

## مقایسه شیوع مالاریا در بیماران تالاسمی و افراد سالم در ایرانشهر، ۱۳۸۲

محمد رضا کریم آذر<sup>۱</sup>، دکتر هوشنگ خزان<sup>۲</sup>، اذن... آذرگشپ<sup>۳</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** در حال حاضر بیش از یکصد کشور جهان با مشکل مالاریا مواجه می باشند. طبق مطالعات انجام شده افراد تالاسمی ماژور مقاومت بیشتری نسبت به مالاریا دارند. در مطالعه حاضر این فرضیه در شهرستان ایرانشهر به عنوان یکی از کانون های اصلی مالاریا در ایران مورد بررسی قرار گرفته است. هدف اصلی این مطالعه بررسی شیوع مالاریا در بیماران تالاسمی و افراد سالم در ایرانشهر است.

**روش کار:** مطالعه به صورت مورد-شاهدی با انتخاب ۱۰۰ نفر از افراد تالاسمی (گروه مورد) و ۱۰۰ نفر از افراد غیر تالاسمی (گروه شاهد) انجام شد. از کل آزمودنی ها علاوه بر نمونه سرم، نمونه خون نوک انگشت جهت تهیه گسترش نیز اخذ گردید. ۲۰۰ نمونه که بصورت تصادفی در تیرماه (مقارن با اوج فعالیت پشه های ناقل در منطقه مورد بررسی) جمع آوری شده بود آزمایش گردید. در این مطالعه از دو روش ایمنو فلورسانس غیر مستقیم (IFA) و گسترش مستقیم استفاده شد و داده ها با استفاده از آمار توصیفی و تحلیلی در نرم افزار آماری SPSS در قالب آزمون های آماری تی، مجذور کای و آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل گردید.

**یافته ها:** در روش IFA در گروه مورد ۲۰ نفر تیترا مثبت و ۸۰ نفر تیترا منفی داشتند و از نظر بررسی لام گسترش خون به کمک میکروسکوپ نوری در افراد تالاسمی، ۲۰ نفر حاوی انگل مالاریا بودند که ۱۰ نفر به پلاسمودیوم فالسیپاروم و ۱۰ نفر به پلاسمودیوم ویواکس مبتلا بودند. در گروه شاهد ۷۵ نفر تیترا مثبت و ۲۵ نفر تیترا منفی داشتند و از نظر بررسی لام گسترش خون در این افراد، ۱۸ نفر آلوده به انگل مالاریا بودند که از این تعداد ۷ نفر به پلاسمودیوم فالسیپاروم و ۱۱ نفر به پلاسمودیوم ویواکس مبتلا بودند. بر اساس نتایج تیترا پادتن، سابقه ابتلا به مالاریا در گروه مورد ۹۲٪ کمتر از افراد گروه شاهد بود که این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود ( $p < 0.05$ ) ولی از نظر نتایج گسترش خون و رنگ آمیزی گیمسا، رابطه معنی داری وجود نداشت.

**نتیجه گیری:** با توجه به اینکه افراد تالاسمی ماژور نسبت به بیماری مالاریا از مقاومت نسبی بیشتری برخوردارند، تحقیقات بیشتری در زمینه ارزیابی مقاومت سایر ناهنجاری های خونی نسبت به مالاریا توصیه می شود.

**واژه های کلیدی:** مالاریا، تالاسمی ماژور، پلاسمودیوم فالسیپاروم، پلاسمودیوم ویواکس

۱- مؤلف مسئول: کارشناس ارشد انگل شناسی دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی

۲- استادیار انگل شناسی دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳- مربی آمار زیستی دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی



## مقدمه

مالاریا از نظر بهداشتی- درمانی از اهمیت جهانی برخوردار است و یکی از ۶ بیماری مهم مطرح در برنامه های سازمان بهداشت جهانی (WHO) تحت عنوان پژوهش بیماری های گرمسیری<sup>۱</sup> می باشد. در کشور ایران علیرغم سرمایه گذاری ها و تلاش های زیادی که جهت فرونشاندن و کنترل این بیماری اعمال گردیده است، بخش قابل ملاحظه ای از کشور درگیر مشکل مالاریا بوده و این بیماری هنوز یکی از مشکلات بهداشتی- درمانی درجه اول استان های جنوب و جنوب شرقی از جمله استان های هرمزگان، سیستان و بلوچستان و قسمتی از نواحی گرمسیری استان کرمان ( کهنوج و جیرفت ) می باشد [ ۱].

۴۰٪ جمعیت کره زمین در معرض خطر ابتلا به این بیماری هستند. در آفریقا ۱۰٪ موارد پذیرش بیمارستانی و ۲۰ تا ۳۰ درصد مراجعات سرپایی به علت مالاریا است و از هر ۲۰ کودک، یک نفر قبل از سن ۵ سالگی در اثر مالاریا فوت می کند. عامل بیماری مالاریای انسانی را چهار گونه پلاسمودیوم های ویواکس، اوال، فالسیپاروم و مالاریه تشکیل می دهند. در ایران پلاسمودیوم ویواکس شایعترین عامل مالاریا است [۲]. تالاسمی ها کم خونی هایی ارثی هستند که انواع خفیف تر آنها شایعترین نقص های ژنتیکی انسان است و انواع شدید آنها منجر به بیماری های با مرگ و میر بالا می شود. ایران یکی از کشورهای واقع بر کمربند تالاسمی در سطح جهان است. بر اساس اطلاعات حاصله ۴-۲ درصد متولدین در ایران مبتلا به تالاسمی هتروزیگوت می باشند. بر اساس برآورد WHO حداقل ۵٪ جمعیت جهان ناقل یکی از اشکال آلفا تالاسمی، بتا تالاسمی، هموگلوبین S, E یا C می باشند [۳]. اعتقاد بر آن است که افراد تالاسمی یک نوع مقاومت نسبی علیه مالاریا دارند که با توجه به شرایط جغرافیایی و نوع مالاریا در هر منطقه میزان این

مقاومت متغیر است، بطوریکه در مطالعه ای، خطر ابتلای به مالاریا در افراد آلفا تالاسمیک هموزیگوت ۴۰٪ و در افراد هتروزیگوت آلفا تالاسمیک ۶۶٪ نسبت به افراد سالم پایین تر بوده است [۴].

در مطالعه دیگری که در کشور میانمار انجام شد، میزان پارازیتمی انگل مالاریا در خون افرادی که نقص در آنزیم G6PD داشتند به مراتب کمتر از افراد سالم بود [۵]. با توجه به آمارهای رسمی موجود در ایران بیش از ۲۵ هزار بیمار مبتلا به بتا تالاسمی وجود دارد که سالیانه حدود ۲۵۰۰ تا ۳۵۰۰ نفر به آنها اضافه می شود [۳]. با توجه به شواهد فوق و اهمیت مالاریا و تالاسمی، مطالعه حاضر جهت بررسی شیوع مالاریا در افراد مبتلا به بتا تالاسمی ماژور (گروه مورد) و افراد به ظاهر سالم (گروه شاهد) در یکی از مناطق مالاریا خیز کشور (ایران شهر) انجام گرفت.

## مواد و روش ها

حجم نمونه مورد نظر شامل ۱۰۰ نفر از افراد مبتلا به تالاسمی ماژور ساکن ایرانشهر به عنوان گروه مورد و ۱۰۰ نفر از افراد غیر تالاسمی ساکن ایرانشهر به عنوان گروه شاهد بصورت راندوم انتخاب گردیدند. از افراد مورد نظر نمونه خون وریدی به میزان ۲ الی ۳ سی سی و جهت جدا کردن سرم به منظور ردیابی IgG اخذ و لام خون نوک انگشت جهت رنگ آمیزی گیمسا و مشاهده با میکروسکوپ تهیه شد. لام خون از نوک انگشت میانی در بالغین و در اطفال از پاشنه پا به صورت دو گسترش نازک و ضخیم تهیه گردید که پس از رنگ آمیزی گیمسا با میکروسکوپ نوری ارزیابی شد.

