خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۴ شماره ۲ تابستان ۹۶ (۱۱۷-۱۰۹)

مقاله پژوهشی

جهش‌های مختلف در بتا تالاسمی در استان‌های چهار محال بختیاری و اصفهان و ارتباط آن با پارامترهای خونی

احسان حیدری سورشجانی[۱]، صادق ولیان[۲]، سیده فاطمه میر احمدی باباحیدری[۳]، فروغ عباسیان[۴]

چکیده

سابقه و هدف

تنوع فنوتیپی قابل توجهی از بتا تالاسمی وجود دارد که شناخت جهش‌های شایع آن، پیشگیری از سندرم‌های خاص تالاسمی را تسهیل می‌کند. هدف از انجام مطالعه، تعیین جهش‌های شایع بتا تالاسمی در استان چهارمحال و بختیاری و اصفهان و ارتباط آن با پارامترهای خونی بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی، از ۳۲۱ نفر از ناقلین به بیماری بتا تالاسمی مراجعه‌کننده به مرکز خصوصی ژنتیک پزشکی اصفهان در سال ۱۳۹۴، نمونه خون وریدی گرفته شد و جهت قطعیت بیماری بتا تالاسمی در این افراد، شاخص‌های خونی MCV و MCH با دستگاه Mindary و هم‌چنین HbA1، HbA2، HbF و RBC با روش الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها توسط آزمون‌های کای‌دو و t و SPSS ۲۲ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

جهش Fr36/37(-T) در جمعیت مورد بررسی استان چهار محال و بختیاری و اصفهان به ترتیب با فراوانی ۳۴ (۲۶/۳۵٪) و ۲۲ (۳۲/۳۵٪) بیشترین فراوانی را در بین جهش‌های مورد بررسی داشتند و جهش‌های مورد بررسی بیشترین ارتباط را با شاخص‌های خونی HbA2 وMCV نشان دادند. در حدود ۸۰٪ موارد جهش در ژن بتاگلوبین در افراد دارای HbA2> ۳/۵ و در ۱۰۰٪ موارد دارای MCH< ۲۷ و MCV< ۸۰ قابل تشخیص می‌باشد.

نتیجه گیری

جهش بتا تالاسمی در جمعیت استان‌های چهار محال و بختیاری و اصفهان، تنوع و توزیع گسترده دارد. میانگین جهش‌های مورد بررسی بر اساس شاخص‌های خونی بسیار متفاوت بود. در مجموع نتایج، ارتباط مثبتی بین موتاسیون‌های بتا تالاسمی و شاخص‌های گلبول‌های قرمز نشان دادند که می‌تواند در غربالگری سریع و کارآمد این موتاسیون‌های شایع، مؤثر باشد.

کلمات کلیدی: بتا تالاسمی، پارامترهای خونی، جهش، شیوع

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۷
تاریخ پذیرش: ۹۶/ ۱/۲۹

۱- کارشناس ارشد ژنتیک ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای انتقال خون شهرکرد ـ شهرکرد ـ ایران
۲- دکترای ژنتیک ـ استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ـ اصفهان ـ ایران
۳- کارشناس ارشد بیوشیمی ـ دانشکده علوم پایه واحد شهرکرد دانشگاه آزاد اسلامی ـ شهرکرد ـ ایران
۴- مؤلف مسئول: کارشناس ارشد بیوشیمی ـ دانشکده علوم پایه ـ واحد شهرکرد ـ دانشگاه آزاد اسلامی ـ شهرکرد ـ ایران ـ کد پستی: ۸۸۱۴۶۱۴۴۵۵

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-04]

