دوفصلنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال دوازدهم، شماره ۱، صفحه ۷ - ۱ (شهریور ۱۳۸۸)

بررسی شیوع آلل‌های شناخته‌شده ژن آنزیم تیوپورین متیل تراسفراز (TPMT) در مراجعه کنندگان به درمانگاه بیمارستان شریعتی تهران

مهدی آزاد[۱]، دکتر سعید کاویانی[۲]*، دکتر مسعود سلیمانی[۲]، دکتر مهرداد نوروزی نیا[۳]، دکتر عباس حاجی فتحعلی[۴]

[۱]دانشجوی دکتری هماتولوژی و بانک خون، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
[۲]استادیار هماتولوژی، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
[۳]استادیار ژنتیک پزشکی، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
[۴]دانشیار هماتولوژی، بیمارستان آیت الله طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

زمینه: بیماران با سطوح پائین و یا متوسط فعالیت آنزیم تیوپورین متیل تراسفراز (TPMT) در معرض افزایش خطر ابتلا به سرکوب سلول‌های رده خون‌ساز مغز استخوان پس از مصرف داروهای تیوپورینی خواهند بود. هدف از این مطالعه بررسی شیوع چهار نوع شایع ژن مزبور در یک گروه از جمعیت ایران است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، نمونه‌ها از ۱۲۷ نفر داوطلب مراجعه‌کننده به بیمارستان شریعتی اخذ گردید و با روش‌های PCR-RFLP و ARMS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند تا پلی‌مورفیسم‌های شایع TPMT در آن‌ها مشخص گردد.

یافته‌ها: از میان ۱۲۷ نمونه‌ای که مورد بررسی قرار گرفت، در ۱۱/۸ درصد از آن‌ها آلل‌های جهش‌یافته TPMT مشاهده شد (۱۵/۱۲۷). در مجموع، ۹ مورد TPMT*2، چهار مورد TPMT*3C و دو مورد TPMT*3A داشتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این تحقیق در مورد شیوع پلی‌مورفیسم‌های ژن TPMT در ایران و عوارض استفاده داروهای تیوپورینی در حاملین، این پولی‌مورفیسم باید در بیماران لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL) قبل از استفاده از این داروها ژن TPMT مورد بررسی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: TPMT، پلی‌مرفیسم، فارماکوژنتیک، جمعیت ایرانی

دریافت مقاله: ۸۷/۸/۱۱- پذیرش مقاله: ۸۷/۱۰/۳

* تهران، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس ، تلفن: ۸۲۸۸۳۸۳۲-۰۲۱ Email :kavianis@gmail.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-09-26]

مقدمه

تعدادی آنزیم‌های خاص، متابولیزکننده داروها هستند و در خنثی‌سازی گزنوبیوتیک‌ها نقل و انتقال بیولوژیک مواد دارویی مشارکت می‌کنند. پلی‌مرفیسم‌های مختلف در آنزیم‌های متنوع متابولیزه کننده داروها، فعالیت عملکردی این آنزیم‌ها را دستخوش تغییر و تحول می‌نمایند (۱). داروهای ضد سرطانی ۶- مرکاپتویورین و آزاتیوپورین به طور گسترده برای درمان اختلالاتی نظیر لوسمی لنفوپلاستیک حاد کودکان (ALL)، هپاتیت اتوایمیون، میاستنی گراویس و آرتریت روماتوئید استفاده می‌شوند (۲ و ۳). آنزیم تیوپوریل‌متیل‌تراسفراز (TPMT)، یک آنزیم سیتوزولیک است که ترکیبات هتروسیکلیک‌سولفیدریل و آروماتیک نظیر ۶- مرکایتوپورین را منتقل می‌نماید (۴). ژن TPMT روی کروموزم ۶ قرار دارد و شامل ۱۰ اگزون است.

