

## بررسی پارامترهای هماتولوژیک و سطح هموگلوبین $A_2$ و $F$ در والدین بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور در بیرجند در سال ۱۳۸۱

دکتر طیبه چهکندی\*

تالاسمی‌ها شایع‌ترین اختلالات ارثی تولید هموگلوبین می‌باشند که با کاهش سنتز زنجیره گلوبین مشخص می‌شوند. با توجه به خصوصیات ژنتیکی متفاوت افراد در هر جامعه، ناقلین این بیماری ممکن است از نظر آزمایشگاهی خصوصیات فنوتیپی متفاوت داشته باشند. این مطالعه با هدف تعیین وضعیت یافته‌های آزمایشگاهی ناقلین در والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور صورت گرفت. در این مطالعه توصیفی، ۴۲ نفر از والدین کودکان مبتلا به بتا تالاسمی ماژور از نظر شاخص‌های CBC، حجم متوسط گلبولی (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)، تعداد RBC، HB و هموگلوبین  $A_2$  و  $F$  مورد بررسی قرار گرفتند. از افراد مذکور ۲ سی‌سی خون وریدی گرفته و در ویال‌های آماده مصرف حاوی محلول EDTA ۳ K جهت انجام CBC توسط دستگاه سلول شمار ABX الکتروفورز هموگلوبین با ژل اسنات سلولز در PH قلیایی به آزمایشگاه ارسال شد. MCV کمتر از ۸۰، Ft کمتر از ۲۷،  $HbA_2$  از MCH ۳/۵ درصد به ترتیب بعنوان اختلال اساسی در CBC الکتروفورز هموگلوبین در نظر گرفته شد. در صددرصد موارد، بالاتر از حد MCV، MCH و  $HbA_2$  با مقادیر طبیعی اختلاف داشت. بازه مرجع MCV و MCH به ترتیب (۶۵-۷۳/۷ ft) و (۱۷/۷-۲۴ Pg) بدست آمد. ۶۴/۳ درصد افراد، RBC بالاتر از حد طبیعی و ۳۳/۳ درصد RBC طبیعی داشتند. بازه مرجع آن  $HbA_2$  ۳/۸-۸/۳ درصد بدست آمد. HbF صد در صد موارد طبیعی (کمتر از ۲ درصد) و بازه مرجع آن ۱/۴-۰/۸ درصد بود. تفاوت‌های بدست آمده در پارامترهای هماتولوژیک و سطح هموگلوبین  $A_2$  و  $F$  نسبت به مقادیر حاصل از دیگر مطالعات می‌تواند ناشی از تنوع جهش‌های ژنی این بیماری باشد و با توجه به تنوع نژادی و قومی ملت ایران و تعداد نسبتاً زیاد ژن‌های جهشی در ایران، پیشنهاد می‌شود بررسی‌های مشابه در دیگر نواحی ایران صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: تالاسمی، هموگلوبین،  $A_2$  و  $F$ ؛ پارامترهای هماتولوژیک.

\* عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

## مقدمه

تالاسمی‌ها گروهی هتروژن از کم‌خونی‌های هیپوکرومیک ارثی می‌باشند که ویژگی شایع آنها کاهش میزان سنتز یک یا چند گلوبین از زنجیره‌های تترامر هموگلوبین می‌باشد.

بتا تالاسمی در برخی نقاط دنیا بخصوص مدیترانه، خاورمیانه و ایران شیوع فراوانی دارد (۱). در شکل هموزیگوت آن، بیماران از بدو تولد وابسته به ترانسفوزیون می‌شوند و بدون درمان بدلیل عوارض ناشی از آنمی در ۶ ماه اول زندگی فوت می‌کنند. درمان این بیماران در حال حاضر یک درمان نگهدارنده بصورت ترانسفوزیون مکرر و مصرف دسفرال می‌باشد. هزینه سالانه درمان نگهدارنده هر بیمار حدود ۳۰ هزار دلار می‌باشد (۲).