مقدمه

تالاسمی شایع‌ترین اختلال تک ژنی انسان در جهان است. این بیماری به علت اختلال در ساخت یا پایداری زنجیره‌های α یا β ایجاد می‌شود که به ترتیب آلفا تالاسمی و بتا تالاسمی نامیده می‌شود. عدم تعادل در نسبت زنجیره‌های α و β ، اساس فیزیولوژی بیماری است(۲، ۱). بتاتالاسمی یک بیماری اتوزوم مغلوب است. در حال حاضر شیوع بالای آن در جمعیت‌هایی در مدیترانه، غرب میانه، قفقاز، آسیای مرکزی، شبه قاره هند و شرق دور وجود دارد(۴، ۳). زنجیره‌های گلوبین از روی دو خوشه ژنی(α-like و β-like) متفاوت رمزدهی می‌شوند. خوشه ژنی α-like در ناحیه p13.3 بر روی کروموزوم ۱۶ و خوشه ژنی β-like در ناحیه p15.5 بر روی کروموزوم ۱۱ قرار دارد(۲). در حال حاضر بیش از ۱۷۰ نوع مختلف از بتاتالاسمی شناسایی شده است که اکثراً جهش‌های نقطه‌ای یا حذف یا درج فقط در یک یا دو نوکلئوتید دارند(۷–۵). آزمون عمومی آزمایش خونی مورد نیاز، اندازه‌گیری حجم متوسط گلبول قرمز(MCV)، مقدار متوسط هموگلوبین در هر گلبول قرمز(MCH) و مقدار هموگلوبین A2 (HbA2) و هموگلوبین F (HbF) است. علاوه بر این، الگوی هموگلوبین نیاز به بررسی دارد و به طور سنتی، روش الکتروفورز برای این منظور استفاده می‌شود. با این حال اگر کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) برای شناسایی سطح کمی HbA2 و HbF استفاده شود، برای شناسایی انواع هموگلوبین بالینی مانند هموگلوبین S (HbS)، هموگلوبین C (HbC)، هموگلوبین D–پنجاب، هموگلوبین Arab-O و هموگلوبین E (HbE) در هر زمان استفاده می‌شود. آزمایش تالاسمی معمولاً برای افراد حامل وقتی است که MCH<27pg باشد، هر چند در موارد بسیار نادری ممکن است افراد تالاسمی دارای MCH طبیعی به دلیل یک جهش بتا تالاسمی خاموش و یا به ارث رسیدن مشترک تالاسمی آلفا و بتا باشند. روش MCH برای تشخیص تالاسمی از MCV قابل اطمینان‌تر است. در نمونه‌های بیشتر از ۲۴ ساعت، شاخص سلول‌های قرمز می‌تواند گمراه‌کننده باشد(۷). وقتی MCH زیر pg ۲۷ و HbA2 بالاتر از ۳/۵٪ باشد، تشخیص هتروزیگوت بتا تالاسمی است. اکثر ناقلین بتا تالاسمی با جهش β^{0} یا چندین نوع جهش β^{+} توسط کاهش قابل توجهی در MCH (۲۳–۹ pg) و افزایش سطح HbA2 در طیف وسیعی از ۶٪–۴٪ مشخص می‌شود. دومین ویژگی فنوتیپ افراد بتا تالاسمی، یک افزایش در سطح HbF (۳٪–۱٪) در حدود ۳۰٪ است. با این حال برخی از ناقلین بتاتالاسمی میزان HbA2 و سطح هموگلوبین متغیری از ۳/۱۵٪ را نشان می‌دهند. از نظر مولکولی در چندین مورد حذف‌های بزرگی در ناحیه ′۵ پروموتور ژن β گلوبین مشاهده شده است. وقتی MCH زیر pg ۲۷، HbA2 زیر ۳/۵٪ و سطح HbF طبیعی باشد، ممکن است به علت کمبود آلل($\beta\delta\gamma\varepsilon^{0}$) و یا افرادی با تالاسمی β و δ یا β تالاسمی خفیف یا صفت بتا تالاسمی با HbA2 طبیعی باشند. در موارد نادری که در آن MCH پایین و سطح HbA2 طبیعی یا کاهش یافته در ترکیب با افزایش در سطح HbF در حدود ۳۰٪–۲٪، تشخیص صفت βδ تالاسمی یا هموگلوبین جنینی ارثی پایدار(HPFH) مشکوک می‌باشد. زمانی که HbA2 و MCH طبیعی باشد، این فنوتیپ ناشی از خاموش شدن یک آلل از آلل افرادی با فنوتیپ β تالاسمی است(۹، ۸). از آن جا که جمعیت ایران چند قومی می‌باشد، توزیع جهش‌های مختلف بتا تالاسمی در مناطق مختلف کشور متفاوت است و طبق نتایج به دست آمده در تحقیقات، جمعاً ۲۸ جهش در بیماران تالاسمی ماژور یافت شده که نشانگر یک جمعیت ناهمگن می‌باشد. البته بسته به نوع روش تعیین جهش، بین ۴ تا ۱۷ نوع جهش در بیماران تالاسمی ماژور و اینترمدیا در ایران گزارش شده است. تعیین دقیق فنوتیپ حامل بتا تالاسمی برای انتخاب آزمون مولکولی مناسب برای تعیین ژنوتیپ حامل ضروری است. علاوه بر میزان شیوع، جهش‌های شایع در هر منطقه با منطقه دیگر متفاوت است. با توجه به این که ایران کشوری پر جمعیت و چند قومیتی است، بررسی براساس منطقه جغرافیایی امری ضروری است(۱۰–۸). از این رو تعیین ارتباط شاخص‌های گلبول‌های قرمز با موتاسیون‌های مؤثر در تالاسمی بتا در جمعیت استان‌های چهار محال و بختیاری و اصفهان هدف اصلی این تحقیق بود. بررسی این ارتباط می‌تواند در تشخیص مولکولی بیماری بتا تالاسمی در این جمعیت

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-04]

مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه توصیفی ـ تحلیلی بود که در سال ۱۳۹۴ در مرکز خصوصی ژنتیک پزشکی اصفهان به انجام رسید. این بررسی بر روی ۳۲۱ فرد مراجعه‌کننده به مرکز ژنتیک پزشکی اصفهان انجام شد که از این تعداد ۱۴۶ فرد از استان اصفهان و ۱۷۵ فرد از استان چهارمحال و بختیاری بودند. از کلیه نمونه‌ها رضایت‌نامه کتبی گرفته شد و در پرونده درج گردید. با توجه به Cut off تعریف شده کشوری(MCH< ۲۷ pg ، MCV< ۸۰ fL)، افراد با اندکس‌های غیر طبیعی MCV یا MCH و یا HbA2 طبیعی به عنوان افراد مشکوک به آلفا و یا بتاتالاسمی محسوب می‌شوند و جهت تشخیص قطعی‌مورد بررسی مولکولی قرار می‌گیرند(۱۱). ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی افراد مشکوک به تالاسمی از افراد مراجعه‌کننده به مرکز ژنتیک پزشکی اصفهان را در لوله حاوی EDTA ریخته و پس از ثبت اطلاعات افراد بر روی آن تا زمان آزمایش در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش اندازه‌گیری پارامترهای هماتولوژی نمونه‌های مورد بررسی:

