Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.13, No.3, Autumn 2013, Pages 287-296

Prevalence of Co-Inheritance of Alpha-Thalassemia with Beta-Thalassemia and Beta-Hemoglobinopathy in Ahvaz City

Saki N[1], Dorgalaleh A[2], Kashani Khatib Z[2], Alizadeh Sh[2*], Rahim F[3], Galehdari H[4], Kaikhaei B[1], Pedram M[1], Dehghani Fard A[5]

[1] Research Center of Thalassemia and Hemoglobinopathies, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[2] Department of Hematology and Transfusion Medicine, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Toxicology Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[4] Departments of Genetics, Faculty of Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
[5] Department of Hematology and Blood Bank, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Corresponding author: Tel: +982186704715 Fax: +982188622533 E-mail: alizadehs@sina.tums.ac.ir

Received: 16 Nov 2012 Accepted: 19 Feb 2013

ABSTRACT

Background: Co-inheritance of hemoglobin gene defects is a rare important status that can lead to double heterozygote or homozygote with significant clinical manifestations. Such conditions can be observed in co-inheritance of alpha-thalassemia with beta-thalassemia or hemoglobinopathy. The aim of this study was to evaluate the prevalence of alpha-thalassemia with beta-thalassemia and hemoglobinopathy co-inheritance in a considerable number of Iranian.

Methods: This descriptive study was performed on patients with abnormal hematological findings in favor of alpha-thalassemia, beta-thalassemia or beta-hemoglobinopathies. Patients with low MCV and MCH levels and high HbA2 (>3.5) and those with low MCV and MCH and normal or low HbA2 were candidate for molecular analysis for beta and alpha thalassemia respectively. Abnormal Hb electrophoresis was diagnostic criteria for molecular analysis of beta-hemoglobinopathies.

Results: Study revealed that more than half of the patients with alpha-thalassemia affected simultaneously by beta-thalassemia and about thirty percent inherited beta-hemoglobinopathies. Among patients with beta-thalassemia, HbSCd6 (A-T) was the most common mutation and in alpha-thalassemic patients $\alpha^{3.7}$ was the commonest mutation.

Conclusion: Relatively high prevalence of co-inheritance of alfa-thalassemia with beta-thalassemia and hemoglobinopathies reflect the necessity of genetic consulting and molecular analysis in diagnosis of such conditions.

Keywords: Alfa-Thalassemia; Beta-Thalassemia; Hemoglobinopathy; Co-Inheritance

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

بررسی شیوع توارث همزمان آلفا تالاسمی با بتا تالاسمی و هموگلوبینوپاتی در شهرستان اهواز

نجم‌الدین ساکی[۱]، اکبر درگلاله[۲]، زهرا کاشانی خطیب[۲]، شعبان علیزاده*[۲]، فاخر رحیم[۳]، حمید گله داری[٤]، بیژن کیخایی[۱]، محمد پدرام[۱]، علی دهقانی فرد[۵]

[۱] مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران [۲]گروه هماتولوژی وعلوم انتقال خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران [۳]مرکز تحقیقات سم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران [٤]گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران [۵]گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱۸۶۷۰۷٤۱۵ فاکس: ۰۲۱۸۸۶۲۲۵۳۳ پست الکترونیک: alizadehs@sina.tums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: به ندرت ممکن است توارث همزمان بتاتالاسمی با آلفاتالاسمی و هموگلوبینوپاتی مشاهده شود که در برخی موارد این حالت می‌تواند باعث ایجاد هتروزیگوت‌های دوگانه یا هموزیگوت هایی با علائم بالینی شدید در فرزندان گردد. هدف مطالعه حاضر تعیین شیوع توارث همزمان آلفاتالاسمی با بتاتالاسمی یا بتاهموگلوبینوپاتی می‌باشد.

روش کار: مطالعه توصیفی حاضر بر روی جمعیت بزرگی از افراد که حدود ۶۰۰۰ نفر می باشند در شهرستان اهواز صورت گرفته است. شمارش کامل سلول‌های خونی، اندازه‌گیری HbA2 و الکتروفورز هموگلوبین برای شناسایی ناقلین تالاسمی و هموگلوبینوپاتی مورد استفاده قرار گرفته و همچنین HbA2 بالا (>۳/۵) به عنوان معیار تشخیصی استاندارد برای بتاتالاسمی و MCV و MCH پایین همراه با HbA2 نرمال یا کاهش یافته به عنوان معیار تشخیصی آلفاتالاسمی در نظر گرفته شد. در ادامه بیماران مشکوک به آلفا و یا بتا تالاسمی جهت تعیین نقص ملکولی عامل بیماری مورد بررسی ملکولی قرار گرفتند. همچنین افراد دارای الگوی الکتروفورزی هموگلوبین غیر طبیعی کاندید بررسی مولکولی برای بتاهموگلوبینوپاتی بودند.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاکی از این است که از بین ۶۰۰۰ نفر جمعیت مورد بررسی، ۱٤۱ بیمار به طور همزمان به آلفا تالاسمی یا بتاتالاسمی و یا آلفاتالاسمی با بتاهموگلوبینوپاتی مبتلا بودند. این تعداد شامل ۱۳ (۱۱/۱٪) جنین، ۵۵ (۳۸/۲٪) مرد و ۷۳ (۵۰/۷٪) نفر زن بود. از بین ۱٤۱ بیمار مبتلا به آلفاتالاسمی، ۹۲ نفر (۶۵/۲٤٪) ناقل بتا تالاسمی، ۳ نفر بتاتالاسمی ماژور (۲/۱۲٪)، ٤۳ (۳۰/٤۹٪) مورد بتاهموگلوبینوپاتی داشتند و ۳ (۲/۱۲٪) نفر مبتلا به هتروزیگوت دوگانه بتاتالاسمی و واریانت هموگلوبینوپاتی بودند. نتایج حاکی از وجود ۲۲ جهش شایع ژن بتاگلوبین بودکه در این میان ((HbS Cd6(A-T) شایع ترین جهش شناخته شده بود. در مورد آلفاتالاسمی $\alpha^{3.7}$ شایع ترین اختلال ژنی بود و سپس POLYA-1 در بین مردان وCD19 در میان زنان اختلالات شایع بعدی بودند.

