Archive of SID



تحقیقی

# انواع هاپلوتیپ‌های همراه هموگلوبین D پنجاب در مجموعه ژنی بتاگلوبین در ساری

حسین جلالی[۱]، دکتر محمدرضا مهدوی[۲]، دکتر مهرنوش کوثریان[۳]، دکتر حسین کرمی[۴]، پیام روشن*[۵]، فاطمه مداحیان[۶]

۱- دانشجوی دکتری پژوهشی تالاسمی، مرکز تحقیقات تالاسمی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ۲- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ۳- استاد، گروه بیماری‌های کودکان، مرکز تحقیقات تالاسمی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ٤- دانشیار، فوق تخصص خون و سرطان مرکز تحقیقات تالاسمی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ۵- کارشناس ارشد ایمنی‌شناسی، گروه پژوهشی سینای مهر ساری. ٦- کارشناس ارشد ژنتیک، گروه پژوهشی سینای مهر ساری.

## چکیده

**زمینه و هدف :** *هموگلوبین D پنجاب یکی از انواع هموگلوبینوپاتی‌ها است که در آن جهش در موقعیت ۱۲۱ بر روی زنجیره بتا رخ داده است. این اختلال هموگلوبینی در هندوستان، پاکستان و ایران شایع است. اغلب افراد هتروزیگوت مبتلا به این بیماری بدون علامت بالینی خاصی هستند. در حالی که در حالت هتروزیگوت مرکب با هموگلوبین S افراد مبتلا بیماری کم‌خونی داسی شکل را بروز می‌دهند. این مطالعه به منظور شناسایی انواع هاپلوتیپ‌های همراه هموگلوبینD در مجموعه ژنی بتاگلوبین در ساری انجام شد.*

**روش بررسی :** *این مطالعه توصیفی روی ۱۸ نفر از خانواده‌های افرادی با هموگلوبینD پنجاب انجام شد. DNA ژنومی از تمامی افراد با استفاده از روش استاندارد فنل- کلروفرم استخراج گردید. سپس نوع هاپلوتیپ همراه هموگلوبینD پنجاب با استفاده از روش PCR-RFLP و آنالیز پیوستگی در خانواده مشخص شد.*

**یافته‌ها :** *در ۱۷ خانواده آلل هموگلوبینD با هاپلوتیپ [++ - - - -+] پیوستگی داشت. تنها در یک خانواده آلل دارای هموگلوبینD به همراه هاپلوتیپ [+++-++-] مشاهده شد.*

**نتیجه‌گیری :** *بخش عمده واریانت هموگلوبین D پنجاب در ساری دارای منشاء یگانه است. احتمالاً هاپلوتیپ نادر مشاهده شده یا منشاء ژنتیکی متفاوتی داشته و یا در اثر مکانیسم‌هایی از قبیل نوترکیبی ژنی به وجود آمده است.*

**کلید واژه‌ها :** *هموگلوبین D پنجاب ، هاپلوتیپ ، PCR-RFLP ، ساری*

* نویسنده مسؤول : پیام روشن ، پست الکترونیکی info@fajrlaboratory.com و payam.roshan@gmail.com

نشانی : ساری، بلوار کشاورز، گروه پژوهشی سینامهر، تلفن ۳۳٤۱۱۱۰۳-۰۱۵ ، نمابر ۳۳۲۹۲۹۲۹

