

مقاله پژوهشی

بررسی درصد هموگلوبین A_2 در ناقلین قطعی بتا تالاسمی مینور مراجعه کننده به مرکز درمانی بیماری های خاص کرمان

دکتر منیژه عطاپور^۱، دکتر علیرضا ظهور^۲، انوره ذوالعلی^۳ و علیرضا ارجمند^۴

خلاصه

در بتاتالاسمی مینور فرد مبتلا معمولاً تظاهرات بالینی خاصی ندارد و تنها ناقل ژن تالاسمی است. اولین قدم در تشخیص ناقلین بتاتالاسمی انجام آزمایشات شمارش گلبولی (CBC) و شاخص گلبول های قرمز (RBC Index) است و سپس در صورت شک به وجود تالاسمی مینور، انجام تست HbA_2 جهت تأیید تشخیص ضروری است. درصدی از مبتلایان به بتاتالاسمی مینور HbA_2 طبیعی دارند. با توجه به مطالعه اولیه انجام شده بر روی مراجعین به آزمایشگاه مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان به نظر می رسد درصد این عامل در استان کرمان قابل توجه باشد. لذا به بررسی میزان HbA_2 در والدین افراد مبتلا به تالاسمی ماژور و ایترومدیا که همراه فرزندشان به مرکز درمانی بیماری های خاص مراجعه می کردند پرداخته شد و پس از کسب اجازه از والدین و نمونه گیری، آزمایشات لازم بر روی کلیه نمونه ها انجام گردید. بر اساس نتایج به دست آمده حدود ۲ درصد افراد مبتلا به تالاسمی مینور تحت بررسی HbA_2 طبیعی داشتند که تقریباً تمامی این افراد متولدین شهرستان کرمان بودند. برای حصول نتیجه ارزشمندتر، بهتر است این تحقیق در شهرستان های مختلف استان انجام شود تا طبیعت بتاتالاسمی مینور در شهرستان های مختلف شناخته و با شناخت افراد بتاتالاسمی مینور گام مؤثری در جهت طرح کشوری پیشگیری از تالاسمی ماژور برداشته شود.

واژه های کلیدی: هموگلوبین A_2 (HbA_2)، بتا تالاسمی مینور

۱- دکترای حرفه ای علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان ۲- استادیار اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران ۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی ۴- دانشجوی کارشناس ارشد هماتولوژی، دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه

بتاتالاسمی ها گروهی از کم خونی های ارثی هستند. یک فرم خفیف آنها بتاتالاسمی مینور است که در آن ژن از پدر و مادر به فرزند منتقل می شود اما فرزند بیمار نمی شود و تنها ناقل ژن بیماری به فرزندان خود خواهد بود (۳،۴).

تشخیص ناقلین اهمیت فراوانی دارد. زیرا اگر دو فرد ناقل با یکدیگر ازدواج کنند هر فرزند آنها به احتمال ۲۵٪ به بتاتالاسمی ماژور (major β thalassemia) مبتلا خواهد شد (۴).

راه تشخیص ناقلین انجام آزمایش شمارش گلبولی و شاخص گلبول قرمز و سپس در صورتی که فرد مشکوک به β تالاسمی مینور باشد انجام آزمایش HbA₂ می باشد که بالا بودن آن تأیید بر ابتلا به بیماری است (۴). اما درصدی از مبتلایان به بتاتالاسمی مینور HbA₂ طبیعی دارند (۱،۲،۳،۴). این درصد در استان کرمان بالاتر از مقادیر ذکر شده در منابع به نظر می رسد (۳،۵). بر طبق مطالعه اولیه (pilot study) انجام شده در آزمایشگاه مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲۰ درصد مراجعین HbA₂ طبیعی داشتند. قابل ذکر است این آزمایشگاه علاوه بر پذیرش افراد برای بررسی از نظر تالاسمی، محل ارجاع موارد مشکوک به تالاسمی مینور در سطح استان نیز هست یعنی در مواردی که پزشکان در مورد صحت جواب آزمایشات مشکوک بوده و یا در مورد حضور یا عدم حضور ژن بتاتالاسمی در تردید می باشند بیماران را به این مرکز ارجاع می دهند. هدف از انجام این پژوهش به دست آوردن آمار صحیحی از درصد افراد مبتلا به بتاتالاسمی بود که HbA₂ طبیعی دارند تا با ارائه به جامعه پزشکی توجه ایشان به این مطلب بیشتر جلب شود. به این وسیله افراد مشکوک تا مرحله تشخیص قطعی پیگیری و شناسایی می شوند و گامی مثبت در راستای اجرای طرح کشوری پیشگیری از تالاسمی ماژور برداشته می شود.