شکل هتروزیگوت یا تالاسمی مینور، از نظر بالینی بدون علامت و از نظر هماتولوژیک میکروسیتوز ( $MCV < 80$  ft)، هیپوکرومی و افزایش هموگلوبین  $A_2$  و تعداد RBC وجود دارد. در حال حاضر در ایران، بیش از ۲۵۰۰۰ مورد تالاسمی ماژور و ۳ میلیون ناقل وجود دارد (۳) و سالانه ۱۵۰۰ نوزاد جدید مبتلا متولد می‌شود (۴). یکی از بهترین روش‌های پیشگیری در جهان، شناسایی ناقلین قبل از ازدواج و ممانعت از ازدواج دو فرد ناقل می‌باشد.

شناسایی این افراد در کشور ما بر اساس معیارهای سایر جوامع صورت می‌گیرد و از آنجا که این معیارها بویژه پارامترهای اندازه‌گیری شده، بسته به روش اندازه‌گیری و حساسیت دستگاه‌ها و همچنین خصوصیات ژنتیکی افراد در هر جامعه متفاوت است. تعیین این معیارها جهت شناسایی هر چه دقیق‌تر ناقلین، در هر جامعه‌ای امری ضروری است.

از طرف دیگر، گزارشاتی مبنی بر فقدان برخی اختلالات در یافته‌های آزمایشگاهی ناقلین وجود دارد (۵). به همین دلایل و با توجه به وجود روش‌ها و جدیدترین دستگاه‌های حساس و فقدان گزارش هستند در مورد معیارهای شناسایی افراد ناقل تالاسمی در این منطقه و این که در ناقلین چه میزان اختلال در یافته‌های آزمایشگاهی وجود دارد، این تحقیق بر روی والدین بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور که قطعاً مینور هستند، صورت گرفت و با توجه به این که این بیماران از بیرجند و دیگر شهرهای جنوب استان به این مرکز مراجعه می‌کنند، تعیین پارامترهای مذکور معیار خوبی از پارامترهای ناقلین در جنوب خراسان می‌باشد.

## روش پژوهش

در این مطالعه توصیفی، از کلیه والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه‌کننده به بیمارستان ولی عصر (عج)، تنها مرکز پوشش‌دهنده بیماری‌های خاص واقع در جنوب خراسان دعوت بعمل آمد و بعد از توضیحات کامل در مورد طرح مورد نظر و جلب رضایت آنها، از هر نفر جهت تهیه لام خون محیطی، انجام CBC و اندازه‌گیری هموگلوبین‌های  $F$ ،  $A_2$  و  $A_1$ ، ۲ سی‌سی خون وریدی گرفته و در ویال‌های آماده مصرف شرکت LP ایتالیا حاوی محلول EDTA،  $K_2$  به آزمایشگاه ارسال شد.

پارامترهای هماتولوژیک توسط دستگاه شمارش سلولی مدل ABX از سری دستگاه‌های Cobas ساخت کارخانه Rosch فرانسه انجام شد. اختلالات اساسی در CBC بر اساس  $MCV$  کمتر از ۸۰ ft و  $MCH$  کمتر از ۲۷ Pg و مقدار طبیعی  $MCV$ ،  $96-80 \mu m^3$  و  $MCH$ ،  $27/5-33/2$  Pg در نظر گرفته شد (۶). سایر اختلالات CBC، شامل افزایش RBC بیش از حد نرمال و کاهش هموگلوبین می‌باشد.

مقدار طبیعی RBC در مردان  $4.5-5.9 \times 10^6 \mu l$  و در زنان  $4.0-5.1 \times 10^6 \mu l$  و مقدار طبیعی هموگلوبین در مردان  $14-17.5 \text{ g/dl}$  و در زنان  $12.3-15.3 \text{ g/dl}$  در نظر گرفته شد (۶).

آزمایش الکتروفورز هموگلوبین برای تعیین Hb<sub>F</sub> و Hb<sub>A2</sub> توسط دستگاه Helena با استفاده از پلیت استات سلولز همان کارخانه در  $\text{PH} = 8.4$  انجام گرفت.

