ORIGINAL ARTICLE

Prevalence of Mutations of Alpha Globin Gene in Suspected Alpha Carrier Couples, Babolsar, 2006-2011

Farzaneh Valizadeh[1],
Azadeh Deylami[2]

[1] Genetic Counselor, Deputy of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Babolsar, Iran
[2] Thalassemia Counselor, Deputy of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Babolsar, Iran

(Received February 28, 2013 ; Accepted December 17, 2013)

Abstract

Background and purpose: Alpha thalassemia is one of the most common hemoglobin disorders. Some combination of alpha globin gene mutations may cause HbH disease with severe anemia or intermediate thalassemia. In this study we aimed to determine the spectrum of alpha globin gene mutations especially rare mutation at alpha carrier couples in Babolsar, north of Iran. Discovering this spectrum is of great importance in perinatal diagnosis of alpha thalassemia and prevention of HbH disease in newborn and pregnancies affected by hydrops fetalis.

Materials and methods: This descriptive study was carried out in 2006-2011. The research population included 242 suspected carriers of alpha thalassemia (110 female and 130 male) with hypocrom and microcytic anemia (MCV <80, and MCH <27) and hgb-electrophoresis (including HgbA2 <3.5), normal ferritin, TIBC, iron serum level, and resistant to iron therapy who were referred to genetics center for determination of alpha thalassemia, silent beta thalassemia, delta-beta thalassemia, or alpha-beta thalassemia. The type of mutation and frequency indices were also determined.

Results: Among the subjects there were two individuals with alpha-beta thalassemia. Alpha mutations was detectable in 205 (85.3%) and not detectable in 35 cases (14.7%). We found 77.5% with silent thalassemia, 19% with thalassemia trait, and 3.5% with HgbH and just one individual who was transfusion dependent.

Conclusion: We found -α3.7 as the most common alpha globin chain mutation. Also, comparison of these results with the similar finding from other provinces showed that the distributions of mutations in the northern area are different with south or southeast of the country. In our study there were less frequencies of HbH disease dependent to transfusion. However, rare point mutations for example cd was observed more in this study.

Keywords: Alpha Thalassemia, mutation

J Mazand Univ Med Sci 2014; 24(109): 17-25 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و سوم شماره ۱۰۹ بهمن سال ۱۳۹۲ (۲۵-۱۷)

بررسی پراکندگی موتاسیون های آلفا تالاسمی در زوجین مشکوک به بیماری شهرستان بابلسر ۹۱-۱۳۸۵

فرزانه ولی زاده[1]
آزاده دیلمی[2]

چکیده

سابقه و هدف: آلفاتالاسمی یکی از هموگلوبینوپاتی‌های شایع می‌باشد. با توجه به ناهمگونی جهش‌ها و پیچیدگی فنوتیپ درآلفاتالاسمی، تعیین دقیق نوع جهش زوجین، تنها روش برای تعیین وضعیت جنین در رابطه با ابتلا به هیدروپس فتالیس و HgbH disease است. شناخت وضعیت فعلی گستره جهش‌های آلفاتالاسمی در مناطق کشور، راه سریع‌تری را برای تعیین جهش در آزمایشات ژنتیک پیش از تولد، ارائه می‌دهد که باعث پیشگیری از تولد نوزادان با بیماری HgbH و یا جلوگیری از تداوم بارداری هیدروپس فتالیس و عوارض مادری آن می‌گردد.

مواد و روش‌ها: روش مطالعه این پژوهش، توصیفی مقطعی است که بر روی ۲۴۲ نفر (۱۱۱زن -۱۳۱مرد) از مزدوجین شهرستان بابلسر در فاصله ۱۳۸۵ تا ۱۳۹۱، آنمی هیپوکروم و میکروسیتر (MCV<۸۰) و MCH<۲۷) در CBC و الکتروفورز طبیعی (شامل HgbA2<۳/۵) و فریتین، TIBC، Serum Iron طبیعی و مقاوم به دوره‌های آهن درمانی و مشکوک به آلفاتالاسمی انجام شد و جهت تعیین انواع آلفاتالاسمی و بتا تالاسمی Silent یا بتاگامادلتا تالاسمی یا آلفا بتا تالاسمی به مراکز ژنتیک ارجاع شدند، سپس نوع موتاسیون و شاخص‌های شیوع مشخص گردید.

یافته‌ها: از بین۲۴۲نفر از مزدوجین با آنمی هیپوکروم و میکروسیتر مشکوک به آلفاتالاسمی که مورد بررسی قرار گرفتند، دو نفر دارای موتاسیون‌های آلفا- بتاتالاسمی بودند. هم‌چنین موتاسیون‌های آلفا در ۲۰۵ نفر (۸۵/۳ درصد) قابل شناسایی و در ۳۵ نفر (۱۴/۷ درصد) قابل شناسایی نبود. ۷۷/۵ درصد آلفاتالاسمی خاموش، ۱۹ درصد صفت آلفاتالاسمی، ۳/۵ درصد HgbH بودند که فقط یک نفر وابسته به انتقال خون بوده است.

