Original Article

Evaluation of common mutations in β-thalassemia patients in Iranian populations using SNaPshot method

Mehrzad S[1], Keshtmand Z[1*]

Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 2019/07/15 | Accepted: 2020/05/5

Abstract:

Background: Beta-thalassemia, with over 2 million carriers of β-thalassemia, is one of the most common genetic diseases in Iran. Identification of beta-globin gene mutations is necessary for a specific diagnostic and management program, such as prepartum diagnosis of β-thalassemia. This study aimed to investigate common mutations in β-thalassemia patients in Iranian populations using the SNaPshot method.

Material and Methods: In this descriptive study, 10 cc venous blood sample with EDTA were collected from 20 patients of medical genetics laboratory in Tehran and Ahvaz who were identified in the marriage-screening plan and after obtaining written consent and completing the questionnaire. Then, DNA was extracted by boiling method and SNaPshot method was used to determine mutations. Finally, data were analyzed with geen maper software.

Result: In this study, frequency of common beta-thalassemia mutations showed that IVS II-1/30% was the most common mutation of Fsc8-9 (20%), Fsc36-37 (15%), IVS I -5 (10%) and IVS II mutations (5%).

Conclusion: The results of the study indicate that the difference in prevalence between the present study and other studies could be due to the scattered statistical population and fewer samples taken because this study focuses more on the efficacy of SNaPshot technique in diagnosis.

Keywords: Thalassemia, SNaPshot, Beta-globin gene

***Corresponding Author:**
Email: zkeshtmand2001@gmail.com
Tel: 0098 918 734 0515
Fax: 0098 214 600 187

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2020; Vol. 24, No 2, Pages 219-226

Please cite this article as: Mehrzad S, Keshtmand Z. Evaluation of common mutations in β-thalassemia patients in Iranian populations using SNaPshot method. ***Feyz*** 2020; 24(2): 219-6.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

بررسی جهش‌های شایع در بیماران بتاتالاسمی در جمعیت‌های ایرانی با روش SNaPshot

سپیده مهرزاد[۱]، زهرا کشتمند[*۱]

خلاصه:

سابقه و هدف: بتاتالاسمی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های ژنتیکی در ایران است و بیش از دو میلیون حامل بتاتالاسمی در ایران وجود دارد. شناسایی جهش‌های ژن بتاگلوبین برای برنامه‌ای تشخیصی و مدیریتی معین، مانند تشخیص پیش از زایمان بیماری بتاتالاسمی ضروری است. هدف از این مطالعه، بررسی جهش‌های شایع در بیماران بتاتالاسمی در جمعیت‌های ایرانی با روش SNaPshot است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی، از ۲۰ بیمار آزمایشگاه ژنتیک پزشکی در تهران و اهواز که در طرح غربالگری ازدواج شناسایی شده بودند، پس از اخذ رضایت کتبی و تکمیل پرسشنامه، ۱۰ سی‌سی نمونه خون وریدی همراه با ماده ضدانعقاد EDTA جمع‌آوری شد. سپس برای استخراج DNA از روش boiling و برای تعیین جهش‌ها از روش SNaPshot استفاده شد. در نهایت داده‌ها با نرم‌افزار geen maper مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج: در این مطالعه، فراوانی جهش‌های شایع بتاتالاسمی نشان داد که جهش IVS II-۱ به میزان ۳۰ درصد شایع‌ترین و جهش‌های شایع دیگر جهش Fsc8-9 (۲۰ درصد)، Fsc36-37 (۱۵ درصد)، IVS I-5 (۱۰ درصد) و IVS I-I (۵ درصد) می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از مطالعه نشان می‌دهد که تفاوت در شیوع، بین مطالعه حاضر و دیگر مطالعات می‌تواند به‌دلیل جامعه آماری پراکنده و تعداد کمتر نمونه‌های گرفته‌شده باشد. زیرا این مطالعه با تمرکز بیشتر بر روی کارآیی تکنیک SNaPshot در تشخیص جهش‌ها انجام شده است.

واژگان کلیدی: تالاسمی، SNaPshot، ژن بتاگلوبین

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۲، خرداد و تیر۱۳۹۹، صفحات ۲۲۶-۲۱۹

مقدمه

تالاسمی یکی از مهم‌ترین علل کم‌خونی‌های ارثی با وراثت اتوزوم و یکی از شایع‌ترین اختلالات ژنتیکی در انسان می‌باشد که موجب کاهش یا عدم تولید زنجیره بتاگلوبین در بدن می‌شود [۱]. این بیماری در سراسر جهان و در همه نژادها دیده می‌شود، ولی شیوع آن در نواحی مدیترانه، خاورمیانه و آسیای شرقی بیشتر بوده، از جنوب غربی اروپا تا خاور دور امتداد می‌یابد و در نواحی وسیعی از آفریقای مرکزی نیز وجود دارد [۲]. در بین جهش‌های مختلف در ژن بتاگلوبین، جهش IVS II-1 (G>A) به‌عنوان شایع‌ترین واریان در مناطق مختلف ایران مطرح می‌باشد [۴،۳].

