مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره نهم، شماره دوازدهم، اسفند ۹٤
صفحه ۵۰ الی ۵۷

مقاله پژوهشی
(Original Article)

# بررسی فراوانی جهش IVSII-1 ژن بتاگلوبین، در بیماران مبتلا به تالاسمی مینور مراجعه‌کننده به آزمایشگاه امیرالمؤمنین (ع)، استان قم

فائزه جهانگشا[1]*، سهیلا ابراهیمی[1]، ناصر کلهر[2]

[1]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، ایران.

[2]گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی، واحد استان قم، قم، ایران.

## چکیده

**زمینه و هدف:** بتاتالاسمی، شایع‌ترین ناهنجاری آتوزومی مغلوب است. تاکنون بیش از ۲۰۰ جهش شناخته شده که عملکرد ژن بتاگلوبین را تحت تأثیر قرار می‌دهد و موجب عدم تولید و یا کاهش زنجیره بتا می‌شود. این بیماری در ایران از شیوع نسبتاً بالایی برخوردار است. جمعیت ایران، ترکیبی از گروه‌های مختلف نژادی است، در نتیجه تعیین شیوع و پراکندگی این جهش‌ها در نقاط مختلف کشور ضروری می‌باشد. دانستن نوع و شیوع موتاسیون‌های بتاتالاسمی یک منطقه، به‌طور مجزا در برنامه‌های پیش از تولد آن منطقه می‌تواند مفید و ضروری باشد. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی جهش IVSII-1 ژن بتاگلوبین در حاملین تالاسمی استان قم انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه توصیفی - مقطعی، از ۵۰ نفر (با میانگین سنی ۵±۲۵ سال)، مراجعه‌کننده به آزمایشگاه امیرالمؤمنین (ع) وابسته به مرکز بهداشت استان قم، جهت تعیین نوع کم‌خونی در راستای آزمایشهای پیش از ازدواج که تشخیص تالاسمی مینور برای آنها داده شده بود، خونگیری به عمل آمد. به‌منظور شناسایی و تعیین میزان شیوع شایع‌ترین جهش در ایران IVSII-1(G>A)، از ۵۰ فرد مبتلا به بتاتالاسمی، DNA ۱۰۰ کروموزوم به‌وسیله کیت تجاری استخراج گردید و با استفاده از روش ARMS- PCR بررسی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری تی‌تست در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ مقایسه شدند.

**یافته‌ها:** در افراد مورد مطالعه، موتاسیون IVSII-1(G>A)، با فراوانی ۱۰٪ مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** شناسایی این موتاسیون با فراوانی ۱۰٪ در استان قم، بیانگر این مطلب است که جمعیت این منطقه، در معرض جهش مدیترانه‌ای IVSII-1(G>A) قرار دارند. در نتیجه، این مطالعه می‌تواند در برنامه‌های تشخیص جهش‌های بتاتالاسمی و غربالگری پیش از تولد سودمند باشد.

**کلید واژه‌ها:** بتاتالاسمی؛ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز؛ جهش IVSII-1 ؛ قم، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
**فائزه جهانگشا**، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
Jahangoshaf@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

**Jahangosha F, Ebrahimi S, Kalhor N. An investigation of the frequency of IVSII-1 mutation of beta globin gene in patients with minor thalassemia referred to amir-al-momenin laboratory in Qom Province, Iran. Qom Univ Med Sci J 2016;9(12): 50-57. [Full Text in Persian]**

