بررسی یافته‌های آزمایشگاهی والدین بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور در مراجعه کنندگان به بیمارستان امام حسین (ع) طی سال ۱۳۷۶

دکتر حسن احترام *، دکتر بهروز شفقی **

خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به شیوع بالای ناقلان بیماری بتاتالاسمی و اهمیت پیش‌گیری از تالاسمی ماژور و به منظور تعیین وضعیت یافته‌های آزمایشگاهی ناقلین به این بیماری ، این تحقیق بر روی والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه کننده به بیمارستان امام حسین (ع) طی سال ۱۳۷۶ انجام گرفت.

مواد و روشها: پژوهش حاضر با روش توصیفی بر روی کلیه والدین کودکان صورت پذیرفت و از تمام والدین به میزان ۳ سی‌سی خون وریدی EDTA جهت انجام آزمایش CBC و الکتروفورز هموگلوبین گرفته شد. در آزمایش‌های CBC مطالعه بر روی MCV و MCH و تعداد RBC به عمل آمد. MCV کمتر از ۸۰ Fl و MCH کمتر از ۲۷ Pg به عنوان اختلالات CBC در نظر گرفته شد . در آزمایش الکتروفورز هموگلوبین ، میزان هموگلوبین A2 بیش از ۳/۵ درصد به عنوان اختلال در الکتروفورز منظور گردید.

یافته‌ها: از ۴۸ فرد مورد بررسی، تمامی (۱۰۰ درصد) دچار اختلال MCV و MCH بودند . میزان MCV و MCH در آنها به ترتیب ۴/۵ ± ۶۰ Fl و ۱/۵ ± ۲۰ Pg بود. ۶۲/۵ درصد افراد دارای RBC بالاتر از طبیعی و ۳۷/۵ درصد RBC طبیعی داشتند ولی هیچ کدام RBC دارای پایین نبودند. در بررسی نتایج الکتروفورز، ۸۹/۵ درصد افراد، اختلال در الکتروفورز را نشان دادند و ۱۰/۵ درصد دارای هموگلوبین A2 طبیعی ، کمتر از ۳/۵ درصد می‌باشند. میزان هموگلوبین A2 ۱/۱ ± ۵/۲ درصد و هموگلوبین F ۲/۴ ± ۲/۴ درصد بود.

نتیجه گیری: تمام والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور دارای اختلال در شاخص‌های CBC بودند. پس توصیه می‌شود که قدم اول برای بررسی تالاسمی مینور انجام یک آزمایش ساده CBC باشد که در صورت اختلال، سایر آزمایش‌های تکمیلی و الکتروفورز هموگلوبین انجام گیرد. هم‌چنین تحقیقات بیشتر در جهت تعیین قدرت شاخص‌های CBC در تشخیص تالاسمی مینور توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: بتاتالاسمی ماژور ، بتاتالاسمی مینور، الکتروفورز هموگلوبین

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی کاشان ، گروه آسیب شناسی و بافت شناسی

** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی تهران ، گروه آسیب‌شناسی

مقدمه

تالاسمی یک اختلال ارثی سنتز هموگلوبین می‌باشد که ویژگی شایع آن کاهش میزان سنتز زنجیره‌های هموگلوبین است. بیماری تقریباً در همه نژادها دیده می‌شود ولی شیوع آن در اطراف مدیترانه ، نواحی استوایی و در قاره‌های آفریقا و آسیا زیادتر است (۱،۲،۳). شیوع ناقلان این بیماری را در ایران تا ۴ درصد کل جمعیت گزارش کرده‌اند (۴).

در بتاتالاسمی ، کاهش زنجیره بتا مشاهده می‌گردد که باعث کاهش غلظت هموگلوبین داخل سلولی و میکروسیتر شدن RBC می‌گردد ولی در عوض تعداد RBC افزایش می‌یابد که این بر خلاف آنمی‌های معمول دیگر مثل فقر آهن می‌باشد که تعداد RBC کاهش می‌یابد. این بیماری باعث افزایش ساخت زنجیره دلتا و گاما می‌گردد که ایجاد هموگلوبین A2 و F بیش از حد طبیعی می‌شود. هم‌چنین سرعت بیوسنتز زنجیره بتا به آلفا که در حالت طبیعی در RBC نزدیک به یک است، به هم می‌خورد و به حدود ۰/۴ تا ۰/۷ می‌رسد (۲،۳).