روش اجرا

ابتدا از پدر و مادر افراد تالاسمی ماژور و اینترمدیا که بیماری فرزندان با انجام آزمایشات ثابت شده بود پس از کسب اجازه خونگیری به عمل آمد. (این افراد به مرکز درمانی بیماری های خاص، جهت دریافت خون مورد نیاز فرزندان مراجعه می کنند). از همه افرادی که مایل به همکاری بودند

(در مدت ۶ ماه) ۱-۲ میلی لیتر خون گرفته و بر روی EDTA، ۵ درصد ریخته می شد تا لخته نشود، سپس به آزمایشگاه منتقل و آزمایش CBC و RBC Index با دستگاه کالیبره شده sysmex K800 و سپس آزمایش HbA₂ با استفاده از کیت های 005 و 008 تلاشگران بر روی کلیه نمونه ها انجام گردید. محل تولد هر فرد و پدر و مادر ایشان هنگام خونگیری سؤال شد و در نهایت ۹ نفر از افراد خونگیری شده که کرمانی نبودند حذف گردیدند و تجزیه و تحلیل داده ها بر روی داده های ۱۹۷ نفر از متولدین استان کرمان انجام شد.

نتایج

در جدول ۱ میانگین، انحراف معیار، میانه، نما، حداقل و حداکثر مقدار هر کدام از متغیرها آمده است. فراوانی متغیرها در فواصل مختلف، با توجه به جنس افراد تحت بررسی در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. بر این اساس ۴۶ درصد خانم های تحت بررسی (۵۷ نفر از ۱۲۴ نفر) هموگلوبین کمتر از ۱۲ داشته و بقیه (۵۴ درصد) دارای هموگلوبین ۱۲ و بیشتر بوده اند. هموگلوبین ۷۸ درصد آقایان تحت بررسی (۵۷ نفر از ۷۳ نفر) کمتر از ۱۴ و بقیه (۲۲ درصد) ۱۴ و بیشتر بوده است. در این جدول همچنین نشان داده شده است که حدود ۱/۵ درصد کل افراد تحت بررسی (۳ نفر از مجموع ۱۹۷ نفر) HbA₂ کمتر از ۳/۵ درصد، ۹۷ درصد بین ۳/۵-۸ درصد و بقیه (۱/۵ درصد) HbA₂ غیرقابل ارزیابی داشتند.

تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد که هموگلوبین حدود ۴۷ درصد (۵۷ نفر از ۱۲۱ نفر) خانم هایی که HbA₂ بین ۳/۵-۸ داشته کمتر از ۱۲ و بقیه ۱۲ و بیشتر بوده است. در حالی که ۵۷ نفر از ۶۹ نفر مردانی که HbA₂ بین ۳/۴-۸ داشته اند کمتر از ۱۴ و بقیه ۱۴ و بیشتر بوده است. بر طبق جدول شماره ۲ MCV حدود ۹۰ درصد (۱۷۸ از ۱۹۷) افراد تحت بررسی زیر ۷۰، حدود ۸ درصد بین ۷۰ تا ۸۰ و بقیه ۱۰ و بالاتر بوده است. تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد که ۹۸ درصد (۱۷۵ نفر از مجموع ۱۷۸ نفر) افرادی که MCV کمتر از ۷۰ داشته اند دارای HbA₂ ۳/۵-۸ بوده اند. در حالی که این درصد برای افرادی که MCV ۷۰-۸۰ داشته اند ۱۴ نفر از ۱۵ نفر بوده است. همچنین MCH ۹۵/۹ درصد (۱۸۹ از ۱۹۷) افراد تحت بررسی کمتر یا مساوی ۲۴ و ۴/۱ درصد بیشتر از ۲۴ بوده است. حدود ۲۸ درصد (۵۵ از

جدول ۳ تعداد و درصد متولدین هرکدام از شهرستان های استان کرمان و والدین آنها را نمایش می دهد. اکثر افراد متولدین شهرهای کرمان (۳۸/۱ درصد) و بم (۳۳ درصد) هستند.

