Archive of SID

# معرفی یک روش تشخیصی در افتراق بتا تالاسمی مینور از کم‌خونی فقر آهن:

## اندازه‌گیری توأم پروتوپورفیرین متصل به روی و میانگین حجم گلبولی

حلیمه خوش‌آموز[1]، دکتر عباس حاجی‌فتحعلی، دکتر علی‌اکبر پورفتح‌الله، دکتر فاطمه کرمی‌تهرانی


## چکیده مقاله

**مقدمه.** با توجه به شیوع بالای بتاتالاسمی و کم‌خونی فقر آهن در ایران که جزو کم‌خونیهای هیپوکرومیک و میکروسیتیک هستند، نیاز به روشهای غربالگری مناسب کاملاً ملموس بوده و از اولویتهای تحقیقاتی در کشور است. در این مطالعه، ارزش تشخیصی اندازه‌گیری پروتوپورفیرین متصل به روی (ZPP) به عنوان ابزاری در افتراق کم‌خونی فقر آهن از بتاتالاسمی هتروزیگوت مورد بررسی قرار گرفت.

**روشها.** اطلاعات مربوط به ۱۷۲ نفر از بیماران سرپایی مراجعه کننده در محدودهٔ سنی یک تا ۹۰ ساله جمع‌آوری شد. در تمام بیماران با میکروسیتوز آزمایشهای بررسی وضعیت آهن (آهن سرم، TIBC و فری‌تین سرم) و الکتروفورز هموگلوبین انجام شد. چهار پارامتر جداسازی تالاسمی از فقر آهن یعنی DF′ با K=۳/۴ و K=۸/۴ و تعداد RBC و نسبت MCV:RBC در تمام بیماران محاسبه شد و با روش کاربرد ترکیبی ZPP و MCV مقایسه گردید.

**نتایج.** مقدار ZPP در تمام مبتلایان به فقر آهن و در ۵۳ درصد بیماران با بتاتالاسمی هتروزیگوت افزایش داشت. با استفاده ترکیبی از میانگین حجم گلبولی (MCV) و ZPP بیماران با فقر آهن و بتاتالاسمی هتروزیگوت با دقت ۹۹ درصد به درستی طبقه‌بندی شدند.

**بحث.** ارزش پیشگویی این روش بهتر از نتایج به دست آمده از فرمولهایی است که از شاخصهای گلبول قرمز مشتق شده‌اند. آزمایش ZPP به علّت سادگی روش انجام آزمایش، سرعت و دقّت بالا و هزینه پایین، به عنوان قدم دوم در برنامه‌های غربالگری برای بتاتالاسمی که در آن از MCV به عنوان تست مقدماتی استفاده می‌شود توصیه می‌گردد.


● *واژه‌های کلیدی. بتاتالاسمی، آنمی فقر آهن، مطالعات تشخیصی، غربالگری، معیارهای تشخیصی.*

## مقدمه

با توجه به شیوع بالای تالاسمی و کم‌خونی فقر آهن در ایران، اکثر مواقع تشخیص افتراقی این دو مستلزم صرف وقت و هزینه است. لذا شایسته است با روشهای سریع، دقیق، ارزان و آسان بتوان به تشخیص رسید. اگر این موارد تحقق یابد می‌توان از آن در غربالگری جمعیت نیز استفاده نمود.

در غربالگری باید از آزمایشهای وقت‌گیر و گران قیمت اجتناب نمود و نحوه کار به گونه‌ای باشد که برای بیمار هم قابل پذیرش باشد.

افراد مبتلا به بتا تالاسمی هتروزیگوت، سندرم بالینی کم‌خونی هیپوکرومیک و میکروسیتیک خفیف و اغلب بدون علایم بالینی رانشان می‌دهند، اما در شرایط هموزیگوت به علت مشکلات شدید و تهدید کننده‌ای که برای بیماران دارد هزینهٔ بسیار گزافی برای سیستم بهداشتی درمانی کشور در بردارد.

امروزه MCV یا MCH اولین تست در برنامه‌های غربالگری جمعیت برای بتا تالاسمی هتروزیگوت است. در بیماران با MCV پایین، الکتروفورز هموگلوبین و تعیین مقدار کمّی $HbA_2$ انجام می‌شود. اما در مناطق با شیوع تالاسمی نیز، کم‌خونی فقر آهن از علل شایع کم‌خونیهای میکروسیتیک است به علاوه وقوع هم زمان تالاسمی و فقر آهن نیز ممکن است رخ دهد. فقر آهن، سطح سرمی $HbA_2$ را کاهش می‌دهد و افراد مبتلا به بتاتالاسمی هتروزیگوت که همزمان فقر آهن شدید نیز دارند ممکن است اشتباه تشخیص داده شوند (۶).

