تحقیقی

فراوانی ناقلین جهش‌های آلفاتالاسمی در نوزادان

دکتر محمدرضا مهدوی[۱]، دکتر مهرنوش کوثریان[۲]، دکتر حسین کرمی[۳]، دکتر مهراد مهدوی[٤]، حسین جلالی[٥]، پیام روشن*[٦]

۱- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ۲- استاد، گروه بیماری‌های کودکان، مرکز تحقیقات تالاسمی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ۳- دانشیار، فوق تخصص خون و سرطان مرکز تحقیقات تالاسمی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ٤- دکتری دامپزشکی، گروه پژوهشی سینا مهر، ساری. ٥- دانشجوی دکتری پژوهشی تالاسمی، مرکز تحقیقات تالاسمی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ٦- کارشناس ارشد ایمنی‌شناسی، گروه پژوهشی سینای مهر، ساری.

چکیده

زمینه و هدف : *بیماری تالاسمی آلفا شایع‌ترین نوع هموگلوبینوپاتی در جهان است و ممکن است بیمار مبتلا علایم بالینی متنوعی را از کم‌خونی بدون علامت گرفته تا کم‌خونی شدید منجر به مرگ تجربه کند. این مطالعه به منظور ارزیابی فراوانی ناقلین جهش‌های شایع ژن آلفاگلوبین در نوزادان متولد ساری انجام گردید.*

روش بررسی : *در این مطالعه توصیفی ٤۱۲ نمونه خون بند ناف نوزادان متولد بیمارستان امیر مازندرانی شهر ساری در سال ۱۳۹۱ به‌طور تصادفی انتخاب گردید. سپس DNA ژنومی از خون آنان به روش استاندارد فنل- کلروفرم استخراج گردید. با استفاده از تکنیک‌های Multiplex Gap- PCR و PCR-RFLP وجود سه جهش حذفی، یک تریپلیکیشن و یک جهش نقطه‌ای ارزیابی شد.*

یافته ها : *فراوانی آللی مجموع کروموزوم‌های بررسی شده برابر ۰/۰۸۲۵ به‌دست آمد. جهش حذفی α3.7- با فراوانی آللی ۰/۰٤۸۵ دارای بیشترین فراوانی آللی در ۸۲٤ کروموزوم مورد بررسی بود. فراوانی آللی جهش‌های α4.2- ، ααααanti3.7 تریپلیکیشن و α-5nt به ترتیب ۰/۰۲۰٦، ۰/۰۱۰۹ و ۰/۰۰۲٤ تعیین شد. هیچیک از نوزادان حامل جهش دو حذفی Med– نداشتند.*

نتیجه‌گیری : *در اکثر نوزادان مبتلا تنها یک نسخه از ژن آلفاگلوبین حذف شده و یا دارای نقص بود که این افراد بدون مشکل قادر به ادامه زندگی هستند. جهش دو حذفی Med– در هیچیک از نوزادان یافت نشد که نشان می‌دهد احتمال تولد نوزاد مبتلا به بیماری Hb H در منطقه پایین است.*

کلید واژه‌ها : *آلفاتالاسمی ، آلفاگلوبین ، جهش ژنی ، نوزاد*

* نویسنده مسؤول : پیام روشن ، پست الکترونیکی payam.roshan@gmail.com

نشانی : ساری، ابتدای بلوار کشاورز، ساختمان دکتر دادخواه، آزمایشگاه تشخیص پزشکی فجر، تلفن ۳۳٤۱۱۱۰۳-۰۱۱، نمابر ۳۳۲۹۲۹۲۹