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**

گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تلفن: ۰۹۱۸۷۳۴۰۵۱۵ **دورنویس:** ۰۲۱۴۴۶۰۰۱۸۷

پست الکترونیک: zkeshtmand2001@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۲۴ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۹/۲/۱۶

تاکنون بیش از ۲۰۰ نوع جهش مؤثر بر ژن بتاگلوبین شناسایی شده است که موجب بروز فنوتیپ بتاتالاسمی می‌شوند و بیش از ۹۵ درصد کلّ جهش‌ها، از نوع جهش‌های نقطه‌ای در ژن بتاگلوبین و درصد کمی نیز از نوع حذف ژنی می‌باشند [۵]. افراد مبتلا به تالاسمی را با ارزیابی ارزش HB%، MCV و MCH می‌توان شناسایی کرد. در این بیماران، از شناسایی جهش برای تأیید تشخیص استفاده می‌شود؛ البته، چندین روش تشخیص مولکولی در این مورد به‌کار گرفته شده است. از جمله: هیبریداسیون ریورس دات بلات [۵] و Multiplex PCR، PCR-RFLP، PCR-ARMS تعیین توالی DNA [۷،۶]. به همین دلیل وجود تکنیک‌های غربالگری می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد. تکنیک غربالگری جهش، شامل: شکست شیمیایی ناجوربازی، انگشت‌نگاری دی داکسوالکتروفورز ژل با شیب دمایی و Multiplex-PCR می‌باشد که از میان این تکنیک‌ها، Multiplex-PCR مزیت‌های زیادی از جمله: سرعت، دقت بالا و کم‌هزینه بودن را دارد؛ بنابراین برای کشورهای کم‌درآمدی همچون ایران بسیار به‌صرفه می‌باشد. همچنین این روش جهت تشخیص ناقلان و تشخیص قبل از تولد از اهمیت خاصّی برخوردار است. جلوگیری از این بیماری، نیازمند بررسی همه‌جانبه جهش‌های مختلف مولکولی در جمعیت‌های گوناگون به‌خصوص با احتمال شیوع بالا می‌باشد. سادگی و جامعیت این

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

روش به‌طور قابل توجهی هزینه و پیچیدگی غربالگری را برای حذف‌های شایع بتاتالاسمی کاهش می‌دهد [۸]. از این‌رو هدف از این مطالعه، بررسی جهش‌های شایع در بیماران بتاتالاسمی در جمعیت‌های ایرانی با روش SNaPshot است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

در این مطالعه توصیفی، تعداد ۱۰ زوج با میانگین سنی ۲۷ سال طی سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ وارد مطالعه شدند. جامعه آماری، زوج‌های ناقل تالاسمی بودند که مطابق دستورالعمل کشوری، در غربالگری ازدواج شناسایی شدند که به‌عنوان جمعیت پرخطر از لحاظ افزایش آماری مبتلایان به تالاسمی ماژور، در بین مراجعان به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی در تهران و اهواز مطرح بودند. ابتدا پرسش‌نامه طراحی و توسط افراد موردمطالعه تکمیل شد. این پرسش‌نامه حاوی اطلاعات دموگرافیک فرد و بخش رضایت کتبی برای دریافت نمونه خون بود. در مرحله بعد، پس از بررسی پرونده‌های بهداشتی موجود، اطلاعات آزمایشگاهی افراد که شامل: MCV (Mean Corposcular Volume) و میانگین هموگلوبین A2 بود، استخراج شد و انتخاب زوجین صورت گرفت. میانگین MCV در ناقلان مورد مطالعه ۶۴/۵±۴ و میزان هموگلوبین A2، ۴/۵±۱/۲ بود. اطلاعات در مورد ویژگی دموگرافیک بیماران، الگوی تعداد سلول‌های خونی و میزان هموگلوبین آن‌ها در جدول شماره ۱ ارائه شده است. پس از اخذ رضایت کتبی و تکمیل پرسشنامه، از هر یک از افراد، ۱۰ سی‌سی نمونه خون وریدی همراه با ماده ضدانعقاد EDTA جمع‌آوری شد.

جدول شماره ۱- ویژگی‌های دموگرافیک، جهش عامل، وضعیت ناقلی و الگوی شمارش سلول‌های خونی - میزان هموگلوبین بیماران

ردیف	جنس	سن	وضعیت CBC, Hb	وضعیت ناقلی	نوع جهش
۱	مرد	۳۱	Abnormal pattern	ناقل	IVSI-5 (G>C)(+)
۲	زن	۲۷	Abnormal pattern	ناقل	IVSI-5 (G>C)(+)
۳	مرد	۳۱	Abnormal pattern	نرمال	N / N
۴	زن	۲۹	Abnormal pattern	ناقل	IVSII-1G>A / N
۵	مرد	۳۴	Abnormal pattern	ناقل	Fr36-37(-T)(T>G)(+)
۶	زن	۲۷	Abnormal pattern	نرمال	N / N
۷	مرد	۳۳	Abnormal pattern	ناقل	IVSII-1G>A / N
۸	زن	۲۷	Abnormal pattern	ناقل	IVSII-1G>A / N
۹	مرد	۳۲	Abnormal pattern	ناقل	IVSI-I G>A / N
۱۰	زن	۲۳	Abnormal pattern	نرمال	N / N
۱۱	مرد	۳۱	Abnormal pattern	ناقل	Fsc8-9(+G) / N
۱۲	زن	۲۱	Abnormal pattern	ناقل	Fsc8-9(+G) / N
۱۳	مرد	۲۱	Abnormal pattern	ناقل	Fsc8-9(+G) / N
۱۴	زن	۱۷	Abnormal pattern	ناقل	Fsc8-9(+G) / N
۱۵	مرد	۲۸	Abnormal pattern	ناقل	IVSII-1(G>A)/N
۱۶	زن	۲۳	Abnormal pattern	ناقل	Fr36-37(-T)(T>G)(+)
۱۷	مرد	۳۵	Abnormal pattern	ناقل	IVSII-1(G>A)/N
۱۸	زن	۳۱	Abnormal pattern	نرمال	N / N
۱۹	مرد	۲۴	Abnormal pattern	ناقل	IVSII-1G>A / N
۲۰	زن	۲۰	Abnormal pattern	ناقل	Fr36-37(-T)(T>G)(+)

