پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هجدهم شماره ۶۷ آذر و دی سال ۱۳۸۷ (۲۵-۱۷)

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 19:38 +0330 on Sunday November 19th 2017

فراوانی موتاسیونهای ژن بتا- گلوبین در بیماران بتا-تالاسمی شرق مازندران

محمدباقر هاشمی سوته[1] هاله اخوان نیاکی[2] مهرنوش کوثریان[3]
آیلی علی اصغریان[4] علی بنی هاشمی[5]

چکیده

سابقه و هدف : بتا-تالاسمی، شایع ترین بیماری ارثی در جهان و بویژه در ایران می باشد. بر اساس آمار های انجمن تالاسمی ، در ایران ۱۸۶۱۶ بیمار زندگی می کنند که استانهای مازندران و فارس بیشترین آمار را دارا هستند. گزارشات بیانگر فراوانی بیش از ۱۰ درصدی ناقلین بتا-تالاسمی در استان مازندران می باشد. علی رغم ناهمگونی بالای بیماری در سطح مولکولی، در هر جمعیت ۵ تا ۱۰ جهش شایع تراست. در این پژوهش موتاسیون های شایع منطقه شرق استان مازندران مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها : از بیمارانی که به درمانگاه تالاسمی بیمارستان بوعلی ساری مراجعه نمودند و داوطلبانه حاضر به همکاری بودند ۵ تا ۱۰ سی سی خون محیطی تهیه شد و سپس با استفاده از دو روش مختلف Reverse Dot Blot و ARMS-PCR در مرکز تحقیقات تالاسمی ساری و مرکز تالاسمی امیرکلا برای ۲۰ نوع از موتاسیونهای شایع کشور تعیین موتاسیون صورت گرفت.

یافته ها : از ۲۴۰ کروموزوم بررسی شده از ۱۲۰ بیمار بتا-تالاسمی ، در مجموع در ۹۶/۲۵ درصد نوع جهش شناسائی شد. ۱۳ موتاسیون مختلف در ۲۳۱ کروموزوم شناسایی شد. در بین جهش های شناسائی شده، شایع ترین جهش IVSII-1G>A با فراوانی ۶۸/۳ درصد بودکه در ۶۴ نفر (۵۳/۳ درصد) به صورت هموزیگوت و در ۳۴ بیمار (۲۸/۳درصد) به صورت هتروزیگوت مرکب با موتاسیونهای دیگر دیده شد. جهش های codon22(G>A)/codon22/23/24(-7bp) C8(-AA) ,codon30(G>A), و IVSII-1G>A در کل در ۸۳درصد کروموزوم هائی مورد بررسی دیده شده است (۲۰۰ کروموزوم از مجموع ۲۴۰ کروموزوم).

استنتاج: IVSII-1G>A شایعترین جهش بتا-تالاسمی در استانهای شمالی کشور (گیلان , مازندران و گلستان) محسوب می شود. مقایسه این یافته ها با مطالعات مشابه در استانهای دیگر نشانگر این است که توزیع جهش ها در شمال نسبت به شمال غرب ، جنوب یا جنوب شرق کشور متفاوت است. این یافته ها در برنامه های غربالگری و پیشگیری از تولد کودکان تالاسمی ماژور در زوج های ناقل در شرق استان مازندران قابل استفاده خواهد بود.

واژه های کلیدی : بتا-تالاسمی، فراوانی موتاسیون، ژن-بتا گلوبین، بررسی مولکولی ، ARMS-PCR

مقدمه

بتا-تالاسمی، شایع ترین بیماری ارثی در جهان و بویژه در ایران می باشد تخمین زده می شود که حدود ۲۷۰ میلیون ناقل برای نقص های عمده هموگلوبین در جهان وجود دارد و سالانه حدود ۳۰۰ تا ۴۰۰ هزار نوزاد

مولف مسئول: دکتر محمدباقر هاشمی سوته: ساری، کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی Email: hashemisoteh@gmail.com
۱. دکترای ژنتیک انسانی، عضو مرکز تحقیقات تالاسمی و استادیار گروه بیوشیمی و بیوفیزیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۲. دکترای بیولوژی سلولی، عضو مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی و استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل
۳. فوق تخصص بیماریهای غدد اطفال، عضو مرکز تحقیقات تالاسمی و استاد گروه اطفال دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۴. کارشناس آزمایشگاه، مرکز تحقیقات تالاسمی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۵. کارشناس آزمایشگاه، آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان کودکان امیرکلا، دانشگاه علوم پزشکی بابل
تاریخ دریافت : ۸۶/۱۱/۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۶/۱۲/۲۶ تاریخ تصویب: ۸۷/۲/۱۸

