

## تعیین فراوانی صفت سلولهای داسی شکل در زوجهای مراجعه کننده به مرکز پیشگیری از تالاسمی اصفهان

عباسقلی امینی<sup>۱\*</sup>، فاطمه نادعلی<sup>۲</sup>، جهانگیر دریکوند<sup>۳</sup>

۱- استادیار، گروه اطفال، بیمارستان الزهرا، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲- مربی، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳- متخصص اطفال، بیمارستان الزهرا اصفهان

### چکیده

**هدف:** با وجود برنامه های گسترده پیشگیری از تالاسمی در ایران، متأسفانه به کم خونی داسی شکل و غربالگری آن هیچگونه توجه خاصی نشده است و تنها گزارشهای محدودی در این رابطه وجود دارد؛ این در حالی است که شیوع این بیماری در کشورهای همجوار و در بعضی نواحی جنوبی ایران قابل توجه می باشد. در مطالعه ای که در سال ۱۳۷۷ در یکی از روستاهای اطراف اصفهان (روستای جار) انجام شده است، شیوع صفت داسی شکل در این روستا ۸/۳۳٪ به دست آمده است؛ لذا متعاقب تعیین شیوع بالای صفت داسی شکل در این منطقه و احتمال همراه شدن سلولهای داسی شکل با بتاتالاسمی مینور و متولد شدن نوزاد مبتلا به سندرمهای داسی شکل بر آن شدیم تا فراوانی صفت سلولهای داسی شکل را در مراجعه کنندگان در شرف ازدواج به مرکز تالاسمی اصفهان تعیین کنیم.

**مواد و روشها:** به منظور انجام غربالگری صفت سلولهای داسی شکل در شهر اصفهان، ۵۰۰ زوج (۵۰۰ نفر زن و ۵۰۰ نفر مرد) از بین مراجعه کنندگان قبل از ازدواج به مرکز تالاسمی اصفهان در پاییز سال ۱۳۷۸ به روش تصادفی انتخاب و با انجام آزمایش داسی شدن<sup>۱</sup> مورد غربالگری قرار گرفته و نتایج مشکوک را با الکتروفورز هموگلوبین به روش سلولز استات در PH قلیایی بررسی کردیم.

**نتایج:** از هزار نفر فرد مورد مطالعه تست داسی شدن در سی نفر آنها مشکوک بود که به روش الکتروفورز هموگلوبین مورد مطالعه بیشتر قرار گرفتند ولی هیچ مورد مثبتی از هموگلوبین S مشاهده نشد.

**بحث و نتیجه گیری:** از این بررسی می توان نتیجه گرفت شیوع صفت داسی شکل در شهر اصفهان بسیار پایین است ولی از آنجایی که شیوع آن در یکی از روستاهای اطراف آن بالا و ۸/۳۳٪ گزارش شده لازم است با انجام طرحهای غربالگری، نواحی دارای شیوع بالا شناسایی شده و در صورت وجود شیوع بالای صفت داسی شکل، در مراکز مشاوره، افراد مبتلا را از عواقب آن آگاه کرده و حتی الامکان از ازدواج با یکدیگر منصرف سازند و یا اینکه مراقبتهای بعد از ازدواج در مراکز بهداشتی صورت گرفته تا از متولد شدن نوزادان مبتلا به سندرم داسی شکل به موازات تالاسمی جلوگیری شود و علاوه بر کاهش میزان افراد مبتلا به تالاسمی از تعداد مبتلایان به هموگلوبینوپاتیها از جمله داسی شکل نیز کاسته شود.