استخراج DNA:

ابتدا شرایط مطلوب آزمایش برای ۵ جهش با طراحی پرایمر و خرید آن‌ها انجام شد (جدول شماره ۱). بهینه کردن شرایط PCR شامل اختصاصی بودن باند و اختصاصی کار کردن پرایمرهای موتانت و نرمال می‌باشد. پس از بهینه کردن شرایط PCR، نمونه‌های بیماران، همراه با کنترل موتانت و کنترل نرمال برای جهش‌های شایع ایران بررسی شدند. از هر بیمار ۵ میلی‌لیتر خون در لوله‌های حاوی EDTA تهیه شد و برای استخراج DNA با روش boiling مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش‌ها با استفاده از کیت شرکت Vienna Lab ساخت اتریش انجام شد و بعد از

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

انجام PCR محصول آن روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید [۹]. روش SNaPshot طراحی پرایمرها برای مرحله SNaPshot با توجه به این‌که محصول PCR قبلی واجد SNPهای موردنظر می‌باشد، باید در مرحله بعد، پرایمری ایجاد کند که به تعیین ژنوتیپ SNPها بپردازد [۱۰]. پرایمرهای اسنپ‌شات طوری طراحی شده‌اند که فقط می‌توانند یک نوکلئوتید را تکثیر کنند. طول این پرایمرها دقیقاً تا یک نوکلئوتید قبل ازSNPمی‌باشد. در طراحی این پرایمرهااز مطالعات قبلی و همچنین از نرم‌افزار Primer Analysis SoftWar Oligo Version :7.56 استفاده شد [۱۲،۱۱]. لیست پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

جدول شماره ۲- توالی پرایمرهای ۵ جهش مورد مطالعه.

نام پرایمر	توالی پرایمر 5'→3'
BT-PE-IVSI-5 (G>C)(+)	GGCCCTGGGCAGGTTG
BT-PE-IVSII-1 (G>A)(-)	TCAAGCGTCCCATAGACTCA
BT-PE-Fr36-37(-T)(T>G)(+)	GACTGACTGACTTGCTGGTGGTCTACCCT
BT-PE-Frs 8/9 (-)(T>C)	AAAAAGACTGACTGACTGGCAGTAACGGCAGAC
BT-PE-IVSI-1 (G>A)(+)	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGGCCCTGGGCAG

انجام تکنیک SNaPshot

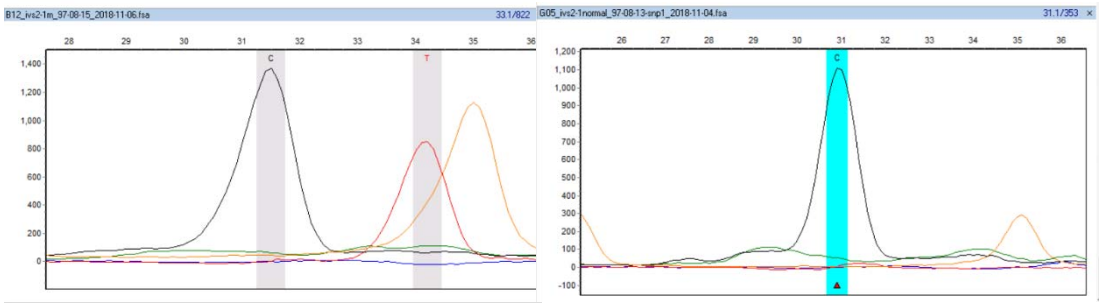
در این مرحله، ۲ میکرولیتر آب و ۱ میکرولیتر از محصول PCR خالص‌شده مرحله قبل را با ۱ میکرولیتر از پرایمر اختصاصی هر جهش و مستر میکس SNaPshot مخلوط کرده، مخلوط حاصل را به‌خوبی میکس و سپس اسپین نمودیم که تمامی این مراحل بر روی یخ انجام گرفت. سپس مخلوط آماده شده در مرحله قبلی درون دستگاه ترمال سایکلر با برنامه دمایی ۹۵ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه و ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۲۵ سیکل قرار داده شد. سپس، در این مرحله محصولات نهایی به‌دست‌آمده از SNaPshot به‌وسیله آنالیزور ABI3130Xl genetic analyzer الکتروفورز شد. لازم به ذکر است که زمان و سایر پارامترهای دیگر در این دستگاه بایستی بهینه‌سازی شود [۱۴،۱۳]. با توجه به برنامه داده شده به دستگاه، خوانش نمونه‌ها صورت گرفت و با استفاده از نرم‌افزارهای ABI PRISM® 3130 XL Genetic Analyzer و GeneMapper Id ®Analysis Software version 3.7 تجزیه و تحلیل داده‌های فراهم‌شده از روش SNaPshot انجام و نتیجه ترادف نوکلئوتیدی مشخص شد. بررسی نتایج این تکنیک بر مبنای رنگ فلورسنت لیبل شده و طول قطعه محصول می‌باشد و لازم به ذکر است که این نرم‌افزار به‌طور انحصاری برای کیت اسنپ‌شات طراحی شده است.

