مجله دانشکده پزشکی تهران

شماره ششم ــ اسفندماه ۱۳۵۴ ــ صفحه ۲۳۵

شش مورد هموگلوبین اندونزی در بیماران ایرانی

دکتر شموئیل رهبر ــ دکتر محمود کبیری ــ دکتر پرویز بهادری

دکتر غلامرضا ولی زاده ــ دکتر محمد پوستی

دلایل زیادی برای وفور هموگلوبین های غیر طبیعی در بین ایرانیان وجود دارد که مهمتر از همه وجود گروه‌های نژادی وقومی در نقاط مختلف کشور میباشد. تجربه ۱۰ ساله آزمایشگاه تحقیق هموگلوبین‌های غیر طبیعی در دانشگاه تهران که نتیجه آزمایش روی حدود چهل هزار نمونه خون نشان میدهد که مثلا هموگلوبین پنجاب به نسبت یکنفر در ۱۵۰ نفر و در مناطق شمالی کشور از هر صد نفر ۳ــ۴ نفر مثلا به بتا تالاسمی مبتلا هستند و بهمین دلیل فرمهای دوبل هتروزیگوت مانند بتا تالاسمی و سیکل سل و بتا تالاسمی و هموگلوبین D به وفور دیده میشود (۱) بتا دلتا تالاسمی نیز در سه مورد دیده شده است، علاوه بر هموگلوبین‌های غیر طبیعی و شایع قبلی که در بیماران ایرانی اغلب دیده میشود مانند HbD پنجاب، HbE, Hb S هموگلوبین‌های نادری که در سایر نقاط جهان قبلا دیده شده در بین ایرانیان وجود دارد مانند Hb J. Paris (x 12 Ala-ASP) در ده خانواده (۲) و Hb Setif (ASP – Tyr. x 34) در چهار خانواده (۳) و Hb O Indonesia (x116 Glu-Lys) در شش خانواده دیده شده است که در پنج مورد بصورت هتروزیگوت که یک مورد آن قبلا گزارش شده است (۴) در یک مورد بصورت دوبل هتروزیگوت با هموگلوبین D بوده است.

(۵) علاوه بر هموگلوبین های شناخته شده قبلی تا کنون ۹ مورد هموگلوبین غیر طبیعی که برای اولین بار در جهان شناخته میشود در ایران کشف شده است (۶و۷)

در این مقاله گزارش شش مورد HbO اندونزی که در شش فامیل ایرانی طی سه سال اخیر مشاهده شده است ذکر میشود.

در بعضی از حاملین این هموگلوبین غیر طبیعی کم خونی دیده شده است که باید بعلت دیگری بجز وجود هموگلوبین غیر طبیعی باشد زیرا وجود این هموگلوبین معمولا همراه کم خونی یا عوارض دیگری نمیباشد.

تاکنون نزدیک به ۲۰۰ نوع هموگلوبین غیر طبیعی در جهان کشف شده است که از لحاظ ساختمان مولکولی با هموگلوبین طبیعی فرق دارند و یک تغییر در قسمت معینی از زنجیره های الفا و بتای هموگلوبین سبب ایجاد این هموگلوبین غیر طبیعی شده است.

در بسیاری از آنها وجود یک هموگلوبین غیر طبیعی همراه با علائم کلینکی مانند کم خونی و یا بزرگی طحال و علائم همولیتک نمیباشد زیرا محل موتاسیون یافته در مولکول از لحاظ کار هموگلوبین و ثابت نگهداشتن آن در گلبول رل مهمی ندارد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-03-25]

