فراوانی جهش های ژن بتا گلوبین در بیماران بتا تالاسمی ماژور مراجعه کننده به بیمارستان شفای اهواز

حمید گله داری[*1]، مهناز بابا احمدی[**]، بهناز اندشتی[***]، محمد پدرام[****]، خدامراد زندیان[****]

چکیده

هدف: کاهش سنتز هموگلوبین از ویژگی های بتا تالاسمی می باشد. تا کنون بیش از ۲۰۰ جهش در ژن کد کننده بتا گلوبین شناسایی شده است. بتا تالاسمی از بیماری های تک ژنی رایج در جهان و رایج ترین بیماری ارثی در ایران محسوب می شود. با توجه به جمعیت چند قومیتی ایران، انتظار می رود طیف وسیعی از موتاسیون ها در این کشور وجود داشته باشد. فراوانی ژنی بتا تالاسمی در ایران بالا بوده و از نظر نوع نیز تفاوت های قابل ملاحظه ای بین مناطق مختلف وجود دارد. به همین دلیل لازم است تا فراوانی و انتشار جهش ها در قسمت های مختلف کشور تعیین شود.

روش بررسی: پس از جمع آوری اطلاعات و نمونه گیری از ۲۰۲ بیمار بتا تالاسمی ماژور، DNA ژنومی از خون آنها استخراج و پس از تکثیر ژن بتاگلوبین با پرایمرهای تخصصی، طول کامل ژن تعیین توالی شد.

یافته ها: طبق نتایج حاصل از تعیین توالی، جمعاً 29 نوع جهش در ۴۰۴ آلل بررسی شده تشخیص داده شد که جهش IVSII-1(G>A) با ۲۱/۳درصد فراوانی شایعترین جهش در این بررسی می باشد و جهش های IVSI-110(G>A) با ۱۷/۸درصد، جهش cd36/37(-T) با ۱۶درصد، جهش IVSI-5(G>C) با ۶/۹درصد و جهش cd5(-CT) با ۵/۲درصد به ترتیب جهش های شایع بعدی بودند.

نتیجه گیری: یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که جهش‌های بتاتالاسمی در جمعیت استان خوزستان تنوع و توزیع گسترده ای دارند و این نتایج در تشخیص‌های پیش از تولد و برنامه‌های غربالگری کاربرد بسیاری خواهد داشت.

م ع پ ۱۳۸۷؛ ۷ (۴): ۴۹۵-۵۰۲

کلید واژگان: بتا تالاسمی ماژور، بتاگلوبین، جهش های ژنی، تعیین توالی DNA

مقدمه

هموگلوبین از پروتئین های درون سلولهای قرمز خون است که اکسیژن را به همه قسمت های بدن می رساند. در بیماری تالاسمی ماژور علائم در دو سال اول زندگی ظاهر می شوند. کودک اغلب رنگ پریده و دچار یرقان مزمن است (۱). کبد، طحال و قلب بزرگ می شوند و استخوانها نازک و شکننده شده و نارسایی قلبی و عفونت ممکن است موجب مرگ کودک شوند. نوجوانان تأخیر در بلوغ جنسی خواهند داشت (بلوغ دیررس) و نیاز به دریافت خون منظم و مراقبت های ویژه پزشکی دارند (۲). به طور عمده جهش در ژن بتا گلوبین موجب بیماری بتا تالاسمی شده که طی آن توانایی فرد در تولید هموگلوبین مختل می گردد (۳).

*دانشیار،ژنتیک دانشکده علوم دانشگاه شهیدچمران اهواز، و عضو مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

** کارشناس ارشد هماتولوژی، مجتمع پزشکی گروه ملی فولاد و عضو مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

*** کارشناس ژنتیک دانشگاه شهید چمران اهواز

****استاد دانشگاه پزشکی و عضو مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

۱- نویسنده مسؤل: Email: galehdari187@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۱۰/۱۳ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۷/۷/۸ اعلام قبولی: ۱۳۸۷/۸/۲۸

Archive of SID

www.SID.ir

ژن بتا گلوبین یکی از زیر واحد های هموگلوبین بنام زنجیره بتا را تولید می کند. جهش های ژن بتا گلوبین که منجر به کاهش تولید زنجیره های بتا می شود تعادل زنجیره های ساخته شده گلوبین را به هم می زند. به علت کمبود یک زنجیره مکمل تنها باقی می ماند ودر گلبول قرمز رسوب کرده و در نهایت کم خونی هیپوکروم-میکروسیت ایجاد می کند (۴). کاهش یا عدم تولید زنجیره بتا در نتیجه جهش در ژن بتا گلوبین بسته به نوع جهش و اینکه در چه منطقه ای از ژن رخ داده باشد ، اثرات متفاوتی بر تولید زنجیره بتا دارد (۵). بطورکلی میتوان جهش های ایجادکننده بتاتالاسمی را به دو دسته تقسیم کرد: حذفهای بزرگ ژنی و جهش های نقطه ای(۶).