وصول مقاله : ۹۲/۱۲/٤ ، اصلاح نهایی : ۹۳/۳/۱۷ ، پذیرش مقاله : ۹۳/۳/۲۸

## مقدمه

هموگلوبینوپاتی‌ها از شایع‌ترین بیماری‌های وراثتی در سرتاسر دنیا است که در اثر نقص در عملکرد هموگلوبین به وجود می‌آیند. این بیماری‌ها در خاور میانه و ایران شایع هستند (۱). در مطالعه‌ای در ایران ۵/۵۷ درصد افراد به عنوان ناقلین بتاتالاسمی دسته‌بندی شدند (۲). تاکنون ۱۵۳۶ نقص در ژن گلوبین شناخته شده است که بسیاری از آنها با بررسی حرکت الکتروفورتیک بر روی استات سلولز (pH=۸/۶) و سیترات آگار (pH=۶/۲) شناسایی شده‌اند (۱). در استان مازندران نیز در حدود ۱۰درصد از جمعیت ناقل جهش‌های ایجاد کننده بتاتالاسمی و بیش از ۱۵درصد نیز ناقل جهش‌های ژن آلفاتالاسمی هستند (۳و۴). واریانت‌های متفاوتی از هموگلوبین D از قبیل پنجاب (Punjab)، ایران (Iran)، اگری (Agri)، ایبادان (Ibadan)، بوشمن (Bushman)، اولد رباه (Ouled Rabah)، گرانادا (Granada) و نیث (Neath) تاکنون شناسایی شدند که از این تعداد هموگلوبین D پنجاب (Punjab) و ایران (Iran) در ایران گزارش شده‌اند. هموگلوبین D پنجاب(beta121 (GH4) Glu>Gln) که با نام‌های لس‌آنجلس، شیکاگو، نورث کارولینا، پرتغال و اوک ریج (Oak Ridge) نیز شناخته می‌شود؛ دارای شیوع ۲ درصدی در مناطقی از هند و پاکستان و شیوع یک درصدی در کشورهای غربی است. همچنین مواردی از آن در اقوام اروپایی و در نژاد سیاه نیز گزارش شده است. این افراد رابطه نزدیکی با اقوام هندی (مهاجرت کرده در گذشته) داشته‌اند (۵و۶).

هموگلوبین D درحالت هتروزیگوت و هموزیگوت همراه با علایم بالینی خاصی نیست؛ ولی چنانچه این واریانت از هموگلوبین به صورت هتروزیگوت مرکب با هموگلوبین S وجود داشته باشد؛ منجر به بروز کم‌خونی داسی شکل می‌شود (۵).

مطالعه قبلی ما با استفاده از روش PCR-RFLP نشان داد که



www.SID.ir

Archive of SID



تمامی افرادی که در استان مازندران حامل واریانت پنجاب هموگلوبین D بوده‌اند و سایر واریانت‌های این هموگلوبین از قبیل هموگلوبین D ایران در استان یافت نشد. با این وجود هاپلوتیپ‌های همراه هموگلوبین D پنجاب در استان ناشناخته بوده است (۷). این مطالعه به منظور شناسایی هاپلوتیپ‌های مجموعه ژنی بتاگلوبین که با هموگلوبین D پنجاب پیوستگی دارند؛ انجام شد.

## روش بررسی

این مطالعه توصیفی روی ۱۸ نفر از خانواده‌های افرادی با هموگلوبین D پنجاب انجام شد.

۱۸ نفر مورد مطالعه از بین ۷۰ نفر حامل واریانت هموگلوبین D پنجاب انتخاب شدند. همه افراد از شرکت در مطالعه، رضایت داشتند. سپس از این افراد و پدر و مادر آنان نمونه‌برداری شد. نمونه‌های خون محیطی تا زمان استخراج DNA در فریزر با دمای منهای ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

