مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۲۱۹/هفته اول اسفند ماه ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۳۰

تعیین میزان نیاز به تشخیص پیش از تولد تالاسمی در جنین‌های ناقل تالاسمی آلفای معرفی‌شده به آزمایشگاه ژنتیک

میترا رمضانی[۱]، یداله رمضانی[۲]، دکتر داود امیریان مجد[۳]، دکتر منصور صالحی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر در ایران تالاسمی آلفا و بتا قبل از ازدواج در زوجین غربالگری می‌شود. همان طور که می‌دانیم شکل شدید تالاسمی آلفا در جنین، خود را به صورت هیدروپس فتالیس نشان می‌دهد و باعث مرگ جنین می‌شود. در این مطالعه، میزان نیاز به تشخیص پیش از تولد جهت تشخیص هیدروپس فتالیس را در بین زوج‌هایی که از طرف مراکز بهداشتی به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان الزهرای (س) اصفهان فرستاده شدند، بررسی شد و میزان هزینه-اثربخشی این غربالگری تعیین شد.

روش‌ها: این مطالعه یک مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی بود که از بهمن ۱۳۸۸ تا خرداد ۱۳۹۱ انجام شد. جمعیت مورد مطالعه کلیه‌ی افرادی بودند که از طرف مراکز بهداشت با MCV (Mean corpuscular volume) کمتر از ۸۰ و MCH (Mean corpuscular hemoglobin) کمتر از ۲۷ و HbA2 (Hemoglobin A2) کمتر از ۲/۵ درصد به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان الزهرا (س) ارجاع شده بودند و با یک ماه مصرف قرص آهن، اندکس‌های خونی آن‌ها به حد طبیعی نرسیده بود. DNA این افراد با روش PCR (Polymerase chain reaction) تکثیر شد و توسط ژل الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در مجموع ۶۴۲ زوج معیارهای ورود به مطالعه را داشتند. از این تعداد ۷۵ زوج (۱۱/۶ درصد) ژنوتیپ بتا- بتا و ۳۴۳ زوج (۵۳/۴ درصد) ژنوتیپ آلفا- آلفا و ۲۲۴ زوج (۳۴/۸ درصد) ژنوتیپ آلفا- بتا داشتند. از ۳۴۳ زوج با ژنوتیپ آلفا- آلفا، ۳ زوج (۰/۸۷ درصد) نیاز به تشخیص پیش از تولد پیدا کردند و از این تعداد فقط یکی از جنین‌ها مبتلا به هیدروپس شد.

نتیجه‌گیری: مقرون به صرفه بودن غربالگری تالاسمی آلفا در زوج‌های آماده برای ازدواج نیاز به بررسی‌های بیشتری در سطح کشور دارد؛ چرا که تعداد جنین‌هایی که نیاز به تشخیص پیش از تولد پیدا می‌کنند، به قدری کم است که قابل چشم‌پوشی می‌باشد. ضمن این که به طور معمول جنین‌های مبتلا به هیدروپس زنده نمی‌مانند و سقط می‌شوند و بنابراین ابتلای کودک به تالاسمی ماژور مشکل‌ساز نخواهد بود. بنابراین توصیه می‌شود که در مورد لزوم غربالگری تالاسمی آلفا در سطح کشور مطالعات بیشتری صورت بگیرد.

واژگان کلیدی: تالاسمی آلفا، تشخیص پیش از تولد

ارجاع: رمضانی میترا، رمضانی یداله، امیریان مجد داود، صالحی منصور. **تعیین میزان نیاز به تشخیص پیش از تولد تالاسمی در جنین‌های ناقل تالاسمی آلفای معرفی‌شده به آزمایشگاه ژنتیک.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۱؛ ۳۰ (۲۱۹): ۲۳۵۲-۲۳۴۴

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- مربی، گروه بهداشت، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۳- دستیار، گروه ارتوپدی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر منصور صالحی
Email: m_salehi@med.mui.ac.ir

مقدمه

تالاسمی نوعی بیماری است که با کاهش یا فقدان تولید زنجیره‌ی آلفا یا بتا در هموگلوبین همراه است. تالاسمی شدید با کم خونی همولیتیک شدید که به طور معمول در اوایل کودکی دیده می‌شود، شناخته می‌شود. اما اشکالات خفیف در تالاسمی اغلب کم خونی میکروسیتیک خفیفی ایجاد می‌کند. این بیماری به علت کاهش MCV (Mean corpuscular volume) با کمبود آهن اشتباه می‌شود.