استنتاج: مطالعه فوق در زمینه بررسی انواع موتاسیون‌های آلفا تالاسمی، میزان جهش حذفی و نقطه‌ای بود که در این منطقه در مقایسه با سایر مناطق تا حدودی مشابه می‌باشد. در این بررسی شایع‌ترین جهش زنجیره آلفاگلوبین، مشابه بررسی‌های مناطق مرکزی و جنوبی کشور، موتاسیون ۳/۷ کیلو باز می‌باشد با این تفاوت که میزان HgbH و نوع وابسته انتقال به خون از شیوع کم‌تری برخوردار است. هم‌چنین این بررسی نشان دادکه این منطقه دارای تنوع جهش‌های حذفی و نقطه‌ای به خصوص انواع نادر cd می‌باشد.

واژه های کلیدی: آلفاتالاسمی، موتاسیون، بابلسر

مقدمه

آلفاتالاسمی، یکی ازانواع تالاسمی و از شایع‌ترین هموگلوبینوپاتی‌ها در دنیاست که در جنوب شرقی آسیا و نواحی مدیترانه و خاورمیانه و ایران شایع است. وجود جهش در هر ژن یا هر دو ژن آلفاگلوبین بر روی

مولف مسئول: فرزانه ولی زاده- بابلسر: مرکز بهداشت E-mail: f.valizadeh48@yahoo.com
۱. پزشک مشاوره ژنتیک شهرستان بابلسر، مرکز بهداشت، معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، بابلسر، ایران
۲. کارشناس مشاوره تالاسمی، مرکز بهداشت بابلسر، معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، بابلسر، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۱۲/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۲/۲/۱۶ تاریخ تصویب :۱۳۹۲/۹/۲۶

کروموزوم‌های ۱۶، علت اصلی این بیماری است که منجربه فقدان یاکاهش زنجیره آلفاگلوبین می‌شود. در بررسی ژنوتیپ آلفاتالاسمی، بیش از ۵۰ نوع جهش نقطه‌ای و حذف‌های کوچک و بزرگ متعدد در سراسر جهان گزارش شده است. آلفا تالاسمی براساس تعداد رشته‌های آلفاگلوبین حذفی یا موتاسیونی، فنوتیپ بالینی متفاوتی دارد. اگرچه آلفاتالاسمی با حذف یک رشته یا دو رشته معمولاً بدون علامتند، ناقلان جهش‌های آلفاگلوبین در یک ژن، دچار اختلالات کمی در هموگلوبین هستند که در میان مردم مدیترانه و آفریقا شایع است وافراد حامل دو جهش در ژن آلفاگلوبین، در میان مردم جنوب آسیا بیش‌تر دیده می‌شود که دارای آنمی هیپوکروم میکروسیتیک متوسط هستند، ولی افرادی‌که دارای سه رشته‌ای حذفی یا غیر فانکشنال هستند، تحت عنوان بیماری HgbH (B4) به صورت حذف سه ژن آلفا و یا حذف دو ژن و جهش نقطه ای ژن دیگر (--/αTα یا -- / ααT/-- یا α-/--) آلفاگلوبین می‌باشند(۴- ۱) که احتمال موارد کم خونی همولیتیک مزمن همراه با تصو یر بالینی تالاسمی اینترمدیا وجود دارد. جهش‌های نقطه‌ای در صورت هموزیگوتیا همراهی با جهش‌های حذفی بزرگ ژن آلفاگلوبین می‌توانند منجر به بیماری HbH شوند شامل: Hb Constant Spring، Poly A2 و Poly A1، IVSI-5n که هر چهار جهش نقطه‌ای در مطالعه جنوب غربی ایران، و جهش‌های نقطه‌ای دیگر مانند C19، IVSI۱۴۸، C14، Hb Seal Rock، Hb Icaria، C59 به‌طور پراکنده در ایران گزارش شده‌اند، اما منجر به بروز علایم در HbH نمی‌شوند(۵). شدت بیماری HgbH در افراد مختلف، متفاوت است و می‌تواند بدون علامت یا با علایم آنمی و سرباری آهن و همراه با اختلال عملکرد چند اندام و عوارض جسمی مثل تأخیر در رشد و مشکلات قلبی عروقی و بزرگی کبد و طحال باشد و در بعضی موارد به وابستگی به ترانسفوزیون منجر می‌گردد. علاوه بر عوارض روانی فرد بیمار و خانواده‌اش، هزینه مراقبت و درمان این بیماران بسیار بالا می باشد(۹-۶). نوع حذف چهار رشته‌ای به‌عنوان هموگلوبین Barts (4لا)، جنینی با هیدروپس فتالیس که معمولاً با افزایش فشار خون و مسمومیت حاملگی و پلی هیدروآمنیوس و خونریزی‌های مادر در سه ماهه سوم همراه است و در نهایت به مرده زایی می‌انجامد(۱۱،۱۰). نتایج پژوهشگران در هنگ کنگ و انگلیس و Quebec و فلسطین اشغالی در مورد آلفاتالاسمی حاکی از این است که جنین‌های آلفا تالاسمی با هیدروپس، در رحم مادر یا اوایل نوزادی فوت می‌کنند و نیاز به مراقبت‌های طولانی مدت و هزینه‌های نگهداری ندارند اما هزینه های مراقبت عوارض مادری شامل پره اکلامپسی، هموراژی و عوارض روانی ناشی از بارداری جنین هیدروپس، می‌باشد(۱۲). ترکیب آلفا تالاسمی و بتا تالاسمی می‌تواند عوارض هر دو را به تنهایی تشدید یا تضعیف کند یا به طور کلی تغییر دهد. آلفاگلوبین سه نسخه‌ای، حاصل کراسینگ آور نامتقارن بین همولوگ‌های قطعات -Z، -y، -X خوشه ژنی درطی میوز است. ترکیب این جهش خاص (تریپلت شدن ژن آلفا) می‌تواندیک بتا تالاسمی مینور را به بتا تالاسمی ماژور تبدیل کند یا حذف یک ژن آلفا می‌تواند علایم بتا تالاسمی ماژور را تعدیل کند بنابراین به جز روش‌های ژنتیک مولکولی روشی نمی‌تواند به طور قطعی آلفاتالاسمی را تشخیص دهد(۱۴،۱۳) لذا برای رسیدن به اهداف زیر این مطالعه انجام شد:

۱) میزان بالای تالاسمی در ایران، وجود بتا تالاسمی silent، بتاگامادلتا تالاسمی و احتمال بروز هم‌زمان آلفاوبتاتالاسمی که می‌تواندگوناگونی زیادی ازنظر فنوتیپ ایجادکند و با احتمال بروز بتاتالاسمی ماژور می‌تواند چالش برانگیز باشد.

۲) با توجه به وجود شیوع بالای هموگلوبین H و هموگلوبین Barts (هیدروپس فتالیس) درآسیای جنوب شرقی وخاورمیانه، انجام آزمایش پیش ازتولد در زوجین ناقل آلفا تالاسمی جهت کاهش بروز

هموگلوبین H و بتاتالاسمی ماژور و جنین هیدروپس فتالیس وکاهش عوارض پرخطر مادری در سه ماهه سوم شامل مسمومیت حاملگی و فشار خون و مرده زایی و کاهش مورتالیته و موربیدیتی مادران باردار ضرورت می‌یابد.

۳) هم‌چنین باتوجه به هتروژن بودن جمعیت ایرانی از نظر تنوع و قومیت، جهش و جهش‌های نادر و یا نا مشخص در ژن آلفاگلوبین که امکان تعیین جهش را مشکل می‌سازد، لذا بررسی اپیدمیولوژیک انواع جهش‌ها و حذف‌های آلفاتالاسمی موجود در این منطقه، روشی جهت تسریع تعیین جهش در آزمایش پیش از تولد در مادران باردار می‌باشد.

۴) علم ژنتیک پزشکی و جمعیت (Population genetic) در واقع مطالعه توزیع ژن‌ها در جمعیت‌ها، چگونگی و حفظ یاتغییر فراوانی ژن‌ها و ژنوتیپ‌ها که با بهبود شناسایی ساختار ژنتیکی جمعیت انسانی و جریان ژن‌ها بین جمعیت‌ها و بین نسل‌ها و تعیین فراوانی الل‌ها، کمک کننده درامر محاسبات ریسک خطر بیماری‌هاست که باعث ارتقاء سلامت افراد، خانواده‌ها و جوامع انسانی و کنترل رفتار ژن‌ها در سطح جامعه که هدف نهایی ژنتیک پزشکی است می‌شود. این مهم می‌تواند مدیران و تصمیم‌گیران این برنامه را در راستای ارتقای کیفیت اجرای برنامه و بهبود مراقبت مادر و کودک و به حداقل رساندن میزان‌های Still birth، MMR,NMR، Morbidity و بار بیماری‌ها یاری نماید.

مواد و روش‌ها

روش تحقیق دراین مطالعه توصیفی مقطعی است که در آن ۱۶۲۰ نفر از متقاضیان ازدواج، دچارآنمی هیپوکروم میکروسیتر (MCV<۸۰ و MCH<۲۷) در CBC (توسط دستگاه سیسمکس ساخت KX21n ژاپن) بودند و ۴۵۵ نفر از آن‌ها (با فراوانی ۲۸/۱ درصد) در آزمایشات الکتروفورز هموگلوبین (دستگاه Mindra ساخت انگلیس) HgbA2<۳/۵ و میزان فریتین (روش Elisa با استفاده از کیت Biosystem)، Serum Iron و TIBC طبیعی و مقاوم به دوره‌های آهن درمانی بودند و تحت عنوان مشکوک به آلفاتالاسمی شناسایی شدند. بر اساس فرمول حجم نمونه، ۲۴۲ نفر از این مزدوجین پس از مشاوره ژنتیک، انتخاب شدند. از شرکت‌کنندگان در مطالعه رضایت‌نامه آگاهانه کتبی اخذ گردید و جهت تعیین انواع آلفاتالاسمی و بتا تالاسمی Silent یا بتا گاما دلتا تالاسمی یا آلفا بتا تالاسمی به مراکز ژنتیک ارجاع شدند.

تعداد نمونه با در نظر گرفتن p=۰/۲۸ و d=۰/۰۷ و α=۰/۰۵ و فرمول مربوطه محاسبه گردید.

در مراکز ژنتیک، ابتدا ۱۰ سی‌سی خون EDTA از بیمارگرفته شد و ژنوم از سلول‌های سفید خونی به روش Salting Out تخلیص گردید و از روش PCR جهت تعیین نوع موتاسیون استفاده شد. در مواردی که هیچ جهشی یافت نشد، از روش‌های PCR مولتی پلکس، ARMS-PCR و Sequecing استفاده گردید. در خاتمه اطلاعات وارد برنامه Excell و نرم‌افزار SPSS11.5 شد و با استفاده از آزمون‌های t-test, chi-squaire محاسبات انجام و شاخص‌های شیوع مشخص گردید.