فعلاً برای پیش‌گیری از تالاسمی ماژور شناخت ناقلان موقع ازدواج و عدم ازدواج دو فرد ناقل مطرح می‌باشد که در صورت عدم تشخیص ناقلان و ازدواج آنها با هم به احتمال $\frac{1}{4}$ ، کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور خواهند بود که برای تمامی عمر از تزریق خون و عوارض ناشی از تجمع آهن رنج خواهند برد (۱،۲).

چون اکثر افراد مبتلا به تالاسمی مینور هیچ علامت و یا نشانه فیزیکی غیرطبیعی ندارند، فقط با انجام آزمایش‌های مختلف خونی می‌توان از ناقل بودن آنها آگاه شد. از آزمایش‌های موجود برای تشخیص تالاسمی مینور، CBC و الکتروفورز هموگلوبین می‌باشد (۱،۲،۳). بعضی از تحقیقات بیانگر آن است که این اختلالات می‌تواند برای شناخت تالاسمی مینور موفق باشد (۵) ولی گزارش‌هایی وجود دارد که بعضی از اختلالات در یافته‌های آزمایشگاهی دیده نشده است (۶). بنابراین، برای پاسخ به این سوال که در والدین مبتلا به تالاسمی ماژور چه میزان اختلال در یافته‌های آزمایشگاهی وجود دارد؟ ، این تحقیق بر روی والدین مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه‌کننده به بیمارستان امام حسین (ع) طی سال ۱۳۷۶ انجام گرفت.

مواد و روشها

پژوهش حاضر با به روش توصیفی (Descriptive) صورت پذیرفت. کلیه والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مورد بررسی قرار گرفتند. این کودکان طبق آزمایش‌های هماتولوژی و یافته‌های بالینی تشخیص قطعی بیماری را داشتند و به طور مداوم برای تعویض خون به بیمارستان مراجعه می‌کردند.

نحوه مراجعه با ارایه دعوت‌نامه انجام می‌گرفت. بعد از مراجعه و پرکردن پرسش‌نامه ، یک نمونه خون وریدی به میزان ۳ سی سی تهیه و برای جلوگیری از انعقاد باماده ضد انعقاد EDTA مخلوط شد . آزمایش CBC توسط کادر باتجربه آزمایشگاه امام حسین (ع) و با استفاده از دستگاه شمارش سلولی Sysmex 1000 انجام گرفت. اختلالات اساسی در CBC براساس MCV کمتر از ۸۰ Fl و MCH کمتر از ۲۷ Pg بود. مقدار طبیعی MCV ، ۸۰-۹۰ Fl و MCH ، ۲۷-۳۳ pg در نظر گرفته شد (۲). سایر

اختلالات CBC شامل افزایش RBC بیش از حد طبیعی و کاهش هموگلوبین می‌باشد. مقدار طبیعی RBC در مردان $۴/۶-۶/۲\times۱۰^{۶}$ و در زنان $۴/۲-۵/۴\times۱۰^{۶}$ میلی‌متر مکعب و مقدار طبیعی هموگلوبین در مردان ۱۴-۱۸g/۱۰۰ و در زنان ۱۴-۱۶ g/۱۰۰ مد نظر قرار گرفت (۷).

آزمایش الکتروفورز هموگلوبین برای تعیین میزان HbA2 و هموگلوبین F بعد از تهیه همولیزات بر روی کاغذ سلولز استات و در بافری با pH =۸/۶ به عمل آمد و توسط دستگاه هلنا مورد آنالیز قرار گرفت. مقدار طبیعی هموگلوبین A2 زیر ۳/۵ درصد و هموگلوبین F زیر یک درصد در نظر گرفته شد (۲). میزان هموگلوبین A2 بالای ۳/۵ درصد به عنوان اختلال در الکتروفورز مد نظر قرار گرفت. به منظور کنترل کیفی نتایج آزمایش‌های CBC هر روز با ۵ نمونه CBC از روز قبل، آزمایش‌های تکرار و با نتایج بار اول مقایسه شد. برای کنترل کیفی نتایج آزمایش‌های الکتروفورز ، هر روز بعضی از نمونه‌ها به طور تصادفی انتخاب و عمل الکتروفورز بر روی آنها تکرار و با نتایج قبلی مقایسه گردید. هم‌چنین هر دفعه یک نمونه خون بند ناف برای Hbf و یک نمونه خون افراد بالغ سالم برای طبیعی بودن میزان HbA به کار رفت. در مجموع در صورت عدم هم‌خوانی نتایج CBC و الکتروفورز ، نتایج دوباره تکرار شد. نتایج حاصل بعد از ثبت در دفتر جداگانه در کامپیوتر آزمایشگاه ثبت گردید.

