

بررسی چالش‌ها و فرصت‌های غربالگری آلفا تالاسمی در برنامه‌ی غربالگری بتا تالاسمی در جمهوری اسلامی ایران

محسن میرزاخانی^۱، محمدجواد طراحي^۲، عاطفه باقرصاد^۳، محمدرضا مراثی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در دستورالعمل غربالگری بتا تالاسمی ایران زوجین با اندکس خونی $HbF < 3\%$ و $HbA2 < 3/5\%$ ، $MCH = 27-26$ ، $MCV = 80-75$ به عنوان زوج مشکوک کم خطر طبقه‌بندی می‌شوند و انجام آزمایشات ژنتیک در این زوجین اجباری نمی‌باشد. اگر شاخص‌های خونی افراد ناقل آلفا تالاسمی (دارای ۱ حذف یا ۲ حذف ژن آلفا) در محدوده‌ی زوج کم خطر باشد در برنامه‌ی غربالگری بتا تالاسمی قادر به شناسایی این زوجین نخواهیم بود ولی در صورتی که شاخص‌های خونی ناقلین آلفا تالاسمی در محدوده‌ی زوج مشکوک پرخطر باشد با دستورالعمل غربالگری بتا تالاسمی امکان شناسایی این زوجین امکان‌پذیر خواهد بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی با استفاده از نتیجه آزمایش PND اطلاعات ۲۳۵۹ فرد مبتلا به آلفا تالاسمی که طی سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۷ در ۲۲ مرکز مشاور ازدواج استان اصفهان شناسایی شده‌اند، استخراج شد و شاخص‌های خونی MCV ، MCH افراد ناقل آلفا تالاسمی با مقادیر زوج کم خطر و پرخطر زوج ناقل بتا تالاسمی مقایسه شد.

یافته‌ها: میانگین MCH و MCV زوجین مبتلا به ۱ و ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی به ترتیب در محدوده‌ی زوج کم خطر و پرخطر بتا تالاسمی می‌باشد.

نتیجه‌گیری: دستورالعمل غربالگری بتا تالاسمی قادر به شناسایی افراد دارای ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی می‌باشد در صورتی که این دستورالعمل در شناسایی افراد دارای ۱ حذف ژن آلفا کارایی ندارد. بنابراین می‌توان گفت با دستورالعمل حال حاضر می‌توان از بروز و عوارض بارداری در مادران دارای نوزاد هموگلوبین بارت پیشگیری نمود، ولی شناسایی بیماری هموگلوبین H امکان‌پذیر نیست.

واژگان کلیدی: آلفا تالاسمی؛ بتا تالاسمی؛ هیدروپس فتالیس؛ هموگلوبین H

ارجاع: میرزاخانی محسن، طراحي محمدجواد، باقرصاد عاطفه، مراثی محمدرضا. بررسی چالش‌ها و فرصت‌های غربالگری آلفا تالاسمی در برنامه‌ی غربالگری بتا تالاسمی در جمهوری اسلامی ایران. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۳؛ ۴۲ (۷۸۸): ۹۲۰-۹۲۷.

مقدمه

آلفا-تالاسمی، یک اختلال ارثی است که در آن سنتز زنجیره‌ی آلفا-گلوبین به طور کلی کاهش یا ناپدید می‌شود (۱). این بیماری، شایع‌ترین اختلال ژنتیکی در جهان محسوب می‌شود و به خصوص در کشورهای مدیترانه‌ای، جنوب شرق آسیا، آفریقا، خاورمیانه و هندوستان شایع است (۲). حذف تک ژنی $\alpha 3.7$ شایع‌ترین جهش در ایران است (۳).

ژن‌های آلفا تالاسمی در کروموزوم ۱۶ وجود دارند و بیماری بصورت اتوزومال مغلوب منتقل می‌شود (۴) اشخاص طبیعی ۴ ژن

آلفا ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$) دارند. بنابراین، طیف آلفا-تالاسمی شامل حذف یک، دو، سه یا چهار ژن آلفا-گلوبین است (۵). در حاملان بیماری آلفا-تالاسمی خاموش (α silent carriers) تنها یک ژن حذف می‌شود (α/α) و هیچ ناهنجاری بالینی نشان نمی‌دهند (۵). افراد دارای ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی (آلفا تالاسمی مینور) اعم از ژنوتیپ ($\alpha\alpha$ -) یا (α -) دارای طیفی از علائم طبیعی تا ملایم (آنمی هیپوکرومیک) دارند (۵).

حذف ۳ ژن آلفا-گلوبین (α - / -) موجب بروز بیماری $Hb H$ می‌شود که به عنوان آلفا-تالاسمی متوسط شناخته می‌شود. این حالت

۱- کارشناس ارشد اپیدمیولوژی، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- پزشک، گروه ژنتیک، مرکز کنترل بیماری‌های غیر واگیر، وزارت بهداشت و درمان، تهران، ایران

۴- استاد، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر محمد رضا مراثی؛ استاد، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: mrrmaracy@yahoo.co.uk

طور کلی، این بارداری‌ها با خطر بالا همراه بوده و تقریباً همیشه با برخی مشکلات زایمانی همراه هستند (۷، ۸)

از سال ۱۳۷۵، برنامه‌ی غربالگری بتاتالاسمی برای شناسایی زوجین مبتلا به بتاتالاسمی استفاده می‌شود. بر اساس دستورالعمل کشوری زوجینی که $HgF < 3\% / HgA2 < 27-26$ ، $MCH = 75-80$ دارند، به عنوان زوج مشکوک کم خطر طبقه‌بندی می‌شود و انجام آزمایشات تشخیص ژنتیک در این زوج اجباری نمی‌باشد. اگر یکی از شرایط فوق نقض شود، زوج به عنوان زوج مشکوک پرخطر طبقه‌بندی می‌شود و انجام آزمایشات ژنتیک در این زوج اجباری می‌باشد (۹).