نتایج

در بررسی و آنالیز نمونه‌ها با تکنیک SNaPshot، الگوهای خروجی از دستگاه آنالیز دیتاریا، پترن‌های نمونه‌های نرمال و نمونه‌های موتانت به‌صورت پیک‌های SNP مشخص شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که جهش IVS II-۱ به میزان ۳۰ درصد شایع‌ترین و جهش‌های شایع دیگر، جهش Fsc8-9 (۲۰ درصد)، Fsc36-37 (۱۵ درصد)، IVS I-5 (۱۰ درصد) و IVS I-I (۵ درصد) می‌باشد. الگوی نمونه‌های نرمال و موتانت با جزئیات در بخش نتایج نشان داده شده است.

بررسی نتایج جهش IVSII-I

با توجه به طراحی پرایمر صورت‌گرفته برای رشته منفی IVSII.1، در شکل N که مربوط به نمونه نرمال است، تنها پیک نرمال که مربوط به سیتوزین است، مشاهده می‌شود. در شکل P که مربوط به نمونه موتانت است، پیک سیتوزین به تیمین مشاهده می‌شود (شکل شماره ۱).

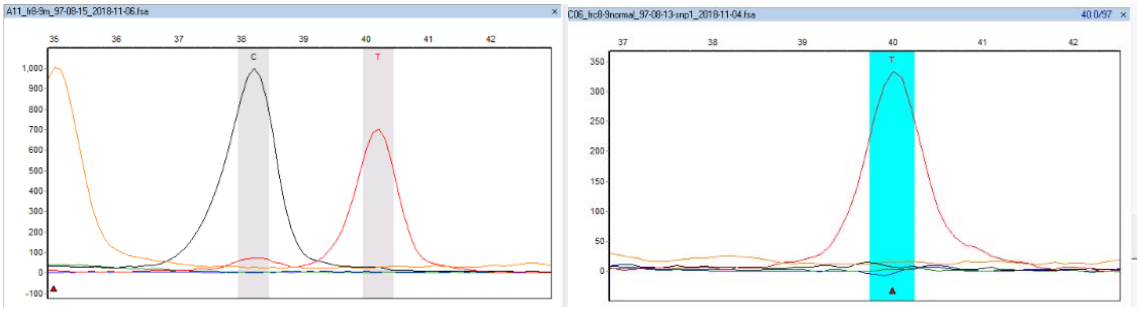


شکل شماره ۱- الگوی SNaPshot برای جهش IVSII.1 در حالت نرمال (N) در پیک مربوط به SNP شماره ۳۱ باز سیتوزین و در حالت موتانت (P) در پیک مربوط به SNP شماره ۳۴ باز تیمین وجود دارد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

بررسی نتایج جهش FRS8.9

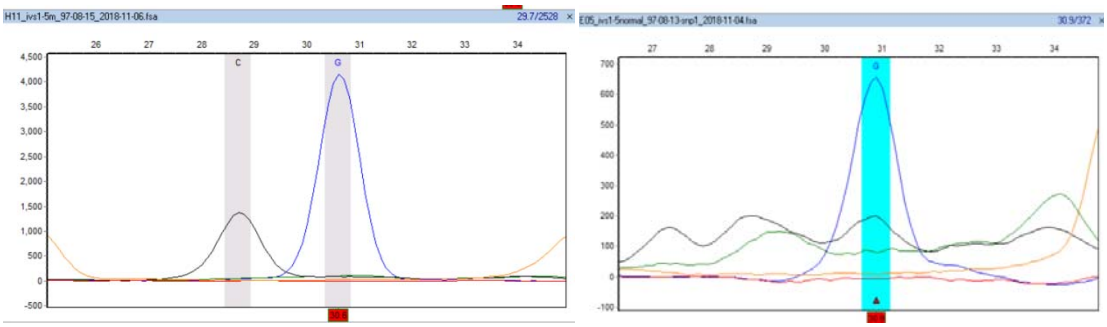
همان‌گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود؛ در حالت نرمال (N) در پیک مربوط به SNP شماره ۴۰ باز گوانین و در حالت موتانت (P) در پیک مربوط به SNP شماره ۳۸ باز سیتوزین وجود دارد.



شکل شماره ۲- الگوی SNaPshot برای جهشFRS8.9 در حالت نرمال (N) در پیک مربوط به SNP شماره ۴۰ باز تیمین و در حالت موتانت (P) در پیک مربوط به SNP شماره ۳۸ باز سیتوزین وجود دارد.