آلل‌های β^+ تالاسمی (کاهش تولید زنجیره‌ی بتاگلوبین) در اثر جهش در ناحیه پروموتر ژن (جعبه های TATA یا ناحیه CACCC)، سیگنال‌های پلی آدنیلاسیون، منطقه ترجمه نشده ′۵ یا ′۳ ، یا اختلال در پردازش ژن تولید می‌شوند. تالاسمی های ترکیبی (دلتا-بتاتالاسمی و گامادلتا- بتاتالاسمی) در نتیجه حذف‌های وسیع در ژن بتاگلوبین رخ می‌دهند(۶). بتاتالاسمی همچنین در اثر خذف ناحیه LCR (ناحیه کنترلی لوکوس) رخ می‌دهد در حالیکه ساختار ژن بتاگلوبین کاملاً طبیعی می‌باشد(۷). در موارد نادر نیز اختلالات بتاتالاسمی در خارج از ناحیه ژن بتاگلوبین واقع شده است(۸). جهش های خاموش که علایم هماتولوژیکی ندارند و فقط از طریق عدم تعادل مختصر در نسبت سنتز زنجیره‌های آلفا به بتا مشخص می‌شوند، در نتیجه جهش هایی در جعبه CACCC ، ناحیه ترجمه نشده ′۵ ، سیگنال‌های پلی آدنیلاسیون و برخی اختلالات در پردازش ژن بتاگلوبین رخ می‌دهند (۶).

مطالعاتی که از حدود سال ۱۳۷۰ تاکنون درایران انجام گرفته تقریبا جهش های شایع را مشخص نموده است. اکثر این جهش ها منشا مدیترانه ای، خاورمیانه و هندی آسیایی دارند(۹). لازم به ذکر می‌باشد که روش‌های رایج برای تشخیص این جهش‌ها، متمرکز بر شایع ترین آنهاست که فقط کمتر از ۲۰ جهش را در بر می‌گیرد (۱۰). این تکنیک‌ها از قبیل ARMS، ASO ، Reverse dot blot و RFLP می‌باشد که هر کدام از آنها، قابلیت شناسایی فقط بخشی از جهش ها را دارند(۶). در این مطالعات، نوع جهش در تعدادی از بیماران و ناقلین ناشناخته باقی مانده که این میزان حدود۱۰ تا ۳۰ درصد موارد را شامل میشود (۱۰) و در روند تشخیص قبل از تولد می تواند مشکل ساز شود. لذا برای رسیدن به وضعیت مطلوب در این زمینه و تشخیص حاملین بیماری، شناسایی تمامی جهش های شایع عامل بیماری در هر منطقه یک پیش نیاز اساسی است. روش direct sequencing شناسایی تمامی موتاسیونهای موجود در ژن بتا گلوبین را ممکن می سازد (۶) که به همین جهت در بررسی حاضر نیز این روش مورد استفاده قرار گرفت.

روش بررسی

جمع آوری نمونه: نمونه ها از خون وریدی مربوط به بیماران تالاسمی ماژور مراجعه کننده به بیمارستان شفای اهوازجمع آوری شد. در این میان ۱۰۰ نمونه (۴۹.۵ درصد) مربوط به جمعیت عرب و ۱۰۲ نمونه (۵۰.۵ درصد) به جمعیت غیرعرب بود. روش بیماریابی از نوع غیراحتمالی آسان بوده و از هر بیمار ۵ میلی لیتر خون وریدی حاوی ضد انعقاد EDTA جمع آوری گردید. نمونه های خون در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد جهت استخراج ژنوم نگهداری شدند. محدوده ی سنی بیماران بین ۱ تا ۳۴ بود و از این تعداد ۱۱۱ نفر مذکر و ۹۱ نفر مؤنث بودند.

