

بررسی موتاسیون‌های تالاسمی آلفا و ارتباط آن با اندکس‌های گلbulوں‌های قرمز در استان چهارمحال و بختیاری

ريحانه ولیان^۱، دکتر علیرضا معافی^۲، دکتر صادق ولیان^۳، فروغ عباسیان^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: α -تالاسمی یکی از اختلالات هماتولوژیک شایع در ایران است که شناخت جهش‌های شایع آن، پیشگیری از سندروم‌های خاص آن را تسهیل می‌کند. تا زمان اجرای این مطالعه، هیچ اطلاعات مستندی در زمینه‌ی شیوع این بیماری در استان چهارمحال و بختیاری در ایران، موجود نبود. این مطالعه، طیف موتاسیون‌های α -تالاسمی و ارتباط آن‌ها با اندکس‌های گلbulوں‌های قرمز را در این استان بررسی می‌کند.

روش‌ها: در این مطالعه، ۱۲۸ مورد از ناقلين با اصالت چهارمحال و بختیاري از نظر موتاسیون‌های α -تالاسمی به روش‌های GAP-PCR (Amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction) ARMS-PCR (Gap polymerase chain reaction) و تعیین توالی ژن‌های α ۱ و α ۲ بررسی و ارتباط آن با اندکس‌های MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) گلbulوں قرمز ارزیابي شد. داده‌ها به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون‌های χ^2 و t تجزيه و تحليل شدند.

یافته‌ها: حذف ژنی شامل $\alpha^{3/7}$ ($\alpha^{3/7}$ ۸۳/۲ درصد)، $\alpha^{4/5}$ ($\alpha^{4/5}$ ۵/۹ درصد)، $\alpha^{4/2}$ ($\alpha^{4/2}$ ۲/۵ درصد)، $\alpha^{5/4}$ ($\alpha^{5/4}$ ۰/۰ درصد)، HS-۴۰ (HS-۴۰ درصد)، MCV-۴۰ (MCV-۴۰ درصد) و موتاسیون نقطه‌ای Hb-CS ($\alpha^{3/7}$ ۱/۷ درصد) در ژن‌های آلفا گلوبین مشخص گردید. بررسی ارتباط مقادير مختلف MCV (Mean corpuscular volume) و α -تالاسمی، نشان داد که < 78 با موتاسیون‌های α ۱، α ۲ و Hb-CS و نيز < 75 با $\alpha^{3/7}$ ، $\alpha^{4/5}$ ، $\alpha^{4/2}$ و $\alpha^{5/4}$ مرتبه مرتبط می‌باشند. همچنان، موتاسیون $\alpha^{3/7}$ تنها در موارد < 78 یا < 75 می‌باشد. همراه با $\alpha^{3/7}$ ، $\alpha^{4/5}$ ، $\alpha^{4/2}$ و $\alpha^{5/4}$ موتاسیون $\alpha^{3/7}$ (Mean corpuscular hemoglobin) MCH پایین (< 27) و موارد < 27 می‌باشد. همراه با $\alpha^{3/7}$ ، $\alpha^{4/5}$ ، $\alpha^{4/2}$ و $\alpha^{5/4}$ موتاسیون $\alpha^{3/7}$ (Mean corpuscular hemoglobin) MCHC پایین (< 27) و موارد < 27 می‌باشد. همراه با $\alpha^{3/7}$ ، $\alpha^{4/5}$ ، $\alpha^{4/2}$ و $\alpha^{5/4}$ موتاسیون $\alpha^{3/7}$ (Mean corpuscular volume) MCV پایین (< 78) و موارد < 78 می‌باشد. همراه با $\alpha^{3/7}$ ، $\alpha^{4/5}$ ، $\alpha^{4/2}$ و $\alpha^{5/4}$ موتاسیون $\alpha^{3/7}$ (Mean corpuscular volume) MCV پایین (< 75) و موارد < 75 می‌باشد.

نتیجه‌گیری: در مجموع، نتایج ارتباط مثبتی بین موتاسیون‌های α -تالاسمی و اندکس‌های گلbulوں‌های قرمز را نشان دادند که می‌تواند در غربالگری سریع و کارامد این موتاسیون‌های شایع در جمعیت چهارمحال و بختیاري باشد.

