

ABSTRACT

Beta Thalassemia: Epidemiology and Diagnostic and Treatment Approaches in Iran

Najmaldin Saki, Ali deghani Fard, Saeid Kaviani, Mohammad Ali Jalali Far, Seyed Hadi Mousavi, Kheirollah Al -Ali, Fakher Rahim*

Beta thalassemia is the most common monogenic disorders with an autosomal recessive inheritance worldwide. In this article, we reviewed fifty articles on the epidemiology and diagnostic and treatment procedures of beta thalassemia during 1982- 2011 and highlighted different diagnostic and treatment procedures in Iran. Beta thalassemia is more prevalent in coastal areas, especially the Mediterranean Sea. In Iran, many cases of beta thalassemia are found in the Caspian Sea and Persian Gulf regions. Also, other regions including Isfahan, Fars and Bushehr have a significant number of thalassemic patients. The IVS II-1 mutation is most prevalent variant in different regions of Iran. The diagnostic tests based on PCR play a great role in identification of new mutations, heterozygote patients and pre-natal diagnosis.

The molecular methods are selected depending on the mutation. Given the importance of early treatment of thalassemic patients, screening and identification of affected people is very important. At present, the common therapeutic approaches of beta thalassemia are transfusion and ferrochellator drugs. The definitive treatment of patients, in case of finding HLA matched donors, is bone marrow transplantation.

Key words: beta-Thalassemia; Mutation; Therapeutics; Molecular Diagnostic Techniques; Bone marrow transplantation.

*** Fakher Rahim, PhD Student of Epidemiology**

Endocrine and Metabolism Research Center,

Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Tel: 021-88220037. Email: fakherraheem@yahoo.com

Submission Date: 7. Mar. 2012 • Acceptance Date: 14. May. 2012

نجم الدین ساکی^۱، علی دهقانی فرد^۲، سعید کاویانی^۲، محمد علی جلالی فر^۱، سید هادی موسوی^۲، خیراله آل علی^۳، فاخر رحیم*^۴

۱. مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز ۲. گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران ۳. دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز ۴. مرکز تحقیقات اندوکراین و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران.

چکیده / بتا تالاسمی از جمله مهمترین اختلالات تک ژنی با وراثت اتوزومی مغلوب در سراسر جهان به شمار می‌رود. در این مقاله با مرور حدود ۵۰ مقاله چاپ شده طی سال‌های ۱۹۸۲ تا ۲۰۱۱ در زمینه اپیدمیولوژی و روش‌های تشخیصی و درمانی بتا تالاسمی، به بررسی اهمیت توجه به روش‌های مختلف تشخیصی و درمانی در ایران پرداخته شده است. بتا تالاسمی دارای شیوع بالایی در نواحی حاشیه دریاها بویژه دریای مدیترانه می‌باشد. در ایران نیز در نواحی ساحلی دریای خزر و خلیج فارس موارد شایعی از این بیماری یافت می‌شود. بتا تالاسمی همچنین در سایر مناطق ایران از جمله اصفهان، فارس و بوشهر شیوع قابل توجهی دارد. در بین جهش‌های مختلف در ژن بتا گلوبین، جهش IVSII-1 (G>A) به عنوان شایع‌ترین واریان در مناطق مختلف ایران مطرح می‌باشد. در بحث شناسایی جهش‌های جدید و همچنین شناسایی افراد هتروزیگوت و تشخیص پیش از تولد، استفاده از آزمون‌های تشخیصی بر پایه PCR دارای اهمیت زیادی است. نوع آزمون تشخیصی مولکولی مورد استفاده با توجه به نوع جهش مورد بررسی انتخاب می‌گردد. با توجه به اهمیت درمان زود هنگام بیماران بتا تالاسمی، شناسایی و غربالگری افراد بیمار بسیار اهمیت دارد. در حال حاضر استفاده از تزریق خون و داروهای شلاته‌کننده آهن به عنوان راه کار درمانی معمول بتا تالاسمی مطرح می‌باشد. البته درمان قطعی بیماران از طریق پیوند مغز استخوان در صورت وجود اهدا کننده مناسب، میسر می‌باشد.

واژگان کلیدی: بتا تالاسمی؛ جهش؛ درمان؛ تشخیص مولکولی؛ پیوند مغز استخوان.

علت ایجاد بتا تالاسمی کاهش یا عدم ساخت زنجیره بتا - گلوبین است که منجر به کاهش هموگلوبین (Hb) و تعداد گلبول قرمز (RBC) و به دنبال آن آهمی ایجاد می‌شود (۱،۲). این بیماری یکی از گسترده‌ترین بیماری‌های ژنتیکی در دنیا می‌باشد و حدود ۵٪ از جمعیت دنیا را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱). بتا تالاسمی شامل ۳ گروه اصلی است: تالاسمی ماژور (که به نام آهمی کولی و آهمی مدیترانه‌ای نیز شناخته می‌شود)، تالاسمی اینترمیدیا و تالاسمی مینور (که همچنین به عنوان بتا تالاسمی حامل، صفت بتا تالاسمی یا بتا تالاسمی هتروزیگوت نامیده می‌شود). جدول ۱ به بررسی و مقایسه ویژگی‌های بیماری بتا

مقدمه | تالاسمی گروهی از اختلالات ارثی خونی هستند که بعلت نقص در ساخت یک یا چندین زنجیره هموگلوبین ایجاد می‌شوند.

