مجـلـه‌ی علـمی، پژوهشی دانشگاه علـوم پزشکـی زنجـان
دوره‌ی ۱۶، شمـاره‌ی ۶۳، تابسـتان ۱۳۸۷، صفحات ۱ تا ۹

بررسی جهش‌های ژن بتاگلوبین در زنجان: مقدمه‌ای بر تشخیص قبل از تولد تالاسمی

دکتر یوسف مرتضوی[۱]، سحر طاهری[۲]، دکتر جلال درخشنده[۳]، دکتر سیروس زینلی[۴]

نویسنده‌ی مسئول: زنجان، دانشکده‌ی پزشکی، گروه آسیب‌شناسی و پزشکی مولکولی ymort@yahoo.com

دریافت: ۸۷/۷/۴ پذیرش: ۸۷/۸/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: *تالاسمی یک بیماری اتوزومال مغلوب است که توسط کاهش یا فقدان کامل زنجیره‌ی بتاگلوبین مشخص می‌شود. این بیماری یکی از شایع‌ترین هموگلوبینوپاتی‌ها در ایران بوده و طبق برآوردهای موجود بیش از دو میلیون حامل و بیست هزار بیمار در میان جمعیت هفتاد میلیون نفری ایران زندگی می‌نمایند. هدف از این مطالعه بررسی شیوع و تعیین جهش‌های ژن بتاگلوبین در حاملین و بیماران تالاسمی زنجان بوده است.*

روش بررسی: *ابتدا جهت به دست آوردن شیوع تالاسمی، ۵۵۲۷ فرد مذکری که به مرکز بهداشت شماره‌ی ۹ زنجان جهت آزمایش قبل از ازدواج تالاسمی مراجعه کرده بودند مورد بررسی قرار گرفتند. سپس تعداد ۱۰۵ کروموزم از افراد حامل و بیماران تالاسمی ماژور برای تعیین جهش‌های ژن بتاگلوبین توسط روش‌های ARMS-PCR و سکوانسینگ ژن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.*

یافته‌ها: *میزان شیوع تالاسمی در منطقه‌ی زنجان ۱/۲ درصد به دست آمد. با استفاده از روش ARMS و سکوانس نمودن ژن بتاگلوبین جهش در ۹۰/۱۰۵ (۸۶/۷ درصد) کروموزم‌ها مشخص شد و ۱۳ جهش مختلف به دست آمد. ۵۸ درصد جهش‌ها از نـوع مدیترانـه‌ای بودنـد کـه جهـش IVSI-110 بالاترین شیوع را نشان داد و ۲۹/۵ درصد جهش‌ها را شامل گردید. جهش‌های IVSII-1، IVSI-1 و IVSI-6 در رتبـه‌هـای بعـدی قرار داشتند که به ترتیب ۱۳/۳ درصد، ۱۲/۴ درصد و ۲/۹ درصد جهش‌ها را شامل می‌شوند. ۱۰/۵ درصد جهش‌ها از نوع آسیایی- هندی بودنـد که Fr 8/9 شیوع ۶/۷ درصد و IVS1- 5 شیوع ۳/۸ درصد را نشان دادند. بقیه جهش‌ها عبارت بودند از: جهـش کـدون ۳۷-۳۶ (۶/۷ درصـد)، کدون ۵ (۵/۷ درصد) و کدون ۲۹ (۱/۹ درصد)، در سایر کدون‌ها از جمله کدون ۲۶-۲۵، کدون ۳۰ و جهش ۲۸- و Cap site+۱ (A→C) هر جهش در یک کروموزم (۰/۹۵ درصد) دیده شد. در مجموع جهش در ۱۴ کروموزم (۱۳/۳ درصد) موارد ناشناخته باقی ماند.*

نتیجه‌گیری: *نتایج فوق نشان داد که طیف جهش‌های زنجان از پراکندگی زیادی برخوردار می‌باشد اما جهش‌های مدیترانه‌ای در جمعیت زنجـانی از شیوع بالایی برخوردار بوده و توصیه می‌شود جهت صرفه‌جویی در وقت و هزینه برای تـشخیص قبـل از تولـد تالاسـمی در منطقـه‌ی زنجـان بیماران ابتدا برای جهش‌های مدیترانه‌ای مورد بررسی قرارگیرند.*