**کلید واژگان:** هموگلوبینوپاتی، صفت داسی شکل، الکتروفورز هموگلوبین، تست داسی شدن.

۱. Sickling

\*نشانی مکاتبه: اصفهان، سه راه حکیم نظامی، بیمارستان الزهرا، گروه اطفال

## ۱- مقدمه

کشور ایران بر روی نوار تالاسمی قرار گرفته و شیوع بتا تالاسمی مینور در شهرهای مختلف آن متفاوت می باشد. با مطالعات انجام شده شیوع بتا تالاسمی مینور در استان اصفهان در حدود ۴٪ تخمین زده شده [۱] و طرح پیشگیری از تالاسمی به صورت کشوری در حال انجام می باشد. علی رغم اینکه شیوع نوع هتروزیگوت کم خونی داسی شکل حداقل در نواحی جنوبی ایران و بعضی از نواحی دیگر از جمله روستای جار در اطراف اصفهان نسبتاً بالا و در حدود ۸/۳۳ درصد بوده [۲] ولی متأسفانه به مسئله داسی شکل توجه لازم مبذول نمی شود؛ بنابراین احتمال همراهی داسی شکل با بتا تالاسمی وجود داشته و این مسئله می تواند منجر به بروز سندرمهای داسی شکل - تالاسمی و گرفتاریهای شدید پزشکی، اجتماعی شود. از طرف دیگر باید توجه داشت اگر شیوع صفت داسی شکل و بتا تالاسمی مینور در یک منطقه مساوی باشد، احتمال بروز سندرمهای داسی شکل دو برابر تالاسمی ماژور است و متأسفانه با انجام برنامه های پیشگیری از تالاسمی نه تنها از شیوع سندرمهای داسی شکل کاسته نخواهد شد بلکه به طور نسبی بیشتر نیز خواهد شد زیرا هنگامی که از ازدواج دو فرد مبتلا به تالاسمی مینور جلوگیری می شود، احتمال اینکه هر کدام از آن دو فرد با فرد مبتلا به صفت داسی شکل ازدواج کنند نسبت به وضعیت قبل بیشتر شده و اگر شیوع صفت داسی شکل در منطقه ای که برنامه پیشگیری از تالاسمی در آن اجرا می شود، در حد قابل توجهی باشد، شاید در آینده ای نه چندان دور مشکل وجود تالاسمی ماژور جای خود را به مشکل گسترش هموگلوبینوپاتیها از جمله سندرمهای داسی شکل مخصوصاً داسی شکل - بتا تالاسمی بدهد؛ لذا با عنایت به مطالب فوق به نظر می رسد مراکز پیشگیری از تالاسمی باید در راستای کاهش این سندرمها به تعیین فراوانی صفت داسی شکل به عنوان شایع ترین هموگلوبینوپاتی مبادرت کرده، تا به موازات کاهش تعداد موالید تالاسمی ماژور با افزایش تعداد موالید سندرمهای داسی شکل - تالاسمی مواجه نگردیم و به موازات پیشگیری از تالاسمی ماژور از سندرمهای داسی شکل - تالاسمی نیز پیشگیری شود و شعار پیشگیری بهتر از درمان است در این مورد نیز محقق شود؛ لذا برای محقق شدن این هدف ابتدا لازم

است که اطلاع نسبتاً دقیقی از شیوع صفت داسی شکل در هر منطقه و سپس در کل ایران داشته باشیم. در راستای این هدف با گزارشی که از شیوع نسبتاً بالای (۸/۳۳٪) در سال ۱۳۷۷ به وسیله رهگذر و همکاران در اطراف اصفهان داده شده بود [۲]، شهر اصفهان برای مطالعه انتخاب و بررسی بر روی زوجهای در شرف ازدواج در مرکز کنترل و پیشگیری از تالاسمی اصفهان انجام شد.

## ۲- مواد و روشها

مطالعه انجام شده یک مطالعه توصیفی است. جمعیت مورد مطالعه زوجهای در شرف ازدواج بودند و دلیل انتخاب آنها انتقال بیماریهای ژنتیکی با ازدواج افراد مبتلا، به نسل آینده می باشد، در حالی که در همین مرحله نیز می توان از آن پیشگیری کرد. تعداد نمونه مورد نیاز به منظور بررسی با استفاده از فرمول محاسبه حجم نمونه برابر با ۱۰۰۰ نفر (۵۰۰ نفر مرد و ۵۰۰ نفر زن) محاسبه و این تعداد از بین زوجهای مراجعه کننده به مرکز پیشگیری از تالاسمی اصفهان در سال ۱۳۷۸ (پاییز) به صورت تصادفی انتخاب و بررسی شدند.

ابتدا ۲ CC خون کامل بر روی ضد انعقاد EDTA از فرد گرفته و با دستگاه کولتر (Sysmex ۸۰۰) آزمایش کامل خون (CBC) از جمله تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط گلبولهای قرمز (MCV) و حجم متوسط هموگلوبین گلبولهای قرمز (MCH) برای آنها انجام شده است. پس از انجام CBC آزمایش داسی شدن بر روی این خون انجام شده است بدین صورت که ۲۰ μl از خون تام با ۲۰ μl از محلول متابی سولفیت سدیم ۲٪ تازه تهیه شده (۲ g متابی سولفیت سدیم در ۱۰۰CC آب مقطر) را به خوبی در لوله آزمایش مخلوط و سپس یک قطره از آن را روی اسلاید شیشه ای قرار داده و با لامل روی آن را پوشانده و لبه های لامل را با وازلین یا Entelan مسدود و از ورود هوا به آن جلوگیری می کنیم. سپس این مجموعه را به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۳۷° انکوبه کرده و پس از آن نتیجه را با میکروسکوپ نوری با درشت نمایی ۴۰ بررسی کرده و در صورت منفی بودن جواب (عدم وجود گلبولهای قرمز داسی شکل) ۲۴ و ۴ و ۲