تالاسمی را به دو دسته‌ی آلفا و بتا تقسیم می‌کنند. بیش از ۱۰۰ جهش ژنتیکی شناخته شده‌اند که منجر به بتا تالاسمی می‌شوند. این جهش‌ها می‌توانند به دلیل کاهش بیان ژن بتاگلوبین یا قطع کامل بیان ژن باشند. اگر بیان ژن به طور کامل قطع شده باشد، تالاسمی بتا صفر و اگر کاهش یافته باشد، تالاسمی بتا + است. تولید معیوب زنجیره‌ی بتا سبب کاهش تولید هموگلوبین طبیعی و تولید مقادیر مازاد از زنجیره‌ی آلفا می‌شود. کاهش تولید هموگلوبین طبیعی منجر به کم خونی هیپوکرومیک می‌شود. افزایش زنجیره‌ی آلفا همولیز ایجاد می‌کند. تالاسمی بتای ماژور بر اثر تالاسمی بتا صفر هموزیگوت ایجاد می‌شود. این بیماری در کودکی شناخته می‌شود و مبتلایان به آن نیاز به انتقال خون پیدا می‌کنند. تالاسمی بتای مینور ناشی از تالاسمی بتای هتروزیگوت است. این بیماران تظاهرات خفیفی دارند که اغلب با آنمی فقر آهن اشتباه می‌شود (۱).

تالاسمی آلفا به صورت اتوزومال مغلوب منتقل می‌شود و به طور معمول با آنمی میکروسیتیک و هیپوکرومیک تظاهر می‌کند. این گونه به نظر می‌رسد که این بیماری شایع‌ترین اختلال Monogenic gene می‌باشد (۲).

اگر چه تالاسمی آلفا اغلب تظاهرات کلینیکی شدیدی ندارد، اما دو شکل کلینیکی خیلی مهم دارد: Hb Bart یا هیدروپس فتالیس و بیماری Hb H (۳). Hb Bart شدیدترین نوع تالاسمی آلفا است که می‌توانیم آن را در هفته‌ی ۲۳ حاملگی تشخیص بدهیم (۴).

تالاسمی آلفا به طور معمول در اثر حذف برخی ژن‌های زنجیره‌ی آلفا ایجاد می‌شود. ۴ مکان مربوط به زنجیره‌ی آلفا روی کروموزوم شناخته شده‌اند. بنابراین تالاسمی آلفا شامل حذف یک تا ۴ ژن آلفا گلوبین است و تظاهرات آن اغلب خفیف‌تر از نوع بتا است. افرادی که فاقد یک ژن واحد زنجیره‌ی آلفا هستند هماتوکریت (Hct) و MCV به نسبت طبیعی دارند. کمبود هر چهار ژن باعث می‌شود جنین فاقد قدرت حیات باشد و نمای هیدروپس فتالیس را ایجاد کند (۱).

زمانی که هر دو ژن روی یک کروموزوم وجود نداشته باشد به آن تالاسمی آلفا صفر می‌گویند. هرگاه یکی از ژن‌های آلفا روی یکی از کروموزوم‌ها وجود نداشته باشد به آن تالاسمی آلفا + می‌گویند. اگر چه تالاسمی آلفا به طور معمول به علت حذف (Deletion) در ژن به وجود می‌آید، ولی جهش (Mutation) یا اضافه‌شدگی (Insertion) در ژن آلفا نیز می‌تواند منجر به این نوع تالاسمی بشود. البته شایع‌ترین علت تالاسمی آلفا همان طور که گفته شد حذف (Deletion) است (۵).

