

A Study of Neutrophil Hyper Segmentation in Elderly and its Diagnostic Value for Cobalamin and Folic Acid Deficiency in Mashhad, Iran.

Manavifar L¹, Nejat shokouhi A², Ayatollahi H³, Mahjoub M⁴

Abstract

Introduction: The prevalence of cobalamin and folic acid is high in elderly. Ambiguous clinical findings, various laboratory methods and normal range and cost of laboratory tests have been resulted in complexity and delay of the deficiency diagnosis. The aim of this study is to evaluate the relation between hematologic parameters, especially neutrophil hypersegmentation and cobalamin and folic acid insufficiency as well as increased serum homocystein.

Methods: Three hundred subjects more than 65 years age from twelve regions of Mashhad were studied. This population was selected by the Provincial Health Center. 250 subjects were analyzed for serum cobalamin and folate by RIA method. 78 subjects, who had cobalamin 120-450 pg/ml and folate 1.5-17ng/ml without any confounders, were analyzed for homocystein (Hcy) by Elisa method. Hematological parameters were assayed by H1 system and blood smear by microscopic observation. Data were analyzed by SPSS 11.5 software. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: Among 235 participants, 45.5% and 54.5% were positive and negative for neutrophil hypersegmentation (NH), respectively. Significant correlation was not found between NH and gender. In 216 subjects, 56.7% had red blood cell macrocytosis. There was a significant relation between severity of NH and macrocytosis ($p=0.001$). Macrocytosis had significant correlation with folate deficiency ($p=0.017$). NH showed a statistically significant relation with folate ($p=0.036$), however, no correlation with cobalamin < 122 pg/ml and increased homocystein. Folate showed significant relation with increased homocystein ($p=0.001$). Specificity and sensitivity of NH for diagnosis of cobalamin and folate deficiency was low.

Conclusion: With respect to the high incidence of folate deficiency in elderly, a simple and economic screening test such as NH and macrocytosis could be performed for evaluation of serum folate. Although the specificity and sensitivity of NH for diagnosis of folate deficiency is not high, it may be used as a screening test.

Keywords: Cobalamin, Folate, Homocystein, Hematologic parameters, Neutrophil hypersegmentation, the elderly

تایید مقاله: ۲۰ اردیبهشت ۱۳۹۱

دریافت مقاله: ۲۰ بهمن ۱۳۹۰

بررسی هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی در سالمندان و تعیین ارزش تشخیصی آن در کمبود V.B12 و اسید فولیک در شهر مشهد (۱۳۹۰)

لیدا معنوی فر^۱، امیره نجات شکوهی^۲، حسین آیت الهی^۳، منیره محجوب^۴

هدف: کمبود کوبالامین و اسید فولیک در سالمندان در صد شیوع بالایی دارد. گوناگونی و بارز نبودن یافته های بالینی ویر هزینه بودن تست های آزمایشگاهی سبب پیچیدگی و تاخیر در تشخیص کمبود می گردد. در این پژوهش ارتباط پارامترهای هماتولوژیک بالاخص هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی با کمبود کوبالامین و اسید فولیک و افزایش هموسیستئین سرم و نیز میزان حساسیت و اختصاصیت آن مورد بررسی قرار می گیرد.

روش بررسی: نمونه مورد مطالعه، ۳۰۰ سالمند بالای ۶۵ سال از مناطق ۱۲ گانه شهر مشهد بود که با همکاری مرکز بهداشت استان به صورت خوشه ای انتخاب شدند. مقادیر کوبالامین (V.B12) و اسید فولیک سرم به روش RIA اندازه گیری شد. در

افراد با کوبالامین (۴۵۰-۱۲۰ pg/ml) و اسید فولیک (۱۷-۱/۵ ng/ml)، هموسیستئین سرم (Hcy) به روش Elisa اندازه گیری شد. پارامترهای هماتولوژیک با سیستم شمارشگر H1 و مشاهده میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت. داده های جمع آوری شده بانرم افزار SPSS آنالیز شد.