نتیجه‌گیری: از آنجا که نتایج مطالعه حاضر، حاکی از این حقیقت است که ۳۰/٤۹٪ افراد مورد مطالعه دارای توارث همزمان آلفاتالاسمی و بتاهموگلوبینوپاتی که می‌تواند علائم بالینی مهمی را در پی داشته باشد بودند و همچنین تعداد قابل ملاحظه ای از بیماران ناقل بتاتالاسمی بوده که می‌تواند در صورت توارث همزمان با هموگلوبینوپاتی‌ها (به خصوص هموگلوبینوپاتی های S و E) علایم بالینی شدیدی را در پی داشته باشد، آزمایشهای غربالگری و بررسی های ملکولی در هنگام مشاوره ژنتیکی برای افراد مشکوک به این اختلالات باید مدنظر قرار گیرد. علاوه بر این، شناسایی افراد ناقل آلفا و بتاتالاسمی جهت ممانعت از صرف وقت و هزینه گزاف جهت شناسایی اتیولوژی آنمی ها و استفاده نا بجا از مکمل های آهن ضروری به نظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: آلفا تالاسمی، بتا تالاسمی، هموگلوبینوپاتی، توارث همزمان

دریافت: ۹۱/۸/۲۵ **پذیرش:** ۹۱/۱۱/۳۰

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

مقدمه

تالاسمی گروهی از اختلالات ارثی با توارث اتوزوم مغلوب بوده که با کاهش (+) یا عدم تولید (-) یک یا چند زنجیره گلوبین همراه می باشند. بسته به نوع زنجیره درگیر، تالاسمی به انواع α، β، εβ و غیره تقسیم می شود [۱].

اختلالات تالاسمی شایع ترین بیماری های ارثی تک ژنی در سراسر جهان می باشند به طوریکه حدود ۳٪ از کل جمعیت دنیا (۱۵۰ میلیون نفر)، تنها حامل ژن بتا تالاسمی می باشند. هر چند تالاسمی از بیش از ۶۰ کشور دنیا گزارش شده است اما بیشترین شیوع این اختلال در کمربند مالاریا خیز دنیا، شامل کشورهای حوزه مدیترانه، بخش‌هایی از غرب و شمال آفریقا، خاورمیانه، شبه قاره هند و جنوب شرق آسیا مشاهده شده است. ایران نیز جزءِ کشورهایی می باشد که بر روی کمربند مالاریا خیز واقع شده و با شیوع به نسبت بالای تالاسمی روبرو است [۵-۲].

تاکنون بیش از ۲۰۰ جهش نقطه ای مختلف و نیز موارد نادری از حذف ژنی در مورد ژن بتا و بیش از ۲۳ نقص ژنی متفاوت که مسئول ایجاد تالاسمی آلفا می‌باشند در سراسر جهان گزارش شده است. معمولا هر جمعیتی، دارای تعدادی جهش شایع تالاسمیک و نیز تعدادی جهش نادر خاص مربوط به جمعیت خود می باشد [۷،۶].

هر چند ژن بتا تالاسمی در جمعیت ایرانی شیوع بالایی دارد اما فراوانی آن در نواحی مختلف ایران کاملا متفاوت می‌باشد به طوریکه بالاترین شیوع آن در امتداد خطوط ساحلی شمال (دریای خزر) و جنوب (خلیج فارس) با میزان بیش از ۱۰٪ دیده می شود. این در حالی است که شیوع این اختلال در دیگر نواحی ایران بین ٤ تا ۸ درصد می باشد [۹،۸].

تاکنون بیش از ۵۰ جهش متفاوت مربوط به ژن بتا در سراسر ایران یافته شده است که این موضوع نشان دهنده ناهمگونی جمعیت ایران می باشد [۱۰-۸]. جهش های مختلف عامل بتا تالاسمی در ایران، دارای منشأ های متفاوتی همچون ایرانی، مدیترانه ای، کردی، ترکی، مصری، تونسی، هندی و چینی می باشند [۱۱].

آلفا تالاسمی که برخلاف نوع بتا در ایران بسیار نادر می‌باشد حاصل کاهش تولید زنجیره آلفا هموگلوبین می باشد. تولید زنجیره آلفای هموگلوبین توسط دو ژن موجود بر روی هرکدام از کروموزوم های شماره ۱۶ کنترل می شود [۱۲].

تولید ناقص زنجیره آلفا معمولا حاصل حذف یک (α α/-α) و یا هر دو (α α /--) ژن آلفا می باشد، هر چند در موارد نادری جهش های نقطه ای در مناطق حساس ژن ($\alpha1(\alpha\alpha^T)$ یا $\alpha2(\alpha^T\alpha)$ نیز می تواند آلفا تالاسمی (نوع غیر حذفی) را به همراه داشته باشد. شایع ترین حذف های ژنی شناخته شده مربوط به ژن آلفا شامل $-\alpha^{3.7}$، $-\alpha^{4.2}$، $--^{Med}$ و $-\alpha^{20.5}$ می باشند. علاوه بر این در موارد بسیار نادری، آلفا تالاسمی می تواند در نتیجه حذف عناصرتنظیمی ژن آلفا که MCS-R[1] نامیده می شوند ایجاد گردد [۱۲].

