

بررسی ارتباط اندازه شاخص‌های گلبول‌های قرمز خون با نوع جهش‌های ژن بتاگلوبین در ناقلین بتا تالاسمی استان خوزستان

عاطفه فرجادی^۱، سیده زهرا معصومی‌زاده^۲، بهناز اندشتی^۳

چکیده

سابقه و هدف

بتا تالاسمی شایع‌ترین بیماری ارثی تک ژنی در سراسر دنیاست که با الگوی اتوزومی مغلوب به ارث می‌رسد و در اثر جهش در ژن بتاگلوبین ایجاد می‌شود. از علایم ناقلین بتا تالاسمی، کاهش شاخص‌های خونی گلبول‌های قرمز و تغییراتی در میزان هموگلوبین از جمله پایین بودن هموگلوبین A1 و بالا بودن هموگلوبین A2 را می‌توان نام برد. هدف این تحقیق، یافتن رابطه‌ای بین مقادیر این شاخص‌ها و نوع جهش‌های ژنی منجر به بیماری می‌باشد که می‌تواند به عنوان روش تشخیص سریع نوع جهش در غربالگری اولیه ناقلین و تشخیص‌های پیش از تولد به کار رود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی - تحلیلی پس از تکثیر و تعیین توالی ژن بتاگلوبین به روش سانجر از جمعیت ۲۰۰ نفری ناقلین بتا تالاسمی استان خوزستان، ارتباط جهش‌های ژن با اندازه شاخص‌های گلبول‌های قرمز افراد به روش آماری تجزیه و تحلیل واریانس (Anova) و به کمک نرم‌افزار SPSS۲۶ مورد بررسی آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که جهش IVSII-1(G>A) با ۲۲/۵٪ فراوانی شایع‌ترین جهش در این جمعیت بوده و هم‌چنین از نظر آماری ارتباط معناداری بین تغییرات میانگین شاخص MCV افراد نسبت به نوع جهش آن‌ها وجود دارد. به طوری که بیشترین میانگین این شاخص با مقدار $3/7 \pm 65/4$ در جهش IVSI-110(G>A) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های تحقیق حاضر در راستای بسیاری از مطالعه‌های انجام گرفته در این زمینه بوده و می‌تواند به عنوان یک راهنما جهت امکان تشخیص سریع نوع جهش در مراکز تشخیصی و درمانی به کار رود.

کلمات کلیدی: بتا تالاسمی، شاخص‌های اریتروسیتی، گلبول‌های قرمز

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۷

۱- کارشناس ارشد ژنتیک - دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز - اهواز - ایران

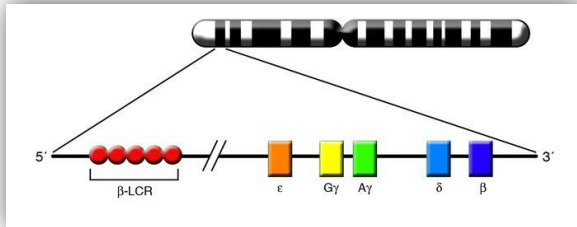
۲- PhD زیست دریا - استادیار دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز - اهواز - ایران

۳- PhD بیوشیمی - دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران - اهواز - ایران - صندوق پستی: ۴۴۳۳۷-۶۱۳۵۷

