

Evaluation of Laboratory Findings in Combined Iron-Vitamin B12 Deficiency Anemia

Dr. Rose Said*
Dr. Firas Hussein**
Mouhammed Mahmoud***

(Received 31 / 8 / 2023. Accepted 11 / 10 / 2023)

□ ABSTRACT □

Introduction: Anemia is one of the most common health problems in the world. Micronutrient deficiency anemia (iron, folic acid, vitamin B12 and vitamin A) is the most common cause of anemia in developing countries. Deficiencies of more than one element are common in gastrointestinal diseases and malnutrition. Iron-deficiency anemia combined with vitamin B12 deficiency may mask the typical hematological picture of megaloblastic anemia and pose a problem in diagnosis. This research aimed to study the effect of deficiency association on laboratory findings and to evaluate the use of some indicators in predicting the incidence of vitamin B12 deficiency in patients with IDA.

Materials and Methods: The study included 85 anemic patients, including 35 IDA patients, 25 vitamin B12 deficiency patients, and 25 patients with mixed anemia, in addition to 35 healthy controls. Venous blood samples were drawn for complete blood count analysis, peripheral blood film, and reticulocyte ratio, as well as serum titer of vitamin B12, ferritin, LDH activity, and serum bilirubin. The medians of these tests were compared between the four study groups to identify statistically significant differences, and using ROC curves, the sensitivity and specificity of the cut off values for some tests were calculated to aid in diagnosis.

Results: The predominant picture when IDA was associated with vitamin B12 deficiency anemia was microcytosis with hypochromia with a decrease in the number of platelets compared to IDA group. Examination of peripheral blood showed hypersegmentation in 60% of combined anemia patients, which is slightly less frequent than that of vitamin B12 deficiency anemia group. It also showed dimorphic assets (Macro-ovalocytes and microcytes) in most cases. The average activity of LDH and the concentration of indirect bilirubin were significantly higher in vitamin B12 deficiency and mixed anemia groups than in IDA group while Reticulocytes percentage was lower.

Conclusion: Absolute reticulocyte count, together with LDH and serum bilirubin, are important diagnostic tests to infer the presence of vitamin B12 deficiency anemia associated with IDA when the general appearance is microcytic and hypochromic.

Keywords: Anemia, iron deficiency anemia IDA, vitamin B12, LDH, Ferritin, Combined anemia.

Copyright



:Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

*Assistant Professor, Faculty of Human Medicine, Tishreen University, Latakia, Syria. rosesaid1980@hotmail.com

** Associate professor, Faculty of Human Medicine, Syria, Tishreen University, Latakia-Syria. drFirasHusseini@yahoo.com

*** Postgraduate student, Department of Laboratory Medicine, Faculty of Human Medicine, Tishreen University, Latakia, Syria. hamnzred@gmail.com

تقييم الموجودات المخبرية عند ترافق فقر الدم بعوز الحديد مع فقر الدم بعوز فيتامين B12

د. روز سعيد*

د. فراس حسين**

محمد محمود***

(تاريخ الإيداع 31 / 8 / 2023. قبل للنشر في 11 / 10 / 2023)

□ ملخص □

المقدمة: يعتبر فقر الدم من أكثر المشكلات الصحية شيوعاً في العالم. ويشكل فقر الدم بنقص المغذيات الصغرى (الحديد وحمض الفوليك وفيتامين B12 و فيتامين A) أبرز أسباب فقر الدم في البلدان النامية. يشيع حدوث عوز لأكثر من عنصر واحد في أمراض الجهاز الهضمي وفي سوء التغذية. ترافق فقر الدم بعوز الحديد مع عوز فيتامين B12 قد يقنع الصورة الدموية النمطية لفقر الدم العرطل ويشكل مشكلة في التشخيص.

هدفت هذه الدراسة لدراسة تأثير ترافق العوزين على الموجودات المخبرية وتقييم استخدام بعض المشعرات في التنبؤ بوجود عوز فيتامين B12 لدى مرضى فقر الدم بعوز الحديد.

المواد والطرائق: شمل البحث 85 مريض فقر دم منهم 35 مريض فقر دم بعوز الحديد و 25 مريض فقر دم بعوز فيتامين B12 و 25 مريض فقر دم مختلط بالإضافة إلى 35 من الشواهد الأصحاء. تم إجراء تحليل تعداد دم كامل وقلم دم محيطي وتقدير نسبة الشبكيات بالإضافة للعيار المصلي للفيتامين B12 والفيريتين وفعالية LDH و بيليروبين المصل. تمت المقارنة بين متوسطات هذه الاختبارات بين مجموعات الدراسة الأربعة لتحديد الفروقات الهامة احصائياً وباستخدام منحنيات ROC تم حساب الحساسية والنوعية لقيم Cut off لبعض الاختبارات للمساعدة في التشخيص.

النتائج: كانت الصورة الغالبة عند ترافق فقر الدم بعوز الحديد مع فقر الدم بعوز فيتامين B12 هي صغر الحجم مع نقص الصباغ مع انخفاض في تعداد الصفيحات عن مجموعة فقر الدم بعوز الحديد. أظهر فحص قلم الدم المحيطي وجود فرط تفصص معتدلات بنسبة 60% وهو أقل بقليل من مجموعة فقر الدم بعوز فيتامين B12. وأظهر أيضاً موجودات ثنائية الشكل (كريات كبيرة بيضوية بالإضافة إلى كريات صغيرة الحجم ناقصة الصباغ) في غالبية الحالات. كان متوسط فعالية LDH وتركيز البيليروبين غير المباشر أعلى بشكل ملحوظ في مجموعتي فقر الدم بعوز فيتامين B12 وفقر الدم المختلط منه لدى مجموعة IDA.

الخلاصة: يشكل تعداد الشبكيات المطلق مع LDH وبيليروبين المصل اختبارات تشخيصية هامة للاستدلال على وجود فقر دم بعوز B12 مرافق لعوز الحديد عندما يكون المظهر العام صغير الحجم ناقص الصباغ. عوز فيتامين B12 شائع في الظروف الاقتصادية السيئة كنتيجة لقلة استهلاك اللحوم وليس محصوراً بالأسباب الهضمية والحمية النباتية الصارمة.

الكلمات المفتاحية: فقر الدم، فقر الدم بعوز الحديد، فقر الدم العرطل، نازعة هيدروجين اللاكتات، الفيريتين، فيتامين B12.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص



CC BY-NC-SA 04

*مدرسة - كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية rosesaid1980@hotmail.com
**أستاذ مساعد - كلية الطب البشري - جامعة تشرين- اللاذقية- سورية drFirashusseini@yahoo.com
*** طالب دراسات عليا - كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية hamnzred@gmail.com

مقدمة:

يشكل فقر الدم مشكلة صحية عالمية عامة تؤثر على السكان في البلدان المتطورة والنامية مع عواقب كبيرة على صحة الإنسان وعلى التطور الاقتصادي والاجتماعي. يحدث فقر الدم في جميع مراحل الحياة مع شيوع أكبر خلال فترة الحمل وعند الأطفال في سن ما قبل المدرسة. وبحسب آخر البيانات المتوفرة من منظمة الصحة العالمية 2011 فإن نسبة الانتشار العالمية لفقر الدم في فئة الاطفال ما قبل سن المدرسة 43% ولدى النساء الحوامل 38% ولدى غير الحوامل في سن النشاط التناسلي 29%. [1] يتم تعريف فقر الدم عادة بانخفاض قيم الهيموغلوبين عن 12 غ/دل عند الإناث غير الحوامل و 13 غ/دل عند الذكور وقد تم تحديد قيمة cut off هذه عام 1968 ورغم التعديلات التي طرأت مازالت الأكثر استخداماً وقبولاً. [2]

يأتي عوز الحديد في مقدمة أسباب فقر الدم حول العالم ويحدث نتيجة إما زيادة الحاجة كما في الحمل والإرضاع والطفولة أو نقص الوارد في فترات الحروب والظروف الاقتصادية الاجتماعية السيئة أو الحماية النباتية مع نقص التوافر الحيوي للحديد النباتي أو اضطراب الامتصاص أو زيادة التحطم والنزف. [3]