## مقدمه

بتاتالاسمی، شایع‌ترین اختلال تک‌ژنی آتوزومال مغلوب، و یک گروه هتروژن از اختلالات خونی است که در اثر جهش‌های مختلف در ژن بتاگلوبین ایجاد و منجر به کاهش تولید زنجیره بتاگلوبین (β+) یا عدم تولید آن (β0) می‌شود. بتاگلوبین به‌وسیله ژن ساختاری که در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۱ قرار دارد بیان می‌شود (۱،۲). تاکنون بیش از ۲۰۰ نوع جهش مؤثر بر ژن بتاگلوبین شناسایی شده که اکثر این جهش‌ها شامل جهش‌های نقطه‌ای یا حذف و اضافه‌شدن کوتاه چند نوکلئوتیدی بوده و به‌ندرت در آنها حذف‌های بزرگ ژنی دیده می‌شود (۳). بتاتالاسمی به سه فرم تالاسمی مینور، اینترمدیا و ماژور تقسیم می‌شود. مبتلایان به بتاتالاسمی ماژور معمولاً در طی ۲ سال اول زندگی با کم‌خونی شدید، اختلال رشد و ناهنجاری‌های اسکلتی مواجه می‌شوند، در نتیجه بیمار برای ادامه زندگی، نیاز به تزریق خون منظم دارد که این وابستگی به ترانسفیوژن خون سبب افزایش بار آهن و رسوب تدریجی آهن در ارگان‌های حیاتی مانند قلب، کبد، غدد درون‌ریز و غیره می‌شود. برای جلوگیری از افزایش ذخیره آهن در بافت‌های بدن، تزریق شلات‌کننده‌های آهن ضروری است (۵،۴). دفروکسامین (DFO) و دفریپرون (DFP)، از جمله داروهای آهن‌زدایی هستند که در حال حاضر مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶). پیوند مغز استخوان (BMT) تنها راه درمانی قطعی برای درمان بیماران بتاتالاسمی می‌باشد (۷). مشکل عمده در درمان بیماران تالاسمی علاوه بر هزینه‌های سرسام‌آور، مطلوب‌نبودن نتایج درمانی و صدمات روحی - روانی و اجتماعی برای خانواده‌های بیماران و جامعه است، از این‌رو برنامه‌های پیشگیری در اولویت قرار دارند. بهترین راه پیشگیری از بروز تالاسمی ماژور، انجام آزمایشهای تشخیص پیش از تولد (PND( Prenatal Diagnosis و یا آزمایشهای قبل از لانه‌گزینی (PGD (Preimplantation Genetic Diagnosis می‌باشد. شناخت جهش‌های موجود در منطقه و تعیین میزان پراکندگی آنها در جهت پیشگیری از تولد نوزادان مبتلا به تالاسمی ماژور است. برای رسیدن به این هدف، باید انواع جهش‌های ژنی تمام ناقلین این بیماری شناسایی شوند (۸). در مطالعه حاضر افراد مبتلا به بتاتالاسمی مینور از نظر موتاسیون (IVSII-1(G>A، مورد بررسی قرار گرفتند. این مطالعه تلاشی در جهت تسهیل در تشخیص قبل از تولد بیماران تالاسمی می‌باشد.

## روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - مقطعی کاربردی، از بین متقاضیان ازدواج با میانگین سنی ۵±۲۵ سال که جهت تعیین نوع کم‌خونی به آزمایشگاه امیرالمؤمنین(ع) وابسته به مرکز بهداشت استان قم مراجعه کرده بودند، ۵۰ فرد مبتلا به بتاتالاسمی مینور که توسط آزمایشگاه تأیید شده بود، جهت بررسی و میزان شیوع موتانت IVSII-1 انتخاب شدند.

مقادیر شاخصه‌های خونی تمامی نمونه‌ها به‌وسیله سیستم اتوماتیک (SYSMEX XS800I, Japan) اندازه‌گیری شد. همچنین از تمامی افراد، الکتروفورز هموگلوبین با استفاده از ژل استات سلولز در PH قلیایی به عمل آمد. معیار ورود افراد به این مطالعه MCV (Mean Corpuscular Volume)، کمتر از ۸۰ فمتولیتر و MCH (Mean corpuscular hemoglobin)، کمتر از ۲۷ پیکوگرم و هموگلوبین A2>۳/۵٪ بود.