وصول مقاله : ۹۳/۳/۲۵ ، اصلاح نهایی : ۹۳/۵/٤ ، پذیرش مقاله : ۹۳/۵/۱۵

مقدمه

بیماری تالاسمی آلفا یکی از شایع‌ترین انواع هموگلوبینوپاتی در سرتاسر جهان است که در اثر کاهش تولید زنجیره‌های آلفاگلوبین به‌وجود می‌آید (۱). از نظر فنوتیپی این بیماری می‌تواند به صورت بدون علامت تا کم‌خونی شدید در بیماران مختلف بروز پیدا کند (۲). بیشترین شیوع تالاسمی آلفا در جنوب شرق آسیا، خاورمیانه، هندوستان و کشورهای آفریقایی گزارش شده است (۳). فراوانی ناقلین تالاسمی آلفا در نقاط مختلف جهان متفاوت است و از یک‌درصد در جنوب اسپانیا تا ۹۰درصد در برخی از قبایل هندوستان متغیر است (۳). از آنجایی که قومیت‌های مختلفی در ایران زندگی می‌کنند؛ فراوانی و توزیع جهش‌های ژن آلفاگلوبین در نقاط مختلف کشور متفاوت است (۴و۵).

هر انسان دارای دو نسخه از ژن آلفاگلوبین بر روی هر یک از دو کروموزوم ۱۶ و در موقعیت 16p13.3 است (۶). حذف یک نسخه از ژن آلفاگلوبین بر روی یک کروموزوم (α/αα-) آلفاتالاسمی نوع۲ نامیده می‌شود. در حالی که حذف دو نسخه از ژن مزبور (αα/--) آلفاتالاسمی نوع یک نامیده می‌شود (۷). در صورتی که سه نسخه از ژن (α-/- -) در فردی دچار نقصان گردد؛ بیماری HbH در فرد بروز پیدا می‌کند و سندرم هموگلوبین بارت یا هیدروپس فتالیس نیز در اثر فقدان هر چهار نسخه از ژن آلفاگلوبین (--/--) رخ می دهد. آلفاتالاسمی نوع ۲ شایع‌ترین نوع از بیماری تالاسمی آلفا در سرتاسر جهان بوده و افراد مبتلا علایم بالینی خاصی ندارند. افراد دارای تالاسمی trait (α-/α- or trans --/αα cis) دارای کم‌خونی هیپوکرومیک میکروسیتیک خفیف بوده و در معرض خطر داشتن

فرزندان مبتلا به هیدروپس فتالیس یا بیماری Hb H هستند (۸).

مشاوره قبل از ازدواج به منظور شناسایی ناقلین تالاسمی بتا از سال ۱۳۷۶ در ایران اجباری شده است (۹). در بسیاری از افراد که اندکس‌های خونی کاهش یافته دارند؛ هیچ جهشی در ژن بتاگلوبین یافت نمی‌شود و نیز بعضی از جهش‌های ژن بتاگلوبین اندکس‌های خونی را به مقدار کمتری تغییر می‌دهند (۱۰و۱۱). لذا شناسایی جهش‌های آلفاگلوبین می‌تواند به شناسایی هموگلوبینوپاتی‌ها کمک نماید. این مطالعه به منظور ارزیابی فراوانی ناقلین جهش‌های شایع ژن آلفاگلوبین در نوزادان متولد ساری انجام گردید.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی ۴۱۲ نمونه خون بند ناف نوزادان (۱۹۸ پسر و ۲۱۴ دختر) متولد بیمارستان امیر مازندرانی شهر ساری در سال ۱۳۹۱ به‌طور تصادفی انتخاب گردید.

از والدین نوزادان رضایت‌نامه کتبی آگاهانه شرکت در مطالعه اخذ گردید.

اندکس‌های خونی شامل RBC، میزان هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

DNA ژنومی از خون محیطی با استفاده از روش‌های استاندارد مبتنی بر فنل-کلروفرم و کیت تجاری Qiagen DNA extraction استخراج گردید. برای شناسایی سه جهش حذفی 3.7α-، 4.2α- و Med– و جهش ترپلیکیشن anti3.7 ααα از روش Multiplex Gap PCR که برای اولین بار توسط Oron-Karni و همکاران معرفی شد؛ استفاده گردید (۱۲). روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم محدود کننده Hph1 (ساخت شرکت Fermentase محصول لیتوانی) برای شناسایی جهش α-5nt استفاده شد. به منظور انجام واکنش هضم آنزیمی میزان ۸ میکرولیتر از محصول PCR با ۱/۵ میکرولیتر از بافر 1X و ۰/۵ میکرولیتر از آنزیم محدود کننده مخلوط گردید و با آب مقطر به حجم ۱۵ رسانده شد. مخلوط واکنش در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شب انکوبه گردید. صبح روز بعد محصولات حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲درصد لود شد و با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی گرد. سپس نتایج زیر نور UV آنالیز شدند. در نهایت فراوانی آللی تمامی جهش‌ها محاسبه گردید.