يمر تطور فقر الدم بعوز الحديد بثلاثة مراحل: **توازن الحديد السلبي** حيث يتجاوز الطلب على الحديد أو فقده قدرة الجسم على امتصاص الحديد الغذائي فتتخفص مخازن الحديد دون تأثير مستويات الحديد في المصل أو عملية تكون **فقر الدم الكامن**: تتضرب مخازن الحديد وتتخفص مستوياته في الدم وينخفض إشباع الترانسفيرين ويزداد بروتوبورفيرين الكريات الحمر والسعة الكلية الرابطة للحديد تدريجياً وتصبح مشعرات الكريات الحمر وقيمة خضاب الدم ضمن الحدود الدنيا الطبيعية أو منخفضة. **فقر الدم الصريح**: تتخفص قيم الخضاب والهيماتوكريت عن القيم الطبيعية وتصبح الكريات الحمر صغيرة الحجم ناقصة الصباغ وتأخذ الأعراض السريرية بالظهور. [4]

تدل أعراض وعلامات فقر الدم على شدته وسرعة تطوره وعمر المريض. وتشمل نقص الشهية والتعب عند التمارين والخفقان والصداع النابض والزلة التنفسية بالإضافة إلى شحوب الجلد والاعشىة المخاطية والدوار والشعور بالبرد. [5] بالإضافة لأعراض نوعية لعوز الحديد كتقعر الأطراف، شهوة بيكا، متلازمة القدم المتملمة وتساقط الشعر ومتلازمة بلومر فنسون. [6] بينما يسبب عوز فيتامين B12 متلازمة عصبية خطيرة لا يمكن عكسها بالعلاج بعد أن تتطور بشكل كبير، تبدأ عادة بالتنميل والخدر في القدم والأصابع واضطراب حس الاهتزاز وحس الوضعة وقد تتطور إلى الرنح التنسجي بسبب إزالة الميلانين من الحبال الظهرية والوحشية للنخاع الشوكي فتدعى الداء الجهازي المختلط. [7]

وتظاهرات نفسية عصبية قد تتطور إلى ضمور دماغ وخرف. كما أنه قد يحدث فرط تصبغ وبهاق. [8] يحدث كل من عوز الحديد والكوبالامين إما بسبب نقص الوارد أو سوء الامتصاص أو زيادة الحاجة ويعد النزف الهضمي ونزف الدورة الطمثية من أهم أسباب عوز الحديد بالإضافة إلى الاضطرابات الوراثية في سبل استقلاب الحديد. [9] بينما يعد فقر الدم الوبيل والتهاب المعدة الضموري من أشيع أسباب عوز الكوبالامين مع الاضطرابات الهضمية الأخرى والاضطرابات الخلقية الاستقلابية وعوز البروتينات الناقلة والعقاقير كالكحول والميتفورمين وأكسيد النتروجين وغيرها. [10]

الصورة المخبرية التقليدية لعوز الحديد هي صغر حجم الكريات الحمر ونقص محتواها من الخضاب مع تغيرات شكلية تتراوح من الكريات المتطاولة والاهليلجية إلى الكريات القلمية مع بعض الكريات الهدفية وتباين في أحجام الكريات

الحمى. يرتفع تعداد الصفيحات في كثير من الحالات ولكن يكون الارتفاع معتدلاً. ينخفض حديد وفيريتين المصل وترتفع السعة الكلية للرابطة للحديد ومستقبلات الترانسفيرين. [11]

يسبب عوز فيتامين B12 فقر دم عرطل كبير الخلايا يرتفع فيه MCV وقد يترافق بنقص في عناصر الدم الأخرى (الصفيحات والكريات البيض). يظهر في فلم الدم المحيطي كريات كبيرة بيضوية Macro-Ovalocytes وفقر نقص نوى المعتدلات. وهو فقر دم غير متجدد ينخفض فيه تعداد الشبكيات وترتفع مشعرات الانحلال كالبيليروبين و LDH نتيجة انحلال الأرومات الحمى العرطلة داخل النقي الذي يكون مفرد الخلية وتظهر فيه خليفات نقوية عرطلة. [12]

لا يوجد معيار ذهبي لتشخيص عوز فيتامين B12 ويتوفر العديد من الاختبارات المصلية كعيار كوبالامين المصل أو الهوموسيستئين أو الميتيل مالونيك أسيد MMA ولكل من هذه الاختبارات سلبياته ومحدداته. ورغم الانتقادات الموجهة لعيار فيتامين B12 المصلي إلا أنه يبقى واسع الاستخدام ويمكن تحسين نوعيته بمعايرة أحد المستقبلات معه. [13] هنالك العديد من الحالات المرضية التي تسبب عوز في الفيتامين B12 والحديد في الوقت ذاته مما يسبب حدوث فقر دم مختلط يقنع الموجودات المخبرية المعتادة لعوز كل منهما بمفرده مما يؤدي إلى إهمال علاج أحدهما على حساب الآخر.

أهمية البحث وأهدافه

أهمية البحث:

تأتي أهمية البحث من الانتشار الواسع لعوز فيتامين B12 بسبب نقص الوارد الغذائي نتيجة قلة استهلاك المنتجات الحيوانية على عكس ما كان يعتقد سابقاً بقلّة الأسباب الغذائية لعوز الكوبالامين وانحصار حدوثه نتيجة سوء الامتصاص والأمراض الهضمية و الحمية النباتية الصارمة ومن كون فقر الدم العرطل ذي طيف واسع من التظاهرات السريرية والمخبرية وذي تطور مخائل مما يشكل صعوبة في التشخيص بالإضافة إلى إمكانية عكس التغيرات العصبية إذا بدأ العلاج بشكل مبكر مما يجعل التشخيص الباكر ضرورة ملحة.

ترافق فقر الدم بعوز الحديد مع فقر الدم العرطل قد يؤدي إلى تقنيع الموجودات المخبرية النمطية لمشعرات الكريات الحمى مسبباً التوجه لعلاج الحديد مع إغفال وجود عوز الفيتامين B12 المرافق سيسمح البحث بالتوجه للتشخيص اعتماداً على تحاليل غير مكلفة تجرى بشكل روتيني في المخابر السريرية .

أهداف البحث:

يهدف البحث إلى:

- تقييم تأثير ترافق فقر الدم بعوز الحديد مع فقر الدم بعوز فيتامين B12 على مشعرات الكريات الحمى وموجودات فلم الدم المحيطي ونسبة الشبكيات و LDH وبيليروبين المصل.
- استنباط قيم cut off للاختبارات الروتينية تساعد على التوجه للتشخيص.
- إمكانية استخدام معادلات وصيغ رياضية محددة معتمدة على مشعرات تعداد الدم الكامل لتمييز فقر الدم المختلط عن فقر الدم الصريف بعوز الحديد بعد أن تم استخدامها من قبل بعض الدراسات.

طرائق البحث ومواده:

-شملت عينة الدراسة 85 مريضاً من مراجعي عيادات وأقسام مستشفى تشرين الجامعي في مدينة اللاذقية خلال الفترة الممتدة بين شهر كانون الأول 2021 ونيسان 2023 بالإضافة إلى 35 شخص من الشواهد الأصحاء وأجريت في المخبر المركزي في مستشفى تشرين الجامعي.

-تم جمع بيانات المرضى الذين يحققون معايير الإدخال التي يحددها البحث. تم إدخال المرضى بأعمار أكبر من 15 سنة الذين يعانون من فقر دم (خضاب أقل من 12 غ/دل لدى النساء وأقل من 13 غ/دل لدى الرجال)، حيث تم إجراء CBC للمرضى بواسطة جهازي Medonic M20 Basic و Celtak-MEK-6510 وذلك بعد جمع عينات دم كامل على مانع تخثر EDTA.

-تم استبعاد المرضى المعالجين بالحديد أو الفيتامين B12 أو المشخصين باعتلالات الخضاب وقصور الدرق أو عوز خميرة G6PD وفقر الدم الانحلالي وتكرور الحمر الوراثي بالإضافة إلى مرضى الخباثات الدموية والأمراض الكبدية والكلوية المزمنة والمرضى أصحاب الصيغة الانتهاجية المرتفعة (من لديهم تعداد كريات بيض وبروتين ارتكاسي CRP مرتفعين) كما تم حذف النساء الحوامل من عينة الدراسة.

