

## دراسة لبعض التغيرات الدموية والكيموحيوية في الأطفال المصابين بمرض الثلاسيميا في محافظة بابل

د. عباس حسين مغير الربيعي

الباحث. علي مقيم جبار

كلية التربية الأساسية/جامعة بابل

كلية التربية الأساسية/جامعة بابل

## المقدمة

تعتبر الثلاسيميا (Thalassemia) من امراض اعتلال الهيموكلوبين الكمي التي تسبب اضطراباً بالتصنيع الحيوي لسلاسل البيبتيد في الهيموكلوبين مما يؤدي الى اضطراب في أشكال ووظائف كريات الدم الحمراء (Munize et al, 2000) حيث ينتج هذا المرض بسبب طفرات نقطية وراثية في الجينات المسيطرة على انتاج سلاسل البيبتيد من نوع ألفا أو بيتا (Cortran et al, 1999). لقد شخص هذا المرض و عرفت أنواعه من قبل العالمين Lee و Cooly في العام ١٩٢٥ (Linman, 1975) حيث صنف الى قسمين رئيسيين حسب نوع السلاسل المتأثرة من الهيموكلوبين فقد يكون من نوع Alpha أو من نوع Beta، كما يصنف الى أصناف ثانوية حسب شدة المرض .

يقع زوجا الجينات التي تشفر للسلاسل ألفا على الكروموسوم ١٦ في حين يقع زوج الجينات الذي يشفر للسلاسل بيتا على الكروموسوم ١١ ولهذا السبب تعتبر الثلاسيميا نوع بيتا أكثر حدوثاً لقلة الجينات المسيطرة (Bilto , 1998). ان شدة المرض تعتمد على مدى توازن اتاج سلاسل ألفا و بيتا حيث أن فقدان هذا التوازن يؤدي الى تراكم سلاسل ألفا و بيتا داخل كرية الدم الحمراء بحيث يصبح الهيموكلوبين غير ذائب عكس الحالة الطبيعية التي يكون فيها الهيموكلوبين ذائباً داخل كريات الدم الحمراء (Kumar , 1992) و أن استمرار تصنيع سلاسل ألفا و غياب سلاسل بيتا يؤدي الى تراكم الاولى مما يكون ما يعرف بالأجسام المحتواة (Inclusion Bodies) والتي تسبب تخطم الغشاء البلازمي للكريات حيث أن الكريات قد تتخطم داخل نخاع العظم و هذه الحالة تعرف بعدم فعالية تكوين الدم (Hofbrand & Lewis, 1981) وأما التي تخرج من نخاع العظم الى الدورة الدموية فتكون غير طبيعية وممتلئة بالأجسام مسببة فقر دم شديد و تزال هذه الخلايا عند مرورها بالطحال ولذلك يحتاج المريض الى نقل الدم و يلاحظ زيادة امتصاص الحديد من الامعاء مسبباً تراكمه في الجسم والذي يؤدي الى تحطيم الكبد والقلب والبنكرياس والغدد الصم.

ان فقدان سلاسل بيتا يؤدي الى زيادة أنتاج سلاسل كما التي تتحد مع سلاسل ألفا لتكوين الهيموكلوبين الجنيني وهو شديد الألفة للاوكسجين حيث يمنع تحرره للانسجة (AL-Awamy , 2000).

يوجد الهيموكلوبين بعدة أشكال هي :

Adult hemoglobin	-١
Adult hemoglobin -2	-٢
Fetal – hemoglobin	-٣

حيث يتألف الشكل الاول من سلسلتين ألفا وسلسلتين بيتا وهو النوع السائد والأكثر وجوداً، وأما النوع الثاني فيتألف من سلسلتين من نوع ألفا وسلسلتين من نوع دلتا ويشكل النوع الثالث نسبة قليلة جداً في الدم ويتألف من سلسلتين من نوع ألفا وسلسلتين من نوع كاما ويعتبر السائد في الحياة الجنينية (Pittiglio & Sacher ,1987) .