برای افتراق میکروسیتوز ناشی از فقر آهن و تالاسمی مینور با استفاده از شاخصهای گلبول قرمز چندین روش پیشنهاد شد. انگلند و فریزر در سال ۱۹۷۳ با استفاده از دستگاه شمارشگر کولتر مدل S فرمول زیر را پیشنهاد کردند (۱).

$$DF'=MCV-(5\times Hb)-K-RBC$$

K عدد ثابتی است و از روشی که برای تنظیم دستگاه استفاده می‌شود به دست می‌آید. این عدد می‌تواند ۳/۴ تا ۸/۴ باشد چنانچه DF′ مثبت شود به نفع فقر آهن و چنانچه منفی شود به نفع تالاسمی مینور است.

در همان سال استری‌واستا نسبت MCH به RBC را پیشنهاد کرد. چنانچه مقدار این نسبت کمتر از ۳/۸ باشد تشخیص احتمالی تالاسمی مینور و اگر بیشتر از ۳/۸ باشد تشخیص احتمالی کم‌خونی فقر آهن است (۲).

منتزر هم در همان سال نسبت MCV به RBC را در افتراق این دو نوع کم‌خونی پیشنهاد کرد. چنانچه این نسبت بیشتر از ۱۳ باشد تشخیص احتمالی فقر آهن و اگر کمتر از ۱۳ باشد تشخیص احتمالی آلفا یا بتاتالاسمی

۱ - گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.



www.SID.ir

Archive of SID

مینور است. همین طور شمارش گلبول قرمز چنانچه بیشتر از ۵ میلیون باشد تشخیص احتمالی تالاسمی مینور و کمتر از ۵ میلیون باشد به نفع کم‌خونی فقر آهن است (۳).

استفادهٔ هم زمان از MCV و پروتوپورفیرین آزاد اریتروسیتی (FEP) به عنوان روشی ساده در افتراق تالاسمی هتروزیگوت از فقر آهن و مسمومیّت با سرب پیشنهاد شده است (۴، ۵).

Meloni و همکاران در سال ۱۹۸۲ تعیین MCV و FEP به همراه $HbA_2$ را ابزار مفیدی در تشخیص بتاتالاسمی از کم‌خونی فقر آهن در کودکان دانستند (۶). Hershko و همکاران نیز در سال ۱۹۸۵ استفادهٔ ترکیبی از ZPP ، MCV و $HbA_2$ را در افتراق بین کم‌خونی فقر آهن، بتاتالاسمی مینور و مسمومیّت با سرب با ارزش دانستند (۷). Harthoorn و همکاران در سال ۱۹۹۸ استفاده ترکیبی از ZPP و MCV را در تشخیص افتراق تالاسمی و کم‌خونی فقر آهن پیشنهاد نمودند و توصیه کردند که ZPP جزو اولین آزمایشها برای غربالگری سندرمهای تالاسمی در بیماران با میکروسیتوز لحاظ شود (۸).

ZPP یک محصول فرعی در مسیر سنتز هِم است (۹). در مرحلهٔ نهایی سنتز هِم، آهن به پروتوپورفیرین IX وارد شده و هِم تشکیل می‌شود. آنزیم فروشلاتاز این روند را کاتالیز نموده به دنبال آن هِم باگلوبین ترکیب شده هموگلوبین تشکیل می‌شود و چنانچه آهن قابل دسترس حین سنتز هِم کاهش یابد، روی (Zinc) به جای آهن وارد مولکول پروتوپورفیرین IX می‌شود و ZPP تشکیل می‌شود (۹-۱۲).

افزایش ZPP معرف کاهش تولید هِم است (۹، ۱۱). ZPP تولید شده به جایگاه هِم در گلوبین متصل می‌شود که فاقد عملکرد (non-Functional) است و در اریتروسیت‌های خون انسان برای تمام عمر سلول باقی می‌ماند (۱۳) از آن جا که ZPP بطور طبیعی ترکیبی فلوئورسانت است می‌تواند با استفاده از دستگاه هماتوفلورومتری اندازه‌گیری شود. ZPP معرف حسّاسی برای اریتروپوئز فقر آهن است و به علّت سادگی روش کار و سرعت اندازه‌گیری، می‌تواند به تشخیص فوری کمک نموده از آزمایشهای گران قیمت جلوگیری نماید (۹، ۱۴). روش غیرمستقیم برای اندازه‌گیری پورفیرین‌های خون کامل و اریتروسیت‌ها، روشهای استخراجی است که اغلب به عنوان پروتوپورفیرین آزاد اریتروسیتی (FEP) نامیده می‌شود و روش رفرانس اندازه‌گیری آن روش پیوملی است (۱۵). در این مطالعه ضمن ارزیابی کاربرد همزمان اندازه‌گیری MCV و ZPP در افتراق فقرآهن از بتاتالاسمی، رابطهٔ ZPP با FEP نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد.

