

## دراسة المظاهر السريرية والمورثية لحالات عوز الفينيل ألانين هيدروكسيلاز عند مرضى بيلة الفينيل كيتون في سورية

ديانا الأسمر\*

### الملخص

خلفية البحث وهدفه: تحدث بيلة الفينيل كيتون عند المرضى المصابين بعوز الفينيل ألانين هيدروكسيلاز، وتقدم قاعدة البيانات الخاصة بمرضى الأساس المورثي، وتوافق النمط المورثي مع النمط الظاهر لهذا المرض. هذه الدراسة تصف المظاهر السريرية والمورثية لـ 35 حالة مستقلة سورية أصيلة بهدف تعرّف الأنماط المورثية السائدة، ونسبة التوافق المورثي-الظاهري، وتوقع الاستجابة للبيوتيرين.

الطرائق: دراسة مستقبلية لجمهرة المرضى المشخص لهم بيلة الفينيل كيتون المتابعين في عيادة أمراض الاستقلاب في مشفى الأطفال الجامعي في دمشق. أجريت دراسة مورثة الفينيل ألانين هيدروكسيلاز في هيئة الطاقة الذرية في الجمهورية العربية السورية، أُجريت التصنيف السريري للمرضى بحسب تصنيف Gulberg.

النتائج: ضمت الدراسة 35 حالة عوز فينيل ألانين هيدروكسيلاز تظاهرت بتأخر في التطور الروحي الحركي بنسبة 60% من الحالات، متوسط العمر عند التشخيص 3 سنوات، 65% لديهم نمط كلاسيكي. حددت 16 طفرة مختلفة، missense%75.6، splice%33.4، shift%9، frame أكثر الطفرات تواتراً p.R261Q (12.6%) ثم p.R243Q، p.F55>Lfs و p.D151G والأخيرة لم تورد قاعدة البيانات معلومات عنها.

كان التوافق المورثي-الظاهري إيجابياً في 40% وسلبياً في 28.6% من الحالات، ولم يكن موجهاً في 31.31%، توقع الاستجابة للبيوتيرين في 22.9% من الحالات.

الاستنتاج: إن تشخيص النمط المورثي خطوة مهمة تسمح بتوجيه العلاج، وتوقع الإنذار المستقبلي لمرضى بيلة الفينيل كيتون.

كلمات مفتاحية: بيلة الفينيل كيتون، النمط المورثي، النمط الظاهر، سورية.

\* أستاذ مساعد- قسم الأطفال - كلية الطب البشري- جامعة دمشق.

## Analysis of Phenylalanine Hydroxylase Deficiency Genotypes and Phenotypes in Phenylketonuria Syrian Patients

Diana Alasmar\*

---

### Abstract

**Introduction:** Phenylketonuria (PKU) manifests due to phenylalanine hydroxylase (PHA) deficiency. PHA database provides information about the genetic basis of PHA and genotype-phenotype correlation.

This study describes the phenotype and genotype of 35 unrelated Syrians patients with phenylketonuria, and aims to show the rate of genotype-phenotype correlation and the predicting Biopterine responsiveness.

**Methods:** It is a prospective study of PKU diagnosed in patients followed by Metabolic diseases at Damascus University Children Hospital. The genetic study was Conducted in the Atomic Research Center in Syria. Patients were clinically classified using Gulberg classification.

**Results:** the study included 35 PKU patients mainly presented with psychomotor retardation (60%) at a mean age of 3 years, 65% presented classical PKU. 16 different mutations were found: missense 75.6%, splice site 33.4%, and frame shift 9%. The predominant mutation was p.R261Q (12>6%) p.R243Q, p.F55>Lfs and IVS2+5G>C (8.75% for each). Some rare variants were depicted. Such as pS310F, Y387H, IVS9+G>A and p.D151G. No data was shown for the last mutation.

Genotype-phenotype correlation was found positive in 40% of the cases and negative in 28.6% and unpredictable in 31%. Biopterine responsiveness was estimated in 22.9%of the cases.

**Conclusion:** The diagnosis of the genetic type is very important and helpful in the management and prognostic prediction of PKU

**Key Word:** Phenylketonuria, PAH, PKU, Genotype, Phenotype, Syria.

---

---

\* Assistant Professor at faculty of Medicine, Pediatric Department, Damascus University.

**مدخل:**

الفينيل ألانين (Phe) Phenylalanine حمض أميني أساسي، يشكل مصدراً للعديد من الجزيئات الحيوية كالميلانين والهرمون الدرقي والكاتيكولامينات. وتقوم خميرة الفينيل ألانين هيدروكسيلاز (PHA) phenylalanine hydroxylase بعملية الاستقلاب الرئيسي للـ Phe أي تحويله إلى تيروسين<sup>1,2</sup>، ويسبب عوز خميرة PHA بيلة الفينيل كيتون (PKU) phenylketonuria. وهو مرض صبغي جسدي متنحٍ يتظاهر سريريا بأعراض عصبية مركزية مع درجات متفاوتة منها التأخر الروحي الحركي، والتأخر العقلي، والاختلاجات، ونقص في النمو، وصغر الرأس، ترافقه أحيانا أعراض هضمية كنبوب الغثيان والإقياء والأعراض الجلدية كالإكزما والبشرة الفاتحة.<sup>3,4</sup> يُستَقْصَى هذا المرض بواسطة النخل عند الوليد المعتمد كوسيلة تشخيصية مبكرة و فعالة للـ PKU قبل أن يصبح عرضياً<sup>3</sup>.

يقوم علاج المرض بتحديد الموارد الغذائية من Phe مع إعطاء البيوبنتيرين (BH4) أو من دون إعطائه، مع درجات مختلفة من الاستجابة.<sup>5</sup> تتوضع المورثة التي ترمز لـ PAH البشرية في الصبغي q23.212، وتتضمن 13 اكروناً و12 انترونًا بحجم 90 kb<sup>6</sup> تُشْرَبَتْ أكثر من 567 طفرة في قاعدة بيانات PHA- [www.pahdb.mcgill.ca](http://www.pahdb.mcgill.ca) إذ تحمل معظم العائلات طفرات متخالفة الأمشاج مركبة Compound heterozygote لأليلين طافرين مختلفين<sup>7</sup>. إن تنوع الأنماط الظاهرة phenotypes تظهر أن عدم التجانس الكبير في الأليلات alleles الطافرة هي وراء حدوث بيلة الفينيل كيتون وما يرتبط بها من أشكال فرط الفينيل ألانين hyperphenylalaninemia<sup>1</sup>. وإن الترابط بين النمط الظاهر والنمط المورثي genotype phenotype correlation أعلن عند بعض الشعوب الأوروبية من أصل شرق أوسطي، لكن

التقارير من الشرق الأوسط قليلة منها من مصر<sup>8</sup>، والأرض المحتلة<sup>9</sup>، والمغرب<sup>10</sup>، وتونس<sup>11</sup>.

