بررسی ۵ مورد معرفی شده جهت علل کم خونی و تشخیص قبل از تولد به آزمایشگاه

● دکتر عبدالرضا افراسیابی
دکترای علوم آزمایشگاهی و متخصص ژنتیک انسانی

● ژاله فرخی زاده
کارشناس ارشد ژنتیک

● سمانه الطافی
کارشناس ارشد ژنتیک

● مریم حامدی
کارشناس ارشد ژنتیک

● زهرا پوریاسین
کارشناس ارشد ژنتیک

● احسان احمدی مرادی
کارشناس ارشد ژنتیک

چکیده

سندرم تالاسمی یکی از بیماری‌های همولیتیک ارثی شناخته شده است و از نظر طبقه بندی بر اساس شاخص‌های بالینی، هماتولوژیک و یافته‌های بیوشیمیایی طبقه بندی می‌شوند و در این راستا گاها متخصصین و مشاورین را در تفسیر نتایج و تصمیم گیری دچار سردرگمی می‌کند، بنابراین موقعیت‌های گیج کننده‌ای ایجاد می‌کند و نیاز به بررسی و تحلیل عمیق آزمایشگاهی دارد و از نظر غربالگری در جوامع با شیوع بالا نیاز به الگوریتم‌های تشخیصی دقیق و خاصی می‌باشد که به عواملی مانند نژاد، ازدواج‌های فامیلی، مهاجرت، شیوع در مناطق مستعد مالاریا و دقت تکنیک‌های آزمایشگاهی بستگی دارد. تفسیر دقیق نتایج آزمایشات و تشخیص قطعی ناقلین و نتایج مشکوک و حد مرزی پارامترها به دلیل محدودیت امکانات تشخیص فنی و ممنوعیت ختم بارداری به دلایل شرعی و قانونی؛ مشاوره ازدواج زوج‌های ناقل گاهی برای مشاوران مرکز بهداشت و متخصصان هماتولوژی سردرگمی ایجاد می‌کند.

بسیاری از خانواده‌ها قادر به پرداخت هزینه سالانه حدود ۳۲۰۰ دلار برای کودکان مبتلا به تالاسمی نیستند. بنابراین، این بیماری نه تنها خانواده را تحت تأثیر قرار می‌دهد، بلکه بر بودجه بهداشتی کشورهای با شیوع بالا نیز تأثیر می‌گذارد. بنابراین پیشگیری از تولد موارد جدید در جوامعی که دارای شیوع فراوان می‌باشند، در اولویت برنامه‌های بهداشتی کشور قرار دارد.

مشاوره ژنتیک، غربالگری ناقلین، تشخیص قبل از تولد و ختم بارداری جنین‌های مبتلا در این برنامه‌ها گنجانده شده است.

بر این اساس کمیته علمی تشخیص پیش از تولد وزارت

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]

بهداشت دستورالعملی برای مشـــاوران مراکز بهداشتی درمانی بـــرای شناســـایی زوجیـــن ناقل پرخطـــر و ارجاع ایشـــان به آزمایشـــگاه‌های مورد تأیید شبکه تشـــخیص قبل از تولد صادر کرده است و از سوی دیگر با ایجاد برنامه‌های EQA به ارزیابی این آزمایشگاه‌ها می‌پردازد.

هدف

در مطالعه پیش رو چندین مورد چالشی از زوج‌های مشکوک به ناقل مورد بررسی قرار می‌گیرد، با این امید که به مرور زمان، آزمایشگاه‌های شـــبکه در صورت مواجه با چنین موارد چالش برانگیـــزی این موارد را به کمیته علمی تشـــخیص قبل از تولد وزارت بهداشـــت گزارش دهند. تا با پیگیری و ارزیابی دوره‌ای علایم بالینی و آزمایشگاهی فرزندان این خانواده‌ها، پس از تولد دستورالعمل کمیته مذکور به روز رسانی شود تا علاوه بر رعایت اخلاق حرفه‌ای و ملاحظات قانونی، کمترین میزان مالی و فشار عاطفی بر خانواده، جامعه، پزشکان مشاور و آزمایشگاه‌های ارائه دهنده این خدمات وارد شود.

کلمات کلیدی: افزایش HbA2، تشخیص قبل از تولد، انواع تالاسمی

ساختار هموگلوبین

مهم‌ترین کار هموگلوبین انتقال گاز بین بافت ها و ریه است.

زنجیره‌هـــای گلوبین با ژن‌های متفاوت روی کروموزوم ۱۱ و ۱۶ کد گذاری شده و همه آن‌ها بیش از یک آلل دارند.

ایـــن آلل ها در دوران مختلف زندگی جنینی تا تولد و بعد از آن با غلظت‌های مختلف، تغییرات متفاوتی ایجاد می‌کنند.

بعضی از این تغییرات با جابجایی یک آمینو اسید در اثر جهش نقطه‌ای ایجاد می‌شوند و در نتیجه هموگلوبین غیرطبیعی ایجاد می‌کنند؛ بنابراین کم خونی‌های ارثی به دو گروه اصلی تغییرات کیفـــی qualitative (هموگلوبینوپتـــی هـــا) و تغییرات کمی quantitative (تالاسمی‌ها) تقسیم بندی می‌شوند.

تخمین زده می‌شود؛ ۲۷۰ میلیون نفر ناقل بیماری‌های ارثی کم خونی در جهان زندگی می‌کننـــد و ۴۰۰ هزار مورد جدید سالیانه به این موارد اضافه می‌شوند. (۷و۸)

تالاســـمی به عنوان شـــایع‌ترین بیماری‌های کم خونی ارثی مغلـــوب Autosomal Recessive به علـــت کاهش و یا عدم تولید محصولات یکی از دو ژن آلفا یا بتا ایجاد می‌شود. بنابراین کم خونی Quantitative محسوب می‌شود.

تالاســـمی آلفا و بتا شـــایع‌ترین انواع تالاســـمی می‌باشند. تالاسمی دلتا و گاما از شیوع کمتری برخوردارند. (۱و۳)

آلفا تالاسمی

این ســـندرم در اثر کاهش و یا عدم سنتز زنجیره آلفا ایجاد می‌شـــود که با حذف و یا جهش در یک، دو، سه و یا چهار ژن آلفا موجود بر روی کروموزوم ۱۶؛ به وجود می‌آید.