بررسی نتایج جهش IVS1.5

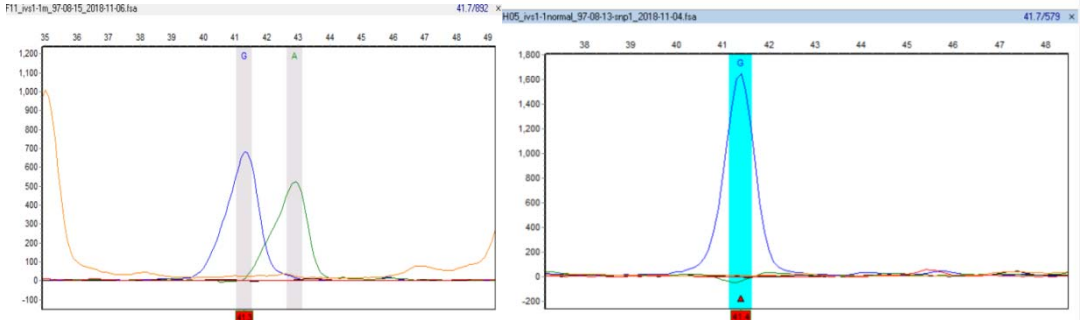
همان‌گونه که در شکل شماره ۸-۳ مشاهده می‌شود، در الگوی SNaPshot برای جهش IVS1.5: در حالت نرمال (N) در پیک مربوط به SNP شماره ۳۱ باز گوانین و در حالت موتانت (P) در پیک مربوط به SNP شماره ۲۹ باز سیتوزین وجود دارد.



شکل شماره ۳- الگوی SNaPshot برای جهش IVS1.5: در حالت نرمال (N) در پیک مربوط به SNP شماره ۳۱ باز گوانین و در حالت موتانت (P) در پیک مربوط به SNP شماره ۲۹ باز سیتوزین وجود دارد.

بررسی نتایج جهش ivs1.1

همان‌گونه که در شکل شماره ۴ الگوی SNaPshot جهش IVS1.1 مشاهده می‌گردد: در حالت نرمال (N) در پیک مربوط به SNP شماره ۴۱ باز گوانین و در حالت موتانت (P) در پیک مربوط به SNP شماره ۴۳ باز آدنین وجود دارد.

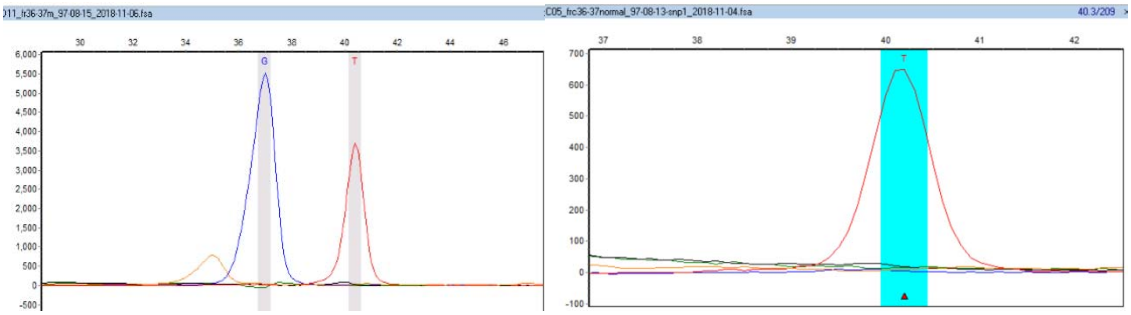


شکل شماره ۴- الگوی SNaPshot جهش IVS1.1 در حالت نرمال (N) در پیک مربوط به SNP شماره ۴۱ باز گوانین و در حالت موتانت (P) در پیک مربوط به SNP شماره ۴۳ باز آدنین وجود دارد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

بررسی نتایج جهش FR36.37

همان‌گونه که در شکل شماره ۵ الگوی SNaPshot جهش FRC36.37 مشاهده می‌شود؛ در حالت نرمال (N) در پیک مربوط به SNP شماره ۴۰ باز تیمین و در حالت موتانت (P) در پیک مربوط به SNP شماره ۳۸ باز گوانین وجود دارد.



شکل شماره ۵- الگوی SNaPshot جهش FR36.37 در حالت نرمال (N) در پیک مربوط به SNP شماره ۴۰ باز تیمین و در حالت موتانت (P) در پیک مربوط به SNP شماره ۳۸ باز گوانین وجود دارد.