تقوم 4 خمائر بإعادة تدوير الـ BH4 التميم الأنظيمي Cofactor للـ PAH الذي هو أيضاً التميم لكل من التيروسين هيدروكسيلاز والتريتوفان هيدروكسيلاز، يؤدي عوز خمائر حلقة الـ BH4 إلى نقص في السيريتونين والدوبامين فضلاً عن حدوث فرط الفينيل ألانين، ويحدث التدهور العصبي بغض النظر عن مستويات الفينيل ألانين، وتطبيق الحمية؛ لذلك توصف الحالات المرتبطة باستقلاب البيوبنتيرين بالخبيثة Malignant PKU أو Malignant HPA (mgHPA)<sup>7,12</sup>

في هذه الدراسة نوثق المظاهر السريرية والمورثية لـ 39 حالة PKU سورية الأصل من عائلات مختلفة بهدف تعرّف الأنماط المورثية السائدة، نسبة التوافق بين النمط المورثي والنمط الظاهر والأنماط التي يمكن أن تستجيب للعلاج للـ BH4

**الطرائق:**

دراسة مستقبلية لجمهرة المرضى المشخص لهم بيلة الفينيل كيتون، والمتابعين في عيادة أمراض الاستقلاب في مشفى الأطفال الجامعي في دمشق التي تعدّ الجهة المرجعية الوحيدة لهؤلاء المرضى في القطر. وقد شملت 39 مريضاً من عائلات غير مترابطة سورية الجنسية من أصل 101 عائلة، تم الاتصال بها هاتفياً من أجل الحضور أو إرسال عينات دم إلى مخبر مشفى الأطفال، واستمر جمع العينات مدة 28 شهراً حتى نهاية العام 2012. نُظِّمَتْ استمارة بحثية، حيث جمعت المعلومات عن العمر عند التشخيص، ودرجة القرابة، والقصة العائلية، والأعراض والعلامات عند التشخيص، ومعدلات النمو، والالتزام بالحمية، ومستوى الفينيل ألانين قبل البدء بالحمية. في حال وجود أكثر من حالة في العائلة أُجْرِيَ التحليل لفرد واحد فقط.

سُجِبَتْ عينة دم وريدي (5 مل) على الـ EDTA، بعد أخذ موافقة الأهل المستتيرة أرسلت إلى هيئة الطاقة الذرية في الجمهورية العربية السورية، حيث عُزِلَ الحمض النووي DNA Extract باستخدام عتيدة QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen®). في المرحلة الأولى تم تضخيم الإكزونات 7، 9، 10، 11 باستخدام تقانة PCR<sup>13</sup> درست القطع المضخمة بحثاً عن الطفرات الست الأكثر شيوعاً في العالم لمورثة PAH: p.E280K، IVS10-11GNA، p.P281L، p.S310F، p.R26Q، IVS11+1GNC، وفي حال السلبية أُجْرِيتْ دراسة دراسة سلسلة المورثة PAH بتقانة RFLP and Gene Sequencing. وُحَدِّدَتِ الطفرات باستعمال تقانة BigDye terminator cycle sequencing باستخدام جهاز ABI prism 310 genetic analyzer. وُحَدِّدَتِ الطفرات باستعمال Applied Bio systems، وباستخدام جهاز ABI prism 310 genetic analyzer. وُحَدِّدَتِ الطفرات باستعمال Applied Bio systems، وباستخدام جهاز ABI prism 310 genetic analyzer. وُحَدِّدَتِ الطفرات باستعمال Applied Bio systems، وباستخدام جهاز ABI prism 310 genetic analyzer.

اعتمدت تشخيص حالة عوز PHA على وجود طفرة مؤكدة في المورثة PHA واستبعدت الحالات سلبية الطفرة على اعتبار أنها ليست عوز PHA، وإنما يقترض وجود خلل في استقلاب التميم الأنظيمي BH4<sup>7</sup>.

أجري التصنيف السريري للمرضى بحسب مستوى ارتفاع الفينيل ألانين قبل العلاج و تقدير التحمل الغذائي للفينيل ألانين من السوراد الغذائي إلى أربع مجموعات بحسب Gulberg et al.<sup>14</sup>: بيلة الفينيل كيتون الكلاسيكية classical (cPKU): مستوى Phe < 1200 ميكرومول/ل مع تحمل غذائي 250-350 مغ/اليوم وفعالية أنظيمية >1%، المعتدلة (mPKU): مستوى Phe 600-1200 ميكرومول/ل مع تحمل غذائي 350-400 مغ/دل/اليوم وفعالية أنظيمية 1-5%، النمط الخفيف (miPKU) mild: مستوى Phe بين 369-600 ميكرومول/ل مع تحمل وارد Phe بين 400-600 مغ/اليوم وفعالية أنظيمية <5% وارتفاع الفينيل ألانين الخفيف Mild