جهت انجام آزمون IFA نمونه خون اخذ شده با میکروسکوپ ایمونوفلورسانس و بزرگنمایی ۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفت.

عواملی که در روند مطالعه ایجاد اختلال می کردند شامل تالاسمی مینور، سیکل سل آنمی و

<sup>1</sup> Tropical Disease Research

از ۱۰۰ نفر افراد گروه شاهد، ۷۵ نفر دارای تیترا مثبت و ۲۵ نفر تیترا منفی داشتند. از تعداد ۷۵ نفر تیترا مثبت، ۴۱ نفر تیترا ۱/۴۰، ۲۸ نفر تیترا ۱/۱۶۰، ۵ نفر تیترا ۱/۶۴۰ و ۱ نفر تیترا ۱/۲۵۶۰ داشت. در میان افراد شاهد با تیترا منفی، ۲۳ نفر فاقد تیترا و ۲ نفر تیترا ۱/۱۰ داشتند که از نظر بالینی منفی محسوب می‌گردند. بر اساس نتایج حاصل از گسترش مستقیم (رنگ آمیزی گیمسا) از تعداد ۱۰۰ نفر گروه مورد تعداد ۲۰ نفر حاوی انگل مالاریا بودند که از این تعداد ۱۰ مورد پلاسمودیوم فالسیپاروم و ۱۰ مورد پلاسمودیوم ویواکس بدست آمد. در گروه شاهد از تعداد کل ۱۰۰ نفر ۱۸ نفر حاوی انگل مالاریا بودند که ۷ مورد پلاسمودیوم فالسیپاروم و ۱۱ مورد پلاسمودیوم ویواکس بدست آمد. لازم به ذکر است در گروه مورد ۱۰ نفر از افراد دارای IFA مثبت همزمان گسترش خونی مثبت داشتند ولی در گروه شاهد ۱۸ نفر IFA مثبت، گسترش خونی مثبت نیز داشتند. در مطالعه حاضر یافته‌های سرولوژی در دو گروه از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار بود، بطوری که برای یافته‌های سرولوژی شانس نسبی  $OR=0.83$  (CI=  $0.162-0.43$ ) و  $p=0.001$  بدست آمد. برای یافته‌های پارازیتولوژی، بین دو گروه ارتباط معنی‌دار وجود نداشت ( $p=0.85$ ) و  $OR=1.14$  (CI=  $0.232-0.56$ ) سابقه ابتلا به مالاریا در افراد تالاسمی (گروه مورد) ۹۲٪ کمتر از افراد غیر تالاسمی (گروه شاهد) بود ولی از نظر یافته‌های پارازیتولوژی معنی‌دار نبود (نمودار ۲۱).