واژگان‌کلیدی: بتاتالاسمی، زنجان، ARMS-PCR

۱- متخصص هماتولوژی مولکولی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۳- متخصص چشم و فوق‌تخصص ویتره و رتین، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۴- دکترای ژنتیک پزشکی، دانشیار بخش پزشکی مولکولی انیستیتو پاستور ایران و مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی کوثر

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بتاتالاسمی نوعی بیماری ارثی می‌باشد که توسط کاهش یا فقدان کامل زنجیره‌ی بتاگلوبین ایجاد می‌شود (۱). تالاسمی از نظر مولکولی هتروژن بوده و تا امروز بیش از ۲۰۰ جهش مختلف عامل بیماری از سراسر دنیا گزارش شده است که هر یک از نظر بالینی منجر به فنوتیپ تالاسمی گردیده است (۲). جهش‌ها در سراسر ژن بتاگلوبین بر روی کروموزم ۱۱ پراکنده بوده و ممکن است هر نقطه‌ای از ژن را در سطح پردازش RNA و یا ترجمه‌ی آن درگیر نمایند. در سراسر جهان بیش از ۱۵۰ میلیون نفر حامل ژن معیوب بتاتالاسمی می‌باشند. این اختلال خصوصا در سراسر مدیترانه، قسمت‌هایی از خاورمیانه، هند و سایر نقاط گزارش شده است. تالاسمی همچنین در سراسر آسیای جنوب‌شرقی، جنوب چین و تایلند شایع است (۳). مناطق با شیوع ژنی بالا عبارتند از: ساردینیا (۱۱ تا ۳۴ درصد) (۴)، سیسیل (۱۵ درصد) (۵) و یونان (۵ تا ۱۵درصد) (۵).

بر خلاف آلفاتالاسمی، بتاتالاسمی در ایران از شیوع بالایی برخوردار می‌باشد. بیشترین شیوع (۱۰ درصد) از شهرهای اطراف دریای خزر و خلیج فارس گزارش شده است اما شیوع آن در سایر مناطق بین ۴ تا ۸ درصد می‌باشد (٦) و هر سال چندهزار جنین در معرض خطر این بیماری می‌باشند (۷). تخمین زده می‌شود که بیش از دو میلیون حامل و حدود ۲۰ هزار بیمار مبتلا به تالاسمی در ایران زندگی می‌نمایند. با توجه به شیوع بالای تالاسمی در ایران و هزینه‌های سنگین درمان آن، تنها راه کنترل این بیماری، شناسایی حاملین و انجام مشاوره‌های لازم و نیز تشخیص قبل از تولد می‌باشد.

طیف جهش‌های ژن بتاگلوبین در برخی استان‌های کشور مشخص شده است. اما به دلیل تنوع قومیت‌ها در ایران، احتمال دارد که جهش‌های موجود در یک منطقه با منطقه‌ی دیگر متفاوت باشند. از این رو به منظور تعیین طیف جهش‌های ژن بتاتالاسمی در حاملین و مبتلایان منطقه‌ی زنجان و نیز به منظور تسهیل در تشخیص قبل از تولد، ما تعداد ۱۰۵ کروموزم از افراد حامل و یا مبتلا به بتاتالاسمی را برای یافتن جهش‌های ژن بتاگلوبین توسط روش ARMS-PCR و سکوانس نمودن مستقیم ژن مورد بررسی قرار دادیم.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی تعداد ۱۰۵ کروموزم از ۷۸ فرد غیرخویشاوند شامل۲۷ بیمار مبتلا به بتاتالاسمی ماژور و ۵۱ فرد حامل (تالاسمی مینور) مورد بررسی قرار گرفت. بیماران تالاسمی ماژور کسانی بودند که بیماری آن‌ها توسط پزشک معالج بر اساس علایم بالینی و آزمایشگاهی تشخیص داده شده بود و جهت دریافت خون به طور مرتب به درمانگاه خون بیمارستان ولی‌عصر(عج) زنجان مراجعه می‌نمودند. افراد تالاسمی مینور از بین ۵۵۲۷ فرد مذکری که برای آزمایش خون پیش از ازدواج به درمانگاه شماره‌ی ۹ زنجان مراجعه کرده بودند، تعیین شدند. تشخیص تالاسمی مینور بر اساس MCV کم‌تر از ۸۰ فمتولیتر و الکتروفوز HbA2 و سایر شاخص‌های گلبول‌های قرمز خون محیطی مسجل شد.

