

جهش‌های ژن بتا گلوبین در بیماران مبتلا به بتا تالاسمی ما ژور وابسته به تزریق خون مراجعه کننده به مراکز درمانی استان کردستان

آرزو دارابی^۱، فاطمه کشاورزی^۲، بهاره صداقتی خیاط^۳، پیمان صالحی فر^۴، محبوبه مسعودی فرد^۵، آزاد فتاحی راد^۶، سیروس زینلی^۷، محمدصادق فلاح^۸

۱. کارشناس ارشد گروه زیست شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲. استادیار گروه ژنتیک، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۳. کارشناس ارشد مرکز تحقیقات سلولی مولکولی غدد درون ریز، پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ایران

۴. کارشناس اداره کل انتقال خون استان کردستان، سنندج، ایران

۵. کارشناس مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی کوثر، تهران، ایران

۶. پزشک بیمارستان توحید، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۷. استاد مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی کوثر، تهران، ایران، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۸. استادیار مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی کوثر، تهران، ایران، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی غدد درون ریز، پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید

بهشتی، تهران ایران (نویسنده مسؤل)، تلفن ثابت: ۸۸۹۳۰۸۶۶-۰۲۱، sadegh.fallah@gmail.com

چکیده

مقدمه: تالاسمی بتا، اختلال شایع سنتز هموگلوبین با توارث اتوزومال مغلوب می‌باشد. جهش‌های شناخته شده در ژن بتا گلوبین بالغ بر ۲۰۰ مورد است. در این مطالعه جهش‌های بتا تالاسمی در بیماران وابسته به خون مراجعه کننده به مراکز درمانی استان کردستان در فاصله دی ۱۳۹۱ تا اردیبهشت ۱۳۹۳ مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: این پژوهش یک مطالعه توصیفی است و ۶۸ بیمار وابسته به خون مراجعه کننده به مراکز درمانی استان کردستان با تشخیص بتا تالاسمی ماژور مورد بررسی قرار گرفتند. پرسشنامه توسط بیماران و والدین آنها تکمیل شد و سپس افرادی با تالاسمی بتا بر اساس آزمایش CBC و الکتروفورز هموگلوبین تشخیص داده شد و ۵ میلی‌لیتر خون وریدی از هر بیمار اخذ گردید. DNA با روش استاندارد salting out استخراج شد. جهش‌های ژن بتا گلوبین به روش ARMS-PCR و توالی یابی مستقیم DNA بررسی شد.

یافته‌ها: جهش IVS-II-1 در ۳۰ آلل (۲۲/۵٪)، جهش Fr8-9(+G) در ۲۲ آلل (۱۵/۹۴٪)، جهش IVSI-1 در ۱۳ آلل (۹/۴۲٪) و جهش C36/37(-T) در ۱۱ آلل (۹۷٪) شایعترین جهش‌ها بودند. نوع جهش در ۴۲ آلل از مجموع ۱۳۸ آلل مورد بررسی ناشناخته باقی ماند.

نتیجه گیری: این نتایج با مطالعه ای در شهر سنندج در سال ۱۳۸۲ قابل مقایسه است، اما جهش C36/37 در مطالعه حاضر فراوانی بیشتری را نشان داد.