استخراج ژنوم: استخراج ژنوم از سلولهای سفید خون بیماران و با استفاده از کیت استخراج شرکت ژن فناوران انجام شد. در این کیت از گوانیدین تیوسیانات به

Archive of SID

www.SID.ir

عنوان عامل لیزکننده سلولی و از ذرات سیلیکون به عنوان جاذبDNA در مخلوط حاصل از لیزسلولی استفاده گردید. محصول ژنوم بدست آمده تا زمان انجام واکنش زنجیره ای پلیمرازی در دمای۲۰- نگهداری گردید. کلیه مراحل استخراج ژنوم در شرایط استریل و طبق دستورالعمل کیت انجام شد.

واکنش زنجیره ای پلیمرازی (PCR): این واکنش درمیکروتیوب ۰.۲ میکرولیتر و در حجم ۲۵ میکرولیتر در ۳۵ سیکل متوالی با شرایط دمایی : ۹۰ درجه ۳۰ ثانیه، ۵۴ درجه ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه ۳۰ ثانیه صورت گرفت. به کمک PCR ژن بتاگلوبین در یک قطعه با طول ۱۸۲۴ جفت باز تکثیر شد. جهت طراحی پرایمرها از نرم افزار primer 3out و طبق توالی DNA الگوی مرجع از بانک ژن NCBI استفاده شد. در جدول یک توالی پرایمرها آورده شده است. همچنین در هر واکنش PCR از یک نمونه کنترل منفی نیز استفاده شد. کنترل منفی عدم آلودگی واکنش گرها به DNA هدف را نشان می دهد.

الکتروفورز ژل آگارز: پس از پایان یافتن مراحل استخراج ژنوم و انجام PCR محصولات از نظر کیفی بر روی ژل آگارز بررسی شدند. برای این کار ژنوم های استخراج شده بر روی ژل آگارز ۰.۷ درصد و محصولات PCR جهت تعیین ترادف بر روی ژل ۱.۵ درصد الکتروفورز شدند. به همراه نمونه‌ها همواره در یک چاهک شاخص مولکولی ریخته شد تا طول محصولات بر اساس باندهای شاخص مقایسه شود.

تعیین ترادف ژن بتا گلوبین: برای بررسی وضعیت جهش ها، محصولات PCR به کمک پرایمرهای قید شده در جدول یک و با روش cycle sequencing طبق روش استاندارد سانجرتعیین ترادف گردید. در این روش از نوکلئوتید های نشاندارشده با مواد فلوروسنتی بهره گرفته شد. تعیین توالی به وسیله دستگاه ABI-PRISM 3700 انجام گرفت. نتایج تعیین توالی در برنامه BLASTN آنالیز گردید.

جدول ۱: پرایمر های بکار رفته در این تحقیق

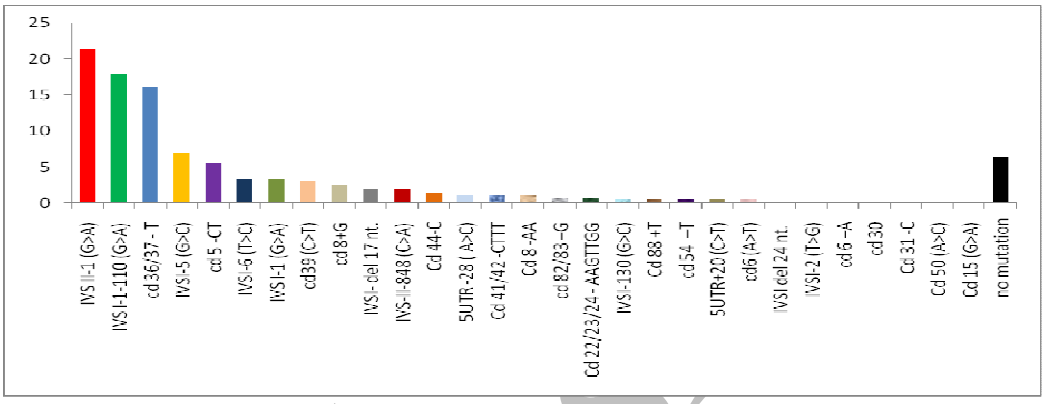
نام پرایمر	ترادف پرایمر	مورد استفاده	جهت
BT-NF	5-AACTCCTAAGCCAGTGCCAGAAGA-3	PCR	FORWARD
BT-NR	5-CACTGACCTCCCACATTCCCTTTT-3	PCR	REVERSE
BT-seq-1F	5-AGGTACGGCTGTCATCAC-3	SEQUENCING	FORWARD
BT-seq-501F	5-CATGGCAAGAAAGTGCTC-3	SEQUENCING	FORWARD
BT-seq-683R	5-AGGTACGGCTGTCATCAC-3	SEQUENCING	REVERSE
BT-seq-2F	5-ATCTCTTTCTTTCAGGGC-3	SEQUENCING	FORWARD