دربسیاری‌ازهموگلوبین‌های‌غیرطبیعی موتاسیون‌درقسمتی از زنجیره‌های هموگلوبین بوجودآمده است که آن‌قسمت در نگهداری‌استحکام‌وثبات‌مولکول‌اهمیت‌داردو محل‌پیوندهای فرعی‌با سایر قسمتهای زنجیره ها میباشد بالنتیجه تغییردر این قسمت‌سبب بوجود آمدن‌یک هموگلوبین‌بی ثبات‌میباشد که بـراحتی در گلبول رسـوب میکند و رسوب خـراب شده هموگلوبین‌توسط‌طحال جدا شده‌سبب‌بزرگی طحال و علائم همولیتکی‌میگردد‌مانند هموگلوبین زوریخ (۸)هموگلوبین ها مرآسیبت (۹) و در تمام‌این‌مواردباید بفکر یک هموگلوبین بی ثبات بود در بعضی از هموگلوبینهای غیر طبیعی بعلت ایجاد موتاسیون در قسمتی از زنجیره هموگلوبین که‌مسئول تنظیم‌اکسیژن گیری است جاذبه هموگلوبین به اکسیژن زیاد میشود و در انساج اکسیژن کمتری از مولکول هموگلوبین جدا میشود و بدن برای جبران این نقص تعداد گلبولهای سرخ‌را زیادمیکندو مقدارهموگلوبین‌خون‌نیزبیشتراز طبیعی میگردد ،

و بهمین دلیل علت بسیاری از پولی سیتمی ها میتوانـد وجود یک هموگلوبین غیر طبیعی باشد ازجمله‌این‌نوع‌هموگلوبین‌هائی که همراه با اریتروسیتوز هستند هموگلوبین‌سیرا کیوس (۱۰) را میتوان نام برد .

درچند نوع‌هموگلوبین غیرطبیعی تغییر در ساختمان یک زنجیره‌گلوبین سبب‌شده است که اتم آهن که در وضع طبیعی به حالت فرو میباشد Fe^{++} یک الکترون از دست داده و به صورت‌فریک Fe^{+++} در میاید که این شکل هموگلوبین نمی تواند عمل فیزیولوژیک انتقال اکسیژن را انجام دهد یعنی تبدیل به اکسی هموگلوبین گردد و بالنتیجه در بیمار ایجاد مت‌هموگلوبین امی میشودکه با عوارض شناخته شده آن‌مانند سیانوروغیره همراه است این نوع هموگلوبین‌های غیرطبیعی راکه‌ایجاد مت هموگلوبین امی میکند هموگلوبین M مینامند و درمورد سیانورهای فامیلی باید بفکر وجود یک هموگلوبین غیر طبیعی نیز بود .

انواع موتاسیون‌ها در هموگلوبین دیده شده است البتـه دراکثر موارد نوع موتاسیون از نوع جایگزینی یک اسیدآمینه بجای‌اسید آمینه دیگر میباشد ولی درچند نمونه هموگلوبین غیر طبیعی از جا افتادگی یک یا چند اسید آمینه دیده می شودمثلا درهموگلوبین‌فرایبورگ‌اسیدآمینه شماره ۲۳ زنجیره بتا وجود ندارد (۱۱) و یا در هموگلوبین لیدن LEIDEN اسید آمینه ۶ یا ۷ زنجیره بتا وجود ندارد (۱۲) ، در هموگلوبین گان هیل ۵ اسید آمینه زنجیره بتا از شماره ۹۱ تـا شماره ۹۵ از زنجیره بتا جا افتاده است (۱۳) نوع جدید از هموگلوبین‌های‌غیرطبیعی که ازلحاظ دانش بیولوژی مولکولی توجه زیادی به آنها معطوف گشته است هموگلوبین‌های غیر طبیعی با زنجیره‌های طولانی تر از طبیعی است Elong-ated Chain Constant Spring مانندهموگلوبین (۱۴) و هموگلوبین TAK (۱۵) ،

باید دانست که تعداد و ترتیب اسیدهای آمینه در هموگلوبین طبیعی اشخاص بالغ ثابت است ، مثلا زنجیره آلفـا دارای ۱۴۱ اسید آمینه با ترکیب معین و خاصی و زنجیره‌بتا دارای ۱۴۶ اسید آمینه با ترکیب معین و خاصی میباشد ،