کلید واژه: تالاسمی بتا، ARMS-PCR، کردستان، جهش

وصول مقاله: ۹۳/۷/۶ اصلاحیه نهایی: ۹۴/۴/۱۴ پذیرش: ۹۴/۴/۱۵

مقدمه

تالاسمی از شایع ترین بیماری های ژنتیک در جهان است که به صورت اتوزومال مغلوب به ارث می رسد و در کشورهای کرانه دریای مدیترانه، خاور میانه و کشورهای جنوب شرق آسیا شایع می باشد (۱). ۱/۵٪ از جمعیت جهان (۹۰-۸۰ میلیون نفر) ناقل بتا تالاسمی هستند (۲) و ۱/۳۳ میلیون نفر از حاملگی ها در دنیا تحت خطر تالاسمی ماژور می باشند (۳). سالانه بیش از ۵۶۰۰۰ مورد بارداری در دنیا منجر به تولد نوزاد مبتلا به تالاسمی ماژور می گردد که بیشتر این بیماران در کشورهای در حال توسعه و کشورهای فقیر به دنیا می آیند (۲). بیشترین فراوانی ناقلین تالاسمی بتا ۱۰٪ و در ایران در شمال کشور و حاشیه دریای خزر و در جنوب کشور حاشیه خلیج فارس و دریای عمان می باشد (۴). فراوانی در دیگر قسمتهای کشور ۸-۴٪ تخمین زده شده است (۵). بیش از ۹۵٪ از کل جهش های بتا تالاسمی از نوع جهش های نقطه ای در ژن بتا گلوبین و مابقی از نوع جهش های حذفی می باشد (۶). بررسی های بعمل آمده در دو دهه اخیر در استان های مختلف کشور حاکی از پراکندگی جهش ها از نظر نوع و فراوانی، به دلیل ناهمگنی ژنتیکی - قومی بوده است (۷). تاکنون بیش از ۲۰۰ جهش مختلف در ژن بتا گلوبین شناسایی گردیده که بیش از ۶۰ نوع آن در بیماران ایرانی گزارش شده است (۸). با توجه به اینکه جمعیت کشور از گروه های قومی مختلف تشکیل گردیده، تعیین توزیع فراوانی جهش های ژن بتا گلوبین در بخش های مختلف کشور می تواند به تشخیص سریع تر ناقلین قبل از ازدواج و تشخیص قبل از تولد در جنین کمک نماید (۹ و ۱۰). به همین منظور جهش های ژن بتا گلوبین در بیماران وابسته به خون مراجعه کننده به مراکز درمانی سطح استان کردستان با تشخیص اولیه بتا تالاسمی ماژور، در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی همه بیماران وابسته به خون مراجعه کننده به مراکز درمانی استان کردستان مورد بررسی قرار گرفتند. برای تشخیص تالاسمی بتا از والدین بیماران ۵ میلی لیتر خون وریدی گرفته شد. پس از شمارش گلبولهای قرمز، اندازه گیری میزان هموگلوبین و تعیین MCV و MCH بوسیله دستگاه SYSMEX KX21N، الکتروفورز هموگلوبین به روش استات سلولز انجام گردید. والدین با مقادیر MCV کمتر از ۸۰، MCH کمتر از ۲۷، HbA2 و HbF بیشتر از ۵٪ و ۵٪ به عنوان ناقل بتا تالاسمی که احتمال داشتن فرزندان مبتلا به بتا تالاسمی ماژور را داشتند، شناسایی شدند. از بیماران واجد والدین ناقل، ۵ سی سی خون وریدی گرفته شد و در لوله های حاوی EDTA وارد شد، سپس با تکنیک salting out DNA (۶) استخراج شد. جهش های شایع ژن بتا گلوبین شامل IVSII-1، IVSI-1، IVSI-110، C39، C36-37، C44، Fr8/9 و IVSI-6 و با استفاده از روش استاندارد ARMS-PCR و آغازگرهای مقالات (۷ و ۸) مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). پس از انجام PCR، جداسازی محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵٪ انجام شد و محصول اختصاصی نمونه نرمال و نمونه حاوی جهش جدا گردید.

در نمونه های فاقد جهش شایع، تعیین توالی مستقیم به روش sanger انجام گردید. تشخیص نهایی بیماری بتا تالاسمی ماژور با بررسی مولکولی ژن بتا گلوبین و تعیین جهش با روش PCR و تعیین توالی حاصل گردید. جهت تفسیر نتایج حاصل از توالی یابی ابتدا از نرم افزار chromas جهت بررسی توالی ها استفاده شد و سپس با استفاده از نرم افزار DNA STAR نتایج آنالیز شدند. فراوانی ژنوتیپی و آللی به صورت تعداد (درصد) ارایه گردیدند.