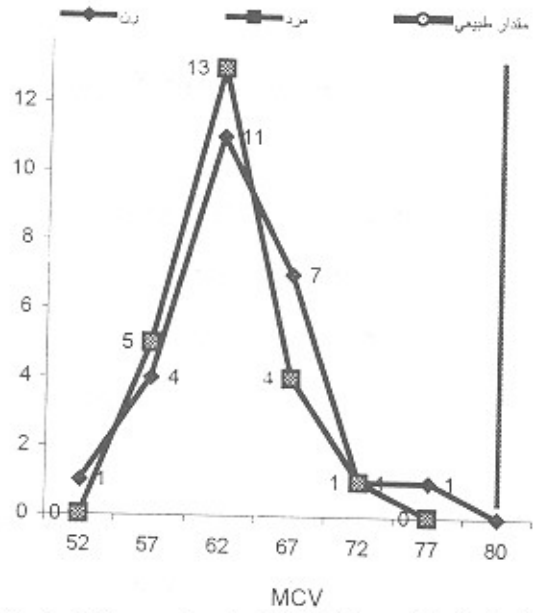
در نهایت، اگر در یکی از والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور موفق به انجام آزمایش نمی‌شد، نمونه حذف می‌گردد. هم‌چنین این یافته‌ها مربوط به کلیه والدینی می‌باشد که کودکان آنها قطعاً تالاسمی ماژور داشته‌اند.

یافته‌های آزمایشگاهی در فرمی ثبت گردید و شیوع اختلال CBC و اختلال الکتروفورز در نمونه‌های مورد بررسی تعیین و میزان واقعی آن با احتمال ۹۵ درصد در جامعه برآورد گردید.

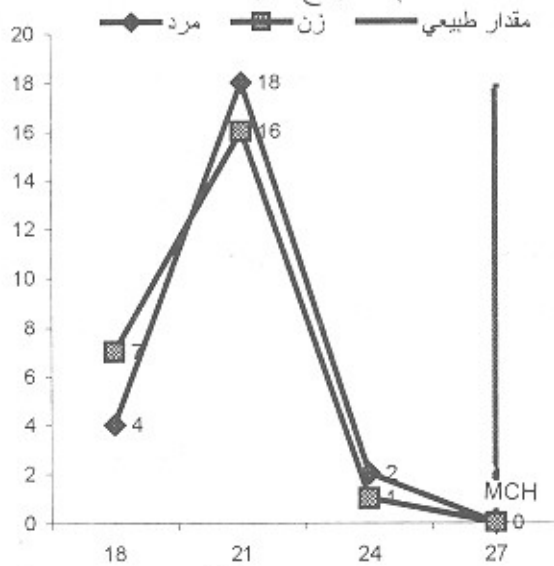
یافته‌ها

در این تحقیق والدین ۲۶ کودک مبتلا به تالاسمی ماژور مورد بررسی قرار گرفتند. ۴ مورد به علت عدم دسترسی به یکی از والدین از جامعه حذف شدند. در نتیجه مطالعه بر روی ۴۸ نفر از والدین مبتلا به تالاسمی ماژور صورت گرفت که از این تعداد نیمی زن و نیمی مرد بودند. سن کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور ۴/۸±۱۱ سال، حداقل ۲ و حداکثر ۲۲ سال را داشتند که ۱۱ نفر دختر (۴۵/۸ درصد) و ۱۳ نفر پسر (۵۴/۲ درصد) بودند. میانگین سن پدران ۴۱ سال و مادران ۳۶ سال بود.