هموگلوبینوپاتی ها اختلالات کیفی ناهمگونی هستند که می توانند در اثر جهش هایی در هر یک از ژن های آلفا یا بتای هموگلوبین ایجاد شوند. این اختلالات عموما حاصل جهش های نقطه ای می باشند که موجب جایگزینی اسید آمینه ای جدید به جای اسید آمینه اصلی، و در نتیجه تغییر بار الکتریکی هموگلوبین و نیز تغییر حرکت الکتروفورتیک و ظهور علائم بالینی احتمالی آن می گردد. اغلب این اختلالات، در حالت هتروزیگوت فاقد علائم بالینی می باشند، در حالیکه اشکال هموزیگوت برخی از این هموگلوبین ها (مانند هموگلوبین S و E) علائم بالینی قابل ملاحظه ای را به همراه دارند [۱۳].

به صورت نادر ممکن است توارث همزمان آلفا تالاسمی با بتا تالاسمی یا هموگلوبینوپاتی ها مشاهده

[1] Multi-Species Conserved Sequences

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

شود. یافتن این هتروزیگوت های دوگانه به خصوص برای مشاوره ژنتیکی پیش از ازدواج و تشخیص پیش از تولد (PND)[1] از اهمیت بسزایی برخوردار است چرا که ازدواج این هتروزیگوت های دوگانه می تواند منجر به تولد هموزیگوت‌های کشنده تالاسمی گردد. علاوه بر این، برخی هتروزیگوتهای آلفا تالاسمی با هموگلوبینوپاتی، می تواند علائم بالینی مهمی را به همراه داشته باشد [۱۳].

همراهی بتا تالاسمی با HbS نیز موجب ایجاد نوعی سندرم داسی شونده با علائم بالینی متغیر می گردد و توارث جهش مربوط به HbE از یکی از والدین و جهش بتا تالاسمی از والد دیگر (HbE/β-thalassemia) می تواند حالت بالینی شبیه به بتا تالاسمی اینترمدیا یا ماژور ایجاد کند، همچنین این هتروزیگوت های دوگانه یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده تالاسمی با علائم بالینی شدید در سراسر جهان می باشد. توارث همزمان HbC و بتا تالاسمی نیزمی تواند ایجاد سندرمی با علائم بالینی متغیر نماید [۱۳،۱].

هدف مطالعه حاضر تعیین شیوع توارث همزمان آلفا و بتا تالاسمی یا هموگلوبینوپاتی در شهر اهواز به وسیله بررسی جهش های شایع بتا تالاسمی، آلفا تالاسمی و بتا هموگلوبینوپاتی ها می باشد.

روش کار

مطالعه حاضر به عنوان بخشی از برنامه ملی پیشگیری از تالاسمی بر روی ۶۰۰۰ بیمار و نیز تعدادی جنین که به منظور تشخیص ناقلین تالاسمی یا تشخیص پیش از تولد (PND) به مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی شهر اهواز مراجعه کرده بودند صورت گرفت. ابتدا تمامی مراجعه کنندگان فرم رضایت نامه را تکمیل کرده وسپس ٤ میلی لیتر خون در دو لوله جداگانه حاوی ضدانعقاد EDTA جمع آوری شد. یکی از نمونه‌ها جهت تعیین میزان هموگلوبین، شمارش گلبول قرمز، حجم متوسط سلولی (MCV) و متوسط هموگلوبین سلولی (MCH) توسط آنالیزور هماتولوژی (Sysmex KX21; Sysmex , Kobe, Japan) مورد استفاده قرارگرفت و نمونه دیگر جهت انجام الکتروفورز هموگلوبین به روش استات سلولز و اندازه گیری HbA2 با روش کروماتوگرافی ستونی در بیماران با MCH< ۲۷ pg MCV≤۸۰fl مورد استفاده قرار گرفت. هموگلوبین F نیز با کیت ها شرکت bio-Rad اندازه گیری شد.

کاهش MCV و MCH همراه با افزایش HbA2 (>۳/۵) شاخص تشخیصی استاندارد برای بتاتالاسمی مینور در نظرگرفته شد، در حالیکه بیماران با MCV و MCH کاهش یافته، همراه با HbA2 نرمال ناقل آلفاتالاسمی در نظر گرفته شدند. همچنین رنگ آمیزی حیاتی برای بررسی وجود اجسام هموگلوبین H به عنوان بخشی از آزمایشهای غربالگری بر روی بیماران مشکوک به آلفا تالاسمی انجام شد. افراد با MCV<۸۰ fl و MCH<۲۷pg وHb<۱۵/۳ g/dl برای مردان و Hb<۱٤g/dl برای زنها، کاندید بررسی مولکولی برای حضور جهش های تالاسمی بوده و افراد با الگوی الکتروفورزی غیر طبیعی (حضور واریانت های غیر طبیعی هموگلوبین) کاندید بررسی مولکولی برای هموگلوبینوپاتی ها بودند.

بررسی ملکولی ژن بتا گلوبین

ابتدا DNA بیماران با استفاده از کیت accuprep (BIONEER, S. Korea) از نمونه خون وریدی حاوی ضد انعقاد EDTA استخراج گردید.