مقدمه

تالاسمی شایع‌ترین بیماری ارثی در دنیا است که وراثت آن از نوع اتوزومی مغلوب می‌باشد. این اختلال در حوزه دریای مدیترانه، استوا و نزدیک آن در آسیا و آفریقا بسیار شایع است (۱). هم‌چنین این بیماری دارای شیوع زیادی در کشور ماست ولی عمدتاً در نواحی سواحل دریای خزر و خلیج فارس دارای گستردگی بیشتری می‌باشد (۲). به طور متوسط ۴/۵ درصد از جمعیت ایران ناقل بتا تالاسمی هستند و طیف بیماری از ۱ تا ۱۰ درصد در استان‌های مختلف متفاوت است. فرد مبتلا در طول زندگی وابسته به تزریق مداوم و ماهانه خون و تزریق روزانه دسفرال می‌باشد. علاوه بر این، عوارض مختلف جسمانی، غددی، کبدی، قلبی، استخوانی و غیره نیز در طول درمان بروز می‌کند. این بیماری در اثر ازدواج دو فرد ناقل بتا تالاسمی و با احتمال ۲۵ درصد در هر حاملگی به وجود می‌آید (۳-۵). یکی از علایم اصلی ناقلان بتا تالاسمی کاهش شاخص‌های خونی گلبول‌های قرمز و بعضاً الگوی هموگلوبین آنهاست. شاخص‌های خونی گلبول‌های قرمز ناقلان نسبت به افراد سالم به صورت زیر می‌باشد: میکروسیتوز یا کوچک شدن حجم گلبول‌های قرمز و پایین بودن MCV و هیپوکرومیا یا کم رنگ شدن گلبول‌های قرمز و پایین بودن MCH هم‌چنین پایین بودن نامحسوس تا کم غلظت هموگلوبین یا MCHC، پایین بودن غلظت هموگلوبین (Hb) و افزایش تعداد سلول‌های قرمز خونی (RBC) و تغییراتی در میزان الگوی هموگلوبین از جمله پایین بودن هموگلوبین A (HbA) و بالا بودن هموگلوبین A2 (HbA2) و هموگلوبین جنینی F (HbF) (۱). در افراد بالغ سالم حدود ۹۵٪ هموگلوبین خون از نوع A₂(α₂β₂) می‌باشد به همراه مقادیر کمی (۳/۵٪ <) هموگلوبین A₂(α₂δ₂) و هموگلوبین F (α₂γ₂) که هموگلوبین جنینی است (۶). تنظیم این که در هر مرحله از تکامل کدام ژن از خانواده‌های آلفا و بتا بیان شود به عهده عوامل تنظیم‌کننده ژنی در ناحیه LCR (Locus Control Region) می‌باشد.

LCR خانواده بتا در فاصله ۲۰ کیلوبازی سمت ۵' آخرین ژن قرار دارد (۷) (شکل ۱).



شکل ۱: نمایی از موقعیت ژن بتاگلوبین بر روی کروموزوم ۱۱ انسان. ژن بتاگلوبین به صورت یک کلاستر ژنی به همراه ژن‌های گاما، دلتا و اپسیلون بر روی کروموزوم ۱۱ قرار گرفته است و ترتیب و زمان بروز هر ژن توسط ناحیه تنظیمی LCR تنظیم می‌شود (۷).

اساس مولکولی این بیماری، جهش و نقص در ساختمان ژن بتاگلوبین است و بیش از ۴۰۰ نوع جهش در دنیا گزارش شده است. البته هر جمعیت طیف خاصی از جهش‌های ژن بتاگلوبین را نشان می‌دهد (۸). مطالعه‌های جمعیتی نشان داده که حدود ۴۰ جهش بیش از ۹۰٪ از جهش‌های بتا تالاسمی را در دنیا تشکیل می‌دهند و در مناطقی که بتا تالاسمی شایع است، فقط انواع کمی از جهش‌ها (۴-۸ جهش) شایع هستند و تعداد متنوعی از جهش‌های نادر نیز وجود دارد که البته شیوع کمتری دارند (۹). با توجه به شیوع بالای این بیماری در کشور، یافتن روش‌های تشخیصی سریع و کم هزینه می‌تواند برای جامعه و به ویژه مراکز غربالگری حائز اهمیت باشد.