از نظر شاخص‌های CBC تمامی والدین دچار اختلالات اساسی بودند. میزان MCV در افراد موردمطالعه ۴/۵±۶۰ FL بود که ۱۰۰ درصد موارد MCV کمتر از طبیعی بود. در نمودار (۱) میزان MCV به تفکیک جنس ارایه گردید که نشان می‌دهد که همه والدین دچار اختلال در MCV می‌باشند. مقدار MCH در افراد موردمطالعه ۱/۵Pg±۲۰ بود که ۱۰۰ درصد این افراد نیز دارای MCH کمتر از طبیعی داشتند. نمودار (۲) وضعیت آنها را نشان می‌دهد.

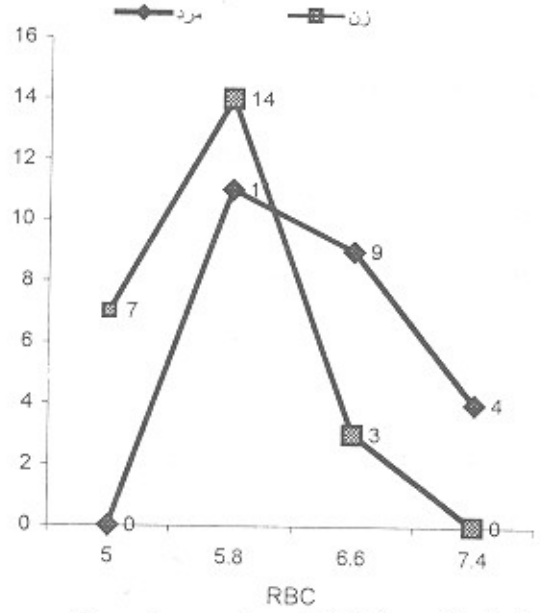


نمودار ۱ـ توزیع میزان MCV به فیمتولیتر در ۴۸ نفر از والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه کنندگان به بیمارستان امام حسین (ع) طی سال ۱۳۷۶



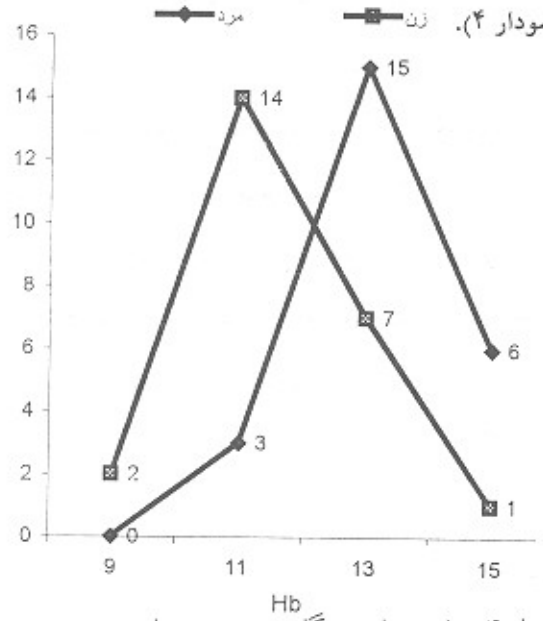
نمودار ۲ـ توزیع میزان MCH ، پیکوگرم در ۴۸ نفر از والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه کنندگان به بیمارستان امام حسین (ع) طی سال ۱۳۷۶

مقدار CBC در مردان مورد بررسی $۶/۴ \pm ۰/۶ \times ۱۰^{۶}$ میلی‌متر مکعب و در زنان مورد بررسی $۵/۶ \pm ۰/۵ \times ۱۰^{۶}$ میلی‌متر مکعب‌بودکه از این تعداد، ۱۳ نفر (۵۴/۱ درصد) از مردان و ۱۷ نفر (۷۱ درصد) از زنان دارای RBC بالاتر از طبیعی بودند و میزان RBC بقیه در حد طبیعی داشتند ولی هیچ کدام دارای RBC پایین نبودند (نمودار ۳).



نمودار ۳ـ توزیع میزان RBC به میلیون در میلی‌متر مکعب در ۴۸ نفر از والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه‌کنندگان به بیمارستان امام حسین (ع) طی سال ۱۳۷۶

مقدار هموگلوبین در مردان ۱۳/۳±۱/۱ g/۱۰۰ و در زنان ۱۱/۶±۱/۴ g/۱۰۰ بود که از این تعداد ۱۸ نفر (۷۵ درصد) از مردان و ۱۶ نفر (۶۶ درصد) از زنان مورد بررسی دارای هموگلوبین پایین‌تر از طبیعی بودند و بقیه افراد مورد بررسی میزان هموگلوبین طبیعی داشتند (نمودار ۴).



