ژن منطقه‌ای غنی از GC است و شبیه راه‌انداز ژن‌های خانگی[3]، جعبه TATA در آن وجود ندارد. فعالیت راه‌انداز این ژن نسبتاً ضعیف است، ولی رونویسی آن به‌شدت تنظیم شده و فراوانی رونوشت در سلول‌های مختلف متفاوت است (۳).

طول رونوشت CFTR حدود ۶/۵ کیلوباز است و در بیشتر بافت‌ها بیان می‌شود. این رونوشت دارای یک بخش کوتاه ترجمه‌نشدنی در انتهای '۵ به طول ۱۰ تا ۶۰ جفت‌باز، یک بخش ترجمه‌شدنی به طول ۴/۴۴ کیلوباز، یک بخش ترجمه‌نشدنی انتهای '۳ به طول ۱/۶ کیلوباز و یک دم polyA است. توالی‌های اینترون در ژن *CFTR* به طول ۵۹۸ جفت‌باز تا ۲۴ کیلوباز هستند (۱).

پروتئین CFTR ۱۴۸۰ اسید آمینه دارد. ساختار کلی پروتئین، مشابه اعضاء خانواده ناقلان ABC[4] است. پروتئین‌های این خانواده که ورود و خروج ملکول‌های کوچک، مانند داروها، پروتئین‌های کوچک، قندها و یون‌ها را به‌عهده دارند، برای فعالیت انتقالی به ATP نیاز دارند. در این پروتئین‌ها هر یک از دو حوزه تراغشائی[5] (TMD1 و TMD2) ۶ قطعه آب‌گریز و دو تاخوردگی اتصال نوکلئوتید[6] (NBF1 و NBF2) که به ATP متصل می‌شوند، دارد. در ساختار پروتئین CFTR، علاوه‌بر حوزه‌های بالا، یک حوزه تنظیمی (R) نیز وجود دارد که دو نیمه ملکول را به هم متصل می‌کند. پروتئین CFTR توسط ۱۲ قطعه آب‌گریز که دو حوزه تراغشائی را تشکیل می‌دهند، در دو لایه لیپیدی غشاء پلاسمایی قرار می‌گیرد. این قطعات منفذی را به‌عنوان کانال کلر در غشاء تشکیل می‌دهند. دو تاخوردگی اتصال نوکلئوتید در داخل سلول و مجاور حوزه‌های تراغشائی قرار دارند. توالی رمزگردان NBF1 در اگزون‌های ۹ تا ۱۲ و توالی رمزگردان NBF2 در اگزون‌های ۱۹ تا ۲۳ هستند. این دو حوزه پس از فسفریله شدن حوزه R با واسطه cAMP به ATP اتصال می‌یابند و آن را هیدرولیز می‌کنند. توالی رمزگردان حوزه R در اگزون ۱۳ قرار دارد. این حوزه به‌طور کامل در سمت سیتوپلاسمی غشاء قرار می‌گیرد و دارای تعداد زیادی اسید آمینه قطبی (۳۰%) و چند جایگاه فسفریله شدن که در تنظیم کانال نقش دارند، است (۴).

ماهیت جهش‌های CFTR

تاکنون بیش از ۱۴۰۰جهش مختلف در ژن *CFTR* شناسایی شده است. این جهش‌ها انواع مختلفی دارد. بیشتر این جهش‌ها بر روی یک نوکلئوتید اثر دارند و تغییرات ایجادشده عبارتند از ایجاد رمز خاتمه رونویسی، تغییر علائم پیرایش[7] و جهش‌هایی که یک اسید آمینه را به اسید آمینه دیگر تبدیل می‌کند. در برخی موارد هم حذف یا دخول یک یا دو نوکلئوتید صورت می‌گیرد که نتیجه آن تغییر چهارچوب خواندن mRNA است و معمولاً به‌دنبال آن یک رمز خاتمه زودرس ایجاد می‌شود. از تغییرات دیگر می‌توان حذف یک اسید آمینه را نام برد. توزیع این جهش‌ها در ژن *CFTR* تصادفی نیست. بیشترین تراکم در تاخوردگی‌های اتصال نوکلئوتید (NBFها) قرار دارد که اهمیت این توالی‌ها را در عملکرد CFTR روشن می‌کند. جهش‌هایی نیز در حوزه‌های تراغشائی مشاهده شده است. این جهش‌ها اغلب باعث تغییر اسید آمینه‌های دارای بار مثبت می‌شوند. نقش این اسید آمینه‌ها، هدایت کلر از منفذی است که توسط این حوزه‌ها ایجاد می‌شود. جایگزینی اسید آمینه‌های دارای بار مثبت با اسید آمینه‌های دارای بار منفی، موجب تغییر هدایت انتخابی یون می‌شود (۵).

