

## ارزیابی شاخص‌های گلبول قرمز در غربالگری بتا تالاسمی مینور

دکتر خدامراد زندیان<sup>\*</sup>، دکتر محمد پدram<sup>E</sup>، دکتر اعظم السادات هاشمی<sup>E</sup>،

دکتر رضا اکرمی پور<sup>E</sup>

خلاصه:

تالاسمی گروه هتروژنی از کم خونیهاست که در آن نقص کمی در ساخت هموگلوبین است. در بتا تالاسمی مینور بیماران کمخونی خفیفی داشته و در آن شمارش<sup>1</sup> RBC هماهنگ با مقدار هموگلوبین نبوده و معمولاً طبیعی یا بیشتر از میزان طبیعی است. مورفولوژی گلبولهای قرمز علائم هیپوکروم و میکروسیتیک را نشان می‌دهد یعنی<sup>2</sup> MCV و<sup>3</sup> MCH کاهش یافته است و انیزوسیتوز خفیفی وجود دارد ولی به اندازه فقر آهن نیست بعلاوه یعنی<sup>4</sup> RDW تقریباً طبیعی است و در الکتروفورز اینگونه بیماران هموگلوبین<sup>2</sup> A<sub>2</sub> افزایش یافته است. تعداد<sup>5</sup> ۲۳۰ نفر از بیماران مبتلا به بتا تالاسمی مینور در این مرکز بررسی شدند و در آنها شاخص‌های<sup>5</sup> گلبول قرمز و الکتروفورز هموگلوبین بعمل آمد و در مقایسه این شاخص‌ها مشخص شد که MCH کمتر از ۳۰ به همراه هموگلوبین الکتروفورز از حساسیت بیشتری در آزمایش‌های غربالگری برخوردار می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: شاخص‌های گلبول قرمز، غربالگری بتا تالاسمی مینور

مقدمه

سیسیل (۱۵٪)، کشور یونان (۵ تا ۱۵٪)، ایتالیا

(۴ تا ۱۰٪) (۳) و ایران (۴ تا ۱۰٪) (۴).

بنابراین ایران یکی از شایع‌ترین کانونهای آلوده با انتشار فراوانی بالای تالاسمی است. طرح عظیم غربالگری قبل از ازدواج که در مراکز بهداشتی ایران انجام می‌شود از جمله اقداماتی است که زمینه را برای شناخت و تشخیص قبل از تولد و دفع جنین‌های مبتلا از بطن مادر مهیا میکند (۵). ژن تالاسمی بسیار متنوع است. در حال حاضر بیش از ۱۵۰ موتاسیون از ژن تالاسمی بتا و حدود ۲۳ ژن تالاسمی آلفا

اهمیت پیشگیری بیماری تالاسمی بتا از بعد سلامتی جامعه به این دلیل است که بتا تالاسمی فراوانترین بیماری تک ژنی در ایران و جهان است. ژن آن به شکل مغلوب ارثی از والدین ناقل به فرزندان منتقل می‌شود. کانون بیماری در ۶۰ کشور دنیا روی کمر بند جغرافیائی تالاسمی قرار دارد (۱).

بالاترین درجه فراوانی بیماری شناخته شده در دنیا عبارتند از: جزایر ساردنی (۱۱ تا ۳۴٪) (۲)،

\* مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز

- 1- Red blood count
- 2- Mean corpuscular volume
- 3- Mean corpuscular hemoglobin
- 4- Red cell distribution width
- 5- RBC index

دریافت مقاله: ۷۹/۱۲/۲ دریافت مقاله اصلاح شده: ۸۱/۱۱/۱۳ اعلام قبولی: ۸۱/۱۲/۹

به جای اندازه گیری Hb A<sub>2</sub> از طریق کالریتری، الکتروفورز هموگلوبین انجام شد. در ضمن افرادی که دچار فقر آهن و  $\alpha$  تالاسمی بودند از مطالعه حذف شدند. این نمونه گیری بصورت تصادفی بود. در ضمن برای این تحقیق بودجه‌ای مصرف نشده است.

#### نتایج:

با توجه به اینکه در تشخیص تالاسمی مینور هموگلوبین، MCV و MCH پائین و RBC بالا مورد نظر است این اندکس‌ها شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت (نتایج در جدول‌های ضمیمه موجود است).

