مشارك ضمن المؤتمر العلمي السنوي الثالث لكلية التربية الأساسية-جامعة بابل 2009/5/6 ومنشور في مجلة كلية التربية الأساسية العدد 2 (عدد خاص) لسنة 2010 الصفحة 310-317

دراسة لبعض التغيرات الدموية والكيموحيوية في الأطفال المصابين بمرض الثالاسيميا في محافظة بابل

د. عباس حسين مغير الربيعي
جامعة بابل-كلية التربية الأساسية

الباحث. علي مقيم جبار
جامعة بابل-كلية التربية الأساسية

الخلاصة

تضمن البحث دراسة بعض التغيرات التي تحصل في بعض المعايير الدموية والكيموحيوية في الأطفال المصابين بمرض الثالاسيميا في محافظة بابل ، شملت الدراسة فحص 50 طفلاً من الذكور والاناث المصابين بالمرض المذكور لدى مراجعتهم مركز الثالاسيميا التابع لمستشفى الأطفال في بابل ، كما استخدمت العينات المأخوذة من الأطفال الأصحاء للمقارنة . لقد بينت نتائج البحث انخفاض حجم الخلايا المضغوط (PCV) وانخفاض تركيز الهيموكلوبين (Hb) بالإضافة الى ازدياد العدد الكلي لكريات الدم البيضاء (Total WBCs) وارتفاع قيم انزيم (GPT) وانخفاض تركيز الكالسيوم (Ca^{++}) في الأطفال المصابين عند مقارنتها بالأطفال الأصحاء ، كما تبين من خلال هذا البحث أن الذكور أكثر من الإناث عرضة للإصابة بمرض الثالاسيميا ، وأن الأطفال من فصيلة الدم (O +) هم الأكثر عرضةً للإصابة مقارنة بالآخرين من فصائل الدم الاخرى.

Abstract

Research has included study of some of the changes that occur in some of the criteria vessels and biochemical in children with thalassemia in the province of Babylon, the study included examination of 50 children of male and female with the disease mentioned in their review status of thalassemia of the Children's Hospital in Babylon, also used samples from healthy children to compare . The results showed Find the decreasing of packed cell volume (PCV) and the low concentration of hemoglobin (Hb) in addition to increasing the total number of white blood cells (Total WBCs) and the high values of the enzyme (GPT) and the low concentration of calcium (Ca ++) in the infected children when compared to healthy people, as found through this research that males more than females at risk of disease thalassemia, and that children of blood type (O +) are the most susceptible to infection than others from the other blood groups.

المقدمة

تعتبر الثالاسيميا (Thalassemia) من أمراض 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 او بيتا (Cortran et al , 1999) . لقد شخص هذا المرض وعرفت أنواعه من قبل العالمين Cooly و Lee في العام 1925 (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 16 في حين يقع زوج الجينات الذي يشفر للسلاسل بيتا على الكروموسوم 11 ولهذا السبب تعتبر الثالاسيميا نوع بيتا أكثر حدوثاً لقلة الجينات المسيطرة (Bilto , 1998). ان شدة المرض تعتمد على مدى توازن انتاج سلاسل ألفا و بيتا حيث أن فقدان هذا التوازن يؤدي الى تراكم سلاسل ألفا وبيتا داخل كرية الدم الحمراء بحيث يصبح الهيموكلوبين غير ذائب عكس الحالة الطبيعية التي يكون فيها الهيموكلوبين ذائباً داخل كريات الدم الحمراء (Kumar , 1992) وأن استمرار تصنيع سلاسل الفا وغياب سلاسل بيتا يؤدي الى تراكم الاولى مما يكون ما يعرف بالأجسام المحتواة Inclusion Bodies والتي تسبب تحطم الغشاء البلازمي للكريات حيث أن الكريات قد تتحطم داخل نخاع العظم وهذه الحالة تعرف بعدم فعالية تكوين الدم (Hofobrand & Lewis , 1981) وأما التي تخرج من نخاع العظم الى الدورة الدموية فتكون غير طبيعية وممتلئة بالأجسام المحتواة مسببة فقر دم شديد وتزال هذه الخلايا عند مرورها بالطحال ولذلك يحتاج المريض الى نقل الدم ويلاحظ 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 انتاج سلاسل كاما التي تتحد مع سلاسل ألفا لتكوين الهيموكلوبين الجنيني وهو شديد الالفة للاوكسجين حيث يمنع تحرره للانسجة (AL-Awamy , 2000).