تغییر کدهای‌خاتمه دهنده سبب میشود که این کد عمل نکندو زنجیره پولی پپتیدی مثلا زنجیره هموگلوبین درمحل معین پایان نیابد و اسیدهای آمینه زیادتر از طبیعی داشته باشدتا بیک کدخاتمه‌دهنده دیگربرسد وقطع شود بالنتیجه زنجیره آلفا یا بتای هموگلوبین طولانی تر از طبیعی‌ودارای اسیدهای آمینه بیشترخواهد شد ، این نوع هموگلوبین هاکه خود مدرک و دلیل روشنی بر وجود کدهای خاتمه دهنـده هستند تاکنون سه نوع دیده شده است ،

اول هموگلوبین Constant Spring که مبتلایان به الفا تالاسمی و بیماری هموگلوبین دیده شده است‌وزنجیره‌آلفای‌آن دارای ۱۷۲ اسیدآمینه یعنی ۳۱اسید آمینه‌بیشتر اززنجیره‌های آلفای‌طبیعی دارد این هموگلوبین از نوع هموگلوبین‌های بی ثبات و ایجادعلائم همولیتیک‌می نماید .

دوم در هموگلوبین TAK زنجیره‌های بتا طولانی تر از طبیعی و دارای ۱۵۳ اسیدآمینه یعنی ۶ اسید آمینه اضافی دارد .

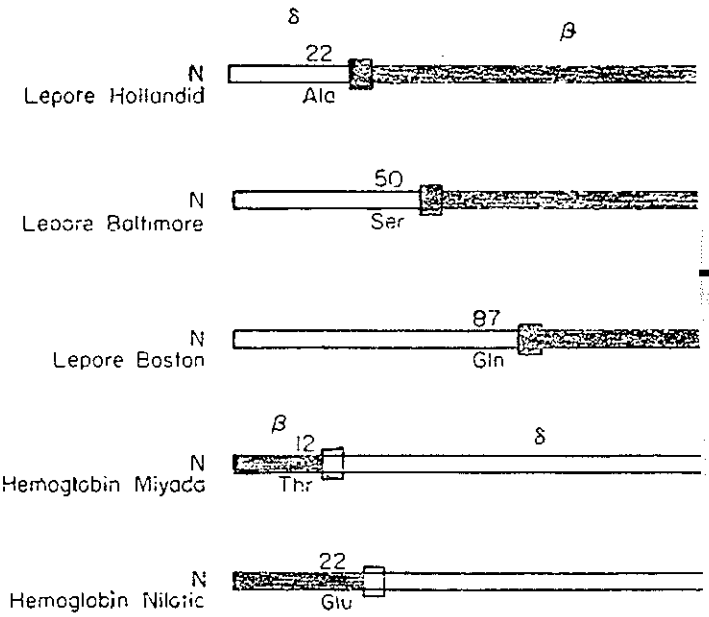
در ایران یک مورد هموگلوبین Constant Spring داشته‌ایم .

از نوع دیگر موتاسیون هموگلوبین غیر طبیعی بنام هموگلوبین‌های لیپور و آنتی لیپور میباشد که در نتیجه تقاطع ژنی نامساوی Unegual Crossing Over

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-03-25]

بین‌ژنهای سازنده‌زنجیره‌بتا ودلتا تولید میشودو ژن‌مخلوط و هیپریدی که حاصل میشود باعث ساخته شدن هموگلوبین میشودکه زنجیره‌های‌بتای آن‌طبیعی نیست‌ودرقسمتی‌زنجیره ساختمان دلتا و قسمتی زنجیره ساختمان بتا را دارد .

در انواع هموگلوبین‌های لیپور مثل لیپور Myada لیپور هلانده و لیپور بوستون و لیپور بالتیمور محل اتصال دو زنجیره بتا و آلفا و نسبت زنجیره‌های بتا و دلتا که در ساختمان‌زنجیره‌شرکت میکند فرق میکند شکل زیر که ازمقاله یکی از نویسندگان تهیه شده است این فرق را نشان میدهد (۱۶) .



