

امکان افتراق اندکسهای خونی فقر آهن در تالاسمی مینور بر اساس گلبول قرمز

(^۱) دکتر مصطفی قانع - (^۲) دکتر مصطفی موحدی - (^۳) دکتر مرتضی اقمشه - (^۴) دکتر محمد جواد میرزاده، (^۵) دکتر پیمان ادیبی

خلاصه:

مقدمه: بتا تالاسمی مینور بعد از آنمی فقر آهن از علل شایع آنمی میکروسیتیک است. در مواردی که غربالگری جمعیت های بزرگ برای یافتن ژن تالاسمی مورد نیاز است، آزمونهای ساده تشخیصی که بتوانند این دو کم خونی را از یکدیگر جدا نمایند اهمیت خاصی می یابند. در حال حاضر انجام الکتروفورز هموگلوبین بعنوان یک راه معمول برای افتراق این دو علت میکروسیتوز قلمداد می شود با آنکه تحقیقات گسترده ای برای استفاده از معیارهای گلبول قرمز برای کمک به این امر انجام گرفته است ولی هنوز راه قطعی پیشنهاد نشده است.

مواد و روشها: بر اساس یک مطالعه توصیفی تحلیلی نمونه های خونی ۱۵۰۰۰ مرد و ۱۵۰۰۰ زن که اندکسهای گلبول قرمز آن بوسیله شمارشگر H_1 محاسبه شده بود مورد ارزیابی قرار گرفت. جمعیت بر اساس MCV و آنمی و جنسیت به چند گروه تقسیم شدند و فرمولهای پیشنهادی برای جداسازی بتا تالاسمی مینور از فقر آهن به کار گرفته شد.

نتایج: میانگین سنی مردان ۲۵ و زنان ۲۰ سال بود. یافته هانشان داد اگر مردی با اندکسهای $RBC < 80 \text{ fl}$ و $MCV < 80 \text{ fl}$ و $Hb < 18, RBC > 7 \times 10^6$ مراجعه نماید به احتمال ۹۰٪ بتا تالاسمی مینور دارد. اگر زنی با همین MCV و $Hb < 16, RBC > 6.5 \times 10^6$ مراجعه نماید وی نیز به احتمال ۹۰٪ بتا تالاسمی مینور دارد. در هر دو جنس اگر میزان $MCV < 65$ باشد، احتمال بتا تالاسمی مینور به میزان مشابه (یعنی ۹۰٪) است ولی چنانچه هر دو معیار وجود داشت فرد ۱۰۰٪ بتا تالاسمی مینور دارد.

بحث: با آنکه فرمولهای پیشنهادی حساسیت کافی را در مطالعات قبلی نشان ندادند و این امر می تواند مربوط به تفاوت های موتاسیون ژن در هر منطقه باشد ولی استفاده از این دو معیار پیشنهادی می تواند در مواردی که بخواهیم به غربالگری جمعیت بپردازیم در صرفه جویی اقتصادی و نیروی انسانی نقش بارزی ایفا نماید.

۱ - استادیار گروه داخلی و سرپرست مرکز تحقیقات کنترل و پیشگیری تالاسمی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲ - دستیار گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی استان اصفهان

۳ و ۴ - پزشک، مرکز پیشگیری و تحقیقات تالاسمی اصفهان

۵ - سرپرست کمیته تحقیقات دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

مقدمه:

بتاتالاسمی مینور شایعترین علت آنمی میکروسیتیک بعد از آنمی فقر آهن است (۱). زمانی که پیشگیری از تولد نوزاد بتاتالاسمی ماژور در منطقه ای بعنوان اولویت بهداشتی مطرح می شود تشخیص ناقلین ژن بتاتالاسمی بایستی صورت گیرد. از آنجاکه در هر دونوع فقر آهن (I.D.A) و بتاتالاسمی مینور حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) کاهش می یابد و هر دو از فراوانی نسبی بالایی برخوردار هستند، افتراق این دو از یکدیگر ضرورت می یابد. الکتروفورز هموگلوبین تنها آزمایشی است که بتاتالاسمی مینور از I.D.A را جدایی کند. جهت صرفه جویی در هزینه الکتروفورز تاکنون مطالعات فراوانی جهت افتراق آنمی فقر آهن و تالاسمی مینور براساس اندکسهای خونی انجام شده است (۵-۲). ولی مطالعاتی که فقر آهن بدون Hb پایین (بدون آنمی) را از تالاسمی مینور جدا سازند کمتر انجام شده است. فرمولهای متعددی جهت افتراق I.D.A و تالاسمی مینور ارائه شده اند و هدف از این مطالعه یافتن روشی براساس این فرمولها برای تشخیص بین فقر آهن قبل از پیدایش آنمی و تالاسمی مینور می باشد. از آنجاکه کاهش Hb در حد طبیعی در فقر آهن پدیده ای است که نسبت به بسیاری اندکسهای دیگر با تأخیر ایجاد می شود، شیوع افراد با فقر آهن که میکروسیتوز Hb نرمال دارند بسیار بیشتر از I.D.A است لذا افتراق فقر آهن بدون آنمی از تالاسمی مینور ضروری است.

در کشور ایران، بخاطر وجود ۲۰/۰۰۰ بیمار بتاتالاسمی ماژور، پیشگیری از تالاسمی به عنوان یکی از اولویتهای بهداشتی مدنظر قرار گرفته است. از آنجاکه تفاوت های نژادی می تواند بر روی اندکسهای خونی تاثیر بگذارد، درصد درآمدم به توجه به عدم سابقه چنین مطالعاتی در کشور تحقیقی در راستای افتراق این دونوع میکروسیتوز از یکدیگر طراحی نمائیم. وسعت آزمایشات مورد نیاز برای تعیین ناقلین ژن در ایران در حدی است که یافتن

چنین راهی یا ترکیبی از چند راه می تواند به میزان زیادی سرعت تشخیصی را تحت تاثیر قرارداد و هزینه های آزمایشگاهی راکاهش دهد.

مواد و روشها:

براساس یک مطالعه توصیفی تحلیلی از بین داوطلبین ازدواج مراجعه کننده به مرکز تحقیقات و پیشگیری تالاسمی (PRETIC) ۳۰/۰۰۰ نفر (۱۵/۰۰۰ مرد و ۱۵/۰۰۰ زن) بطور تصادفی انتخاب شدند. برای کلیه این افراد آزمایش CBC با شمارنده الکترونیکی H1 تکنیکون (ساخت بازار مشترک اروپا) انجام شده بود و اطلاعات آن در نرم افزار NAMA نگهداری می شد. از بین اندکسهای خونی MCV (mean corpuscular Volume), RDW (Red Blood cells Distribution width), RBC (Mean corpuscular Hemoglobin) MCH, (Red cell capacity) TIBC, Fe (آهن سرم), Hb (hemoglobin), HbA₂ (Total iron Banding), HbA₂ (hemoglobin A₂) انتخاب و مورد بررسی قرار گرفت. براساس اطلاعات فوق گروههای ذیل تشکیل گردید.

۱- مردان و زنان

۲- MCV طبیعی (مساوی و بالاتر از ۸۰ fl) و میکروسیتیک (MCV < ۸۰ fl)

۳- IDA = میکروسیتوز توأم با Fe پایین و TIBC بالای سرم (TIBC > ۴۰۰), (Fe < ۷۰), HbA₂ < ۳%

۴- بتاتالاسمی مینور = میکروسیتوز توأم با HbA₂ بالا (HbA₂ > ۴), (Fe > ۷۰), TIBC < ۴۰۰

۵- مخلوط (Mixed) = میکروسیتوز توأم با HbA₂ > ۴, (Fe < ۶۰), TIBC > ۴۰۰ (بالا) همراه با Fe پایین و TIBC بالا

۶- بتاتالاسمی مینور توأم با آنمی

۷- فقر آهن توأم با آنمی

فرمولهای ذیل که محققین قبلی از آن استفاده کرده بودند برای هریک از گروههای فوق الذکر مورد محاسبه قرار گرفت.

