



الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

جامعة دمشق

كلية الطب البشري

قسم الطب المخبري

الكشف عن اعتلالات الخضاب الوراثية لدى مرضى فقر الدم صغير الكريات ناقص الصبغ

Detection Of Hemoglobinopathies In Microcytic Hypochromic Anemia Patients

بحث علمي أعد لنيل درجة الماجستير في قسم الطب المخبري

إعداد الطالبة

د. نورا سهيل خضّور

إشراف

أ. د. تهاني علي

2016

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بطاقة شكر وامتنان

هي محطات من عمرنا تجبرنا على وداع ماضٍ قريب ، لربّما الأمل بالغد الأفضل
يخفف من رهبة هذه النهايات

والختام وقفة جلية، أنحنى فيها مع كلماتٍ قليلة تحمل عميق الامتنان وجزيل
الشكر لمن كان لها الفضل الكبير في إنجاز هذا البحث والإشراف عليه :

الأستاذة الدكتورة تهاني علي

كما أتوجّه بالشكر للجنة الحكم المحترمة السادة :

أ. د. حسان عزيز

و أ. د. نزار كشكة

لتشريفهم إياي في تحكيم عملي المتواضع

وأتمنى أن أكون قد وفّقت..

للجميلة .. الذكية .. الرائعة ..

لمن تعطيني دوماً الأمل والضحكة والحياة والثقة..

وردتي الحلوة..

ماما

للرجل الحكيم الذي لا يتوقف عن العطاء ..

لمن أقف أمام كلماته ونظراته في كل مرة، مذهولة كم تنبض بالحنان وكيف تروي عطش روحي ...

دهبي الغالي..

بابا

إلى قلبي..

أمي وأبي..

لمن إن ابتسم فُرجت الدنيا..

طارق

للمُشتاق .. المُحب .. الفرح..

تؤار

للغالي .. الحنون .. الطفل دوماً ..

علي

إلى ضوء عيوني..

أخوتي..

قدر الفراشة أن يقتلها الضوء ، وقدرنا أن نفارق أحبةً عند كل محطة نجاح.. محملين بالذكريات والأمانى..

زميلات الدراسة

زملاء الدراسة

لمن أدّوا رسالتهم بكل أمانة.. ووهبونا العلم مفعماً بالمحبة..

أساتذتي في قسم الطب المخبري

لمن قدّموا أغلى ما يملكون لنحيا.. ونبتسم.. وتتابع العمل..

لشهداء الوطن

لكل من آمن بي ، ووهبني بعضاً من الحبّ..

لكم محبّتي..

دمشق 31/5/2016

الفهرس

	أولا القسم النظري:
7	1-1: الاختصارات
8	2-1: لمحة تاريخية
9	3-1: فقر الدم
9	1-3-1: تصنيف فقر الدم
11	2-3-1: فقر الدم صغير الحجم ناقص الصباغ
11	4-1: امتصاص الحديد ودورانه
13	5-1: التقييم المخبري لحالة الحديد في الجسم
16	6-1: جزيئة الخضاب
16	7-1: سلاسل الغلوبين والخضابات الطبيعية ومورثاتها
19	8-1: اعتلالات الخضاب الوراثية
19	1-8-1: التعريف والانتشار
20	2-8-1: اعتلالات الخضاب البنيوية
	3-8-1: اعتلالات الخضاب الكمية: أ- التلاسيما ألفا
21	ب- التلاسيما بيتا
28	9-1: الطرق المخبرية للكشف عن اعتلالات الخضاب الوراثية
31	10-1: التوجه التشخيصي لمريض فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ
	ثانيا: القسم العملي :
34	1-2: خلفية البحث و أهميته
34	2-2: أهداف البحث وتصميم الدراسة
35	3-2: خطوات العمل
37	4-2: الاستبيان
38	5-2: معايير التشخيص
38	6-2: عرض النتائج ومناقشتها
50	7-2: الدراسات المقارنة
51	8-2: الخلاصة والاستنتاجات
52	9-2: التوصيات
53	10-2: الملحقات
58	ملخص البحث
60	ثالثا: المراجع

1-1 : الاختصارات:

- ❑ *BTM* Beta Thalassemia Minor : البيتا تلاسيميا الصغرى
- ❑ *CBC* complete blood count: تعداد الدم الكامل
- ❑ *HbA* hemoglobin A : الخضاب A
- ❑ *HbA2* hemoglobin A2: A2 الخضاب
- ❑ *HbF* hemoglobin F : F الخضاب
- ❑ *Hb* Hemoglobin: الخضاب
- ❑ *IDA* iron Deficiency anemia: فقر الدم بعوز الحديد
- ❑ *MCH* mean cell hemoglobin; mean corpuscular hemoglobin:
كمية صباغ الكرية الحمراء الوسطي
- ❑ *Mean ± SD* : المتوسط ± الانحراف المعياري
- ❑ *MCV* mean corpuscular volume : حجم الكرية الحمراء الوسطي
- ❑ *Tfs* Transferrin saturation: نسبة الإشباع للترانسفيرين
- ❑ *TIBC* Total Iron Binding Capacity : السعة الرابطة للحديد

2-1 : لمحة تاريخية:⁽¹⁾

- تحدثت الأساطير اليونانية في قصة أبقرات الحكيم عن الاستخدام العلاجي للحديد ، حيث عالج بعض المرضى بشرب الصدا (الحديد المنحل) في النبيذ.
- اكتشف Hoffer و Popp و Foedish Respectively فقر الدم ، نقص الصباغ و عوز الحديد في الدم عام 1830.
- في أواخر العشرينات و أوائل الثلاثينات من القرن الماضي اكتشف الأطباء أشكالاً أخرى لعوز الحديد، وأطلقوا عليها "فقر الدم البدئي مجهول السبب أو فقر الدم البسيط اللاكلوريدي".
- عام 1925 تحدث Dr. Cooly و Dr. Pearl Lee عن ملاحظتهما لسلسلة حالات من ضخامة الطحال لدى الأطفال مترافقة مع فقر دم وتغيرات عظمية وهيكلية مميزة.
- أطلق Whipple و Bradford مصطلح (مرض البحر الأبيض المتوسط و التلاسيميا) عام 1932.
- أطلق Neel و Valentine مصطلح تلاسيميا صغرى للمتغايرة اللواقح (الحملة المعتدلون)، و تلاسيميا كبرى للمتماثلة اللواقح عام 1944.
- Dr . Cooly وصّف أول حالة عائلية لفقر دم ناقص الصباغ صغير الكريات مرتبطاً بالوراثة عام 1945، مميّزاً إياها عن التلاسيميا الموصوفة في العام 1925.

• أول استخدام لتقنية الرحلان الكهربائي كانت في العام 1950 ،لاحقاً تم ملاحظة ارتفاع

HbA2 لأهالي أطفال مصابين بفقر الدم كولي (2,3)

• أول من طَبَّق "المسح ماقبل الزواج" للبحث عن خَلة التلاسيميا : إيطاليا، مدينة

Lathium وقد تمّ تطبيقه كبرنامج مسح وقائي للمدارس المتوسطة حينها.(4)

3-1 : فقر الدم والتشخيص التفريقي لفقر الدم صغير الكريات:

التعريف الأشمل لفقر الدم Anemia: هو انخفاض قيمة الخضاب عن 12 غ / دل عند الإناث

البالغات ، و 13 غ/دل عند الذكور البالغين(5)، وتختلف المعايير عند الأطفال والحوامل، كما

أنه يعتبر عرضاً يستدعي البحث عن أسبابه وليس مرضاً بحد ذاته.

1-3-1 : تصنيف فقر الدم : (6)

على أساسين: (شكلي / فيزيولوجي مرضي) أو (وظيفي functional)

أ- التصنيف الشكلي :

يعتمد التصنيف الشكلي على حجم الكرية الحمراء الوسطي، وكمية الصباغ الوسطي في الكرية

الحمراء، كما أن وجود كريات شاذة الأشكال في اللطاخة المحيطية يوجه نحو أمراض محددة.

مشكلة هذه الطريقة في التصنيف أن التغيرات الشكلية في فقر الدم المبكر قد تكون ثانوية أو

لاتلاحظ .

تصنيف فقر الدم حسب حجم الكريات الحمر:

1- صغير الكريات : Microcytic Anemia : $MCV < 80 \text{ fl}$ (حجم الكرية الحمراء

الوسطي) وأشيع أشكاله عوز الحديد، كما يشاهد لدى مرضى خلة التلاسيميا بيتا ، و في

الحالات الشديدة للأمراض المزمنة.

2- طبيعي الكريات Normocytic Anemia : MCV 80-100 fl يتواجد في : المراحل الباكرا لعوز الحديد ، الأمراض المزمنة "كلوية أو كبدية" ، العوز الغذائي المشترك " حديد مع فولات أو كوبالامين" .

3- كبير الكريات Macrocytic Anemia : MCV >102 fl عوز الفولات أو الكوبالامين (فيتامين B12) وفي فقر الدم الانحلالي المعاوز (تزايد عدد الشبكيات) وفي الأمراض الكبدية.

كما يصنف فقر الدم بحسب كمية الخضاب الوسطي في الكرية إلى:

1- ناقص الصباغ Hypochromic : (MCH <27 pg) كما في عوز الحديد.

2- طبيعي الصباغ Normochromic : (MCH 27-33 pg) كما في فقر دم الأمراض المزمنة.

3- زائد الصباغ Hyperchromic : (MCH >33 pg) كما في تكور الكريات الوراثي.

ب- التصنيف الفيزيولوجي المرضي: (الوظيفي) :

يعتمد أساسا على تعداد الشبكيات الدموية Reticulocytes والذي يعكس معاوضة النقي لقلة الحمر في الدوران:

1. ناقص المعاوضة حيث يفشل النقي في الاستجابة إلى فقر الدم ولكن الخلايا المنتجة طبيعية وعدد الشبكيات لا يرتفع.

2. عيوب النضج حيث يتجاوب النقي مع فقر الدم منتجا خلايا غير قادرة على دخول

الدوران ، ويقسم إلى : عيوب تطور السيتوبلازما (فقر دم صغير الكريات بشكل عام) وعيوب تطور النوى (فقر دم غالبا كبير الكريات).

2- فقر الدم عالي المعاوضة (انحلالي / نزفي) : حيث يزداد تحطم أو فقد الكريات الحمر و يتجاوب النقي لينتج كريات حمر ناضجة محاولا تعويض الفقد. تعداد الشبكيات عالي و حجم الكريات الحمر الوسطي غالبا أعلى من الحد الطبيعي لأن الشبكيات المطروحة في الدم المحيطي أكبر حجما من الكريات الناضجة.

2-3-1 : فقر الدم صغير الحجم ناقص الصباغ Microcytic

:Hypochromic Anemia

هو انخفاض قيمة خضاب الدم عن 12 غ/دل عند الإناث و 13 غ / دل عند الذكور مترافقا مع نقص حجم الكريات الحمراء الوسطي عن 80 فمتولتر ، ومتوسط الخضاب الخلوي للكرية الحمراء عن 27 بيكوغرام.

• التشخيص التفريقي :

1- عوز الحديد Iron Deficiency Anemia.

2- خلة البيتا تلاسيميا β Thalassemia Trait .

3- فقر دم الأمراض المزمنة Chronic Disease Anemia.

4- فقر الدم بالأرومات الحديدية Sidroblastic Anemia .

1-3-1: امتصاص الحديد ودورانه (7):

يتواجد الحديد في جسم الشاب الطبيعي بمعدل 3200 ملغ ، يتوزع على النحو التالي: 67% في خضاب الدم ، 27% مخزون الحديد الفيريتين والهيموسيدرين ، 3.5% حديد الميوغلوبين العضلي ، أقل من 1% حديد للنقل والبقية 5% تنتشر في باقي النسيج.

بالنسبة لتواجد الحديد في خضاب الدم فإن جزيئة الخضاب ترتبط بأربع ذرات حديد على شكل جزيئة هيم والتي تتكون بدورها من أربع نوى بيروول ترتبط بذرة حديد واحدة، وتمتاز ذرة الحديد هذه بقابليتها للتحويل من الشكل (Fe^{+++}) إلى الشكل (Fe^{++}) وبالعكس ، أي: يمكنها أن تضم إليها الأكسجين (O_2) ثم التخلي عنه.

وبهذا فإن الحديد يشكل 34% من وزن جزيئة الخضاب بما مقداره 2 غ عند الذكور و 1.5 غ عند الإناث لكامل حجم الدم.

يحصل الشخص على حاجته اليومية من الحديد بالطريق الهضمي ويتم امتصاصه عن طريق العفج ويخزن في الجسم إما على هيئة فيريتين أو هيموسيدرين ، الفيريتين ذواب في الماء بينما الهيموسيدرين غير ذواب.

• دوران الحديد :

بعد امتصاص ذرة الحديد ودخولها إلى الدوران تدخل في حلقة شبه مغلقة ليتم استخدامها في اصطناع الخضاب ثم تلقى في الدوران 120 يوما ، ليتم بعدها إزالتها من الهيم بأنزيم الهيم أوكسيجيناز فتلتقطها النسيج الضامة لتعود بعدها إلى البلازما وتكرر الدورة وتستخدم من جديد في اصطناع الهيموغلوبين.

إطراح الحديد خارج الجسم يتم بنسبة قليلة متوازنة مع الحاجة اليومية عن طريق جهاز الهضم، لكن النسبة الأكبر من الفقد تحصل عند النزوف أو دم الطمث عند الإناث.

يتواجد بشكل رئيسي في الكبد و الطحال و نقي العظم، كما تتواجد كمية قليلة منه في المصل و قيمه تتناسب مع مخازن الحديد في الجسم، لذا فهو يعكس حالة مخازن الحديد الحقيقية في حال التغيرات قصيرة المدى التي تحصل لحديد المصل والسعة الرابطة للحديد. وهو أحد بروتينات الطور الحاد لذا قد يرتفع في حال ترافق عوز الحديد مع التهاب مرافق مثل أمراض الكبد ، الخباثات ، و أمراض الكلية المزمنة. إن وجود الحديد هو المحرّض الرئيسي لتصنيع الفيريتين ، لأن الحديد الحر يملك تأثيراً ساماً على الخلايا من خلال تشكيل جذور أوكسجينية حرة، فيقوم الجسم بحماية نفسه من خلال تخزين الحديد بشكل فيريتين أو هيموسيدرين.

Plasma Transferrin & Transferrin Saturation & Total Iron –3

Binding Capacity(TIBC) ترانسفيرين البلازما و نسبة لإشباع له و السعة الكلية

الرابطة للحديد:

الترانسفيرين هو بروتين سكري ينتجه الكبد ، وهو الناقل الرئيسي للحديد في الدوران . يرتبط بالحديد لينقله من مواقع الامتصاص إلى مواقع الاستهلاك والتخزين. تستطيع كل جزيئة ترانسفيرين أن تربط جزيئتي حديد بالشكل Fe^{+3} لتتخلّى عن الحديد على سطح الخلية الهدف بتواسط مستقبلات الترانسفيرين التي تتواجد على سطح: خلايا الجهاز الشبكي البطاني ، الخلايا الكبدية ، اللمفاويات ...

يزداد ترانسفيرين البلازما في عوز الحديد بسبب ازدياد اصطناعه في الكبد كأحد الآليات المعوضة ، ويمكن قياس عياره في البلازما بشكل غير مباشر و ذلك من خلال:

TIBC (Total Iron Binding Capacity) السعة الكلية الرابطة

الحديد:

مجموع المواقع الرابطة للحديد التي تملكها بروتينات البلازما (الترانسفيرين بشكل رئيسي باعتباره الناقل الرئيسي للحديد) ويتم قياسها من خلال إضافة حديد زائد إلى العينة لإشباع الترانسفيرين ، وهي تعبر عن كمية الحديد المضافة لإشباع الترانسفيرين مع الحديد المرتبط بالترانسفيرين قبل الزيادة .

ب- Transferrin Saturation نسبة إشباع الترانسفيرين:

نسبة المواقع الرابطة للحديد على الترانسفيرين المشغولة بالحديد ، ويتم حسابها:

$$\text{نسبة إشباع الترانسفيرين} = (\text{تركيز الحديد} / \text{تركيز الترانسفيرين}) \times 100 = (\text{الحديد} / \text{TIBC}) \times 100$$

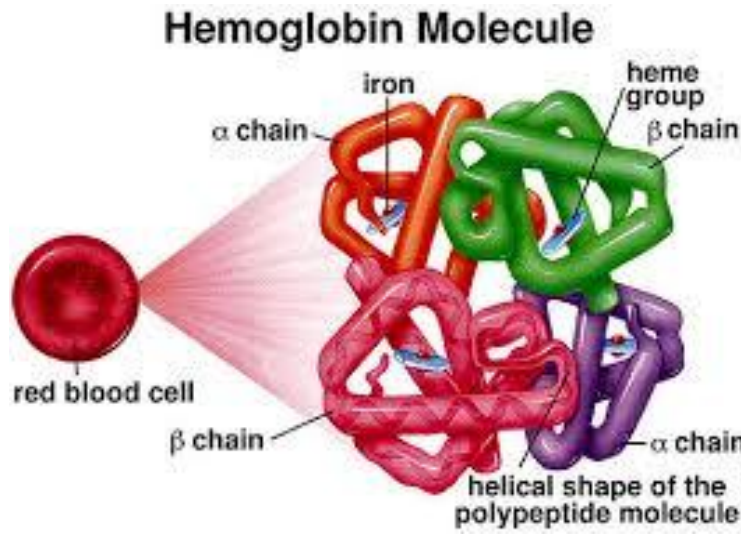
تتأثر نسبة إشباع الترانسفيرين بنفس العوامل الفيزيولوجية التي تؤثر بمستويات حديد المصل و TIBC ، أما تبدلاتها المرضية: فهي تنقص في حال عوز الحديد ، وتزداد في حال فرط حمل الحديد و فقر الدم الانحلالي ، فيما لا تتأثر نسبة الإشباع في حالات الأدوية الالتهابية أو التنشوية بسبب انخفاض كل من الحديد والسعة الرابطة له.