## المواد وطرق العمل

تضمنت الدراسة فحص (٥٠) طفلاً من المصابين بمرض الثلاسيميا في مركز الثلاسيميا التابع لمستشفى الأطفال في محافظة بابل وفحص (١٠) أطفال كمعاملة سيطرة . وقد جمعت عينات الدم بين الساعة التاسعة و العاشرة صباحاً وقد وضعت عينات الدم في مجموعتين من الانابيب الاولى محتوية على مادة مانعة لتخثر الدم والثانية لاتحتوي على مادة مانعة لتخثر الدم ، تستخدم الاولى لاجراء فحوصات تخص الدم وتستخدم الثانية لتحضير المصل حيث يستخدم جهاز

الطرد المركزي لمدة ( ١٠ ) دقائق وبعدها يسحب المصل بواسطة ماصة دقيقة ويوضع في أنابيب ويخزن بدرجة ( - ٢٠ ) مئوية في الثلاجة .

#### ١ - تحديد حجم الخلايا المضغوط ( Packed Cell Volume ) ( P C V )

أستخدمت طريقة Microhematocrit ( Dacie & Lewis , 1997 ) وفيها استخدمت الأنابيب الشعرية الحاوية على الهيبارين وقد ملئت بالدم لثلاثة أرباع طولها وغلقت النهاية ووضعت في جهاز Microhematocrit لمدة ( ١٥ ) دقيقة وقد انفصلت كريات الدم عن البلازما مع بقاء غطاء رقيق يسمى Buffy Coat وهو الحد الفاصل بين كريات الدم والبلازما يتكون منت الصفيحات الدموية وخلايا الدم البيضاء .

#### ٢ - قياس هيموكلوبين الدم .

أستخدمت طريقة Cyanomethemoglobin ( Markarem , 1974 ) وفيها تستخدم عدة محاليل وبالكميات المعتمدة، تمزج مع ( ٢٠ ) مايكروليتر من العينة وتحفظ في درجة حرارة ( ٣٧ ) مئوية لمدة ( ٥ ) دقائق ثم تقرأ باستخدام جهاز Hb - meter وعلى طول موجي ( ٥٤٠ ) نانوميتر .

#### ٣ - قياس فعالية الانزيم GPT

أستخدمت الطريقة اللونية ( Colorimetric Method ) ( بهجت وشعبان ، ١٩٨٥ ) لقياس فعالية الانزيم من خلال الخطوات التالية:

١ - يؤخذ أنبوب ويوضع فيه ( ٠.٢ ) مل من المصل ويضاف إليه ( ١ ) مل من محلول دارىء الفوسفات و المادة الاساس للانزيم GPT .

٢ - يخلط جيدا" ثم يوضع في الحاضنة عند درجة حرارة ( ٣٧ ) مئوية ولمدة نصف ساعة .

٣ - يضاف اليه (١) مل من ( 2,4 dinitrophenylhydrazine ) ويترك لمدة (٢٠) دقيقة وبدرجة حرارة الغرفة.

٤ - يضاف اليه (١٠) مل من NaOH ( 0.4 N ) ويخلط جيدا" ثم يترك لمدة ( ٥ ) دقائق .

٥ - يقرأ على طول موجي (٥٤٠) نانوميتر وبأستخدام المنحى القياسي يحدد عدد وحدات الانزيم GPT في المصل.

#### ٤ - العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء

تضمنت الطريقة تخفيف عينة الدم بأضافة مقدار (٠.٤) مل من Turk,s Solution الذي يتألف من (١) مل من حامض الخليك الثلجي و(٢) مل من محلول gention violet و(١٠٠) مل من الماء المقطر حيث يضاف (٢٠) مايكروليتر من الدم و يمزج جيدا" مع المحلول المخفف ، ثم يستخدم جهاز حساب كريات الدم ( Neubaur - hemocytometer ) حيث يملأ الجهاز بأستخدام ماصات باستور ومن ثم حساب خلايا الدم البيضاء تحت عدسات المجهر الضوئي بأستخدام قوة التكبير (40 X) في اربعة مربعات ثانوية (Dacie & Lewis , 1995).

#### ٥ - تقدير تركيز أيونات الكالسيوم

أستخدمت الطريقة اللونية ( Colorimetric Method ) ( بهجت وشعبان ، ١٩٨٥ ) وفيها يستخدم نوعين من الكواشف هما ( R 1 ) و ( R 2 ) حيث يؤخذ ( ١٠ ) مل من كلا الكاشفين وتوضع في ثلاثة أنابيب. ثم يؤخذ ( ١٠ ) مايكرون منها ويخلط مع ( ١٠ ) مل من المصل المراد فحصه ويقرأ مباشرة" على طول موجي ( ٦١٢ ) نانوميتر .