هدف از این مطالعه یافتن رابطه‌ای بین شاخص‌های گلبول‌های قرمز خون و نوع جهش‌های ژنی منجر به بیماری در ناقلین بتا تالاسمی بود. نتایج این تحقیق می‌تواند به ویژه در تشخیص‌های پیش از تولد به کار گرفته شود. بدین صورت که با اندازه‌گیری شاخص‌های گلبول قرمز فرد ناقل و جنین او که با یک آزمایش CBC ساده و ارزان قابل انجام است، و با بررسی این مقادیر احتمالاً می‌توان نوع جهش را چنانچه جزء جهش‌های شایع منطقه باشد با استفاده از روش‌هایی نظیر ARMS-PCR، سریع‌تر تشخیص داد و دیگر نیازی به انجام آزمایش‌های پرهزینه توالی‌یابی برای فرد نباشد. بررسی‌های تکمیلی در تشخیص نهایی توصیه می‌شود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی - تحلیلی، جمع‌آوری نمونه‌ها با دسترسی به پرونده پزشکی بیماران مبتلا به بتا تالاسمی ماژور مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات تالاسمی واقع در بیمارستان شقایق اهواز انجام گرفت. بیماران تالاسمی ماژور احتمالاً دارای والدین ناقل بوده‌اند، اما با این حال تنها نمونه والدینی که از نظر علائم بالینی، آزمایش‌های خونشناسی و الکتروفورز هموگلوبین مینور بودن آن‌ها تایید شده بود، به عنوان جمعیت مورد مطالعه انتخاب شدند. پس ۲۰۰ نمونه به صورت غیرتصادفی آسان و در بازه زمانی سال ۱۳۹۵ تا ۱۴۰۰ که همگی والدین بیماران تالاسمی ماژور در استان خوزستان بودند، انتخاب شدند. نکته مهم در انتخاب نمونه این بود که بیماران حتماً در ژن بتاگلوبین خود جهش نشان داده باشند. این بررسی از نوع مطالعه توصیفی-تحلیلی بوده و به بررسی ارتباط انواع جهش‌ها با اندازه شاخص‌های گلبول‌های قرمز خون ناقلان بتا تالاسمی پرداخته است. به منظور رعایت کلیه موازین اخلاقی در این تحقیق، صرفاً از نتایج آزمایش‌های خونی مندرج در فرم‌های افراد استفاده شده و محرمانه بودن نام آن‌ها در تمام مراحل تحقیق رعایت گردید. ضمناً شناسه پژوهشی اخلاق نیز برای این تحقیق با شماره IR.IAU.AHVAVZ.REC.1401.110 به ثبت رسید.

اطلاعاتی که از آزمایش‌های خونی (CBC) ناقلان استخراج شد شامل شمارش گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، MCV و MCH بود. هم‌چنین به دلیل MCV و MCH پایین در ناقلان طبق برنامه کشوری پیشگیری از تالاسمی، الکتروفورز هموگلوبین نیز برای این افراد انجام

شده بود پس مقادیر هموگلوبین A، A2 و F نمونه‌ها نیز از فرم‌ها استخراج و نوشته شد. به منظور تعیین جهش نیز از نمونه خون هر یک از افراد که در آرشیو مرکز نگهداری می‌شدند، به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر برداشته و استخراج DNA به روش نمکی (Salting out) بر روی آن‌ها انجام شد (۱۰). سپس با طراحی آغازگرهای ویژه ژن، توالی ژن بتاگلوبین (Hb β) در یک قطعه به طول حدود ۱۸۰۰ جفت باز به کمک روش PCR تحت شرایط دمایی ۳ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۱ چرخه)، ۳۰ ثانیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه ۶۱ درجه سانتی‌گراد و ۳۵ ثانیه ۷۲ درجه سانتی‌گراد (۳۵ چرخه) و در نهایت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (۱ چرخه) در دستگاه ترموسایکلر بیوراد تکثیر شد. پس از تکثیر ژن به روش سانجر و در دستگاه ABI-PRISM 3700 تعیین توالی شد. نتایج تعیین توالی ابتدا در برنامه کروماتس بررسی شده و سپس در برنامه نوکلئوتید بلاست با توالی مرجع مقایسه و جهش‌ها شناسایی شدند. جهت طراحی آغازگرها از نرم‌افزار اولیگو ۷ استفاده شد و توالی الگوی ژن بتاگلوبین (ID: 3043) به عنوان توالی مرجع از بانک ژن NCBI گرفته شد. لازم به ذکر است که به منظور تعیین توالی کل ژن بتاگلوبین از سه آغازگر کمکی دیگر نیز استفاده شد (جدول ۱). در مجموع داده‌های ۲۰۰ نمونه با ۲۶ نوع جهش متفاوت وارد نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) شد و روش آماری آنالیز واریانس (Anova) به منظور بررسی ارتباط جهش‌های ژن بتاگلوبین با هر یک از شاخص‌های خونی مورد استفاده قرار گرفت. سطح معناداری در این مطالعه ۰/۰۵ < p در نظر گرفته شد.