الاختبار	ذكور	إناث
حديد المصل	65-175 مغ/دل	50-170 مغ/دل
السعة الرابطة للحديد	380-425 مكغ / دل	380-425 مكغ / دل
نسبة الإشباع للترانسفيرين	20%	15%
الفيريتين	15-50 نانوغرام /مل	15-50 نانوغرام / مل

جدول (1) يبين القيم المرجعية لحالة الحديد في الجسم عند البالغين⁽¹¹⁾

6-1 : جزيئة الخضاب : (12,6)

تتكون جزيئة خضاب الدم من أربع جزيئات بروتينية هي سلاسل الغلوبين ترتبط بكل منها جزيئة واحدة من الهيم التي بدورها تتكون من أربع نوى بيرول ترتبط بذرة حديد واحدة ، وظيفة الخضاب في الجسم هي نقل الأكسجين (O_2) من الرئتين إلى الأنسجة .



الشكل (2) رسم توضيحي يظهر بنية الخضاب

7-1 : سلاسل الغلوبين والخضابات الطبيعية ومورثاتها:

تتواجد أربع من سلاسل الغلوبين بشكل طبيعي عند الكهل: السلسلة ألفا، السلسلة بيتا، السلسلة دلتا، السلسلة غاما ، لتركب جزيئات الخضاب الطبيعية التي تتألف كل منها في الحالة العادية من سلسلتي ألفا مع سلسلتي غلوبين متشابهتين مقابلتين بحسب نوع خضاب الدم، تتركب السلاسل إبسيلون و زيتا في الحياة الجنينية المبكرة فقط، وتتواجدان في الخضاب: Gower1, Gower 2 ,Portland .

الخضابات الطبيعية: (12,6)

1. الخضاب A "HbA" يتألف من سلسلتين ألفا وسلسلتين بيتا ، و يشكل القسم الأكبر من الخضاب عند الكهول (95-98%) تتشكل كمية قليلة من HbA خلال الحياة الجنينية ، حيث يبدأ إنتاج السلاسل بيتا قبل الأسبوع 20 الحمل. يحوي دم الحبل السري على (10-30%) من HbA عند الولادة، ويتكون الباقي من HbF ، يصل HbA إلى تراكيزه عند الكهول خلال الأشهر (6-12 التالية للولادة).
2. الخضاب A2 "HbA2": يتألف من سلسلتين ألفا وسلسلتين دلتا، حيث يبدأ إنتاج السلاسل دلتا متأخرا خلال الحياة الجنينية لذا يحوي دم الحبل السري على HbA2 بنسبة >1% فقط.

يشكل نسبة صغيرة من الخضاب عند

الكهول (1.5-3.5%) . يصل

HbA2 إلى تراكيزه عند الكهول في الشهر الخامس أو السادس بعد الولادة .

3. الخضاب F "HbF": ويتألف

من سلسلتين ألفا وسلسلتين غاما،

يشكل النسبة العظمى في الحياة الجنينية (90-95%).

النمط الوراثي	الخضاب	
$\alpha 2 \beta 2$	Hb A	الخضاب الكهلي
$\alpha 2 \delta 2$	Hb A2	
$\alpha 2 \gamma 2$	Hb F	الخضاب الجنيني
$\xi 2 \epsilon 2$	Hb-Gowe 1	الخضاب المشيمائي
$\alpha 2 \epsilon 2$	Hb-Gower 2	
$\xi 2 \gamma 2$	Hb-Portland	

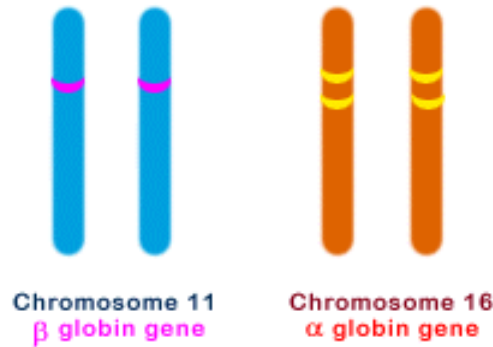
الجدول (2) يظهر الخضاب الكهلي والجنيني

مورثات الخضاب:

تتألف السلاسل ألفا من 141 حمض أميني بينما تتألف كل من السلاسل بيتا ، دلتا ، غاما من 146 حمض أميني.

ويشرف على تصنيع السلاسل ألفا المورثتان ألفا 1 و ألفا 2 الموجودتان على الذراع القصير للصبغي 16 ، ويشرف على تصنيع السلاسل بيتا مورثة واحدة على الذراع القصير للصبغي 11 الشكل (3)

- المورثات المذكورة والمحمولة كلها على كروموزومات جسمية تنتقل بحسب القوانين ماندل الوراثة لانتقال الصفات الجسمية ، والصورة السرييرية لغالبية الطفرات الموروثة متماثلة اللواقح هي مرض شديد بينما متخالفة اللواقح إما غير عرضية أو مرض خفيف.



الشكل (3) التوضع الجيني لمورثات سلاسل الغلوبين ألفا وبيتا

8-1 : اعتلالات الخضاب الوراثية (Hemoglobinopathy): (13)

1-8-1 : التعريف والانتشار :

هي مجموعة المتلازمات السريرية التي تنتج عن اضطرابات جينية تؤثر على جزيئة الخضاب. ويمكن أن تقسم إلى (14):

1- خلل بنيوي في سلاسل الغلوبين .

2- خلل كمي في سلاسل الغلوبين، مع بقاء بنية الخضاب طبيعية (التلاسيما). (سيتم

شرحهم كل على حدى بالتفصيل لاحقا).

يحمل 5% من سكان العالم تقريباً خلل جيني لاضطرابات الهيموغلوبين في العام 2011.

وتعتبر المشكلة الدموية المنتقلة وراثيا الأكثر شيوعا، وإحدى المشاكل الكبرى للصحة العالمية (15).

توزع حملة اعتلالات الخضاب الوراثية حول العالم : أفريقيا 5-30% ، العرب 5-40% ، آسيا الوسطى والهند 10-20% ، جنوب وشرق آسيا 5-40% ، الولايات المتحدة 2.5-5% ، إيطاليا 7-9% ، اليونان 6-7% ، تركيا 7-10% ، ألمانيا 0.5-1% ، بريطانيا العظمى بين المهاجرين حتى 15% ، باقي أوروبا 2-5% ، وفي روسيا بشكل نادر (15).

في إيران يبلغ عدد المصابين بالبيتا تلاسيميا الكبرى حوالي 20000 مريض، وعدد الحملة حملة الجينات (السمات) ليسوا مصابين بالمرض، وهم ليسوا مرضى ولن يظهر عليهم المرض لاحقا، ولكن تتحدد احتمالية نقل هذا الجين (السمة) لأطفالهم في المستقبل بالقوانين الماندلية لانقال الصفات الجسمانية، لذا يجب الانتباه عند الزواج من حامل للسمة من احتمالية ولادة أطفال مصابين.

2-8-1 اعتلالات الخضاب البنيوية (structural hemoglobin)

(variants (abnormal hemoglobins):⁽⁷⁾

سببها طفرة للجين المشكل لسلسلة الغلوبين مما يؤدي إلى تشكل خضاب مع شذوذ بنيوي.

و تصنف بحسب نوع الشذوذ التركيبي أو حسب الاضطراب الوظيفي الناتج إلى:

1- استبدال حمض أميني مكان آخر مثل الخضاب المنجلي 'Hb S'.

2- استبدال أكثر من حمض مثل داء الخضاب 'Hb C Harlem' .

3- حذف حمض أميني واحد أو أكثر مثل داء الخضاب لايدن 'Hb Leiden'.

4- اندماج سلاسل الغلوبين مثل دمج ألفا وبيتا في داء الخضاب ليبور 'Hb

'Lepore'.

5- تشكل سلاسل غلوبين أطول من الطبيعي مثل 'Hb Constant spring' حيث

يزيد 31 حمضاً أمينياً في السلسلة ألفا.

معظم اعتلالات الخضاب البنيوية صامتة سريرياً ودموياً، ولا يمكن كشف العديد منها بالرحلان

الكهربائي أو الكروماتوغرافيا السائلة بل تحتاج إلى دراسة جينية.

اعتلالات الخضاب الأكثر اكتشافاً سريرياً هي طفرات السلاسل بيتا و أحياناً ألفا ونادراً طفرات

السلاسل الأخرى غاما و دلتا.

من الممكن أن تتداخل بعض اعتلالات الخضاب وتعطي صورة سريرية أشد من السمة

المنفردة، مثلاً مريض متخالف اللواقح لكل من الخضاب S و C يعبر عنه بمرض سريري

بينما المريض متخالف اللواقح لأحدهما يكون غير عرضي. كما يمكن أن تتداخل اعتلالات

الخصاب البنيوية أيضا مع التلاسيميا مثلاً مريض متخالف اللواقح لبيتا تلاسيميا و الخصاب S يعبر عنه بمرض سريري قد يكون شديداً . (17)

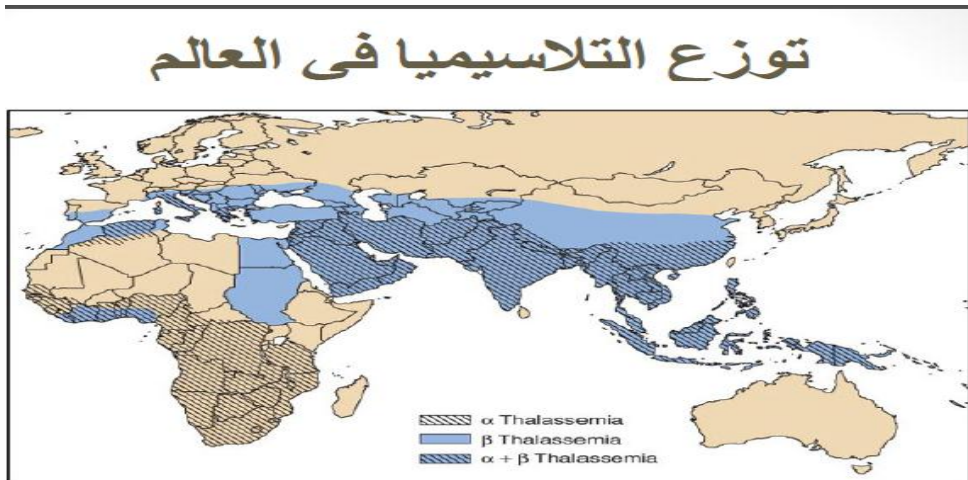
الخصاب S المنجلي: هو اعتلال الخصاب الأشيع حول العالم ، وينتج عن استبدال حمض الغلوتاميك بحمض الفالين في الموقع السادس من السلسلة بيتا.

الخصاب C : ينتج عن استبدال حمض الغلوتاميك بالليزين في الموقع السادس من السلسلة بيتا.

الخصاب E : ينتج عن استبدال حمض الغلوتاميك بالليزين في الموقع 26 من السلسلة بيتا.

3-8-1 اعتلالات الخصاب الكمية (التلاسيميا Thalassemia) :

الحالات الوراثية التي تتصف بوجود عيب يؤدي إلى نقص في اصطناع واحد أو أكثر من سلاسل الغلوبين التي تشكل الخصاب ولكنها طبيعية من الناحية البنيوية، تقسم إلى نوعين رئيسيين التلاسيميا ألفا والتلاسيميا بيتا.



الشكل (4) يظهر التوزع الجغرافي للتلاسيميا

حذف مورثي لوحد أو أكثر من مورثات السلسلة ألفا (α_1 أو 2α على الصبغي 16) مما يسبب قلة إنتاج في سلاسل الغلوبين ألفا، وهي أكثر انتشاراً لدى الأشخاص من أصول أفريقية أو جنوب شرق آسيوية (19).

تصنف بحسب شدة الإصابة المورثية إلى:

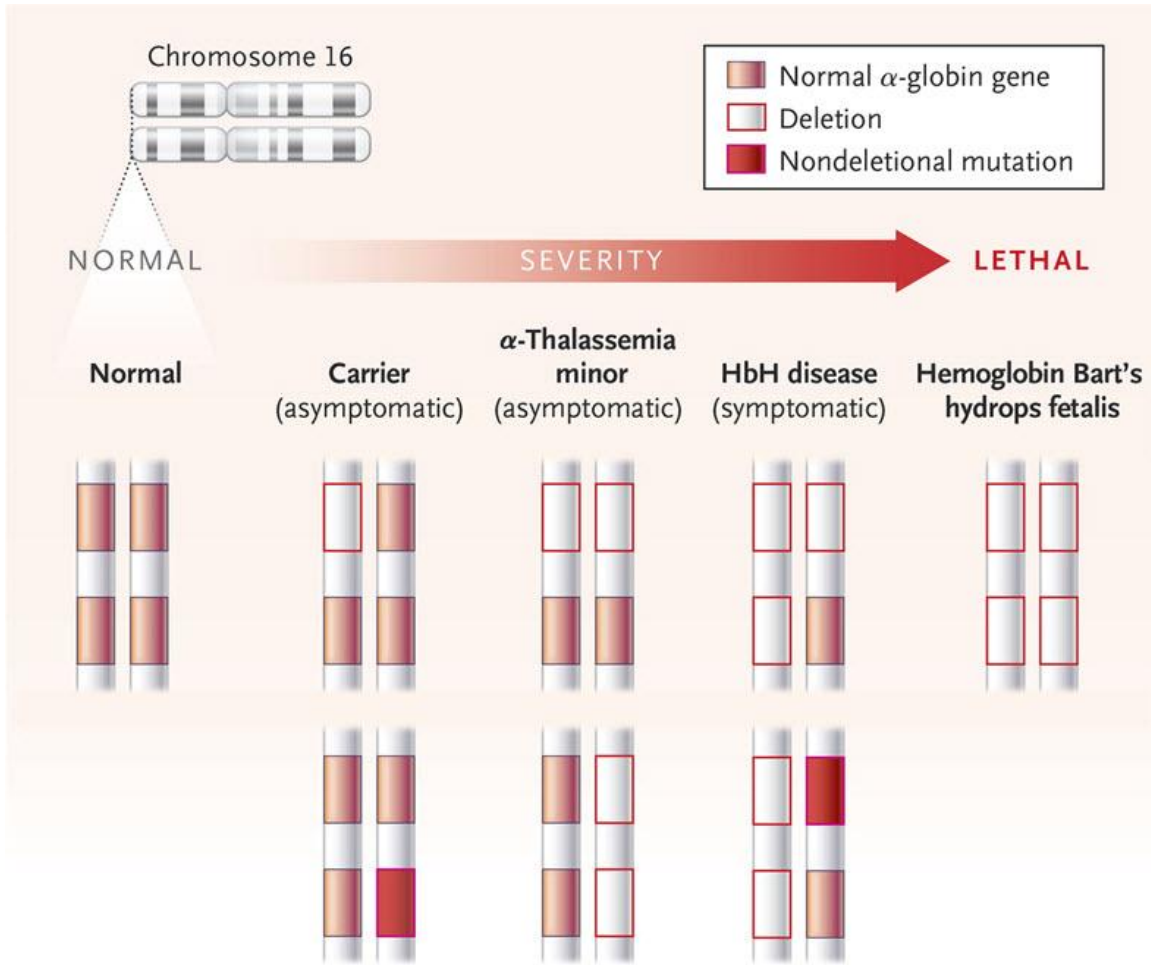
1 - فقد مورثة ألفا واحدة فقط: توجه المورثات المتبقية إلى إنتاج السلاسل ألفا بكمية كافية لخضاب طبيعي، وقد تظهر الصورة السريرية صغراً في حجم الكريات الحمر من دون فقر دم. (الحامل الصامت) تكشف عند حديثي الولادة بوجود 1-2% من Hb Bart ، بينما تكشف بعد عمر الثلاثة أشهر بفحوص جينية متخصصة، أو تحديد نسبة السلاسل α/β .

2- حذف مورثتين ألفا إما على نفس الصبغي أو على صبغيين متقابلين: (تلاسميا ألفا الصغرى) حيث تشابه الصورة السريرية حالة الحامل الصامت كما يكون رحلان الخضاب طبيعياً بعد الشهر الثالث من الولادة. و يمكن أن تشخص الحالتان السابقتان بالاستبعاد أيضاً لأن رحلان الخضاب يعطي نتائج طبيعية. (19)

3 - حذف ثلاث مورثات ألفا : مما يسبب إنتاج سلاسل ألفا بما يعادل ثلث السلاسل بيتا و يؤدي إلى تراكم السلاسل بيتا بشكل رباعي (4β) HbH (داء الخضاب H) .

3- الغياب كامل لسلاسل ألفا: النمط الأشد للتلاسميا ألفا ، ويتواجد عند المواليد المصابين

الخضاب (4γ) Hb Bart وهي حالة غير قابلة للحياة (الخزب الجنيني) تسبب الوفاة للمواليد في رحم الأم الحامل أو بعد الولادة بوقت قصير.