وازگان کلیدی: α -تالاسمی، اندکس‌های گلbulوں‌های قرمز، موتاسیون، برنامه‌ی غربالگری

ارجاع: ولیان ریحانه، معافی علیرضا، ولیان صادق، عباسیان فروغ. بررسی موتاسیون‌های تالاسمی آلفا و ارتباط آن با اندکس‌های

گلbulوں‌های قرمز در استان چهارمحال و بختیاري. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳(۳۳۷): ۸۵۵-۸۴۷.

۱- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۴- کارشناس ارشد، بخش مولکولی، مرکز ژنتیک پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: moafi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر علیرضا معافی

ترتیب منجر به آلفا تالاسمی از نوع ناقل خاموش (Silent carrier)، صفت آلفا تالاسمی (Triat) با آنمی خفیف و میکروسیتوز و بیماری H (H disease) با کم خونی هموگلوبینیک به نسبت شدید می‌شود (۲). بیماری H ناشی از ایجاد هموگلوبین H (Hb-H) و رسوب آن در گلبول‌های قرمز می‌باشد. افراد گروه اول و دوم به طور عمومی نیاز به درمان ندارند؛ اما مبتلایان به بیماری هموگلوبین H (Hb-H) ممکن است به تزریق متناوب خون نیاز داشته باشند. در اغلب حاملگی‌هایی که جنین مبتلا به هیدروپیس فتالیس می‌باشد، به دلیل خطر بالای عوارض شدید جنینی و مادری، ختم بارداری صورت می‌گیرد (۴).

آلفا تالاسمی، در مناطق شایع از نظر مalaria فالسیپاروم مثل آفریقا، خاورمیانه، هند و جنوب شرقی آسیا و جنوب چین و گاهی در منطقه‌ی مدیترانه و هیدروپیس فتالیس نوع کشنده، به طور عمده در آسیای جنوب شرقی یافت می‌شود (۴-۶).

در ایران، پراکندگی و شیوع انواع جهش‌های آلفا تالاسمی در مناطق مختلف، متفاوت است. این تفاوت نشأت گرفته از تفاوت‌های نژادی در مناطق مختلف است، اما یافته‌ی قابل توجه در تحقیقات به عمل آمده در نقاط مختلف ایران، شیوع بالای جهش α^3/α^7 می‌باشد. بر اساس گزارش‌های متشره، فراوانی این جهش در استان اصفهان ($70/7$ درصد)، در فارس و کهگیلویه و بویر احمد ($71/7$ درصد)، در استان گیلان ($12/4$ درصد)، در خوزستان ($62/2$ درصد) و در استان سیستان و بلوچستان ($48/7$ درصد) می‌باشد (جدول ۱).

با توجه به تفاوت شیوع جهش‌های آلفا تالاسمی در مناطق مختلف ایران و امکان پیشگیری از

مقدمه

تالاسمی‌ها از شایع‌ترین اختلالات هموگلوبین در دنیا هستند (۱-۲). آلفا تالاسمی یک بیماری هموگلوبین با توارث اتوزومی مغلوب است که به صورت کم خونی میکروسیتیک هیپوکروم بروز می‌کند و طیف فنتوتیپی وسیعی از بدون علامت تا آنمی هموگلوبینیک کشنده دارد. مجموعه‌ی ژنی آلفا گلبولین انسانی، با طولی در حدود ۳۰ کیلو جفت باز روی کروموزوم شماره‌ی ۱۶ قرار دارد و در برگیرنده‌ی دو ژن آلفا گلبولین فعال به نام‌های آلفا گلبولین α^1 و α^2 می‌باشد (۲). در نتیجه در هر فرد سالم، چهار آلل ژنی فعال وجود دارد. با توجه به تشابه ساختمانی بالا بین توالی‌های ژن‌های α^1 و α^2 ، آلفا تالاسمی اغلب ناشی از حذف ژنی می‌باشد (۳). این حذف‌ها، می‌توانند در یک ($\alpha\alpha/-\alpha$)، دو ($-\alpha/\alpha\alpha$)، سه ($-\alpha/-\alpha$) یا چهار ($---$) آلل مربوط به ژن‌های آلفا گلبولین ایجاد شوند.