شیوع بالای جهش‌های آلفا تالاسمی و عوارض بیماری HbH و سایر انواع آلفا-تالاسمی نیاز به بهبود روش‌های غربالگری را نیازمند توجه ویژه نموده است (۱۰). غربالگری آلفا تالاسمی، بصورت رسمی در برنامه‌ی غربالگری کشوری بصورت رسمی گنجانده نشده است؛ هرچند در زمان گزارش نتیجه (Prenatal Genetic Diagnosis) نوع جهش‌های آلفا تالاسمی توسط آزمایشگاه ژنتیک در جواب آزمایش درج می‌شود.

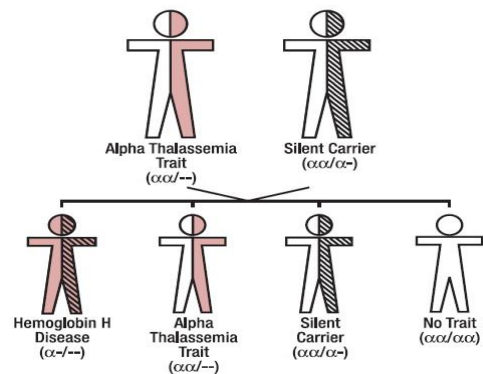
در این مطالعه، پارامترهای خونی والدین با حذف یک و دو ژن آلفا گلوبین بررسی شد. اگر شاخص‌های خونی MCH ، MCV این افراد در محدوده‌ی زوج مشکوک کم باشد، احتمال عدم شناسایی زوجین با ژنوتیپ‌های $(-\alpha/\alpha\alpha)$ و $(-\alpha/\alpha\alpha)$ وجود دارد و در نتیجه برنامه‌ی غربالگری بتاتالاسمی قادر به شناسایی بیماری HbH و Hb نخواهد بود ولی در صورتی که شاخص‌های خونی MCH ، MCV زوجین $(-\alpha/\alpha\alpha)$ و $(-\alpha/\alpha\alpha)$ در محدوده‌ی زوج مشکوک پرخطر قرار گیرد، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که برنامه‌ی غربالگری بتاتالاسمی قادر به شناسایی زوجین با ژنوتیپ‌های $(-\alpha/\alpha\alpha)$ و $(-\alpha/\alpha\alpha)$ می‌باشد و بیماری HbH و Hb از این طریق قابل پیشگیری هستند.

روش‌ها

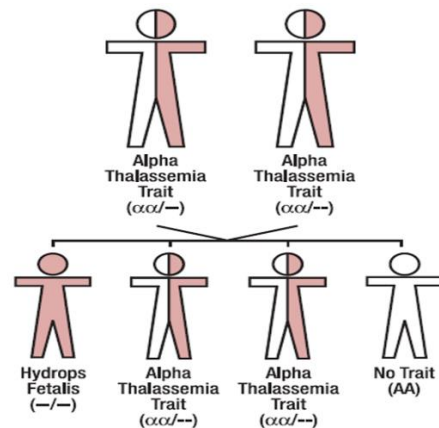
این مطالعه یک بررسی در زمینه‌ی اپیدمیولوژی بالینی بود. در برنامه‌ی غربالگری تالاسمی ابتدا از کلیه‌ی داوطلبین ازدواج مرد، نمونه‌گیری خون جهت انجام CBC به عمل می‌آید. در صورتی که اندکس‌های خونی در آزمایش اولیه پایین ($MCV < 80$ یا $MCH < 27$) باشد، از داوطلب زن نیز نمونه گرفته می‌شود. در صورتی که در زن $80 > MCV$ یا $27 \geq MCH$ گواهی ازدواج صادر شده و در صورت کم خونی زن، ادامه‌ی روند تشخیص با آزمایش کروماتوگرافی ستونی $HbA2$ در هر دو نفر (زوج و زوجه) صورت می‌گیرد. در این مرحله در صورتی که $HbA2$ در هر دو نفر بین ۳/۵ تا ۷ باشد، تشخیص تالاسمی مینور برای زوج تحت آزمایش، قطعی می‌گردد و در صورتی

از بیماری نتیجه‌ی ازدواج زوج با ژنوتیپ $(-\alpha/\alpha\alpha)$ و $(-\alpha/\alpha\alpha)$ می‌باشد. بیماران مبتلا به این اختلال آنمی همولیتیک مزمن با شدت متغیر نشان می‌دهند (۶) (شکل ۱).

وقتی هر چهار ژن حذف یا نفعال باشند، نتیجه‌ی آن به عنوان سندرم هموگلوبین بارت هیدروپس فتالیس (Hb) یا آلفا تالاسمی اصلی $(-/-)$ شناخته می‌شود. این شکل از بیماری با زندگی خارج از رحم سازگار نیست و باعث سقط جنین خود به خودی خواهد شد. اگر هر دو والدین ناقل حذف دو ژن آلفا-گلوبین $(-\alpha/\alpha\alpha)$ یا $(-\alpha/\alpha\alpha)$ باشند خطر بروز هموگلوبین بارت ۲۵ درصد خواهد بود (۶) (شکل ۲).



شکل ۱: الگوی انتقال هموگلوبین H disease (Hb H)



شکل ۲: الگوی انتقال بارت هیدروپس فتالیس $(-/-/-/-)$ Hydrops Fetalis

مشکلات جدی مادری ممکن است در طول بارداری رخ دهد. در واقع، در زنانی که جنین هیدروپیک دارند و مراقبت پزشکی کافی دریافت نمی‌کنند، نرخ مرگ و میر مادری می‌تواند ۵۰ درصد شود. ۶۱ درصد زنان با جنین هموگلوبین بارت مبتلا به افت فشارخون، ۳۰ درصد از آنها با پری‌اکلامپسی شدید و ۱۱ درصد با خونریزی قبل از زایمان مواجه می‌شوند. چندین مشکل جدی دیگر ممکن است رخ دهد از جمله نقص کلیه، زایمان زودرس، نارسایی قلبی و غیره به