خونگیری: از هر فرد مبتلا یا حامل تالاسمی مقدار ۳ میلی‌لیتر خون وریدی در لوله‌های حاوی ماده‌ی ضدانعقاد EDTA گرفته شد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج DNA: DNA توسط روش پروتئیناز K (۸) از خون تام استخراج شد. برای این منظور به طور خلاصه خون بیمار سانتریفوژ شده و به رسوب سلولی جهت لیز نمودن سلول‌ها، آب مقطر اضافه شد. سپس به سلول‌ها بافر تریس یک مولار و SDS ده درصد و پروتئیناز K (۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه نموده و پس از انکوباسیون شبانه، کلریدسدیم ٦ مولار به محلول سلولی اضافه شد و پس از سانتریفوژ

Archive of SID
www.SID.ir

نمودن، اتانول ۷۰ درصد اضافه شد. پس از سانتریفوژ نهایی به رسوب DNA آب مقطر اضافه کرده و جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از جذب نوری OD۲۶۰:۲۸۰ و به دست آوردن عدد بالای ۱/۷ از خلوص DNA اطمینان حاصل شد. در این مطالعه ۲۴ محل از ژن بتاگلوبین برای پیدا کردن جهش مورد بررسی قرار گرفت. محل‌های مورد بررسی عبارت بودند از:

IVSI-110(G→A), IVS II-1(G→A), IVS-I-1(G→A), C5(-CT), C8(-AA), F 8/9 (+G), C16(-1bp), C22, C29, C30 (G→), IVS I-5(G→C), IVS 1-6(T→C), IVS I-116 (T→G), -25bp del, -28 (A → C), IVS I-130(G→C), C36-37(-T), C39(C→), C44(-C), IVS II-3, IVSII-705(T→C), IVSII 745(C→G), C 25-26 Cap site +1 (A →C).

برای برخی از بیماران که جهش آنان با استفاده از روش ARMS مشخص نشد، کل ژن سکوانس شد.

پرایمرها و شرایط PCR: تمام نمونه‌ها توسط روش ARMS-PCR برای ۲۴ جهش فوق مورد بررسی قرارگرفتند. توالی پرایمرها و شرایط PCR قبلا شرح داده شده است (۹). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر ساخته شد. PCR شامل بافر ۱۰x و ۱/۵ میلی‌مولار کلریدمنیزیم به همراه ۲۰ پیکومول از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت و ۲۰۰ میکرومولار از هر یک از dNTP (dTTP,dGTP,dCTP,dATP) و یک واحد آنزیم Taq-DNA پلی‌مراز (سیناژن- ایران) و آب مقطر بود. در انتها به هر واکنش مقدار ۱۰۰ تا ۵۰۰ نانوگرم DNA اضافه می‌شد. تکثیر ژن توسط دستگاه های‌بید (انگلستان) برای ۲۵ تا ۳۰ دور انجام شد. هر سیکل شامل ۳ حرارت مختلف ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۳۵ ثانیه، ۵۹ تا ٦۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای یک دقیقه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۲ دقیقه بود. برای واسرشته‌سازی اولیه، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در حرارت ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده می‌شدند (برای یک دور) و در انتها نیز نمونه‌ها برای یک دور به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در حرارت ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار می‌گرفتند. یک نمونه‌ی کنترل مثبت و منفی نیز برای هر PCRهمراه با نمونه‌های بیماران گذاشته می‌شد. در روش ARMS-PCR پرایمر جهش‌یافته و پرایمر نرمال به طور جداگانه در لوله‌های جدا ریخته می‌شدند و PCR به طور جداگانه انجام می‌شد. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۳ درصد الکتروفورز شده و سپس توسط اتیدیوم‌بروماید رنگ‌آمیزی شده و از نظر وجود یا عدم وجود جهش مورد بررسی قرار می‌گرفتند.