آزمایش CBC حداکثر در مدت ۲ ساعت پس از نمونه‌گیری توسط دستگاه Mindray-bc-6800 انجام گرفت. هم زمان یک اسمیر خون محیطی تهیه و پس از رنگ‌آمیزی با رایت-گیمسا، مورفولوژی سلول‌های خونی و نتایج بررسی و تایید شد. پس از آن، لوله حاوی نمونه خون سانتریفوژ شده و پلاسمای آن جدا و در فریزر تا زمان انجام آزمایش فریتین نگهداری شد. لازم به ذکر است که اندازه‌گیری فریتین در افرادی که هموگلوبین A2 آن‌ها در محدوده طبیعی بوده و احتمال تاثیر فقر آهن بر کاهش آن وجود داشت، انجام شد. از گلبول‌های قرمز ته نشین شده نیز همولیزات تهیه شده و تا زمان انجام الکتروفورز در فریزر نگهداری شد. الکتروفورز هموگلوبین جهت اندازه‌گیری HbA1 ، HbA2 و HbF با دستگاه Sebia Capilary Electrophoresis در PH=۸/۶ پس از جداسازی باندهای هموگلوبین و شفاف‌سازی آن‌ها، اسکن شد.

تعیین موتاسیون:

استخراج DNA ژنومی از خون، از طریق کیت شرکت سیناژن طبق دستورالعمل انجام شد و سپس برای اطمینان از میزان خلوص نمونه‌ها از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ استفاده شد. واکنش ARMS-PCR برای شناسایی جهش بتا (+G)Fr8/9، (-T)Fr36/37 ، (G>A)IvsII-1، (T>C)IvsI-6، (G>C)IvsI-5، (G>A)IvsI-110، IVSI-1-25base del، (C-->T)-101، (C>T)-۸۸، C44 (-C)، C5 (-CT) و C39 (G>T) با دو جفت آغازگر اختصاصی(یک جفت آغازگر برای شناسایی توالی جهش یافته و یک جفت آغازگر دیگر برای شناسایی توالی طبیعی) تحت شرایط بهینه‌سازی شده، انجام شد(۷).

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. PCR شامل بافر X ۱۰ و ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم به همراه ۲۰ پیکومول از هر یک از dNTP (dTTP ، dGTP ، dCTP و dATP) و یک واحد آنزیم Taq-DNA پلی‌مراز(سیناژن – ایران) و آب مقطر بود. در انتها به هر واکنش، DNA نمونه اضافه می‌شد. تکثیر ژن توسط دستگاه ترموسایکلر برای ۳۱ دور انجام شد. هر چرخه شامل ۳ حرارت مختلف ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۳۵ ثانیه، ۵۹ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۲ دقیقه بود. برای واسرشت‌سازی اولیه، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای یک دور قرار داده می‌شدند و در انتها نیز نمونه ها برای یک دور به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفتند.

در روش ARMS-PCR ، آغازگر جهش یافته و آغازگر طبیعی به طور جداگانه در تیوپ‌های جدا ریخته و PCR به طور جداگانه انجام می‌شد. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز شده و سپس توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند و از نظر وجود یا عدم وجود جهش مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج:

اندکس‌های گلبول‌های قرمز و نوع موتاسیون یافت شده

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-04]

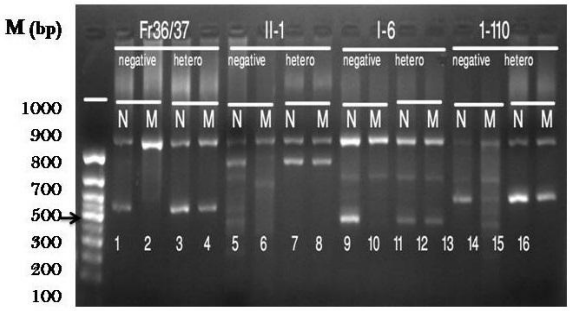
در جداولی طبقه‌بندی گردید و سپس نتایج آزمایش‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS ۲۲ و با Chi square و T test تجزیه و تحلیل آماری شدند.

یافته‌ها

تکثیر قطعه مورد نظر از DNA ژنومی استخراج شده به کمک ARMS-PCR:

به منظور تکثیر قطعه مورد نظر، PCR با آغازگر اختصاصی برای شناسایی جهش بتا Fr8/9 (+G) ، Fr36/37 (-T)، IvsII-1(G>A)، IvsI-6 (T>C)، IvsI-5 (G>C)، IvsI-110 (G>A)، IVSI-1-25base del (C-->T)، -101 (C>T)، C44 (-C) ، C5 (-CT) و C39 (G>T) تحت شرایط بهینه‌سازی شده انجام شد.

