

تأثير فرط تحميل الحديد على مصداقية شحوب المخاطية الفموية في تشخيص فقر الدم لدى مرضى البيتا تلاسيميا الكبرى

م. د. عيبر أحمد الجوجو*

علاء عدنان عابدين*

(الإيداع: 18 آذار 2019 ، القبول: 28 أيار 2019)

الملخص:

مقدمة: يعدّ الشحوب علامة سريرية مفيدة في تقييم المرضى المشتبه بإصابتهم بفقر الدم، إلا أن القدرة على تمييز هذه العلامة قد تتغير في حالات التصبغ بالحديد أو البيليروبين أو الملائين.

الهدف: تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير الإصابة بفرط تحميل الحديد على استخدام شحوب المناطق التشريحية المختلفة ضمن المخاطية الفموية كعلامة سريرية في تشخيص حالات فقر الدم المتوسط والشديد لدى مرضى البيتا تلاسيميا الكبرى كنموذج على حالات التصبغ بالحديد.

المواد والطرائق: تألفت عينة البحث من 69 مريضاً (44 ذكور، 25 إناث). تتراوح أعمارهم بين 5 و33 سنة (متوسط الأعمار 15.4 سنة) من المرضى المراجعين لقسم التلاسيميا ضمن المراكز الطبية التخصصية الشاملة في مدينة دمشق. تم الفحص عيانياً من خلال ملاحظة وجود شحوب على المخاطية الفموية ضمن أربع مناطق تشريحية (الحنك الصلب، الحنك الرخو، ظهر اللسان، وباطن الخد) من قبل فاحصين اثنين. وتم بعدها أخذ عينة دموية وريدية من كل مريض وفحص معدل خضاب الدم. تم الرجوع إلى سجلات المريض للحصول على آخر اختبار لمعدل فيريتين المصل.

النتائج: أظهرت الدراسة الإحصائية أن الحنك الرخو كان الأكثر حساسية والأقل دقة في تشخيص فقر الدم الشديد، في حين كان ظهر اللسان الأكثر دقة والأقل حساسية في تشخيص فقر الدم الشديد، لم تعثر الدراسة على ارتباط ذي دلالة إحصائية بين وجود الشحوب السريري في مناطق المخاطية الفموية المختلفة وبين معدل خضاب الدم مع الأخذ بمعدل فيريتين المصل.

الاستنتاجات: تبين ضمن حدود هذه الدراسة أن معدل فيريتين المصل لم يكن له تأثير على مصداقية استخدام شحوب المخاطية الفموية في تشخيص حالات فقر الدم لدى مرضى البيتا تلاسيميا الكبرى.

كلمات مفتاحية: بيتا تلاسيميا، شحوب، فقر الدم، فيريتين، المخاطية الفموية.

** : مدرسة دكتوراة في قسم أمراض الفم- كلية طب الأسنان- جامعة دمشق.

* : طالب دراسات عليا في قسم أمراض الفم- كلية طب الأسنان- جامعة دمشق.

The Effect of Iron Overload on the Validity of Mucosal Pallor as a Sign of Anemia in Major Beta–Thalassemia Major Patients

Dr. Alaa Adnan Abdin

Prof. Abeer Ahmad Aljoujou

(Received:18 March 2019, Accepted:28 May 2019)

Abstract:

Introduction: Pallor is considered a useful clinical sign in the evaluation of patients suspected of anemia. However, the ability of identifying this sign might change in cases of Iron, Bilirubin and Melanin pigmentation.

Aim: this study aims to evaluate the effect of Iron overload on the validity of using pallor in multiple anatomical sites within the oral mucosa as a clinical sign in diagnosing moderate and severe anemia among Major Beta–Thalassemia patients as a model of Iron pigmentation.

Materials and Methods: the sample consists of 69 patients (44 males,25 females) aged 5 to 33 years old (Average 15.4 years) who are reported to the *Department of Thalassemia, General Medical Clinics, Damascus, Syria*. Visual examination of oral mucosal pallor sign takes place in four anatomic sites (hard palate, soft palate, dorsum of the tongue, buccal mucosa) by two examiners. A venous blood sample is taken and Hemoglobin level is tested. The patients records are referenced to acquire the results of the latest Ferritin serum level.