برای استخراج DNA از نمونه‌های خون از روش استاندارد فنل- کلروفرم استفاده گردید. در ابتدا وجود موتاسیون هموگلوبین D در پدر و مادر فرد حامل انجام پذیرفت. سپس بررسی هاپلوتیپ‌های همراه آلل دارای هموگلوبین D در خانواده افراد حامل صورت پذیرفت. برای شناسایی وجود موتاسیون ایجاد کننده هموگلوبین D در والدین از روش PCR-RFLP با به‌کارگیری آنزیم محدود کننده EcoRI استفاده شد. برای بررسی هاپلوتیپ‌های مجموعه ژنی بتاگلوبین در اعضای یک خانواده نیز روش PCR-RFLP به منظور شناسایی هفت پلی‌مورفیسم در سرتاسر مجموعه ژنی بتاگلوبین مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور در ابتدا با استفاده از واکنش PCR هفت جایگاه که پلی‌مورفیسم‌های مربوطه روی آنها قرار گرفته‌اند؛ تکثیر شد. واکنش PCR برای تمامی جایگاه‌ها در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام پذیرفت و مواد تشکیل دهنده آن شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X ، ۲ میکرولیتر از منیزیم ۲۵ میلی مولر، ۰/۵ میکرولیتر از dNTP با غلظت ۱۰میلی مولار، ۰/۵ میکرولیتر از پرایمرهای reverse و Forwaerd ، یک واحد از آنزیم Taq- DNA polymerase بو. همچنین ۲ میکرولیتر از DNA ژنومی که مابقی مواد تشکیل دهنده واکنش را آب مقطر تشکیل می‌داد؛ مورد استفاده قرار گرفت. تمامی مواد از شرکت فرمنتاس ساخت کشور لیتوانی خریداری شد.

برای انجام واکنش PCR از دستگاه mini MJ (Bio Rad، ساخت آمریکا) استفاده شد. تمامی واکنش‌ها در برنامه یکسانی شامل ۱۰ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، ۳۵ سیکل (شامل ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، ۴۵ ثانیه در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد و ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد) و در نهایت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد اجرا شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول یک آمده است.

پس از اطمینان از صحت عملکرد واکنش PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز، واکنش هضم آنزیمی برای هر جایگاه به‌طور جداگانه انجام پذیرفت. حجم نهایی واکنش هضم آنزیمی ۱۵ میکرولیتر شامل ۱/۵ میکرولیتر بافر، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم محدودالاثر و ۱۳ میکرولیتر از محصول PCR بود. تمامی نمونه‌ها به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند و در روز بعد بر روی ژل آگارز ۲درصد لود شده و در زیر نور UV آنالیز شدند. در صورتی که تمامی محصول PCR به دوقطعه تقسیم شد؛ فرد به عنوان +/+ برای جایگاه تشخیص داده شد. در صورتی که نیمی از محصولات PCR برش خوردند؛ فرد +/- گزارش شد و در صورت عدم برش برای هر جایگاه شخص به صورت -/- در نظر گرفته شد.

هفت جایگاه و آنزیم‌های محدودالاثری که آن را برش می‌دهند

*جدول ۱ : پرایمرهای مورد استفاده برای بررسی انواع هاپلوتیپ‌ها*

| نام جایگاه | نام توالی | توالی پرایمر مورد استفاده |
|---|---|---|
| Hinc II در ژن ε | Reverse | 5′-AATACTCACAAAGTAGCCAGT -3′ |
| | Forward | 5′-ATGATATCCATCTCTCCCATT -3′ |
| Hind III در ژن Gγ | Reverse | 5′-TTGAAAGTCAGCTCTGTGTGT -3′ |
| | Forward | 5′-ACATAAAACCCTTTGTGGCTC -3′ |
| Hind III در ژن Aγ | Reverse | 5′-TTGAAAGTCAGCTCTGTGTGT -3′ |
| | Forward | 5′-ATAAATGAGGAGCATGCACAC -3′ |
| Hinc II در ژن 5′ψβ | Reverse | 5′-ACCCTTAGATATTTGCACTAT -3′ |
| | Forward | 5′-CAATCAATATCACGTTGCCTA -3′ |
| Hinc II در ژن 3′ψβ | Reverse | 5′-AGGGAAGTTTGTTTGAGACCT -3′ |
| | Forward | 5′-TCCTACAGCAGACAGTCTTTT -3′ |
| Ava II در ژن β | Reverse | 5′-GAGGGTTTGAAGTCCAACTC -3′ |
| | Forward | 5′-CCCTTCCTATGACATGAACTTAA -3′ |
| Bam H1 در ژن β | Reverse | 5′-GCCCACATCACCAAGGCAAT-3′ |
| | Forward | 5′-GCTCTACGGATGTGTGAGAT-3′ |



