

# هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی و تعیین ارزش تشخیصی آن در کمبود کوبالامین (V.B12) و اسید فولیک در سالمندان

## لیدا معنوی فر

-عضو هیئت علمی دانشکده پیراپزشکی و توانبخشی ، کارشناس ارشد خون شناسی و بانک خون--دانشگاه علوم پزشکی مشهد

## همکاران:

- دکتر امیره نجات شکوهی دانشیار، گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
- دکتر حسین آیت اللهی، دکترای تخصصی پاتولوژی، دانشیار گروه داخلی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
- ناهید ابراهیم زاده، کارشناس علوم آزمایشگاهی، بیمارستان امام رضا ع، آزمایشگاه مرکزی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

کمبود کوبالامین و اسید فولیک در سالمندان در صد شیوع بالایی دارد.

گاستریت آتروفیک، سوء تغذیه و جدیداً سندرم سوء جذب غذا را از عوامل شایع کاهش این دو ویتامین در سالمندان ذکر می کنند .

سالانه تعداد زیادی از سالمندان با علائمی خفیف و مبهم بالاخص کم خونی و شکایات عصبی، ادراکی روانی به پزشک و مراکز درمانی مراجعه می کنند که ممکن است به دلیل کمبود کوبالامین و اسید فولیک و افزایش متابولیت هموسیستئین باشد

یکی از علل افزایش هموسیستئین توتال بدن کمبود فولات و کوبالامین و کاهش تولید آنزیم آدنوزین متیونین است و معتقدند این ماده نقش اساسی در عملکرد سیستم عصبی دارد. افزایش هموسیستئین در سنین بالا، ریسک فاکتوری مستقل برای اختلالات قلبی عروقی، دژنراسیون اعصاب و سایر شکایات عصبی ادراکی روانی در سالمندان می باشد .

شایع ترین علائم کمبود کوبالامین و اسید فولیک

آنمی، ماکروسیتوز، علائم نورولوژیک مثل پاراستزی، بیخوابی، عدم کنترل عضلانی و علائم عصبی روانی شامل افسردگی، دمانس می باشد.

بارز نبودن شواهد بالینی و گوناگونی روش های تشخیص و پرهزینه بودن تست های آزمایشگاهی سبب پیچیدگی و تاخیر پروسه تشخیص کمبود کوبالامین و اسید فولیک می گردد.

استفاده از تست هایی ساده و کم هزینه جهت غربالگری و تشخیص کمبود کوبالامین و اسید فولیک در مراحل اولیه میتواند از جمله برنامه های راهبردی در سلامت سالمندان باشد .

در این مطالعه ارتباط دو پارامتر هماتولوژی هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی و ماکروسیتوز گلبول های قرمز با کمبود کوبالامین و اسید فولیک و افزایش هموسیستئین و نیز میزان حساسیت و اختصاصیت هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی در تشخیص کمبود کوبالامین و اسید فولیک و افزایش هموسیستئین سرم مورد بررسی قرار گرفته است

## نمونه گیری

در این مطالعه اپیدمیولوژیک تحلیلی-توصیفی، **۳۰۰ سالمند بالای ۶۵ سال** بامیانگین سنی  $72 \pm 7/5$  سال از مناطق **۱۲ گانه شهر مشهد** به صورت خوشه ای با همکاری مرکز بهداشت استان انتخاب شدند. سالمندانی که در سه ماه قبل مولتی ویتامین و ویتامین B12 سینتتیک دریافت کرده بودند و یا اطلاعات کافی از آنها نداشتیم از مطالعه حذف گردیدند. سپس مقادیر کوبالامین و اسید فولیک سرم به روش رادیو ایمنواسی (DRG kits, Germany) اندازه گیری شد .

افرادی دارای **فاکتورهای مخدوش کننده اندازه گیری هموسیستئین** بودند یعنی سیگاری بودند ، کراتینین سرم بالای  $1/5 \text{ mg/dl}$  داشتند و داروهایی مثل تری متوپریم ، متفورمین ، امپرازول و ... مصرف کرده بودند از مطالعه حذف و میزان هموسیستئین سرم آنها به روش الیزا (DRG kits) اندازه گیری شد.

پارامترهای هماتولوژیک با سیستم شمارشگر H1 و مورفولوژی گستره خون محیطی نیز توسط دو تکنسین با تجربه بطور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت .

با استفاده از نرم افزار SPSS اطلاعات جمع آوری شده آنالیز گردید .

● کمبودکوبالامین و فولات سرم

میانگین مقادیر کوبالامین و فولات وهموسیستئین به تفکیک جنس در جمعیت مورد مطالعه

|              | <i>Hcy</i> |       | <i>Folate</i> |      | <i>VitB<sub>12</sub></i> |        |        |
|--------------|------------|-------|---------------|------|--------------------------|--------|--------|
|              | مرد        | زن    | مرد           | زن   | مرد                      | زن     |        |
| تعداد افراد  | ۴۰         | ۱۳۴   | ۱۰۶           | ۲۴۰  | ۱۰۵                      | ۱۳۰    | ۲۳۵    |
| میانگین      | ۱۸/۴۹      | ۱۵/۷۴ | ۴/۷۱          | ۵/۲۱ | ۲۲۲/۹۴                   | ۲۸۵/۹۲ | ۲۵۷/۸۸ |
| انحراف معیار | ۷/۶۷       | ۷/۲۷  | ۲/۳۸          | ۲/۸۲ | ۱۶۸/۴۵                   | ۱۸۹/۳۲ | ۱۸۲/۶۴ |

تعداد و درصد شیوع مقادیر کوبالامین و فولات سرم در سالمندان مورد مطالعه در محدوده های پایین، زیر حد نرمال (marginal) و نرمال

| درصد  | تعداد   | مقادیر کوبالامین (V.B12) pg/ml |
|-------|---------|--------------------------------|
| %۲۲/۷ | ۵۶ نفر  | <i>Low</i> (<122)              |
| %۵۱/۸ | ۱۲۸ نفر | <i>Low-normal</i> (122-330)    |
| %۲۵/۵ | ۵۱ نفر  | <i>normal</i> (>330)           |
| درصد  | تعداد   | مقادیر اسید فولیک<br>ng/ml     |
| %۱۶/۷ | ۴۱ نفر  | <i>Low</i> (<3)                |
| %۶۴/۲ | ۱۱۴ نفر | <i>Low-normal</i> (3-5.)       |
| %۱۹/۱ | ۴۷ نفر  | Normal (>5)                    |

**بژورکگرن وهمکاران** در سوئد درصد شیوع کمبود کوبالامین را ۲۰-۵٪ و درصد شیوع کمبود فولات را ۲۰-۱٪ گزارش

نمودند و سالمندان را اقشار آسیب پذیر جامعه از نظر فقر ویتامین های مزبور دانسته اند. (-)

**روبرتزوهمکاران** در روسیه گزارش نمودند که ۲۶/۴٪ سالمندان مبتلا به کمبود کوبالامین و ۲۸/۴٪ مبتلا به کمبود

فولات می باشند. (-)

**فخر زاده وهمکاران** (۲۰۰۶) طی مطالعه ای بر روی قشربک درآمد جنوب غربی تهران در صد شیوع کمبود کوبالامین

در زنان را ۲۷/۲٪ و در مردان ۲۶/۳۲٪ و کمبود اسید فولیک را در زنان ۹۷/۹۲٪ و در مردان ۹۸/۶۲٪ و در صد افزایش

هموسیستئین را در زنان را ۴۱/۷۰٪ و در مردان ۷۳/۱٪ تخمین زدند.

مطالعه کنونی نشان داد درصد شیوع کمبود کوبالامین سرم در محدوده های پایین و زیر حد نرمال (marginal) ۷۳/۶٪ و

درصد شیوع کمبود فولات سرم ۷۰/۳٪ می باشد که در مقایسه با مطالعات دیگر کمبود چشمگیرتر و بیشتر از حدی

می باشد که گزارش می گردد و بالاخص که در اغلب موارد با افزایش هموسیستئین سرم همراه می باشد حائز

اهمیت می باشد .

## • افزایش هموسیستئین سرم

نظربه اینکه در اکثر مطالعات توام بودن هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی با کمبود خفیف کوبالامین وفولات گزارش شده بود ،دراین مطالعه هموسیستئین سرم برای افرادی که کوبالامین وفولات آنها در سطح low normal بود اندازه گیری شد .