اما در مورد تالاسمی بتا، روی هر کروموزوم یک مجموعه ژن قـــرار دارد و عملاً در هر ســـلول دو مجموعه ژن وجود دارد. در صورتی که جهش در ژن بتا موجود در روی یک کروموزوم ایجاد شـــود و باعث عدم تولید گلوبین شـــود ناقل B0 و اگر جهش منجر به کاهش ســـنتز گلوبین شود بسته به جایگاه جهش B+ نامیده می‌شود.

در ناقلین بتا و آلفا تالاسمی معمولاً با کاهش تولید زنجیره بتا و یا آلفا مواجه هستیم و بالانس تولید زنجیره‌ها مختل می‌شود. در تقریبـــا ۹۰٪ از افراد ناقل آلفا تالاســـمی با حذف قســـمتی کوچـــک و یا بزرگ زنجیره مواجه هســـتیم؛ در حالی که در بتا تالاسمی معمولاً جهش‌های نقطه‌ای اتفاق می افتد.

در ناقلین آلفا و بتا، کـــم خونی خفیف و بدون علائم بالینی می‌باشد و فقط در موارد حاملگی و یا عفونت و یا اعمال جراحی، افراد، دچار کم خونی خفیف تا متوسط می‌شوند.

فقر آهن و ناقلین تالاسمی از طریق نتایج آزمایش‌های اولیه CBC، قابل تشـــخیص افتراقی می‌باشـــند. در فقـــر آهن تنها هیپوکرومیک و میکروسیتوزیس بدون افزایش شمارش گلبول قرمز اتفاق می افتد؛ در صورتی که در ناقلین تالاسمی با افزایش شمارش گلبول قرمز روبرو هستیم.

بـــا افزایـــش HbA2 در آزمایش الکتروفـــورز در ناقلین بتا، می‌توان این گروه را از ناقلین آلفا تشخیص افتراقی داد.

پزشکان مشـــاور نیز علاوه بر بررسی ایندکس‌های CBC با فرمول‌های مختلف از جمله ایندکس Mentzer نتایج را بررسی کرده و اگر حاصل معادله کمتر از ۱۳ باشد فقر آهن و اگر بیشتر باشد به نفع ناقلین تالاسمی قلمداد می‌کنند.

$$\text{Mentzer Index}=\frac{MCV}{RBC}$$

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]

کم خونی‌های میکروسیتیک و هیپوکرومیک در حالت‌های زیر اتفاق می افتد.

۱- متعاقب بیماری‌های مزمن که با علائم بالینی و آزمایش‌های فنوتیپی مشخص می‌شود.

۲- مسمومیت با سرب در کارگران باطری سازی و صنایع چاپ و کارگران معادن که با سابقه و مطالعه بالینی قابل تشخیص است.

۳- کم خونی‌های فقر آهن و ناقلین تالاسمی آلفا و بتا که طبق جدول زیر قابل تشخیص افتراقی می‌باشند.

LLN:Lower limit Normal

ULN: Upper limit Normal

جدول شماره (۱): تشخیص افتراقی شایع‌ترین کم خونی‌های هیپوکرومیک میکروسایتیک

	RBC	Hb	MCV	MCH	RDW	HbA2
فقر آهن	↓	↓	↓	↓	↑	Normal
ناقل آلفاتالاسمی	↑ /ULN	N/LLN	↓	↓	N	Normal
ناقل بتاتالاسمی	↑	N/LLN	↓	↓	N	>3.5

LLN و ULN با توجه به سن و جنسیت و موقعیت جغرافیایی نسبت به افراد نرمال سنجیده می‌شود.

بایستی توجه داشت که میزان طبیعی MVC در کودکان عبارت است از سن بیمار+ ۷۰

اندازه گیری های HbA2 به روش‌های مختلف از جمله کروماتوگرافی ستونی، HPLC، ایزو الکتریک فوکوسینگ صورت می‌پذیرد ولی دقیق‌ترین روش کاپیلاری است، بنابراین در صورت مشکوک بودن اندکس های خونی HbA2 حدود ۳ نیز مشکوک تلقی می‌شود و تست‌های بررسی DNA ضروری است.

❑ انواع مختلف تالاسمی‌ها

❑ آلفا تالاسمی

شدت تظاهرات بالینی آلفا تالاسمی به تعداد ژن‌های معیوب بستگی دارد.

1- Silent α Thalassemia

در صورتی که یکی از چهار ژن آلفا دچار نقص باشد ناقل خاموش آلفا (αα/-α) گفته می‌شود. این حالت فاقد علایم بالینی است و گاهی با اندکس های CBC طبیعی و بدون کم خونی همراه است. همچنین ۱ تا ۲ درصد هموگلوبین بارت(Bart-Hb) در هنگام تولد در الکتروفورز روئیت و پس از بالغ شدن گلبول‌ها ناپدید می‌گردند.

2- α Thalassemia Minor

وقتی دو ژن از ژن‌های آلفا دچار نقص شده باشد مینور آلفا تالاسمی گفته می‌شود که این حالت نیز بدون علایم بالینی و تنها با کم خونی میکروسیتوز همراه است. در این حالت هموگلوبین بین9-11g/dl، MCV: 50-70 Fl، MCH: 20-22 pg و شمارش گلبول‌های قرمز نرمال یا بالاتر است.

3- α0 Trait Thalassemia

نقص در دو ژن می‌تواند به صورت cis و یا Trans باشد. در حالت cis هر دو نقص در ژن‌های واقع در روی یک کروموزوم (αα/--) ایجاد می‌شود و بیشتر در جنوب آسیا بروز دارد. در حالت Trans نقص در ژن‌های روی هر دو کروموزوم ایجاد می‌شود (α-/-α) و بیشتر در آفریقا شایع است. (۲) در این نوع ناقل آلفا اندکس های گلبول قرمز شبیه ناقل بتا ولیHb A2 نرمال و یا اندکی کاهش یافته است. بعلاوه ۵ تا ۱۵٪ Hb-Bart در زمان تولد در الکتروفورز دیده می‌شود که با بلوغ گلبول‌ها در الکتروفورز محو شده و به ندرت بقایایHb H در لام خون محیطی دیده می‌شود.

۴- آلفا تالاسمی متوسط

در بیماری Hb-H-diseaseکه با کم خونی متوسط و میکروسیتوز همراه است؛ سه ژن دارای نقص می‌باشند (α-/--)، رتیکولوسیتوز ۵٪ دیده می‌شود و بقایای Hb-H با رنگ آمیزی برلیانت کریزل بلو در اغلب گلبول‌های قرمز دیده می‌شود.