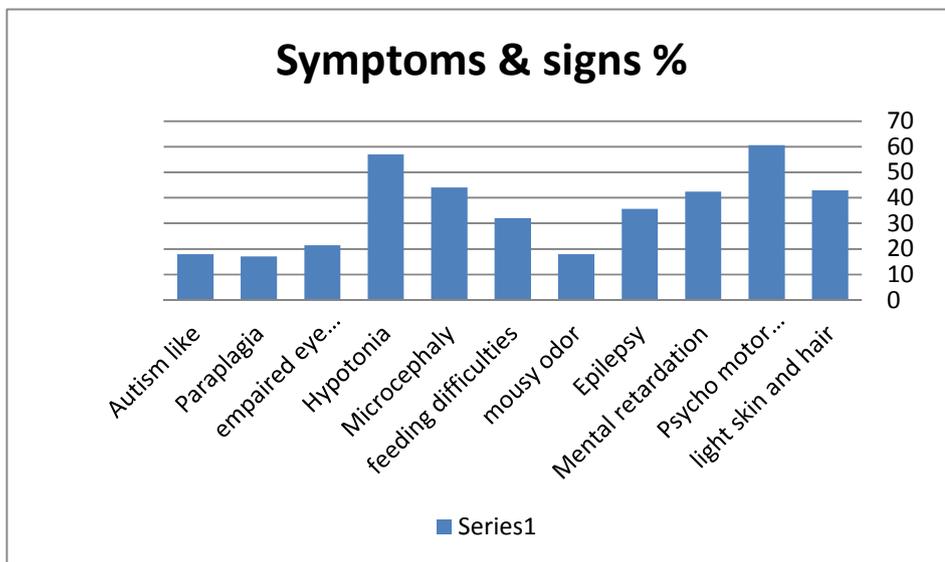
360 مع Phe أقل من 360 ميكرومول/ل مع وارد غذائي طبيعي. اعتمد نظام غلوبيرغ<sup>14</sup> في التصنيف السريري Phenotype إذ إنه عند تحديد طفرتين كل واحدة منها تعطى قيمة اعتباطية arbitrary value (AV): AV = 1 للطفرة الكلاسيكية cPKU، AV = 2 للمعتدلة mPKU و AV = 4 للخفيفة miPKU و AV = 8 لطفرة فرط الفينيل ألانين MHP. في الحالة متخالفة الأمشاج المركبة combined والناجمة عن اجتماع أليلين طافرين مختلفين فإن AV يكون ناتج جمع الطفرتين. وإن الطفرة الأقل شدة تحدد النمط الشكلي للمريض، وإن طفرتين بالشدة نفسها ستسببان نمطاً شكلياً أخف مما لو كانت إحداها وحدها بالشكل متماثل الأمشاج. وُحَدِّدَتِ الطفرات nonsense، frameshit و splice-site كطفرات عدمية Null mutation<sup>14</sup> وُحَسِبَتِ الفعالية الأنظيمية المتبقية المتوقعة في الزواج PRA اعتماداً على قاعدتي بيانات PHA. (<http://www.pahdb.mcgill.ca>) و Biopku db (<http://www.biopku.org>) والتي تسجل 975 طفرة، والمجرى تحديثها أخيراً في 2016/2/12. فُورِنَ النمط الظاهر المتوقع لذلك المشاهد في كل طفرة بالعودة إلى أهم الدراسات: Bercovich et al.<sup>18</sup>، Daniele et al.<sup>16</sup>، Mallolas et al.<sup>17</sup> و Santos et al.<sup>18</sup>.

#### النتائج:

أجريت دراسة مورثة PHA عند 41 مريضاً استجابوا ووافقوا على إجراء التحليل، وقد حُدِّدَ 75 أليلاً طافراً من أصل 82 أليلاً مدروساً. بحيث حصلنا على النمط الجيني للطفرة في 35 مريضاً ولم تحدد أي طفرة عند 6 مرضى؛ وذلك بعد إجراء PCR-RFLP متبوعاً بدراسة السلسلة الجينة. وبذلك يكون عوز PHA قد تأكد في 35 حالة، ونفي في 6 حالات. لا بد أن تدرس من أجل نفي أحد أعواز استقلاب التميم الأنظيمي BH4 غير المتوافر حالياً في القطر. وكان وسطي العمر عند التشخيص 3.1 سنة بمجال بين 5 أشهر

و9.5 سنة، 58.5% مشخصة بعد السنة الأولى من العمر. وجدت قرابة بين الوالدين درجة ثالثة في 15 (42.9%) حالة، قصة عائلية لحالة ثانية بين الأخوة في 3 (8.6%) حالة. وفي غياب برنامج وطني لإجراء النخل عند الوليد في القطر شكا معظم الأطفال من مشكلات عصبية كتأخر في التطور الروحي الحركي 60.6%، والتخلف العقلي 42.4%، وعانى 100% من تأخر في التطور الروحي الحركي مع تخلف عقلي أو من دونه، والرخواة 57%، وصغر الرأس 44%، والاختلاجات 35.7%، وضعف المتابعة البصرية 21.4%، وشلل دماغي متوسط إلى شديد 18%، وأعدال توحد طفلي وصعوبات تواصل اجتماعي 18%، كما وصفت السحنة الفاتحة في 42.8% وصعوبات التغذية في 32% والرائحة الخاصة الفأرية في 18% من الحالات. (الشكل 1). وأبدت الدراسة الشعاعية بالرنين المغناطيسي أو بالتصوير الطبقي المحوسب وجود

تبدلات شعاعية عند 13 طفل (61.9%) من أصل 21 حالة مدروسة وقد كانت أهم التبدلات المشاهدة هي الضمور القشري في 11 حالة، ونقص تشكل المادة البيضاء في 8 حالات. وقد كان وسطي قيم Phe قبل بدء الحمية 1448 ميكرومول/ل (الانحراف المعياري = 429) شخص منهم 23 (65.7%) cPKU و 12 (34.3%) mPKU بالتعريف. وقد تم النجاح في تحديد الطفرة في 66 من أصل 70 أليلاً مدروساً، بكفاءة تشخيص 94.3%. (الجدول 1) وجدت 5 طفرات مختلفة في الأكرزون السابع، في حين لم نجد إلا طفرة واحدة في كل من الأكرزونات 2،5،9،12، وطفرة واحدة لكل من الأكرزونات 11،10،9،7،2، وقد وجدنا 16 طفرة مختلفة، وكان نمط الطفرة missense في 66/38 splice، (75.6%) في 66/22 (33.4%).



الشكل 1: أهم الأعراض والعلامات عند مرضى الدراسة

الجدول 1: نتائج الطفرات الفينيل ألانين هيدروكسيلاز وتواتر حدوثها النسبي في الدراسة

PRA: predicted residual activity in vitro, AV: arbitrary value, cPKU: classic PKU, mPKU: moderate PKU, miPKU: mild PKU, ?: unknown.