يوجد الهيموكلوبين بعدة أشكال هي :

1- Adult hemoglobin
2- Adult hemoglobin-2
3- Fetal – hemoglobin

حيث يتألف الشكل الأول 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 (50) طفلاً من المصابين بمرض الثالاسيميا في مركز الثالاسيميا التابع لمستشفى الأطفال في محافظة بابل وفحص (10) أطفال كمعاملة سيطرة . وقد جمعت عينات الدم بين الساعة التاسعة والعاشرة صباحاً وقد وضعت عينات الدم في مجموعتين من الانابيب الاولى محتوية على مادة مانعة لتخثر الدم والثانية لا تحتوي على مادة مانعة لتخثر الدم ، تستخدم الاولى لإجراء فحوصات تخص الدم وتستخدم الثانية لتحضير المصول حيث يستخدم جهاز الطرد المركزي لمدة (10) دقائق وبعدها يسحب المصل وبعدها يسحب المصل بواسطة ماصة دقيقة ويوضع في أنابيب ويخزن بدرجة (-20) مئوية في الثلاجة .

1- تحديد حجم الخلايا المضغوط (Packed Cell Volume) (PCV)

استخدمت طريقة Microhematcrit (Dacie & Lewis , 1995) وفيها استخدمت الانابيب الشعرية الحاوية على الهيبارين وقد ملئت بالدم لثلاثة أرباع طولها وغلقت النهاية ووضعت في جهاز Microhematcrit لمدة (15) دقيقة وقد انفصلت كريات الدم عن البلازما مع بقاء غطاء رقيق يسمى Buffy Coat وهو الحد الفاصل بين كريات الدم والبلازما يتكون منه الصفيحات الدموية وخلايا الدم البيضاء.

2- قياس هيموكلوبين الدم

استخدمت طريقة Cyanomethemoglobin (Markarem , 1974) وفيها تستخدم عدة محاليل وبالكميات المعتمدة ، تمزج مع (20) مايكروليتر من العينة وتحفظ في درجة حرارة (37) مئوية لمدة (5) دقائق ثم تقرأ باستخدام جهاز Hb-meter وعلى طول موجي (540) نانوميتر .

3- قياس فعالية الانزيم GPT

استخدمت الطريقة اللونية (Colorimetric Method) (بهجت وشعبان ، 1985) لقياس فعالية الانزيم من خلال الخطوات التالية :

أ- يؤخذ انبوب ويوضع فيه (0.2) مل من المصل ويضاف اليه (1) مل من محلول دارىء الفوسفات والمادة الاساس للأنزيم GPT .

ب- يخلط جيداً ثم يوضع في الحاضنة عند درجة حرارة (37) مئوية ولمدة نصف ساعة .

ج- يضاف اليه (1) مل من (2,4 dinitrophenylhydrazine) ويترك لمدة (20) دقيقة وبدرجة حرارة الغرفة .

د- يضاف اليه (10) مل من NaOH (0.4N) ويخلط جيداً ثم يترك لمدة (5) دقائق .

هـ- يقرأ على طول موجي (540) نانوميتر وباستخدام المنحنى القياسي يحدد عدد وحدات الانزيم GPT في المصل .

4- العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء

تضمنت الطريقة تخفيف عينة الدم بإضافة (0.4) مل من Turk's Solution الذي يتألف من (1) مل من حامض الخليك الثلجي و (2) مل من محلول Gention Violet و(100) مل من الماء المقطر حيث يضاف (20) مايكروليتر من الدم ويمزج جيداً مع المحلول المخفف ، ثم يستخدم جهاز حساب كريات الدم (Neubaur-hemocytometer) حيث يملأ الجهاز باستخدام ماصات باستور ومن ثم حساب خلايا الدم البيضاء تحت عدسات المجهر الضوئي باستخدام قوة التكبير (40X) في أربعة مربعات ثانوية (Dacie &Lewis , 1995) .