الشكل (5) يظهر أشكال الألفا تلاسيميا ونمطها بحسب الجينات المحذوفة

التلاسيميا بيتا:

أكثر شيوعاً لدى الزنوج والأشخاص من جنوب شرق آسيا، اليونان، إيطاليا، أو حوض البحر

الأبيض المتوسط.⁽²⁰⁾

1- تلاسيميا بيتا الكبرى (فقر الدم كولي): الشكل متماثل الأمشاج، نقص تصنيع β^0 أو عدم

تصنيع β^0 لسلاسل البيتا تنتج عن واحدة من 200 طفرة أو حذف مورثي يصيب

المورثة بيتا أو تسلسلاتها المحمولة على الصبغي 11.

يظهر فقر الدم في عمر 3-6 أشهر عندما يتم وبشكل طبيعي تبديل اصطناع سلاسل

الغاما بسلاسل بيتا.

تظهر الموجودات المخبرية فقر دم شديد (الخضاب 2-6 غ/دل) مع نقص حجم

الكريات الحمر وكمية الخضاب الوسطي للكريات الحمراء MCV & MCH .

2- التلاسيميا الوسطى: تتفاوت أعراضها بين فقر دم متوسط إلى شديد معتمد على نقل

الدم.

3- التلاسيميا الصغرى (خلة البيتا تلاسيميا): الشكل متخالف الأمشاج، تتميز بفقر دم

خفيف ، ناقص الصباغ صغير الكريات عادة. نسبة انتشار خلة البيتا تلاسيميا حول

العالم تتراوح بين 1.7-9%.

التلاسيميا بيتا متماثلة الأمشاج			
مرض شديد معتمد على نقل الدم عادة	g/dl 7 > hb HbA2 variable HbF 70 - 90% MCV 50 - 60 fl MCH 14 - 20 pg	تلاسيميا كبرى أو وسطى	β^+ Thalassemia β^+/β^+
		تلاسيميا كبرى	β^0 Thalassemia β^0/β^0
التلاسيميا بيتا متغايرة الأمشاج			
فقر دم خفيف أو طبيعي	15-9 male: hb g/dl 13-9Female g/dl HbA2 >3.2% MCV 55 - 75 fl MCH 19 - 25 pg	تلاسيميا صغرى	β^+/β^+ thalassemia (β)
			β^0/β^0 thalassemia (β)
مرض متوسط مع اختلاف الاعتماد على نقل الدم بحسب شدة المرض	g/dL 10 - 6 hb MCV 55 - 70 fl MCH 15 - 23 pg HbA2 variable HbF up to 100%	تلاسيميا وسطى	متماثل الزيجوت خفيف أو مختلط متغاير الزيجوت مثل (β^0/β^+)

الجدول (3) بعض أشكال التلاسيميا وحالة المورثات المقابلة لكل منها (23,22,21)

بعض احتمالات انتقال التلاسيميا بيتا بالوراثة :

1- أحد الزوجين حامل لسمة التلاسيميا والآخر سليم : فإن احتمالات الإنجاب تكون (50 %

أطفال سليمين، 50% أطفال يحملون السمة) وليس هناك خطر من إنجاب طفل مريض بالتلاسيميا الكبرى.

2- كلا الزوجين حامل لسمة التلاسيميا فإن احتمالات الإنجاب تكون (25% أطفال سليمين،

50% أطفال حملة للسمة، 25% أطفال مرضى بالتلاسيميا الكبرى)

3- أحد الزوجين مصاب بالتلاسيميا الكبرى والآخر سليم: فإن احتمالات الإنجاب تكون:

100% أطفال حملة للسمة، وليس هناك خطر من إنجاب طفل مريض بالتلاسيميا الكبرى.

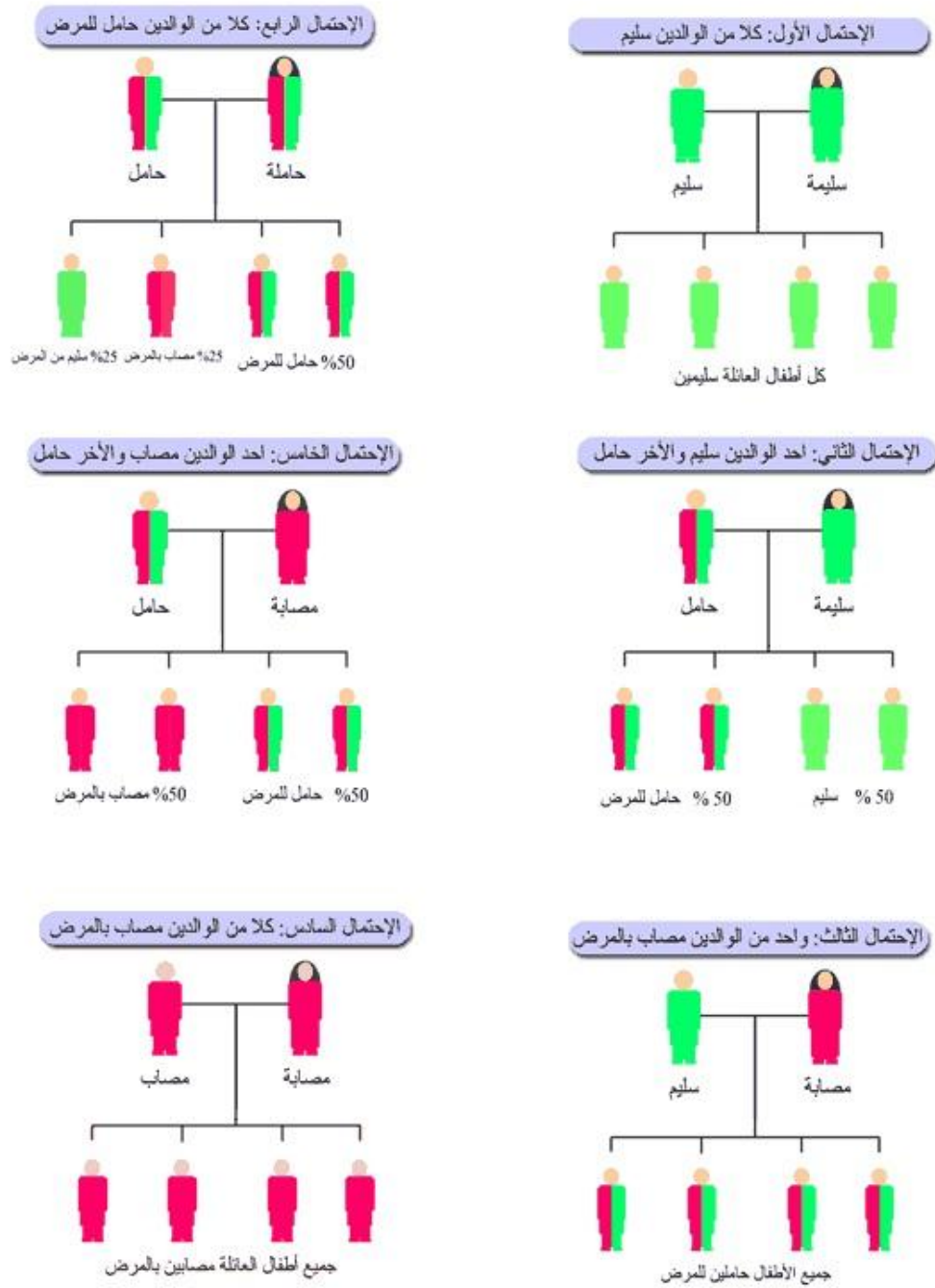
4- أحد الزوجين مريض بالتلاسيميا الكبرى والآخر حامل للسمة فإن احتمالات الإنجاب تكون:

(50% أطفال حملة للسمة، 50% أطفال مرضى بالتلاسيميا الكبرى).

5- أحد الزوجين حامل لسمة التلاسيميا والآخر حامل لسمة فقر الدم المنجلي فإن احتمالات

الإنجاب تكون: (25% أطفال سليمين، 25% أطفال يحملون سمة التلاسيميا ، 25% أطفال

يحملون سمة فقر الدم المنجلي، 25% أطفال مصابون بمرض التلاسيميا- المنجلي)



الشكل (6) مخطط ترسمي يظهر انتقال اعتلالات الخضاب عبر الأجيال بحسب حالة

الأهل الوراثية

9-1 الطرق المخبرية للكشف عن اعتلالات الخضابات: (24)

(1) الطرق الكهربائية Electrophoretic Methods: (8,24)

هي الطرق الأساسية المستخدمة لكشف تغيرات الخضاب الوراثية وبالتحديد فالرحلان الكهربائي: هو هجرة الذوائب أو الجزيئات المشحونة في حقل كهربائي.

PI هي قيمة PH الوسط التي يكون عندها الحمض الأميني أو البروتين من دون أي شحنة صافية (صفر).

-في حال كان PH الوسط أكبر من PI فإن البروتين سوف يشحن سلبياً، بينما إن كان العكس يشحن البروتين إيجابياً ، وبالتالي عند قيمة PH معينة يكون لكل بروتين شحنة تختلف عن شحنة البروتين الآخر.

العوامل التي تلعب دوراً في سرعة الرحلان : درجة تشارد البروتين عند PH الوسط والذي يقدر بدرجة التفارق بين PI البروتين و PH الوسط، قوة الحقل الكهربائي ، الخواص الفيزيائية والكيميائية للوسط الداعم ، درجة الحرارة ، وحجم الجزيئة وشكلها.

مكونات الرحلان الأساسية : هي منبع للطاقة الكهربائية ، الوسط الداعم ، الوقاء، العينة ، القارئ (densitometry).

1- الرحلان على وسط أسيتات السللوز: الرحلان القلوي (PH 8.6):

المبدأ : يشحن الخضاب بشحنة سلبية في الوسط قلوي الـ PH ويرحل باتجاه القطب الموجب.

تختلف كمية شحنة الخضابات حسب محتواها من الحموض الأمينية الإيجابية أو الكربوكسيلية السلبية : مثلاً يحوي الخضاب S مجموعتين إيجابيتين زيادة على الخضاب

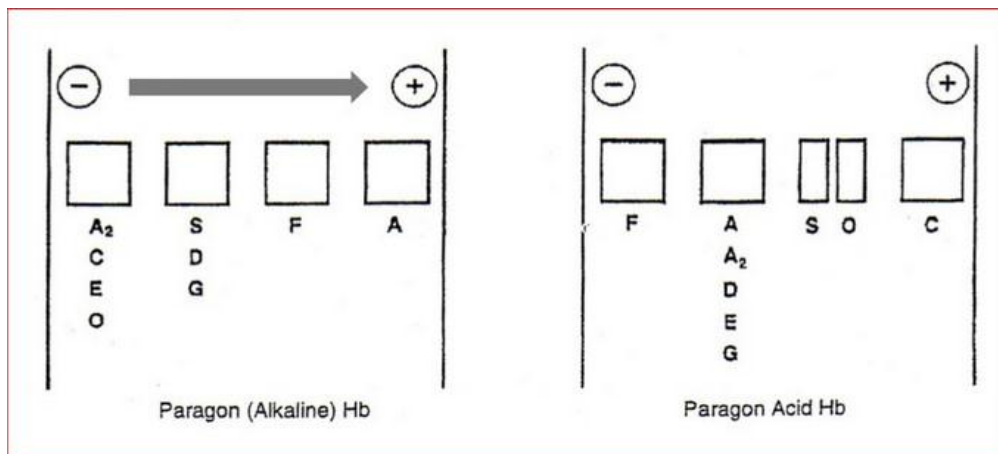
A ، في حين الخضاب C يحوي أربع مجموعات إيجابية زيادة . لذا يتحرك الخضاب S باتجاه المصعد ببطء أكبر مما يفعله A بينما يتحرك C ببطء أكثر .

وبهذا فإن الشذوذات البنيوية التي تؤثر على الشحنة السطحية للجزيء ستُفصل ، بينما الشذوذات التي يتم فيها استبدال حمض أميني بآخر لن تُفصل لأنها لا تؤثر على الشحنة الكلية للخضاب.

2- الرحلان على وسط السيترات أغار: الرحلان الحامضي (PH 6.2)

المبدأ: لا يعتمد فقط على شحنة جزيئة الخضاب في الوسط الحامضي كما في الرحلان القلوي ، بل هناك عامل إضافي في تحديد حركة الخضاب هو الذوبانية ، الخضاب F هو الأكثر ذوبانية والأسرع حركية باتجاه المهبط حيث أن الـ "agaropectin" الموجود في الوسط الناقل يربط بعض الخضابات (خاصة التي يكون تغير تموضع الحمض الأميني فيها على سطح الجزيئة) ، مما يغير من حركيتها عند تطبيق الحقل الكهربائي.

أهمية الاختبار في تمييز الخضابات التي ترحل سويا على الأسيتات سيليلوز مثل تمييز الخضاب S عن الخضاب D و الخضابات C , G عن الخضاب E.



الشكل (7) ترسمي لترحل الخضابات على الوسطين القلوي والحامضي

3- التركيز الكهربائي المساوي (Isoelectric Focusing(IEF):

المبدأ: استخدام بروتينات صغيرة ناقلة "ampholytes" تتحمل كل من التيار الكهربائي و درجات الباهاء المطبقة، وهي مركبات وزنها الجزيئي 300-1000 وتستخدم ضمن خليط من 50-100 مركب ، حيث تضاف الـ "ampholytes" إلى الوسط الداعم (عادة الأغاروز).

عند تطبيق التيار تثبت هذه النواقل تدريجيا ممال الباهاء (مثلا 6 – 8) .

نطبق فولتاج عالي، و عند تطبيق العينة ترحل إلى نقطة التساوي الكهربائية حيث تكون شحنتها صفر وتتوقف هجرة الخضابات، وهي وسيلة تفريقية للخضابات التي ترحل بصورة مشتركة على الرحلان القلوي ومع ذلك التغيرات الطفيفة المكتسبة في سلاسل الخضاب (methemoglobin, glycerated hemoglobin) يمكن أن تسبب بعض الاختلاط في القراءة .

4- الرحلان الشعري الكهربائي Capillary electrophoresis :

أنبوب شعري طويل مصنوع من السيلكا ومشحون سلبا في سطحه الداخلي (مساحة عالية تبدد الحرارة التي تنتج عند تطبيق الجهد الكهربائي عالي الفولتاج (V1000)).
توضع عازل داخل الأنبوب ينشئ قوة كهربائية نابذة عند تطبيق تيار كهربائي، مما يسبب رحلان جزيئات الخضاب نحو القطب السالب على عكس وسائل الرحلان الأخرى.
وهذه الوسيلة من بين جميع الوسائل الأخرى لديها أقل عدد من المتغيرات التي يمكن الخلط بينها وبين الاعتلالات الأكثر شيوعا (HBS، C، E).

كما أن هناك عدد لا بأس به من المتغيرات التي لن تظهر منفصلة عن Hb A .

2) الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء High performance liquid chromatography

3) الطرق الجينية للبحث عن طفرات محددة.

9-1 التوجه التشخيصي لمريض فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ:*

التشخيص التفريقي لفقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ:

- 1- عوز الحديد. Iron Deficiency Anemia
- 2- خلة البيتا تلاسيميا. β Thalassemia Trait
- 3- فقر دم الأمراض المزمنة. Chronic Disease Anemia
- 4- فقر الدم بالأرومات الحديدية Sidroblastic Anemia.

- عوز الحديد هو السبب الأكثر شيوعاً لفقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ حول العالم . ويقدر بأن حوالي 20% من التعداد السكاني لديهم عوز حديد وفقر دم بعوز الحديد⁽²⁵⁾ .
- الكريات الحمر ناقصة الصباغ قد تتواجد قبل أن يتطور فقر الدم، كما أن الخضاب المنخفض يظهر مرحلة متأخرة من عوز الحديد⁽⁸⁾ .
- فقر الدم بعوز الحديد يكون مشخصاً عند قيم الفيريتين $>15 \text{ ng/mL}$ لدى الشخص السليم ظاهرياً، أو $>50 \text{ ng/mL}$ لدى الشخص المصاب بالالتهابات المزمنة. كما أن عوز الحديد يستثنى غالباً عندما الفيريتين $<100 \text{ ng/mL}$ ^(26,27) .
- الخطوة التالية تكون بغيار حديد المصل ، السعة الرابطة للحديد ، و نسبة إشباع الترانسفيرين لبقى احتمال عوز الحديد قائماً في حالة السعة الرابطة عالية والحديد ونسبة الإشباع منخفضين، أما في حال نقص حديد المصل والسعة الرابطة طبيعية إلى

*المخططان (1) و (2) في القسم العملي يختصران الفقرة التشخيصية كاملةً

ناقصة ونسبة إشباع الترانسفيرين طبيعية إلى ناقصة يكون لدينا احتمال فقر دم المرض المزمن وهناك استقصاءات أكثر يجب إجراؤها (23)

- في حال بقاء التشخيص غير واضح : يمكن أن يميز رحلان الخضاب خلة التلاسيما بيتا و بشكل أقل شيوعا الاعتلالات الوراثية الأخرى التي تسبب صغرا في الكريات الحمر، ويمكن أن يطلب رحلان الخضاب للبحث عن التشخيص كخطوة أبكر لدى شريحة الأطفال والشباب حيث خلة التلاسيما بيتا أكثر احتمالا (28)
- تنقص مستويات HbA2 في بعض حالات عوز الحديد (29) ربما بسبب تفضيل السلاسل بيتا الارتباط بالسلاسل ألفا منه إلى السلاسل دلتا أو بسبب تثبيط اصطناع السلاسل دلتا الحاصل بسبب تأثير نقص الحديد على اصطناع الغلوبين، لذا فإن عوز الحديد يمكن أن يخفي تشخيص خلة البيتتا تلاسيما. (30) و لابد من إصلاح عوز الحديد قبل إجراء الرحلان الكهربائي. (10)
- الآلية الإمراضية لفقر دم الأمراض المزمنة: تسبب الزيادة في مستوى السيتوكينات الالتهابية نقصاً في إنتاج الأريتروبيوتين، و نقصاً في الاستجابة للأريتروبيوتين وتداخلاً مع استقلال الحديد. (23)
- فقر دم الأمراض المزمنة غالباً سوي الكريات ولكن ربع إلى ثلث الحالات يظهر نقصاً في حجم الكريات الحمر. وفقر الدم يكون خفيفاً وغير متطور ، مستويات حديد المصل تكون منخفضة (كما في عوز الحديد) ولكن يكون الفيريتين عالٍ لأنه من بروتينات الطور الحاد (25).