**النتائج****١ - حجم الخلايا المضغوط**

يلاحظ في الجدول رقم ( ١ ) ان قيم (PCV) للأطفال المصابين قد أنخفضت عن قيمها في الأطفال الاصحاء ، حيث تراوحت في الأطفال الاصحاء بين ( ٠.٢٨ ) و ( ٠.٣٨ ) بينما أصبحت في الأطفال المصابين تتراوح بين ( ٠.١٢ ) و (٠.٢٧).

**٢ - الهيموكلوبين**

أن تركيز الهيموكلوبين وكما يلاحظ في الجدول رقم ( ١ ) قد أنخفض أيضا" بفعل الإصابة بمرض التلاسيميا حيث كان في الأطفال الاصحاء يتراوح بين ( 9 mg / dl ) و ( 13 mg / dl ) في حين كانت قيمته في الأطفال المصابين تتراوح بين ( 3.3 mg / dl ) و ( 8.7 mg / dl ).

**٣ - العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء**

تشير النتائج المبينة في الجدول رقم ( ١ ) أن العدد الكلي لكريات الدم البيضاء للأطفال المصابين قد تراوحت بين ٣.٤٠٠ و ٤٠٠٠ في حين كان العدد الكلي لكريات الدم البيضاء في الأطفال الاصحاء يتراوح بين ٤.٠٠٠ و ١١.٠٠٠ وهذا يدل على ازدياد عددها في حالة الإصابة مقارنة" بالحالة الطبيعية .

**٤ - قيم أنزيم GPT**

تبين النتائج الموضحة في الجدول رقم ( ١ ) ارتفاع فعالية أنزيم GPT في حالة الإصابة بمرض التلاسيميا حيث كان عدد الوحدات للانزيم في الأطفال المرضى تزيد عن ( ٧٨ ) وحدة / مل في حين كان عدد الوحدات في الأطفال الاصحاء يزيد عن ( ٤٥ ) وحدة / مل .

**٥ - عنصر الكالسيوم**

يلاحظ في الجدول رقم ( ١ ) أن هنالك انخفاضا" في تركيز أيونات الكالسيوم في الأطفال المرضى بالمقارنة مع تركيزه في الأطفال الاصحاء ، حيث كان التركيز في الأطفال الاصحاء ( 2.4 - 2.9 mmol / L ) وقد أصبح تركيزه في الأطفال المصابين ( 1.1 - 2.6 mmol / L ) .

**٦ - تأثير الجنس**

يلاحظ في الشكل رقم ( ١ ) تباين الإصابة بين الذكور و الإناث حيث لوحظ ومن خلال هذه الدراسة التي شملت (٥٠) طفلا" أن عدد الأطفال الذكور المصابين كان ( ٣٠ ) طفلا" في حين كان عدد الإناث المصابات بالمرض ( ٢٠ ) طفلة".

**٧ - تأثير فصائل الدم**

يلاحظ في الشكل رقم (٢) والذي يوضح العلاقة بين مجاميع الدم وتكرار الإصابة بمرض التلاسيميا أن الأطفال ذوي فصيلة الدم ( O + ) كانوا الأكثر عرضة" للإصابة بالمرض ثم يليهم الأطفال ذوي فصيلة الدم (A+) وبالمرتبة الثالثة يليهم الأطفال ذوي فصيلة الدم ( B + ) ثم يليهم بالمرتبة الأخرى الأطفال ذوي فصيلة الدم (O-) وكان الأطفال من فصيلة الدم ( AB + ) هم الأقل عرضة" للإصابة .