در مواردی، جهش‌های نقطه‌ای در مناطق حساس ژن نیز می‌توانند آلفا تالاسمی نوع غیر حذفی را به همراه داشته باشد. علاوه بر این، در موارد بسیار نادری، آلفا تالاسمی می‌تواند در نتیجه‌ی حذف عناصر تنظیمی ژن آلفا واقع در ناحیه‌ی بالادست خوشی ژنی آلفا ایجاد گردد که به صورت T($\alpha\alpha$) نوشته می‌شود (۱). در مواردی که جهش به طور کامل موجب حذف بیان ژن‌های آلفا گردد، α^0 ایجاد می‌شود که موارد هموژیگوت آن ($---$) منجر به هیدروپیس جنینی می‌گردد. این عارضه، اغلب در جنین‌های حاصل از ازدواج‌های افراد با ژنتوتیپ ($-\alpha/\alpha\alpha$) ایجاد می‌شود. حذف یا غیر فعال شدن یک، دو یا سه آلل ژن‌های رمز کننده‌ی آلفا گلبولین، به

بودند و تشخیص تالاسمی آلفا برای ایشان تأیید شده بود، وارد تحقیق شدند. این زوج‌ها به دلیل اندکس‌های گلبول‌های قرمز پایین‌تر از میزان طبیعی، از مراکز بهداشتی- درمانی استان چهار محال و بختیاری به این مرکز ارجاع شده بودند. با توجه به $MCH < 27 \text{ pg}$ تعريف شده کشوری ($\text{Cut off} < 27 \text{ pg}$)، افراد با اندکس‌های غیر طبیعی $MCV < 80 \text{ fl}$ (MCV : Mean corpuscular volume) و یا $Hb < A2$ (Hb : Mean corpuscular hemoglobin) و یا $A2$ ($A2$: Mean corpuscular hemoglobin) طبیعی به عنوان افراد مشکوک به آلفا و یا بتا تالاسمی محسوب می‌شوند و لازم است جهت تشخیص قطعی، مورد بررسی مولکولی قرار گیرند.

اندازه‌گیری اندکس‌های گلبول‌های قرمز: برای کلیه مراجعین مجرد، میزان هموگلوبین $A2$ (به روش ستونی)، باندهای غیر طبیعی هموگلوبین با الکتروفورز هموگلوبین و همچنین، اندکس‌های گلبول‌های قرمز (Cell counter sysmex) مورد بررسی قرار گرفته بود و در پرونده ثبت شده بود.

سندرم‌های شدید آن (هیروپس فتالیس) با شناسایی و بررسی جهش‌های شایع‌تر قبل از تولد، مطالعه و تحقیق در این زمینه کاربرد به سزایی در کاهش هزینه‌ها و اتلاف وقت زوج‌ها دارد. در این مقاله، هدف بررسی شیوع موتاسیون‌های آلفا تالاسمی و ارتباط آن‌ها با اندکس‌های گلبول‌های قرمز در زوج‌های ارجاع شده از مراکز بهداشتی- درمانی چهار محال و بختیاری به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی اصفهان بود تا شاید بتوان با سرعت بیشتر و هزینه‌ی کمتر به راهنمایی زوجین پرداخت. این موضوع تا زمان انجام مطالعه، مورد بررسی قرار نگرفته بود و آماری از پراکندگی و شیوع موتاسیون‌های آلفا تالاسمی در این استان در دسترس نبود.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی گذشته‌نگر، کلیه مراجعین با اصالت چهار محال و بختیاری که طی سال‌های ۱۳۸۹-۹۰ به آزمایشگاه ژنتیک اصفهان مراجعه کرده

جدول ۱. مقایسه‌ی جهش‌های شایع آلفا گلوبین در استان چهار محال و بختیاری با سایر استان‌های مطالعه شده