2: القسم العملي:

2-1 خلفية البحث و أهميته:

فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ عرض شائع المصادفة ، وأشيع أسبابه : فقر الدم بعوز الحديد، كما أنَّ العلاج بالحديد الفموي يعتبر أحد الممارسات العشوائية الخاطئة لعلاج فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ من دون تأكيد التشخيص المخبري لعوز الحديد و بإغفال التشخيص التفريقي المهم لحملة البيتا تلاسيميا.

تشخيص خلة التلاسيميا ضروري لسببين:

1- للحد من خطر ولادة أطفال مصابين مع تلاسيميا كبرى.

2- منع الإجراءات غير الضرورية والتدخلات المؤذية أو العلاج بالحديد العشوائي لدى مرضى فقر الدم صغير الكريات.

3- هناك إهمال في كشف نسب انتشار التلاسيميا بيتا لأن عوز الحديد قد يخفي الدليل المخبري على الإصابة، (انخفاض نسبة الخضاب A2 في حال عوز الحديد) لذا لا بد من تصحيح توازن الحديد قبل إجراء الرحلان.

2-2 أهداف البحث:

- 1- الكشف عن اعتلالات الخضاب الوراثية لدى الشباب الأصحاء ظاهرياً والذين تظهر تحاليلهم الدموية نقصاً في حجم الكريات الحمر الوسطي وكمية الصباغ الوسطي في الكرية.
- 2مقارنة النتائج الدموية بين العينات التي تشخص بيتا تلاسيميا والتي يشخص لها عوزاً في الحديد.

2-3 تصميم ومجموعة الدراسة:

دراسة مقطعية عرضية للأشخاص الأصحاء ظاهرياً و الذين تظهر تحاليلهم صغراً في حجم الكريات الحمر مع نقصاً في كمية صباغها عن قيمها الطبيعية لدى الشريحة العمرية (18- 40 سنة).

مجموعة الدراسة من طلاب كلية الطب البشري وطب الأسنان و طلاب الدراسات العليا في مشافي وزارة التعليم العالي الداخلين في دراسة تحديد القيم المرجعية لشريحة الشباب.

العينات الداخلة بالدراسة :

كل الأشخاص الأصحاء ظاهريا الذين تظهر تحاليلهم $MCV < 80 \text{ fl}$ و $MCH < 27 \text{ pg}$

العينات المستبعدة:

$MCV \geq 80 \text{ fl}$ أو $MCH \geq 27 \text{ pg}$ أو وجود مرض مشخص أو تعاطي دوائي حالي أو

تعرض الشاب لأي نقل للدم خلال الستة أشهر السابقة.

3-2 خطوات العمل:

بعد أخذ موافقة المشاركين بالدراسة و التوقيع على الاستمارة الخاصة و ملء خانات الأسئلة المطلوبة ، تم سحب الدم في شروط العقامة: 3 مل على أنبوب $K2EDTA$ و 3 مل أنبوب جاف .

- نستخدم الأنبوب الأول ($K2EDTA$) لإمرار العينة على جهاز التعداد الآلي وترحيل خضاب الدم .
- الأنبوب الثاني: (الجاف) حيث يستخدم مصل الدم بعد تثفيلها في عيار الفيريتين ، السعة الرابطة للحديد ، حديد المصل.

مكان العمل : يتم العمل في مخبر مشفى التوليد ومخبر مشفى المواساة الجامعي بعد الحصول على الموافقات المطلوبة .

خطة العمل والأجهزة المستخدمة وحفظ العينات :

يمكن حفظ العينات المسحوبة على أنبوب $K2EDTA$ لمدة أسبوع في درجة حرارة 2-8 مئوية ، أما العينات المسحوبة على الأنبوب الجاف فيمكن حفظ مصلها بعد التثفيل في المجمدة -20 ولمدة تختلف بحسب التحليل المطلوب.

1- جهاز التعداد الآلي: $MEDONIC$ تمرر العينة المسحوبة على مانع تخثر $K2EDTA$ ويحلل الدم على مرحلتين : في الأولى الآخر يضاف محلول $diluent$ فقط ليقاس عدد الكريات الحمراء RBC وحجم الكرية الحمراء الوسطي MCV ، وفي الثانية يضاف مع محلول $diluent$ ومحلول $lyss$ لتتفجر الأغشية الخلوية وتنحل الكريات الحمر ويقاس في

الحالة المتشكلة تركيز الخضاب Hb (الصباغ الدموي) بطريقة قياس الامتصاص الضوئي

وبهذا فهو يقيس عدد الكريات الحمراء RBC ، وتركيز الخضاب Hb . وسطي حجم الكرية الحمراء MCV بينما يحسب باقي المشعرات (الهيماتوكريت Hct ، وسطي محتوى الكرية الحمراء من الخضاب MCH ، وسطي تركيز الخضاب ضمن الكرية الحمراء MCHC ، مشعر توزع الكريات الحمراء RDW) .

كما يتم تمرير عينات كونترول مرضي وطبيعي يوميا لضبط جودة النتائج.

2- جهاز الكيمياء الآلي: BIOSYSTEM لعيار حديد المصل بالطريقة الضوئية وقياس السعة الرابطة للحديد ، عبر عيار الحديد الحر الغير مرتبط بعد إضافة حديد زائد إلى العينة لإشباع الترانسفيرين، وهي تعبر عن كمية الحديد المضافة لإشباع الترانسفيرين مع الحديد المرتبط بالترانسفيرين قبل الزيادة .

يتم ضبط الجودة عبر تمرير عينات كونترول مرضي وطبيعي يوميا .

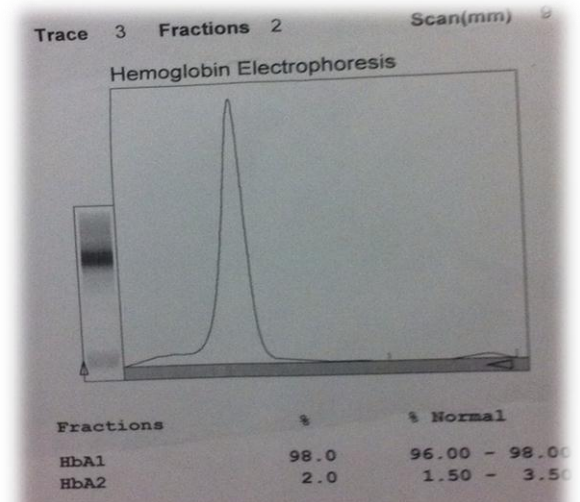
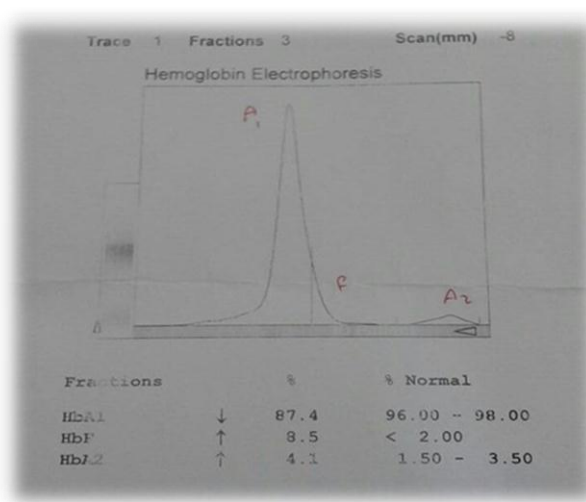
3- جهاز الإليزا : لعيار فيريتين المصل، ويتم تمرير عينة كونترول إيجابية وأخرى سلبية لضبط النتائج.

الأجهزة الثلاثة السابقة في مخبر مشفى التوليد الجامعي.

4- جهاز الرحلان الكهربائي نصف الآلي في مشفى المواساة الجامعي: INTERLAB باستخدام جيل الأسيتات سيليلوز في PH قلوي (8.5) وباستخدام كواشف وجهاز الرحلان الكهربائي نصف الآلي، حيث يتم تحضير العينة المسحوبة على K2EDTA عبر غسيل الكريات الحمر وتثقيلها بالمصل الفيزيولوجي عدة مرات ومن ثم الحصول على كريات حمر مغسولة ليتم تحضير الحلالة منها عبر إضافة حجم إلى أربعة حجوم من الماء المقطر والتثقيل، حيث تتفجر الاغشية الخلوية الحمراء.

باقي مراحل العمل آلية حيث أولاً ينقع الغشاء في وقاء الترحيل ومن ثم توضع العينات الدموية المجهزة في الآبار ويطبق الفولتاج المناسب ، تأتي بعدها مراحل التلوين والتنشيط وإزالة اللون ومن ثم القراءة على قارئ الرحلان لنحصل على النتائج على شكل مخطط بياني و نسب مئوية.

- تم إجراء CBC لأشخاص أصحاء ظاهرياً ضمن دراسة تعيين القيم المرجعية المحلية ومن ثم تم انتقاء العينات التي تظهر نقصاً في الصباغ وصغراً في حجم الكريات و إجراء الفيريتين وتباعاً المشعرات التي تدرس حالة الحديد (حديد المصل و السعة الرابطة للحديد وحساب نسبة الإشباع للترانسفيرين من خلالهما) ، ووجهنا المرضى الذين أظهر الفيريتين وحالة الحديد لديهم عوزاً في الحديد إلى العلاج وإعادة التحاليل بعد ثلاثة أشهر لإجراء الرحلان في حال عدم تحسن المناسب الدموية. وقد قمنا بإجراء الرحلان على الوسط القلوي للعينات التي تظهر ميزان الحديد طبيعي .



الشكل (8) يظهر نتائج رحلان الخضاب لعينتين اليمنى طبيعية واليسرى تظهر خلة تلاسيميا بيتا مترافقة مع خضاب F

4-2 صورة الاستبيان :

الاسم:	مكان الولادة و الإقامة:	الوزن:
الجنس:	العمر:	المهنة:
سوابق أمراض دموية في العائلة: ونوع القرابة درجة أولى (أب/ أم / أخ) أو أبعد.		
القرابة بين الابوين:		
الأعراض: تعب غير مفسر	شحوب	صداع لا توجد أعراض
نزوف طمثية /إناث	سوابق حوادث نزفية	
السوابق المرضية : دواء حالي		
سوابق علاج بالحديد		
سوابق نقل دم		
أمراض غدية/ درق		

5-2 معايير التشخيص :

- فقر الدم : هو انخفاض قيمة الخضاب عن 12مغ / دل، عند الإناث البالغات ، و 13مغ/ دل عند الذكور البالغين.⁽⁵⁾
- صغر الكريات: انخفاض قيمة حجم الكرية الحمراء الوسطي MCV عن 80 فمتولتر:
 $MCV < 80fl$
- نقص الصباغ : انخفاض قيمة الصباغ الوسطي في الكرية MCH عن 27 بيكوغرام :
 $MCH < 27pg^{(31,32)}$
- خلة البيتا تلاسيميا تشخص عند ارتفاع نسبة الخضاب A2 عن 3.5%⁽³³⁾ برحلان الخضاب على الوسط القلوي.
- خلة التلاسيميا ألفا تشخص بالاستبعاد: الكريات الحمر تبدي صغرا في الحجم مع النقص في كمية الصباغ والدلائل المخبرية لميزان الحديد ورحلان الخضاب الكهربائي لا تفسر أي سبب لاعتلال مناسب الكريات الحمر، كما أن القيم المخبرية الالتهابية لا تشير لالتهاب مزمن حالي قد يكون سبباً في نقص حجم الكريات الدموية.
- فقر الدم الالتهابي : فيريتين طبيعي أو عالي مع نقص في قيم حديد المصل والسعة الرابطة للحديد ونسبة إشباع الترانسفيرين .
- عوز الحديد : الفيريتين > 15 نانوغرام/مل أو نسبة الإشباع $> 20\%$ أو ترافق انخفاض نسبة الإشباع مع انخفاض حديد المصل وارتفاع قيمة السعة الرابطة للحديد.

6-2 عرض النتائج:

تمت دراسة التعداد الدموي لـ 700 شاب وشابة أصحاء ظاهرياً، (284 ذكور ، 416 إناث) من الفئة العمرية (18-40 سنة)، وغير معرضين لنقل الدم، وتم استبعاد كل من كان حجم الكريات الحمر لديهم أو متوسط الخضاب الخلوي طبيعياً أو عالياً: **MCV≥80 or MCH≥27.**

بلغ عدد العينات الداخلة في دراستي 104 (23 ذكور و 81 إناث) وتشكل 14.9% من المجموعة الكلية . وتم تقسيمهم بحسب ترافق اعتلال المناسب مع فقر الدم أو عدمه إلى المجموعتين :

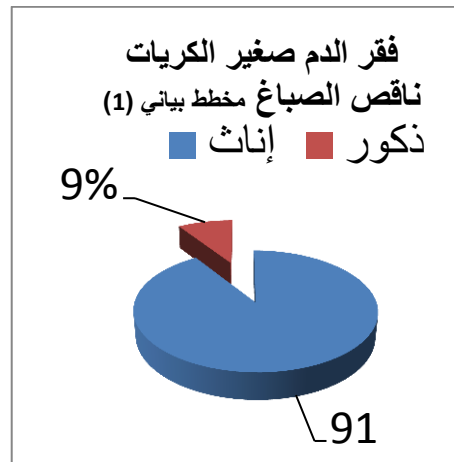
1- فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ (نقص MCV & MCH مع خضاب منخفض)، وعددها 55 عينة (5 ذكور ، 50 إناث).

2- صغر الكريات ونقص صباغ دون فقر دم (نقص MCV & MCH مع خضاب طبيعي)، وعددها 49 عينة (18 ذكور ، 31 إناث) .

مجموعة الدراسة الأولى: الأشخاص الذين أظهرت تحاليلهم فقر دم صغير الكريات ناقص الصباغ (مع نقص MCV & MCH) بحسب معايير الدراسة:

عددهم 55 شخص سليم ظاهرياً (7.8% من المجموعة العمرية) .

التوزع حسب الجنس : عدد الإناث 50 مقابل 5 ذكور بما نسبته 91% إناث بمقابل 9% ذكور.



نتائج تعداد الدم الكامل لدى مجموعة الشباب المصابين بفقر الدم ناقص الصباغ صغير الكريات والأصحاء ظاهرياً:

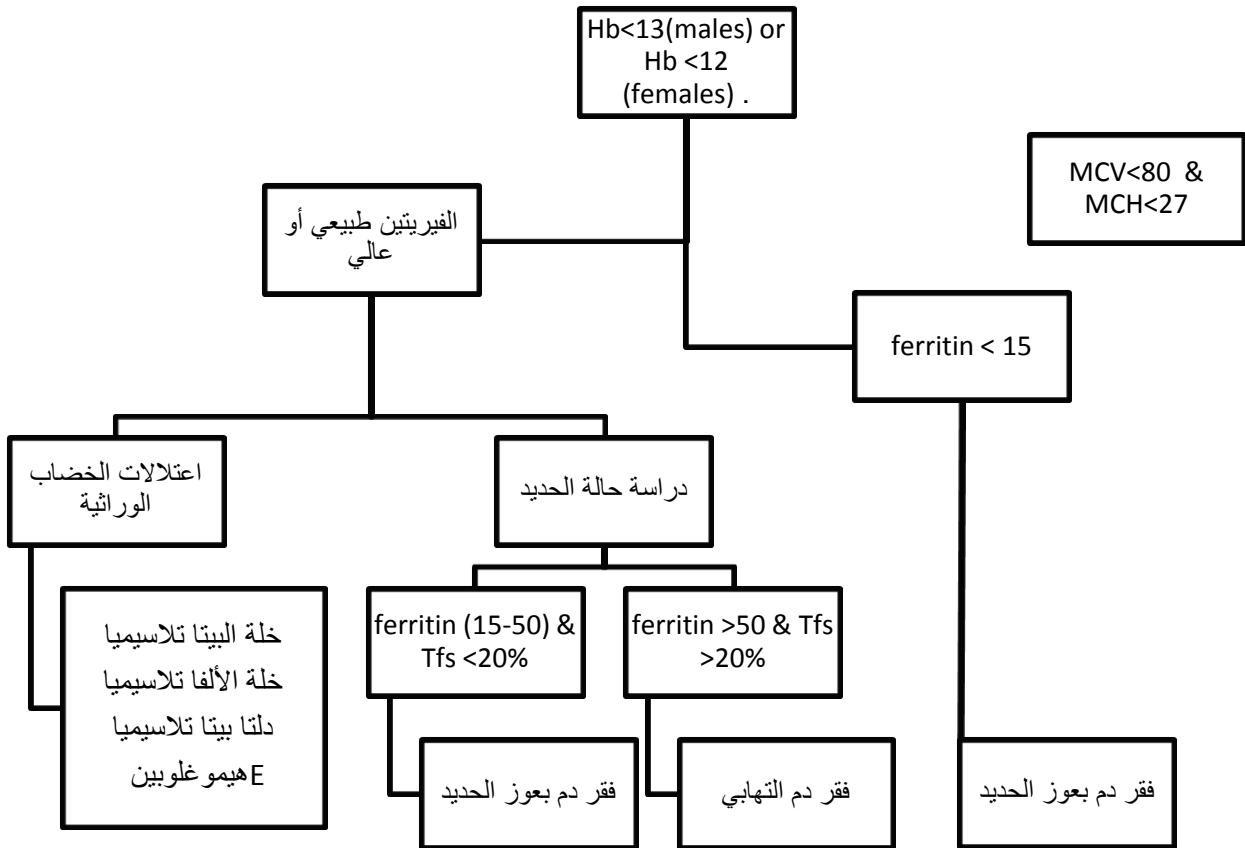
المجال المرجعي ⁽³¹⁺³²⁾	الحد الأعلى	الحد الأدنى	Mean± SD	
12-15.3	11.9	8.4	10.8 ± 0.9	Hb g/dL (إناث)
13-17.5	12.5	10.7	11.6 ± 0.8	Hb g/dL (ذكور)
4.5-5.1	5.78	3.88	5.07 ± 0.4	RBC (إناث)
4.5-5.9	6.37	4.18	5.13 ± 1	RBC (ذكور)
80-98	79.4	56.6	70 ± 6.3	MCV (fl)
27-33	26.8	19.2	24.1 ± 3.3	MCH(pg)
12.5-15.5	23.7	13.5	16.2 ± 1.6	%RDW

جدول رقم (4) يبين نتائج الـ CBC لدى مجموعة الشباب المصابين بفقر الدم ناقص الصباغ صغير الكريات والأصحاء ظاهرياً.