فراوانی و توزیع جهش‌های CFTR در جمعیت‌های مختلف

فراوانی نسبی جهش‌های CFTR در جمعیت‌های مختلف به‌طور قابل توجهی متفاوت است. فراوان‌ترین جهش عامل فیبروز کیستیک (CF) ΔF508 است که با حذف سه نوکلئوتید واقع در اگزون ۱۰، موجب از دست رفتن اسید آمینه فنیل‌آلانین در موقعیت ۵۰۸ پروتئین می‌شود. این جهش ۶۶% جهش‌های عامل فیبروز کیستیک (CF) را در جهان به خود اختصاص می‌دهد (۶)، اما فراوانی آن به‌طور قابل توجهی در موقعیت‌های جغرافیایی و گروه‌های قومی مختلف متفاوت است و در محدوده ۱۷/۹% در تانزانیا (۷) تا ۸۸% در دانمارک (۸) قرار دارد. فراوانی این جهش از شمال غربی اروپا به سمت جنوب شرقی و غرب آسیا کاهش می‌یابد. اگرچه این جهش در کشورهای غرب آسیا، بالاترین فراوانی را دارد، فراوانی آن کمتر از کشورهای غربی است؛ به‌طوری که فراوانی آن در کشور ترکیه به ۱۸/۸% می‌رسد (۹). در خاورمیانه جهش‌های فراوان‌تر عبارتند از ΔF508 (۲۸/۴٪)، W1282X (۱۹/۷٪)، N1303K (۴/۷٪)، G542X (۴/۴٪) و 3849+10kbC→T (۲/۶٪) (۶).

در برخی از جوامع که فراوانی جهش ΔF508 کم است، تواتر جهش‌های دیگر بالاتر است. به‌عنوان مثال، در جمعیت یهودیان اشکنازی در اورشلیم جهش ΔF508 ۲۲% از جهش‌های عامل فیبروز کیستیک (CF) را تشکیل می‌دهد، اما فراوانی نسبی جهش W1282X ۶۰% است (۱۰). در بیشتر جوامع، مانند اسپانیا، ایتالیا، یونان، ترکیه و لبنان، اگرچه فراوانی جهش ΔF508 نسبت به کشورهای اروپای شمالی کمتر است، هم‌چنان فراوان‌ترین جهش است. در بررسی‌هایی که تاکنون بر روی بیماران ایرانی انجام شده است، فراوانی جهش ΔF508 بیشتر از جهش‌های

3. Housekeeping
4. ATP Binding Cassette of Transporters
5. Transmembrane Domain
6. Nucleotide Binding Fold
7. Splicing

دیگر است، اما فراوانی آن کمتر از کشورهای غربی است (۱۱ تا ۱۴). به نظر می‌رسد ناهمگونی[8] جهش‌ها بین بیماران ایرانی زیاد باشد و اغلب بیماران هتروزیگوت مرکب[9] هستند.

اساس ملکولی عملکرد غیرطبیعی کانال کلر در جهش‌های CFTR

جهش‌های CFTR بر عملکرد کانال کلر آثار متفاوتی دارند و بر این اساس، به پنج دسته تقسیم می‌شوند (۴):

دسته I: جهش‌هایی که مانع ساخت پروتئین می‌شوند: حدود نیمی از انواع جهش‌ها از ساخت پلی‌پپتید دارای طول کامل جلوگیری می‌کنند. این جهش‌ها باعث ایجاد رمز خاتمه زودرس، تغییر علائم پیرایش یا تغییر چهارچوب می‌شوند. جهش‌های G542X و 394delTT از این دسته‌اند.

دسته II: جهش‌هایی که مانع بلوغ[10] پروتئین می‌شوند: در این جهش‌ها، پروتئین شکل سه‌بعدی صحیح و مقاوم به پروتئاز خود را در شبکه آندوپلاسمی به‌دست نمی‌آورد و در بخش‌های پیش‌گلژی از بین می‌رود. یک نمونه مهم در این مورد جهش ΔF508 است که گلیکوزیلاسیون ناکامل آن باعث از بین رفتن پروتئین می‌شود.