درمورد هموگلوبین‌های آنتی لیپور قسمت شروع زنجیره ساختمانش‌شبیه‌زنجیره‌بتاست‌واین وضع برخلاف هموگلوبین لیپور میباشد که قسمت ابتدائی زنجیره‌ها شبیه به زنجیره دلتا میباشددرایران‌هموگلوبین‌لیپورنوع‌بوستون (Boston) تاکنون در سه خانواده دیده شده و در یک خانواده همو ــ گلوبین‌لیپور بوستون بشکل هموزیگوت وجود دارد که‌دارای علائم کلینیکی حامل و کاملا "شبیه به بیماری‌کولی‌ماژور می باشد (۱۶ــ۱۷)

شرح حال یک مورد از شش مورد را در زیر ذکر میشود

شهناز ــ ن ۱۳ ساله که بعلت بی اشتهائی و درد ران‌از چند هفته قبل ازبستری شدن شکایت داشت بستری‌گردید . پدرو مادرهمخون‌نیستند .یک برادروخواهر داردکه‌سالمند .

یافته بالینی

بیمار ازنظر رشدجسمی عقب‌افتاده است قد ۱۲۲ سانتی متر (طبیعی برای سن۱۴۲سانتیمتر) و وزنش ۲۴/۵ کیلوگرم (طبیعی برای سن ۲۴ کیلوگرم) بود .

پوست و مخاطها رنگ پریده بوده دستگاهها ، بخصوص اندامها ،قلب ،کبد و طحال‌در معاینه بالینی تغییرات‌پاتو ــ لوژیک نشان نمیدادند . در رادیوگرافی ران راست جمجمه‌و مچ دستها ضایعه استخوانی دیده نشد سن استخوانی با ۱۱ سال مطابقت داشت .

یافته های آزمایشگاهی

خون محیطی ۶۶۰۰ لکوسیت با فرمول طبیعی (سگمانته ۶۶%، مونوسیت۲%، لنفوسیت۳۲%) داشت مقدار هموگلوبین ۸ گرم در صد و هماتوکریت۲۷% (۲۹%= MCHC) بود مقدار آهن سرم ۲۲ میکروگرم در صد بود .

روش ها و نتایج

آزمایشات‌خون شناسی‌معمولی‌طبق‌روش استاندارد (۱۸) انجام شد و قسمتی از آن در شرح حال یکی از بیماران ذکر شد ــ دریک‌بیمارکه مبتلا به‌دوبل هتروزیگوت (هتروزیگوت دوگانه) هموگلوبین O اندونزی و D پنجاب تواما بود و همین‌طور بیمارمبتلا به‌هیدرو نفروز بود آنمی فقر آهن‌وجود داشت که‌میتوان این آنمی‌را وابسته به هیدرونفروز دانست ،

درگلبولهای سرخ بیماردانه‌های رسوبی انکلو زیون‌وجود نداشت و آزمایش جستجوی سیکلینک منفی بود نسبت همو ــ گلوبین جنین کمتر از یک در صد و آزمایش دناتو راسیون با حرارت مطابق روش(۱۹) Dacie منفی بود در الکترو فورز

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-03-25]

هموگلوبین بیماران همیشه علاوه بر باند طبیعی هموگلوبین A و هموگلوبین A2 یک باند هموگلوبین کمی سریعتر از هموگلوبین A2 تقریبا در محل هموگلوبین S دیده میشود در موردبیماری که‌دارای‌دو نوع هموگلوبین O و D بود بعلت تشکیل‌هیبرید بین‌زنجیره‌های آلفا و بتای مختلف چهارنوع باند اکتروفورزی وجود داشت نسبت این هموگلوبین به کل هموگلوبین‌درحدود ۲۰٪ اندازه‌گیری شد و این کار به‌وسیله حل‌کردن‌باندهای‌مختلف هموگلوبین ازکاغذ استات سلولزو اندازه‌گیری‌بوسیله‌اسپکتروفوتومتر انجام شد . درالکتروفورزدر ژل‌نشاسته‌هموگلوبین‌غیرطبیعی بیمار در محل‌هموگلوبین A2 قرار میگیردواین‌موردی‌است‌که‌در دومحیط استات‌سلولزواستات‌ژل حرکت الکتروفورزی فرق میکند .