از هر فرد حامل تالاسمی، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد EDTA گرفته شد و نمونه‌های خونی تا زمان استخراج DNA از گلبول‌های سفید خون، در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

DNA ژنومی از گلبول‌های سفید خون بیماران به‌وسیله کیت DNG-PLUS (DNG PLUS™ شرکت سیناژن، ایران)، استخراج گردید. در ادامه، به ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه خون، مقدار ۷۰۰ میکرولیتر محلول DNG و ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول سرد (مرک، آلمان) اضافه شد. سپس محتوای میکروتیوپ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و محتویات میکروتیوپ به آرامی و با وارونه‌کردن میکروتیوپ تخلیه گردید. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول اتانول سرد ۷۰٪ (شرکت نور زکریای رازی، ایران) به داخل میکروتوپ اضافه و ورتکس شد و محتویات میکروتیوپ به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفوژ و محتوای میکروتیوپ تخلیه گردید، این مرحله مجدداً تکرار شد. میکروتیوپی را که تخلیه شده بود، بر روی دستمال قرار داده تا الکل‌های باقیمانده آن خارج و میکروتیوپ

خشک گردد. پس از خشک‌شدن کامل میکروتیوپ، ۵۰ میکرولیتر آب مقطر ۲ بار تقطیرشده استریل، به داخل میکروتیوپ اضافه گردید و میکروتیوپ به داخل دستگاه آون با حرارت ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. سپس غلظت و کیفیت DNA استخراج‌شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY 6505 uv/vis) در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر سنجیده شد و نمونه‌هایی که نسبت OD 260nm /280nm در آنها بین ۲/۲-۱/۸ بود، جهت واکنش PCR انتخاب شدند. DNA استخراج‌شده تا زمان انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

از روش ARMS-PCR جهت تعیین موتاسیون IVSII-1 استفاده گردید. ARMS-PCR مطلوب‌ترین روش برای تعیین جهش‌های نقطه‌ای بوده و در آن از ۴ پرایمر استفاده می‌شود. واکنش در دو لوله جداگانه (یکی حاوی پرایمرهای نوع موتاسیون و دیگری حاوی پرایمرهای نوع معمولی) انجام می‌گیرد. چنانچه تکثیر در لوله حاوی پرایمر موتاسیون‌یافته انجام شود در DNA هدف، موتاسیون اتفاق می‌افتد و تکثیر در لوله حاوی پرایمر معمولی، نشان‌دهنده آن است که موتاسیونی اتفاق نیفتاده است. بنابراین، در این مطالعه از این روش به‌عنوان روش غربالگری برای بررسی جهش IVSII-1(G-A) در همه بیماران مورد مطالعه استفاده شد. با استفاده از پرایمرهای اختصاصی طراحی‌شده که توالی آنها در جدول شماره ۱ آمده است و به کمک دستگاه ترموسایکلر (reacon، هلندی)، ۲ واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر برای هر فرد بیمار در ۲ میکروتیوب جداگانه (یکی برای حالت نرمال و دیگری برای حالت جهش‌یافته) به‌کار رفت. هر میکروتیوب حاوی ۴۰-۱۰ نانوگرم محلول DNA استخراج‌شده، ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix (شامل MgCL، dNTP، Taq پلیمراز، بافر PCR، شرکت سیناژن، ایران)، ۰/۵ میکرومولار از هریک از پرایمرهای جهش‌یافته یا طبیعی و پرایمر مشترک (شرکت تکاپوزیست، ایران) بود و در انتها برای رسیدن حجم نهایی مخلوط واکنش به ۲۵ میکرولیتر، آب مقطر اضافه شد و سپس میکروتیوب‌ها به همراه یک نمونه کنترل نرمال، کنترل مثبت و منفی و در زمانها، دماها و تعداد چرخه‌های مختلف، در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شدند و واکنش PCR انجام گردید. واسرشتی اولیه DNA (Denaturatio) در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه و ۳۰ ثانیه صورت گرفت، سپس برنامه تکثیر برای ۳۵ چرخه، بدین صورت انجام شد:

۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۲ درجه سانتیگراد (Anealing) به مدت ۳۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد (Extention) به مدت ۷۰ ثانیه.

همچنین واکنش به‌منظور پلیمریزاسیون نهایی برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد ادامه یافت، و در نهایت، مرحله Holding با دمای ۴ درجه سانتیگراد انجام شد.

**جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده به همراه اندازه قطعه محصول PCR**

| طول قطعه محصول (جفت باز) | توالی پرایمر | پرایمر |
|---|---|---|
| ٦٣٤bp | AAGAAAACATCAAGGGTCCCATAGACTCAC | **Forward Normal** |
| ٦٣٤bp | AAGAAAACATCAAGGGTCCCATAGACTCAT | **Forward Mutant** |
| ٦٣٤bp | ACCTCACCCTGTGGAGCCA | **Common Primer Reverse** |

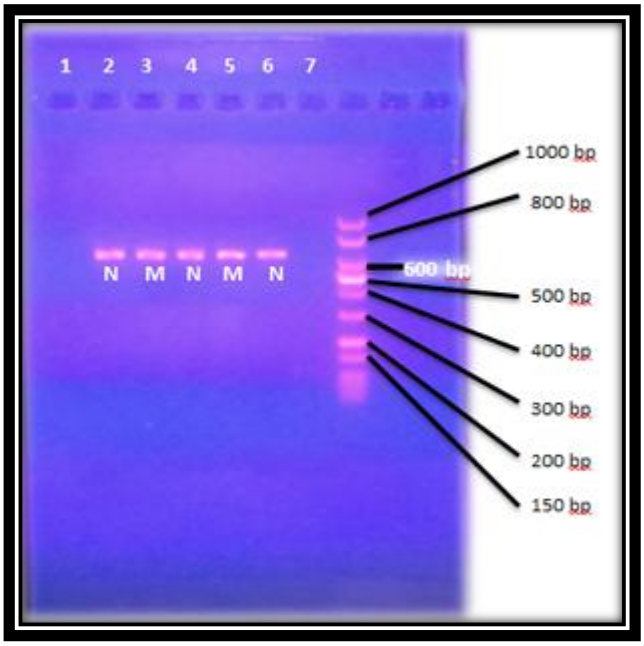
پس از انجام PCR، ۶ میکرولیتر از محصول تکثیریافته PCR همراه با ۱ میکرولیتر از Loading Dye بر روی ژل آگارز ۲٪ که حاوی ۱۰ میکرو لیتر اتیدیوم بروماید (شرکت سیناژن، ایران) بود در ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورز شد. همراه نمونه‌ها از شاخص مولکولی (Ladder)، کنترل نرمال، مثبت و منفی استفاده گردید. در نهایت، برای بررسی نتایج PCR از ژل (با استفاده از دستگاه ترانس ایلیمیناتور Upland, CA، آمریکا) و به‌وسیله تابش پرتو UV، نتایج مورد بررسی قرار گرفت.

مقایسه داده‌های کمّی، با استفاده از آزمون آماری تی‌تست در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ و داده‌های کیفی به‌صورت درصد فراوانی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۱ انجام شد.

## یافته‌ها

در این مطالعه بررسی به روش ARMS-PCR برای شایع‌ترین موتاسیون کشور، به‌نام IVSII-1(G>A)، بر روی ۱۰۰ کروموزوم (۵۰ نفر) بیماران مبتلا به بتاتالاسمی مینور انجام شد و موتانت

مورد بررسی با فراوانی ۱۰٪ شناسایی گردید (شکل). تفاوت معنی‌داری بین اندکس‌های هماتولوژیک در افراد دارای موتانت IVSII-1 و افراد فاقد موتانت مشاهده نشد (جدول شماره ۲).