* فاخر رحیم، دانشجوی دکتری اپیدمیولوژی

مرکز تحقیقات اندوکراین و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
تلفن: ۰۲۱-۸۸۲۲۰۰۳۷

پست الکترونیک: fakherraheem@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۱۷ • تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۲۵

نوع بتا تالاسمی	شروع علائم	علائم بارز قبل از تزریق خون	علائم بارز ناشی از تزریق خون	مشخصه مهم
ماژور	۶ تا ۲۴ ماهگی	مشکلات تغذیه‌ای، اسهال، بزرگ شدن بیش از اندازه شکم بعلت بزرگی طحال و کبد، اختلال رشد، ناهنجاری‌های اسکلتی عمدتاً به صورت بدشکلی استخوان‌های بلند پا و تغییرات شکل جمجمه	عوارض مرتبط با افزایش بار آهن در قلب، کبد و غدد اندوکرینی بصورت دیابت ملیتوس و هیپوگنادیسم، هیپاتیت‌های مزمن (هیپاتیت B یا C)، عفونت HIV، ترومبوز وریدی	مرگ به علت موسیدروز بافت قلب
اینترمدیا	۲ تا ۶ سالگی	طیفی از علائم از آئمی خفیف تا علائم شدید شامل عقب ماندگی رشد و تکامل	به دلیل عدم نیاز به استفاده از برنامه منظم تزریق خون معمولاً این علائم یافت نمی‌شوند	ترومبوز، مشکلات ناشی از آئمی همولیتیک خود ایمن به دنبال تزریق خون
مینور	معمولاً بطور تصادفی طی آزمایش خون	بدون علامت، گاهی آئمی خفیف وجود دارد	بدون نیاز به تزریق خون	اهمیت تشخیص در غربالگری قبل از ازدواج

جدول ۱: مقایسه مشخصات بالینی بتا تالاسمی ماژور، اینترمدیا و مینور، نوع بتا تالاسمی، شروع علائم، علائم بارز قبل از تزریق خون، علائم بارز ناشی از تزریق خون، مشخصه مهم.

انتخاب راه کار درمانی مؤثر و مناسب برای بیماران، به بررسی روش‌های درمانی معمول و نوین که طی سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند پرداخته شده است.

اپیدمیولوژی

بتا تالاسمی در کشورهای اطراف دریای مدیترانه مانند، یونان، ایتالیا، ترکیه و کشورهای آفریقای شمالی شایع می‌باشد. این بیماری همچنین در عربستان سعودی، پاکستان، ایران، افغانستان، هند و کشورهای آسیای شرقی مانند تایلند و اندونزی شیوع قابل توجهی دارد (۷). بیشترین فراوانی حاملین ژن بتا تالاسمی در قبرس، ساردینیا و آسیای جنوب شرقی گزارش شده است. مهاجرت‌ها و ازدواج بین اقوام مختلف باعث شده است که تالاسمی در اکثر کشورهای دیده شود. میزان بروز سالانه افراد علامت دار حدود یک به صد هزار در سراسر جهان تخمین زده می‌شود (۲).

کشورما دارای تعداد زیادی از موارد ابتلا به بیماری تالاسمی ماژور می‌باشد که شیوع آن در مناطق جغرافیایی مختلف متغیر می‌باشد. بیشترین میزان شیوع بتا تالاسمی در اطراف دریای خزر و خلیج فارس به میزان بیش از ۱۰٪ گزارش شده است. شیوع این اختلال در دیگر مناطق بین ۸-۴٪ است. در اصفهان فراوانی به

تالاسمی ماژور، اینترمدیا و مینور می‌پردازد (۲-۷). ماژور ۶ تا ۲۴ ماهگی مشکلات تغذیه‌ای، اسهال، بزرگ شدن بیش از اندازه شکم بعلت بزرگی طحال و کبد، اختلال رشد، ناهنجاری‌های اسکلتی عمدتاً به صورت بدشکلی استخوان‌های بلند پا و تغییرات شکل جمجمه عوارض مرتبط با افزایش بار آهن در قلب، کبد و غدد اندوکرینی بصورت دیابت ملیتوس و هیپوگنادیسم، هیپاتیت‌های مزمن (هیپاتیت B یا C)، عفونت HIV، ترومبوز وریدی مرگ به علت هموسیدروز بافت قلب اینترمدیا ۲ تا ۶ سالگی طیفی از علائم از آئمی خفیف تا علائم شدید شامل عقب ماندگی رشد و تکامل به دلیل عدم نیاز به استفاده از برنامه منظم تزریق خون معمولاً این علائم یافت نمی‌شوند ترومبوز، مشکلات ناشی از آئمی همولیتیک خود ایمن به دنبال تزریق خون مینور معمولاً بطور تصادفی طی آزمایش خون بدون علامت، گاهی آئمی خفیف وجود دارد بدون نیاز به تزریق خون اهمیت تشخیص در غربالگری قبل از ازدواج با توجه به اهمیت تشخیص زود هنگام بیماری به بررسی راه کارهای مختلف تشخیصی بویژه راه کارهای تشخیص مولکولی و استفاده از آزمون‌های بر پایه PCR بررسی و پس از آن شیوع جهش‌های ژن بتا - گلوبین در مناطق مختلف ایران و سایر کشورهای جهان مقایسه می‌شود. در پایان نیز بدلیل اهمیت

جهش غالب یافت شده در همه اقوام این نواحی بود. شایع‌ترین جهش‌ها در ایران به ترتیب (G>A) IVS II-1 (۳۴٪) در خوزستان، حذف 25bp از IVS I (انتهای ۳) (۲۸/۷٪) در بوشهر، (G>A) IVS II-1 (۴۱/۵٪) در فارس، (G>A) IVS II-1 (۳۱/۸٪) در اصفهان، IVS I-5 (G>C) (۴۴/۸٪) در سیستان و بلوچستان بودند (۳). طی مطالعه دیگری که توسط کریمی‌پور و همکاران او انجام شد مشخص شد که شایع‌ترین جهش در جنوب ایران (G>A) IVS II-1 می‌باشد (۱۲).

