

## ارتباط بین میزان متوسط حجم و هماتوکریت گلبول قرمز و شدت جهش های ژن بتاگلوبین در ناقلان بتاتالاسمی

مریم بهفر: دستیار کودکان، بیمارستان کودکان بهرامی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
محمدعلی احسانی: دانشیار، بیمارستان کودکان بهرامی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
پیمان سلامتی: دانشیار، بیمارستان کودکان بهرامی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
کوروش هلاکوئی نائینی: استاد، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
روح انگیز جمشیدی: استادیار، گروه آمار، دانشکده مدیریت و اطلاع رسانی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران  
پوپک درخشنده پیکر: استادیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
نویسنده رابط: derakhshandeh@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۴/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۸/۲۵

### چکیده

زمینه و هدف: تالاسمی بعنوان یک بیماری هتروژن، یکی از شایعترین بیماری های تک ژنی در دنیا محسوب میشود. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین شاخص های خونی و شدت جهش های ژن بتاگلوبین در ناقلین بتاتالاسمی می باشد. روش کار: در این تحقیق مقطعی، ۳۰ جهش ژن بتاگلوبین در ۱۲۰۶ فرد ناقل بتا تالاسمی غیر منصوب مورد بررسی قرار گرفت. همچنین شاخص های خونی آنها که شامل CBC والکتروفورزمی باشد نیز تهیه گردید. سپس با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS و آزمون آماری T-test ارتباط بین یافته های ژنتیکی و نتایج شاخص های خونی آنان مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج: در این مطالعه ارتباط بین شدت جهش های ژن بتاگلوبین (نوع ضعیف،  $\beta^+$  و نوع شدید،  $\beta^0$ )، در ناقلان بتاتالاسمی و میانگین شاخص های خونی آنان، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دهنده این بود که جهش های  $\beta^+$  از نظر آماری از میانگین MCV و MCH بالاتری نسبت به جهش های  $\beta^0$  برخوردار بود. بدین وسیله می توان با صرف زمان و هزینه کمتری نتیجه مطلوبی در راستای ارتباط آماری معنی دار بین طیف خاصی از شاخص های خونی با برخی از جهش ها دست یافت. نتیجه گیری: نتایج تایید کننده ارتباط معنی دار دو شاخص خونی، با انواع خاصی از جهش های ژن بتاگلوبین در ناقلان بتا تالاسمی می باشد.

واژگان کلیدی: بتاتالاسمی، جهش ژنی، شاخص های خونی، ایران

### مقدمه

۱۰ درصد در استان های مختلف متفاوت است. متوسط میزان تولد نوزادان مبتلا به بتا تالاسمی ۷/۳ در ۱۰۰۰ تولد زنده می باشد (Abolhassani and Eshghi 2004)

فرد مبتلا در طول زندگی وابسته به تزریق مداوم و ماهانه خون و تزریق روزانه دسفرال می باشد. علاوه بر این،

تالاسمی یک بیماری ارثی است که وراثت آن از نوع اتوزوم مغلوب می باشد. این بیماری دارای شیوع زیادی در کشور ماست ولی عمدتاً در نواحی سواحل دریای خزر و خلیج فارس دارای گسترده گی بیشتری می باشد. در ایران به طور متوسط ۴/۵ درصد از جمعیت ناقل بتا تالاسمی هستند و طیف بیماری از اتا

مولکولی روی ژن بتا گلوبین و تعیین جهش ژن مذکور انجام می‌شود.

با توجه به اینکه بیش از ۲۰۰ جهش متفاوت در ژن بتاگلوبین موجب بروز تالاسمی می‌گردد (Sutchiachan et al. 1995). در سالهای اخیر در کشورما نیز، مطالعات مولکولی متعددی جهت شناسایی جهش‌های موجود و فراوانی آنها انجام شده است (Salehi et al. 2007; Rahimi et al. 2010; Hosseinpour Feizi et al. 2008; Derakhshandeh-Peykar et al. 2007; Mahboudi et al. 1996; Habibi Roudkenar et al. 2003; Najmabadi et al. 2001).

در مطالعات قبلی احتمال ارتباط بین نوع جهش ناقلان بتا تالاسمی، و بروز شاخص خونی خاص، بصورت پراکنده بررسی شده است. همگی این تحقیقات براین عقیده بوده‌اند که شدت جهش می‌تواند در تغییر میزان شاخص‌های خونی موثر باشد (Rund et al. 1992; Dimovski et al. 1990; Oner et al. 1990; Petkov et al. 1990).