بر اساس نوع جهش و مارکرهای مورد بررسی، الگوهایی از باندهای مورد نظر مشاهده گردید. شکل ۱ نمونه‌ای از نتیجه ARMS-PCR با آغازگرهای طراحی شده برای جهش های مورد بررسی است که حضور آلل موتانت را نشان می‌دهد. تمام نمونه‌ها حاوی یک گروه کنترل داخلی است.



شکل ۱ : نتایج حاصل از الکتروفورز بررسی Fr36/37 (-T) ، IVSII-1 (G>T) ، IVSI-6 (T>C) و IVSI-110 (G>A) بتاگلوبین. محصولات ARMS-PCR بر روی ژل آگارز ۱٪. نمونه‌های ۱ و ۲، ۵ و ۶ ، ۹ و ۱۰، ۱۴ و ۱۵ نمونه‌های کنترل منفی و نمونه‌های ۳ و ۴، ۷ و ۸ ، ۱۱ و ۱۲، ۱۵ و ۱۶ نمونه‌های موتاسیون هتروزیگوت می‌باشند، M: مارکر bp ۱۰۰.

نمونه‌های ۱ و ۲، ۵ و ۶، ۹ و ۱۰، ۱۴ و ۱۵ شامل محصول تکثیر یافته آغازگر طبیعی است، اما فاقد آغازگر جهش یافته است. از این رو دلالت بر یک فرد عادی دارد. نمونه‌های ۳ و ۴، ۷ و ۸ ، ۱۱ و ۱۲، ۱۵ و ۱۶ شامل محصول تکثیر یافته با استفاده از آغازگرهای سالم و جهش یافته است.

فراوانی موتاسیون‌های بتاتالاسمی در جمعیت چهار محال و بختیاری و اصفهان:

پس از تعیین جهش‌های افراد، نتایج به دست آمده با نرم‌افزار SPSS۲۲ مورد بررسی قرار گرفت(جدول ۱). جهش مربوط به Fr36/37(-T) در استان چهار محال بختیاری و اصفهان به ترتیب با فراوانی ۳۴ و ۲۲ بیشترین فراوانی را در جامعه آماری مورد مطالعه داشتند.

جدول ۱: فراوانی(درصد) جهش بتا در استان‌های چهار محال و بختیاری و اصفهان

فراوانی / جهش	چهار محال و بختیاری (درصد)	اصفهان (درصد)
Fr36/37 (-T)	۳۴ (۲۶/۳۵)	۲۲ (۳۲/۳۵)
IvsII-1 (G>A)	۲۰ (۱۵/۵۰)	۱۶ (۲۳/۵۲)
C44 (-C)	۱۳ (۱۰/۰۷)	۲ (۲/۹۴)
C5 (-CT)	۱۳ (۱۰/۰۷)	۲ (۲/۹۴)
IvsI-6 (T>C)	۲ (۱/۵۵)	۳ (۴/۴۱)
Fr8/9 (+G)	۷ (۵/۴۲)	۶ (۸/۸۲)
-101 (C-->T)	۳ (۲/۳۲)	۲ (۲/۹۴)
IVSI-1-25base del	۳ (۲/۳۲)	۲ (۲/۹۴)
C39 (G>T)	۳ (۲/۳۲)	۴ (۵/۸۸)
IvsI-5 (G>C)	۸ (۶/۲۰)	۷ (۱۰/۲۹)
(C>T)–۸۸	۱ (۰/۷۷)	۲ (۲/۹۴)
IvsI-110 (G>A)	۳ (۲/۳۲)	۴ (۵/۸۸)

نتایج حاصل از جهش بتا مورد مطالعه با پارامترهای خونی:

میانگین پارامترهای بیوشیمیایی نمونه‌های خونی و در فراوانی مقادیر متغیر پارامترهای بیوشیمیایی در استان‌های چهار محال و بختیاری و اصفهان محاسبه و جدول آورده شده است(جداول ۲ و ۳).

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-04]

جدول ۲: میانگین پارامترهای بیوشیمیایی نمونه‌های خونی مورد بررسی در استان‌های چهار محال و بختیاری و اصفهان

پارامترهای خونی / استان	چهار محال و بختیاری	اصفهان	مقادیر نرمال
RBC (Mean ± SD)10^9/L	۵/۸۳ ± ۰/۷۷	۶/۳۳ ± ۶/۲۳	۴/۱۵ تا ۵/۴۹
MCV (Mean ± SD) fL	۶۶/۸۹ ± ۱۰/۴۵	۶۹/۹۰ ± ۹/۴۰	۸۰ تا ۹۸ (بر اساس سن متغیر است)
MCH (Mean ± SD) Pg	۲۱/۹۰ ± ۶/۴۵	۲۳/۰۶ ± ۷/۰۳	۲۷ تا ۳۲ (بر اساس سن متغیر است)
HbA1 (Mean ± SD)	۹۲/۹۵ ± ۱۳/۹۲	۹۱/۸۰ ± ۱۵/۵۴	۹۵
HbA2 (Mean ± SD)	۴/۳۷ ± ۲/۷۲	۴/۰۵ ± ۵/۵۴	۳/۵
HbF (Mean ± SD)	۱ ± ۱/۲۹	۰/۷۶ ± ۰/۷۲	۱