-استخدمت عينات المصل التي تم جمعها بواسطة انابيب جافة لإجراء عيار فيريتين المصل بواسطة جهاز Tosoh-AIA 900 الذي يعتمد تقنية المقايسة المناعية الإنزيمية Enzymometric Immunoassay وجهاز Finicare-IIIplus الذي يعتمد مبدأ الفلورة المناعية بالتدفق الجانبي (Lateral Flow Immunofluorescence) وذلك لاعتماده كمييار تشخيصي لوجود عوز حديد عند انخفاض قيمته المصلية عن 20نغ/مل عند الذكور و 14 نغ/مل عند الإناث. باستخدام جهاز Immulite 1000 الذي يعتمد مبدأ المقايسة المناعية للمعانية الكيميائية وجهاز Tosoh-AIA 900 تم قياس مستويات كوبالامين المصل لتحديد وجود عوز فيتامين B12 عند قيم أقل من 200 بيكوغرام/مل. تم استخدام جهاز التحليل الكيميائي الآلي Minray BS380 لإجراء اختبار LDH و بيليروبين المصل باستخدام عتائد من شركتي AMS و Quimica Clinica على التوالي، وتم مد لطاخة فلم دم محيطي وتلوينها باستخدام ملون رايت وتقدير نسبة الشبكيات بعد مد لطاخة دموية على شريحة زجاجية وتلوينها باستخدام ملون زرقة الكريزيل للماع لكل مريض.

-وبناء على مستويات الفيريتين والفيتامين B12 المصلية تم تقسيم عينة الدراسة إلى 4 مجموعات : 25 مريض فقر دم مختلط (عوز حديد- عوز فيتامين B12)، 35 مريض فقر دم بعوز الحديد، 25 مريض قر دم بعوز فيتامين B12 و 35 عينة لأشخاص أصحاء، بعد أخذ الموافقة المستنيرة تم جمع معلومات المرضى التي شملت العمر والأمراض المشخصة والأدوية والاعراض السريرية والعادات الغذائية.

- قسمت الدراسة الإحصائية إلى:

1-إحصاء وصفي: تضمن استخراج مقاييس النزعة المركزية - مقاييس التشتت واستخدام مخططات الأعمدة للتعبير عن النسب المئوية بالنسبة لمجموعات الدراسة.

2-إحصاء استدلال بالاعتماد على القوانين والاختبارات:

اختبار T student لمقارنة متوسطين حسابيين بين مجموعتين مستقلتين ومنحني ROC (RECEIVER OPERATION CHARACTERISTIC) وتحديد القيمة الحدية المثلى Cut-off لبعض المشعرات المدروسة.

تم إجراء الدراسة الإحصائية بواسطة برنامج IBM SPSS statistics واعتبرت النتائج مهمة احصائياً عند $P\text{-value} < 0.05$.

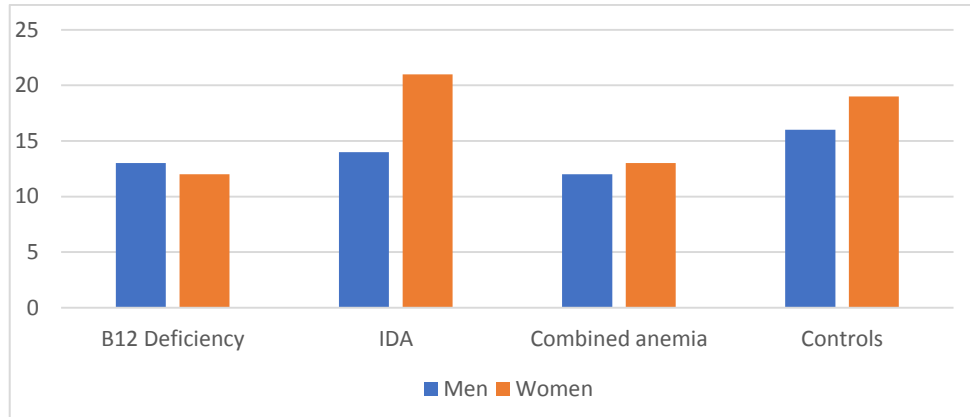
النتائج والمناقشة

النتائج:

من المرجح زيادة احتمال ترافق فقر الدم بعوز الحديد مع فقر الدم بعوز فيتامين B12 في فترات الحروب والظروف الاقتصادية السيئة (البلدان ذات الوعي الصحي المتدني والوارد الغذائي المحدود)، وهناك قلة من الدراسات التي اهتمت بذلك بينما برزت العديد من المقالات عن حالات سريرية متفرقة.

توزيع عينة الدراسة تبعاً للجنس

كانت نسبة الإناث والذكور متقاربة في كل المجموعات ماعدا مجموعة فقر الدم بعوز الحديد المفرد حيث كانت الغالبية من النساء لأنهن أكثر احتمالا للإصابة بسبب نزوف الدورة الطمثية فكان عدد الإناث 65 أنثى (بنسبة 54.2%) و55 ذكر (بنسبة 45.8%) بإجمالي 120 عينة. في حين توزع جنس المرضى في كل مجموعة كما في الشكل 1



الشكل 1 توزيع الجنس ضمن مجموعات عينة الدراسة

✓ توزيع عينة الدراسة تبعاً للعمر

توزعت أعمار المرضى ضمن المجال 15-77 عام بمتوسط 41.9 عام. بينما بلغ الحد الأعلى والأدنى ومتوسط الأعمار ضمن كل مجموعة على النحو الموضح في الجدول 1:

الجدول 1 متوسط الأعمار ضمن مجموعات الدراسة

الشواهد	فقر الدم المختلط	فقر الدم بعوز فيتامين B12	فقر الدم بعوز الحديد	
70	77	73	70	الحد الأعلى للعمر
15	20	16	16	الحد الأدنى للعمر
36	50.5	42.6	40	المتوسط

✓ توصيف متغيرات الدراسة

تم حساب المتوسطات الحسابية والانحراف المعياري لكل من تعداد المعتدلات و RBC ,Hb ,HCT ,MCH ,MCHC , RDW cv ,PLT ,LDH ,Indirect Bilirubin, ونسبة الشبكيات وتعدادها المطلق والفيبريتين وفيتامين B12 لكل من مجموعات الدراسة.

Groups/Indices	Controls	IDA	Vit.B12 Deficiency	Combined Anemia
RBC 10 ⁶ /μl	4.74 ± 0.48	4.01 ± 0.48	2.73 ± 0.492	3.46 ± 0.5
HB g/dl	13.71 ± 1.3	9.39 ± 1.32	9.36 ± 1.84	8.14 ± 1.28
HCT %	41.26 ± 3.73	28.96 ± 3.58	28.41 ± 5.25	25.16 ± 3.73
MCV fl	87.4 ± 4.58	72.35 ± 4.27	104.84 ± 6.46	73.22 ± 9.61
MCH pg	29.05 ± 1.64	23.38 ± 2.08	33.49 ± 2.26	23.67 ± 3.7
MCHC pg/ml	33.2 ± 0.61	32.29 ± 1.63	33.43 ± 2.94	32.31 ± 1.93
RDW cv %	12.4 ± 2.01	17.35 ± 2.56	16.37 ± 2.12	17.84 ± 2.2
PLT 10 ³ /μl	272.4 ± 66.42	389.29 ± 137.88	168.52 ± 76.27	277.24 ± 129.93
Neutrophils /μl	4502.8 ± 1199	4660.85 ± 1462	2676.4 ± 1385	3813 ± 1864.5
LDH IU/L	313.25 ± 65.64	331.08 ± 87.66	1070.32 ± 425	879.08 ± 396.29
Indirect Bil mg/dl	0.63 ± 0.24	0.734 ± 0.242	1.35 ± 0.547	1.19 ± 0.533
Ferritin ng/ml	47.8 ± 35.37	7.7 ± 3.47	43.87 ± 24.82	3.23 ± 7.35
Vit.B12 pg/ml	522.14 ± 194.1	438.23 ± 171.92	90.48 ± 26.9	108.08 ± 39.18
Retic. Percentage%	1.11 ± 66.42	1.183 ± 0.49	0.408 ± 0.26	0.48 ± 0.43
Retic. Count /μl	53702 ± 30920	44800 ± 19785	11728 ± 8614	17497.2 ± 17012