با توجه به ناهمگونی جمعیت ایرانی از نظر تنوع جهش و قومیت، هر روشی که بتواند در جهت تسریع تعیین جهش ژن بتا گلوبین به یاری متخصصین ژنتیک بشتابد، این محققان را به هدفشان که تشخیص وضعیت ژنتیکی افراد قبل از ازدواج یا قبل از بارداری می‌باشد، نزدیک تر می‌کند. در تحقیق حاضر، فرضیه همبستگی برخی شاخص‌های خونی گلبول‌های قرمز و الگوی هموگلوبین، با شدت جهش ( $\square^+$  و  $\square^0$ ) در ژن بتا گلوبین مطرح می‌شود که در صورت صحت این فرضیه به دو هدف، نزدیک می‌شویم در ابتدا ارتباط بین شاخص‌های خونی با شدت جهش مشخص می‌گردد و در قدم دوم با در دست داشتن شاخص خونی امکان دسترسی سریع تر به نوع جهش تسهیل می‌یابد.

## روش کار

این بررسی به صورت مطالعه مقطعی (Cross sectional) بر روی ۱۲۰۶ ناقل بتا تالاسمی که طی

عوارض مختلف جسمانی، غددی، کبدی، قلبی، استخوانی و غیره نیز در طول درمان بروز می‌کند (Weatheral and Clegg 2001). این بیماری در اثر ازدواج دو فرد ناقل بتا تالاسمی و با احتمال ۲۵ درصد در هر حاملگی به وجود می‌آید. اساس مولکولی این بیماری، جهش و نقض در ساختمان ژن بتاگلوبین است.

یکی از علایم اصلی ناقلان بتا تالاسمی کاهش شاخص‌های خونی گلبول‌های قرمز و بعضاً الگوی هموگلوبین شان است. شاخص‌های خونی گلبول‌های قرمز ناقلان نسبت به افراد سالم به صورت زیر می‌باشد:

میکروستیوز یا کوچک شدن حجم گلبول قرمز (MCV) Mean Corpuscular Volume و هیپوکرومیا یا کم رنگ شدن گلبول قرمز (MCH) Mean Corpuscular Volume پایین بودن نامحسوس تا کم غلظت هموگلوبین (MCHC) Hemoglobin Concentration پایین بودن غلظت هموگلوبین (Hb) Hemoglobin و افزایش تعداد سلولهای قرمز خونی (Red Blood Cell) از طرفی و تغییراتی در میزان الگوی هموگلوبین از جمله پایین بودن هموگلوبین A1 (HbA1) و بالا بودن هموگلوبین A2 (HbA2) و HbF (Weatheral and Clegg 2001; Model and Berdoukas 1984).

از جمله روش‌های پیشگیری بروز مجدد این بیماری، تشخیص پیش از تولد بتا تالاسمی می‌باشد. در بسیاری از کشورها با به کارگیری این روش توانسته‌اند، تعداد بیماران جدید را محدود کنند. با توجه به بروز قابل توجه تالاسمی در ایران، جهت پیشگیری از تولد مبتلای جدید، طی چند سال اخیر غربالگری زوج‌های جوان پیش از ازدواج انجام می‌شود. این بدین معناست که در صورتی که هر یک از آن‌ها مبتلا به تالاسمی خفیف باشند لازم است در زمان بارداری، جنین آنان از لحاظ ابتلا به تالاسمی حاد بررسی شود (Samavat et al. 2004). این کار با نمونه‌گیری از جنین در طی هفته ۹-۱۲ بارداری و بررسی

و در نهایت مطالعه آماری-جهشی روی ۱۱۷۶ ناقل بتا تالاسمی صورت گرفت. در این مطالعه از نرم افزار SPSS موجود در سایت کامپیوتری دانشگاه علوم پزشکی تهران استفاده گردید.

## نتایج

در مطالعه حاضر با استفاده از روش های ژنتیک مولکولی جهش های ژن بتا گلوبین در ۱۲۰۶ ناقل بتا تالاسمی مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع ۳۰ نوع متفاوت جهش در ژن بتا گلوبین ناقلان شناسایی شد که نوع و فراوانی ۱۶ مورد از این جهش ها که از حداقل ۱۰ تکرار در جمعیت مورد مطالعه برخوردار بود در تحقیق حاضر از آنان استفاده گردید (جدول ۱ و ۲). شایع ترین جهش IVSII-1 (۰/۴۰٪) بود و بعد به ترتیب شیوع جهش های Fr8-9 و IVSI-5 (۰/۸٪) قرار داشتند.

از نظر شدت جهش ها در مطالعه ی حاضر، ۱۰۷۷ (۰/۸۹/۳٪) جهش  $\beta^0$  و ۱۲۹ (۰/۱۰/۷٪) جهش  $\beta^+$  شناسایی گردید (بخشی از اطلاعات که در مطالعه آماری مورد نیاز بود در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است).