فعالیت کاهش‌یافته این آنزیم به صورت یک صفت اتومازومال هم بارز به ارث می‌رسد، به طوری‌که از هر ۳۰۰ نفر یک نفر دارای فقدان کامل آنزیم است و حدود ۱۰ درصد افراد نیز هتروزیگوت بوده و دارای فعالیت آنزیمی کاهش یافته هستند (۴ و ۵). مبنای مولکولی فعالیت پائین TPMT نیز شرح داده شده است و بر اساس گزارشات، اکثر افراد (بالای ۹۰ درصد) دارای آلل نرمال به صورت TPMT×۱ می‌باشند و در گروه اندک باقیمانده سه پلی‌مورفیسم شایع که اکثریت آلل‌های جهش یافته را در این رابطه به خود اختصاص می‌دهند، ردیابی خواهند شد (۶ و ۷). بیماران با فعالیت آنزیمی پائین یا متوسط در معرض افزایش خطر سرکوب رده خون‌ساز مغز استخوان با دریافت داروهای تیوپورینی می‌باشند (۸). تا امروز ۹ آلل جهش‌یافته در این رابطه گزارش شده است (۹). مبنای ملکولی پلی‌مرفیسم‌های متعدد ژن TPMT در مناطق مختلفی از جهان مثل آسیای جنوب‌شرقی و گروهی از کشورهای آفریقایی و اروپایی تعیین شده است و پلی‌مرفیسم‌های شایع (که در تمام جمعیت‌ها چهار مورد هستند) گزارش و شیوع آن‌ها مشخص شده است. در این طرح شایع‌ترین این پلی‌مرفیسم‌ها برای اولین بار در جمعیت ایرانی مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

شیوع این چهار پلی مرفیسم (TPMT*2 (G238C، (TPMT*3A (G460A و A719G)، (TPMT*3B (G460A، (TPMT*3C (A719G در جمعیت‌های مختلف، متفاوت است. این چهار آلل، بیشتر از ۸۰ درصد کل پلی‌مرفیسم‌های TPMT را به خود اختصاص می‌دهند. تعیین و بررسی شیوع انواع مختلف TPMT (TPMT*2-*8) اخیراً در یکسری جوامع انجام شده است (۷، ۹ و ۱۰). آلل TPMT*2 که شامل یک جابجایی G/A در جایگاه ۲۳۸ نوکلئوتیدی می‌باشد، در برخی جوامع نظیر کشورهای اروپایی، آفریقا و آمریکا دارای شیوع اندکی است. البته در برخی جوامع مثل ترکیه شیوع آن بالاست (۷، ۹ و ۱۰) آلل TPMT*3A شامل دو جابجایی نوکلئوتیدی به صورت G/A و A/G به ترتیب در موقعیت‌های ۴۶۰ و ۷۱۹ می‌باشد، در آسیای جنوب شرقی و جمعیت‌های آفریقایی آمریکایی شایع است و ضمناً شایع‌ترین پلی‌مرفیسم TPMT در جمعیت اروپاست (۱۲ و ۱۱).

آلل TPMT*3C نیز شامل یک جابجایی A/G در جایگاه ۷۱۹ است که در آسیای جنوب‌شرقی، آفریقا و آمریکا شایع است و شایع‌ترین پلی‌مرفیسم در جمعیت چین می‌باشد. علاوه بر موارد گفته شده، ۵ نوع دیگر (TPMT*4-*8) بسیار نادر هستند (۱، ۷، ۹ و ۱۰). تعیین شایع‌ترین آلل‌های TPMT می‌تواند در تعیین بهترین دوز درمانی و غیرسمی داروهایی نظیر

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-09-26]

۶ مرکاپتوپورین و آزاتیوپورین که به‌ویژه برای بیماران A11 تجویز می‌شوند، در هر بیمارکمک کند. از دیگر داروهایی که توسط آنزیم TPMT متابولیزه می‌شوند و قبل از تجویز آن‌ها باید وضعیت آنزیم مزبور را کنترل کرد عبارتند از: استروئیدها، داروهای ضد افسردگی، بنزوپازین‌ها، داروهای سرکوب‌گر ایمنی و آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولیدی. همان‌طورکه ذکر شد، هیچ مطالعه‌ای در این رابطه قبلاً در ایران انجام نشده است و در این طرح تحقیقاتی، شیوع آلل‌های TPMT*2، TPMT*3A، TPMT*3B، TPMT*3C در یک جمعیت ایرانی بررسی شده است.