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 19:38 +0330 on Sunday November 19th 2017

مبتلا به انواع هموگلوبینوپاتی در سراسر دنیا متولد می شوند. پیش بینی می شود که در ۲۰ سال آینده ۹۰۰ هزار بیمار تالاسمی در دنیا متولد شوند که ۹۵ درصد آنها در آسیا، هند و خاورمیانه خواهند بود (۱). اگر چه بیماری تالاسمی بطور عمده کشور های در حال توسعه را تحت تاثیر قرار می دهد در بعضی مناطق مانند حوزه ی مدیترانه، خاورمیانه ، آسیای جنوب غربی، هند، بخش هائی از آفریقا و اندونزی فراوانی بیشتری دارد و در نواحی دیگری مانند اروپا و آمریکا ی شمالی فراوانی بیماری کمتر است (۳،۲). فرم شدید این بیماری در بدو تولد با کم‌خونی شدید همراه بوده و بدون دریافت خون در سالهای اول زندگی کشنده می باشد(۴). براساس آمار های انجمن تالاسمی، در ایران ۱۸۶۱۶ بیمار مبتلا به تالاسمی زندگی می کنند که استانهای مازندران و فارس دارای بیشترین تعداد بیمار می باشند .

بر همین اساس در استان مازندران حدود ۲۵۰۰ بیمار تالاسمی از خدمات بهداشتی و درمانی استفاده می نمایند. گزارشات متعدد رسمی و غیر رسمی بیانگر فراوانی بیش از ۱۰ درصدی ناقلین بتا-تالاسمی در استان مازندران می باشد (۵، ۶ و ۷) که با توجه به جمعیت ۳ میلیونی این استان در حال حاضر، پیش بینی می شود که تعداد ناقلین بیش از ۳۰۰ هزار نفر می باشد.

این بیماری بصورت اتوزومال مغلوب از والدین به فرزندان به ارث می‌رسد و نقص ژن بتا-گلوبین در کروموزوم ۱۱ سبب ایجاد این بیماری می شود. احتمال تولد نوزاد مبتلا به بتا تالاسمی در ایران، به طور متوسط، یک مورد در ۳۰۰ زایمان تخمین زده میشود که تقریبا ۳ برابر بیشتر از بالاترین فراوانی در بیماری های وراثتی، یعنی سندروم داون، با شیوع ۱/۱۰۰۰ است (۶). بتا- تالاسمی در سطح مولکولی از نا همگونی بالایی برخوردار است، علی رغم این نا همگونی، هر جمعیتی الگوی جهشی خاصی دارد به طوریکه ۵ تا ۱۰ جهش، شایع ترین جهش های هر منطقه را تشکیل میدهند (۷). مطالعات مختلف در ایران هم نشان داده است که پراکندگی و شیوع این موتاسیونها در مناطق مختلف کاملا یکسان نیست و فراوانی آنها در شمال تا جنوب کشور یا در شرق نسبت به غرب تفاوتهائی با هم دارد (۸،۹،۱۰). تعیین الگوی پراکندگی موتاسیونها در هر منطقه ، کمک ارزنده ای جهت تشخیص سریع و تعیین نوع جهش احتمالی در تشخیص های قبل از تولد می نماید. همچنین در زمینه پراکندگی موتاسیونهای ژن بتا در بیماران تالاسمی در استان مازندران گزارشهای محدودی موجود می باشد (۱۱،۱۲). در جدیدترین بررسی منتشر شده در این مورد ، ۱۷۴ فرد مبتلا به تالاسمی مینور از مازندران مورد بررسی قرار گرفتند (۱۱). در مطالعه حاضر افراد مبتلا به بتا- تالاسمی ماژور از نظر نوع موتاسیون مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته اند.