یافته‌ها

۶۳ نوزاد (۱۵/۲۹درصد) دست کم دارای یک جهش در ژن آلفاگلوبین بودند (95% CI:۱۱/۸۱–۱۸/۷۷). در ۵۴ نفر جهش حذفی، ۹ نفر جهش ترپلیکیشن αααanti 3.7 و دو نفر جهش نقطه‌ای α-5nt مشاهده شد. در بین ۵ جهش مورد بررسی، جهش حذفی 3.7α- دارای بیشترین فراوانی (۹/۷ درصد) بود (95% CI:۶/۴۸–۱۲/۵۶) و در هیچ نمونه‌ای جهش دو حذفی Med– یافت نشد.

۵ نوزاد به طور همزمان دارای دو جهش بودند. به طوری که دو مورد هموزیگوت دارای جهش 3.7α-، سه مورد هتروزیگوت مرکب دارای جهش‌های 3.7α- به‌همراه 4.2α- ، 3.7α- به‌همراه ترپلیکیشن αααanti 3.7 و 4.2α- به‌همراه ترپلیکیشن αααanti3.7 بودند (جدول یک). اندکس‌های خونی مربوط به هر جهش در نوزادان در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱: توزیع ژنوتیپ‌های موجود در ژن آلفاگلوبین در ۴۱۲ نوزاد متولد ساری در سال ۱۳۹۱

ژنوتیپ	تعداد (درصد)
αα/αα (wild type)	***۳۴۹ (۸۴/۷)***
-α3.7/ αα	***۳۴ (۸/۳)***
-α 4.2/ αα	***۱۵ (۳/۶)***
αααanti3.7/ αα	***۷ (۱/۷)***
α-5nt/ αα	***۲ (۰/۴۸)***
-α3.7/- α3.7	***۲ (۰/۴۸)***
-α3.7/ -α 4.2	***۱ (۰/۲۴)***
-α3.7/ αααanti3.7	***۱ (۰/۲۴)***
-α 4.2/ αααanti3.7	***۱ (۰/۲۴)***

از ۸۲۴ کروموزوم مورد مطالعه، ۶۸ کروموزوم دارای یکی از جهش‌های بررسی شده بودند و برای آلل‌های جهش یافته، فراوانی ۰/۰۸۲۵ به‌دست آمد. ۳۷ کروموزوم از ۸۲۴ کروموزوم نیز دارای جهش حذفی 3.7α- بودند و این جهش دارای بیشترین فراوانی آللی (۰/۰۴۸۵) در بین ۵ جهش بررسی شده بود. جهش‌های 4.2α-، ترپلیکیشن αααanti3.7 و α-5nt- نیز به ترتیب دارای فراوانی‌های آللی ۰/۰۲۰۶ ، ۰/۰۱۰۹ و ۰/۰۰۲۴ بودند. جهش‌های حذفی 3.7α- و 4.2α- به ترتیب بیشترین فراوانی را در بین کروموزوم‌های جهش یافته با مقادیر ۵۸/۸درصد و ۲۵درصد دارا بودند.