جدول ۳: فراوانی مقادیر متغیر پارامترهای بیوشیمیایی در استان‌های چهار محال و بختیاری و اصفهان

پارامترهای خونی / استان		فراوانی (درصد) مقادیر متغیر پارامترهای بیوشیمیایی در استان چهار محال و بختیاری	فراوانی (درصد) مقادیر متغیر پارامترهای بیوشیمیایی در استان اصفهان
RBC (10^9/L)	< ۴/۵	(۱/۱۴) ۲	(۰/۰) ۰
	۴/۵–۵/۴۹	(۶۱/۷۱) ۱۰۸	(۵۸/۹۰) ۸۶
	> ۵/۴۹	(۳۷/۱۴) ۶۵	(۴۱/۰۹) ۶۰
MCV (fL)	< ۵۰	(۱/۷۱) ۳	(۰/۶۸) ۱
	۵۰–۷۶	(۸۰/۵۷) ۱۴۱	(۸۰/۸۲) ۱۱۸
	> ۷۶	(۱۷/۷۱) ۳۱	(۱۸/۴۹) ۲۷
MCH (Pg)	< ۲۷	(۹۳/۱۴) ۱۶۳	(۹۱/۷۸) ۱۳۴
	۲۷–۳۲	(۵/۷۱) ۱۰	(۷/۵۳) ۱۱
	> ۳۲	(۱/۱۴) ۲	(۰/۶۸) ۱
HbA1	< ۹۵	(۹/۷۱) ۱۷	(۴/۷۹) ۷
	< ۳/۵	(۲۴/۵۷) ۴۳	(۴۳/۸۳) ۶۴
HbA2	۳/۵–۵/۳	(۴۰/۰۰) ۷۰	(۳۹/۷۲) ۵۸
	> ۵/۳	(۳۵/۴۲) ۶۲	(۱۶/۴۳) ۲۴
HbF	> ۱	(۹/۷۱) ۱۷	(۴/۷۹) ۷

نتایج حاصل از جهش بتا مورد مطالعه باشاخص‌های بیوشیمیایی خونی:

شاخص های خونی و میانگین آن‌ها با توجه به نوع جهش در استان‌های چهار محال بختیاری و اصفهان در جدول ۴ ذکر شده است. مطابق این جدول پارامتر خونی MCH کمترین تغییر را در انواع مختلف جهش نشان می‌دهد و در اکثر جهش‌های بتا تالاسمی، مقدار HbA2 بیشتر از حالت طبیعی است.

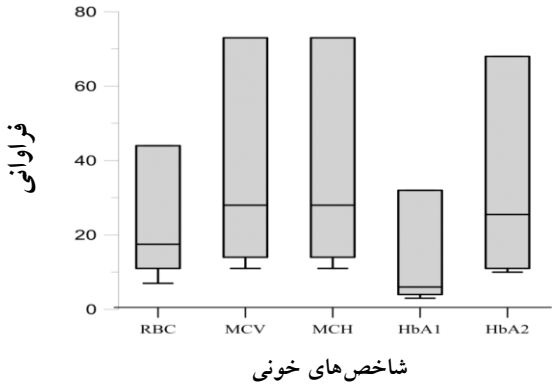
مقدار MCH در بیشتر جهش‌های مورد بررسی کمتر از ۷۶ بود در حالی که در جهش (C-->T) 101- در استان مورد بررسی، بیشتر از این مقدار و حد طبیعی بوده است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-04]

جدول ۴: میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی خون در بیماران بتاتالاسمی بر حسب نوع جهش‌ها در استان چهار محال و بختیاری و اصفهان