دسته III: جهش‌هایی که مانع تنظیم کانال کلر می‌شوند: پروتئین‌های جهش‌یافته از این نوع به‌طور کامل پردازش می‌شوند و در محل طبیعی خود در غشاء پلاسمایی قرار می‌گیرند، اما کانال کلر در آنها فعالیت ندارد. این جهش‌ها ممکن است باعث عدم فعالیت یا کاهش فعالیت پروتئین شوند. تعدادی از جهش‌های این دسته مربوط به اسید آمینه‌هایی است که در اتصال ATP نقش دارند. جهش G551D نمونه‌ای از این دسته است.

دسته IV: جهش‌هایی که بر باز و بسته شدن یا هدایت[11] کلر در کانال اثر می‌گذارند: این دسته از جهش‌ها که اغلب در نواحی رمزگردان حوزه‌های تراغشائی پروتئین CFTR ایجاد می‌شوند، باعث تغییر هدایت یا باز و بسته شدن کانال می‌شوند. مقدار کاهش فعالیت کانال کلر در این دسته متنوع است. جهش‌های R117H و R347P از این دسته‌اند.

دسته V: جهش‌هایی که موجب کاهش ساخت پروتئین می‌شوند: این دسته از جهش‌ها ممکن است بر اثر دگرپیرایش[12] mRNA حاصل شوند. جهش‌های A455E و 3849+10kbC→T مثال‌هایی از این دسته هستند.

چندشکلی‌های[13] ژن CFTR

بیش از ۲۰۰ چندشکلی داخل ژن CFTR تشخیص داده شده است. این چندشکلی‌ها سبب بیماری فیبروز کیستیک (CF) نمی‌شوند، اما ممکن است تولید پروتئین CFTR یا عملکرد آن را تغییر دهند. ممکن است این تغییرات در افراد بدون جهش *CFTR* مهم نباشد، اما بر روی فنوتیپ بیماری در بیماران دارای جهش تأثیر دارد. یک نمونه از این، یک چندشکلی در اینترون ۸ ژن *CFTR* است. تعداد باقی‌مانده‌های تیمین در این جایگاه ۵، ۷ و ۹ است. در افراد دارای چندشکلی 5T که ۱۰% کل جمعیت هستند، به‌علت پیرایش ناکارای اگزون ۹، مقادیر کمتری از پروتئین CFTR کارا تولید می‌شود. افراد دارای 5T که حامل یک جهش شدید ترانس در ژن *CFTR* (در آلل دوم CFTR) هستند، یا به‌علت " نداشتن مادرزادی دوطرفه واز دفران" (CBAVD)[14] عقیم هستند یا بسته به اینکه چقدر از عملکرد CFTR حفظ شده باشد، دچار برخی از علائم فیبروز کیستیک (CF غیرکلاسیک) می‌شوند (۱۵).

علائم بالینی

■ فیبروز کیستیک (CF) معمول[15] یا کلاسیک

تظاهرات بالینی فیبروز کیستیک بسیار متنوع است. فیبروز کیستیک معمول معمولاً با بیماری مکرر ریوی و یا بیماری گوارشی، در ابتدای کودکی آغاز می‌شود. این علائم، با افزایش غلظت کلر در عرق (بالای ۶۰ میلی‌مول) همراه است. بیشتر بیماران دچار فیبروز کیستیک به شکل معمول بیماری مبتلا هستند. معمولاً یک جهش عامل بیماری محرز روی هر ژن *CFTR* قابل تشخیص است. اندام‌هایی که در افراد مبتلا به فیبروز کیستیک معمول به‌طور شایع درگیرند، ریه‌ها ولوزالمعده هستند. پراکندگی جهش‌ها، عوامل ژنتیکی غیر از CFTR (۱۵)، که ژن‌های تغییردهنده[16] نامیده می‌شوند، و عوامل محیطی علت درگیری اندام‌های گوناگون (فنوتیپ) در بیماران مختلف هستند. بیماری‌های ناشی از فیبروز کیستیک معمول عبارتند از (۵ ، ۱۶ و ۱۷):

بیماری ریوی: ساختار بافت‌شناختی ریه افراد مبتلا به فیبروز کیستیک در هنگام تولد طبیعی است. اما ترشحات غلیظ و چسبناک مانع عمل مؤثر دستگاه مژکی–مخاطی در پاک کردن سطح مجاری تنفسی می‌شود. بنابراین ترشحات باقی‌مانده، به افزایش التهاب می‌انجامند و هنگام عفونت با باکتری‌ها، سبب جراحت‌های ریوی می‌شوند. الگوی عفونت باکتریایی در ریه‌های افراد مبتلا به فیبروز کیستیک یک شاخص بیماری است. در کودکان استافیلوکوکوس آرئوس[17] و هموفیلوس انفلونزا[18] عوامل شایع آسیب‌رسان هستند، اما با گذشت سن، سودوموناس آئروجنزا[19] فراوان‌ترین عامل آسیب‌رسان می‌شود.