روش‌های تشخیصی

با توجه به اهمیت تشخیص زودهنگام بیماری بتا تالاسمی و همچنین شناسایی و غربالگری افراد هتروزیگوت از افراد سالم، استفاده از روش‌های مختلف تشخیصی اعم از روش‌های روتین و ژنتیک مولکولی حائز اهمیت می‌باشد. جدول ۲ به بررسی روش‌های معمول تشخیصی بتا تالاسمی می‌پردازد (۲، ۱۹-۲۴).

تشخیص بالینی علائم مربوط به آنمی میکروسیتیک شدید، زردی خفیف و هپاتواسپلنومگالی در بتا تالاسمی ماژور، یافته‌های مشابه با تالاسمی ماژور اما خفیف تر در بتا تالاسمی اینترمیدیا، حالت بدون علامت یا آنمی خفیف در بتا تالاسمی مینور تشخیص خون شناسی $MCV > 50 \text{ fL}$ ، $Hb > 7 \text{ g/dl}$ ، و $MCH < 20 \text{ Pgr}$ در بتا تالاسمی ماژور $MCV 50 \text{ fL} < 7$ ، $Hb < 10 \text{ g/dL}$ و $MCH 16 \text{ Pgr} > 24$ در بتا تالاسمی اینترمیدیا کاهش خفیف MCV و MCH در بتا تالاسمی مینور.

اسمیر خون محیطی

تغییراتی در RBC (میکروسیت، هیپوکروم، آنیزوسیتوز، پوئی کیلوسیتوز) و حضور NRBC در خون محیطی، تعداد NRBC در خون محیطی مرتبط با درجه آنمی می‌باشد و بعد از برداشتن طحال به شدت افزایش می‌یابد.

آنالیز کمی و کیفی هموگلوبین

HbF: ۹۵-۹۲٪ و عدم وجود HbA2 در بتا تالاسمی ماژور
HbF: ۷۰-۹۰٪ و: ۱۰-۳۰٪ HbA2 در بتا تالاسمی اینترمیدیا
افزایش قابل توجه HbA2 در بتا تالاسمی مینور

آنالیز ژنتیک مولکولی

با توجه به شیوع پایین تعدادی از جهش‌ها در هر جمعیت،

حدود ۸٪ افزایش می‌یابد. همچنین در استان فارس فراوانی ژن بتا تالاسمی به حدود ۱۰-۸٪ می‌رسد (۸).

جهش‌ها و واریان‌های آلی مختلف

بتا تالاسمی یک بیماری معمول اتوزومال مغلوب است که عمدتاً بعلت جهش‌های نقطه‌ای در ژن بتا - گلوبین که در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۱ قرار دارد، بوجود می‌آید (۳). تاکنون بیش از ۲۰۰ جهش مختلف تأثیر گذار بر بیان ژن‌های بتا - گلوبین شناسایی شده‌اند (۱۱، ۱۰). جهش حذفی در ژن بتا - گلوبین نادر می‌باشد. بتا تالاسمی شایع‌ترین بیماری تک ژنی در جهان می‌باشند؛ و در سطح مولکولی بصورت هتروژن هستند.

تاکنون بیش از ۲۳ نوع نقص مختلف مولکولی در ژن بتا - گلوبین شناسایی شده است (۴). کاهش (β) یا عدم وجود ($\beta 0$) زنجیره‌های بتا - گلوبین منجر به افزایش زنجیره‌های آلفا گلوبین آزاد می‌شوند که در پیش سازهای رده اریترئیدی در مغز استخوان رسوب می‌کنند و منجر به تخریب پیش از بلوغ گلبول‌های قرمز و اریترئوپوئز غیر مؤثر می‌شوند. درجه کاهش زنجیره گلوبین توسط طبیعت جهش در ژن گلوبین بتا در کروموزوم ۱۱ تعیین می‌شود (۲، ۱۲). استراتژی‌های مختلف طبقه بندی ژنوتیپی افراد توسط دسته بندی ژن بتا - گلوبین و کلونینگ توالی‌های نوکلئوتیدی منجر به شناسایی چندین جهش جدید در مناطق مدیترانه‌ای، هند، چین و در جمعیت سیاه پوستان آمریکا شده است (۱۳-۱۷).

تشابه و نزدیکی جهش‌ها در ایران با کشورهای هم جوار تحقیقات انجام شده در ۸ کشور عربی نشان می‌دهند که شایع‌ترین جهش‌ها از نوع IVS I-110 و IVS II-1 بوده و پس از آن جهش‌های IVS I-5، CD39، CD6، حذف 25bp - IVS I (انتهای ۳) در درجه بعدی اهمیت می‌باشند. یافته‌های بدست آمده در ایران مشابه کارهای انجام شده در کویت می‌باشد، که ۶ جهش غالب شامل IVS I-1، CD8، IVS I-110، CD39، IVS I-6، IVS II-1 (۶۴٪ همه موارد) را نشان می‌دهد و پس از آن دو جهش دیگر شامل CD44، CD36/37 (کردها، طایفه ایرانی) که ۱۰٪ از جمعیت می‌باشند، حائز اهمیت می‌باشند. در مطالعه انجام شده، جهش دیگری از بتا تالاسمی در مطالعه کروموزوم‌ها بدست آمد و ۵ ناحیه مختلف از ایران جهش (G>A) IVS II-1 را نشان دادند، که

می‌باشد. همچنین انجام آزمون‌های تشخیصی بیوشیمیایی و هماتولوژیک جهت شناسایی تداخلات ژنتیکی مختلف ضروری می‌باشد. بررسی پارامترهای هماتولوژیک در افراد فامیل بویژه در پدر و مادر، فرزندان و سایر اعضای خانواده کمک فراوانی به تشخیص جهش‌های ژنی مختلف می‌کند. شناسایی افراد ناقل و تشخیص نوع جهش به عنوان هدف اصلی آزمون‌های تشخیصی ژنتیکی در تشخیص هموگلوبینوپاتی‌ها محسوب می‌شود.