#### ۴- بحث

در بین انواع اختلالات موجود در ساختمان زنجیره بتای هموگلوبین بیماری داسی شکل و صفت داسی شکل شایع ترین هموگلوبینوپاتی می باشد و در سال ۱۹۹۱ جمعیت افراد دارای صفت داسی شکل در دنیا ۳۰ میلیون نفر تخمین زده شده است [۷] اکثریت این افراد در قاره افریقا زندگی می کنند. شیوع صفت داسی شکل در افریقای شمالی، شمال شرقی افریقا و افریقا جنوبی بین صفر تا ۲/۳٪ بوده و در افریقای مرکزی و شرقی و غرب افریقا تا ۳۰٪ و حتی ۴۰٪ افزایش نشان می دهد ( موزامبیک، زئیر، سیرالئون، نیجریه، گینه و غیره) [۷]. در آمریکای لاتین و ایالت متحده آمریکا ۸ تا ۹ درصد سیاه پوستان حامل ژن داسی می باشند و شیوع آن در سفید پوستان آمریکا ۳٪ می باشد [۸]. شیوع ژن S در بعضی نواحی یونان تا ۲۰٪ گزارش شده است و بر طبق گزارشات، آسیای جنوب غربی، عمان و عربستان سعودی بیش از سایر کشورهای منطقه دارای صفت داسی شکل هستند و پس از آن بحرین و کویت قرار دارند [۹].

علی رغم شیوع نسبتاً بالای کم خونی داسی شکل و صفت داسی شکل در اغلب کشورهای هم جوار ایران [۷]، در ایران آمار دقیق و فراگیری از شیوع صفت داسی شکل و بیماری آن وجود ندارد و فقط تعداد محدودی گزارش به چشم می خورد تا اینکه در سال ۱۳۷۷ مطالعه‌ای به وسیله رهگذر و همکاران در روستای جار اصفهان ( مراجعه چندین مورد بیماری به درمانگاه خون وانکولوژی بیمارستان سیدالشهدا اصفهان توجه محققین را برای انجام این مطالعه جلب کرده است) صورت گرفته و شیوع صفت داسی شکل را در این منطقه ۸/۳۳ درصد گزارش کرده اند [۲۹].

پس از انتشار این گزارش و مجاور بودن روستای جار با شهرستان اصفهان، تحقیق حاضر در مورد ۱۰۰۰ نفر صورت گرفت. با توجه به نتایج حاصل از این بررسی - که هیچ موردی از بیماری داسی شکل و صفت داسی شکل گزارش نگردد- می توان نتیجه گرفت حداقل در شهرستان اصفهان، شیوع صفت داسی شکل بسیار پایین است و در نتیجه، لزومی برای آزمایش داسی شدن برای زوجهای در شرف ازدواج برای یافتن صفت داسی شکل وجود ندارد و در شهرستان اصفهان می توان به این

ساعت بعد هم مجدداً اسلاید مورد مطالعه قرار می گرفت و در صورت منفی بودن به عنوان نتیجه منفی در نظر گرفته می شد و در صورتی که گلبولهای قرمز مشکوک به داسی شکل مشاهده می شد به عنوان نمونه مشکوک در نظر گرفته و تستهای تکمیلی در مورد آنها انجام شده است [۳، ۴].

به عنوان کنترل کیفی و بالا بودن ضریب اطمینان کار و کنترل کردن محلولها و روش کار از خون کنترل مثبت ( افراد شناخته شده صفت داسی شکل) استفاده شد. با مقایسه نمونه های مورد آزمایش با خون کنترل مثبت، نمونه های مشکوک را با استفاده از الکتروفورز سلولز استات در PH قلیایی الکتروفورز کرده و علاوه بر مشخص ساختن وجود و یا عدم وجود هموگلوبین S، میزان آن نیز تعیین مقدار می شد. تفسیر نتایج الکتروفورز بر مبنای شناخت الگوی حرکت هموگلوبینها در الکتروفورز با استفاده از نمونه های کنترل مثبت و مقادیر مرجع نرمال هموگلوبینها  $HbA_2 = 2-3\%$ ،  $HbF, HbA_2 = 2-3\%$ ،  $HbA = 97\%$  بدو تولد، ۹۰-۶۰٪ و بعد از یک سالگی ۱٪ صورت گرفت [۵، ۶].