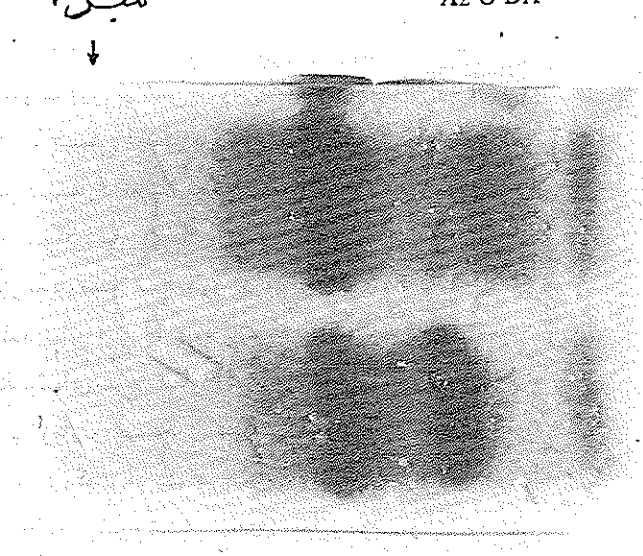
در الکتروفورز درآگارژل ۶= PH (۲۰) هموگلوبین O از هموگلوبین A جدا میشود و در مبداء قرار میگیرد .

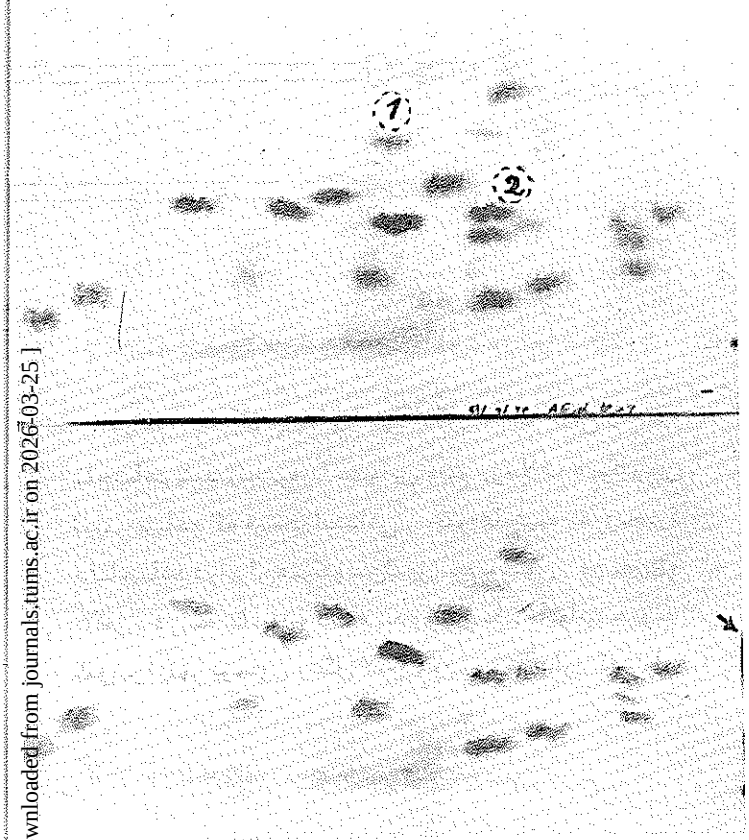
برای تعیین ساختمان هموگلوبین غیر طبیعی اول آنرابه وسیله‌کروماتوگرافی ستونی روی Deae سلولز (دی‌اتیل‌آمینو اتیل سلولز) با بکار بردن تامپون تریس ۸= PH خالص کرده و بوسیله‌اولترافیلتراسیون تغلیظ نموده و گلوبین هموگلوبین خالص شده را با بکار بردن محلول ۲٪ اسید کلریدریک در استون‌درسرمای ۲۰ درجه‌جدا نموده پس از سانتریفوزرسوب حاصله را با استون شسته و لیوفیلیزه نمودیم برای تشخیص اینکه عیب این هموگلوبین در کدام زنجیره آن میباشدو به آن مرکاپتواتانول اضافه شده (۲۱) آزمایش نموده و معلوم شد که زنجیره آلفا غیر طبیعی میباشد زیرا با مقایسه باهموگلوبین‌طبیعی زنجیره آلفا دارای حرکت الکتروفورزی کمتری است .