**المناقشة**

تشير النتائج المستصل عليها من هذه الدراسة ( جدول رقم ١ ) الى انخفاض كل من حجم الخلايا المضغوط PCV وتركيز الهيموكلوبين ، وقد يكون السبب في ذلك الى أن معدل PCV يعتمد بصورة أساسية على عدد و حجم و شكل كريات الدم الحمراء وعلى مدى تخفيف الدم و لزوجته ( Dacie & Lewis , 1995 ) وفي حالة الإصابة بالتلاسيميا تتأثر

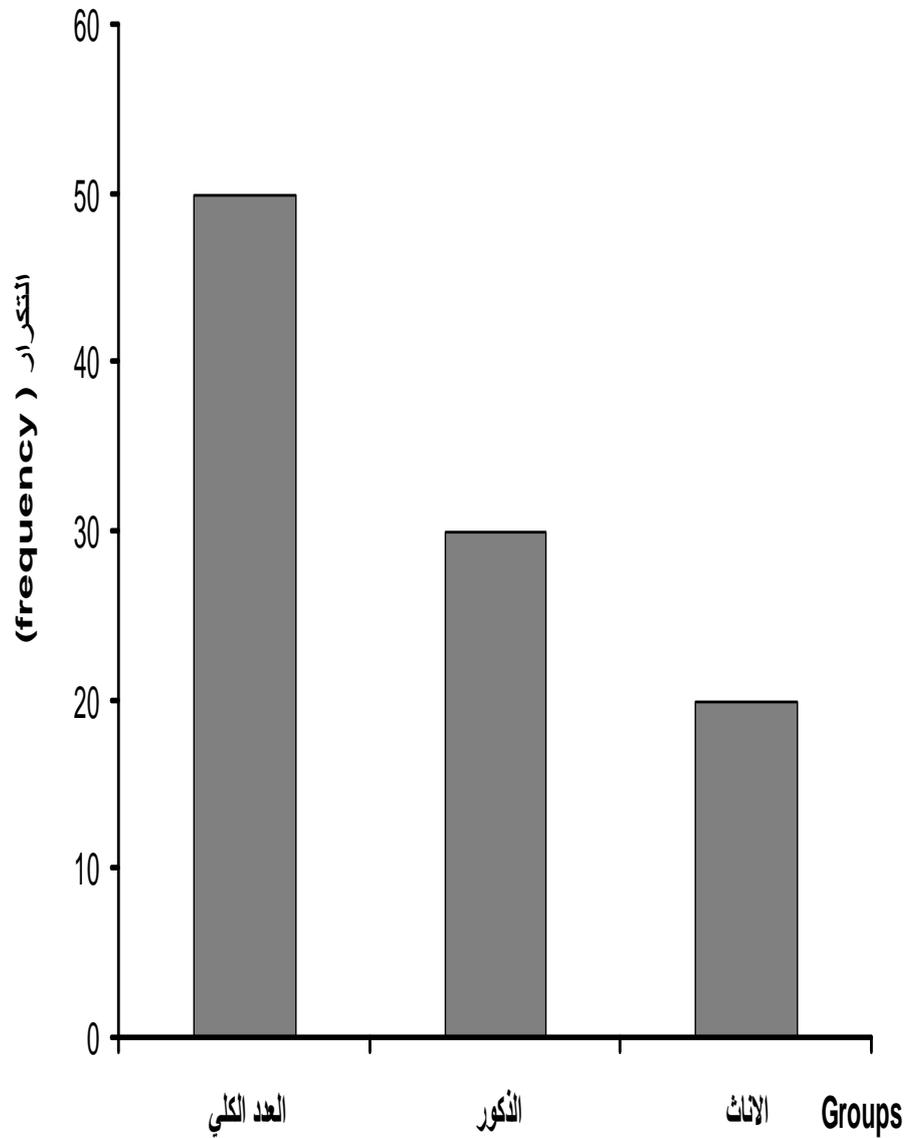
كريات الدم الحمراء من ناحية العدد و الخصائص الشكلية و الحجمية خلال مراحل تكوينها داخل نخاع العظم حيث تميل نتيجة لذلك الى ان تكون صغيرة الحجم فضلاً عن تراكم السلاسل البيبتيدية غير المرتبطة بجوار الغشاء وتكوين الأجسام المحتواة ( Dedousis et al , 2000 ) . وهذا يؤدي الى ان يجعلها عرضةً للتحطيم بواسطة الخلايا البلعمية Macrophage والتي تتواجد بكثرة في نسيج نخاع العظم و التي يمكنها أن تشخص و تميز الخلايا غير الطبيعية و التهامها مما يؤدي الى تحطيم مجموعة كبيرة من خلايا الدم الحمراء خلال مراحل تطورها (Pittiglio & Sacher, 1987) . أما عند دخولها الدورة الدموية فأنها قد تصبح عرضةً للتحطم الذاتي داخل الاوعية الدموية أو قد تتحطم داخل الطحال من خلال فعالية خلايا البلعمة Macrophage الموجودة في نسيج الطحال والمتخصصة بتخليص الدم من الخلايا المشوهة و المسنة و الاجسام الغريبة . هذا من جهة و من جهة ثانية فأن صغر حجم هذه الخلايا لا يجعلها تشغل نفس الحجم الذي تشغله الخلايا الطبيعية ( Kendal , 1983 ) .

