

بررسی جهش‌های بتا تالاسمی در بیماران کرد استان

کردستان و آذربایجان غربی
شهره خورشیدی^۱، مهدی حقی^۲، دکتر محمد علی حسینیور فیضی^۳، دکتر محمد امین بخش^۴،
دکتر عباسعلی حسینیور فیضی^۵، ناصر پولادی^۶

- ۱- کارشناس ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز
- ۲- کارشناس ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز
- ۳- استاد رادیوبیولوژی، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز (مؤلف مسؤول) pourfeizi@eastp.ir
- ۴- دانشیار ژنتیک، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز
- ۵- استادیار هماتولوژی، مرکز تحقیقات هماتولوژی انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
- ۶- کارشناس ارشد سلولی و مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم آذربایجان

چکیده

زمینه و هدف: بتا تالاسمی، شایع‌ترین ناهنجاری آتوزومی مغلوب می‌باشد و بیش از ۲۰۰ نوع جهش مختلف در ژن بتاگلوبین شناخته شده که موجب عدم تولید (β^0 تالاسمی) و یا کاهش تولید زنجیره بتاگلوبین (β^+ تالاسمی) می‌گردد. از آنجایی که جمعیت ایران ترکیبی از گروه‌های نژادی مختلف می‌باشد، لذا تعیین شیوع و پراکندگی این جهش‌ها در نقاط مختلف کشور امری الزامی است. بنابراین، در این مطالعه طیف جهش‌های بتا تالاسمی در بیماران کرد استان کردستان و آذربایجان غربی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: DNA استخراج شده از ۱۱۰ کروموزوم، مربوط به ۵۵ فرد کرد مبتلا به بتا تالاسمی ماژور با استفاده از روش‌های PCR-ARMS و SSCP و تعیین توالی به منظور شناسایی جهش‌ها بررسی شدند.
یافته‌ها: نتایج نشان داد که جهش IVS-II-1(G→A) با فراوانی ۳۱٪ شایع‌ترین جهش در مطالعه ما بود و جهش FSC8/9(+G) با فراوانی ۱۹٪ دومین جهش شایع بود. جهش‌های دیگر عبارت بودند از:

IVS-I-110(G→A), FSC8(-AA), IVS-I-5(G→C), FSC36/37(-T), FSC5(-CT),
FSC44(-C), IVS-I-1(G→A), IVS-I-128(T→G) و +22UTR (G→A).

همه این جهش‌ها ۷۹٪ جهش‌های این منطقه را شامل می‌شود و هنوز ۲۱٪ از آنها ناشناخته باقی ماندند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که شباهت‌ها و تفاوت‌هایی بین این منطقه با مناطق دیگر ایران و کشورهای همسایه وجود دارد. بنابراین تعیین جهش‌های بتا تالاسمی این منطقه به طور مجزا، در برنامه‌های پیش از تولد می‌تواند مفید و ضروری باشد.

کلید واژه‌ها: بتا تالاسمی، جهش، کرد

وصول مقاله: ۸۶/۱۰/۱۸ اصلاح نهایی: ۸۶/۱۱/۲۴ پذیرش مقاله: ۸۶/۱۲/۵

مقدمه

بسیار شایع است. دو حالت اصلی از بتا تالاسمی وجود دارد: تالاسمی β^0 ، که در این افراد هیچ بتا گلوبینی تولید نمی‌شود و تالاسمی β^+ ، که بتا گلوبین به مقدار کمتر از حد طبیعی تولید می‌شود. تا کنون بیش از ۲۰۰ نوع جهش شناسایی شده که بر

بتا تالاسمی یکی از شایع‌ترین اختلالات ژنتیکی در انسان می‌باشد که موجب کاهش یا عدم تولید زنجیره بتا گلوبین در بدن می‌شود. این اختلال در حوزه دریای مدیترانه، منطقه استوا و نزدیک آن در آسیا و آفریقا

جهش‌ها در قسمت‌های مختلف کشور تعیین گردد. به همین منظور، در این مطالعه به بررسی جهش‌های ژن بتاگلوبین افراد کُرد مبتلا به بتاتالاسمی ماژور استان کردستان و منطقه کردنشین آذربایجان غربی پرداخته شد.

