Archive of SID

پژوهشی

مجله علمی - پژوهش دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره پانزدهم، شماره ۴۸، مهر و آبان ۱۳۸۴ (۱۱۱ - ۱۰۵)

اساس مولکولی و تشخیص قبل از تولد تالاسمی در جنوب شرق ایران، سال ۸۳ - ۱۳۸۱

ابراهیم میری مقدم (M.Sc.)* مهرناز نارویی نژاد (M.Sc.)* پیمان عشقی (M.D.)**
سیروس زینلی (M.Sc.)*** فریبا سوادکوهی(M.Sc.)****

چکیده

سابقه و هدف : بتاتالاسمی شایع‌ترین اختلال تک‌ژنی در ایران می‌باشد فراوانی این ژن در مناطق مختلف کشور متفاوت است. استان سیستان و بلوچستان در جنوب شرق ایران با داشتن ۱۲۰۰ بیمار تالاسمی از جمله مناطقی است که این اختلال ارثی نه تنها به عنوان یک مشکل بهداشتی بلکه به صورت یک مشکل اجتماعی و اقتصادی در آن مطرح است. با توجه به مشکلاتی هم‌چون؛ فراوانی ژن بتاتالاسمی، تعدد ازدواج‌های فامیلی، عدم انجام آزمایشات قبل از ازدواج، تمایل به داشتن اولاد زیاد و وجود حاملگی‌های خواسته در بین خانواده‌های دارای فرزند تالاسمی، مرکز تشخیص قبل از تولد تالاسمی در خرداد ماه سال ۱۳۸۱ در این استان راه‌اندازی شد.

مواد و روش‌ها : مطالعه از نوع توصیفی بوده و از خرداد ۱۳۸۱ لغایت اسفند ۱۳۸۳، ۲۲٤ زوج مینور به مرکز تالاسمی زاهدان معرف شدند. پس از پذیرش زوجین اطلاعات دموگافیم آن‌ها ثبت و از آن‌ها ۱۰ میلی‌لیتر خون بر روی ضدانعقاد EDTA(۰/۵ مولار) گرفته شد. DNA نمونه‌ها تخلیص و جهش‌های شایع ایران با روش (Amplification ARMS/ PCR Refractory Mutation System) در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در هفته ۱۲-۱۰ حاملگی از پرزهای جفتی نمونه‌برداری(CVS) شد و با دو روش مستقیم و غیرمستقیم به ارث بردن جهش در جنین مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها : جهت ۹۹ زوج مرحله اول و برای ۱۲۵ زوج مرحله اول و دوم تشخیص قبل از تولد تالاسمی انجام شد. ۷٦/۸ درصد زوجین معرفی شده به این مرکز ساکن شهر بودند. ۸۸/۸ درصد متولد استان سیستان و بلوچستان که در این میان ۳۰/۸درصد از قوم سیستانی و ٦۹/۲ درصد از قوم بلوچ بودند. در زمان مراجعه ۵٦/۷ درصد زوجین فرزند تالاسمی ماژور داشتند. ۸۷/۱ درصد زوجین وابستگی نسبی با یکدیگر داشتند و ٦۳/۸درصد اهل سنت بودند. در بررسی‌های به‌عمل آمده بر روی ژن بتاگلوبین این زوجین، ۸٦/۷ درصد آن‌ها یکی از جهش‌های شایع در ایران را داشتند به‌طوریکه IVS ۱-۵ با ۷٦/۵ درصد فراوانی، شایع‌ترین جهش شناخته شده منطقه بود. در بررسی مولکولی ۱۲۵ نمونه پرز جفتی، ۲۰درصد آن‌ها جنین ماژور تشخیص داده شد.

