

دراسة بعض المتغيرات الدموية والوراثية لمرضى انيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا في محافظة واسط

كاظم جهيد كاطع و رباب حازم الياس

جامعة واسط / كلية العلوم / قسم علوم الحياة

Study of some hematological and genetic changes for patients with beta thalassemia major in wasit province

Dr. Kadhum J. Gattia

Rabab Hazim Elias

Department of Biology, College of Science, University of Wasit

Abstract

The study included 40 blood samples from patients with β -thalassemia major and has compared them with 40 of the control group . Patients were divided according to their age into four groups . Levels of RBCs , Hb , PCV , MCV , MCH , MCHC,WBCs were measured. Furthermore, mitotic index and nuclear division index and micronucleus assay were measured for lymphocytes patients . Results showed a significant decrease ($P \leq 0.05$) in each level of (RBCs , Hb , PCV , MCV , MCH) , wherever increased level of WBCs significantly ($P \leq 0.05$) . Results of mitotic index and nuclear division index and micronucleus assay were revealed significantly increasing ($P \leq 0.05$) indication on defect in cell division .We concluded that iron overload in patient's body due to frequent blood transfusions was generate free radicals containing oxygen and capable of oxidative damage for macromolecule such as DNA .

Key Words : β -thalassemia major , some of hematological assay , mitotic index , nuclear division index , micronucleus assay .

المستخلص: تضمنت الدراسة 40 عينة دم من مرضى انيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا وتمت مقارنتهم مع 40 شخصاً من الأصحاء . وقسم المرضى وفقاً لأعمارهم إلى أربع مجاميع . تم قياس مستوى كل من RBCs ، Hb ، PCV ، MCV ، MCH ، MCHC ، WBCs . فضلاً عن ذلك ، تم قياس دليل الانقسام الخلوي ودليل الانقسام النووي وفحص النويات الدقيقة لخلايا المرضى للمفاوية ، حيث بينت النتائج انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في مستوى كل من (RBCs ، Hb ، PCV ، MCV ، MCH) بينما ازداد مستوى WBCs معنوياً ($P \leq 0.05$) . اظهرت نتائج دليل الانقسام الخلوي ودليل الانقسام النووي وفحص النويات الدقيقة ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) دلالة على وجود خلل في انقسام الخلية . استنتجنا بان الحديد الزائد في جسم المرضى نتيجة لنقل الدم المتكرر يولد جذور حرة محتوية على الأوكسجين وقادرة على الضرر التأكسدي للجزيئات الكبيرة مثل الحمض النووي .

الكلمات المفتاحية : انيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا ، بعض الفحوصات الدموية ، دليل الانقسام الخلوي MI ، دليل الانقسام النووي NDI ، فحص النويات الدقيقة MNI .

المقدمة

مصطلح فقر دم البحر المتوسط (الثلاسيميا) *Thalassemia* مشتق من اصل يوناني حيث ان مقطع *Thalassa* يعني البحر ومقطع *Hemia* يعني الدم ويشير المصطلح إلى اضطراب متعلق بخلل في صنع الوحدات الثانوية من بروتين الكلوبين في الهيموكلوبين وهما بيتا ألفا وبيتا وبيتا وذلك نتيجة لحدوث طفرات في الجينات المسؤولة عن تسلسل الأحماض الأمينية المكونة للبروتين (1). إذا لم ينتج الجسم كمية كافية من سلاسل الكلوبين (ألفا وبيتا) فإن كريات الدم الحمراء لا تتكون بشكل سليم ولا تستطيع حمل كمية كافية من الأوكسجين وتكون النتيجة فقر دم يبدأ في مرحلة الطفولة المبكرة ويستمر طوال الحياة. في تلك الأيام كان من النادر ان يبقى المرضى على قيد الحياة في العقد الأول من العمر إلى ان تم ادخال نظم نقل الدم العادية من قبل العالم *Orsini* عام 1960 وبذلك استطاع المرضى ان ينجو في العقد الثاني والثالث من عمرهم. يحدث الضرر في احد الجينات المسؤولة عن إنتاج الكلوبين فمثلاً قد يخفق أحد جيني بيتا في إنتاج كمية طبيعية من بروتين سلسلة بيتا وستكون جينات ألفا الأربعة تعمل على إنتاج كمية طبيعية من بروتين سلسلة ألفا ومن ثم سيظهر عدم توازن بين كمية بروتين سلسلة بيتا وكمية بروتين سلسلة ألفا داخل الخلية وهذه ميزة مهمة من مميزات المرض. لا ينتج مريض فقر دم البحر المتوسط هيموكلوبين البالغين HbA_2 ($\alpha_2\beta_2$) بشكل كافٍ وذلك لان الخلايا لا تستطيع إنتاج سلاسل البروتين جميعها فهي تنتج اما سلاسل ألفا أو بيتا والهيموكلوبين الرئيس في مرضى انيميا البحر المتوسط نوع بيتا هو هيموكلوبين HbA_2 الذي هو عبارة عن زوج من سلاسل ألفا وزوج من سلاسل دلتا ($\alpha_2\delta_2$) والذي يشكل في الانسان البالغ الطبيعي 2-4% بينما يشكل هيموكلوبين البالغين HbA 90% من الهيموكلوبين الكلي في الانسان الطبيعي (2). تصنف انيميا البحر المتوسط بانخفاض محتوى الهيموكلوبين في الكرية الحمراء *Hypochromia* وتصنف أيضاً بصغر حجم كريات الدم الحمراء *Microcytosis* (3). ان أكثر من 180 طفرة تحدث في جين بيتا كلوبين والتي نلاحظها في