روش بررسی

کارهای عملی مربوط به این مطالعه از مهر ماه ۱۳۸۵ تا مهر ۱۳۸۶، در آزمایشگاه رادیوبیولوژی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز انجام شد. از ۵۵ بیمار غیرفامیل مبتلا به بتا تالاسمی شهرستانهای سنندج، سقز، بانه در استان کردستان و شهرستان بوکان استان آذربایجان غربی و روستاهای کردنشین اطراف، که به طور مداوم نیاز به دریافت خون داشتند و به بیمارستان بعثت سنندج، بیمارستان صلاح الدین ایوبی شهرستان بانه و بیمارستانهای امام خمینی شهرستانهای سقز و بوکان مراجعه می‌کردند، حدود ۵ سی‌سی نمونه خون وریدی گرفته شد و در لوله‌های فالتون حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA) به آزمایشگاه انتقال یافت و استخراج DNA از گلبول‌های سفید با روش نمک اشباع انجام گرفت (۹).

بررسی جهش‌ها با استفاده از ۸ جفت پرایمر مربوط به جهش‌های شایع گزارش شده در مناطق اطراف با روش PCR-ARMS انجام گرفت (۱۱، ۱۰). در همه موارد، از پرایمر Common C به عنوان پرایمر رفت استفاده گردید جز پرایمر FSC8(-AA) که از Common E به عنوان پرایمر برگشت استفاده گردید (جدول ۱).

روی ژن بتا گلوبین تأثیر می‌گذارند و موجب فنوتیپ بتا تالاسمی می‌شوند (۱).

مطالعات جمعیتی نشان داده که حدود ۴۰ جهش بیش از ۹۰٪ از بتا تالاسمی‌ها را در سراسر دنیا تشکیل می‌دهند و آن به این دلیل است که در مناطقی که بتاتالاسمی شایع است فقط انواع کمی از جهش‌ها شایع هستند و تعداد متنوعی از جهش‌های نادر وجود دارد. و هر جمعیتی یک طیف خاصی از جهش‌های ژن بتا گلوبین را دارد. در هر جمعیتی تعداد محدودی جهش، بیش از ۹۰ درصد جهش‌های آن جمعیت را شامل می‌شود به عنوان مثال در جمعیت چینی‌ها چهار ال‌حدود ۹۰ درصد ژن‌های بتاتالاسمی را شامل می‌شود و یازده جهش نادر، ۱۰ درصد بقیه جهش‌ها را شامل می‌شود (۲).

حدود ۳٪ جمعیت جهان (۱۵۰ میلیون نفر) ناقل جهش‌های بتا تالاسمی هستند. در کشور ما نیز یکی از مهمترین مسائل سلامتی، بتاتالاسمی می‌باشد و بیش از ۲ میلیون نفر ناقل در ایران زندگی می‌کنند (۴ و ۳). راه عملی جهت کنترل این بیماری و جلوگیری از افزایش تعداد موارد آن در جمعیت کشور، شناسایی جهش‌ها و افراد ناقل، مشاوره ژنتیکی و ارائه خدمات تشخیصی پیش از تولد به آنها می‌باشد. بیش از یک دهه است که در ایران، جهش‌های بتاتالاسمی بررسی می‌گردد و نشان دهنده طیف وسیعی از جهش‌ها می‌باشد (۹-۳). بنابراین، شناسایی جهش‌های بتا تالاسمی در هر منطقه از اقدامات اساسی جهت تشخیص ملکولی بیماری و تشخیص قبل از تولد است و از آنجایی که جمعیت ایران ترکیبی از گروه‌های نژادی مختلف می‌باشد، لازم است تا فراوانی و پراکندگی

نرمال نشان دادند انتخاب گردیدند و پس از تکثیر قطعه مورد نظر جهت تعیین توالی به شرکت فزایژوه تهران فرستاده شد و نتایج تعیین توالی مورد بررسی و مقایسه با توالی نرمال قرار گرفت.

