خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۳ شماره ۲ تابستان ۹۵ (۱۲۹-۱۲۲)

مقاله پژوهشی

تنوع ژنتیکی پلی‌مورفیسم HindIIIG در اینترون دوم IVSII-I ژن *Gγ* و ارتباط آن با میزان HbF در بیماران بتا تالاسمی ماژور و اینترمدیا در استان اصفهان

مجید متولی باشی[۱]، زهرا سجادپور[۲]، طیبه قاسمی[۲]

چکیده

سابقه و هدف

تالاسمی بتا، یک بیماری اتوزومی مغلوب است. طی مطالعه‌های صورت گرفته، گزارش شده است که آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG با بیماری تالاسمی اینترمدیا پیوستگی دارد. هدف این پژوهش، بررسی پلی‌مورفیسم HindIIIG در اینترون دوم ژن *Gγ* و ارتباط آن با میزان HbF در بیماران تالاسمی بتا و اینترمدیا بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مورد ـ شاهدی، تعداد ۱۵۰ بیمار بتا تالاسمی ماژور، ۳۴ بیمار بتا تالاسمی اینترمدیا و ۵۰ فرد سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. پلی‌مورفیسم HindIIIG در اینترون دوم ژن *Gγ* به روش RFLP-PCR تعیین گردید. میزان HbF به روش الکتروفورز با استفاده از پرونده‌های بیماران مشخص شد. سپس پیوستگی این پلی‌مورفیسم، با پلی‌مورفیسم XmnI در ناحیه '۵ ژن *Gγ* با اندازه‌گیری مقدار 'D توسط نرم‌افزار Power Marker بررسی شد.

یافته‌ها

آنالیز داده‌ها نشان داد که بین آلل A و بیماری تالاسمی اینترمدیا، ارتباط وجود دارد به طوری که اگر آلل A غالب در نظر گرفته شود، ژنوتیپ‌های AA+AC با تالاسمی اینترمدیا ارتباط دارند (p= ۰/۰۱۴) اما ارتباطی با تالاسمی ماژور مشاهده نشد. میانگین HbF در بیماران بتا تالاسمی ماژور و اینترمدیا به ترتیب برابر ۹۴/۳ g/dL و ۸۴/۴ g/dL بود. پیوستگی نامتعادل بالایی بین دو پلی‌مورفیسم HindIIIG و XmnI دیده شد.

نتیجه گیری

حضور آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG به عنوان یک آلل غالب، اثر مثبتی بر میزان HbF و کاهش شدت علایم بالینی بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا دارد. پیوستگی بالای آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG با آلل T پلی‌مورفیسم XmnI در بیماران تالاسمی اینترمدیا و آلل C پلی‌مورفیسم HindIIIG با آلل C پلی‌مورفیسم XmnI در بیماران تالاسمی ماژور مشاهده شد.

کلمات کلیدی: تالاسمی بتا، پلی‌مورفیسم ژنتیک، HBF ، تالاسمی اینترمدیا

تاریخ دریافت : ۹۳/۱۱/۱۲
تاریخ پذیرش : ۹۴/ ۹/۲۹

۱- مؤلف مسئول: PhD ژنتیک مولکولی ـ دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان ـ اصفهان ـ ایران ـ صندوق پستی: ۷۳۴۴۱-۸۱۷۴۶
۲- کارشناس ارشد ژنتیک مولکولی ـ گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان ـ اصفهان ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-06]