یافته ها

تعداد ۴۵۵ نفر از مزدوجین دچار آنمی هیپوکروم و میکروسیتر با فریتین و HgbA2 طبیعی و مقاوم به دوره‌های آهن درمانی، تحت عنوان مشکوک به آلفاتالاسمی با فراوانی ۲۸/۱ درصد در محدوده فاصله اطمینان (۳۰/۳- ۲۵/۵ درصد :95% CI)، از بین ۱۶۲۰ نفر از مزدوجین دچار آنمی هیپوکروم و میکروسیتر شناسایی شدند و براساس فرمول حجم نمونه، ۲۴۲ نفر از این مزدوجین (۴۸۴ کروموزوم، ۱۱۱ زن و ۱۳۱ مرد) با میانگین سنی ۲۳ سال، جهت بررسی موتاسیون‌ها به مراکز ژنتیک ارجاع شدند که از بین دو نفر دارای موتاسیون‌های آلفا- بتاتالاسمی بودند. موتاسیون‌های

آلفا در ۲۰۵ نفر (۸۵/۳ درصد) قابل شناسایی بود و در ۳۵ نفر (۱۴/۷ درصد) قابل شناسایی نبود ۷۷/۵ درصد حامل خاموش آلفاتالاسمی، ۱۹ درصد حامل آلفا تالاسمی کلاسیک، ۳/۵ درصد HgbH که فقط یک نفر وابسته به انتقال خون بوده است، ۷۳/۷ دارای موتاسیون حذفی و ۲۶/۳ درصد دارای موتاسیون نقطه‌ای بودند. درانواع دو حذفی ۶۱ درصد، دو حذفی CIS و ۳۹ درصد از نوع Trans بودند. شایع‌ترین نوع موتاسیون حذفی، موتاسیون تک حذفی ۷ و ۳. (۵۳/۲ درصد) و موتاسیون دو حذفی)- Med(۳/۱۱ درصد) و شایع‌ترین موتاسیون‌های نقطه‌ای، موتاسیون polyA2a (۱۴ درصد) و نادرترین آن‌ها cd142، cd124، cd24، cd58، cd19 و cd99 بود. هم‌چنین با وجود جهش / a.a a (anti-3.7 تریپلت) احتمال بروز بتا تالاسمی ماژور در این منطقه وجوددارد (جداول شماره ۱ و ۲). ضمناً نتایج این مطالعه حاکی از این است که انواع آلفا تالاسمی دچار افزایش میانگین RBC (اریتروسیتوزیس) و کاهش میانگین MCV و کاهش میانگین MCH می‌باشند که این تغییرات از نظر آماری معنی‌داربوده است (p <۰/۰۰۱) شاخص‌های هماتولوژیک و Mean±zSDکه میزان z در سطوح اطمینان ۹۵ درصد معادل ۱/۹۶در نظر گرفته شده، در انواع تایپ‌های آلفاتالاسمی در جدول شماره ۳ آورده شده است.

بحث

نتایج بررسی دراین منطقه حاکی ازآن است که در بین جمعیت متقاضیان ازدواج، آلفا تالاسمی (۵۳/۳ درصد در زوجین ناقل) شیوع بیش‌تری نسبت به انواع مختلف بتا تالاسمی و هموگلوبینوپاتی دارد. در ضمن در بین جمعیت آلفاتالاسمی مورد مطالعه، حذف- ۳/۷. a، شایع‌ترین عامل ایجاد آلفا تالاسمی بوده است(۳). این یافته‌ها منطبق با نتایج به دست آمده از سایر مطالعات می‌باشد که حذف-۳/۷. a را شایع‌ترین عامل ایجاد آلفاتالاسمی در ایران و جهان معرفی نموده است.

جدول شماره ۱: نوع انواع ژنوتیپ‌های آلفاتالاسمی حذفی و نقطه‌ای (۲۰۵ نفر)

نوع ژنوتیپ آلفاتالاسمی	تعداد (درصد)
a.a/.a.3.7-	۸۵ (۴۲)
a.a/a.4.2	۹ (۴/۳)
aa/a.5nt	۱۰ (۴/۸)
Med--/aa	۲۰ (۹/۷)
3.7a/a.-3.7-	۱۲ (۵/۸)
3.7-a/a.-4.2	۲ (۱)
a.a/-.-3.7	۲ (۱)
Med--/a.3.7	۴ (۲)
Polya2a.a/a.a	۲۷ (۱۳/۲)
Polya1a.a/a.a	۸ (۴)
a.a/a.ac.s	۱۲ (۵/۸)
Cd99a.a/a.a	۱ (۰/۵)
a.a/a.acd19	۲ (۱)
a.a/a.acd58	۱ (۰/۵)
a.a/a.acd24	۱ (۰/۵)
a.a/a.acd124	۱ (۰/۵)
a.a/a.acd142	۱ (۰/۵)
a.acs/med	۲ (۰/۸۳)
a.polya2a..3.7-	۳ (۱/۲۵)
a.ac.s/a.3.7-	۱ (۰/۴۲)
a.aa/ anti3.7	۱ (۰/۴۲)
مجموع	۲۰۵ (۱۰۰)