ایران یکی از کشورهایی است که تعداد زیادی بیمار مبتلا به تالاسمی دارد. البته مبتلایان به تالاسمی آلفا در ایران بسیار کم هستند. برعکس فرکانس ژنی تالاسمی بتا در ایران بیشتر است و از منطقه‌ای به

منطقه‌ی دیگر فرق می‌کند. بیشترین شیوع آن حدود ۱۰ درصد در اطراف دریای خزر و خلیج فارس می‌باشد. در سایر نقاط ایران این شیوع از ۴ تا ۸ درصد متفاوت می‌باشد. در اصفهان شهری که در مرکز ایران و اطراف زاینده‌رود است هم شیوع افزایش یافته است و حدود ۸ درصد می‌باشد (۶).

نوزادان مبتلا به هیدروپس فتالیس ناشی از تالاسمی آلفای ماژور به طور معمول زنده به دنیا نمی‌آیند. بروز توکسمی حاملگی و خونریزی پس از وضع حمل در مادران این نوزادان بالا است که به طور عمده به علت بزرگی شدید جفت می‌باشد (۷).

در حال حاضر طبق آیین‌نامه‌ی کشوری تشخیص پیش از تولد تالاسمی که از طرف کمیته‌ی کشوری تشخیص پیش از تولد و اداره‌ی ژنتیک وزارت بهداشت تدوین و در سراسر کشور اجرا می‌شود، همه‌ی افراد جامعه هم از نظر تالاسمی بتا و هم از نظر تالاسمی آلفا مورد غربالگری قرار می‌گیرند و تالاسمی تنها بیماری ژنتیکی است که برای آن غربالگری وجود دارد. ولی با توجه به توضیحات فوق در خصوص این که تنها نسبت کمی از مبتلایان به تالاسمی آلفا تظاهرات بالینی دارند، هنوز برنامه‌ی کشوری پیشگیری از تالاسمی آلفا از لحاظ هزینه-اثربخشی (Cost-effectiveness)، مورد ارزیابی قرار نگرفته است. به عبارت دیگر، مشخص نیست که در چه نسبتی از افرادی که در غربالگری تالاسمی آلفا به آزمایشگاه ژنتیک ارجاع داده می‌شوند، خطر ابتلای جنین به تالاسمی آلفای شدید وجود داشته است.

در این طرح میزان نیاز تشخیص پیش از تولد ابتلا به تالاسمی، در ناقلین تالاسمی آلفای معرفی‌شده به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان الزهرا (س) بررسی شد. با توجه به این که تمام زوج‌هایی که از خانه‌ی بهداشت تحت عنوان ناقلین تالاسمی آلفا به آزمایشگاه‌های ژنتیک ارجاع می‌شوند، در آزمایشگاه مورد بررسی بیشتر قرار می‌گیرند و این امر بالطبع وقت و هزینه‌ی بالایی را به سیستم بهداشتی تحمیل می‌کند، نتیجه‌ی این مطالعه می‌تواند به تصمیم‌گیری مبنی بر این که آیا این وقت و هزینه، کمکی به پیشبرد اهداف سلامت مادر و کودک می‌کند یا خیر کمک شایان توجهی کند.

روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه‌ی توصیفی و تحلیلی بود. جمعیت مورد مطالعه کلیه‌ی افرادی بودند که از طرف مراکز بهداشت با MCV کمتر از ۸۰ و MCH (Mean corpuscular hemoglobin) کمتر از ۲۷ و HbA2 (Hemoglobin A2) کمتر از ۲/۵ به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان الزهرای (س) اصفهان ارجاع شده بودند و اندکس‌های خونی آن‌ها با یک ماه مصرف قرص آهن به حد طبیعی نرسیده بود.

افرادی که برای آن‌ها آنمی فقر آهن تشخیص داده شده بود یعنی یک ماه پس از مصرف قرص آهن اندکس‌های خونی آن‌ها به حالت طبیعی بازگشته بود، وارد مطالعه نشدند. این مطالعه به صورت سرشماری انجام شد.

