خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۷ شماره ۲ تابستان ۹۹ (۱۴۶-۱۴۰)

گزارش مورد

گزارش یک مورد بیمار Hb-Geelong دراستان هرمزگان

میلاد رأفت[۱]، محمد شکاری[۲]، الهام نامجو[۲]، فریبا یزدی[۲]، کیانوش ملک‌زاده[۳]

چکیده

سابقه و هدف

تالاسمی یک نقص ژنتیکی در ساخت زنجیره‌های هموگلوبین است. با شناسایی ناقلین و تشخیص قبل از تولد، می‌توان از بروز بیماری تالاسمی ماژور پیشگیری نمود.

مورد

زوج جوان ساکن بندرعباس، خانم ۲۳ ساله با MCV:63fL; MCH:19; HbA2:3.9 و آقا ۲۵ ساله با HbF:36.4؛ HbA2:2.1 ؛ MCH:32 و MCV:94Fl جهت مشاوره پیش از ازدواج به مرکز ژنتیک و تشخیص پیش از تولد بندرعباس مراجعه نمودند.

نتیجه‌گیری

جهش نادر(CD139 (AAT→GAT ، سبب جایگزینی آسپارتیک اسید به جای آسپاراژین در اسید آمینه ۱۳۹ و بروز نوعی هموگلوبین بنام Hb Geelong می‌گردد. این مورد اولین گزارش Hb-Geelong در ایران می‌باشد به نظر می‌رسد که این جهش بر پایداری مولکول هموگلوبین تاثیر گذاشته، ولیکن پاتولوژیک نبوده و تظاهرات فنوتیپی شبیه به تالاسمی مینور β^+ دارد.

کلمات کلیدی: **بتا تالاسمی، هموگلوبین، تشخیص پیش از تولد**

تاریخ دریافت: ۹۸/۹/۲۶
تاریخ پذیرش: ۹۹/ ۲/ ۸

۱- کارشناس ارشد ژنتیک انسانی ـ دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان ـ بندرعباس ـ ایران
۲- کارشناس ارشد ژنتیک ـ آزمایشگاه ژنتیک و تشخیص پیش از تولد دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان ـ بندرعباس ـ ایران
۳- مؤلف مسئول: دکترای ژنتیک پزشکی ـ آزمایشگاه ژنتیک و تشخیص پیش از تولد دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان ـ بندرعباس ـ ایران ـ صندوق پستی: ۸۶۸۴۸-۷۹۱۹۷

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-31]

مقدمه

تالاسمی، یکی از شایع‌ترین اختلالات خونی و بیماری‌های ژنتیکی است که سرتاسر جهان را درگیر نموده است. بیماری تالاسمی در دو شکل آلفا و بتا بروز می‌کند(۲، ۱). سازمان بهداشت جهانی، تالاسمی را به عنوان شایع‌ترین اختلال مزمن و ژنتیکی در ۶۰ کشور جهان معرفی کرد به طوری که این بیماری در سال، تقریباً زندگی ۱۰۰۰۰ نفر را تحت تاثیر قرار می‌دهد(۳).

کشور ایران نیز از جمله کشورهایی است که بالاترین میزان شیوع را در کرانه‌های دریای خزر و خلیج فارس داراست (۶-۴).

تالاسمی می‌تواند در زنجیره آلفا یا بتاهموگلوبین رخ دهد. شیوع آلفا تالاسمی نادر است اما بتا تالاسمی، شایع‌ترین اختلال تک ژنی اتوزوم مغلوب در سرتاسر جهان است و به علت جهش در ژن بتاگلوبین می‌باشد. بتا تالاسمی در سطح مولکولی بسیار هتروژن است به طوری که تاکنون بیش از۲۰۰ جهش از آن شناسایی شده است(۷).

پراکندگی آلل‌های بتا تالاسمی در جهان تصادفی نیست و هر جمعیت و قومی، آلل‌ها و پراکندگی جهش‌های ویژه خود را دارد که تعداد کمی از جهش‌های شایع با درصد زیاد و تعداد زیادی جهش نادر با درصد کمتری از کل جهش‌های هر جمعیت را شامل می‌شوند(۸).