موتاسیون	شاخص‌های خونی/استان	HbF	HbA2	HbA1	MCH	RBC	MCV
Fr36/37 (-T)	چهارمحال و بختیاری	۰/۸	۴/۹	۸۹/۵	۲۱/۸	۵/۹	۶۴/۱
	اصفهان	۰/۷	۴/۲	۸۵/۹	۲۵/۴	۱۱/۹	۶۵/۷
IvsII-1 (G>A)	چهارمحال و بختیاری	۲/۲	۴/۹	۹۳/۸	۲۰/۴	۵/۶	۶۵/۸
	اصفهان	۱/۱	۵/۹	۹۲/۲	۲۳/۱	۵/۵	۷۱/۷
C44 (-C)	چهارمحال و بختیاری	۳/۰	۵/۸	۹۰/۷	۱۹/۱	۶/۴	۶۴/۲
	اصفهان	۰/۹	۵/۳	۹۳/۸	۱۹/۴	۵/۴	۵۹/۵
C5 (-CT)	چهارمحال و بختیاری	۱/۵	۵/۳	۹۳/۷	۲۰/۶	۵/۷	۶۶/۲
	اصفهان	۰/۳	۴/۶	۹۷/۲	۲۲/۱	۵/۵	۷۰/۲
IvsI-6 (T>C)	چهارمحال و بختیاری	۰/۸	۵/۲	۹۶/۵	۲۲/۲	۵/۸	۶۸/۷
	اصفهان	۰/۶	۳/۱	۹۶/۴	۲۳/۳	۵/۸	۷۱/۶
Fr8/9 (+G)	چهارمحال و بختیاری	۰/۹	۴/۲	۹۵/۲	۲۲/۴	۵/۸	۷۳/۴
	اصفهان	۰/۷	۳/۷	۸۷/۲	۲۳/۴	۵/۵	۷۰/۹
-101 (C-->T)	چهارمحال و بختیاری	۱/۴	۳/۸	۹۴/۸	۲۴/۳	۵/۴	۷۵/۸
	اصفهان	۰/۸	۵/۰	۵۲/۶	۲۵/۴	۵/۵	۷۷/۲
IVSI-1-25base del	چهارمحال و بختیاری	۰/۵	۴/۰	۹۷/۹	۱۹/۸	۶/۵	۶۳/۱
	اصفهان	۰/۹	۳/۴	۴۹/۹	۲۲/۰	۶/۸	۶۶/۶
C39 (G>T)	چهارمحال و بختیاری	۰/۴	۴/۶	۹۷/۶	۲۱/۳	۵/۹	۶۷/۴
	اصفهان	۰/۷	۴/۴	۹۶/۲	۲۱/۸	۵/۸	۷۹/۸
IvsI-5 (G>C)	چهارمحال و بختیاری	۰/۶	۴/۹	۹۵/۱	۲۱/۰	۶/۲	۶۶/۴
	اصفهان	۰/۷	۲/۸	۹۶/۷	۲۵/۹	۶/۰	۶۹/۱
(C>T)–۸۸	چهارمحال و بختیاری	۰/۵	۲/۸	۹۶/۷	۲۵/۶	۶/۵	۷۷/۸
	اصفهان	۰/۵	۳/۵	۹۷/۵	۲۳/۲	۵/۱	۷۳/۲
IvsI-110 (G>A)	چهارمحال و بختیاری	۰/۹	۴/۴	۹۴/۸	۲۲/۱	۶/۹	۶۹/۲
	اصفهان	۰/۶	۲/۹	۹۶/۶	۲۳/۴	۶/۰	۷۲/۶

نمودار ۱ توزیع پراکندگی فراوانی جهش‌های مورد بررسی بر پارامترهای خونی را نشان می‌دهد، مطابق آن بیشترین پراکندگی بر پارامتر خونی HbA1 وجود دارد و داده‌ها اگر چه به هم نزدیک هستند ولی از توزیع طبیعی برخوردار نیستند، از طرفی توزیع داده‌ها بر پارامتر خونی HbA2 توزیع طبیعی‌تری دارد. داده‌ها در میانه نمودار جعبه‌ای قرار دارند و می‌توان نتیجه گرفت پارامتر خونی HbA2 بیشترین ارتباط را با جهش‌های مورد بررسی دارد.



نمودار ۱: نمودار توزیع پراکندگی پارامترهای خونی در جهش بتا

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-04]