المصابين بمرض انيميا البحر المتوسط نوع بيتا وينتج من هذه الطفرات حذف جزئي أو كلي لجين بيتا كلوبين حيث ان بعضها يسبب عدم إنتاج بيتا كلوبين وبذلك تدعى β^0 فقر دم البحر المتوسط والبعض الآخر يسبب إنتاج قليل لبيتا كلوبين وتدعى حينئذ β^+ فقر دم البحر المتوسط، وهذا يؤدي إلى انخفاض الهيموكلوبين في كريات الدم الحمراء وقلة إنتاج كريات الدم الحمراء (4). ان مرض انيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا يدعى أيضاً باسم فقر دم كولي وهو أشد انواع المرض لان الطفرات تحدث في كلا الجينين المسؤولين عن إنتاج سلاسل بيتا كلوبين. تتحطم الخلايا المكونة لكريات الدم الحمراء مما يجعل الكريات الحمراء المنتجة غير فعالة بحيث يعاني المرضى من خطر فقر الدم الحاد وقلة نقل الأوكسجين في الجسم (5). تبدأ ظهور الأعراض على الطفل خلال سنته الاولى عندما تتوقف سلاسل كاما عن التشكل ويبدأ إنتاج سلاسل بيتا التي حدث بها الخلل، وتتطور الإصابة عند حديثي الولادة تدريجياً فيصبح الطفل شاحباً ولديه مشاكل في التغذية ويعاني من اسهال ونوبات متكررة من الحمى وزيادة في حجم البطن بسبب تضخم الطحال (6)، وإذا لم يتم نقل دم لهم بصورة منتظمة فانهم يموتون أثناء أشهر قليلة، وعند نقل دم لهم والذي يرافقه استخدام أدوية لإزالة الحديد الزائد يستعيد الجسم نموه بشكل طبيعي، حيث يعمل هذا الدواء على سحب الحديد الزائد من الجسم والمتكون بسبب زيادة تحلل كريات الدم الحمراء ونتيجة نقل الدم للمصاب. يؤدي تراكم الحديد إلى حدوث الموت أو مضاعفات في الأطفال منها تأخر النمو والنضج الجنسي والتي تزداد فيما بعد إلى مضاعفات أخرى منها اعتلال عضلة القلب، وتليف وتشمع الكبد، والتهاب الكبد المزمن C او B، وسرطان الكبد، وداء السكري، وقصور الغدة الدرقية وجار الدرقية والنخامية وأحياناً قصور الغدة الكظرية (7). واهم الأعراض التي يعاني منها المصاب بانيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا في بعض البلدان النامية، هي تأخر في النمو، يرقان، تضخم الطحال، تغيرات هيكلية ناتجة من توسع في نخاع العظم لكي يسد حاجة الجسم من كريات الدم الحمراء، وتشوهات في العظام الطويلة وظهور عظام الوجه وتضخم في الفك العلوي مما يجعل الاسنان ظاهرة وتبدو عيني المريض كعيون مريض متلازمة داون، وذلك بسبب عدم انتظام

الدراسة والبالغة 40 مريضاً الى أربع مجاميع حسب الفئـة العمرية (1-10) ، (11-20) ، (21-30) و (31-40) وتمت مقارنة نتائجهم بمجموعة السيطرة (Control) التي شملت 40 شخصاً ايضاً .

الفحص الدموي Haematological Assay

يتضمن الفحص الدموي الاختبارات التالية (عدد كريات الدم الحمراء RBCs ، الهيموكلوبين Hb ، حجم الكريات المتراسة PCV ، معدل حجم الكرية MCV ، معدل هيموكلوبين الكرية MCH ، معدل تركيز هيموكلوبين الكرية MCHC ، عدد خلايا الدم البيضاء WBCs) . ولقد تم الفحص باستخدام جهاز (Human) Humacount Auto Analyzer بعد إضافة 1 مل من الدم في انبوبة EDTA وتم وضع الانبوبة في المكان المقرر لها بالجهاز ونضغط على ايعاز البدء (Start) حيث يقوم الجهاز بقراءة النتائج تلقائياً وعند ظهور النتائج نعطي ايعاز (print) ليقوم الجهاز بطباعتها .

اختبارات الوراثة الخلوية Cytogenetic Tests

وتشمل دليل الانقسام الخلوي Mitotic Index ودليل الانقسام النووي Nuclear Division Index وفحص النويات الدقيقة Micronucleus Assay . ان نمط معرفة عدد وشكل الكروموسومات في نوى خلايا حقيقية النواة يسمى النمط النووي Karyotype . تستخدم خلايا الدم البيضاء في الانسان لغرض معرفة النمط النووي وذلك لأنها تُحفز بسهولة على الانقسام والنمو في المزرعة النسيجية (8) . ان الخلايا اللمفاوية لا تعاني انقسامات متكررة لذلك يتم تحفيز الخلايا بواسطة مادة Phytohaemagglutinin (PHA) لتدخل الانقسام الخيطي الاعتيادي وذلك من خلال تضاعف الحمض النووي DNA . بعد 70 ساعة من الحضانة ، نضيف إلى الزرع blood culture محلول الكولسميد وهو مادة مثبطة للانقسام ويوقف الانقسام في طور الاستوائي metaphase stage . وفيما بعد نضيف محلول واطئ التوتر (KCl) ونثبت الخلايا بمحلول التثبيت fixative solution ونصبغ الخلايا بصبغة كمزا ، كل هذا لكي نستطيع ملاحظة الكروموسومات تحت المجهر (9) . اما فحص النويات الدقيقة خارج الجسم فهو نظام اختبار مطفر جيني للكشف