Results: statistical analysis shows that the hard palate has the highest sensitivity and the lowest specificity diagnosing severe anemia, while the dorsum of the tongue has the highest specificity and the lowest sensitivity diagnosing severe anemia. This study could not find any statistically significant correlation between clinical pallor and hemoglobin value controlling for Ferritin serum level.

Conclusion: Within the limits of this study, Ferritin serum level does appear to have any effect on the validity of oral mucosal pallor in diagnosing anemia among major Beta–Thalassemia Patients.

Keywords: Beta–Thalassemia, Pallor, Anemia, Ferritin, Oral Mucosa.

1- مقدمة:

يعرف مرض التلاسيميا على أنه اضطراب وراثي غير مرتبط بالجنس يؤثر في تصنيع الهيموغلوبين. حيث أن الهيموغلوبين هو البروتين الأساسي الموجود في خلايا الدم الحمراء وهو المسؤول عن ربط وحمل جزيئات الأوكسجين من الرئتين إلى مختلف أنسجة الجسم.¹ تتركز إصابات البيتا تلاسيميا في أجزاء من أفريقيا في منطقة جنوب الصحراء الكبرى، وتنتشر عبر منطقة الشرق الأوسط وشبه القارة الهندية.² معدل الأشخاص الحاملين للمورثة المصابة لا يتجاوز عادة 20-25% من نسبة السكان في منطقة معينة، إلا أنه في بعض الحالات الاستثنائية تكون النسبة أعلى من ذلك. حيث قد تصل نسبة حاملي المورثة في بعض أجزاء آسيا، وخاصة كمبوديا إلى 70% من السكان.³

تتألف كل جزيئة من الهيموغلوبين من سلسلتين من غلوبين ألفا وسلسلتين من غلوبين بيتا. كل واحدة من سلاسل الغلوبين ترتبط مع جزيء من الهيم، حيث يتم نقل الأوكسجين عن طريق ارتباطه مع جزيء الهيم.⁴ قد يكون الأفراد المصابين متماثلي اللواقح أو متخالفي اللواقح للمورثات المسؤولة عن تصنيع سلسلة الألفا أو البيتا. حيث يكون لدى متخالفي اللواقح تظاهرات الألفا أو البيتا تلاسيميا الصغرى والتي تكون أعراضها أقل ظهوراً. أما الحالات متماثلة اللواقح تعرف باسم الألفا تلاسيميا أو البيتا تلاسيميا الكبرى (فقر دم كولي Cooley's anemia) والذي يعطي تظاهرات شديدة للمرض.⁵

في حالات البيتا تلاسيميا الكبرى، يوجد خلل كبير في إنتاج سلسلة غلوبين بيتا بسبب طفرة تحدث في تسلسل مورثة البيتا غلوبين. مما يؤدي إلى إصابة المريض بفقر الدم وتعاين كريات الدم الحمراء من صغر في الحجم ونقص في التلون مع شذوذ في الشكل.⁶

تعتبر التحاليل الدموية لاختبار معدل خضاب الدم المعيار الذهبي في تشخيص حالات فقر الدم⁷ ولكن في الكثير من الحالات تكون الإجراءات المخبرية غير متوفرة في بيئة العيادة العادية في البلدان النامية. يعتبر الشحوب مفيداً عند الشك بوجود حالات فقر الدم، إلا أنه تتوفر عدة دراسات وثقت أن حالات فرط التصبغ كانت مرتبطة مع نقص في حساسية مشعر الشحوب وخاصة في بشرة باطن الكف.⁸

تعتبر المعادن عناصر غير عضوية وأساسية للحياة، وتؤمن وظائف بنيوية وتنظيمية للجسم. تمت ملاحظة وجود 29 معدناً مختلفاً على الأقل في الجسم، والذي يكون 4% من وزن الجسم.⁹ من بين تلك المعادن، يعتبر الحديد عصباً أساسياً ضرورياً لجميع خلايا الجسم. يوجد حوالي 4.5 غ من الحديد في جسم الرجل البالغ الطبيعي، أغلبها موجودة في جزيئة الهيموغلوبين وفي البروتينات التي تحتوي على الهيم.¹⁰ في الظروف الطبيعية، فإن الحديد يتم امتصاصه من قبل جسم الإنسان بمعدل 1مغ يومياً. يتم توزيع الحديد الممتص للتخزين، النقل والوظائف الأنزيمية. يخزن الحديد على شكل مركبات شاردية في نسيج الجسم.¹¹