جدول ۱: خصوصیات جهش های شایع مورد بررسی در این مطالعه بر گرفته از پایگاه اطلاعاتی واریانت های هموگلوبین انسانی و تالاسمی (Globin gene server) (۹)

Name	HGVS nomenclature	Severity
IVSII-1(G>A)	HBB:c.315+1G>A	beta0
Fr8-9(+G)	HBB:c27_28insG	beta0
IVSI-1	HBB:c.92+1G>T	beta0
IVSI-110(G>A)	HBB:c.93-21G>A	beta+
C36/37(-T)	HBB:c.112delT	beta0
IVSI-6(T>C)	HBB:c.92+6T>C	beta+
C44(-C):TCC>TC-	HBB:c.136delT	beta0
C39(C>T):CAG>TAG	HBB:c.118C>T	beta0

نتایج

از تزریق خون و یا بررسی CBC والدین ۶۸ بیمار با تشخیص بتا تالاسمی ماژور برای بررسی مولکولی انتخاب شدند. میانگین سنی بیماران $16 \pm 6/89$ سال، ۳۵ نفر مرد ($51/5\%$) و ۳۳ نفر زن ($48/5\%$) بودند. توزیع فراوانی بیماران مورد مطالعه به تفکیک شهر محل زندگی در جدول ۲ ذکر شده است.

در این پژوهش ۹۸ نمونه خون از بیماران وابسته به خون مراجعه کننده به بیمارستانهای شهرستانهای بانه، سقز، بیجار، قروه، مریوان و سنندج با تشخیص اولیه تالاسمی ماژور وارد مطالعه شدند. همه بیماران از قومیت کرد بودند. از بین بیمارانی که دارای نسبت فامیلی بودند، از هر خانواده فقط یک نمونه بررسی گردید. پس از بررسی CBC بیماران قبل

جدول ۲: توزیع فراوانی بیماران بتا تالاسمی مورد مطالعه به تفکیک شهر محل زندگی

شهرستان	(درصد) تعداد	مرد	زن
سنندج	۲۶ (۳۸/۲۳%)	۱۵	۱۱
سقز	۱۳ (۱۹/۱۱%)	۷	۶
مریوان	۱۲ (۱۷/۶۴%)	۵	۷
بانه	۱۱ (۱۶/۱۷%)	۳	۸
بیجار	۴ (۵/۸۸%)	۳	۱
قروه	۲ (۲/۹۴%)	۲	-
جمع	۶۸ (۱۰۰%)	۳۵ (۵۱/۵%)	۳۳ (۴۸/۵%)

میانگین در سن ۲۶ ماهگی (انحراف معیار ۲۷/۶۵) انجام شده بود و از ۵ ماهگی تا ۱۰ سالگی متغیر بود. ۳۳ نفر از بیماران ($48/5\%$) بطور ماهانه، ۴ نفر ($5/9\%$) هر ۲۰ روز یکبار و ۱ نفر ($1/5\%$) نیز ۲ بار در ماه خون دریافت می نمودند. برنامه تزریق خون ۳۰ نفر ($43/8\%$) نیز در دسترس نبود. ۲۳

والدین ۲۲ نفر ($22/4\%$) از بیماران با یکدیگر نسبت فامیلی درجه ۳ (first cousin) داشتند. ۱۲ نفر از بیماران ($14/6\%$) دارای سابقه فامیلی بیماری تالاسمی بودند میانگین سن تشخیص بیماری ۱۹ ماهگی (انحراف معیار ۲۰/۸۷) و از ۱۰ ماهگی تا ۱۰ سالگی متغیر بود. اولین تزریق خون به طور

طحال شده بودند که منجر به جراحی و برداشتن طحال در این بیماران شده بود. هیچ کدام از بیماران عارضه بزرگی کبد نداشتند. اطلاعات مربوط به شاخص‌های خونی والدین بیماران (افراد تالاسمی مینور) در جدول ۳ ارائه شده است.

نفر (۵۳۳/۸۲٪) درمانهای مربوط به جلوگیری از تجمع آهن در بدن را دریافت کرده و ۱۱ نفر (۵۶/۲٪) فاقد برنامه درمان آهن زدا بودند. اطلاعات درمان آهن در ۳۴ نفر (۵۰٪) هم مشخص نبود. ۴۵ نفر (۶۶/۲٪) از بیماران دارای تغییر چهره خاص بیماران تالاسمی و ۴۵ نفر (۶۶/۲٪) دچار بزرگی

جدول ۳: شاخص‌های خونی والدین بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور (۱۱۴ نفر)