از تعداد ۲۲۹ فرد مبتلا به تالاسمی مینور، ۴ مورد (یعنی کمتر از ۲ درصد) از بیماران  $MCV < 80$  fl یا بالاتر از آنرا داشتند. و در بقیه موارد MCV کمتر از  $80$  fl بود. از تعداد ۱۸۹ مورد هموگلوبین بررسی شده، ۱۲۸ مورد (یعنی در حدود ۷۰ درصد) از بیماران هموگلوبین بالاتر از ۱۱ گرم/دسی‌لیتر داشتند. (با تفکیک جنس نیز در همین حدود بود) مقدار RBC کمتر از ۵ میلیون در ۱۹ نفر که مورد بررسی قرار گرفته‌اند دیده شد (یعنی در حدود ۱۰ درصد از بیماران). مقدار MCH مساوی یا بالاتر از  $26pg$  در ۸ نفر از بیماران (یعنی در حدود ۳/۵ درصد موارد) دیده شد و بقیه موارد از این مقدار کمتر بودند. قابل ذکر است که MCH بالاتر از  $30pg$  در هیچ موردی دیده نشد. (با توجه به مقایسه این ۳ اندکس، MCH کمتر از ۳۰ از حساسیت بیشتری در غربالگری بیماران برخوردار است) مقدار RDW

شناخته شده است. به همین جهت CBC<sup>۱</sup> و شاخص‌های RBC در والدین بیماران تالاسمیک بسیار متفاوتند از این‌رو در این تحقیق طی یک بررسی Pilot ۲۳۰ نفر از ناقلین واضح بطور تصادفی انتخاب شده، CBC و هموگلوبین الکتروفورز در آنها بررسی گردید. ناقل‌های بتا تالاسمی که در این مطالعه بررسی شده‌اند والدین فرزندان مبتلا به تالاسمی بتا مازور بوده‌اند از بین شاخص‌های RBC، MCH از حساسیت بیشتری در غربالگری بیماران برخوردار است.

هدف از این تحقیق بررسی دقیق طیف CBC و اندکس‌های RBC در کنار هموگلوبین الکتروفورز در ناقلین مشخص بتا تالاسمی در منطقه خوزستان است. این بررسی از مهر ۱۳۷۸ لغایت مهر ۱۳۷۹ بعمل آمده است.

#### مواد و روشها

پس از صحبت و گرفتن رضایت این مطالعه روی والدینی که فرزند مبتلا به تالاسمی مازور داشتند، انجام گرفت.

برای کلیه این افراد نمونه‌ای از ورید سطحی گرفته و در شیشه‌های حاوی ماده EDTA<sup>۲</sup> نگهداری و سپس آزمایش CBC، انجام شد و با شمارشگر خودکار Helena انواع گویچه‌های قرمز، سفید و پلاکت و سایر شاخص‌های گویچه‌های قرمز شمارش شد و در صورتی که علائم هیپوکروم ( $MCH < 27pg$ ) و میکروسیتیک ( $MCV < 80fl$ ) وجود داشت (طبق برنامه کشوری پیشگیری از تالاسمی) از آنها الکتروفورز بعمل آمد. (لازم به ذکر است که

1- Complete Boold Count

2- Ethylen diamine tetra acetic acid

ژن تالاسمی قبل از ازدواج می‌تواند بسیار با ارزش باشد.

در برخورد با بیمار دچار کمخونی هیپوکروم میکروسیتیک مهمترین تشخیص افتراقی فقر آهن است و همچنین باید  $\alpha$  تالاسمی را در نظر داشت (۶). در کمخونی میکروسیتیک مقاوم به درمان آهن، همیشه احتمال  $\alpha$  تالاسمی وجود دارد (۶). در مواردی نیز با وجود آنکه بیمار دچار تالاسمی مینور است، مقدار هموگلوبین  $A_2$  طبیعی گزارش می‌شود (۹). طوری که لازم است بیماریک تا دو ماه تحت درمان با قرص فرو سولفات قرار بگیرد و مجدداً الکتروفورز هموگلوبین انجام شود (۱۰).

مواردی که همراه با افزایش هموگلوبین  $A_2$  است ولی تالاسمی مینور نیست شامل: واریانتهای هموگلوبین ناپایدار همراهی سیکل سل با  $\alpha$  تالاسمی، کمخونی مگالوبلاستیک و پرکاری تیروئید است. برعکس، مواردی که باعث کاهش هموگلوبین می‌شود  $A_2$  شامل  $\alpha$  تالاسمی،  $\beta$   $\delta$  تالاسمی،  $\delta$  تالاسمی<sup>۱</sup> HPFH، فقر آهن و کمخونی سیدروبلاستیک می‌باشد (۶). دقیق ترین متد برای تشخیص تالاسمی مینور، اندازه گیری کمی هموگلوبین  $A_2$  و  $F$ ، نسبت سنتز زنجیره گلوبین و مطالعات DNA برای موتاسیونهای مخصوص است. چون این متدها گران قیمت هستند برای غربالگری استفاده نمی‌شوند. از آنجایی که تالاسمی تقریباً بصورت ثابت با هیپوکرومیا ( $MCH < 30pg$ ) و میکروسیتوز ( $MCV < 80fl$ ) همراه است، از اندکس های گلوبول قرمز به عنوان اندکس های مقدماتی استفاده می‌شود (۶ و ۸).