مواد و روش ها

بیماران و نمونه گیری: این تحقیق روی ۱۲۰ بیمار مبتلا به بتا-تالاسمی ساکن در استان مازندران (غیر خویشاوند) که دارای پرونده و سابقه در درمانگاه تالاسمی بیمارستان بوعلی سینای ساری بوده اند انجام پذیرفته است. بعد از گرفتن رضایت نامه از بیماران یا والدین آنها حدود ۵ تا ۱۰ سی سی خون محیطی از این افراد گرفته شد و در لوله های حاوی ضد انعقاد EDTA نیم مولار ریخته شد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد.

DNA با استفاده از روش "Nucleon BACCII" از خون محیطی استخراج گردید و با استفاده از اسپکتروفتومتر در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر از نظر میزان خلوص و غلضت (کمیت و کیفیت) مورد ارزیابی قرار گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 19:38 +0330 on Sunday November 19th 2017

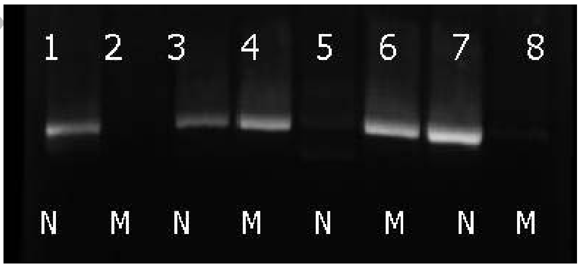
از نمونه های DNA مورد استفاده، رقت ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر تهیه و برای مطالعات بعدی در فریزر نگهداری شد.

تعیین موتاسیون : از دو روش مختلف برای تعیین موتاسیون استفاده شد. در مرکز تحقیقات تالاسمی ساری از روش مستقیم ARMS-PCR جهت تعیین جهش های مختلف (نقطه ای، حذف و اضافه شدن چند نوکلئوتید و ...) استفاده گردید. بدین منظور ۲۰ نوع از انواع موتاسیونهای شایع در کشور مورد بررسی قرار گرفت (شکل شماره ۱). در این روش با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (۱۳) و به کمک ترموسایکلر (MasterCycler gradient) کمپانی اپندروف آلمان تکثیر انجام شد. DNA ژنومی نمونه ها بوسیله آنزیم DNA پلیمراز Taq (شرکت سیناژن) تکثیر یافت. ۲۴ میکرولیتر مخلوط واکنش PCR (شرکت سیناژن، ایران) در هر میکروتیوب تریس ۱۰ میلی مولار (PH= ۸/۳)، کلرید پتاسیم ۵۰ میلی مولار، کلرید منیزیم (شرکت سیناژن) ۱/۵ میلی مولار و ۲۰۰ میکرو مول از هر یک از dNTP (شرکت سیناژن) و ۰/۲۵ نانوگرم در میکرو لیتر از هر یک از پرایمر ها ی جهش یافته یا طبیعی و پرایمر مشترک (شرکت پریم، ایتالیا)، ۱ واحد از آنزیم پلی مراز Taq (شرکت سیناژن) و یک و نیم میکرولیتر از DNA ژنومیک فرد بیمار ریخته شد.

تکثیر DNA در دستگاه ترموسایکلر با شرایط زیر انجام شد: ۹۵ در جه سانتیگراد ۵ دقیقه، سپس نمونه ها به ترتیب ۹۵ درجه سانتیگراد ۶۰ ثانیه، ۶۴ یا ۶۶ درجه سانتیگراد ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد ۶۰ ثانیه برای ۳۵ بار تکثیر گردید و در نهایت نمونه ها در ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه قرار گرفتند (شکل شماره۱). همچنین یافته ها مجدداً در مرکز تالاسمی امیرکلا و با استفاده از دو روش (Reverse Dot Blot) و ARMS-PCR مورد مطالعه و تایید قرار گرفتند (۱۱).

انجام الکتروفورز: پس از انجام PCR، ۱۰ میکرولیتر از محصول تکثیر یافته بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد که حاوی ۱۰ نانوگرم در هر میلی لیتر اتیدیوم بروماید بود در ولتاژ ۱۰۰ ولت الکتروفورز شد. برای ساختن ژل آگارز ۱/۵ در صد، میزان یک و نیم گرم از آگارز را در ۱۰۰ سی سی بافر 1X TBE (تریس، بوریک اسید و EDTA) حل شد. سپس به ظرف های مخصوص الکتروفورز منتقل شد. به هر ۵۰ سی سی ژل، میزان ۸-۱۰ میکرولیتر اتیدیوم بروماید ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر اضافه شد و پس از اضافه کردن نمونه های PCR با ولتاژ ۱۰۰ به مدت ۴۰ دقیقه الکتروفورز انجام گردید در نهایت برای بررسی نتایج PCR، از ژل با استفاده از دستگاه عکس برداری تصویر تهیه و مورد بررسی قرار گرفت (شکل شماره ۱).