ملاحظات على توزيع النتائج بحسب الجنس:

- متوسط الخضاب عند إناث المجموعة أقل من متوسطه عند الذكور ($P \text{ value} > 0.01$) وليس لهذا الفرق أي قيمة إحصائية).
- هناك تقارب بين متوسط الحمر عند الإناث والذكور في المجموعة.
- 4% (2) من الإناث مقابل 40% (2) من الذكور عدد كرياتهم الحمر أكثر من الحد الأعلى الطبيعي رغم انخفاض الخضاب.
- 62% (31) من الإناث و 40% (2) من الذكور ترافق لديهم انخفاض الخفاض مع نقص تعداد الكريات الحمر عن الحد الطبيعي.
- نسبة 12% من الإناث السليمات ظاهريا لديهن فقر دم صغير الكريات ناقص الصباغ في حين نسبة 1.7% فقط من الذكور السليمين ظاهريا لديهم فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ.

تم اعتماد المخطط (1) التالي لمتابعة البحث عن التشخيص (34) :



المرحلة الأولى : عيار الفيريتين :

الاختبار	التشخيص	عدد العينات	النسبة المئوية من المجموعة الأولى
الفيريتين > 15 نانوغرام / مل	فقر دم بعوز الحديد	44	80%
الفيريتين (15-50 نانوغرام / مل)	الانتقال إلى المرحلة التالية	11	20%

الجدول (5) نتائج الفيريتين لمرضى المجموعة الأولى

المرحلة الثانية : عيار حديد المصل و السعة الرابطة للحديد لحساب نسبة الإشباع :

الاختبار	التشخيص	عدد العينات	النسبة المئوية
Tfs < 20%	فقر دم بعوز الحديد	7	12.7%
Tfs > 20%	الانتقال إلى المرحلة التالية	4	7.2%

الجدول (6) نتائج نسبة الإشباع لمرضى المجموعة الأولى

المرحلة الثالثة : رحلان الخضاب الكهربائي :

HbA2	التشخيص	عدد العينات	النسبة المئوية
>3.5 %	خلة البيتا تلاسيميا	4	7.2%
<3.5%	غير ذلك	0	

الجدول (7) نتائج رحلان الخضاب لمرضى المجموعة الأولى

- تم إجراء رحلان الخضاب لعشرة من مرضى عوز الحديد كمجموعة مقارنة تشخيصية (شاهد سلبي) وأظهرت نتائج الرحلان لديهم جميعاً $hbA2 < 3.5\%$.

ملاحظات على النتائج والتشخيص:

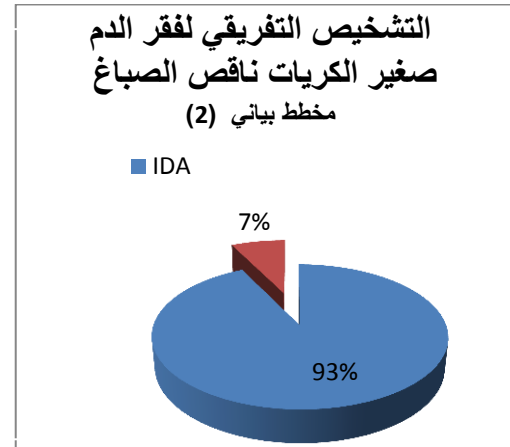
- نسبة 92.7% من مرضى فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ كان لديهم عوز في الحديد.
- و لا شخص كان لديه الفيريتين < 50 : لم نتوجه لتشخيص فقر دم التهابي في هذه المجموعة.
- كل العينات التي لم تظهر عوزاً في الحديد أظهرت ارتفاعاً في الخضاب A2 بالرحلان على الوسط القلوي (خلة بيتا تلاسيميا)، ونسبتهم 7.3% من المجموعة.

التشخيص التفريقي لسبب فقر الدم لدى مرضى المجموعة الأولى:

	IDA (Mean $\pm$ SD)	BTM(Mean $\pm$ SD)	P value
عدد الحالات	51	4	
HB	10.9 $\pm$ 0.9	12.1 $\pm$ 0.7	0.0121
RBC	4.5 $\pm$ 0.4	6 $\pm$ 0.7	< 0.0001
MCV	71 $\pm$ 5.5	58.3 $\pm$ 1.1	<0.001
MCH	24.4 $\pm$ 1.9	20.3 $\pm$ 0.5	<0.001
RDW	16.2 $\pm$ 1.9	16 $\pm$ 0.3	0.8

جدول (8) يبين دراسة المتوسطات بحسب تشخيص سبب فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ

- التوزيع التشخيصي بالنسبة للجنس:
توزعت نسب مرضى خلة التلاسيما
مناصفة بين الإناث والذكور، في حين
أن مرضى عوز الحديد كانت توزع
نسبة الإناث 94.1% ، للذكور
5.9% فقط.



حساب القيم الحدية :

القيمة الحدية: هي القيمة التي يكون عندها نتيجة (الحساسية + (1- النوعية)) للاختبار أقرب ما تكون إلى الواحد، وعلى مخطط الـ ROC Curve هي أبعد نقطة عن الخط المحوري .

من التشخيص الموضح في الجدول التشخيصي (8) وباستخدام برنامج الـ SPSS ورسم مخططات الـ ROC Curve الموضحة في الملحق رقم (1) تم حساب القيم الحدية لكل من قيم الخضاب والكريات الحمر والـ RDW وحجم الكرية الحمراء الوسطي وكمية الصباغ الوسطية في الكرية للتفريق التشخيصي بين خلة البيتلاسيما وعوز الحديد عند القيم التالية :

الاختبار	القيمة الحدية لتشخيص البيتا تلاسيميا (cutoff)	الحساسية	النوعية
RBC	$> 5.44 \text{ m/ml}^3$	100%	100%
Hb	$> 11.4 \text{ g/dL}$	100%	71%
RDW	> 15.5	100%	41.2%
MCV	< 59.2	96%	100%
MCH	< 20.7	94%	100%

الجدول (9) القيم الحدية لمرضى المجموعة الأولى

مناقشة النتائج لمجموعة فقر الدم صغير الحجم ناقص الصباغ:

- عوز الحديد في دراستنا كان السبب الأشيع لفقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ (92.7%).
- 96.7% من الإناث المصابات بفقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ كان السبب عوز الحديد وهذا يتناسب مع الشريحة العمرية المدروسة للإناث.
- بقياس ال P-Value ومقارنة قيم المتوسطات في الجدول التشخيصي (8) نجد أن كلا من Hb, MCH, MCV, RBC قد اقترحت قيمة إحصائية هامة (P-Value) > 0.05 ماعدا ال RDW لم تظهر قيمة إحصائية تذكر (P-Value) < 0.05 .
- كل مرضى خلة التلاسيميا بيتا في دراستنا أظهروا تعداداً للكريات الحمر أعلى من المجال الطبيعي.
- كل مرضى خلة التلاسيميا بيتا في دراستنا كان لديهم $MCV < 60$ & $MCH < 21$.
- كل مرضى فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ والذين أظهرت كرياتهم الحمر عدداً أكثر من المجال المرجعي في دراستنا كانوا مرضى خلة تلاسيميا بيتا.
- عند القيم الحدية لكل من تعداد الكريات الحمر العالي وانخفاض حجمها الوسطي مع متوسط كمية الخضاب في الكرية كانت نسب الحساسية والنوعية $< 95\%$ لتمييز سبب فقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ بين خلة التلاسيميا بيتا و عوز الحديد.

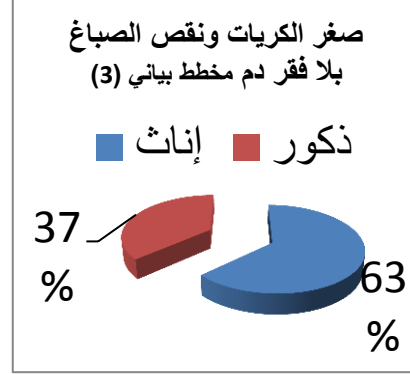
مجموعة الدراسة الثانية: الأشخاص الذين أظهرت مناسبهم صغرا في حجم الكريات ونقصا في الصباغ بلا فقر دم :

عددهم 49 شخص سليم ظاهريا (7% من المجموعة العمرية) .

التوزع حسب الجنس :

عدد الإناث 31 مقابل 18 الذكور بما

نسبته 63.2% إناث بمقابل 36.8% ذكور.



نتائج تعداد الدم الكامل لدى مجموعة الشباب الذين تظهر مناسب كرياتهم الحمر صغرا في حجم الكريات ونقصا في الصباغ بلا فقر دم والأصحاء ظاهريا:

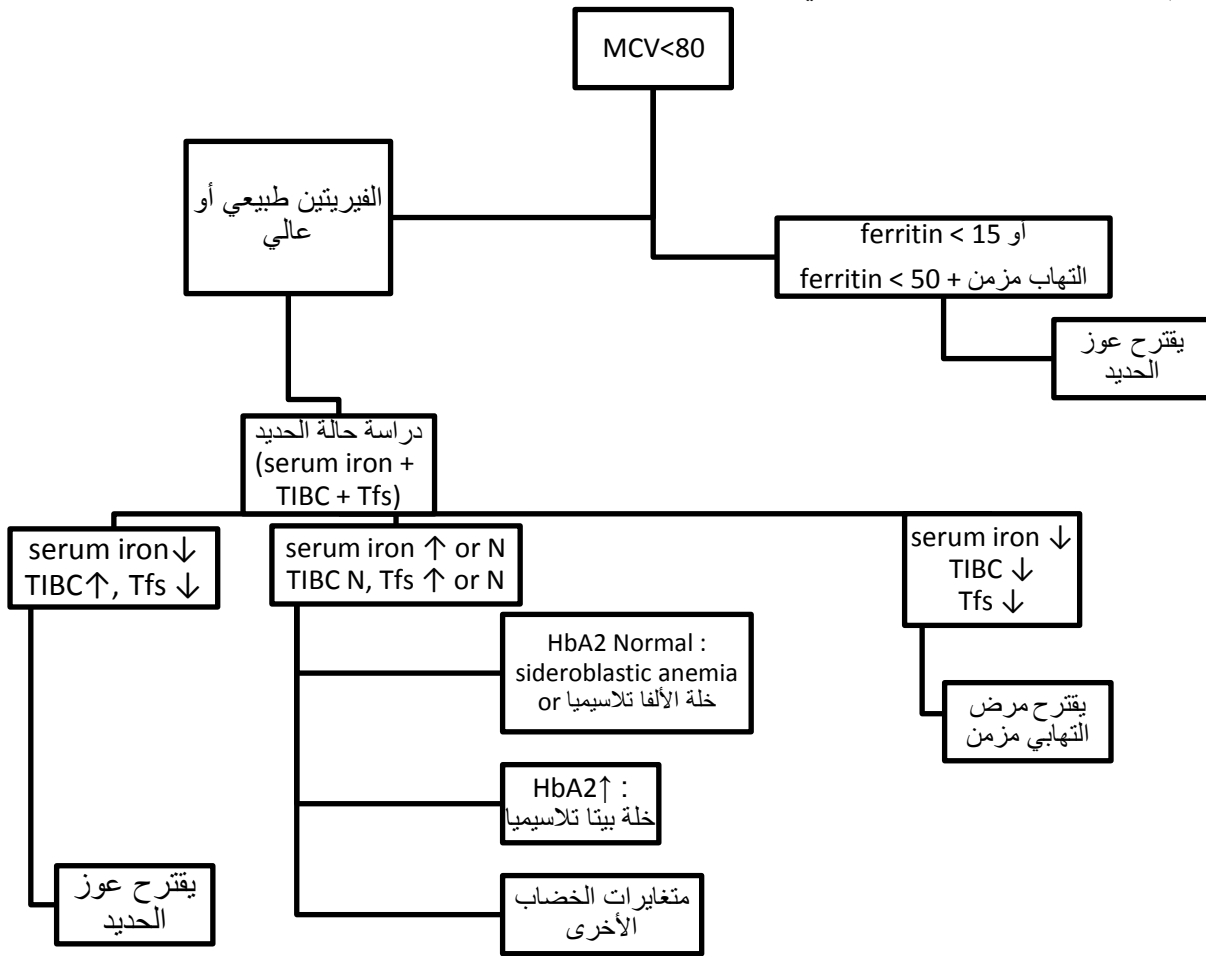
المجال المرجعي	الحد الأعلى	الحد الأدنى	Mean $\pm$ SD	
12-15.3	13.8	12	12.6 $\pm$ 0.5	Hb (g/dL) (إناث)
13-17.5	16	13.2	14.3 $\pm$ 0.8	Hb (g/dL) (ذكور)
4.5-5.1	5.64	4.53	4.9 $\pm$ 0.3	RBC (إناث)
4.5-5.9	6.86	4.97	5.8 $\pm$ 0.5	RBC (ذكور)
80-98	79	56	72.8 $\pm$ 4.3	MCV(fl)
27-33	26.9	19.6	25.4 $\pm$ 1.5	MCH(pg)
12.5-15.5	18	13.2	14.9 $\pm$ 1.2	%RDW

جدول (10) يبين نتائج الـ CBC لدى مجموعة الشباب الذين تظهر مناسب كرياتهم الحمر صغرا في حجم الكريات ونقصا في الصباغ بلا فقر دم والأصحاء ظاهريا

ملاحظات على توزع النتائج بحسب الجنس:

- نسبة الإناث اللواتي تجاوزت كرياتهم الحمر التعداد الطبيعي : 3.2%
- نسبة الذكور الذين تجاوزت كرياتهم الحمر التعداد الطبيعي : 27.7%
- RDW كانت أعلى من الحد الطبيعي عند 24.5% من الداخلين في المجموعة.

تم اعتماداً على المخطط (2) التالي متابعة البحث عن التشخيص (35) :



وكانت نتائج الاستقصاءات كالتالي :

المرحلة الأولى : عيار الفيريتين :

الاختبار	التشخيص	عدد العينات	النسبة المئوية من المجموعة الثانية
الفيريتين > 15 نانوغرام / مل	فقر دم بعوز الحديد	24	49%
الفيريتين (15-50) نانوغرام / مل	الانتقال إلى المرحلة التالية	23	46.9%
الفيريتين < 50 نانوغرام / مل	الانتقال إلى المرحلة التالية	2	4%

الجدول (11) نتائج الفيريتين لمرضى المجموعة الثانية

المرحلة الثانية : عيار حديد المصل وحساب السعة الرابطة للحديد لحساب نسبة الإشباع :

نتيجة الاختبار	التشخيص	عدد العينات	النسبة المئوية
serum iron ↓ TIBC ↑ TfS ↓	فقر دم بعوز الحديد	2	4%
serum iron ↓ TIBC ↓ TfS ↓	فقر دم التهابي	6	12.2%
serum iron ↑ or N TIBC N TfS ↑ or N	الانتقال إلى المرحلة التالية	17	34.7%

الجدول (12) نتائج حديد المصل والسعة الرابطة ونسبة الإشباع للمجموعة الثانية

المرحلة الثالثة : رحلان الخضاب الكهربائي :

HbA2	التشخيص	عدد العينات	النسبة المئوية
< 3.5 %	خلة البيتا تلاسيميا	4	10.2%
مع HbF حتى 16%		1	
> 3.5%	غير ذلك	12	24.5%

الجدول (13) نتائج رحلان الخضاب للمجموعة الثانية

- تم إجراء رحلان الخضاب لتسعة من مرضى عوز الحديد كمجموعة مقارنة تشخيصية (شاهد سلبي) و المرضى الستة الذين توجهنا لتشخيص فقر الدم الالتهابي لديهم ، وكانت نتيجة رحلان الخضاب لديهم جميعاً طبيعية $HbA2 < 3.5\%$.
- ملاحظات على النتائج والتشخيص:

- نسبة 53% من الذين أظهرت مناسبتهم الدموية صغراً في حجم الكريات ونقصاً في كمية الصباغ الوسطي من دون فقر دم كان لديهم عوز في الحديد.
- المناسب الدموية المتدنية المترافقة مع حالة الحديد الطبيعية دعت لضرورة البحث عن سبب التهابي لنقص الصباغ وصغر حجم الكريات الحمر لدى 6 أشخاص (12%) من بين الذين أظهرت كرياتهم صغراً في الحجم ونقصاً في كمية الصباغ من دون فقر دم .
- نسبة المشخصين بخلة البيتا تلاسيميا 10.2% مقابل 24.5% يقترح خلة ألفا تلاسيميا أو متغايرات الخضاب الأخرى ، أو فقر الدم بالأرومات الحمراء وتتطلب استقصاءات أخرى.
- مريض واحد من مرضى خلة التلاسيميا بيتا أظهر إضافة لارتفاع $Hb\ 4.4\%$ ارتفاعاً في HbF حتى 16.2%.