بررسی با روش PCR-Reverse Dot-Blot (RDB)

واکنش زنجیره پلی مراز (PCR) روش RDB به عنوان یک روش غربالگری برای تعیین ناقلین بتا تالاسمی، براساس دستورالعمل سازنده کیت Vienna

[1] Pre Natal Diagnosis

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

(Lab GmbH, Vienna, Austria) مورد استفاده قرار گرفت. این کیت می تواند به طور همزمان ۲۲ جهش شایع ژن بتا گلوبین را با استفاده از Oligonucleotide Arrays Immobilized بر روی نوار آزمایش آشکار سازد. در RDB که به عنوان یک روش مستقیم برای شناسایی جهش های (determinant) تالاسمی استفاده می‌شود، توالی نرمال و جهش یافته با استفاده از پرایمر بیوتینیه شده[1] در واکنش زنجیره پلی‌مراز (PCR) تکثیر یافته و تگ شده، سپس هیبرید شده[2] تا نوار نیتروسلولز فیکس شود و در نهایت با استفاده از یک واکنش آنزیماتیک با بهره گیری از میل ترکیبی بیوتین-آویدین قابل رؤیت می‌گردد.

جهت تایید نتایج RDB از بررسی جهش مقاوم به تکثیر (ARMS) [3] بهره گرفته شد و برای جهش های ناشناخته از تعیین توالی ژن بتاگلوبین استفاده شد.

بررسی مستقیم توالی DNA

گام اصلی جهت بررسی وجود مارکرهای بتا تالاسمی و بتاهموگلوبینوپاتی، تعیین توالی ژن β گلوبین به صورت دو قطعه مجزا بود.

قطعه نخست که از نوکلئوتید ۱۱۰- بالا دست ژن تا بخش اول اینترون ۲ را در بر می‌گرفت با استفاده از پرایمرهای $forward_1$ 5'AACTCCTAAGCCAGTGCCAGAAGA3' و $reverse_2$ 5'CCCCTTCCTATGACATGAACTTAA3' تکثیر و تعیین توالی گردید. قطعه دوم ژن، شامل بخش انتهائی اینترون دوم تا قسمتی از پائین دست ژن بود با استفاده از جفت پرایمر $forward_2$ 5'CAATGTATCATGCCTCTTTGCACC3' و $reverse_2$ 5'CACTGACCTCCCACATTCCCTTTT3' تکثیر و تعیین توالی گردید. به طور کلی تکثیر و تعیین توالی ژن از نوکلئوتید ۱۱۰- (ناحیه ترجمه نشده'۵(5' UTR)) تا 3'UTR صورت می گرفت. مخلوط واکنش PCR شامل ۱۰۰ng DNA بیمار، ۲/۵ µL بافر PCR با غلظت ۱۰X، $MgCl_2$ ۱/۵ mM ، ۰/۲ mM از هر داکسی‌نوکلئوتید، ۰/٤ pmol/L از هر پرایمربوده و حجم نهائی به وسیله آب فاقد RNase و DNase به ۲۵ µL رسانده شد. برنامه PCR به وسیله سایکلر حرارتی (PCR express thermal cycler; Hybaid Ltd, Ashford, Middlesex, UK) صورت گرفت و برنامه شامل ۳ دقیقه حرارت ۹۵ درجه، ۳۰ سیکل دمایی که شامل ۳۰ ثانیه ۹۵ درجه، ۳۰ ثانیه ۵۹ درجه، ۳۰ ثانیه ۷۲ درجه، و در نهایت نیز ۵ دقیقه انکوباسیون در ۷۲ درجه بود و سرانجام محصول PCR در دو واکنش مجزا با استفاده از پرایمرهای بالا و با استفاده از ABI PRISMTM Big Dye Primer Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Fairlands, South Africa) بر اساس دستورالعمل سازنده کیت پروسس گردید و بر روی ABIPRISMTM 3700 sequencer (Applied Biosystems). بررسی صورت گرفت. تمام جهش‌های ژن بتا مانند Hb S, Hb C و.. با این روش ردیابی گردیدند. پس از تعیین توالی جهت تایید نتایج از RFLP [4] (هاپلوتایپینگ و ARMS استفاده شد که در اینجا شرایط PCR همان شرایط یاد شده فوق بود و پرایمرهای مربوطه نیز در جدولهای ۲ و ۳ آمده‌اند [۱].

هموگلوبینوپاتی ها

جهت تایید نتایج تعیین توالی، PCR-RFLP برای واریانت های شایع هموگلوبین مانند HbS، HbD و HbO^{Arab} مورد استفاده قرارگرفت. علاوه بر این در برخی موارد از کیت (Vienna lab. Austria) RDB[5] بهره گرفته شد.

[1] Biotinylated
[2] Hybridized
[3] Amplification Refractory Mutation System
[4] Restriction Fragment Length Polymorphism
[5] Reverse Dot Blot

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

بررسی مولکولی ژن آلفاگلوبین

در موارد کاندیدای بررسی آلفا تالاسمی، اولین گام استفاده ازکیت RDB (Vienna lab. Austria) بود. برای تشخیص جهش های نقطه‌ای هر دو ژن آلفا گلوبین (*HBA1* و *HBA2*) تکثیر و تعیین توالی شدند. علاوه براین، gap-PCR به صورت مولتیپلکس[1] برای تشخیص چهار حذف شایع یعنی $\alpha^{3.7}$-، $\alpha^{4.2}$-، ^{Med}-- و - $\alpha^{20.5}$ مورد استفاده قرارگرفت. همچنین RFLP به عنوان یک روش جهت بررسی دوگانه[2] هموگلوبین Constant Spring استفاده می‌شد.