جدول ۲ : اندکس‌های خونی نوزادان دارای جهش در ژن آلفاگلوبین

نوع جهش	اندکس‌های خونی					
	(x 106/µl) RBC	***(g/dL) Hb***	***(%) Hct***	***(fl) MCV***	***(pg) MCH***	***(g/dl) MCHC***
-α3.7	۴/۴± ۰/۶	۱۲/۸± ۰/۲	۳۹/۳±۵/۰	۹۰/۱± ۶/۱	۲۹/۶± ۲/۱	۳۲/۰± ۲/۹
-α 4.2	۴/۳± ۱/۰	۱۳/۲± ۳/۳	۳۹/۶±۸/۵	۹۲/۶± ۴/۹	۲۹/۶± ۱/۲	۳۲/۰± ۱/۹
αααanti3.7	۴/۹± ۱/۱	۱۴/۸± ۲/۹	۴۶/۷± ۹/۳	۹۵/۲± ۱/۶	۲۹/۸± ۱/۱	۳۱/۷± ۱/۰
α-5nt	۲/۴± ۰/۸	۷/۳± ۱/۸	۲۱/۹± ۷/۱	۹۲/۹± ۱/۶	۳۱/۴± ۳/۳	۳۳/۹± ۴/۱
دارای یک جهش	۴/۳± ۰/۸	۱۲/۷± ۶/۲	۳۸/۸± ۷/۵	۹۱/۲± ۵/۱	۲۹/۷± ۱/۹	۳۲/۱± ۲/۶
دارای دو جهش	۴/۶۲± ۰/۹۷	۱۲/۶± ۴/۰	۳۹/۵± ۱۲/۵	۸۴/۴±۸/۸	۲۶/۵ ± ۲/۷	۳۱/۷۳± ۱/۱
فاقد جهش	۴/۱± ۱/۰	۱۳/۱± ۱/۷	۴۰/۱± ۶/۸	۹۸/۳± ۶/۰	۳۲/۳± ۲/۰	۳۲/۹± ۲/۶

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه جهش حذفی α3.7- دارای بیشترین فراوانی آللی تعیین شد. سپس فراوانی آللی جهش‌های α4.2-، αααanti3.7 تریپلیکیشن و α-5nt تعیین گردید. هیچیک از نوزادان حامل جهش دو حذفی Med– نداشتند.

ناقلین تالاسمی آلفا با فراوانی ۱۷درصد در مقایسه با ناقلین بتاتالاسمی دارای اندکس‌های خونی نزدیک‌تری به افراد طبیعی هستند (۱۳). لذا امکان دارد طی فرآیند غربالگری که در مراحل اولیه بر پایه اندیکس‌های خونی است؛ شناسایی نگردند. در نتیجه فراوانی ناقلین تالاسمی آلفا که براساس اندیکس‌های خونی گزارش می‌گردند؛ از صحت لازم برخوردار نیستند. در استان مازندران برنامه غربالگری به منظور شناسایی ناقلین تالاسمی از سال‌ها قبل به صورت اجباری انجام می‌گردد (۹).

در مطالعات قبلی، ما با استفاده از تکنیک HPLC (High Performance Liquid Chromatography) به بررسی وجود جهش‌های حذفی ژن آلفاگلوبین در ۶۸۰ نوزاد در استان مازندران پرداختیم. این روش قادر است هموگلوبین بارت را تشخیص دهد؛ ولی قادر به تفکیک جهش‌های دو حذفی و تک حذفی از هم نیست. نتایج مطالعه قبلی ما نشان داد حدود ۱۲ درصد از نوزادان دارای جهش‌های حذفی هستند (۱۴). اگرچه در مطالعه قبلی فراوانی نوزادان ناقل جهش‌های تالاسمی آلفا گزارش گردید؛ ولی به دلیل محدودیت‌های روش مورد استفاده قادر به تفکیک انواع جهش‌ها نشدیم. همچنین در مطالعه قبلی جهش‌های نقطه‌ای و تریپلیکیشن αααanti3.7 نیز قابل شناسایی نبودند (۱۴). در مطالعه حاضر فراوانی جهش‌های حذفی ۱۳/۱ درصد تعیین شد که نزدیک به فراوانی جهش‌های حذفی در مطالعه قبلی (۱۴) است. در مطالعه حاضر علاوه بر فراوانی جهش‌های حذفی فراوانی یک جهش نقطه‌ای و جهش تریپلیکیشن αααanti3.7 نیز تعیین شد.