آزمون‌های پایه‌ای تشخیصی هماتولوژیک شامل شمارش کامل سلولی (CBC)، آنالیز Hb توسط الکتروفورز و ایزوالکتریک فوکوسینگ (IEF) و یا کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) جهت ارزیابی کمی سطح HbA2 و HbF می‌باشد. آزمون‌های بیوشیمیایی شامل بررسی وضعیت آهن با بررسی سطح پروتوپورفیرین سرمی متصل به روی (ZPP)، فریتین و TIBC می‌توانند به تشخیص کمک کنند. نهایتاً نتایج آزمون‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی راه را برای انتخاب آزمون ژنتیکی مناسب و رسیدن به تشخیص قطعی هموار می‌کند (۲).

بررسی اجمالی تکنیک‌های تشخیصی بر پایه DNA

امروزه تقریباً تمام روش‌های آنالیز DNA برای تشخیص هموگلوبینوپاتی‌ها بر اساس PCR می‌باشد. بنابراین تشخیص نوع جهش (نقطه‌ای، حذفی و یا بازرایی) با استفاده از تکنیک‌های مشابهی انجام می‌گیرد و تنها نوع پرایمرها است که کمک به تشخیص اختصاصی نوع جهش می‌کند. در حقیقت حساسیت و اختصاصیت بالای PCR و نیاز به مقدار کم DNA سبب ایجاد تحول نوینی در بحث تشخیص مولکولی شده است. امروزه با وجود PCR، آزمون‌های تشخیصی بر مبنای ایزوتایپ‌های رادیواکتیو نیز کاملاً منسوخ شده است.

آزمون‌های تشخیصی بر پایه PCR جهت تشخیص هموگلوبینوپاتی‌ها شامل آزمون هیبریدیزاسیون ASO^۱ یا dot-blot analysis. Reverse dot-blot analysis. PCR. Restriction enzyme analysis. Amplification creat-mutagenically seperated PCR و ed restriction analysis. Gap-PCR می‌باشند. این تکنیک‌ها جهت شناسایی جهش‌های شناخته شده

راه کار تشخیصی	کلید تشخیص
تشخیص بالینی	علائم مربوط به آئمی میکروسیتیک شدید، زردی خفیف و هیپاتواسپلنومگالی در بتا تالاسمی ماژور، یافته‌های مشابه با تالاسمی ماژور اما خفیف تر در بتا تالاسمی اینترمدیا، حالت بدون علامت یا آئمی خفیف در بتا تالاسمی مینور.
تشخیص خون‌شناسی	MCH < 20 Pgr > و Hb. 70 fL > MCV > 50 fL < 7 Pgr 12 در بتا تالاسمی ماژور < 10 g/dL < Hb < 10 Pgr MCH 16 24 > و g/dL < 80 fL < MCV 50 fL > در بتا تالاسمی اینترمدیا T کاهش خفیف MCH و MCV در بتا تالاسمی مینور.
اسمیر خون محیطی	تغییراتی در RBC (میکروسیت، هیپوکروم، آنیزوسیتوز، پوئی کیلوسیتوز) و حضور NRBC در خون محیطی، تعداد NRBC در خون محیطی مرتبط با درجه آئمی می‌باشد و بعد از برداشتن طحال به شدت افزایش می‌یابد.
آنالیز کمی و کیفی هموگلوبین	HbF : 95-92% و عدم وجود HbA2 در بتا تالاسمی ماژور، HbF : 70- 90% و HbA2 10 : 30% در بتا تالاسمی اینترمدیا، افزایش قابل توجه HbA2 در بتا تالاسمی مینور.

جدول ۲: روش‌های معمول تشخیص بتا تالاسمی

آزمایش ژنتیک مولکولی می‌تواند کمک زیادی به تشخیص و شناسایی جهش نماید. جهش‌های معمولی که در ژن بتا - گلوبین رخ می‌دهند توسط تکنیک‌هایی که بر پایه PCR هستند شناسایی شوند (۲۰). از این روش جهت تشخیص قطعی بتا تالاسمی می‌توان استفاده نمود. از آنجایی که در هر جمعیتی تعداد محدودی از جهش‌ها شایع هستند، این مسئله سبب آسان‌تر شدن انجام آزمون‌های ژنتیک مولکولی می‌شود. با این وجود روش‌های ژنتیک مولکولی نمی‌توانند جایگزین آزمون‌های تشخیصی بیوشیمیایی و هماتولوژیک گردند.

به استثنای موارد نادر، اغلب هموگلوبینوپاتی‌ها دارای وراثت اتوزومال مغلوب بوده و افراد هتروزیگوت عموماً وضعیت بالینی مناسبی دارند. شناسایی افراد هتروزیگوت یا ناقل بوسیله آزمون‌های تشخیصی هماتولوژیک قابل اعتماد امکان پذیر

1. Allele-Specific Oligonucleotide

2. Amplification Refractory Mutation System

خون محیطی EDTA دار و یا خون بند ناف می‌باشد. برای انجام PND^۳ نیز استخراج DNA از پرزهای کوریونی به دنبال آسپیراسیون سرویکال یا شکمی در هفته ۱۱ جنینی و همچنین از سلول‌های مایع آمنیوتیک معمولاً حدود هفته‌های ۱۸-۱۵ جنینی انجام می‌گیرد. در روش‌های غیر تهاجمی می‌توان استخراج DNA را از سلول‌های جنینی یا DNA جنینی موجود در گردش خون مادر انجام داد. اما روش اخیر به عنوان یک روش معمول برای تشخیص هموگلوبینوپاتی‌ها استفاده نمی‌گردد (۲۵،۲۶). سازمان بهداشت جهانی (WHO) برنامه کنترلی شامل افزایش آگاهی عمومی در مورد بیماری، غربالگری ناقلین بیماری، تشخیص پیش از تولد و مشاوره ژنتیکی را پیشنهاد می‌کند که منجر به جلوگیری از تولد نوزاد بیمار می‌شود (۲۷).