استنتاج : کثرت ازدواج‌های فامیلی باعث شده که هموژنیستی بالایی در موتاسیون منطقه دیده شد با توجه به ترکیب جمعیتی این منطقه، این اولین استقبال اهل سنت از تشخیص قبل از تولد تالاسمی در کشور باشد، لذا راه‌اندازی مرکز تشخیص قبل از تولد تالاسمی با توجه به ساختارهای خاص فرهنگی و اجتماعی منطقه از اقدامات موثر در پیش‌گیری از تالاسمی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی : بتاتالاسمی، جهش، تشخیص قبل از تولد

* مربی و عضو هیئت علمی گروه ایمنوهماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
** فوق تخصص خون وانکولوژی اطفال و عضو هیئت علمی دانشگا علوم پزشکی ازهدان
**** متخصص رادیولوژی و عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
* زاهدان: میدان مشاهیر - دانشکده پیراپزشکی
*** متخصص ژنتیک انسانی و عضو هیئت علمی انستیتو پاستور تهران

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

E تاریخ دریافت : ۸۳/۷/۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۳/۸/۱۹ تاریخ تصویب: ۸٤/۱۲/۵

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

مقدمه

بتاتالاسمی شایع‌ترین اختلال تک‌ژنی اتوزومال مغلوب در سرتاسر جهان محسوب می‌شود و ناشی از موتاسیون در ژن بتاگلوبین می‌باشد. بتاتالاسمی در سطح مولکولی بسیار هتروژن است به‌طوریکه تاکنون بیش از ۲۰۰ جهش از آن شناسایی شده است(۱).

ایران با داشتن حدود ۲۵۰۰۰ بیمار تالاسمی و سه میلیون ناقل از جمله مناطقی است که بتاتالاسمی به‌طور غیرمعمول درآن شایع است فراوانی ژن بتاتالاسمی در مناطق مختلف ایران متفاوت گزارش شده است به‌طوریکه در استان‌های مجاور خلیج‌فارس و دریای مازندران فراوانی آن از ۱۰ درصد نیز بیش‌تر است(۲). سیستان و بلوچستان با حدود دو میلیون نفر جمعیت در جنوب شرق ایران، فراوانی ژن بتاتالاسمی در مناطق مختلف از آن ۱۰-٤ درصد متغیر است. این استان ۱۲۰۰ بیمار تالاسمی ماژور دارد که به طور مرتب از خدمات بهداشتی و درمانی استفاده می‌نمایند(۳). تالاسمی نه‌تنها یک مشکل بهداشتی بلکه یک مشکل اقتصادی-اجتماعی در بسیاری از کشورهاست(٤). به منظور پیش‌گیری ازموارد جدید تالاسمی استراتژی‌های متفاوتی مطرح شده است که از این میان می‌توان به غربالگری تالاسمی زوجین قبل از ازدواج، مشاوره ژنتیک و افزایش آگاهی زوجین در معرض خطر اشاره کرد. تشخیص قبل از تولد تالاسمی برای اولین‌بار از سال ۱۳۷۵ به عنوان یک روش موثر و کارآمد براساس نسبت زنجیره‌های الفا به بتا مطرح شد(۵). بعدا تشخیص برمبنای آنالیز DNA مانند ساترن بلات[1] و هیبریداسیون (٦)، دات بلات[2](۷)، دات بلات معکوس[3](۸،۹) و ARMS-PCR[4] با استفاده از پرایمرهای اختصاصی(۱۰) مطرح شد. در ابتدا DNA جنین از سلول‌های مایع آمونیوتیک در هفته ۱۷-۱۵ حاملگی استخراج می‌شد ولی از سال ۱۹۸٤ نمونه‌های گرفته شده از پرزهای جفتی در هفته ۱۱-۹ حاملگی جانشین روش قبلی شد(۱۱) تشخیص قبل از تولد تالاسمی در ایران از سال ۱۳۷۲ امکان‌پذیر شد ولی از سال ۱۳۷٦ با توجه به وجود سقط درمانی به صورت قانونی شروع شد لذا با توجه به مسائل فرهنگی، اجتماعی خاص منطقه و افزایش موارد جدید تالاسمی در هر سال در این استان(۳) وزارت بهداشت و درمان و دانشگاه علوم پزشکی زاهدان را بر آن داشت که با راه‌اندازی مرکز تشخیص قبل از تولد تالاسمی در سال ۱۳۸۱ موارد جدید تالاسمی را کاهش دهد که در این مقاله نتایج حاصل از فعالیت، دو سال این مرکز ارائه می‌گردد.