موقاسیون	استان	جهار محال و بختیاری	اصفهان	فارس و کهگیلویه و بویر احمد	خوزستان	سیستان و بلوچستان	گیلان
جمعیت مبتلا به آلفا تالاسمی			۳۱۴	۱۱۷	۱۲۱	۴۷۵	۹۴
α^{37} (درصد)			۷۰/۷	۷۱/۷	۶۲/۲	۴۸/۷	۱۲/۴
α^{MED} (درصد)			۰/۹	۰/۹	۶/۹	یافت نشد	۸/۸
$\alpha^{20/5}$ (درصد)			۳/۸	۳/۸	۰/۹	یافت نشد	۰/۹
α^{42} (درصد)			۴/۷	۴/۷	۷/۶	۱/۶	۴/۲
Hb-CS (درصد)			۰/۸	۰/۸	۰/۹	یافت نشد	۱۰/۶
$\alpha^{\text{del Hbz-Hba}}$ (درصد)			۰/۸	۰/۸	۰/۹	یافت نشد	یافت نشد
(-TGAGG) (درصد)			۸/۷	۸/۷	۷/۰	۱/۹	۷/۱
poly A1 (AATAAA>AATAAG) (درصد)			۱۶/۰	۱۶/۰	۰/۹	یافت نشد	۳/۵
Cd19 α (درصد)			یافت نشد	یافت نشد	یافت نشد	یافت نشد	یافت نشد

موارد، بررسی از لحاظ موتاسیون‌های بتا انجام می‌شد و در صورت منفی بودن موتاسیون، از لحاظ آلفا تالاسمی نیز بررسی می‌شدند. در نتیجه، از بین افراد مورد آزمایش، ۱۲۸ نفر مشکوک به موتاسیون در ژن آلفا بودند که از لحاظ موتاسیون‌های آلفا مورد بررسی قرار گرفتند.

در بررسی موارد حذف ژنی، ۱۱۷ نفر از ۱۲۸ نفر، حذف ژنی در ژن‌های آلفا گلوبین را نشان دادند. در این بررسی، تعداد ۶ موتاسیون شامل $\alpha^{37/7}$, $\alpha^{20/5}$, $\alpha^{4/2}$, α^{MED} , del Hbz-Hba α و HS-۴۰ شناسایی شدند (جدول ۱). فراوانی این جهش‌ها به ترتیب ۸۳/۲ درصد، ۵/۹ درصد، ۵/۰ درصد، ۲/۵ درصد، ۰/۸ درصد و ۰/۸ درصد بود. شایع‌ترین موتاسیون آلفا تالاسمی در این جمعیت، $\alpha^{37/7}$ (۸۳/۲ درصد) بود (جدول ۲).

جدول ۲. فراوانی موتاسیون‌های آلفا تالاسمی در جمعیت چهار محل و بختیاری

تعداد (درصد)	نوع موتاسیون
۹۹ (۸۳/۲)	$\alpha^{37/7}$
۷ (۵/۹)	$\alpha^{20/5}$
۶ (۵/۰)	α^{MED}
۳ (۲/۵)	$\alpha^{4/2}$
۱ (۰/۸)	del Hbz-Hba α
۱ (۰/۸)	HS-۴۰
۲ (۱/۷)	Hb-CS

۱۱ نفر از افراد، قادر حذف ژنی بودند که از لحاظ جهش‌های نقطه‌ای در ژن‌های آلفا گلوبین ۱ و ۲ مورد بررسی قرار گرفتند. در این بررسی، تنها موتاسیون نقطه‌ای Hb-CS که در کدام ۱۴۲ ژن آلفا گلوبین ۲ منجر به تبدیل کدام اسید آمینه‌ی گلوتامین

تعیین موتاسیون: از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده، DNA ژنومی با روش رسوب نمک می‌لیر استخراج گردید (۱۲). جهش‌های آلفا تالاسمی با Multiplex GAP-PCR (Multiplex Gap polymerase chain reaction) Multiplex ligation-dependent probe (MLPA HBA probemix, MRC, Holland) (amplification (SALSA MLPA P1۴۰) و تعیین توالی کامل ژن‌های $\alpha 1$ و $\alpha 2$ با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و ABI بادستگاه تعیین توالی (Applied biosystems, Life Technologies, USA) مورد بررسی قرار گرفتند (۱۲-۱۳). در ارزیابی انجام PCR شده در ابتدا وجود جهش‌های شایع با روش چندگانه (Multiplex PCR) مورد بررسی قرار می‌گرفت و سپس در مواردی که حذفی شناسایی نمی‌شد، از روش MLPA و در نهایت، تعیین توالی ژن‌های $\alpha 1$ و $\alpha 2$ برای شناسایی موتاسیون‌های نقطه‌ای مورد استفاده قرار می‌گرفت.