مدیریت درمانی بیماری تالاسمی

تالاسمی ماژور

انتقال خون: هدف از انتقال خون در بیماران بتا تالاسمی بهبود وضعیت آمی، سرکوب اریتروپوئز غیر موثر و مهار جذب آهن در دستگاه گوارش می‌باشد. زمان شروع انتقال خون در بیماران با تشخیص بتا تالاسمی با توجه به شدت آمی تعیین می‌گردد. در مواردی که هموگلوبین به مدت دو هفته کمتر از ۷ گرم بر دسی لیتر باشد، انتقال خون در برنامه درمانی بیمار قرار می‌گیرد. در بیمارانی با هموگلوبین بیشتر از ۷ گرم بر دسی لیتر، عوامل دیگر شامل تغییرات صورت، اختلال رشد، مدارکی دال بر گسترش فضای خونسازی و بزرگی طحال در استفاده از تزریق خون جهت درمان بیماران مورد توجه قرار می‌گیرند.

افزایش بار آهن، شایع‌ترین عارضه تزریق خون است. دیگر عوارض ناشی از انتقال خون شامل، عفونت‌ها (ویروسی، باکتریایی و انگلی)، واکنش‌های همولیتیک و غیر همولیتیک می‌باشند (۵).

در هموگلوبینوپاتی‌ها کاربرد دارند. در صورتی که تکنیک‌های بر پایه PCR جهت شناسایی جهش‌های ناشناخته بر مبنای DNA تک رشته‌ای تغییر ساختار یافته طراحی می‌شود و شامل تکنیک‌هایی نظیر DGGE^۲، SSCP^۴ و آنالیز DNA دو رشته‌ای^۵ می‌باشند. در اینجا تشخیص محل جهش بر اساس الگوی تغییر یافته حرکت مولکول DNA می‌باشد.

بدین ترتیب ناحیه هدف، شناسایی شده و در ادامه تشخیص جهش مورد نظر انجام می‌گیرد. روش نهایی جهت تشخیص جهش، تکنیک آنالیز مستقیم تعیین توالی^۶ می‌باشد، که در آن توالی مورد نظر بطور اختصاصی PCR شده است. در واقع در یک دهه اخیر تعیین توالی با استفاده از sequencerهای اتوماتیک بدلیل سرعت و دقت بالا و عدم استفاده از مواد رادیواکتیو به عنوان ابزار تشخیصی معمول مورد استفاده قرار می‌گیرد.

نکته قابل توجه اینکه تکنیک تعیین توالی جهت شناسایی جهش‌ها در ژن‌های نزدیک به هم و با توالی‌های کوتاه مثل ژن‌های گلوبینی و با طول 1/6-1/2 kb بسیار کاربردی می‌باشد. به کمک تعیین توالی می‌توان اغلب جهش‌های نقطه‌ای در ساختار ژن‌های گلوبینی و یا در توالی‌های مجاور را شناسایی نمود. تکنیک ساترن بلات هم می‌توان گفت که جزء معدود تکنیک‌هایی است که بر پایه PCR نبوده ولی همچنان به عنوان یک تکنیک مولکولی با ارزش جهت تشخیص هموگلوبینوپاتی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد.

این تکنیک جهت شناسایی جهش‌های حذفی بزرگ، بازآرایی‌ها و شناسایی جهش‌های جدید بسیار کاربردی می‌باشد. همچنین از تکنیک Gap-PCR جهت شناسایی جهش‌های حذفی شایع در ژن‌های گلوبینی با استفاده از طراحی پرایمرهای اختصاصی جهت اتصال به نواحی کناری ناحیه حذف شده می‌توان استفاده نمود. با این وجود هر کدام از تکنیک‌های نام برده شده دارای محدودیت‌هایی می‌باشند. انتخاب تکنیک تشخیصی مناسب با توجه به نوع جهش‌های شایع در هر منطقه و مهارت تکنسین‌ها روی تکنیک مورد نظر اهمیت ویژه‌ای دارد. توصیه می‌شود هر آزمایشگاه تشخیصی ژنتیک دارای حداقل دو تکنیک جایگزین برای تشخیص جهش‌ها باشد (۲).

تشخیص پیش از تولد

مهمترین منبع استخراج DNA از لکوسیت‌های جدا شده از

3. Denaturation Gradient Gel Electrophoresis
4. Single-Strand Conformation Polymorphism
5. Heteroduplex analysis
6. Sequencing
7. Pre Natal Diagnosis

درمان افزایش بار آهن

دِفروکسامین (DFO)

در ۳۰ سال گذشته، درمان مرسوم بتا تالاسمی ماژور بر پایه تزریق منظم خون و داروهای شلاته کننده آهن مثل دِفروکسامین (DFO) بوده است که بطور چشمگیری عوارض بیماری را بهبود می بخشد. تزریق مناسب DFO، باعث کاهش یا جلوگیری از تجمع آهن و آسیب بافتی بواسطه رسوب آهن و در نتیجه کاهش مرگ و میر می شود (۲۹). بهر حال به چندین دلیل شلاته درمانی با DFO ممکن است نامناسب باشد. در دسترس نبودن DFO برای اکثر بیماران بتا تالاسمی و عوارض ناشی از مصرف دارو در بیماران منجر به توجه به استفاده از سایر داروهای شلاته کننده آهن شد. از جمله خصوصیات مهم برای شلاته کننده های آهن، افینیتی بالا و ویژگی برای Fe^{3+} ، افینیتی بالای شلاته کنندگی، سرعت پایین متابولیسم، نفوذ پذیری سلولی و بافتی، عدم توزیع مجدد آهن، غیر سمی، ارزان و در دسترس بودن می باشد (۳۰).