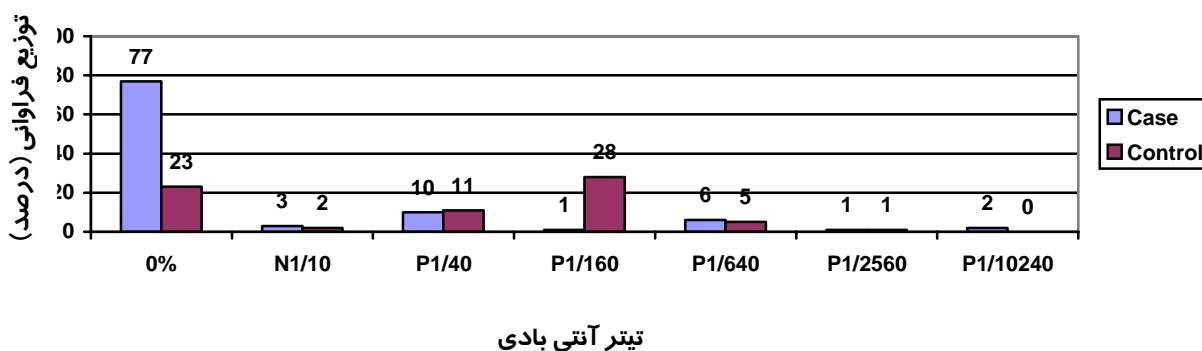
نقص در آنزیم G6PD بودند. جهت جلوگیری از احتمال اختلال در روند تحقیق سعی گردید افراد کنترل به نحوی انتخاب شوند که دارای MCV بالای ۸۵ باشند که در این صورت افرادی که فاکتور تالاسمی مینور داشتند خود به خود از جامعه مورد بررسی حذف می‌شدند و همچنین با مشاهده گسترش لام مستقیم رنگ آمیزی شده با دیدن اشکال غیر طبیعی گلبول قرمز (اشکال داسی) از تحقیق حذف می‌شدند. نقص آنزیم G6PD با روش‌های زیادی قابل تشخیص است ولی آزمون فلوروسانت لکه‌ای به عنوان اختصاصی‌ترین و قابل اعتمادترین آنها معرفی شده است (با حساسیت ۹۰٪) که در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت [۶].

داده‌ها با استفاده از آماری توصیفی و تحلیلی در نرم افزار آماری SPSS در قالب آزمون‌های آماری تی، مجذور کای و آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل گردید.

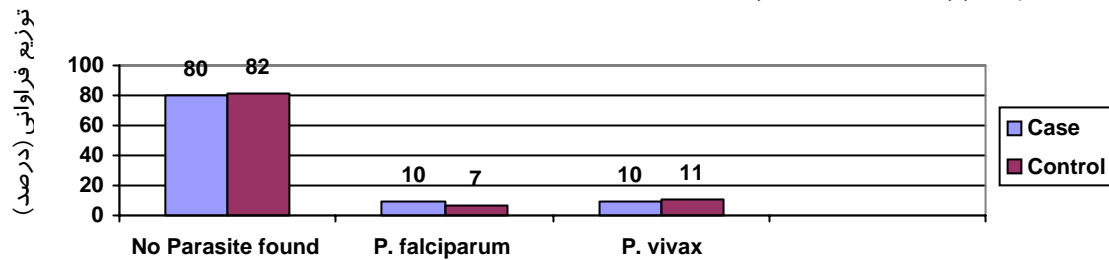
## یافته‌ها

در نتایج حاصل از آزمون IFA، در گروه مورد ۲۰ نفر تیترا مثبت و ۸۰ نفر تیترا منفی داشتند که از این ۲۰ نفر تیترا مثبت، ۱۰ نفر تیترا ۱/۴۰، ۱ نفر تیترا ۱/۱۶۰، ۶ نفر تیترا ۱/۶۴۰، ۱ نفر تیترا ۱/۲۵۶۰ و ۲ نفر تیترا ۱/۱۰۲۴۰ داشتند. از میان ۸۰ نفر تیترا منفی افراد تالاسمی ۷۷ نفر فاقد تیترا و ۳ نفر تیترا ۱/۱۰ داشتند که از نظر بالینی منفی محسوب می‌گردند.

نمودار ۱. مقایسه تیترا آنتی بادی در گروه مورد و شاهد



نمودار ۲. مقایسه پارازیتولوژیک مالاریا در گروه مورد و شاهد



## بحث

در گذشته اعتقاد بر این بوده است که بیماری تالاسمی مانعی در برابر مالاریاست و حتی علت شیوع اپیدمیولوژی مشابه این دو بیماری را در مناطق مختلف جهان این نکته می دانستند که افراد تالاسمی به علت عدم ابتلای به مالاریا در مناطق فوق شانس زنده ماندن بیشتری داشته و همین امر افزایش ناقلین تالاسمی را به همراه داشته است [۷].