گزارش مورد

زوج جوانی جهت انجام مشاوره ژنتیک قبل از ازدواج به آزمایشگاه ژنتیک و تشخیص پیش از تولد بندرعباس مراجعه کردند. گزارش CBC و الکتروفورز هموگلوبین خانم (۲۳ ساله متولد و هم چنین ساکن بندرعباس)، دلالت بر فنوتیپ بتا تالاسمی مینور داشت (;MCV:63fL MCH:19; HbA2:3.9). در CBC و الکتروفورز هموگلوبین، آقای ۲۵ ساله متولد کردستان و ساکن بندرعباس، میزان HbA گزارش شده ۵۹/۹٪ از کل هموگلوبین، میزان HbA2 ۲/۱٪ وHbF ۳۶/۴٪ گزارش گردید که نشان‌دهنده وجود سطح غیر طبیعی HbF در این فرد بوده است(جدول ۱).

جدول ۱: اطلاعات هماتولوژیک و الکتروفورز هموگلوبین در خانم و آقا

	RBC	Hb	MCV	MCH	HbA	HbA2	HbF
خانم	۵/۲۶	۱۰/۱	۶۳	۱۹	۹۵/۴	۳/۹	۰/۷
آقا	۳/۹۰	۱۲/۵	۹۴	۳۲	۵۹/۹	۲/۱	۳۶/۴

جدول ۲: آغازگرهای استفاده شده در PCR

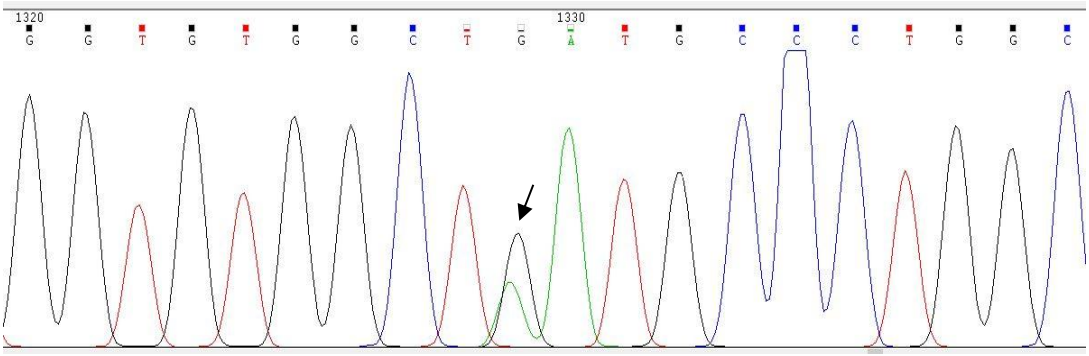
	آغازگرها	توالی آغازگرها(5'→3')
جهت روش توالی‌یابی		
۱	سکانس جلوبرنده	AACTCCTAAGCCAGTGCCAGAAGA
۲	سکانس معکوس	CACTGACCTCCCACATTCCCTTTT
۲	ComD	ACCTCACCCTGTGGAGCCAC
جهت روش ARMS-PCR		
۳	IC-F	GAGTCAAGGCTGAGAGATGCAGGA
۴	IC-R	CAATGTATCATGCCTCTTTGCACC
۵	ComD	ACCTCACCCTGTGGAGCCAC
۶	Mu	AAGAAAACATCAAGGGTCCCATAGACTGAT
۷	Nor	AAGAAAACATCAAGGGTCCCATAGACTGAC

IC: Internal Control; **F**: forward; **R**: reverse; **Seq**: Sequencing; **Mu:** mutation; **Nor**: Normal
ComD: Common-D which is also used as internal primer for sequencing

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-31]

جدول ۳: نتایج آنالیز ژن بتاگلوبین برای هر دو زوج

نمونه	آنالیز مستقیم[1]	توالی یابی[2]
خانم	hetero. IVSI-5(G:C)	-
آقا	no common mutation	hetero. CD139(AAT→GAT)
1- Direct analysis by ARMS-PCR; 2-Sequencing		