مقدمه

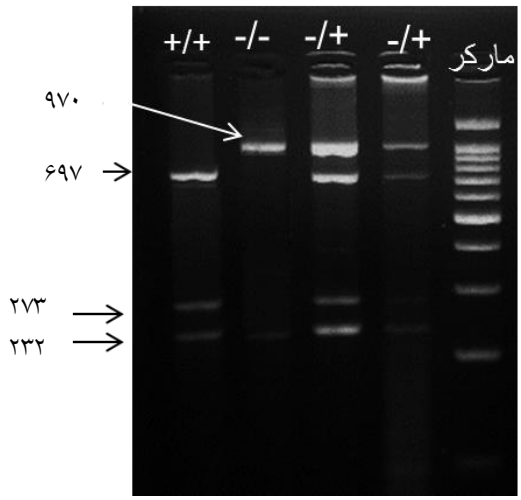
تالاسمی، نوعی کم خونی ارثی و ژنتیکی است (۲، ۱). عدم توازن در تولید زنجیره‌های آلفاگلوبین و بتاگلوبین در بیماران تالاسمی، منجر به تجمع زنجیره‌های آزاد گلوبین در پیش‌سازهای سلول خونی می‌شود. بر اساس فنوتیپ، سه گروه از بیماران مبتلا دیده می‌شوند: ۱- تالاسمی ماژور ۲- تالاسمی مینور ۳- تالاسمی اینترمدیا. تالاسمی ماژور فرم شدید بیماری است که بیماران نیاز به تزریق خون مداوم برای زنده ماندن دارند، با این حال بعضی از بیماران بتا تالاسمی ماژور، نیاز به تزریق خون ندارند که به عنوان تالاسمی اینترمدیا شناخته می‌شوند(۳). بیماران تالاسمی اینترمدیا از نظر علائم فنوتیپی، گروه حد واسط بوده و بسته به عوامل مختلف، بیماری در آن‌ها به گونه‌ای تعدیل شده است(۱). با توجه به مشابه بودن نوع جهش‌های بتا تالاسمی در افراد مبتلا به تالاسمی اینترمدیا و ماژور، می‌توان گفت به جز ژنوتیپ ژن بتا گلوبین، عوامل دیگری نیز در تعیین فنوتیپ فرد بیمار و شدت یا تعدیل علایم بیماری اثرگذار است. بروز فنوتیپی و علائم بالینی در افراد اینترمدیا بسیار متنوع و گسترده می‌باشد که خود گویای پیچیدگی مکانیسم‌های ژنتیکی دخیل در این امر است. به طور کلی هر عاملی که بتواند به گونه‌ای عدم تعادل ایجاد شده بین مقدار زنجیره‌های آلفا و بتا را در گلبول‌های قرمز جبران کند، می‌تواند موجب تعدیل شدت بیماری بتا تالاسمی شود. بر این اساس عوامل مؤثر در تعدیل شدت بیماری عبارتند از: ۱. وجود آلل‌های خفیف بتاتالاسمی ۲. به ارث رسیدن ژن‌های غیر طبیعی آلفا، یا گاما و یا پلی مورفیسم‌های خوشه ژنی بتا گلوبین ۳. عواملی که سبب افزایش و فعال شدن مجدد هموگلوبین جنینی می‌شوند. در ۶۰٪ تا ۹۰٪ موارد، بیماران تالاسمی اینترمدیا دارای دو آلل بتا تالاسمی هستند(۵، ۴)، دو نوع زنجیره گاما HbF ، Gγ و Aγ در خوشه ژنی بتا گلوبین وجود دارد که در موقعیت ۱۳۶ (گلایسین به جای آلانین) با یکدیگر متفاوت هستند(۶). در سطح جهانی، مطالعه‌های متنوع و جامعی در مورد بیماری تالاسمی اینترمدیا صورت گرفته است. در این مطالعه‌ها نشان داده شده که حضور آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG با وضعیت کلینیکی خفیف بیماری همراه است (۸، ۷). اما علت خاص یا مکانیسم مولکولی مشخصی برای این ارتباطات شناخته نشده است. پلی‌مورفیسم HindIIIG بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۱ (Chr.11p15.4) و در داخل خوشه ژنی بتاگلوبین، در اینترون دوم ژن $G\gamma$ واقع شده است. در طی مطالعه‌های متعددی که بر روی پلی‌مورفیسم XmnI صورت گرفته، مشخص گردید که این پلی‌مورفیسم منجر به افزایش بیان ژن $G\gamma$ و تغییر در میزان HbF می‌گردد و سبب بروز فنوتیپ معتدل‌تری در افراد مبتلا به سیکل سل و بتا تالاسمی می‌شود(۹). مطالعه‌های مختلف نشان داده است که احتمالاً این جابه‌جایی نوکلئوتیدی در پلی‌مورفیسم XmnI ، سبب کاهش اتصال فاکتورهای مهار کننده بر روی پروموتر ژن $G\gamma$ شده است. بنابراین قرارگیری کمپلکس (Active Chromatin Hub) ACH در بالادست ژن بتا گلوبین و انجام پدیده کلید کردن مختل می‌شود (۱۲-۱۰). در این حالت LCR در بالادست ژن $G\gamma$ قرار گرفته و همین امر موجب فعال شدن مجدد ژن $G\gamma$ می‌گردد(۱۳). در کشور ایران طبق مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ توسط عرب و همکاران در جمعیت تهران صورت گرفت، پلی‌مورفیسم HindIIIG در هاپلوتیپ گزارش شده به صورت هموزیگوس(A/A) با بیماری تالاسمی اینترمدیا، HbF بالا و پلی‌مورفیسم XmnI ارتباط نشان داد(۱۴). در مطالعه حاضر ارتباط پلی‌مورفیسم HindIIIG در اینترون دوم ژن $G\gamma$ با بیماری تالاسمی اینترمدیا، مقدار HbF و پیوستگی این مارکر با پلی‌مورفیسم XmnI در '۵ ژن $G\gamma$ در جمعیت اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع مورد - شاهدی و وابسته به گذشته بود. جامعه مورد مطالعه، بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا و بتا تالاسمی ماژور مراجعه‌کننده به بیمارستان سیدالشهدای اصفهان بودند. در این مطالعه ۳۴ بیمار بتا تالاسمی اینترمدیا، ۱۵۰ بیمار بتا تالاسمی ماژور و ۵۰ فرد سالم به عنوان کنترل بررسی شدند. نمونه خون افراد کنترل از افراد مراجعه‌کننده به آزمایشگاه امید اصفهان جمع‌آوری شد. این افراد بیماری‌های خونی مانند سرطان خون و