عمليات نقل الدم والسيطرة عليها وما يرافقه من توفير موارد اخرى للمرضى (6) . ان المرضى الذين يملكون نوعين من الجينات الطافرة في سلاسل الفا وبيتا ، تكون شدة المرض لديهم أخف لأن قلة إنتاج سلاسل الفا بسبب الجين الطافر يقلل من عدم التوازن الذي يحصل في سلاسل الكلوبين ويُحسّن من إنتاج كريات الدم الحمراء في نخاع العظم وبشكل أكثر فعالية . يعتبر مرض انيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا من الأمراض الوراثية الشائعة وأشد أنواع المرض ولكن لا توجد دراسة مسبقة على المتغيرات الوراثية في واسط لذلك خططنا لهذه الدراسة التي تشمل هدفين :

الاول : دراسة بعض المتغيرات الدموية للمرضى والتي تتضمن (RBCs ، Hb ، PCV ، MCV ، MCH ، MCHC) ومقارنتها بالأصحاء (السيطرة) .

الثاني : دراسة كل من دليل الانقسام الخلوي MI ودليل الانقسام النووي NDI وفحص النويات الدقيقة MNi للمرضى ومقارنتهم مع الأصحاء (السيطرة) .

المواد و طرائق العمل

عينات الدم

تم أخذ عينات دم من مرضى انيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا من مركز التلاسييميا في مستشفى الكوت في واسط خلال الفترة من شهر تشرين الأول 2014 إلى شهر نيسان 2015 والذين يحضرون للمركز لغرض حصولهم على نقل الدم والمُشخص مرضهم مسبقاً . وتم اجراء العمل في مختبر فسلجة الحيوان للدراسات العليا في كلية العلوم _ قسم علوم الحياة في جامعة واسط وبالتعاون مع مركز التلاسييميا ومختبرات مستشفى الكرامة التعليمي التابعين لدائرة صحة واسط . سحب 2 مل من الدم الوريدي من كل مريض قبل ان يتلقى عملية نقل الدم وسحبت نفس الكمية من الاشخاص الأصحاء (السيطرة) لإجراء المقارنة بينهم ، حيث وضع 1 مل من الدم في انبوبة محتوية على مادة مانعة للتخثر EDTA tube لغرض الفحص الدموي Haematological Assay ، ووضع 1 مل من الدم في انبوبة محتوية على مادة مانعة للتخثر أخرى Sodium Heparin tube لغرض اختبارات الوراثة الخلوية Cytogenetic Tests . تم تقسيم عينات

تم تحليل البيانات احصائياً باستعمال برنامج التحليل الاحصائي SPSS وذلك بايجاد المعدل $\pm$ الانحراف المعياري $mean+SD$ ، وتمت المقارنات بين المجاميع لنفس الفئات العمرية بين المرضى والأصحاء (السيطرة) ، وتُعد النتائج معنوية إذا كانت قيمة P-value أقل من القيمة الجدولية F-value المثبتة في المصدر (11) .

النتائج

يبين جدول 1 ، انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في كل من (عدد كريات الدم الحمراء RBCs ، الهيموكلوبين Hb ، حجم الكريات المتراصة PCV ، معدل حجم الكرية MCV ، معدل هيموكلوبين الكرية MCH) لجميع الفئات العمرية بالنسبة للمصابين بانيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا مقارنة بالأصحاء ، بينما ازداد عدد خلايا الدم البيضاء WBCs معنوياً ($P \leq 0.05$) بالنسبة للمرضى مقارنة بالأصحاء ، في حين لم يظهر معدل تركيز هيموكلوبين الكرية MCHC أي تغير معنوي بالنسبة للمرضى مقارنة بالأصحاء .

عن المواد الكيميائية التي تحت على تكون غشاء صغير يحيط بقطع الحمض النووي DNA ، والغرض من هذا الفحص هو الكشف عن تلك العوامل التي تغير في تركيب الكروموسوم ومن ثمَّ تقود إلى تشكل نويات صغيرة في الخلية في الطور البيني interphase . مبدأ عمل الاختبار هو إضافة محلول السايكوكسين بي إلى الخلايا المزروعة cell cultures لتنشيط الانقسام السايكوبلازمي ، حيث يسمح محلول السايكوكسين بي بنمو الخلايا لمدة معقولة من الزمن الأمر الذي يؤدي إلى تحطم الكروموسوم ومن ثمَّ تشكل نويات دقيقة في الخلايا الثنائية أو متعددة الأنوية في الطور البيني . تحصد الخلايا وتصيغ وتشاهد تحت المجهر الضوئي لرؤية النويات الدقيقة micronuclei (10) .

التحليل الاحصائي

جدول (1) : التغيرات الدموية في دم المصابين بانيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا مقارنة بالأصحاء وحسب الفئات العمرية في محافظة واسط .