کاهش MCH بود. بعبارت دیگر میزان کاهش MCV با افزایش HbA₂ بیشتر از MCH تحت تأثیر قرار می گرفت. براساس معیارهای بیماری نتایج تشخیص ذیل معین گردید:

معیار ۱	Hb < 18 و $RBC > 7 \times 10^6$ و $MCV < 80$ مردان
	Hb < 16 و $RBC > 6.5 \times 10^6$ و $MCV < 80$ زنان

معیار ۲ | $MCV < 65$

باوجود معیار اول احتمال بتاتالاسمی مینور بیش از ۹۰٪ و باوجود هر معیار احتمال بتاتالاسمی مینور به ۱۰۰٪ نزدیک می شد. حساسیت تست RDW بعنوان معیار تشخیص زنان بتاتالاسمی مینور ۴/۳٪ و در مردان ناقل ژن بتاتالاسمی مینور ۱۳/۸٪ بود (جدول شماره ۳-).

بحث:

یک مطالعه بر روی ۱۰۲ بیمار مبتلا به آنمی فقر آهن و ۳۳ نفر ناقل ژن بتاتالاسمی مینور نشان داد که میزان MCV نسبت به فقر آهن پایین تر ولی تعداد RBC بالاتر است (۶). این نتیجه با یافته های این مطالعه و اظهار نظر سایر محققین مشابهت داشت تمرکز محققین این تحقیق روی این مطلب نشان داد که وجود هر دو معیار ۱ و ۲ در اندکسهای خونی یک فرد حساسیتی (Sensitivity) برابر ۱۰۰٪ دارد، هر چند این نتیجه قابل تعمیم به تمامی سنین و مناطق نیست ولی با توجه به مشابه بودن نسبی سن ازدواج در اکثر نقاط کشور و لزوم غربالگری داوطلبین ازدواج برای تشخیص ژن بتاتالاسمی مینور این معیار می تواند کمک کننده باشد. با آنکه تحقیقات قبلی بر ارزشمند بودن اندکس RDW برای افتراق IDA از بتاتالاسمی مینور تاکید داشتند (۷ و ۸). ولی نتایج این مطالعه که در حجم بسیار وسیع تر انجام گرفته بود چنین چیزی را نشان نداد بدیهی است تفاوت شیوع فقر آهن در شرایط اقلیمی ما و همچنین اختلاف موتاسیون های

$$\frac{MCV}{RBC}, \frac{MCH}{RBC}, RDW, 0.01 MCH, MCV^2$$

$$\frac{MCV^2 * RDW}{100 * Hb}, [MCV - RBC - 5 * Hb - 3.9]$$

حداقل، حداکثر و میانگین کلیه اندکسهای RBC محاسبه گردید، همچنین تلاش شد تا در بیماران فقر آهن و بتاتالاسمی مینور خالص، معیارهایی معین گردد که با استفاده ترکیبی از آنها بتوان این دونوع را از یکدیگر افتراق داد.

کلیه اطلاعات مربوط به اندکسها به نرم افزار Systat V.5 منتقل و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی ارتباط متغیرهای کمی از مدل خطی رگرسیون استفاده شد. $Pvalue < 0.05$ بعنوان معنی دار بودن داده ها قلمداد گردید. نتایج:

میانگین سنی مردان ۲۵ سال (با حداقل ۱۲ و حداکثر ۷۷) و زنان ۲۰ سال (حداقل ۱۱ و حداکثر ۶۰) بود. اندکسهای خونی در جدول ۱ ذکر شده است. براساس تعریف ۱۷۷ نفر مرد با تشخیص قطعی و خالص بتاتالاسمی مینور و ۱۴۲ زن با همین تشخیص جدا شدند و براساس تعریف فقر آهن ۸۲ مرد و ۳۳۲ زن مشخص شدند. فرمولهای افتراق بتاتالاسمی مینور از فقر آهن و نتایج حاصل از آن در جدول شماره ۲ ذکر شده است، بعلاوه میزان توانایی هر فرمول در افتراقی دونوع میکروسیتوزیان شده است.