5- تقدير تركيز أيونات الكالسيوم

استخدمت الطريقة اللونية (Colorimetric Method) (بهجت وشعبان ، 1985) وفيها يستخدم نوعين من الكواشف هما (R1) و (R2) حيث يؤخذ (10) مل من كلا الكاشفين وتوضع في ثلاثة انابيب . ثم يؤخذ (10) مايكرون منها ويخلط (10) مل من المصل المراد فحصة ويقرأ مباشرة على طول موجي (612) نانوميتر .

النتائج

1- حجم الخلايا المضغوط

يلاحظ في الجدول رقم (1) أن قيم (PCV) للأطفال المصابين قد انخفضت عن قيمها في الأطفال الأصحاء ، حيث تراوحت في الاطفال الاصحاء بين (0.28) و (0.38) بينما أصبحت في الأطفال المصابين تتراوح بين (0.12) و (0.27) .

2- الهيموكلوبين

ان تركيز الهيموكلوبين وكما يلاحظ في الجدول رقم (1) قد انخفض أيضاً بفعل الاصابة بمرض الثالاسيميا حيث كان في الأطفال الأصحاء 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) .

3- العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء

تشير النتائج المبينة في الجدول رقم (1) أن العدد الكلي لكريات الدم البيضاء للأطفال المصابين قد تراوحت بين 3.400 و 14.400 في حين كان العدد الكلي لكريات الدم البيضاء في الأطفال الاصحاء يتراوح بين 4.000 و 11.000 وهذا يدل على ازدياد عددها في حالة الإصابة مقارنةً بالحالة الطبيعية .

4- قيم انزيم GPT

تبين النتائج الموضحة في الجدول رقم (1) ارتفاع فعالية انزيم GPT في حالة الاصابة بمرض الثالاسيميا حيث كان عدد الوحدات للإنزيم في الأطفال المرضى تزيد عن (78) وحدة/مل في حين كان عدد الوحدات في الأطفال الاصحاء يزيد عن (45) وحدة/مل.

5- عنصر الكالسيوم

يلاحظ في الجدول رقم (1) أن هنالك انخفاضاً في تركيز أيونات الكالسيوم في الأطفال المرضى بالمقارنة مع تركيزه في الأطفال الاصحاء ، حيث كان التركيز في الأطفال الأصحاء (2.4-2.9 mmol/L) وقد أصبح تكيزه في الأطفال المصابين (1.1-2.6 mmol/L).

6- تأثير الجنس

يلاحظ في الشكل رقم (1) تباين الاصابة بين الذكور والاناث حيث لوحظ ومن خلال هذه الدراسة التي شملت (50) طفلاً أن عدد الأطفال الذكور المصابين كان (30) طفلاً في حين كان عدد الاناث المصابات بالمرض (20) طفلةً .

7- تأثير فصائل الدم

يلاحظ في الشكل رقم (2) والذي يوضح العلاقة بين مجاميع الدم وتكرار الاصابة بمرض الثالاسيميا ان 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 الاخرى الأطفال ذوي فصيلة الدم (O -) وكان الأطفال من فصيلة الدم (AB +) هم الأقل عرضة للإصابة .