مواد و روش ها

مطالعه از نوع توصیفی می‌باشد. نمونه‌های پژوهش ۲۲٤ زوج بوده که از خرداد ۱۳۸۱ لغایت اسفند ۱۳۸۳، به مرکز تالاسمی زاهدان معرفی شدند. زوجین معرفی شده افرادی بودند که پس از انجام آزمایشات اولیه CBC, HbA2 براساس مقادیر اندکس‌های MCV, MCH و مقدار HbA 2 در مراکز مشاوره قبل از ازدواج به عنوان ناقل تلقی شده بودند و یا افرادی بودند که فرزند ماژور داشتند و مایل بودند که در حاملگی بعدی این مرکز سلامت جنین آن‌ها را قبل چهار ماهگی تشخیص دهد. در ابتدا مشخصات دموگرافیک افراد ثبت و ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی بر روی ضد انعقاد EDTA(۰/۵ مولار) از آن‌ها گرفته شد و تا زمان

1- Southem bloting
2- Dot Blot
3- Reverse Dot Blot
4- Amplification Refractory Mulation System

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

تخلیص DNA با استفاده از اسپکتروفتومتر در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ nm کمیت و کیفیت DNA مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مرکز از روش مستقیم ARMS/PCR[1] که یک روش نستاً ساده و سریع جهت تعیین جهش‌های نقطه‌ای، حذف و اضافه شدن چند نوکلئوتید و چند شکلی‌ها[2] می‌باشد(۱۲) و هم‌چنین روش غیرمستقیم RFLP، استفاده می‌شود. در روش ARMS/ PCR از ۲۰ پرایمر ساخته شده کمپانی Genset استفاده شد. ژنومیک DNA نمونه‌ها، توسط Taq DNA پلی‌مراز Promega(آمریکا) تکثیر یافت. مخلوط واکنش PCR در هر میکرتیوب ۲۵ میکرولیتر شامل: بافرتریس (PH:8.3) ۱۰ میلی‌مولار، کلرید پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار و کلرید منیزیم ۱/۵ میلی‌مولار و مخلوط dNTPs ۲۰۰ میلی‌مولار، اسپرمیدین ۰/۱ درصد ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNA پلیمر از ۰/۰۱ میکروگرم از هر کدام از پرامیرها و ۰/۵ میکروگرم از DNA بود.

سپس نمونه‌ها در دستگاه‌های توموسیکلرگرادینت مدل AG اپندرف(آلمان) با برنامه ذیل تکثیر یافتند. دمای اولیه: ۹۴ به مدت ۲ دقیقه، دمای و اسرشت: ۹۴ درجه یک دقیقه دمای اتصال: ۲+ ۶۸ یک دقیقه، دمای تکثیر: ۷۲ درجه یک دقیقه و این چرخه بین ۳۰-۲۷ مرتبه تکرار شد. پس از انجام PCR و ۲۰ میکرولیتر از محصول تکثیر یافته با ۵ میکرولیتر برموفنل ۰/۵ درصد مخلوط شده و بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد حاوی ۰/۵ میکروگرم در هر میلی‌لیتر اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد. پس از الکتروفورز در ولتاژ ۸۰، ژل در زیر نور ماورای بنفش(UV) مورد بررسی قرار گرفت(۱۲،۱۳).

مرحله اول تشخیص قبل از تولد تالاسمی شامل تعیین موتاسیون والدین و هم‌چنین الگوی گویای نواحی پلی‌مورفیسم آن‌ها می‌باشد. مرحله دوم تشخیص شامل نمونه‌برداری از پرزهای جفتی(CVS)، تخلیص DNA پرز و بررسی جهش‌های والدین در نمونه مورد نظر می‌باشد. لیست پرایمرهای مورد استفاده برای ARMS/ PCR عبارت بودند از: IVS 1-1, IVS 11-1, IVS 1-5, IVS 1-6, IVS 1-130, IVS 1-116, Ivs 1-110, IVS 11- 745, IVS 11- 705, CD 36/37, CD44, CD 39, CD22, CD30- 25 del, Fr- 8/9, 28, 88, Hbs

لیست پرایمرهای RFLP مورداستفاده عبارت بودند از:
AVA11/ B, Hinf 1/B, Hinc 11/3ŶßHin 11/5 Ŷß

یافته‌ها

از ۲۴۴ زوج مینور معرفی شده به این مرکز برای ۹۹ زوج مرحله اول و برای ۱۲۵ زوج مرحله اول و دوم تشخیص قبل از تولد تالاسمی انجام شد.