الفئة العمرية		سنة (10-1)		سنة (20-11)		سنة (30-21)		سنة (40-31)	
المعايير		المرضى	الأصحاء	المرضى	الأصحاء	المرضى	الأصحاء	المرضى	الأصحاء
كريات الدم الحمراء (RBC) 10^6 ملم ³ (mean±SD)		A 3.23 ± 0.706	B 4.73 ± 0.184	A 2.69 ± 0.354	B 4.59 ± 0.234	A 2.64 ± 0.071	B 4.305 ± 0.144	A 3.33 ± 0.254	B 4.53 ± 0.265
الهيموكلوبين (Hb) غرام / ديسيلتر (mean±SD)		A 8.45± 1.607	B 14.25 ± 1.582	A 7.68 ± 0.958	B 14.54 ± 2.05	A 7.23 ± 1.12	B 14.25 ± 2.41	A 9.08 ± 1.83	B 14.38 ± 2.85
حجم كريات الدم المرصوصة % (PCV) (mean±SD)		A 25.97 ± 3.61	B 43.05 ± 6.22	A 22.06 ± 2.96	B 40.85 ± 5.18	A 22.03 ± 3.02	B 40.54 ± 3.89	A 26.88 ± 3.68	B 41.10 ± 4.03
معدل حجم الكرية (MCV) مايكرومتر (mean±SD)		A 81.00 ± 5.12	B 91.12 ± 7.02	A 81.80 ± 4.93	B 89.02 ± 6.87	A 83.50 ± 6.04	B 94.18 ± 7.33	A 80.50 ± 5.18	B 90.73 ± 4.23
معدل وزن هيموكلوبين الكرية (MCH) بيكو غرام (mean±SD)		A 26.45 ± 2.76	B 30.17 ± 1.352	A 28.64 ± 3.14	B 31.70 ± 3.18	A 27.38 ± 2.74	B 33.13 ± 4.31	A 27.28 ± 4.84	B 31.70 ± 5.21
معدل تركيز الهيموكلوبين MCHC غرام / ديسيلتر (mean±SD)		A 32.52 ± 2.13	A 33.19 ± 3.22	A 35.14 ± 3.16	A 35.60 ± 3.19	A 32.88 ± 3.05	A 35.15 ± 2.96	A 34.13 ± 2.97	A 35.00 ± 3.56
عدد خلايا الدم البيضاء 10^3 (W.B.C) ملم ³ (mean±SD)		A 12.67± 2.18	B 8.82 ± 2.11	A 14.04 ± 2.94	B 7.63 ± 1.63	A 17.15± 3.05	B 6.97 ± 1.88	A 14.62± 3.42	B 7.81 ± 1.96

*المتوسطات التي تحمل حروف كبيرة مختلفة تشير الى وجود فرق معنوي $P \leq 0.05$ افقيا .

للمرضى مقارنة بالأصحاء للفئات العمرية جميعها ، أي
زيادة عدد الخلايا المنقسمة في الطور الاستوائي

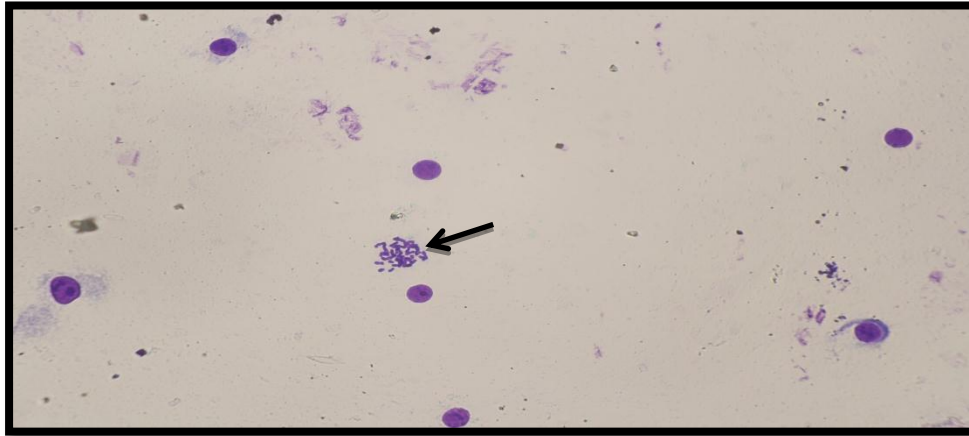
واشارت النتائج في جدول 2 إلى وجود ارتفاع معنوي
($P \leq 0.05$) في معدل دليل الانقسام الخلوي (MI)

metaphase . وبينت النتائج ايضاً زيادة معنوية
 الخلايا المحتوية على نويات دقيقة (MNi) في المرضى
 مقارنة بالأصحاء للفئات العمرية جميعها .
 ($P \leq 0.05$) في دليل الانقسام النووي (NDI) وفي عدد