بررسی DNA جنینی

برای تشخیص پیش از تولد، نمونه‌گیری ویلوس کوریون و مایع آمنیوتیک در سه ماهه نخست بارداری (هفته۱۲-۱۰) (توسط متخصص زنان و یا رادیولوژی) انجام شد. سپس برای حذف هرگونه آلودگی Deciduasmicroscopic Maternal Dissection انجام گرفت و DNA از نمونه به وسیله Accuprep Genomic DNA Extraction Kit (BIONEER, S. Korea) استخراج شد. در ابتدا نمونه جهت حصول اطمینان از فقدان آلودگی خون مادری بررسی شد.

پیش از تایید نتیجه تشخیص پیش از تولد، باید نتایج هماتولوژیک، فنوتیپ وژنوتیپ والدین در دسترس باشد. نمونه والدین و کنترل های مثبت ومنفی باید همواره در بررسی ها مورد استفاده قرار گیرند. روش اصلی مورد استفاده جهت تعیین جهش های مربوط به بتا تالاسمی برای هر یک از جنین ها، تعیین توالی ژن بتا گلوبین بود. روش Reverse (β-Globin Strip Assay kit, Vienna lab. Austria) dot blotting به عنوان یک روش پشتیبان[3] استفاده شد. برای تایید بیشتر نتایج از تکنیک هایی همچون ARMS و مطالعات linkage بهره گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه از بین ۶۰۰۰ نفر، ۳۵۶ زن، ۳۶۵ مرد و ۳۰۶ جنین از لحاظ وجود آلفا تالاسمی، بتا تالاسمی و بتا هموگلوبینوپاتی مورد بررسی قرار گرفتند. شاخص های خونی و نتایج الکتروفورز بدست آمده در جدول ۱ خلاصه شده اند (جدول ۱).

جدول ۱. یافته های مربوط به سن و شاخص های هماتولوژیک در بین زنان و مردان جامعه مورد مطالعه

	تعداد (میانگین ± انحراف معیار)	
	مرد	زن
سن	۵٤ (۲۹/٤۳ ±۵/۳٤)	۷۱(۲٤±۵/۵۲)
شمارش RBC (در یک میکرولیتر)	۵۵(۶/۰۱ ±۰/۸۲)	۷۱(۵/۲۸±۰/۷۳)
MCV (فمتو لیتر)	۵۵ (۷۰/٤۷±۷/۵۹)	۷۰(۶۷/٤۸±۸/٤٤)
MCH (پیکو گرم)	۵۵ (۲۱/۹۷ ±٤/۱٤)	۷۱ (۲۱/۹۷±۷/۵٤)
HbA1 (درصد)	۵٤(۸٤/۲۹±۱۷/۵۸)	۶۹(۸۰/۳۳±۲۶/۳۵)
HbA2 (درصد)	۵۵(٤/۱۳±۱/٤۷)	۷۰(٤/۹۵±۶/۶۸)
HbF (درصد)	۵٤(۰/۹±۱/٤۶)	۶۹(۱/۹۹±۵/۲۹)
سایر هموگلوبین‌ها (درصد)	۱۶(۳۷/۶۵±۱۱/۸۲)	۱۸ (٤۸/۷۲±۲۷/٤۱)

در ابتدا افرادی که بر اساس یافته های دستگاه شمارشگر سلولی، الکتروفورزهموگلوبین و مقادیر HbA2، مشکوک به بتا تالاسمی مینور بودند به وسیله هیبریدیزاسیون معکوس[4] برای وجود ۲۲

[1] Multiplex
[2] Double Check
[3] Backup
[4] Reverse Hybridization

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

جهش شایع بتا گلوبین، تعیین توالی[1] کردن کامل ژن بتا گلوبین، ARMS-PCR و بررسی linkage مورد بررسی کامل قرار گرفتند. نتیجه بررسی های فوق، دستیابی به ۳۱ جهش شایع ژن بتا گلوبین بود.از بین افراد مورد بررسی ۷۴۱ نفر ناقل بتاتالاسمی و ۱۲۶ نفر مبتلا به بتاتالاسمی ماژور تشخیص داده شدند.

شایع ترین جهش ژن بتا گلوبین در بین زن و مرد HbS Cd6(A-T) بود و پس از این جهش در بین مردان جهش IVSII-1(G>A) و در میان زنان جهش CD36/37 (−T) از شیوع بیشتری برخوردار بود. این سه جهش که مجموعا در برگیرنده ۴۶٪ جهش‌های ژن بتا گلوبین بودند به ترتیب شیوعی برابر با ۲۴٪، ۱۱٪ و ۱۰/۹٪داشتند. شایع ترین فنوتیپ مشاهده شده بین زن و مرد فنوتیپ ناقل بود (جدول۲). بین پراکندگی جهش‌های ژن بتاگلوبین وجنسیت جامعه مورد مطالعه اختلاف معنی داری وجود نداشت (CI=۰/۹۵، P=۰/۷۳۷).

جدول ۲. فراوانی فنوتیپ های مربوط به ژن بتا مشاهده شده در بین جمعیت زن و مرد

فنوتیپ های ژن بتا	جنسیت	
	مرد	زن
SILENT	۵۲(٪۵۷/۱)	۳۶(٪۳۹/۶)
CARRIER	۱(٪۱/۱)	-
ICARIA SILENT	۱(٪۱/۱)	۱(٪۱/۱)
تعداد کل	۵۴(٪۵۹/۳)	۳۷(٪۴۰/۷)

در مورد ژن آلفا گلوبین شایع ترین جهش یافت شده ابتدا ۳/۷ و سپس در بین زنان POLY-A و برای مردان CD19 بود (جدول۳).