گرچه در مطالعه حاضر ۱۵/۳ درصد از نوزادان منطقه حامل جهش‌های ژن آلفاگلوبین بودند؛ ولی در اکثر آنان تنها یک نسخه از ژن دارای جهش بود و این نوزادان در طول زندگی خود فاقد علایم بالینی محسوسی هستند و در سنین مختلف نیز به وسیله آزمایشاتی از قبیل شمارش سلول‌های خونی قابل شناسایی نخواهند بود. با این وجود در مطالعه ما مشخص شد ۲/۲ درصد از جمعیت نوزادان دارای جهش تریپلیکیشن αααanti3.7 هستند که منجر به تغییر محسوسی در اندکس‌های خونی نمی‌شود؛ ولی مطالعاتی نشان داده‌اند در صورتی که این جهش همراه با یکی از جهش‌های ژن بتاتالاسمی به صورت هتروزیگوت در فردی وجود داشته باشد؛ منجر به بروز بیماری تالاسمی اینترمدیا می‌گردد که امروزه تالاسمی بتای ماژور بی‌نیاز از تزریق خون نامیده می‌شود (۱۵و۱۶).

از آنجایی که نزدیک به ده درصد از جمعیت مازندران ناقل تالاسمی بتا هستند (۱۰)؛ حضور همزمان جهش تریپلیکیشن αααanti3.7 و جهش‌های موجود در ژن بتاگلوبین در یک فرد در مشاوره ژنتیک بایستی مورد توجه قرار گیرد (۱۷و۱۸).

بررسی مولکولی جهش‌های ژن آلفاگلوبین در ۲۲۵ نوزاد با علایم کم‌خونی هایپوکرومیک و میکروسیتیک به‌وسیله تمدنی و همکاران در استان مازندران نشان داد ۲۱ جهش مختلف در ۸۹درصد از بیماران وجود دارد (۱۹) و شایع‌ترین جهش‌ها به ترتیب شامل α3.7- (۴۴/۹درصد)، αPolya2 (AATAAA>AATGAA) (۱۸/۲درصد)، α4.2- (۹/۱درصد)، α-5nt (۶/۵درصد) و Med– (۴/۳درصد) تعیین گردید (۱۳). در مطالعه ما نیز جهش α3.7- به عنوان بیشترین فراوانی در منطقه مشخص شد. در مطالعه حاضر فراوانی جهش α4.2- (۲۵ درصد) در مقایسه با مطالعه قبلی (۹/۱ درصد) (۲۰) بیشتر بود و فراوانی جهش‌های α-5nt و Med– نسبت به مطالعه قبلی (۲۰) کمتر بود.

به منظور شناسایی انواع هموگلوبینوپاتی‌ها، ولی زاده و همکاران مطالعه‌ای روی ۸۵۰۰ نفر از افراد شرکت کننده در برنامه مشاوره پیشگیری از تالاسمی مرکز بهداشتی شهرستان بابلسر انجام دادند (۱۸). در ابتدا افراد براساس اندکس‌های خونی به دو گروه مشکوک به تالاسمی آلفا و بتا تقسیم شدند. سپس مطالعه مولکولی بر روی برخی از افراد مشکوک انجام گرفت. براساس آن مطالعه ۸/۵۴درصد از جمعیت ناقل تالاسمی آلفا بودند و در بین افراد مشکوک به تالاسمی آلفا که بررسی مولکولی انجام گردید؛ ۴۷/۵درصد دارای جهش α3.7- بودند (۱۸). در مقایسه با مطالعه ولی‌زاده و همکاران (۱۸)، مطالعه ما نشان داد فراوانی ناقلین تالاسمی آلفا نزدیک به دو برابر است. از آنجایی که مطالعه ما به بررسی مولکولی کلیه نوزادن فارغ از اندکس‌های خونی پرداخته است و بعضی از ناقلین تالاسمی آلفا اندکس‌های خونی نزدیک به افراد طبیعی دارند؛ نتایج مطالعه حاضر با دقت بیشتری فراوانی ناقلین تالاسمی آلفا را در جمعیت مازندران نشان داده است.