Mutation الطفرة		Ex/I	Domain	No. of alleles (n = 70)	Frequency (%)	Mutation Type
Trivial name	Systematic Name					
p.R261Q	c.782G>A	Ex.7	Catalytic	9	12.86	Missense
p.F55>Lfs	c.165delT	Ex.2	Regulatory	6	8.57	Frame shift
p.R243Q	c.728G>A	Ex.7	Catalytic	6	8.57	Missense
IVS2+5G>C	c.168+5G>C	I.2	Regulatory	6	8.57	Splice
IVS10-11G>A	c.1066-11G>A	I.10	Catalytic	5	7.14	Splice
p.P281L	c.842C>T	Ex.7	Catalytic	5	7.14	Missense
p.R270K	c.809G>A	Ex.7	Catalytic	5	7.14	Missense
IVS4+5G>T	c.441+5G>T	I.4	Regulatory	4	5.72	Splice
p.S310F	c.929C>T	Ex.9	Catalytic	4	5.72	Missense
p.P.E280K	c.838G>A	Ex.7	Catalytic	4	5.72	Missense
IVS9+5G>A	c.969+5G>A	I.9	Catalytic	3	4.29	Splice
IVS11+1G>C	c.1199+1G>C	I.11	Catalytic	2	2.86	Splice
IVS7+1G>A	c.842+1G>A	I.7	Catalytic	2	2.86	Splice
p.Y387H	c.1159T>C	Ex.11	Catalytic	2	2.86	Missense
p.R408W	c.1222T>C	Ex.12	Catalytic	2	2.86	Missense
p.D151E	c.453T>A	Ex.5	Catalytic	1	1.43	Missense
Total		Characterized		66	94.31	100.00
		Uncharacterized		4	5.69	

و frame shift في 66/6 (9%) من الأليلات (الجدول 1)، طافر وحيد، مريضان [p.R270K]; [?]; [?]; [?]، ومريض أكثر الطفرات تواتراً هي p.R261Q إذ وجدت في 12.86% من الأليلات المدروسة و p.R243Q في 8.75%؛ وكذلك p.F55>Lfs و p.F55>Lfs التي وجدنا بالتواتر نفسه بينما وجدت كل من الطفرات IVS10-11G>A و p.P281L و p.R270K بتواتر نسبي 7.14% و IVS4+5G>T و p.S310F و p.P.E280K في 5.72%، أمّا IVS9+5G>A ففي 4.29%، في حين وجدت الطفرات الأخرى بنسب أقل من 3% من الأليلات المدروسة (الجدول 1).

وقد كان 35/28 من المرضى متماثلتي الأمشاج لطفرة واحدة 4 منهم يحملون النمط الجيني [p.R261Q]; [R261Q]، ثلاثة [p.R243Q]; [R243Q]، ثلاثة [p.F55>Lfs]; [p.F55>Lfs] وثلاثية [IVS2+5G>C]; [IVS2+5G>C] (الجدول 2). و 35/7 متخالفي الأمشاج 3 منهم نمط مركب Compound heterozygote لطفرتين مختلفتين [IVS4+5G>T]; [IVS4+5G>T]; [IVS9+5G>A]; [IVS9+5G>A] و 4 لديهم أليل [p.R270K]; [p.D151E]; [IVS10-11G>A]، و 4 لديهم أليل

نتائج دراسة توافق النمط الظاهر مع النمط المورثي: استناداً إلى المعطيات المتوافرة في قواعد المعلومات في Biopku db سمح النمط المورثي في توقع النمط الظاهر عند 24 مريضاً (68.6%) لديهم 12 نمطاً مورثياً مختلفاً متماثل الأمشاج، 11 منها معروف ارتباطها بالنمط cPKU (p.F55>Lfs، IVS7+1G>A، IVS2+5G>C، IVS10-11G>A، IVS4+5G>T، IVS11+1G>C، p.P281L، p.R270K، p.R243Q، p.R408W) وقد وجدت لدى 20 مريض. ووجد نمط واحد (p.R261Q) معروف بارتباطه بالشكل المعتدل mPKU عند 4 مرضى.

الجدول 2: الأنماط الجينية والتوافق بين النمط الظاهر المتوقع والتصنيف السريري الموجود في الدراسة

cPKU: classic PKU, mPKU: moderate PKU, miPKU: mild PKU, ? : unknown

Genotype النمط الجيني	Mutation type	AV	PRA%	Predictive phenotype	n	cPKU	mPKU	Inconsistency
p.[R261Q];[R261Q]	Missense	4	30	mPKU	4	3	1	3
p.[R243Q];[R243Q]	Missense	2	<10	cPKU	3	1	2	2
p.[F55>Lfs];[p.F55>Lfs]	frameshift	2	0 <sup>a</sup>	cPKU	3	3	0	0
[IVS2+5G>C];[IVS2+5G>C]	Splice	2	0 <sup>b</sup>	cPKU	3	3	0	0
p.[S310F];[S310F]	Missense	?	?	cPKU?	2	2	0	?
p.[P281L];[P281L]	Missense	2	<1	cPKU	2	1	1	1
[IVS10-11G>A];[IVS10-11G>A]	Splice	2	0	cPKU	2	1	1	1
p.[E280K];[E280K]	Missense	2	10-0.9	cPKU	2	1	1	1
p.[Y387H];[Y387H]	Missense	?	?	cPKU?	1	1	0	?
p.[R408W];[R408W]	Missense	2	2.7-0.3	cPKU	1	1	0	0
p.[R270K];[R270K]	Missense	?	2.1 <sup>c</sup>	cPKU	1	0	1	1
[IVS9+5G>A];[IVS9+5G>A]	Splice	2 <sup>e</sup>	?	miPKU?	1	0	1	?
[IVS7+1G>A];[IVS7+1G>A]	Splice	2	0 <sup>d</sup>	cPKU	1	1	0	0
[IVS4+5G>T];[IVS4+5G>T]	Splice	2 <sup>e</sup>	0 <sup>d,f</sup>	cPKU	1	0	1	1
[IVS11+1G>C];[IVS11+1G>C]	Splice	2	?	cPKU	1	1	1	0
p.[R270K];[?]	Missense/?	?	2.1/?	?	2	1	1	?
p.[R261Q];[?]	Missense/?	2/?	30/?	miPKU?	1	0	1	?
p.[P281L];[?]	Missense/?	1/?	<1/?	miPKU?	1	0	1	?
[IVS4+5G>T];[IVS9+5G>A]	Splice/splice	2/?	0/?	cPKU?	1	1	0	?
[IVS4+5G>T];p.[R270K]	Splice/missense	2/?	0/2.1	cPKU?	1	1	0	?
p.[D151E];[IVS10-11G>A]	Missense/splice	?/1	?/0	?	1	1	0	?