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-06]

تالاسمی نداشتند و از لحاظ جنس، دخانیات و سن سعی شد با افراد بیمار همسان‌سازی صورت گیرد. بیماران بتا تالاسمی ماژور ماهیانه خون دریافت می‌کردند اما بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا خون دریافت نمی‌کردند یا به صورت هر سه ماه یک بار خون می‌گرفتند. هموگلوبین بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا بین g/dL ۱۰–۸ بود که توسط پزشک متخصص خون تأیید شده بود. با کسب رضایت از بیماران، مقدار mL ۵ خون جمع‌آوری و در لوله‌های حاوی EDTA ریخته شد. متغیرهای هماتولوژیک شامل HbF ، Hb ، RBC، MCV و MCH از پرونده‌های بیماران استخراج شد. محل پلی‌مورفیک HindIIIG در اینترون دوم ژن $G\gamma$ در خوشه ژنی بتا گلوبین قرار گرفته که حاصل تغییر باز A به C می‌باشد که با این تغییر، مکان برش آنزیم از بین می‌رود. DNA خون بیماران به روش فنل کلروفرم استخراج شد(۱۵). جایگاه پلی‌مورفیک با استفاده از آغازگرهای طراحی شده توسط یانگ و همکاران با روش PCR تکثیر و قطعه‌ای ۱۲۰۲جفت بازی به دست آمد(۱۶). واکنش PCR بهینه شده در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. پس از انجام PCR ، برای تعیین حضور یا عدم حضور جایگاه پلی‌مورفیسم، قطعه تکثیر یافته واجد مارکر HindIIIG تحت هضم آنزیمی توسط آنزیم HindIII قرار گرفت. هضم آنزیمی محصول PCR بر اساس دستورالعمل آنزیم انجام گرفت. ویال حاوی مخلوط واکنش هضم آنزیمی به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا هضم آنزیمی کامل گردد. سپس ژنوتیپ محصولات هضم شده با انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز دو درصد در ولتاژ ۷۰ ولت به مدت نیم ساعت تشخیص داده شد. در افراد هموزیگوتC/C ، این قطعه به دو قطعه ۲۳۲ و ۹۷۰ جفت بازی شکسته شده(محصول PCR به طور طبیعی واجد یک منطقه شناسایی آنزیم می‌باشد) در حالی که در افراد هموزیگوت A/A ، سه قطعه ۲۳۲، ۶۹۷ و ۲۷۳ جفت بازی ایجاد و در افراد هتروزیگوت قطعات ۲۷۳، ۲۳۲، ۶۹۷ و ۹۷۰ جفت بازی پس از انجام RFLP بر روی ژل آگارز ایجاد می‌شود(شکل ۱). تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SISA انجام شد. در ابتدا فراوانی آللی و ژنوتیپی نمونه‌ها مشخص و سپس ارتباط آن با بیماری بتا تالاسمی اینترمدیا و میزان HbF ، به کمک آزمون کای‌دو محاسبه گردید، سطح معنادار کوچک‌تر از ۰/۰۵ (p ≤ ۰/۰۵) از لحاظ آماری قابل قبول فرض شد. سپس پیوستگی دو مارکر توسط نرم‌افزار Power Marker انجام شد.