الجدول 2 المتوسط ± الانحراف المعياري للمشتريات في المجموعات

سيطرت أعراض فقر الدم العامة عند مرضى فقر الدم بعوز الحديد مع أعراض أخرى بتواتر أقل كتساقط الشعر وعسرة البلع بينما ظهرت الأعراض العصبية لعوز الكوبالامين عند نصف مرضى عوز فيتامين B12 وفقر الدم المختلط. تراوحت مسببات فقر الدم المختلط من مجهولة السبب إلى تناول أدوية كالميتفورمين ومثبطات مضخات البروتون بالإضافة إلى أسباب هضمية متنوعة. غالبية مرضى فقر الدم المختلط كانوا ذوي استهلاك منخفض للأسماك واللحوم الحمراء التي تعد المصادر الغذائية الأهم للفيتامين B12.

✓ نتائج مقارنة المعالم المخبرية بين مجموعة الشواهد ومجموعتي فقر الدم بعوز الحديد وفقر الدم بعوز فيتامين B12

تم إجراء اختبار T-test لمقارنة المتوسطات بين مجموعة الشواهد و مجموعتي فقر الدم بعوز فيتامين B12 و فقر الدم بعوز الحديد واعتبر الاختبار ذو أهمية إحصائية عند قيمة دلالة $P\text{-value} < 0.05$.

وجدنا فروقات إحصائية هامة بين مجموعة الشواهد ومجموعة IDA بالنسبة للمتغيرات RBC, Hb, MCH, MCHC، التي كانت أقل لدى مجموعة عوز الحديد أما بالنسبة لRDW، PLT كانت متوسطاتها أعلى من مجموعة الشواهد. بالمقابل لم نجد فروقات ذات أهمية إحصائية ($P\text{-value} > 0.05$) بين المجموعتين بالنسبة لكل من المشتريات LDH و البيليروبين غير المباشر ونسبة الشبكيات وتعدادها المطلق وتعداد المعتدلات.

بينما كانت هنالك فروقات ذات دلالة إحصائية هامة بين مجموعة الشواهد ومجموعة عوز فيتامين B12 بالنسبة للمعالم التالية: RBC, Hb, HCT, PLT وتعداد المعتدلات ونسبة الشبكيات وعددها المطلق التي كانت متوسطاتها

أخفض لدى مجموعة عوز فيتامين B12 بالإضافة إلى فروقات هامة إحصائياً بالنسبة لكل من LDH, RDW, MCV, MCH, والبيليروبين غير المباشر التي كانت قيم متوسطاتها أعلى لدى مجموعة فقر الدم بعوز فيتامين B12 بينما لم يلاحظ فرق ذو دلالة هامة إحصائياً لـ MCHC رغم أن المتوسط كان أعلى لدى مجموعة عوز فيتامين B12. يوضح الجدول 3 متوسطات المشعرات بين المجموعات.

الجدول 3 المقارنة بين مجموعة الشواهد ومجموعي عوز الحديد وعوز فيتامين B12

Group/Indices	Controls	IDA		Vit.B12 Deficiency	
		Mean	P value	Mean	P value
RBC 10 ⁶ /μl	4.74 ± 0.48	4.01 ± 0.48	< 0.01	2.73 ± 0.492	< 0.01
HB g/dl	13.71 ± 1.3	9.39 ± 1.32	< 0.01	9.36 ± 1.84	<0.01
HCT %	41.26 ± 3.73	28.96 ± 3.58	< 0.01	28.41 ± 5.25	<0.01
MCV fl	87.4 ± 4.58	72.35 ± 4.27	< 0.01	104.84 ± 6.46	< 0.01
MCH pg	29.05 ± 1.64	23.38 ± 2.08	< 0.01	33.49 ± 2.26	< 0.01
MCHC pg/ml	33.2 ± 0.61	32.29 ± 1.63	0.03	33.43 ± 2.94	0.65
RDW cv %	12.4 ± 2.01	17.35 ± 2.56	< 0.01	16.37 ± 2.12	<0.01
PLT 10 ³ /μl	272.4 ± 66.42	389.29 ± 137.8	< 0.01	168.52 ± 76.27	< 0.01
Neutrophiles /μl	4502.8 ± 1199	4660.8 ± 1462	0.623	2676.4 ± 1385	<0.01
LDH IU/L	313.25 ± 65.64	331.08 ± 87.66	0.339	1070.32 ± 425	<0.01
Indirect Bil mg/dl	0.63 ± 0.24	0.734 ± 0.242	0.09	1.35 ± 0.547	<0.01
Ferritin ng/ml	47.8 ± 35.37	7.7 ± 3.47	< 0.01	43.87 ± 24.82	< 0.01
Vit.B12 pg/ml	522.14 ± 194.1	438.23 ± 171.9	0.06	90.48 ± 26.9	<0.01
Retic,Percentage%	1.11 ± 66.42	1.183 ± 0.49	0.596	0.408 ± 0.26	<0.01
Retic. Count /μl	53702 ± 30920	44800 ± 19785	0.248	11728 ± 8614	<0.01

✓ نتائج مقارنة المشعرات بين مجموعة فقر الدم المختلط ومجموعة فقر الدم بعوز الحديد

تم إجراء اختبار T-test لمقارنة المتوسطات بين مجموعة فقر الدم المختلط ومجموعة فقر الدم بعوز الحديد. وجدنا فروقات إحصائية هامة بين المجموعتين بالنسبة للمتغيرات RBC, Hb, HCT, PLT, وتعداد المعتدلات وتعداد الشبكيات ونسبتها حيث كانت متوسطات هذه المشعرات في مجموعة فقر الدم المختلط أخفض من قيمها في مجموعة عوز الحديد. وفروقات هامة بالنسبة للبيليروبين غير المباشر وLDH التي كانت متوسطاتها أعلى لدى مجموعة فقر الدم المختلط. بالمقابل لم نجد فروقات ذات أهمية إحصائية بالنسبة لـ MCV, RDW, MCH, MCHC, Ferritin. يوضح الجدول 4 متوسطات المشعرات بين المجموعتين.

نتائج المقارنة بين مجموعة فقر الدم المختلط وفقر الدم بعوز فيتامين B12

تم إجراء اختبار T-test لمقارنة المتوسطات بين مجموعة فقر الدم المختلط ومجموعة فقر الدم بعوز فيتامين B12 حيث وجدت فروقات ذات دلالة إحصائية هامة بين المجموعتين بالنسبة للمتغيرات Hb, HCT, MCV, MCH التي كانت أقل لدى مرضى فقر الدم المختلط بالإضافة إلى RBC, PLT, Neutrophils التي كانت أعلى من مجموعة عوز فيتامين B12 المفرد.