یافته ها: از ۲۳۵ سالمند شرکت کننده در مطالعه، ۴۵/۵٪ افراد از نظر هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی مثبت و ۵۴/۵٪ منفی بودند. ارتباط معنی داری بین هیپرسگمانتاسیون و جنسیت وجود نداشت. در ۲۱۶ سالمند، ۵۶/۷٪ از نظر ماکروسیتوز مثبت بودند و شدت ماکروسیتوز برابر بود با $1+ = 30/7\%$ و $2+ = 9/6\%$ و $3+ = 4/1\%$. درجات مختلف ماکروسیتوز با شدت های مختلف هیپرسگمانتاسیون ارتباط داشت ($p = 0/001$). ماکروسیتوز با کاهش کوبالامین و افزایش هموسیستئین از نظر آماری ارتباط نداشت ولی با کاهش فولات ($< 5 \text{ ng/ml}$) ارتباط داشت ($p = 0/017$). میانگین فولات در دو حالت هیپرسگمانتاسیون مثبت و منفی تفاوت معنی داری را نشان داد ($p = 0/036$). هیپرسگمانتاسیون با کمبود کوبالامین (< 122) و افزایش هموسیستئین از نظر آماری ارتباط نداشت. فولات با افزایش هموسیستئین ارتباط داشت ($p = 0/001$). حساسیت و اختصاصیت هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی در تشخیص کمبود کوبالامین و فولات سرم پایین بود.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به شیوع کمبود فولات و عوارض بالینی آن در سالمندان، تست های غربالگری ساده و کم هزینه چون ماکروسیتوز و هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی را می توان جهت ارزیابی کمبود فولات سرم استفاده نمود و اگرچه حساسیت و اختصاصیت هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی چندان بالا نیست، می توان از آن به عنوان یک تست غربالگر استفاده نمود.

کلمات کلیدی: کوبالامین، فولات، هموسیستئین، یافته های هماتولوژیک، هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی، سالمندان

نویسنده مسئول: لیدا معنوی فر، manavifar1@mums.ac.ir

آدرس: ابتدای فلسطین - دانشکده علوم پیراپزشکی مشهد، تلفن: ۱۳-۴۱۰۱۱۱

- ۱- عضو هیئت علمی دانشکده پیراپزشکی و بهداشت، کارشناس ارشد خون شناسی و بانک خون - دانشگاه علوم پزشکی مشهد
- ۲- دانشیار، گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
- ۳- دکترای تخصصی پاتولوژی - دانشیار گروه داخلی دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی مشهد
- ۴- عضو هیئت علمی دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

مقدمه

Bjorkegren و همکاران (۲۰۰۴) 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 (۴).

فخرزاده و همکاران (۲۰۰۶) طی مطالعه ای بر روی قشربم درآمد در جنوب غربی تهران درصد شیوع کمبود کوبالامین در زنان را ۲۷/۲٪ و در مردان ۲۶/۳٪ و کمبود اسید فولیک را در زنان ۹۷/۹۲٪ و در مردان ۹۸/۶۷٪ و درصد افزایش هموسیستئین را در زنان را ۴۱/۷۰٪ و در مردان ۷۳/۱٪ تخمین زدند (۵).

شیردل و معنوی فر (۲۰۰۷) در ۳۰۰ سالمند ساکن شهر مشهد، باتوجه به نقاط برش بدست آورده، درصد شیوع کمبود کوبالامین را ۷۳/۶٪ و درصد شیوع کمبود فولات را ۷۰/۳٪ گزارش نمودند. ۵۱/۸٪ سالمندان دچار کمبود کوبالامین در سطوح مرزی یا مارژینال (330 pg/ml - 122) و ۲۲/۷٪ دچار کمبود کوبالامین در حد پایین ($< 122 \text{ pg/ml}$) بودند همچنین ۶۴/۲٪ دارای کمبود

مطالعات نشان می دهند که کمبود کوبالامین و اسید فولیک در سالمندان در صد شیوع بالایی دارد. مشخص نبودن یافته های بالینی و گوناگونی و پر هزینه بودن تست های آزمایشگاهی سبب پیچیدگی و تاخیر در تشخیص کمبود کوبالامین (V.B12) و اسید فولیک می گردد.

گاستریت آتروفیک توام با افزایش سن و سوء تغذیه و جدیداً سندرم سوء جذب غذا را از عوامل شایع کاهش این دو ویتامین در سالمندان ذکر می کنند (۱). شایع ترین علائم کمبود کوبالامین و فولات آنمی، ماکروسیتوز و علائم نورولوژیک مثل پاراستزی، بیخوابی، عدم کنترل عضلانی و علائم عصبی روانی شامل افسردگی، دمانس می باشد (۲). هموسیستئین با کمبود فولات و کوبالامین هردو افزایش می یابد. تحقیقات اخیر، افزایش خطر بالقوه بیماری های قلبی و دژنراسیون اعصاب و تخریب عروقی را در اثر افزایش هموسیستئین توتال (tHcy) گزارش می کنند (۳).

ذکر می کنند که به دلایل گوناگون رخ می دهد و کمبود خفیف کوبالامین آن را تشدید می کند. در مطالعه آنان افرادی که کمبود شدید کوبالامین داشتند با درمان تغییری در هیپرسگمانتاسیون حاصل نشد ولی افرادی که دارای کمبود در حد مارژینال بودند هیپرسگمانتاسیون اصلاح شد (۹).