بحث

تالاسمی شایع‌ترین بیماری تک‌ژنی در جهان بوده، کشور ایران نیز از جمله کشورهای قرارگرفته بر کمربند تالاسمی در سطح جهان محسوب می‌شود. بنابراین با شناخت جهش‌های موجود در سطح ایران، تعیین میزان پراکندگی آن‌ها و دسترسی به فن‌آوری لازم جهت شناسایی این جهش‌ها در بیماران و یا حاملان و از همه مهم‌تر در جنین‌هایی که پدر یا مادر آن‌ها مبتلا هستند، می‌توان کمک شایانی در جهت پیشگیری از تولد نوزادان مبتلا نمود [۱۵،۱۳]. مطالعات نشان داده است که حدود ۲۱۱ جهش تاکنون برای ایجاد تالاسمی شناسایی شده است که فراوانی این جهش‌ها در هر منطقه متفاوت است. حدود ۲۱ مورد از این جهش‌ها در نقاط مختلف ایران وجود دارد. جهش‌ها در استان‌های مرزی کشور، نزدیکی زیادی به کشورهای همسایه نشان خواهند داد. به‌عنوان مثال از جهش‌های شایع در استان سیستان و بلوچستان، IVS 1-5 (C-G) با فراوانی ۷۶/۵ شایع‌ترین جهش این استان می‌باشد. دیگر فراوانی جهش‌های این استان عبارتند از: Fr 8-9 (+G) ۳/۷ درصد، Codon 39 (C-T) ۱/۴ درصد و IVS-II-1 (G-A) ۱/۴ درصد. فراوانی جهش‌های موجود در پاکستان IVSI 5- و +) 8-9 (Fr-G ۱۵/۷ درصد می‌باشد [۱۶]. با توجه به نزدیکی این دو منطقه، شباهت زیادی بین فراوانی این جهش‌ها وجود دارد [۱۷]. در ناحیه شمال غرب کشور، جهش‌های شایع عبارتند از: Frameshift (+G) 8-9 با فراوانی ۹/۲۹ درصد، IVS-I-110 (G-A) ۴۷/۲۵ درصد، IVS-II-1(G-A) ۸۳/۱۷ درصد و IVS-I-5(G-C) با فراوانی ۷ درصد که با جهش‌های موجود در نواحی مدیترانه شباهت دارد [۱۸،۱۷]. تحقیقات نشان داده است که شیوع بتاتالاسمی در نقاط مختلف جهان متفاوت است. در حوزه مدیترانه IVS.I_110 با فراوانی ۳۲ درصد و Non Sence CD39 با فراوانی ۲۶ درصد؛ و در هندوهای آسیایی جهش‌های ivs.1-5 و Fr8_9 و IVS1_1 به‌ترتیب با فراوانی‌های ۲۲ درصد و ۱۹ درصد و ۱۳ درصد بیشتر از انواع دیگر جهش‌ها در بیماران مشاهده شده است [۲۰،۱۹]. در این مطالعه، بیشترین شیوع جهش مربوط به جهش IVSII-1G>A/N می‌باشد که به میزان ۳۰ درصد شایع‌ترین جهش محسوب می‌شود و سپس جهش‌های شایع دیگر به ترتیب شامل: جهش Fsc8-9 (+G)/N (۲۰ درصد)، جهش Fsc36-37- (۱۵ درصد)، جهش IVSI-5 (G>C) (۱۰ درصد) و جهش IVSI-I G>A/N (۵ درصد) می‌باشند که این تفاوت در شیوع، بین مطالعه حاضر و دیگر مطالعات می‌تواند به‌دلیل جامعه آماری پراکنده و تعداد کمتر نمونه‌های گرفته‌شده باشد؛ زیرا این مطالعه بیشتر بر روی کارآیی تکنیک SNaPshot در تشخیص جهش‌ها تمرکز داشته است. در مطالعه‌ای که حسین‌پور و همکارانش در جمعیت شمال غرب ایران بر روی ۱۴۲ بیمار مبتلا به تالاسمی بتا با تکنیک ARMS_PCR انجام دادند، ۱۱ جهش شایع شناسایی شد که شایع‌ترین جهش‌ها، واریانت‌های IVS-I-110 (G-A)، (۲۵/۴۷ درصد) IVS-II-1(G-A) (۱۷/۸۳ درصد)، IVS-I-5 (G-C) (۷ درصد) و IVS-I-1(G-A) (۶/۳۶ درصد) گزارش گردید [۲۱]. در مطالعه دیگری که زندی دشت بیضا و همکارانش در سال ۱۳۹۴ در شهرستان بیرجند انجام دادند، بررسی جهش‌های بتاتالاسمی بر روی ۳۴ نمونه واردشده به طرح غربالگری مراکز بهداشتی با تکنیک ARMS_PCR انجام شد و شیوه و نوع جهش‌ها را به‌صورت زیر گزارش کردند. بیشترین جهش مربوط به IVS-I-5 با فراوانی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