یک نوع Hb-H-disease اکتسابی نیز در سرطان خون میلودیسپلاستیک سندرم(M.D.S) وجود دارد که در لام خون محیطی به صورت GolfBody دیده می‌شود.

α- Thalassemia X Linked disability syndrome (A.T.RX) در این سندرم نادر وابسته به جنس که با حذف قسمت 16p13.3 از بازوی کوتاه کروموزوم ۱۶ اتفاق می افتد؛ ژن‌های بسیاری از جمله ژن آلفا حذف می‌شود و مشکلات فراوانی از جمله بی تحرکی و عقب ماندگی ذهنی و دیگر مشکلات ایجاد می‌کند. (۷)

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]

۵- بیماری Hydrops Fetalis یا سندرم بارت

در ایـــن حالـــت هر چهـــار ژن آلفـــا غیر فعال می‌شـــود و هیـــچ زنجیـــره آلفـــا و در نتیجه هیـــچ هموگلوبیـــن جنینی و یـــا Hb F تولیـــد نمی‌شـــود و در واقـــع با آلفا تالاســـمی مـــاژور رو بـــه رو هســـتیم. این حالـــت معمولاً در ســـه ماهه دوم بـــارداری منجر به ســـقط جنیـــن می‌شـــود. در بیماری Hydrops Fetalitis که هر ۴ ژن α غیرفعال هستند؛ می‌توان تزریق گلبول قرمز داخل رحمی انجام داد و جنین در داخل رحم (Intra uterine Transfusion) ادامـــه حیات دهد؛ ولی این افراد تا آخر عمر وابسته به تزریق خون و مبتلا به بیماری‌های قلبی می‌باشند و عمر کوتاهی دارند.

تشـــخیص انواع α تالاسمی و پیش آگهی وضعیت جنین، با توجه به دسته بندی آلفا تالاسمی اهمیت دارد.

در بیمـــاری آلفا تالاســـمی ماژور یا هیدروپـــس فتالیس در صورت تشـــخیص دیرهنگام، خطر حیاتی برای مادر نیز وجود دارد. در موارد نادر، اگر نوزاد آلفا تالاســـمی ماژور متولد شـــود؛ نوزاد با مشـــکلات فراوان و بدن ورم کرده، چند ســـاعت بعد از تولد، از بین می‌رود.

در آزمایش‌های الکتروفورز خون بند ناف و یا نوزاد تازه متولد شده در ناقلین آلفا با دو نقص از چهار ژن، Hb Bart می‌تواند حـــدود ۱۰-۵ درصد و در بیمـــاری Hb-H-disease می‌تواند حـــدود ۴۰-۲۰ درصـــد و در خون بند ناف بیمـــار ماژور آلفا و یـــا هیدروپس فتالیس بیش از ۸۰ درصد باشـــد و ۱۰ تا ۲۰٪ هموگلوبین پورتلند دیده می‌شود.

توضیحـــا در دوران جنینی HbF ترکیبی از دو زنجیره آلفا و دو زنجیره گاما گلوبین می‌باشـــد؛ که در صورت کمبود زنجیره آلفا، مقادیر اضافـــی گاما گلوبین به صورت تترامر Hb-Bart را ایجاد می‌کند.

این هموگلوبین پایداری زیادی ندارد و قبل از ســـوییچ شدن زنجیره به گاما، قابل تشخیص است.

آزمایش‌هـــای تکمیلی بررســـی لام خونـــی محیطی نیز در شناسایی Hb-H-disease علاوه بر الکتروفورز هموگلوبین و با رویت گلبول‌های قرمز شبیه توپ گلف که حاصل رسوب چهار زنجیره گلوبین بتا بوده و با رنگ آمیزی حیاتی قابل تشـــخیص است؛ کمک کننده می‌باشد.

Hb-H-disease: بر اثر غیر فعال بودن ســـه ژن از چهار ژن ایجاد شده که کم خونی همولیتیک متوسط و متنوعی را ایجاد می‌کند.

این افراد که معمولاً دچار هپاتواسپلنومگالی هستند و انتقال اکســـیژن ضعیفی به بافت ها دارند و ممکن است در الکتروفورز از ناحیه Hb-H دیده نشـــوند؛ با آزمایش‌های بررسی لام خون محیطی و رنگ آمیزی حیاتی و آزمایش‌های مولکولی تشخیص داده می‌شـــوند و گلبول‌های قرمز این افراد همانند افراد مبتلا به فاویسم "G6.PD" مســـتعد لیز شدن در صورت مواجهه با داروهای اکســـید کننده می‌باشد. در صورت کم خونی شدید و بزرگ شدن طحال، برداشتن طحال ممکن است ضروری باشد.

در افـــرادی که نقص زنجیره به صـــورت non deletioned (غیر حذفی) می‌باشد؛ کم خونی شدیدتر است.

Hb Constant Spring از جملـــه کم خونی‌های Hb-H غیـــر حذفی بوده و بعضی از مبتلایان هموزیگوت نیاز به تزریق خون دارند.

بررســـی کم خونی آلفا تالاســـمی از نظر ایجاد شرایط بهبود کیفیت زندگی مبتلایان و نیز در ازدواج‌های زوجین و تشخیص افتراقی بین آلفا و بتاتالاســـمی و تعییـــن وضعیت جنین مؤثر است.

در بحث‌های بعدی موارد اهمیت تشخیص تالاسمی آلفا ذکر خواهد شد.

در برنامه کشوری، در صورت تشخیص قطعی هموزیگوت Hb Constant spring که از نوع جهش نقطه‌ای اســـت؛ والدین می‌توانند برای ســـقط درمانی درخواست بدهند. به نظر می‌رســـد همکاران محترم کمیته کشوری منظور سقط درمانـــی Hb H-Constant spring (Hb-H-CS) بـــوده است. که در این موارد جنین مبتلا دو مورد حذف ژن و یک مورد نقطه‌ای CS باشد.