در ۱۲ نفر از ۱۰۲ مورد بیمار (یعنی کمتر از ۱۲ درصد از موارد) بالاتر از ۱۶ گزارش شده است و در سایر موارد ۱۶ یا کمتر از آن بودند. الکتروفورز بیماران به قرار زیر بود: مقدار هموگلوبین  $A_2$  پائین تر از ۳/۵ درصد در ۵ نفر (یعنی در ۲ درصد از بیماران) وجود داشت. مقدار هموگلوبین  $F$  مساوی یا کمتر از یک درصد در ۴۳ بیمار از ۲۲۹ بیمار (یعنی در حدود کمتر از ۲۰ درصد از موارد) دیده شد. و در سایر موارد بالاتر از یک درصد بود.

#### بحث:

تالاسمی، گروه هتروژنی از کمخونی های ارثی است و به وسیله جهشی که ساخت هموگلوبین را تحت تاثیر قرار می‌دهد، ایجاد می‌شود. هموگلوبین طبیعی تترامری از ۲ زنجیره  $\alpha$  و ۲ زنجیره  $\beta$  میباشد (۶). بیش از ۲۳ جهش مختلف برای تالاسمی آلفا و بیش از ۱۵۰ جهش در تالاسمی بتا مشخص شده است (۷).

از آنجا که خوزستان جزو مناطق با شیوع بالای تالاسمی است که تا ۱۹/۶٪ نیز گزارش شده است (۷)، برنامه پیشگیری کشوری در مورد تالاسمی در این منطقه بررسی شد زیرا تالاسمی علاوه بر آثار اجتماعی و روانی که بر خانواده دارد، بار مالی زیادی را به کشور تحمیل می‌کند. طوری که میزان هزینه کیسه‌های فرآورده‌های خونی برای ۲۰/۰۰۰ بیمار در کشور برابر یک میلیون دلار و میزان دسفرال مصرفی برابر چهل میلیون دلار خواهد بود (۱). پس دقت در غربالگری بیماران حامل

1- HPFH=Hyper Persistence Fetal Hemoglobin

(H) را مشخص می‌کند. نسبت M/H در بیماران تالاسمی بالاتر از فقر آهن بود (۱۲).

یافته‌های تحقیق اصفهان نشان داده است که در صورتی که درمردی  $MCV < 80 \text{ fl}$  و  $RBC > 7 \times 10^6$  و  $Hb < 18 \text{ g/dl}$  وجود داشته باشد، احتمال ۹۰ درصد مبتلا به بتا تالاسمی مینور است. و اگر زنی با همین  $MCV$  و  $RBC > 6/5 \times 10^6$  و  $Hb < 16$  مراجعه نماید، وی نیز به احتمال ۹۰ درصد مبتلا به تالاسمی مینور است (۱۳). در مطالعه دیگری توصیه شده است که به هیچ وجه از روش دستی CBC و اندکس‌های RBC جهت بررسی تالاسمی مینور استفاده نشود (۱۴). در بررسی آزمایشگاهی ناقلین تالاسمی توصیه می‌شود که گرچه برای افتراق کمخونی فقر آهن از تالاسمی براساس شاخص‌های RBC فرمولهای مختلفی وجود دارد<sup>۱</sup> (۸). ولی از این فرمولها در کودکان و زنان حامله یا بیماران مبتلا به کمخونی فقر آهن نمی‌توان استفاده کرد و فقط در ۸۰ تا ۹۰ درصد موارد تشخیص صحیح است (۱۵).

بنابراین با توجه به اینکه دقیق ترین متد تشخیص در تعیین نسبت سنتز زنجیره گلوبین و مطالعات DNA برای موتاسیون‌های خاص گران قیمت است لازم است که الکتروفورز هموگلوبین در کنار شاخص‌های RBC تفسیر شود و  $MCH < 30 \text{ pg}$  بعنوان رد کننده وجود ژن معیوب تالاسمی ارزشمند است و در تشخیص فاقد ارزش است زیرا افراد طبیعی  $MCH < 27 \text{ pg}$  که در ۹۶/۵٪ از افراد با تالاسمی مینور دیده می‌شود ارزش غربالگری بسیار بسالتری از  $MCH < 30 \text{ pg}$  دارد.