افراد مورد مطالعه به دو دسته تقسیم شدند: افرادی که HbA2 کمتر از ۲/۵ داشتند که مبتلا به تالاسمی آلفا تلقی شدند و افرادی که HbA2 بیشتر از ۳ داشتند و مبتلا به تالاسمی بتا بودند.

برای بررسی تالاسمی آلفا باید حداقل (در مجموع) ده موتاسیون نقطه‌ای و حذف بررسی شود. در این

مطالعه ابتدا جهش‌های حذفی شایع مورد بررسی قرار گرفت و در صورت نیاز، بعد از آن موتاسیون‌های نقطه‌ای بررسی گردید. ترتیب بررسی جهش‌های نقطه‌ای ژن‌های آلفا به عهده‌ی آزمایشگاه بود. لازم به ذکر است که نتیجه‌ی به دست آمده باید با اندکس‌های خونی هم‌خوان می‌بود. حذف‌های شایع ۳/۷، ۴/۲، MED و ۲۰/۵ و موتاسیون‌های شایع PolyA2، PolyA1، CD59، C19، C.TS و 5nt می‌باشد.

چنانچه بر اساس بررسی‌های گفته شده موتاسیون مشخص نگردید، بررسی سنتز زنجیره‌های گلوبین، بررسی با روش MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) یا Real time PCR (Real time polymerase chain reaction) و یا تعیین توالی ژن‌های آلفا (با تشخیص آزمایشگاه) انجام شود. در صورتی که پس از آزمایش‌های فوق‌الذکر موتاسیونی در ژن‌های آلفا یافت نگردید و دلیلی برای حذف هم مشخص نشد، متخصص ژنتیک بر اساس نتایج سنتز زنجیره‌ها و روش MLPA یا Real time PCR و تفسیر آزمایشات، بررسی لازم را بر روی ژن بتا انجام دهد.

اگر موتاسیون در هر دو والد و لزوم انجام تشخیص پیش از تولد (PND یا Prenatal diagnosis) وجود داشت، نمونه‌گیری از جنین بر اساس روش ذکر شده در مرحله‌ی دوم انجام شد. جدول ۱ به طور خلاصه موتاسیون دو والد و با توجه به نوع موتاسیون آن‌ها، این که آیا احتمال ماژور بودن جنین وجود دارد یا نه (به عبارت دیگر، آیا به PND 2 نیاز هست یا نه) را نشان می‌دهد.

چنانچه موتاسیون فقط در یکی از والدین مشخص شد، ممکن بود متخصص ژنتیک بر اساس نتایج آزمایشات هماتولوژی و سنتز زنجیره‌ها و یا MLPA یا Real time PCR به این نتیجه برسد که انجام PND مورد نیاز است. در این حالت نمونه‌گیری از جنین انجام شد و برای موتاسیون شناخته شده، مورد بررسی قرار گرفت. اگر جنین فاقد موتاسیون شناخته شده بود، انجام اقدام دیگری نیاز نبود؛ ولی در صورتی که موتاسیون مشخص نگردید، وضعیت موجود به طور کامل به اطلاع خانواده رسید. در چنین شرایطی آزمایشگاه از طریق مشاوره‌ی کتبی و ارائه‌ی خلاصه‌ی پرونده نظر آزمایشگاه مرجع را کسب نمود. آزمایشگاه مرجع حداکثر ظرف یک هفته نتیجه را به آزمایشگاه محیطی اعلام کرد.

جدول ۱. جدول تعیین نیاز به PND (Prenatal diagnosis) مرحله‌ی دوم

نوع حذف یا موتاسیون	نوع حذف یا موتاسیون	نیاز به PND مرحله‌ی دوم
5nt	C19	ندارد
3.7	PolyA	دارد
MED	MED	دارد
C19	5nt	ندارد
3.7	5nt	ندارد
PolyA	PolyA	دارد
C19	C19	ندارد
5nt	5nt	ندارد
C.S	C.S	ندارد
20.5	20.5	دارد

برای استخراج DNA ابتدا نمونه‌ی خون فرد گرفته شد. سپس استخراج DNA به روش Salting out of blood انجام شد. برای استخراج DNA به طور معمول از گلوبول‌های سفید خون استفاده می‌شود. ابتدا میزان ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ی خون در لوله‌ی (Tube) ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و ۱ میلی‌لیتر از بافر A به آن اضافه شد. سپس لوله Invert شد تا به خوبی مخلوط شوند. پس از آن لوله به مدت ۴ دقیقه با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی دور ریخته شد و رسوب با ۵۰۰ میکرولیتر از محلول Cell lysis مخلوط گردید. این محلول دیواره‌ی سلول را از بین می‌برد.