**شکل: الکتروفورز محصولات در یک‌سری ARMS- PCR برای جهش IVSII-1 بر روی ژل آگارز.**
**ردیف ۱ و ۲ از سمت چپ برای فردی است که به‌عنوان کنترل نرمال استفاده شده و تنها ردیف دوم (لوله N) جواب داده است. ردیف ۳ و ٤ مربوط به کنترل مثبت است (فرد مینور حاوی یک ژن سالم و یک ژن جهش‌یافته با جهش IVSII-1). ردیف‌های ۳ و ٤گویای این مطلب است که هر دو لوله نرمال و جهش‌یافته جواب داده و نشان‌دهنده صحیح بودن مراحل آزمایش است. ردیف‌های ٥ و ٦ مربوط به نمونه فرد مورد مطالعه است که در این آزمایش هر دو لوله جهش یافته و نرمال جواب داده است، در نتیجه فرد مورد نظر فرد مینور حاوی یک ژن جهش‌یافته با موتانت IVSII-1 و یک ژن سالم است. ردیف۷ مربوط به کنترل منفی با آب مقطر بوده که در آن هیچ باندی مشاهده نشده است و دلیل بر این است که مراحل آزمایش آلودگی نداشته است.**

**جدول شماره ۲: بررسی و مقایسه میانگین شاخص‌های خونی در جمعیت مورد مطالعه**

| نام شاخص | افراد دارای موتانت IVSII | افراد فاقد موتانت IVSII |
|---|---|---|
| | میانگین±انحراف معیار | میانگین±انحراف معیار |
| MCV | ۷۶/۴۷±۵۰/۴۸ | ۷۳/۶±۳/۸۴۷ |
| MCH | ۲۶/۰۷±۳/۵۳۸ | ۲۵±۵/۷۰۱ |
| هموگلوبین | ۱۲/۳۱±۱/۷۶۹ | ۱۱/۸±۰/۸۳۷ |
| HbA | ۹۳/۴۴۴۴±۱/۰۴۵۶۷ | ۹۳/۲±۰/۹۷۴۶۸ |
| HbA2 | ۳/۶۱۱۱±۰/۷۱۴۲۱ | ۳/۸±۰/۸۳۶۶۶ |
| HbF | ۲/۹۴۴۴±۱/۱۸۸۱۱ | ۲/۶±۱/۳۸۷۴۴ |

## بحث

تالاسمی در سطح مولکولی از هتروژنی بالایی برخوردار است و جهش‌های متعددی برای آن گزارش شده است، نتایج مطالعات نشان می‌دهد پراکندگی آلل‌های بتاتالاسمی در جهان، تصادفی نیست و به دلیل تنوع قومیت‌ها احتمال دارد که جهش‌های موجود در یک منطقه با منطقه دیگر متفاوت باشند. در نتیجه هر جمعیت و قومی پراکندگی جهش‌های ویژه خود را دارد.

تعداد کمی از جهش‌ها با فراوانی بالا، بیش از ۸۰٪ جهش‌ها را شامل شده و جهش‌های شایع آن منطقه نامیده می‌شوند، به‌طوری‌که ۱۰-۵ جهش، شایع‌ترین جهش‌های هر منطقه را تشکیل می‌دهد. درمقابل، تعداد زیادی از جهش‌ها وجود دارند که فراوانی کمتری داشته و جهش‌های نادر آن منطقه خوانده می‌شوند (۱۲-۸). در ایران جهش‌های متعددی مسئول بتاتالاسمی است.

این جهش‌ها منشأ ایرانی، مدیترانه‌ای، کردی، ترکی، مصری، تونسی، آسیایی- هندی، آفریقایی و آمریکایی دارند. در کل، ۶۰ جهش در استان‌ها و قومیت‌های مختلف گزارش شده است. مطالعات نشان می‌دهد بسیاری از جهش‌های مسئول ایجاد تالاسمی در ایران را جهش‌های مدیترانه‌ای تشکیل می‌دهند (۱۳). در نتیجه، در مطالعه جهش‌های تالاسمی ضروری است ابتدا جهش‌های مدیترانه‌ای مورد بررسی قرار گیرند. در این مطالعه نیز یک نوع از جهش‌های شایع مدیترانه‌ای به‌نام IVSII-1(G>A) که در ایران و سایر کشورهای مدیترانه‌ای شیوع بالایی دارد، در استان قم بررسی شد.