زربخش و همکاران با استفاده از روش‌های مولکولی مطالعه مشابهی بر روی افراد مراجعه کننده در برنامه غربالگری قبل از ازدواج در جمعیت تهران انجام دادند و فراوانی ناقلین تالاسمی آلفا را محاسبه نمودند (۴). در آن مطالعه از بین ۴۷۹ فرد انتخاب شده به صورت تصادفی، ۹۵ فرد حداقل دارای یک جهش حذفی در ژن آلفاگلوبین بودند و فراوانی جهش‌های حذفی در جمعیت تهران نزدیک به ۱۹/۸۳درصد تعیین شد (۴) که نزدیک به میزان آن در مطالعه حاضر است. در هر دو استان جهش α3.7- دارای بیشترین فراوانی است. در مطالعه زربخش و همکاران (۴) تنها دو کروموزوم از ۹۵۸ کروموزوم بررسی شده دارای جهش حذفی α4.2- بودند؛

در حالی که این جهش حذفی دومین جهش شایع در مطالعه حاضر بوده است. برخلاف استان تهران که جهش دو حذفی Med– در چهار مورد یافت شد؛ در مطالعه حاضر هیچ نوزادی با جهش فوق یافت نشد. در مطالعه ما ۹ فرد با جهش تریپلیکیشن αααanti3.7 یافت شدند؛ در حالی که این موتاسیون در بررسی زربخش و همکاران (۴) مشاهده نشد. با این وجود در مطالعه دیگری در جمعیت تهران فراوانی این جهش (۲/۱۴ درصد) نزدیک به نتایج مطالعه حاضر گزارش شده است (۲۱).

غربالگری خون بند ناف ۴۱۸ نوزاد در امارات متحده عربی نشان داد که ۴۹درصد از نوزادان دارای جهش در ژن آلفاگلوبین هستند (۲۲). در مقایسه با مطالعه حاضر فراوانی ناقلین آلفاتالاسمی در امارات متحده عربی بالاتر بود؛ ولی شایان توجه است که این اختلاف فراوانی ناقلین، بیشتر به خاطر فراوانی بالای جهش α3.7- به میزان ۰/۲۸۴۷ در جمعیت امارات در مقایسه با مطالعه ما به میزان ۰/۰۴۸۵ است. با مقایسه سایر جهش‌ها در دو جامعه مورد بحث، مشخص می‌گردد میزان سایر موارد الزاماً اختلاف چشم‌گیری با یکدیگر ندارند. به عنوان نمونه جهش حذفی α4.2 که دومین جهش شایع در هر دو جمعیت است؛ اتفاقاً دارای فراوانی آللی بالاتری در منطقه است (۰/۰۲۰۶ در مطالعه حاضر در مقایسه با ۰/۰۰۷۲ در امارات).

نتایج مطالعات مشابه در جنوب شرقی آسیا، برزیل و گرجستان نیز نشان می‌دهد جهش حذفی α3.7- بسیار شایع‌تر از سایر جهش‌های موجود در ژن آلفاگلوبین است و این جهش احتمالاً شایع‌ترین جهش ژن آلفاگلوبین در سرتاسر جهان است (۲۲).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد جهش‌های موجود در ژن آلفاگلوبین در منطقه مازندران شایع‌تر از جهش‌های موجود در ژن بتاگلوبین است و این مسأله بایستی در برنامه‌های غربالگری قبل از ازدواج و قبل از تولد در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (۳۹-۹۱) معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران بود و با حمایت مالی آن معاونت به انجام رسید.

بدین‌وسیله از زحمات همه کارکنان بیمارستان امیر مازندرانی شهرستان ساری تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

References

1. Ribeiro DM, Sonati MF. Regulation of human alpha-globin gene expression and alpha-thalassemia. Genet Mol Res. 2008 Oct; 7(4):1045-53.