Archive of SID



شکل شماره ۱: نمونه ای از نتیجه ARMS-PCR در تشخیص موتاسیون کدون ۴۴ (C44(-C. در این روش برای هر فرد دو لوله PCR، یکی برای حالت نرمال (N) و دیگری برای حالت جهش یافته (M) بکار رفت. ردیف های یک و دو برای فردی است که به عنوان کنترل نرمال استفاده شده است و تنها ردیف اول (لوله N) جواب داده است. ردیف های سه و چهار مربوط به کنترل مثبت است (فرد مینور حاوی یک ژن سالم و یک ژن جهش یافته با جهش (C44(-C). ردیف های ۳ و ۴ گویای این است که هر دو لوله نرمال و جهش یافته جواب داده است که نشاندهنده درست بودن مراحل آزمایش است. ردیف های ۵ و ۶ مربوط به نمونه فرد بیمار دیگر به عنوان کنترل مثبت است (فرد ماژور) حاوی دو ژن جهش یافته با جهش (C44(-C، که در این آزمایش تنها لوله جهش یافته (M) جواب داده است. ردیف های ۷ و ۸ مربوط به نمونه فرد مورد مطالعه است چون لوله مربوط به موتاسیون (ردیف ۸) جواب نداده است اما ردیف ۷ که مربوط به حالت نرمال (N) است جواب داده است بیانگر عدم وجود این موتاسیون در فرد مورد نظرمی باشد.

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 19:38 +0330 on Sunday November 19th 2017

یافته ها

در این تحقیق بررسی ها به روش ARMS-PCR برای ۲۰ نوع از موتاسیونهای شایع کشور و استان مازندران روی ۲۴۰ کروموزوم (۱۲۰نفر) بیماران مبتلا به بتا- تالاسمی انجام شد در مجموع در ۹۶/۲۵ درصد موارد، نوع جهش شناسائی شد. در بین جهش های شناسائی شده موتاسیون IVSII-1G>A به عنوان شایعترین موتاسیون با فراوانی ۶۸/۳درصد شناخته شد که در ۶۴ نفر (۵۳/۳ درصد) به صورت هموزیگوت و در ۳۴ بیمار (۲۸/۳درصد) به صورت هتروزیگوت مرکب با موتاسیونهای دیگر دیده شد. فراوانی جهش های مختلف در این بررسی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱: فراوانی موتاسیونهای بدست آمده از بیماران بتا-تالاسمی در این مطالعه (n= 240 کروموزوم) و مقایسه آن با یافته های مشابه قبلی .

نوع موتاسیون	تعداد کروموزوم	درصد فراوانی	درصد در مطالعه مشابه
IVSII-1	۱۶۴	۴۸/۳	۶۲/۱
C22	۱۵	۶/۲۵	۳/۴
C8	۱۱	۵	۰/۶
C30	۹	۳/۷۵	۷/۵
25DEL	۹	۳/۷۵	۱/۱۰
IVSI-5	۷	۲/۹	۲/۹
IVSI-1	۵	۲	۰/۶
Fr8/9	۴	۱/۶	۳/۴
C39	۲	۰/۸	NA
IVSI-110	۱	۰/۴	۱/۷
C36/37	۱	۰/۴	۰/۶
C5	۱	۰/۴	۰/۰
IVSII-745	۱	۰/۴	۴
UNKNOWN	۹	۳/۷۵	۹/۸

Archive of SID

در ۵ بیمار (۴/۱ درصد) فقط یکی از جهش ها شناسائی شدند و در ۲ مورد (۱/۷ درصد) هیچ جهشی شناسائی نگردید (جدول شماره ۲).

www.SID.ir

جدول شماره۲: فراوانی ژنوتیپی یا ترکیب موتاسیونهای مختلف بدست آمده از بررسی ۱۲۰ بیمار بتا-تالاسمی شهرستان ساری