المناقشة

تشير النتائج المستحصل عليها من هذه الدراسة (جدول رقم 1) الى انخفاض كل من حجم الخلايا المضغوط PCV وتركيز الهيموكلوبين ، وقد يكون السبب في ذلك الى ان معدل PCV يعتمد بصورة أساسية على عدد وحجم وشكل كريات الدم الحمراء وعلى مدى تخفيف الدم ولزوجته (Dacie & Lewis , 1995) وفي حالة الإصابة بالثالاسيميا تتأثر كريات الدم الحمراء من ناحية العدد والخصائص الشكلية والحجمية 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 عرضة للتحطيم بواسطة الخلايا البلعمية Macrophages والتي تتواجد بكثرة في نسيج نخاع العظم والتي يمكنها ان تشخص وتميز الخلايا غير الطبيعية والتهامها مما يؤدي الى تحطيم مجموعة كبيرة من خلايا الدم الحمراء خلال مراحل تطورها (Pittiglio & Szcher , 1987) . أما عند دخولها الدورة الدموية فانها قد تصبح عرضة للتحطيم الذاتي داخل الاوعية الدموية أو قد تتحطم داخل الطحال من خلال فعالية خلايا البلعمة Macrophage الموجودة في نسيج الطحال والمتخصصة بتخليص الدم من الخلايا المشوه والمسنة والأجسام الغريبة . هذا من جهة ومن جهة ثانية فان 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) . وان انخفاض او توقف تصنيع السلاسل الفا او بيتا يؤدي الى اعقة تصنيع وحدات الـ Hem باعتبار أن الهيموكلوبين يتركب اساساً من جزئين هما الـ Hem وبروتين الكلوبين ، لذلك فان كريات الدم الحمراء الناتجة تكون بأعداد قليلة وصغيرة الحجم وقليلة الهيموكلوبين وان التكسر العالي لها بالنتيجة الى انخفاض عالي بتركيز الهيموكلوبين . ان نتائج الدرساة الحالية تتفق مع ما توصل اليه كل من (Acquage et al , 1987) و (Bennett & Plum , 1996) .