Hb<sub>A2</sub> زیر ۳/۵ درصد و Hb<sub>F</sub> زیر ۲ درصد طبیعی در نظر گرفته شد (۶). جهت کنترل کیفی، برخی از نمونه‌ها بطور تصادفی انتخاب و عمل کروماتوگرافی روی آنها تکرار و با نتایج قبلی مقایسه شد. که در تمام موارد نتیجه آزمایش مرحله دوم با نتیجه مرحله اول یکسان بود.

## یافته‌ها

در این پژوهش، والدین ۲۴ کودک مبتلا به تالاسمی ماژور مورد بررسی قرار گرفتند. ۶ مورد به علت عدم دسترسی به یکی از والدین از مطالعه حذف شدند؛ در نتیجه، مطالعه بر روی ۴۲ نفر از والدین صورت گرفت که از این تعداد نیمی مرد و نیمی زن بودند.

شاخص‌های CBC در تمامی والدین غیر طبیعی بودند.

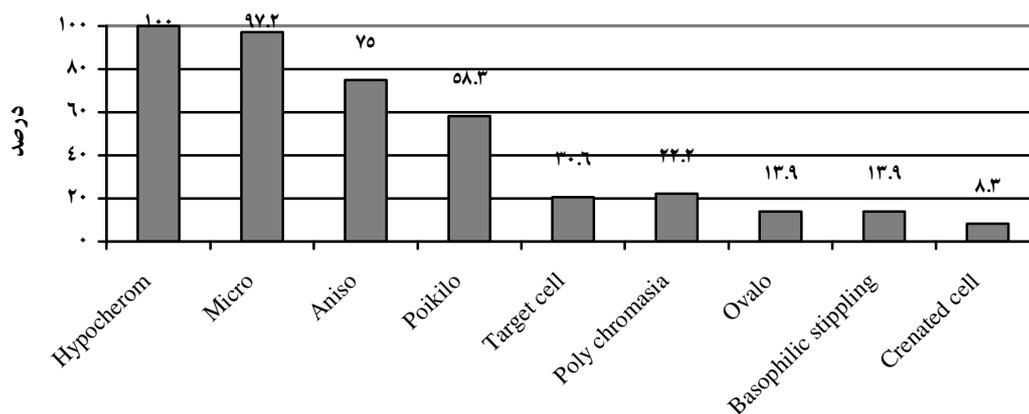
جدول شماره (۱) مقادیر بیشترین و کمترین، بازده، میانگین، میان و نما و صدک ۲/۵ و ۹۷/۵ را برای هر یک از پارامترهای بررسی شده و همچنین درصد انواع هموگلوبین نشان می‌دهد.

**جدول ۱: تعیین کمترین و بیشترین مقدار، میانگین، میان، نما صدک‌های ۲/۵ و ۹۷/۵ (بازه مرجع) برای هر یک از پارامترهای**

### هماتولوژیک و انواع هموگلوبین تعیین شده در روش الکتروفورز

پارامتر	واحد	کمترین	بیشترین	میانگین	میان	نما	بازده مرجع
RBC	10.6u	۳/۹۷	۷/۴۵	۵/۸۲	۵/۷۷	۵/۶۸	۴
HCT	%	۲۷	۴۳/۶	۳۶/۸۵	۳۷/۱۵	۳۸/۴	۲۷/۳
MCV	fl	۵۶	۷۴	۶۳/۳۳	۶۳	۶۵	۵۶/۱۵
RDW	%	۱۰/۸	۱۴/۵	۱۲/۲	۱۲	۱۱/۶	۱۰/۸۲
Hb	g/dl	۹	۱۴	۱۱/۸۶	۱۱/۹	۱۱/۷	۹
MCH	pg	۱۱/۷	۲۴/۳	۲۰/۴	۲۰/۳۵	۱۹	۰/۷۵
MCHC	g/dl	۲۸/۳	۳۳/۳	۳۲/۱۸	۳۲/۳	۳۲/۴	۲۸/۵۳
Pit	10.3u	۱۱۰	۳۷۷	۲۶۵/۸۶	۲۶۷/۵	۲۰۱	۰/۴۵
HbA	fl	۹۰/۷	۹۵	۹۳/۲	۹۳/۲	۹۳	۹۰/۷
HbA2	%	۳/۸	۸/۴	۵/۷	۵/۷۵	۶	۳/۸۱
HbF	%	۰/۸	۱/۴	۱/۱	۱/۱	۱	۰/۸