طبق نتایج بدست آمده در این مطالعه از نظر تیترا پادتن بین دو گروه تالاسمی و غیر تالاسمی، در افراد تالاسمی ۹۲٪ احتمال ابتلای به مالاریا نسبت به افراد غیر تالاسمی کمتر است و افراد تالاسمی از مقاومت نسبی در برابر تهاجم انگل مالاریا برخوردار می باشند. در بررسی محققین مطالعه ای در زمینه رابطه تالاسمی و مالاریا صورت نگرفته بود ولی کار سرواپیدمیولوژی به روش IFA در شهرستان ایرانشهر انجام شده و تیترا مثبت مالاریا در منطقه اندمیک در افراد به ظاهر سالم ۸۲٪ بوده است که از این مقدار ۱۱/۳٪ عیار ۱:۶۴۰ و بالاتر با استفاده از آنتی ژن پلاسمودیوم فالسیپاروم مثبت تشخیص داده شده است [۱].

یوتاونگ<sup>۱</sup> و همکاران در مطالعه ای ثابت کردند که تکثیر پلاسمودیوم فالسیپاروم در هموگلوبین H بطور موثری در مقایسه با گلبول های قرمز طبیعی کاهش می یابد و انگل در سلول های قرمز غیر طبیعی تمایل

بیشتری برای فاگوسیتوز شدن توسط منوسیت ها نشان می دهد و اثرات سمی گلبول های قرمز افراد تالاسمی علیه مالاریا را در آزمایشگاه به راحتی می توان مشاهده کرد [۸].

در بررسی اناستازی<sup>۲</sup> مشخص گردید تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن باعث کشته شدن انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم می شود که در هموگلوبینوپاتی ها سطوح بیشتری از آنیون سوپر اکسید ( $O_2^-$ ) و پر اکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) نسبت به گلبول های قرمز طبیعی تولید می شود که این عامل در هموگلوبینوپاتی ها سبب حذف انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم از گلبول قرمز می شود [۹]. طبق مطالعه مورد شاهدهی در شمال ساحل گینه نو که بر اساس آزمایش PCR<sup>۳</sup> انجام گرفت، مشخص گردید خطر ابتلا به مالاریا در افراد آلفا تالاسمیک هموزیگوت ۴۰٪ و در افراد هتروزیگوت آلفا تالاسمی ۶۶٪ پایین تر بود و نیز در همان مطالعه ثابت شد که ژن های مقاوم بر علیه بیماری مالاریا از مبتلا شدن به سایر عفونت های غیر مالاریا نیز جلوگیری می کند [۴]. اعتقاد بر آن است که داروی دفروکسامین که گیرنده آهن می باشد مانع رشد انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم می شود. پلاسمودیوم فالسیپاروم آهن سرم را می گیرد و افزایش آهن تغذیه ای استعداد ابتلای به مالاریا را

<sup>2</sup> Anastasi

<sup>3</sup> Polymerase Chain Reaction

<sup>1</sup> Yuthavong

کارشناسی ارشد علوم بهداشتی در رشته انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۳، صفحه ۸۰.

۲- داد سید زاده سیدا... بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم ویواکس به کلروکین در شهرستان ایرانشهر. پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۷۵-۱۳۷۴.

۳- رشیدی بنفشه. بررسی مرگ و میر بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور در بیمارستان های دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، پایان نامه دکتری پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، سال ۶۹-۱۳۶۸، صفحات ۸۵ تا ۹۰.

4- Allen SJ, O' Donnell A, Alexander ND, Alpers MP, Peto TE, Clegg JB, et al. A thalassemia protects children against disease caused by other infections as well as malaria. 1997; (94): 14736-41.