یافته ها

در این بررسی در مجموع ۴۰۴ آلل بررسی و تعیین توالی شدند. از بیماران بررسی شده ۱۰۲ نفر غیرعرب و ۱۰۰ نفر عرب بودند که در هر دو جمعیت مجموعا ً۲۹ نوع جهش یافت شد. جهش ها در ۱۲۲ مورد به صورت هموزیگوت و در۸۰ مورد به صورت هتروزیگوت مرکب موجب بیماری شده بودند. بیشترین جهش یافت شده IVSII-1(G>A) در ۸۶ آلل و با ۲۱/۳درصد درصد فراوانی مشخص شد. در شش فرد (۱۲ آلل) هیچگونه جهشی در ژن بتا گلوبین مشاهده نگردید و ۱۴ بیمار دارای فقط یک جهش بودند(جدول ۲). هشت جهش به تنهایی دوسوم کل جهش های موجود در این بررسی را به خود اختصاص می دهند (نمودار ۱). از جهش های هموزیگوت ۶۶ مورد مربوط به بیماران عرب و ۵۶ مورد مربوط به بیماران غیرعرب می باشد. از جهش های هتروزیگوت مرکب نیز ۲۷ مورد مربوط به بیماران عرب و۵۳ مورد مربوط به بیماران غیرعرب بوده است. با احتمال $P<0.05$ اختلاف تعداد بیماران عرب هموزیگوت و هتروزیگوت مرکب معنی دار می باشد. در

Archive of SID
www.SID.ir

مورد چهار جهش شایع اول، بیماران هموزیگوت و هتروزیگوت مرکب مورد بررسی قرار گرفتند. طبق این نتایج فقط در مورد جهش IVS-I-110(G>A) اختلاف معنی داری (P<0.05) بین بیماران هموزیگوت و هتروزیگوت مرکب دیده شد. در مورد دو جهش شایع دیده شده در جمعیت بیمار، یعنی IVS-I-110(G>A) و IVS-II-1(G>A) بین آلل های عرب و غیر عرب تفاوت معنی داری مشاهده نشد.



نمودار ۱: جهش های مشاهده شده به ترتیب فراوانی آنها در جمعیت بیمار.

جدول ۲: جهش های بدست آمده پس از غربالگری ۲۰۲ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور به ترتیب فراوانی

ردیف	جهش	درصد
۱	IVS II-1 (G>A)	21.30 (86/404)
۲	IVS I-1-110 (G>A)	17.80 (72/404)
۳	cd 36/37 - T	16.00 (65/404)
۴	IVSI-5 (G>C)	6.90 (28/404)
۵	cd 5 -CT	5.50 (22/404)
۶	IVSI-6 (T>C)	3.25 (13/404)
۷	IVS I-1 (G>A)	3.25 (13/404)
۸	cd39 (C>T)	3.00 (12/404)
۹	cd 8+G	2.50 (10/404)
۱۰	IVSI- del 17 nt.	2.00 (8/404)
۱۱	IVS-II-848 (C>A)	2.00 (8/404)
۱۲	Cd 44-C	1.50 (6/404)
۱۳	5UTR -28 (A>C)	1.00 (4/404)
۱۴	Cd 41/42 -CTTT	1.00 (4/404)
۱۵	Cd 8 -AA	1.00 (4/404)
۱۶	cd 82/83 –G	0.75 (3/404)
۱۷	Cd 22/23/24 - AAGTTGG	0.75 (3/404)
۱۸	IVSI-130 (G>C)	0.50 (2/404)
۱۹	Cd 88 +T	0.50 (2/404)
۲۰	cd 54 –T	0.50 (2/404)
۲۱	5UTR+20 (C>T)	0.50 (2/404)
۲۲	cd6 (A>T)	0.50 (2/404)
۲۳	IVSI del 24 nt.	0.25 (1/404)
۲۴	IVSI-2 (T>G)	0.25 (1/404)
۲۵	cd 6 –A	0.25 (1/404)
۲۶	cd 30	0.25 (1/404)
۲۷	Cd 31 -C	0.25 (1/404)
۲۸	Cd 50 (A>C)	0.25 (1/404)
۲۹	Cd 15 (G>A)	0.25 (1/404)
۳۰	No mutation has been found	6.40 (26/404)