در موارد بررســـی شده از بین داوطلبین ازدواج مراجعه کننده به آزمایشـــگاه، افراد بـــا فنوتیپ و ژنوتیپ متنوعی دیده می‌شوند. مثلاً در پرونده زوج شماره ۳ این گزارش، آقا هموزیگوت Hb Constant Spring می‌باشد که نیاز به تزریق خون ندارد. در این گونه موارد، مشـــاوره و سابقه خانوادگی نقش به ســـزایی در اینکـــه زوج نیاز به ارجاع جهت تشـــخیص قبل از تولد دارند یا خیر، بســـیار کمک کننده است.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]

α-Thalassemia-Hemoglobin Patterns

Deletion	Genotype	Disease	Clinical	MCV	Electro.	% Bart's
0	αα/αα	None	Normal	Normal	Normal	0%–2%
1	-α/αα	Silent Carrier	Normal	Normal	Normal	1%–2%
2	-α/-α	α^+ Thal Trait	Mild Anemia	Low	Normal	5%–10%
	- -/αα	α° Thal Trait	Mild Anemia	Low	Normal	5%–10%
3	- -/- α	HbH	Mod Anemia	Low	Bart's Hb H	20%–40%
4	- -/ - -		Death in utero	Low	Bart's	>80%

جدول شماره (۲): تشخیص انواع آلفا تالاسمی (۱۳)

سندرم‌های بتاتالاسمی

در بتاتالاسمی بیماری با توجه به تعداد و نوع نقص ژن، یعنی β0 یا β+ و یا همراهی با هموگلوبینوپاتی های دیگر مثل β0/βS /βE و یا همراهی با نقص در ژن‌های آلفا، می‌تواند علائم متفاوتی ایجاد کند. نقص در سنتز رنجیره بتا منجر به افزایش رسوب زنجیره آلفا در سلول‌های تولید کننده رده اریتروبلاست ها شده و همچنین باعث Apoptosis (روند فیزیولوژیک مرگ سلول در مغز استخوان) و همولیز شده و کم خونی ایجاد می‌کند.

Minor-Thalassemia

در این حالت فرد ناقل، بدون علائم بالینی و دارای ضعف خفیف بوده و از نظر ژنوتیپ β0/β و یا β/β+ می‌باشد که در شرایط عفونت‌های شدید و حاملگی ممکن است با کم خونی شدیدتری مواجه شود.

β /Thalasemmia Intermedia

این نوع تالاسمی که با علائم کم خونی متوسط همراه است؛ از نظر ژنوتیپ می‌تواند β+/ β+ و یا β+/β0 بوده و یا گاهی همراه با آلفا تالاسمی اتفاق افتد. این افراد غالباً به تزریق خون نیاز ندارند و علائم کم خونی ایشان بین ۲ تا ۶ سالگی بروز می‌کند. گر چه نیاز به تزریق خون در این افراد وجود ندارد ولی مشکلات بالینی شامل تأخیر در رشد و مشکلات استخوان، هیپرتروفی مغز استخوان، تغییر استخوان چهره، پوکی استخوان که منجر به شکستگی پاتولوژیک استخوان‌های دراز می‌شود؛ سنگ صفرا، مشکلات نورولوژیک، زخم قوزک پا، آمبولی ریه و سکته مغزی و لخته عروق شکم از عوارض شایع در مبتلایان به این نوع تالاسمی می‌باشد.

Major/β-Thalassemia

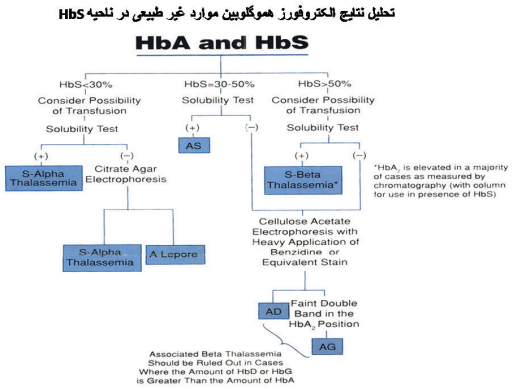
این کم خونی شدید دارای علائم متفاوتی در افراد مختلف می‌باشد. در اکثر مواقع، علائم کم خونی و عوارض آن، قبل از ۹ ماهگی بروز کرده و در بعضی مواقع شاید خفیف‌تر و در سنین بالا، با شدت بیشتری بروز نماید.

رنگ پریدگی، تنگی نفس، کم اشتهایی و عفونت‌های مکرر، تأخیر در رشد، ضربان سریع قلب، ورم شکم، یرقان و زردی پوست در این افراد دیده می‌شود. فیبروز و سیروز کبدی، بیماری‌های قلبی و آریتمی از علل اصلی کاهش عمر بیماران مبتلا می‌باشد. این افراد می‌توانند؛ با افزایش سن و تزریق منظم خون و مصرف داروهای آهن زدا (Iron chelation) و پیگیری‌های بیماری‌های غدد درون ریز زندگی تقریباً معمولی را ادامه دهند.

Minima Thalassemia

نوعی بتاتالاسمی با فنوتیپ نرمال و بدون علائم کلینیکی و تغییرات مختصر در اندکس ها که با مطالعه خانوادگی و آزمایش‌های ژنتیک قابل تشخیص می‌باشد. (۲)

کم خونی‌های ارثی می‌توانند ناقلین تالاسمی بتا توأمان به توارث برسند و یا در مواردی کم خونی‌های ارثی به صورت کیفی با جابجایی آمینو اسیدها ایجاد شوند که با توجه به شکل شماره ۱ می‌توان بررسی‌های لازم را انجام داد.



شکل شماره (۱): تحلیل نتایج الکتروفورز هموگلبین موارد غیر طبیعی در ناحیه HbS

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]

مشاوره ژنتیک و تشخیص قبل از تولد

پیش بینی ابتلا به بتا تالاسمی بستگی به تشخیص ناقلین پرخطر و ردیابی ژن مربوطه در مرحله اول تشخیص قبل از تولد دارد. در مرحله اول، تشخیص جهش‌های افراد ناقل داوطلب ازدواج، در زمان قبل از تولد، از آنجایی اهمیت دارد؛ که بتوان تشخیص قبل از تولد را انجام داد. اکنون روش‌های تهاجمی بررسی DNA، یعنی از طریق نمونه گیری از پرزهای جفتی جنین یا C.V.S(Chorionic Villus Sampling) در حدود هفته ۱۱ تا ۱۳ و یا از طریق آمینوسنتز از هفته ۱۵ تا ۱۸ امکان پذیر است. مطالعاتی در جریان است که با ردیابی نقص‌های ژن پدر و مادر و بررسی روی نمونه خون مادر (Cell Free DNA) تشخیص قبل از تولد با روش غیرتهاجمی امکان پذیر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مقاله بر روی تعدادی از داوطلبین معرفی شده از مراکز بهداشتی استان فارس به آزمایشگاه عضو شبکه تشخیص قبل از تولد شیراز، صورت گرفته است. بدیهی است که در مراکز مشاوره با بررسی نتایج MCV، MCH و HbA2، زوجین پر خطر با توجه به الگوریتم مصوبات کمیته کشوری برای تشخیص پیش از تولد به آزمایشگاه معرفی می‌شوند.