الجدول 4 فروقات المتوسطات واختبار ستيودنت بين مرضى فقر الدم المختلط ومرضى فقر الدم بعوز الحديد وفقر الدم بعوز فيتامين B12

Group/Indices	Combined Anemia	IDA		Vit.B12 Deficiency	
		Mean	P Value	Mean	P Value
RBC 10 ⁶ /μl	3.46 ± 0.5	4.01 ± 0.48	< 0.01	2.73 ± 0.492	< 0.01
HB g/dl	8.14 ± 1.28	9.39 ± 1.32	< 0.01	9.36 ± 1.84	0.01
HCT %	25.16 ± 3.73	28.96 ± 3.58	< 0.01	28.41 ± 5.25	0.015
MCV fl	73.22 ± 9.61	72.35 ± 4.27	0.637	104.84 ± 6.46	< 0.01
MCH pg	23.67 ± 3.7	23.38 ± 2.08	0.724	33.49 ± 2.26	< 0.01
MCHC pg/ml	32.31 ± 1.93	32.29 ± 1.63	0.958	33.43 ± 2.94	0.119
RDW cv %	17.84 ± 2.2	17.35 ± 2.56	0.44	16.37 ± 2.12	0.98
PLT 10 ³ /μl	277.24 ± 129.93	389.29 ± 137.8	< 0.01	168.52 ± 76.27	< 0.01
Neutrophils /μl	3792.8 ± 1864.5	4660.8 ± 1462	0.047	2676.4 ± 1385	0.014
LDH IU/L	879.08 ± 396.29	331.08 ± 87.66	< 0.01	1070.32 ± 425	0.152
Indirect Bil mg/dl	1.19 ± 0.533	0.734 ± 0.242	< 0.01	1.35 ± 0.547	0.288
Ferritin ng/ml	3.23 ± 7.35	7.7 ± 3.47	0.695	43.87 ± 24.82	< 0.01
Vit.B12 pg/ml	108.08 ± 39.18	438.23 ± 171.9	< 0.01	90.48 ± 26.9	0.07
Retic, Percentage%	0.48 ± 0.43	1.183 ± 0.49	< 0.01	0.408 ± 0.26	0.137
Retic. Count /μl	17497.2 ± 17012	44800 ± 19785	< 0.01	11728 ± 8614	0.44

حساب المساحة تحت المنحني AUC والقيمة الحدية Cut off للمشعرات المدروسة والتي تسمح بتشخيص حالة

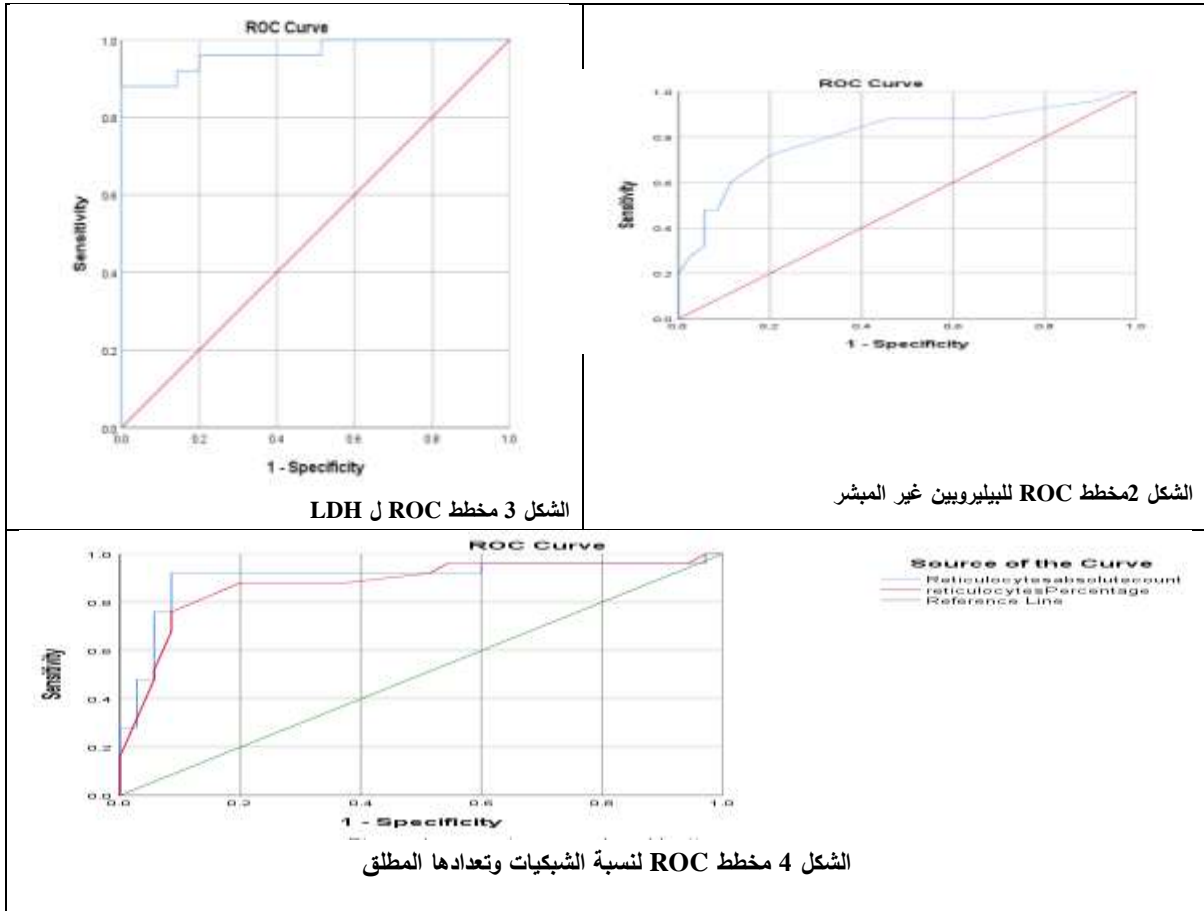
ترافق فقر الدم بعوز الحديد مع فقر الدم بعوز فيتامين B12

تم إجراء منحنى الخصائص التشغيلية للمتلقى ROC وتحديد القيمة المثلى Cut-off الحدية لكل من LDH و نسبة الشبكيات وتعدادها المطلق والبيروبيبين غير المباشر والحساسية SENSITIVITY والنوعية SPECIFICITY والمساحة تحت المنحني AUC بالإضافة إلى مشعر Youden لتحديد المشعر الأكثر موثوقية.

الجدول 5 نتائج منحنى ROC بين IDA وفقر الدم المختلط

Parameter	AUC	Cut off	SPECIFICITY	SENSITIVITY	Youden
LDH	0.96	> 511 IU/L	94	90	%84
Indirect Bil	0.805	> 0.85 mg/dl	80	72	%50
Reticulocytes%	0.87	< 0.75%	80	88	%68
Retic.Count	0.902	< 27750/μl	98	92	%90

✓ كما هو موضح في (الجدول 5) يمتلك اختبار LDH قيمة مساحة تحت المنحني AUC=0.96 وبلغت القيمة الحدية المثلى ل LDH لتمييز فقر الدم المختلط عن فقر الدم بعوز الحديد حسب الجدول 511 IU/L ، وهي ذات حساسية قدرها 90% ونوعية 94%. بالمثل، فإن كل من نسبة الشبكيات وتعدادها يمتلكان قيم للمساحة تحت المنحني AUC (0.87، 0.902 على التوالي) ، أما القيمة الحدية المثلى لتعداد الشبكيات حسب الجدول 27750/μl < وهي ذات حساسية 92% ونوعية 98%. وبالنسبة للبيروبيبين غير المباشر فإن القيمة الحدية التي يشير إليها الاختبار هي > 0.85 وتملك حساسية 72% ونوعية 80%. ويجمع المشعرات الثلاثة سوية (LDH, Indirect Bilirubin , Reticulocytes Absolute Count) نحصل على حساسية 100% ونوعية 99% لتمييز فقر الدم المختلط بعوز الحديد وفيتامين B12 عن فقر الدم المعزول بعوز الحديد.



المناقشة:

في مجموعة فقر الدم المختلط سيطر صغر حجم الكريات الحمر على الصورة المخبرية حيث أن وجود عوز الحديد يؤدي إلى إنتاج كريات حمر صغيرة الحجم بسبب خضوعها لانقسام اضافي خارج خلوي من أجل الوصول إلى محتوى هيموغلوبيني كافي لإيقاف الانقسامات. [16] وتمت ترجمة ذلك إلى ارتفاع إضافي في معامل عرض توزع الكريات الحمر في مجموعة فقر الدم المختلط وإلى ظهور جمهرتين من الكريات الحمر في فحص فلم الدم المحيطي. وجدت دراستنا أن متوسط MCV لدى مرضى فقر الدم العرطل هو 104.8 فمتولتر والذي كان أقل من بعض الدراسات العالمية [14] وربما يعود ذلك لعدة اسباب منها أولاً أننا قمنا باستبعاد الكثير من الحالات التي تؤثر على حجم الكرية الوسطي وتسبب ارتفاع إضافي ل MCV . كما أن شدة وزمن تطور العوز تلعب دوراً في ذلك.