ويمكن أن نقول: إنَّ التوافق الوراثي الظاهري كان موقفاً في 14 مريضاً (40%) من مرضى الدراسة، في حين لم نجد توافقاً في 10 حالات (28.6%)، ولم يكن النمط الوراثي موجهاً في 11 حالة (31.4%). (الجدول 3)

#### الاستجابة المتوقعة للعلاج بالBH4:

استناداً إلى المعطيات المتوافرة في قواعد المعلومات في Biopku db وجدنا معلومات عن الاستجابة للعلاج بالBH4 من أجل الطفرات الآتية: p.R243Q، p.R408W، p.P281L، IVS2+5G>C، IVS7+1G>A، p.E280K، IVS4+5G>T، p.Y387H، IVS10-11G>A، p.R261Q، IVS11+1G>A، IVS9+5G>A، وقد سجلت الاستجابة للBH4 في الأنماط الأربعة الأخيرة فقط والتي صودفت عند 8 مرضى فقط في دراستنا (22.9%) سبعة منهم بيدون cPKU، ومريض واحد لديه mPKU.

وقد توافقت الطفرات p.F55>Lfs، IVS2+5G>C، R408W، IVS7+1G>A مع حدوث cPKU سريرياً، بينما توافقت في حالات أخرى، كذلك الأمر بالنسبة إلى النمط p.R261Q الذي توافق في حالة واحدة مع mPKU فقط، في حين تظاهر 3 مرضى ب cPKU، وترافقت الأنماط R270K، IVS4+5G>T مع mPKU بما لا يتوافق مع النمط الظاهر المتوقع. (الجدول 2)، ولم نجد في المعلومات المتاحة في قاعدة البيانات أي معلومات تساعد في توقع النمط الوراثي الظاهري في الأنماط المورثية التسعة الباقية في دراستنا. والمصادفة في 11 حالة، وهي 3 متماثلة الأمشاج S310F، Y387H، IVS9+5G>A و 3 متخالفة الأمشاج مركبة هي: [IVS4+5G>T];[p.[R270K];[IVS9+5G>A]، [p.[D151E];[IVS10-11G>A]، و 3 متخالفة الأمشاج هي: [p.[R270K];[?];[p.[R261Q];[?];[p.[P281L];[?].

### المناقشة:

تظهر هذه الدراسة تنوعاً كبيراً في الأنماط الجينية بالنسبة إلى بلد صغير كسوريا إذ حُدِّتْ 16 طفرة مختلفة عند 35 مريضاً. وهذا يميز شعوب الشرق الأدنى من حيث وجود خليط لأعراق مختلفة<sup>20</sup>، وكانت الطفرة p.R261Q هي الأكثر مصادفة (12.86%)، وهي من الطفرات المشاهدة في بلدان البحر المتوسط: 10.3% في لبنان، و 8.7% في تركيا، و 8.5% في صيقلية<sup>21</sup> و 15.7% في جنوب إيطاليا<sup>22</sup>، بينما كان تواتر الطفرة المتوسطة IVS10-11G>A 7.1% فقط مقارنة بشيوع هذه الطفرة في لبنان 27.6%<sup>21</sup> و تركيا 24.6%<sup>23</sup> ومقترية من نسبة حدوثها في المغرب وتونس<sup>10,11</sup>. وقد وجدت الطفرة F55>Lfs في 8.57% من الأليلات مقترية من نسبة حدوثها في لبنان 7%<sup>21</sup>. ويذكر أن هذه الطفرة لم تصادف في الدول العربية الأخرى، وإنما فقط في عرب فلسطين المحتلة<sup>9</sup>، كذلك الطفرة p.R270K وجدت في 7.14% من الأليلات، ويشيع مصادفتها في أوروبا وأميركا، وتندر مصادفتها في المنطقة المتوسطة<sup>24,25</sup>، أمّا الطفرة الأكثر شيوعاً عالمياً p.R408W بحسب قاعدة المعلومات فصودفت في 2.86% من الحالات فقط، وقد وجدت الطفرات p.R243Q، IVS2+5G>C بنسبة 8.7% فضلاً عن طفرات أخرى بنسب مختلفة منها p.P281L، IVS4+5G>T، IVS4+5G>A، IVS11+1G>C، p.E280K، IVS9+5G>A، وهي طفرات شائعة في منطقة المتوسط، وكذلك إيران<sup>(26,27)</sup>، أمّا الطفرة p.S310F (5.72%) فصودفت في الصين وكوريا<sup>28,29</sup> وألمانيا<sup>30</sup>. والطفرة p.Y387H (2.86%) المصادفة عند الألمان<sup>30</sup>، وكذلك في شرق آسيا. وقد وجدنا بعض الطفرات النادرة مثل p.D151E، ولم تورّد قاعدة البيانات أي معلومات عنها<sup>31</sup>.

### دراسة توافق النمط الظاهر مع النمط المورثي:

دُرِسَ توافق النمط الظاهر مع النمط المورثي في 16 طفرة موزعة على 21 نمطاً مورثياً، وذلك بالعودة لمعطيات BioPKU، وحساب فعالية الخميرة المتبقية %PRA، ووفقاً لما ورد من الفعاليات المدروسة في الزجاج Okano et al<sup>32,33</sup> وناتج جمع AV المسجل الموافق لكل طفرة Guldberg et al<sup>14</sup>. تم التمكن من تحديد النمط الظاهر المتوقع لـ 12 نمطاً جينياً وجدت عند 24 مريضاً (الجدول 3)، ولم نجد توافقاً بين النمط الجيني والنمط الظاهر المتوقع في 7 أنماط جينية مسجلة عند 10 مرضى. منهم 4/3 متماثلو الأمشاج للطفرة R261Q التي سجل توافقها مع mPKU في 74.26% من الحالات (BioPKU db)، إذ كان نمطهم الظاهر cPKU، ومن جهة أخرى كان قد سجل ترافق هذه الطفرة مع أشكال المرض جميعها<sup>15,34</sup>، و 3/2 مع متماثلي الأمشاج للطفرة R243Q التي سجل توافقها مع cPKU في 84.44% من الحالات (BioPKU db)، كان نمطهم الظاهر mPKU، و 2/1 من كل من الطفرات p.P281L، E280K، IVS10-11G>A المتماثلة الأمشاج التي ذكر توافقها مع حدوث cPKU في أكثر من 90% من الحالات (BioPKU db) تظاهرت سريرياً في دراستنا بـ mPKU. بينما وجدنا مريضين لـديهما mPKU متماثلو الأمشاج للطفرتين R270K و IVS4+5G>T، وقد أوردت BioPKUdb ترافقهما مع cPKU في أكثر من 90% من الحالات، كما بعض الدراسات بالنسبة إلى الطفرة الأولى<sup>18,35,36</sup> وأخرى بالنسبة إلى الطفرة الثانية<sup>15,37,38</sup> (الجدول 3).