۳۰۰ میکرولیتر از بافر Nucleilysis به تیوب اضافه شد و پس از مخلوط شدن، به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در محیط قرار گرفت تا هسته لیز شود.

در مرحله‌ی بعد ۱۰۰ میکرولیتر از NaCl اشباع و ۶۰۰ میکرولیتر کلروفرم به لوله اضافه شد و ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. Nacl اشباع به DNA متصل می‌شود. کلروفرم نیز پروتئین و چربی را در خود حل می‌کند. سپس لوله به مدت ۴ دقیقه با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ ۳ فاز در لوله تشکیل شد

فاز رویی شامل NaCl + DNA بود. فاز میانی دیواره‌ی سلول و فاز زیرین نیز چربی و پروتیین بود.

۳۰۰ میکرولیتر از فاز رویی به یک لوله‌ی جدید منتقل شد. این کار به آرامی انجام شد تا از رسوب برداشت نشود. به میزان ۲ برابر از محلول حاصل، اتانول اشباع سرد به محلول اضافه شد. اتانول محلول را آب گیری می‌کند و باعث ظهور DNA می‌شود. محلول اول به آرامی و سپس سریع تکان داده شد تا کلافه‌ی DNA دیده شود.

سپس لوله به مدت ۲ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد تا کلاف رسوب کند. سپس اتانول داخل لوله به طور کامل خارج شد.

لوله‌ها در انکوباتور در دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد تا خشک شود.

بر حسب مقدار DNA آب مقطر دیونیزه استریل اضافه گردید. سپس به طور مجدد ۵ دقیقه در انکوباتور با دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت.

به این ترتیب نمونه‌ی DNA برای مرحله‌ی بعد که تکثیر به کمک PCR بود، آماده شد.

در مرحله‌ی بعدی ژن آلفا گلوبین نمونه‌ی DNA به دست‌آمده با PCR تکثیر شد. برای انجام این کار ابتدا میکس آلفا که مخلوطی از پرایمر و نوکلئوتیدها و آنزیم پلیمراز بود، تهیه شد. سپس لوله‌های شاهد نرمال، شاهد ۳/۷ هتروزیگوت، شاهد ۳/۷ هموزیگوت، شاهد ۴/۷، شاهد ۲۰/۵ و شاهد med آماده گردید.

در لوله‌های بعدی DNAهای تخلیص‌شده بیماران ریخته و در لوله‌ی آخر شاهد منفی ریخته شد.

به هریک از این لوله‌ها ۳۰ میکرولیتر از میکس آلفا اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۳ ساعت در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت. سپس از دستگاه خارج شدند و محتویات در ژل آگاروز ۱ درصد با ولتاژ پایین الکتروفورز شد. در پایان نتایج حاصل از الکتروفورز نمونه‌ها را با شاهدها مقایسه گردید.

یافته‌ها

از تاریخ ۱۳۸۸/۱۱/۲۱ تا ۱۳۹۱/۳/۱ (در مجموع ۲۷ ماه و ۹ روز) به طور کلی ۶۴۲ زوج که معیارهای

ورود به مطالعه را داشتند، به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان الزهرا (س) مراجعه نمودند. از این تعداد ۷۵ زوج (۱۱/۶ درصد) ژنوتیپ بتا- بتا و ۳۴۳ زوج (۵۳/۴ درصد) ژنوتیپ آلفا- آلفا و ۲۲۴ زوج (۳۴/۸ درصد) ژنوتیپ آلفا- بتا داشتند.