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

بتاتالاسمی در سطح مولکولی یک بیماری ناهمگن است که در اکثر موارد در اثر جهش در ژن بتا گلوبین پدید می آید. تا کنون بیش از ۲۰۰ نوع جهش بیماریزا در ژن مذکور کشف شده است (۱۰). اکثر این جهش‌ها از نوع جانشینی‌های تک نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های اولیگونوکلئوتیدی است که موجب تغییر قالب ژن می‌شوند. همچنین این بیماری بندرت در اثر حذف‌های ژنی بزرگ رخ می‌دهد (۷). بر خلاف ناهمگنی مولکولی قابل توجه در این بیماری شیوع این جهش‌ها در هر جمعیت پرخطر محدود بوده و در هر جمعیت بیش از ٤ تا ۱۰ نوع جهش شایع وجود ندارد (۱۰). اما از آنجا که جمعیت ایران چند قومیتی می باشد، انتظار می رود توزیع جهش های مختلف بتاتالاسمی در مناطق مختلف کشور متفاوت باشد و طبق نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر جمعاً ۲۹ جهش دربیماران تالاسمی ماژور یافت شد که نشانگر یک جمعیت ناهمگن می باشد. البته بسته به نوع تکنیک تعیین جهش بین ٤ تا ۱۷ نوع جهش در بیماران تالاسمی ماژور واینترمدیا در ایران گزارش شده است(۹، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ١٤). در تحقیق حاضر، جهش-IVSII 1(G>A) با ۲۱.۳درصد شایع ترین جهش بود. این جهش، یک تغییر تک نوکلئوتیدیG به A درقسمت اول توالی اینترون دوم از ژن بتاگلوبین می باشد که در اثر این جابجایی پردازش ژن بصورت صحیح صورت نمی گیرد. در یک بررسی که اخیرا در جنوب ایران بر روی ۱۷ بیمار بتاتالاسمی انجام شد بر خلاف تعداد کم نمونه ها به روشنی معلوم شد که جهش ها در این منطقه بسیار متنوع بوده و جهشIVSII-1(G>A) بیشترین فراوانی (۳۷درصد) را در جهش های بتاتالاسمی داشته است (۱۵). در مطالعه دیگری که بر روی ۸۲ بیمار بتاتالاسمی ماژور در ایران صورت گرفت، با استفاده از روش هیبریداسیون معکوس نمونه ها تعیین جهش شده و جهش IVSII-1(G>A) با ۳۷درصد فراوانی شایع ترین جهش بوده است. نتایج حاصل از این بررسی نشان داده است که هیبریداسیون معکوس یک تکنیک قابل دسترس تر و مناسبتر نسبت به تکنیک آرمز می باشد که نتایج منفی کاذب آرمز را کاهش می دهد(١٦). البته با توجه به اینکه در روش هیبریداسیون معکوس امکان شناسایی ۲۰ جهش می باشد، امکان بررسی دیگر جهش ها وجود ندارد.

در مطالعات بر روی مناطق مختلف ایران نشان داده شده که جهش IVSII-1(G>A) با ۳۴درصد فراوانترین جهش درکل کشور بوده است. همچنین در بررسی های پیشین در منطقه جنوب غرب ایران شش جهش IVSI-1, IVSI-5, IVSI-110, IVSII-1, cd36/37(delT) and IVSI-25 bp del شایع ترین جهش ها بوده و حدود ۵۰درصد کل جهش ها را به خود اختصاص می دادند. البته در بررسی های مذکور که با کمک تکنیک آرمز انجام شده، در ۷۵ مورد (۲۸درصد) نوع جهش تشخیص داده نشده است. همچنین نشان داده که جهش IVSII-1(G>A) درشمال ایران (سه استان اطراف دریاچه خزر که توسط رشته کوههای البرز از مناطق دیگر کشور جدا شده اند) شایع تراز مناطق دیگر بوده است. در این منطقه از ۱۶ جهش یافت شده IVSII-1(G>A) بیش از ۵۰درصد جهش‌ها را به خود اختصاص داده است. علاوه بر آن جهش نامبرده در مرکز ایران ، غرب، جنوب غرب، جنوب شرق، شمال غرب و شمال شرق ایران نیز جزء جهشهای شایع بوده است (۱۳) . فراوانی این جهش درایران از ترکیه هم بالاتر است واین نشان می دهد که شاید ایران یکی ازمنشأهای اولیه این جهش بوده است. با این حال این جهش به عنوان جهش مدیترانه ای شناخته شده است(۱۳).