جدول شماره ۲: موتاسیون‌های آلفاتالاسمی حذفی و نقطه‌ای

انواع موتاسیون ها	تعداد (درصد)
.a.3/7-	۱۲۱ (۵۲/۸)
Polya2	۳۰ (۱۴)
med	۲۶ (۱۱/۵)
cs	۱۵ (۶/۵۵)
a.4.2	۱۱ (۵)
5nt	۱۰ (۴/۴)
Polya1	۸ (۳/۵)
Cd19	۲ (۱)
Cd99	۱ (۰/۵)
Cd58	۱ (۰/۵)
Cd24	۱ (۰/۵)
Cd124	۱ (۰/۵)
Cd142	۱ (۰/۵)
a.a a(anti-3.7trilication)	۱ (۰/۵)
مجموع موتاسیون ها	۲۲۹ (۱۰۰)

جدول شماره ۳: میانگین و اطمینان ۹۵ درصد شاخص های هماتولوژیک درانواع تایپ‌های آلفاتالاسمی

شاخص ها	جنس	HgbH	آلفاتالاسمی trait	آلفاتالاسمی Silent
RBC	M	۵/۹	۵/۲ -۷/۱	۵/۱ -۶/۵
	F	۵/۱	۴/۱ -۵/۵	۴/۳ -۵/۴
Hgb	M	۸/۵	۱۲/۱ -۱۶	۱۲/۷ -۱۶/۵
	F	۸/۱	۹/۸ -۱۳/۸	۱۰/۲ -۱۵/۲
MCV	M	۵۵	۵۰ -۶۶/۳	۷۲/۳ -۸۲
	F	۵۲	۵۷/۲ -۶۲/۳	۷۱/۲ -۸۱/۵
MCH	M	۱۷	۱۸/۲ -۲۵/۲	۲۳/۲ -۲۷/۳
	F	۱۶	۱۸ -۲۴/۵	۲۲/۷ -۲۷/۱
HgbA2	M	۱/۷	۱/۶ -۲/۹	۱/۷ -۲/۹
	F	۱/۸	۱/۵ -۲/۷	۱/۴ -۲/۸

هم‌چنین در این مطالعه انواع آلفاتالاسمی، ۷۷/۵ درصد آلفاتالاسمی خاموش، ۱۹ درصد صفت آلفاتالاسمی و ۳/۵ درصد HgbH بود که فقط یک نفر وابسته به انتقال خون بوده است. ۱۴/۷ درصد غیرقابل شناسایی بودند که ۲۹/۵ درصد آلفاتالاسمی‌ها دارای جهش نقطه‌ای و ۵۷ درصد دارای جهش‌های حذفی و ۲/۵ درصد دارای جهش‌های توأم حذفی و نقطه‌ای بودند.

در بررسی اخیری که در شهرستان بابلسر در سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۹۰ بر روی ۷۵۰ نفر از متقاضیان ازدواج دچارآنمی هیپوکروم میکروسیتر انجام شده (۳۹ درصد) ۲۹۷ نفر بتا مینور با HgbA2>۳/۵ و۴۰۳ نفر با HgbA2 طبیعی (۵۳ درصد) و مقاوم به آهن درمانی تحت عنوان مشکوک به آلفا تالاسمی مطرح شدندکه شایع‌ترین جهش آلفاتالاسمی -a3.7 بود و ۵۰ نفر با هموگلوبین باند (۶/۶ درصد) شناسایی شدند که نتایج آن مشابه نتایج بررسی قبلی دراین شهرستان بود(۳). در مطالعه‌ای که زینلی و همکاران بر روی افراد با آنمی هیپوکروم میکروسیتیک در مورد جهش‌های حذفی ژن آلفاگلوبین انجام دادند ۲۹/۹ درصد دارای جهش‌های آلفاگلوبین بودند(۴). هم‌چنین در پژوهشی که توسط مهدوی و همکاران بر روی خون بند ناف ۶۸۰ نوزاد در بیمارستان‌های شهرستان ساری انجام گرفت، ۱۰ درصد (۶۹ نوزاد) دارای هموگلوبین Barts بودند که ۲۲ درصد از آن‌ها توسط دو روش هموگلوبین الکترفورز و روش staining تشخیص داده شدند و ۷۷ درصد دیگر فقط توسط stainingشناسایی شدند که پیشنهاد گردید در جمعیت‌هایی مثل کشور ایران که آلفا تالاسمی شایع است، استفاده از روش‌های Hgb Vital staining Eectrophoresis به عنوان غربالگری آلفا تالاسمی به صرفه‌تر از DNA analysis است. هم‌چنین میزان اندکس در MCV/RBC اگر کم‌تر از ۲۳ باشد، ریسک ابتلا به آلفاتالاسمی ۲/۸ برابر بیش‌تر از افرادی است که این اندکس آن ها بیش‌تراز ۲۳ است بنابراین این اندکس نیز در تشخیص کمک کننده است(۱).

در بررسی که در طی سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۹۰ توسط ولی زاده وهمکاران در شهرستان بابلسر انجام شد ۱۵۷۰ نفر از مزدوجینی که دچار آنمی هیپوکروم میکروسیتر بودند، براساس هموگلوبین الکتروفورز ۳/۵> و HgbA2 >۳/۵یا وجود هموگلوبین باند اضافی، تقسیم بندی شدند که (۱۹ درصد) ۲۹۷ نفر بتا مینور (HgbA2>۳/۵) و ۴۰۳ نفر با HgbA2 طبیعی (۲۶/۵ درصد) مشکوک به آلفا تالاسمی بودند و شایع‌ترین جهش آلفا تالاسمی-a3.7. بود(۳).