یافته‌ها

از بین ۲۵۳۹ نفر آلفا تالاسمی بررسی شده ۲۲۵۱ نفر دارای حذف ۱ ژن آلفا، ۲۶۷ نفر دارای ۲ حذف ژن آلفا و ۲۱ نفر دارای ۳ حذف ژن آلفا (بیماری هموگلوبین H) داشتند. جهت اطمینان از صحت میانگین شاخص‌های خونی و پیشگیری از تورش‌های احتمالی افراد دارای ۱ حذف ژن آلفا تالاسمی در ۳ گروه جهش‌های حذفی، جهش‌های غیر حذفی و تغییرات نکلوتیدی مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). شایع‌ترین جهش آلفا تالاسمی در داده‌های جمع‌آوری شده، جهش $\alpha 3.7$ می‌باشد. شیوع این جهش (۷۲/۷ درصد) می‌باشد که مطابق با مطالعات قبلی انجام شده در استان اصفهان است (۱۲، ۱۴). میانگین شاخص‌های خونی، MCV، MCH در هر ۳ گروه افراد دارای حذف ۱ ژن آلفا در محدوده‌ی (۲۶-۲۷، MCH = ۷۵-۸۰، MCV) قرار دارد و این زوجین در گروه زوج مشکوک کم خطر طبقه‌بندی شده بودند.

افراد دارای ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی ممکن است دارای ژنوتیپ (α/α) و ژنوتیپ $(-\alpha/\alpha)$ باشند. بر اساس مطالعه‌ی Villegas و همکاران، تفاوتی در میزان MCV، MCH این ۲ گروه وجود ندارد، به همین دلیل طبقه‌بندی در افراد دارای ۲ حذف ژن آلفا انجام نشد (۱۵). میزان شاخص‌های خونی این گروه در جدول ۲ گزارش شده است. میانگین MCV و MCH در زوجین مبتلا به حذف ۲ ژن آلفا تالاسمی به ترتیب $0.12 \pm 22/3$ ، $0.3 \pm 71/2$ می‌باشد و جهش $(\alpha 3.7, \alpha 3.7)$ شایع‌ترین جهش این گروه بود.

در بین اطلاعات جمع شده، ۲۱ نفر نتیجه PND دارای ۳ حذف ژن آلفا گزارش شده بود که این افراد به عنوان بیماری هموگلوبین H شناخته می‌شوند. همان‌گونه که در جدول ۳ گزارش شده است، میانگین شاخص‌های خونی MCV، MCH افراد دارای هموگلوبین H کاملاً در محدوده‌ی زوج مشکوک پرخطر قرار می‌گیرد.

جهت بررسی اینکه آیا میانگین شاخص‌های خونی MCV، MCH در افراد دارای ۲ حذف ژن آلفا در نمونه‌ی جمع‌آوری شده با حداقل میزان شاخص‌های خونی تعیین شده جهت زوج مشکوک کم خطر (۲۶ = MCV، ۷۵ = MCH) در دستورالعمل بتاتالاسمی تفاوت آماری دارد یا خیر از آزمون Independent sample T-test استفاده شد (جدول ۴). نتایج حاکی از آن است که میانگین شاخص‌های خونی این گروه کمتر از ۷۵ و ۲۶ می‌باشد ($P < 0.0001$). به عبارت دیگر شاخص‌های خونی این افراد در گروه زوج مشکوک پرخطر قرار می‌گیرد. طبق جدول ۴، مقدار MCV در جهش‌های "3.7, 5nt" α ، "4.2, 5nt" α ، "4.2, 4.2" α ممکن است بیشتر از ۷۵ باشد ($P < 0.05$)، اما مقدار MCH در همین جهش‌ها کمتر از ۲۶ می‌باشد و افراد دارای این جهش‌ها نیز تحت عنوان مشکوک پرخطر شناسایی می‌شوند.

که HbA2 در یک نفر و یا در هر دو کمتر از ۳/۵ باشد، با شک به فقر آهن، درمان با آهن به مدت ۳-۱ ماه انجام می‌شود.

در مرحله‌ی بعد، چنانچه پس از طی دوره‌ی درمانی، اندکس‌ها اصلاح نشود، زوج برای تعیین تکلیف به آزمایشگاه ژنتیک جهت انجام ارجاع می‌شوند (۹). در آزمایشگاه ژنتیک، با مقایسه‌ی توالی ژن به دست آمده با یک توالی نوکلئوتیدی استاندارد (PND1) جهش‌های آلفا و بتا شناسایی می‌شوند (۱۱). زوجین مبتلا به بتاتالاسمی در صورت ازدواج توسط تیم مشاوره ژنتیک شهرستان به مراکز بهداشت جهت مراقبت و انجام PND2 در زمان بارداری (حداکثر تا ۱۶ هفتگی) ارجاع داده می‌شوند. پرونده‌ی زوجین مبتلا به آلفا تالاسمی در مراکز مشاوره ازدواج بایگانی شده و تحت مراقبت و پیگیری قرار داده نمی‌شوند. آزمایش CBC در مراکز مشاوره ازدواج با دستگاه سیسمکس مدل KX21N انجام می‌شود (۱۲) و بدلیل اینکه نتایج آزمایشات هر شهرستان با استفاده از نمونه‌ی خون کنترل بصورت ماهیانه توسط مرکز بهداشت استان ارزیابی می‌شود، می‌توان از صحت و پایایی اطلاعات اطمینان حاصل نمود. معیارهای ورد به مطالعه ثبت نتایج آزمایشات مورد نیاز تحقیق در پرونده‌ی بهداشتی می‌باشد. اطلاعات مورد نیاز شامل نتایج CBC، HbA2، PND، HbF در طی فاصله‌ی زمانی سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۷ از ۲۲ شبکه بهداشت و درمان تابعه استان اصفهان با مراجعه‌ی حضوری ۲ نفر کارشناس در طی ۳ ماه جمع‌آوری گردیده است. از آنجا که ابتلا به کم خونی فقر آهن ممکن است نتیجه آزمایش CBC را مخدوش نماید (۱۳). در صورت درمان کم خونی فقر آهن، نتایج بعد از درمان با قرص آهن جهت مقایسه‌ی شاخص‌های خونی مورد استفاده قرار گرفت. معیارهای خروج از مطالعه، عدم ثبت نتیجه CBC، PND می‌باشد.