زوجین با فرم شماره ۳، حاوی نتایج آزمایش‌های اندکس های خونی شامل CBC و الکتروفورز، به آزمایشگاه مورد تأیید معرفی می‌شوند. پس از تکمیل فرم اطلاعات، رضایت نامه و همچنین احراز هویت، خونگیری انجام شده و پس از استخراج DNA، با توجه به پارامترهای اندکس‌های خونی و درخواست پزشک مشاور، آزمایش‌های مولکولی انجام می‌شود. در خصوص افراد مشکوک به آلفا تالاسمی حذف‌های شایع با متدهای Gap-PCR بررسی می‌شود. جهت بررسی جهش‌های نقطه‌ای احتمالی در زنجیره‌های آلفا از روش Sequencing استفاده می‌شود. همچنین در صورت نیاز آلفا MLPA با استفاده از کیت (SALSA MLPA Probmix P140) برای بررسی حذف و اضافه شدگی احتمالی در ژن، انجام می‌گیرد. دستگاه Genetic Analyzer مدل‌های 3130 XL و 3500 DX جهت خوانش محصولات Sequencing و MLPA استفاده می‌گردد.

در خصوص زوجین مشکوک به بتا تالاسمی به روش مستقیم، ردیابی جهش‌های نقطه‌ای به روش Sequencing انجام می‌گیرد. در صورت عدم موفقیت در تعیین جهش نقطه‌ای، به منظور ردیابی حذف‌ها روش B-MLPA با کمک کیت(SALSA MLPA Probmix P102) مورد استفاده قرار می‌گیرد. دستگاهGenetic Analyzer مدل‌های 3130 XL و 3500 DXجهت خوانش محصولات Sequencing و MLPA مورد استفاده قرار می‌گیرند. در صورتی که یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا باشد و فرد مقابل مشکوک به کم خونی باشد؛ فرد مشکوک نیز مورد بررسی کامل آزمایش‌های مولکولی بتا قرار می‌گیرد.

توضیحا در خصوص زوجین معرفی شده برای مرحله اول، این مرکز به صورت متقابل آلفای ایشان را نیز مورد بررسی قرار می‌دهد و نتایج برای پیگیری‌های بعدی به مراکز بهداشتی ارسال می‌گردد.

در صورت معرفی خانواده‌ای جهت انجام مرحله دوم تشخیص قبل از تولد با داشتن فرم شماره ۲ از سوی مراکز بهداشت، نمونه گیری از جنین در هفته ۱۱ تا ۱۳ بارداری، به صورت CVS (پرزهای جفتی جنینی) و یا در موارد مراجعه دیرهنگام یعنی در حدود هفته ۱۵ بارداری با اخذ تعهد نامه، به صورت آمنیوسنتز، در مراکز مربوطه صورت می‌گیرد. شایان ذکر است؛ پزشک نمونه گیر در هر دو صورت، رضایت نامه‌ای مبنی بر وجود احتمال ۱ تا ۲ درصد سقط جنین در حین و بعد از نمونه گیری را از زوجین دریافت می‌کند.

آزمایشگاه با توجه به تشخیص جهش در مرحله اول نسبت به ردیابی جهش‌ها و حذف‌های یافت شده در مرحله اول، وضعیت جنین را مورد بررسی و گزارش قرار می‌دهد. جهت حصول اطمینان از نظر عدم آلودگی نمونه مادری و جنین روش QF-PCR انجام می‌گیرد.

غربالگری نوزادان در اوایل تولد به منظور تشخیص، درمان و مدیریت بیماری‌های ژنتیک ارثی در بیشتر کشورها انجام می‌شود. در این صورت با تشخیص زود هنگام و تحت

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]

نظر گرفتن این نوزادان و درمان مؤثر از ابتدای تشخیص و بدون تأخیر از غیر قابل برگشت بودن زندگی طبیعی نوزادان می‌توان جلوگیری کرد. این غربالگری بیماری‌های متابولیک را شامل می‌شود. این غربالگری‌ها در بسیاری از کشورها به صورت کامل و در برخی از کشورها به صورت محدود صورت می‌گیرد. در خصوص زوج ناقلین پر خطر در صورت تشخیص بیمار بودن جنین به پزشکی قانونی جهت سقط درمانی ارجاع داده می‌شوند.

گر چه غربالگری‌های دیگر برای ردیابی بیماری‌های متابولیک و کمبود آنزیم G6PD پس از تولد صورت می‌گیرد. کامل شدن مقادیر اجزای هموگلوبین نوزادان معمولاً تا یک سالگی طول می‌کشد.

❑ مشاوره ژنتیک

با عنایت به مقادیر پارامترهای M.C.V و M.C.H پیشنهادی کمیته تشخیص قبل از تولد، زوج‌های پر خطر از طرف مراکز بهداشتی و متخصصین خون شناسی و مشاورین ازدواج، معرفی می‌شوند.

در خصوص افراد با اندکس های مشکوک به بتا تالاسمی با روش مستقیم توالی یابی (Sequencing) و در صورت نیاز B-MLPA نسبت به شناسایی جهش‌ها و یا حذف‌های احتمالی ژن اقدام می‌شود و نتایج بررسی ژن برای مراکز بهداشتی ارسال و در صورت نیاز به P.N.D با فرم شماره ۲ به منظور نمونه گیری از جنین و بررسی وضعیت جنین مجدداً به آزمایشگاه ارجاع داده می‌شوند و به منظور ردیابی مرحله دوم با ارائه گواهی به مراکز بهداشتی معرفی می‌شوند.