۷۶/۸ درصد زوجین معرفی شده به این مرکز ساکن شهر و ۲۳/۲ درصد ساکن روستا بودند. ۸۸/۸ درصد زوجین متولد استان سیستان و بلوچستان بودند به‌طوریکه ۳۰/۸ درصد این زوجین از قوم سیستانی و ۶۹/۲ درصد از قوم بلوچ بودند.

۳۲/۶ درصد زوجین مراجعه‌کننده فاقد فرزند، ۵۶/۷ درصد دارای فرزند تالاسمی ماژور، ۸/۹ درصد دارای فرزند مینور و ۱/۸ درصد فرزند سالم داشتند. در خانواده‌های دارای فرزند تالاسمی؛ ۸۸/۲ درصد یک فرزند تالاسمی، ۱۰/۲ درصد دو فرزند و ۱/۶ درصد سه فرزند تالاسمی داشتند. جدول شماره ۱ تعداد فرزنداان زوجین را نشان می‌دهد. ۸۷/۱ درصد زوجین وابستگی نسبی با یکدیگر داشتند و ۶۳/۸ زوجین از نظر مذهبی اهل سنت و ۳۶/۲ درصد اهل تشیع بودند.

از بررسی به عمل آمده برروی ژن بتاگلوبین زوجین مراجعه‌کننده به این مرکز ۸۶/۷ درصد آن‌ها یکی از جهش‌های شایع ایران را داشتند.

1- Amplification refractory mutation system
2- Polymorphism

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی فرزندان زوجین مراجعه‌کننده به مرکز تشخیص قبل از تولد تالاسمی زاهدان، سال ۸۳- ۱۳۸۱

تعداد فرزند	فراوانی(درصد)
۰	۷۳ (۳۲/۶)
<۳	۱۳۰ (۵۹/۱)
٤ -٦	۲۰ (۸/۹)
>٦	۱(۰/٤)
جمع	۲۲٤ (۱۰۰)

توزیع فراوانی این جهش‌ها در جدول شماره ۲ نشان داده شده است در میان زوجین مراجعه‌کننده برای دو نفر الفاتالاسمی و برای دو نفر Hb S trial و برای یک نفر HbC و یک نفر HbD و هفت نفر که ناحی ژن بتای آن‌ها برای سکانس به خارج از کشور ارسال شده بود عدم موتاسیون در این ناحیه تشخیص داده شد. در بررسی مولکولی به عمل آمده بر روی ۱۲۵ پرزجفتی برای ۲۵ نمونه جنین ماژور، ۳۵ نمونه جنین سالم و ٦۵ نمونه جنین مینور تشخیص داده شد.

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی جهش‌های ژن بتاگلوبین در زوجین معرفی شده به مرکز PND زاهدان

نوع موتاسیون	تعداد(درصد)
IVS 1-5(G-C)	۳۳۳ (۷٦/۵)
Fr- 8,9(+G)	۱٦ (۳/۷)
Codon 39(C-T)	٦ (۱/٤)
IVS 11-1(G-A)	٦ (۱/٤)
Codon 44(-C)	۳ (۰/۷)
-88(C-T)	۳ (۰/۷)
Del-25(3end)	۳ (۰/۷)
IVS 1-1(G-A)	۳ (۰/۷)
Codon 5(-CT)	۲(۰/۵)
Codon 36/37(-T)	۱(۰/۲)
IVS 11- 745	۱(۰/۲)
Unknown	۵۸ (۱۳/۳)
جمع	٤۳۵ (۱۰۰)