در ۷۶ نفر از سالمندان که دارای کوبالامین ۱۲۲- ۳۳۰pg/ml و فولات 1/5-6ng/ml بودند میزان هموسیستئین سرم اندازه گیری شد. ۵۱/۳% دارای هموسیستئین نرمال (< ۱۵) و ۴۸/۹۷% افزایش هموسیستئین (> ۱۵) داشتند.

| تعداد  | درصد   | $\mu\text{mol/l}$              |
|--------|--------|--------------------------------|
| ۲۷ نفر | ۴۸/۹۷% | هیپرهموسیستئینمی<br>(Hcy > ۱۵) |
| ۳۹ نفر | ۵۱/۳%  | هموسیستئین نرمال<br>(< Hcy ۱۵) |
| ۷۶ نفر | ۱۰۰%   | مجموع                          |

در بعضی مطالعات هموسیستئین شاخص حساستری برای بررسی کمبود فولات قلمداد شده است تا کوبالامین. آنجلا جنتیلی و همکاران (۲۰۰۹) با اشاره به اهمیت تشخیص افتراقی کمبود کوبالامین و اسید فولیک، اظهار می کنند که اندازه گیری فولات سرم فقط برای رد کردن کمبود فولات در مقادیر  $5 \text{ ng/ml}$  < مفید است و در مرحله بعد می بایستی با اندازه گیری هموسیستئین تایید شود .

### هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی

در ۲۲۵ سال مند مورد مطالعه، ۲۵/۵٪ افراد (۴۴ مرد و ۶۳ زن) از نظر هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی مثبت بودند.

که ارتباطی با جنس نداشت. ( $p = ۶۹۵/۰$ )

از نظر شدت هیپرسگمانتاسیون، ۱۷/۸٪ دارای هیپرسگمانتاسیون خفیف و ۱۴/۴٪ متوسط و ۱۲/۱٪ شدید بودند.

درصد شیوع هیپرسگمانتاسیون به تفکیک جنس

| درصد          | مجموع | جنس |            | هیپرسگمانتاسیون<br>نوتروفیلی |
|---------------|-------|-----|------------|------------------------------|
|               |       | زن  | مرد        |                              |
| %۵۴/۴۶        | ۱۲۸   | ۶۹  | ۵۹         | منفی                         |
| <b>%۴۵/۵۳</b> | ۱۰۷   | ۶۳  | ۴۴         | <b>مثبت</b>                  |
| %۱۷/۸         | ۴۲    | ۲۶  | ۱۶         | خفیف                         |
| %۱۴/۴         | ۳۴    | ۲۱  | ۱۳         | متوسط                        |
| %۱۳/۱         | ۳۱    | ۱۶  | ۱۵         | شدید                         |
| %۱۰۰          | ۲۳۵   | ۱۳۲ | <b>103</b> | مجموع                        |

## •ارتباط هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی با فولات وکوبالامین سرم

میانگین کوبالامین در دو حالت هیپر سگمانتاسیون مثبت و منفی تفاوت معنی داری را نشان نداد ( $p=.۰۱۹۹$ ).

هیپرسگمانتاسیون با کمبود کوبالامین ارتباط معنی دار نداشت. ( $P=.۰۲۲۲$ )

میانگین فولات در دو حالت هیپرسگمانتاسیون مثبت و منفی تفاوت معنی دار داشت. ( $P=۰.۰۲۶/۰$ )

### وضعیت هیپرسگمانتاسیون در افراد با مقادیر مختلف فولات

| مجموع<br>(درصد) | نرمال >۵ | ۳-۵ | <۳ | فولات ng/ml |              |
|-----------------|----------|-----|----|-------------|--------------|
|                 |          |     |    | منفی        | مثبت         |
| ۱۱۶             | ۴۷       | ۵۶  | ۱۳ | ۱۳          | ۱۳           |
| ۸۶              | ۲۸       | ۳۹  | ۱۹ | ۱۹          | ۱۹           |
| ۲۰۲             | ۷۵       | ۹۵  | ۳۲ |             | مجموع (درصد) |

**رانتا و همکاران** در بررسی ۱۷۱ بیمار دچار گاستریت آتروفیک باین نتیجه رسیدند که کمبود کوبالامین قبل از بروز آنمی و افزایش MCV با هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی همراه است .