در مدیریت درمانی بیماری بتا تالاسمی ماژور استفاده از روش های جدید برای اندازه گیری تجمع بافتی آهن و داروهای جدید برای برداشت بار آهن اضافی حائز اهمیت می باشند. از جمله داروهای جدید شلاته کننده آهن می توان به دفریپرون (DFP) و ICL670 که بصورت خوراکی و همچنین هیدروکسی بنزن - اتیلن دی آمین - دی استیک اسید^۸ و دِفروکسامین نشاسته ای که بصورت تزریقی استفاده می شوند اشاره داشت. راه کار شلاته درمانی با بکارگیری همزمان دو داروی شلاته کننده آهن، احتمال برداشت آهن با اثر بیشتر و کمترین عوارض بالینی را فراهم می کند. رویکرد استفاده از شلاته درمانی در آینده با هدف استفاده از داروهایی با توانایی برداشت و حذف بار آهن از بافت های خاص مانند قلب و کبد می باشد (۳۱).

دفریپرون (DFP):

در حال حاضر دفریپرون یا (DFP) L1، تنها داروی شلاته کننده خوراکی مورد استفاده بالینی می باشد. مطالعات نشان دهنده تأثیر مناسب دفریپرون در کاهش سطح فریتین سرم و غلظت آهن کبد در اکثر بیماران وابسته به تزریق خون می باشد (۳۲). مهم ترین عارضه جانبی استفاده از دفریپرون، آگرانولوسیتوز می باشد (۳۳). البته عوارض جانبی شایعتر و با شدت کمتر شامل اختلالات دستگاه

گوارش، درد مفاصل و فقر روی در بیماران می تواند مشاهده گردد. مطالعات نشان می دهند که درمان بیماران با DFO، باعث کاهش مناسب رسوب آهن در بافت قلب و بهبود عملکرد قلب در مقایسه با سایر بیماران می شود (۳۴، ۳۵). دسفریتوسین (DFT) دیگر داروی خوراکی شلاته کننده آهن بوده که دارای قدرت بالایی در برداشت آهن Fe^{3+} از بافت ها می باشد (۳۶). دیگر شلاته کننده های آهن از جمله 40SD02، 252-ICL670، GT56 و HBED و PIH در دست بررسی می باشند. در مجموع می توان گفت که استفاده از راه کار شلاته درمانی ترکیبی می تواند در برنامه درمانی بیماران بتا تالاسمی مورد توجه قرار گیرد. این ترکیب باید دارای مزایایی از جمله دسترسی به تمام ذخائر آهن، جلوگیری از تجمع آهن غیر ترانسفرینی متصل شده و در مجموع بهبود کیفیت زندگی بیماران باشد.

پیوند مغزاستخوان و خون بندناف

پیوند مغزاستخوان^۹، تنها راه کار درمانی قطعی موجود برای درمان بیماران بتا تالاسمی می باشد. موفقیت در انجام BMT با شرایط بالینی بیمار پیش از انجام پیوند بخصوص در مورد بزرگی کبد، فیروز کبد، شلاته درمانی منظم در گذشته و شدت تجمع آهن مرتبط می باشد (۳۷).

بزرگترین محدودیت انجام BMT آلوتژنیک، کمبود دهنده پیوند با HLA مشابه در اکثر موارد می باشد. البته حدود ۳۰-۲۵٪ بیماران می توانند دهنده خواهر یا برادر سازگار از نظر HLA داشته باشند. انجام BMT با استفاده از دهنده های غیر خویشاوند بیماران بتا تالاسمی کاربرد کمی دارد (۳۸). اگر BMT موفقیت آمیز باشد، افزایش بار آهن می تواند توسط فلپوتومی مکرر کاهش یابد، بدون آنکه نیازی به استفاده از داروهای شلاته کننده های آهن باشد. از عوارض شایع BMT می توان به بیماری مزمن پیوند علیه میزبان^{۱۰} با در ۸-۵٪ از بیماران اشاره داشت.

استفاده از پیوند سلول های بنیادی خون بند ناف در بیماران بتا تالاسمی با درصد موفقیت بالا و کاهش احتمال ایجاد GVHD همراه می باشد (۳۹، ۴۰). در شرایطی که والدینی دارای فرزند

8. HBED

9. BMT

10. GVHD

نتیجه‌گیری

با توجه به مشکلات زیادی که افراد با بتا تالاسمی ماژور با آن مواجه هستند، به نظر می‌رسد مهمترین راه کار مقابله با آن بالا بردن آگاهی عمومی افراد جامعه می‌باشد تا از تولد چنین افرادی جلوگیری شود. در صورت بارداری زوجین با تالاسمی مینور به هر دلیلی، تشخیص قبل از تولد دیگر راه کار می‌باشد که البته باید در زمان مناسب انجام گیرد تا در صورت مشاهده جنین مبتلا اقدامات بعدی صورت گیرد. با توجه به اهمیت استفاده از تکنیک‌های مولکولی بر پایه PCR در شناسایی واریان‌های مختلف و شناسایی پیش از تولد در این مقاله سعی شده است که علاوه بر تعریف، توصیف و طبقه بندی بالینی بتا تالاسمی راه کارهای تشخیصی معمول و مولکولی مورد بررسی قرار گرفته و به بررسی اپیدمیولوژی و مقایسه شیوع واریان‌های آلی مختلف در مناطق مختلف ایران و سایر مناطق جهان پرداخته شود. در ادامه به بررسی راه کارهای درمانی رایج و نوین پرداخته شده است. مشکل اصلی افراد با تالاسمی بتا ماژور رسوب آهن در بافت‌های مختلف در نتیجه انتقال خون مکرر می‌باشد. جهت جلوگیری از چنین وضعیتی داروهای شلاته کننده آهن مورد استفاده قرار می‌گیرند. مشکل استفاده از اینچنین داروهایی این است که نمی‌توانند تمام آهن تزریق شده را دفع کنند و در نتیجه موجب رسوب آهن در بافت‌ها می‌شوند و همچنین باید بطور دائم مورد استفاده قرار گیرند. بنابر این به نظر می‌رسد با توجه به پیشرفت‌های حاصله در زمینه پیوند سلول‌های بنیادی می‌توان از چنین سلول‌هایی استفاده کرد تا مشکلات مربوط به انتقال خون مکرر و عوارض جانبی آن مرتفع گردد. در حال حاضر استفاده از پیوند سلول‌های بنیادی خون بندناف و مغزاستخوان به عنوان تنها راه کار درمانی قطعی و مؤثر برای بتا تالاسمی مطرح می‌باشد. در صورت وجود اهدا کننده سازگار از نظر HLA، پیوند مغز استخوان می‌تواند به درمان قطعی بیمار منجر شود. ■