#### ۳- نتایج

در این مطالعه آزمایش داسی شدن بر روی ۱۰۰۰ نفر انجام شد و هیچ مورد مثبت قطعی مشاهده نشد و فقط ۳۰ مورد آنها تست داسی شدن مشکوک ( وجود سلولهای نسبتاً کشیده و مشکوک به داسی شکل) داشتند که برای تایید یا رد آن آزمایش الکتروفورز هموگلوبین انجام و تمام موارد از نظر وجود هموگلوبین S منفی بودند؛ همچنین متوسط هموگلوبین در آقایان  $15/8 \text{ g/dl}$  و در خانمها  $13/6 \text{ g/dl}$  و متوسط MCV در آقایان  $84/5 \text{ Fl}$  و در خانمها  $83/6 \text{ Fl}$  مشاهده شد.

در بین ۱۰۰۰ فرد مورد مطالعه ۱۴۸ نفر (۱۵٪) دارای  $MCV < 80$  بودند که در بین آنها دو زوج هر دو مبتلا به تالاسمی مینور دیده شد که از ازدواج منصرف شدند و از یک زوج دیگر فقط یک نفر مبتلا به تالاسمی مینور بود و برای ۱۴۲ نفر باقی مانده که دارای  $MCV < 80$  بودند، تشخیص نهایی داده نشد و اغلب به دلیل شیوع آنمی فقر آهن تحت درمان با قرص آهن قرار گرفتند.

cascaad screening پیشنهاد می‌شود. برای انجام این مهم، شایسته است یک مرکز رفرانس برای پیشگیری از سندرمهای داسی شکل ایجاد شود و افراد مشکوک به صفت داسی شکل به وسیله روشهای مولکولی از جمله PCR-RFLP به‌عنوان روش تکمیلی تشخیصی مورد مطالعه قرار گیرند.

توصیه سازمان جهانی بهداشت عمل کرد که برای شناخت ناقلین یک هموگلوبینوپاتی در نواحی با شیوع کمتر از ۵٪ انجام cascaad screening کافی است [۷] در پایان با توجه به پراکندگی جغرافیای صفت داسی شکل در نقشه جهانی و شیوع هموگلوبینوپاتی در کشورهای مجاور از جمله عربستان، ترکیه و هندوستان [۷] و انجام طرح پیشگیری از تالاسمی در ایران، احتمال افزایش سندرمهای داسی شکل وجود دارد و انجام

## ۵- منابع

- [۱] قانعی مصطفی، آزر م طالب، نتایج اجرای طرح پیشگیری از تالاسمی در اصفهان. فصل نامه خبری - آموزشی انجمن حمایت از بیماران تالاسمی، ۱۳۷۲، شماره ۷، صص ۱۱-۱۳.
- [۲] رهگذر سهیلا، پورفتح اله علی اکبر، معافی علیرضا، مقایسه روش Village Screening & Cascade Screeing در پیشگیری از سندرمهای سیکل سل در روستای جار اصفهان، پایان نامه کارشناسی ارشد هماتولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، صص ۷۸۹-۷۹۰.
- [3] Chanarin I. Laboratory hematology: an account of laboratory techniques. 1st ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1989; pp: 40-41
- [4] Brown B. A hematology principles and procedures. 5<sup>th</sup>ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988; pp: 119-123.
- [5] Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. Wintrob's clinical hematology. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Williams & Wilkins. 1993; pp: 1061-1088.
- [6] Behrman E Kliegman R M, Jenson H B. Nelson textbook of pediatrics. 16<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders. 2000; pp: 1478-1488.
- [7] World Health Organization, Hereditary Disease Program. Guidelines for the control of hemoglobin disorder. Geneva: WHO, April 1994; pp: 3, 1,53.
- [8] Braunwald E, Kasper D, Hauser S, Lonyo D, Jameson J. Larry harrison's principles of internal medicine 14<sup>th</sup> ed. New York: Mc Graw Hill. 1998; pp: 645-653.
- [9] Rahgozar S, Pourfathollah A A, Moafi A R, Old J M. B<sup>s</sup> gene in central Iran is in linkage disequilibrium with the Indian- Arab haplotype. Am J Hematol 2000; 65: 192-195.