در خصوص افراد با اندکس های مشکوک به آلفا تالاسمی نیز پس از بررسی اولیه حذف‌های شایع و نیز با انجام آزمایش توالی یابی ژن و ردیابی جهش‌های نقطه‌ای یا در مواردی با روش α-MLPA نسبت به شناسایی حذف‌های تاثیرگذار اقدام می‌شود. سپس پیشنهاد انجام مرحله دوم تشخیص قبل از تولد و یا عدم نیاز به مرحله دوم، با ارائه گواهی به مراکز بهداشتی اعلام می‌گردد.

با اینکه بسیاری از حذف‌ها در ژن آلفا بی خطر بوده و بعضی می‌توانند باعث ابتلا جنین به Hb-H گردند که فنوتیپ نامشخصی دارند و لزوماً همه آن‌ها نیاز به تزریق خون ندارند و از طرفی محدودیت سقط درمانی از نظر شرعی - قانونی وجود دارد.

پزشکان مشاوره و آزمایشگاه‌ها در پیشنهاد به انجام آزمایش‌های قبل از تولد و یا عدم نیاز دچار سردرگمی می‌باشند. در این گونه موارد این مرکز ضمن هشدار به امکان تولد جنین با کم خونی خفیف تا متوسط زا گزارش نموده و تصمیم را به عهده مشاورین و مراکز بهداشتی و متخصصین خون شناس واگذار می‌نماید.

با اینکه بسیاری از حذف‌ها در آلفا تالاسمی بی خطر و براساس جداولی که استاد دکتر گل افشان در مقالات گذشته این نشریه به صورت مبسوط ارائه داده‌اند؛ جنین دچار کم خونی Hb-H می‌گردند و گاها حذف‌هایی که با جهش‌های B° وجود دارند نیاز به تزریق خون دارند. با عنایت به مصوبات کمیته کشوری و محدودیت‌های شرعی و قوانین پزشکی قانونی در رابطه با عدم صدور مجوز سقط درمانی باعث سردرگمی پیشنهاد تشخیص قبل از تولد با توجه به عدم توانایی پیش بینی در فنوتیپ آینده جنین، مشکلات قانونی برای مشاورین مراکز بهداشتی ایجاد می‌شود.

گاها در مقالات و گزارش‌ها به صورت‌های موردی، نیاز به تزریق خون در افرادHb-H-disease مطرح می‌شود ولی به خاطر مسائل شرعی، پزشک مشاور و آزمایشگاه‌های ژنتیک، با محدودیت‌هایی مواجه هستند که با قطعیت نمی‌توانند پیشنهاد تشخیص قبل از تولد و یا مجوز سقط درمانی را صادر کنند. در حالی که، در صورت تولد جنین وابسته به تزریق خون و شکایت والدین در بین راهروهای مراجع قضایی ممکن است با احکام غیر علمی و کارشناسی محکوم گردند.

❑ چشم اندازها و امیدها

مطالعاتی در حال انجام است که با روش‌های غیر تهاجمی از جمله NIPT (Noninvasive Prenatal Testing) جنین‌های مبتلا به بیماری‌های تک ژنی از جمله تالاسمی، شناسایی و در این صورت، خطر سقط جنین در روش تهاجمی حذف می‌شود.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]

چالش‌ها

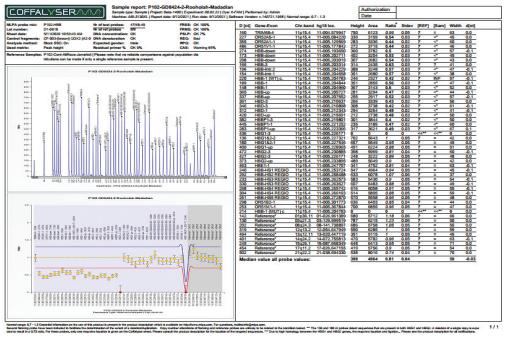
در گزارش زیر چند مورد چالشی معرفی شده به این مرکز مورد بررسی قرار می‌گیرد:

در پروتکل‌های کمیته کشوری تالاسمی که با نظر اساتید بالینی و متخصصین ژنتیک ابلاغ شده؛ گاهی ابهاماتی وجود دارد که امید است در آینده با مطالعه و گزارش بیشتر همکاران بتوان با اطمینان بیشتر پاسخگوی زوجین باشیم. بیشترین اهمیت تشخیص هموگلوبینوپاتی به منظور تشخیص قبل از تولد و جلوگیری از تولد نوزادهای وابسته به تزریق خون می‌باشد.

بر اساس پروتکل‌های موجود زوجین با پارامترهای CBC و الکتروفورز مورد پایش قرار گرفته و کم خطر و پر خطر بودن آن‌ها بر اساس این پارامترها در نظر گرفته شده و برای تشخیص قبل از تولد معرفی می‌شوند. موارد زیر نمونه‌های از پیچیدگی‌های تشخیص آورده شده است.

زوجین شماره ۱

خانم به عنوان ناقل بتا و آقا با MCH:18.1 و MCV:59.8 و RBC بالا معرفی شده‌اند (جدول شماره ۳). جهش خانم IVS-I-5 تشخیص قطعی داده شده و طبق پروتکل داخلی این مرکز، علیرغم نرمال بودن HbA2 آقا، سکانس بتا برای ایشان انجام شده و نرمال می‌باشد و چون در ژن آلفا نیز حذف و جهش نقطه‌ای دیده نشده؛ MPLA β انجام گرفت و حذف بزرگ در ژن بتا کشف شد که زوج برای مرحله ۲ تشخیص قبل از تولد معرفی شدند. در این مورد اگر بدون توجه به نرمال بودن HbA2، MPLA β صورت نمی‌گرفت، در هر حاملگی ۲۵٪ امکان تولد فرزند بیمار وجود داشت.



شکل (۲): جهش حذفی بزرگ در ژن بتا گلوبین به صورت هتروزیگوت در آقای زوج ۱

زوجین شماره ۲

خانم با MCV، MCH و Hb پایین، HbH:0.7 و Hb bart:2.3 و HbS:18.6 و آقا با MCV و MCH پایین و Hb بالا و هر دو با HbA2 نرمال معرفی شدند (جدول شماره ۳).