در نمودار شماره (۱)، درصد فراوانی مشخصه‌های مرفولوژیک گلبول قرمز مشاهده شده در لام خون محیطی نمایش داده شده است. از یافته‌های مهم این پژوهش، وجود محدوده وسیع HbA<sub>2</sub> (۳/۸-۸/۳ درصد) نسبت به بسیاری از جوامع دیگر می‌باشد.



## بحث

تشخیص قطعی انواع تالاسمی، نیاز به آنالیزهای دقیق DNA دارد ولی تشخیص انواع بارز بیماری با کمک گرفتن از برخی تست‌های آزمایشگاهی رایج نیز امکان‌پذیر است. امروزه MCV یا MCH اولین تست در برنامه‌های غربالگری بتا تالاسمی هتروزیگوت است و در بیماران با  $8.FT > MCV$  و یا  $27 Pg > MCH$  تعیین کمی  $HbA_2$  انجام می‌شود (۷). در این بررسی مقدار MCV،  $63.3 \pm 3.4$  ft و بازه مرجع  $56-73$  بود که در  $97/6$  درصد موارد با مقادیر ذکر شده در کتب مرجع (ft)  $50-70$  (همخوانی دارد (۸). مقدار MCV،  $20.3 \pm 1.3$  Pg و در کلیه موارد کمتر از  $24/3$  بود فقط در  $52/4$  درصد موارد با کتب مرجع ( $20-22$  Pg) (۸) تطابق دارد و  $38$  درصد کمتر از مرجع و  $4$  نفر ( $9/5$  درصد) بالاتر از مقادیر مربوطه می‌باشد.

$64/3$  درصد افراد مورد مطالعه، RBC بالا و  $33/3$  درصد RBC طبیعی داشتند فقط در یک خانم تعداد RBC پایین بود که احتمالاً ناشی از آنمی فقر آهن همراه می‌باشد. میزان RBC در مردان  $6 \pm 0.49 \times 10^6$  میلی متر مکعب و در زنان  $5.05 \pm 0.57$  میلی متر مکعب بدست آمد که با میزان بدست آمده در مطالعه مازا<sup>۱</sup> و همکاران بر روی ناقلین تالاسمی، در ایتالیا (مردان  $5.8 \pm 0.6 \times 10^6$ ، زنان  $5.1 \pm 0.9 \times 10^6$  اندکی تفاوت دارد که این اختلاف احتمالاً مسأله‌ای قومی و نژادی است (۹).

متوسط Hb در مردان  $12.5 \pm 0.98$  g/dl و در زنان  $11.17 \pm 1$  g/dl بود که با متوسط Hb در مردان و زنان ایتالیایی که به ترتیب  $12/7$  و  $10/9$  می‌باشد تفاوت قابل ملاحظه‌ای ندارد (۱۰).

افزایش  $Hb A_2$  یافته شاخص ناقل (بتا) تالاسمی کلاسیک است و هر وقت که ناقل تالاسمی مورد شک باشد، باید اندازه‌گیری شود. در بتا تالاسمی مینور،  $Hb A_2$  معمولاً بین  $3/5$  تا  $7/5$  درصد می‌باشد (۷).