ارتباط معنی داری بین HbA_2 , RDW در زنان مبتلا به بتاتالاسمی مینور مشاهده شد ($P=0.001$)، به این صورت که با افزایش HbA_2 میزان RDW افزایش می یافت. در مردان مبتلا به بتاتالاسمی مینور این رابطه صدق نمی کرد.

بین میزان MCV و HbA_2 در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی مینور ارتباط وجود داشت ($P=0.001$)، بطوریکه با افزایش HbA_2 MCV کاهش می یافت.

هر چند بین MCH و HbA_2 نیز ارتباط وجود داشت ولی میزان تغییرات کاهش MCV با افزایش HbA_2 بیشتر از

بتاتالاسمی در هر منطقه می تواند توجیه کننده این مطلب باشد لذا قضاوت قطعی پیرامون قدرت تشخیص افتراقی اندکس RDW زمانی امکان پذیر است که حاصل مطالعات متعدد در نواحی مختلف مورد ارزیابی قرار گیرد در عین حال مشخص شد اگر RDW را در فرموله‌ها دخالت ندهیم اکثر فرموله‌ها توانایی شناسایی بتاتالاسمی مینور را در حد بالایی از خود نشان می دهند .

وجود آنمی فقر آهن توأم با بتا تالاسمی مینور می تواند میزان HbA₂ را به حد طبیعی نزدیک سازد (۹) و ارزش آزمایشات تکمیلی (الکتروفورز هموگلوبین) رانیز مختل نماید . در این موارد درمان با آهن باعث می شود تا MCV و Hb افزایش یابد ولی بدلیل وجود بتا تالاسمی مینور هیچگاه به میزان طبیعی نرسید . از آنجاکه برنامه پیشگیری از تولد بتاتالاسمی ماژور در اولویت های بهداشتی قرار دارد محققین پیشنهاد می نمایند با توجه به وجود نظام ارزشمند شبکه های بهداشتی درمانی در کشور

آزمایشات غربالگری برای داوطلبین ازدواج یا مدارس سطح بندی شود و در مواردی که معیارهای پیشنهادی این تحقیق در اندکسهای خونی فردی وجود داشت نمونه خون به سطح بالاتر جهت انجام الکتروفورز (HbA₂) ارسال شود در سایر موارد بخصوص در خانمها درمان با آهن خوراکی انجام شود و چنانچه MCV و Hb افزایش نیافت و یا در حدی متوقف شد آنگاه تست HbA₂ انجام شود در این صورت علاوه بر آنکه فقر آهن در جمعیت زیادی اصلاح کرده ایم یک عامل مخدوش کننده قوی را که بطور کاذب آزمایش HbA₂ را منفی می کند از سر راه برداشته ایم .

بدیهی است این دوره زمانی که می تواند در یکماه انجام پذیرد نه تنها مخاطره ای برای افراد ولو بتاتالاسمی مینور ندارد (۹) بلکه در راستای یکی از اولویتهای بهداشتی مملکت یعنی اصلاح کم خونی فقر آهن نیز قدم مؤثری خواهد بود.