جدول ۱: آغازگرهای به کار رفته در PCR و تعیین توالی ژن بتاگلوبین

جهت	توالی ۵' → ۳'	طول (جفت باز)	نام آغازگر
مستقیم	AACTCCTAAGCCAGTGCCAGAAGA	۲۴	BT - NF
معکوس	CACTGACCTCCCACATTCCCTTTT	۲۴	BT - NR
مستقیم	AGGTACGGCTGTCATCAC	۱۸	BT-seq1F
مستقیم	CATGGCAAGAAAGTGCTC	۱۸	BT-seq2F
مستقیم	ATCTCTTTCTTTCAGGGC	۱۸	BT-seq3F

یافته‌ها

در این تحقیق به طور کلی ۲۰۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت که از این تعداد ۱۱۰ زن و ۹۰ مرد بودند. پس از دسته‌بندی آماری مقادیر عددی هر یک از شاخص‌های گلبول قرمز مورد بررسی و نتایج زیر به دست آمد (جدول ۲).

جدول ۲: توزیع فراوانی جمعیت ناقلین بتا تالاسمی مورد مطالعه بر اساس شاخص‌های خونی

درصد (فراوانی)	تعداد	RBC (میلیون در میلی متر مکعب)
۶/۰	۱۲	$x > 7 \times 10^6$
۳۷/۰	۷۴	$6 \times 10^6 \leq x \leq 7 \times 10^6$
۴۷/۰	۹۴	$5 \times 10^6 \leq x \leq 6 \times 10^6$
۱۰/۰	۲۰	$x < 5 \times 10^6$
x : شمارش گلبول‌های قرمز (RBC)		
درصد (فراوانی)	تعداد	MCV (فمتولیتتر)
۲/۰	۴	$x > 80$
۵/۰	۱۰	$80 \geq x \geq 70$
۵۳/۰	۱۰۶	$70 \geq x \geq 60$
۴۰/۰	۸۰	$x < 60$
MCV : x		
درصد (فراوانی)	تعداد	MCH (پیکوگرم)
۱/۰	۲	$x > 30$
۳/۵	۷	$26 \leq x \leq 30$
۴۴/۵	۸۹	$20 \leq x \leq 26$
۵۱/۰	۱۰۲	$x < 20$
MCH : x		

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود مقدار RBC کمتر از ۵ میلیون در مترمکعب در ۲۰ نفر (۱۰٪) دیده شده و RBC بالاتر از ۷ میلیون در مترمکعب در ۱۲ نفر (۶٪) بودند. در مورد شاخص MCV هم مقادیر $MCV < 60$ fL با ۴۰٪

و مقادیر $60 \leq MCV \leq 70$ با ۵۳٪ بیشترین فراوانی را در بین افراد مورد مطالعه نشان دادند. در مورد فاکتور MCH نیز مقادیر $MCH < 20$ Pg با ۵۱٪ و مقادیر $26 \leq MCH \leq 20$ با حدود ۴۵٪ بیشترین فراوانی را داشتند. در آزمایش‌های الکتروفورز هموگلوبین افراد مورد مطالعه انواع هموگلوبین‌های A₂، A و F اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که اولاً مقادیر $Hb > 10$ در ۸۰٪ افراد دیده شد و مقادیر $HbA2 \geq 2$ نیز در بیش از ۹۹٪ افراد گزارش شد و در نهایت هموگلوبین F بالاتر از یک نیز در ۸۶٪ موارد گزارش شد (جدول ۳).

در مورد بررسی نوع جهش ژن بتاگلوبین در افراد مورد مطالعه به طور کلی در ۲۰۰ مورد ۲۶ نوع جهش بتا تالاسمی تشخیص داده شد. البته فراوانی بیش از ۶۰٪ موارد تنها مربوط به چهار جهش شایع IVSI-1(G>A)، IVSI-5(G>C)، CD36/37(-T) و 110(G>A) بودند و بقیه جهش‌ها مربوط به حدود ۴۰٪ باقی‌مانده افراد بود. به طوری که ۱۰ نوع از جهش‌ها تنها در یک یا دو فرد دیده شدند (نمودار ۱).