بتا تالاسمی و جنینی سالم (با تشخیص پیش از تولد) در بارداری بعدی می‌باشند، شناسایی پیش از تولد HLA سازگار بین فرزند بیمار و جنین سالم، جمع آوری خون جفت در هنگام زایمان و انتخاب پیوند خون بند ناف برای درمان فرزند بیمار را میسر می‌سازد (۴۱).

تالاسمی اینترمدیا

توجه به درمان تنها در افراد با بتا تالاسمی اینترمدیا در صورت وجود علائم بالینی اهمیت می‌یابد (۴۱). برداشت طحال از جمله راه کارهای درمان مورد استفاده برای این بیماران می‌باشد. در واقع بزرگی طحال در بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا عامل ایجاد آمی شدید، تأخیر در رشد و اختلال عملکرد طحال می‌باشد. البته خطرات ناشی از برداشتن طحال شامل، افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌ها و ترومبوآمبولی وریدی باید مورد توجه قرار گیرند. برای جلوگیری از عفونت‌های بعد از برداشتن طحال از آنتی بیوتیک یا واکسن‌هایی علیه عفونت خاص استفاده می‌شود (۴۲). برای جلوگیری از ترومبوز نیز از ضد انعقادها پیش از انجام جراحی استفاده می‌شود (۴۳).

برای درمان خونسازی خارج از مغزاستخوان در بیماران نیز از انتقال خون یا هیدروکسی کربامید استفاده می‌شود. زمانی که افزایش بار آهن وجود داشته باشد، استفاده از شلاته کننده‌های آهن مدنظر قرار می‌گیرد (۴۳-۴۵). در این بیماران برای درمان زخم‌های پا نیز از مکمل روی و پنتوکسیفیلین استفاده می‌شود (۴۵). در سال‌های اخیر نیز استفاده از داروهای القا کننده اپی ژنتیکی بیان هموگلوبین جنینی به عنوان یک راه کار نوین درمانی مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از ترکیب دو داروی تالییدوماید و سدیم بوتیرات می‌تواند سبب القای مؤثر سطح هموگلوبین جنینی گردد (۴۶، ۴۷).

- Hemoglobinopathies and Thalassemias: Review and Update. *Clinical Chemistry* 2000;46: 1284–1290.
25. Mavrou A, Kouvidi E, Antsaklis A, et al. Identification of nucleated red blood cells in maternal circulation: a second step in screening for fetal aneuploidies and pregnancy complications. *Prenat Diagn* 2007;27: 150-153.
 26. Lo YM. Recent advances in fetal nucleic acids in maternal plasma. *J Histochem Cytochem* 2005;53: 293-296.
 27. Rahim F, Kaeikhaei B, Aberumand M. Prenatal Diagnosis (PND) of β -Thalassemia in the Khuzestan Province, Iran. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2007;1: 454-459.
 28. Alan RC, Renzo G, Dudley JP, et al. Thalassemia. *American Society of Hematology* 2004: 14-34.
 29. Lorey F, Charoenkwan P, Witkowska HE, et al. Hb H hydrops foetalis syndrome: a case report and review of literature. *Br J Haematol* 2001; 115(1): 72-8.
 30. Cappellini MD. Iron-chelating therapy with the new oral agent ICL670. *Best Practice and Research Clinical Hematology*. 2005;18: 289-298.
 31. Hoffbrand AV, Cohen A, Hershko C. Role of deferiprone in chelation therapy for transfusional iron overload. *Blood* 2003;102: 17-22.
 32. Cohen AR, Galanello R, Piga A, et al. Safety profile of the oral iron chelator deferiprone: a multicenter study. *Br J Haematol*. 2000;108: 305-312.
 33. Piga A, Caglioti C, Fogliacco E and Tricta F. Comparative effects of deferiprone and deferoxamine on survival and cardiac disease in patients with thalassemia major: a retrospective analysis. *Haematologica*, 2003;88: 489-496.
 34. Anderson LJ, Wonke B, Prescott E, et al. Comparison of effects of oral deferiprone and subcutaneous desferrioxamine on myocardial iron concentrations and ventricular function in beta-thalassemia. *Lancet* 2002;360: 516-520.
 35. Nick H, Acklin P, Lattmann R, et al. Development of tridentate iron chelators: from desferriothiocin to ICL670. *Curr Med Chem* 2003;10: 1065-1076.
 36. Gaziev J, Lucarelli G. Stem cell transplantation for hemoglobinopathies. *Curr Opin Pediatr* 2003;15: 24-31.
 37. La Nasa G, Argioli F, Giardini C, et al. Unrelated bone marrow transplantation for beta-thalassemia patients: The experience of the Italian Bone Marrow Transplant Group. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1054: 186-195.
 38. Pinto FO, Roberts I. Cord blood stem cell transplantation for haemoglobinopathies. *Br J Haematol* 2008;141: 309-324.
 39. Locatelli F, Rocha V, Reed W, et al. Related umbilical cord blood transplantation in patients with thalassemia and sickle cell disease. *Blood* 2003;101: 2137-2143.
 40. Orofino MG, Argioli F, Sanna MA, et al. Fetal HLA typing in beta thalassemia: implications for haemopoietic stem-cell transplantation. *Lancet* 2003;362: 41-42.
 41. Ali T, Hussain I, Maria DC. Thalassemia intermedia: Revisited. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2006;37: 12–20.
 42. Taher A, Isma'eel H, Mehio G, et al. Prevalence of thromboembolic events among 8860 patients with thalassemia major and intermedia in the Mediterranean area and Iran. *Thromb Haemost* 2006;96(4): 488-91.
 43. Karimi M, Darzi H, Yavarian M. Hematologic and clinical responses of thalassemia intermedia patients to hydroxyurea during 6 years of therapy in Iran. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005;27: 380-385
 44. Cario H, Wegener M, Debatin KM and Kohne E. Treatment with hydroxyurea in thalassemia intermedia with paravertebral pseudotumors of extramedullary hematopoiesis. *Ann Hematol* 2002;81: 478–482.
 45. Dettelbach HR, Aviado DM. Clinical pharmacology of pentoxifylline with special reference to its hemorrheologic effect for the treatment of intermittent claudication. *J. Clin. Pharmacol* 1985;25: 8-26.
 46. Ahmadvand M, Noruzinia M, Soleimani M, et al. In vitro induction of gamma globin gene in erythroid cells derived from CD133+ by thalidomide and sodium butyrate (In Persian). *Genetics in the third millennium* 2011;9(2): 2373-78.
 47. Dehghani-Fard A, Kaviani S, Noruzinia M, et al. Evaluation of synergistic effect of sodium butyrate and thalidomide on HbF induction in erythroid progenitors of cord blood CD133+ cells. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences (In Persian) (In Press)*.