نمودار ۴ـ توزیع میزان هموگلوبین به g/۱۰۰ در ۴۸ نفر از والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه کنندگان به بیمارستان امام حسین (ع) طی سال ۱۳۷۶

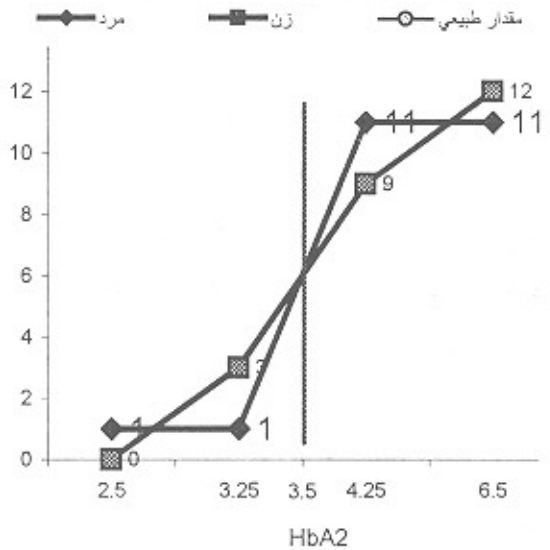
جدول (۱) خلاصه‌ای از فراسنج‌های CBC را در والدین مبتلا به تالاسمی ماژور نشان می‌دهد.

جدول ۱ـ میزان شاخص‌های CBC در والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه کنندگان به بیمارستان امام حسین (ع) طی سال ۱۳۷۶

فراسنج‌های CBC / شاخص‌های آماری		میزان $\bar{X}\pm SD$	دامنه تغییرات	فاصله اطمینان ۹۵ درصد
میزان هموگلوبین g/۱۰۰	مرد (n =۲۴)	۱۳/۳±۱/۱۵	۱۱/۹-۱۵/۲	۱۲/۸-۱۳/۷
	زن (n =۴۲)	۱۱/۶±۱/۴	۹/۶-۱۴/۲	۱۱-۱۲/۱
میزان RCB میلیون در میلی‌متر مکعب	مرد (n =۲۴)	۶/۴±۰/۶۱	۵/۵-۷/۸	۶/۱-۶/۶
	زن (n =۲۴)	۵/۶±۰/۵	۴/۹-۶/۷	۵/۴-۵/۸
MCV (Fl)	کل (n=۴۸)	۶۰±۴/۵	۵۳-۷۵	۵۸/۷-۶۱/۲
MCH (Pg)	کل (n =۴۸)	۲۰±۱/۵	۱۷-۲۴	۱۹/۵-۲۰/۴
MCHC	کل (n =۴۸)	۳۲/۵±۰/۸۴	۳۰/۵-۳۳/۹	۳۲/۲-۳۲/۷
HCT (درصد)	مرد (n =۲۴)	۲۲±۳/۹	۳۳-۴۶	۳۹-۴۲/۲
	زن (n =۲۴)	۲۵±۲/۶	۳۰-۴۱	۳۴/۵-۲۶/۶

نتایج الکتروفورز هموگلوبین نشان داد که میزان هموگلوبین A2 در افراد مورد بررسی ۱/۱±۵/۲ می‌باشد که در ۸۹/۵ درصد دارای اختلال الکتروفورز با هموگلوبین A2 بالای ۳/۵ درصد و ۵ نفر (۱۰/۵ درصد) دارای هموگلوبین A2 طبیعی (کمتر از ۳/۵ درصد) بودند (نمودار ۵).

میزان هموگلوبین F در افراد مورد بررسی ۲/۴±۲/۴ درصد می‌باشد که ۲۱ نفر (۴۴ درصد) دارای هموگلوبین F طبیعی (زیر ۱ درصد) و ۲۷ نفر (۵۶ درصد) دارای هموگلوبین F بالاتر از ۱ درصد بودند. جدول (۲) خلاصه‌ای از فراسنج‌های الکتروفورز هموگلوبین را نشان می‌دهد.