يخضع مرضى البيتا تلاسيميا لعمليات نقل دم متكرر، ونظراً لغياب وجود طريق مباشر لإطراح الحديد عند البشر، فإن احتمال حدوث زيادة لكمية الحديد في النسيج يزداد بشكل كبير.¹² زيادة الحديد أكثر من اللازم قد يؤدي إلى أضرار في القلب، والكبد، والجهاز الصماوي، والذي يشمل الغدد المنتجة للهرمونات التي تنظم العمليات في أنحاء الجسم. بدون إجراء العلاجات الخالبة للحديد بشكل كافٍ، مثل تناول أدوية **Deferoxamine** بشكل منتظم، فإن أغلب المرضى المصابين بحالات البيتا تلاسيميا قد تصل مستويات الحديد عندهم إلى مستويات قاتلة.¹³

يتواجد الفيريتين في أغلب النسيج على شكل بروتين ضمن السيتوبلازما الخلوية، إلا أن نسبة صغيرة منه قد ترشح عبر الجدار الخلوي إلى المصل الدموي حيث يعمل وظيفة حامل الحديد. يعتبر الفيريتين ضمن السيتوبلازما الخلوية معلماً غير مباشر لكمية الحديد الكلية في الجسم، وبالتالي فإنه من الممكن استخدام الفيريتين في مصل الدم كأداة لتشخيص فقر الدم بنقص الحديد أو فرط تحميل الحديد.¹⁴

من أهم العلامات السريرية المستخدمة في تشخيص فقر الدم هي ملاحظة الشحوب في بشرة باطن الكف، المخاطية الفموية، الملتحمة، وقاعدة الأظافر،¹⁵ تعد عملية الفحص السريري العياني للملتحمة طريقة شائعة في تشخيص فقر الدم، إلا أنه توجد العديد من العوامل التي تقلل من دقة هذه الطريقة.¹⁶ مثل اليرقان الذي ينتشر بشدة لدى مرضى التلاسيميا¹⁷ وفي مثل هذه الحالات يصبح استخدام المخاطية الفموية البديل الأمثل.

يتواجد عدد محدود من الدراسات العالمية التي تدرس تأثير التصبغ بالحديد على مصداقية الشحوب ضمن المخاطية الفموية في تشخيص فقر الدم، ولا توجد على حد علم الباحث أي دراسة مشابهة ضمن المجتمع السوري.

ولهذا، فإن الدراسة الحالية تقيم تأثير فيريتين المصل على مصداقية الشحوب في الحنك الصلب، لحنك الرخو، ظهر اللسان، وباطن الخد كعلامة لتشخيص فقر الدم المتوسط والشديد لدى الأطفال المصابين بالبيتا تلاسيميا كنموذج لحالات التصبغ بالحديد.

2- هدف البحث:

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير الإصابة بفرط تحميل الحديد على استخدام شحوب المناطق التشريحية المختلفة ضمن المخاطية الفموية كعلامة سريرية في تشخيص حالات فقر الدم المتوسط والشديد لدى مرضى البيتا تلاسيميا الكبرى كنموذج على حالات التصبغ بالحديد.

3- المواد والطرائق:

تم اختيار العينة بطريقة عشوائية من المرضى المراجعين لقسم التلاسيميا ضمن المراكز الطبية التخصصية الشاملة في مدينة دمشق، وذلك بعد أخذ الموافقة المستنيرة Informed Consent من المرضى أو من ذويهم في حال كان المريض طفلاً.

تألفت عينة البحث من 69 مريضاً (44 ذكور، 25 إناث) تتراوح أعمارهم بين 5 و33 سنة (متوسط الأعمار 15.4 سنة). معايير القبول ضمن عينة البحث:

1. أن يكون المريض مصاباً بمرض البيتا تلاسيميا الكبرى.
2. قام بإجراء عمليات نقل دم لأكثر من 15 مرة.
3. لا يعاني من اضطراب تطوري أو وراثي آخر.