یافته‌ها

شیوع بتاتالاسمی مینور: ابتدا برای بررسی میزان شیوع تالاسمی مینور، ۵۵۲۷ نفر که طی یک سال جهت آزمایش قبل از ازدواج تالاسمی به درمانگاه شماره‌ی ۹ مراجعه کرده بودند انتخاب و از نظر شاخص‌های خونی بررسی شدند. کسانی که MCV کم‌تر از ۸۰ فمتولیتر و هموگلوبین A2 بالای ۳/۵ گرم در دسی‌لیتر داشتند مورد ارزیابی قرارگرفتند. در مجموع ۸۸ نفر MCV زیر ۸۰ داشتند. با بررسی الکتروفورز هموگلوبین و شاخص‌های خونی، ۲۰ نفر مشکوک به کم‌خونی فقرآهن بودند و از مطالعه حذف شدند و ۶۸ نفر به عنوان تالاسمی مینور در نظر گرفته شدند. در نتیجه میزان شیوع تالاسمی در منطقه‌ی زنجان ۱/۲ درصد به دست آمد.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱: نوع جهش و درصد فراوانی جهش‌های به دست آمده در منطقه‌ی زنجان

نوع جهش	تعداد کروموزم	درصد (فراوانی)
IVSI-110 (G →A)	۳۱	۲۹/۵
IVSII-1 (G →A)	۱٤	۱۳/۳
IVSI-1 (G→A)	۱۳	۱۲/٤
Fr8/9 (+G)	۷	٦/۷
C36-37 (-T)	۷	٦/۷
C5 (-CT)	٦	۵/۷
IVSI-5 (G→C)	٤	۳/۸
IVSI-6 (T→C)	۳	۲/۹
C29	۲	۱/۹
C30 (G→C)	۱	۰/۹۵
-28Mut (A→C)	۱	۰/۹۵
C25-26	۱	۰/۹۵
Cap-site+1 (A→C)	۱	۰/۹۵
شناخته‌نشده	۱٤	۱۳/۳
جمع	۱۰۵	۱۰۰

جهش‌های ژن بتاگلوبین: با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای هر یک از جهش‌های ۲۴ گانه، PCR مخصوص آن جهش انجام شد و در مجموع ۱۳ جهش متفاوت شناسایی شد. جهش‌های به دست آمده در نمونه‌های بیماران و افراد حامل تالاسمی (۱۰۵ کروموزوم) و درصد شیوع آن در جدول ۱ آورده شده است.

همان‌طور که در جدول ۱ دیده می‌شود بیشترین فراوانی جهش‌ها مربوط به IVSI-110، IVSII-1 و IVSI-1 است که به ترتیب دارای شیوع ۲۹/۵ درصد، ۱۳/۳ و ۱۲/۴ درصد می‌باشند. جهش‌های C ۳۶/۳۷ و CDs ۸/۹ و کدون C۵ هر یک به ترتیب دارای شیوع ۶/۷، ۶/۷ و ۴/۷ درصد می‌باشند. بقیه‌ی جهش‌ها از شیوع کم‌تری برخوردار بودند به طوری که جهش‌های IVSI-5، Codon30، C29، IVSI-6 و سایر جهش‌ها حدود ۱۳ درصد کل جهش‌ها را تشکیل دادند. جهش‌های C 30، -28 Mut (A→C)، C 25-26 و ۱+ Cap Site هر کدام فقط در یک کروموزوم دیده شدند. این جهش‌ها جزو جهش‌های نادر بوده و در اکثر استان‌ها گزارشی از آن‌ها در دست نیست. در مجموع ۸٦/۷ درصد جهش‌ها در۹۱ کروموزم مشخص شد و۱۳/۳ درصد جهش‌ها در ۱۴ کروموزم نامشخص باقی ماند. مقایسه‌ی فراوانی جهش‌های به دست آمده در منطقه‌ی زنجان با جهش‌های به دست آمده از برخی استان‌های کشور در جدول شماره‌ی ۲ آورده شده است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲: مقایسه‌ی فراوانی جهش‌های به دست آمده‌ی تالاسمی در زنجان و ۷ استان کشور