در این مطالعه به بررسی دو مطالعه مرتبط به هم پرداخته شد: در ابتدا به بررسی ارتباط بین میانگین شاخص های خونی و انواع جهش های بدست آمده اعم از  $\beta^0$  یا  $\beta^+$ ، مورد بررسی قرار گرفت که نتیجه آن بدین صورت بود: میانگین MCV در جمعیت ناقلان مطالعه ما  $4/67 \text{ fl}$   $\pm 64/18$  و در افراد سالم جامعه  $102-82 \text{ fl}$  بود. میانگین MCH در این مطالعه  $2/09 \text{ pg} \pm 21/10$  و در افراد سالم جامعه به میزان  $27-32 \text{ pg}$  بود. میانگین سایر شاخص های خونی در این مطالعه در مقایسه با افراد مرد و سالم جامعه (داخل پرانتز) به ترتیب به شرح زیر بود:

MCHC  $2/00 \pm 70/27$  (۳۱-۳۵ pg) RBC  
 $5/83 \pm 0/62$  ( $10^6 \mu\text{L} \times 6/2-4/3$ ) Hb  $11/89 \pm 1/08$   
 HbA1،  $13/2-16/2 \text{g/dl}$   $93/77 \pm 1/16$  (۹۵-۹۸٪)  
 HbA2  
 HbF  $0/96 \pm 0/10$  (۲-۳٪)،  $1/11 \pm 0/76$  (۰/۸-۲٪).

دوره زمانی ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۹ به مراکز وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران مراجعه کردند، انجام گرفت. برای همه ناقلان شرکت داده شده در این تحقیق، یک فرم اطلاعاتی تشکیل داده شد که شامل سه قسمت اطلاعات شخصی، شاخص های خونی و نتایج بررسی های ژنتیک انجام شده در فرد مذکور بود.

پس از توضیح روند پیشرفت مطالعه به ناقلان و دریافت رضایت نامه و میزان ۵ سی سی خون EDTA دار از آنان استخراج DNA با روش استاندارد پروتئیناز K انجام گرفت (Miller et al. 1988). نمونه های استخراج شده توسط روش Reverse-Dot blot (RDB) برای انواع جهش های شایع و نادر در ایران مورد بررسی قرار گرفت (Maggio et al. 1993). نتایج مثبت، یکبار دیگر توسط روش های ARMS-PCR (Amplification Refractory mutation Sanger et al. 1992; system) یا تعیین توالی (Newton et al. 1989) تایید گردید. همچنین خون محیطی بیماران از جهت بررسی CBC والکتروفورز در یک آزمایشگاه و با روش یکسان به صورت همزمان مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل آماری نتایج بدست آمده، بصورت استفاده از روش T-test جهت مقایسه میانگین هشت شاخص خونی MCHC، MCH، MCV، Hb، CBC، HbA1، HbA2 و HbF، که در ناقلان بتا تالاسمی نسبت به گروه سالم در تغییر می باشند، با انواع جهش های یافت شده نوع  $\beta^0$  و  $\beta^+$  در همان گروه ناقل بتا تالاسمی. برای تعیین تشابه میزان متوسط هر یک از این شاخص های خونی در جهش های مختلف از تحلیل واریانس استفاده شد. با توجه به اینکه روش های تفکیک کننده این تحلیل می تواند در صورت کافی بودن حجم نمونه، بین عملکرد جهش  $\beta^0$  و  $\beta^+$  تفاوت معنی داری قائل شود، از جهش هایی استفاده شد که از حداقل حجم ۱۰ ناقل برای آن جهش در جمعیت مورد مطالعه برخوردار باشد. بدین ترتیب پس از اتمام مطالعه تعیین جهش نمونه ها، از منظور نمودن اطلاعات ۳۰ ناقل تالاسمی با ۱۴ جهش نادر و با فراوانی پائین در داخل طرح صرف نظر شد

گرفت. مطالعات نشاندهنده این بود که همه شاخص های ذکر شده بصورت کم یا زیاد با جهش های متفاوت بتا گلوبین در تغییر بودند که این در راستای مطالعات قبلی بوده است (Weatheral and Clegg 2001).

در مقایسه ای که بین میزان میانگین شاخص های آماری اندازه گیری شده بالا در ناقلان با جهش  $\beta^0$  با بقیه ناقلان با نوع جهش  $\beta^+$  به عمل آمد، مشخص گردید میانگین دو شاخص خونی MCV و MCH از نظر آماری بطور معنی دار در رابطه با انواع جهش  $\beta^0$  در مقابل  $\beta^+$  در جمعیت مورد مطالعه در تغییر بودند. این مطالعه با حجم ۱۱۷۶ نمونه ناقل بتا تالاسمی اولین گزارشی است که بصورت معنی دار ارتباط جهش های  $\beta^0$  را نسبت به جهش های  $\beta^+$  را با کاهش بیشتر میانگین MCV و MCH اعلام می نماید ( $p < 0/001$ ).