**متز و همکاران** هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی را تنها در ۳٪ افراد دارای کمبود کوبالامین مشاهده نمودند . (-)  
**اوما کاندوری و همکاران** به این نتیجه رسیدند که در ۲۰٪ موارد نرمال نیز هیپرسگمانتاسیون وجود دارد که نشان دهنده کمبود ناآشکار کوبالامین (*OCCULT*) یا مقادیر کوبالامین یا اسید فولیک در حد مرز یا مارژینال (*Low normal*) می باشد .

**کارمل و همکاران** ارتباط معکوس ضعیفی را بین هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی و کوبالامین می یابند آنها این ارتباط ناشناخته را به دلیل افزایش متابولیت ها مثل هموسیستئین می دانند . (-)

نتایج مطالعه ما با یافته های مطالعات فوق مطابقت می کند. در این مطالعه نیز هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی با میانگین کوبالامین ( $p=199/0$ ) و نیز با کمبود شدید کوبالامین در سطوح  $122 < (P=.222)$  ارتباط معنی داری نداشت.

## ارتباط هیپرسگمانتاسیون با هیپرهموسیستینمی

حد نرمال هموسیستین سرم  $15 \mu\text{mol/l}$  است . تفاوت معنی داری را در میانگین هموسیستین بیشتر از ۱۵ در دو گروه هیپرسگمانتاسیون مثبت و منفی نشان وجود نداشت . ( $P = .667$ )

در این مطالعه علیرغم شیوع هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی ( $45/52\%$ ) و هیپرهموسیستینمی ( $48/97\%$ ) ارتباط معنی داری بین آن ها یافت نشد . ( $p = .667$ ) .

## • ارتباط هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی با ماکروسیتوز و $MCV > 95$

(متوسط حجم گلبول های قرمز = MCV)

۵۶/۷٪ از سالمندان از نظر ماکروسیتوز گلبول های قرمز مثبت بودند و شدت ماکروسیتوز برابر بود با

$1+ = 30/7\%$        $2+ = 9/6\%$        $3+ = 4/1\%$

تفاوت معنی داری بین شدت ماکروسیتوز و شدت های مختلف هیپرسگمانتاسیون نشان داده شد. ( $p = 0.01/0$ )  
ولی تفاوت آماری معنی داری را بین میانگین  $MCV > 95$  در دو گروه هیپرسگمانتاسیون مثبت و منفی مشاهده نشد  
( $p = 0.96$ ).

همچنین بین دو گروه  $MCV > 95$  و  $MCV < 95$  در شدت های مختلف هیپرسگمانتاسیون تفاوت معنی دار نبود.  
( $p = 0.203/0$ )

تامسون وهمکاران گزارش می کنند که در بررسی کمبود v.b12 ، هیپرسگمانتاسیون ۹۱٪ حساس تر از MCV می باشد.

کریستوفر در مقاله مروری خود می نویسد حتی زمانی که شواهد بیوکمیkal از کمبود کوبالامین واسید فولیک وجود دارد MCV ممکن است در محدوده مرجع باشد ، او با مطالعاتش اظهار داشت که تنها زمانی که  $MCV > 120$  باشد می توان کمبود را با MCV تخمین زد.

در مطالعه حاضر نیز علیرغم ارتباط هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی با ماکروسیتوز ( $p = 0.01$ ) ، بین  $MCV > 95$  و هیپرسگمانتاسیون ارتباط وجود نداشت . ( $P = 0.96$ )

ساویج وهمکاران جهت بررسی ارزش تشخیصی ماکروسیتوز، با انجام تست های گوناگون اظهار داشتند که در کمبود حاد فولات سرم  $< 3 \text{ ng/ml}$  اولین علامت ، ماکروسیتوز و هیپرسگمانتاسیون می باشد که اغلب همراه با افزایش هموسیستئین است .

در این مطالعه نیز هیپرسگمانتاسیون با کمبود فولات و افزایش هموسیستئین ارتباط داشت .

## • ارتباط ماکروسیتوز با کوبالامین و فولات و هموسیستئین ( > ۱۵ )

ماکروسیتوز با میانگین مقادیر کوبالامین (  $p = .1146$  )

وفولات (  $p = .068$  )

و افزایش هموسیستئین (  $p = .462$  ) ارتباط معنی دار نداشت.