تداخل مقادیر  $Hb A_2$  در تالاسمی و افراد نرمال نیز گزارش شده است. در موارد مشکوک، بررسی وضعیت آهن کمک‌کننده است؛ چون فقر آهنی که منجر به آنمی نسبتاً شدید می‌شود ( $Hb > 8$  gr/dl) می‌تواند  $Hb A_2$  را کاهش دهد (۷). در این تحقیق، در  $100$  درصد افراد مورد بررسی  $Hb A_2$  بالاتر از حد طبیعی بود و حداقل میزان  $Hb A_2$ ،  $3/8$  درصد و در  $2$  مورد ( $4/8$  درصد) مقدار  $Hb A_2$   $7/5$  درصد بود که در کنترل مجلد نیز مقادیر قبلی تأیید شد. بازه مرجع بدست آمده  $3/8-8/3$  می‌باشد که نسبت به بسیاری از جوامع دیگر محدوده  $Hb A_2$  وسیع‌تر است. بازه مرجع  $Hb A_2$  بدست آمده در کرمانشاه  $7/1-5/3$  (۱۱) و در مطالعه مازا و همکاران، میانگین  $Hb A_2$   $5/2 \pm 0/8$  درصد گزارش شده است (۹).

<sup>1</sup>. Mazza

مقدار  $Hb_F$  در ۵۰ درصد ناقلین بتا تالاسمی مینور تا ۳ درصد و بندرت تا ۵ درصد افزایش می‌یابد و به همین دلیل بعنوان شاخص غربالگری از آن استفاده نمی‌شود ولی گاهی می‌توان از آن بعنوان آزمایش تأیید کننده استفاده نمود. مقدار  $Hb_F$ ،  $1\pm 0/16$  بدست آمد که در ۱۰۰ درصد موارد طبیعی (کمتر از ۲ درصد) است. این مقدار نسبت به میزان بدست آمده توسط مازا و همکاران در ایتالیا ( $2/1\pm 1/2$ ) و در تهران ( $2/4\pm 2/4$ )، کمتر می‌باشد (۱۲). تفاوت‌های مشاهده شده در پارامترهای هماتولوژیک و مقادیر انواع هموگلوبین اندازه‌گیری شده در این تحقیق، می‌تواند ناشی از تنوع جهش‌های ژنی در ایران باشد. امروزه بیش از یکصد ژن جهشی برای بتا تالاسمی شناسایی شده است (۱۳). با توجه به تنوع نژادی و قومی ملت ایران و تعداد نسبتاً زیاد ژن‌های جهشی که تاکنون ۱۲ ژن جهشی شناسایی شده است (۱۴)، لازم است بررسی‌های مشابه در دیگر نواحی ایران بخصوص مناطق جنوب و مرکزی کشور که بیشترین تعداد جهش‌های ژنی شناسایی شده وجود دارد، صورت گیرد.

## تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند بدلیل تصویب و تأمین اعتبار این پژوهش و آقای سید علیرضا سعادتجو، مشاور محترم آماری طرح و نیز آقای دکتر محمود زردست مسئول محترم آزمایشگاه مرکزی بیمارستان ولیعصر (عج) و سایر پرسنل محترم آن مرکز تشکر و قدردانی می‌نمایم.

## Abstract

### *Study of the Hmatologic Parameters and $F$ and $A_2$ Hemogloblin in Parents of Patients Sufferring From Major Thalassemia in Birjand in 1381 (2002)*

Thalassemias are the most common disorders in Hemoglobin production characterized by a reduction in Hemoglobin synthesis . With different genetic characteristics in each society , the carriers may experimentally have different phenotype characteristics. This research was conducted to determine the conditions of experimental findings in the parents of infants sufferring from major thalassemia . 42 parents were selected to be studied in this descriptive study as for their CBC , MCV , MCH, the number of Hb , RBC , and  $F$  and  $A_2$  Hemoglobin; 2 ml blood was taken from each and put in vials containing K3EDTA for CBC by means of ABX cell counter and Hemoglobin electrophoresis with cellulose acetat in alkaline PH and sent to laboratory . MCV lower than 80 ft , MCH lower than 27 pg and HBA 2 higher than 3.5% were respectively considered as major disorders in CBC and Hemoglobin electrophoresis . In all cases , MCV , MCH and HBA 2 were absolutely different from the normal range; the reference ranges for MCV and MCH are 65-73.7 and 17.7-24pg respectively . RBC was higher in 64.3% and lower in 33.3% than the normal range (0.8%-1.4%). The differences observed in this study may be attributed to the variety of genetic mutations especially to the rather high number of mutated genes in Iran ; this implies further research in other geographical areas.