التشخيص التفريقي لسبب نقص الصبغ وصغر حجم الكريات بلا فقر دم (مع مستوى خضاب طبيعي):

	Iron deficiency	BTM	Chronic disease	Other hemoglobino pathy or other diagnosis .	P-value
عدد الحالات	26	5	6	12	
HB	12.7 ± 0.7	13.8 ± 1.2	14.1± 0.9	14 ±1.2	0.0002
RBC	4.9±0.3	5.8±0.5	5.5 ±0.4	6 ±0.7	< 0.0001
MCV	73 ± 2.5	67 ±5.6	73 ±3.1	73 ± 6	0.0274
MCH	25.8 ± 1	23.7 ±2	25.6 ± 1.1	25 ± 2	0.0253
RDW	15 ± 1.2	16.3 ± 1.1	14.4 ±1.1	14 ± 0.8	0.0019

الجدول (14) يبين دراسة المتوسطات بحسب تشخيص سبب صغر الكريات ونقص الصبغ بلا فقر دم مرافق

بحساب ال P-Value بين مرضى خلة التلاسيميا والمجموعات الأخرى كلا على حدى

واعتمادا على انعدام القيمة الإحصائية عند P-Value >0.05 :

- الخضاب : لم يظهر الاختلاف في متوسط الخضاب بين التشخيص المقترحة أي قيمة إحصائية.
- عدد الكريات الحمر: أظهرت قيمة إحصائية فقط بين خلة التلاسيميا بيتا وعوز الحديد.
- حجم الكريات الوسطي : أظهرت قيمة إحصائية بين خلة التلاسيميا وعوز الحديد ومجهولة التشخيص كل على حدى ، فيما لم تظهر قيمة إحصائية مع المجموعة التي تقترح الإصابة بالأمراض المزمنة تشخيصاً تفريقياً.
- MCH فقط لها قيمة إحصائية هامة بين عوز الحديد وخلة التلاسيميا بيتا.
- RDW : لا يظهر قيمة إحصائية مع عوز الحديد فيما أظهر قيمة إحصائية مع المجموعتين الباقيتين.
- عوز الحديد في دراستنا كان السبب الأشيع لصغر حجم الكريات و نقص الصبغ من دون فقر دم (53%).
- متوسط عدد الكريات الحمر للمشخص لهم عوز الحديد هو الأقل بين التشخيص الأخرى.

حساب القيم الحديدية:

من التشخيص الموضح في الجدول التشخيصي (14) وباستخدام برنامج الـ SPSS ورسم مخططات الـ ROC Curve كما هو موضح في الملحق (2) تم حساب القيم الحديدية لكل من قيم الخضاب والكريات الحمر والـ RDW وحجم الكرية الحمراء الوسطي وكمية الاصبغ الوسطية في الكرية للتفريق التشخيصي بين خلة البيتا تلاسيميا وعوز الحديد عند القيم التالية :

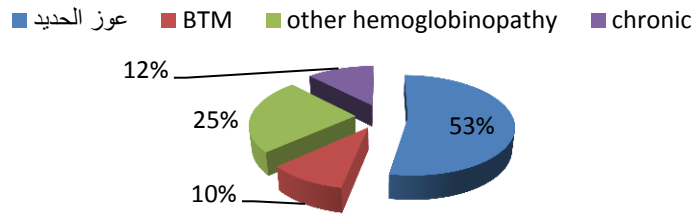
الاختبار	القيمة الحديدية (cutoff)	الحساسية	النوعية
RBC	> 5.32 m/ml ³	100%	92.6%
Hb	> 14.2 g/dL	60%	96.3%
RDW	> 15.2	100%	74%
MCV	<73.7	67%	100%
MCH	<23.9	96.3%	60%

الجدول (15) القيم الحديدية لمرضى المجموعة الثانية

- الحساسية والنوعية الأعلى كانت لارتفاع تعداد الكريات الحمر مع انخفاض الحجم والصبغ لتمييز خلة البيتا تلاسيميا لدى المجموعة الثانية.

تشخيص سبب صغر الكريات ونقص الصبغ بلا فقر دم

مخطط بياني (4)



بدمج المجموعتين الأولى والثانية وعرض النتائج الدموية التشخيصية

بغض النظر عن ترافق صغر حجم الكريات ونقص صباغها مع فقر الدم

نجد :

- العدد الكلي للذين أظهرت كرياتهم صغرا في الحجم مترافقا مع نقص الصبغ في المسح الحالي هم 104 شخص بنسبة 14.8% من الشريحة العمرية المدروسة.
- بالاعتماد على برامج المسح العالمية لخلة التلاسيميا بيتا " والتي تستبعد الأشخاص الذين لا تظهر مناسب كرياتهم الحمر (MCV & MCH) أي انخفاض عن الحد

الطبيعي و الذين يظهرون عوزا في الحديد من تشخيص البيتا تلاسيميا " يتوضح لدينا أن نسبة انتشار خلة التلاسيميا بيتا في الشريحة العمرية المدروسة لدينا هي 1.3% (9 أشخاص من 700) مع احتمال 1.7% (12 شخص) مجهولي سبب نقص حجم الكريات وصباغها احتمال تشخيصهم بألفا تلاسيميا.

	عوز الحديد	BTM
HB	11.5 ± 1.2	13.7 ± 1.2
RBC	4.6 ± 0.4	5.9 ± 0.4
MCV	71.9 ± 4.9	64.3 ± 6.3
MCH	24.9 ± 1.8	22.2 ± 2.3
RDW	15.8 ± 1.8	16.1 ± 0.8
عدد العينات	78	9

الجدول (16) يبين دراسة المتوسطات بحسب تشخيص صغر الكريات ونقص الصباغ بغض النظر عن ترافقه مع فقر الدم

مناقشة النتائج:

- 75% من الأشخاص الذين تظهر مناسبهم صغرا في حجم الكريات الحمر ونقصا في الصباغ يعانون من عوز الحديد (90% منهم إناث)، (8 ذكور + 70 إناث). وهم يشكلون 11.1% من الفئة العمرية..
- 9% من الأشخاص الذين تظهر مناسبهم صغرا في حجم الكريات الحمر ونقصا في الصباغ يكون بسبب خلة البيتا تلاسيميا.
- 16% من الأشخاص الذين تظهر مناسبهم صغراً في حجم الكريات الحمر ونقصاً في الصباغ من دون فقر دم يتطلبون المزيد من الاستقصاءات (HPLC، دراسة جينية، خزعة نقي ..) للبحث عن فقر دم الأمراض المزمنة أو فقر الدم بالأرومات الحديدية أو الانسمام بالرصااص أو خلة الألفا تلاسيميا و التي تشخص جينياً أو بالاستبعاد للتشخيص السابقة .
- ينصح مرضى عوز الحديد بالعلاج الفموي وإعادة تعداد الدم بعد 3 أشهر لمراقبة التحسن . في حال بقيت المناسب منخفضة مع حديد طبيعى يجرى لهم رحلان خضاب للبحث عن خلة البيتا تلاسيميا أو لتشخيص خلة الألفا تلاسيميا بالنفي.

7-2 الدراسات المقارنة:

1- دراسة باكستانية 2014 لمسح عن خلة التلاسيميا بيتا : Raiz Ahmed Qazi, Rabia Shams, Hamid Hassan, Naghmi Asif . Screening for Beta Thalassemia Trait; 2014⁽³⁶⁾:

حيث تمت دراسة التعداد الدموي ومناسب الكريات الحمر لـ 521 طالب وطالبة متوسط أعمارهم 17 سنة ، واستبعاد العينات التي أظهرت فقر دم صغير الكريات ناقص الصباغ بعوز الحديد (فيريتين ناقص) من إجراء الرحلان الكهربائي، في حين تم إجراء الرحلان الكهربائي للعينات التي أظهرت صغراً في حجم الكريات الحمر ونقصاً في كمية صباغها مع فيريتين طبيعي للبحث عن خلة البيتا تلاسيميا.

	عدد عينات خلة البيتا تلاسيميا 26 الدراسة الباكستانية	عدد عينات خلة البيتا تلاسيميا 9 دراستنا
RBC mil/cumm	5.1 ± 1.1	5.9 ± 0.4
MCV fl	72.8 ± 5.4	64.3 ± 6.3
MCH pg/dl	19.9 ± 2.5	22.2 ± 2.3
RDW%	13.9 ± 2.4	16.1 ± 0.8
Hemoglobin A2 level %	5.8 ± 0.8	4.2 ± 0.6
نسبة انتشار خلة التلاسيميا بيتا	4.9%	1.3%

الجدول (17) يبين المقارنة بين دراستنا ودراسة باكستانية

- متوسط الـ RBC , MCH , RDW في دراستنا أعلى ، بينما كان متوسط الـ MCV لدينا أقل.

2- دراسة إيرانية لأهالي أطفال البيتا تلاسيميا الكبرى (يشمل خلة البيتا تلاسيميا والحملة الصامتين لخلة البيتا تلاسيميا) Narges Beigom Mirbehbahani, Azam Rashidbaghan, Maryam Mazji, Nasser Behnampour. National

Approach to Premarital Diagnosis of Trait Thalassemia and Silent Carriers;⁽³⁷⁾ 2013

حيث تم فحص العينات لـ 196 من عوائل مرضى التلاسيميا بيتا الكبرى بين العامين 2006-2007، وتمت دراسة مناسبتهم الدموية و نتائج الرحلان الكهربائي لهم (194 منهم كانت $HbA2 \geq 3.5\%$)، مريض واحد منهم أظهر تلاسيميا بيتا صغرى مع ارتفاع $HbA2$ و HbF . مريض واحد من المرضى المتبقين ($HbA2 < 3.5\%$) لديه تلاسيميا بيتا الصغرى مع رحلان طبيعي MCV و MCH منخفضين.

	الدراسة الإيرانية 2013 (196)	دراستنا (عدد مرضى خلية التلاسيميا بيتا 9)
RBC mil/cumm	5.78 ± 0.59	5.9 ± 0.4
MCV fl	62.6 ± 4.78	64.3 ± 6.3
MCH pg/dl	19.4 ± 1.6	22.2 ± 2.3

الجدول (18) يبين المقارنة بين دراستنا ودراسة إيرانية

8-2 الخلاصة و الاستنتاجات:

- عوز الحديد في دراستنا هو السبب الأول مخبرياً وسرياً لصغر الكريات الحمر ونقص صباغها عند الشريحة العمرية (18-40 سنة) بغض النظر عن ترافقه مع فقر الدم.
- عوز الحديد ليس من الضرورة أن يختلط بنقص الخضاب .
- لا يمكن الحديث عن نسبة دقيقة لحملة البيتا تلاسيميا بوجود الانتشار الواسع لعوز الحديد.
- لم تظهر في دراستنا نتائج لخلية الخضاب C أو S، بالإضافة إلى أننا لم نتمكن من تشخيص حملة لاعتلالات أخرى (غير حملة البيتا وألفا تلاسيميا) وذلك لعدم توافر اختبارات الرحلان على الوسط الحمضي ، أو الـ HPLC في مشافي الولادة ، المواساة أو الأطفال ، وفي المقابل النتائج منطقية لان خلية تلاسيميا بيتا هي المسؤول الثاني عن نقص المناسب الدموية بعد عوز الحديد والمجموعة المدروسة تشترط أشخاص أصحاء ظاهرياً.
- حجم الكريات الحمر الوسطي و MCH يعطيان فكرة أوضح عن اضطراب الحالة الدموية من قيمة خضاب الدم منفرداً.
- انخفاض الـ MCV & MCH مع زيادة عدد الكريات الحمر عن الحد الطبيعي يوجه نحو خلية البيتا تلاسيميا.
- خلية الألفا تلاسيميا لم تترافق في دراستنا مع فقر الدم.

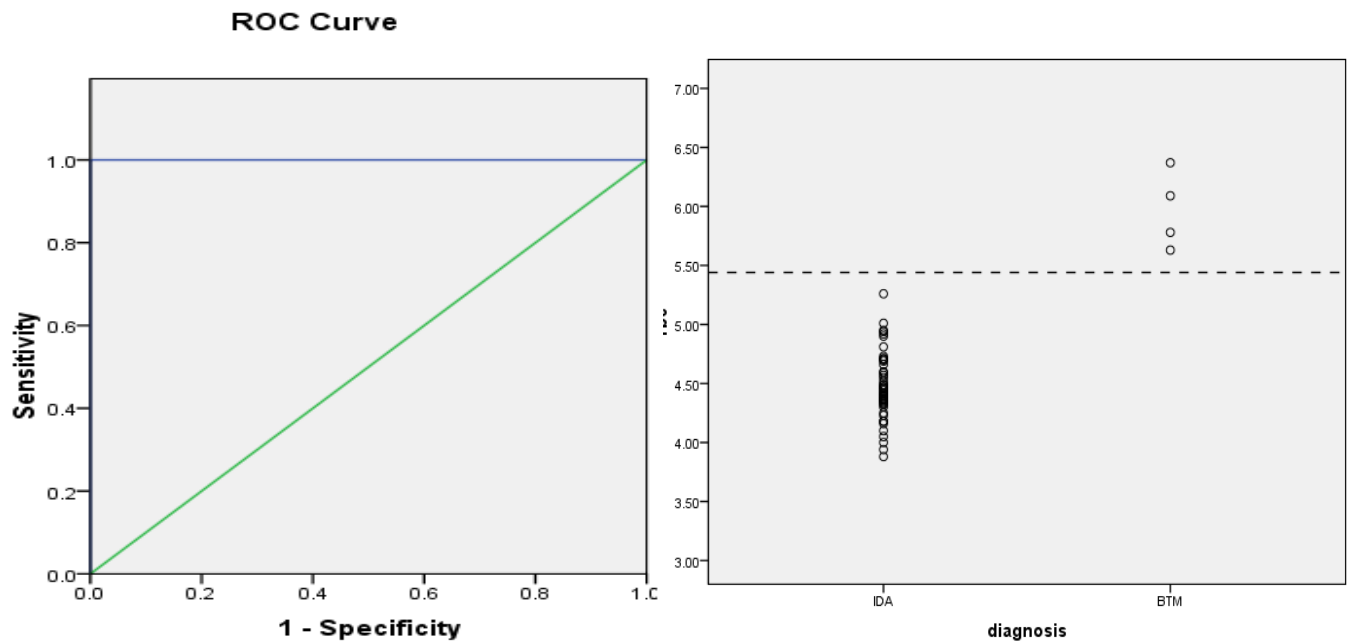
9-2 : التوصيات:

- ضرورة وضع خطة للتشخيص التفريقي لفقر الدم صغير الكريات ناقص الصباغ لاتباعها عند أي حالة تصادف الطبيب السريري لنقص حجم وصباغ الكرية الحمراء مع أو بدون فقر دم .
- نتائج CBC قد تكون موجهة لتشخيص تفريقي لكشف حملة التلاسيما بيتا في حال تم تفسيرها وقراءتها بشكل دقيق واعتماداً على اجتماع أكثر من قيمة حدية من التي خلصت إليها دراستنا والتي تعطي قيما عالية الحساسية .
- النسبة العالية من مرضى عوز الحديد تظهر أهمية نفي عوز الحديد أو علاجه قبل اجراء الرحلان القلوي في اختبارات ما قبل الزواج لتلافي السلبية الخاطئة.