شکل ۱: نتایج تجزیه و تحلیل ژن بتا زوجین

استخراج DNA به روش Salting-out و به دنبال آن انجام آزمایش‌هایی جهت تجزیه و تحلیل ساختاری برای تعیین جهش‌های بتا-تالاسمی با روش توالی‌یابی مستقیم (sequencing) برای هر دو زوج انجام گردید(آغازگرهای ۱ تا ۳)(جدول ۲). به دلیل بالا بودن HbF در آقا و با فرض احتمالی حذف بزرگ در خوشه ژنی که منجر به $\delta\beta^0$ و $\gamma\delta\beta^0$ می‌گردد، روش MLPA-β (کیت MRC ، هلند) برای کل خوشه ژنی بتا گلوبین برای آقا نیز انجام گرفت. جهش IVSI-5(G:C) در ژن زنجیره بتا برای خانم یافت شد. با روش ARMS-PCR ، آغازگرهای ۳ تا ۷ تایید شد که خانم حامل جهش شناخته شده IVSI-5(G:C) بوده و بنابراین مینور بتاتالاسمی بوده است(جدول ۲).

نتیجه منفی MLPA-β برای آقا دال بر عدم وجود حذف یا اضافه در خوشه ژنی بتا گلوبین آقا بوده و فرض $\delta\beta^0$ و $\gamma\delta\beta^0$ در آقا رد شد. در سکانس زنجیره ژن بتا آقا، جهش CD139 (AAT→GAT) به طور هتروزیگوت یافت گردید. بر اساس جستجو در وب‌سایت‌ها و پایگاه‌های اطلاعاتی، فقط سه گزارش دیده شد که دلالت بر این داشت که چنین جهشی سبب به وجودآمدن نوعی هموگلوبین کمیاب به نام Hb Geelong می‌گردد(۹)(جدول ۳ و شکل ۱).

بنابراین، CBC و الکتروفورز هموگلوبین آقا توسط آزمایشگاه تشخیصی دیگری تکرار شد و گزارش گردید که در حقیقت ۳۵/۷٪ مربوط به یک واریانت ناشناخته هموگلوبین است که بسیار نزدیک به منطقه HbF تولید پیک می‌کند. نمونه خون والدین آقا به همراه آزمایش‌های CBC و الکتروفورز هموگلوبین آنان درخواست شد. وضعیت CBC و الکتروفورز هموگلوبین پدر آقا بسیار مشابه ایشان بود. جهش CD139 (AAT→GAT) به طور هتروزیگوت توسط روش توالی‌یابی مستقیم در زنجیره ژن بتا پدر آقا یافت گردید.

بحث

در الکتروفورز هموگلوبین نمونه مورد مطالعه، درصد هموگلوبین A از مقدار طبیعی بسیار پایین‌تر بوده(حدود ۵۹٪) و هم‌چنین میزان بالایی HbF (حدود ۳۶٪) و HbA2 در حد طبیعی(۲٪) گزارش شده بود و با توجه به MCV=94fL ، گلبول‌های قرمز در رده نورموسیت قرار می‌گرفتند. بررسی‌های ژنتیکی صورت گرفته، وجود نوعی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-31]

موتاسیون نادر منجر به تولید واریانتی از هموگلوبین بنام Hb Geelong را در این شخص به اثبات رساند. جایگزینی آسپارتیک اسید به جای آسپاراژین در اسید آمینه ۱۳۹، بر پایداری مولکول Hb تاثیر گذاشته و باعث کاهش خفیفی درمیل ترکیبی به اکسیژن و تغییر اثر بور می‌شود ولیکن خواص الکتروفورز این واریانت، شبیه HbA بوده واین جهش هیچ گونه علایم بالینی از قبیل فقر آهن را سبب نمی شود. در حالت هتروزیگوت، CBC و الکتروفورز هموگلوبین، فنوتیپ بارز β^+ از مینور تالاسمی را نشان می‌داد.