افراد (۱۹۷) $MCH \leq 20$ بوده و بقیه MCH بیشتر از ۲۰ داشتند. بر اساس نتایج $MCHC$ حدود ۱۱ درصد افراد کمتر از ۳۲ و بقیه ۳۲ و بالاتر بوده است.

جدول ۱: شاخص های پراکنندگی و مرکزی متغیرهای تحت بررسی در ناقلین قطعی بتانالاسمی مینور در استان کرمان (n = ۱۹۷)

نام متغیر	میانگین	انحراف معیار	میانه	نما	حدافل مقدار	حداکثر مقدار
RBC	۶/۸	۱/۸۸	۶/۷	۵	۲/۹	۱۴/۸
($\times 1000$)	۵/۸	۰/۸۵	۵/۹	۶	۴/۱	۱۰/۳
RBC	۱۱/۹	۱/۹	۱۲	۱۲/۵	۸/۹	۱۵
($\times 10^6$)	۱۳/۲	۱/۲	۱۳/۱	۱۲/۱	۱۰/۸	۱۷/۷
Hb	۳۶/۴	۳/۶	۳۶/۷	۳۵/۹	۲۷/۳	۴۶/۲
Hb زن	۳۹/۹	۳/۲	۳۹/۷	۴۰/۸	۳۲/۸	۵۱/۴
مرد	۶۴	۵	۶۳/۴	۶۱	۵۳	۸۹/۷
Hct	۲۰/۹	۱/۷	۲۰/۷	۲۱/۶	۱۶/۹	۳۰/۶
زن	۳۲/۷	۰/۸۷	۳۲/۷	۳۲/۵	۲۷/۱	۳۵/۳
Hct	۲۵۱/۷	۶۶/۶	۲۴۶	۲۵۸	۱۰۰	۵۱۴
مرد	۲۹/۵	۰/۷۷	۵/۳	۵	۲/۴	۷/۸
MCV						
MCH						
MCHC						
PLT						
($\times 1000$)						
HbA ₂						

جدول ۲: توزیع فراوانی متغیرهای تحت بررسی در ناقلین قطعی بتاتالاسمی مینور

در استان کرمان (n = 197)

درصد	فراوانی	متغیر	درصد	فراوانی	متغیر
		RBC			WBC
			۱/۵	۳	۴۰۰۰
۵/۶	۱۱	$< 5 \times 10^6$	۹۴/۹	۱۸۷	۴۰۰۰-۱۱۰۰۰
۹۴/۶	۱۸۶	$5 \times 10^6 +$	۳/۶	۷	۱۱۰۰۰ +
۱۰۰	۱۹۷	جمع	۱۰۰	۱۹۷	جمع
		Hb (g/dl) (مردان)			Hb (g/dl) (زنان)
۱/۷۸	۵۷	<۱۴	۴۶	۵۷	<۱۲
۲۱/۹	۱۶	۱۴ +	۵۴	۶۷	۱۲ +
۱۰۰	۷۳	جمع	۱۰۰	۱۲۴	جمع
		HCT (g/dl) (مردان)			HCT (g/dl) (زنان)
۶۷/۱	۴۹	<۴۱/۵	۴۱/۱	۵۱	<۳۶
۳۲/۹	۲۴	۴۱/۵	۵۸/۹	۷۳	۳۶ +
۱۰۰	۷۳	جمع	۱۰۰	۱۲۴	جمع
		MCV			MCV (fl)
				۱۷۸	
۲۴/۴	۴۸	< ۲۰	۹۰	۱۵	< ۷۰
۷۳/۱	۱۴۴	۲۰-۲۶	۷/۵	۵	۷۰-۸۰
۲/۵	۵	۲۶ +	۲/۵		۸۰ +
۱۰۰	۱۹۷	جمع	۱۰۰	۱۹۷	جمع
		HbA₂			MCHC
۱/۵	۳	< ۳/۵	۱۰/۷	۲۱	< ۳۲
۹۷	۱۹۱	۳/۵-۸	۸۹/۳	۱۷۶	۳۲+
۱/۵	۳	غیرقابل ارزیابی			
۱۰۰	۱۹۷	جمع	۱۰۰	۱۹۷	جمع