## روشها

اطلاعات مربوط به ۱۷۲ نفر از بیماران سرپایی مراجعه کننده به بیمارستان شهید اشرفی اصفهانی، بیمارستان کودکان مفید، سازمان انتقال خون و مطب پزشک در محدودهٔ سنی یک تا ۹۰ ساله جمع‌آوری شد. پرسشنامهٔ بیماران براساس یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی تکمیل شد. ابتدا شمارش کامل سلولهای خونی (CBC) انجام شد و بیماران با میکروسیتوز (MCV<۸۰fl) انتخاب شدند و افراد با MCV بالاتر، از مطالعه کنار گذاشته شدند. سپس لام خون محیطی این بیماران برای بررسی بیشتر رنگ‌آمیزی شد. در تمام بیماران با میکروسیتوز (۷۹ نفر مؤنث و ۶۱ نفر مذکر) آزمایشهای بررسی وضعیت آهن (آهن سرم، TIBC و فری‌تین سرم) و الکتروفورز هموگلوبین انجام شد. نمونه خونهای CBC برای آزمایش FEP و ZPP در یخچال حداکثر به مدت سه هفته نگهداری شد. برای حمل و نقل نمونه‌ها از کیسه‌های تیره رنگ و در ظرف حاوی یخ خشک استفاده شد. ۳۲ نفر نیز با MCV بالاتر از ۸۰fl، شمارش گلبولی طبیعی، تست‌های طبیعی وضعیت آهن و الکتروفورز هموگلوبین طبیعی بدون علایم دیگر دالّ بر وجود بیماری به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند.

بیماران براساس معیارهای تشخیصی به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل مبتلایان به کم‌خونی فقر آهن بودند که هیچگونه مدرک بالینی یا آزمایشگاهی مبتنی بر وجود بیماریهای دیگر نداشتند. درصد اشباع ترانسفرین در این بیماران کمتر از ۱۶ و سطح فری‌تین سرم در افراد مذکر این گروه کمتر از ۳۸ng/ml و در افراد مؤنث این گروه کمتر از ۹ng/ml در نظر گرفته شد. گروه دوم شامل مبتلایان به بتاتالاسمی هتروزیگوت بودند که تست‌های مربوط به آهن در آنها طبیعی و سطح $HbA_2$ در آنها بالاتر از ۳/۳ بود. گروه سوم را بیمارانی تشکیل می‌دادند که همزمان دچار بتاتالاسمی هتروزیگوت و کم‌خونی فقر آهن بودند.

CBC توسط دستگاه شمارشگر سلولی اتوماتیک Symex K1000 اندازه‌گیری شد. آهن سرم و TIBC به روش رنگ‌سنجی از کیت‌های شرکت زیست شیمی و فری‌تین به روش IRMA از کیت‌های شرکت کاوشیار انجام شد. الکتروفورز هموگلوبین روی استات سلولز بر اساس روش استاندارد انجام شد و در صورت لزوم $HbA_2$ به طریق کروماتوگرافی ستونی و HbF به روش Betke (مقاومت به قلیا) اندازه‌گیری شد.

سنجش ZPP با دستگاه هماتوفلورومتر AVIV Model 205 روی خون تهیه شده برای شمارش سلولی انجام شد. برای اجتناب از اثر مؤلفه‌های پلاسمایی، قبل از انجام آزمایشها اریتروسیت‌ها شسته شدند. FEP به روش استخراجی رفرانس (روش پیوملی)، برای بررسی همبستگی ZPP با FEP توسط اسپکتروفلورومتر Shimadzu model FDU-3 اندازه‌گیری شد.

چهار پارامتر جداسازی تالاسمی از فقر آهن یعنی DF' با K=۳/۴ و K=۸/۴ و تعداد RBC و نسبت MCV:RBC در تمام بیماران محاسبه



www.SID.ir

Archive of SID

شدند و با روش کاربرد ترکیبی ZPP و MCV مقایسه شدند. داده‌ها پس از جمع‌آوری و دسته‌بندی با استفاده از روشهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون همبستگی Correlation و رگرسیون توسط نرم افزار Statgraphics (Ver. 6) تجزیه و تحلیل شد.