موتانت IVSII-1(G>A)، سبب غیرفعال‌شدن جایگاه دهنده در فرآیند پیرایش و عدم پردازش صحیح mRNA شده و در نتیجه موجب بتاتالاسمی می‌شود. این جهش نقطه‌ای در اولین نوکلئوتید اینترون دوم ژن بتاگلوبین اتفاق می‌افتد و به‌جای گوانین باز آدنین قرار می‌گیرد. این جهش برای اولین بار در جمعیت عرب یافت شد (۱۴).

در تحقیقات نجم‌آبادی و همکاران، موتاسیون IVSII-1(G>A) در اغلب استان‌ها، جزء شایع‌ترین جهش‌ها شناسایی شده است. این جهش مدیترانه‌ای در ایران، فراوانی بالاتری از کشورهای مدیترانه‌ای دارد و در اغلب اقوام ظاهر می‌شود. به‌طورکلی موتانت IVSII-1(G>A) با ۳۴٪، شایع‌ترین جهش در ایران است (۸،۱۳) (جدول شماره ۳).

**جدول شماره ۳: شایع‌ترین موتاسیون‌های زنجیره بتاگلوبین در مناطق مختلف کشور**

| مناطق کشور | موتاسیون | درصد شیوع |
|---|---|---|
| **بابلسر** | IVSII-1 (G>A) | ۷۲/۳ |
| **مازندران** | IVSII-1 (G>A) | ۶۸/۳ |
| **تهران** | IVSII-1 (G>A) | ۴۲/۵ |
| **زنجان** | IVSII-110 (G>A) | ۲۹/۵ |
| **لرستان** | C36/37(+G) | ۳۳/۸ |
| **خوزستان** | IVSII-1 (G>A) | ۳۴/۵ |
| **فارس** | IVSII-1 (G>A) | ۴۱/۵ |
| **اصفهان** | IVSII-1 (G>A) | ۳۱/۵ |
| **هرمزگان** | IVSII-5 (G>C) | ۶۹/۰ |
| **سیستان و بلوچستان** | IVSII-5 (G>C) | ۶۵/۰ |
| **آذربایجان غربی** | IVSII-1 (G>A) | ۲۱/۰ |
| **ارومیه** | IVSII-1 (G>A) | ۵۱/۰ |

همان‌طورکه ذکر شد موتانت IVSII-1(G>A)، از نوع موتاسیون‌های شایع در منطقه مدیترانه‌ای بوده و شیوع آن در کشورهای همسایه نیز دیده می‌شود، اما درجه شیوع آن در کشورهای مختلف همسایه، متفاوت است.

در یک مطالعه در جمهوری آذربایجان بر روی ۱۲۰ بیمار مبتلا به بتاتالاسمی، جهش IVSII-1 از نظر فراوانی و شیوع در ردیف دوم قرار داشت (۱۵).

پژوهشی‌که توسط Zahed (سال ۲۰۰۱) بر روی جمعیت‌های عرب انجام گرفت، نشان داد جهش IVSII-1، بالاترین شیوع را در کشور کویت نسبت به سایر کشورها با فراوانی ۲۹٪ دارد (۱۶).

تحقیق دیگری که توسط Amein K و همکاران (سال ۲۰۰۵) بر روی ۱۹ بیمار از عربستان سعودی انجام گرفت، نشان داد شیوع جهش IVSII-1(G>A)، برابر ۲۷/۵٪ است (۱۷).

در بررسی شیوع موتاسیون‌های بتاگلوبین (سال ۲۰۱۴) بر روی کودکان مصری مبتلا به بتاتالاسمی، موتاسیون IVSII-1(G>A) با فراوانی ۷٪ گزارش شد (۱۸).

مطالعه Labie در الجزایر (سال ۱۹۹۰) نشان داد موتاسیون IVSII-1(G>A)، جزء موتاسیون‌های شایع بوده است (۱۹).