دامنه	انحراف معیار ± میانگین	شاخص‌های خونی
۶۰/۴ - ۷۱/۷	۰۵/۶ ± ۶۱/۰	سلول‌های قرمز خون (میلیون در میکرولیتر)
۴۰/۷ - ۳۰/۱۵	۶۵/۱۱ ± ۴۳/۱	هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)
۶۰/۵۴ - ۲۰/۸۲	۰۷/۶۴ ± ۶۱/۴	(fl) MCV
۷۰/۱۴ - ۳۰/۲۷	۳۱/۱۹ ± ۹۰/۱	(pg) MCH
۸۳ - ۵/۵	۴۹/۴ ± ۴۰/۰	(%) HbA2
۱ - ۱۲	۲۷/۱ ± ۱۸/۱	(%) HbF

هیچکدام از جهش‌های مورد بررسی نبود. جهش‌های ژن بتا گلوبین در ۱۴ نفر (۲۱/۷۳٪) نیز ناشناخته باقی ماند. از نظر فراوانی آللی، جهش IVSII-1(G>A) در ۳۰ کروموزوم (۲۲/۰۵٪) مشاهده شد و فراوان ترین آلل بود. به دنبال آن جهش‌های Fr8-9(+G) در ۲۲ کروموزوم (۱۵/۹۴٪)، جهش IVSI-1 در ۱۳ کروموزوم (۶/۴۲٪) و جهش C36/37(-T) در ۱۱ کروموزوم (۷/۹۷٪) فراوانترین آلل‌ها بودند (جدول ۴).

در بررسی ملکولی ژن بتا گلوبین، ژنوتیپ ۴۲ بیمار (۶۱/۷۶٪) به طور کامل تعیین گردید. شایع ترین ژنوتیپ مشاهده شده، هموزیگوت IVSII-1(G>A) در ۱۰ نفر (۱۴/۵٪)، هموزیگوت fr8-9(+G) در ۹ نفر (۳/۳۰٪) و پس از آن هتروزیگوت مرکب IVSII-1(G>A) / IVSI-1 در ۳ نفر (۶/۳۵٪) بود. در ۱۲ نفر (۱۷/۳۹٪) از بیماران فقط یک جهش مشخص شد و جهش دوم،

جدول ۴: فراوانی آللی جهش‌ها

نام جهش	(درصد) تعداد
IVSII-1(G>A)	۳۰ (۵/۲۲٪)
Fr8-9(+G)	۲۲ (۹۴/۱۵٪)
IVSI-1	۱۳ (۶/۲۹٪)
C36/37(-T)	۱۱ (۵/۷۷٪)
IVSI-110(G>A)	۵ (۶/۷۳٪)
IVSI-6(T>C)	۴ (۹۰/۲٪)
C44(-C):TCC>TC-	۴ (۹۰/۲٪)
C39(C>T):CAG>TAG	۲ (۴۵/۱٪)
IVSI-5	۲ (۴۵/۱٪)
C5	۲ (۴۵/۱٪)
Hb lepor	۱ (۷۲/۰٪)
آلل‌های شناخته نشده	۴۲ (۴۳/۳۰٪)
جمع	۱۳۸ (۱۰۰٪)

بحث

بیماری بتا تالاسمی در کشور ایران از فراوانی بالایی برخوردار است و برنامه ملی پیشگیری از بتا تالاسمی ماژور از سال ۱۳۷۶ در کشور در حال اجراست. در این برنامه زوجین قبل از عقد از نظر ناقل بودن برای جهش های بیماری زای ژن بتا گلوبین غربال می گردند و در صورت ناقل بودن هر دو نفر و وجود خطر بروز بیماری تالاسمی ماژور در فرزندان، مشاوره قبل از ازدواج و بارداری جهت انجام تشخیص قبل از تولد و پیشگیری از بیماری تالاسمی ماژور انجام می گیرد (۱۰). فتوای شرعی جهت انجام ختم بارداری در موارد ابتلای جنین به بیماری که موجب عسر و حرج مادر و خانواده می گردد، مدتی پس از شروع برنامه صادر گردید و حدود یک دهه قبل نیز قانون مرتبط با سقط درمانی در مجلس شورای اسلامی تصویب گردید (۱۱) که موجب تسهیل اجرای برنامه ملی پیشگیری از بروز تالاسمی ماژور در کشور شد.