نمودار ۵ـ توزیع میزان هموگلوبین A2 به درصد در ۴۸ نفر از والدین مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه کنندگان به بیمارستان امام حسین (ع) طی سال ۱۳۷۶

جدول ۲ـ میزان شاخص های الکتروفورز هموگلوبین در والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه کنندگان به بیمارستان امام حسین (ع) در سال ۱۳۷۶

فراسنج‌های الکتروفورز / شاخص‌های آماری		میزان $\bar{X}\pm SD$	دامنه تغییرات	فاصله اطمینان ۹۵ درصد
هموگلوبین	مرد (n =۲۴)	۵/۲±۱/۱۶	۲/۸-۷/۹	۴/۷-۵/۶
A2	زن (n =۲۴)	۵/۱±۱/۰۵	۳/۴-۷/۲	۴/۷-۵/۵
(درصد)	کل (n =۴۸)	۵/۲±۱/۱	۲/۸-۷/۹	۴/۹-۵/۵
هموگلوبین	مرد (n =۲۴)	۱/۷±۱/۳۲	۰/۴-۶/۳	۱/۱۵-۲/۲
F	زن (n =۲۴)	۳±۳/۴	۰/۶-۱۴/۵	۱/۶-۴/۳
(درصد)	کل (n =۴۸)	۲/۴±۲/۴	۰/۴-۱۴/۵	۱/۷-۳

بحث

تحقیق نشان داد که تمام والدین مورد مطالعه (۱۰۰ درصد آنها) از نظر MCV و MCH دارای اختلال بودند. در بررسی تحقیقات قبلی ، آمار مشابهی که گزارش کرده باشند، در دسترس قرار نگرفت.

میزان MCV در افراد مورد مطالعه Fl ۶۰±۴/۵ و MCH Pg ۲۰±۱/۵ بود که این مقادیر با مقادیر مطالعه England و همکاران (۷) و Pearson و همکاران (۸) (MCV در افراد تالاسمی مینور، Fl ۶۰/۸±۵/۶ و MCH Pg ۲۰/۳±۲/۲) ، کاملاً هم خوانی دارد.

پایین بودن MCV و MCH از مهم‌ترین فراسنج‌های CBC در تشخیص تالاسمی مینور می‌باشد که البته مختص این بیماری نیست و در آنمی فقرآهن، بیماری‌های مزمن و آنمی سیدروبلاستیک نیز دیده می‌شود. هم‌چنین در سایر هموگلوبینوپاتی‌ها مثل انواع آلفا - تالاسمی ، دلتابتا- تالاسمی ، HBE و هموگلوبین Lepore نیز MCV و MCH پایین را نشان می‌دهند ولی در تمام موارد مذکور میزان A2 Hb طبیعی و یا پایین می‌باشد. پس پایین بودن MCV و MCH باید ما را به بتا - تالاسمی مینورمشکوک کند ولی برای تایید آن انجام الکتروفورز هموگلوبین احتیاج است (۳،۹).

۶۲/۵ درصد افراد مورد مطالعه RBC بالا و ۳۷/۵ درصد RBC طبیعی داشتند ولی علی‌رغم وجود آنمی که در ۸۰-۶۰ درصد افراد مورد مطالعه وجود داشت هیچ کدام RBC پایین نداشتند. در بررسی از تحقیقات قبلی، آمار مشابهی در دسترس قرار نگرفت. میزان RBC در مردان $6/4\pm0/61\times10^{6}$ در میلی متر مکعب و در زنان $5/6\pm0/51\times10^{6}$ میلی‌متر مکعب می‌باشد که این مقادیر با میزانی که در مطالعه Mazza (۱۰) و همکاران بر روی مبتلایان به تالاسمی مینور صورت پذیرفت که در آن میزان RBC در مردان $5/8\pm0/6\times10^{6}$ و در زنان $5/1\pm0/9\times10^{6}$ میلی‌متر مکعب می‌باشد کمی اختلاف دارد که این اختلاف احتمالاً ناشی از اختلاف قومی و نژادی است.

حال با توجه به این که MCV و MCH در تمام والدین کودکان مبتلا به تالاسمی ماژور مختل می‌باشد این سوال مطرح است که CBC تا چه در تشخیص تالاسمی مینور کمک کننده است. برای پاسخ به سوال مذکور انجام

تحقیقی برای تشخیص قدرت CBC جهت تعیین افراد مبتلا به تالاسمی مینور توصیه می‌گردد.