بحث

تالاسمی در سطح مولکولی از هتروژنی بالایی برخوردار است و جهش‌های متعددی برای آن گزارش شده است. ولی علی‌رغم این هتروژنی، هر جمعیتی الگوی جهشی خاصی دارد به‌طوریکه ۱۰-۵ جهش، شایع‌ترین جهش‌های هر منطقه را تشکیل می‌دهد(۱٦). نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از فراوانی ۷۷ درصدی جهش IVS1-5(G-C) در منطقه می‌باشد. در ایران هتروژنی بالایی از موتاسیون‌های ژن بتا در مناطق مختلف گزارش شده است ولی جهش غالب ایران IVS11-1 است و فراوانی آن در شمال کشور بیش‌تر از جنوب و هر چه به سمت جنوب رفته فراوانی جهت IVS1-5 بیش‌تر می‌شود.فراوانی جهش IVS11-1 در شمال کشوردرحد ٦۸/۷۵ درصدگزارش شده‌است(۱۸،۱۷). مطالعه انجام شده در جنوب غربی ایران، IVS 11-1 را با ۳۱درصد شایع‌ترین جهش و سپس IVS1-6 با ۱۵ درصددومین موتاسیون شایع منطقه‌گزارش‌شده است(۱۹). مطالعه انجام شده در بوشهر برروی ۱۰٤ بیمار تالاسمی، del-25 را شایع‌ترین موتاسیون منطقه گزارش کرده است(۲۰). مطالعه‌انجام شده دراستان هرمزگان نشان می‌دهد، موتاسیون‌های IVS 1-1، IVS 1-5، Ivs11-1 شایع‌ترین موتاسیون‌های‌این استان می‌باشد(۲۱).

مقایسه جهش‌های این منطقه با کشورهای هم‌جوار مشابهت الگویی در جهش‌ها را نشان می‌دهد به‌طوری‌که جهش IVS 1-5(G-C) در سرتاسر هند بالاترین فراوانی را به خود اختصاص داده است. هم‌چنین در پاکستان نیز این موتاسیون به همراه Fr8-9, del-25 به عنوان شایع‌ترین موتاسیون‌های آن کشور گزارش شده

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

است(۲۴-۲۲). جهش IVS 1-5 شایع‌ترین جهش در ناحیه جنوب تایلند(۲۶،۲۵)، در بین مسلمانان تایلند(۲۷) و مالزی(۲۸) می‌باشد.

از جمله دلایل این هموژیستی بالا در جهش IVS 1-5 در این منطقه، می‌توان به کثرت ازدواج‌های فامیلی اشاره کرد به‌طوری‌که در این مطالعه نیز بیش از ۸۷ درصد زوجین وابستگی نسبی با یکدیگر داشتند. فراوانی موتاسیون IVS1-5 و داشتن جهشی مشابه با مادر در جنین‌های هتروزیگوت تحقق را بر آن داشت تا برای اطمینان از آلوده نبودن پرزها با نمونه‌های مادری در زمان گرفتن CVS علاوه بر تشخیص مستقیم(تعیین موتاسیون)نواحی پلی مورفیسم را با استفاده از تکنیک RFLP مورد ارزیابی قرار دهد.

پس از IVS 1-5 پنج جهش شایع بعدی، Fr8-9، CD39، IVS11-1، CD44 و 88 بودند که جمعاً ۹، ۷ درصد از جهش‌ها رابه خود اختصاص داده بودند. پنج موتاسیون دیگر نیز جمعاً ۳-۲ درصد را به خود اختصاص داده بود و مطالعات انجام شده در سایر مناطق توزیع فراوانی ۶-۵ موتاسیون در حد ۷۰ درصد را گزارش کرده است. در این منطقه، به دلیل کثرت ازدواج‌های فامیلی، تنها یک موتاسیون معادل پنج موتاسیون در سایر مناطق، فراوانی دارد.

۶/۹ درصد خانواده‌های تالاسمی مراجعه‌کننده به این مرکز، دو و یا بیش‌تر از دو فرزند تالاسمی داشتند و برای تشخیص پیش از تولد تالاسمی جنین بعدی، مراجعه کرده بودند. این نتایج حاکی از علاقه شدید به داشتند فرزند در این منطقه می‌باشد بنابراین توصیه‌های بهداشتی برای پیش‌گیری از داشتن فرزند حتی در خانواده‌های دارای فرزند تالاسمی، زیلد موثر نبوده است و یکی از دلایل افزایش موارد تالاسمی در سال‌های اخیر بوده است. با توجه به این‌که جهت بهزیستی یک بیمار تالاسمی در یک سال حدود ۵۰۰۰۰۰۰۰ ریال هزینه می‌شود در حالی‌که هزینه انجام یک تشخیص قبل از تولد تالاسمی حدود یک دهم آن می‌باشد و از طرفی با توجه به اعتقادات و مسائل خاص فرهنگی که تغییر در آن‌ها مستلزم آموزش و کار فرهنگی چندین ساله می‌باشد، تشخیص قبل از تولد تالاسمی به عنوان راهکاری مناسب در پیش‌گیری از موارد جدید تالاسمی مطرح می‌باشد.