جدول ۳. فراوانی فنوتیپ های مربوط به ژن آلفا مشاهده شده در بین جمعیت زن و مرد

فنوتیپ های ژن آلفا	جنسیت	
	مرد	زن
SILENT	۵۷(٪۴۴/۵)	۴۶(٪۳۵/۹)
CARRIER	۱۴(٪۱۰/۹)	۸(٪۶/۲)
ICARIA SILENT	-	۱(٪۰/۸)
CS SILENT	۲(٪۱/۶)	-
تعداد کل	۷۳(٪۵۷/۰)	۵۵(٪۴۳/۰)

بین پراگندگی جهش های ژن آلفا و جنسیت افراد مورد مطالعه اختلاف معنی داری وجود نداشت (CI=۰/۹۵ ،p=۰/۲۸۷).

از بین ۶۰۰۰ نفر جمعیت مورد مطالعه، ۱۴۱ نفر به طور همزمان به آلفا و بتاتالاسمی و یا آلفاتالاسمی و بتاهموگلوبینوپاتی مبتلا بودند. این موارد شامل ۱۳ جنین (٪۱۱/۱)، ۵۵ نفر مرد (٪۳۸/۲) و۷۳ نفر زن (٪۵۰/۷) بودند. از بین ۱۴۱ نفر بیمار مبتلا به آلفا تالاسمی، ۹۲ نفر (٪۶۲/۲۴) به طور همزمان ناقل بتا تالاسمی بودند، ۳ مورد (٪۲/۱۲) مبتلا به بتاتالاسمی ماژور بوده و ۴۳ نفر (٪۳۰/۴۹) دچار بتاهموگلوبینوپاتی (Hb S, G , D, E) نیزبودند (جدول۴).

جدول ۴. پراکندگی موتاسیون های بتا هموگلوبینوپاتی ها در بین جمعیت زن و مرد تحت مطالعه

	جنسیت	
	مرد	زن
HbS CARR	۱۳(٪۳۳/۳)	۱۵(٪۳۸/۵)
HbS AFFE	۲(٪۵/۱)	۱(٪۲/۶)
HbD CARR	۴(٪۱۰/۳)	۲(٪۵/۱)
HbE CARR	۱(٪۲/۶)	-
HbG CARR	۱(٪۲/۶)	-
تعدادکل	۲۱(٪۵۳/۸)	۱۸(٪۴۶/۲)

همچنین ۳ فرد مبتلا به آلفاتالاسمی (٪۲/۱۲) علاوه بر بتا تالاسمی دارای یک واریانت هموگلوبین نیز بودند (جدول ۵).

شایع ترین ترین جهش مشاهده شده ژن بتا در کل جمعیت تحت مطالعه مربوط به HbS بود. بررسی آماری اختلاف معنی داری را بین پراکندگی دیگر جهش های ژن بتا و جنسیت جمعیت مورد بررسی نشان نداد (CI=۰/۹۵، P=۰/۷۳۷).

از ۹۹ فرد با جهش ۳/۷، به عنوان شایع ترین نقص ژنی آلفاگلوبین، ٪۸۴/۶۰ موارد دارای الگوی فنوتیپ silent و ٪۱۵/۲ دارای الگوی فنوتیپ carrier بودند. الگوی فنوتیپی مشابهی در مورد جهش ۱- POLYA مشاهده شد. در مورد جهش ۴/۲، تمام ۶ بیمار

[1] DNA Sequencing

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

دارای الگوی فنوتیپی Silent بودند. اغلب جهش های آلفاگلوبین، همراه با الگوی جهش‌های حامل HbS (Carrier) بودند. توارث همزمان جهش‌های ژن آلفا و بتا گلوبین در جدول ۶ آمده است.

جدول ۵. ژنوتیپ و یافته های هماتولوژیک سه فرد آلفا تالاسمی با هتروزیگوت دو گانه برای بتا تالاسمی و بتا هموگلوبینوپاتی

مورد	جنس	سن (سال)	MCV (ft)	MCH (pg)	HbF (%)	HbA1 (%)	HbA2 (%)	ژنوتیپ آلفا	ژنوتیپ بتا
۱	جنین	-	-	-	-	-	-	$-\alpha^{anti\ 3.7}/\alpha\alpha$	$\beta^{IVS\ I\text{-}110}/\beta^{CD121}$
۲	F	۳۸	٤۳/۲	۱۲/۸	۸/٤	۰	-	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	$\beta^{CD36\text{-}37}/\beta^{CD26}$
۳	F	۲۲	۶۰/٤	۱۹/٤	۰	۰	۲/۸	$-\alpha^{CD19}/\alpha\alpha$	$\beta^{IVSII\text{-}1}/\beta^{CD121}$