إن غياب التوافق بين النمطين المورثي والظاهر في

الجدول 3: نتائج التوافق بين النمط الجيني و النمط المورثي عند مرضى الدراسة

**cPKU: classic PKU, mPKU: moderate PKU, miPKU: mild PKU, ?: unknown**

	Predictive	Consistency*	Inconsistency*	Non productive	Total	
Genotypes	12	10/24	7 /24	9	21	
Patient	24	14/24	10/24	11		
%	57.1			42.9	100	
	p.[R261Q];[R261Q] p.[R243Q];[R243Q] p.[F55>Lfs];[p.F55>Lfs] [IVS2+5G>C];[IVS2+5G>C] p.[P281L];[P281L] [IVS10-11G>A];[IVS10-11G>A] p.[E280K];[E280K] p.[R408W];[R408W] p.[R270K];[R270K] [IVS11+1G>A];[IVS11+1G>A] [IVS7+1G>A];[IVS7+1G>A] [IVS4+5G>T];[IVS4+5G>T]	p.[R261Q];[R261Q] p.[R243Q];[R243Q] p.[F55>Lfs];[p.F55>Lfs] [IVS2+5G>C]; [IVS2+5G>C] p.[P281L];[P281L] [IVS10-11G>A]; [IVS10-11G>A] p.[E280K];[E280K] p.[R408W];[R408W] [IVS11+1G>A];[IVS11+1G>A] [IVS7+1G>A]; [IVS7+1G>A]	p.[R261Q];[R261Q] p.[R243Q];[R243Q] p.[P281L];[P281L] [IVS10-11G>A]; [IVS10-11G>A] p.[E280K];[E280K] p.[R270K];[R270K] [IVS4+5G>T];[IVS4+5G>T]	p.[S310F];[S310F] p.[Y387H];[Y387H] [IVS9+5G>A];[IVS9+5G>A] p.[R270K];[?] p.[R261Q];[?] p.[P281L];[?] [IVS4+5G>T];[IVS4+5G>T] [IVS9+5G>A] [IVS4+5G>T];p. [R270K] p.[D151E];[IVS10-11G>A]		
Genotype (21)	cPKU	11	9/10	6/7	4?	
	mPKU	1	1/10	1/7	0	
	miPKU	0	0	0	3?	
	?	0	0	0	4	
Predictive phenotype (35)	cPKU	20	35 patients 21 genotypes 35 phenotypes	5		
	mPKU	4		0		
	miPKU	0		3		
	?	0		3		
Observed phenotype	cPKU	15	13/15	3/15	7	23
	mPKU	9	1/9	7/9	4	12
	miPKU	0	0	0	0	0
Number of patient	24	14/24	10/24	11	35	
%	68.6	40 % (24)	28.6% (24)	31.4	100	

وتخلف عميق بدوا طبيعيين تماماً مع نسبة ذكاء طبيعية. وخلصت الدراسة إلى أنه لا يوجد ارتباط بين نمط المرض والطفرة المسببة عند الأطفال غير المعالجين<sup>41-40</sup>. وإن تصنيف المرض في الحالات المشخصة بعد العمر الوليد خاصة في غياب برنامج المسح عند الوليد كما هو الحال في بلدنا، يجعل التصنيف السريري للمريض أكثر صعوبة، إذ يعتمد على مبدأ التحمل الغذائي، وبعد الحصول على مستويات آمنة Phe أقل من 500 mM في السنوات الخمس الأولى من العمر. وكلما كانت مستويات Phe < 1000 mM على الحمية العادية كان خطر

\*تفاصيل التوافق بين النمطين المتوقع والظاهر السريري في الحالات التي تحمل أنماطاً مورثية تسمح بتوقع النمط الظاهر وفقاً لمعطيات قاعدة البيانات وهي في هذه الدراسة 12 نمطاً جينياً، فقط صودفت عند 24 مريضاً.

عوز PAH هو أمر مسجل منذ بداية التسعينيات ولئن سجل ترافق المرض الأشد مع الطفرات الأشد<sup>32,6</sup> بشكل مبكر، فإن تنوع النمط الظاهر أمر واقع، وله علاقة بالحمية الغذائية<sup>39</sup>. وفي دراسة العائلات غير المعالجة وجد في العائلة نفسها وللطفرة نفسها اختلاف في شدة المرض، حتى أن بعض الأفراد المشخصين لأخوة ذوي إصابة شديدة

من الخطة الطبية في كل حالة<sup>43</sup> كذلك الأمر بالنسبة إلى دراسة تأثير الطفرة في ثبات بروتين الـ PAH الذي يرتبط ارتباطاً مباشراً مع الفعالية الأنظيومية المتبقية، والنمط الظاهر والاستجابة للـ BH4<sup>44</sup>.

إن تحري الاستجابة للعلاج بالـ BH4 جدير بالتجربة إذ أننا وجدنا أربع طفرات p.R261Q، p.IVS10-11G>A، p.Y387H، p.IVS9+5G>A معروفة باستجابتها للـ BH4، وتشكل 25% من الطفرات في دراستنا، وهذه النسبة تقترب من نتائج دراسة فرنسية<sup>45</sup>، وأخرى من الصين<sup>46</sup>، إذ بلغت نسبة الحالات المستجيبة 31.6% و 24.24% على التوالي. ومن المعروف توافق النمط المورثي مع كل من التحمل للـ Phe والاستجابة للـ BH4<sup>41</sup> ولذلك يجدر أن تُجرى تجربة الاستجابة ليس فقط عند هؤلاء المرضى بل على المرضى جميعهم خاصة الطفرات ذات محصلة AV متوافقة مع mPKU أو HPA<sup>47</sup>، وتلك التي في المنطقة التحفيزية Catalytic domain، حيث ذكر أن 68% من الطفرات المستجيبة تقع في تلك المنطقة<sup>36</sup> وهو حال 16/13 طفرة مسجلة في دراستنا (الجدول 1)

#### الاستنتاج:

أبدى الطيف المورثي تنوعاً كبيراً في أنماط الطفرات ولم نجد نمطاً واحداً مسيطراً يسمح بإجراء كشف الحمل، ولو أن النمط المتوسطي R261Q كان الأكثر تواتر نسبياً في دراستنا إلا أنه لم يشكل إلا 12.86% من الطفرات. ولا بد من إكمال الدراسة لتشمل العائلات المصابة كافة، مع تعميم إجراء استقصاء الاستجابة للعلاج بالـ BH4 في المستقبل. إنَّ تشخيص النمط المورثي سيسمح بإجراء التشخيص في أثناء الحمل للحد من انتشار مرض الفينيل كيتون الذي يعدُّ من الأمراض ذات التكلفة العلاجية المرتفعة.