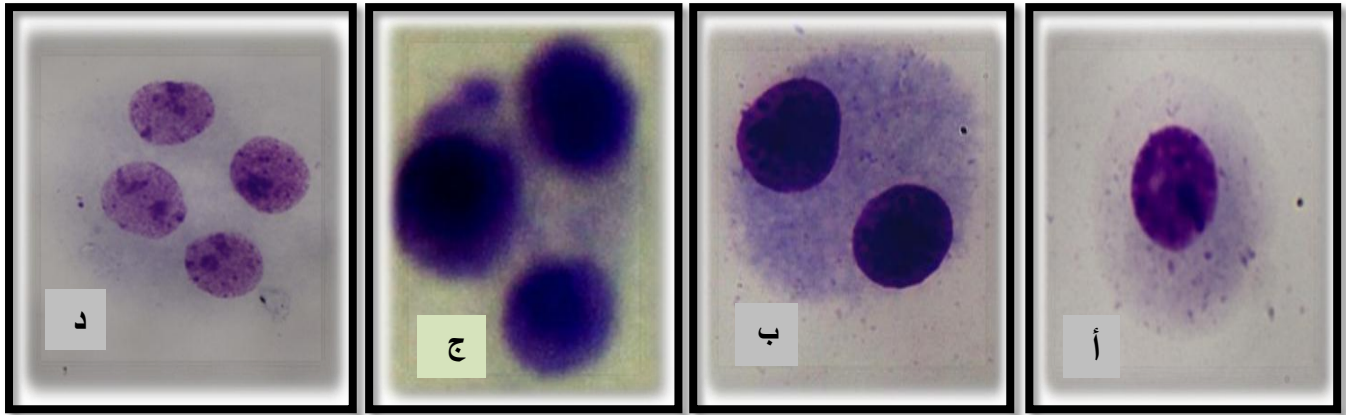
جدول (2) : معدل التغيرات الوراثية الخلوية للمصابين بانيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا مقارنة بالأصحاء
 وحسب الفئات العمرية في محافظة واسط .

*المتوسطات التي تحمل حروف كبيرة مختلفة تشير الى وجود فرق معنوي $P \leq 0.05$ افقياً .

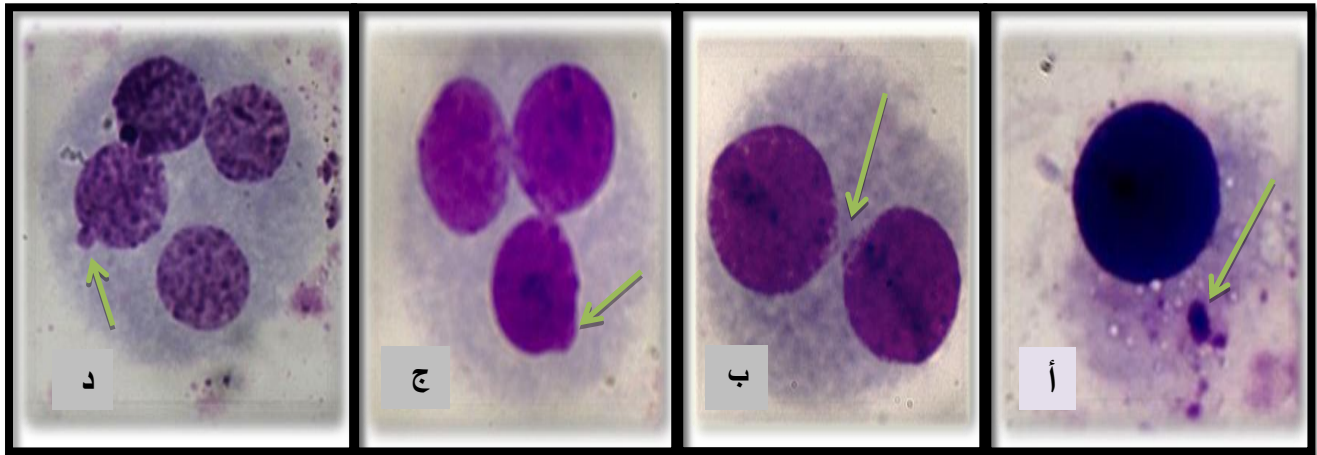
دليل الانقسام النووي NDI (mean+SD) %		فحص النويات الدقيقة MNi % (mean+SD)		دليل الانقسام الخلوي MI % (mean+SD)		المعايير الفئة العمرية
الأصحاء	المرضى	الأصحاء	المرضى	الأصحاء	المرضى	
B 1.02± 0.008	A 1.36±0.021	B 0.023±0.007	A 0.077±0.016	B 2.57±0.07	A 9.44±1.23	(10-1) سنة
B 0.96± 0.005	A 1.52±0.019	B 0.018±0.005	A 0.068±0.013	B 1.33±0.05	A 8.23±1.26	(11-20) سنة
B 1.13± 0.009	A 1.42±0.023	B 0.026±0.007	A 0.082±0.018	B 1.29±0.04	A 8.71±1.31	(21-30) سنة
B 0.91± 0.004	A 1.18±0.015	B 0.029±0.006	A 0.084±0.021	B 1.43±0.06	A 8.33±1.45	(31-40) سنة



شكل (1) : الخلايا المفاوية في المرضى تعاني انقساماً اعتيادياً في الطور الاستوائي metaphase تحت المجهر
 الضوئي بقوة (40X) .



شكل (2) : دليل الانقسام النووي (NDI) في الخلايا اللمفاوية للمرضى تحت المجهر الضوئي بقوة (100X) . (أ) : خلية أحادية النواة mononucleated ، (ب) : خلية ثنائية النواة binucleated ، (ج) : خلية ثلاثية النواة ، (د) : خلية رباعية النواة tetranucleated . مع انعدام وجود النويات الدقيقة .



شكل (3) : النويات الدقيقة في خلايا الدم اللمفاوية للمرضى تحت المجهر الضوئي بقوة (100X) . وتشير الاسهم الى النويات الدقيقة (أ) : خلية أحادية النواة mononucleated ، (ب) : خلية ثنائية النواة binucleated ، (ج) : خلية ثلاثية النواة ، (د) : خلية رباعية النواة tetranucleated .