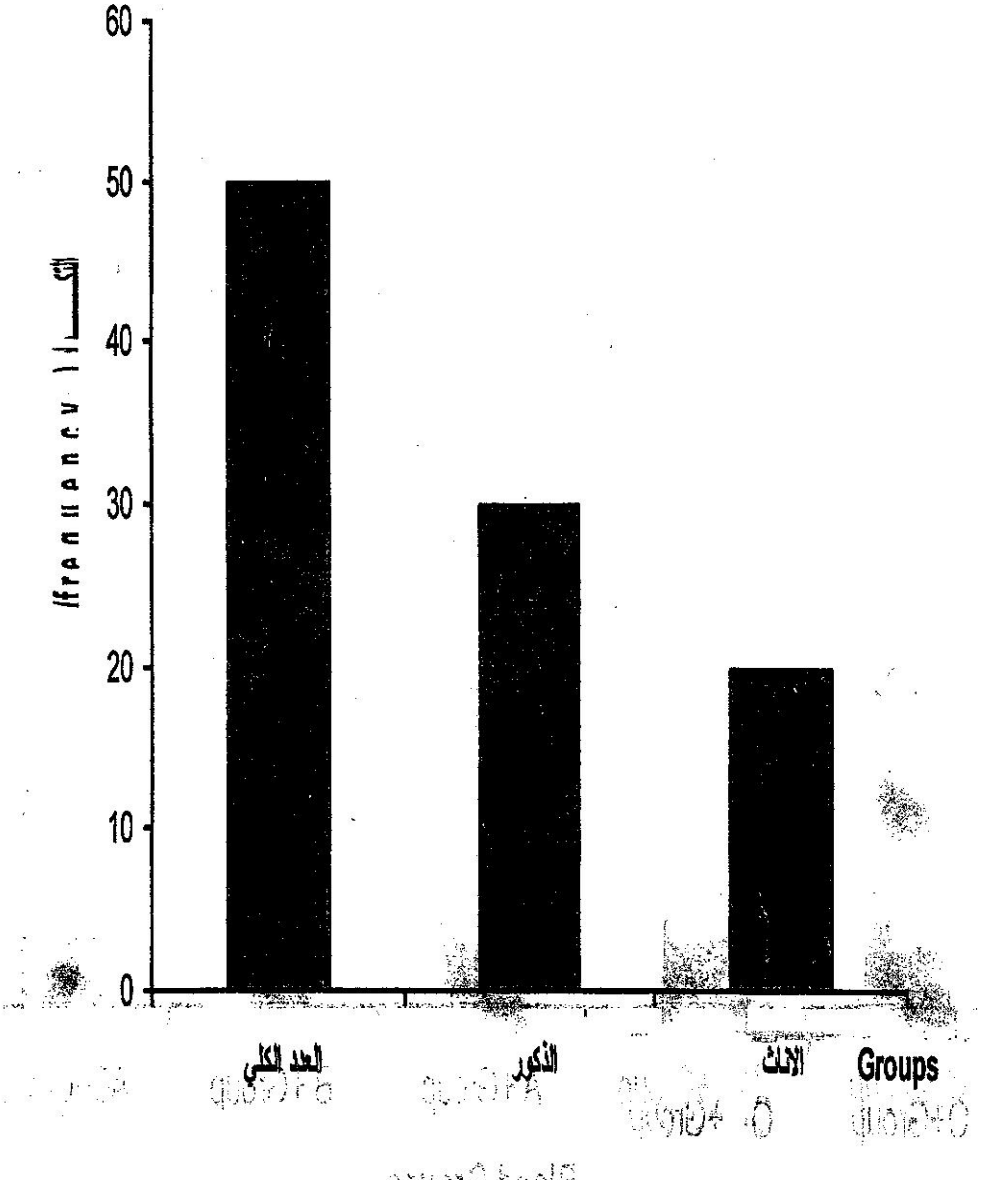
وأما ما يتعلق بالعدد الكلي لكريات الدم البيضاء Total WBCs فقد بينت النتائج (جدول رقم 1) ارتفاع عددها في الأطفال المصابين بالمقارنة مع الأطفال الأصحاء . أشارت الدراسات (Murray , 2000) الى ان التحطم العالي لكريات الدم الحمراء داخل وخارج نخاع العظم يسبب انخفاضاً شديداً للضغط الجزئي للاوكسجين وهذا يعد عاملاً محفزاً لانتاج هرمون Erythropoietin من الكلى وهذا الهرمون يحفز نخاع العظم على زيادة تكوين الدم من خلال تحويل خلايا غير المتمايزة الى خلايا متمايزة في نسيج نخاع العظم لها القدرة على أنواع خلايا الدم ومنها خلايا الدم البيضاء (Bilto , 1998) ، فضلاً عن ذلك فقد تبدأ بعض خلايا الكبد وبعض خلايا الطحال بتكوين مراكز لتوليد خلايا الدم (ظاهرة تكوين الدم خارج نخاع العظم) (Penington et al , 1984) كما يلاحظ في حالة الاصابة بالثالاسيميا زيادة في نشاط الجهاز البطاني الشبكي بسبب زيادة خلايا المونوسايت والتي لها القابلية على تحطيم كريات الدم المشوهة والدفاع عن الجسم وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه الباحثون (Hofobrand & Lewis , 1993) و (Bilto , 1998) .

أما ما يخص زيادة فعالية الانزيم GPT فقد لوحظ (جدول رقم 1) ارتفاع مستوى فعالية الانزيم في الأطفال المصابين مقارنة 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 الانزيم في انتقال مجاميع الأمين في الأحماض الأمينية وتكوين الأحماض الأمينية المطلوبة للبناء (بهجت وشعبان ، 1985) .