از این ۳۴۳ زوج با ژنوتیپ آلفا- آلفا، ۳ زوج (۰/۸۷ درصد) نیاز به تشخیص پیش از تولد پیدا کردند. زوج اول هر دو حذف ۲۰/۵ و هر دو حذف ۳/۷ را داشتند. زوج دوم هر دو موتاسیون Poly A و زوج سوم هر دو حذف ۲۰/۵ داشتند.

از بین این سه زوج دو زوج اول حامله شده بودند و روی جنین آن‌ها تشخیص پیش از تولد انجام شده بود. جنین اول مبتلا به هیدروپس (۰/۲۹ درصد از کل افراد مورد مطالعه) بود و اجازه‌ی سقط صادر شد. جنین دوم سالم بود و زوج سوم هنوز حامله نبود.

بحث

طبق آمار رسمی انجمن تالاسمی ایران، در ایران ۱۸۱۶۱ نفر بیمار مبتلا به تالاسمی زندگی می‌کنند که این افراد به تنهایی مصرف کننده‌ی ۲۷ درصد خون تهیه شده در سازمان انتقال خون کشور هستند. همچنین ۴۸۰۰ نفر از این افراد به سن اشتغال رسیده‌اند و ۳۴۰۰ نفر از آن‌ها فاقد شغل مناسب هستند. هزینه‌ی هر بیمار تالاسمی در سال ۶۸۹۳۰۰۰۰ ریال است و بخش عمده‌ی آن توسط دولت پرداخته می‌شود.

همان طور که می‌دانیم در ایران تمام زوج‌هایی که آماده‌ی ازدواج هستند، برای تالاسمی آلفا و بتا غربالگری می‌شوند. در حقیقت تالاسمی تنها بیماری است که در ایران قبل از ازدواج غربالگری می‌شود. غربالگری تالاسمی بتا از سال‌ها پیش شروع شده است، اما تالاسمی آلفا تنها چند سال است که غربالگری می‌گردد. سالانه هزینه‌ی زیادی صرف غربالگری تالاسمی آلفا در ایران می‌شود. متأسفانه مطالعات محدودی مرتبط با این موضوع در دنیا انجام شده است. بیشتر مقالات در مورد شیوع کلی تالاسمی و ارتباط تالاسمی با بیماری‌های منتقل شده از راه خون بحث کرده‌اند.

طبق مطالعات انجام شده نوزادان مبتلا به هیدروپس فتالیس ناشی از تالاسمی آلفای ماژور به طور معمول زنده به دنیا نمی‌آیند و بروز توکسمی حاملگی و خونریزی پس از وضع حمل در مادران این نوزادان بالا است که به طور عمده به علت بزرگی شدید جفت می‌باشد.

شیوع تالاسمی در برخی از کشورها مانند کشورهای آسیای جنوب شرقی بالاتر از سایر کشورها است، در نتیجه بدیهی است که مطالعات انجام شده در این کشورها بیشتر از سایر نقاط دنیا باشد.

در مطالعه‌ای که توسط Li و همکاران در چین انجام شد، شیوع تالاسمی آلفا ۴/۳۴ درصد و شیوع تالاسمی بتا ۱/۹۹ درصد گزارش شد (۸).

مطالعه‌ی دیگری که توسط Kulozik و همکاران در هند انجام شد، شیوع کلی اختلالات ژن آلفا ۰/۲۹ درصد گزارش شد که بیشتر آن‌ها توسط حذف ۳/۷ و بعداز آن حذف ۴/۲ بوده است (۹).

در سال ۱۹۹۲ مطالعه‌ای توسط Kulozik و همکاران در چین انجام شد. در این مطالعه، شیوع انواع South asian deletion در تشخیص پیش از تولد در ناقلین تالاسمی آلفا در ۵۵ حاملگی در خطر سنجیده شد که از این جنین‌ها ۲۵ درصد سالم بودند.