وأما ما يتعلق بالهيموكلوبين فقد يعود السبب في ذلك الى الاضطراب الحاصل في تصنيع سلاسل البروتين وراثياً (Todd, 1980) وأن انخفاض أو توقف تصنيع السلاسل ألفا أو بيتا يؤدي الى أعاقه تصنيع وحدات أل Hem بأعتبار أن الهيموكلوبين يتركب أساساً من جزئين هما أل Hem و بروتين الكلوبين ، لذلك فأن كريات الدم الحمراء الناتجة تكون بأعداد قليلة وصغيرة الحجم و قليلة الهيموكلوبين و أن التكسر العالي لها يؤدي بالنتيجة الى انخفاض عالي بتركيز الهيموكلوبين . أن نتائج الدراسة الحالية تتفق مع ما توصل اليه كل من (Acquage et al, 1987) و ( Bennett & Plum , 1996 ) .

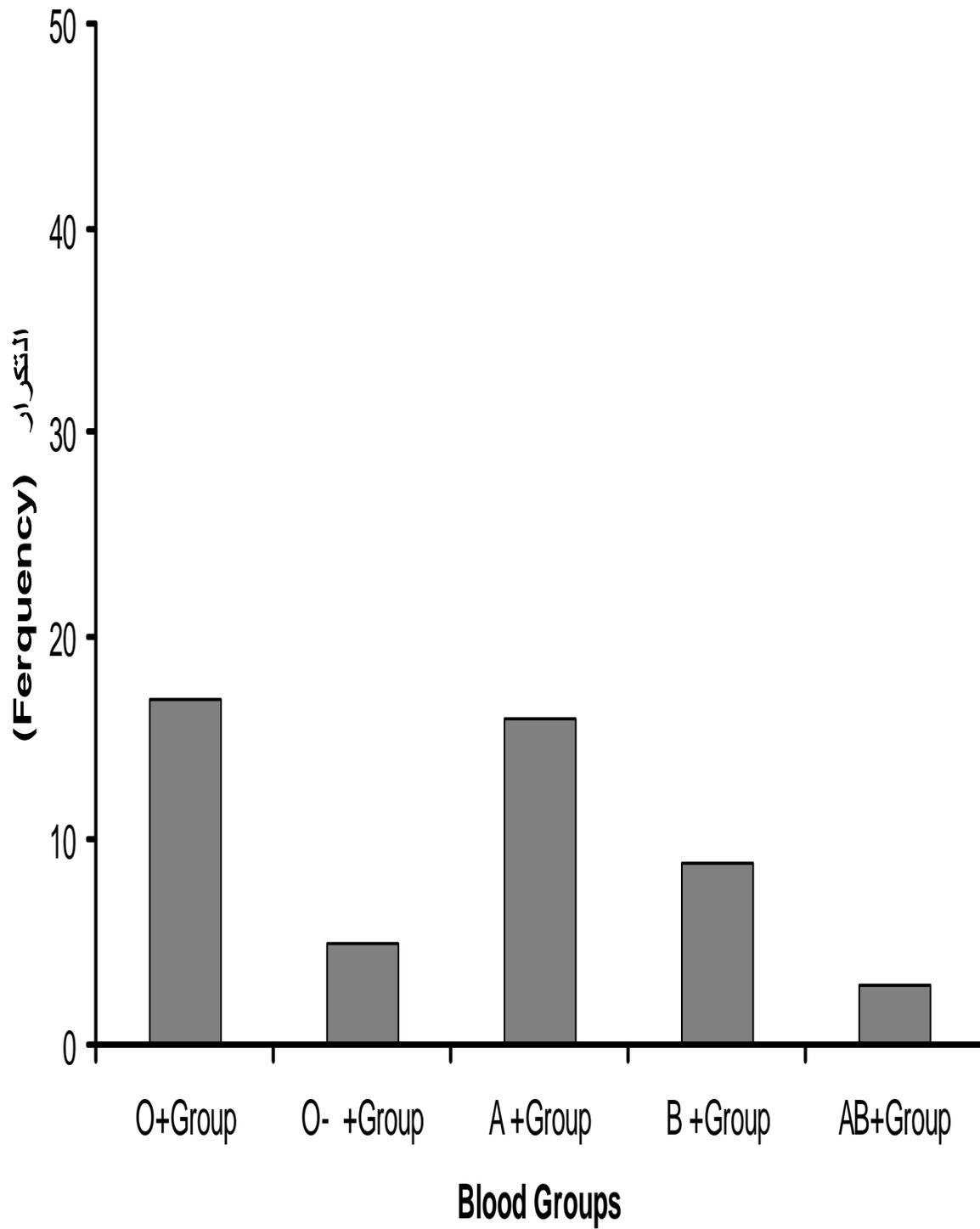
وأما ما يتعلق بالعدد الكلي لكريات الدم البيضاء Total WBCs فقد بينت النتائج ( جدول رقم ١ ) ارتفاع عددها في الأطفال المصابين بالمقارنة مع الأطفال الاصحاء . أشارت الدراسات ( Murray , 2000 ) الى أن التحطم العالي لكريات الدم الحمراء داخل و خارج نخاع العظم يسبب انخفاضاً شديداً للضغط الجزئي للأوكسجين وهذا يعد عاملاً محفزاً لإنتاج هرمون Erythropoietin من الكلى وهذا الهرمون يحفز نخاع العظم على زيادة تكوين الدم من خلال تحويل خلايا غير متميزة الى خلايا متميزة في نسيج نخاع العظم لها القدرة على تكوين أنواع خلايا الدم و منها خلايا الدم البيضاء (Bilto, 1998) ، فضلاً عن ذلك فقد تبدأ بعض خلايا الكبد و بعض خلايا الطحال بتكوين مراكز لتوليد خلايا الدم ( ظاهرة تكوين الدم خارج نخاع العظم ) ( Penington et al , 1984 ) . كما يلاحظ في حالة الإصابة بالثلاسيميا زيادة في نشاط الجهاز البطني الشبكي بسبب زيادة خلايا المونوسايت والتي لها القابلية على تحطيم كريات الدم المشوهة والدفاع عن الجسم وهذه النتائج تتفق مع ماتوصل اليه الباحثون ( Hofbrand & Lewis, 1993 ) و ( Bitto , 1996 )