شکل ۱: هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم HindIII برای مارکر HindIIIGγ . الکتروفورز محصول هضم مارکر HindIIIGγ بر روی ژل آگارز ۲٪ به مدت نیم ساعت در ولتاژ ۷۰ انجام شده است. علامت + (آلل A) نشان‌دهنده وجود جایگاه برش و علامت ـ (آلل C) نشان‌دهنده عدم وجود جایگاه برش است. افراد هموزیگوت CC دو باند ۹۷۰ و ۲۳۲ جفت بازی، افراد هموزیگوت AA سه باند ۲۷۳ ، ۶۹۷ و ۲۳۲ جفت بازی و افراد هتروزیگوت AC باندهای ۲۷۳ ، ۶۹۷ ، ۲۳۲ و ۹۷۰ جفت بازی را نشان می‌دهند.

یافته‌ها

در این مطالعه با بررسی ۳۴ بیمار بتا تالاسمی اینترمدیا، ۱۵۰ بیمار بتا تالاسمی ماژور و ۵۰ فرد سالم که به بیمارستان سیدالشهدای اصفهان مراجعه کرده بودند، با استفاده از روش RFLP-PCR ، درصد فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم HindIIIG در بیماران بتا تالاسمی ماژور و اینترمدیا مشخص شد(جداول ۱ و ۲). فراوانی آلل A در تالاسمی اینترمدیا ۸۹/۷۰٪ و در افراد سالم ۳۹٪ مشاهده شد که این اختلاف از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد(۵/۶۵–۳۲/۸ = (٪۹۵) CI ، ۱۳/۶۳ =OR ، p= ۰/۰۰۱)(جدول ۳).

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-06]

جدول ۱: توزیع فراوانی پلی‌مورفیسم HindIIIG در بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا و افراد کنترل در استان اصفهان

Hind IIIG		تعداد افراد تالاسمی ماژور(درصد)	تعداد افراد سالم (درصد)	p	OR	فاصله اطمینان (٪۹۵)
ژنوتیپ	C/C	(۲/۹۴) ۱	(۲۲/۷۹) ۱۱	۰/۰۱۴	۹/۳۰	۱/۱۴–۷۵/۹
	A/C + A/A	(۹۷/۰۶) ۳۳	(۷۷/۲۱) ۳۹			
آلل	C	(۱۰/۲۹) ۷	(۶۱) ۶۱	۰/۰۰۱	۱۳/۶۳	۵/۶۵–۳۲/۸
	A	(۸۹/۷۰) ۶۱	(۳۹) ۳۹			

جدول ۲: توزیع فراوانی پلی‌مورفیسم HindIIIG در بیماران بتا تالاسمی ماژور و افراد کنترل در استان اصفهان

Hind IIIG		تعداد افراد تالاسمی ماژور(درصد)	تعداد افراد سالم (درصد)	p	OR	فاصله اطمینان (٪۹۵)
ژنوتیپ	C/C	(۳۷/۲۶) ۵۶	(۲۲/۷۹) ۱۱	۰/۱	۱	۰/۴۱–۱/۱۹
	A/C + A/A	(۶۲/۷۴) ۹۴	(۷۷/۲۱) ۳۹			
آلل	C	(۵۶/۰۱) ۱۶۸	(۶۱) ۶۱	۰/۶	۰/۹۲	۰/۶۳–۱/۳۲
	A	(۴۳/۹۹) ۱۳۲	(۳۹) ۳۹			

جدول ۳: توزیع فراوانی پلی‌مورفیسم HindIIIG در بیماران تالاسمی اینترمدیا و تالاسمی ماژور به عنوان گروه کنترل در جمعیت اصفهان

Hind IIIG		تعداد افراد ماژور (درصد)	تعداد افراد اینترمدیا (درصد)	p	OR (CI ٪۹۵)
ژنوتیپ	C/C(-/-)	(۳۷/۲۶) ۵۶	(۲/۹۴) ۱	۰/۰۰۰۹	۱۹/۶۵ (۲/۷–۱۴۷/۷)
	A/A(+/+)(-/+)A/C+	(۶۲/۷۳) ۹۴	(۹۷/۰۵) ۳۳		
آلل	C(-)	(۵۶/۰۱) ۱۶۸	(۱۰/۲۹) ۷	۰/۰۰۱	۱۱/۰۹ (۴/۹–۲۵)
	A(+)	(۴۳/۹۹) ۱۳۲	(۸۹/۷۰) ۶۱		

هم چنین افرادی که دارای حداقل یک آلل A می‌باشند افزایش چشمگیری در کاهش علائم بالینی نسبت به افراد دارای آلل C دارند(OR= ۹/۳۰ ، CI (٪۹۵) = ۱/۱۴–۷۵/۹ ، p= ۰/۰۱۴). فراوانی آلل A در تالاسمی ماژور ۴۳/۹۹٪ مشاهده شد اما ارتباطی بین آلل A و بیماری تالاسمی ماژور دیده نشد(جدول ۴).