كان التغير الشكلي الأبرز للكريات الحمر في مجموعة عوز الحديد هو التدرج من الكريات الحمر البيضوية صغيرة الحجم إلى الكريات الإهليلجية وصولاً إلى الكريات القلمية في بعض الحالات بالإضافة إلى وجود كريات هدفية بشكل متفرق بينما كان المظهر الأبرز في مجموعة عوز فيتامين B12 هو الكريات الكبيرة البيضوية Macro-Ovalocytes و كان اجتماع جمهرتين من الكريات الحمر صغيرة الحجم ناقصة الصباغ مع كريات أهليلجية مع الكريات الكبيرة البيضوية هو المظهر المميز ل 76% من حالات فقر الدم المختلط. لذلك فإن فحص فلم الدم المحيطي بشكل وسيلة مهمة للتوجه للتشخيص ولكن يجب الانتباه إلى وجود الكريات الكبيرة في أمراض أخرى عديدة ولكن في الغالب هنا يكون الشحوب المركزي غائباً وتكون بشكل دائري أكثر منه بيضوي في الأسباب الأخرى المسببة

لكبر الحجم غير فقر الدم العرطل. كان متوسط الأعمار متقاربا بين مجموعة الشواهد ومجموعة عوز الحديد وكان أعلى لدى فقر الدم المختلط ويعود ذلك إلى شيوع سوء امتصاص الكوبالامين لدى كبار السن والوقت الذي تحتاجه مخازن الكوبالامين للنضوب ولم يكن هنالك ارتباط بين العمر ومستوى الخضاب في مجموعة فقر الدم المختلط. بينما كان عدد العينات بين الجنسين متقاربا إلا في مجموعة عوز الحديد كان أعلى بشكل واضح يعود ذلك إلى نزف الدورة الطمثية بشكل أساسي. [15]

قيم لاكتات دي هيدروجيناز LDH أعلى بشكل واضح لدى مجموعتي عوز فيتامين B12 المفرد ومجموعة فقر الدم المختلط بسبب انحلال الكريات الحمر داخل النقي نتيجة تكون الحمر غير الفعال ولكنه كان أقل من قيمه في بعض الدراسات [16] يعود السبب غالبا إلى حدوث انحلال إضافي خارج النقي حيث مع ارتفاع قيم MCV بشكل كبير ومع زيادة تشوه شكل الكريات واحتجازها في الفراغات الضيقة في الكبد والطحال تتم بلعمتها من قبل الخلايا البالعة [17] كما أن متوسط الخضاب في دراستنا أعلى من تلك الدراسات التي وجد فيها ارتباط سلبي بين مستوى الخضاب وقيمة LDH المصل [18] ولا يتوافق ذلك بارتفاع نسبة شبكيات بسبب خلل الانتاج في النقي ويشكل ذلك عنصر مميز مهم لتفريق فقر الدم بعوز الحديد عن فقر الدم المختلط بعوز الكوبالامين.

ظهر بشكل واضح تأثير عوز فيتامين B12 على تعداد الخلايا الدموية سواء في مجموعة عوز B12 المفرد أو المختلط بعوز الحديد. تعداد الكريات الحمر كان الأقل لدى مجموعة العوز المفرد للكوبالامين نتيجة انحلال الكريات الحمر داخل النقي بسبب اضطراب اصطناع DNA. في مجموعة عوز فيتامين B12 المفرد فقر دم معزول لدى 12 مريض أي 48%. الموت الخلوي المبرمج لطلائع الكريات الحمر بسبب اضطراب النضج يؤدي إلى قلة الكريات المتحررة إلى الدوران ويتجلى ذلك بانخفاض تعداد الشبكيات لدى مرضى فقر الدم بعوز فيتامين B12 ومرضى فقر الدم المختلط كما في دراسة ل Balci وآخرين [19] على مشعرات الشبكيات عند الأطفال.

رغم أن متوسط تعداد الصفيحات قريب من الطبيعي 164 ألف وهو أقل بشكل واضح من متوسط الشواهد إلا أن نقص الصفيحات ظهر لدى 13 مريض من مجموعة عوز B12 المفرد 52%. في دراسة في باكستان 2018 هدفت لتقييم الموجودات السريرية والمخبرية لدى مرضى فقر الدم العرطل كان لدى 62% من المرضى قلة معتدلات ولدى 82% قلة صفيحات. [20] حيث يحدث نقص الصفيحات في فقر الدم العرطل باليتين: نقص الانتاج (يكون عدد النواءات منخفضة) وتكون الصفيحات غير الفعال (عدد النواءات طبيعي أو مرتفع). [21] متوسط تعداد الصفيحات لدى مجموعة عوز الحديد 386 ألف وهو أعلى بشكل واضح من المتوسط لدى الشواهد الذي بلغ 272 ألف ورغم أن هذه القيمة ضمن الطبيعي إلا أنه قد شوهد فرط صفيحات (أكثر من 450 ألف/مكرو لتر) لدى 13 مريض من أصل 35 أي ما يشكل 37% وذلك ورد في العديد من الدراسات ففي إحداها كان متوسط الصفيحات لدى مرضى فقر الدم بعوز الحديد ضعفي الأشخاص الطبيعيين [22] فيما تبقى الأسباب غير محددة بشكل قاطع حيث تعزو بعض الدراسات السبب إلى التشابه في البنية بين الإريثروبيوتين والترومبوبيوتين [23] بينما قامت دراسات أخرى بمعارضة ذلك.

التداخل بين التأثير الراجع للصفيحات لعوز الحديد والتأثير الخافض لعوز فيتامين B12 تجلى بمتوسط تعداد صفيحات طبيعي لدى مجموعة فقر الدم المختلط حيث كان هنالك فرط صفيحات لدى 16% من المرضى ونقص صفيحات لدى 20% من المرضى وتعارض ذلك مع دراسة في تركيا [24] التي وجدت أن تعداد الصفيحات لدى فقر الدم المختلط أعلى من عوز الحديد عن طريقه والتي لم تجد تفسير لذلك واقترحت استخدام نسبة PLT/MCH للتمييز بين

وجود عوز B12 مرافق لعوز الحديد وكان حسب دراستنا استخدام هذا المشعر غير ذي جدوى. بينما في دراسة لاسما الشيخ 2014 [25] وجدت أنه يميز بين عوز فيتامين B12 الصرف وفقر الدم المختلط بعوز حديد وقد توافقت قيم هذا المشعر مع دراستنا ولكن هنالك مشعرات أكثر أهمية للتفريق بين المجموعتين أهمها MCV الذي ينخفض بشكل واضح لدى جميع مرضى المختلط عن مرضى العوز المفرد للفيتامين B12.

عند استقصاء العادات الغذائية لدى المرضى لتقييم مقدار استهلاك الأغذية ذات المصدر الحيواني كانت غالبية المرضى في مجموعتي فقر الدم بعوز فيتامين B12 المفرد ومجموعة فقر الدم المختلط موزعين بين عدم استهلاك اللحوم الحمراء نهائياً أو نادراً (أقل من مرة شهرياً) وحتى في بعض الحالات قلة استهلاك الدواجن ومشتقات الحليب نتيجة الظروف الاقتصادية والاجتماعية السيئة ورغم قلة حجم عينة الدراسة إلا أنها احتوت على مرضى من الشباب دون وجود آلية مفسرة لحدوث فقر الدم العرطل لديهم مما يقترح دور نقص الوادر الغذائي كعامل مهم لحدوث عوز فيتامين B12 في البلدان النامية ووقت النزاعات والحروب. حيث في الهند يشيع قلة استهلاك اللحوم الحمراء Lacto-Vegetarian في دراسة وجد لدى 70 مريض من اصل 700 فقر دم ثنائي الشكل Dimorphic نتيجة ترافق عوز الحديد مع فقر الدم العرطل. [26] وفي دراسة في الهند أيضاً شملت غير النباتيين كان لدى 103 مرضى من أصل عدد سكان 15000 ألف مستويات فيتامين B12 مصلية أقل من 160 بيكوغرام/مل و 58 من هؤلاء كان لديهم فقر دم ومنهم 20 لديهم عوز حديد مرافق ما أدى لظهور كبر حجم الكريات لدى 22 مريض فقط. [27] كما اشارت ستابلر وآخرون إلى انتشار فقر الدم العرطل في الشرق الاوسط كنتيجة لقلة استهلاك اللحوم. [28]