تم إجراء الفحص الفموي في غرفة طبيب الصحة في قسم التلاسيميا، باستخدام أدوات فحص داخل فموية نبوذة، ومصدر إضاءة محمول موجه نحو ساحة الفحص، بالإضافة لإضاءة الغرفة. تم الفحص عيانياً من خلال ملاحظة وجود شحوب على مخاطية باطن الخد، ذروة ظهر اللسان، الحنك الصلب، والحنك الرخو. تم إجراء الفحص من قبل باحثين بحيث يتم اعتبار علامة الشحوب إيجابية في حال إجماع كلا الباحثين على وجودها في إحدى مناطق المخاطية، وفي حال عدم الإجماع يتم اعتبار الحالة سلبية. تم إجراء الفحص بدون معرفة مسبقة من قبل الفاحص بحالة خضاب دم الحالية للمريض.

تم أخذ عينة دموية وريدية (حوالي 4 مل)، وتم إجراء تعداد دم كامل CBC، والذي يشمل حساب معدل الهيموغلوبين Hb، مع الأخذ بعين الاعتبار معيار منظمة الصحة العالمية في تحديد درجة فقر الدم بحسب معدل الهيموغلوبين في الدم:¹⁸

1. فقر دم معتدل 11.9 - 10 غ/دل.
2. فقر دم متوسط 9.9 - 7 غ/دل.
3. فقر دم شديد > 7 غ/دل.

بعد الرجوع إلى سجلات المرضى ضمن المركز تم استبعاد جميع الأفراد الذين لا تشملهم معايير القبول ضمن العينة، وتم الحصول على أحدث فحص لمعدل فيريتين المصل للمرضى الذين شملتهم معايير التضمين على أن يكون أحدث من سنتين على الأقل.

تم جمع البيانات وإجراء التحاليل الإحصائية باستخدام برنامج SPSS النسخة 23. حيث تم حساب الحساسية (Sensitivity) والدقة (Specificity)، وتم استخدام اختبار Mantel-Haenszel chi-square لتقييم وجود ارتباط بين معدل خضاب الدم وبين التواجد السريري لعلامة الشحوب في المخاطية، مع الأخذ بمعدل فيريتين المصل.

4-النتائج:

كان متوسط معدلات خضاب الدم 7.2 غ/دل (المدى 4.5-9.5 غ/دل)، حيث كان عدد أفراد العينة المصابين بفقر الدم المتوسط 40 مريضاً، وعدد الأفراد المصابين بفقر الدم الشديد 29 مريضاً.

تم استخدام معادلة حساب الحساسية Sensitivity والدقة Specificity لتقييم نسبة حساسية ودقة استخدام شحوب المناطق التشريحية المختلفة ضمن المخاطية الفموية (باطن الخد، الحنك الصلب، الحنك الرخو، ظهر اللسان) وفق المعادلة التالية:¹⁹

الحساسية = عدد الحالات الإيجابية الحقيقية / (عدد الحالات الإيجابية الحقيقية + عدد الحالات السلبية الكاذبة).

الدقة = عدد الحالات السلبية الحقيقية / (عدد الحالات السلبية الحقيقية + عدد الحالات الإيجابية الكاذبة).

الجدول رقم (1): يوضح حساسية ودقة استعمال الشحوب في مناطق تشريحية مختلفة من المخاطية الفموية.

Hb<10 g/dl		Hb<7 g/dl			
الحساسية	n	الدقة	الحساسية	n	
60.8	42	32.5	51.7	15	ح. صلب
98.5	68	2	97.2	28	ح. رخو
43.4	30	55	41.4	12	اللسان
92.7	64	5	89.7	26	الخد

عند استخدام علامة الشحوب في تشخيص فقر الدم الشديد (خضاب الدم > 7 غ/دل) كان الحنك الرخو هو الأكثر حساسية (97.2%)، يليه باطن الخد (89.7%) ثم الحنك الصلب (51.7%) وأخيراً كان ظهر اللسان هو الأقل حساسية (41.4%). في حين كان ظهر اللسان هو الأكثر دقة (55%) يليه الحنك الصلب (32.5%) ثم باطن الخد (5%) وأخيراً الحنك الرخو (2%).