بیماری روده‌ای: علائم گوارشی معمولاً نسبت به تظاهرات ریوی و لوزالمعدی کمتر است. انسداد روده ناشی از مکونیوم در هنگام تولد

8. Heterogeneity
9. Compound Heterozygote
10. Maturation
11. Conductance
12. Alternative Splicing
13. Polymorphisms
14. Congenital Bilateral Absence of the Vas Deferens
15. Typical
16. Modifier
17. Staphylococcus Aureus
18. Haemophylus Influenza
19. Pseudomonas Aeruginosa

(ایلئوس مکونیوم) در ۱۵-۱۰٪ نوزادان مبتلا مشاهده می‌شود.
بیماری لوزالمعده: عملکرد لوزالمعده، به‌علت کاهش ترشح آنزیم، مختل می‌شود. این اشکال از انسداد مجاری با ترشحات غلیظ ناشی می‌شود و با سوء جذب و افزایش مقدار چربی در مدفوع (استئاتوره) همراه است. در ۱۵٪ بیماران لوزالمعده عملکرد طبیعی دارد.
بیماری کبدی-صفراوی: این بیماری که ناشی از انسداد مجاری صفراوی است، فقط در ۳-۲ بیماران مشاهده می‌شود.
ناهنجاری‌های ادراری-تناسلی: بیش از ۹۵٪ مردان مبتلا به فیبروز کیستیک قابلیت باروری ندارند. باروری در زنان مبتلا نیز کم می‌شود، اما کاهش آن به‌اندازه مردان نیست.

فیبروز کیستیک (CF) غیرمعمول[20] یا غیرکلاسیک

شکل غیرمعمول فیبروز کیستیک حالتی از بیماری است که در آن خصوصیات بالینی بیماری کلاسیک مشاهده می‌شود، ولی غلظت کلر در عرق طبیعی (کمتر از ۳۰ میلی‌مول) یا مرزی (۶۰ میلی‌مول) است. علائم بیماری ممکن است از دوران کودکی شروع شود، ولی از نظر بالینی پس از ۱۰ سالگی تشدید می‌شود. این بیماران، بیماری ریوی دارند، ولی لوزالمعده آنها مشکلی ندارد. پیشنهاد می‌شود در این بیماران برای تأیید تشخیص بیماری ژنوتیپ *CFTR* تعیین شود. از دو جهش عامل بیماری در این بیماران دست کم یکی در دسته جهش‌های ملایم[21] طبقه‌بندی می‌شود (۱۸).

ارتباط بین فنوتیپ و ژنوتیپ

شکل بروز فیبروز کیستیک در بیماران مختلف، بسیار متفاوت است. بر حسب گستره نتایج بررسی‌های ملکولی درباره جهش‌های *CFTR*، احتمالاً بین جهش‌های مختلف در این ژن (ژنوتیپ) و تظاهرات بالینی بیماری (فنوتیپ) ارتباطی وجود دارد. بررسی خصوصیات بالینی مشترک بین بیماران دارای ژنوتیپ یکسان نشان می‌دهد که فقط کارایی لوزالمعده با ژنوتیپ *CFTR* ارتباط قوی دارد. بیمارانی که دچار ناکارایی لوزالمعده هستند، دو جهش شدید، یعنی جهش‌های دسته I، II و III، دارند. در مقابل، بیمارانی که کارایی لوزالمعده در آنها مناسب است، دست کم دارای یک جهش ملایم، یعنی جهش‌های دسته IV و V، هستند (۴ و ۱۹). به هر حال، بیمارانی که حامل دو جهش شدید هستند، فنوتیپ شدیدتر و بیمارانی که دست کم یک جهش ملایم دارند، فنوتیپ ملایم‌تری دارند. فنوتیپ شدید و ملایم از لحاظ کارایی لوزالمعده، میزان افزایش غلظت کلر عرق و سن بروز علائم متفاوت هستند. لیکن شدت بیماری ریوی در هر دو بسیار متغیر است (۱۸). بنابراین ارتباط فنوتیپ و ژنوتیپ برای بیماری ریوی ضعیف است. شدت بیماری ریوی حتی در برادران و خواهرانی که جهش‌های CFTR یکسانی دارند، تاحد زیادی اختلاف دارد (۱۵).