نمونه‌هایی که جهشی در آنها توسط پرایمرهای مورد استفاده در روش PCR-ARMS شناسایی نشد توسط روش SSCP بررسی گردید (۱۲) و الگوی SSCP این افراد با افراد نرمال منطقه مقایسه شد. سه نمونه که الگوی کاملاً متفاوت و مشخصی با افراد

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورداستفاده در این مطالعه

انواع جهش‌ها	توالی پرایمر 3'→5'
IVS-II-1(G→A)	Mutant : AAGAAAACATCAAGGGTCCCATAGACTGAT Normal : AAGAAAACATCAAGGGTCCCATAGACTGAC
FSC8/9(+G)	Mutant : CCTTGCCCCACAGGGCAGTAACGGCACACC Normal : CCTTGCCCCACAGGGCAGTAACGGCACACT
FSC8(-AA)	Mutant : ACACCATGGTGCACCTGACTCCTGAGCACG Normal : ACACCATGGTGCACCTGACTCCTGAGCAGA
IVS-I-5(G→C)	Mutant : CTCCTTAAACCTGTCTTGTAACCTTGTTAG Normal : CTCCTTAAACCTGTCTTGTAACCTTGTTAC
FSC44(-C)	Mutant : CAGCATCAGGAGTGGACAGATCCCCAATGA Normal : CAGCATCAGGAGTGGACAGATCCCCAATGG
FSC16(-C)	Mutant : TCACCACCAACTTCATCCACGTTACGTTG Normal : TCACCACCAACTTCATCCACGTTACGTT
IVS-I-1(G→A)	Mutant : TTAAACCTGTCTTGTAACCTTGATACGAAT Normal : TTAAACCTGTCTTGTAACCTTGATACGAAC
FSC36/37(-T)	Mutant : GGTAAGGACTCAAAGAACCTATGGGTCCAG Normal : GGTAAGGACTCAAAGAACCTATGGGTCCAA
Control A	CAATGTATCATGCCTCTTTGCACC
Control B	GACTCAAGGCTGAGAGATGCAGGA
Common C	ACCTCACCTGTGGAGCCAC
Common E	TTCGTCTGTTCCATTCTAAACT

بررسی جهش‌ها با استفاده از پرایمرهای PCR-ARMS نشان دهنده ۸ نوع جهش در ۷۲ درصد نمونه‌ها بود و سه نوع جهش با استفاده از روش تعیین توالی شناسایی گردید. در مجموع ۱۱ نوع جهش مختلف در ۷۹ درصد نمونه‌ها شناسایی گردید که جهش‌ترین جهش مشاهده گردید و جهش IVS-II-1 (G→A) به عنوان شایع-ترین جهش مشاهده گردید و جهش در ۲۱ درصد نمونه‌ها ناشناخته باقی ماند (جدول ۳).

یافته‌ها

اطلاعات پرسشنامه‌ای بیماران در (جدول ۲) آورده شده است.

جدول ۲: اطلاعات پرسشنامه‌ای بیماران

بیماران	مشخصات پرسشنامه‌ای درصد
داشتن والدین فامیل	۵۷%
داشتن والدین غیر فامیل	۴۳%
داشتن سابقه بیماری	۳۰%
درافراد فامیل	
نداشتن سابقه بیماری	۷۰%
درافراد فامیل	
بیماران مذکر	۴۷%
بیماران مؤنث	۵۳%
بیماران ۱۵ و بالاتر سال	۵۳%
بیماران زیر ۱۵ سال	۴۷%