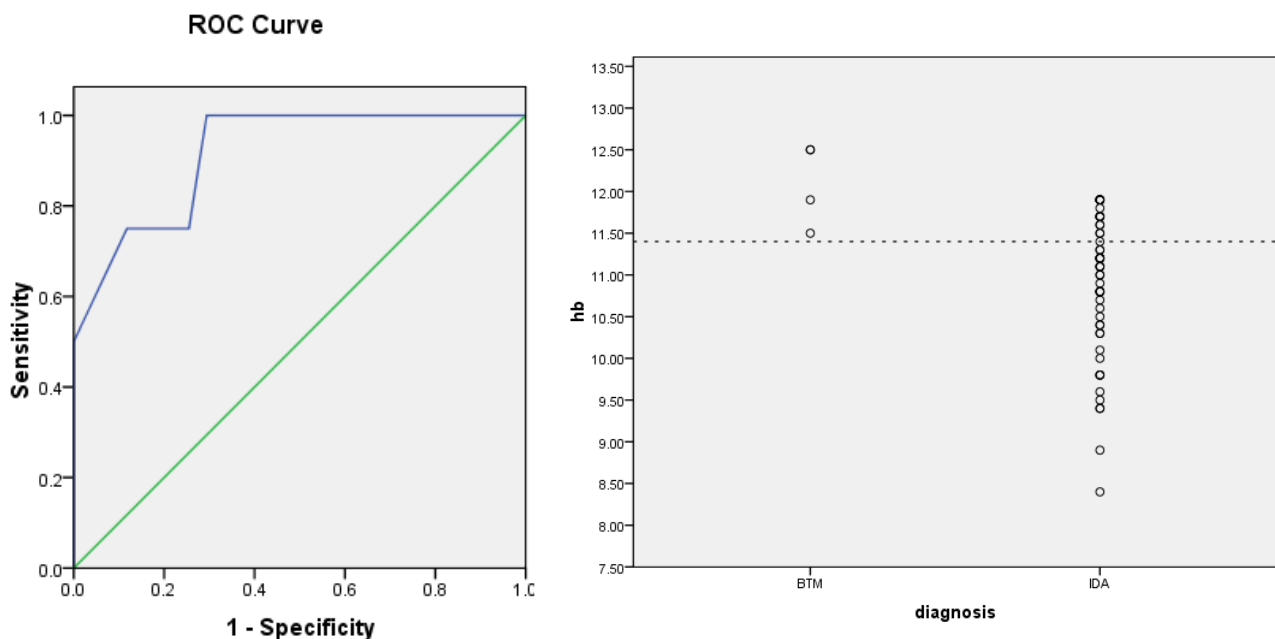
الملحق (1):

المخططات البيانية لتوزع نتائج مرضى المجموعة الأولى ومخططات الـ ROC Curve على برنامج الـ SPSS :

:RBC -1



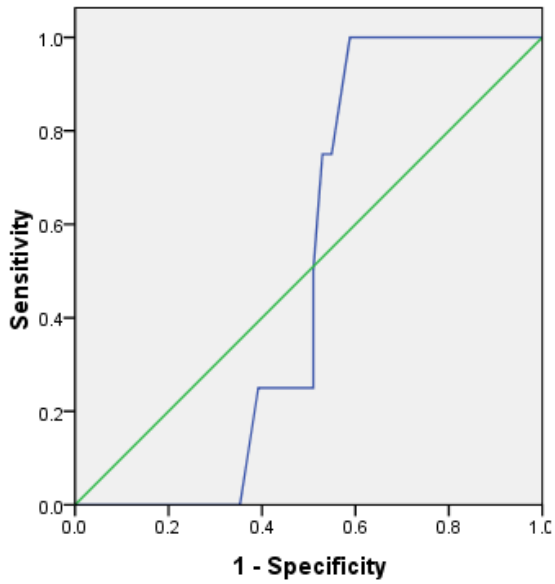
:Hb -2



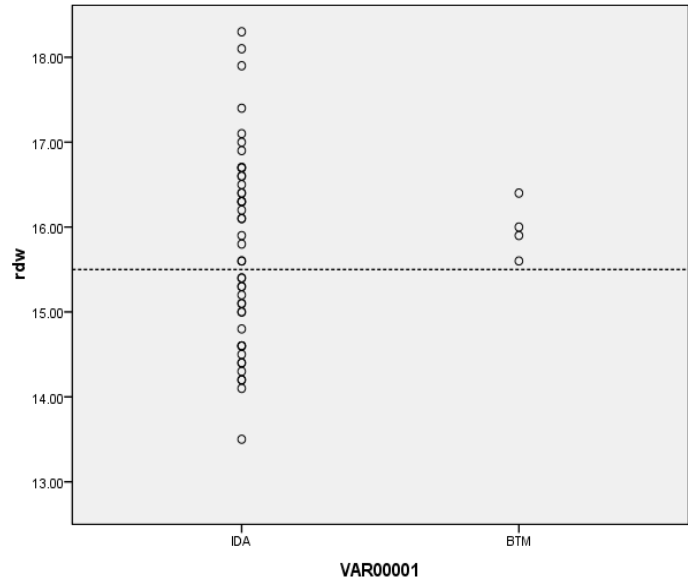
Diagonal segments are produced by ties.

:RDW -3

ROC Curve

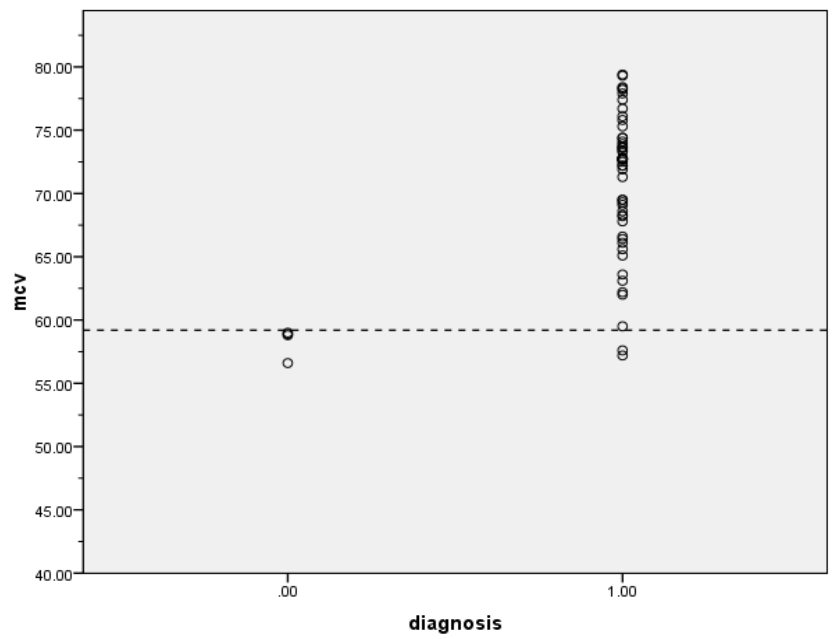
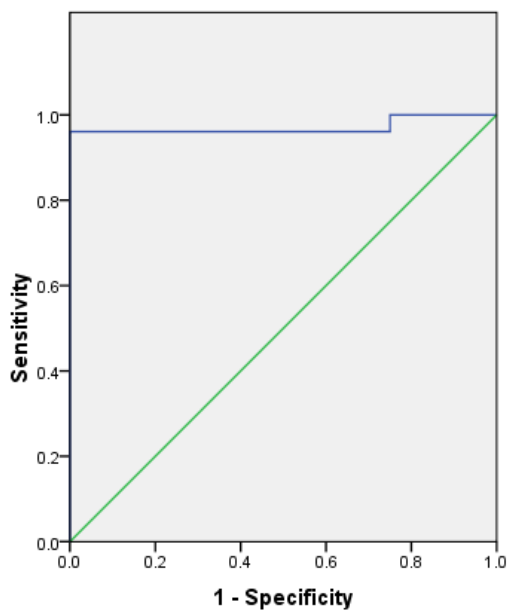


Diagonal segments are produced by ties.

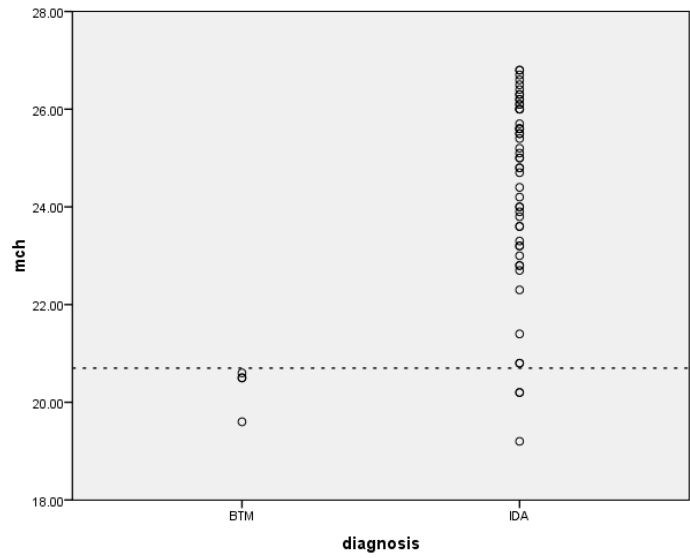
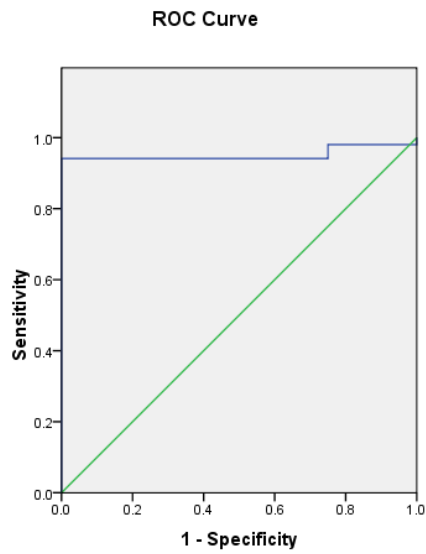


:MCV -4

ROC Curve



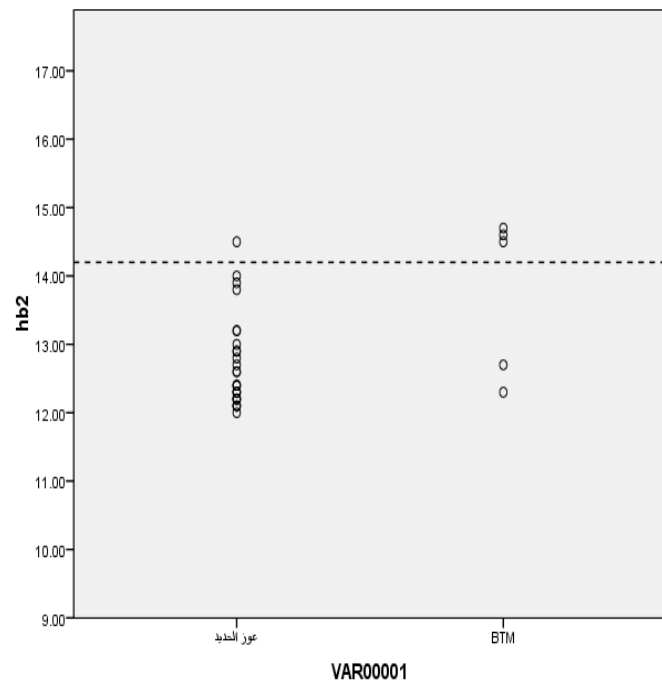
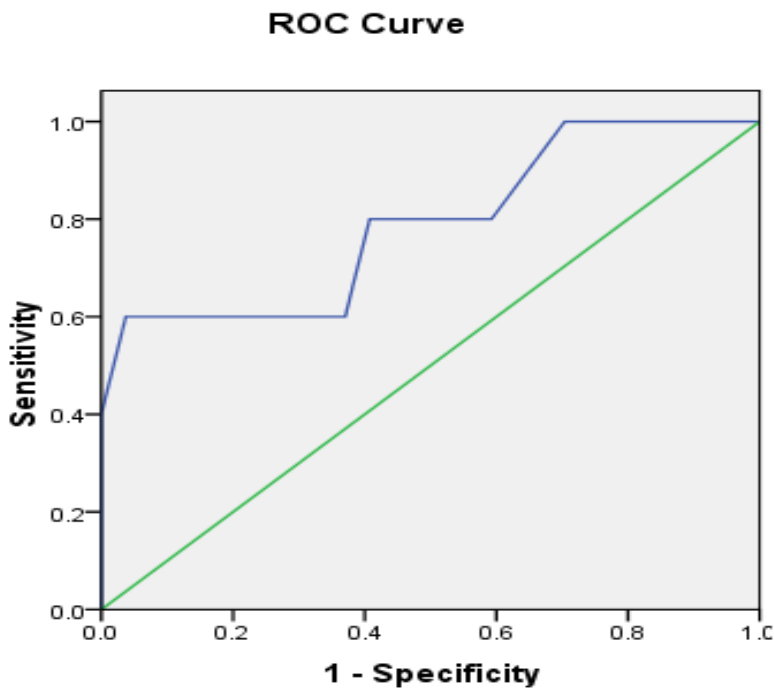
:MCH -5



الملحق (2):

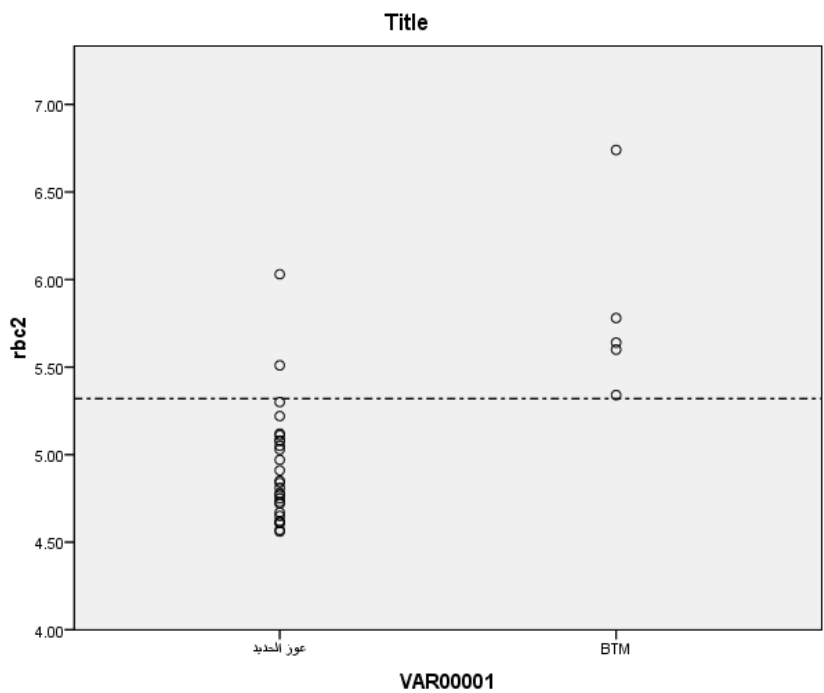
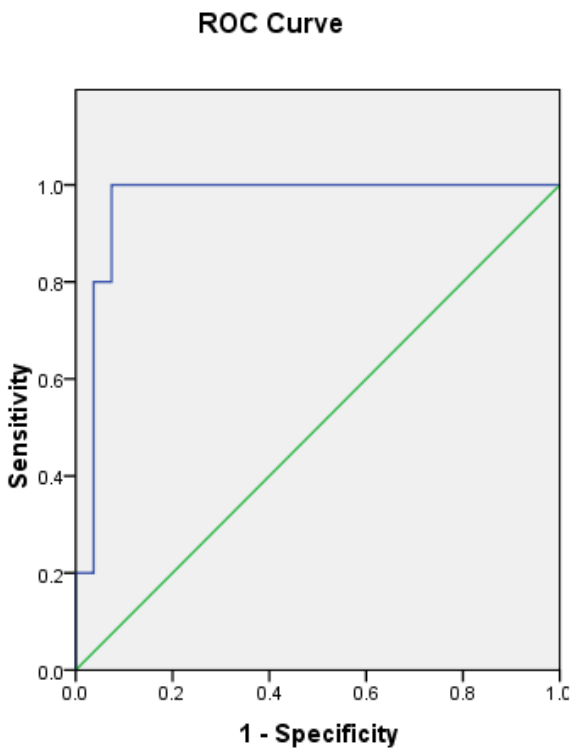
المخططات البيانية لتوزع نتائج مرضى المجموعة الثانية ومخططات الـ ROC Curve على برنامج الـ SPSS :

:Hb -1

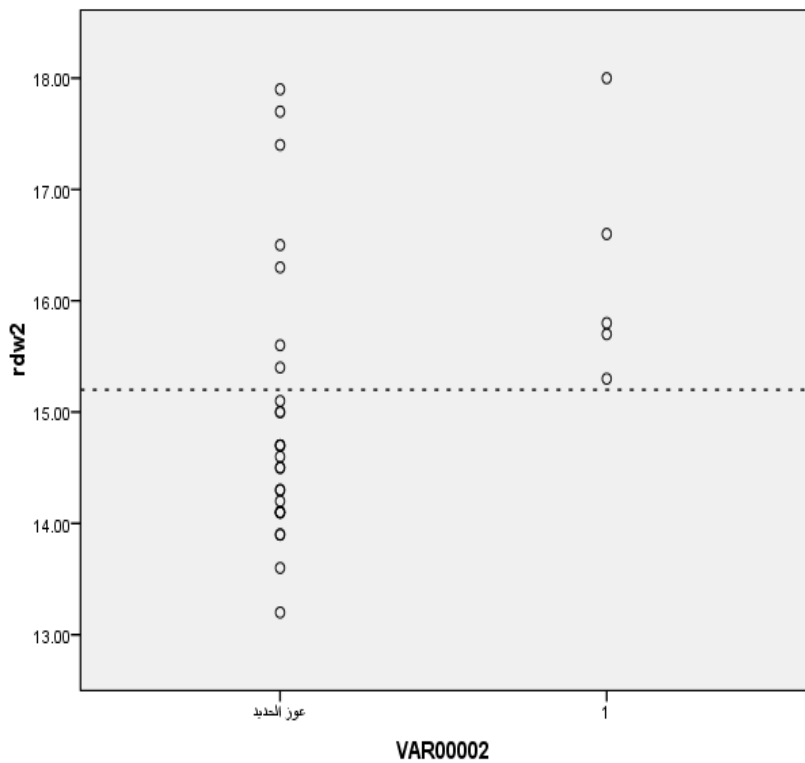
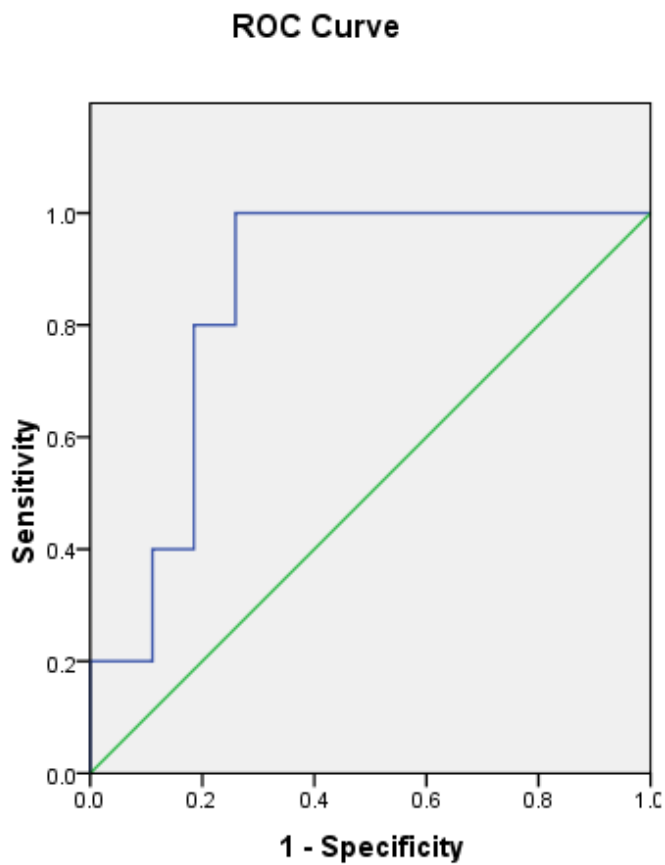


Diagonal segments are produced by ties.