جدول ۳: شهرستان محل تولد افراد تحت بررسی و والدین آنها
در ناقلین قطعی بتاتالاسمی مینور در استان کرمان

محل تولد	والدین شخص تحت بررسی		شخص تحت بررسی	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
زرنند	۸	۱/۴	۶	۳
جیرفت	۲۰	۱۰/۲	۱۶	۸/۱
بم	۶۵	۳۳	۶۵	۳۳
کهنوج	۴	۲	۵	۲/۵
کرمان	۷۵	۳۸/۱	۸۴	۴۲/۶
بافت	۱۴	۷/۱	۱۲	۶/۱
سایر شهرستان ها	۱۱	۵/۶	۹	۴/۶
جمع	۱۹۷	۱۰۰	۱۹۷	۱۰۰

جدول ۴: شهر محل تولد افراد تحت بررسی و والدین آنها در ناقلین قطعی
بتاتالاسمی مینور در شهرستان کرمان

محل تولد	والدین شخص تحت بررسی		شخص تحت بررسی	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
کرمان	۲۰	۲۶/۷	۳۲	۳۸/۱
شهداد	۲۴	۳۲	۲۲	۲۶/۲
گلباف	۲۲	۲۹/۳	۲۱	۲۵
سایر شهرستان ها	۹	۱۲	۹	۱۰/۸
جمع	۷۵	۱۰۰	۸۴	۱۰۰

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج بدست آمده حدود ۹۰ درصد افراد تحت بررسی MCV کمتر از ۷۰، ۷/۵ درصد ۷۰-۸۰ و ۲/۵ درصد (۵ از ۱۹۷) MCV بالاتر از ۸۰ داشتند. داشتن MCV بالاتر از ۸۰ fl در بتاتالاسمی مینور معمول نیست (۳، ۴). دو نفر از ۵ نفر مورد مطالعه از نظر شمارش گلبولی و شاخص گلبول های قرمز طبیعی بوده و HbA₂ طبیعی داشتند. که هر دو نفر فرزند تالاسمی intermedia دارند. یعنی قطعاً ناقل ژن تالاسمی هستند و در گروه بتاتالاسمی های هتروزیگوت غیرقابل تشخیص با آزمایش های معمول هماتولوژی (seilent carrier) قرار می گیرند (۱، ۳، ۴). هر دو نفر متولدین شهر کرمان و پدر و مادرشان نیز کرمانی هستند. سه نفر دیگر مقدار HbA₂ شان با روش کروماتوگرافی ستونی قابل ارزیابی نبود.

لذا تست الکتروفورز هموگلوبین برایشان انجام شد و یک باند ۴۰-۲۵ درصد در ناحیه مربوط به هموگلوبین های G و D و S دیده شد که حاکی از همراهی ژن تالاسمی در این افراد با یک ژن معیوب دیگر (مربوط به Hbs یا HbD یا HbG) می باشد (۳). از این سه نفر، ۲ نفر متولد جیرفت و نفر سوم متولد بافت است. یک نفر از افراد با MCV کمتر از ۷۰ fl دارای HbA₂ طبیعی بود ولی از نظر سایر شاخص های RBC غیرطبیعی بود که احتمالاً همراه شدن دلتا تالاسمی با بتاتالاسمی هتروزیگوت علت طبیعی بودن HbA₂ و شاخص های غیرطبیعی در این فرد می باشد (۴). قابل ذکر است این فرد متولد گلباف کرمان است.
اکثر افراد (۹۶ درصد) MCH کمتر یا مساوی ۲۴ داشتند که قابل انتظار بود (۴).

داشت. اگر این دو نفر غیرطبیعی تلقی شوند، حدود ۱/۵ درصد افراد تحت بررسی (۱۳ نفر از کل ۱۹۷ نفر) HbA₂ طبیعی خواهند داشت.