أما ما يخص زيادة فعالية الإنزيم GPT فقد لوحظ ( جدول رقم ١ ) ارتفاع مستوى فعالية الإنزيم في الأطفال المصابين مقارنةً بالأطفال غير المصابين وقد يعود السبب في ذلك الى التكسر المفرط لكريات الدم الحمراء أو بسبب الحاجة الى بناء السلاسل البيبتيدية من خلال فعالية هذا الإنزيم في أنتقال مجاميع الامين في الأحماض الأمينية وتكوين الأحماض الأمينية المطلوبة للبناء (محمد وموسى ، ١٩٨٥) .

وأما ما يتعلق بالعلاقة بين حدوث الإصابة بمرض الثلاسيميا والجنس ( شكل رقم ١ ) فيلاحظ ان عدد الذكور المصابين أكثر من الإناث وبما أن الجينات المسؤولة عن إنتاج السلاسل البيبتيدية المشتركة في بناء الهيموكلوبين موجودة على الكروموسومات ١١ و ١٦ ( Kumar , 1992 ) ولا توجد على الكروموسومين X و Y فلا يوجد ارتباط بين الجنس وبين الإصابة بالمرض . وأما ما يخص العلاقة بين مجاميع الدم و الإصابة بمرض الثلاسيميا (شكل رقم ٢) والتي يمكن تمثيلها على الشكل الآتي ( AB+ < O- < B+ < A+ < O+ ) فقد يكون السبب في ذلك الى صغر العينة أو يعود السبب الى التباين في نسب هذه المجاميع في المجتمع .