شماره	نوع موتاسیون	تعداد افراد	درصد فراوانی
۱	IVSII-1 (G>A)/ IVSII-1 (G>A)	۶۴	۵۳/۳
۲	IVSII-1 (G>A)/C22 (G>T)	۹	۷/۴
۳	IVSII-1 (G>A)/ IVSI-1 -25base del	۶	۵
۴	IVSII-1 (G>A)/C8(-AA)	۴	۳/۳
۵	IVSII-1 (G>A)/ IVSI-5(G>C)	۳	۲/۵
۶	IVSII-1 (G>A)/ IVSI-1 (G>A)	۳	۲/۵
۷	IVSII-1 (G>A)/C30(G>C)	۲	۱/۷
۸	IVSII-1 (G>A)/Fr8/9(+G)	۲	۱/۷
۹	IVSII-1 (G>A)/ IVSII-745(C>G)	۱	۰/۸۳
۱۰	IVSII-1 (G>A)/ IVSI-110(G>A)	۱	۰/۸۳
۱۱	IVSII-1 (G>A)/C39(G>T)	۱	۰/۸۳
۱۲	IVSII-1 (G>A)/C36/37(-T)	۱	۰/۸۳
۱۳	IVSII-1 (G>A)/C5(-CT)	۱	۰/۸۳
۱۴	C22(G>T)/C22(G>T)	۲	۱/۷
۱۵	IVSI-5(G>A) IVSI-5(G>C)	۲	۱/۷
۱۶	C8(-AA)/C8(-AA)	۲	۱/۷
۱۷	C30(G>C)/C30(G>C)	۱	۰/۸۳
۱۸	IVSI-1(G>A)/ IVSI-1(G>A)	۱	۰/۸۳
۱۹	IVSI- 25base del/ IVSI-25base del (G>A)	۱	۰/۸۳
۲۰	C8(-AA)/Fr8/9(+G)	۲	۱/۷
۲۱	C30(G>C)/C8(-AA)	۱	۰/۸۳
۲۲	C30(G>C)/ IVSI-25base del	۱	۰/۸۳
۲۳	C22(G>T)/C30(G>C)	۱	۰/۸۳
۲۴	C22(G>T)/C39(G>T)	۱	۰/۸۳
۲۵	IVSII-1 (G>A)/?	۲	۱/۷
۲۶	C30(G>C)/?	۲	۱/۷
۲۷	C8(-AA)/?	۱	۰/۸۳
۲۸	ناشناخته	۲	۱/۷
	تعداد کل	۱۲۰	۱۰۰

جهش C8(-AA) codon22(G>A)/codon22/23/24(-7bp)های codon30(G>A), و IVSII-1G>A در ۸۳ درصد کروموزوم هائی که جهش در آنها شناسائی شده وجود داشت (۲۰۰ کروموزوم از مجموع ۲۴۰ کروموزوم) و سایر موتاسیون های بررسی شده در این تحقیق عبارتند از: C44(-C), C15(G>A), -88(C>T), IVSI-6T>C C25/26(+T) و C16(-C) که در بیماران بررسی شده در این مطالعه دیده نشده اند.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 19:38 +0330 on Sunday November 19th 2017
Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 19:38 +0330 on Sunday November 19th 2017

بحث

بررسی جهش های ژن بتا-گلوبین به صورت گسترده از سال ۱۹۸۰ آغاز شد و تا سال ۱۹۸۶ حدود چهل جهش شناسائی شد. با کشف روش PCR در مدت زمانی کمتر از دو سال حدود پنجاه جهش دیگر شناسائی گردید (۱۴). تاکنون بیش از ۲۰۰ جهش متفاوت در این ژن شناسائی شده است که سبب ایجاد بتا-تالاسمی می شوند. اکثر این آسیبها شامل جهشهای نقطه ای یا حذف و اضافه شدنهای کوتاه چند نوکلئوتیدی می باشد و حذف های عمده ژنی در این بیماری فراوانی کمی دارند. در هر گروه نژادی، تعداد معدودی از این جهش ها در بیماران شیوع بالاتری دارند (۵ ، ۷). به عنوان مثال در ساردینیا جابجائی نوکلئوتیدی C>T در کدون ۳۹ با فراوانی ۹۵/۷ درصد , شایعترین آلل بتا-تالاسمی است (۱۵), همین جهش با فراوانی ۴۰/۱ درصد در سیسیل ایتالیا (۱۶) و در قشم با فراوانی ۷۱درصد (۱۷) به عنوان شایعترین آلل بتا-تالاسمی گزارش شده است. مثال دیگر جهش IVSI-110 A>G با فراوانی ۵۳/۳۹ درصد در یوگسلاوی (۱۸) و ۴۱ درصد در مصر (۱۹) به عنوان شایعترین آلل بتا-تالاسمی گزارش شده است. همچنین شیوع بالای IVSI-5 G>C و Fr 8/9 (+G) در هند (۲۰) و امارات گزارش شده است (۲۱).