زنجیره آلفای هموگلوبین غیر طبیعی را بروش کروماتوگرافی ستونی روی CMC سلولز (کاربوکسی متیل سلولز) جداکرده‌وخالص‌نموده (۲۲) و زنجیره‌جدا شده را با اتیلین ایمین‌آمینواتیله نمودیم (یعنی عامل سولفیدریل سیستئین را امینو اتیله کرده‌ایم) گلوبین آمینواتیله را با تریپسین بر طبق روش ذکر شده هضم نموده و پپتیدهای حاصله را با روش فینگرپرینت یا تهیه‌نقشه پپتیدی جدا نمودیم (دراین روش مخلوط پپتیدی را در یک جهت با الکتروفورز با ولتاژ زیاد و در جهت دیگر باکروماتوگرافی صعودی جدا میکنند و با مقایسه بافینگرپرینت یک هموگلوبین طبیعی میتوان پپتید تغییر یافته را پیدا کرد)

شکل شماره ۲

(الکتروفوزرO اندونزی شکل‌شماره یک)





[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-03-25]

از فینگر پرینت زنجیره آلفای هموگلوبین طبیعی و همو گلوبین گاما تهیه شده چنانچه دیده میشود پپتید شماره B ۱۲ که‌بافلش نشان‌داده شده درهموگلوبین‌غیر طبیعی‌وجود ندارد ودر پپتید اضافی بشماره‌های ۱ و ۲ در شکل دیده‌می شود وجوددارد که‌هر دو با رنگ‌آمیزی هیستیدین رنگ‌مثبت میگیرد .

پپتیدهای‌اضافی و غیرطبیعی شماره‌های ۱ و ۲ را ازچند فینگرپرینت هموگلوبین غیرطبیعی بریده و پس از حل‌کردن پپتیدهارابطور خالص بدست میآوریم برای تعیین اسیدهای آمینه‌تشکیل‌دهنده هر پپتید ، پپتیدها را بطور جداگانه‌در محلول 6 NC1H حل کرده‌ومدت ۲۰ دقیقه درحرارت ۱۱۰ درجه‌هیدرولیز نموده و اسیدهای حاصله را از هیدرو لیزهر پپتید در دستگاه تجزیه کننده اسیدهای آمینه (امینواسید آنالایزر) تعیین مینمائیم .

چنانچه دیده میشود پپتید شماره یک دارای اسیدآمینه هائی‌است که از ردیف اسید آمینه‌های ۱۰۴ تا ۱۱۶ زنجیره آلفامیباشد ویا اختلاف‌آن‌این است‌که گلوتامیک اسید شماره ۱۱۶ زنجیره‌آلفاوجود ندارد و بجای آن یک مولکول لیزین وجوددارد وترکیب‌اسیدهای‌آمینه پپتید شماره۲ عیناًمطابق ردیف۱۱۷ تا ۱۲۷ زنجیره‌آلفا است‌یعنی در این‌هموگلوبین اسید آمینه شماره ۱۱۶ زنجیره آلفا که در حال طبیعی‌گلو ـ تامیک اسید میباشد تبدیل به لیزین شده است و در موقع هضم این‌زنجیره با تریپسین ، تریپسین روی لیزین اثرکرده و در آن نقطه پپتید را قطع و بدو پپتید تبدیل کرده است که ما در فینگر پرینت می بینیم .