المنافشة

استلامهم المتكرر للدم الذي يسبب مضاعفات خطيرة للمرضى منها ؛ التهاب الكبد المزمن وتشمع الكبد ومن ثم سرطان الكبد . لقد بينت اختبارات الوراثة الخلوية في الجدول 2 زيادة كل من دليل الانقسام الخلوي (MI) ودليل الانقسام النووي (NDI) والنويات الدقيقة (MNI) زيادة معنوية في المرضى مقارنة بالأصحاء ، وهذا يشير إلى وجود عامل سام للخلايا يؤثر على انقسامها . إن غياب سلاسل بيتا كلوبين يؤدي إلى تراكم سلاسل الفا المفردة ، ووجود فائض من سلاسل الفا هو السبب الرئيس للاضرار التأكسدية الخلوية فضلاً عن الحديد الزائد (18) . ففي أثناء عملية التمثيل الغذائي يتحول أيون فائق الأكسدة إلى بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بوساطة انزيم superoxide dismutase المتوفر ، ويتم تحويل H_2O_2 إلى مركب غير ضار بفعل انزيم catalase and peroxidase (19) . وعند وجود الحديد غير المرتبط فإنه يتفاعل مع H_2O_2 ليشكل جذور الهيدروكسيل التي تُعد نوعاً شديداً للتفاعل مما يؤدي إلى منع بلورة السكريات المتعددة ، تحطم شريط الحمض النووي DNA وتثبيط وظيفة البروتين ، فمثلاً يتفاعل الحديدوز (Fe^{+2}) مع بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) لينتج الحديدك (Fe^{+3}) وجذور الهيدروكسيل (OH^0) (20) . الجذور الحرة (OH^0) هي الأكثر تفاعلاً من أنواع الجذور المحتوية على الأوكسجين والقادرة على الضرر التأكسدي المباشر للجزيئات الكبيرة التي تتضمن الحمض النووي DNA، البروتين والأغشية الدهنية وإن قدرة الجذور الحرة على تحطيم هذه الجزيئات يؤدي إلى نشوء تدريجي للسرطان وزيادة الخلايا الوعائية غير الطبيعية وهذا ما يفسر حدوث سرطان الكبد لدى مرضى انيميا البحر المتوسط (21) .

تتشكل النوى الدقيقة micronuclei عند فشل الكروموسوم الكامل أو قطع الكروموسوم من الهجرة إلى أحد النواتين البنويتين أثناء الانقسام الخلوي وإن تشكل النويات الدقيقة تلقائياً يشير إلى وجود خطأ في الانفصال الكروموسومي . تلعب الأنابيب الدقيقة microtubules دوراً كبيراً في عملية فصل الكروموسومات عند تكوين النواة البنوية أثناء الانقسام الخلوي إذ وجد أن المواد التي لها تأثير مثبط للأنابيب

أظهرت نتائج الدراسة من خلال الجدول 1 انخفاضاً معنوياً في عدد كريات الدم الحمراء RBCs والهيموكلوبين Hb في المرضى المصابين بانيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا مقارنة بالأصحاء (السيطرة). ويمكن أن يُعزى ذلك إلى انخفاض تكوين سلاسل بيتا كلوبين في جزيئات الهيموكلوبين للمرضى التي تؤدي إلى تغيرات في تركيب جزيئات الهيموكلوبين ، ونتيجة لذلك فإن كريات الدم الحمراء توصف بزيادة بروتين الكلوبين غير المنظم في أغشية الخلايا وهذا يجعلها عرضة للتدمير من قبل الخلايا البلعمية في نخاع العظم التي لها القدرة على تمييز وتحطيم الخلايا غير الطبيعية وهذا يؤدي إلى تحطم عدد كبير من كريات الدم الحمراء أثناء عملية تكوينها ، وبما أن حجم كريات الدم المرصوصة PCV تعتمد على عدد وحجم الكريات الحمراء فهي تنخفض أيضاً (12) ، اتفقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات الأخرى (13-14) . كما أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في مستوى معدل حجم الكرية الحمراء MCV عند المرضى وذلك لصغر حجم الكرية الحمراء microcytic بسبب نقص في إنتاج سلسلة بيتا كلوبين الناتج من طفرة في جين بيتا كلوبين ، وقد بينت النتائج أيضاً انخفاضاً معنوياً في مستوى معدل وزن هيموكلوبين الكرية MCH بسبب حدوث خلل في إنتاج بروتين الكلوبين والذي ينتج عنه انخفاض في محتوى الهيموكلوبين hypochromic ، اتفقت هذه النتائج مع دراسات أخرى (14-15) . أما معدل تركيز هيموغلوبين الكرية MCHC فهو طبيعي ولم يتغير عند المرضى مقارنة بالأصحاء واتفقت النتائج مع ما توصل إليه (16) الذي لاحظ انخفاض مستوى كل من (Hb، PCV، MCV، MCH) أما المعيار MCHC فوجده ضمن الحدود الطبيعية في مرضى انيميا البحر المتوسط الصغرى . وأما الارتفاع المعنوي في عدد خلايا الدم البيضاء WBCs لدى المرضى سببه يعود إلى وجود عدد كبير من كريات الدم الحمراء RBCs غير الناضجة ، والحاوية على النواة التي من الممكن أن تُحسب بشكل خاطئ كخلايا دم بيضاء ، هذه النتائج تتفق مع نتائج (13-17) .