www.SID.ir

Archive of SID



جدول ۲ : ژنوتیپ افراد با هموگلوبین D پنجاب در هفت جایگاه از مجموعه ژنی بتاگلوبین

| محل برش و نوع آنزیم محدود کننده / ژنوتیپ | 5'-ε Hinc II | Gγ Hind III | Aγ Hind III | 5'-ψβ Hinc II | 3'-ψβ Hinc II | 5'-β Ava II | 3'-β Bam H1 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| +/+ | ۱۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۱ | ۱۳ | ۱۵ |
| −/+ | ۷ | ۷ | ۳ | ٦ | ٦ | ۵ | ۳ |
| −/− | ۱ | ۱۱ | ۱۵ | ۱۲ | ۱۰ | ۰ | ۰ |

شامل آنزیم‌های محدودالاثر Hinc II در ژنε ، Hind III در ژن Gγ، Hind III در ژن Aγ ، Hinc II در ژن 5'ψβ ، Hinc II در ژن 3'ψβ، Ava II در ژن β و Bam H1 در ژن β گلوبین بود.

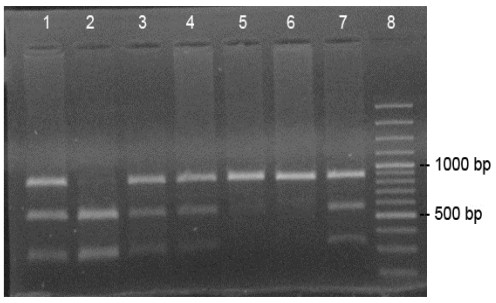
با بررسی آنالیز پیوستگی در خانواده وضعیت برش تک‌تک این جایگاه‌ها که به همراه موتاسیون ایجاد کننده هموگلوبین D پنجاب به ارث رسیده‌اند؛ مشخص شد.

با ردیابی آلل دارای هموگلوبین D پنجاب و پلی‌مورفیسم‌های همراه آن که به طور مشترک به فرزند منتقل شده‌اند؛ نوع هاپلوتیپ‌های همراه هموگلوبین D پنجاب شناسایی شدند. در نهایت درصد پیوستگی هر هاپلوتیپ با هموگلوبین D محاسبه گردید.

## یافته‌ها

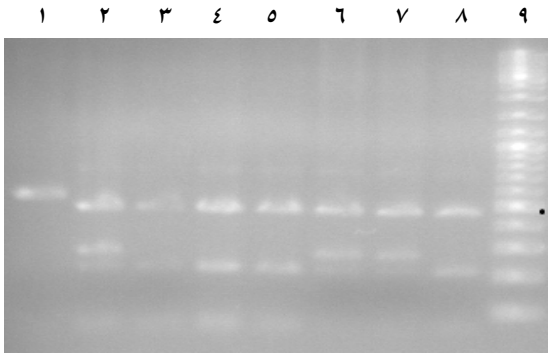
ژنوتیپ افراد مورد مطالعه برای هفت جایگاه در مجموعه ژنی بتاگلوبین که توسط آنزیم‌های مشخص برش داده شدند؛ در جدول ۲ آمده است.

تصویر نتایج هضم آنزیمی برای شناسایی هموگلوبین D و جایگاه برش آنزیم Ava II در ژن بتاگلوبین در شکل‌های ۱و۲ نشان داده شده است.