بنابراین هموگلوبین غیر طبیعی فرمول آن عبارت است X 2 116 Glu → Lyc. 2 1 یعنی هموگلوبین O اندونزی است این هموگلوبین برای اولین باربوسیله Lie Injo و Sodono (۲۳) دراندونزی کشف و پس از آن در بعضی از نقاط جهان دیده شد ولی وفور آن در ـ اندونزی‌است وپیداکردن این‌هموگلوبین‌در سایر نقاط جهان دلیل بر حرکت جمعیت ها درزمانهای گذشته باین مناطق میباشدآنچه که‌درچند مورد هموگلوبین O اندونزی‌یافته‌ایم بعلت‌اینکه این هموگلوبین همراه با عوارضی نظیر کم خونی ویا یرقان وطحال بزرگ‌نمیباشد این هموگلوبین بیماری‌زائی زیادی ندارد و آنچه در مورد کم خونی یکی از بیماران ذکر شده‌است احتمالا مربوط به هیدرونفروز بوده‌است .

تابلوی شماره۳ ترکیب اسیدهای آمینه پپتید شماره ۱ و ۲ را نشان میدهد .

Antino acid	Peptide 1	Peptide 2
Lysine	1	2
Histidine	1	1
Aspartic acid	—	1
Threonine	1	1
Serine	—	1
Proline	1	1
Alanine	3	2
Valine	1	1
Leucine	4	1
Phenylalanine	—	1

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-03-25]

References

1- Rahbar, S.: Hemoglobinopathies in Iran. 14th International Congress of Hematology, Sao-Poulo, Brazil, July 1972.

2- Rahbar, S., Sauodi, H. and Daneshmand, P.: Acta Hematologica 47:43, 1972.

3- Rahbar, S., Nowzari, G.: Hb Setif in 3 Iranien family, in press.

4- Rahbar, S. Berelian, F. Nowzari, G. and Daneshmand, P.: Hb. O. Indonesia in an Iranian family: Acta Hematologica, 50:30, 1973.

5- Rahbar, S. Nowzari, G. and Poosti, M.: Am. J. Clin. of Pathology 64: 416, 1975.

6- Rahbar, S. Nowzari, G. and Daneshmand, P.: Hemoglobin Daneshgah Tehran, Nature New Biology, 245-268, 1973.

7- Rahbar, S. Mahdavi, N. Nowzari, G. and Mostafavi, I: Hb Aria B.B.I. Acta 386-525, 1975.

8- Frack, P.G., Hitzig, W.H. and Bettec, K: Blood 20: 261, 1962.

9- Dacie, J.V., Shinton, N.K. Gaffnay P.J.Jr., Casreil, R.W. and Lehrman, H.: Nature 216, 633, 1967.

10- Jensen, M. Osici, F.A.: Nathan D.G. and Bunn. F.H.: J.Clin. Invest. 55, 469, 1975.

11- Jones, R.T. Brimhall, B. Huisman, T.H.J. et al.: Science 154, 1024, 1966.

12- De Jong W.W., Wend, L.N. and Bernini L.F.: Nature 220, 788, 1968.

13- Bradly T.B. Jr., Wohl, R.C. and Ruches, R.F.: Science 157, 1581, 1967.

14- Clegg, J.B. and Weathesall D.J.: Nature 234, 337, 1971.

15- Lehmann, H.: Third International Conf. of Hematology. Europian and African association London, August, 1975.

16- Rahbar, S. Golban-Moghadam, N. and Saoodi, H.: Blood 43, 79, 1974.

17- Rahbar, S. Azizi, M. and Nowzari, G.: Acta Hematology, 53, 60, 1975.

18- Wintrobe, M.M.: Clinical Hematologie 6th Ed. Lea & Feb. 1974.

19- Grimes A.S. Mershi, A. and Dacie, J.V.: Brit. J. Moemat. 10, 28, 1964.

20- Robinson, A.R. Robenson, M. Harrison, K. and Zuelzer, W.W.J.: Lab. Clin. Med. 50, 745, 1967.

21- Cherneff, A.T. and Pettit, N.M.: Blood 24, 750, 1965.

22- Clegg,, J.B., Naughton, M.A. and Weathesall, D.J.J.: Molec, Biol, 19, 9, 1966.

23- Lie Ingo. L.E. and Sodorno: Brit. Med. J. I. 1461, 1958.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-03-25]