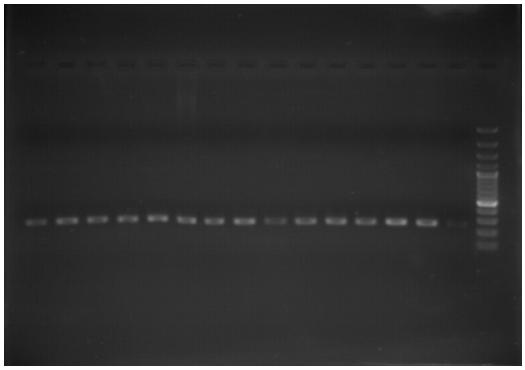
مواد و روش‌کار

ابتدا خون وریدی به میزان دو سی سی از ۱۲۷ فرد نرمال جمع‌آوری گردید. سپس DNA ژنومیک با استفاده از کیت DNG Plus شرکت سیناژن همراه با تغییراتی، از نمونه‌ها استخراج گردید. طراحی پرایمر و آنزیم‌های محدودکننده بر اساس مطالعات قبلی و با کمی تغییر صورت پذیرفت (۱۳). به طور مختصر برای آنالیز موتاسیون G238C (TPMT*2) از یک آنالیز خاص PCR به‌نام Allele Specific PCR استفاده شد. مقدار پرایمر مورد استفاده در این روش، ۰/۲ میکرومولار است. پرایمرهای رفت و برگشت مورد استفاده برای تعیین پلی‌مرفیسم‌های مزبور به ترتیب در جدول ۱ فهرست شده است.

مراحل مورد نظر برای PCR و تکثیر قطعه مورد نظر در این پلی‌مرفیسم نیزبه شرح زیر بود؛ یک مرحله اولیه برای جداسازی دو رشته DNA در ۹۴ درجه سانتی‌گراد و برای ۵ دقیقه و سپس تکرار یک چرخه که شامل مراحل جدا-سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه)، جست و جوی پرایمری و چسبندگی آن در ۵۷ درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه) و تکثیر در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه) به تعداد ۳۵ دور انجام شد. در پایان مرحله تکثیر نهایی به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در یک دستگاه PCR مدل اپندورف (ازکشورآلمان) انجام شد. محصولات به-دست آمده دارای ۲۵۴ جفت باز بود که نهایتاً آن‌ها را جهت مشاهده باند مربوط به هرتوالی روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد بارگذار کردیم (تصویر ۱).

جدول۱: پرایمرهای مورد استفاده برای پلی‌مرفیسم‌های متعدد

پرایمرهای مربوط به پلی‌مرفیسم TPMT *2
5′-GTATGATTTTATGCAGGTTTG -3′ (A*2f238)
5′-GTATGATTTTATGCAGGTTTC-3′ (M*2f238)
5′-TAAATAGGAACCATCGGACAC -3′ (B*2R238)
پرایمرهای مربوط به پلی‌مرفیسم TPMT*3B
5′-AGGCAGCTAGGGAAAAAGAAAGGTG -3′ (C*3f460)
5′- CAAGCCTTATAGCCTTACACCCAGG-3′ (D*3R460)
پرایمرهای مربوط به پلی‌مرفیسم TPMT*3C
5′- GAGACAGAGTTTCACCATCTTGG -3′ (E*3f719)
5′-CAGGCTTTAGCATAATTTTCAATTCCTC-3′ (f*3R719)

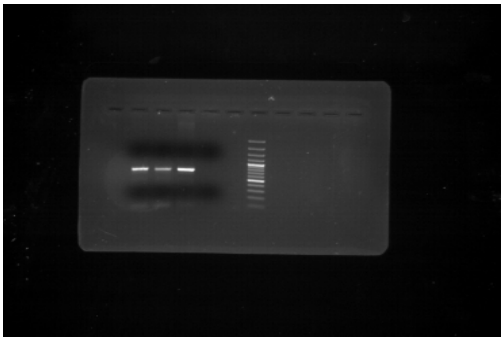


تصویر ۱: آلل نرمال TPMT *2 با پرایمرهای رفت و نرمال و برگشت؛ باند ۲۵۴ بازی پس از الکتروفوز روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد مشاهده می‌شود.