در بررسی دیگری که برروی تعیین فراوانی جهش های بتا تالاسمی درکشورهای عربی انجام گرفته بطور کل ۵۲ نوع جهش مختلف درجهان عرب گزارش شده است. برخی از این جهش ها مشترک و برخی مختص یک منطقه یا کشور بوده اند. تعداد کل جهش های یافت شده در هر کشور متغیر بوده و از ۹ جهش در

Archive of SID

www.SID.ir

کویت تا ۲۱ جهش درمصر می باشد. جهش IVSII-1(G>A) در همه ی کشورها بجز تونس و الجزایر دیده شده و درکویت با ۲۹درصد شایعترین جهش می باشد (۱۷).

دومین جهش شایع در تحقیق حاضر جهش IVSI-110(G>A) با فراوانی۸ /۱۷درصد می باشد. این جهش قبلاً نیز جزء جهش های شایع در غرب و جنوب غرب ایران گزارش شده است. این جهش یک جهش مدیترانه ای بوده و فراوانی آن از شرق به غرب ایران افزایش یافته است (۱۴). در بررسی دیگری که بر روی ۸۲ بیمار بتاتالاسمی ماژور در ایران با روش هیبریداسیون معکوس انجام شد، جهش نامبرده پس از IVSII-1(G>A) دومین جهش شایع بوده است (۱۶). جهش IVSI-110(G>A) در شرق مدیترانه شایع بوده و در کل کشورهای عربی منطقه مدیترانه درصد فراوانی بالایی دارد (۳۸-۱۲درصد) ، در حالیکه کشورهای اطراف خلیج فارس فراوانی کمتری (۲-۰درصد) را نشان می دهند. احتمال می رود که این جهش از ترکیه برخاسته است و در کشورهای عربی شرق مدیترانه بیشترین فراوانی را دارد که احتمالاً در اثر مهاجرت های گوناگون از شرق از جمله کشورهای ترکیه و یونان بوده است (۱۸)..

در مطالعه ای که بر روی ۵۸ آلل بتاتالاسمی در اسپانیا و با استفاده از روشهای PCR و بلاتینگ نقطه ای و هیبریداسیون با پروب های نشان دار انجام گرفته است، جهش IVSI-110(G>A) سومین جهش غالب با ۸/۵درصد فراوانی بوده است. این تحقیق پیشنهاد داد که روشهای فوق جهت تشخیص سریع جهش ها و نیز تشخیص های پیش از تولد مفید هستند (۱۹).

سومین جهش شایع در بررسی حاضر جهش cd 36/37 (-T) می باشد که با فراوانی ۱۶درصد دیده شد. در مطالعه ای که در جنوب غرب ایران انجام شده نیز این جهش جزء جهش های شایع گزارش شده است و نتایج ما به گونه ای مورد تایید می باشد (۱۳). این جهش قبلاً درکردهای یهودی (۲۰) و همچنین در استان خوزستان بیش از سایر مناطق فراوانی داشته است(۱۳و۱۱)جهش نامبرده در اکثر کشورهای عربی گزارش نشده اما در عربستان سعودی با ۱۵درصد شیوع بالایی دارد (۱۷) .

چهارمین جهش غالب در مطالعه حاضر با ۶.۹درصد جهش IVSI-5(G>A) می باشد. در مطالعات قبلی این جهش دومین جهش شایع در کل کشور پس از IVSII-1(G>A) بوده است (۱۳). فراوانی این جهش از شمال به جنوب افزایش و از شرق به غرب ایران کاهش یافته است. همچنین در مرکز ایران، جنوب، جنوب غرب و جنوب شرق ایران نیز جزء جهش های شایع گزارش شده است (۱۱). در استان فارس مطالعه جهش های مولکولی بتاتالاسمی بر روی ۵۰ بیمار هموزیگوت غیر وابسته، جهش IVSI-5(G>C) به عنوان غالب ترین جهش با ۳۷درصد فراوانی گزارش شده است. این جهش همچنین در کشورهایی مثل مالزی، ترکیه، تایلند و هند شرقی نیز جزء جهش های شایع گزارش شده است (۲۱،۲۲،۲۳،۲۴). در استان های جنوبی ایران که قومیت های عرب زبان بخش عمده ای از جمعیت این مناطق را به خود اختصاص می دهند، جهش نامبرده در ردیف جهش های شایع قرار دارد. جهش مذکور در کشورهای همسایه عرب نیز به عنوان جهش غالب گزارش شده است (۱۷). در بررسی جهش های بتاتالاسمی در جهان عرب بیشترین فراوانی این جهش در عمان (۶۱/۶درصد) و امارات (۵۵درصد) می باشد (۱۸،۱۷).