طبق گزارشات دو متغیر هیپرسگمانتاسیون و ماکروسیتوز در مراحل اولیه کمبود خفیف کوبالامین و بالاخص در کمبود فولات بروز می کنند. انسیدانس بالا و شیوع عوارض کمبود کوبالامین و فولات و افزایش هموسیستئین در جمعیت سالمند در نقاط مختلف و از جمله در ایران، لزوم انجام یک تست غربالگر ساده و کم هزینه مثل هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی رامی رساند که اغلب نادیده گرفته می شود.

در این مطالعه در صد هیپرسگمانتاسیون و ماکروسیتوز و ارتباط آن ها با سطوح مختلف کمبود کوبالامین و فولات در جمعیت سالمند شهر مشهد، مورد بررسی قرار می-گیرد.

روش بررسی

در این مطالعه ۳۰۰ سالمند بالای ۶۵ سال از مناطق ۱۲گانه شهر مشهد مورد مطالعه قرار گرفتند به این ترتیب که بعد از انتخاب خوشه های سالمندان با همکاری واحد آمار مرکز بهداشت استان و اخذ آدرس، کارت دعوت و رضایت تهیه و توسط ۷ دانشجوی پرششگر به افراد ارائه شد. در صورت رضایت هماهنگی لازم جهت مراجعه گروهها در روزهای مشخص به آزمایشگاه مرکزی بیمارستان امام رضا(ع) به عمل آمد.

در بیمارستان بعد خون گیری (ناشتا)، توسط پزشک علائم حیاتی و بالینی در فرم مخصوص ثبت و سپس پرسشنامه اطلاعات دموگرافیک سالمند تکمیل گشت. نمونه خون و سرم جدا و نمونه سرم در (20°C -) فریز شد. یافته های هماتولوژیک با سیستم HI، اندازه گیری شد. مورفولوژی گستره خون محیطی نیز توسط دو تکنسین با تجربه بطور جداگانه مورد مشاهده قرار گرفت. سالمندانی که در سه ماه قبل مولتی ویتامین و ویتامین B12 سینتیک دریافت کرده بودند و یا اطلاعات کافی از آنها نداشتیم از مطالعه حذف گردیدند. سپس مقادیر

فولات در سطوح مرزی (۳-۵ ng/ml) و ۱۶/۷٪ دارای کمبود فولات در حد پایین (<۳ng/ml) بودند، ۴۸/۷٪ سالمند هیپرهوموسیستئینی (Hcy>15) داشتند و کمبود هر دو کوبالامین و فولات با افزایش هموسیستئین ارتباط معنی دار داشت (p=۰/۰۰). این ارتباط با موارد کمبود در سطوح مرزی نیز وجود داشت (p=۰/۰۰) (۶). در کمبود کوبالامین و فولات بافتهایی که رپلیکاسیون DNA سریع دارند، مثل سلول های خونی و غشاء موکوزی در مراحل اولیه کمبود دچار اختلال و تغییرات مگالوبلاستی می گردند. اختلال در سنتز DNA موجب ایجاد نوتروفیل های هیپرسگمانته می گردد که ۵٪ ≥ نوتروفیل ها ۵ لوبه هستند یا نوتروفیل های بیش از ۵ لوب وجود دارند.

Lindenbaum و Allen (۱۹۹۵) 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 زیرا هیپرسگمانتاسیون در نارسایی کلیوی حتی با کراتینین بطور متوسط بالا (>۲mg/dl)، آنمی فقر آهن، بیماری های میلودیسیپلاستیک، درمان با کورتیکواستروئیدها و داروهای ضد کانسر نیز دیده می شود. 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 (۷).

Joshi و Khanduri (۲۰۰۵) با مطالعه خود در هندوستان به این نتیجه رسیدند که در ۷۵٪ بیماران با کمبود آشکار کوبالامین یا اسید فولیک ویا توأم و نیز در ۲۰٪ موارد نرمال هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی وجود دارد که نشان دهنده کمبود ناآشکار (OCCULT) یا مقادیر کوبالامین یا اسید فولیک در حد مرز یا مارژینال (Low normal) می باشد (۸).

Carmel و همکاران (۱۹۹۶) ارتباط معکوس ضعیفی را بین هیپرسگمانتاسیون و کمبود کوبالامین گزارش می-کنند. آنها علت بروز هیپرسگمانتاسیون (اغلب بدون افزایش MCV) را افزایش متابولیتها مثل هموسیستئین

کوبالامین و اسید فولیک سرم به روش رادیو ایمنواسی اندازه گیری شد.