## نتایج

فراوانی گروههای کنترل و بیماران به تفکیک سن و جنس در جدول ۱ آمده است. از ۱۱۰ بیمار با میکروسیتوز، ۵۴ درصد مبتلا به کم‌خونی فقر آهن، ۳۳ درصد مبتلا به بتاتالاسمی مینور و ۱۳ درصد همزمان به بتاتالاسمی مینور و فقر آهن مبتلا بودند.

میانگین مقادیر RBC, Hb, MCV, ZPP در گروههای مورد مطالعه در جدول ۲ آمده است. بین میانگین مقادیر ZPP در گروههای مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱). اختلاف معنی‌دار بین میانگین ZPP با جنس و سن مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (نمودارهای ۱ و ۲).

بیشترین مقدار میانگین ZPP در بیماران مبتلا به کم‌خونی فقر آهن وجود دارد و تمام بیماران مبتلا به کم‌خونی فقر آهن دارای افزایش ZPP هستند، در صورتی که ۵۳ درصد افراد مبتلا به بتاتالاسمی مینور افزایش مقادیر ZPP را نشان دادند. این افزایش مقدار حدود دو برابر گروه کنترل است (جدول ۲).

نمودار ۳ مقادیر ZPP را در برابر MCV در بیماران مبتلا به کم‌خونی فقر آهن و افراد مبتلا به بتاتالاسمی مینور بدون همراهی با فقر آهن نشان می‌دهد. مقادیر ZPP, MCV هر دو گروه در مناطق مختلف قرار دارند. این مناطق با خط مستقیمی که به صورت «مرز فقر آهن - تالاسمی» مشخص شده است از هم جدا می‌شوند. معادله این خط مرزی عبارتست از:

$$ZPP = -۰/۰۱۶\ MCV + ۱/۵$$

چنانچه ZPP در واحد mmole/mole Hb و MCV در واحد fl بیان شوند، مناطق کم‌خونی فقر آهن با ZPP+۰/۰۱۶MCV-۱/۵>۰ و مناطق تالاسمی با ZPP+٪۱۶MCV-۱/۵<۰ شناخته می‌شوند. با استفاده از این معادله تنها یک بیمار مبتلا به کم‌خونی فقر آهن بطور اشتباه در گروه بتاتالاسمی مینور قرار گرفت. بنابراین افتراق خوبی بین بیماران مبتلا به کم‌خونی فقر آهن و بتاتالاسمی هتروزیگوت با استفادهٔ ترکیبی از ZPP و MCV امکان‌پذیر است.

**جدول ۱. فراوانی گروههای کنترل و بیمار به تفکیک جنس و سن**

| گروه | | فراوانی جنسی (درصد) | | فراوانی نسبی (درصد) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | تعداد کل (درصد) | مؤنث | مذکر | کمتر از ۶ سال | مساوی یابالاتر از ۶سال |
| کنترل | ۳۲ (۲۳) | ۱۹ (۵۹) | ۱۳ (۴۱) | ۱ (۳) | ۳۱ (۹۷) |
| بیمار | ۱۱۰ (۷۷) | ۶۶ (۶۰) | ۴۴ (۴۰) | ۱۸ (۱۶) | ۹۲ (۸۴) |
| کم‌خونی فقر آهن | ۵۹ (۵۴) | ۴۰ (۶۸) | ۱۹ (۳۲) | ۹ (۱۵) | ۵۰ (۸۵) |
| $\beta$تالاسمی مینور | ۲۶ (۳۳) | ۱۷ (۴۷) | ۱۹ (۵۳) | ۶ (۱۲) | ۳۰ (۸۸) |
| $\beta$تالاسمی‌مینور + فقرآهن | ۱۵ (۱۳) | ۹ (۶۰) | ۶ (۳۱) | ۳ (۲۰) | ۱۲ (۸۰) |
| کل | ۱۴۲ (۱۰۰) | ۸۵ (۶۰) | ۵۷ (۴۰) | ۱۹ (۱۳) | ۱۲۳ (۸۷) |