بحث

در تحقیق حاضر جهش Fr36/37 (-T) با فراوانی ۳۴ (۲۶/۳۵٪) در استان چهار محال بختیاری و با فراوانی ۲۲ (۳۲/۳۵٪) در استان اصفهان شایع‌ترین جهش بود در حالی که در مطالعه محبودی و همکاران که در جنوب ایران بر روی ۱۷ بیمار بتا تالاسمی انجام شد، برخلاف تعداد کم نمونه‌ها به روشنی معلوم شد که جهش‌ها در این منطقه بسیار متنوع بوده و جهش IVSII-1 (G>T) بیشترین فراوانی(۳۷٪) را در بین جهش‌های بتا تالاسمی داشته است(۱۲). دومین جهش شایع در بررسی حاضر جهش IVSII-1 (G>T) با فراوانی ۲۰ (۱۵/۵٪) در استان چهار محال بختیاری و با فراوانی ۱۶ (۲۳/۵٪) در استان اصفهان بود. در مطالعه‌ای دیگری که بر روی ۸۲ بیمار تالاسمی ماژور در ایران صورت گرفته، با استفاده از روش هیبریداسیون معکوس، نمونه‌ها تعیین جهش شده و جهش IVSII-1(G>A) با ۳۷٪ فراوانی شایع‌ترین جهش بوده است. در مطالعه‌ها بر روی مناطق مختلف ایران نشان داده شده که جهش IVSII-1(G>A) با ۳۴٪ فراوان‌ترین جهش در کل کشور بوده است. هم چنین در بررسی‌های پیشین در منطقه جنوب غرب ایران ۶ جهش IVSII-1(G>T)، IVSI-110، IVSI-5، IVSI-1، IVSI-25bPdel و cd36/37(delT) شایع‌ترین جهش‌ها بوده و حدود ۵۰٪ کل جهش‌ها را به خود اختصاص داده است(۱۳). فراوانی جهش IVSII-1(G>A) در ایران از ترکیه هم بالاتر است و این نشان می‌دهد که شاید ایران یکی از نشانه‌های اولیه این جهش بوده است. با این حال این جهش به عنوان جهش مدیترانه‌ای شناخته شده است(۱۳). در بررسی دیگری که بر روی تعیین فراوانی جهش‌های بتا تالاسمی در کشورهای عربی انجام گرفته، به طور کل ۵۲ نوع جهش مختلف در جهان عرب گزارش شده است. برخی از این جهش‌ها مشترک و برخی مختص یک منطقه یا کشور بوده‌اند. تعداد کل جهش‌های یافت شده در هر کشور متغیر بوده و از ۹ جهش در کویت تا ۲۱ جهش در مصر می‌باشد. جهش IVSII-9(G>A) در همه کشورها به جز تونس و الجزیره دیده شده و در کویت (۲۹٪) شایع‌ترین جهش می‌باشد(۱۴). در مطالعه‌ای که بر روی ۵۸ آلل بتا تالاسمی در اسپانیا و با استفاده از روش‌های PCR و بلاتینگ نقطه‌ای و هیبریداسیون با پروب‌های نشان‌دار انجام گرفته، جهش IVSI-11(G>A) سومین جهش غالب با ۸/۵٪ فراوانی بوده است(۱۵). در مورد هموزیگوت یا هتروزیگوت مرکب تالاسمی(°β°β)، روش‌هایی مانند الکتروفورز هموگلوبین و کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا(HPLC)، تنها هموگلوبین F و هموگلوبین A2 را نشان می‌دهد. در این مورد HbA وجود ندارد و برای هموزیگوت β^+ تالاسمی ($\beta^+\beta^+$) یا هتروزیگوت برای °β و β^+ تالاسمی (°β ، β^+) هموگلوبین A همراه با ۹۸٪–۹۵٪ HbF و ۵٪–۲٪ HbA2 حضور دارد(۱۶). در این مطالعه در دو استان مورد بررسی شاخص‌های خونی HbA2 و MCV بیشترین فراوانی را در افراد مورد مطالعه داشتند(جداول ۲ و ۳). بر اساس شاخص خونی نوع جهش مؤثر متفاوت است، برای مثال در شاخص خونی MCV مؤثرترین جهش ۸۸– است، در حالی که در شاخص خونی RBC جهش موثر IVSI -110 است، اما به طور کلی نتایج نشان می‌دهد جهش‌های مورد بررسی در استان چهار محال و بختیاری بر شاخص‌های خونی HbA2 وMCV بیشترین اثر را داشته‌اند که جهش 25del بیشترین ارتباط را با شاخص خونی HbA1 و جهش ۸۸– بیشترین ارتباط را با شاخص خونی MCV دارند (جدول ۴). در استان اصفهان نیز بیشترین میانگین جهش‌ها برای شاخص‌های خونی HbA1 و MCV به دست آمد که جهش‌های C39 و ۸۸– به ترتیب بیشترین اثر را بر این شاخص‌های خونی داشته‌اند(جدول ۴).

شاخص خونی MCV بیشترین ارتباط را با جهش IVSI-110 دارد. در مطالعه مهدیه و همکاران در سال ۱۳۹۳ بر روی پارامترهای خونی در بیماران تالاسمی بر حسب نوع جهش، نشان داده شد که شاخص HbA2 در جهش‌های IVSII-1(GA) ، Codon36-37 ، Codon 82-83 و Fr-8,9 (+G) بالاتر از حد طبیعی و در جهش‌های IVSI-6(T-C) و IVS I-5(G-C) کمتر از ۳/۴ بود. در حالی که شاخص MCV در اکثر جهش‌های مورد بررسی کمتر از مقدار طبیعی بوده در صورتی که فقط در جهش IVS I-5(G-C) مورد بررسی برابر ۷۷ بود (۱۷). در تحقیق زربخش و همکاران در مطالعه‌ای مشابه با انجام روش Multiplex Gap

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-04]

PCR ، حدود ۶۵٪ موارد دارای جهش در ژن آلفا گلوبین در افراد دارای MCV< ۲۷ یا MCH< ۸۰ قابل تشخیص می‌شود(۱۸).

نتیجه‌گیری

یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که جهش Fr36/37 (-T) بتا تالاسمی در جمعیت استان چهار محال و بختیاری و اصفهان بیشترین فراوانی را دارد و جهش‌های مورد بررسی در هر دو استان چهار محال بختیاری و اصفهان، بیشترین ارتباط را با شاخص‌های خونی HbA2 و MCV دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری صمیمانه پرسنل مرکز ژنتیک پزشکی اصفهان در تهیه نمونه و انجام آزمایش‌های مولکولی تشکر فراوان می‌شود.