با توجه به اینکه در مطالعات قبلی با حجم نمونه کمتر مشخص نموده بودند که جهش های متفاوت  $\beta^+$  نسبت به جهش های  $\beta^0$  معمولاً از مقدار بالاتر MCV برخوردار بودند مطالعه حاضر در جهت تکمیل مطالعات قبلی و نیز در راستای آنان می تواند قلمداد بشود (Rund et al. 1992; Rosatelli et al. 1989). در کنار شدت جهش، سایر موارد تداخل کننده باعث تغییر میزان شاخص های خونی میگردد. یکی از مهمترین این تغییر دهنده ها اثر متقابل جهش های تالاسمی آلفا می باشد. همانطور که می دانیم جهش های آلفا تالاسمی همراه با بتا تالاسمی در یک فرد ناقل به علت جبران کمبود نسبت زنجیره آلفا به بتا باعث کاهش علائم بتا تالاسمی ناقل به خصوص از جهت مقادیر شاخص های خونی MCV و MCH می گردد (Weatheral and Clegg 2002). به رغم این که ناقلان این مطالعه حدالامکان از نظر فنوتیپ (بررسی شاخص های خونی والدینشان برای ناقل بودن آلفا تالاسمی) مورد بررسی اولیه قرار گرفته بودند، این بررسی فنوتیپی هرگز جایگزین بررسی های ژنتیکی جهت یافتن جهش های نقطه ای یا حذف های

نتایج این بخش از مطالعه که همانند تحقیقات پیشین همه شاخص های بالا بصورت کم یا بیش با شدت جهش های متفاوت بتا گلوبین در تغییر می باشند.

بدین سبب، جهت مشخص شدن تفاوت تاثیر شدت جهش  $\beta^0$  در مقایسه با  $\beta^+$  بر روی تغییر میزان میانگین شاخص های خونی، میزان شاخص های آماری اندازه گیری شده در ناقلان با نوع جهش  $\beta^0$  را با بقیه ناقلان با نوع جهش  $\beta^+$  را باهمدیگر مقایسه شد. در جدول ۳ در دو ستون مجزا از هم، ارزش دار بودن تفاوت تغییر میزان هر یک از شاخص های خونی بیماران با جهش های یافت شده  $\beta^0$  و  $\beta^+$ ، بطور مستقل از هم مورد بررسی قرار گرفتند. در این جدول P value محاسبه شده، مربوط به جهش های  $\beta^0$  و  $\beta^+$  با یکدیگرمقایسه شده اند.

در این مقایسه میزان میانگین دو شاخص خونی MCV و MCH، از نظر آماری بطور معنی دار در رابطه با شدت جهش  $\beta^0$  در مقابل  $\beta^+$  در جمعیت مورد مطالعه در تغییر بود. این تغییر بدین صورت بود که ناقلان با جهش های  $\beta^0$  از نظر آماری نسبت به ناقلان با جهش های  $\beta^+$  از میانگین MCV و MCH کم تری برخوردار بودند ( $p < 0/001$ ). این در حالی است که ارتباط بین شدت جهش ( $\beta^0$  و  $\beta^+$ ) و میانگین شاخص های خونی دیگر معنی دار نبود.

## بحث

در مطالعه ی حاضر شایع ترین جهش در ژن بتا گلوبین IVSII-1 با فراوانی ۴۰٪ در کل بود. این داده با سایر یافته های قبلی که در جمعیت ایرانی انجام گرفته بود هم خوانی دارد (Derakhshandeh-Peykar et al. 2007; Najmabadi et al. 2001).

در کل ارتباط بین ۱۶ جهش مورد تحقیق در این بررسی اعم از شدید ( $\beta^0$ ) تا ضعیف ( $\beta^+$ ) با شیوع حداقل ۱۰ و حداکثر ۴۸۳ ناقل (با فراوانی ۱ تا ۴۰ درصد) با میانگین هشت شاخص خونی MCH، MCV، MCHC، Hb، HbA1، HbF، CBC و HbA2 مورد بررسی قرار

تشخیص داده شده اند و تشخیص پیش از تولد در مورد آنان صورت نگرفته است.

همچنین می توان به تعیین سریعتر، دقیق تر و کم هزینه تر نوع جهش برای زوجین ناقل بتا تالاسمی مراجعه کننده به مراکز ژنتیکی در مراحل پیش و در زمان بارداری دست یافت.

### تشکر و قدردانی

نگارندگان این مقاله از کلیه ناقلان بتا تالاسمی شرکت کننده در این طرح کمال سپاسگزاری را دارند. همچنان از حمایت مالی دانشکده بهداشت - دانشگاه علوم پزشکی تهران از طرح پژوهشی (۷۳۷۰) تشکر می نمایند

بزرگ که در جمعیت ناقل کشورمان به چشم می خورد، نمی گردد (Ebrahimzadeh Vesal et al. 2009)

در مجموع، در این بررسی اثر احتمالی جهش های ژن آلفا گلوبین را همراه با بتا گلوبین، در این جمعیت نسبتاً زیاد نمی توان نادیده گرفت.