فرط نقصص المعتدلات من أكثر الموجودات المخبرية التي تم ربطها بفقر الدم العرطل ويعزى ذلك إلى ولكن هنالك خلاف كبير حول نسبة شيوعها حيث في دراسة 1 من 34 مريض لديهم اختبار تثبيط بالاوريديل إيجابي كان لديهم فرط نقصص معتدلات ووجدت أهمية كبيرة للاختلافات العرقية. [29] بينما في دراسات أخرى 91 بالمية لدى مرضى فقر الدم مع عوز كوبالامين. [30] بينما كان في دراستنا فرط نقصص معتدلات لدى 68% ويحدث بسبب خلل تصنيع ال DNA الذي يؤدي اضطراب تصنيع الدنا المشاهد في فقر الدم العرطل إلى زيادة تشكل خيوط الكروماتين في نوى المعتدلات نتيجة تراكم العوامل التي تتحكم في إنتاجها. [31] لوحظ فرط نقصص أيضاً لدى 3 بالمية من الشواهد و لدى 7 بالمية من مجموعة عوز الحديد بما يختلف مع بعض الدراسات التي وجدت النسبة لدى عوز الحديد 30 بالمية وربما يعود ذلك إلى عدم استبعادهم للأسباب المؤدية للنقصص كزيادة الحرارة والالتهاب وعسر تصنيع النقي [32] ويبقى معياراً خاضعاً للتقدير الشخصي والاختلافات في التقييم ولكن يمكن استخدامه لمسح الأشخاص الذين هم بحاجة للتقييم من أجل فقر الدم العرطل.

بالنسبة لتعداد الكريات البيض كان مقاربا بين مجموعة الشواهد ومجموعة عوز الحديد بينما كان تعداد المعتدلات أقل لدى مجموعة عوز فيتامين B12 مما يعكس حالة ال Leukopenia التي تشيع في فقر الدم العرطل كنتيجة لاضطراب اصطناع ال DNA. حيث كان في مجموعة عوز فيتامين B12 المعزول لدى 10 مرضى 40% قلة معتدلات أقل من 2000 في الميكرو لتر. كان في مجموعة الدراسة من مجموعة عوز ب 12 (3) ولدى المختلط (2) مريض يتناولون الميتفورمين مما يؤكد أهمية الميتفورمين كسبب لإحداث عوز فيتامين ب 12 في دراسة على 1111 مريض يتناولون الميتفورمين كان لدى 22.2% منهم عوز كوبالامين وتبين أن شدة العوز تتناسب مع الجرعة [33] وقد اقترحت عدة اليات لحدوث ذلك لعل أكثرها قبولا هو التداخل مع عملية ارتباط معقد كوبالامين- عامل داخلي مع الكوبيلين المعتمدة على الكالسيوم [34] يعتبر عوز الحديد في الداء الزلاقي شائعا بشكل كبير حيث

أنه التظاهر خارج الهضمي الأكثر تكراراً ويحدث نتيجة تخرب مخاطية العفج [35] ان وجود محتوى غذائي قليل اللحوم سوف يؤدي إلى نقص الوارد من الكوبالامين مما يسرع عملية نضوب المخازن في الحالات التي يوجد فيها اضطراب جزئي في امتصاص واستقلاب الكوبالامين (كالداء الزلاقي وتناول الميتفورمين). نتيجة اعتمادنا على انخفاض الفيريتين كمعيار لتحديد وجود فقر دم بعوز الحديد فإن عينة الدراسة لم تشتمل على فئة من مرضى فقر الدم المختلط الذين تكون لديهم مخازن حديد طبيعية أو حتى مرتفعة نتيجة عدم استعمال الحديد ويظهر عوز الحديد لدى هؤلاء المرضى بعد فترة من العلاج بالفيتامين B12 [36] كما أننا لم نتمكن من مقايسة مستويات حمض الفوليك ولكن بما أننا قمنا باستبعاد الأطفال والحوامل والمرضعات وبسبب نمط الغذاء الشائع في بلادنا المعتمد على استهلاك الخضار بشكل كبير فإن وجود عوز فولات ضمن مجموعة الدراسة غير مرجح كما أنه يسبب صورة مخبرية مشابهة لعوز الكوبالامين.

الاستنتاجات والتوصيات

كان صغر حجم الكريات هو المسيطر عند ترافق فقر الدم بعوز الحديد مع فقر الدم بعوز فيتامين B12 كما أن فقر الدم أكثر شدة لدى مجموعة فقر الدم المختلط وتجلي ذلك بانخفاض قيم الخضاب أكثر من مجموعة عوز الحديد أو عوز فيتامين B12 المفرد. على الرغم من صغر حجم عينة الدراسة إلا أنها احتوت نسبة مهمة من المرضى الشباب ذوي التغذية السيئة مما يؤكد أهمية نقص الوارد كسبب لفقر الدم بعوز فيتامين B12 مما يتطلب التوسع في دراسات مسحية لكشف انتشار العوز في ظل الظروف الاقتصادية السيئة. كان كل من LDH و تعداد الشبكيات و تركيز البيليروبين غير المباشر هي المشعرات الأكثر أهمية في كشف وجود عوز فيتامين B12 مرافق لعوز الحديد وبالتالي من الممكن استخدامها في التوجه للتشخيص أو حتى إعطاء المعالجة التجريبية.

References

- [1]G. A. Stevens *et al.*, “Global, regional, and national trends in haemoglobin concentration and prevalence of total and severe anaemia in children and pregnant and non-pregnant women for 1995-2011: A systematic analysis of population-representative data,” *Lancet Glob Health*, vol. 1, no. 1, pp. e16–e25, Sep. 2013, doi: 10.1016/S2214-109X(13)70001-9.
- [2]“Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005 : WHO global database on anaemia. / Edited by Bruno de Benoist, Erin McLean, Ines Egli and Mary Cogswell.” <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43894> (accessed Jun. 29, 2023).
- [3]K. Kaushansky, “Williams Hematology (9th Ed.),” *Faculty Bookshelf*, Jan. 2016, Accessed: Aug. 02, 2023. [Online]. Available: <https://hsrc.himmelfarb.gwu.edu/books/72>
- [4]P. Suominen, K. Punnonen, A. Rajamäki, and K. Irjala, “Serum Transferrin Receptor and Transferrin Receptor-Ferritin Index Identify Healthy Subjects With Subclinical Iron Deficits,” *Blood*, vol. 92, no. 8, pp. 2934–2939, Oct. 1998, doi: 10.1182/BLOOD.V92.8.2934.
- [5]L. H and S. K, “Symptomatology of anemia,” *Semin Oncol*, vol. 28, no. 2 Suppl 8, pp. 7–14, Apr. 2001, doi: 10.1016/S0093-7754(01)90206-4.