2. Bernini LF, Harteveld CL. Alpha-thalassaemia. Baillieres Clin Haematol. 1998 Mar; 11(1):53-90.

3. Higgs DR. Gene regulation in hematopoiesis: new lessons from thalassemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2004: 1-13.

4. Zarbakhsh B, Eghbalpour F, Farshadi E, Fallah M, Karimipoor M, Kaeini Moghadam Z, et al. [Frequency of alpha thalassemia carriers detected in Tehran premarriage screening using molecular techniques]. Sci J Iran Blood Transfus Organ. 2013;9(4):414-21. [Article in Persian]

5. Hadavi V, Taromchi AH, Malekpour M, Gholami B, Law HY, Almadani N, et al. Elucidating the spectrum of alpha-thalassemia mutations in Iran. Haematologica. 2007 Jul; 92(7): 992-3.

6. Rosnah B, Rosline H, Zaidah AW, Noor Haslina MN, Marini R, Shafini MY, et al. Detection of common deletional alpha-thalassemia spectrum by molecular technique in kelantan, northeastern malaysia. ISRN Hematol. 2012;2012: 462969. doi: 10.5402/2012/462969

7. Panyasai S, Sringam P, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. A simplified screening for alpha-thalassemia 1 (SEA type) using a combination of a modified osmotic fragility test and a direct PCR on whole blood cell lysates. Acta Haematol. 2002; 108(2):74-8.

8. Langlois S, Ford JC, Chitayat D, Désilets VA, Farrell SA, Geraghty M, et al. Carrier screening for thalassemia and hemoglobinopathies in Canada. J Obstet Gynaecol Can. 2008 Oct; 30(10):950-71. [Article in English, French]

9. Khorasani G, Kosaryan M, Vahidshahi K, Shakeri S, Nasehi MM. Results of the national program for prevention of beta-thalassemia major in the Iranian Province of Mazandaran. Hemoglobin. 2008; 32(3): 263-71. doi: 10.1080/03630260802004269

10. Mahdavi MR, Karami H, Akbari MT, Jalali H, Roshan P. Detection of rare beta globin gene mutation [+22 5UTR(G>A)] in an infant, despite prenatal screening. Case Reports in Hematology. 2013; Article ID 906292. http://dx.doi.org/10.1155/2013/906292

11. Oner R, Agarwal S, Dimovski AJ, Efremov GD, Petkov GH, Altay C, et al. The G----A mutation at position +22 3' to the Cap site of the beta-globin gene as a possible cause for a beta-thalassemia. Hemoglobin. 1991; 15(1-2): 67-76.

12. Oron-Karni V, Filon D, Oppenheim A, Rund D. Rapid detection of the common Mediterranean alpha-globin deletions/rearrangements using PCR. Am J Hematol. 1998 Aug; 58(4): 306-10.

13. Origa R, Moi P, Galanello R, Cao A. Alpha-Thalassemia. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2014. 2005 Nov 01 [updated 2013 Nov 21].

14. Mahdavi MR, Kowsarian M, Karami H, Mohseni A, Vahidshahi K, Roshan P, et al. Prevalence of hemoglobin alpha-chain gene deletion in neonates in North of Iran. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2010 Oct;14(10):871-5.

15. Moosavi SF, Amirian A, Zarbakhsh B, Kordafshari A, Mirzahoseini H, Zeinali S, et al. The carrier frequency of α-globin gene triplication in an Iranian population with normal or borderline hematological parameters. Hemoglobin. 2011;35(4):323-30. doi: 10.3109/03630269.2011.571527

16. Chen M, Han JY, Sun Q, Kim IH, Ren Z, Huang S, et al. [Molecular diagnosis in a Korean family with thalassemia intermedia due to co-inheritance of triplicated alpha-globin genes (alphaalpha/alphaalphaalpha(anti 3.7)) and beta-thalassemia trait (IVS-II-1 G-->A)]. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi. 2000 Apr;

21(4):195-7. [Article in Chinese]

17. Ghotbi N, Tsukatani T. Evaluation of the national health policy of thalassaemia screening in the Islamic Republic of Iran. East Mediterr Health J. 2005 May;11(3):308-18.