تشخیص

تشخیص بیماری CF دارای کرایتریایی به شرح زیر است. وجود یکی از موارد: ۱- بیماری مزمن سینوسی- ریوی ۲- اختلال تغذیه ایی و معده ایی- روده ایی تیپیک ۳- سندرمهای از دست دان نمک ۴- آزواسپرمی انسدادی یا تاریخچه ایی از CF در خانواده یا یک تست غربالگری مثبت دوران نوزادی بعلاوه بالا بودن میزان کلر عرق (>۶۰ mg/lit) دو بار یا بیشتر یا کشف جهش شناخته شده عامل CF در هر یک از ژنهای CFTR یا وجود اختلال تیپیک در انتقال یونها در خلال اپیتلیوم بینی (در آزمایشگاه).

الف) تشخیص بالینی: تشخیص در حالت معمول (شکل کلاسیک بیماری) بر مبنای علائم بالینی، بالا بودن غلظت کلر در عرق و وجود تاریخچه خانوادگی این بیماری صورت می‌گیرد. تشخیص بیماری عمدتاً به بررسی غلظت الکترولیت‌های عرق متکی است. یک روش قابل قبول برای اندازه‌گیری سطح الکترولیت‌ها، آزمون عرق[22] با استفاده از تحریک غدد عرق با پیلوکارپین[23] است. در فیبروز کیستیک و در کنار علائم بالینی، غلظت کلر عرق بیش از ۶۰ میلی‌مول است. البته در برخی بیماران غلظت کلر در عرق در محدوده مرزی یا حتی طبیعی (۴۰ تا ۶۰ میلی‌مول) است. این افراد دچار فیبروز کیستیک غیرمعمول هستند (۱۸).
ب) تشخیص با بررسی DNA: شناسایی جهش در ژن *CFTR* در بیمارانی که علائم بالینی فیبروز کیستیک را نشان می‌دهند، حتی اگر آزمون عرق طبیعی باشد، تشخیص بیماری را تأیید می‌کند. البته تعریف جهش در این‌باره مهم است. تعداد زیادی جهش نادر به انجمن بررسی ژنتیکی فیبروز کیستیک (CF) گزارش شده است که اثر بیشتر آنها نامعلوم است. بنابراین تشخیص بیماری بر مبنای بررسی DNA زمانی قابل تأیید است که اثر مضر جهش بر عملکرد CFTR مشخص یا وجود جهش قبلاً در بیماران زیادی گزارش شده باشد (۵).
روش‌های مختلفی برای بررسی جهش‌های شناخته‌شده و شناخته‌نشده در ژن *CFTR* وجود دارد. روش‌های متداول برای بررسی جهش‌های شناخته‌شده روش هیبرید کردن الیگونوکلئوتید ویژه آلل[24]، تکثیر اختصاصی آلل یا ARMS[25] و چندشکلی طول قطعات محدودشده (RFLP)[26] هستند. روش‌های بررسی جهش‌های شناخته‌نشده نیز شامل

20. Atypical
21. Mild
22. Sweat Test
23. Pilocarpine
24. Allele-Specific Oligonucleotide Hybridization
25. Amplification Refractory Mutation System
26. Restriction Fragment Length Polymorphism