(DRGkitsCat#,RIA-1990, Germany)

افرادی که دارای $VB12 = 120-450 \text{ pg/ml}$ و فولات $17-1/5 \text{ ng/ml}$ بودند بعلاوه فاقد فاکتورهای مخدوش کننده بودند یعنی سیگاری نبودند، کراتینین سرم کمتر از $1/5 \text{ mg/dl}$ داشتند و داروهایی مثل تری متوپریم، متفورمین، امپرازول و ... مصرف نکرده بودند مجدداً انتخاب و میزان هموسیستئین سرم آنها به روش الایزا (باکیت DRG) اندازه گیری شد. در نهایت با استفاده از نرم افزار SPSS اطلاعات جمع آوری شده آنالیز گردید یعنی با آزمون های پارامتری و حسب لزوم سایر آزمون ها، مقایسه های لازم بین متغیرها انجام و ارتباط و معنی دار بودن آنها مشخص گردید.

یافته ها

در ۲۳۵ سالمند، ۴۵/۵٪ افراد (۴۴ مرد و ۶۳ زن) از نظر هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی مثبت بودند. از نظر شدت هیپرسگمانتاسیون، ۱۷/۸٪ دارای هیپرسگمانتاسیون خفیف و ۱۴/۴٪ متوسط و ۱۳/۱٪ شدید بودند.^۱ آزمون کادو ارتباط معنی داری را بین هیپرسگمانتاسیون و جنس نشان نداد ($p=0/695$) (جدول ۱).

• یافته های هماتولوژیک

۲۱۵ سالمند، از نظر ماکروسیتوز بررسی و ۱۲۲ نفر ۵۶/۷٪ مثبت بودند.^۲ درصد افراد مثبت از نظر شدت ماکروسیتوز عبارت بود از ۷۳/۶۲٪ یک مثبت، ۲۳/۱۰۲٪ دو مثبت و ۳/۳۵٪ سه مثبت. در ۲۱۵ سالمند ۶۴ نفر ۲۹/۷۶٪ اوالوسیتوز مثبت و ۷۴ نفر ۳۴/۹۰٪ هیپوکرومی

^۱ معیاری که برای گزارش شدت هیپرسگمانتاسیون: در نظر گرفته شد.

خفیف= تا ۶٪ نوتروفیل های پنج لوبه و بیش از پنج لوبه متوسط= ۷-۱۲٪ نوتروفیل های پنج لوبه و بیش از پنج لوبه شدید= ۱۳-۱۸٪ نوتروفیل های پنج لوبه و بیش از پنج لوبه

^۲ معیار گزارش ماکروسیتوز:

+۱ ۱۰-۱۵ عدد در هر میدان میکروسکوپی
+۲ ۱۶-۲۰ عدد در هر میدان میکروسکوپی
+۳ ۲۱-۲۵ عدد در هر میدان میکروسکوپی

مثبت بودند.

جدول ۱: درصد شیوع هیپرسگمانتاسیون به تفکیک جنس

| جنس | هیپرسگمانتاسیون | مرد | زن | مجموع | درصد |
|-------|-----------------|-----|-----|--------|------|
| منفی | ۵۹ | ۶۹ | ۱۲۸ | ۵۴/۴۶٪ | |
| مثبت | ۴۴ | ۶۳ | ۱۰۷ | ۴۵/۵۳٪ | |
| خفیف | ۱۶ | ۲۶ | ۴۲ | ۱۷/۸٪ | |
| متوسط | ۱۳ | ۲۱ | ۳۴ | ۱۴/۴٪ | |
| شدید | ۱۵ | ۱۶ | ۳۱ | ۱۳/۱٪ | |
| مجموع | ۱۰۲ | ۱۳۲ | ۲۳۵ | ۱۰۰٪ | |

• کمبود کوبالامین و فولات سرم

در پروژه تحقیقاتی که توسط پژوهشگر در همین جمعیت از سالمندان انجام شد (۶) میانگین مقادیر کوبالامین (V.B12) و فولات و هموسیستئین گزارش شد. در ۲۳۵ نفر، ۲۲/۷٪ درصد سالمندان دارای کمبود کوبالامین در حد پایین ($122 \text{ pg/ml} < \text{Low}$) و ۵۱/۸٪ در حدود بینابینی ($\text{marginal} = 122-330 \text{ pg/ml}$) و ۲۵/۵٪ دارای کوبالامین >330 بودند که normal در نظر گرفته شدند.