شکل ۱ : نتایج آزمایشات مولکولی بیماران khrg آلل هموگلوبین D
ستون ۳ : کنترل مثبت؛ ستون‌های ۱، ٤ و ۷ : بیماران هتروزیگوت؛
ستون ۲ : نمونه طبیعی؛ ستون‌های ۵ و ٦ : بیماران هموزیگوت و
ستون ۸ : ladder 100 bp

پس از بررسی تمامی جایگاه‌های ذکر شده با آنزیم‌های مربوطه در والدین افراد مبتلا و آنالیز پیوستگی در تک‌تک جایگاه‌ها مشخص شد که ۱۷ آلل از ۱۸ آللی که دارای هموگلوبین D بودند؛ دارای پیوستگی با هاپلوتیپ [+ - - - - +] (جایگاه پلی‌مورفیسم‌ها به ترتیب از چپ به راست) بودند که به هاپلوتیپ I معروف است. بدین ترتیب پیوستگی آلل همراه هموگلوبین D با هاپلوتیپ I ۹۴درصد تعیین شد. آلل دیگر دارای هموگلوبین D با هاپلوتیپ [- + + + - + + +] پیوستگی نشان داد.




شکل ۲ : تصاویر مربوط به نتایج هضم آنزیمی
با استفاده از آنزیم Ava II در ژن β
به ترتیب از چپ به راست ستون ۱ : نمونه محصول PCR بدون هضم آنزیمی؛ ستون‌های ۲، ٤ و ۷ : نمونه های +/− ؛ ستون‌های ۳، ٤، ۵ و ۸ : نمونه‌های +/+ و ستون ۹ : مارکر ۱۰۰ نوکلئوتیدی

## بحث

با توجه به نتایج این مطالعه بخش عمده واریانت هموگلوبین D پنجاب در ساری دارای منشاء یگانه است.

هموگلوبین D پنجاب به عنوان به‌عنوان چهارمین واریته شایع از انواع واریته‌های هموگلوبین در سرتاسر جهان است که در هندوستان، خاورمیانه و کشورهایی که در امتداد جاده باستانی ابریشم واقع شده‌اند؛ دارای بیشترین فراوانی است. اگرچه قسمتی از کشور هندوستان که در گذشته مستعمره کشور انگلستان بود؛ به عنوان منشاء هموگلوبین D پنجاب در سایر کشورها شمرده می‌شد؛ در مناطقی از دنیا که هیچ ارتباطی با جاده ابریشم و یا کشورهای مستعمره انگلستان نداشتند نیز این واریته از هموگلوبین یافت شده است (۵). تاکنون هموگلوبین D پنجاب در بسیاری از کشورهای خاورمیانه مثل ترکیه، عربستان سعودی، امارات عربی متحده و کویت یافت شده است (۱۰-۸). در ایران نیز در استان‌های جنوبی مثل خوزستان به‌وفور یافت می‌شود. به‌طوری که ۱/۴ درصد از جمعیت استان خوزستان حامل هموگلوبین D هستند. در حدود ۵۰ درصد از این افراد واریته هموگلوبین D پنجاب و در ۵۰درصد دیگر واریته هموگلوبین D ایران وجود دارد (۱۱). مطالعه قبلی ما نیز نشان داد که تمامی افراد دارای هموگلوبین D در استان مازندران دارای واریته هموگلوبین D پنجاب هستند (۷).



www.SID.ir

Archive of SID



شخص حامل هموگلوبین D در وضعیت هموزیگوت معمولاً بدون علایم است و در مواردی نشانه‌هایی نظیر کم‌خونی همولیتیک خفیف، بزرگی خفیف تا متوسط طحال مشاهده می شود. نوزادان شش‌ماه پس از تولد با هموگلوبین D هتروزیگوت / بتاتالاسمی، می‌توانند بدون علایم بوده یا کم‌خونی همولیتیک خفیف تا متوسط داشته باشند. توارث همزمان هموگلوبین D به همراه هموگلوبین S منجر به ایجاد کم‌خونی داسی شکل می‌شود که مشابه توارث هموگلوبین E، هموگلوبین C و هموگلوبین O-Arab و فقرآهن همراه با هموگلوبین S است (۵).