جدول شماره ۱- مقادیر شاخصهای خون شناسی در نمونه مورد بررسی

Indices اندکس	محدوده اندکس در بیماران تالاسمی مینور		محدوده اندکس در بیماران فقر آهنی	
	مذکر	مونث	مذکر	مونث
MCV (fI)	۵۸-۶۸	۵۹-۶۹	۶۹/۵-۷۹/۵	۶۷-۷۸
MCH (Pg)	۱۸-۲۲	۱۸-۲۲	۲۲-۲۷	۲۰-۲۵
Hb (g/dl)	۱۲-۱۴/۵	۱۰/۵-۱۳	۱۲/۵-۱۶/۵	۱۰-۱۳/۵
RBC (X10 ⁶ /ml)	۶/۲-۷/۳	۵/۴-۶/۳	۵/۴-۶/۴	۴/۷-۵/۶
RDW (%)	۱۴-۱۶	۱۴-۱۶	۱۲-۱۵	۱۳-۱۶/۵
FE (μg/dl)	۸۹-۱۶۳	۸۱-۱۴۴	۳۴-۱۳۹	۱۴-۱۲۱
TIBC (μg/dl)	۲۶۵-۳۶۵	۲۹۰-۳۷۶	۳۳۴-۵۰۳	۳۶۳-۵۰۹
HbA ₂ (%)	۴/۷-۶/۲	۴/۶-۶/۲	—	—

جدول شماره ۲- فرمولهای افتراقی بتاتالاسمی مینور و فقر آهن

شاخص	مرز تصمیم گیری	کمبود آهن		β -Thalassemia Minor	
		(n=191)		(n=222)	
		مذکر (n=28)	مونث (n=163)	مذکر (n=130)	مونث (n=92)
MCV-RBC-(5×Hb)-3.5	۰	۱۴	۱۵۷	۱۲۵	۶۸
		۲۸	۱۶۳	۱۳۰	۶۲
$\frac{MCH}{RBC}$	۴/۴	۵	۷۸	۱۲۶	۹۱
		۲۸	۱۶۳	۱۳۰	۹۲
$\frac{MCV}{RBC}$	۱۴	۵	۹۱	۱۳۰	۸۹
		۲۸	۱۶۳	۱۳۰	۹۲
$0.01 \times MCH \times (MCV)^2$	۱۵۳۰	۱	۱	۱۲۵	۹۲
		۲۸	۱۶۳	۱۳۰	۹۲
RBC	۵	۳	۸۲	۱۲۹	۹۰
		۲۸	۱۶۳	۱۳۰	۹۲
RDW	۱۴	۲۵	۱۵۵	۱۸	۴
		۲۸	۱۶۳	۱۳۰	۹۲
$\frac{MCV^2 \times RDW}{Hb \times 100}$	۶۵	۹	۱۳۳	۱۲۷	۸۵
		۲۸	۱۶۳	۱۳۰	۹۲

n=تعداد نمونه ها

مقدار عددی بیش‌تر از مرز تصمیم در همه موارد بجز RBC پیشنهاد کننده فقر آهن و کمتر از آن پیشنهاد کننده بتاتالاسمی مینور است. در مورد RBC مقدار عددی بیش‌تر از ۵ نشان دهنده تالاسمی مینور و کمتر از آن نشان دهنده فقر آهن است.

جدول شماره ۳: ارزش تشخیص شاخصهای مختلف در تشخیص افتراقی تالاسمی مینور از بین افراد میکروسیتیک

مردان				زنان				سطح تشخیصی	شاخص
ارزش اخباری مثبت	ارزش اخباری منفی	حساسیت	ویژگی	ارزش اخباری مثبت	ارزش اخباری منفی	حساسیت	ویژگی		
۷۳	۸۹	۵۰	۹۶	۸۶	۹۱	۹۶	۷۳	۰	MCV-RBC-(Hb×5)-3.5
۵۵	۸۴	۱۸	۹۷	۹۸	۵۱	۲۸	۹۸	۴/۴	MCH/RBC
۱۰۰	۸۴	۱۷/۸	۱۰۰	۹۶	۵۵	۵۶	۹۷	۱۴	MCV/RBC
۱۶	۸۳	۴	۹۶	۱۰۰	۳۶	۱	۱۰۰	۱۵۳۰	$0.01 \times MCH \times (MCV)^2$
۷۵	۵۱	۱۰/۷	۹۹	۹۸	۵۳	۵۰	۹۸	۵	RBC
۱۸	۸۶	۸۹	۱۴	۶۲	۳۳	۹۵		۱۴	RDW
۷۵	۸۸	۳۲	۹۸	۹۵	۷۴	۸۲	۹۲	۶۵	$MCV^2 \times RDW / Hb \times 100$

* سطح تشخیصی عددی است که مقدار شاخص کمتر یا بالاتر از آن عدد (بر حسب نوع شاخص) مؤید تالاسمی مینور است.