میزان هموگلوبین A2 در افراد مورد مطالعه ۱/۱±۵/۲ درصد می‌باشد که این مقادیر با میزان مطالعه Mazza (۱۰) و همکاران در ایتالیا بر روی مبتلایان به تالاسمی مینور (میزان متوسط هموگلوبین A2 ، ۰/۸±۵/۲ درصد) ، کاملاً هم خوانی دارد.

اگر میزان طبیعی هموگلوبین A2 زیر ۳/۵ درصد در نظر گرفته شود، ۵ نفر (۱۰/۵ درصد) علی رغم وجود تالاسمی مینور، هموگلوبین A2 طبیعی داشتندو ۸۹/۵ درصد دارای اختلال الکتروفورز یا هموگلوبین A2 بالا (۷/۹-۳/۵ درصد) بودند. در بررسی تحقیقات قبلی ، آمار مشابهی در دسترس قرار نگرفت.

افزایش هموگلوبین A2 یافته شاخص ناقلان بتاتالاسمی کلاسیک است و هر وقت که ناقل تالاسمی مورد شک است باید اندازه گیری شود. مقادیر زیر ۳/۵ درصد معمولاً طبیعی تلقی می‌گردد و مقادیر بالای آن معمولاً نشانه بتاتالاسمی مینور می‌باشد. تداخل مقادیر Hb A2 در تالاسمی و افراد طبیعی گزارش شده است . در موارد مشکوک بررسی وضعیت آهن کمک کننده می‌باشد، چون فقر آهن که منجر به آنمی نسبتاً شدید می‌شود (Hb< ۸ g/۱۰۰) می‌تواند HB A2 را کاهش دهد. Hb A2 بالای ۷ درصد نشانه اشتباه آزمایشگاهی و یا وجود هموگلوبین دیگری غیر از Hb A2 است. در مورد نتایج مشکوک ، Globin Chem Synthesis یا آنالیز DNA کمک کننده می‌باشد (۳،۹) به خصوص در خانم‌های حامله، یا در مشاوره برای بچه دار شدن بسیار کمک کننده است.

میزان هموگلوبین F در مردان ۱/۳۲±۱/۷ درصد و در زنان مورد بررسی ۰/۶۸±۳ درصد و میزان کلی آن ۲/۴±۲/۴ بود که این مقادیر با میزانی که توسط Mazza (۱۰) و همکاران در ایتالیا گزارش کرده که هموگلوبین F در مبتلایان به تالاسمی مینور ۱/۲±۲/۱ درصد است تقریباً هم خوانی دارد.

افزایش هموگلوبین F در شناسایی ناقلان بتاتالاسمی کمک کننده می‌باشد ولی بالارفتن آن این بیماری را رد نمی‌کند (۲،۳). چون شاخص‌های الکتروفورز در تمام والدین کودکان دچار اختلال نبوده است، بنابراین نمی‌توان مثل شاخص‌های MCV و MCH به عنوان شاخص غربالگری توصیه نمود امّا می‌توان الکتروفورز هموگلوبین را به عنوان آزمایش تایید کننده در نظر گرفت.

References:

1. Rabbins . Pathologic basis of diseas. Philadelphia: WB Saunders company. 1994: 569-601.
2. Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. Philadelphia: WB Saunders; 1996: 636-694 , 1451-1453.
3. Nathan OG. Oski FA. Hematology of infancy and childhood. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1993: 828-831.

۴-گزارش . سمینار تالاسمی و آزمایشگاه و سرمقاله. دو فصلنامه تالاسمی . ۱۳۷۶ ؛ ۱۱ : ۶-۴.

5. Craft J. Hematologic abnormalities in Southeast Asian refugees. J Am Med ASSOC. 1983; 249: 3204.
6. Schwartz E. The silent carrier of beta- thalassemia. N Engl J Med. 1969; 281: 1327.
7. England JM. Fraser PM. Differentiation of iron deficiency from thalassemia trait by routin blood count. Lancet. 1973; i: 449.
8. Pearson HA. Obrien RT. Screening for thalassemia trait by electronic measurement of mean corpuscular volume (MCV). N Engl J Med. 1973; 288: 35.
9. Richard LG. Wintrobe's clinical hematology. 9th ed. Phialdelphia: Lea & Febiger. 1993: 1123-1128.
10. Mazza U. Saglio G. Clinical and hematological data on 254 cases of beta thalassemia trait in italy. Br J Haemaotol. 1976; 33: 9.