در ۲۴۰ سالمند، ۱۶/۷٪ درصد دارای کمبود فولات در حد پایین ($<3 \text{ ng/ml}$) و ۶۴/۲٪ در حدود بینابینی ($3-5 \text{ ng/ml}$) و ۱۹/۱٪ دارای فولات $>5 \text{ ng/ml}$ بودند که نرمال در نظر گرفته شد.

افزایش هموسیستئین سرم

۷۶ نفر از افراد که دارای کوبالامین $122-450 \text{ pg/ml}$ و فولات $17-1/5 \text{ ng/ml}$ بودند به علاوه فاقد فاکتورهای مخدوش کننده اندازه گیری هموسیستئین بودند مجدداً انتخاب و میزان هموسیستئین سرم اندازه گیری شد. ۵۱/۳٪ کاهش هموسیستئین ($<15 \text{ } \mu\text{mol/l}$) ۴۸/۹۷٪ افزایش هموسیستئین ($>15 \text{ } \mu\text{mol/l}$) داشتند. (جدول ۲).

جدول ۳: وضعیت هیپرسگمانتاسیون در افراد با مقادیر مختلف فولات

| مقدار فولات | <۳ | ۳-۵ | نرمال >۵ | مجموع (درصد) |
|----------------------|------------|------------|------------|--------------|
| هیپرسگمانتاسیون منفی | ۱۳ | ۵۶ | ۴۷ | ۱۱۶ (۵۷/۴۲) |
| هیپرسگمانتاسیون مثبت | ۱۹ | ۳۹ | ۲۸ | ۸۶ (۴۲/۵۷) |
| مجموع (درصد) | ۳۲ (۱۵/۸۴) | ۹۵ (۴۷/۰۲) | ۷۵ (۳۷/۱۲) | ۲۰۲ |

جدول ۲: میانگین (انحراف معیار) مقادیر کوبالامین و فولات و هموسیستئین به تفکیک جنس

| میانگین (انحراف معیار) | زن و مرد | مرد | زن |
|------------------------|----------|--------|--------|
| کوبالامین | ۲۵۷/۸۸ | ۲۲۲/۹۴ | ۲۸۵/۹۲ |
| | ۱۸۲/۶۴ | ۱۶۸/۴۵ | ۱۸۹/۳۲ |
| فولات | ۵/۲۱ | ۴/۷۱ | ۵/۶۰ |
| | ۲/۸۲ | (۲/۳۸) | ۳/۰۸ |
| هموسیستئین | ۱۵/۷۴ | ۱۸/۴۹ | ۱۳/۶۸ |
| | ۷/۲۷ | ۷/۶۷ | ۶/۲۷ |

منفی تفاوت معنی دار داشت ($p=0/036$).

ارتباط هموسیستئین و فولات و کوبالامین سرم با میانگین لوب نوتروفیل $>3/6\%$

در تعریف یکی دیگر از معیارهای هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی میانگین لوب بیشتر از $3/6\%$ می باشد. با آزمون تی ارتباط معنی داری بین میانگین لوب نوتروفیل در ۲ گروه $3/6\% \leq$ و $3/6\% >$ با هموسیستئین ($p=0/463$) و کوبالامین ($p=0/66$) و فولات ($p=0/165$) وجود نداشت.

ارتباط هیپرسگمانتاسیون با هموسیستئین نرمال

حد نرمال هموسیستئین سرم $15 \mu\text{mol/l} <$ است. میانگین هموسیستئین بیشتر از ۱۵ در هیپرسگمانتاسیون مثبت ۲۱/۹۲۸ و در هیپرسگمانتاسیون منفی ۲۱/۴۱۵ بود آزمون تی مستقل تفاوت معنی داری را در میانگین هموسیستئین بیشتر از ۱۵ در دو گروه هیپرسگمانتاسیون نشان نداد ($p=0/667$).

همچنین آزمون کای دو تفاوت معنی داری را بین شدت هیپرسگمانتاسیون در دو گروه هموسیستئین $15 >$ و کمتر $15 <$ نشان نداد ($p=0/092$).

شمارش سلولهای خون در شدتهای مختلف هیپرسگمانتاسیون

آزمون آنوا تفاوت معنی داری بین شدت های مختلف هیپرسگمانتاسیون و میانگین RBC ($p=0/299$) و WBC ($p=0/480$) و PLT ($p=0/528$) نشان نداد.

ارتباط ماکروسیتوز با کوبالامین و فولات و هموسیستئین $> 15 \mu\text{mol/l}$

باتست آنوا بین ماکروسیتوز با میانگین مقادیر کوبالامین ($p=0/146$) و فولات ($p=0/068$) و هموسیستئین $15 >$ ($p=0/462$) ارتباط معنی دار نبود. ولی ماکروسیتوز با فولات $5 \text{ ng/ml} <$ ارتباط معنی دار داشت ($p=0/017$).