**Key words :** *Thalassemia ; Hemoglobin  $A_2$  and  $F$  ; Hematologic Parameters.*

## منابع

- ۱- رامیار اصغر. تالاسمی و کنترل آن در دنیا و ایران، هشتمین کنفرانس بین المللی بیماریهای کودکان. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران. ۲۶-۲۱ مهر ۱۳۷۵، صص ۳۳ - ۶۲۹.
2. Lau, yung. Li-chong . chan - yuk - yin A. Ha , shau yeung , chap yung . Way , etal . Prevalence and Genotypes of (alpha ) and (beta) - thalassemia Carriers in Hongkong : implications for population screening . The new England journal of medicine. 336 (18); 1298 - 1301 .
3. M. karimi, A. Alavian Ghavanini , M. R Kadivay. Regional Mapping of the gene frequency of B-Thalassemia in fars prorince Iran During 1997 - 1998 . IRN med sci 2000 . 25 (384): 134 - 137.
- ۴ - نصیری طوسی، محسنی. تالاسمی پدیده اجتماعی. فصلنامه تالاسمی شماره ۱۱، صص ۶۸-۶۶.
5. Schwartz E. The Silent carrier of beta - thalassemia. N Engly Med . 1969 . 281 : 1327 .
6. Mazza U. Saglio G. clinical and hematological data on 25 u dases of beta thalassemia traet in italy Br y Haemaotol . 1976 . 33; 9.
- ۷- پاکباز زهرا، دیهیم محمد رضا، فیاض مقدم، کتایون. گزارش مربوط به آزمایشات الکتروفورز هموگلوبین مراجعین به آزمایشگاه تشخیص طبی سازمان انتقال خون. فصلنامه تالاسمی. شماره ۱۲، صص ۱۵-۵.
8. Ernest Beutler , Marshll A. lichtman , Burry S .Coller , Thmans y . Kipps. Williams Hematology. ۶۰۳ . ۱۹۹۵ .
9. Mazza U. Saglio G. Clinical and hematological data on 25 u dases of beta thalassemia traet in Italy. Bry Haemaotol . 1976 . 33:9.
10. G. Richard Lee , John lukens, Frixos Paraskevas, John p . George , George M. Rodgers. Wintrobe, S. Clinical hematology. 1999. 1426 .
- ۱۱ - بهرامی غلامرضا، راهی حمید، دهقان حسین رضا. تعیین سطح هموگلوبین های  $F$  و  $A_2$  و پارامترهای هماتولوژیک در والدین فرزندان مبتلا به بتا تالاسمی ماژور وابسته به تزریق خون در استان کرمانشاه (سال ۱۳۷۸). فصلنامه علمی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه. سال پنجم. شماره ۲: پاییز ۸۰، صص ۱۲-۶.
- ۱۲ - احترام، حسن، شفق، بهروز. بررسی یافته‌های آزمایشگاهی والدین بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور در مراجعه کنندگان به بیمارستان امام حسین (ع) در سال ۱۳۷۶. فصلنامه علمی پژوهشی فیض. شماره ۱۳: بهار ۷۹، صص ۸۷-۸۱.
- ۱۳ - کریمی نژاد محمد حسن، کریمی نژاد رکسانا، عظیمی فرناز، وارناویدز لیساندوس، لیتون مارک. بررسی ژن های موتانت بتا تالاسمی و گسترش جغرافیایی آن در ایران. مسائل طب اطفال در پازدهمین بزرگداشت. صص ۵۹۳-۵۸۷.
- ۱۴ - کریمی نژاد، رکسانا. عظیمی، فرناز. حقیقی، مسعود. کریمی نژاد، محمدحسن. ارناویدز لیساندروس، لیتون مارک. تعیین ۱۲ ژن جهشی بتا تالاسمی در ایران و گزارش ۱۸ مورد تشخیص قبل از تولد. مجله نبض، سال چهارم، شماره دوم، آبان ۱۳۷۳، صص ۳۱-۲۷.