**جدول ۲. میانگین ZPP، MCV، Hb، RBC در گروههای مورد مطالعه**

| گروه | ZPP (mmol/mol Hb) | ZPP % | MCV (fl) | Hb (g/dl) | RBC ($\times۱۰^{۱۲}$/L) |
|---|---|---|---|---|---|
| کنترل | ۰/۱۷±۰/۰۶a | – | ۸۳/۴۸±۳/۱۲a | ۱۴/۱۴±۱/۶۵c | ۵/۰۴±۰/۶۵b |
| | (۰/۰۷۰-۰/۲۸) | | (۸۰-۹۳) | (۱۲/۱-۱۷/۴) | (۴/۱۲-۶/۲) |
| بیمار | ۰/۵۳±۰/۲۹ | ۸۵ | ۶۵/۸±۷/۲ | ۱۰/۶۹±۱/۷ | ۵/۱۲±۰/۸۵ |
| | (۰/۰۶-۱/۶۴) | | (۵۰/۵-۷۹/۶) | (۵/۸-۱۵/۳) | (۲/۷۹-۶/۹۴) |
| فقر آهن | ۰/۶۸±۰/۲۹d | ۱۰۰ | ۶۹/۲۲±۶/۳۹c | ۱۰/۰۱±۱/۶۹a | ۴/۷۵±۰/۵۲a |
| | (۰/۴۰-۱/۶۴) | | (۵۴/۳-۷۶/۹) | (۵/۸-۱۴) | (۲/۷۹-۵/۷۱) |
| B تالاسمی‌مینور | ۰/۳۱±۰/۱۳b | ۵۲ | ۶۰/۳۶±۵/۴۱a | ۱۱/۷۹±۱/۲۹b | ۵/۹۷±۰/۵۹c |
| | (۰/۰۶-۰/۶۵) | | (۵۰/۵-۷۴/۲) | (۸/۹-۱۵/۳) | (۴/۳-۶/۹) |
| فقر آهنbthal | ۰/۴۶±۰/۱۵c | ۱۰۰ | ۶۲/۶۶±۴/۳۶b | ۱۰/۹۱±۱/۱۱ab | ۵/۳۹±۰/۶۸b |
| | (۰/۳۶-۰/۹۴) | | (۵۴/۲-۴۹/۳) | (۸/۹-۱۲/۸) | (۴/۳۳-۶/۵) |

* داده‌ها به صورت انحراف معیار ± میانگین (حداکثر- حداقل) آورده شده‌اند.

** حروف انگلیسی متفاوت در یک ستون نشان دهندهٔ تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۰۰۱).



www.SID.ir

Archive of SID

**جدول ۳. فراوانی افراد درست طبقه‌بندی شده با استفاده از فرمولها در گروههای فقر آهن و تالاسمی مینور (اعداد داخل پرانتز حد طبقه‌بندی می‌باشند)**

| گروه | کل | DF1† (<۰) | DF'1†† (<۰) | RBC (۵) | MCV:RBC (۱۳) | MCV و ZPP††† |
|---|---|---|---|---|---|---|
| فقر آهن | ۵۹ | ۵۹ | ۵۸ | ۴۶ | ۵۰ | ۵۸ |
| | | (۱۰۰) | (۹۸) | (۷۸) | (۸۵) | (۹۸) |
| تالاسمی مینور | ۲۶ | ۷ | ۲۲ | ۲۲ | ۲۳ | ۲۶ |
| | | (۱۹) | (۶۱) | (۹۲) | (۹۲) | (۱۰۰) |
| کل | ۹۵ | ۶۶ | ۸۰ | ۷۹ | ۸۳ | ۹۴ |
| | (۱۰۰) | (۶۹) | (۸۴) | (۸۳) | (۸۷) | (۹۹) |

† $DF^1 = MCV - 5 \times Hb - RBC - ۳/۴$

†† $DF^1 = MCV - 5 \times Hb - RBC - ۸/۴$

††† $ZPP = -۰/۰۱۶\ MCV + ۱/۵$

**جدول ۴. فراوانی گروه $\beta$ تالاسمی مینور مبتلا فقر آهن پس از تقسیم‌بندی با استفاده از فرمولها(n=۱۵)**

| گروه | DF1† (<۰) | DF'1†† (<۰) | RBC (۵) | MCV:RBC (۱۳) | ZPP و MCV††† |
|---|---|---|---|---|---|
| فقر آهن | ۱۵ | ۱۲ | ۳ | ۳ | ۴ |
| | (۱۰۰) | (۸۰) | (۲۰) | (۲۰) | (۲۷) |
| $\beta$ تالاسمی مینور | ۰ | ۳ | ۱۲ | ۱۲ | ۱۱ |
| | (۰) | (۲۰) | (۸۰) | (۸۰) | (۷۳) |

† $DF^1 = MCV - 5 \times Hb - RBC - ۳/۴$

†† $DF^1 = MCV - 5 \times Hb - RBC - ۸/۴$

††† $ZPP = -۰/۰۱۶\ MCV + ۱/۵$

نمودار ۴ مقادیر ZPP را در برابر MCV در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی مینور، کم‌خونی فقر آهن و افراد مبتلا به بتاتالاسمی هتروزیگوت نشان می‌دهد. با استفاده از این معادله تنها ۴ بیمار از ۱۵ نفر به عنوان فقر آهن شناسایی شدند و بقیه به عنوان بتاتالاسمی هتروزیگوت شناسایی شدند.