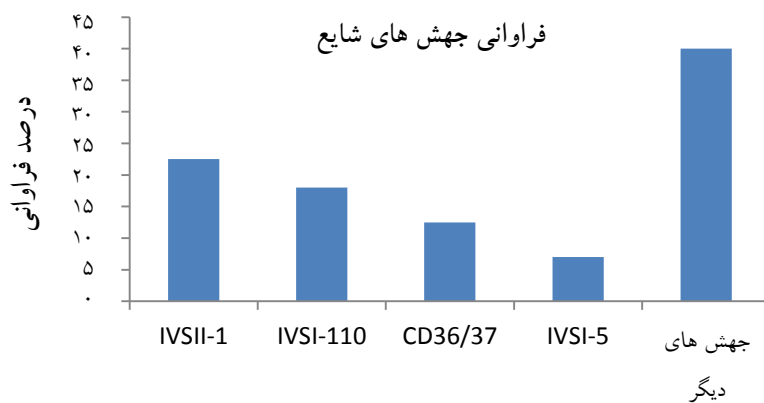
به منظور بررسی آماری داده‌ها تنها چهار جهش شایع اول که با فراوانی بالاتر از ۱۰ نفر بودند وارد برنامه آماری SPSS شده و بدین ترتیب تعداد ۱۲۰ نفر بررسی و ۸۰ نفر که دارای جهش‌های دیگر بودند کنار گذاشته شدند (جدول ۴).

در این مطالعه سطح معناداری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد و پس از بررسی مشخص شد که به لحاظ آماری ارتباط معناداری بین تغییرات میانگین شاخص خونی MCV و نوع جهش در افراد ناقل مورد مطالعه وجود دارد. اما سایر متغیرها نظیر HbA₂، Hb و MCH با نوع جهش ارتباط معناداری نداشتند. در بین چهار جهش شایع بیشترین فراوانی مربوط به جهش IVSI-1(G>A) با فراوانی ۲۲/۵ درصد و کمترین فراوانی مربوط به جهش شایع IVSI-5(G>C) با فراوانی ۷ درصد بود. هم‌چنین میانگین متغیرهای شاخص‌های خونی ناقلان بتا تالاسمی برحسب نوع جهش مورد بررسی قرار گرفت که بیشترین مقدار میانگین MCV با

عدد ۶۵/۴ در مبتلایان با جهش IVSI-110(G>A) و کمترین مقدار میانگین مربوط به جهش IVSII-1(G>A) با عدد ۶۱ بود (جدول ۴).

جدول ۳: توزیع فراوانی جمعیت ناقلین بتا تالاسمی مورد مطالعه بر اساس میزان انواع هموگلوبین

درصد (فراوانی)		تعداد	Hb (g/dL)
۶۳/۰		۱۲۶	$x > 11$
۱۶/۵		۳۳	$10 \leq x \leq 11$
۱۴/۰		۲۸	$9 \leq x \leq 10$
۶/۵		۱۳	$x < 9$
Hb : x			
درصد (فراوانی)		تعداد	HbA2 (g/dL)
۹۲/۰		۱۸۴	$x > 3/5$
۷/۰		۱۴	$2 \leq x \leq 3/5$
۱/۰		۲	$x < 2$
HbA2 : x			
درصد (فراوانی)		تعداد	HbF (g/dL)
۳۴/۰		۶۸	$x > 2$
۵۲/۰		۱۰۴	$1 \leq x \leq 2$
۱۴/۰		۲۸	$x < 1$
HbF : x			



نمودار ۱: فراوانی چهار جهش شایع اول در جمعیت ناقلان بتا تالاسمی مورد مطالعه

جدول ۴: توزیع میانگین شاخص‌های خونی ناقلان بتا تالاسمی بر حسب نوع جهش (مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند)

ردیف	جهش	فراوانی	میانگین MCV	میانگین MCH	میانگین Hb	میانگین HbA ₂
۱	IVSII-1(G>A)	۴۵/۲۰۰	۶۱/۰ \pm ۳/۵	۱۹/۴ \pm ۱/۲	۱۱/۸ \pm ۱/۴	۴/۵ \pm ۰/۹
۲	IVSI-110(G>A)	۳۶/۲۰۰	۶۵/۴ \pm ۳/۷	۲۰/۰ \pm ۱/۶	۱۱/۵ \pm ۱/۲	۴/۷ \pm ۰/۸
۳	CD36/37(-T)	۲۵/۲۰۰	۶۲/۵ \pm ۳/۶	۱۸/۵ \pm ۱/۰	۱۱/۲ \pm ۱/۰	۴/۶ \pm ۰/۷
۴	IVSI-5(G>C)	۱۴/۲۰۰	۶۰/۹ \pm ۴/۵	۲۱/۰ \pm ۱/۵	۱۱/۷ \pm ۱/۷	۴/۸ \pm ۰/۸