بر اساس جدول ۳ ، مقایسه فراوانی پلی‌مورفیسم HindIIIG در بیماران تالاسمی اینترمدیا و تالاسمی ماژور به عنوان گروه کنترل، ارتباط معنادار این آلل با بیماری تالاسمی اینترمدیا تایید گردید.

میزان HbF با استخراج از پرونده بیماران(به روش الکتروفورز) و میانگین HbF بر حسب پلی‌مورفیسم HindIIIG طبق جدول ۴ مشخص شد. همان طور که در این جدول مشخص است، بیشترین مقدارHbF در بیماران بتا تالاسمی ماژور و در بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا در حالتی است که مکان پلی‌مورفیک HindIIIG به صورت هموزیگوت AA وجود داشته باشد.

با بررسی پلی‌مورفیسم HindIIIG در مطالعه حاضر، پیوستگی این پلی‌مورفیسم با پلی‌مورفیسم XmnI مورد بررسی قرار گرفت. پیوستگی نامتعادل بالایی بین دو مارکر ذکر شده در تالاسمی اینترمدیا مشاهده شد (D'=1). در بیماران تالاسمی اینترمدیا، ۷۷٪ افراد دارای آلل A

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-06]

پلی‌مورفیسم HindIIIG ، هم چنین واجد پلی‌مورفیسم(T)XmnI بودند. در بیماران بتا تالاسمی ماژور، ۲/۷۰٪ افراد دارای آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG و هم چنین واجد پلی‌مورفیسم (T)XmnI بودند. در بیماران بتا تالاسمی ماژور، ۵۸/۸٪ افراد دارای آلل C پلی‌مورفیسم HindIIIG و فاقد پلی‌مورفیسم (T)XmnI بودند و در بیماران تالاسمی اینترمدیا، ۸٪ افراد دارای آلل C پلی‌مورفیسم HindIIIG و فاقد پلی‌مورفیسم (T)XmnI بودند.

جدول ۴: میانگین درصد HbF بر حسب پلی‌مورفیسم HindIIIG در بیماران بتا تالاسمی ماژور و اینترمدیا در اصفهان(± نشان‌دهنده انحراف معیار است)

پلی‌مورفیسم HindIIIG	میانگین درصد HbF	
	ماژور	اینترمدیا
A/A	۹۶/۲ ± ۲	۸۹/۱ ± ۱۰
A/C	۹۳/۳ ± ۱۴	۸۶ ± ۱۰
C/C	۹۳/۱ ± ۹	۷۸ ± ۱۱