يعاني مرضى انيميا البحر المتوسط العظمى نوع بيتا من وجود كميات زائدة من الحديد داخل أجسامهم بسبب

تكوين مركبات محتوية على الأوكسجين شديدة التفاعل (ROS) ومن ثم يمنع حدوث السمية الخلوية .

الاستنتاجات

ينخفض مستوى كل من (RBCs ، Hb ، PCV ، MCH ، MCV) في المرضى نتيجة لتحلل الدم وراثياً والذي ينتج عنه فقر دم شديد . اما خلايا الدم البيضاء WBCs فترتفع لديهم وذلك لوجود كريات حمراء غير ناضجة حاوية على النواة تُحسب كخلايا دم بيضاء بشكل خاطئ من قبل الأجهزة ، وذلك لأن انسجة الجسم تكون بحاجة إلى الأوكسجين فيقوم نخاع العظم باطلاق كريات حمراء لسد حاجة الجسم ولأن الكريات تتحلل بسرعة فيستمر باطلاق كريات غير ناضجة .

يزداد كل من دليل الانقسام الخلوي ودليل الانقسام النووي والنويات الدقيقة في الخلايا للمفاوية للمرضى وذلك لزيادة معدن الحديد في اجسام المرضى والنتائج من تحلل الدم hyperhemolysis وتكرار عملية نقل الدم لهم ، حيث يكون الحديد سبباً في سمية الخلية ويؤدي إلى خلل في انقسام الخلايا . وعلى هذا الاساس يجب على المريض أن يحافظ على مستويات الحديد الطبيعية أو القريبة منها لتجنب المضاعفات المرضية المهددة لحياته وذلك من خلال استعمال الأدوية الخافضة للحديد المناسبة .

الدقيقة قد تؤدي إلى انقسام خيطي غير طبيعي وتشكيل النويات الدقيقة (22) . و من خلال نتائج الدراسة الحالية تبين أن زيادة الحديد في جسم المرضى يسبب زيادة في دليل الانقسام الخلوي ، ودليل الانقسام النووي وزيادة في تشكل النويات الدقيقة نتيجة لتأثير الحديد على الحمض النووي مسبباً ضرراً فيه ، وهذه النتائج متفقة مع نتائج (23) الذي بين أن المرضى المصابين بانيميا البحر المتوسط لديهم مستويات مرتفعة من تحطم الحمض النووي DNA وذلك عن طريق ملاحظة زيادة في تشكل النويات الدقيقة وفضلاً عن ذلك فإن الحديد يلعب دوراً مهماً في تلف الانسجة الناتج عن الأكسدة وأن الحمض النووي يكون الهدف للتلف الحاصل من الحديد .

يعرف فيتامين C بحامض الاسكوربيك وهو أحد المكونات الغذائية المهمة ؛ لأنه يُعد مضاداً للأكسدة ويلعب دوراً رئيسياً كمضاد للسموم والذي يشكل جزء من دفاعات الجسم ضد المركبات النشطة تفاعلياً المحتوية على الأوكسجين والجذور الحرة ومن ثم منع تلف الانسجة ، هذا الفيتامين يغلق مواقع الهدف في الحمض النووي ويمنع المطفر mutagen من التفاعل مع الحمض النووي ، ولهذا الفيتامين أثرٌ فسلجي هام في الخلايا كعامل مختزل بوساطة تفاعله مع الجذور الحرة ويعتبر كمساعد انزيم (24) . قد يزيد فيتامين C من امتصاص الحديد في الامعاء ومن ثم تزداد سمية الحديد عند المرضى ولاسيما الذين لا يتلقون علاج إزالة الحديد ، إن تحسين امتصاص الحديد من قبل حامض الاسكوربيك يؤدي إلى زيادة حدوث المضاعفات المتعلقة بالحديد . أما ارتفاع جهد الأوكسجين ووجود المعادن الانتقالية فإنه يسبب أكسدة سريعة لحامض الاسكوربيك والفقدان السريع لفيتامين C يحفز على تكوين بيئة مؤكسدة مع توليد بيروكسيد الهيدروجين وجذور الهيدروكسيل . ولذلك يجب إزالة المعدن شريطة أن تكون الظروف منخفضة الأوكسجين ، مما يدل على أن فيتامين C يمكن أن ينظم التغيرات العامة في التعبير الجيني (25) .

هناك دراسات عديدة اظهرت أن علاج إزالة الحديد Deferoxamine يحمي شريط الحمض النووي والخلايا الطلائية في الكبد من التحطم (26) . وقد ثبت أن في بعض الحالات التي يحصل فيها إزالة الحديد من داخل الخلايا ، يستطيع علاج Deferiprone منع

المصادر

Depart. of Pathology, Bayl. Univ. Med. Cent., Dallas, Texas, 20(1) : 27-31 .

3- Clarke, G. and Higgins, T. (2000). Laborato

ry investigation of hemoglobinopathies &thalassemia.

Beckman Conference Clin. Chemist., 46(8)1284-1290 .

4- Amit, K. M. and Tiwari, A. (2011). β -Thalassemia, fatal blood disorder. Inter. J. Rev. Life Sci., 1(2) : 83-87.

5- Uda, M. ; Galanello, R. ; Sanna, S. ; Lettre, G. ; Sankaran, V. G. and Cao, A. (2008). Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of beta-thalassemia . Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 105(5) : 1620-1625 .