اندکس‌های گلbul‌های قرمز و نوع موتاسیون یافت شده، در جداولی طبقه‌بندی گردید و سپس نتایج آزمایش‌ها به وسیله‌ی نرمافزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) با استفاده از آزمون‌های χ^2 و t تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در طی سال‌های ۱۳۸۹-۹۰ تعداد ۷۱۶ نفر در برنامه‌ی غربالگری کشوری پیشگیری از تالاسمی با اصال چهار محل و بختیاری، جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه مرکز ژنتیک پژوهشکی اصفهان ارجاع شدند. در هر صورت، برای تمام

در مرحله‌ی بعد، رابطه‌ی اندکس‌های MCV و MCH با موتاسیون‌های آلفا تالاسمی مورد بررسی قرار گرفت. در مقادیر MCV طبیعی و MCH پایین، شیوع موتاسیون‌های $\alpha^{3/7}$ و Hb-CS بالاتر بود. در مقادیر MCV پایین و MCH طبیعی و همچنین $\alpha^{3/7}$ نیز تنها موتاسیون $\alpha^{3/7}$ یافت شد. در مقادیر $78 < MCV < 75$ ، شیوع موتاسیون‌ها به ترتیب شامل $\alpha^{3/7}$ و Hb-CS بود. در مقادیر $MCV < 75$ ، ترتیب شیوع موتاسیون‌ها به صورت $\alpha^{3/7}, \alpha^{20/5}$ و α^{MED} بود (جداول ۳ و ۴).

به کدام ختم زنجیره می‌شود (CAA > TAA)، در ۲ نفر (۱/۷ درصد) شناسایی شد.

در این مطالعه، امکان تعیین موتاسیون برای ۹ نفر (۷ درصد) فراهم نشد. این افراد ممکن است دارای حذف‌های زنی ناشناخته باشند یا در نواحی زنی دیگری (نواحی تنظیمی) دارای جهش باشند و یا نقص زنی غیر از نقص‌های زن‌های آلفا گلوبین داشته باشند که بررسی آن مستلزم مطالعه‌ی دیگری است. بنابراین، موتاسیون آلفا تالاسمی در ۱۱۹ نفر (از ۱۲۸ نفر) یافت شد.

جدول ۳. مطالعه‌ی اندکس‌های گلوبول‌های قرمز افراد دارای موتاسیون‌های آلفا تالاسمی در جمعیت چهار محال و بختیاری

تعداد بررسی شده	تعداد موارد با موتاسیون آلفا تالاسمی	درصد موارد با موتاسیون آلفا	نوع موتاسیون‌های یافته شده به تفکیک و تعداد هر کدام	تالاسمی آلفا اندکس‌ها
۶۳	۱۶	۲۵/۴	۱۵ $\alpha^{3/7}$	طبیعی MCV
			۱ Hb-CS	پایین MCH
			۴ $\alpha^{3/7}$	پایین MCV
۲۳	۴	۱۷/۰	۴ $\alpha^{3/7}$	طبیعی MCH
			۱۹ $\alpha^{3/7}$	$78 < MCV < 80$
			۲۲ $\alpha^{3/7}$	
۶۲	۲۴	۳۸/۷	۱ $\alpha^{3/7}$	$75 < MCV < 78$
			۱ Hb-CS	
			۲۶ $\alpha^{3/7}$	
۴۴۴	۴۱	۹/۲	۸ $\alpha^{20/5}$	$MCV < 75$
			۶ α^{MED}	
			۱ del Hbz-Hba α	
۷۱۶	۱۱۹	۱۶/۶	۹۹ $\alpha^{3/7}$	
			۷ $\alpha^{20/5}$	
			۶ α^{MED}	
			۳ $\alpha^{3/7}$	تعداد کل
			۲ Hb-CS	
			۱ del Hbz-Hba α	
			۱ HS-۴۰	

MCV: Mean corpuscular volume; MCH: Mean corpuscular hemoglobin

جدول ۴. ارتباط Mean cell volume با موتاسیون‌های مختلف آلفا تالاسمی در جمعیت چهار محال و بختیاری