با استفاده از ترکیب MCV و ZPP بهترین افتراق بین بتاتالاسمی و فقر آهن به دست می‌آید و تنها یک بیمار با کم‌خونی فقر آهن به درستی طبقه‌بندی نشد (جدول ۳).

## بحث

تعیین علت کم‌خونیهای میکروسیتیک، یکی از شایع‌ترین مشکلات در هماتولوژی بالینی است. با توجه به شیوع بالای بتاتالاسمی در ایران، نیاز به تست‌های غربالگری آسان، سریع، ارزان و دقیق از اولویتهای تحقیقاتی در کشور است. آزمون انتخاب شده باید دارای نقطه برش (Cut-Off point) مناسبی باشد تا بتواند افراد مبتلا را شناسایی کند (حساسیّت بالا). در ضمن بیشتر افرادی را که مبتلا به آن بیماری نیستند را شناسایی کند (ویژگی بالا) و برای جمعیّت هم قابل پذیرش باشد.

پژوهشگران در دهۀ ۱۹۷۰ استفاده از شاخصهای گلبول قرمز را برای افتراق فقر آهن و سندرمهای تالاسمی شرح داده‌اند، اما بررسی فرمولهایی مشتق از شاخصهای خونی توسط محققین دیگر نشان داد که دقّت این فرمولها بیشتر از ۷۰ تا ۹۰ درصد نیست و چنانچه موارد، پیچیده شوند دقّت کاهش می‌یابد (۱۴).

در مطالعه حاضر با استفاده ترکیبی از ZPP و MCV تنها یک مورد از ۵۹ بیمار مبتلا به فقر آهن (۲٪) به عنوان تالاسمی شناسایی شد و هیچکدام از افراد مبتلا به بتاتالاسمی هتروزیگوت اشتباه طبقه‌بندی نشدند. بیمار مذکور خانم ۵۶ ساله‌ای با مشخصات زیر بود.

| | |
|---|---|
| $RBC = ۴/۷۱ \times ۱۰^{۱۲}/L$ | Hct= ٪۲۷/۲ |
| Hb= ۸/۲gr/dl(HbF= ۱/۹) | Serum Fe= ۸μg/dl |
| MCH= ۱۷/۴Pg | TIBC= ۵۷۰μg/dl |
| MCHC= ۳۰/۱ gr/dl | Serum Ferritin= ۶/۵ng/ml |
| MCV= ۵۷/۷ fl | Transferin Saturation= ٪۱/۴ |

نسبت MCV:RBC در این بیمار ۱۲/۵ است که وی را در گروه تالاسمی طبقه‌بندی می‌کند. از آنجا که فقر آهن میزان $HbA_2$ را کاهش می‌دهد ممکن است بیمار مبتلا به بتاتالاسمی هتروزیگوت همراه با فقر آهن شدید باشد. متأسفانه امکان پیگیری مجدّد بیمار مقدور نشد.

چنانچه از DF' انگلند و فریزر استفاده شود بیشتر بیماران بتاتالاسمی مینور که دارای فقر آهن هم هستند در گروه فقر آهن طبقه‌بندی می‌شوند اما با استفادۀ ترکیبی از ZPP و MCV بیشتر بیماران بتاتالاسمی مینور که از فقر آهن رنج می‌برند دارای مقادیر ZPP، MCV هستند که دلالت بر وجود بتاتالاسمی می‌کند (جدول ۴).



www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵. میانگین مقادیر ZPP در گروههای مورد مطالعه بر حسب جنس (میلی مول در مول هموگلوبین)

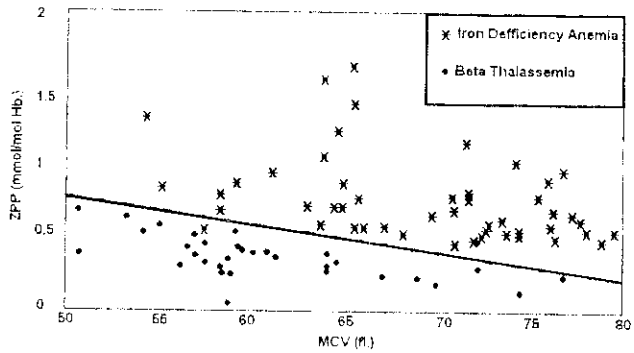
| جنس | شاهد | IDA | $\beta$ تالاسمی | IDA و $\beta$ تالاسمی |
|---|---|---|---|---|
| مذکر | ۰/۱۵ | ۰/۷۸ | ۰/۳۱ | ۰/۴۴ |
| مؤنث | ۰/۱۸ | ۰/۶۳ | ۰/۳۱ | ۰/۴۷ |

IDA= آنمی فقر آهن.