۴۵ درصد هتروزیگوت و ۲۹ درصد هموزیگوت بودند (۱۰)

مطالعه‌ی Lau و همکاران در هنگ‌کنگ، حاکی از آن بود که سالانه در هنگ‌کنک حاملگی‌هایی که در آن‌ها جنین در خطر هیدروپس فتالیس می‌باشد، ۱۴۵ عدد در سال بوده است. همچنین در سال، ۹۵ زن نیاز به تشخیص پیش از تولد پیدا کرده‌اند، ولی متأسفانه درصدی از آن‌ها که نیاز به سقط جنین پیدا کرده‌اند، مشخص نشده است (۱۱).

در مطالعه‌ی دیگری که در چین انجام شد، از بین بیمارانی که با آنمی میکروسیتیک مراجعه کرده بودند و احتمال فقر آهن در آن‌ها رد شده بود، ۴۰ درصد ناقل (Carrier) تالاسمی بتا و ۶۰ درصد ناقل (Carrier) تالاسمی آلفا بودند (۸)، در حالی که در مطالعه‌ی ما این اعداد به ترتیب ۷۲/۹ و ۲۷/۱ درصد بود. این تفاوت ممکن است به علت تفاوت جغرافیایی باشد.

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، ۵۳/۵ درصد از زوج‌هایی که در آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان الزهرای (س) اصفهان تحت بررسی قرار گرفتند، ژنوتیپ آلفا- آلفا داشتند و از این بین کمتر از ۱ درصد نیاز به تشخیص پیش از تولد پیدا کرده بودند که از این میزان نیز کمتر از ۰/۵ درصد از جنین‌ها مبتلا به هیدروپس فتالیس بودند.

شاید بهترین نتیجه‌ای که از این مطالعه به دست می‌آید، این باشد که مقرون به صرفه بودن صرف هزینه‌ی هنگفت بابت غربالگری تالاسمی آلفا در زوج‌های آماده برای ازدواج، نیاز به بررسی‌های بیشتری در سطح کشور دارد؛ چرا که تعداد جنین‌هایی که نیاز به تشخیص پیش از تولد پیدا کرده بودند، به اندازه‌ای کم بود که قابل چشم‌پوشی بود. از این تعداد نیز فقط یکی از جنین‌ها مبتلا به هیدروپس بود، ضمن این که به طور معمول جنین‌های مبتلا به هیدروپس زنده نمی‌مانند و سقط می‌شوند. بنابراین ابتلای کودک به تالاسمی ماژور مشکل‌ساز نخواهد بود، فقط در مواردی این جنین‌ها می‌توانند برای مادر خطرساز باشند.

با توجه به نتایج این پژوهش، به نظر می‌رسد کمتر از ۱ درصد افراد دارای ژنوتیپ آلفا- آلفا نیاز به تشخیص پیش از تولد داشته باشند؛ به عبارت دیگر، کمتر از ۰/۵ درصد جنین‌ها ممکن است به هیدروپس مبتلا باشند و در کمتر از ۰/۲۵ درصد از زوج‌های آلفا- آلفا، مادر ممکن است دچار پیچیدگی‌های حاصل از بیماری جنین شود.

با توجه به نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌شود که بررسی‌های مشابه در سطح استان و کشور انجام گیرد و غربالگری تالاسمی آلفا از نظر هزینه- اثربخشی به طور جدی‌تری مورد بررسی قرار گیرد.

References

1. Andreoli TE, Benjamin I, Griggs R, Wing EJ, Fitz JG. Andreoli and Carpenter's Cecil Essentials of Medicine. Trans. Arjmand M, Samadanifard H. Tehran, Iran: Arjmand, Nasle Farda; 2007. p. 66-8.
2. Harteveld CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia. Orphanet J Rare Dis 2010; 5: 13.
3. Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP.Source GeneReviews. Seattle,WA: University of Washington; 2003. [Online]. 2005 Nov 1. [cited 2008 Jul 15]. Available from: URL: http://www.genereviews.org.
4. Al-Allawi NA, Shamdeen MY, Rasheed NS. Homozygosity for the Mediterranean a-thalassemic deletion (hemoglobin Barts hydrops fetalis). Ann Saudi Med 2010; 30(2): 153-5.