برای آنالیز موتاسیون‌های نقطه‌ای (TPMT*3B (G460A، TPMT*3C (A719G) از تکنیک PCR-RFLP استفاده

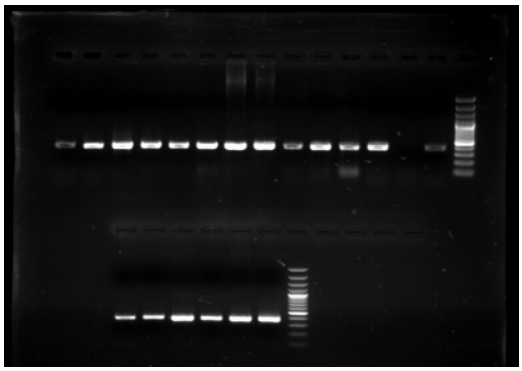
[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-09-26]

شد. مقادیر پرایمرهای رفت و برگشت مورد نیاز، همان ۲/۰ میکرومولار است و توالی آن‌ها در جدول ۱ عنوان شده است. شرایط PCR همانند برنامه فوق‌الذکر است که برای تکثیر قطعات ۲۴۵ بازی در مرحله قبل عنوان شد منتها با دو تفاوت؛ یکی این‌که تعداد چرخه‌ها به ۳۳ کاهش می‌یابد و دمای چسبندگی پرایمرها نیز این بار ۶۲ درجه سانتی‌گراد خواهد بود (تصویر ۲).



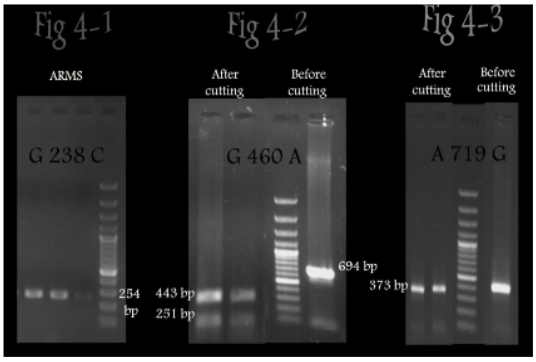
تصویر ۲: آنالیز PCR برای قطعه تکثیر شونده حاوی نوکلتوئید ۴۶۰، طول محصول به دست آمده ۶۹۴ باز می‌باشد.

نهایتاً محصول به‌دست آمده با آنزیم محدودکننده MWOI برش خورده و با استفاده از ژل آگاروز ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت در مورد این آنزیم، آلل‌های نرمال دارای جایگاه برش بوده و همگی برش خورند، ولی آلل‌های جهش‌یافته دست نخورده باقی ماندند. محصول به‌دست آمده در این دو مورد دارای ۶۹۴ باز بوده که پس از برش دو باند ۴۴۳ و ۲۵۱ بازی ایجاد کردند (تصویر ۴) به دنبال تکثیر قطعه حاوی جایگاه ۷۱۹ (TPMT*3C)، یک محصول ۳۷۳ جفت بازی به‌دست آمد که مجدداً میزان پرایمر استفاده شده ۲/۰ میکرومولار بود. توالی پرایمرهای رفت و برگشت در جدول ۱ آمده است. شرایط PCR همانند همان شرایطی است که برای TPMT *3B استفاده شد. منتها با این تفاوت که دمای چسبندگی پرایمرها مجدداً به ۵۸ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (تصویر ۳).



تصویر ۳: آنالیز PCR برای قطعه تکثیر شونده حاوی نوکلئوتید ۷۱۹؛ طول محصول به دست آمده ۳۷۳ باز می‌باشد.

محصول ۳۷۳ بازی به‌دست آمده مجدداً تحت فرآیند برش آنزیمی با آنزیم ACCI قرار گرفت، آلل‌های دارای جهش دو قطعه ۲۸۳ و ۹۰ بازی داشته و آلل‌های سالم فاقد نقطه اثر برای آنزیم مزبور بودند و تحت اثرآنزیم مورد برش قرار نگرفتند (تصویر ۴)(۱۴).



تصویر ۴: الگوهای الکتروفورز برای باندهای ژن TPMT که ضمن تکنیک‌های ARMS,PCR-RFLP تکثیر شده و روی ژل ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفته‌اند، تصویر سمت چپ قطعات ۲۵۴ بازی را نشان می‌دهد که مستقیماً و بدون برش روی ژل برده می شوند. تصویر وسط قطعات برش نخورده ۶۹۴ بازی را نشان می‌دهد که پس از برش قطعات مربوط به آلل های جهش یافته ، دو قطعه ۲۸۳ و ۹۰ بازی بدست می‌آید.