18. Valizadeh F, Mousavi A, Hashemi-Soteh MB. [Prevalence of hemoglobinopathies in premarriage individuals referred to Babolsar, Iran (2006-09)]. J Gorgan Uni Med Sci. 2012;14(1): 106-12. [Article in Persian]

19. Tamaddoni A, Hadavi V, Nejad NH, Khosh-Ain A, Siami R, Aghai-Meibodi J, et al. alpha-Thalassemia mutation analyses in Mazandaran province, North Iran. Hemoglobin. 2009;33(2): 115-23. doi: 10.1080/03630260902817297

20. Tamaddoni A, Hadavi V, Nejad NH, Khosh-Ain A, Siami R, Aghai-Meibodi J, et al. alpha-Thalassemia mutation analyses in Mazandaran province, North Iran. Hemoglobin. 2009;33(2): 115-23.

21. Moosavi SF, Amirian A, Zarbakhsh B, Kordafshari A, Mirzahoseini H, Zeinali S, et al. The carrier frequency of α-globingene triplication in an Iranian population with normal or borderline hematological parameters. Hemoglobin. 2011; 35(4):323-30. doi: 10.3109/03630269.2011.571527

22. El-Kalla S, Baysal E. alpha-thalassemia in the United Arab Emirates. Acta Haematol. 1998;100(1):49-53.

Original Paper

Carrier frequency of alpha thalassemia mutations among newborns in northern Iran

Mahdavi MR (Ph.D)[1], Kosaryan M (M.D)[2], Karami H (MD)[3], Mahdavi M (DVM)[4] Jalali H (Ph.D)[5], Roshan P (M.Sc)*[6]

[1]Assistant Professor, Department of Laboratory Medicine, Thalassemia Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. [2]Professor, Department of Pediatrics, Thalassemia Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. [3]Associated Professor of Pediatrics Hematology and Oncology, Thalassemia Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. [4]Doctor in Veterinary Medicine, Sina Mehr Research Center, Sari Iran. [5]Ph.D Candidate in by Research in Thalassemia, Thalassemia Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. [6]M.Sc in Immunology, Sina Mehr Research Center, Sari, Iran.

Abstract

Background and Objective: Alpha Thalassemia is one of the most prevalent hemaglobinophaties worldwide. Alpha thalasseima patients may represent wide spectrum of symptoms ranging from asymptomatic to severe life threatening anemia. This study was done to assess the carrier frequency of alpha globin gene mutations among newborns in north of Iran.

Methods: In this descriptive study, 412 cord blood samples of neonate from Amir Mazandari hospitali were randomly selected during 2012. Genomic DNA was extracted using phenol-chloroform method. Multiplex Gap- PCR and PCR-RFLP methods were applied in order to detect three common gene deletions, one triplication and one point mutation.

Results: Total allelic frequency of investigated mutations was 0.0825. The -α3.7 deletion with allelic frequency of 0.0485 was the most prevalent mutation among 412 neonates. Allelic frequencies of -α4.2, αααanti3.7 triplication and α-5nt mutations were 0.0206, 0.0109 and 0.0024; respectively and -Med double gene deletion was not detected.

Conclusion: Most mutated cases had single gene deletion that is asymptomatic while -Med double gene deletion was not detected among the neonates. Therefore, there is low probability of a child birth with Hb H disorder in the region.

Keywords: Alpha Thalassemia, Alpha globin, Gene Mutation, Newborn, Iran

*** Corresponding Author: Roshan P (M.Sc), E-mail: payam.roshan@gmail.com**

Received 15 Jun 2014 **Revised** 26 Jul 2014 **Accepted** 6 Aug 2014

Cite this article as: Mahdavi MR, Kosaryan M, Karami H, Mahdavi M, Jalali H, Roshan P. [Carrier frequency of alpha thalassemia mutations among newborns in northern Iran]. J Gorgan Uni Med Sci. 2016; 17(4): 106-111. [Article in Persian]