در آزمایش‌های ژنتیک، خانم از نظر Alpha MLPA نرمال بود اما دارای جهش‌های هموزیگوت T^{Saudi} (یا Poly A1) در ژن آلفا و هتروزیگوت Hb S در ژن بتا تشخیص داده شد. آقا از نظر سکانس بتا و نیز از نظر سکانس آلفا نرمال ولی دارای حذف $(\alpha\text{-}\alpha^{3.7}/\alpha\alpha)$ تشخیص داده شد. احتمال تولد فرزند با کم خونی خفیف تا متوسط وجود دارد ولی چون در دستورالعمل کشوری حتی در صورت تولد جنین با کم خونی متوسط سقط درمانی از نظر پزشک قانونی مورد سؤال است عدم نیاز به PND داده شد. ولی به والدین در این خصوص اطلاع رسانی شد که تولد فرزندی با کم خونی متوسط تا شدید وجود دارد و تصمیم تشخیص قبل از تولد به عهده خودشان است.

شکل (۳): تشخیص جهش Poly A1 به صورت هموزیگوت در تعیین توالی ژن آلفا گلوبین خانم زوج ۲

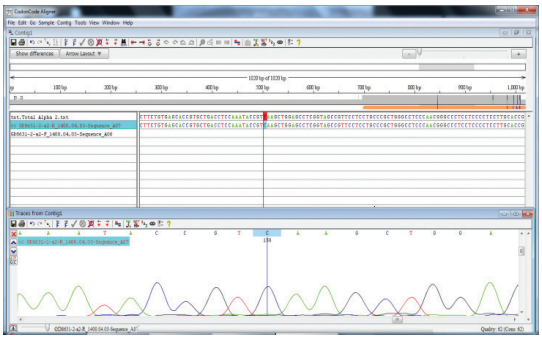
زوجین شماره ۳

در پروتکل کشوری در جنین‌های دارای جهش‌های نقطه‌ای شانس دریافت خون در متولدین وجود دارد و می‌توان اقدام به سقط درمانی نمود.

در این مورد آقا در الکتروفورز HbCS:4.6 داشته و با Hb:12.7 مراجعه و در بررسی ژن آلفا هموزیگوت Hb Constant Spring می‌باشد (جدول شماره ۳) و می‌توانسته به خواست والدین سقط درمانی شود.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]

نقش مشـــاورین مرکز بهداشـــت و آزمایشگاه‌های ژنتیک و هماتولوژیســـت‌ها در این موارد و تصمیم گیری چالشـــی اســـت که قانونا می‌توان پیشنهاد قبل از تولد داده شود و از نظر پزشک قانونی در صورت هموزیگوت بودن مجوز سقط درمانی دریافت می‌کنند ولی دیدن این موارد از نظر اخلاق حرفه‌ای تصمیم گیری ســـختی را به دنبال دارد. گر چه در مبتلایـــان Hb Constant Spring (Hb H-CS) نیـــاز به تزریـــق مکرر و طولانی مدت خون وجود دارد و پیشـــنهاد سقط درمانی منطقی و عملی است.



شکل (۴): تشخیص جهش Hb CS به صورت هموزیگوت در تعیین توالی ژن آلفا گلوبین آقای زوج ۳

زوجین شماره ۴

خانم با پارامترهای مشکوک به بتاتالاسمی و آقا مشکوک به آلفاتالاسمی معرفی شده‌اند. جالب اینکه خانم باHbA2 بالا، در بررســـی ســـکانس و MLPA بتا هیچ گونه جهش نقطه‌ای و حذف نداشته است. موارد مشابه در دیگر زوجین نیز وجود داشته است (جدول شماره ۳).

در مطالعات صورت گرفته دو حالت در این گونه بیماران امکان وقوع دارد.

الـــف) Allele drop during PCRکـــه در این حالت می‌تواند یـــک SNP و حذف کوچک با آلـــل جهش یافته جفت شـــده باشد. که در خصوص این بیماران دوبار مراحل تکرار شد. در بررسی این پرونده چون آقا از نظر بتا تالاسمی نرمال بود عدم نیاز به تشخیص قبل از تولد گواهی شد.

ب) یک ژن دیگر در بروز میکروســـیتیک هیپوکرومیک و افزایـــش HbA2 درگیـــر اســـت؛ مثـــلاً ژن‌هـــای SUPT5H,GTF2E2,GATA1,ASH1L,KLF1 کـــه روی بـــازوی بلند کروموزوم ۱۹ یـــک جهش اتفاق می‌افتد و ایـــن جهش‌ها روی این ژن‌ها قادرند بیان ژن بتا را درگیر کـــرده و ID محـــل را تحـــت تأثیر قـــرار داده و این حالت beta thalassemia like phenotype را ایجـــاد کنـــد. StOP codon. (۸،۹،۱۰،۱۱،۱۲)

آزمایش‌های تکمیلی co-segregation test روی سایر افراد خانواده و مطالعه فنوتیپ مشـــترک افراد با فرد مورد نظـــر اهمیت فراوانی دارد. در این مورد نیاز به عدم P.N.D اطلاع رسانی شد.

زوجین شماره ۵

بر اســـاس پروتکل کشـــوری و مشـــاهدات مـــوردی، در بعضـــی از زوجین، یکی دارای نقـــص در ژن آلفا به صورت Triple Alpha و دیگری دارای یک جهش β0 می‌باشند. در این موارد، نمونه گیری از جنین پیشنهاد می‌شود. در این زوج آقا به طور مشـــترک دارای جهش Triple Alphaدر ژن آلفـــا و نیز دارای یک جهش β0 می‌باشـــد در حالی که هموگلوبین نرمال داشـــته و خود بـــرای ازدواج اقدام نموده است (جدول شماره ۳).

در مواردی هم که به صورت تالاسمی متوسط بروز کرده سردرگمی پیشـــنهاد PND برای مراکز ژنتیک و پزشکان مشاور وجود دارد و فنوتیپ شبیه تالاسمی متوسط دارند.

در نهایت امید اســـت با گزارش‌هـــای به روز موارد جدید توسط همکاران و مراکز بهداشتی با توجه به تنوع ژنوتیپ و فنوتیپ سندرم‌های تالاسمی از تولد موارد جدید نیازمند به دریافت خون جلوگیری شود و کمیته کشوری بر اساس این گزارش‌ها راهکارهایی ارائه دهد.