شكل رقم (١) :- يوضح العلاقة بين الجنس وتكرار مرض التلاسيميا



شكل رقم (٢) :- يوضح العلاقة بين فصائل الدم وتكرار مرض الثلاسيميا

## جدول رقم (١)

تأثير الإصابة بمرض الثلاسيميا في قيمة حجم الخلايا المضغوطة PCV وتركيز الهيموكلوبين Hb وعدد كريات الدم البيضاء WBCs وتركيز إنزيم GPT وأيون الكالسيوم Ca++

Ca++ mmol/l	Gpt Unit/ml				WBCs cmm		Hb mg/dL		PCV L/L
الأطفال المرضى	الأطفال الأصحاء								
1.1-2.6	2.4-2.9	78<	45<	3.400- 14.400	4.000- 11.000	3.3-8.7	9-13	0.12- 0.27	0.28- 0.38

## References

## المصادر

- \* بهجت، إحسان محمد و شعبان، عزيز موسى. (١٩٨٥). الكيمياء السريرية. الطبعة الأولى. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
- \*Acquaye, J.Ganeshahuru; K; and Omer, A(1987).Beta thalassemia in Saudi Arabia Saudi med. J.3(1):238\_289.
- \*\_AL\_Awamy, B.H.(2000).taalassemia syndrome in saudi Arabia. med. J.21(1):8\_17 .
- \*\_Bennett,J, and plum ,F.(1996).Cecil text book of medicin.20<sup>th</sup>.ed.W.B.Saunders comp. philadelphia.872\_879.
- \*\_Bilto, Y.Y.(1998).prevalance of hemoglobin\_pathies in central region of Jordan. Association Arabian Universities . J.of medical science .1(2):18\_23.
- \*\_Cortran,kumar,and Collin.(1999).pathological diseases. 6<sup>th</sup>.ed.Tokyo,352.
- \*\_Dacie,V.and Lewis ,S.M.(1995).practical Hematology.2<sup>nd</sup>. ed.philadelphia .tokyo.(352\_354).
- \*\_Dedousis ,G.V.Z.,Mandilara,G.D;Boussin,M.;and Loutradis (2000).Hbf productionin beta thalassemia. Wiley\_liss.inc.,(646.151\_155.
- \*\_Ganong,W.F.(1997). Review of Madical physiology. 18<sup>th</sup>.ed., Appleton and lange. philadelphia(p.4g6).
- \*Guyton.A.C.(1986).text Book of Medical phusiology .in ternational ed.,W.B.sannders Comp. philadelphia.849.
- \*Hofbrand,A.v.and lewis ,S.M.(1981).post graduat hematology.2<sup>nd</sup>. ed.,W.B.saunders Conp. london.211\_216.
- \* Kendal,A.G.(1983).thalassamia .In ternational . 1.med.,1(25).1169\_1172.
- \*Kumar,V;Cortran,R.;and Robbins,S.(1992)Basic pathology .5<sup>th</sup>.ed.,Mosby Comp. philadelphia,339\_340.
- \* Linmnam,S.W.(1975).Hematology,physiological\_pathological and clinical principles. Macmillan publishing company,INC., INC,Newyork.223\_283.
- \* Markarem,A.(1974).Clinical Chemistry\_principles and techniques.2<sup>nd</sup>. ed. Harper and Raw. Hargeston:1128\_1135.
- \*Munize,A;Martines,G;Laiahqa,J;and Pacheco. P.(2000).Beta thalassemia in cnbans. American. J.Haematol.,64(1);7\_14
- \*\_Penington,D.;Rush,B.;and Castaldi,P.(1984)Clinical Haematology in Medical practice.4<sup>th</sup>.ed, C.B.S.publisher.278\_301.
- \*\_Pittigio,D.H.and Sacher,RH.(1987)Clinical Hematology and fundamentals of Homeostasis F.A.Davis Comp. Philadelphia (17\_126)

\*Thompson, R.B.(1984).Ashort text book of haematology. 6<sup>th</sup> .ed.W.B.sounders company, Philadelphia,66\_7

\*Todd,D.(1980). thalassemia and hemoglobin\_pathies.3<sup>rd</sup> .series. J. med.part.1;1406\_1410.

\*Turgeon, M.L.(2005)Clinical hematology :theory and procedures .4<sup>th</sup> .ed. Lippincott.williams and wilkins.Newyork.(23).