جهش	زنجان (n=۱۰۵)*	لرستان (n=۱۳۰)	بوشهر (n=۲۰٤)	سیستان و بلوچستان (n=۱٦۲)	تهران (n=٦۳۸)	خوزستان (n=۲۰۸)	فارس (n=73)	هرمزگان (n=۳۱٤)
IVS-I-110 (G→A)	۲۹/۵	۱۱/۵	۵/۹	۱۱/۲	۷/۸	۱۵/۸	۱۷/۸	
IVS-II-1(G→A)	۱۳/۳	۲۷/۷	۱۳/۷		۴۲/۵	۱۲	۱۳/۷	۹/۶
IVS-I-1(G→A)	۱۲/۴		۸/۸	۸/۲	۷/۵	۲۳	۲/۷	
Codons 8/9(+G)	۶/۷	۱۰/۸	۸/۸	۷/۷	۱۰/۷	۱۷/۳	۹/۶	
Codons 36/37 (-T)	۶/۷	۳۳/۸						۰/۷
Codon 5 (-CT)	۵/۷	۰/۶۷	۲/۵		۱/۴		٦/۸	
IVS-I-5(G→C)	۳/۸	۴/۷	۷/۸	۶۵	۸/۳	۸/۷	۳۷	۶۹
IVS-I-6(T→C)	۲/۹		۱/۵	۳/۶	۲	۱۰/۶	۹/۶	
C 29	۱/۹							
Codon 30(G→C)	۰/۹۵		۳/۴		۱/۶			
-28 mut (A→C)	۰/۹۵							
C 25-26	۰/۹۵							
Cap site+1(A→ C)	۰/۹۵							
Codon 39(C→T)			۳/۴					
Codon 44(-C)		۰/۶۷			۰/۱۵		۱/۴	
IVS-II-745(G→C)		۱/۶	۳/۴		۰/۷۸		۱/۷	
IVSI(25 bp deletion)		۰/۶۷	۲۴					
Unknown	۱۳/۳	۷/۷	۱۶/۷	۴/۱	۱۷/۲	۱۱/۵		

** اعداد داخل پرانتز بیان‌گر تعداد کروموزم مورد مطالعه بوده و جهش‌ها برحسب درصد در جدول آورده شده‌اند.*

بحث

بتاتالاسمی بیماری ارثی تک‌ژنی است که از بیش از ٦۰ کشور جهان خصوصا کشورهای منطقه‌ی مدیترانه گزارش شده است. در مسیر کشورهای منطقه‌ی مدیترانه، تالاسمی بالاترین شیوع را در یونان، ساردینیا و ایتالیا دارد و ایران نیز جزو کشورهایی است که شیوع تالاسمی در آن از ۴ تا ۱۰ درصد متفاوت می‌باشد (٦). در نتیجه در بررسی جهش‌های تالاسمی ضروری است که ابتدا جهش‌های نوع مدیترانه‌ای مورد بررسی قرارگیرند. ما نیز در این مطالعه ابتدا جهش‌های مدیترانه‌ای و سپس جهش‌های آسیایی– هندی و در نهایت سایر جهش‌های نادر را مورد ارزیابی قرار دادیم. در این مطالعه ۱۳ جهش مختلف به دست آمد که ۵۸ درصد جهش‌ها از نوع مدیترانه‌ای بودند که عبارتند از: IVSI-110، IVSII-1، IVSI-1 و IVSI-6. جهش‌های IVSII-745 و کدون 39 (C→T) در هیچ کروموزومی دیده نشد. جهش IVSI- 110، با شیوع ۲۹/۵ درصد، بالاترین فراوانی را نشان داد و باعث فنوتیپ β^+ در بیماران تالاسمی می‌شود. این جهش از خوزستان، بوشهر، فارس،

Archive of SID
www.SID.ir

سیستان و بلوچستان و لرستان نیز گزارش شده است (۱۳-۱۰). لذا به نظر می‌رسد این جهش در مناطق جنوب، جنوب‌غربی و غرب کشور از شیوع نسبتا بالایی برخوردار باشد. پس از آن جهش‌های IVSII-1، IVSI-1 و IVSI-6 جمعا ۲۸/۵ درصد جهش‌ها را تشکیل دادند. جهش‌های آسیایی- هندی (IVSI-5 و Fr8/9) ۱۰/۵ درصد جهش‌ها را تشکیل دادند. سایر جهش‌ها ۱۸ درصد از کل جهش‌ها را به خود اختصاص دادند.