عند استخدام علامة الشحوب في تشخيص فقر الدم المتوسط والشديد (خضاب الدم > 10 غ/دل) كان الحنك الرخو هو الأكثر حساسية (98.5%)، يليه باطن الخد (92.7%) ثم الحنك الصلب (60.8%) وأخيراً كان ظهر اللسان الأقل حساسية (43.4%). ولم يكن من الممكن حساب الدقة نظراً لأن جميع أفراد العينة كانوا يعانون من فقر دم متوسط أو شديد (معدل خضاب الدم لديهم أقل من 10 غ/دل)، وبالتالي لم تتواجد حالات سلبية حقيقية أو حالات إيجابية كاذبة لتطبيق معادلة حساب الدقة.

تم استخدام اختبار Mantel-Haenszel chi-square لتقييم وجود ارتباط بين معدل خضاب الدم وبين التواجد السريري لعلامة الشحوب في المخاطية، مع الأخذ بمعدل فيريتين المصل. وتم تحديد القيم العليا والدنيا لنسبة الاحتمالات الشائعة (COR: Common Odds Ratio) ومدى الثقة (CI: Confidence Interval).

تم تقسيم قيم خضاب الدم Hb إلى فئتين، الفئة الأولى تشمل الحالات التي تكون فيها قيم الخضاب $7 \leq$ مغ/دل، والفئة الثانية تشمل الحالات التي تكون فيها قيم الخضاب $7 >$ مغ/دل. تم اعتماد هذا التقسيم للفئات بناءً على تصنيف منظمة الصحة العالمية لحالات فقر الدم الشديد.¹⁸

عند الأخذ بعزل فيريتين المصل تم تقسيم العينة حسب العمر إلى فئتين، الفئة الأولى تشمل نسب الفيريتين > 2500 ، والفئة الثانية تشمل نسب الفيريتين ≤ 2500

الجدول رقم(2): ارتباط معدل خضاب الدم مع الشحوب السريري في الحنك الصلب مع الأخذ بمعدل فيريتين المصل.

فيريتين	Hb	n/T	%	COR	CI	P
> 2500	$7 \leq$	24/17	70.8	0.195	1.123	0.289
	$7 >$	17/8	47.1			
≤ 2500	$7 \leq$	16/10	62.5	1.383	1.123	0.289
	$7 >$	12/7	58.3			

الجدول رقم (3) ارتباط معدل خضاب الدم مع الشحوب السريري في الحنك الرخو مع الأخذ بمعدل فيريتين المصل.

فيريتين	Hb	n/T	%	COR	CI	P
> 2500	$7 \leq$	24/24	100	-	0.021	0.885
	$7 >$	17/17	100			
≤ 2500	$7 \leq$	16/16	100	-	0.021	0.885
	$7 >$	12/11	91.7			

الجدول رقم (4): ارتباط معدل خضاب الدم مع الشحوب السريري في ظهر اللسان مع الأخذ بمعدل فيريتين المصل.

P	CI	COR	%	n/T	Hb	فيريتين
0.959	0.003	0.341 2.223	54.2	24/13	7≤	2500>
			29.4	17/5	7>	
			31.3	16/5	7≤	2500 ≤
			58.3	12/7	7>	

الجدول رقم (5): ارتباط معدل خضاب الدم مع الشحوب السريري في باطن الخد مع الأخذ بمعدل فيريتين المصل.

P	CI	COR	%	n/T	Hb	فيريتين
0.711	0.137	0.072 2.919	95.8	24/23	7≤	2500>
			88.2	17/15	7>	
			93.8	16/15	7≤	2500 ≤
			91.7	12/11	7>	

أظهرت نتائج التحاليل الإحصائية أن قيم مستوى الدلالة p-value أكبر من 0.05، وبالتالي عدم وجود ارتباط بين معدل خضاب الدم وبين التواجد السريري لعلامة الشحوب في المخاطية، مع الأخذ بمعدل فيريتين المصل.

5- المناقشة:

حسب نتائج هذه الدراسة، كان الحنك الرخو الأكثر حساسية والأقل دقة في تشخيص فقر الدم الشديد، في حين كان ظهر اللسان الأكثر دقة والأقل حساسية في تشخيص فقر الدم الشديد، ولم تعثر الدراسة على ارتباط ذو دلالة إحصائية بين معدل الفيريتين في مصل الدم وبين مصداقية علامة الشحوب.