بحث

در مطالعه حاضر به بررسی پلی‌مورفیسم HindIIIG در اینترون دوم ژن $G\gamma$ در خوشه ژنی بتا گلوبین و ارتباط آن با میزان HbF و پیوستگی آن با پلی‌مورفیسم XmnI در ناحیه '۵ ژن $G\gamma$ در بیماران بتا تالاسمی ماژور و اینترمدیا در اصفهان پرداخته شد. پس از بررسی بر روی ۱۵۰ بیمار بتا تالاسمی ماژور، ۳۴ بیمار بتا تالاسمی اینترمدیا و ۵۰ فرد سالم، مشخص شد که ارتباط معناداری بین حضور آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG و بیماری تالاسمی اینترمدیا وجود دارد(p= ۰/۰۰۱). همان طور که در جداول ۳-۱ مشاهده می‌شود، فراوانی آلل A در تالاسمی اینترمدیا ۸۹/۷۰٪ و در تالاسمی ماژور ۴۳/۹۹٪ مشاهده شد، این اختلاف از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد. نتایج، گویای ارتباط چشمگیر آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG با بهبود علائم کلینیکی در تالاسمی اینترمدیا نسبت به تالاسمی ماژور بود. در بررسی ارتباط حضور آلل A این پلی‌مورفیسم و میانگین HbF ارتباط معناداری مشاهده نشد، ولی از نظر توصیفی، میانگین درصد HbF در بیماران بتا تالاسمی ماژور و اینترمدیا در حضور آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG، افزایش نشان داد. در بررسی پیوستگی بین پلی‌مورفیسم‌های HindIIIG و XmnI ، پیوستگی نامتعادل بالایی بین دو مارکر HindIIIG و XmnI مشاهده شد. وجود پلی‌مورفیسم XmnI در ۳۴ بیمار تالاسمی اینترمدیا مورد بررسی در این مطالعه، از پیش طی مطالعه متولی‌باشی و قاسمی تعیین شده بود(۱۷). بین آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG و آلل T پلی‌مورفیسم XmnI در بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا، پیوستگی بالایی مشاهده شد، علاوه بر این بین آلل‌های C این دو پلی‌مورفیسم در بیماران تالاسمی ماژور پیوستگی بالایی مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج همه مطالعه‌های صورت گرفته هم‌خوانی دارد. البته به دلیل مراجعه پایین بیماران تالاسمی اینترمدیا به بیمارستان برای تزریق خون و فراوانی کم این بیماران در میان بیماران تالاسمی بتا، جمع‌آوری نمونه خون و مطالعه بر روی این افراد کار بسیار سختی است. به همین دلیل مطالعه‌های اندکی بر روی افراد تالاسمی اینترمدیا وجود دارد.

در مطالعه‌های اندکی که تاکنون بر روی تالاسمی اینترمدیا انجام شده، نتایج مختلفی در رابطه با پلی‌مورفیسم HindIIIG حاصل شده است به صورتی که بین حضور آلل A این پلی‌مورفیسم و میزان HbF و تالاسمی اینترمدیا ارتباط مشاهده شده است. در مطالعه تین و همکاران بر روی جمعیت بیماران تالاسمی اینترمدیا و ماژور آسیایی، آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG در ۵۰٪ کروموزوم‌های بیماران تالاسمی اینترمدیا و تنها در ۱۱/۴٪ بیماران تالاسمی ماژور گزارش شد و ۶ نفر از ۱۴ بیمار تالاسمی اینترمدیا برای این آلل به صورت هموزیگوت بودند در حالی که تنها یک بیمار از ۴۲ بیمار تالاسمی ماژور برای این آلل هموزیگوت بود و این تفاوت‌ها از نظر آماری با اهمیت بود(p= ۰/۰۰۱). سطح HbF برای بیماران هموزیگوت AA و هتروزیگوت AC و هموزیگوت CC به ترتیب ۹/۸ g/dL، ۹/۲ g/dL و ۶/۸ g/dL گزارش شد. در مطالعه تین و همکاران بر روی جمعیت بیماران بتا تالاسمی ماژور و اینترمدیا ایتالیایی، ۱۲ بیمار از ۴۵ بیمار

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-06]

تالاسمی اینترمدیا برای حضور آلل A این پلی‌مورفیسم به صورت هموزیگوت بودند در حالی که ۳ بیمار از ۳۶ بیمار تالاسمی ماژور به صورت هموزیگوت AA بودند که این تفاوت از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد(p= ۰/۰۰۵). در بررسی پیوستگی بین پلی‌مورفیسم XmnI(T) و پلی‌مورفیسم HindIIIG مشاهده گردید که در همه کروموزوم‌هایی که آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG را دارند، پلی‌مورفیسم XmnI(T) حضور می‌یابد(۱۸). وجود HindIIIG(A) در بسیاری از جمعیت‌ها در ارتباط با جهش آنمی داسی شکل و جهش‌های متفاوت بتا تالاسمی اینترمدیا می‌باشد و با HbF افزایش یافته در ارتباط است (۲۰، ۱۹). در مطالعه کریستینا و همکاران بر روی تالاسمی اینترمدیا، بین HindIIIG(A) و وضعیت کلینیکی خفیف بیماری ارتباط مشاهده شد(۹).