نمونه‌های با یک آلل جهش‌یافته (TPMT*1/*2، TPMT*1/*3C، TPMT*1/*3B، TPMT*1/*3A) هتروزیگوت و نمونه‌های با دو آلل جهش‌یافته (TPMT*2/*3C، TPMT*2/*3B، TPMT*2/*3A،

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-09-26]

TPMT*3C*3B) هموزیگوت نام‌گذاری می‌شوند. نمونه‌هایی که هر دو موتاسیون A719G و G460A را دارند، آلل TPMT*3A نامیده می‌شوند.

یافته‌ها

ژنوتایپ های TPMT برای همهٔ موارد با روش‌های PCR تعیین شده‌اند (TPMT*2، TPMT*3A، TPMT*3B، TPMT*3C). از بین ۱۲۷ نمونه‌ای که بررسی شد ۱۵ مورد دارای آلل جهش‌یافته بودند (۱۱/۸ درصد) افرادی که هیچ‌کدام از آلل‌های جهش‌یافته را نداشته باشند، TPMT*1 نام دارند که ۱۱۲ مورد از نمونه‌های بررسی‌شده به این گروه تعلق داشته‌اند. در کل ۸ مورد آلل جهش‌یافته TPMT*2 به‌صورت هتروزیگوت و ۱ مورد به‌صورت هموزیگوت مشاهده شد. تعداد نمونه‌های هتروزیگوت برای TPMT*3، ۴ مورد بود و افرادی که هر دو موتاسیون مرتبط با پلی‌مورفیسم‌های *3C,*3B را داشته‌اند، ۲ مورد بود که این‌ها را به اختصار *3A می‌نامند. این در حالی بود که هیچ موردی از TPMT *3B مشاهده نشد. فرکانس‌های آللی انواع TPMT در جمعیت مورد بررسی در جدول ۲ فهرست شده است.

جدول ۲: فرکانس‌های آللی انواع TPMT در یک نمونه از جمعیت ایرانی

آلل	تعداد	درصد آلل
TPMT* 1	۲۳۸	۹۳/۷۰
TPMT* 2	۱۰	۳/۹۳
TPMT*3A	۲	۰/۷۸
TPMT* 3B	۰	۰
TPMT* 3C	۴	۱/۵۷
تعداد آلل‌های جهش یافته	۱۶	۶/۲۹
تعداد آلل‌ها	۲۵۴	۱۰۰

بحث

یکی از بهترین مثال‌های کاربرد یافته‌های فارماکوژنتیک، استفاده از پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی مرتبط با آنزیم TPMT در برنامه‌ریزی درمانی فردی در بیماران مبتلا به ALL می‌باشد. درجه بالایی از ارتباط بین ژنوتایپ TPMT و فنوتایپ آن در جمعیت‌ها وجود دارد (۱۳ و ۱۵). می‌توان جهت تشخیص فقر فعالیت آنزیمی TPMT از هر دو روش تعیین ژنوتایپ و نیز اندازه‌گیری آنزیمی استفاده کرد (۱۶). ژنوتایپ و فنوتایپ TPMT را می‌توان بدین‌ترتیب تخمین زد. اما بنا بر تحقیقات به عمل آمده، بررسی‌های ژنوتایپی در تعیین سطوح واقعی فعالیت TPMT دقیق‌تر هستند. آنزیم TPMT در بیماران هتروزیگوت فعالیت متوسط داشته و در بیماران هموزیگوت نیز فعالیت بسیار کمی نشان می‌دهند. اگر چه حالات متغیری بین گروه‌های مختلف گزارش می‌شود (۲ و ۳). افرادی که پلی‌مورفیسم‌های ژن TPMT را به ارث می‌برند، زمانی که با دوزهای استاندارد مرکاپتوپورین درمان شوند، با خطر بیشتری مبتلا به سرکوب سلول‌های رده‌های خون‌ساز مغز استخوان خواهند شد. اکثریت این بیماران تنها پس از ابتلا به عوارض درمان دارویی شناخته می‌شوند. از طرف دیگر بررسی فعالیت TPMT به طور روتین در دسترس نیست و همچنین در بیماران با تشخیص ALL با توجه به ترانسفیوژن‌های متعدد نمی‌توان اعتقاد داشت که بررسی فعالیت آنزیم TPMT بدرستی نشان‌دهنده ژنوتایپ باشد. بنابراین به نظر می‌رسد، روش‌های مبتنی بر PCR ژنوتایپ‌های مختلف TPMT قبل از آغاز درمان با داروهای تیوپورینی، می‌تواند بسیار کمک‌کننده باشد. همان امری که امروزه به‌طور رایج برای آنزیم‌هایی نظیر دبریسوکوئین