در این تحقیق از مجموع ۱۲۰ فرد بررسی شده ، ۱۳ موتاسیون مختلف در ۲۳۱ کروموزوم شناسایی شد که شامل ۹۶/۲۵ درصد از کل موارد بررسی شده بود. جهش IVSII-1G>A از جهش های شایع ناحیه مدیترانه ای می باشد (۱۴) در مطالعات گذشته این جهش به عنوان شایعترین آلل بتا-تالاسمی در استانهای شمالی کشور (گیلان , مازندران و گلستان) و شمال غرب کشور (آذربایجان و اردبیل) گزارش شده است (۱۱, ۲۲). در تحقیقات دکتر نجم آبادی و همکاران نیز، این موتاسیون در اغلب استانها ، جزو شایعترین جهش ها شناسایی شده است (۹). این موتاسیون همچنین در مطالعه ای در الجزایر جزو موتاسیونهای شایع بوده است (۲۳). در این مطالعه، در مجموع ۱۰۰ نفر حامل موتاسیون IVSII-1G>A بوده اند و فراوانی این آلل در مجموع حدود ۶۸/۳درصد بدست آمده است. در مطالعات انجام شده مختلف در ایران، موتاسیون IVSII-1 به عنوان شایع ترین موتاسیون گزارش شده است (۹, ۱۱, ۲۴). همچنین مطالعات دکتر مجتهدزاده (۱۳۷۸) در بین ۴۶ بیمار بررسی شده از مرکز درمانی بوعلی سینای ساری بیانگر شیوع ۶۸/ ۷ درصدی این موتاسیون بوده است که با یافته ۶۸/ ۳ درصدی در این مطالعه کاملا منطبق است(۱۲).

جهش های شناخته شده بعدی در این مطالعه C8 ، C22 و C30 به ترتیب در ۶/۲۵ درصد ، ۵ درصد و ۳/۷۵درصد افراد دیده شده است.همچنین IVSI-3' (25del) نیز در ۹ کروموزوم شناخته شد (۳/۷۵ درصد). موتاسیون IVSI-5 C>G به عنوان شایعترین جهش در خاورمیانه , هند , جنوب و جنوب شرقی آسیا با فراوانی ۴۷ درصد گزارش شده است (۱۴، ۲۱،۲۵،۲۶). همچنین شایعترین آلل بتا-تالاسمی در استان های جنوب شرقی کشور (سیستان و بلوچستان و کرمان) است (۱۴). این موتاسیون در این تحقیق در ۷ مورد از کروموزوم ها شناسایی شد و با فراوانی ۲/۹ درصد در رده پنجم قرار گرفت این امر بیانگر آن است که احتمالا توزیع جهش های شایع در جنوب شرق کشور نسبت به شمال ایران متفاوت است .

درخشنده پیکر و همکاران (۱۱) در مطالعه ای با عنوان فراوانی موتاسیونهای ژن بتا در ۳ استان شمالی کشور (گیلان ، مازندران و گلستان)، ۱۳ موتاسیون را گزارش کرده اند که در ۹۰ درصد مازندرانی های بررسی شده مشاهده شده است و ۵ موتاسیون به تنهائی علت بیش از

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 19:38 +0330 on Sunday November 19th 2017

۸۰ درصد موارد ابتلا به تالاسمی مینور شناخته شده است. فراوانی های گزارش شده در مقاله درخشنده پیکر با فراوانی های مشاهده شده در این بررسی در جدول شماره یک مقایسه شده است. علی رغم شباهتهای بدست آمده، مقایسه، بیانگر تفاوتهائی در فراوانی های حاصل از دو مطالعه می باشد. به عنوان مثال ۵ موتاسیون شایع یافت شده در این مطالعه در ۸۶/۷۵ درصد موارد دیده شد در حالیکه در مطالعه قبلی تنها در ۷۴/۷ درصد موارد گزارش شده است.