از بین ۲۵۹۰ پرونده‌ی آلفا تالاسمی بررسی شده، اطلاعات ۵۱ نفر ناقص بود و در نهایت اطلاعات ۲۵۳۹ نفر مورد بررسی قرار گرفت. معیار تشخیص آلفا تالاسمی در این افراد، آزمایش PND می‌باشد. به عبارت دیگر پس از درمان کم خونی فقر آهن، افرادی دارای $HgA2 < 3/2$ ، $MCH < 80$ ، $MCV < 75$ ، در صورت تمایل و افراد دارای $HgA2 < 3/2$ ، $MCH < 26$ ، $MCV < 75$ به اجبار جهت بررسی علت کم خونی به آزمایشگاه ژنتیک ارجاع می‌شوند. اگر در بررسی میزان $HgA2 > 3/5$ باشد، فرد به عنوان بتاتالاسمی قطعی طبقه‌بندی می‌شود.

نرم‌افزار STATA 16 جهت تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت از شاخص‌های توصیفی مانند فراوانی و درصد برای متغیرهای کیفی و میانگین برای شاخص‌های کمی استفاده شد. جهت مقایسه‌ی میانگین MCV، MCH در زوجین مبتلا به حذف ۲ ژن آلفا با حداقل میزان شاخص‌های خونی زوجین مشکوک کم خطر (۲۶ = MCV، ۷۵ = MCH) از آزمون Independent sample T-test استفاده شد.

جدول ۱. میانگین MCV, MCH, RBC, HG و ژنوتیپ افراد دارای ۱ حذف آلفا تالاسمی

میانگین \pm انحراف معیار				تعداد	ژنوتیپ	
MCH	MCV	RBC	HG			
۲۵/۳ \pm ۱/۹	۷۸/۴ \pm ۶/۱	۵/۴ \pm ۰/۵	۱۴ \pm ۱/۶	۸۱	α -۴/۲	
۲۵/۸ \pm ۱/۵	۸۰ \pm ۴	۵/۵ \pm ۰/۵	۱۴ \pm ۱/۵	۱۸۴۸	α -۳/۷	
۲۲/۶ \pm ۳/۵	۷۳/۳ \pm ۵/۷	۵/۹ \pm ۰/۸	۱۳/۶ \pm ۱/۳	۱۳	α 3.7,5nt	جهش‌های حذفی
۲۰/۸ \pm ۱/۹	۶ \pm ۴/۲	۵/۹ \pm ۱	۱۲/۵ \pm ۱/۳	۴	α 3.7, $\delta\beta$	
۲۱/۷	۶۸/۴	۶/۱	۱۳/۴	۱	$\delta\beta$	
۲۴/۹ \pm ۱/۶	۷۸/۲ \pm ۴/۳	۵/۵ \pm ۰/۵	۱۳/۸ \pm ۱/۳	۱۴۸	5nt(α 5NT α / $\alpha\alpha$)	
۲۴/۴ \pm ۱/۹	۷۵/۶ \pm ۵/۳	۵/۶ \pm ۰/۶	۱۳/۹ \pm ۱/۸	۱۵	poly A2	
۲۴/۶ \pm ۲/۵	۷۷/۱ \pm ۴/۶	۵/۴ \pm ۰/۶	۱۳/۵ \pm ۱/۷	۱۹	Hb Constant Spring (Hb CS)	جهش‌های غیر حذفی
۲۴/۵ \pm ۱/۶	۷۷ \pm ۴/۶	۵/۲ \pm ۰/۴	۱۳/۵ \pm ۱/۶	۱۳	poly A1,SA9	
۲۵/۱ \pm ۱/۱	۷۸/۶ \pm ۳/۹	۵/۵ \pm ۰/۶	۱۳/۹ \pm ۱/۳	۶۷	CD19(-G)	
۲۳/۶ \pm ۳/۱	۷۴/۷ \pm ۸/۶	۵/۳ \pm ۱/۳	۱۲/۶ \pm ۲/۳۶	۳	α 3.7,c.s	
۲۶/۲ \pm ۱/۸	۷۹/۲ \pm ۴/۴	۵/۶ \pm ۰/۷	۱۴/۶ \pm ۰/۹	۵	SA48	تغییرات نکلوتیدی
۲۶/۶ \pm ۱/۴	۸۱/۵ \pm ۳/۲	۵ \pm ۰/۷	۱۳/۷ \pm ۱/۷	۱۹	SA33	
۲۳/۵ \pm ۲/۱	۷۵/۴ \pm ۷/۶	۵/۷ \pm ۱/۲	۱۳ \pm ۳	۳	A44	
۲۵/۵ \pm ۱/۲	۷۸/۷ \pm ۲/۳	۵/۵ \pm ۰/۵	۱۴/۴ \pm ۱/۲	۳	SA53	
۲۶/۵ \pm ۱/۶	۸۲ \pm ۳/۴	۵/۳ \pm ۰/۵۴	۱۴/۲ \pm ۰/۹	۴	SA60	
۲۳/۹ \pm ۴/۳۵	۷۴/۷ \pm ۰	۵ \pm ۰	۱۲/۲ \pm ۲/۲	۳	SA67	
۲۴/۹ \pm ۰/۳	۷۸/۹ \pm ۲/۴	۶/۵ \pm ۰/۵	۱۵/۳ \pm ۰	۲	SA56	
۲۱/۴ \pm ۲۵/۶۵	۴/۱۹ \pm ۷۹/۶۴	۱/۳۸ \pm ۴/۵۵	۱/۵۹ \pm ۱۳/۹۷	۲۲۵۱		جمع کل

جدول ۲. میانگین MCV, MCH, RBC, HG و ژنوتیپ افراد دارای ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی

میانگین \pm انحراف معیار				تعداد	ژنوتیپ
MCH	MCV	RBC	HG		
۲۰/۷ \pm ۱/۱	۶۵/۹ \pm ۳/۶	۶/۲ \pm ۰/۶	۱۲/۹ \pm ۱/۳	۳۷	α -20.5
۲۲/۶ \pm ۰/۱	۷۲ \pm ۰/۳	۵/۹ \pm ۰/۱	۱۳/۳ \pm ۰/۱۳	۱۷۳	α 3.7, α 3.7
۲۱/۱ \pm ۰/۶	۶۹/۱ \pm ۲/۵	۵/۶ \pm ۰/۸	۱۱/۷ \pm ۱/۶	۱۰	MED
۲۳/۸ \pm ۴/۶	۷۵/۴ \pm ۹/۷	۵ \pm ۰/۳	۱۲/۹ \pm ۰/۴	۵	α 4.2, α 4.2
۲۵/۹	۷۷/۷	۶/۷۶	۱۷/۵	۱	CD81
۲۴	۷۶	۵/۲۵	۱۲	۱	CD59(Hb Adana)
۲۲/۶ \pm ۳/۵	۷۳/۳ \pm ۵/۷	۵/۹ \pm ۰/۸	۱۳/۶ \pm ۱/۳	۱۳	α 3.7,5nt
۲۲/۲ \pm ۰/۳	۷۲/۵ \pm ۰/۷	۵/۹ \pm ۰/۱۶	۱۳/۳ \pm ۰/۳	۲۲	α 4.2, α 3.7
۲۲/۷ \pm ۲/۷	۶۶/۶ \pm ۱۰/۹	۵/۶ \pm ۰/۲	۱۲/۷ \pm ۱/۸	۴	α 4.2,5nt
۲۰	۶۸/۲	۶/۲	۱۲/۶	۱	5nt,5nt
۲۲/۳ \pm ۰/۱۲	۷۱/۲ \pm ۰/۳	۵/۹ \pm ۰/۰۵	۱۳/۲ \pm ۰/۱	۲۶۷	total

جدول ۳. میانگین HbH, MCV, MCH, RBC و ژنوتیپ افراد مبتلا به بیماری HbH

ژنوتیپ	تعداد	HG	RBC	MCV	MCH
--MED /-α3.7	۱	۸/۶	۴/۷۹	۶۸/۵	۱۸
-α20.5/-α3.7	۵	۱۱/۶ ± ۰/۷۵	۶/۳ ± ۰/۵۵	۶۰ ± ۵/۲۷	۱۹/۶ ± ۱/۵
α-20.5 ^{sp}	۳	۱۰/۱ ± ۰/۶	۵/۷ ± ۰/۲	۶۱/۵ ± ۲/۴	۱۷/۲ ± ۰/۹
α3.7,α4.2,α4.2	۱	۱۳/۲	۵/۲	۸۱	۲۵/۱
α3.7,CD19	۵	۱۲/۸ ± ۱	۵/۳ ± ۰/۴	۷۶/۲ ± ۵/۹	۲۳/۷ ± ۲/۲
α3.7,CD19,SA16	۳	۱۲/۸ ± ۰/۶	۵/۹ ± ۰/۱	۷۱/۱ ± ۱/۳	۲۱/۶ ± ۱
α4.2,CD19	۱	۱۴/۴	۵/۶۵	۷۸/۹	۲۵/۵
α3.7,α3.7,5nt	۱	۱۴/۵	۶/۱۳	۷۷/۲	۲۳/۷
poly A,IVSII-55	۱	۱۲/۱	۵/۶۲	۷۰/۱	۲۱/۵

جدول ۴. مقایسه‌ی میانگین MCV, MCH افراد دارای ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی با حداقل میزان این مقادیر در زوجین مشکوک کم خطر

Independent sample T-test با استفاده از آزمون (MCV = ۷۵, MCH = ۲۶)

ژنوتیپ	شاخص خونی	تعداد	میانگین (انحراف معیار)	P *	فاصله اطمینان ۹۵٪
α-20.5	MCV	۳۴	۶۵/۹ (۳/۶)	۰/۰۰۰۱	۶۴/۷ - ۶۷/۲
	MCH	۳۴	۲۰/۷ (۱/۲)	۰/۰۰۰۱	۲۰/۴ - ۲۱/۱
α3.7,α3.7	MCV	۱۷۳	۷۲ (۴/۳۲)	۰/۰۰۰۱	۷۱/۴ - ۷۲/۷
	MCH	۱۷۳	۲۲/۶ (۱/۷)	۰/۰۰۰۱	۲۲/۴ - ۲۲/۹
MED	MCV	۱۰	۶۹/۱۵ (۲/۵)	۰/۰۰۰۱	۶۷/۳ - ۷۱
	MCH	۱۰	۲۱/۱۳ (۰/۶۲)	۰/۰۰۰۱	۲۰/۶ - ۲۱/۵۷
α3.7,5nt	MCV	۱۳	۷۳/۳ (۵/۷۸)	۰/۳	۶۹/۸ - ۷۶/۸
	MCH	۱۳	۲۲/۶ (۳/۵)	۰/۰۰۰۱	۲۰/۵ - ۲۴/۷
α4.2,5nt	MCV	۴	۶۶/۷ (۱۰/۹)	۰/۲	۴۹/۲ - ۸۴
	MCH	۴	۲۲/۶ (۲/۷۵)	۰/۰۰۱	۱۸/۲ - ۲۷
α4.2,α4.2	MCV	۵	۷۵/۳ (۹/۶)	۰/۹	۶۳/۳ - ۸۷/۴
	MCH	۵	۲۳/۸۴ (۴/۶)	۰/۰۰۰۱	۱۸ - ۲۹/۶
α4.2,α3.7	MCV	۲۲	۷۲/۵ (۳/۶)	۰/۰۰۵۴	۷۰/۹ - ۷۴/۱
	MCH	۲۲	۲۲/۲ (۱/۴۵)	۰/۰۰۰۱	۲۱/۶ - ۲۲/۸

مطالعه‌ی Ahmad و همکاران که مقدار MCV و MCH را به ترتیب ۸/۱ ± ۶۹/۸ و ۴/۲ ± ۲۱/۸ گزارش کردند، مطابقت داشت (۱۶).