بجز چهار جهش نامبرده شده، جهش های دیگری نیز در تحقیق حاضر تشخیص داده شدند مانند جهش های IVSI-1(G>A) و IVSI-6(T>C) که هر دو از جهش های شایع در منطقه شرق مدیترانه می باشند و در کل کشورهای عربی مدیترانه درصد نسبتاً بالایی دارند، درحالی که در کشورهای اطراف خلیج فارس فراوانی کمتری را نشان می دهند (۱۷،۱۸). در استان

Archive of SID

www.SID.ir

فارس نیز جهش IVSI-6(T>C) چهارمین جهش شایع (۹/۶درصد) گزارش شده است(۱۵) .

نکته جالب توجه در این تحقیق، عدم مشاهده جهش در شش بیمار بود. همچنین در چهارده بیمار فقط در یک آلل جهش مشاهده شد. با پیگیری بیشتر، برخی از والدین ۱۴ بیمار مذکور مورد بررسی قرار گرفتند و عدم وجود جهش در افراد مذکور تایید شد. احتمال می رود ژن دلتا یا منطقه تنظیمی LCR در بروز بیماری موارد اخیر دخیل باشد (۷). به همین دلیل لازم است که این فرضیه در افراد با فنوتیپ بیمار (ماژور) و فاقد جهش در ژن بتا گلوبین مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

به طور کل نتایج این تحقیق گویای این مسئله هستند که بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شفای اهواز با دارا بودن ۲۹ جهش متفاوت در ژن بتاگلوبین از نظر تنوع جهش ها یک جمعیت بسیار ناهمگن بوده که مهاجرت های قومی بدلیل عوامل جغرافیایی و تاریخی منطقه تا حدود زیادی این مسئله را تشدید کرده است. از طرف دیگر می توان نتیجه گیری کرد که جهت دستیابی به تمامی جهش ها در غربالگری افراد مینور، تعیین ترادف ژن اجتناب ناپذیر است، چرا که حتی روش هایی چون Reverse Dot Blot نیز فقط قادر به شناسایی بیست جهش از جهش های شناسایی شده در جمعیت بیمار در این تحقیق می باشد (۱۶).

قدردانی

با تشکر از بیمارستان شفاء و مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی اهواز

منابع

1-Bain BJ. Haemoglobinopathy diagnosis. 2001; Volume 113, Issue 4, Pages 1083-1084. ed. London, UK: Blackwell; 2001: …

2-Grosveld F, Dillon N, Higgs D. The regulation of human globin gene expression. Clin Haematol 1993; 6:31-55.

3-Schrier SL. Pathobiology of thalassemic erythrocytes. Curr Opin Hematol 1997; 4:75-8.

4-Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassaemia syndromes. 4th ed. Oxford, UK: Blackwell; 2001: 154-162. 5-Olivieri NF. The β-thalassemias. New Engl J Med 1999; 341:99.

6- Basalic R, Gavrila L. Application of Molecular Diagnosis Technologies in Beta-Thalassemia: Enzymatically Amplified DNA and Restriction Site Analysis. Roum Biotechnol Lett 2001; 6(1):63-70.

7-Old JM. DNA based diagnosis of the hemoglobin disorders. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL, (eds). Disorders of hemoglobin: genetics, pathophysiology and clinical management. 2th ed Cambridge: Cambridge University Press; 2001:941–57.

8- Bottardi S, Aumont A, Grosveld F, Milot E. Developmental stage-specific epigenetic control of human beta globin gene expression is potentiated in hematopoietic progenitor cells prior to their transcriptional activation. Blood 2003; 102, 3989–3997.

9-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; 25:134-7.

10-Hardison RC, Chui DH, Giardine B, Riemer C, Patrinos G, Anagnou N, et al. Hb Var: A relational database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations at the globin gene server. Hum Mutat 2002; 19:225–33.