1. Muncie HL Jr, Campbell J. Alpha and beta thalassemia. *Am Fam Physician* 2009;15;80(4): 339-44.
2. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis* 2010;21;5:11.
3. Thalassemia International Federation: Guidelines for the clinical management of thalassemia 2nd edition. 2008. (<http://www.thalassemia.org.cy>).
4. Borgna-Pignatti C, Vergine G, Lombardo T, et al. Hepatocellular carcinoma in the thalassemia syndromes. *Br J Haematol* 2004;124: 114-117.
5. Borgna-Pignatti C, Cappellini MD, De Stefano P, et al, Survival and complications in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1054: 40-47.
6. Galanello R, Piras S, Barella S, et al. Cholelithiasis and Gilbert's syndrome in homozygous betathalassemia. *Br J Haematol* 2001;115: 926-928.
7. Taher AT, Otrrock ZK, Uthman I and Cappellini MD. Thalassemia and hypercoagulability. *Blood Rev* 2008;22: 283-292.
8. Rahim F and Abromand M. spectrum OF β -Thalassemia mutations in various ethnic regions of IRAN. *Pak J Med Sci* 2008;24: 410-415.
9. Rahim F, Kaeikhaei B, Akbari MT. Application of diagnostic methods and molecular diagnosis of hemoglobin disorders in khuzestan province of Iran. *Indian Journal of Human Genetics* 2007;13: 5-15.
10. Giardine B, van Baal S, Kaimakis P, et al. HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations: 2007 update. *Hum Mutat* 2007;208: 206.
11. Huisman THJ, Carver MFH, Baysal E. A Syllabus of Thalassemia Mutations. The Sickle Cell Anemia Foundation, 1997.
12. Arab A, Karimipoor M, Rajabi A, et al. Molecular characterization of β -thalassemia intermedia: a report from Iran. *Mol Biol Rep* 2011;38(7):4321-6.
13. Orkin SH, Kazazian HH, Jr Antonarakis SE, et al. Linkage of beta - thalassemia mutations and beta-globin gene polymorphisms with DNA polymorphisms in human betaglobin gene cluster. *Nature* 1982;296: 627-631.
14. Kazazian HH, Orkin SH, Antonarakis SE, et al. Molecular characterization of seven beta - Thalassemia mutations in Asian Indians. *EMBO J* 1984;3: 593-596
15. Ohba Y, Hattori Y, Harano K, et al. β -thalassemia mutations in Japanese and Koreans. *Hemoglobin* 1997;21: 191-200.
16. Antonarakis SE, Irkin SH, Cheng TC, et al. beta - Thalassemia in American Blacks: novel mutations in the "TATA" box and an acceptor splice site. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81: 1154-1158.
17. Cheng TC, Orkin SH, Antonarakis SE, et al. beta- Thalassemia in Chinese: use of in vivo RNA analysis and oligonucleotide hybridization in systematic characterization of molecular defects. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81: 2821-2825.
18. Rahim F. Microcytic hypochromic anemia patients with thalassemia: genotyping approach. *Indian Journal of Medical Sciences* 2009;63: 101-108.
19. Rahim F, Kaeikhaei B. Better differential diagnosis of iron deficiency anemia from beta-thalassemia trait. *Turk J Hematol* 2009;26: 138-145.
20. Rahim F, Kaeikhaei B, Zandian K and Hoseini A. Co-inheritance of a-and b-thalassemia in Khuzestan Province, Iran. *Hematology* 2008;13: 1-7.
21. Vrettou C, Traeger-Synodinos J, Tzetis M, et al. Rapid screening of multiple betaglobin gene mutations by real-time PCR on the LightCycler: application to carrier screening and prenatal diagnosis of thalassemia syndromes. *Clin Chem* 2003;49: 769-776.
22. Galanello R, Melis MA, Ruggeri R, et al. Beta0 thalassemia trait in Sardinia. *Hemoglobin* 1979;3: 33-46.
23. Rahim F. Correlation of beta-thalassemia mutations with alpha-thalassemia: an experience of the southwestern region of Iran. *hematology* 2010;15(6):430-3.
24. Gwendolyn MC, Trefor NH. Laboratory Investigation of