اضطراب التطور الإدراكي أكبر، بينما تتوافق المستويات بين 120-1000 mM مع الأشكال الخفيفة من فرط الفينيل ألانين<sup>39</sup>، وهذا أمر لمسناه في دراستنا من حيث شدة الإصابة العصبية وعدم ارتباطها بقيم Phe المطلقة، إذ إنَّ القيم جميعها كانت أكثر من 1000 mM على حمية عادية وحالتان فقط، الأولى لذكر بعمر 2.5 سنة قيمة Phe = 835 mM قبل بدء الحمية، ولديه اختلاجات مع تأخر تطور روحي حركي وصعوبات في البلع ورخاوة وعدم تواصل بصري، ولديه طفرة متماثلة الأمشاج E280K ويعتمد في تغذيته على الإرضاع الوالدي، والأخرى لذكر عمره 5 سنوات مجهول العمر عند التشخيص، وقيمة Phe = 766 mM لديه تخلف عقلي، وطفرة متخالفة الأمشاج p.[R261Q];[?] وليس لدينا معلومات عن تغذيته خلال الطفولة الأولى.

وقد سجلت BioPKUdb 3 حالات p.[S310F];[S310F] فقط، وحالتان p.[Y387H];[Y387H] مع ذكر ترافقها مع cPKU، وقد وجدت هذه الأنماط عندنا بالنظائر نفسه cPKU. اختلفت المعلومات عن الطفرة p.IVS9+5G>A، وقد ذكرت في بعض المقالات كطفرة كلاسيكية<sup>38,42</sup> بينما سجلت BioPKUdb حالة mPKU، وأخرى HPA، وقد صودف هذا النمط في دراستنا عند مريض واحد cPKU (الجدول 3، 2) أمَّا الطفرات متخالفة الأمشاج فقد سجل في قاعدة البيانات حالي [IVS4+5G>T];[IVS9+5G>A] وحالة p.[R270K];[IVS4+5G>T] مترافقة كلها مع cPKU، وفي دراستنا ترافقت بالشكل السريري نفسه. كما سجل ترافق النمط p.[R261Q];[?] و p.[P281L];[?] miPKU<sup>9</sup> الذي ترافق في دراستنا بـ mPKU، ولم تتوافر معلومات في قاعدة البيانات عن الأنماط p.[R270K];[?] و p.[D151E];[IVS10-11G>A] و مجال فعالية PHA (Mapping the functional landscape)

## References

- 1- Scriver, C.R., The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. *Hum. Mutat.* 2007;28: 831–845.
- 2- Williams, R.A., Mamotte, C.D., Burnette, J.R.. Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism. *Clin. Biochem. Rev.* 2008; 2:31–41.
- 3- Blau, N., van Spronsen, F.J., Levy, H.L. Phenylketonuria. *Lancet.* 2010; 376: 1417–1427.
- 4- Scriver, C.R., Kaufman, S., Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. In: Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., et al. (Eds.), *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. Mc-Graw-Hill, New York. 2001: 1667–1724.
- 5- Lassker, U., Zschocke, J., Blau, N., Santer, R. Tetrahydrobiopterin responsiveness in phenylketonuria. Two new cases and a review of molecular genetic findings. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2002;25:375–378.
- 6- Scriver, C.R., et al. PAHdb: what a locus-specific knowledgebase can do. *Hum. Mutat.* 2003;21: 333–344.
- 7- Iraj Rezvani and Can H. Ficioglu. Phenylalanine, Defects in Metabolism of Amino Acids In: Kliegman R M, Stanton B, St J. Geme, Schor N F, editors. *Nelson text book of pediatrics* 20th ed. Philadelphia(PA): Elsevier Saunders 2016; 85.1: 636-40.
- 8- Effat, L.K., Essawi, M.L., Abd El Hamid, M.S., Hawari, N., Gad, Y.Z., 2008. Screening for six Mediterranean mutations in 90 Egyptian patients with phenylketonuria. *Bratisl. Lek. Listy* 2008;109: 17–19.
- 9- Bercovich, D., et al. A mutation analysis of the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene in the Israeli population. *Ann. Hum. Genet.* 2008; 72:305–309.
- 10- Dahri, S., Desviat, L.R., Perez, B., Leal, F., Ugarte, M., Chabraoui, L. Mutation analysis of phenylketonuria patients from Morocco: high prevalence of mutation G352fsdelG and detection of a novel mutation p.K85X. *Clin. Biochem* 2010; 43:76–81.
- 11- Khemir, S., et al. Screening of three Mediterranean phenylketonuria mutations in Tunisian families. *J. Genet.* 2012; 91: 91–94.
- 12- John H. Walter, Robin H. Lachmann, Peter Burgard Hyperphenylalaninaemia in: Jean Marie Saudubray, Georges van den Berghe, John H. Walter. *Inborn Metabolic Diseases Diagnosis and Treatment* Fifth ed Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012; 17: 253-264.
- 13- Zschocke, J., Graham, C.A., Carson, D.J., Nevin, N.C. Phenylketonuria mutation analysis in Northern Ireland: a rapid stepwise approach. *Am. J. Hum. Genet.* 1995; 57:1311–1317.
- 14- Guldberg, P., et al. A European multicenter study of phenylalanine hydroxylase deficiency: classification of 105 mutations and a general system for genotype-based prediction of metabolic phenotype. *Am. J. Hum. Genet.* 1998;63: 71–79.
- 15- Berchovich, D., et al. Genotype–phenotype correlations analysis of mutations in the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene. *J. Hum. Genet.* 2008; 53: 407–418.
- 16- Daniele, A., 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: 2048–2059.
- 17- Mallolas, J., et al. Mutational spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in the population resident in Catalonia: genotype–phenotype correlation. *Hum. Genet.* 1999; 105:468–473.
- 18- Santos C.G. Fonseca, A.L.P. Starling, J.N. Januário, M.J.B. Aguiar, M.G.C.D. Peixoto and M.R.S. Carvalho Variations in genotype-phenotype correlations in phenylketonuria patients *Genet. Mol. Res.* 2010; 9 (1): 1-8.
- 19- Groselj, U., Tansek, M.Z., Kovac, J., Hovnik, T., Podkrajsek, K.T., Battelino, T. Five novel mutations and two large deletions in a population analysis of the phenylalanine hydroxylase gene. *Mol. Genet. Metab.* 2012; 106 (2): 142–148.
- 20- Ahmad S. Teebi .Genetic Diversity Among Arabs. In: Teebi, Ahmad (Ed.), *Genetic disorders among Arab populations*. Springer, Heidelberg, 2010;1: 3-36.
- 21- Karam, P.E., Alhamra, R.S., Nemer, G., Usta, J. Spectrum of mutations in Lebanese patients with phenylalanine hydroxylase deficiency. *Gene.* 2013; 515: 117–122.
- 22- A. Daniele et al. Salvatore! Molecular Epidemiology of Phenylalanine Hydroxylase Deficiency in Southern Italy: a 96% Detection Rate with Ten Novel Mutations *Annals of Human Genetics.* 2006; 71:185–193.
- 23- Dobrowolski, S. et al. Molecular genetics and impact of residual in vitro phenylalanine hydroxylase activity on tetrahydrobiopterin responsiveness in Turkish PKU population. *Mol. Genet. Metab.* 2011; 102:116–121.
- 24- Eigel, A., Dworniczak, B., Kalaydjieva, L., Horst, J. A frameshift mutation in exon 2 of the phenylalanine hydroxylase gene linked to RFLP haplotype 1. *Hum. Genet.* 1991; 87:739–741.
- 25- Guldberg, P., et al. Phenylalanine hydroxylase gene mutations in the United States: report from the Maternal PKU Collaborative Study. *Am. J. Hum. Genet.* 1996; 59: 84–94.