گیلمن و هویسمن در مطالعه خود نشان دادند که تولید بالای زنجیره Gγ با حضور آلل HindIIIG(A) در ارتباط می‌باشد(۷). در مطالعه هارانو و همکاران، همه کروموزوم‌هایی که دارای HindIIIG(A) بودند، با سطح افزایش یافته زنجیره Gγ همراه بودند(۲۱). در مطالعه گالانلو و همکاران نتایج مشابهی گزارش شد(۲۲). در طی مطالعه‌ای که توسط عرب و همکاران در تهران بر روی بررسی مولکولی تالاسمی اینترمدیا صورت گرفت، در شایع‌ترین هاپلوتیپی که با بیماری تالاسمی اینترمدیا و سطح بالایی از HbF ارتباط داشت، پلی‌مورفیسم HindIIIG در این هاپلوتیپ به صورت هموزیگوت AA گزارش شد (۱۴).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر حضور یا عدم حضور محل پلی‌مورفیک HindIIIG در بیماران بتا تالاسمی ماژور و اینترمدیا در اصفهان و هم چنین ارتباط آن را با HbF مورد بررسی قرار داد. به طور کلی نتایج مطالعه کنونی نشان داد که آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG در اینترون دوم ژن $G\gamma$ در خوشه ژنی بتا گلوبین، با افزایش سطح HbF در بیماران بتا تالاسمی ماژور و اینترمدیا در اصفهان به علت ناشناخته‌ای در ارتباط است. یکی از علت‌های این امر می‌تواند پیوستگی‌اش با پلی‌مورفیسم XmnI در پروموتر ژن $G\gamma$ باشد. به هر صورت، در افراد با حضور آلل A پلی‌مورفیسم HindIIIG ، زمان نیاز به تزریق خون به تأخیر افتاده و از شدت علائم بالینی در این بیماران کاسته می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از مدیریت تحصیلات تکمیلی و پژوهشی دانشگاه اصفهان به خاطر حمایت‌های مالی و سهولت در اجرای این تحقیق و هم چنین از بیمارستان سیدالشهداء اصفهان بالاخص آقای دکتر حمید هورفر به خاطر در اختیار قرار دادن نمونه خون بیماران و اطلاعات پزشکی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

References :

1- Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. Orphanet J Rare Dis 2010; 5: 11.
2- Rahim F, Abromand M. Spectrum of ß-Thalassemia mutations in various Ethnic Regions of Iran. Pakistan Journal of Medical Sciences 2008; 24(3): 410-5.
3- Weatherall D, Clegg J. Thalassemia--a global public health problem. Nat Med 1996; 2(8): 847-9.
4- Taher A, Isma'eel H, Cappellini MD. Thalassemia intermedia: revisited. Blood Cells Mol Dis 2006; 37(1): 12-20.
5- Randolph TR. Pathophysiology of compound heterozygotes involving hemoglobinopathies and thalassemias. Clin Lab Sci 2008; 21(4): 240-8.
6- Gilman JG, Huisman TH. DNA sequence variation associated with elevated fetal G gamma globin production. Blood 1985; 66(4): 783-7.
7- Papachatzopoulou A, Kourakli A, Makropoulou P, Kakagianne T, Sgourou A, Papadakis M, *et al*. Genotypic heterogeneity and correlation to intergenic haplotype within high HbF beta-thalassemia intermedia. Eur J Haematol 2006; 76(4): 322-30.
8- Rosatelli MC, Oggiano L, Leoni GB, Tuveri T, Di Tucci A, Scalas MT, *et al*. Thalassemia intermedia resulting from a mild beta-thalassemia mutation. Blood 1989; 73(2): 601-5.
9- Thein SL, Menzel S, Lathrop M, Garner C. Control of fetal hemoglobin: new insights emerging from genomics and clinical implications. Hum Mol Genet 2009; 18(R2): R216-23.
10- Bank A. Regulation of human fetal hemoglobin: new players, new complexities. Blood 2006; 107(2): 435-43.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-06]