موتاویون	MCV	میانه	بیشینه	کمینه	میانگین
$\alpha^{3/7}$	۷۶/۹۵	۸۷/۲۰	۲۷/۹۰	۷۸/۰۰	۷۸/۰۰
α^{MED}	۶۴/۴۲	۷۰/۰۰	۵۴/۶۰	۶۸/۰۰	۶۸/۰۰
$\alpha^{2/5}$	۶۶/۶۴	۷۲/۹۰	۵۴/۱۰	۶۷/۷۰	۶۷/۷۰
$\alpha^{4/7}$	۷۵/۹۰	۷۷/۳۰	۷۴/۵۰	۷۵/۹۰	۷۵/۹۰
۱del Hbz-Hba	۶۸/۰۰	۶۸/۰۰	۶۸/۰۰	۶۸/۰۰	۶۸/۰۰
Hb-CS	۷۸/۷۰	۸۰/۵۰	۷۶/۹۰	۷۸/۷۰	۷۸/۷۰

MCV: Mean cell volume

۲/۵ درصد، ۰/۸ درصد و ۰/۸ درصد می‌باشد. تنها موتاسیون نقطه‌ای Hb-CS در ۲ نفر (۱/۷ درصد) شناسایی شد. این جهش‌ها با سایر موتاسیون‌های شایع استان‌های هم‌جوار مثل استان فارس و کهگیلویه و بویر احمد متفاوت بودند (۸). این تفاوت، می‌تواند به علت تفاوت نژادی دو جمعیت باشد. فراوانی موتاسیون‌های $\alpha^{4/7}$, α^{MED} و Hb-CS در جمعیت مورد مطالعه به طور تقریبی مشابه موتاسیون‌های شایع استان اصفهان می‌باشد. تشابه در فراوانی موتاسیون‌ها در این دو جمعیت، می‌تواند به علت هم‌جوار بودن دو استان و همچنین وقوع ازدواج و مهاجرت‌های بین این دو استان باشد (۷).

همچنین، مقایسه‌ی جهش‌های شایع استان چهار محال و بختیاری و خوزستان نشان داد که از بین جهش‌های مطالعه شده، جهش‌های $\alpha^{4/7}$ و α^{MED} دارای فراوانی به نسبت مشابه می‌باشند (۱۰). جالب توجه است که مقایسه‌ی موتاسیون‌های آلفا تالاسمی شناسایی شده در استان مورد بررسی، با استان سیستان و بلوچستان نشان دهنده‌ی تشابه تنها در جهش $\alpha^{4/7}$ می‌باشد (۱۱). به علاوه، مقایسه‌ی فراوانی این موتاسیون‌ها با استان‌های شمالی کشور از جمله گیلان، نشان دهنده‌ی تشابه بالایی می‌باشد. این تشابه،

جهش‌های آلفا گلوبین شناسایی شده در استان چهار محال و بختیاری، با سایر استان‌ها مورد مقایسه قرار گرفت. در این منطقه، مانند دیگر مناطق ایران، شایع‌ترین موتاسیون آلفا تالاسمی، $\alpha^{3/7}$ بود (جدول ۱).

بحث

در این مطالعه، ۷۱۶ نفر از مراجعین با اصالت چهار محال و بختیاری که طی سال‌های ۱۳۸۹-۹۰ به آزمایشگاه ژنتیک اصفهان ارجاع شده بودند، مورد مطالعه قرار گرفتند. در این میان، ۶ موتاسیون آلفا تالاسمی تشخیص داده شد که شایع‌ترین آن‌ها، $\alpha^{3/7}$ (۸۳/۲ درصد) بود. این یافته‌ها با شایع‌ترین موتاسیون یافت شده در استان‌های هم‌جوار آن یعنی استان‌های اصفهان، فارس و کهگیلویه و بویر احمد مشابه است (۷-۸). همچنین، با تصویر کلی از شایع‌ترین موتاسیون آلفا تالاسمی در ایران نیز هم‌خوانی دارد (۷-۱۱).

پس از $\alpha^{3/7}$, ۵ موتاسیون از نوع حذف ژنی شامل HS-۴۰ و ۱del Hbz-Hba $\alpha^{4/7}$, α^{MED} , $\alpha^{2/5}$ شناسایی شد. چنانچه در جدول ۲ آمده است، فراوانی این جهش‌ها به ترتیب ۵/۹ درصد، ۵/۰ درصد،

مقادیر $\alpha^{3/7} < MCV < 75$ ابتدا از نظر سه موتاسیون $\alpha^{3/7}$ و Hb-CS و در مقادیر > 75 ابتدا از نظر موتاسیون‌های $\alpha^{3/7}, \alpha^{20/5}, \alpha^{MED}$ و $\alpha-1$ Hbz-1 Hba بررسی آغاز گردد (جدول ۳).