5. Gibbons R, Higgs DR, Old JM, Olivieri NF, Thein SL. The thalassaemia syndromes. 4th ed. Oxford, England: Blackwell Science; 20001. p. 166-8.
6. Haghshenas M, Zamani J. Thalassemia. 1st ed. Shiraz, Iran: Shiraz University of Medical Sciences; 1997. [In Persian].
7. Abolghasemi H, Eshghi P. Comprehensive Book of Thalassemia. Tehran, Iran: Baghiatallah university of Medical Sciences; 2004. p. 75. [In Persian].
8. Li Z, Li F, Li M, Guo R, Zhang W. The prevalence and spectrum of thalassemia in Shenzhen, Guangdong Province, People's Republic of China. Hemoglobin 2006; 30(1): 9-14.
9. Kulozik AE, Kar BC, Serjeant GR, Serjeant BE, Weatherall DJ. The molecular basis of alpha thalassemia in India. Its interaction with the sickle cell gene. Blood 1988; 71(2): 467-72.
10. Ko TM, Tseng LH, Hsieh FJ, Hsu PM, Lee TY. Carrier detection and prenatal diagnosis of alpha-thalassemia of Southeast Asian deletion by polymerase chain reaction. Hum Genet 1992; 88(3): 245-8.
11. Lau YL, Chan LC, Chan YY, Ha SY, Yeung CY, Waye JS, et al. Prevalence and genotypes of alpha- and beta-thalassemia carriers in Hong Kong -- implications for population screening. N Engl J Med 1997; 336(18): 1298-301.

Journal of Isfahan Medical School Received: 10.11.2012

Vol. 30, No. 219, 1st Week, March 2013 Accepted: 19.01.2013

Determination of the Need for Prenatal Diagnosis in Carriers of Alpha Thalassemia

Mitra Ramezani[1], Yadollah Ramezani[2], Davood Amirian Majd MD[3], Mansoor Salehi MD[4]

Original Article

Abstract

Background: In recent years, both alpha and beta thalassemia have been screened in couples before marriage. The severe form of alpha thalassemia, i.e. hydrops fetalis, is found in fetuses and causes fetal death. We tried to determine the need for prenatal diagnosis of hydrops fetalis among couples referred to Alzahra Genetic Laboratory. We also evaluated the cost-effectiveness of alpha thalassemia screening.

Methods: This descriptive study included all individuals that had been referred to the genetic laboratory from various health centers in Isfahan (Iran). The subjects had mean corpuscular volume less than 80 fL, mean corpuscular hemoglobin less than 27 pg, and hemoglobin A2 less than 2.5 percent. Moreover, one month of iron supplementation had failed to normalize their blood indexes. DNA was duplicated with polymerase chain reaction and examined with gel electrophoresis.

Findings: During the 27 months and nine days of the study (2009-2012), 642 eligible couples were referred to Alzahra Genetic Laboratory. Of these, 75 couples (11.6%) had beta-beta genotype, 343 couples (53.4%) had alpha-alpha genotype, and 224 couples (34.8%) had genotype alpha-beta. Of the 343 couples who had alpha-alpha genotype, three couples (0.87%) required to have prenatal diagnosis.

Conclusion: Considering the very few fetuses that required prenatal diagnosis, the cost-effectiveness of alpha-thalassemia screening in preparing couples for marriage has to be further evaluated at the country level. On the other hand, as fetuses with hydrops will not survive and will abort (only one fetus had hydrops in this study), children with thalassemia major will not be a problem.

Keywords: Alpha thalassemia, Prenatal diagnosis

Citation: Ramezani M, Ramezani Y, Amirian Majd D, Salehi M. **Determination of the Need for Prenatal Diagnosis in Carriers of Alpha Thalassemia.** J Isfahan Med Sch 2013; 30(219): 2344-52

* This paper is derived from a medical doctorate thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

1- Student of Medicine, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Instructor, Department of Health, School of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
3- Resident, Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mansour Salehi, Email: m_salehi@med.mui.ac.ir