بررسی ارتباط ماکروسیتوز $MCV > 95$ با هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی

آزمون کادو تفاوت معنی داری را بین درجات ماکروسیتوز و شدت های مختلف هیپرسگمانتاسیون نشان داد ($p=0/001$).

ولی آزمون تی مستقل تفاوت آماری معنی داری را بین میانگین $MCV > 95$ در دو گروه هیپرسگمانتاسیون مثبت و منفی نشان نداد ($p=0/096$). همچنین آزمون کادو بین دو گروه $MCV > 95 \text{ fl}$ و $MCV < 95 \text{ fl}$ در شدت های مختلف هیپرسگمانتاسیون تفاوت معنی داری را نشان نداد ($p=0/203$).

ارتباط فولات و کوبالامین با هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی

آزمون تی مستقل بین میانگین کوبالامین در دو حالت هیپرسگمانتاسیون مثبت و منفی تفاوت معنی داری را نشان نداد ($p=0/199$). هیپرسگمانتاسیون با کمبود کوبالامین در حد پایین ($122 <$) ارتباط معنی دار نداشت ($p=0/222$) (جدول ۳).

میانگین فولات در دو حالت هیپرسگمانتاسیون مثبت و

5 ng/ml < در نظر گرفته شد و مشخص گردید که:
 ۲۲/۷٪ افراد دارای کمبود کوبالامین در حد پایین
 (<۱۲۲) و ۵۱/۸٪ کمبود در حدود بینابینی یا مارژینال
 (۳۳۰-۱۲۲) می باشند.

همچنین ۱۶/۷٪ دچار کمبود فولات در حد پایین (۳)
 و ۶۴/۲٪ دچار کمبود در حدود بینابینی (۳-۵ng/ml)
 بودند ۴۸/۹۷٪ سالمندان هیپرهموسیستئینمی ($\mu\text{mol/l}$)
 ۱۵ (Hcy) داشتند. هموسیستئین با فولات ($p=0/044$)
 ارتباط منفی معنی دار داشت (۶).

Ranta و همکاران در بررسی ۱۷۱ بیمار دچار گاستریت
 آتروفیک به این نتیجه رسیدند که کمبود کوبالامین قبل
 از بروز آنمی و افزایش MCV با هیپرسگمانتاسیون
 نوتروفیلی همراه است (۱۱). Metdz و همکاران
 هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی را تنها در ۳٪ افراد دارای
 کمبود کوبالامین مشاهده نمودند (۱۳).

Joshi و Khanduri و همکاران در هندوستان به این
 نتیجه رسیدند که در ۷۵٪ بیماران که کمبود کوبالامین
 یا اسید فولیک و یا هر دو را دارند هیپرسگمانتاسیون وجود
 دارد و 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 (۸).

Caramel 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 که به دلایل گوناگون دیگر رخ
 می دهند و اظهار داشتند که در کمبودهای خفیف،
 هیپرسگمانتاسیون ابزاری برای تشخیص افزایش
 هموسیستئین است که اغلب با افزایش MCV همراه
 نمی باشد. در مطالعه آنان افرادی که کمبود شدید
 کوبالامین داشتند با درمان تغییری در هیپرسگمانتاسیون
 حاصل نشد ولی افرادی که دارای کمبود در حد مارژینال
 بودند هیپرسگمانتاسیون اصلاح شد (۹).

Adwowa با مطالعه موردی خود در Ghana در سه
 بیمار دچار کمبود V.B12، در دو مورد آنمی و کاهش
 V.B12 و علائم نورولوژیک و در مورد دیگر آنمی و
 هیپرسگمانتاسیون و کاهش خفیف V.B12 را گزارش داد
 که هر سه به درمان با V.B12 پاسخ خوبی داشتند (۱۰).
 نتایج مطالعه ما با یافته های مطالعات فوق مطابقت می-

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

با بررسی موارد مثبت و منفی واقعی و کاذب حساسیت
 و اختصاصیت محاسبه گردید.

• هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی در تشخیص کمبود
 اسید فولیک در حد پایین (Low < 3 ng/ml) فاقد
 حساسیت و اختصاصیت بود (در صد حساسیت ۵۹٪ و در
 صد اختصاصیت ۶۱٪).

• هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی در تشخیص کمبود اسید
 فولیک در حدود مارژینال (Low normal < 5ng/ml)
 فاقد حساسیت و اختصاصیت بود (در صد حساسیت =
 ۴۵٪ و در صد اختصاصیت = ۶۱٪).

• هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی در تشخیص
 کمبود کوبالامین در حد پایین (Low < 122 pg/ml)
 فاقد حساسیت و اختصاصیت بود (در صد حساسیت =
 ۵۶٪ و در صد اختصاصیت = ۶۱٪).

• هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی در تشخیص کمبود
 کوبالامین در حدود مارژینال (Low normal < 330
 pg/ml) فاقد حساسیت و اختصاصیت بود (در صد
 حساسیت = ۴۶٪ و در صد اختصاصیت = ۶۶٪).

• هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی در تخمین افزایش
 هموسیستئین فاقد حساسیت ولی از اختصاصیت خوبی
 برخوردار بود (در صد حساسیت = ۵۱٪ و در صد
 اختصاصیت = ۷۵٪).

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه اپیدمیولوژیک تحلیلی- توصیفی جمعیت
 سالمند مورد مطالعه از نظر هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی
 (NH) و ارتباط آن با کمبود کوبالامین و فولات و افزایش
 هموسیستئین (Hcy) و ماکروسیتوز گلوبول قرمز مورد
 بررسی قرار گرفت.

مطالعه نشان داد در صد بالایی از سالمندان مورد مطالعه
 ۵۴/۵٪ دارای هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی با شدت های
 مختلف می باشند که ارتباطی با جنس ندارد (جدول ۱).

در پژوهش قبلی که در همین گروه سالمند انجام شد
 میانگین مقادیر کوبالامین (V.B12) و فولات و
 هموسیستئین گزارش شد و با بدست آوردن نقطه برش
 مقادیر نرمال برای کوبالامین $330 \text{ pg/ml} >$ و برای فولات

($p=0/001$).

اختصاصیت هیپرسگمانتاسیون برای تخمین افزایش هموسیستئین نسبتا بالا بود ۷۵٪. لذا به نظر می رسد شیوع هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی بیشتر به دلیل کمبود اسید فولیک باشد و به احتمال کمتر مربوط به کمبود کوبالامین در سطوح نا آشکار و یا فقر آهن (۱۸) وغیره باشد.

Rampersaud 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 را می رساند که اغلب به دلیل فشار کار روزانه در آزمایشگاه های تشخیص طبی نادیده گرفته می شود (۱۹).

با توجه به اظهارات Lindenbaum (۷)، این مطالعه نیز نشان داد عدم حساسیت و اختصاصیت هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی برای تشخیص کمبود فولات سرم علیرغم ارتباط معنی دار بین فولات با هیپرسگمانتاسیون، احتمالا به این دلیل است که هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی اغلب در مراحل بسیار اولیه کمبود فولات که بالانس منفی فولات نامیده می شود ظاهر می گردد و ارزش تشخیصی دارد. البته کمبود فولات را می توان در مرحله بعد با تست تاییدی هموسیستئین قطعی نمود.

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 خرج هستند می توانند به عنوان دو پارامتر مناسب 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 خاصی 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 تری را می طلبد.

کند. در این مطالعه هیپرسگمانتاسیون با میانگین کوبالامین ($p=0/199$) و نیز با کمبود شدید کوبالامین در سطوح $122 < (p=0/222)$ ارتباط معنی داری نداشت.

Thompson و همکاران گزارش می کنند که در بررسی کمبود V.B12 هیپرسگمانتاسیون ۹۱٪ حساس تر از MCV (۱۲) می باشد. کریستوفر در مقاله مروری خود می نویسد حتی زمانی که شواهد بیوکمیkal از کمبود کوبالامین و اسید فولیک وجود دارد MCV ممکن است در محدوده مرجع باشد، او با مطالعاتش اظهار داشت که تنها زمانی که $MCV > 130$ باشد می توان کمبود را با MCV^1 تخمین زد (۱۴).

Khanduri و همکاران به این نتیجه رسیدند که حدود ۵۰٪ افراد مورد مطالعه آنان که کمبود آشکار کوبالامین یا اسید فولیک و یا هر دو را داشتند دارای هموگلوبین بالای ۱۲ و MCV آن ها اغلب نرمال می باشد (۸). در مطالعه ما نیز علیرغم ارتباط هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی با ماکروسیتوز بین $MCV > 95$ و هیپرسگمانتاسیون ارتباط وجود نداشت ($p=0/96$).

Savage و همکاران جهت بررسی ارزش تشخیصی ماکروسیتوز، با انجام تست های گوناگون اظهار داشتند که در کمبود حاد فولات سرم $< 3ng/ml$ اولین علامت، ماکروسیتوز و هیپرسگمانتاسیون می باشد که اغلب همراه با افزایش هموسیستئین است (۱۵).