این امر می تواند دلیلی باشد که توسط آن بتوان عدم تعیین حد مشخص MCV (Cut Point) در مطالعه حاضر را با مطالعه Rund و همکارانش در رابطه با نوع جهش ها توجیه نمود (Rund et al. 1992). در مطالعه Rund و همکارانش برای MCV بیماران در رابطه با شدت جهش های  $\beta^+$  و  $\beta^0$  حد مشخصی تعیین شده بود (۶۷ fl). اما در مطالعه ما به علت حجم نمونه بالا و گستردگی مقادیر MCV در این دو گروه امکان تعیین Cut حد مشخص برای MCV و MCH وجود نداشت.

### نتیجه گیری

در این مطالعه میزان میانگین دو شاخص خونی MCV و MCH، از نظر آماری بطور معنی دار در رابطه با شدت جهش ( $\beta^0/\beta^+$ ) در جمعیت مورد مطالعه در تغییر بود. این تغییر بدین صورت بود که ناقلان با جهش های  $\beta^0$  از نظر آماری نسبت به ناقلان با جهش های  $\beta^+$  از میانگین MCV و MCH کم تری برخوردار بودند ( $p < 0/001$ ). این در حالیست که ارتباط بین شدت جهش ( $\beta^0/\beta^+$ ) و میانگین شاخص های خونی دیگر معنی دار نبود.

با توجه به مطالعه انجام شده، ارتباط معنی دار بین شدت جهش ها و اندکس های خونی، می تواند به عنوان یک راهنما جهت تشخیص افتراقی ناقلان بتا تالاسمی با شاخص های خونی نسبتاً نرمال، از ناقلان آلفا تالاسمی مورد توجه قرار گیرد. بدین ترتیب می توان از تولد مجدد مبتلایان به بتا تالاسمی حادی جلوگیری کرد که والدین ناقل آنان حامل شاخص های خونی ضعیف تا نزدیک به نرمال بوده ولی متأسفانه در زمان مشاوره ژنتیک به علت عدم دقت به این نکته، بعنوان آلفا تالاسمی یا نرمال

جدول ۱- توزیع فراوانی، نوع جهش ها و میانگین شاخص خونی MCV در ناقلان بتا تالاسمی خفیف

ردیف	جهش	نوع موتاسیون	تعداد	فراوانی (%)	حداقل MCV	حداکثر MCV	میانگین MCV	انحراف معیار
۱	IVSII-1	$\beta^{\circ}$	۴۸۳	۴۰	۵۱	۷۷/۳	۶۳/۵۷	۴/۰۷
۲	Fr8-9	$\beta^{\circ}$	۱۰۴	۸/۶	۵۱	۷۲/۶	۶۳/۶۸	۳/۹۷
۳	Fr36-37	$\beta^{\circ}$	۸۲	۶/۸	۵۶	۸۱/۲	۶۴/۲۲	۴/۵۶
۴	C30	$\beta^{\circ}$	۶۶	۵/۵	۵۷	۷۶/۲	۶۴/۷۵	۴/۳۲
۵	IVSI-1	$\beta^{\circ}$	۴۳	۳/۶	۶۴	۸۰	۶۸/۴۱	۳/۱۴
۶	C44	$\beta^{\circ}$	۴۰	۳/۳	۵۷	۷۶/۶	۶۲/۲۴	۴/۱۴
۷	IVSI-25	$\beta^{\circ}$	۳۶	۳	۵۸	۷۵	۶۴/۲۶	۳/۲۵
۸	C5	$\beta^{\circ}$	۲۶	۲/۲	۵۶	۷۹/۸	۶۲/۸۲	۶/۲۴
۹	C39	$\beta^{\circ}$	۲۲	۱/۸	۵۴	۷۹/۶	۶۳/۲۳	۶/۷۹
۱۰	C22	$\beta^{\circ}$	۲۲	۱/۸	۵۳	۶۴/۷	۶۰/۷۸	۳/۱۹
۱۱	C8	$\beta^{\circ}$	۱۲	۱	۶۲/۹	۷۹	۷۱/۰۹	۵/۴۵
۱۲	C15	$\beta^{\circ}$	۱۷	۱/۵	۶۵/۵	۶۸	۶۱/۵۳	۳/۵۸
۱۳	IVSI-5	$\beta^{+}$	۱۰۴	۸/۶	۵۲/۴	۷۷/۷	۶۴/۴۸	۴/۳۷
۱۴	IVSI-110	$\beta^{+}$	۷۰	۵/۸	۵۶	۸۲/۴	۶۳/۸۳	۴/۱۵
۱۵	IVSI-6	$\beta^{+}$	۲۸	۲/۳	۶۳	۸۰/۴	۷۱/۴۷	۵/۳۱
۱۶	IVSII-745	$\beta^{+}$	۲۱	۱/۷	۵۷	۸۱/۳	۶۴/۲۳	۵/۹۵
۱۷*	۱۴ جهش مختلف	$\beta^{+}/\beta^{\circ}$	۳۰	۲/۵	-	-	-	-
	Mutations							
	مجموع		۱۲۰۶	۱۰۰				

\* در این ردیف نوع و فراوانی ۱۴ جهش و اطلاعات مربوط به شاخص های خونی آنان بعلاوه حجم کم نمونه و عدم بررسی آماری نشان داده نشده است.