در مطالعه رحیمی و همکاران برای شناسایی هاپلوتیپ‌های همراه هموگلوبین D پنجاب در غرب ایران روی ۲۲ فرد حامل با استفاده از آنالیز پیوستگی در خانواده، آلل دارای هموگلوبین D پنجاب در تمامی افراد با هاپلوتیپ [+ + - - - +] که به عنوان هاپلوتیپ I شناخته می‌شود؛ پیوستگی داشت. بدین ترتیب میزان پیوستگی این آلل با هاپلوتیپ I ۱۰۰درصد گزارش شد (۱۲).

در مطالعه حاضر از ۱۸ آلل بررسی شده ۱۷ آلل به همراه هاپلوتیپ [+ + - - - +] به ارث رسیده بود و پیوستگی آلل دارای هموگلوبین D با هاپلوتیپ ذکر شده ۹۴درصد تعیین شد. مطالعه ما نشان می‌دهد که آلل دارای هموگلوبین D در اکثر افراد حامل در استان مازندران و استان‌های کردنشین ایران احتمالاً منشا مشترکی داشته‌اند. افرادی با هموگلوبین D پنجاب در کشورهای مکزیک و ایتالیا، بلژیک و هلند نیز پیدا شده‌اند که دارای هاپلوتیپ ذکر شده بودند (۵و۱۳و۱۴).

با این وجود در مطالعه یاوریان و همکاران در استان‌های جنوبی ایران (فارس و هرمزگان)، واریانت هموگلوبین D پنجاب در ۶۷/۵ درصد از افراد حامل با هاپلوتیپ [+ + - - - +] پیوستگی داشت. درحالی که در ۱۷/۵ درصد از موارد با هاپلوتیپ [+ - - - - +]، در ۱۰درصد از موارد با هاپلوتیپ [+ + + - - +] و در ۵درصد از افراد با هاپلوتیپ [+ + + + - +] پیوستگی نشان داد و الگوی چندگانه منشاء هموگلوبین D پنجاب در ایران مطرح گردید (۵). نتایج مطالعه ما به مطالعه رحیمی و همکاران (۱۲) که الگوی یگانه را برای منشاء هموگلوبین D مطرح می‌سازد؛ نزدیک‌تر است.

در مطالعه انجام شده در شرق هند، هاپلوتیپ‌های مجموعه ژنی بتاگلوبین که به همراه آلل دارای هموگلوبین D پنجاب به ارث می‌رسند؛ روی ۱۱ خانواده غیرخویشاوند بررسی شد. در ۹ خانواده (۷۶ درصد) آلل دارای موتاسیون ایجاد کننده هموگلوبین D پنجاب به همراه هاپلوتیپ شایع [+ + - - - +] به ارث رسیده بود و در دو خانواده دیگر (۲۴ درصد) آلل مربوطه با هاپلوتیپ [+ + - - - -] همراه بود. برای اولین بار پیوستگی به این صورت گزارش شده است (۱۵). نتایج مطالعه Patel و همکاران (۱۵) در مقایسه با مطالعه ما نشان می‌دهد که قسمت اعظم افراد دارای هموگلوبین D پنجاب در هر دو جمعیت دارای منشاء یکسانی هستند و هاپلوتیپ‌های نادر مشاهده شده همراه هموگلوبین D پنجاب در هر دو جمعیت دارای منشاء ژنتیکی متفاوتی است.

با این وجود در مطالعه حاضر به همراه آلل هموگلوبین D پنجاب هاپلوتیپ [+ + + - + -] در یک فرد مازندرانی مشاهده شد که تاکنون در ایران به همراه هموگلوبین D گزارش نشده است. لازم به ذکر است که این هاپلوتیپ در ترکیه و تایلند به‌طور جداگانه و به همراه هموگلوبین D گزارش شده است (۱۶و۱۷). البته این هاپلوتیپ به همراه آلل طبیعی در مطالعه رحیمی و همکاران گزارش شده است (۱۲).