در تحقیق دیگری که اخوان و همکاران در افرادی که مشکوک به آلفاتالاسمی و فاقد جهش‌های حذفی شایع بودند، انجام دادند در ۵۳/۶ درصد، جهش‌های نقطه‌ای شناسایی شد که فراوانی جهش‌های نقطه ای Poly A2 ۷۵/۲۸ درصد، ۳۸ -۵ nt و c.s84/7 ۳۸/۱۴ درصد و PolyA1 ۶۱/۲ درصد بود(۵). دربررسی دیگری که هاشمی و همکاران در سال‌های ۸۵ تا ۸۸ در شهرستان بابلسر برروی ۵۰۰ نفر از متقاضیان ازدواج دچار آنمی هیپوکروم میکروسیتر انجام دادند(۳۷ درصد) ۱۸۵ نفر بتا مینور و ۲۷۵ نفر (۵۵ درصد) با HgbA2 طبیعی و مشکوک به آلفا تالاسمی و ۴۰نفر با هموگلوبین باند (۸ درصد) شناسایی شدندکه شایع‌ترین جهش آلفاتالاسمی-a3.7. بود(۶). در بررسی که در مورد شیوع آلفاتالاسمی در انستیتو پاستور ایران انجام گرفت، حذف‌ها شامل: حذف‌های تک ژن -a3.7 و -a4.2 و حذف‌های دو ژنی مدیترانه‌ای –MED و –a20.5 بودند که حذف -a3.7 شایع‌ترین حذف ژن آلفاگلوبین در نمونه‌های مورد مطالعه بود(۱۳).

تحقیقی که در تهران جهت بررسی شیوع ژن آلفا تالاسمی نسبت به بتا تالاسمی در جمعیت مشکوک تالاسمی انجام شد حاکی از این بود که ۲/ ۵۲ درصد آلفا در مقابل ۹/۸ درصد بتا تالاسمی وجود داشت (از ۵۵/۲ درصد جمعیت آلفا تالاسمی، ۳۱/۸ درصد آلفا تالاسمی خاموش ،۲۰/۶ درصد صفت آلفا تالاسمی و ۲/۸ درصد بیماری هموگلوبین H داشتند و در بین دو

حذفی‌ها ۸/۹ درصد a/a 0-3.7.-307 و ۱/۹ درصد med بود(۱۵). در بررسی شیوع آلفاتالاسمی در خوزستان در مطالعات انجام شده توسط زندی و همکاران، آلفاتالاسمی ۹ درصد، بتاتالاسمی ۵۳ درصد، سایر هموگلوبینوپاتی‌ها ۲۰ درصد و موارد نامشخص ۱۸ درصد بوده است. در خصوص توزیع فراوانی جهش‌های آلفا در استان خوزستان ۸۴/۴ درصد جهش‌های آلفاتالاسمی قابل شناسایی، ۱۵/۸درصد غیرقابل شناسایی و ۴ مورد HgbH تشخیص داده شد که ۷۲/۹ درصد ناقل خاموش، ۱۹/۸درصد دچار صفت آلفا تالاسمی و ۷/۳ درصد آلفا تالاسمی ماژور بودند. شایع‌ترین جهش a3.7- (۵۵/۲ درصد) و med (۱۴/۴ درصد) بود(۱۶). فراوانی حذف a3.7- در بیماران با کم خونی هیپوکرومی میکروسیتی در کرمانشاه ۴۸/۹ درصد بود(۱۷). در بررسی‌های جنوب کشور و کشورهای عرب منطقه خلیج فارس، شیوع آلفا تالاسمی بیش از ۳۰ درصد گزارش شده است(۱۸، ۱۹).

El-kalla و همکاران، ژن‌های آلفاگلوبین را در ۴۱۸ نمونه خون بند ناف نوزادان اماراتی آنالیز کردند که فراوانی آلفاتالاسمی ۴۹ درصد و شایع‌ترین جهش، جهش حذفی α3.7- بوده و فقط در یک مورد جهش‌های حذفی α3.7- و α4.2- به‌صورت هتروزیگوت مرکب α3.7/-α4.2- بودند. میان کشورهای همسایه ایران، در بحرین بیش‌ترین جهش‌ها، جهش حذفی α3.7- و nt5- دیده می‌شود، در حالی که در کویت PA2 و α3.7- جهش های شایع می‌باشند. به طوری که در مطالعه بر روی ۱۵ بیمار HgbH ۷/۸۶ درصد جهش PA2 دیده شد(۲۰).

Borges و همکاران، توزیع انواع حذف‌های آلفاتالاسمی را در ۳۳۹ فرد بالغ برزیلی (۹۸ سیاه پوست و ۲۴۱ سفید پوست)، مورد بررسی قرار دادند. در بین آن‌ها ۱۴۵ نفر (۴۲/۸ درصد) برای حذف alpha3.7 به‌صورت هتروزیگوت و ۱۸ نفر (۵/۳ درصد) به‌صورت هموزیگوت بودند. هم‌چنین ۵ نفر (۱/۵ درصد) به‌صورت هتروزیگوت برای فرم غیرحذفی و یک نفر (۰/۳ درصد) حامل حذف مدیترانه‌ای بودند(۲۱). Adekile و همکارانش، بیماری آلفاتالاسمی را در بین عرب‌های کویتی مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش، ۳ نوع جهش در ۴۶ درصد در بیماران HgbH شناسایی شدند. در بین آن‌ها جهش حذفی α3.7-، ۱۰ درصد موارد را به خود اختصاص داد(۲۲).