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-09-26]

هیدروکسیلاز و N- استیل ترانسفراز انجام می‌شود (۱۷). مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که شیوع کلی آلل‌های TPMT در جمعیت‌های ایرانی ۶/۳ درصد می‌باشد. این شیوع اندک بیان‌کنندهٔ توزیع نرمال فعالیت TPMT در این جمعیت است.

آلل‌های TPMT*2/*3 در جمعیت‌های اروپایی گاهی اوقات شیوع نسبتاً بالایی نشان می‌دهد (۷) TPMT*2 در ایران، همچون جمعیت‌های ترکیه و برزیل نیز شایع‌ترین موتاسیون می‌باشد (۱۸ و ۱۹). همین‌طور به نظر می‌رسد TPMT*3A شایع‌ترین نوع در آمریکا باشد (۷ و ۱۹). در جمعیت ژاپن تنها آلل گزارش شده نوع TPMT*3C می‌باشد (۱۴). کشورهای آسیایی جنوب‌شرق نیز از الگوی ژاپن تبعیت می‌کنند (۲۱). نکته جالب در نتایج این طرح وفور بالای موتاسیون TPMT*2 در جمعیت ایران بود. این موتاسیون در جمعیت‌های اکثر مناطق به نسبت کم و نادر است (۱۱ و ۱۲). آلل TPMT*3C با شیوع یک درصد قبلاً در جمعیت‌هایی نظیر آمریکا، آسیا، آفریقا (کنیا و غنا) گزارش شده است (۷، ۱۱، ۱۲، ۲۱ و ۲۲) و در پایان، نادرترین آلل TPMT*D می‌باشد که در جمعیت مورد بررسی مشاهده نشد (۷، ۱۱ و ۱۳). البته لازم به ذکر است که بررسی تمام آلل‌های شناخته‌شده این ژن در مطالعات آینده و در جمعیتی بزرگتر، می‌تواند آمار دقیقتری برای استفاده در بالین در اختیار پزشکان قرار دهد. می‌توان جهت بررسی سطوح فعالیت آنزیم از روش‌های دیگری نیز استفاده کرد. در مطالعه حاضر ۴ آلل شایع TPMT مورد بررسی قرار گرفت.

با توجه به نتایج این تحقیق به‌نظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم‌های شایع در ژن TPMT در جامعه ایرانی وجود داشته و از پراکندگی همانند بسیاری از کشورهای دنیا برخوردار می‌باشند. با توجه به این‌که در مصرف داروهای تیوپورینی چنانچه در آنزیم متابولیزه کنندهٔ داروهای فوق نقص داشته باشند، متابولیت‌های توکسیک ناشی از این داروها رده‌های خون‌ساز مغز استخوان را سرکوب کرده و حتی مواردی از مرگ نیز گزارش شده است. در چنین شرایطی به‌نظر می‌رسد استفاده از تشخیص قبل از درمان پلی‌مورفیسم‌های ژن TPMT بتواند در کاهش عوارض درمان و استفاده از بهترین دوز درمانی با کمترین عارضه سمّی بسیار کمک‌کننده باشد.