تعداد بسیار معدودی گزارش درخصوص هموگلوبین Geelong تاکنون در دنیا وجود داشته است. اولین مورد با Hb Geelong ، توسط کومو و همکاران در سال ۱۹۹۱ در یک زن آلمانی، با فنوتیپ تالاسمی که درآن ژن *Geelong* به عنوان یک ژن تالاسمی از آزمایش‌های هماتولوژیک و بیوسنتز گلوبین حاصل شد(۹). در یک مورد دیگر هارانو و همکاران در سال ۱۹۹۷ در یک مرد در ژاپن، Hb Geelong را گزارش کردند(۱۰). باقی‌مانده اسید آمینه Asn در زنجیره β139 در ارتباط با حفره مرکزی(central cavity) مولکول Hb در نزدیکی پاکت 2,3 DPG قرار دارد و در تماس با β82Lys است که به 2,3 DPG و β134Val متصل می‌شود. از آن‌جا که کاهش تمایل به اکسیژن در گونه‌های خاص Hb به تعداد بارهای منفی در حفره مرکزی مربوط می‌شود، این امکان وجود دارد که جایگزینی در این جایگاه بتواند بر پایداری مولکول Hb در حالت داکسیژنه تأثیر بگذارد و میل اکسیژن و اثر بور را تغییر دهد. از هموگلوبین‌های غیر طبیعی در زنجیره β در مکان اسیدآمینه ۱۳۹(β139) می‌توان به Hb-Hinsdale [β139(H17)Asn→Lys] و Hb-Sagami [β139(H17)Asn→Thr] اشاره کرد که دارای بار مثبت در حفره مرکزی می‌باشند و در نتیجه با کاهش تمایل به اکسیژن و کاهش همکاری(cooperativity) همراه هستند در حالی که Hb-Aurora [β139(H17)Asn→Tyr] با یک جایگزینی خنثی باعث افزایش تمایل Hb به اکسیژن می‌شود(۱۳-۱۱).

جایگزینی آسپاراتیک اسید با بار منفی به جای اسید آمینه آسپاراژین با بار خنثی در اسید آمینه 139 در Hb Geelong ، هم بر پایداری مولکول Hb درحالت غیر اشباع شده تأثیر می‌گذارد و هم باعث کاهش خفیف وابستگی به اکسیژن و تغییر اثر بور می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد که عوامل دیگری نیز باید به تعادل مولکول‌های غیراشباع شده و اکسیداسیون Hb مرتبط باشند(۱۰). خواص الکتروفورز HbA و Hb Geelong در استات سلولز در هر دو حالت اسیدی و قلیایی مشابه است. به همین دلیل پیک این Hb-Geelong در الکتروفورز مشاهده نمی‌گردد. از سوی دیگر به طور کلی ساخت زنجیره β از آلل ایجادکننده واریانت، کاهش یافته و با توجه به تخریب پس از رونویسی واریانت هموگلوبین، سطح Hb Geelong در خون فرد هتروزیگوت بسیار کاهش می‌یابد(۹).

اختلالات در شاخص‌های خونی CBC و الکتروفورز هموگلوبین به واسطه Hb Geelong خفیف بوده و به نظر می‌رسد این واریانت هموگلوبین باعث هیچ کم خونی یا عوارض بالینی نمی‌شود.

احتمال بروز β^0-thal/Hb-Geelong به صورت compound heterozygote در جنین این زوج جوان در هر حاملگی به احتمال ۲۵٪ می‌بود که بروز یک صفت اینترمدیا محتمل بود. در خوش‌بینانه‌ترین حالت و با فرض همراه بودن آلفا تالاسمی به جهت متعادل شدن نسبت زنجیره آلفا به بتا، شاید احتمال بروز فنوتیپ مینور بتا تالاسمی نیز انتظار برود. فنوتیپ Hb Geelong به طور جامع توصیف نشده است. هم‌چنین در برخی از مقالات گزارش شده است که Hb Geelong یک نوع خفیف ناپایدار هموگلوبین است که به نظر می‌رسد فنوتیپ شدید مینور تالاسمی β^+ را در حالت هتروزیگوت نشان می‌دهد(۹). در حقیقت این مورد اولین گزارش Hb Geelong در ایران می‌باشد.