جدول ۲- توزیع فراوانی، نوع جهش ها و میانگین شاخص خونی MCH در ناقلان بتا تالاسمی خفیف

ردیف	جهش	نوع موتاسیون	درصد فراوانی	حداقل MCV	حداکثر MCV	میانگین MCV	انحراف معیار
۱	C15	$\beta^{\circ}$	۱۷	۱۸/۴	۲۴	۲۰/۴۰	۱/۹۱
۲	C22	$\beta^{\circ}$	۲۲	۱۸/۵	۲۷/۷	۲۰/۹۰	۲/۵۶
۳	C30	$\beta^{\circ}$	۶۱	۱۸/۶	۲۷	۲۱/۲۹	۲/۰۷
۴	C39	$\beta^{\circ}$	۲۲	۱۸/۶	۲۶	۲۱/۶۸	۲/۲۰
۵	C44	$\beta^{\circ}$	۳۸	۱۸/۴	۲۵/۳	۲۰/۵۲	۱/۸۲
۶	C5	$\beta^{\circ}$	۲۵	۱۸/۵	۲۸/۲	۲۱/۴۹	۲/۱۸
۷	C8	$\beta^{\circ}$	۱۲	۱۹/۸	۲۷/۲	۲۳/۹۰	۲/۱۳
۸	Fr 36-37	$\beta^{\circ}$	۷۹	۱۸/۲	۲۷/۱	۲۱/۱۶	۲/۱۳
۹	Fr 8-9	$\beta^{\circ}$	۱۰۱	۱۸/۲	۲۷/۳	۲۰/۷۲	۱/۸۲
۱۰	IVSI-1	$\beta^{\circ}$	۴۳	۱۸/۳	۲۷/۸	۲۱/۴۸	۲/۵۴
۱۱	IVSII-1	$\beta^{\circ}$	۴۸۳	۱۸/۲	۲۸/۴	۲۰/۷۹	۱/۷۹
۱۲	IVSI-25	$\beta^{\circ}$	۳۶	۱۸/۲	۲۸	۲۱/۸۶	۲/۵۹
۱۳	IVSII-110	$\beta^{+}$	۷۰	۱۸/۴	۲۷/۹	۲۱	۲/۱۴
۱۴	IVSI-5	$\beta^{+}$	۱۰۴	۱۸/۲	۲۸/۶	۲۱/۳۳	۲/۲۶
۱۵	IVSI-6	$\beta^{+}$	۲۸	۱۸/۸	۲۸/۹	۲۳/۴۲	۲/۷۶
۱۶	IVSII-745	$\beta^{+}$	۲۱	۱۸/۵	۲۶/۱	۲۱/۸۴	۲/۱۴
۱۷*	۱۴ جهش		۲/۵	-	-	-	-
مجموع			۱۰۰			۱۲۰/۶	

جدول ۳- شاخص های آماری اندازه گیری شده در ناقلان بتا تالاسمی در رابطه با جهش های  $\beta^+$  و  $\beta^0$  آنان

P value**	$\beta^+$			$\beta^0$			شاخص های خونی
	میانگین $\pm$ انحراف	بیشترین	کمترین	میانگین $\pm$ انحراف معیار	بیشترین	کمترین	
<۰/۰۰۱	۶۵/۴ $\pm$ ۵/۳	۸۲/۴	۵۲/۴	۶۳/۹ $\pm$ ۴/۵	۸۱/۲	۵۱	MCV*
<۰/۰۰۱	۲۱/۶ $\pm$ ۲/۴	۲۸/۹	۱۸/۲	۲۱ $\pm$ ۲/۰	۲۸/۴	۱۸/۲	MCH**
۰/۸۷۳	۳۱/۶ $\pm$ ۱/۰	۳۴	۲۹	۳۱/۶ $\pm$ ۱/۱	۳۴	۲۹	MCHC
۰/۳۵۹	۵/۹ $\pm$ ۰/۶	۷/۰۱	۴/۱۵	۵/۸ $\pm$ ۰/۶	۷/۲۳	۴	RBC
۰/۶۷۰	۱۲/۳ $\pm$ ۰/۹۶	۱۴/۱	۸/۲	۱۲/۳ $\pm$ ۰/۹۸	۱۴/۱	۸/۷	(Male) Hb
۰/۱۳۰	۱۱/۶ $\pm$ ۱/۰	۱۴	۹/۵	۱۱/۴ $\pm$ ۱/۰	۱۴	۸/۰۸	(Female) Hb
۰/۰۱۰	۹۴/۰ $\pm$ ۱/۱	۹۶/۸	۹۰/۱	۹۳/۷ $\pm$ ۱/۲	۹۶/۸	۹۰/۱	HbA
۰/۰۱۰	۴/۹ $\pm$ ۰/۹۵	۸/۲	۲/۵	۵/۲۱ $\pm$ ۰/۹	۸/۲	۲/۵	HbA2
۰/۰۱۰	۱/۱ $\pm$ ۰/۸	۴/۵	۰/۰	۱/۱ $\pm$ ۰/۷	۴	۰/۰	HbF