:RBC -2

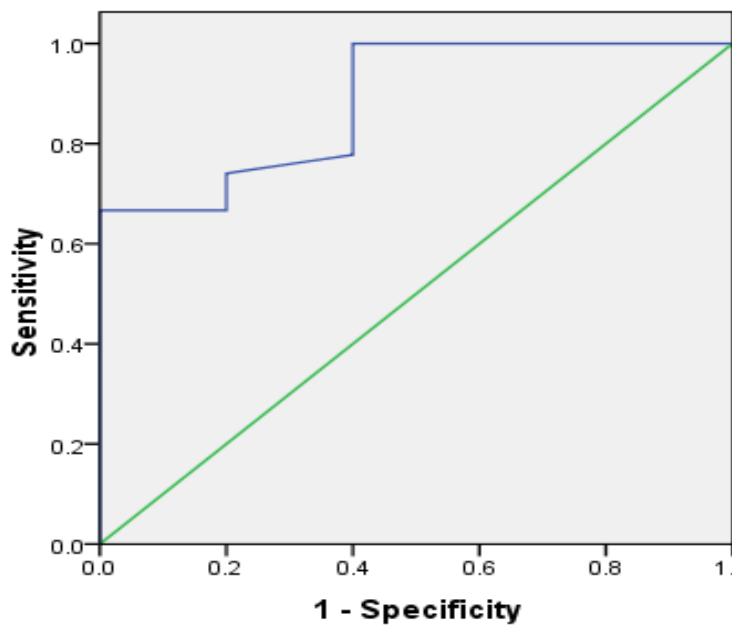


:RDW-3

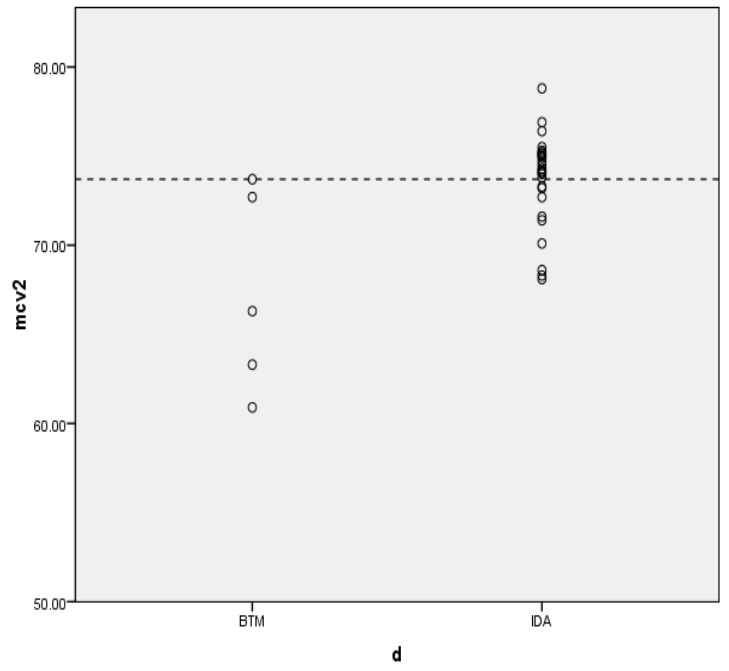


:MCV -4

ROC Curve

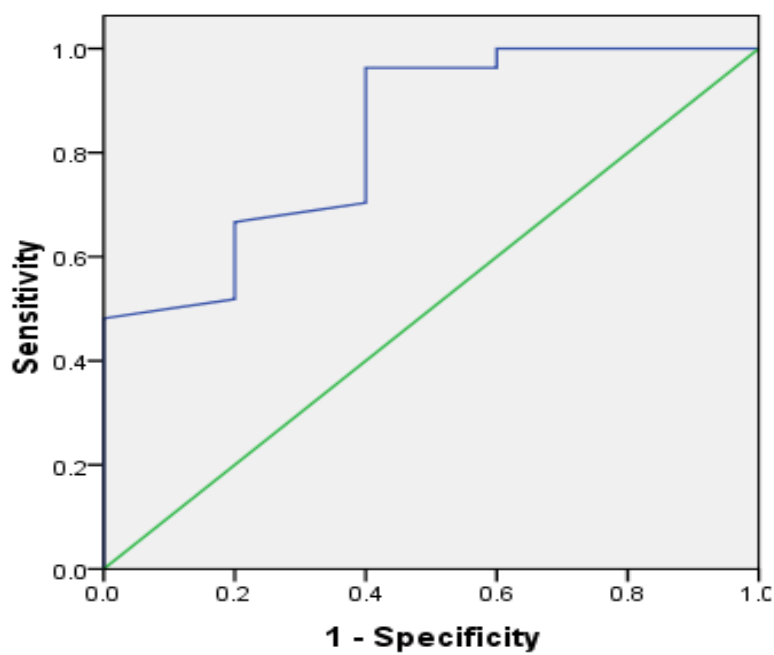


Diagonal segments are produced by ties.

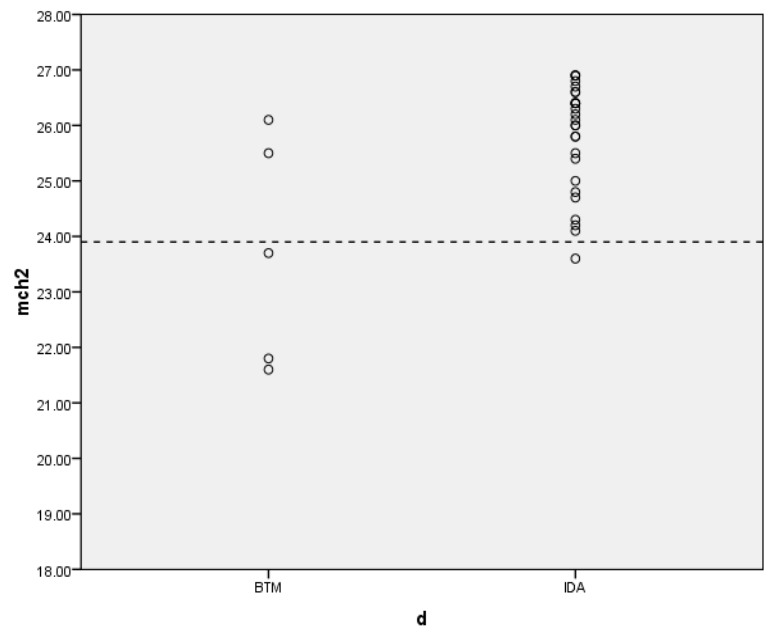


:MCH -5

ROC Curve



Diagonal segments are produced by ties.



Abstract

Background : To evaluate the prevalence of hemoglobinopathies and iron Deficiency among the healthy appearance students of university of Damascus city.

Objectives: To study hematological indices in microcytic hypochromic blood picture samples of healthy appearance young people and to detect hemoglobinopathies by performing hemoglobin electrophoresis in microcytic hypochromic samples with normal iron status.

Methods: In this descriptive cross sectional study students of colleges of Damascus university were selected. They were healthy appearance, with no symptoms or any medical treatment . The blood samples from these subjects were tested for complete blood count, Serum ferritin , serum iron , TIBC and automated haemoglobin electrophoresis at cellulose acetate alkaline pH was performed. Subjects with microcytic hypochromic blood picture and low ferritin level or low transferrine saturation percentage were not subjected to haemoglobin electrophoresis.

Results: In total of 700 subjects 59.4% were females, age was (18-40) years.

according to diagnosed algorithms showed out of 104 microcytic hypochromic blood picture cases,9% of them were beta thalassemia trait and 75% were iron deficiency anemia,16% suspected unexplained hypochromic microcytic blood picture which consider either alfa thallasemia trait , sideroblastic anemia or inflammatory anemia and those need more investigations.

Conclusion: Hypochromic microcytic blood picture is not mandatory associated with anemia or any symptoms ,using a specific algorithm to diagnose the causes of hypochromic microcytic blood is necessary for a clear results.

Key Words: Microcytic hypochromic anemia; electrophoresis; Hb; RDW; MCV; TIBC; thalassemia.

ملخص البحث:

خلفية البحث: تقييم انتشار اعتلالات الخضاب الوراثية وعوز الحديد بين طلاب جامعة دمشق الأصحاء ظاهرياً.

هدف البحث: دراسة المناسب الدموية للعينات التي تظهر صغراً في حجم الكريات ونقصاً في الصباغ للبالغين الشباب الأصحاء ظاهرياً و كشف اعتلالات الخضاب الوراثية بإجراء رحلان الخضاب الكهربائي للعينات التي تظهر صغراً في حجم الكريات الحمر ونقصاً في صباغها مع حالة حديد طبيعية.

الطرائق: دراسة مقطعية عرضية لطلاب جامعة دمشق أصحاء ظاهرياً ، لا عرضيين و غير خاضعين لأي علاج دوائي . عينات الدم المسحوبة من هذه الشريحة تم اختبارها لتعداد الدم الكامل ، فيريتين المصل، حديد المصل ، السعة الرابطة للحديد وتم إجراء رحلان الخضاب الكهربائي الآلي في وسط أسيتات السيليلوز القلوي .

العينات صغيرة الحجم ناقصة الصباغ مع مستوى فيريتين منخفض أو نسبة اشباع منخفضة لم يتم اختيارها لإجراء رحلان الخضاب الكهربائي.

النتائج: دراسة 700 شخص 59.4% كانوا إناثاً ، العمر (18-40 سنة).

وباتباع المخطط التشخيصي تبين أنه من بين 104 عينات تظهر صورة دموية لنقص الصباغ وصغر حجم الكريات ، 9% كانوا خلة بيتا تلاسيميا و 75% أظهروا عوزاً للحديد ، بينما 16% افترض صورة غير مفسرة تفترض إما خلة الألفا تلاسيميا ، فقر الدم بالأرومات الحديدية أو فقر دم التهابي وتحتاج إلى استقصاءات أبعد للتشخيص.

الاستنتاجات: صغر حجم الكريات ونقص الصباغ في الدم ليس إجبارياً ترافقها مع فقر الدم أو أي أعراض ، استخدام مخطط تشخيصي محدد لتشخيص أسباب صغر حجم الكريات الحمر ونقص الصباغ ضروري للحصول على نتائج واضحة.

1. VEERAMMA. S. Detection Of Hemoglobinopathies By Electrophoresis In Microcytic Anemia In Children, Bangalore medical college and research institute Bangalore , 2010.
2. Kunkel HG, Wallenius G. New haemoglobin in normal adult blood. Science 1955;122:288.
3. Ceppellini R, Muller-Eberhard U, et al. Observation of the minor basic haemoglobin component in blood of normal individuals and patients with thalassaemia. J Clin Invest 1957;36:1615–25.
4. Silvestroni E, Bianco I, Graziani B, Carboni C, D'Arca SU. First premarital screening of thalassaemia carriers in intermediate schools in Latium. J Med Genet 1978 ;15(3):202-7.
5. Smith DL. Anemia in the elderly , Am Fam Physician 2000;62:65-72.
6. HENRY , J ,B ; clinical Dignostic & Management by Labatory Methods, Twentieth Edition ,volume 1 ,W.B.Saunders , 2001.
7. A. Lichtman Marshall, J. Kipps Thomas, Seligsohn Uri, Kaushansky Kenneth, Prchal Josef T. Williams Hematology, 8 th edition (2010); Chapter 33+ 47 + 48; 828-914.
8. BISHOP , M . L . *clinical chemistry* , fifth edition , lippincot ,2005
9. El-Agouza A, Abu Shahla A, Sirdah M. The effect of iron deficiency anaemia on the levels of haemoglobin subtypes: possible consequences for clinical diagnosis. Clin Lab Haematol. 2002;24(5):285-289.
10. Waterbury L. Anemia. In: Barker LR, Burton JR, Zieve PD. Principles of Ambulatory Medicine. 6th ed. Baltimore, Md.: Williams & Wilkins; 2003:747-762.
11. Delmar's Guide to Laboratory and Diagnostic Tests. 2nd Ed. 2010.
12. LEWIS ,S. M . ; BAIIN ,B. J. ; Bates , I. ; Practical Haematology , ninth edition, Churchill livingstone .2001
13. Kohne E, Kleihauer E. Hemoglobinopathies in Germany—a longitudinal study over four decades. Dtsch Arztebl Int. 2010;107:65–72.
14. J. Herklotz R, Risch L, Huber AR Ther Umsch .Hemoglobinopathies--clinical symptoms and diagnosis of thalassemia and abnormal hemoglobins. 2006 Jan; 63(1):35-46
15. WHO: media center; Fact Sheets 308;2011 Jan.
16. Hashemizadeh H MS, Noori R MSc. Premarital Screening of Beta Thalassemia Minor in north-east of Iran, *Iranian Journal of Pediatric Hematology Oncology* Vol3.No1;2012.
17. Sick cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. Steinberg MH. ScientificWorldJournal. 2008 Dec 25; 8():1295-324.

18. B. Mehta Atul, Hoffbrand A. Victor , Haematology at a Glance . Second edition : (40-42) ,2005.
19. Muncie HL Jr, Campbell J. Alpha and beta thalassemia. Am Fam Physician. 2009;80(4):339-344
20. Henderson S, Timbs A, McCarthy J, et al. Incidence of haemoglobinopathies in various populations - the impact of immigration. Clin Biochem. 2009;42(18):1745-1756.
21. Kleihauer E, Kohne E, Kulozik AE. Anomale Hämoglobine und Thalassämie-Syndrome Grundlagen und Klinik. Landsberg: Ecomed Verlagsgesellschaft; 1996
22. . Kulozik AE. Dtsch Arztebl Int ,Hemoglobinopathies are on the increase. 2010 Feb; 107(5):63-4
23. . Thomas L, editor. Labor und Diagnose. 8th edition. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 2011. Hämoglobinopathien
24. James D. Hoyer, M.D., Division of Hematopathology Mayo Clinic Rochester, MN, Hemoglobinopathies: The How, Why, and What, 2011 Annual ,American Socitey For Clinical Pathology;2011.
25. Sirdah M, Tarazi I, Al-Najjar E, Al-Haddad R. Evaluation of the diagnostic reliability of different RBC indices and formulas in the differentiation of the beta-thalassemia minor from iron deficiency in Palestinian population. Int J Lab Hematol 2008; 30:324–330.
26. Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, Torti SV, Torti FM. Ferritin for the clinician. Blood Rev. 2009;23(3):95-104.
27. Galloway MJ, Smellie WS. Investigating iron status in microcytic anaemia. BMJ. 2006;333(7572):791-793
28. Jain S, Kamat D. Evaluation of microcytic anemia. Clin Pediatr (Phila). 2009;48(1):7-13.
29. Galanello R, Ruggeri R, Addis M, et al. Haemoglobin A2 in iron-deficient bthalassaemia heterozygotes. Haemoglobin 1981;5:613–8.
30. Madan N, Sikka M, Sharma S, et al. Phenotypic expression of haemoglobin A2 in beta-thalassaemia trait with iron deficiency. Ann Hematol 1998;77:93–6.
31. Vajpayee N, Graham SS, Bem S. Basic Examination of Blood and Bone Marrow. McPherson RA, Pincus MR.
32. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22nd ed. McPherson R, Pincus M, eds. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2011.*
33. Hoyer JD, Hoffman DR: The thalassemia and hemoglobinopathy syndromes. In Clinical Laboratory Medicine. Second edition. Edited by KD McMLatchey. Philadelphia, Lippincott, Williams and Wilkins, 2002 pp 866-895
34. Manchester Anemia Guide ; March 2013.
35. Michele Van Vranken, MD, Children's Hospital of Minneapolis, Minneapolis, Minnesota, American Family Physician , Evaluation Of Microcytosis;2010 (24).

36. Raiz Ahmed Qazi, Rabia Shams, Hamid Hassan, Naghmi Asif . Screening for Beta Thalassemia Trait, Journal of Rawalpindi Medical College (JPMC); 2014;18(1):158-160:
37. Narges Beigom Mirbehbahani, Azam Rashidbaghan, Maryam Mazji, Nasser Behnampour. National Approach to Premarital Diagnosis of Trait Thalassemia and Silent Carriers, International Journal of Clinical Medicine, 2013, 4, 91-95.