جدول ۶. توارث همزمان برخی از موتاسیون های آلفا تالاسمی و بتاتالاسمی

جهش‌های ژن بتا	جهش‌های ژن آلفا													
		3.7	POLYA -1	4.2	CD19	3.7, ANTI 3.7	3.7, 4.2	IVSI-5nt	MED	ANTI 3.7	CD 142	3.7, MED	CD59	3.7,CD1	POLY A(A)
	CD36-37	۹(٪۶/٤)		۳(٪۲/۱)					۱(٪۰/۷)	۱(٪۰/۷)			۱(٪۰/۷)		
	CD-6 HbS	۲۲(٪۱۵/۶)	۵(٪۳/۵)	۱(٪۰/۷)	۱(٪۰/۷)	۱(٪۰/۷)	۲(٪۱/٤)	۱(٪۰/۷)	۲(٪۱/٤)		۱(٪۰/۷)	۱(٪۰/۷)			
	IVSII-1	۱۳(٪۹/۲)	۱(٪۰/۷)		۱(٪۰/۷)										
	bata -88	۵(٪۳/۵)												۱(٪۰/۷)	
	IVSI-110	۷(٪۵/۰)	۱(٪۰/۷)								۲(٪۱/٤)				
	IVSI-5	٤(٪۲/۸)			۱(٪۰/۷)										
	5UTR+47	۱(٪۰/۷)	۱(٪۰/۷)												
	IVSI-1	۲(٪۱/٤)			۱(٪۰/۷)										
	CD-121 H	۱(٪۰/۷)				۱(٪۰/۷)				۲(٪۱/٤)					
	CD5	۱(٪۰/۷)	۱(٪۰/۷)												
	IVSI-24D	۳(٪۲/۱)		۲(٪۱/٤)	۱(٪۰/۷)						۱(٪۰/۷)				
	IVSII-84	۱(٪۰/۷)													۱(٪۰/۷)

بحث

تالاسمی اختلالی شایع بوده که دارای الگوی توارث مختلف می باشند. این اختلالات ژن هموگلوبین را درگیر کرده منجر به کاهش تولید زنجیره گلوبین هر چند افزایش HbA2 مارکر تشخیصی اصلی برای بتا تالاسمی بود اما برخی بیماران مبتلا به بتا تالاسمی با وجود MCV و MCH کاهش یافته، دارای میزان طبیعی و یا کاهش یافته HbA2 بودند. توارث هتروزیگوت دوگانه بتا و دلتا تالاسمی، بتا تالاسمی حذفی[1] و یا توارث همزمان آلفا وبتا تالاسمی می تواند منجر به سطوح کاهش یافته یا طبیعی HbA2 گردد. در این مطالعه ۹ نفر با توارث همزمان آلفا و بتاتالاسمی و مقادیر طبیعی یا کاهش یافته HbA2، ۳۲ نفر دارای توارث همزمان آلفا و بتا تالاسمی و یک بیمار دارای توارث همزمان آلفاتالاسمی، بتا تالاسمی و هموگلوبینوپاتی بودند.

می شوند بر حسب نوع زنجیره این گروه از اختلالات به انواع متعددی شامل آلفا، بتا و غیره تقسیم بندی می شوند [۱]. اکثر موارد بتا تالاسمی در اثر جهش های نقطه ای ایجاد می شود به طوری که تا کنون بیش از ۲۰۰ جهش نقطه ای در مورد بتا تالاسمی و بیش از ۲۳ نقص مولکولی متفاوت مسئول ایجاد آلفا تالاسمی گزارش شده است.

هموگلوبینوپاتی‌ها نیز اختلالات مربوط به ژن های گلوبین می باشند که می‌توانند در اثر جهش‌هایی در هر یک از ژن های آلفا و بتاگلوبین ایجاد شوند [۷،۶]. در برخی افراد ممکن است نقایص ژنی مربوط به تالاسمی و هموگلوبینوپاتی به طور همزمان به ارث برسند که در بسیاری موارد همراه با فنوتیپ شدید همراه بوده و لذا در مشاوره ژنتیکی و برنامه های

[1] Deletional

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

تشخیص پیش از تولد از اهمیت بسزایی بر خوردار است [۱۳].

همانند بسیاری دیگر از کشورهای حوزه مدیترانه، ایران نیز دارای شیوع بالای تالاسمی وهموگلوبینوپاتی می‌باشد. هر چند آلفاتالاسمی شایع ترین نقص ژنتیکی می‌باشد اما اکثر مطالعات بر روی بتاتالاسمی متمرکز شده است. هر چند فراوانی تالاسمی و هموگلوبینوپاتی وطیف جهش‌های مربوطه در بخش‌های مختلف ایران گزارش شده است مطالعه حاضر در نظر دارد توارث همزمان این اختلالات را مورد بررسی قراردهد. علاوه بر این در این مطالعه ماطیف وسیعی از جهش‌ها را در جمعیتی قابل ملاحظه طی ۱۶ ماه مورد بررسی قراردادیم.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد از ۶۰۰۰ فرد مورد مطالعه، ۱٤۱ نفر به طور همزمان به آلفاتالاسمی و بتاتالاسمی و یا آلفاتالاسمی و بتاهموگلوبینوپاتی مبتلا بودند ۶۵/۲٤٪ افراد مبتلا به آلفاتالاسمی به بتاتالاسمی و ۳۰/٤۹٪ به بتاهموگلوبینوپاتی مبتلا بودند. از بین جهش های مربوط به آلفاتالاسمی جهش ۳/۷ شایع ترین جهش یافت شده می‌باشد که این موضوع با بسیاری از مطالعات دیگر انجام شده در سطح منطقه یا کشور تطابق دارد [۱۶-۱٤].

در مورد ژن بتاگلوبین شایع ترین جهش یافت شده جهش HbS یا Cd6(A-T) بود هر چند دیگر مطالعات، جهش CD36/37 (−T) را به عنوان شایع ترین جهش منطقه معرفی کرده‌اند که بر اساس مطالعه ما این جهش دومین جهش شایع در میان جمعیت زنان مورد مطالعه تشخیص داده شد و IVSII-1(G>A) دومین جهش شایع در بین مردان بود. مشابه دیگر مطالعات، نتایج بررسی حاضر حاکی از این است که HbS شایع ترین جهش این بخش جنوبی از کشور می باشد [۱۷].