با بررسی ارتباط موتاسیون‌های آلفا تالاسمی با مقادیر مختلف MCV، در می‌یابیم که بازه‌ی مقادیر MCV برای این موتاسیون‌ها گسترده است و از مقادیر بسیار کم تا مقادیر بالای MCV را شامل می‌شود (۲۷/۹-۸۷/۲). بنابراین، در مواردی که مقادیر طبیعی MCV و پایین MCH وجود دارد، لازم است احتمال آلفا تالاسمی نیز در نظر گرفته شود. این مسئله در خصوص موتاسیون $\alpha^{3/7}$ به خوبی مشاهده می‌شود (جدول ۴).

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای ریحانه ولیان به شماره‌ی ۳۹۲۰۸۴ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است و کلیه‌ی هزینه‌های آن به عنوان طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین شده است. بدین وسیله از همکاری صمیمانه کارکنان مرکز ژنتیک پزشکی اصفهان در تهیه نمونه و انجام آزمایش‌های مولکولی قدردانی می‌گردد.

بیشتر برای موتاسیون‌های $\alpha^{4/2}, \alpha^{MED}$ و Hb-CS دیده شد (جدول ۱) (۹).

در مجموع، در این مقایسه به نظر می‌رسد که بعد از استان اصفهان، بیشترین تشابه در فراوانی موتاسیون‌های آلفا تالاسمی با استان چهار محال و بختیاری با جمعیت استان گیلان دیده می‌شود. بر اساس روند معمول در آزمایشگاه‌های ژنتیک، در بررسی افراد مشکوک به تالاسمی، ابتدا از موتاسیون‌های شایع در منطقه شروع می‌شود. شناخت موتاسیون‌های شایع آن منطقه، منجر به سرعت در به تشخیص رسیدن و در نتیجه، زمان کمتر در پاسخ به فرد و همچنین صرفه‌جویی در هزینه‌ها می‌شود. گذشته از منطقه، نگاه به اندکس‌های گلبول قرمز نیز کمک می‌کند تا بتوان وجود نوع موتاسیون حذفی و یا غیر حذفی را که منطبق با فراوانی موتاسیون در آن منطقه است، تخمین زد و در نتیجه سرعت عمل در تشخیص و همچنین کاهش هزینه‌ی بیشتری را شاهد بود. بنابراین، توصیه می‌شود در مواردی که موتاسیون‌های تالاسمی آلفا مشکوک است، با توجه به اندکس‌های گلبول قرمز، اگر فرد مربوط به منطقه‌ی چهار محال و بختیاری است، بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر، بهتر است در مقادیر MCV طبیعی و MCH پایین، ابتدا دو موتاسیون $\alpha^{3/7}$ و Hb-CS بررسی شود. به علاوه، در

References

- Borges E, Wenning MR, Kimura EM, Gervasio SA, Costa FF, Sonati MF. High prevalence of alpha-thalassemia among individuals with microcytosis and hypochromia without anemia. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34(6): 759-62.
- Galanello R, Cao A. Gene test review. Alpha-thalassemia. *Genet Med* 2011; 13(2): 83-8.
- Bayat N, Farashi S, Hafezi-Nejad N, Faramarzi N, Ashki M, Vakili S, et al. Novel mutations responsible for alpha-thalassemia in Iranian families. *Hemoglobin* 2013; 37(2): 148-59.
- Harteveld CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5: 13.
- Chong SS, Boehm CD, Cutting GR, Higgs DR. Simplified multiplex-PCR diagnosis of common southeast asian deletional determinants of alpha-thalassemia. *Clin Chem* 2000; 46(10): 1692-5.
- Liao C, Wei J, Li Q, Li J, Li L, Li D.