چندشکلی صورت‌بندی تک‌رشته‌ای (SSCP)[۲۷]، ژل الکتروفورز شیب واسرشتی (DGGE)[۲۸]، تحلیل هترودوپلکس (HA)[۲۹] و توالی‌یابی[۳۰] است. در این میان، توالی‌یابی یک روش دقیق و مطمئن برای بررسی جهش‌ها است. این روش هم‌اکنون در آزمایشگاه ژنتیک "مرکز پزشکی خاص"، برای تشخیص بیماران دچار فیبروز کیستیک و تشخیص پیش از تولد بیماری به‌کار می‌رود. آزمایش‌های ما بر روی بیماران مبتلا به فیبروز کیستیک که تمام اگزون‌های ژن *CFTR* در آنها توالی‌یابی شده است، نشان می‌دهد که اغلب بیماران ایرانی هتروزیگوت‌های مرکب از یک جهش شدید و یک جهش ملایم یا دو جهش ملایم هستند. این امر باعث شده فنوتیپ بیماران ایرانی نسبت به بیماران کشورهای غربی ملایم‌تر باشد. شاید به همین دلیل بیماران مبتلا به فیبروز کیستیک در ایران کمتر تشخیص داده می‌شوند (۱۴). با توجه به این که تعداد جهش‌های گزارش‌شده در ژن *CFTR* زیاد است و جز در مطالعات محدود، فراوانی و توزیع جهش‌های مختلف در بیماران ایرانی مشخص نشده است، توالی‌یابی بهترین روش برای تشخیص بیماران مبتلا به فیبروز کیستیک در ایران است. پیشنهاد می‌شود جهش‌های پیداشده در بیماران در پدرها و مادرها نیز بررسی شوند تا از وراثت این جهش‌ها از پدر و مادر اطمینان حاصل شود.

References

1. Strong TV, Collins FS. The structure of the cystic fibrosis gene. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH. (Eds). Cystic fibrosis–current topics. John Wily & Sons co;1993.p.3-26.
2. Riordan JR. CFTR function. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH. (Eds). Cystic fibrosis – current topics. John Wily & Sons co;1993.p.157-73.
3. Zielenski J, Rozmahel R, Bozon D, et al. Genomic DNA sequence of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. Genomics 1991;10:214-8.
4. Zielenski J, Tsui L-C. Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. Annu Rev Genet 1995;29:777-807.
5. Cutting GR. Cystic fibrosis. In: Rimon DL, Connor JM, Pyeritz RE. (Eds). Emery and Rimon's principles and practise of medical genetics. Churchill living-stone;1997.p.2685-717.
6. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Population variations of common cystic fibrosis mutations. Hum Mutat 1994;4:167-77.
7. Messaoud T,Verlingue C, Denamur E, et al. Distribution of CFTR mutations in CF patients of Tunisian origion: identification of two novel mutations. Eur J Hum Genet 1996;4:20-4.
8. Schwartz M, Johasen HK, Kock C. Frequency of deltaF508 on cystic fibrosis chromosomes in Denmark. Hum Genet 1990;85:427-8.
9. Onay T, Topaloglu O, Zielenski J, et al. Analysis of CFTR gene in Turkish cystic fibrosis patients: identification of three novel mutations (3172delAC, P10131 and M10281). Hum Genet 1998;102:224-30.
10. Shoshani T, Augarten A, Gazit E, et al. Association of a nonsense mutation (W1282X), the most common mutation in the Ashkenazi Jewish cystic fibrosis patients in Israel, with presentation of severe disease. Am J Hum Genet 1992;50:222-8.
11. Alibakhshi R, Kianishirazi R, Cassiman JJ, Zamani M, Cuppens H, et al. Analysis of the CFTR gene in Iranian cystic fibrosis patients: identification of eight novel mutations. J Cyst Fibrosis 2008;7:102-9.
12. Alibakhshi R, Zamani M. Mutation analysis of CFTR gene in 70 Iranian cystic fibrosis patients. Iran J Allergy Asthma Immunol 2006;5:3-8.
13. Jalalirad M, Houshmand M, Mirfakhraie R, et al. First study of CF mutations in the CFTR gene of Iranian patients: detection of DeltaF508, G542X, W1282X, A120T, R117H, and R347H mutations. J Trop Pediatr 2004;50:359-61.
14. Elahi E, Khodadad A, Kupershmidt I, et al. A haplotype framework for cystic fibrosis mutations in Iran. J Mol Diagn 2006;8:119-25.
15. Davies J, Alton E, Griesenbach U. Cystic fibrosis modifier genes. J R Soc Med 2005; 98 (Suppl.45):47-54.
16. Rosenbluth DB, Brody SL. Cystic fibrosis. In: Jameson JL. (Eds). Principles of molecular medicine. Totawa: Human Press;1998.p.329-38.
17. Boeck KD, Wilschanski M, Castellani C, et al. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. Thorax 2006;61:627-35.
18. Kerem E, Kerem B. Genotype-phenotype correlations in cystic fibrosis. Pediatric Pulmon 1996;22:387-95.
19. Ahmed N, Corey M, Forstner G, et al. Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas. Gut 2003;52:1159-64.

27. Single Strand Conformation Polymorphism
28. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
29. Heteroduplex Analysis
30. Sequencing