11-Habibzadeh F, Yadollahie M, Merat A, Haghshenas M. Thalassemia in Iran: an overview. Arch Irn Med 1998; 1:27-34.

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-Karimi M, Yarmohammadi H, Farjadian S, Zeinali S, Mohgaddam Z, Cappellini MD, Giordano PC. beta thalassemia intermedia from southern Iran: IVSII-1(G>A) is the prevalent thalassemia intermedia allele. Hemoglobin 2002; 26:147-54.

Archive of SID

www.SID.ir

15-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.
16- Najmabadi H,Teimourian S, Khatibi T , Neishabury M , Pourfarzad F, Jalil-Nejad S, et al., Amplification refractory mutation system (ARMS) and reverse hybridization in the detection of beta Thalassemia mutations. Arch Iran Med 2001; 4:165-70.
17-Zahed, L. The spectrum of beta thalasse mia mutations in the Arab populations. J Biomed Biotech 2001; 1(3):129-32.
18-El-Hazmi MAF, Wasy AS. The heterogeneity of molecular basis of beta thalassemia among Arabs. Bahrain Med Bull 1998; 20:14-7.
19-Benito AB, Ana Villag AS, Z-Cano, Benno R. Beta Thalassaemia in south-western Spain: high frequency of IVS I-1 mutation. Br J Haematol 1996; 92(2):336-8.
20-Poncz M, Ballantine M, Solowiejczyk D, Barak I, Schwartz E, Surrey S. Beta-Thalassemia in a Kurdish Jew. Single base changes in the T-A-T-A box. J Biol Chem 1982; 257(11):5994-6, 06.
21-Aksoy M. The history of beta-thalassemia in Turkey. Turk J Pediatr 1991; 33(3):195-7.
22-Bandyopadhyay A, Bandyopadhyay S, Basak J, Mondal BC, Sarkar AA, Majumdar S, et al. Profile of beta-thalassemia in eastern India and its prenatal diagnosis. Prenatal diagnosis. 2004;24(12):992-6 23-Thong MK, Law HY, Ng IS. Molecular heterogeneity of beta-thalassaemia in Malaysia: a practical approach to diagnosis. Ann Acad Med Singapore 1996; 25(1):79-83.
24- Thein SL, Winichagoon P, Hesketh C, Best S, Fucharoen S, Wasi P, et al. The molecular basis of beta-thalassemia in Thailand: application to prenatal diagnosis. Am J Hum Genet 1990; 47(3):369–75.

Archive of SID

www.SID.ir

Mutation frequency of β-Globin Gene amon β-thalassemia major patients referred to the Shafa hospital of Ahvaz

Galedari[1] H*, Babaahmadi[2] M, Andashti[1] B, Pedram[2] M, Zandian[2] KH

[1]Department of Genetics, Shahid Chamran University of Ahvaz, [2]Research center for thalassemia and Hemoglobinopathies in Ahvaz Iran.

Abstract

Objective: β–-thalassemia is characterized by reduced synthesis of the hemoglobin β–chain. Nowadays, more than 200 disease-causing mutations in β–globin gene have been identified. β–thalassemia is the commonest monogenic diseases worldwide and the most common hereditary disorder in Iran. Since the gene frequency of β–thalassemia is high and varies considerably in each region and due to multiethnic population in Khozestan province of Iran, it is expected that a vast spectrum of β–thalassemia mutations may be present in this region. Therefore it is necessary to determine the frequency and distribution of β–thalassemia mutations in different areas of the country.

Subjects and Methods: After collection of information and samples of 202 β–thalassemia major patients, genomic DNA from blood was extracted and after amplification of β–globin gene by specific primers, full length sequencing of β–globin gene was done by DNA sequencing.

Results: Twenty nine gene mutations were found in 404 studied alleles. Our results show that IVSII-1(G>A) with a frequency of 21.3% (86) represented the most common mutation. The descending frequency of other four mutations were: IVSI-110(G>A) (17.8 %), CD36/37 (-T) (16%), IVSI-5(G>C) (6.9 %) and CD5 (-CT) (5.2۰%).

Conclusion: Our findings indicate that the Khuzestan population has a wide variety of β-thalassemia allelic distribution. These results can be used as a basis of prenatal diagnosis of β–thalassemia.

Keywords; β -thalassemia, β– globin, gene mutations, DNA sequencing

Archive of SID

*Corresponding author: E.mail galehdari187@yahoo.com

www.SID.ir