در کشور ترکیه نیز هاپلوتیپ نادر [+ + + - + -] برای اولین بار در جهان گزارش شد (۱۸) که مانند هاپلوتیپ نادر [+ + + - + -] در استان مازندران می‌توانند منشاء ژنتیکی متفاوت داشته باشند و یا در اثر مکانیسم‌هایی مانند نوآرایی ژنی به وجود آمده باشند.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که بخش عمده واریانت هموگلوبین D پنجاب در ساری دارای منشاء یگانه است. احتمالاً هاپلوتیپ نادر مشاهده شده یا منشاء ژنتیکی متفاوتی داشته و یا در اثر مکانیسم‌هایی از قبیل نوترکیبی ژنی به وجود آمده است.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۱۱۱-۹۱) معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران بود و با حمایت مالی آن معاونت محترم به انجام رسید.

## References

1. Marengo-Rowe AJ. Structure-function relations of human hemoglobins. Proc (Bayl Univ Med Cent). 2006 Jul; 19(3): 239-45.

2. Valizadeh F, Mousavi A, Hashemi-Soteh MB. [Prevalence of hemoglobinopathies in premarriage individuals referred to Babolsar, Iran (2006-09)]. J Gorgan Uni Med Sci. 2012; 14(1):106-12. [Article in Persian]

3. Jalali H, Mahdavi MR, Roshan P, Kosaryan M, Karami H, Mahdavi M. Alpha thalassemia gene mutations in neonates from Mazandaran, Iran, 2012. Hematology. 2014 Jun;19(4):192-5.

4. Hashemi Soteh M, Akhavan Niaki H, Kowsarian M, Aliasgharian A, Banihashemi A. [Frequency of Beta-globin gene mutations in beta-thalassemia patients from east of Mazandaran]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2008;18(5): 17-25. [Article in Persian]

5. Yavarian M, Karimi M, Paran F, Neven C, Harteveld CL, Giordano PC. Multi centric origin of Hb D-Punjab [beta121(GH4)Glu-->Gln, GAA>CAA]. Hemoglobin. 2009; 33(6):399-405.

6. Patel DK, Mashon RS, Patel S, Dash PM, Das BS. β-globin gene haplotypes linked with the Hb D-Punjab [β121(GH4)Glu→Gln, GAA>CAA] mutation in eastern India. Hemoglobin. 2010; 34(6):530-7.



www.SID.ir

Archive of SID



7. Mahdavi MR, Roshan P, Yousefian N, Hojjati MT, Hashemi-Soteh MB. [Molecular evaluation of hemoglobin D mutations in Mazandaran province, Iran]. J Gorgan Uni Med Sci. 2013;15(2):65-69. [Article in Persian]

8. Altay Ç. Abnormal haemoglobins in Turkey. Turk J Haematol. 2002; 19(1):63-74.

9. Alotaibi ST, Ahmed MA. Hemoglobin D trait with alpha thalassemia in a Saudi family. Ann Saudi Med. 2000 May-July; 20(3-4):251-2.

10. el-Kalla S, Mathews AR. Hb D-Punjab in the United Arab Emirates. Hemoglobin. 1997 Jul;21(4):369-75.

11. Zakernia M, Ayatollahi M, Rastegar M, Amanat Sh, Askarinejad AR, Amirghorfan S, Haghshenas M. Hemoglobin D (Hb D Punjab/ Los Angeles and Hb D Iran) and Co-Inheritance with Alpha- and Beta- Thalassemia in southern Iran. IRCMJ. 2011; 13(7): 493-8.

12. Rahimi Z, Akramipour R, Nagel RL, Ahmadi AS, Merat A, Bahrehmand F. The beta-globin gene haplotypes associated with Hb D-Los Angeles [beta121(GH4)Glu --> Gln] in Western Iran. Hemoglobin. 2006;30(1):39-44.

13. Fioretti G, De Angioletti M, Pagano L, Lacerra G, Viola A, de Bonis C, et al. DNA polymorphisms associated with Hb D-Los Angeles [beta 121(GH4)Glu-->Gln] in southern Italy. Hemoglobin. 1993 Feb;17(1):9-17.