نتایج فوق بیانگر این مطلب است که جمعیت منطقه‌ی زنجان در معرض جهش‌های مدیترانه‌ای و غیرمدیترانه‌ای واقع بوده است اما جهش‌های مدیترانه‌ای غالب می‌باشند. جهش IVSI-110 که در جمعیت زنجان دارای شیوع ۲۹/۵ درصد می‌باشد در استان خوزستان دارای شیوع ۱۵/۸ درصد (۱۴) و در استان فارس دارای شیوع ۱۷/۸ درصد می‌باشد (۱۰،۱۵) (جدول ۲). لذا به نظر می‌رسد این جهش در مناطق غرب و جنوب کشور از شیوع نسبتا بالایی برخوردار باشد. این جهش در کشور ترکیه دارای شیوع ۳۵/۹ درصد بوده (۱۶) و در میان کشورهای عرب نیز از شیوع بالایی برخوردار می‌باشد (۱۷،۱۸).

جهش IVSII-1 که در زنجان دارای شیوع ۱۳/۳ درصد می‌باشد در مناطق شمال‌غرب، جنوب‌شرقی، استان‌های مرکزی، فارس و لرستان نیز شایع می‌باشد (۲۰و ۱۹، ۱۰،۱۳،۱۵). جهش IVSII-1 باعث ایجاد فنوتیپ β می‌شود. این جهش همچنین در مناطق خوزستان و بوشهر شایع می‌باشد و از استان فارس نیز گزارش شده است (۱۲،۱۴). از دیگر جهش‌های مدیترانه‌ای جهش IVSI-6 می‌باشد که در حدود ۳ درصد آلل‌های جهش‌یافته منطقه‌ی زنجان دیده شد. این جهش از خوزستان و فارس با شیوع بالاتری گزارش شده است (۲۱،۲۲). این جهش از کشور کویت و فلسطین نیز گزارش شده است (۲۳) و ۴۸/۵ درصد جهش‌های بیماران تالاسمی فلسطین را تشکیل می‌دهد (۱۸).

IVSI- 6 باعث فنوتیپ B^+ می‌شود. ۱۰/۵ درصد جهش‌های زنجان را جهش‌های IVSI-5 و (+G) Codon 8/9 تشکیل دادند. این جهش‌ها جزو جهش‌های هندی – آسیایی محسوب می‌شوند. جهش IVSI-5 بیشتر در نواحی مرکزی، جنوب و جنوب‌شرقی کشور شایع است و کمتر در مناطق شمالی دیده می‌شوند. به طوری که شیوع آن در هرمزگان ۶۹ درصد (۲۱) و در فارس ۳۷ درصد (۱۰) بوده است. این جهش باعث فنوتیپ β^+ می‌شود و در عربستان سعودی (۲۴) و پاکستان (۲۵) از شیوع بالایی برخوردار است. جهش (+G) CDs 8/9 در ۶/۷ درصد کروموزوم‌های جهش‌یافته زنجان دیده شد. این جهش باعث ایجاد فنوتیپ β° می‌شود و در جنوب و جنوب‌غربی کشور شایع می‌باشد (۱۹، ۱۰). از طرفی جهش کدون (T-)۳۷-۳۶ که فقط در ۶/۷ درصد افراد زنجانی به دست آمد در ۳۳/۸ درصد افراد لرستانی گزارش شده است (۱۳).

این جهش به طور نادر در اقوام ایرانی – کردی گزارش شده است و باعث فنوتیپ β° می‌شود و جزو جهش‌های نادر در ایران و مناطق مدیترانه می‌باشد. این جهش در ترکیه نیز جزو جهش‌های نادر محسوب می‌شود (۲۶). نکته‌ی حایز اهمیت آن است که هفت جهش در منطقه‌ی زنجان ۷۷ درصد جهش‌های این منطقه را تشکیل می‌دهند. این امر می‌تواند در یافتن آلل‌های جهش‌یافته در غربالگری تالاسمی و تشخیص قبل از تولد تالاسمی در منطقه‌ی زنجان قابل‌استفاده باشد. در مجموع ۸۶/۷ درصد جهش‌ها در ۹۱ کروموزم مشخص شد و ۱۳/۳ درصد جهش‌ها در ۱۴ کروموزم نامشخص باقی ماند. اطلاعات فوق بیانگر آن است که جهش‌ها در جمعیت‌های مختلف نژادی پراکنده بوده اما در هر جمعیت نژادی یک یا چند جهش از شیوع بالاتری برخوردار می‌باشد. از این روی دانستن طیف جهش‌های ژنی برای هر منطقه ضروری می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