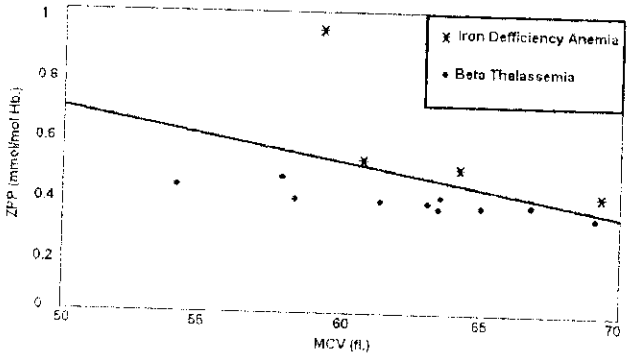
جدول ۶. میانگین مقادیر ZPP در گروههای مورد مطالعه بر حسب سن (میلی مول در مول هموگلوبین)

| سن (سال) | شاهد | IDA | $\beta$ تالاسمی | IDA و $\beta$ تالاسمی |
|---|---|---|---|---|
| ۶ < | ۰/۱۷ | ۰/۶۹ | ۰/۳۱ | ۰/۴۷ |
| ۶ > | ۰/۱۱ | ۰/۶۴ | ۰/۳ | ۰/۴۳ |

IDA= آنمی فقر آهن.




نمودار ۱. رابطه بین ZPP و MCV در بیماران با کم‌خونی فقر آهن و $\beta$ تالاسمی مینور




نمودار ۲. رابطهٔ بین ZPP در بیماران $\beta$ تالاسمی مینور و $\beta$ تالاسمی مینور مبتلا به کم‌خونی فقر آهن

در این مطالعه، افزایش مقدار ZPP در ۵۳ درصد افراد بتاتالاسمی هتروزیگوت بدون همراهی با فقر آهن مشاهده شد. افزایش ZPP در بتاتالاسمی هتروزیگوت موافق با یافته‌های گراهام (۵۱ درصد)، Tillyer (۴۸ درصد) و Harthoorn (۶۷ درصد) است (۸، ۱۶-۱۸).

تجمع غیر طبیعی ZPP منعکس کنندهٔ وضعیّت اریتروپوئز در فقر آهن است که به علت اختلال در قرار گرفتن آهن در سلولهای اریتروپوئتیک یا عدم دسترسی کافی اریترون به آهن یا آشفتگی در سنتز هِم تولید می‌شود. عدم دسترسی کافی اریترون به آهن می‌تواند به علت موجود نبودن ذخایر آهن (فقر آهن حقیقی) یا نقص در حمل و نقل آهن به اریتروبلاستها (مثل کم‌خونی بیمارهای مزمن) یا به علت افزایش میزان اریتروپوئز باشد. در سندرمهای تالاسمی، سرعت اریتروپوئز می‌تواند افزایش یابد که شاید دلیل افزایش میزان ZPP باشد. البته افزایش بارز ZPP در بیماران بتاتالاسمی هتروزیگوت در مقایسه با $\alpha$ تالاسمی مینور توسط گراهام، هان و هارتورن نیز گزارش شده است (۸، ۱۶).

مقایسه نتایج روشهای مستقیم اندازه‌گیری پروتوپورفیرین اریتروسیتی همبستگی عالی را بین این دو نشان می‌دهد (۱۵). البته فاکتورهای پلاسمایی و مواد فلوئورسانس مداخله کننده در پلاسما بر FEP استخراج شده تأثیری ندارند امّا می‌توانند با ZPP هماتوفلورمتری تداخل کنند، لذا شستشوی گلبولهای قرمز توصیه شده است. مقادیر قبل و بعد از شستشو رابطهٔ معنی‌داری را نشان می‌دهد (۵). در این مطالعه نیز رابطه خوبی بین ZPP و MCV مشاهده شد و معادله ZPP=۱/۴FEP-۰/۵۵ به دست آمد.

از آنجا که ZPP مستقیماً توسط هماتوفلورومتر اندازه‌گیری می‌شود که بطور قابل توجهی ارزان‌تر از فلورومترهایی است که برای اندازه‌گیری FEP استفاده می‌شوند، لذا تعیین ZPP را روش انتخابی برای غربالگری معرفی می‌کند. در این بررسی نشان داده شد که تعیین MCV و ZPP قدرت افتراق خوبی بین افراد مبتلا به بتاتالاسمی هترویگوت و بیماران مبتلا به فقر آهن در جمعیّت مورد مطالعهٔ ما داشته است.