۴۷/۱ درصد و فراوانی هر یک از جهش‌های Codon44، Fr IVS II-I،8/9 و Codon37/38/39 به ترتیب ۸/۶ درصد، ۸/۱ درصد و ۵/۹ درصد گزارش شد [۲۲]. نجم‌آبادی و همکارانش در سال ۲۰۰۲ جهش‌های موجود در ژن بتاگلوبولین را در ۷۰ بیمار مبتلا به این بیماری آنالیز کردند. بیشترین نوع جهش شناخته‌شده در این افراد، جهش IVS1_130 (G_C) بود که ۹ نفر از افراد این جهش را به‌صورت هتروزیگوت داشتند [۲۳،۸]. در سال ۲۰۰۸ حسین‌پور فیضی و همکارانش مطالعه‌ای را در آذربایجان و شمال شرقی ایران طراحی کردند و در مجموع ۱۷ جهش در این ژن یافتند که جهش IVS_II_1 با فراوانی ۲۱ درصد شایع‌ترین جهش محسوب شد. جهش‌های شایع دیگر شامل IVS-I-110 (GA<) با ۱۸ درصد فراوانی و سپس frameshift codons 8/9 (FSC) (+G) با ۱۴/۵ درصد فراوانی بودند [۲۴]. در سال ۲۰۱۰ رحیمی و همکارانش ژن بتاگلوبولین را در ۱۸۵ بیمار مبتلا به بتاتالاسمی با نژاد کُرد و با استفاده از تکنیک‌های PCR_ARMS و RFLP و sequencing مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ۲۰ جهش مشاهده شد که شایع‌ترین جهش‌ها به‌صورت زیر بودند: IVSII-1 (G-->A) (۳۲/۹۷ درصد)، CD8/9+G (۱۳/۵۱ درصد)، IVSI-110 (C-->T) (۸/۳۸ درصد)، CD8-AA, (۵/۹۴ درصد)، CD15 (G-->A)(۴/۵۹ درصد) و IVSI-1 (G- ->A) (۷/۸۶ درصد) [۲۵]. در سال ۱۳۹۴ تفضلی و همکارانش به بررسی جهش‌های شایع در ۳۰ بیمار با ۱۳پرایمر مشخص توسط تکنیک ARMS پرداختند. در این مطالعه که در قزوین انجام شد، شایع‌ترین جهش‌ها در ژن بتاگلوبین به ترتیب IVSII- 1 (۵۰ درصد)، IVSI-110 (۱۵ درصد) و Fr8-9 (۹ درصد) گزارش شده است [۲۶]. در سال ۱۳۹۱ شریفی و همکارانش به بررسی جهش شایع در ۹۲ بیمار با پرایمرهای مشخص با استفاده از تکنیک RMS_PCR پرداختند. در این مطالعه که در ایلام انجام شد، شایع‌ترین جهش‌ها به ترتیب فراوانی، IVSII-1 (۲۶ درصد)، codon36_37 (۷ درصد)، Fr8.9 (۷ درصد) و IVSI-5 (۱ درصد) گزاش شده است [۲۷]. با توجه به بررسی مقالات مختلف داخل و خارج از کشور می‌توان یادآور شد که بیشتر مطالعات مبتنی بر استفاده از تکنیک ARMS_PCR می‌باشند. استفاده از تکنیک SNaPshot برای اوّلین‌بار جهت تشخیص جهش‌های بتاتالاسمی در این مطالعه به‌کار گرفته شد. به‌دلیل تغییر SNPهای مختلف، یک نوکلئوتید جابه‌جا، حذف و یا اضافه می‌گردد و باعث بروز بتاتالاسمی می‌شود. بنابراین در انتخاب تکنیک‌های مولکولی برای تشخیص این SNPها می‌بایست حساسیت، دقت، اختصاصیت، زمان کمتر و هزینه کمتر را در نظر گرفت.

نتیجه‌گیری

شناسایی جهش‌های شایع و اساس مولکولی بتاتالاسمی در اقوام مختلف کشور، می‌تواند راهنمای مفیدی جهت پیشگیری از تالاسمی و برنامه‌ریزی برای کنترل و تشخیص قبل از تولد این بیماری باشد. در نتیجه، می‌توان با انجام آزمایشات مربوطه در راستای ارتقای سطح سلامت ملی و کیفیت مشاوره‌های ژنتیکی نسبت به کنترل و پیشگیری، اقدامات مناسب‌تری به عمل آورد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب پایان‌نامه دانشجوی ارشد رشته ژنتیک در گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد تهران مرکزی انجام شد. از همکاران محترمی که در انجام این پژوهش مساعدت نمودند، سپاسگزاریم.

References:

[1] Cappellini MD, Motta I. New therapeutic targets in transfusion-dependent and-independent thalassemia. ***Hematology Am Soc Hematol Educ Program*** 2017; 2017(1): 278-83.

[2] Birgens H, Ljung R. The thalassaemia syndromes. ***Scand J Clin Lab Invest*** 2007; 67(1): 11-26.

[3] Verma IC, Kleanthous M, Saxena R, Fucharoen S, Winichagoon P, Raizuddin S, et al. Multicenter study of the molecular basis of thalassemia intermedia in different ethnic populations. ***Inter J Hemo Res*** 2007; 31(4): 439-52.

[4] Cousens NE, Gaff CL, Metcalfe SA, Delatycki MB. Carrier screening for beta-thalassaemia: a review of International practice. ***Eur J Hum Genet*** 2010; 18(10): 1077-83

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

[6] Chanpeng P, Svasti S, Paiboonsukwong K, Smith DR, Leecharoenkiat K. Platelet proteome reveals specific proteins associated with platelet activation and the hypercoagulable state in β-thalassmia/HbE patients. ***Sci Rep*** 2019; 9(1): 1-11.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