6- Galanello, R. and Origa, R. (2010). Beta thalassemia . Orphanet J. Of Rare Dise., 5 : 11 .

7- Borgna-Pignatti, C. and Galanello, R. (2004). Thalassemia And Related Disorders: Quantitative Disorders Of Hemoglobin Synthesis In "Williams Wintrobe's Clinical Hematology" . Lippincott and Williams (Eds) . Vol.42. 11th ed. Philadelphia. P.p (1319-1365) .

8-Gustashaw, K. M.(1991). Chromosome Stains In "The ACT Cytogenetics Laboratory Manual" . M. J. Barch (Ed) . 2nd ed. Association of cytogenetics technologists, Raven Press: NewYork . P.p (205-296) .

1- Eliezer, A. R. and Patricia, J. G. (2011). How I treat thalassemia . Blood J. Hematol. Library Org., 118(13) : 3479-3488 .

2- Marengo-Rowe, A. J. (2007). The thalassemia and related disorders.

9-Block,A.W.(1999). Cancer Cytogenetics In "The Principles of Clinical Cytogenetics" S. L. Gersen and M. B. Keagle (Eds). 2nd ed. Humana Press, Totowa, NJ . P.p (345-420) .

10- Fenech, M. (2000).The in vitro micronucleus technique . Mutat. Res., 147(1) : 29-36.

11- Steel, R.G. and Torrie, J. H. (1980). Principles and procedure of statistics. Second ed. New York : McGraw-Hill . P.p (481) .

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

13-Al-Mousawi, N. H.(2014). Assessment of immunological status for beta thalassemia major patients in wasit province . M.Sc. Thesis in Biology-Immunology, Collage of education for pure science, Dept. of Biology, University of Thi-Qar, Iraq .

14- Al-Saray, Z. A. (2012). A study of some physiological changes of thalassemia patients in Wasit province .M.Sc. Thesis in Animal Physiology, Collage of Science, University of Wasit, Iraq .

- 15- **Taher, A. ; Fuad, E. R. ; Hussain, I. ; Suzane, K. ; Adlette, I. and Maria, D. C. (2008).** Correlation of liver iron concentration determined by R₂ MRI with serum ferritin in patients with thalassemia intermedia. *Hematol.*, 93(10) : 1584-1586 .
- 16- **Hussain , Z. ; Malik, N. and Chughtal, A. S. (2005).** Diagnostic significance of red cell indices in beta-thalassemia trait. *Biomedica.*, 21(49) : 129-131 .
- 17- **Elhams, S. F. (2010).** Immunological assessment of β -thalassemic major children aged 5-12 years old attending Abd El-Aziz El-Rantisy hospital in Gaza Strip . Msc. Thesis, Faculty of Science. Gaza University, Palestine .
- 18- **Naithani, R. ; Chandra, J. and Bhattacharjee, J. (2006).** Peroxidative stress and antioxidant enzymes in children with β -thalassemia major . *Pedi. Blood Can.*, 46(7) : 780-785 .
- 19- **Ghone, R. A. ; Kumbar, K. M. and Suryakar, A. N. (2008).** Oxidative stress and disturbance in antioxidant balance in beta thalassemia major . *Indi. J. Clin. Biochem.*, 23(4) : 337-340 .
- 20- **Kuppusamy, U. R. and Tan, J. A. (2011).** Chelation Therapy with Desferrioxamine does not Normalize Ferritin Level but Attenuates Oxidative Damage and Improves Total Antioxidant Level in Malaysian Chinese β -thalassaemia Major Patients West Indian . *Med. J.*, 60 (1) : 3.
- 21- **Walter, P. B. ; Fung, E. ; Killilea, D. W. ; Jiang, Q. ; Hudes, M. and Madden, J. (2006).** Oxidative stress and inflammation in iron- overloaded Patients with β -thalassemia or sickle cell disease . *Brit. J. Hematol.*, 135(2) : 254-263 .
- 22- **Chen, J. G. ; Yang, C. P. ; Cammer, M. and Horwitz, S. B. (2003).** Gene expression and mitotic exit induced by microtubule stabilizing drugs . *Cancer Res.*, 63(22) : 7891-7899 .
- 23- **Offer, T. ; Bhagt, A. ; Lal, A. ; Atamma, W. ; Singer, S. T. and Vichinsky, E. P. (2005).** Measuring chromosome breaks in patients with thalassemia . *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1054(1):439-444.
- 24- **Kensler, T. W. ; Egner, P. A. ; Wang, J. B. ; Zhu, Y. R. ; Zhang, B. C. and Lu, P. X. (2004).** Chemoprevention of hepatocellular carcinoma in aflatoxin endemic areas . *Gastro. Enterol.*, 127(1-5) : 310-318 .
- 25- **Carr, A. C. ; Bozonet, S. M. ; Pullar, J. M. ; Simcock, J. W. and Vissers, M. C. (2013).** Human skeletal muscle ascorbate is highly responsive to changes in vitamin C intake and plasma concentrations . *Am. J. Clin. Nutr.*, 97(4) : 800-807 .
- 26- **Gao, J. and Richardson, D. R. (2001).** The potential of iron chelators of the pyridoxal isonicotinoyl hydrazine class as effective antiproliferative agents, IV: The mechanisms involved in inhibiting cell-cycle progression . *Blood.*, 98(3) : 842-850 .