بر این اساس در کشور ما نیز از  $MCH < 27 \text{ pg}$  و  $MCV < 80 \text{ fl}$  به عنوان آزمایش غربالگری استفاده می‌شود. همانطور که از جداول مشخص است، MCH بالاتر از ۲۶ درصد در ۸ مورد گزارش شد ولی MCH بالاتر از  $30 \text{ pg}$  در هیچ موردی دیده نشد. در مورد  $MCV$  مساوی یا بالاتر از ۸۰ در ۴ مورد دیده شده است. در مورد RBC در ۱۰ درصد موارد از ۵ میلیون کمتر می‌باشد و نیز هموگلوبین مساوی یا بالاتر از ۱۱ در کمتر از ۷۰٪ موارد دیده شد. با توجه به یافته‌های فوق مشخص می‌شود که مقدار هموگلوبین و RBC از حساسیت کمتری در غربالگری برخوردار است و برعکس،  $MCV$  و مخصوصاً "MCH کمتر از ۳۰ از اهمیت شایانی در آزمایش غربالگری برخوردار است و منفی کاذب کمتری دارد. در هموگلوبین الکتروفورز انجام یافته شاخص تشخیص  $\beta$  تالاسمی مینور، هموگلوبین  $A_2$  بالاتر از ۳/۵ درصد بود که در ۹۸ درصد موارد افزایش یافته بود.

هموگلوبین F بالاتر از یک درصد در بیش از ۸۰ درصد موارد دیده شد. بنابراین RDW و هموگلوبین F نمی‌تواند به عنوان شاخص حساس در غربالگری استفاده شود. در بررسی مشابهی که در کشور هند انجام یافته، آنها C ut Off value- را بصورت زیر تعیین کردند:

$MCV$  مساوی یا کمتر از ۷۶ و شمارش گلبول قرمز بیشتر یا مساوی  $4/9$  میلیون و RDW بالاتر یا مساوی ۱۸ (۱۱).

در بررسی دیگر شمارشگر سلولی خودکار  $H_1/H_2$  استفاده شده است که سلولهای قرمز میکروسیتیک (M) و هیپوکرومیک

جدول (۱) بررسی MCV بر حسب تفکیک جنس در تالاسمی بتا مینور

مقدار MCV فمتولیترا	تعداد	درصد	تعداد پسران	درصد پسران	تعداد دختران	درصد دختران
>۸۰	۴	٪۱/۷	۲	٪۱/۸۵	۲	٪۱/۷۲
۸۰>MCV>۷۰	۱۴	٪۶/۱	۷	٪۶/۴۸	۹	٪۷/۷۵
۷۰>MCV>۶۰	۱۱۶	٪۵۰/۶۵	۴۹	٪۴۳/۳۷	۶۳	٪۵۴/۳۱
۶۰>MCV	۹۵	٪۴۱/۴۸	۵۰	٪۴۶/۲۹	۴۲	٪۳۶/۲۰

جدول ۲: بررسی Hb بر حسب تفکیک جنس در تالاسمی بتا مینور

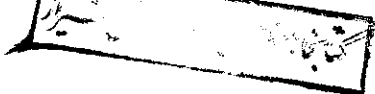
مقدار Hb g/dl	تعداد	درصد	تعداد پسران	درصد پسران	تعداد دختران	درصد دختران
Hb>11	۱۲۸	٪۶۷/۷۲	۵۸	٪۶۸/۲۳	۶۳	٪۶۶/۳۱
۱۱>Hb>۱۰	۳۰	٪۱۵/۸۷	۱۶	٪۱۸/۸۵	۱۴	٪۱۴/۷۳
۱۰>Hb>۹	۲۳	٪۱۲/۱۶	۷	٪۸/۲۳	۱۵	٪۱۵/۷۸
۹>Hb>۸	۸	٪۴/۲۳	۴	٪۴/۷۰	۳	٪۳/۱۵

جدول ۳: جدول بررسی شمارش RBC در تالاسمی بتا مینور

مقدار RBC میلیون در میلیمتر مکعب	تعداد	درصد
RBC<۷	۱۵	٪۷/۸۹
۶<RBC<۷	۶۴	٪۳۳/۶۸
۵<RBC<۶	۹۲	٪۴۸/۴۲
RBC<۵	۱۹	٪۱۰