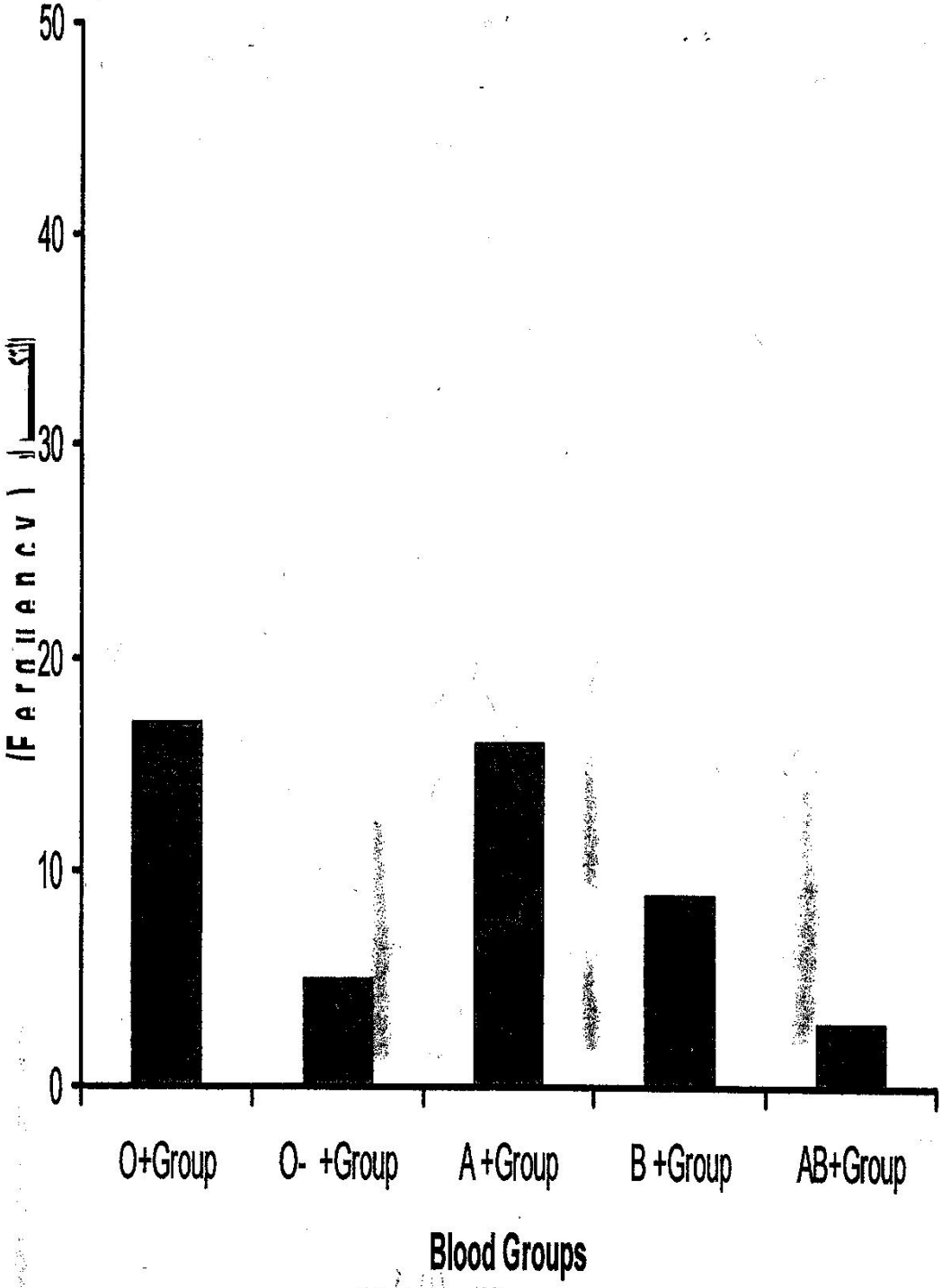
وأما ما يتعلق بالعلاقة بين حدوث الاصابة بمرض الثالاسيميا والجنس (شكل رقم 1) فيلاحظ أن عدد الذكور المصابين أكثر من الاناث وبما أن الجينات المسؤولة عن انتاج السلاسل البيبتيدية المشتركة في بناء الهيموكلوبين موجودة على الكروموسومات 11 و 16 (Kumar , 1992) ولا توجد على الكروموسومين X و Y فلا يوجد ارتباط بين الجنس وبين الإصابة بالمرض . وأما ما يخص العلاقة بين مجاميع الدم والاصابة بمرض الثالاسيميا (شكل رقم 2) 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 .