با توجه به مطالب عنوان‌شده و شیوع بالای موتاسیون IVSII-1(G>A)، در اغلب استان‌های کشور، کشف و شناسایی این موتاسیون در استان قم، بیانگر این مطلب است که جمعیت منطقه قم در معرض جهش مدیترانه‌ای IVSII-1(G>A) واقع است، اما اینکه این جهش غالب می‌باشد یا نه؛ نیازمند بررسی و شناسایی سایر موتاسیون‌های ژن بتاگلوبین در منطقه استان قم می‌باشد. در هر منطقه پراکندگی جهش‌ها می‌تواند با در نظر گرفتن جایگاه جغرافیایی، مهاجرت‌ها و استقرارهای آن منطقه به‌خوبی توضیح داده شود. فراوانی جهش IVSII-1(G>A) به میزان ۱۰٪ در استان قم به دست آمد که با فراوانی گزارش‌شده در مناطق شمالی ایران متفاوت است، اما به دلیل تنوع قومیت‌ها و مهاجرت‌ها از سایر نقاط کشور و جهان به این استان و تأثیر آن روی خزانه ژنی جمعیت، این احتمال وجود دارد که فراوانی جهش IVSII-1 در این منطقه با منطقه دیگر از ایران متفاوت باشد. البته نتایج مطالعات نشان می‌دهد پراکندگی و شیوع موتاسیون بتاتالاسمی در مناطق مختلف به‌طور کامل یکسان نبوده و هر جمعیت قومی پراکندگی

جهش‌های ویژه خود را دارد.

## نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر با به‌کار بردن پرایمر اختصاصی، جهش IVSII-1(G>A) با فراوانی ۱۰٪ شناسایی و بررسی شد. این نتیجه بیانگر این مطلب است که جمعیت استان قم در معرض جهش شایع مدیترانه‌ای و شایع‌ترین جهش در ایران (IVSII-1(G>A)) قرار دارد. لذا این مطالعه می‌تواند در تشخیص جهش‌های بتاتالاسمی که در مشاوره ژنتیکی و تشخیص پیش از تولد در این منطقه بسیار مهم و ضروری است، سودمند باشد.

## References:


1. Fettah A, Bayram C, Yarali N, Isik P, Kara A, Culha V, et al. Beta-globin gene mutations in Turkish Children with Beta-thalassemia: Results from a Single Center Study. Mediterr J Hematol Infect Dis 2013;5(1):e2013055.

2. Ondei Lde S, Estevão Ida F, Rocha MI, Percário S, Souza DR, Pinhel MA, et al. Oxidative stress and antioxidant status in beta-thalassemia heterozygotes. Rev Bras Hematol Hemoter 2013;35(6):409-13.

3. Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. Genet Med 2010;12(2):61-76.

4. Alsalhi MS, Algahtani FH, Devanesan S, Vijmasi VT, Jeyaprakash K, Alsaeed AH, et al. Spectral detection of thalassemia: A preliminary study. J Biomed Sci 2014;21:21-6.

5. Hagag AA, Elfrargy MS, Gazar RA, El-Lateef AE. Therapeutic value of combined therapy with deferasirox and silymarin on iron overload in children with beta thalassemia. Mediterr J Hematol Infect Dis 2013;5(1):e2013065.

6. Chirico V, Lacquaniti A, Salpietro V, Luca N, Ferraù V, Piraino B, et al. Thyroid dysfunction in thalassaemic patients: ferritin as a prognostic marker and combined iron chelators as an ideal therapy. Eur J Endocrinol 2013;169(6):785-93.

7. Angelucci E, Matthes-Martin S, Baronciani D, Bernaudin F, Bonanomi S, Cappellini MD, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: Indications and management recommendations from an international expert panel. Haematologica 2014;99(5):811–20.

8. Valizadeh F. Frequency of beta-globin gene mutations in beta-carrier couples in Babolsar, Iran, 2001-2011. J Mazandaran Univ Med Sci 2014;23(110):17-23. [Full Text in Persian]

9. Haghi M, Pouladi N, Hosseinpour Feizi M, Hosseinpour Feizi A. B-Thalassemia in Iran. Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2010;18(2):127-33. [Full Text in Persian]

10. Kazazian HH, Boehm CD. Molecular basis and prenatal diagnosis of beta-thalassemia. Blood 1988;72(4):1107-16.

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

12. Mortazavi Y, Taheri S, Derakhshandeh J, Zeinali S. Characterization of Beta globin gene mutations in Zanjan province: An Introduction to prenatal diagnosis of thalassemia. J Zanjan Univ Med Sci 2008;16(63):1-10. [Full Text in Persian]

13. Najmabadi H, Karimi-Nejad R, Sahebjam S, Pourfarzad F, Teimourian S, Sahebjam F, et al. The β- thalassemia mutation spectrum in the Iranian population. Hemoglobin 2001;25(3):285-96.