در ۹ نفر از بیماران جهش‌ها (جدول ۴) .
به صورت هتروزیگوت مرکب بودند

جدول ۳: توزیع فراوانی جهش‌های یافت شده در این مطالعه

انواع جهش‌ها	نوع بتاتالاسمی	تعداد کروموزوم	فراوانی (%)
IVS-II-1(G→A)	β^0	۳۴	۳۱
FSC8/9(+G)	β^0	۲۱	۱۹/۰۹
IVS-I-1(G→A)	β^0	۹	۸/۱۸
FSC8(-AA)	β^0	۸	۷/۲۷
IVS-I-110(G→A)	β^+	۳	۲/۷۲
FSC36/37(-T)	β^0	۳	۲/۷۲
IVS-I-5(G→C)	β^+	۲	۱/۸۱
IVS-I-128(T→G)	β^+	۲	۱/۸۱
FSC5(-CT)	β^0	۲	۱/۸۱
FSC44(-C)	β^0	۲	۱/۸۱
+22UTR(G→A)	β^+	۱	۰/۹
شناخته شده		۸۷	۷۹
ناشناخته		۲۳	۲۱
کل		۱۱۰	۱۰۰

جدول ۴: ژنوتیپ‌های هتروزیگوت مرکب

تعداد افراد	نوع جهش‌ها
۴	IVS-II-1 (G→A) / IVS-I-1 (G→A)
۱	IVS-II-1 (G→A) / FSC8/9 (+G)
۱	IVS-II-1 (G→A) / +22UTR (G→A)
۱	FSC8/9 (+G) / IVS-I-1 (G→A)
۱	FSC8/9 (+G) / IVS -I-110 (G→A)
۱	FSC8/9 (+G) / FSC36/37 (-T)

خانواده‌های

مبتلا در منطقه کرد نشین آذربایجان غربی و استان کردستان زندگی می‌کنند، و تاکنون بررسی جامعی با استفاده از سه تکنیک در این مناطق انجام نشده بود، مناسب دیدیم که به بررسی همزمان مبتلایان این مناطق بپردازیم که می‌تواند در برنامه‌ریزی‌های تشخیص پیش از تولد و کاهش هزینه‌های درمانی مؤثر باشد. جدول ۲ نشان می‌دهد که ۳۰ درصد

بحث

ایران، یکی از کشورهای بزرگ خاورمیانه است و مانند سایر کشورهای منطقه دارای تعداد زیادی بیمار مبتلا به بتاتالاسمی می‌باشد. اقوام مختلفی در ایران زندگی می‌کنند و مقایسه برخی استانهای مختلف در ایران نشان دهنده تنوع و اختلاف در طیف جهش‌های بتاتالاسمی است (۳، ۵-۹). با توجه به اینکه تعدادی از

(۱۹). در سطح ایران، شایع‌ترین جهش در استان خوزستان (IVS-I-1(G→A) بوده است (۳).

جهش دیگری که در این مطالعه شناسایی گردید، (AA-) FSC8 با فراوانی ۷/۲۷ درصد بود که با حذف دو نوکلئوتید آدنین در کدون ۸ حاصل می‌شود، این تغییر قالب خواندن سبب پایان زودرس ترجمه در کدون ۲۱ (TGA) شده و موجب β^0 تالاسمی می‌گردد و اولین بار در یک بیمار ترکیه-ای گزارش شده بود (۱۴،۲۰). این جهش همچنین در کشورهای جمهوری آذربایجان (۲۱ درصد) و روسیه شایع است (۱۴،۲۱) و در ایران نیز به طور متوسط با فراوانی ۴/۵ درصد گزارش شده است (۳).

جهش (IVS-I-110(G→A) که سبب شکل‌گیری جایگاه پذیرنده جدید در فرایند پیرایش و موجب β^+ تالاسمی شدید می‌گردد، جزء جهش‌های شایع منطقه مدیترانه به ویژه قبرس (۷۹/۸۶ درصد) و ترکیه (۳۹/۳ درصد) می‌باشد (۱۴،۲۲،۲۳). در منطقه مورد مطالعه ما علی‌رغم نزدیکی جغرافیایی به این مناطق، جزء جهش‌های نادر (۲/۷۲ درصد) محسوب می‌شود که نشان دهنده طیف جهش‌های خاص هر جمعیت می‌باشد. این جهش با فراوانی ۴/۸ درصد در سطح ایران گزارش شده است (۳).