11- Schechter AN. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. Blood 2008; 112(10): 3927-38.
12- Palstra RJ, Tolhuis B, Splinter E, Nijmeijer R, Grosveld F, de Laat W. The beta-globin nuclear compartment in development and erythroid differentiation. Nat Genet 2003; 35(2): 190-4.
13- Liu LR, Du ZW, Zhao HL, Liu XL, Huang XD, Shen J, *et al*. T to C substitution at -175 or -173 of the gamma-globin promoter affects GATA-1 and Oct-1 binding *in vitro*differently but can independently reproduce the hereditary persistence of fetal hemoglobin phenotype in transgenic mice. J Biol Chem 2005; 280(9): 7452-9.
14- Arab A, Karimipoor M, Rajabi A, Hamid M, Arjmandi S, Zeinali S. Molecular characterization of β-thalassemia intermedia: a report from Iran. Mol Biol Rep 2011; 38(7): 4321-6.
15- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16(3): 1215.
16- Lee YJ, Park SS, Kim JY, Cho HI. RFLP haplotypes of beta-globin gene complex of beta-thalassemic chromosomes in Koreans. J Korean Med Sci 2002; 17(4): 475-8.
17- Motovali-Bashi M, Ghasemi T. Role of XmnIgG Polymorphism in Hydroxyurea Treatment and Fetal Hemoglobin Level at Isfahanian Intermediate β-Thalassemia Patients. Iran Biomed J 2015; 19(3): 177-82.
18- Thein S, Wainscoat J, Sampietro M, Old J, Cappellini D, Fiorelli G, *et al*. Association of thalassaemia intermedia with a beta-globin gene haplotype. Br J Haematol 1987; 65(3): 367-73.
19- Labie D, Pagnier J, Lapoumeroulie C, Rouabhi F, Dunda-Belkhodja O, Chardin P, *et al*. Common haplotype dependency of high G gamma-globin gene expression and high Hb F levels in beta-thalassemia and sickle cell anemia patients. Proc Natl Acad Sci U S A 1985; 82(7): 2111-4.
20- Miller BA, Salameh M, Ahmed M, Wainscoat J, Antognetti G, Orkin S, *et al*. High fetal hemoglobin production in sickle cell anemia in the eastern province of Saudi Arabia is genetically determined. Blood 1986; 67(5): 1404-10.
21- Harano T, Reese A, Ryan R, Abraham B, Huisman T. Five haplotypes in Black beta-thalassaemia heterozygotes: three are associated with high and two with low *Gγ* values in fetal haemoglobin. Br J haematol 1985; 59(2): 333-42.
22- Galanello R, Dessi E, Melis M, Addis M, Sanna M, Rosatelli C, *et al*. Molecular analysis of beta zero-thalassemia intermedia in Sardinia. Blood 1989; 74(2): 823-7.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-06]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2016; 13(2): 122-129

Original Article

Genetic diversity of HindIIIG polymorphism in second intron IVSII-I *Gγ* gene and its association with HbF level in β-thalassemia and intermedia thalassemia in Isfahan province

Motovali-Bashi M.[1], Sajadpour Z.[1], Ghasemi T.[1]

[1]*Biology Department, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran*

Abstract

Background and Objectives

Beta thalassemia is an autosomal recessive disease. The synthesis of HbF in patients with β-thalassemia seems to ameliorate the severity of symptoms.

Materials and Methods

In this case control study, 150 β-thalassemia major patients, 34 thalassemia intermedia patients, and 50 healthy individuals as the control were studied. HindIIIG polymorphism in IVSII-I *Gγ* gene was determined using RFLP-PCR method. HbF levels with electrophoresis method were taken from clinical files. Then, the linkage disequilibrium of this polymorphism with XmnI polymorphism in 5' *Gγ* gene was determined by D' Power Marker software.

Results

After data analysis, an association was observed between the A allele and thalassemia intermedia. In the dominant effect of the A allele (comparison between AA+AC vs. CC), AA+AC genotypes associates with intermedia thalassemia (p = 0.014, OR = 9.30, CI(95%) = 1.14-75.9) but there is no association with major thalassemia (p = 0.1, OR = 1, CI(95%) = 0.41-1.19). The means of HbF levels in β-thalassemia major and thalassemia intermedia patients were 94.3 g/dl and 84.4 g/dl, respectively. High linkage disequilibrium was seen between the two polymorphisms.

Conclusions

It is concluded that A allele may act as a dominant allele and increase disease amelioration. It showed that A allele of HindIIIG polymorphism has a positive effect on HbF level. Furthermore, the A allele of HindIIIG polymorphism is strongly correlated with T allele of XmII polymorphism in thalassemia intermedia patients and C allele of HindIIIG polymorphism is strongly correlated with C allele of XmnI polymorphism in β-thalassemia major.

Key words: beta-Thalassemia, Genetic Polymorphism, HBF, Thalassemia Intermedia

Received: 1 Feb 2015
Accepted: 20 Dec 2015

Correspondence: Motovali-Bashi M., PhD of Genetics. Associate Professor of Biology Department, Faculty of Sciences, University of Isfahan.
P.O.Box: 81746-73441, Isfahan, Iran. Tel: (+9831) 37932474; Fax: (+9831) 37932456
E-mail: *mbashi@sci.ui.ac.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-06]