14. Perea FJ, Casas-Castañeda M, Villalobos-Arámbula AR, Barajas H, Alvarez F, Camacho A, et al. Hb D-Los Angeles associated with Hb S or beta-thalassemia in four Mexican Mestizo families. Hemoglobin. 1999 Aug;23(3):231-7.

15. Patel DK, Mashon RS, Patel S, Dash PM, Das BS. β-globin gene haplotypes linked with the Hb D-Punjab [β121(GH4)Glu→Gln, GAA>CAA] mutation in eastern India. Hemoglobin. 2010;34(6):530-7.

16. Fucharoen S, Changtrakun Y, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular characterization of Hb D-Punjab [β121(GH4)Glu→Gln] in Thailand. Hemoglobin. 2002; 26(3): 261-9.

17. Ozturk O, Atalay A, Koseler A, Ozkan A, Koyuncu H, Bayram J, et al. Demirtepe S, Aksoy K, Atalay EO. Beta globin gene cluster haplotypes of abnormal hemoglobins observed in Turkey. Turk J Hematol. 2007; 24:146-54.

18. Anzel B, Aylin K, Ayfer A, Hasan K, Ece A, Nejat A. Hb D-Los Angeles [beta121(GH4)Glu>Gln] and Hb Beograd [beta121(GH4)Glu>Val]:Implications for their laboratory diagnosis and genetic origins. Turkish Journal of Hematology. 2009; 26(1):17-20.



www.SID.ir

Archive of SID



**Original Paper**

# Beta globin gene haplotypes associated with hemoglobin D-Punjab in northern Iran

**Jalali H (M.Sc)[1], Mahdavi MR (Ph.D)[2], Kosaryan M (M.D)[3]
Karami H (M.D)[4], Roshan P (M.Sc)*[5], Maddahian F (M.Sc)[6]**

**[1]Ph.D by Research Candidate in Thalassemia, Thalassemia Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. [2]Assistant Professor, Department of Laboratory Medicine, Thalassemia Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. [3]Professor, Department of Pediatrics, Thalassemia Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. [4]Associate Professor, Hematology and Oncology, Thalassemia Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. [5]M.Sc in Immunology, Sina Mehr Research Center, Sari, Iran. [6]M.Sc in Genetic, Sina Mehr Research Center, Sari, Iran.**

## Abstract

**Background and Objective:** Hemoglobin D-Punjab is one of the variant of hemoglobin caused by a mutation on position 121 of beta globin gene which is frequent in India, Pakistan and Iran. Heterozygote form of this variant is mainly asymptomatic while in combination with hemoglobin S, severe form of anemia occure. This study was carried out to determine the beta globin gene haplotypes associated with hemoglobin D-Punjab in Northern Iran.

**Methods:** This descriptive study was carried out on families of 18 individuals whom were carriers of hemoglobin D-Punjab in Sari in Northern Iran. Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples using Phenol-chloroform standard protocol. In order to identify different haplotypes associated with hemoglobin D-Punjab, PCR-RFLP method and family linkage analysis were used.

**Results:** In 17 subjects hemoglobin D-Punjab was linked to [+ - - - - + +] haplotype and in one case association with [- + + - + + +] haplotype was observed.

**Conclusion:** The hemoglobin D-Punjab alleles have mainly unicentric origin and [- + + - + + +] rare haplotype may have different genetic origin or is created as a result of gene recombination.

**Keywords:** Hemoglobin D-Punjab, Haplotype, PCR-RFLP, Iran

*** Corresponding Author: Roshan P (M.Sc), E-mail: info@fajrlaboratory.com**

**Received** 23 Feb 2014 **Revised** 7 Jun 2014 **Accepted** 18 Jun 2014

Cite this article as: Jalali H, Mahdavi MR, Kosaryan M, Karami H, Roshan P, Maddahian F. [Beta globin gene haplotypes associated with hemoglobin D-Punjab in northern Iran]. J Gorgan Uni Med Sci. 2015; 17(1): 108-113. [Article in Persian]

www.SID.ir