Gentili و همکاران 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 $5 ng/ml <$ مفید است و در مرحله بعد می بایستی با اندازه گیری هموسیستئین تایید شود (۱۶).

در بعضی مطالعات هموسیستئین شاخص حساستری برای بررسی کمبود فولات قلمداد شده است تا کوبالامین (۱۷). 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 ارتباط معنی داری با کوبالامین و هموسیستئین > 15 نداشت ولی ماکروسیتوز با فولات سرم ارتباط معنی دار داشت ($p=0/017$). ماکروسیتوز با هیپرسگمانتاسیون نوتروفیلی ارتباط معنی دار داشت

¹ متوسط حجم گلبول های قرمز= MCV

سیاسگزاری

گردد. از همکاران جناب آقای عباس آذریان و سرکار خانم مرضیه مرجانی که در انجام پژوهش ما را یاری نمودند تشکر می گردد.

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد جهت هر گونه همکاری در انجام پژوهش فوق تشکر می-

منابع

1. Dail-Youcef Andre's E. An update on cobalamin deficiency in adults. QJM 2009; 102(1):17-28.
2. Meertens L, Solanol L. Vitamin B₁₂, folic acid and mental function in the elderly. Invest clin 2005; 46(1): 53-63.
3. Robert C OH, David L. Vitamin B₁₂ Deficiency. Am Fam Physician 2003; 67(5): 979-986.
4. Bjorkegren k, swardsudd k. population – based intervention study on elevated serum levels of methyl Malonicacid and total homocystein in elderly people 2004. J Intern of Med 2004; 256(5): 446-452.
5. Fakhrzadeh H, Ghotbi S, Rasoul P, Masoumeh N, Ramin H, Fatemeh B. Total plasma homocystein, folate, and status in healthy Iranian adults. BMC Public Heealth. 2006; 6-29.
6. Shirdel A, Manavifar L, Negatshokohi A, Shakeri M T. Study of folate and cobalamin deficiency in elderly by determining a cut-off point with laboratory markers in mashhad (Iran).JMUMS 2009; 52(2): 67-74.[Persian]
7. Lindenbaum J, Allen RH. Clinical spectrum and diagnosis of folate deficiency. Folate in health a disease. New York, NY: Marcel Dekker 1995; 43–73.
8. Khanduri U, Sharma A, Joshi A. Occult cobalamin and folate deficiency in Indians. Nati Med J India 2005; 18(4): 182-3.
9. Carmel R, Green R, Jacobsen D W, Qian GD. Neutrophil segmentation in mild cobalamin defitency. Am j Clin Pathol 1996; 106(1): 57-63.
10. Ivy Adwowa Efiefi Ekem. Hypersegmented neutrophils and reversible hyperpigmentation in vitamin B₁₂ deficiency in Ghana. BMJ Case Reports 2009; doi:10.1136/bcr.08.
11. Ranta P, Helske T, Kaariinen I, Maki T, Saarinen p, Kekilinen L. serum pepsinogen I test reveals cases of vitamin b12 deficiency without Anemia in patient corpusatrophy. Clin Chem Lab Med, 39(suppl.): 328.
12. Thomson WG, Cassino C, Babitz L, Meola T, Berman R, Lipkin M Jr. Hypersegmented Neutrophil and vitamin b12 deficiency. Acta Hematol 1989; 81(40): 186-91.
13. Metz j, Bell AH, Flicker L, Bottiglieri T, Ibrahim J, Seal E. The significance of subnormal serum vitamin B12 concentration in older people. J Am Geriatr Soc 1996; 44(11): 1355-61.
14. Christopher F. Snow. Laboratory diagnosis of vitamin b12 and folate deficiency. Arch Intern Med 1999; 159: 1289-1298.
15. Savage, David G, Ogundipe, Akinola, Allen, Robert H. Etiology and Diagnostic Evaluation of Macrocytosis. American journal of the Medical Sience 2000; 319(6): 343-325.
16. Gentili A, Vohra M, Chen D, Subir Vij, Kuan D, Chen H. folic acid deficiency: differential diagnoses .htn://emedicine medscan.com/article. E / 200184. Updated: Aug 24 2009.
17. Maike W, Hermann S, Andreas H. B vitamin status concentration of Hcy & MMA in elderly German women. Am j clin Nutr 2003; 78: 765-72.
18. Westerman D A, Evans D, Metz J. Neutrophil hypersegmentation in iron deficiency anemia. BJH 1999; 107(3-I): 512-515.
19. Rampersaud G C, Kauwell P A, Bailey LB. Folate: A Key to Health and Reducing. Disease Risk in the Elderly J Am Coll Nutr 2003; 22(1): 1-8.