در این مرکز در مشاورات ژنتیک در صورتی که مواردی شـــبیه زوجین شـــماره ۳ و ۵ مراجعه نمایند و فرزند وابسته به تزریق خون داشته باشند پیشنهاد تشخیص قبل از تولد برای جنین بعدی داده می‌شـــود. ولی در صورتیکه فاقد فرزند باشـــند توصیه می‌شود که انتظار تولد فرزندی با کم خونی خفیف تا متوســـط را داشته باشند و در این صورت برای فرزند بعدی جهت تشخیص قبل از تولد مراجعه نمایند.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]

	زوج شماره ۱	زوج شماره ۲	زوج شماره ۳	زوج شماره ۴	زوج شماره ۵
Hb	خانم: ۱۱,۲ آقا:۱۲,۳	خانم: ۹,۱ آقا: ۱۷,۱	خانم: ۱۰,۴ آقا: ۱۲,۷	خانم: ۱۳,۳ آقا: ۱۴,۸	خانم: ۱۲,۶ آقا: ۱۲,۸
MCH	خانم: ۱۷,۸ آقا: ۱۸,۱	خانم: ۱۴,۵ آقا: ۲۶,۳	خانم: ۱۹ آقا: ۲۲,۳	خانم: ۲۳,۷ آقا: ۲۲,۷	خانم: ۲۵,۹ آقا: ۱۳,۳
MCV	خانم:۶۰,۵ آقا:۵۹,۸	خانم: ۴۷,۹ آقا: ۷۷,۷	خانم: ۶۵,۶ آقا: ۷۶	خانم: ۷۶,۶ آقا:۷۴,۷	خانم: ۷۸,۴ آقا: ۶۲,۲
Hb A2	خانم: ۵ آقا: ۲,۹	خانم: ۲,۴ آقا: ۲,۴	خانم: ۴,۱ آقا: ۱,۲	خانم: ۵,۷ آقا: ۲,۷	خانم: ۳,۱ آقا: ۵,۷
Hb Variant		خانم: Hb H: 0.7 Hb Bart: 2.3 Hb A: 76.0 Hb S:18.6	آقا: Hb CS:4.6 Hb variant:0.4		
Genotyping	خانم: دارای جهش IVSI-5 به صورت هتروزیگوت آقا: دارای جهش حذف بزرگ در ژن بتا گلوبین به صورت هتروزیگوت	خانم: دارای جهش HbS به صورت هتروزیگوت و جهش T^{Suidi} به صورت هموزیگوت در ژن آلفا گلوبین آقا: دارای جهش حذف ۳,۷ هتروزیگوت در ژن آلفا گلوبین	خانم: دارای جهش IVSI-I به صورت هتروزیگوت در ژن بتاگلوبین و جهش Hb Constant Spring به صورت هتروزیگوت در ژن آلفا گلوبین آقا: دارای جهش Hb Constant Spring به صورت هموزیگوت در ژن آلفا گلوبین	خانم: با داشتن فنوتیپ ناقل بتا، فاقد جهش در ژن بتا گلوبین و نیز فاقد جهش حذفی شایع در ژن آلفا گلوبین آقا: دارای جهش جهش حذف ۳/۷ به صورت هموزیگوت در ژن آلفا گلوبین	خانم: دارای جهش حذفی ۳/۷ به صورت هتروزیگوت در ژن آلفا گلوبین و فاقد جهش در ژن بتا گلوبین آقا: دارای جهش IVSII-1 به صورت هتروزیگوت در ژن بتا گلوبین و جهش Triple Alpha به صورت هتروزیگوت در ژن آلفا گلوبین

جدول شماره (۳)

References:

1- Thalassemia Syndromes-New Insights and Transfusion Modalities. Zakaria, M., Hassan, T., Sherief, L., & Erhabor, O. (2023).

2- Classification of the disorders of hemoglobin. Forget, B. G., & Bunn, H. F. (2013). Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 3(2), a011684.

3- Prevalence of hemoglobinopathies and hemoglobin variants. KC SR, B. S., & Gyawali, P. (2017). Nepal Med Coll J, 19(3), 121-6.

4- Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. Modell, B., & Darlison, M. (2008). Bulletin of the World Health Organization, 86(6), 480-487.

5- Thalassemia: a disorder of globin synthesis. Sheth S, & Thein S (2021). Kaushansky K, & Prchal J.T., & Burns L.J., & Lichtman M.A., & Levi M, & Linch D.C.(Eds.), Williams Hematology, 10e.

6- Hemoglobin H-constant spring in North America: an alpha thalassemia with frequent complications. Singer, S. T., Kim, H. Y., Olivieri, N. F., Kwiatkowski, J. L., Coates, T. D., Carson, S., ... & Thalassemia Clinical Research Network. (2009). American journal of hematology, 84(11), 759.

7- Haemoglobinopathy diagnosis. Bain, B. J., & Rees, D. C. (2025).Chapter 2. Page 75.

8- Loss-of-function variants in SUPT5H as modifying factors in Beta-Thalassemia. Harteveld, C. L., Achour, A., Fairuz Mohd Hasan, N. F., Legebeke, J., Arkesteijn, S. J., Huurne, J. T., ... & Baas, F. (2024). Loss-of-function variants in SUPT5H as modifying factors in Beta-Thalassemia. International Journal of Molecular Sciences, 25(16), 8928.

9- GTF2E2 mutations destabilize the general transcription factor complex TFIIE in individuals with DNA repair-proficient trichothiodystrophy. Kuschal, C., Botta, E., Orioli, D., Digiovanna, J. J., Seneca, S., Keymolen, K., ... & Stefanini, M. (2016).. The American Journal of Human Genetics, 98(4), 627-642.

10- GATA1 mutations in red cell disorders. Ling, T., & Crispino, J. D. (2020). IUBMB life, 72(1), 106-118.

11- ASH 1L (a histone methyltransferase protein) is a novel candidate globin gene regulator revealed by genetic study of an English family with beta-thalassaemia unlinked to the beta-globin locus. Breton, A., Theodorou, A., Aktuna, S., Sonzogni, L., Darling, D., Chan, L., ... & Thein, S. L. (2016). British journal of haematology, 175(3), 525-530.

12- KLF1 gene mutations cause borderline HbA2. Perseu, L., Satta, S., Moi, P., Demartis, F. R., Manunza, L., Sollaino, M. C., ... & Galanello, R. (2011). Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 118(16), 4454-4458.

13- Weiner MA, Yamashiro DJ, Satwani P, Bhatia M, Neunert C. Pediatric Hematology & Oncology Secrets. Elsevier Health Sciences; 2022 Oct 20.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-07]