جهش های متنوعی در کشور ما مسوول ایجاد بیماری بتا تالاسمی ماژور هستند. جهش IVSI-5 شایعترین جهش در استان های جنوب شرقی شامل سیستان و بلوچستان (۱۲) و کرمان (۱۳) می باشد. در حالی این جهش در سایر نقاط ایران از فراوانی کمتری برخوردار است. در استان خوزستان (۱۴ و ۱۵) جهش های IVSI-1، IVSI-110، Fr8-9 و C36-37، در استان مازندران (۱۶) IVSII-1 و در استان اصفهان (۱۷) IVSII-1، C36-37 و IVSI-5 فراوان ترین جهش گزارش شده می باشد.

در گزارش های قبلی از استانهای غربی (۱۸ و ۱۹) و شمال غربی (۲۰ و ۲۱) ایران جهش های IVSII-1، Fr8-9، IVSI-1، IVSI-110 و C36-37 دارای بیشترین فراوانی بوده اند. نتایج پژوهش حاضر موید پیروی الگوی فراوانی از الگوی غرب کشور می باشد. هر چند در مقایسه با نتایج مطالعات قبلی در سندج (۲۲ و ۱۸) جهش C36-37 نیز دارای فراوانی قابل توجهی است و از این نظر مشابه الگوی گزارش شده از شهر کرمانشاه (۱۹) می باشد. این

جهش در استانهای لرستان، چهار محال و بختیاری، خوزستان، همدان و اصفهان نیز از جهش های نسبتا شایع می باشد (۱۵ و ۳). این یافته حاکی از اهمیت این جهش، از نظر بررسی در زوج های ناقل در آستانه ازدواج می باشد. دیگر جهش هایی که در هر دو مطالعه بررسی شده اند تقریبا الگوی یکسانی را از نظر فراوانی نشان میدهند. جهش IVSI-110 در مطالعه حاضر از فراوانی کمتری نسبت به استان های آذربایجان غربی (۳/۵٪) و شرقی (۶/۵٪)، اردبیل (۴/۵/۵٪) ایلام و همدان برخوردار می باشد (۳).

با توجه به اینکه حدود نیمی از بیماران مورد مطالعه ۳۲ نفر (۵/۷/۰۵٪)، متولد سالهای ۵۶ تا ۷۶ (زمان قبل از اجرای برنامه کشوری پیشگیری از بتا تالاسمی ماژور) می باشند، میانگین سنی بالای بیماران در زمان تشخیص بیماری قابل توجهی می باشد. تشخیص دیر هنگام بیماری در این افراد منجر به شروع دیرتر درمان و در نتیجه ایجاد عوارض در این بیماران بوده است.

نتیجه گیری

علیرغم تنوع آلی جهش های ژن بتا گلوبین، تعدادی از این جهش ها جهش غالب هر منطقه جغرافیایی و نژادی را تشکیل می دهند. شناخت دقیق تابلوی مولکولی این بیماری در هر منطقه کمک شایانی به تسهیل روند بررسی مولکولی و تشخیص قبل از تولد بیماری در هر استان می نماید. با این وجود انجام تعیین توالی و بررسی حذف در ژنهای خوشه ژنی بتا گلوبین در موارد بتا تالاسمی که از الگوهای شایع پیروی نمی کنند، در تشخیص قبل از تولد بیماری بسیار حایز اهمیت می باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی کوثر انجام گردید. از پرسنل آزمایشگاه ژنتیک پزشکی دکتر زینلی بابت کمک در اجرای پژوهش و مدیریت محترم وقت اداره کل انتقال خون استان کردستان دکتر

محمد سعید کریمیان و نیز پرسنل آزمایشگاه های بیمارستان
های استان بابت همکاری در نمونه گیری سپاسگزاری می
شود.