تشخیص قبل از تولد تالاسمی در کاهش موارد جدید تالاسمی در کشورهای با شیوع بالای تالاسمی از جمله یونان، قبرس وایتالیا نقش به‌سزایی داشته است(۲۹). در ایران نیز تشخیص قبل از تولد تالاسمی در چند مرکز محدود چند سالی است که انجام می‌شود عملکرد این مراکز در پیش‌گیری از موارد جدید تالاسمی در ایران نقش مهمی داشته است. اکثر جمعیت(حدود ۶۰ درصد) استان سیستان و بلوچستان در جنوب شرق کشور را اهل سنت تشکیل می‌دهد. از جمله مشکلات تشخیص قبل از تولد در کشورهایی که اهل سنت هستند مانند پاکستان و مالزی مسئله سقط جنین است و این مسئله یکی از دغدغه‌های این مرکز در بد تأسیس بود در بد تشکیل این مرکز جلسات متعددی با علمای اهل سنت تشکیل شد تا اهمیت این روی‌کرد در پیش‌گیری از موارد جدید تالاسمی برای آن‌ها روش شود. نتایج حاصل از این مطالعه نیز موید آن است که میزان استقبال اهل سنت برای گرفتن خدمات تشخیص قبل از تولد تالاسمی معادل اهل تشیع بوده است که این امر نشان‌دهنده آگاهی و علاقه آن‌ها برای پیش‌گیری از تالاسمی با استفاده از امکانات این مرکز می‌باشد لذا در صورتی‌که اطلاعات کافی و مناسب از طریق رسانه‌های عمومی و برنامه‌های محلی به مردم داده شود و هم‌چنین عاقدین محلی در این‌خصوص توجیه شوند می‌توان امیدوار بود که روزی شاهد موارد جدید تالاسمی در این استان و استان‌های هم‌جوار نباشیم.

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

سپاسگزاری

لازم می‌دانم از آقای مصطفی شاهسونی، خانم‌ها صدیقه عارفی، ژیلا روستایی و آقای احمد عیسی زهی که در مراحل مختلف انجام تشخیص پیش از تولد تالاسمی ما را یاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی نماییم.

فهرست منابع

1. Olivieri NF. The B Thalassemia. N. J. Med. 1999; 341(2): 99- 108.
2. Najmabadi H, Teimourian SH. Amplification Refractory Mutation System(ARMS) and Reverse Hybridization in the detection of thalassemia in mutation. Archives of Iranian Medicine 2001; 4(4): 165- 170.
3. Miri- Moghaddam E, Eshghi P., Naroenejade M. Thalassemia in Sistan * Baluchestan province, 1st congress on prevention of Non- communicable disease 29th Oct 2002 Tehran(Iran).
4. Fucharoen S, Winichagon P. Thalassemia and abnormal hemoglobin. Int. J. Hematol. 2002 Aug; 76 suppl 2: 83- 9.
5. kan Y. W., Golbus M.S., Klein P. successful application of prenatal diagnosis of a pregnancy at risk for homozygote B- Thalassemia. N. Engl. J. Med 1975; 292: 1096-99.
6. Orkin S.H., Markham A.F. Direct etection of the common Mediteranean B-thalassemia gene with synthetic DNA probes an alternative approach for prenatal diagnosis. J. Clin. Invest. 1983; 71: 775- 79.
7. Saiki R.K., Baugawan T.L., Horn G.T., mullis K.B. Analysis of enzymatically amplified B- globin gene and HLA- DQ alpha DNA with allele- specific oligonucleotide probes. Nature 1986; 324: 163- 66.
8. Saiki R.K., Walsh P.S., Levenson C.H. Genetic analysis of amplified DVA with Immobilized sewuence- specific oligonucleotied probes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989; 86: 6230- 34.
9. CAI S.P., wall J., Kan Y.W. Reverse dot blot probes the screening of b-thalassemia mutations in Asians and American blacks. Hum. Mutat. 1994; 3: 59- 63.
10. Old JM, Varawalla NY, Weatherall DJ. Rapid detection and prenatal diagnosis of beta thalassemia: studies in Indian and Cypiot population in UK, Lancet 1990; 336: 834-7.
11. By Haig H., Kazazian Jr., Corinne DB. Molecular basis and prenatal diagnosis of B thalassemia. Blood 1988; 72(4): 1107-16.
12. Maniatis T, Fritsch ET, Sambrook J. Molecular cloning: A laboratory manual. Cold spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1982.