References:

1. Evans WE. Pharmacogenetics of thiopurine S-methyltransferase and thiopurine therapy. Ther Drug Monit 2004;26:186-91.
2. Relling MV, Hancock ML, Rivera GK, et al. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. J Natl Cancer Inst 1999;91:2001-8.
3. McLeod HL, Pritchard SC, Githang'a J, et al. Ethnic differences in thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: evidence for allele specificity in Caucasian and Kenyan individuals. Pharmacogenetics 1999;9:773-6.
4. Evans WE, Hon YY, Bomgaars L, Coutre S, Holdsworth M, Janco R, et al. Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. J Clin Oncol 2001;19:2293-301.
5. McLeod HL, Siva C. The thiopurine S-methyltransferase gene locus -- implications for clinical pharmacogenomics. Pharmacogenomics 2002;3:89-98.
6. Tai HL, Krynetski EY, Schuetz EG, et al. Enhanced proteolysis of thiopurine S-methyltransferase (TPMT) encoded by mutant alleles in humans (TPMT*3A, TPMT*2): mechanisms for the genetic polymorphism of TPMT activity. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94:6444-9.
7. Otterness DM, Szumlanski CL, Wood TC, et al. Human thiopurine methyltransferase pharmacogenetics. Kindred with a terminal exon splice junction mutation that results in loss of activity. J Clin Invest 1998;101:1036-44.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-09-26]

8. Schwab M, Schaffeler E, Marx C, et al. Azathioprine therapy and adverse drug reactions in patients with inflammatory bowel disease: impact of thiopurine S-methyltransferase polymorphism .Pharmacogenetics 2002;12:429-36.
9. Hon YY, Fessing MY, Pui CH, et al. Polymorphism of the thiopurine S-methyltransferase gene in African-Americans. Hum Mol Genet 1999;8:371-6.
10. Spire-Vayron de la Moureyre C, Debuysere H, Sabbagh N, et al. Detection of known and new mutations in the thiopurine S-methyltransferase gene by single-strand conformation polymorphism analysis. Hum Mutat 1998;12:177-85.
11. Collie-Duguid ES, Pritchard SC, Powrie RH, et al. The frequency and distribution of thiopurine methyltransferase alleles in Caucasian and Asian populations. Pharmacogenetics 1999;9:37-42.
12. Ameyaw MM, Collie-Duguid ES, Powrie RH, et al. Thiopurine methyltransferase alleles in British and Ghanaian populations. Hum Mol Genet 1999;8:367-70.
13. Yates CR, Krynetski EY, Loennechen T, et al. Molecular diagnosis of thiopurine S-methyltransferase deficiency: genetic basis for azathioprine and mercaptopurine intolerance. Ann Intern Med 1997;126:608-14.
14. Hiratsuka M, Inoue T, Omori F, et al. Genetic analysis of thiopurine methyltransferase polymorphism in a Japanese population. Mutat Res 2000;448:91-5.
15. Rossi AM, Bianchi M, Guarnieri C, et al. Genotype-phenotype correlation for thiopurine S-methyltransferase in healthy Italian subjects. Eur J Clin Pharmacol 2001;57:51-4.
16. Zhang JP, Guan YY, Wu JH, et al. Phenotyping and genotyping study of thiopurine S-methyltransferase in healthy Chinese children: a comparison of Han and Yao ethnic groups. Br J Clin Pharmacol 2004;58:163-8.
17. Krynetski EY, Schuetz JD, Galpin AJ, et al. A single point mutation leading to loss of catalytic activity in human thiopurine S-methyltransferase. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:949-53.
18. Boson WL, Romano-Silva MA, Correa H, et al. Thiopurine methyltransferase polymorphisms in a Brazilian population. Pharmacogenomics 2003;3:178-82.
19. Tumer TB, Ulusoy G, Adali O, et al. The low frequency of defective TPMT alleles in Turkish population: A study on pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. Am J Hematol 2007;82:906-10.
20. Ganiere-Monteil C, Medard Y, Lejus C, et al. Phenotype and genotype for thiopurine methyltransferase activity in the French Caucasian population: impact of age. Eur J Clin Pharmacol 2004;60:89-96.
21. Chang JG, Lee LS, Chen CM, et al. Molecular analysis of thiopurine S-methyltransferase alleles in South-east Asian populations. Pharmacogenetics 2002;12:191-5.
22. Loennechen T, Utsi E, Hartz I, et al. Detection of one single mutation predicts thiopurine S-methyltransferase activity in a population of Saami in northern Norway. Clin Pharmacol Ther 2001;70:183-8.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-09-26]