جدول ۴: بررسی مقدار MCH در تالاسمی بتا مینور

مقدار MCH پیکوگرم	تعداد	درصد
MCH>۳۰	-	-
۳۰>MCH>۲۶	۸	٪۳/۵۲
۲۶>MCH>۲۰	۹۸	٪۴۳/۱۷
۲۰>MCH	۱۲۱	٪۵۳/۳۰



جدول ۵: بررسی مقدار RDW در تالاسمی بتامینور

مقدار RDW	تعداد	درصد
RDW > ۱۶	۱۲	٪۱۱/۷۶
RDW < ۱۶	۱۰۲	٪۸۸/۲۳

جدول ۶: بررسی مقدار HbF در تالاسمی بتامینور

مقدار HbF	تعداد	درصد
HbF < ۱	۴۳	٪۱۸/۷۷
۲ > HbF > ۱	۱۱۸	٪۵۱/۵۲
HbF > ۲	۶۸	٪۴۲/۷۹

8- Miller, Denis R: Blood disease of infancy 7th edition - Mosby 1995, PP 235-275.

9- D.J. Weatherall: the diagnostic features of the different forms of thalassemia: D.J. Weatherall the thalassemia 1983. pp (10-25) - Churchill Livingstone - London

۱۰- مجید. محمد، پاکباز. زهرا، بررسی تاثیر

تجویز آهن خوراکی بر مقدار HbA<sub>2</sub> در افراد

مشکوک به ابتلای به بتا تالاسمی مینور و

کمخونی فقر آهن، دو فصلنامه انجمن تالاسمی

ایران، شماره ۱۲ پائیز ۱۳۷۶ صفحه ۳۸-۴۰.

11- Kotwal J; Saxena R; Choudhry VP; Dwivedi SN; Bhargava M: Erythrocyte indices for discriminating thalassaemic and non - thalassaemic microcytosis in India - Nalt Med J India 1999 Nov-Dec; 12(6): 266-7

12- Yenmiah T; Ben - Shalom M; Porath A; Vardi H; Boantz A; Mazor D; Meyersteln N: Quantitative determinations of microcytic hypochromic red blood cell population and glycerol permeability in Iron deficiency anemia and beta thalassemia minor Ann Hematol 1999 Oct; 78(10): 468-71

۱۳- قانعی. مصطفی، موحدی. مصطفی، اتشر.

مرتضی: امکان افتراق اندکس های خونی فقر

منابع:

1- Habibzadeh. F, yadollahe. N, Merate. A, Haghshenas .M: thalassemia in Iran an overview arch Irn Med 1998 1(1) 27-33.

2- Guiso. L, Fogheri. L, Pisiddn. P, Frequency of delta + 27 thalassemia in sardinians, Clin Lab .Hematology 1996 .Dec 18(4): 241-4

3- Lukens YN. The thalassemia related disorders : in Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Wintrobe, s clinical hematology. 9th ed philadelphia loa and febiger 1993 - 1102-45

4- Haghshenas. M, zamani. j: thalassemia 1st ed shiraz; shiraz university of medical sciences publishing center 1997 (Book in persian) PP 1-25.

5- Samavat A: the Prevention of B-thalassemia centers in Iran and establishment of network or prenatal diagnosis international seminar on thalassemia up date (molecular genetics and therapeutic aspects), 5-4 Nov. 2000 PP 15.

6- David G. Nathan. Stuart H. orkin: Nathan and oski, s hematology of infancy and childhood , 8th edition, W.B. Saunders company, 1998; 848-851

۷- پدرام. محمد، احمدی. علی محمد، بررسی بتا

تالاسمی مینور در داوطلبین ازدواج شهرستان

اهواز، کارنامه تالاسمی اهواز ۱۳۷۵ تا ۱۳۶۰،

اهواز ۱۳۷۵ صفحه ۸۹-۸۰.

فصلنامه خون، پائیز ۱۳۷۵، سال سوم شماره ۳،  
ص ۱۰۶-۱۰۳.

۱۵- فیاضی مقدم. کتابیون : راهنمای بررسی  
آزمایشگاهی ناقلین تالاسمی. فصلنامه خون، سال  
سوم، شماره ۲، تابستان ۱۳۷۵، ص ۵۶-۵۰.

آهن در تالاسمی مینور بر اساس گلبول قرمز،  
مجله دانشکده پزشکی اصفهان، سال ششم شماره  
۲۲-۱۳۷۶-ص ۶۰۱.

۱۴- صفائی. مسعود: گزارش یکصد و پنجاه چهار  
مورد CBC در ناقلین تالاسمی مینور در اصفهان،