Reference

1. Weatherall, D.J. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. *Blood*. 2010;115:4331.
2. Cao, A., Galanello, R. Beta-thalassemia. *Genet MED* 2010; 12: 61-76.
3. Rahimi, Z. Genetic epidemiology, hematological and clinical features of hemoglobinopathies in Iran. *BioMed Research International* 2013;1-11.
4. Hosseinpour Feizi, M.A., Hosseinpour Feizi, A.A., Pouladi, N., Haghi M., Azarfam, P. Molecular spectrum of beta-thalassemia mutations in Northwestern Iran. *Hemoglobin* 2008. 32 : 255-61.
5. Haghi, M., Hoseinpour Feizi, M.A., Hoseinpour Feizi, A.A. B-Thalassemia in Iran. *SSU Journals* 2010; 18: 127-133.
6. Miller, L.H., Haynes, J.D., McAuliffe, F.M. Evidence for differences in erythrocyte surface receptors for the malarial parasites, *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium knowlesi*. *J Exp Med*. 1977;146:277.
7. Fortina, P., Dotti, G., Conant, R., Monokian, G., Parrella, T., Hitchcock, W., Rappaport, E., Schwartz, E., Surrey, S. Detection of the most common mutations causing beta-thalassemia in Mediterraneans using a multiplex amplification refractory mutation system (MARMS). *Genome Research* 1992; 2: 163-166.
8. Haghi, M., Khorshidi, S., Hosseinpour Feizi, M.A., Pouladi, N., Hosseinpour Feizi, A.A. Beta-Thalassemia mutations in the Iranian Kurdish population of Kurdistan and West Azerbaijan provinces. *Hemoglobin* 2009; 33: 109-14.
9. Patrinos, G.P., Giardino, B., Riemer, C., Miller, W., Chui, D.H., Anagnou, N.P. Improvements in the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations for population and sequence variation studies. *Nucleic Acids Res*, 2004; 32: 537-41.
10. Samavat, A., Modell, B. Iranian national thalassaemia screening program. *Bmj* 2004; 329:1134-7.
11. Fallah, MS., Samavat, A., Zeinali S. Iranian national program for the prevention of thalassemia and prenatal diagnosis: mandatory premarital screening and legal medical abortion. *Prenat Diagn* 2009; 29: 1285-6.
12. Miri Moghadam, E., Fadaie Rayeini, M., Izadie Sh. Khazaei Feizabad A. Molecular basis and prenatal diagnosis of thalassemia in southeast of Iran. *Journal of Mazanderan University of Medical Sciences* 2005; 48 : 105-111.
13. Saleh-Gohari, N., Bazrafshani, M.R., Distribution of beta globin gene mutations in thalassemia minor population of Kerman Province, Iran *Iranian J Publ Health* 2010; 39: 69-76.
14. Galehdari, H., Azmoun, S., Keikhaei, B., Zan-dian, K.M., Pedram, M. Comprehensive spectrum of the beta thalassemia mutations in Khuzestan, Southwest Iran. *Hemoglobin* 2010; 34: 461-468.
15. Rezaee, A.R., Banoei M.M., Khalili, E., Yavarian, M. Beta-thalassemia in Iran: new insight into the role of genetic admixture and migration. *Scientific World Journal* 2012; 2012:1-7.

16. Modjtahed zadeh, F. Beta thalassemia gene mutations in thalassemic patients referred to Boo Ali Sina hospital of Sari in the year 1373. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 1999; 9: 32-37.
17. Salehi, R., Salehi, M., Horfar, H. Investigation of frequencies of eight β -thalassemia mutations among thalassemia patient in Esfahan province using ARMS-PCR method. *Journal of Esfahan Medical Faculty* 2005; 23: 1-7.
18. Yousefi, M.H. Beta thalassemia trait in Sanandaj. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 1997; 4: 11-3.
19. 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: 149-54.
20. Mohaddess Ardabili, S.M., Jabbarzadeh Tabrizi, S., Nikan Far, A.R., Rahbani Nobar, M. . Prevalent mutations of Beta-globin gene at the central part of east Azerbaijan, Iran. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences & health Services* 2004;38:67-72.
21. Omrani, M. Prevalent mutations in beta thalassemia patients in West Azerbaijan province using ARMS-PCR method. *Uromieh Medical Journal* 2003; 2 : 126-17.
22. Fathollah-pour, A., Naghshi-Zadeian, R. Common beta-thalassemia mutations in the city of Sanandaj. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 2003; 3: 21-26.