Win و همکارانش، سه حذف شایع α3.7-، α4.2- وMED- منطقه جنوب شرق آسیا را در ۱۷۰ بیمار تالاسمی میانماری بررسی کرده و در ۲۷ بیمار، جهش حذفی را شناسایی کردند(۲۳). درتحقیقاتی که White و همکاران در شبه جزیره عمان انجام دادند، فراوانی آلفاتالاسمی را ۳۹/۸ درصد اعلام کرده‌اند(۲۴). در مناطق آفریقایی فراوانی ۶۸ درصد آلفاتالاسمی و شایع‌ترین جهش حذفی α3.7-گزارش شده است(۲۵).

عواملی که بر روی فراوانی ژنی وتنوع جهش‌ها تأثیرگذارند و باعث افزایش هتروزیگوسیتی موتاسیون‌های آلفاتالاسمی می‌شوند شامل انتخاب محیط یا hetrozygote advantage، ازدواج از نوع غیر فامیلی consanguious non و مهاجرت‌های منطقه‌ای داخلی یا خارج از کشور (Gene flow) و پدیده رانش ژنتیکی (Drift) می‌باشند.

مهاجرت (Gene flow) یک انتشار آهسته ژنی در یک جمعیت بزرگ است که باعث تغییرتدریجی در فراوانی ژن‌ها و افزایش هتروزیگوسیتی در جمعیت مهاجرپذیر می‌شود (مکانیسم اختلاط) برخلاف پدیده رانش ژنتیکی (Drift) که باعث تغییرات تصادفی وسریع در فراوانی آلل‌ها در جمعیت‌های کوچک می‌شود (مکانیسم تصادف)(۲۶).

در مناطقی که تالاسمی شایع است، فراوانی ناقلین آلفاتالاسمی بسیار متغیر است، برای مثال از ۱ درصد در جنوب اسپانیا تا ۹۰ درصد در مناطقی درهندوستان. هر چند در دهه های اخیر به دلیل مهاجرت در جمعیت جهانی، اکنون در استرالیا و اروپا و شمال آمریکا نیز (به

طور خاص در جمعیت مهاجرانی که با منشأ کشورهایی با شیوع بالای تالاسمی هستند) این فراوانی وجود دارد(۴). هم‌چنین به دلیل مهاجرت‌ها، بسیاری از موتاسیون‌ها از جمله cd ۱۴. درکشورهای جنوبی خلیج فارس شایع می‌باشد که اولین بار در سال ۲۰۰۳ در استان هرمزگان دیده شد(۱۶). در حال حاضر در سایر مناطق از جمله در این منطقه، انواع مختلف این نوع موتاسیون شناسایی شده است.

با توجه به نتایج فوق در زمینه انواع آلفاتالاسمی، میزان جهش حذفی و نقطه‌ای این منطقه در مقایسه با تهران و خوزستان مشابه می‌باشد، با این تفاوت که این میزان HgbH و نوع وابسته به انتقال خون در مقایسه با خوزستان و تهران از شیوع کم‌تری برخوردار است. هم‌چنین این بررسی نشان دادکه این منطقه دارای تنوع جهش‌های حذفی و نقطه‌ای به خصوص انواع نادر cd.و a.a a /anti-3.7می‌باشد. و با وجود a.a a /anti-3.7 احتمال بروز بتاتالاسمی ماژور در آن وجود دارد.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مشکلات ناشی از هتروژن بودن جمعیت ایرانی همراه با جهش‌های نادر و یا نامشخصی که در ژن آلفا گلوبین قراردارد، امکان تعیین جهش و تشخیص پیش از تولد رامشکل می‌کند.

علاوه بر این قرارگرفتن کشور در کمربند تالاسمی و سابقه مالاریا خیز بودن منطقه شمال کشور (تأثیر پدیده برتری هتروزیگوتی یا hetrozygote advantage effect) دلیلی بر شیوع بالای این بیماری می‌باشد(۱۰). شناخت وضعیت فعلی گستره جهش‌های آلفاتالاسمی در استان‌های کشور، راه سریع‌تری را برای تعیین جهش در زمان پیش ازتولد ارائه می‌دهد که با پیشگیری ازتولد نوزادان با بیماری HgbH و هیدروپس فتالیس و حتی بتا تالاسمی ماژور و جلوگیری از تشخیص اشتباه به دلیل شباهت با ناقلان بتا تالاسمی خاموش، باعث سهولت و دقت تشخیصی مولکولی بیماری در هر منطقه می‌گردد و سیاست‌گذاری و رسیدن به اهداف سیستم بهداشت ودرمان را تسهیل می‌کند.

سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله ازکلیه پرسنل به خصوص همکاران آزمایشگاه‌های مرکز بهداشت بابلسر و مراکز ژنتیک و هم‌چنین کلیه مزدوجین ناقل تالاسمی که در این مطالعه همکاری داشته‌اند، کمال قدردانی و تشکر را دارد.