** مقادیر داخل جدول بر حسب درصد بیان شده اند.

REFERENCES:

- 1- Esposi NW. Thalassemia: simple screening for Hereditary Anemias, Nurse -Pract. 1992 ; 17:23-4.
- 2-Jimenez CV. Iron -Deficiency Anemia Thalassemia Trait Differentiated by Simple Hematologic Tests and Serum Iron Concentrations .Clin Chem. 1993 Nov; 39(11 pt 1):2271-5
- 3-Lin CK, Lin JS, Jiang ML, Chiu CF. Comparison of Hemoglobin and Red Blood Cell Distribution Width in the Differential Diagnosis of Microcytic Anemia. Arch - pathol-Lab -Med .1992; 116(10):1030-2.
- 4-Massey AC. Microcytic Anemia .Differential Diagnosis and Management of Iron Deficiency Anemia. Med -Clin -North Am. 1992; 76(3):549-66.
- 5-Junca J, Flores A, Roy C, Alberti R, Milla F. Red Cell Distribution Width, Free erythrocyte Protoporphyrin , and England - Fraser index in the differential diagnosis of microcytosis due to iron deficiency or beta - thalassemia trait, A study of 200 cases of microcytic Hematol-pathol .1991; 5(1):33-6.
- 6- Green R, King R. A new discriminant incorporating volume dispersion for differentiating iron deficiency anemia from thalassemia minor .Blood cells 1989; 15 :481-91.
- 7-Baqar MS, Hhurshid M, Molla A. Does red cell distribution width (RDW) improve evaluation of microcytic anemia ? JPM 1993; 43 :144-51.
- 8- Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Martin JB, Fauci AS, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine .New York :Mc Graw Hill, 1991.

مردان					زنان				
ردیف	تعداد	متوسط	حداکثر	حداقل	ردیف	تعداد	متوسط	حداکثر	حداقل
۱	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۱	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰
۲	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۲	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰
۳	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۳	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰
۴	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۴	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰
۵	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۵	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰
۶	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۶	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰
۷	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۷	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰
۸	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۸	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰
۹	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۹	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰
۱۰	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰	۱۰	۱۰	۱۰۰	۱۱۰	۹۰

Probability for Differentiation of Blood Indices for Determination of Iron Deficiency in Minor Thalassemia Based on Red Cell

Ghaneei M.,MD

Movahhedi M.,MD

Mirzadeh M.J., MD

Adibi P.,MD

ABSTRACT:

Minor beta-thalassemia is one of the frequent causes of microcytic anemia. To screen a large population for thalassemia traits, simple diagnostic tests are needed by which iron deficiency can be differentiated from the traits.

In a descriptive study, data of complete blood count of 15000 men and 15000 women was measured by H*1 cell counter and evaluated; And several indices and formulae were checked to find out whether they are good discriminators or not.

We found out that in a man with $MCV < 80$ FL, $RBC > 7 \times 10^6/mm^3$ and $Hb < 18$ g/dl the probability of thalassemia traits is 90% with the same MCV in woman and a $10^6/mm^3$ $RBC > 6.5$ 0.01 formula can $\times$ and $Hb < 16$, the probability will be the same. Using $(MCV)^2$ with $\times MCH \times$ help to screen the trait sensitivity of 100% in women, which was equal to value of MCV/RBC in men.

conclusion :The two above mentioned formula can be used as the first step of screening of minor beta thalassemia .