\* شاخص های خونی مشخص شده از نظر آماری با ارزش می باشند.

\*\* P value محاسبه شده، مربوط به تمامی جهش ها اعم از  $\beta^+$  و  $\beta^0$ ، در ارتباط با نوع شاخص های خونی مربوطه می باشد.

## References

- Abolhassani, H. and Eshghi, P., 2004. Thalassaemia comprehensive book. Blood and Cancer Society of Iran. *University of Medical Sciences Baqhiyatallah (Aj)*, Tehran, pp. 18-19 [In Persian].
- Derakhshandeh-Peykar, P., Akhavan-Niaki, H., Tamaddoni, A., Ghawidel-Parsa, S., Naieni, K.H., Rahmani, M., Babrzadeh, F., Dilmaghani-Zadeh and M. and Farhud D.D., 2007. Distribution of beta-thalassaemia mutations in the northern provinces of Iran. *Hemoglobin*. **31**(3), pp. 351-6.
- Dimovski, A., Efremov, D.G., Jankovic, L., Juricic, D., Zisovski, N., Stojanovski, N., Nikolov, N., Petkov, G.T., Reese, A.L. and Stoming, T.A., 1990. *Beta-thalassaemia in Yugoslavia*. *Hemoglobin*. **14**(1), pp. 15-24.
- Ebrahimzadeh vesal, R., Shahgholi, E. and Derakhshandeh Peykar, P., 2009. Correlation between CBC Indexes and type of the gene mutations in alpha thalassaemia carrier, *Journal School Public Health Institute Health Research*, **7** (2), pp.15-23 [In Persian].
- Habibi Roudkenar, M., Najmabadi, H., Derakhshandeh-Peykar, P. and Farhud, D.D., 2003. Detection of Rare and Unknown Mutations in  $\beta$ -thalassaemia Traits in Iran. *Iran J. Publ. Health*, **32**(1), pp. 11-14.
- Hosseinpour Feizi M.A., Hosseinpour Feizi A.A., Pouladi N., Hagi M. and Azarfam P., 2008. Molecular spectrum of beta-thalassaemia mutations in Northwestern Iran. *Hemoglobin*. **32**(3), pp. 255-61.
- Maggio, A., Giambona, A., Cai, S.P., Wall, J., Kan, Y.W. and Chehab, F.F., 1993. Rapid and simultaneous typing of Hemoglobin S, Hemoglobin C, and seven Mediterranean  $\beta$ -thalassaemia mutations by covalent reverse dot-blot analysis: application to prenatal diagnosis in Sicily. *Blood*. **8**(1), pp. 239-242.
- Mahboudi, F., Zeinali, S., Merat, A., Delmaghani, S., Mostafavipour, K.,