- 26- Baturina, O.A., Bondar, A.A., Tupikin, A.E., Zhabin, S.G., Morozov, I.V. Mutation analysis of the phenylalanine hydroxylase gene of phenylketonuria patients of Kemerovskaya Oblast and Saha Republic. *Tsitol. Genet.*2012; 46:40–47.
- 27- Hamzehloei, T., Hosseini, S.A., 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.
- 28- Nana Li et al. Molecular characterisation of phenylketonuria in a Chinese mainland population using nextgeneration sequencing *Sci. Rep.* 5, 15769.2015 [www.nature.com/scientificreports](http://www.nature.com/scientificreports).
- 29- Dong Hwan Lee, et al. Jung The molecular basis of phenylketonuria in Koreans *J Hum Genet* (2004) 49:617–621.
- 30- Eisensmith, R.C., et al. Recurrence of the R408W mutation in the phenylalanine hydroxylase locus in Europeans. *Am. J. Hum. Genet.*1995; 56, 278–286.
- 31- Bonafé L, Blau N, Burlina AP, Romstad A, Güttler F, Burlina AB. Treatable neurotransmitter deficiency in mild phenylketonuria *Neurology.* 2001 Sep 11;57(5):908-11.
- 32- Okano, Y., et al.,. Molecular basis of phenotypic heterogeneity in phenylketonuria. *N. Engl. J. Med.*1991; 324, 1232–1238.
- 33- Okano, Y., et al. Phenylketonuria missense mutations in the Mediterranean .*Genomics*1991 9, 96–103.
- 34- Daniele A. et al. .Functional and structural characterization of novel mutations and genotype–phenotype correlation in 51 phenylalanine hydroxylase deficient families from Southern Italy *FEBS Journal.*2009; 276 :2048–2059.
- 35- Leandro J, Nascimento C, de Almeida IT and Leandro P Co-expression of different subunits of human phenyl–alanine hydroxylase: evidence of negative interallelic complementation. *Biochim. Biophys. Acta* 1762: 544-550.
- 36- Zurflüh, M.R., et al. Molecular genetics of tetrahydrobiopterin responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *Hum. Mutat.* 2008;29 (1): 167–175.
- 37- Olga A. Baturina, Alexey E. Tupikin, Tatyana V. Lukjanova, Svetlana V. Sosnitskaya, Igor V. Morozov. PAH and QDPR deficiency associated mutations in the novosibirsk region of the Russian federation: correlation of mutation type with disease manifestation and severity *J Med Biochem.*2014; 33: 333–340.
- 38- Bayat A, Yasmeen S, Lund A, Nielsen JB, Møller LB. Mutational and phenotypical spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in Denmark. *Clin Genet.* 2015 Nov 5[Epub ahead of print]
- 39- Kayaalp, E., Treacy, E., Waters, P.J., Byck, S., Nowacki, P., Scriver, C.R. Human phenylalanine hydroxylase mutations and hyperphenylalaninemia phenotypes: a metanalysis of genotype–phenotype correlations. *Am. J. Hum. Genet.*1997;. 61:1309–131.
- 40- Susan J Ramus, Susan M Forrest, David B Pitt, Jennifer A Saleeba, Richard G H Cotton Comparison of genotype and intellectual phenotype in untreated PKU patients *I Med Genet* 1993; 30: 401-405.
- 41- Mitchell JJ. Phenylalanine Hydroxylase Deficiency. 2000 Jan 10 [Updated 2013 Jan 31]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2016. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1504>.
- 42- Alireza Biglari, Fatemeh Saffari, Zahra Rashvand, Safarali Alizadeh, Reza Najafipour and Mehdi Sahmani. Mutations of the phenylalanine hydroxylase gene in Iranian patients with phenylketonuria *Springer Plus.* 2015; 4:542.
- 43- Marta K Danecka et al. Gersting. Mapping the functional landscape of frequent phenylalanine hydroxylase (PAH) genotypes promotes personalised medicine in phenylketonuria. *J Med Genet* 2015;0:1–11.
- 44- Sarah Wettstein, et al. Linking genotypes database with locus-specific database and genotype–phenotype correlation in phenylketonuria *European Journal of Human Genetics.* 2015;23:302–309
- 45- Jeannesson-Thivisol E. et al. Genotype-phenotype associations in French patients with phenylketonuria and importance of genotype for full assessment of tetrahydrobiopterin responsiveness. *Orphanet Journal of Rare Diseases.* 2015; 10:158.
- 46- Jing Tao et al. Correlation between genotype and the tetrahydrobiopterin-responsive phenotype in Chinese patients with phenylketonuria *Pediatric Research.* 2015; 78 (6):691-699
- 47- Quirka,EM. et al. Utility of phenylalanine hydroxylase genotype for tetrahydrobiopterin responsiveness classification in patients with phenylketonuria *Mol Genet Metab.* 2012; 107(0): 31–36.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2016/03/30.

تاريخ قبوله للنشر 2016/06/22.