ذكرت دراسة Yalçın وزملاؤه²⁰ والتي تم إجراؤها على عينة مؤلفة من 101 مريضاً من تركيا أنها لم تعثر على أي ارتباط بين معدل فيريتين المصل وبين استخدام شحوب مخاطية باطن الخد في تشخيص فقر الدم، وهو ما يتوافق مع نتائج هذه الدراسة.

في حين ذكرت دراسة Rees وزملاؤه²¹ أن فرط تحميل الحديد يؤثر في مصداقية علامة الشحوب في تشخيص فقر الدم، ويربط الأمر مع زيادة التصبغات الناجمة عن فرط تحميل الحديد مع التقدم في العمر، وهذا يخالف نتائج الدراسة الحالية. يمكن تفسير هذا الاختلاف أن عينة دراسة Rees شملت عدداً كبيراً من الدول مع مساحة جغرافية واسعة (الصين، الهند، ساحل المتوسط، الشرق الأوسط، إنكلترا) إلا أنها تألفت من 81 فرداً فقط تراوحت أعمارهم بين 10 و65 سنة، وقد تؤدي هذه الاختلافات الكبيرة بين البيئات المختلفة والفئات العمرية ومستويات الرعاية الصحية في كل منطقة إلى مستويات متفاوتة جداً من فيريتين المصل.

ذكرت دراسة Muhe وزملاؤه²² أن علامة الشحوب في باطن الكف قد تكون مفيدة أكثر من الشحوب في المخاطية الفموية في تشخيص فقر الدم، إلا في حالات المرضى ذوي البشرة الداكنة، حيث كان تأثير المخاطية الفموية بتصبغات لون البشرة

محدوداً، وعندها فقد كان استخدام المخاطية الفموية هو الأكثر فائدة. وكانت نسب الحساسية لدى فحص المخاطية الفموية 92% لدى حالات فقر الدم المتوسط، و95% لدى حالات فقر الدم الشديد وهي نسب مشابهة لنتائج الدراسة الحالية. في حين كانت نسب الدقة لدى فحص المخاطية 55% في حالات فقر الدم المتوسط و 75% في حالات فقر الدم الشديد وهو ما يخالف نتائج الدراسة الحالية. يمكن أن تعزى هذه الفروق إلى أن دراسة Muhe وزملاؤه قد دمجت مشعر علامة الشحوب في كل من اللسان وباطن الخد معاً دون التفريق بينهما، في حين اعتبرت الدراسة الحالية كل منطقة تشريحية ضمن المخاطية الفموية مشعراً مستقلاً.

ذكرت دراسة Stoltzfus وزملاؤه²³ أن حساسية علامة الشحوب في حالات فقر الدم المتوسط والبسيط تكون متقاربة، إلا أنها شدتها تزداد في حالات فقر الدم الشديد، ولكن عينة الدراسة الحالية لم تحتوي على أي مرضى مصابين بحالات فقر دم بسيط، لذلك لم تلاحظ مثل هذه الفروق.

6-الاستنتاجات والتوصيات:

ضمن محدودية هذه الدراسة تبين أن تباين معدل فيريتين المصل زيادةً أو نقصاناً، وبالتالي التصبغات الناجمة عن زيادة الفيريتين في الجسم، لم يكن لها تأثير على مصداقية استخدام شحوب المخاطية الفموية في تشخيص حالات فقر الدم لدى مرضى البيتا تلاسيميا الكبرى.

نوصي بإجراء المزيد من الدراسات التي تتناول دراسة علامة الشحوب في عدة مناطق تشريحية مختلفة من الجسم ضمن حالات مختلفة من فقر الدم (فقر الدم المنجلي، فقر الدم الإنحلالي، فقر الدم بعوز الحديد) ونماذج مختلفة من حالات التصبغ (التصبغ بالحديد، التصبغ بالبيليرويين).