بحث

در مطالعه‌های انجام شده در دنیا ارتباط بین جهش‌های ناقلان بتا تالاسمی و شاخص‌های خونی به صورت پراکنده و اندک صورت گرفته است و نشان می‌دهد که شدت و نوع جهش می‌تواند در تغییر میزان شاخص‌های خونی تأثیر داشته باشد.

در تحقیق حاضر رابطه بین چهار جهش شایع در ناقلان بتا تالاسمی استان خوزستان و شاخص‌های گلبول‌های قرمز خون شامل MCV، MCH، Hb و HbA₂ بررسی شد و مشخص گردید که شاخص MCV با نوع جهش در جمعیت مورد مطالعه از ارتباط معناداری برخوردار است.

دقیق‌ترین روش‌ها برای تشخیص تالاسمی مینور اندازه‌گیری کمی هموگلوبین A₂ و F و تعیین نسبت ساخت زنجیره گلوبین و تعیین جهش در مولکول DNA می‌باشد. به دلیل هزینه بالا، این آزمایش‌ها در غربالگری استفاده نمی‌شوند. از آن جا که در همه موارد تالاسمی به صورت ثابت هیپوکرومیا (MCH < ۳۰ Pg) و میکروسیتوز (fL < ۸۰) (MCV < ۸۰) دیده می‌شود، لذا از این شاخص‌های گلبول‌های قرمز به عنوان راه‌های تشخیص اولیه بسیار استفاده می‌شود (۱۱، ۱۲).

در کشور ما نیز MCH < ۲۷ Pg و MCV < ۸۰ fL به عنوان شاخص غربالگری به کار می‌روند. همان طور که در جدول ۲ نشان داده شد، موارد MCH > ۳۰ تنها ۲ مورد (۱٪) بوده و در مورد شاخص MCV نیز موارد MCV > ۸۰ تنها ۴ مورد (۲٪) از نمونه‌های مورد مطالعه را به خود اختصاص داده‌اند در حالی که در مورد تعداد RBCها ۲۰

مورد (۱۰٪) موارد کمتر از ۵ میلیون در میلی‌متر مکعب و در مورد هموگلوبین نیز موارد بالاتر از ۱۱ g/dL در بیش از ۶۰٪ موارد دیده شده است (جدول ۳). بنابراین با توجه به یافته‌های فوق مشخص می‌شود که مقدار هموگلوبین و RBC از حساسیت کمتری در غربالگری برخوردار هستند و بر عکس MCV و به ویژه MCH < ۲۷ Pg اهمیت شایانی دارند.

در نتایج الکتروفورز هموگلوبین نیز که از شاخص‌های تشخیص بتا تالاسمی مینور هستند، مطابق داده‌های جدول ۳، هموگلوبین A₂ بالاتر از ۳/۵ در بیش از ۹۰٪ موارد و هموگلوبین F بالاتر از ۱ در بیش از ۸۵٪ موارد از جمعیت مورد مطالعه دیده شد. پس این دو شاخص نیز نمی‌توانند به عنوان شاخص‌های حساس در غربالگری استفاده شوند.

همان طور که اشاره شد به منظور تشخیص اولیه بیماران مبتلا به تالاسمی از متغیرهای خونی نظیر MCV، MCH و Hb و جهت تأیید تشخیص اولیه از شناسایی نوع جهش استفاده می‌شود. در حال حاضر بیش از ۴۰۰ نوع جهش در ژن گلوبین در جمعیت‌های مختلف جهان گزارش شده است (۷). در مطالعه حاضر شایع‌ترین جهش در ژن بتاگلوبین IVSII-1 با فراوانی ۲۲/۵ درصد بود. این نتیجه با سایر مطالعه‌های انجام شده در جمعیت‌های ایران هم خوانی دارد (۱۳، ۳).