- Nonimmune hydrops fetalis diagnosed during the second half of pregnancy in Southern China. *Fetal Diagn Ther* 2007; 22(4): 302-5.
7. Karamzade A, Mirzapour H, Hoseinzade M, Asadi S, Gholamrezapour T, Tavakoli P, et al. alpha-Globin gene mutations in Isfahan Province, Iran. *Hemoglobin* 2014; 38(3): 161-4.
 8. Hossein F, Mohsen R, Mohsen M, Taheri M. alpha-Thalassemia mutations in two provinces of Southern Iran: Fars and Kohkeloye and Bouyer Ahmad. *Hemoglobin* 2012; 36(2): 139-43.
 9. Hadavi V, Jafroodi M, Hafezi-Nejad N, Moghadam SD, Eskandari F, Tarashohi S, et al. Alpha-thalassemia mutations in Gilan Province, North Iran. *Hemoglobin* 2009; 33(3): 235-41.
 10. Zandian K, Nateghi J, Keikhaie B, Pedram M, Hafezi-Nejad N, Hadavi V, et al. alpha-thalassemia mutations in Khuzestan Province, Southwest Iran. *Hemoglobin* 2008; 32(6): 546-52.
 11. Dehbozorgian J, Moghadam M, Daryanoush S, Haghpanah S, Imani FJ, Aramesh A, et al. Distribution of alpha-thalassemia mutations in Iranian population. *Hematology* 2015; 20(6): 359-62.
 12. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3): 1215.
 13. Dungul DC, Ozdag H, Akar N. Hemoglobin alpha 2 gene +861 G>A polymorphism in Turkish population. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 2011; 12(1): 59-62.

Analysis of Alpha Thalassemia Mutations and its Correlation with Red Blood Cell Indices in Chahar Mahal va Bakhtiari Province, Iran

Reihaneh Vallian¹, Alireza Moafi MD², Sadeq Vallian PhD³, Foroogh Abbasian MSc⁴,

Original Article

Abstract

Background: α -thalassemia is one of the common hematological disorders in the Iranian population; knowing its most common mutations can improve the prenatal diagnosis of the disease. To date of this study, no comprehensive data were available on the prevalence of the disease in Chahar Mahal va Bakhtiari Province, Iran. For the first time, this study investigated the spectrum of α -thalassemia mutations and their correlation with red blood cell (RBC) indices in this region.

Methods: 128 carriers who resided in the Chahar Mahal va Bakhtiari Province were evaluated for α -thalassemia mutations using gap polymerase chain reaction (GAP-PCR), amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR), multiplex-ligation-probe-dependent polymerase assay (MLPA) and sequencing methods. The RBC indices were measured. The data were analyzed using chi-square and t tests.

Findings: The presence of 6 deletions including $\alpha^{3.7}$ (83.2%), $\alpha^{20.5}$ (5.9%), α^{MED} (5%), $\alpha^{4.2}$ (2.5%), del Hbz-Hba1 (0.8%) and HS-40 (0.8%) as well as the point mutation of Hb-CS (1.7%) on the α -globin gene were approved. Analysis of correlation between different mean corpuscular volume (MCV) measures and α -thalassemia indicated that $78 > \text{MCV} > 75$ was correlated with $\alpha^{3.7}$, $\alpha^{4.2}$ and Hb-CS mutation and MCV of less than 75 was correlated with $\alpha^{3.7}$, $\alpha^{20.5}$, α^{MED} , and del Hbz-Hba1. Among the analyzed mutations, the only mutation with $78 < \text{MCV} < 80$ or low MCV (< 80) and normal (> 27) mean corpuscular hemoglobin (MCH) was $\alpha^{3.7}$. Interestingly, mutations with low (< 27) and normal (> 80) MCV were $\alpha^{3.7}$ and Hb-CS, respectively.

Conclusion: Together, the data suggested the presence of a positive relationship between α -thalassemia mutations and RBC indices, which could facilitate rapid and efficient screening for these common mutations in the population of Chahar Mahal va Bakhtiari Province.

Keywords: α -thalassemia, Red blood cell indices, Mutation, Screening program

Citation: Vallian R, Moafi A, Vallian S, Abbasian F. Analysis of Alpha Thalassemia Mutations and its Correlation with Red Blood Cell Indices in Chahar Mahal va Bakhtiari Province, Iran. J Isfahan Med Sch 2015; 33(337): 847-55

1- Student of Medicine, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Professor, Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

4- Molecular Section, Isfahan Genetics Center, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Alireza Moafi MD, Email: moafi@med.mui.ac.ir