شش جهش شایع در منطقه مدیترانه یعنی IVSII-۷۴۵ و IVSII-1 ، IVSI-1 ، IVSI-6 ، IVSI-110 ،C39، که در مجموع، علت ایجاد حدود ۹۰درصد موارد بیماری هستند (۲۷،۲۸) این جهش ها در شرق مازندران در ۷۵/۵درصد از بیماران بررسی شده در این مطالعه یافت شده است . پرایمر هایی که در این مطالعه بکار رفته اند برای تشخیص موتاسیون C22 ، با تغییر G>T طراحی شد. در حالی که در مقاله اخیر منتشر شده در مورد موتاسیونهای شایع در استان مازندران، به حذف ۷ نوکلئوتید (AAGTTGG-) مربوط به کدونهای ۲۲ ، ۲۳ و ۲۴ با فراوانی ۳/۴ درصد اشاره شده است و به جهش C22 G>T که در مناطق دیگر ایران گزارش شده اشاره ای نشده است. پرایمر های مورد استفاده در این طرح قادر به تشخیص هر دو تغییر بودند ولی قادر به تفکیک ایندو از هم نبوده اند (۱۱).

در نهایت از این یافته ها می توان برای تشخیص حاملین (در موارد مشکوک) و تشخیص قبل از تولد بیماران بتا-تالاسمی استفاده کرد. انتشار چنین یافته هائی به محققین کمک میکند تا بیماران شرق مازندران را با دقت و سرعت بیشتری مورد بررسی مولکولی قرار دهند. از ۲۴۰ کروموزوم بررسی شده در این تحقیق ۹ مورد (۳/۷۵درصد) نیز ناشناخته باقی ماندند که برای روشن شدن نوع موتاسیون در آنها نیاز به بررسی های بیشتر وجود دارد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و بابل جهت حمایت مالی از طرح ، و همچنین از بیماران مراجعه کننده به درمانگاه تالاسمی، پرسنل زحمتکش درمانگاه تالاسمی بیمارستان بوعلی سینای ساری و همچنین از آقای دکتر سیروس زینلی و خانم دکتر آزیتا زاده وکیلی که در این مطالعه ما را یاری نمودند تقدیر و تشکر می نمائیم.

Archive of SID

References

1.Vichinsky E.P. Changing patterns of thalassemia worldwide. Ann N Y Acad Sci 2005; 1054: 18-24.

2.Weatherall D.J, Clegg J.B. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bull. World Health Organ 2001; 79(8): 704-712.

3.Weatherall D, Akinyanju O , Fucharoen S, Olivieri N, Musgrove P. Inherited Disorders of Hemoglobin In: Jamison DT, Breman JG, Measham AR, et al.Disease Control Priorities in Developing Countries. New York: Oxford University Press;2006.P 663-680.

4.Greer J P, Foerster J, Lukens J N, Rodgers G M, Paraskevas F, Glader B E. The Wintrobe's Clinic Hematology. Lippincott: Williams and Wilkins;2003.

5.Ghotbi N, Tsukatani T Evaluation of the national health policy of thalassaemia

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 19:38 +0330 on Sunday November 19th 2017

screening in the Islamic Republic of Iran. East Mediterr Health J 2005; 11(3):308-318.

6.Department, N S W H, New South Wales mothers and babies. NSW Public Health Bulletin Supplement 2000; 1:19-20.

7.Cao A,Saba L,Galanello R, Rosatelli M.C, Molecular diagnosis and carrier screening for beta thalassemia. JAMA 1997; 278(15): 1273-1277.

8.Merat A, Haghshenas M, Pour Z.M, Plonczynski M.W, Harrell A.N, Coleman M.B, et al. Beta-thalassemia in southwestern Iran. Hemoglobin 1993 17(5): p. 427-437.

9.Najmabadi H, Karimi-Nejad R, Sahebjam S, Pourfarzad F, Teimourian S, Sahebjam F, et al. The beta-thalassemia mutation spectrum in the Iranian population. Hemoglobin 2001; 25(3): 285-296.