5- Oo M, Tin-shwe, Marlar-than, Osullivan WJ. Genetic red cell disorders and severity of falciparum Myanmar. Bull World Health Organ. 1995; 73(5): 659-65.

۶- دیویدسون اچ. روش های آزمایشگاهی تشخیص بالینی و درمان در خون شناسی بالینی، ترجمه میر افضل امیر حسین، تهران: موسسه انتشاراتی کتاب میر، سال ۱۳۸۲، صفحات ۹۰ تا ۹۹.

۷- خدایی حسین. بررسی مولکولی جهش های شایع ژن بتاگلوبین در بیماران مبتلا به بتا تالاسمی استان بوشهر. پایان نامه کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۷۵، صفحات ۱۰۰ تا ۱۰۵.

8- Yuthavong Y. Impaired parasite growth and increased susceptibility to phagocytosis of plasmodium falciparum infected alpha-thalassemia. Am J Clin Pathol. 2002 Apr; 89 (20): 521-25.

9- Anastasi J. Hemoglobin s-mediated membrane oxidant injury protection from malaria and pathology in sickle cell disease. Med Hypotheses. 1984; 14(30): 311-20.

10- Peto T, Thompson J. A reappraisal of the effects of Iron and Desferrioxamine on the growth of plasmodium falciparum. Br J Haematol. 1986; 63(40): 273-80.

11- MyintOo, Upston JM, Gero AM. Resuced transport of adenosine in erythrocytes from with beta-thalassemia. Int J Parasitol. 1993 May; 23(3): 303-7.

افزایش می دهد [۱۰]. در مطالعه حاضر ۹ نفر از افراد تالاسمی دارای تیترا ۱/۶۴۰ و بالا تر بودند که نشان دهنده عفونت حاد در این افراد است و ۱۱ نفر از افراد تالاسمی تیترا ۱/۴۰ تا ۱/۱۶۰ را نشان دادند. در ۵۰٪ گروه مورد که از نظر سرولوژی دارای تیترا مثبت بودند (۱/۴۰ و به بالا)، در اسمیر مستقیم انگل مالاریا در خون محیطی به اثبات رسید. در ۵۰٪ بقیه که از نظر سرولوژی دارای تیترا مثبت بودند ولی انگل در اسمیر مستقیم دیده نشد احتمالاً به دلیل عفونت قبلی بوده که IgG مثبت داشتند. به نظر می رسد متلاشی شدن گلبول های قرمز حاوی انگل مالاریا در افراد مبتلا به تالاسمی دوره پارازیتی مالاریا در این گروه کوتاه تر از افراد غیر تالاسمی می باشد. به این ترتیب ایجاد پادتن و دوام آن در افراد مبتلا به تالاسمی کمتر است. از کل ۱۸ نفر از افراد غیر تالاسمی که در اسمیر مستقیم انگل مالاریا داشتند همگی بدون استئنا دارای پادتن IgG علیه آنتی ژن مالاریا بودند که این میزان در افراد تالاسمی ۱۰ نفر بود. پلاسمودیوم فالسیپاروم نیازمندی شدیدی به آدنوزین داخل گلبول های قرمز دارد که در افراد بتا تالاسمی ماژور میزان آدنوزین در مقایسه با افراد سالم بسیار کاهش یافته است و معتقدند که این ویژگی باعث مقاومت افراد بتا تالاسمی ماژور به مالاریا می شود [۱۱]. در هر صورت آنچه که در مورد آن بحث گردید پتانسیل آلودگی جمعیت به ظاهر سالم این منطقه (ایرانشهر) می باشد و لازم است بررسی های بیشتری در زمینه های مختلف، از جمله ارتباط انواع هموگلوبینوپاتی ها با مالاریا انجام شود.

## منابع

۱- حسین زاده سردار آبادی ناهید. بررسی سروایدمیولوژی مالاریا در شهرستان ایرانشهر و کشت پلاسمودیوم فالسیپاروم جهت تهیه آنتی ژن، پایان نامه