در دستورالعمل کشوری غربالگری بتا تالاسمی، زوجین دارای ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی قابل شناسایی هستند، مهم‌ترین علت توصیه به مراقبت و انجام آزمایشات تشخیص قبل از تولد (PND) جلوگیری از ادامه‌ی بارداری در صورت ابتلا جنین به هموگلوبین بارت (Hb Bart) یا هیدروپس می‌باشد. در زنانی که جنین هیدروپس دارند و مراقبت پزشکی کافی دریافت نمی‌کنند، نرخ مرگ و میر مادری ممکن است به ۵۰ درصد نزدیک شود (۸). جنین‌های هیدروپس در صورت زنده ماندن، دچار تأخیر در رشد عصبی، ناهنجاری‌های مادرزادی و

بحث

با استفاده از دستورالعمل غربالگری بتا تالاسمی می‌توان افراد مبتلا به ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی را شناسایی نمود در حالی که این دستورالعمل قادر به شناسایی افراد دارای ۱ حذف ژن آلفا تالاسمی نمی‌باشد.

میانگین MCV و MCH در زوجین مبتلا به ۱ حذف ژن آلفا تالاسمی به ترتیب $2 \pm 25/6$ و $1 \pm 79/6$ می‌باشد که این میزان در محدوده‌ی زوج مشکوک کم خطر بود. میانگین MCV و MCH افراد دارای ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی به ترتیب $0/3 \pm 71/2$ و $0/12 \pm 22/3$ می‌باشد. در برنامه‌ی غربالگری بتا تالاسمی در گروه زوج مشکوک پرخطر طبقه‌بندی می‌شوند. میانگین شاخص‌های محاسبه شده با

نیاز به تزریق خون مادام‌العمر دارند (۱۷).

یکی از ملاک‌های غربالگری یک بیماری، میزان شیوع بیماری در جامعه است. در حال حاضر ما اطلاعی از میزان بروز هموگلوبین بارت در جامعه نداریم. بر اساس مطالعه‌ی Chui، میزان بروز هموگلوبین بارت در جنوب آسیا ۳-۲ برابر بیشتر از بروز تالاسمی ماژور و اینترمدیا می‌باشد (۱۸). بنابراین، توصیه می‌شود، افراد دارای ۲ حذف ژن آلفا تالاسمی که برنامه‌ی غربالگری بتا تالاسمی شناسایی شده‌اند، پیگیری شوند و در هر بارداری برای انجام PND2 اقدام کنند تا نرخ مرگ و میر مادر باردار و ناهنجاری‌های مادرزادی کاهش یابد (۱۹).

شاخص‌های خونی MCV، MCH افراد دارای ۱ حذف ژن آلفا تالاسمی در محدوده‌ی زوج مشکوک کم خطر قرار می‌گیرد. بنا براین دستورالعمل غربالگری بتا تالاسمی کارآیی لازم جهت شناسایی افراد دارای ۱ حذف ژن آلفا تالاسمی را ندارد. طبق دستورالعمل کشوری در صورتی که شاخص‌های خونی آقا یا خانم در محدوده‌ی زوج مشکوک کم خطر باشد، زوج به عنوان زوج مشکوک کم خطر طبقه‌بندی می‌شود. اگر در یک زوج یک نفر دارای یک حذف ژن آلفا (فرد مشکوک کم خطر) و دیگری دارای ۲ حذف ژن آلفا (زوج مشکوک پرخطر) باشد، زوج به عنوان مشکوک کم خطر طبقه‌بندی می‌شود و انجام آزمایشات ژنتیک الزامی نمی‌باشد. در صورت عدم بررسی ژنتیک، شانس داشتن فرزندان با بیماری HbH ۲۵ درصد در هر بارداری خواهد بود (۲۰). به همین دلیل در متون جدید از جمله مطالعه‌ی Lal و Vichinsky، توصیه به شناسایی و مراقبت این زوجین شده است (۲۱).

به طور کلی، بیماری HbH به عنوان یک کم‌خونی خفیف تلقی می‌شود و افراد مبتلا معمولاً نیازی به انتقال خون ندارند اما در متون جدید پزشکی مشخص شده است که بیماری HbH به اندازه‌ای که قبلاً تصور می‌شد بی‌خطر نیست (۲۲، ۲۳). این بیماری می‌تواند باعث تأخیر رشد در دوران کودکی و تجمع آهن در بزرگسالان بدون سابقه‌ی تزریق خون شود که منجر به اختلال کبدی، قلبی و اندوکراین می‌شود. کم‌خونی شدید ممکن است در طی عفونت‌ها، تب، بزرگی طحال یا بارداری رخ دهد و ممکن است نیاز به تزریق خون ایجاد شود (۲۲). اگرچه نوع جهش بر شدت بالینی بیماری HbH تأثیر دارد، بیماران با انواع غیرحذفی بیماری HbH به شدت بیشتری نسبت به بیماران با انواع حذفی بیماری از HbH تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۲۴).

بر اساس مطالعه‌ی Viprakasit و Fucharoen، ارتباطی بین ژنوتیپ و شدت بیماری HBH در جهش‌های غیر حذفی وجود ندارد، ولی بدلیل اینکه شدت بیماری در افراد دارای ژنوتیپ‌های یکسان مشابه می‌باشد، ممکن است عوامل تعدیل‌کننده‌ی محیطی یا ژنتیکی دیگری در شدت علائم بیماری مؤثر باشد (۲۵). در مطالعه‌ای که در کشور ترکیه انجام شد، مشاوره‌ی ژنتیک در

پیشگیری از بیماری HbH مؤثر بوده است (۲۶)، ولی در ایران بیماری HbH اندیکاسیون تشخیص قبل از تولد (PND) و سقط را ندارد (۲۷). این موضوع باعث می‌شود، توصیه به انجام PND2 به والدین در معرض خطر داشتن فرزندی با بیماری HbH یک مسأله‌ی اخلاقی پیچیده باشد. پیشنهاد PND2 به زوجین در حالی که مجوز سقط قانونی بیماران HbH وجود ندارد دارای تبعات اجتماعی است. از سوی دیگر عدم توصیه به انجام PND با اصول اخلاقی مشاوره در تضاد است، زیرا قانون مشاوره تعیین می‌کند که اگر مشاور مشکلی (خفیف یا شدید) را مشاهده کند، بایستی با مشاوره گیرنده در میان گذارد.