ولی **ماکروسیتوز با فولات**  $< 5$  ارتباط معنی دار داشت (  $p = .017$  )

• حساسیت و اختصاصیت هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی در تشخیص کمبود اسید فولیک و کوبالامین

علیرغم ارتباط معنی دار بین فولات با هیپرسگمانتاسیون، حساسیت و اختصاصیت پایین هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی برای تشخیص کمبود فولات سرم در این مطالعه، احتمالاً به این دلیل است که هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی اغلب در مراحل اولیه کمبود فولات که بالانس منفی فولات نامیده می شود ظاهر می گردد و در مراحل اولیه کمبود ارزش تشخیصی بیشتری دارد. کمبود فولات در مراحل بعد رامیتوان با تست تاییدی هموسیستئین قطعی نمود

| هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی |        |  |
|---------------------------|--------|--|
| اختصاصیت                  | حساسیت |  |
| ۰/۶۱                      | ۰/۵۹   | کمبود فولات در حد پایین (<۳ ng/ml)               |
| ۰/۶۱                      | ۰/۴۵   | کمبود فولات در حدود مارژینال = ۳-۵ ng/ml         |
| ۰/۶۱                      | ۰/۵۶   | کمبود کوبالامین در حد پایین (<۱۲۲)               |
| ۰/۶۶                      | ۰/۴۶   | کمبود کوبالامین در حدود مارژینال = ۱۲۲-۳۳۰ Pg/ml |
| ۰/۷۵                      | ۰/۵۱   | افزایش هموسیستئین (>۱۵)                          |

## بحث و نتیجه گیری

در مطالعه ما فولات سرم با هیپرسگمانتاسیون ارتباط معنی دار داشت. ( $p=0/036$ )  
فولات سرم با افزایش هموسیستئین ارتباط معنی دار داشت ( $P=0/044$ ) .  
ماکروسیتوز با فولات سرم ارتباط معنی دار داشت ( $P=0/017$ ) .  
ماکروسیتوز با هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی ارتباط معنی دار داشت ( $P=0/001$ ) .  
اختصاصیت هیپرسگمانتاسیون برای تخمین افزایش هموسیستئین نسبتاً بالا بود (۷۵٪) .

نتایج نشان داد که شیوع هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی بیشتر به دلیل کمبود اسید فولیک می باشد که اغلب با افزایش هموسیستئین و ماکروسیتوز همراه است و در مواردی مربوط به کمبود کوبالامین در سطوح نا آشکار (occult) می باشد

**لیندن بام و آلن** نیز در مطالعه خود اظهار می کنند که با کاهش کوبالامین و فولات ، نوتروفیل های هیپرسگمانته و ماکروسیتوز از اولین علائم کمبود حتی قبل از بروز آنمی و افزایش MCV می باشند و این تست برای تشخیص خون سازی مگالوبلاستیک از حساسیت ۹۵٪ برخوردار است ولی از اختصاصیت کمتری برخوردار است ولی اگر دو یافته ماکروسیتوز و هیپرسگمانتاسیون توأم وجود داشته باشند اختصاصیت بالا و با وجود کاهش اندک کوبالامین و فولات سرم تشخیص کمبود قطعی خواهد بود.

**گابل و همکاران** اظهار داشتند که انسیدانس بالا و شیوع عوارض کمبود کوبالامین و فولات و افزایش هموسیستئین در جمعیت سالمند، لزوم انجام یک تست غربالگر ساده و کم هزینه چون هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی رامی رساند که اغلب بدلیل فشار کار روزانه در آزمایشگاههای تشخیص طبی نادیده گرفته می شود. (-)

با توجه به نتایج مطالعه ، هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی و ماکروسیتوز در مراحل اولیه کمبود فولات و کمبود خفیف کوبالامین بروز می کنند و نظر به اینکه تست هایی ساده و کم هزینه هستند می توانند به عنوان دو پارامتر مناسب جهت غربالگری و ردیابی کمبود به خصوص کمبود فولات که درصد شیوع بالایی در سالمندان دارد استفاده گردند. انجام تست اسکرین جهت تشخیص کمبود و تسریع اقدامات درمانی و بالاحص پیشگیری از عوارض عصبی ادراکی شایع ناشی از آنها در قشر سالمند و جلوگیری از مصرف بی رویه داروهای سینتتیک اهمیت ویژه ای دارد. علیرغم نتایج به دست آمده در این مطالعه و سایر مطالعات ، به نظر می رسد دست یابی و اجرای این برنامه که در ارتباط با سلامت سالمندان است مطالعات گسترده تر و دقیق تري را می طلبد .