جهش FSC36/37(-T)، سبب تغییر در قالب خواندن شده و در نتیجه β^0 تالاسمی به وجود می‌آید. جهش FSC36/37(-T) اولین بار در یهودیان کرد گزارش شده است (۲۴). در ایران، در بیمارستان استان لرستان فراوان‌تر از سایر مناطق

خانواده‌ها دارای سابقه فامیلی و یا فرزند مبتلا به بتا تالاسمی هستند و عدم آگاهی خانواده‌ها و یا نبود امکانات تشخیصی مناسب در منطقه موجب تولد فرزندان مبتلای بعدی می‌گردد.

جهش (IVS-II-1(G→A) سبب غیر فعال شدن جایگاه دهنده در فرایند پیرایش و عدم پردازش صحیح mRNA می‌گردد و موجب β^0 تالاسمی می‌شود (۱۳). این جهش مدیترانه‌ای (۱۴) در ایران نسبت به ترکیه فراوانی بیشتری دارد و می‌تواند بیانگر این مطلب باشد که منشاء این جهش ایران است که در منطقه مورد مطالعه ما (۳۱٪) و بطور کلی در سطح ایران به عنوان شایع‌ترین جهش گزارش شده است (۱۵، ۳).

دومین جهش شایع در این مطالعه، جهش تغییر قالب خواندن (G +) FSC8/9 با فراوانی ۱۹/۰۹ درصد بود که به صورت اضافه شدن نوکلئوتید گوانین بین کدون ۸ و ۹ ژن بتا گلوبین می‌باشد و سبب پایان زودرس ترجمه در کدون ۲۲ (TGA) می‌شود و β^0 تالاسمی را ایجاد می‌کند. این جهش منشاء هندی-آسیایی دارد و جزء جهش‌های شایع در شبه قاره هند و پاکستان است (۱۶-۱۸) و در برخی از نقاط ایران نیز در رده دوم بعد از IVS-II-1(G→A) گزارش گردیده است (۳).

سومین جهش، (IVS-I-1(G→A) با فراوانی ۸/۱۸ درصد بود که این جهش در بیشتر مناطق مدیترانه‌ای، خاورمیانه و آسیا وجود دارد (۱۴)، ولی بیشترین فراوانی (۵۵ درصد) در جنوب اسپانیا گزارش گردیده است

گردیده بود (۱۴,۲۸) ما نیز این جهش نادر را برای اولین بار در جمعیت کرد ایران گزارش می‌کنیم.

جهش +22UTR(G→A) برای اولین بار در ترکیه گزارش شده است (۱۴,۲۹) جهش نادری است و ما نیز برای اولین بار در جمعیت کرد ایران در یک بیمار هتروزیگوت مرکب به همراه جهش IVS-II-1 (G→A) گزارش می‌کنیم.

نتیجه‌گیری

همانگونه که از نتایج بر می‌آید، ۱۱ جهش ذکر شده، ۷۹ درصد از بیماران منطقه را شامل می‌شود که با احتساب ۲۱ درصد موارد ناشناخته طیف وسیعی از جهش‌های ژن بتا گلوبین را در این منطقه شاهد هستیم. این مطالعه می‌تواند در برنامه‌های پیشگیری و تشخیص پیش از تولد بیماران بتا تالاسمی در این جمعیت مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از تمام بیماران و خانواده‌های آنان جهت همکاری در این پژوهش سپاسگزاری می‌نمایند. همچنین از همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان و کارکنان بخش خون بیمارستان بعثت سنندج، بیمارستان صلاح الدین ایوبی شهرستان بانه و بیمارستانهای امام خمینی شهرستانهای سقز و بوکان صمیمانه تشکر می‌نماییم.

مشاهده گردیده است (۸). این جهش در جمعیت مورد مطالعه ما با فراوانی ۲/۷۲ درصد یافت شد.