نتایج فوق نشان داد که جهش‌های مدیترانه‌ای در جمعیت زنجانی از شیوع بالایی برخوردار بوده و توصیه می‌شود جهت صرفه‌جویی در وقت و هزینه برای تشخیص قبل از تولد در منطقه‌ی زنجان بیماران تالاسمی ابتدا برای این جهش‌ها مورد بررسی قرار گیرند.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان جهت تقبل هزینه‌های انجام این مطالعه تشکر می‌نماییم. از پرسنل محترم درمانگاه شماره‌ی ۹، مرکز بهداشت استان زنجان و درمانگاه خون بیمارستان ولی‌عصر(عج) خصوصا آقای باقر مهدیخانی نهایت تشکر و سپاسگزاری را داریم. همچنین از کلیه‌ی بیماران به خاطر اهدای خون سپاسگزاریم.

منابع

1- Weatherall DJ, Clegg, JB (eds). The thalassemia syndromes. 4thed. Oxford: Blackwell Sceince; 2001.

2- Huisman TH. The beta and alpha thalassemia repository. *Hemoglobin*. 2000; 22(2): 169-95.

3- Weatherall DJ. The thalassemias. In: Stamatoyannopoulos G, Majerus PW, Perlmutter RM, Varmus H (eds). The molecular basis of blood diseases. 3rd ed. New York: WB Saunders Co; 2001, 183-226.

4- Guiso L, Frogheri L, Pistidda P, et al. Frequency of delta + 27-thalassemia in sardinias. *Clin Lab Hematol*. 1996; 18(4): 241-4.

5- Lukens JN. The thalassemias and related disorders, quantitative disorders of hemoglobin synthesis. In: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, et al, (eds). Wintrobe's clinical hematology. 9th ed Philadelphia: Lee & Febiger; 1993, 1102-45.

6- Haghshenas M, Zamani J [Thalassemia]. 1st ed Shiraz: Shiraz Medical Sciences Publishing Centre; 1997.

7- Angastiniotis M, Modell B. Global epidemiology of hemoglobin disorders. *Ann NY Acad Sci*. 1998; 30(850): 251-69.

8- Goossens M, Kan YW. DNA analysis in the diagnosis of hemoglobin disorders. *Methods Enzymol*. 1981; 76: 805-17.

9- Old JM, Varwalla NY, Weatherall DJ. Rapid detection and prenatal diagnosis of B-thalassemia: studies in Indian and Cypriot populations in the UK. *Lancet*. 1990; 336: 834-7.

10- Mahboudi F, Zeinali S, Merat A, et al. The molecular basis of β thalassemia mutations in Fars province; Iran. *Irn J Med Sci*. 1996; 21(3&4): 104-6.

11- Dilmaghani S, Zeinali S, Moghaddam ZK, et al. Abstract 29, 6th International conference on thalassaemia and the haemoglobinopathies 1997 April, Malta.

12 -Khodaie H, Zeinali S, Dilmaghani S, et al. Abstract 30, 6th international conference on thalassaemia and the haemoglobinopathies, 1997 April, Malta.

Archive of SID

www.SID.ir

13- Kiani A, Mortazavi Y, Zeinali S, Shirkhani Y. Molecular analysis of b- thalassemia mutations in Lorestan. *Hemoglobin*. 2007, 31(3): 343-9.

14- Kaeini moghaddam Z. Determination of beta globin gene mutations in Ahvaz. Second hematology congress, 1996, Ahvaz.

15- Karimi M, Yarmohammadi H, Farjadian S, et al. Beta-thalassemia intermedia from southern Iran: IVS-II-1 (G-->A) is the prevalent thalassemia intermedia allele. *Hemoglobin*. 2002; 26(2): 147-54.

16- Atalay EO, Cirakoglu B, Dincolc G, Atalaty A. Regional distribution of beta thalassemia mutations in Turkey. *Int J Hematol*. 1993; 57: 207-211.

17- El Hazmi MAF, Warsy AS, al-Swailm AR. The frequency of 14 b- thalassemia mutation in the Arab population. *Hemoglobin.* 1995; 19 (6): 333-360.

18- Adekile AD, Gu LH, Baysal E, et al. Molecular characterization of alpha-thalassemia determinants, beta-thalassemia alleles, and beta S haplotypes among Kuwaiti Arabs. *Acta Haematol*. 1994; 92(4): 176-81.

19- Najmabadi H, Karimi-Nejad R, Sahebjam S, et al. The beta-thalassemia mutation spectrum in the Iranian population. *Hemoglobin*. 2001; 25(3): 285-96.