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

13. Mcpherson MJ, Quirke P, Tylor Gr. PCR, A practical Approach. IRL press, Oxford university press, 1992.
14. Newton Cr, Graham A, Hepteinstall LE, et al. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refratory mutation system(ARMS). Nucleic Acid Res. 1989; 17: 2503- 16.
15. Old JM, Varawalla NY, weatherall. Rapid detection and prenatal diagnosis of betathalassemia: Studies in Indian and Cypriot population in UK, Lanvet 1990; 336: 834- 7.
16. Cao A, Saba L, Galanello R. Molecular diagnosis and carrier screening for B-thalassemia. JAMA 1997 Oct 15; 278(15): 1273-7.
17. Naijmabadi H, Karimi- Nejad R, Sahebjam S. the betathalassemi mutation spectrum in the Iranian population. Hemoglobin 2001 Aug; 25(3): 285- 96.
۱۸. مجتهدزاده فریدون: تعیین موتاسیون‌های بتاتالاسمی در شمال ایران(مازندران) اولین همایش ژنتیک و معلولیت‌ها. تهران. دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی. ۱۳۷۵.
19. Merat A, Haghshenas M. Beta-thalassemia in southwestern Iran. Hemoholibin 1993 Oct; 17(5): 427- 37.
۲۰. خدایی حسین، زینلی سیروس، دلمقانی صدیقه. بررسی مولکولی موتاسیون‌های ژن بتاگلوبین در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی در ستان بوشهر. مجله طب جنوب سال سوم شماره دوم سال ۱۳۷۹، ص: ۸۳- ۸۹.
21. Yavarian M, harteveld CT, Batelaan D, Bernini LF. Molecular spectrum of beta thalassemia in the Iranian province of Hormozgan. Hemogolobin. 2001 Frb; 25(1): 35- 94.
22. Vaz FE, Thakur CB, Banerjee MK. Distribution of B- thalassemia Mutations in the Indian population referred to a diagnostic center. Hemoglobin 2000 Aug; 24(3): 181- 94.
23. Verma IC, Saxena R, Thomas E. Regional distribution of B- thalassemia mutations in Indian. Hum Genet. 1997 Jul; 100(1): 109- 13.
24. Ahmed S, petrou M, Saleem M. Molecular genetics of B- talassemia in Pakistan: a basis for prenatal diagnosis. Br. J. haematol 1997 may; 97(2): 504.
25. Laosomat V, Fucharoen SP, Panich V, et al. Molecular basis of beta thalassemia in south of Thailand. Am. J. Hematol 1992; 41: 194- 8.
26. Laosombat V, Nopparatana C, Wongchanchailert M, et al. Molecular basis of beta thalassemia in Thailand. Singapore paediatr J. 1995; 37: 148- 52.
27. Laosombat V, Nopparatana C, Wongchanchailert M, et al. molecular basis of beta thalassemia in thai Muslim patients in the south of Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public health 1997; 28: 104- 5.
28. Yang KG, Kutlar F, George E, et al. Molecular characterization of beta globin gene mutations in Malay patients with

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Hb E- beta thalassemia and thalassemia major. Br.J. Heamatol 1989; 72: 73- 80.

29. Cao A, Galnello R, Rosatelli MC. Prenatal diagnosis and sreeninig of the heamoglobinopathies. Baillieres Clin. Haematol 1998; 11: 215- 238.

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com