- [6]F. Bermejo and S. García-López, "A guide to diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in digestive diseases," *World J Gastroenterol*, vol. 15, no. 37, pp. 4638–4643, 2009, doi: 10.3748/WJG.15.4638.
- [7]N. Kumar, "Neurologic aspects of cobalamin (B12) deficiency," *Handb Clin Neurol*, vol. 120, pp. 915–926, 2014, doi: 10.1016/B978-0-7020-4087-0.00060-7.
- [8]S. Padhi *et al.*, "Cutaneous Hyperpigmentation in Megaloblastic Anemia: a Five Year Retrospective Review," *Mediterr J Hematol Infect Dis*, vol. 8, no. 1, 2016, doi: 10.4084/MJHID.2016.021.
- [9]"Iron Deficiency Anemia: Practice Essentials, Background, Pathophysiology." <https://emedicine.medscape.com/article/202333-overview> (accessed Jun. 30, 2023).
- [10]D. J. Harrington, "Investigation of Megaloblastic Anaemia: Cobalamin, Folate and Metabolite Status," *Dacie and Lewis Practical Haematology: Twelfth Edition*, pp. 187–213, 2017, doi: 10.1016/B978-0-7020-6696-2.00010-2.
- [11]"Essentials of Haematology 2nd Edition | booksmedicos." <https://booksmedicos.org/essentials-of-haematology-2nd-edition/> (accessed Jun. 30, 2023).
- [12]E. D. Hsi, "Hematopathology: A Volume in the Series: Foundations in Diagnostic Pathology," *Hematopathology: A Volume in the Series: Foundations in Diagnostic Pathology*, pp. 1–800, Dec. 2017, doi: 10.1016/C2015-0-06279-7.
- [13]R. Carmel, "Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II," *Am J Clin Nutr*, vol. 94, no. 1, Jul. 2011, doi: 10.3945/AJCN.111.013441.
- [14]N. Kaur, V. Nair, S. Sharma, P. Dudeja, and P. Puri, "A descriptive study of clinico-hematological profile of megaloblastic anemia in a tertiary care hospital," *Med J Armed Forces India*, vol. 74, no. 4, pp. 365–370, Oct. 2018, doi: 10.1016/J.MJAFI.2017.11.005.
- [15]M. G. Munro *et al.*, "The relationship between heavy menstrual bleeding, iron deficiency, and iron deficiency anemia," *Am J Obstet Gynecol*, vol. 229, no. 1, pp. 1–9, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.ajog.2023.01.017.
- [16]S. Chaudhari and S. Bindu, "Correlation of Lactate Dehydrogenase in Megaloblastic Anemia," *International Journal of Current Medical And Applied Sciences*, vol. 9, no. 1, pp. 28–32, 2015, Accessed: Aug. 11, 2023. [Online]. Available: www.ijcmaas.com
- [17]Q. Wu, J. Liu, X. Xu, B. Huang, D. Zheng, and J. Li, "Mechanism of megaloblastic anemia combined with hemolysis," *Bioengineered*, vol. 12, no. 1, p. 6703, 2021, doi: 10.1080/21655979.2021.1952366.
- [18]"المصل عند مرضى فقر الدم العرطل الخلايا (LDH) دراسة راجعة على لاكتات ديهروجيناز" Tishreen University Journal -Medical Sciences Series." <http://journal.tishreen.edu.sy/index.php/hlthscnc/article/view/8746> (accessed Aug. 11, 2023).
- [19]Y. I. Balci, F. O. Akpınar, A. Polat, U. Uzun, and A. Ergin, "Evaluation of reticulocyte parameters in iron deficiency, vitamin B12 deficiency and Mixed Anemia," *Clin Lab*, vol. 62, no. 3, pp. 343–347, 2016, doi: 10.7754/Clin.Lab.2015.150616.
- [20]M. I. Khan, A. H. Munir, and S. H. Fatima, "Pattern of clinical and hematological profile in patients diagnosed as megaloblastic anemia in a tertiary care centre," *The Professional Medical Journal*, vol. 26, no. 06, Jun. 2019, doi: 10.29309/TPMJ/2019.26.06.3600.

- [21]K. Saran, K. Vidya, K. Seema, A. Prasad, and J. Prakash, "Study of platelet indices and their role in evaluation of thrombocytopenia," *J Family Med Prim Care*, vol. 11, no. 10, p. 6236, 2022, doi: 10.4103/JFMPC.JFMPC_460_22.
- [22]K. Dan, "Thrombocytosis in iron deficiency anemia," *Intern Med*, vol. 44, no. 10, pp. 1025–1026, Nov. 2005, doi: 10.2169/INTERNALMEDICINE.44.1025.
- [23]E. Bilic and E. Bilic, "Amino acid sequence homology of thrombopoietin and erythropoietin may explain thrombocytosis in children with iron deficiency anemia," *J Pediatr Hematol Oncol*, vol. 25, no. 8, pp. 675–676, Aug. 2003, doi: 10.1097/00043426-200308000-00023.
- [24]C. Beyan, K. Kaptan, E. Beyan, and M. Turan, "The platelet count/mean corpuscular hemoglobin ratio distinguishes combined iron and vitamin B12 deficiency from uncomplicated iron deficiency," *Int J Hematol*, vol. 81, no. 4, pp. 301–303, 2005, doi: 10.1532/IJH97.E0311.
- [25]"Importance Of PLT/MCH Ratio to Differentiate Isolated B12 Deficiency From B12 Deficiency Combined with Other Causes | Annals of Jinnah Sindh Medical University." <http://www.ajsmu.com/index.php/AJSMU/article/view/98> (accessed Aug. 13, 2023).
- [26]S. Barve, D. Patel, S. K K, and A. Jawarkar, "ROLE OF RBC COUNT AND RBC INDICES IN DIAGNOSING AND DIFFERENTIATING ANEMIAS CAUSED DUE TO VARIOUS CLINICAL SITUATIONS IN A TERTIARY CARE HOSPITAL IN VADODARA, GUJARAT," *Journal of Evidence Based Medicine and Healthcare*, vol. 2, no. 45, pp. 8146–8148, Nov. 2015, doi: 10.18410/JEBMH/2015/1095.
- [27]R. Masalha, I. Rudoy, I. Volkov, N. Yusuf, I. Wirguin, and Y. O. Herishanu, "Symptomatic dietary vitamin B12 deficiency in a nonvegetarian population," *American Journal of Medicine*, vol. 112, no. 5, pp. 413–416, Apr. 2002, doi: 10.1016/S0002-9343(02)01031-8.
- [28]S. P. Stabler and R. H. Allen, "Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem," *Annu Rev Nutr*, vol. 24, pp. 299–326, 2004, doi: 10.1146/ANNUREV.NUTR.24.012003.132440.
- [29]R. Carmel, R. Green, D. W. Jacobsen, and G. D. Qian, "Neutrophil nuclear segmentation in mild cobalamin deficiency: relation to metabolic tests of cobalamin status and observations on ethnic differences in neutrophil segmentation," *Am J Clin Pathol*, vol. 106, no. 1, pp. 57–63, 1996, doi: 10.1093/AJCP/106.1.57.
- [30]W. G. Thompson *et al.*, "Hypersegmented neutrophils and vitamin B12 deficiency. Hypersegmentation in B12 deficiency," *Acta Haematol*, vol. 81, no. 4, pp. 186–191, 1989, doi: 10.1159/000205559.
- [31]"Journal of Cellular Biochemistry | Wiley Online Library." [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-4644\(19990401\)73:1%3C1::AID-JCB1%3E3.0.CO;2-S](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-4644(19990401)73:1%3C1::AID-JCB1%3E3.0.CO;2-S) (accessed Aug. 13, 2023).
- [32]A. Ali, "Hypersegmented neutrophils in peripheral smear –An etiological analysis," *Indian Journal of Pathology and Oncology*, Jan. 2022, Accessed: Aug. 11, 2023. [Online]. Available: https://www.academia.edu/77943305/Hypersegmented_neutrophils_in_peripheral_smear_An_etiological_analysis
- [33]J. Kim, C. W. Ahn, S. Fang, H. S. Lee, and J. S. Park, "Association between metformin dose and vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes," *Medicine*, vol. 98, no. 46, p. e17918, Nov. 2019, doi: 10.1097/MD.00000000000017918.

- [34]M. Infante, M. Leoni, M. Caprio, and A. Fabbri, “Long-term metformin therapy and vitamin B12 deficiency: An association to bear in mind,” *World J Diabetes*, vol. 12, no. 7, p. 916, Jul. 2021, doi: 10.4239/WJD.V12.I7.916.
- [35]V. Talarico, L. Giancotti, G. A. Mazza, R. Miniero, and M. Bertini, “Iron Deficiency Anemia in Celiac Disease,” *Nutrients*, vol. 13, no. 5, May 2021, doi: 10.3390/NU13051695.
- [36]S. Solmaz, H. Özdoğu, and C. Boğa, “Cobalamin deficiency can mask depleted body iron reserves,” *Indian J Hematol Blood Transfus*, vol. 31, no. 2, pp. 255–258, Jun. 2015, doi: 10.1007/S12288-014-0417-X.