طبق جدول ۳ بیشتر افراد تحت بررسی متولدین شهرستان های کرمان و بم بودند و افرادی که HbA₂ طبیعی دارند متولدین شهرستان کرمان هستند. اما چون اکثر افراد تحت بررسی متولدین شهرستان کرمان هستند، لذا نمی توان در مورد درصد HbA₂ طبیعی در شهرستان ها قضاوت کرد و لازم است پژوهشی مشابه در شهرستان های مختلف استان با حجم نمونه کافی از افراد بتاتالاسمی مینور متولد هر شهرستان انجام گردد تا درصد واقعی HbA₂ طبیعی در هر شهرستان و در کل استان به دست آید.

حدود ۸۹ درصد افراد تحت بررسی MCHC طبیعی (۳۲ و بالاتر) داشتند که با نتایج بعضی از پژوهش ها همخوانی دارد (۳،۴).

بر اساس نتایج به دست آمده حدود ۱/۵ درصد افراد تحت بررسی HbA₂ کمتر از ۳/۵ داشتند که با منابع دیگر همخوانی دارد (۳،۴،۶). در این مطالعه دو نفر HbA₂ ۳/۶ درصد داشتند که با تکرار آزمایش نیز همین نتیجه بدست آمد. چون سوش های میکروکالم کروماتوگرافی که برای اندازه گیری HbA₂ استفاده می شوند در ۱۸٪ موارد مقدار HbA₂ را زیادتر از مقدار واقعی تخمین می زنند (۵) و همچنین مقدار طبیعی در ایران مشخص نیست، ممکن است بتوان این دو نفر را هم در گروه افرادی که HbA₂ طبیعی دارند قرار داد که در این صورت ۲/۵ درصد افراد HbA₂ طبیعی خواهند

Summary

Evaluation of HbA₂ In Minor β Thalassemia Carriers Referred to Kerman Special Disease Center

Atapour M. MLD.,¹ Zohoor AR. PhD.,² Zolala A. BSc³ Arjmand AR, BSc.⁴

1. Medical Laboratory Doctor, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran 2. Assistant Professor of Epidemiology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran 3. B.Sc in Medical Laboratory Science 4. M.Sc Student of Hematology, Tarbiat Moddares University, Tehran, Iran

Increased HbA₂ is a characteristic finding in minor beta thalassemia. Minor β -thalassemia is a heterozygote form of β -thalassemia that carries thalassemia genes but does not cause thalassemia disease. Diagnosis of carriers is done by CBC, RBC Index, and HbA₂ test. Very few cases of people with minor-thalassemia have a normal HbA₂. According to the results of this pilot study it seems that percentage of minor thalassemia is noticeable in Kerman province. In this survey parents of thalassemia major and intermedia were evaluated. The result showed that about two percent of them had normal HbA₂. All of the people with normal HbA₂ were born in Kerman. We suggest that this type of study should be done in different cities of this province in order to take necessary steps in effective prevention of major-thalassemia.

Key Words: HbA₂, Minor thalassemia

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2003; 10(2): 99-104

References

1. Beris P, Boreux G, Klein D, Miescher PA. The detection of beta-thalassemia minor. *Nouv Rev Fr Hermatol* 1980; 22(3): 223-34.
2. Berman BW, Ritchey AK, Jekel JF, Schwartz AD, Guiliotis DK and Pearson HA. Hematology of beta-thalassemia trait-age-related developmental aspects and intrafamilial correlation. *J Pediatr*. 1980; 97(6): 901-5.
3. Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 19th ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1996.
4. Lukens J.N: Thalassemia and related anemia. In: Lee G.R, Foerfter J, Lukens J.N, Paraskevas F, Greer J.P and Rodgers J.M (Eds.), Wintorobe's Clinical Hematology. 10th ed., 1999; p1405.
5. Moors A, Melis -Liekens J, Vlieger-Bensel M, De Groof-Cornelis E and Van Ros G. Evaluation of a simplified microchromato- graphic technique for hemoglobin A2 determination. *Acta haematol* 1979; 6(1): 15-26.
6. Oner R, Birben E, Acar C *et al*. Molecular analysis of Turkish beta-thalassemia heterozygotes with normal HbA₂ levels *Hemoglobin* 2000; 24(3): 195-201.