جهش IVS-I-5(G→C) منشاء هندی-آسیایی دارد و موجب β^+ تالاسمی می‌گردد. شایع‌ترین جهش در کشورهای هند و پاکستان و امارات متحده عربی می‌باشد (۲۵ و ۱۸-۱۶)، در جنوب شرق و جنوب ایران نیز جزء جهش‌های شایع محسوب می‌گردد (۳,۷) که با فراوانی ۱/۸۱ درصد به عنوان جهش نادر در جمعیت کرد گزارش می‌نماییم.

جهش دیگری که طی این مطالعه شناسایی گردید (-FSC44 C) با فراوانی ۱/۸۱ درصد بوده که موجب تغییر در قالب خواندن و β^0 تالاسمی می‌گردد. این جهش نیز با فراوانی بالا در یهودیان کرد و با فراوانی کمتر در ایران، جمعیت‌های اطراف دریای مدیترانه و خاورمیانه گزارش شده است (۱۴,۲۴).

جهش FSC 5(-CT) یک جهش مدیترانه‌ای بوده و برای اولین بار در بین بیماران یونانی گزارش شده است (۱۴,۲۶) و در کردهای شمال عراق با فراوانی ۱۰/۶ درصد گزارش گردیده است (۲۸) ولی در این منطقه با فراوانی ۱/۸۱ درصد یافت شد.

جهش IVS-I-128(T→G) که منجر به کاهش کارایی پیرایش و در نتیجه β^+ تالاسمی می‌گردد اولین بار در عربستان سعودی گزارش

References

1. Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG. The hemoglobinopathies. In: Scriver CR, ed. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill. 2001; 4571-4636.
2. Kazazian HH, Boehm CD. Molecular basis and prenatal diagnosis of β -thalassemia. Blood 1988; 72: 1107-1116.