References:

1- Greer P, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskeva F, Glader B. Wintrobe's Clinical Hematology 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004; p. 1320-52.
2- Christianson A, Streetly A, Darr A. Lessons from thalassemia screening in Iran. BMJ 2004; 329(7475): 1115-7.
3- Galanello R, Cao A. Gene test review. Alpha-thalassemia. Genet Med 2011; 13(2): 83-8.
4- Sahu PK, Pati SS, Mishra SK. Genotype-phenotype correlation of β-thalassemia spectrum of mutations in an Indian population. Hematol Rep 2012; 4(2): e9.
5- Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. Genet Med 2010; 12(2): 61-76.
6- Huang CH, Chang YY, Chen CH, Ko TM. Molecular characterization of a beta-globin gene deletion of 1357 bp in a Taiwanese beta-thalassemia carrier. Hemoglobin 2008; 32(5): 498-504.
7- Old JM. Screening and genetic diagnosis of haemoglobin disorders. Blood Rev 2003; 17(1): 43-53.
8- Hardison RC, Chui DH, Giardine B, Riemer C, Patrinos G, Anagnou N, *et al*. HbVar: A relational database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations at the globin gene server. Hum Mutat 2002; 19(3): 225-33.
9- Rezaei S, Karami Matin B, Hajizadeh M. Comment on: "Economic Burden of Thalassemia Major in Iran, 2015". J Res Health Sci 2016; 16(4): 233-4.
10- Karimi M, Alavian Ghavanini A, Kadivar MR. Regional mapping of the gene frequency of beta thalassemia in Fars province, Iran during 1997-1998. Iran J Med Sci 2000; 25(3-4): 134-7.
11- Bencaiova G, Dapoto K, Zimmermann R, Krafft A. Red blood cell parameters in antenatal nonsickling hemoglobinopathy screening. Int J Womens Health 2015; 7: 379-84.
12- Mahboudi F, Zeinali S, Merat A, Delmaghani S, Mostafavipour K, Moghadam Z, *et al*. The molecular basis of beta thalassemia mutations in Fars province, Iran. Iran J Med Sci 1996; 21: 99-104.
13- Najmabadi H, Karimi Nejad R, Sahebjam S, Pourfarzad F, Teimourian SH, Sahebjam F, *et al*. The beta thalassemia mutation spectrum in the Iranian population. Hemoglobin 2001; 25(3): 285-96.
14- Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG. The hemoglobinopathies. In: Scriver CR. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 4571-636.
15- Jha R, Jha S. Beta thalassemia - a review. Journal of Pathology of Nepal 2014; 4: 663-71.
16- Saki N, Dorgalaleh A, Kashani Khatib Z, Alizadeh S, Rahim F, Galehdari H, *et al*. Prevalence of Co-Inheritance of Alpha-Thalassemia with Beta-Thalassemia and Beta-Hemoglobinopathy in Ahvaz City. J Ardabil Univ Med Sci 2013; 13(3): 287-96. [Article in Farsi]
17- Ameneh S, Aminzadeh M, Pourmoghadam Z, Mahdieh N. Frequency of the Common β-thalassemia Mutations among the Referents of Ilam Health Centers during a Five Year Period. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences 2014; 22(2): 17-23. [Article in Farsi]
18- Zarbakhsh B, Eghbalpour F, Farshadi E, Fallah MS, Karimipoor M, Kaeini Moghadam Z, *et al*. Frequency of alpha thalassemia carriers detected in Tehran pre marriage screening using molecular techniques. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2013; 9(4): 414-21. [Article in Farsi]

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-04]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2017; 14(2): 109-117

Original Article

Prevalence of various mutations in Beta thalassaemia in Province of Chahar Mahal Bakhtiari and Isfahan and its association with haematological parameters

Heidari Soureshjani E.[1,2], Vallian S.[3], Mirahmadi Babaheidari S.F.[4], Abasian F.[4]

[1]Blood Transfusion Research Centre, High institute for Research and Education in transfusion Medicine Tehran, Iran
[2]Shahrekord Regional Blood Transfusion Center, Shahrekord, Iran
[3]School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[4]Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Sahrekord, Iran

Abstract

Background and Objectives

There is considerable phenotypic variation of Beta-thalassemia with common mutations whose understanding would facilitate the prevention of the specific syndromes. The aim of this study was to determine the common Beta-thalassemia mutations in Isfahan and Chaharmahal Bakhtiari province and thier relationship with blood parameters.

Materials and Methods

In this descriptive study, 10 ml venous blood samples were taken from 321 *Beta thalassemia* carriers having referred to the private Isfahan Center of Medical Genetics in 2016. For the confirmation of the diagnosis of *Beta thalassemia* in these patients, the indices of MCV and MCH with Mindary device and HbA1, HbA2, Hbf and RBC with the electrophoresis method were measured. χ^2, t-test and SPSS 22 were used in analyzing data.

Results

Mutation Fr36/37 (-T) in the population studied in Isfahan and Chaharmahal Bakhtiari with the frequency rates of 34 (26.35%) and 22 (32.35%) showed the highest in the studied mutations. About 80% of cases were detectable mutations in the beta globin gene in the people with HbA2 > 3.5 and in 100% of cases with MCH < 27 and MCV < 80.

Conclusions

Beta-thalassemia mutations among Chaharmahal Bakhtiari and Isfahan populations show diversity and wide distribution. Average mutations studied based on blood indices showed a wide variety. The results showed a positive correlation between beta-thalassemia mutations and red blood cells indices which can be effective in fast and efficient screening of these common mutations.

Key words: Beta thalassaemia, Haematological parameters, Mutation, Prevalence

Received: 5 Feb 2017
Accepted: 18 Apr 2017

Correspondence: Abasian F., MSc of Biochemistry. Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University.
Postal Code: 8814614455, Shahrekord, Iran. Tel: (+9838) 3331482; Fax: (+9838) 33335457
E-mail: *m.peymani62@gmail.com*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-04]