با ساخت دستگاه هماتوفلورومتر که برای اندازه‌گیری ZPP در حجم کم خون طراحی شده، اندازه‌گیری ZPP بسیار آسان، سریع، ارزان و دقیق است و این امکان وجود دارد که نیازی به نمونه‌گیری خون وریدی در افراد نباشد.

انجام تست ZPP به عنوان اولین تست در غربالگری بتاتالاسمی هتروزیگوت در بیماران با میکروسیتوز توصیه می‌شود. اگر نتایج بر فقر آهن دلالت کند ابتدا باید بیمار درمان شود و پس از درمان مناسب، اندازه‌گیری Hb، MCV و ZPP تکرار شود. چنانچه هنوز MCV پایین بود آزمونهای بررسی تالاسمی و هموگلوبینوپاتی‌ها انجام شود. در این مسیر از انجام آزمایشهای گران قیمت برای تالاسمی و هموگلوبین‌های غیر طبیعی در بیماران مبتلا به فقر آهن می‌توان جلوگیری نمود و از نتایج منفی کاذب در بیماران بتا تالاسمی هتروزیگوت مبتلا به فقر آهن نیز اجتناب خواهد شد.



www.SID.ir

Archive of SID

## منابع


1- England JM, Fraser PM. Differentiation of iron deficiency from thalassemia trait by routine blood count. Lancet 1973; 12: 449-452.

2- Strivastava PC. Differentiation of thalassemia minor from iron deficiency. Lancet 1973; 12: 154-155.

3- Mentzer WC. Differentiation of iron deficieney from thalassemia trait. Lancet 1973; 12: 882.

4- Stockman JA. The measurement of free erythrocyte porphyrin (FEP) as a simple means of distinguishing iron deficiency from beta-thalassemia trait in subjects with microcytosis. J Lab Clin Med 1975; 85: 113-119.

5- Koeing H. The micromeasurement of free erythrocyte protoporphyrin as a means of differentiating alpha thalassemia trait from iron deficiency anemia. J Pediatr 1975; 86: 539-554.

6- Meloni T. Free erythrocyte prophyrin (FEP) in the diagnosis of β-thalassemia trait and iron deficiency anemia. Hematologica 1982; 67: 341-349.

7- Hershko C. Combined use of zinc protoporphyrin (ZPP), mean corpuscular volume and haemoglobin-measurement for classifing microcytic RBC disorders in children and young adult. Clin Lab Haemat 1985; 7: 259-269.

8- Harthoorn-Lasthuizen EJ. Combined use of erythrocyte zinc protoporphyrin and mean corpuscular volume in differentiation of thalassemia from iron deficiency anemia. Eur J Haematol 1998; 60: 245-251.

9- Garrett S, Worwood M. Zinc protoporphyrin and iron-deficient erythropoiesis. Acta Haematol 1994; 91: 21-25.

9- Hastka J. Laboratory tests of iron status: correlation or common sense? Clin Chem 1996; 42: 718-724.

10- Hastka J. Washing erythrocytes to remove interferents in measurements of zinc protoporphyrin by front-face hematofluorometry. Clin Chem 1992; 38: 2184-2189.

11- Jensen BM. Screening with zinc protoporphyrin for iron deficiency in non-anemic female blood donors. Clin Chem 1990; 36: 846-848.

12- Schaefer RM, Schaefer L. Iron monitoring and supplementation: how do we achieve the best results? Nephrol Dial Transplant 1998; 13 (Sup 2): 9-12.

13- Hart D. Red blood cell protoporphyrin accumulation in experimental lead poisoning. Biochem Med 1980; 23: 167-176.

14- Lee GR. Microcytic anemias. in: Lee GR, Bithell TC. Wintrobe's clinical hematology. 4th Ed. Lee & Febiger Co. Philadelphia. 1998.

15- Labbe RF, Rettmer RL. Zinc protoporphyrin a product of iron deficient erythropoiesis. Semin Hematol 1989; 26: 40-46.

16- Graham EA. Elevated zinc protoporphyrin associated with thalassemia trait and hemoglobin. E J Pediatr 1996; 129: 105-110.

17- Tillyer ML, Tillyer CR. Use of red cell distribution width and erythrocyte zinc protoporphyrin in differential diagnosis of a and b thalassemia and iron deficiency. J Clin Pathol 1994; 47: 205-208.

18- Hinchliff RF. Usefulness of red cell zinc Protoporphyrin concentration in the investigation of microcytosis in children. Pediatr Hematol Oncol 1995; 12: 455-462.




www.SID.ir