3. Najmabadi H, Karimi-Nejad R, Sahebjam S, Pourfarzad F, Teimourian S, Sahebjam F, and et al. The β -thalassemia mutation spectrum in the Iranian population. *Hemoglobin* 2005; 25: 285-296.
4. Kumar Das S, and Talukder G. β -globin gene and related disease: A review. *Int J Hum Genet* 2002; 2: 139-152.
5. Karimi M, Alavian Ghavanini A, Kadivar MR. Regional mapping of the gene frequency of β -thalassemia in Fars provinces, Iran during 1997-1998. *Iran J Med* 2000; 25: 134-137.
6. Merat A, Haghshenas M, Mostafavi Pour Z, Plonczynski MW, Harrell AN, Coleman MB, and et al. β -thalassemia in southwestern Iran. *Hemoglobin* 1993; 17: 427-437.
7. Yavarian M, Harteveld CL, Batelaan D, Bernini LF, Giordano PC. Molecular spectrum of beta-thalasseman in the Iranian province of Hormozgan. *Hemoglobin* 2001; 25: 34-35.
8. Kiani AA, Mortazavi Y, Zeinali S, Shirkhani Y. The molecular analysis of beta-thalasseman mutation in Lorestan province, Iran. *Hemoglobin* 2007; 31: 343-349.
9. Hosseinpour Feizi MA, Hosseinpour Feizi AA, Pouladi N, Haghi M, Azarfam P. Molecular spectrum of β -thalassemia mutations in Northwestern Iran. *Hemoglobin* 2008; (In Press, 2008).
10. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research* 1988; 16: 1215.
11. Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N, and et al. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 2503-16.
۱۲. فتح الله پور الف، نقشی زادیان ر. موتاسیون‌های شایع بتا تالاسمی در شهر سنندج. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان. سال هفتم، شماره ۳، ۱۳۸۲، صفحات: ۲۱-۲۵.
13. Chinchang W, Viprakasit V, Pung-Amritt P, Tanphaichitr VS, Yenchitsomanus P. 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. *Clinical Biochemistry* 2005; 38: 987-996.
14. Treisman R, Proudfoot NJ, Shander M, Maniatis T. Abnormal RNA processing due to the exon mutation of the β -thalassemia gene abnormal RNA splicing. *Cell* 1982; 29: 903-911.
15. Patrinos GP, B Giardine, C Riemer, W Miller, DHK Chui, N P Anagnou, and et al. (2004) Improvements in the HbVar database of human hemoglobin variants and thalasseman mutations for population and sequence variation studies. *Nucl Acids Res*. 32 Database issue: D537.541. [cited 2007 May 15]; Available at: <http://globin.cse.psu.edu/hbvar/menu.html>
16. Tadmouri GO, Tuzmen S, Ozer A, Baig SM, Senga EB and Basak AN. Molecular and population genetic analyses of β -thalassemia in Turkey. *American Journal of Hematology* 1998; 57: 215-220.
17. Chakrabarti P, Gurpta R, Mishra A, Rai M, Singh VP, Dash D. Spectrum of β -thalassemia mutation in North Indian State. A β -thalassemia trait with two mutations in cis. *Clinical Biochemistry* 2005; 38: 576-578.
18. Varawalla NY, Old JM, Sarker R, Venkatesan R and Weatheral DJ. The spectrum of β -thalassemia mutations on the Indian subcontinent: the basis for prenatal diagnosis. *Br J Haematol* 1991; 78: 242-247.
19. Suhaib A, Petrou M, Saleem M. Molecular genetics of β -thalassemia in Pakistan: a basis for prenatal diagnoses. *Br J Haematol* 1996; 94: 476-482.
20. Benito A, Villegas A, Perez-Cano R, Bernal R. Beta-thalassaemia in south-western Spain: high frequency of G \rightarrow A (IVS I-1) mutation. *Br J Haematol* 1996; 92: 336-338.
21. Orkin SH, Goff SC. Nonsense and frameshift mutations in beta 0-thalasseman detected in cloned beta-globin genes. *J Biol Chem* 1981; 256: 9782-9784.
22. Curuk MA, Yuregir GT, Asadov CD, Dadassova T, Gu L, Baysal E, and et al. Molecular characterization of β -thalassemia in Azerbaijan. *Hum Genet* 1992; 90: 417-419.
23. Baysal E, Indrak K, Bozkurt G, Arikthan A, Old JM, Ioan-nou P, and et al. The β -thalassemia mutations in the population of Cyprus. *Br J Haematol* 1992; 81: 607-609.

24. Tadmouri GO, Tuzmen S, Ozer A, Baig SM, Senga EB and Basak AN. Molecular and population genetic analyses of β -thalassemia in Turkey. *American Journal of Hematology* 1998; 57: 215-220.
25. Rund D, Cohen T, Filon D, Dowling CE, Warren TC, Barak I. Evaluation of a genetic disease in an ethnic isolate: β -thalassemia in the Jews of Kurdistan. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88:31-34.
26. Quaiife R, Al-Gazali L, Abbas S. The spectrum of β -thalassemia mutations in the UAE national population. *J Med Genet* 1994; 31: 59-61.
27. Kollia P, Gonzalez-Redondo JM, Stoming TA, Loukopoulos D, Polistis C, Huisman TH. Frameshift codon 5 (FSC 5(-CT)) thalassemia; a novel mutation detected in a Greek patient. *Hemoglobin* 1989; 24: 1-13.
28. Al-Allawi N, Jubrael JMS, Hughson M. Molecular characterization of β -thalassemia in the Dohuk region of Iraq. *Hemoglobin* 2006; 30: 479-786.
29. Wong C, Antonarakis SE, Goff SC, Orkin SH, Forget BG, Nathan DG, and et al. Beta-thalassemia due to two novel nucleotide substitutions in consensus acceptor splice sequences of the beta-globin gene. *Blood* 1989; 73: 914-918.
30. Oner R, Agarwal S, Dimovski AJ, Efremov GD, Petkov GH, Altay C, and et al. The G→A mutation at position +22 3' to the Cap site of the beta-globin gene as a possible cause for a beta-thalassemia. *Hemoglobin* 1991; 15: 67-76.