10.Abolghasemi, H, Amid A, Zeinali S, Radfar M.H, Eshghi P, Rahiminejad M.S, et al. Thalassemia in Iran: epidemiology, prevention, and management. J Pediatr Hematol Oncol 2007; 29(4): 233-238.

11.Derakhshandeh-Peykar P, Akhavan-Niaki H, Tamaddoni A, Ghawidel-Parsa S, Naieni K.H, Rahmani M, et al. Distribution of beta-thalassemia mutations in the northern provinces of Iran. Hemoglobin 2007; 31(3):351-356.

12.ModjtahedZadeh F. [Beta Thalassemia gene mutations in Thalassemic patients referred to Boo Ali Sina Hospital of Sari the year 1994]. J Mazand Univ Med Sci 1999; 9(22-23):32-37.

13.Goulden NJ Steward CG. Pediatric Hematology: Methods and Protocols. Pediatric and Developmental Pathology 2004; 7(4): 420-420.

14.Beris P, Darbellay R, Extermann P. Prevention of beta-thalassemia major and Hb Bart's hydrops fetalis syndrome. Semin Hematol 1995; 32(4):244-261.

15.Cao A, Rosatelli MC, Leoni GB, Tuveri T, Scalas M.T, Monni G, et al. Antenatal diagnosis of beta-thalassemia in Sardinia. Ann N Y Acad Sci 1990; 612: 215-225.

16.Maggio A, Di Marzo R, Giambona A, Renda M, Acuto S, Lo Gioco P, et al. Beta-thalassemia mutations in Sicily. Ann N Y Acad Sci 1990; 612:67-73.

17.Noori-Daloii MR, Moazami N, Farhangi S, Atalay A, Geren IN, Akar L, et al. Beta-thalassemia in Iran: a high incidence of the nonsense codon 39 mutation on the island of Queshm. Hemoglobin 1994; 18(6): 449-453.

18.Dimovski A, Efremov D.G, Jankovic L, Juricic D, Zisovski N, Stojanovski N, et al. Beta-thalassemia in Yugoslavia. Hemoglobin 1990; 14(1):15-24.

19.Hussein IR, Temtamy SA, el-Beshlawy A, Fearon C, Shalaby Z, Vassilopoulos G, et al. Molecular characterization of beta-thalassemia in Egyptians. Hum Mutat 1993; 2(1): 48-52.

20.Agarwal S, Gupta A, Gupta U.R, Sarwai S, Phadke S, Agarwal S.S, Prenatal diagnosis in beta-thalassemia: an Indian experience. Fetal Diagn Ther 2003; 18(5): 328-332.

21.Quaife R, al-Gazali L, Abbes S, Fitzgerald P, Fitches A, Valler D, et al. The spectrum of beta thalassaemia mutations in the UAE national population. J Med Genet 1994; 31(1): 59-61.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 19:38 +0330 on Sunday November 19th 2017

22.Hosseinpour Feizi M A, Hosseinpour Feizi A.A, Pouladi N, Haghi M, Azarfam P, Molecular spectrum of beta-thalassemia mutations in Northwestern Iran. Hemoglobin 2008; 32(3):255-261.

23.Labie D, Bennani C, Beldjord C, Beta-thalassemia in Algeria. Ann N Y Acad Sci 1990; 612: 43-54.

24.Karimi M, Yarmohammadi H, Farjadian S, Zeinali S, Moghaddam Z, Cappellini M.D, et al. Beta-thalassemia intermedia from southern Iran: IVS-II-1 (G-->A) is the prevalent thalassemia intermedia allele. Hemoglobin 2002; 26(2):147-154.

25.Frankelin B H Hemoglobin, molecular, genetic and clinical aspect. Philadelphia:W.B Saunders Company; 1986;P 322-50.

26.Dastider D G, Dutta R N, Gupta P. Detection of betha-thalassemia mutation in eastern Indian population by PCR. Ind J Med Res 1994; 100:11-14.

27.Tuzmen S, Schechter A N. Genetic diseases of hemoglobin: diagnostic methods for elucidating beta-thalassemia mutations. Blood Rev 2001; 15(1):19-29.

28.Naja R P, Kaspar H, Shbaklo H, Chakar N, Makhoul N.J, Zalloua P.A. Accurate and rapid prenatal diagnosis of the most frequent East Mediterranean beta-thalassemia mutations. Am J Hematol 2004; 75(4): 220-224.

Archive of SID

www.SID.ir