با توجه به محدودیت‌های غربالگری آلفا تالاسمی در برنامه‌ی غربالگری کشوری چه باید کرد؟ بر اساس نظرات اساتید گروه ژنتیک وزارت بهداشت، بایستی زوجین در جلسات مشاوره (میانگین ۲/۵ جلسه) شرکت کنند تا تصمیمی آگاهانه بگیرند. در صورت سؤال زوج از مشاور در مورد خطرات و نحوه‌ی پیشگیری از بیماری HbH باید به طور کامل توضیح داده شود و در صورت عدم درخواست، تأکید فقط بر پیشگیری از تالاسمی بتا باشد و خطر ابتلا به بیماری HbH به صورت محدود شرح داده شود.

نتیجه‌گیری

شاخص‌های خونی افراد دارای ۱ حذف ژن آلفا تالاسمی در محدوده‌ی زوج مشکوک کم خطر قرار می‌گیرد و با دستورالعمل بتا تالاسمی نمی‌توانیم این زوجین را شناسایی کنیم. در صورت ازدواج یک فرد دارای ۱ حذف ژن آلفا با یک فرد دارای ۲ حذف ژن آلفا، احتمال بروز بیماری هموگلوبین H ۲۵ درصد خواهد بود و در صورت ازدواج ۲ فرد دارای ۲ حذف ژن آلفا، احتمال بروز هموگلوبین بارت، ۲۵ درصد می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت با دستورالعمل حال حاضر غربالگری بتا تالاسمی می‌توان از بروز و عوارض بارداری در مادران دارای نوزاد هموگلوبین بارت پیشگیری نمود ولی امکان شناسایی بیماری هموگلوبین H وجود ندارد.

در برنامه‌ی غربالگری بتا تالاسمی در خصوص مراقبت و پیگیری جهت انجام آزمایشات ژنتیک در زمان بارداری در زوجین دارای ۲ حذف ژن آلفا که امکان شناسایی دارند صحبتی نشده است ولی در صورت درخواست زوج سؤالات درباره‌ی خطر و پیشگیری از بیماری HbH باید به طور کامل توسط تیم مشاور ژنتیک پاسخ داده شود و در صورت عدم درخواست زوج طبق دستورالعمل کشوری تأکید غربالگری فقط بر پیشگیری از بتا تالاسمی ماژور باشد و خطر ابتلا به بیماری HbH به صورت محدود توضیح داده شود.

پیشنهاد می‌شود غربالگری و مراقبت از زوجین آلفا تالاسمی در برنامه‌ی غربالگری بتا تالاسمی ادغام شود. در حال حاضر اطلاعات ما در

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته اپیدمیولوژی به شماره‌ی ۳۹۶۲۲۵ می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب و با حمایت مالی دانشگاه به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات ریاست مرکز بهداشت استان بابت کمک به جمع‌آوری داده‌ها تقدیر و تشکر می‌شود.

خصوصاً پیامدهای اجتماعی و تأثیرات روانی بیماری Hb H در خانواده‌های دارای بیمار مبتلا لندک می‌باشد. انجام مطالعاتی در این زمینه مورد نیاز می‌باشد زیرا آگاهی درباره‌ی تأثیرات پزشکی بر تشخیص و مدیریت بیماری مهم است. علاوه بر این، تاکنون مطالعه‌ای در خصوص عوامل تعدیل‌کننده‌ی علائم بیماری Hb H در افراد دارای ژنوتیپ یکسان انجام نشده است.