- Moghaddam, Z. and Haghshenas, M., 1996. The molecular basis of beta thalassemia in Fars province. *Iranian Journal Medical Science*. **21** (3&4), pp. 99-104.
- Miller, S.A., Dykes, D.D. and Polesky, H.F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleotide cells. *Nucleic Acids Res.* pp. **16**(3), pp. 1215.
- Model, B. and Berdoukas V., 1984. *The clinical approach to thalassemia*, Grune and Startton, Philadelphia, PA.
- Najmabadi, H., Pourfathollah, A.A., Nejshabury, M., sahebjam, F., Krugluger, W. and Oberkanis, C., 2002. Rare and unexpected mutations among Iranian B-thalassemia patients and prenatal samples discovered by reverse-hybridization and DNA sequencing. *Haematologica*. **87**(10), pp. 1113–1114.
- Najmabadi, H., Karimi-Nejad, R., Sahebjam, S., Pourfarzad, F., Teimourian, S., Sahebjam, F., Amirizadeh, N. and Karimi-Nejad, M.H., 2001. The  $\beta$ -thalassemia mutation spectrum in the Iranian population. *Hemoglobin*. **25**(3), pp. 285–296.
- Newton, C.R., Graham, A., Heptinstall, L.E., Powell, S.J., Summers, C., Kalsheker, N., Smith, J.C. and Markham, A.F., 1989. Analysis of any point mutation in DNA; the amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Research*. **17**(7), pp. 2503.
- Oner, R., Altay, C., Gurgey, A., Aksoy, M., Kiliç, Y., Stoming, T.A., Reese, A.L., Kutlar, A., Kutlar, F. and Huisman, T.H., 1990. Beta-thalassemia in Turkey. *Hemoglobin*. **14**(1), pp. 1-13.
- Petkov, G.H., Efremov, G.D., Efremov, D.G., Dimovski, A., Tchaicarova, P., Tchaicarov, R., Rogina, B., Agarwal, S., Kutlar, A. and Kutlar, F., 1990. Beta-thalassemia in Bulgaria. *Hemoglobin*. **14**(1), pp. 25-33.
- Rahimi, Z., Muniz, A. and Parsian, A., 2010. Detection of responsible mutations for beta thalassemia in the Kermanshah province of Iran using PCR-based techniques. *Molecular Biology Report*. **37**(1), pp. 149-54.
- Rosatelli, M.C., Oggiano, L., Leoni, G.B., Tuveri, T., Di Tucci, A., Scalas, M.T., Dore, F., Pistidda, P., Massa, A., Longinotti, M. and Cao, A., 1989. Thalassemia intermedia resulting from a mild beta-thalassemia mutation. *Blood* **73**(2), pp. 601-5.
- Rund, D., Filon, D., Strauss, N., Rachmilewitz, E.A. and Oppenheim, A., 1992. Mean corpuscular volume of heterozygotes for beta-thalassemia correlates with the severity of mutations. *Blood*. **79**(1), pp. 238-43.
- Salehi, R., Fisher, C.A., Bignell, P.A., Eslami, G., Old, J.M., 2001. Identification of three novel mutations [-41 (A>C), codon 24 (-G), and IVS-I-109 (-T)], in a study of  $\beta$ -thalassemia alleles in the Isfahan region of Iran. *Hemoglobin*. **34**(1), pp. 115-20.
- Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A.R., 1992. DNA Sequencing with chain\_terminating inhibitors. *Biotechnology*. **24**(2), pp.104-8.
- Samavat, A. and Modell, B., Iranian National Thalassaemia screening program. *British Medical Journal*. **329**(7475), pp. 1134–1137.
- Sutchiachan, P., Saiki, R., Huisman, T.H.J., Kuttar, A., McKie, V., Erlich, H. and Embury, S.H., 1995. Reverse dot blot detection of the African American B-thalassemia mutation. *Blood*, **86** (4), pp. 1580-5.
- Weatherall, D.J. and Clegg, J.B., 1996. Thalassemia a global public health problem. *Nauret Medicine*, **2**(8), pp. 847-9.
- Weatherall, D.J. and Clegg, J.B., 2001. *The Thalassemia syndromes*. Blackwell Scientific, Oxford, England.

## Associations of red blood corpuscle mean volume and hematocrit with severity of beta-globin gene mutations in beta-thalassemia carriers

*Behfar M., MD.* Resident in pediatrics, Bahrami Hospital, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Ehsani M.A., MD.* Associated Professor, Bahrami Hospital, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Salamati P., MD.* Associated Professor, Bahrami Hospital, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Holakouie Naieni K., Ph.D.* Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Jamshidi R., Ph.D.* Assistant Professor, Department of Statistics, Faculty of Management, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Derakhshandeh-Peykar, P., Ph.D.* Assistant Professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran- Corresponding author: [derakhshandeh@tums.ac.ir](mailto:derakhshandeh@tums.ac.ir)

Received: Jul 3, 2010

Accepted: Nov 16, 2010

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Thalassemia, a heterogeneous disease, is one of the most common single-gene diseases worldwide. The aim of this study was to find associations between hematological indices and severity of beta-globin gene mutations in beta-thalassemia carriers.

**Materials and Methods:** In this cross-sectional study, 30 beta-globin gene mutations ( $\beta^+$  and  $\beta^0$ ) in 1206 unrelated beta-thalassemia carriers were investigated. In addition, their hematological indices, including CBC and electrophoresis results, were determined. The association between genetic findings and hematological parameters (mean corpuscular volume (MCV) and mean hematocrit corpuscular hematocrit (MCH)) were determined using the SPSS software, the statistical test being the t-test.

**Results:** The results indicated that  $\beta^+$ -thalassemia carriers had higher MCV and MCH means than  $\beta^0$ -thalassemia carriers. These findings would certainly have practical implications in public health.

**Conclusion:** The results show a significant correlation between two hematological indices and certain types of mutations in beta-thalassemia carriers.

**Key words:** beta-thalassemia, gene mutation, hematological indices, Iran