مطالعات پیشین نیز حاکی از ضرورت استفاده از روش های ملکولی برای تشخیص دقیق هتروزیگوت های دوگانه در زوجینی می‌باشد که آزمایشات هماتولوژیک آنان شک به وجود توارث همزمان آلفا و بتاتالاسمی را برمی انگیزد [۱۵]. مطالعه ای مشابه که به بررسی ارتباط بین بتا تالاسمی و آلفا تالاسمی پرداخته است پیشنهاد به استفاده از مشاوره ژنتیکی و تشخیص پیش از تولد برای تشخیص بیماران با توارث همزمان کرده است و آگاهی از الگوی جهش های منطقه را نه تنها عاملی برای کاهش هزینه های غربالگری دانسته بلکه آن را موجب پیشگیری از تولد نوزادان مبتلا به تالاسمی دانسته است [۱۶].

نتیجه گیری

از آنجا که نتایج مطالعه حاضر، حاکی از این حقیقت است که ۳۰/٤۹٪ افراد مورد مطالعه دارای توارث همزمان آلفاتالاسمی و بتاهموگلوبینوپاتی که می‌تواند علائم بالینی مهمی را در پی داشته باشد بودندو همچنین تعداد قابل ملاحظه ای از بیماران ناقل بتاتالاسمی بوده که می‌تواند درصورت توارث همزمان با هموگلوبینوپاتی‌ها (به خصوص هموگلوبینوپاتی های S و E) علایم بالینی شدیدی را در پی داشته باشد، آزمایشهای غربالگری و بررسی های ملکولی در هنگام مشاوره ژنتیکی برای افراد مشکوک به این اختلالات باید مدنظر قرار گیرد. علاوه بر این، شناسایی افراد ناقل آلفا و بتاتالاسمی جهت ممانعت از صرف وقت و هزینه گزاف جهت شناسایی اتیولوژی آنمی ها و استفاده نا بجا از مکمل های آهن ضروری به نظر می‌رسد.

References

1- Langlois S, Ford JC, Chitayat D, Desilets VA, Farrell SA, Geraghty M, et al. Carrier screening for thalassemia and hemoglobinopathies in Canada. J Obstet Gunaecal Can. 2008 Jun; 30(10): 950.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]

2- da Luz JA, Sans M, Kimura EM, Albuquerque DM, Sonati MDF , Costa FF. α-thalassemia, HbS, and β-globin gene cluster haplotypes in two Afro-Uruguayan sub-populations from northern and southern Uruguay. Genetics and Molecular Biology. 2006 Jan; 29(4): 595-600.
3- Rachmilewitz EA, Giardina PJ. How I treat thalassemia. Blood. 2011 Sep;118(13):3479-88.
4- Habibzadeh F, Yadollahie M, Merat A, Haghshenas M. Thalassemia in Iran; an overview. Arch Irn Med. 1998 Sep; 1(1): 27-33.
5- Naderi M, Shamshiri H, Alizadeh S, Dorgalaleh A, Manafi R, Tabibian S. Cutaneous and mucosal manifestations in patients with beta major thalassemia. Dermatology and Cosmetic. 2013 Dec; 4(1): 27-33.
6- Jahantigh M, Naderi M, Dorgalaleh A, Tabibian S. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance test in thalassemia major patients. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2013 May: 29-31.
7- Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. Deutsches Arzteblatt International. 2011 Oct; 108(31-32): 532.
8- Rahim F, Aberumand M. Spectrum of ß-thalassemia mutations in various Ethnic Regions of Iran. Pakistan journal of medical sciences. 2008 May; 24(3):410.
9- Akhavan-Niaki H, Derakhshandeh-Peykar P, Banihashemi A, Mostafazadeh A, Asghari B, Ahmadifard M-R, et al. A comprehensive molecular characterization of beta thalassemia in a highly heterogeneous population. Blood Cells, Molecules, and Diseases. 2011 Sep;47 (1): 29-32.
10- Yavarian M, Harteveld CL, Batelaan D, Bernini LF, Giordano PC. Molecular spectrum of beta-thalassemia in the Iranian. Province of Hormozgan. Hemoglobin. 2001 Feb;25(1):35-43.
11- Haghshenas M ZJ. Thalassemia. (1st ed). Shiraz: Shiraz University of Medical Sciences Publishing Center. [Book in Persian]. 1997 Oct.
12- Harteveld CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia. Orphanet J Rare Dis. 2010 Apr; 5: 13.
13- Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. Clinical Chemistry. 2000 Aug; 46(8): 1284-90.
14- Harteveld C, Yavarian M, Zorai A, Quakkelaar E, Van Delft P, Giordano P. Molecular spectrum of α-thalassemia in the Iranian population of Hormozgan: Three novel point mutation defects. American journal of hematology. 2003 Dec; 74(2): 99-103.
15- Zandian K, Nateghi J, Keikhaie B, Pedram M, Hafezi-Nejad N, Hadavi V, et al. α-Thalassemia mutations in khuzestan province, southwest Iran. Hemoglobin. 2008 Aug; 32(6): 546-52.
16- Sarookhani MR, Asiabanha M. Spectrum of α-thalassemia mutations in Qazvin province, Iran. African Journal of Biotechnology. 2011 Oct; 10(77): 17690-4.
17- Rahim F, Keikhani B, Aberumand M. Prenatal Diagnosis (PND) of β-thalassemia in the Khuzestan province, Iran. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2007 Jan; 1(6): 454-9.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-04-05]