7-المراجع:

1. George, Shalu Susan, (2008) "Creating an internet-based database of beta thalassemia mutations". Master's Theses. Paper 3616.
2. Sreckovic V. B. and Djordjevic, V. (2007) "Arterial Ischemic Stroke in a Child with Beta-Thalassemia Trait and Methylenetetrahydrofolate Reductase Mutation". Journal of Child Neurology. Volume 22 Number 2 February 2007 208–210
3. Williams, T. N. and D. J. Weatherall (2012). "World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies." Cold Spring Harb Perspect Med2(9): a011692.
4. Weatherall, D. (2004). 2003 William Allan Award address – "The thalassemias: The role of molecular genetics in an evolving global health problem". American Journal of Human Genetics, 74, 385–92.
5. Young, I. S. (2001). "Antioxidants in health and disease". Journal of Clinical Pathology, 54(3), 176–186.doi:10.1136/jcp.54.3.176.
6. Greenberg M, Glick M. (2006) "Burket's Oral Medicine Diagnosis and Treatment. Hematologic Diseases". 10th ed., Ch. 16. Philadelphia: Elsevier;.

7. Sollaino MC, Paglietti ME, Perseu L, Giagu N, Loi D, Galanello R. (2009) "Association of alpha globin gene quadruplication and heterozygous beta thalassemia in patients with thalassemia intermedia". *Haematologica* 2009, 94:1445–1448
8. Chalco, J., Huicho, L., Alamo, C., Carreazo, N. & Bada, C. (2005) "Accuracy of clinical pallor in the diagnosis of anaemia in children: a meta-analysis". *BMC Pediatr.* 5, 46.
9. Satyanarayana U, Chakrapani U. (2007). "Biochemistry". Third Revised Edition, Revised Reprint. Arunabha Sen.; 457–59.
10. Young, I. S. (2001). "Antioxidants in health and disease". *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176–186. doi:10.1136/jcp.54.3.176.
11. Marcel E Conrad, Jay Numbrelt. (2000) "Iron Absorption and Transport – An Update". *Am. J. Hematol.* 2000; 64: 287–98.
12. Andrews, N. C. (1999). "Disorders of iron metabolism." *N Engl J Med* 341(26): 1986–1995.
13. Cianciulli P (October 2008). "Treatment of iron overload in thalassemia". *Pediatr Endocrinol Rev* 6 (Suppl 1): 208–13. [PMID 19337180](#).
14. Wang W, Knovich MA, Coffman LG, Torti FM, Torti SV (August 2010). "Serum ferritin: Past, present and future". *Biochimica et Biophysica Acta.* 1800 (8): 760–9. doi: 10.1016/j.bbagen.2010.03. 011. PMC 2893236. PMID 20304033.
15. Weksler, Babette (2017). *Wintrobe's Atlas of Clinical Hematology*. Lippincott Williams & Wilkins. p. PT105. ISBN 9781451154542.
16. Sobhy S, Rogozinska E, Khan KS. (2016) "Accuracy of onsite tests to detect anaemia in antenatal care: a systematic review". *BJOG*.
17. Galanello, R., & Origa, R. (2010). "Beta-thalassemia". *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 5(1), 11. doi:10.1186/1750-1172-5-11
18. Kariyeva GK, Magtymova A, Sharman A. (2015) "Demographic and Health Surveys: Chapter 12: Anemia". [Internet document available from <http://dhsprogram.com/pubs/pdf/fr130/12chapter12.pdf>. accessed 2.9.2015].
19. Trevethan, R. (2017). "Sensitivity, Specificity, and Predictive Values: Foundations, Pliabilities, and Pitfalls in Research and Practice". *Frontiers in Public Health*, 5. doi:10.3389/fpubh.2017.00307
20. Yalçın SS, Ünal S, Gümrük F, Yurdakök K. (2007) "The validity of pallor as a clinical sign of anemia in cases with beta-thalassemia". *The Turkish Journal of Pediatrics* 2007; 49: 408–412.

21. Rees DC, Luo LY, Thein SL, Singh BM, Wickramasinghe S.(1997) "Nontransfusional iron overload in thalassemia: association with hereditary hemochromatosis". Blood 1997; 90: 3224–3226.
22. Muhe L, Oljira B, Degefu H, Jaffar S, Weber MW.(2000) "Evaluation of clinical pallor in the identification and treatment of children with moderate and severe anaemia". Trop Med Int Health 2000; 5: 805–810.
23. Stoltzfus RJ, Edward–Raj A, Dreyfuss ML, Albinico M, Montresor A, Thapa MD. (1999) "Clinical pallor is useful to detect severe anemia in populations where anemia is prevalent and severe". J Nutr 1999; 129: 1675–1681.