با توجه به جستجو در منابع اینترنتی، این اولین مورد گزارش شده در بین جمعیت ایران بوده است. دیگر معدود گزارش‌ها موجود از سرتاسر جهان، حاکی از آن است که این نوع جهش نادر دارای هیچ‌گونه علایم بالینی از قبیل فقر آهن نبوده و تا قبل از مراجعه بیمار به آزمایشگاه ژنتیک و انجام آزمایش‌های مربوط به حذف در خوشه ژنی بتا، این جهش ناشناخته باقی مانده بود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-31]

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع بیماری تالاسمی در کشور، برنامه کشوری پیشگیری از بروز موارد جدید تالاسمی از طریق غربالگری در والدین است. در این برنامه، زوجین با اندکس‌های خونی غیر متعارف که مشکوک به تالاسمی مینور باشند، مورد مشاوره ژنتیک قرار می‌گیرند که متعاقباً با شناسایی جهش‌ها و افراد ناقل، مشاوره ژنتیک و انجام تشخیص پیش از تولد، راه عملی جلوگیری از بروز تالاسمی ماژور می‌باشد(۱۷-۱۴). در این راستا گرفتن نمونه CVS در هفته ۱۰ تا ۱۲ بارداری دارای اهمیت می‌باشد. با توجه به مورد بررسی شده فوق و نیز معدود گزارش‌هایی که از این هموگلوبین در سرتاسر جهان وجود دارد، به نظر می‌رسد که هموگلوبین Geelong یک هموگلوبین پاتولوژیک نباشد ولی تغییراتی شبیه به مینور تالاسمی β^+ را در CBC و الکتروفورزیس موجب می‌گردد. از سوی دیگر تعیین نوع هموگلوبین و خصوصیت آن برای مواردی که Hb-Unknown گزارش می‌گردد، به جهت تصمیم‌گیری نهایی بالاخص در تشخیص پیش از تولد الزامی به نظر می‌رسد.

البته بایستی در نظر گرفت بعضی از انواع هموگلوبین‌ها و یا جهش‌ها توسط روش‌ها و امکانات آزمایشگاهی قابل افتراق نبوده و در اندکس‌های خونی نیز آن چنان تاثیر نمی‌گذارند ولی ممکن است در ترکیب با جهش‌های دیگر، کم خونی‌هایی از ملایم تا اینترمدیا را موجب گردد. گزارش‌هایی مبنی بر Hb-unknown و عدم تعیین نوع آن و هم‌چنین عدم تعین میزان تاثیر آن بر اندکس‌های خونی بالاخص در زمان تشخیص پیش از تولد الزامی و حیاتی است. بررسی زنجیره بتا برای شخصی با واریانت نادری از هموگلوبین‌ها - بالأخص اگر زوج ایشان مینور هم باشد - و تعیین نوع هموگلوبین و میزان پاتولوژیک آن در برنامه غربالگری توصیه اکید می‌گردد و نمی‌توان به الکتروفورز Hb و CBC اکتفا نمود.

References:

1- Koutelekos J, Haliasos N. Depression and Thalassemia in children, adolescents and adults. Health Sci J 2013; 7(3): 239-46.
2- Heydarnejad MS, Hasanpour-Dehkordi A. Effect of booklet and combined method on parents' awareness of children with β-thalassemia major disorder. Journal of the Pakistan Medical Association 2008; 58(9): 485-7.
3- Naderi M, reza Hormozi M, Ashrafi M, Emamdadi A. Evaluation of mental health and related factors among patients with beta-thalassemia major in South East of Iran. Iran J Psychiatry 2012; 7(1): 47-51.
4- Borhani F, Najafi MK, Rabori ED, Sabzevari S. The effect of family-centered empowerment model on quality of life of school–aged children with thalassemia major. Iran J Nurs Midwifery Res 2011; 16(4): 292-8.
5- Parvizi S, Haghaani H, Sheibani B. Investigating the Awareness and Educational Requirements of Adolescents with Thalassemia and Active Members of the Afflicted Families in Bandar Abbas, Iran. Development Strategies in Medical Education 2017; 4(1): 68-75.
6- Razzazan N, Ravanipour M, Jahanpour F, Zarei AR, Motamed N, Hosseini S. Investigating Challenges Facing Self-Management Empowerment Education in Adolescents and Youths with Major Thalassemia. Jundishapur J Chronic Dis Care 2014; 3(4): e23366.
7- Olivieri NF. The β-thalassemias. N Engl J Med 1999; 341(2): 99-109.
8- Kazazian HJ, Boehm CD. Molecular basis and prenatal diagnosis of beta-thalassemia. Blood 1988; 72(4): 1107-16.
9- Como PF, Hocking DR, Swinton GW, Trent RJ, Holland RA, Tibben EA, *et al*. Hb Geelong [β139 (H17) Asn→ Asp]. Hemoglobin 1991; 15(1-2): 85-95.
10- Harano T, Harano K, Xia GX, Shishime T, Kono M, Imai K. HB-Geelong [β139 (H17) ASN→ ASP] Found in a Japanese Male. Hemoglobin 1997; 21(4): 377-83.
11- Moo-Penn WF, Johnson MH, Jue DL, Lonser R. Hb Hinsdale [β139 (H17) Asn→ Lys]: a variant in the central cavity showing reduced affinity for oxygen and 2, 3-diphosphoglycerate. Hemoglobin 1989; 13(5): 455-64.
12- Nakanishi T, Miyazaki A, Kishikawa M, Shimizu A, Aoki Y, Kikuchi M. Hb Sagami (b139 (H17) ASn--> Thr): A new Hemoglobin Variant not Detected by Isoelectrofocusing and Proponal-2-ol Test, was Detected by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. J Mass Spectrom 1998; 33(6): 565-9.
13- Lafferty J, Ali M, Matthew K, Eng B, Patterson M, Waye JS. Identifican of A New High Oxygen Affinity Hemoglobin Variant: Hb Aurora [β139 (H17) Asn→ Tyr]. Hemoglobin 1995; 19(6): 335-41
14- Najmabad H, Teymourian S, Jalilnezhad S, Azad M, Khatibi T, Neyshabouri M, *et al*. Amplification Refractory Mutation System (ARMS) and reverse hybridization in the detection of beta-thalassemia mutations. Arch Irn Med 2001; 4(4): 165-70.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-31]

15- Das SK, Talukder G. Beta globin gene and related diseases: A review. Int J Hum Gen 2002; 2(3): 139-52.
16- Kiani AA, Mortazavi Y, Zeinali S, Shirkhani Y. The molecular analysis of β-thalassemia mutations in Lorestan Province, Iran. Hemoglobin 2007; 31(3): 343-9.
17- Najmabadi H, Karimi-Nejad R, Sahebjam S, Pourfarzad F, Teimourian S, Sahebjam F, *et al*. The β-thalassemia mutation spectrum in the Iranian population. Hemoglobin 2001; 25(3): 285-96.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-31]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2020; 17(2): 140-146

Case report

A Case Report of Hb-Geelong in Hormozgan Province

Rafat M.[1], Shekari M.[1,2], Namjoo E.[1,2], Yazdi F.[1,2], Malekzadeh K.[1,2]

[1]Faculty of Medicine, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran
[2]Genetics & Prenatal Diagnostic Lab, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

Abstract

Background and Objectives

Thalassemia is a group of inherited hemoglobin disorders with defect in the synthesis of hemoglobin chains.

Case

The young couple resident in Bandar Abbas, a 23 year old woman with MCV:63fl; MCH:19; HbA2:3.9 and a 25 year old man with MCV:94fl; MCH:32; HbA2:2.1; HbF:36, were referred to the Bandar Abbas Medical Genetic & PND Center for genetic counselling before marriage.

Conclusions

A rare CD139 mutation (AAT → GAT) was detected which led to substitution of Asparagine by Aspartic Acid in 139th amino acid in hemoglobin chain and created a hemoglobin variant named Hb Geelong. This is the first report for Hb-Geelong in Iran. It seems that this mutation affects the hemoglobin stability though a non-pathologic process and has a phenotype similar to minor β^+ thalassemia.

Key words: beta-Thalassemia, Hemoglobin, Prenatal Diagnosis

Received: 17 Dec 2019
Accepted: 27 Apr 2020

Correspondence: Malekzadeh K., PhD of Medicinal Genetics. Associated Professor of Faculty of Medicine, Hormozgan University of Medical Sciences and Genetics & Prenatal Diagnostic Lab.
P.O.Box: 79197-86848, Bandar Abbas, Iran. Tel: (+9876) 33710372-3; Fax: (+9876) 33710372-3
E-mail: *keyanoosh@gmail.com*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-31]