20- Nozari G, Rahbar S, Golshaiyan A, Rahmanzadeh S. Molecular analyses of beta thalassemia in Iran. *Hemoglobin*. 1995; 19(6), 425-31.

21- Yavarian M, Harteveld CL, Batelaan D, Bernini LF, Giordano PC. Molecular spectrum of beta-thalassemia in the Iranian province of Hormozgan. *Hemoglobin*. 2001; 25(1): 35-43.

22- Merat A, Haghshenas M, Mostafavi Pour Z, et al. β thalassemia in southwestern Iran. *Hemoglobin*. 1993; 17(5): 427-37.

23- El-Latif MA, Filon D, Rund D, Oppenheim A, Kanaan M. The beta+-IVS-I-6 (T-->C) mutation accounts for half of the thalassemia chromosomes in the Palestinian populations of the mountain regions. *Hemoglobin*. 2002; 26(1): 33-40.

24- El-Hazmi MA, Swailem AR, Warsy AS. Molecular defects in beta-thalassemias in the Arab populations of Saudi Arabia. *Hem Hered*. 1995; 45(5): 278-85.

25- Ahmed S, Petrou M, Saleem M. Molecular genetics of beta-thalassemia in Pakistan: a basis for prenatal diagnosis. *British J Hematol*. 1996, 94, 476-82.

26- Tadmouri GO, Tuzmen S, Basak AN. A rare beta-thalassemia mutation in a Turkish patient: FSC 36/37(-T). *Hum Biol*. 1997; 69(2): 263-7.

Archive of SID

www.SID.ir

Characterization of Beta globin Gene Mutations in Zanjan Province: an Introduction to Prenatal Diagnosis of Thalassemia

Mortazavi Y[1], Taheri S[2], Derakhshandeh J[3], Zeinali S[4]

[2] Faculty of Medicine, Zanjan, Iran

[3] Dept of Ophthalmology, Vali-e-Asr Hospital, Zanjan, Iran

[4] Dept of Molecular Medicine, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Corresponding Author's Address: Dept of Molecular Medicine**,** Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

E-mail: ymort@yahoo.com

Received: 10 Oct, 2008 **Accepted:** 3 Nov, 2008

Background and Objective: B-thalassemia is an autosomal recessive disease characterized by reduction or complete absence of b-globin gene expression. It has been estimated that more than 2,000,000 carriers as well as 20,000 patients affected with b-thalassemia are living in Iran, a country with more than 70 million population and great ethnic diversity. In this study we aimed to find out the b-globin gene frequency and determine the spectrum of b-globin gene mutations in Zanjan province (northwest region) of Iran.

Materials and Methods: 5527 individuals who were referred for pre-marriage tests to Zanjan clinic as well as 27 thalassemia patients were studied. Altogether one hundred and five chromosomes from 78 unrelated B-thalassemia patients or carriers were examined for b-globin gene mutations by ARMS-PCR and direct gene sequencing. Based on the previous information on common mutations in Mediterranean populations 24 sites were analyzed.

Results: It was found that the b-thalassemia frequency is 1.2% for Zanjan region. Using the above techniques, the mutations for 90/105 (86.7 %) of b-thalassemia chromosomes (13 different mutations) were identified. Fifty eight percent of the mutations were of common "Mediterranean" type. Of which, IVS-I 110 mutation showed the highest frequency (29.5%) followed by IVS-II-1 (13.3%), IVS-I-1 (12.4%) and IVS-I-6 (2.9%). 10.5% of mutations were of common Asian Indian mutations (Fr 8/9, 6.7% and IVS-I-5, 3.8%) respectively. CD5 and CD30 and CD36-37 mutations accounted for 13.3% of the mutations. (5.7%, 0.95% and 6.7% respectively) Mutations in 14 chromosomes (13.3%) remained uncharacterized.

Conclusion: These data suggests that the spectrum of mutations in Zanjan province differs from those reported from other parts of Iran, but Mediterranean type of mutations are more frequent in Zanjan region. Therefore, in order to save the time and cost, it is recommended that for prenatal diagnosis of thalassemia in Zanjan province analysis of Mediterranean mutations should be considered as a front line screening strategy.

Keywords: B-thalassemia, Mutation, Zanjan, ARMS-PCR

Archive of SID
www.SID.ir