References

1. Mahdavi M, Kowsarian M, Karami H, Mohseni A, Vahid-shahi K, Roshan P, et al. Prevalence of hemoglobin alpha-chain gene deletion in neonates in North of Iran. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2010; 14(10): 871-875.
2. Forget BG, Franklin BH. Classification of the Disorders of Hemoglobin. Cold Spring Harbor Laboratory Prespective in medicine 2013; (11684): 12-16.
3. Valizadeh F, Deylami A. Prevalence of hemoglobinE in premarriage individuals referred to Babolsar, Iran. J Mazand Univ Med Sci 2013; 101(23): 9-18 (Persian).
4. Zeinali C, Zarbakhsh B. Prevalence of mutations alpha globin gene in suspected alpha carrier couples in Tehran. Blood Journal 2013; 9(4): 414-421.
5. Akhavan H, Pourtaghi M. Frequency point mutation in the globin gene is frequently referred to Children's Hospital in Babol (84-1388. J Gorgan Univ Med Sci 2013; 1(14): 75-82 (Persian).
6. Valizadeh F, Hashemi-Soteh MB. Prevalence of hemoglobinopathies in premarriage individuals referred to Babolsar, Iran. J Gorgan Uni Med Sci 2012; 14(1): 106-112 (Persian).

7. Harteveld CL, Higgs DR. Alphathalasemia. Harteveld and Higgs Orphanet Journal of Rare Diseases 2010: 13(5): 10-18.
8. Borgna-Pignatti C, Galanello R. Thalassemias and relateddisorders: Quantitative disorders of hemoglobin synthesis. In: Wintrobe's Clinical Hematology. Greer JP, (eds). Vol 1. 12th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2009. p. 1083-1031.
9. Ministry of health and Medical Education of Islamic Republic of IRAN. Appearance of (management thalassemia incidence in IRAN. Health Deputy; Centre for Disease Control; Genetic Office, 2008.
10. Weatheral DJ, Clegg JB. The thlasemian syndromes. 7Th ed. Oxford: Blackwell Seeince; 2007.
11. Hosseini Gohari L. Hemoglobin in health and disease-Tehran Minstery of health &Medical Education, HealthDeputy ,Center for Disease Control Tehran:Nasher sedaa 2008:-60-96
12. Leung Y, Lee CP, Tang MHY, Lau ET. Cost-effectiveness of prenatal screening for 12) thalassaemia in Hong Kong. Article first published online: 23OCT20078652(200011) 65:3<183::AID-AJH1>3.0.CO;2-R.
13. Farshadi E, Ariani Kashani A, Karimipoor M, Azarkeivan A, Habibi Pourfatideh R, Fallah MS, et al. Molecular analysis of alpha-thalassemia deletion mutations, and of lossless carriers Iranian suspected. Blood 2010; 7(2 (27): s70-77.
14. Golafshan H. Answers & questions about Hemoglobinopathies and thalasemia. Shiraz: Navid Shiraz, 2008. p. 54-56 (Persian).
15. Khatami Sh. Synthesis of beta-globin chains for the differential diagnosis of alpha-thalassemia carriers &Globin chain synthesis and analysis of DNA, complementary test in the diagnosis of thalassemia. Blood 2007; 4(4): 239-246.
16. Zandi Kh, Pedram M. Distribution of alpha-thalassemia mutations in Khuzestan province: Genetics of the third millennium. 2007; 7(15): 33-42.
17. Alibakhshi MA, Akramipour R. Molecular analysis of alpha globin gene deletions among patients with microcytic hypochromic anemia in Kermanshah-Iran-journals. J Kermanshah Univ Med Sci 2011; 14(5): 10-20 (Persian).
18. Drkhshndh paykar P, Shahgholi E. Blood parameters associated Alphathalasemia carrier with kind. Journal of School Health & Anstitue 2009; 7(2): 33-15.
19. Neishabury ML, Abbasi-Moheb L, Najmabadi H. Alpha-thalassemia deletion analysis in Iran. Arch Iran Med 2001; 4(4): 160-421.
20. El-Kalla S, Baysal E. Alpha-thalassemia in the United Arab Emirates. Acta Haematol 1998; 100(1): 49-53.
21. El-Kalla S, Baysal E. Alpha-thalassemia in the United Arab Emirates. Acta Haematol 1998; 100(1): 49-53.
22. Borges E, Wenning MR, Kimura EM, Gervásio SA, Sonati MF,Costa FF. High prevalence of alpha-thalassemia among individuals with microcytosis and hypochromia without anemia. Braz J Med Biol Res 2001; 34(6): 759-762.
23. Adekile AD, Gu LH, Baysal E, Haider MZ, al-Fuzae L, Aboobacker KC, et al. Molecular characterization of alpha-thalassemia determinants, beta-thalassemia alleles and beta S haplotypes among Kuwaiti Arabs. Acta Haematol 1994; 92(4): 176-181.
24. Ne-Win K, Harano K, Harano T, Myint T, Rai-Mra B, Myint A, et al. Common alpha-thalassemia deletions in transfusion-dependent thalassemia patients in the Southeast Asia

region of Myanmar. Lab Hematol 2006; 12(3): 139-142.

25. White JM, Byrne M, Richards R, Buchanan TKatsoulis E, Weerasingh K. Red cell geneticabnormalities in Peninsular Arabsalpha-thalassemia. Med Genet 1986; 23(3): 245-251.

26. Fowkes FJ, Allen SJ, Allen A, Alpers MP, Weatherall DJ, Day KP. Increased microerythrocyte count inhomozygous alpha(+)-thalassaemia contributes toprotection against severe malarial anaemia. PLoS Med 2008; 5(3): 56.