14. Chinchang W, Viprakasit V, Pung-Amritt P, Tanphaichitr VS, Yenchitsomanus PT. Molecular analysis of unknown beta-globin gene mutations using polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) technique and its application in Thai families with beta-thalassemias and beta-globin variants. Clin Biochem 2005;38(11):987-96.

15. Kuliev AM, Rasulov IM, Dadasheva T, Schwarz EI, Rosatelli C, Saba L, et al. Thalassaemia in Azerbaijan. J Med Genet 1994;31(3):209-12.

16. Zahed L. The Spectrum of beta-thalassemia mutations in the Arab populations. J Biomed Biotechnol 2001;1(3):129-32.

17. Amein KA, Al-Ateeq S, Burhan WI, Al-Sowayan S, Al-Madan M, Al-Muhanna F, et al. Molecular bases of β-thalassemia in the eastern province of Saudi Arabia. J Biomed Biotechnol 2005;2005(4):322-5.

18. El-Shanshory M, Hagag A, Shebl S, Badria I, Abd Elhameed A, Abd El-Bar E, et al. Spectrum of Beta Globin Gene Mutations in Egyptian children with β-thalassemia. Mediterr J Hematol Infect Dis 2014;6(1):e2014071.

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

# *An Investigation of the Frequency of IVSII-1 Mutation of Beta Globin Gene in Patients with Minor ThalassemiaReferred to Amir-Al-MomeninLaboratory in Qom Province, Iran*

***Faezeh Jahangosha[1*],Soheila Ebrahimi[1],Naser Kalhor[2]***

*[1]Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Iran.*

*[2]Department of Genetics, Jihad Daneshgahi Research Center, Qom Province Branch, Qom, Iran.*

***Corresponding Author:***
**Faezeh Jahangosha,**
Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Iran.

Email:
Jahangoshaf@yahoo.com

Received: 5 May, 2015

Accepted:22 Jun, 2015

***Abstract***

***Background and Objectives:*** Beta thalassemia is the most common autosomal recessive disorder. Up to now, more than 200 mutations have been identified, which affect beta-globin gene function and lead to lack of production or reduction of beta chain. This disease has a relatively high prevalence in Iran. Iran's population is composed of different ethnic groups, thus, determining the frequency and distribution of these mutations is essential in different parts of the country. Knowing the type and frequency of beta-thalassemia mutations in a separate area, could be necessary and useful in the prenatal programs of that area. This study was carried out with the purpose of determining the frequency of IVSII-1mutation of beta globin gene in thalassemia carriers in Qom province.

***Methods:*** In this descriptive cross-sectional study, blood sample was taken from 50 individuals (mean age, 25±5 years) referred to Amir-Al-Momenin Laboratory affiliated to Qom health Center in order to determine the type of anemia in line with the pre-marriage tests that had given the diagnosis of minor thalassemia. In order to the identify and determine the prevalence of the IVSII-1 (G>A) mutation, DNA was extracted from 100 chromosomes from 50 beta thalassemia carriers by a commercial kits and examined using ARMS-PCR. Data were analyzed by t statistical test at the significance level less than 0.05.

***Results:***IVSII-1(G>A) mutation with a frequency of 10%, was observed in the studied subjects.

***Conclusion:*** Identification of this mutation with the frequency of 10% in Qom province indicates that the population of this region are at the exposure of the IVSII-1(G>A) mediterranean mutation. Therefore, this study can be beneficial in diagnosis programs of beta thalassemia mutations and prenatal screening.

***Keywords:*** Beta-thalassemia; Polymerase chain reaction; IVSII-1 mutation; Qom, Iran.