[7] Pooladi N, Hosseinpour Feizi MA, Haghi M, Azarfam P, Hosseinpour Feizi A. Analysis of beta thalassemia mutations using the single strand conformation polymorphism (SSCP) technique. ***J Kurdistan Univ Med Sc*** 2010; 15(3): 13-9. [in Persian]
[8] Najmabadi H, Pourfathollah AA, Neishabury M, Sahebjam F, Krugluger W, Oberkanins C. Rare and unexpected mutations among Iranian beta-thalassemia patients and prenatal samples discovered by reverse-hybridization and DNA sequencing. ***Inter J Hemo Res*** 2002; 87(10): 1113-14.
[9] Newton C, Graham A, Heptinstall L, Powell S, Summers C, Kalsheker N, et al. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). ***Nucleic Acids Res*** 1989; 17(7): 2503-16.
[10] Budowle B, Van Daal AJB. Forensically relevant SNP classes. ***Biotechniques*** 2008; 44(5): 603-10.
[11] Noveski P, Trivodalieva S, Efremov G, Plaseska-Karanfilska DJBJoMG. Y chromosome single nucleotide polymorphisms typing by SNaPshot minisequencing. ***BJMG*** 2010; 13(1): 9-16.
[12] Madjunkova S, Volk M, Peterlin B, Plaseska-Karanfilska DJGt, biomarkers m. Detection of thrombophilic mutations related to spontaneous abortions by a multiplex SNaPshot method. ***Genet Test Mol Biomarkers*** 2012; 16(4): 259-64.
[13] Galehdari H, Salehi B, Pedram M, M Oraki Kohshour. High prevalence of rare mutations in the Beta globin gene in an ethnic group in iran. ***Iran Red Cres Med J*** 2011; 13(5): 356.
[14] Biljana A, Georgi I, Dijana PK, Lyubomira C Efficient Detection of Mediterranean β-Thalassemia Mutations by Multiplex Single-Nucleotide Primer Extension ***PLoS One*** 2012; 7(10): e48167.
[15] Boonchai B, Chalinee M, Chanchai T. Molecular analysis of beta-globin gene mutations among Thai beta-thalassemia children: results from a single center study. ***Appl Clin Genet*** 2014; 7: 253–58.
[16] Verma IC, Saxena R, Thomas E, Jain PK. Regional distribution of β-thalassemia mutations in India. ***Hum Genet*** 1997; 100(1): 109-13.
[17] Rizo-de-la-Torre LC, Ibarra B, Sánchez-López JY, Magaña-Torres MT, Rentería-López VM, Perea-Díaz FJ Three novel HBB mutations, c.-140C>G (-90 C>G), c.237_256delGGACAACCTCAAGGGCACCT (FS Cd 78/85 -20 bp), and c.315+2T>G (IVS2:2 T>G). Update of the mutational spectrum of β-Thalassemia in Mexican mestizo patients. ***Int J Lab Hematol*** 2017; 39(5): 539-45.
[18] Kelkar AJ, Moses A. Thalassemia intermedia phenotype resulting from rare combination of c.46delT [Codon15 (-T)] mutation of beta globin gene and HPFH3.***Clin Case Rep*** 2017; 5(7): 1107-10.
[19] Miri-Moghaddam E, Zadeh-Vakili A, Rouhani Z, Naderi M, Eshghi P, Khazaei Feizabad A. Molecular basis and prenatal diagnosis of β-thalassemia among Balouch population in Iran. ***Prenat Diagn*** 2011; 31(8): 788-91.
[20] Ozkinay F, Onay H, Karaca E, Arslan E, Erturk B, Ece Solmaz A, et al. Molecular basis of β-thalassemia in the population of the Aegean region of Turkey: Identification of a novel deletion mutation. ***Inter J Hemo Res*** 2015; 39(4): 230-34.
[21] Aristizabal A, Merino S, Catediano E, Sasieta M, Aragües P, Navajas A. Clinical consequences of alpha-thalassemia in the Basque Country, Spain. Impact of neonatal screening. ***Anales de Pediatría (English Edition)*** 2015; 83(2): 85-8.
[22] Hosseinpour Feizi MA, Hosseinpour Feizi AA, Pouladi N, Haghi M, Azarfam PJH. Molecular spectrum of β-thalassemia mutations in Northwestern Iran. ***Inter J Hemo Res*** 2008; 32(3): 255-61.
[23] Mohammad Asl J, Samarbafzadeh AR, Mak Vandi M, Zandian KHM, Pedram M. A report on prevalence of β thalassemia gene mutations in thalassemia patients from khuzestan province. ***J Birjand*** **Univ** ***Med Sc*** 2008; 6(4): 398-03. [in Persian]
[24] Nejat M, Rabbani B. An overview of mutation detection methods in genetic disorders. ***Iran J Pediatr*** 2013; 23(4): 375-88.
[25] Nikuei P, Hadavi V, Rajaei M, Saberi M, Hajizade F, Najmabadi HJH. Prenatal diagnosis for β-thalassemia major in the Iranian Province of Hormozgan. ***Iran J Ped Hematol Oncol*** 2008; 32(6): 539-45.
[26] Rahimi Z, Muniz A, Parsian A. Detection of responsible mutations for beta thalassemia in the Kermanshah Province of Iran using PCR-based techniques. ***Mol Biol Rep*** 2010; 37(1): 149-54.
[27] Sharifi A, Aminzadeh M, Pourmoghaddam Z, N Mahdieh. The frequency of common beta-thalassemia mutations among couples referred to health centers of Ilam during a five years period. ***J Ilam Univ Med Sc*** 2014; 22(2): 17-23. [in Persian]

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]