جدول رقم (1) تأثير الإصابة بمرض الثالاسيميا في قيمة حجم الخلايا المضغوطة PCV وتركيز الهيموكلوبين Hb وعدد كريات الدم البيضاء WBCs وتركيز انزيم GPT وأيون الكالسيوم Ca++

PCV L/L		Hb mg/dl		WBCs cmm		GPT Unit/ml		Ca^{++} mmol/l	
الأطفال الأصحاء	الأطفال المرضى	الأطفال الأصحاء	الأطفال المرضى	الأطفال الأصحاء	الأطفال المرضى	الأطفال الأصحاء	الأطفال المرضى	الأطفال الأصحاء	الأطفال المرضى
0.28-0.38	0.12-0.27	9.13	8.7-3.3	4.000-11.000	3.400-14.400	45<	78<	2.9-2.4	1.1-2.6



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



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

المصادر

1- بهجت ، إحسان محمد وشعبان ، عزيز موسى (1985). الكيمياء السريرية . الطبعة الاولى . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.

2- Acquaye , J.; Ganeshahuru , K. and Omer , A. (1987). Beta thalassemia in Saudi Arabia Saudi .Med .J. 3(1): 238-289.

3- AL-Awamy , B.H.(2000). Thalassemia syndrome in Saudi Arabia . Med. J. 21(1): 8-17 .

4- Bennett , J. and Plum , F. (1996). Cecil text book of medicine 20th ed. W. B. Saunder comp. Philadelphia. 872-879.

5- Bilto , Y.Y. (1998). Prevalence of hemoglobin-pathies in central region of Jordan . Association Arabian Universities . J. of medical science. 1(2): 18-23.

6- Cortran , Kumar and Collin . (1999). Pathological diseases 6th ed. Tokyo. 352.

7- Dacie , V. and Lewis , S.M. (1995). Practical Hematology 2nd ed. Philadelphia. Tokyo. 352-354.

8- Dedousis , G.V.Z.; Mandilara G.D.; Boussin , M. and Loutradis . (2000). Hb production beta thalassemia. Wiley-liss. Inc. 646: 151-155.

9- Ganong , W.F. (1997). Review of Medical Physiology. 18th ed. Appleton and lange . Philadelphia (p.4g6).

10-Guyon , A.C. (1986). Text Book of Medical Physiology in ternational ed. W.B. Saunders Comp. Philadelphia. 849.

11-Hofobrand , A.V. and Lewis , S.M. (1981). Post graduate hematology 2nd ed. W.B. Saunders Comp. London. 211-216.

12-Kendal , A.G. (1983). Thalassemia in ternational. J.med. 1(25): 1169-1172.

13-Kumar , V.; Cortran , R. and Robbins , S. (1992). Basic Pathology. 5th ed . Mosby Comp. Philadelphia . 339-340.

14-Linmnam , S.W. (1975). Hematology , physiological-pathological and clinical principles. Macmillan publishing company . INC. New York . 223-283.

15-Markarem , A. (1974). Clinical Chemistry –principles and technique . 2nd ed. Harper and Raw. Hargeston . 1128-1135.

16-Munize , A.; Martines , G.; Laiahqa , J. and Pacheco , P. (2000). Beta thalassemia in cnbans. American . J. Haematol. 64(1): 7-14.

17-Penington , D.; Rush , B. and Castaldi , P. (1984). Clinical Hematology in Medical practice . 4th ed. C.B.S. Publisher. 278-301.

18-Pittigio , D.H. and Sacher , R.H. (1987). Clinical Hematology and fundamentals of hemostasis F.A. Davis Comp. Philadelphia . 17-126.

19-Thompson , R.B. (1984). A short text book of Hematology . 6th ed. W.B. Sounders Company. Philadelphia . 66-70.

20-Todd , D. (1980). Thalassemia and hemoglobin-pathies. 3rd . Series .J. med. Part .1: 1406-1410.

21-Turgeon , M.L. (2005). Clinical hematology : theory and procedures . 4th ed. Lippincott . Williams and Wilkins . New York. (23).