در تحقیق بهفر و همکاران، ارتباط بین انواع جهش با ۸ نوع شاخص خونی MCV، MCH، HG، HbF، HbA و HbA₂ مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که همه شاخص‌ها به صورت کم و بیش با جهش‌های متفاوت

سریع نوع جهش‌ها در جمعیت ایران به کار رود (۱۶).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مقادیر شاخص‌های خونی مختلف در ناقلان بتا تالاسمی مورد بررسی قرار گرفته و ارتباط آن‌ها با نوع جهش‌های ژن بتاگلوبین در این افراد سنجیده شد و ارتباط معناداری از نظر آماری بین مقدار میانگین MCV افراد با جهش‌های آن‌ها مشاهده شد. در حالی که نوع جهش با متغیرهای دیگر ارتباط معناداری نشان نداد. جهش IVSII-(G>A) شایع‌ترین جهش در جمعیت ناقلان مورد مطالعه در استان خوزستان بود. هم‌چنین نتایج تحقیق حاضر در راستای بسیاری از مطالعه‌های انجام گرفته در این زمینه بوده و می‌تواند به عنوان یک راهنما جهت امکان دسترسی سریع به نوع جهش باشد. با جایگزینی روش‌های تشخیصی سریع و ارزان به جای روش‌های تعیین توالی که هزینه و زمان زیادی را صرف می‌کنند، می‌توان به تشخیص جهش ژن در زوجین ناقل مراجعه کننده به مراکز مشاوره ژنتیکی یا مراکز تشخیص پیش از تولد کمک شایانی نمود.

تشکر و قدردانی

از استاد گرامی آقای دکتر حمید گله‌داری و پرسنل محترم آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان شفا که ما را در جمع‌آوری اطلاعات بیماران و تهیه نمونه یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی می‌گردد.

بتاگلوبین در تغییر بودند. هم‌چنین مشخص گردید که میانگین دو شاخص MCV و MCH از نظر آماری ارتباط معناداری با نوع جهش اعم از شدید (β^0) یا ضعیف (β^+) دارد. در حالی که ارتباط بین شدت جهش و میانگین شاخص‌های خونی دیگر معنادار نبود.

هم‌چنین شایع‌ترین جهش در مطالعه فوق IVSII-(G>A) با فراوانی ۴۰٪ گزارش شد که از این نظر نیز مطالعه حاضر با آن هم‌خوانی دارد (۱۴).

در مطالعه راند و همکاران که رابطه بین شاخص MCV و شدت جهش‌های بتا تالاسمی در ۱۱۳ بیمار را بررسی نمودند، به طور کلی ۱۸ نوع جهش گزارش شده که شایع‌ترین آن‌ها جهش IVSII-1(G>A) می‌باشد و در راستای مطالعه حاضر بوده، هم‌چنین ارتباط مستقیم و معناداری بین میزان کاهش MCV و شدت جهش بتا تالاسمی گزارش شده و نشان داده که MCV به عنوان پارامتر مهمی برای شناسایی سریع جهش به ویژه در زمینه تشخیص‌های پیش از تولد می‌تواند باشد و نتایج پژوهش حاضر نیز در راستای این مطالعه می‌باشد (۱۵).

در تحقیق ابراهیم‌زاده و همکاران نیز که بر روی بررسی ارتباط شاخص‌های خونی در ناقلان آلفا تالاسمی انجام شده، مشخص گردید که ارتباط مستقیم بین شاخص‌های MCV و MCH و شدت جهش در ناقلان آلفا تالاسمی هم وجود دارد که می‌تواند به عنوان یک الگوی با ارزش، جهت تشخیص

References:

- Liaska A, Petrou P, Georgakopoulos CD, Diamanti R, Papaconstantinou D, Kanakis MG, Georgalas I. β -Thalassemia and ocular implications: a systematic review. *BMC Ophthalmol* 2016; 16: 102.
- Rahim F, Abromand M. Spectrum of β -thalassemia mutations in various ethnic regions of Iran. *Pak J Med Sci* 2008; 24(3): 410-5.
- Najmabadi H, Kariminejad 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.
- Bazi A, Miri-Mogaddam, E. Spectrum of β -thalassemia Mutations in Iran, an Update. *Iran J Ped Hematol Oncol* 2016, 6(3): 190-202
- Rezaee AR, Banoei MM, Khalili E, Houshmand M. Beta-thalassemia in iran: new insight into the role of genetic admixture and migration. *Scientific World Journal* 2012; 635183.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. Niavarani, AR. 25th ed, 2000; 1: 85-97.
- Shawky RM, Kamal TM. Thalassemia intermedia: An overview. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 2012; 13(3): 245-55.
- Jalilian M, Azizi Jalilian F, Ahmadi L, Amini R, Esfehiani H, Sosanian M, et al. The Frequency of HBB Mutations Among β -Thalassemia Patients in Hamadan Province, Iran. *Hemoglobin* 2017; 41(1): 61-4

- 9- Williams TN, Weatherall DJ. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2(9): a011692.
- 10- Gaaib NJ, Adnan F, Nassief AF, Al-Assi AH. Simple salting – out method for genomic DNA extraction from whole blood. *Tikrit Journal of Pure Science* 2011; 16(2): 9-11.
- 11- Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108(31-32): 532-40.
- 12- Weatherall DJ. Hemoglobinopathies worldwide: Present and future. *Curr Mol Med* 2008; 8(7): 592-9.
- 13- Derakhshandeh-Peykar P, Akhavan-Niaki H, Tamaddoni A, Ghawidel-Parsa S, Naieni KH, Rahmani M, *et al.* Distribution of β -thalassemia mutations in the northern provinces of Iran. *Hemoglobin* 2007; 31(3): 351-6.
- 14- Behfar M, Ehsani M, Salamati P. Associations of red blood corpuscle mean volume and hematocrit with severity of beta-globin gene mutations in beta-thalassemia carriers. *Scientific Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research* 2011; 8(4): 41-9. [Article in Farsi]
- 15- Rund D, Filon D, Strauss N, Rachmilewitz EA, Oppenheim A. Mean corpuscular volume of heterozygotes for beta-thalassemia correlates with the severity of mutations. *Blood* 1992; 79(1): 238-43.
- 16- Ebrahimzadeh Vesal R, Shahgholi E, Derakhshandeh-Peykar P. Association between hematological indices and types of gene mutations in alpha thalassemia carriers. *Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research* 2009; 7(2): 15-23. [Article in Farsi]

Original Article

Association study of RBC indices with Beta globin gene mutations in beta thalassemia carriers in Khuzestan province

Farjadi A.¹, Masoomizadeh S.Z.¹, Andashti B.²

¹Faculty of Basic Science, Islamic Azad University Ahvaz Branch, Ahvaz, Iran

²Faculty of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

Abstract

Background and Objectives

Thalassemia is the most common monogenic disease worldwide inherited in autosomal recessive manner. Beta-thalassemia is caused by mutations in beta-globin gene. It is characterized by reduction in red blood cell indices including low MCV, low MCH, high RBC count, low HbA1 and high HbA2. Considering these symptoms, finding a relation between erythrocyte indices and kind of mutations can be used as a rapid method in mutation diagnosis and initial screening of carriers.

Materials and Methods

In this descriptive-analytical study after DNA extraction from 200 beta- thalassemia minors in Khuzestan province by salting out method, we amplified and sequenced beta-globin gene by Sanger sequencing. Finally, we analyzed statistically the beta-globin gene mutations and erythrocyte indices association by SPSS.

Results

Our results showed that IVSII-1(G > A) is the most common mutation with 22.5% frequency in this population of beta-thalassemia carriers. We found that MCV index variations have a meaningful association with beta-globin gene mutations and the highest mean of MCV (65.4 ± 3.7) was observed in IVSI-110(G > A) mutation.

Conclusions

The results comply with many other studies performed in this field and can be used for rapid detection of mutation in carrier parents and prenatal diagnosis.

Key words: beta-Thalassemia, Erythrocyte Indices, Red Blood Cells

Received: 11 Oct 2022

Accepted: 17 Jan 2023

Correspondence: Andashti B., PhD of Biochemistry. Faculty of Science, Shahid Chamran University. P.O.Box: 61357-44337, Ahvaz, Iran. Tel: (+9861) 33226449; Fax: (+9861) 33226449
E-mail: b_andashti@yahoo.com