References

1. Abuhelwa Z, Cheng J, Li J. Non-Neoplastic Hematologic Disorders: A Quick Review of Modern Diagnostic and Therapeutic Approaches. Berlin, Germany: Springer; 2024. p. 159-74.
2. Coates TD, Roberts I. Introduction to a review series on globin disorders. *Blood* 2024; 144(8): 797-8.
3. Dehbozorgian J, Moghadam M, Daryanoush S, Haghpanah S, Imani fard J, Aramesh A, et al. Distribution of alpha-thalassaemia mutations in Iranian population. *Hematology* 2015; 20(6): 359-62.
4. Harteveld CL, Higgs DR. α -thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5: 13.
5. Singer ST. Variable clinical phenotypes of α -thalassaemia syndromes. *ScientificWorldJournal* 2009; 9: 615-25.
6. Songdej D, Fucharoen S. Alpha-thalassaemia: diversity of clinical phenotypes and update on the treatment. *Thalass. Rep* 2022; 12(4): 157-72.
7. Barka M, Mghirbi O, Taamli M, Brahem D, Soyed N, Khelifi A, et al. Hydrops fetalis: etiologies, management and outcome. *Perinatal Journal* 2024; 32(2024): 28-9.
8. Sebastián de Lucas LM, Ordás Álvarez P, de Castro Marzo L, Illescas Molina T, Herrero B, Bartha JL, et al. Prenatal Management and Perinatal Outcome in a Large Series of Hydrops Fetalis. *Fetal Diagn Ther* 2024; 51(4): 335-42.
9. Samavat A, Modell B. Iranian national thalassaemia screening programme. *BMJ* 2004; 329(7475): 1134-7.
10. Hashemieh M, Naghadeh HT, Namini MT, Neamatzadeh H, Dehshah MH. The Iran thalassaemia prevention program: success or failure? *Iran J Ped Hematol Oncol* 2015; 5(3): 161-6.
11. Vichinsky E. Complexity of alpha thalassaemia: growing health problem with new approaches to screening, diagnosis, and therapy. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1202(1): 180-7.
12. Garshasbi M, Oberkanins C, Law HY, Neishabury M, Kariminejad R, Najmabadi H. alpha-globin gene deletion and point mutation analysis among in Iranian patients with microcytic hypochromic anemia. *Haematologica* 2003; 88(10): 1196-7.
13. Jahangiri M, Rahim F, Malehi AS, Pezeshki SM, Ebrahimi M. Differential diagnosis of microcytic anemia, thalassaemia or iron deficiency anemia: a diagnostic test accuracy meta-analysis. *Mod Med Lab J* 2020; 3(1): 16-29.
14. Neishabury M, Abbasi L, Moheb, Poorfathollah AA, Kahrizi K, Keyhany E, et al. Alpha-Thalassaemia: Deletion Analysis in Iran. *Archives of Iranian Medicine* 2001; 4(4): 160-4.
15. Villegas A, Porres A, Sánchez J, González FA, Pérez-Clausell C, Martínez M, et al. Red blood cell phenotypes in alpha-thalassaemias in the Spanish population. *Haematologica* 1998; 83(2): 99-103.
16. Ahmad R, Saleem M, Aloysious NS, Yelumalai P, Mohamed N, Hassan S. Distribution of alpha thalassaemia gene variants in diverse ethnic populations in Malaysia: data from the Institute for Medical Research. *Int J Mol Sci* 2013; 14(9): 18599-614.
17. Songdej D, Babbs C, Higgs DR. An international registry of survivors with Hb Bart's hydrops fetalis syndrome. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 2017; 129(10): 1251-9.
18. Chui DHK. α -Thalassaemia: Hb H disease and Hb Barts hydrops fetalis. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1054(1): 25-32.
19. Li D, Liao C, Li J, Xie X, Huang Y, Zhong H. Detection of alpha-thalassaemia in beta-thalassaemia carriers and prevention of Hb Bart's hydrops fetalis through prenatal screening. *Haematologica* 2006; 91(5): 649-51.
20. Vichinsky EP. Alpha thalassaemia major—new mutations, intrauterine management, and outcomes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 2009(1): 35-41.
21. Lal A, Vichinsky E. The clinical phenotypes of alpha thalassaemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2023; 37(2): 327-39.
22. Luo S, Chen X, Chen L, Zhong Q, Wang Q, Xu Z, et al. Analysis of Hb levels and degree of anemia in relation to genotype in 615 patients with hemoglobin H disease. *Expert Rev Hematol* 2020; 13(9): 1027-33.
23. Chui DH, Fucharoen S, Chan V. Hemoglobin H disease: not necessarily a benign disorder. *Blood* 2003; 101(3): 791-800.
24. Wahidin NK, Lai MI. Non-deletional alpha thalassaemia: a review of emerging therapy. *Mal J Med Health Sci* 2021; 17(Suppl 10): 72-84.
25. Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 2009: 26-34.
26. Döğüş Y, Çürük P, Çürük A. Is genetic counseling important in hemoglobin H disease? *Cukurova Medical Journal* 2023; 48(2): 723-7.
27. Godrati F, Saadatmand N, Dinpazhoh M, Akbarzadeh M. Epidemiological study of legal abortion due to fetal defects in the files referred to fars Province Forensic Medicine Centers from 2007 to 2013. *Shiraz E-Medical Journal* 2016; 17(11): e40023.

Evaluating the Challenges and Opportunities of Screening for Alpha Thalassemia Within the Beta Thalassemia Screening Program in the Islamic Republic of Iran

Mohsen Mirzakhani¹, Mohammad Javad Tarrahi², Atefe Baghersad³, Mohammad Reza Maracy⁴

Original Article

Abstract

Background: Thalassemia screening instructions in Iran consider couples with $MCV = 75-80$, $MCH = 26-27$, $HbA_2 < 3.5$, and $HbF < 3$ indices as low-risk couples, and therefore further genetic testing is not obligatory. If the blood indices of alpha thalassemia carriers (One alpha gene deletion or two alpha gene deletions) fall within the parameters of low-risk couples, the identification of such couples within the beta thalassemia screening program will not be feasible. However, if the blood indicators of alpha thalassemia carriers fall within the range of the suspected high-risk couple, these couples can be identified through beta thalassemia screening instructions.

Methods: In this cross-sectional study, information was extracted from 2359 individuals diagnosed with alpha thalassemia, identified between 2018 and 2021, in 22 marriage counseling centers in Isfahan province using the results of the PND test. The blood indices MCV and MCH of alpha thalassemia carriers were compared with the low-risk and high-risk values of beta thalassemia carrier couples.

Findings: The average MCH and MCV of couples affected by alpha thalassemia gene deletions 1 and 2 are respectively within the low-risk and high-risk ranges for beta-thalassemia.

Conclusion: Beta thalassemia screening guidelines can effectively identify individuals with two alpha thalassemia gene deletions, although they have no effect in identifying those with one alpha gene deletion. Current guidelines indicate that it is possible to prevent the occurrence and complications of pregnancy in mothers with Bart's hemoglobin infants; however, the identification of H hemoglobin disease remains unfeasible.

Keywords: Alpha thalassemia; Beta thalassemia; Hydrops fetalis; Hemoglobin H

Citation: Mirzakhani M, Tarrahi MJ, Baghersad A, Maracy MR. **Evaluating the Challenges and Opportunities of Screening for Alpha Thalassemia Within the Beta Thalassemia Screening Program in the Islamic Republic of Iran.** J Isfahan Med Sch 2024; 42(788): 920-7.

1- MSc, Department of Epidemiology & Biostatistics, School of Public Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Epidemiology & Biostatistics, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- MD, Department of Genetics, Diseases Control Center, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

4- Professor, Department of Epidemiology & Biostatistics, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mohammad Reza Maracy, Professor, Department of Epidemiology & Biostatistics, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: mrmrarcy@yahoo.co.uk