بسم الله الرحمن الرحیم

خون شناسی پزشکی

H EM A TOLOGY

استاد مربوطه : دکتر سید حسن منتظم

دانشگاه آزاد اسلامی تبریز

دانشکده پزشکی

دانشجویان رشته علوم آزمایشگاهی

ورودی بهمن ۸۸

بخش اول

خون شناسی آزمایشگاهی

(روشهای تجزیه خون)

فصل اول : کلیات خون شناسی

مقدمه :

خون شناسی[1]، خصوصیات اجزای سازنده خون نظیر تعداد، ساختار، و عملکرد گلبولهای قرمز (یا اریتروسیت ها)، گلبولهای سفید (لکوسیتها)، پلاکت‌ها (ترمبوسیت ها)، و مواد شیمیایی موجود در پلاسما یا سرم را که در ارتباط با سلولهای خونی هستند، مورد بررسی قرار می‌دهد.

روشهای تهیه نمونه : برای انجام آزمایشات مختلف خون شناسی می توان از نمونه های زیر استفاده کرد :

۱) **خون مویرگی :**

در خون مویرگی، دقت بررسی ها کمتر از خون سیاهرگی است، و در ضمن به دلیل آلودگی با مایع بین سلولی در زمان نمونه برداری، مقادیر سلولهای خونی و هموگلوبین و هماتوکریت کمتر از خون سیاهرگی می‌باشد. در مجموع ترکیب ساختاری خون مویرگی و سیاهرگی شبیه یکدیگر هستند.

۲) **خون سیاهرگی :**

قبل از نمونه برداری بایستی ماده ضد انعقاد مناسب با توجه به نوع آزمایش مورد نظر، انتخاب شود. بر این اساس میتوان از مواد ضد انعقاد زیر استفاده نمود :

الف- EDTA (اتیلن دی آمین تترااستیک اسید) :

با خارج کردن کلسیم از محیط عمل، مانع انعقاد می‌شود. املاح سدیم و پتاسیم آن، به عنوان ماده ضد انعقاد به کار می‌رود. برای بررسی هماتوکریت از محلول ۱۰ درصد آن به مقدار ۵۰ میکرولیتر در شیشه مخصوص شمارش سلولی ریخته می‌شود که پس از تبخیر، از انعقاد ۵ میلی لیتر خون جلوگیری خواهد کرد.

مقدار بیشتر آن سبب کاهش کاذب هماتوکریت، کاهش حجم گلبول قرمز (MCV) افزایش MCHC و افزایش کاذب تعداد پلاکتها می‌شود. برای انجام تستهای انعقادی ماده مناسبی نمی‌باشد. غلظت مناسب آن ۰/۲۵ ± ۱/۵ میلی گرم برای هر میلی لیتر خون در نظر گرفته می‌شود. نمک دی پتاسیم آن مناسبتر از نمک دی سدیم آن است، چون محلولتر می‌باشد.

[1] - Hematology

ب- سیترات تری سدیم $(Na_3C_6H_5O_7.2H_2O)$:

برای آزمایش ESR یا سدیمانتاسیون، انتخابی است، و از محلول ۳۲ گرم در لیتر آن به مقدار یک حجم در برابر چهار حجم خون استفاده می شود. برای انجام آزمایش PT و PTT نیز یک حجم ضد انعقاد در برابر ۹ حجم خون لازم است.

ج- هپارین :

ضد انعقاد طبیعی خون است. به مقدار ۲/۵ ± ۱۵ واحد بین المللی (IU) برای هر میلی لیتر خون استفاده می‌شود. اندازه گلبولهای قرمز را تغییر نمی دهد. برای انجام تست شکنندگی گلبول قرمز انتخابی است. مکانیسم اثر آن خنثی کردن ترومبین به وسیلهٔ ممانعت از واکنش بین چند فاکتور انعقادی، در حضور کوفاکتور پلاسمایی آنتی ترومبین III می‌باشد. استفاده از هپارین سبب افزایش کاذب سدیمانتاسیون می‌شود.

د- فلوئورسدیم :

با مهار کردن آنزیم انولاز، از واکنشهای گلیکولیز جلوگیری می‌کند، لذا برای اندازه گیری قند خون استفاده می شود. غلظت مناسب آن، یک میلی گرم برای هر میلی لیتر خون است.

هـ- اگزالات آمونیوم و پتاسیم یا محلول wintrobe :

با خارج کردن یون کلسیم مانع انعقاد می‌شود. به دلیل ایجاد تغییرات بر روی شکل گلبولهای قرمز و سفید، ارزش چندانی ندارد. برای انجام آزمایش گروه خون و Rh توصیه می‌شود. برای تهیه، اگزالات پتاسیم ۱/۸ گرم و اگزالات آمونیوم ۲٪ و آب مقطر ۱۰۰ میلی‌لیتر برداشته، سپس دو میلی‌لیتر در هر شیشه ریخته و خشک می‌کنند تا از انعقاد ۲ میلی‌لیتر خون جلوگیری نماید.

لازم به ذکر است که در موارد افزایش هماتوکریت، مقدار کمتری از مواد ضد انعقاد مورد نیاز خواهد بود(در صورت کاهش هماتوکریت مقدار بیشتری از مواد ضد انعقاد باید استفاده شود).

نگهداری نمونه های خون قبل از انجام آزمایشات :

در اثر نگهداری در ۲۵-۱۸ درجه سانتی گراد، گلبولهای قرمز متورم شده، MCV افزایش، شکنندگی گلبولهای قرمز[1] و زمان پروترومبین مختصری افزایش ، میزان سدیمانتاسیون کاهش، و تعداد گلبولهای سفید و پلاکتها نیز کاهش نشان می‌دهند.

تغییرات ذکر شده در ۴ درجه سانتی گراد بسیار کمتر است. زمان مناسب برای شمارش پلاکت و گلبولهای سفید تا ۲ ساعت پس از نمونه گیری می‌باشد. البته باید توجه داشت که قبل از انجام آزمایشات لازم است دمای خون را به درجه حرارت آزمایشگاه رسانده و نمونه حداقل ۲ دقیقه با حرکت دورانی مخلوط شود.

[1] - Osmotic Fragility

فصل دوم : بررسی گلبولهای قرمز

برای گلبولهای قرمز ۳ مقدار اصلی مورد اندازه گیری قرار می‌گیرد :

۱) حجم گلبولهای قرمز فشرده شده[1] یا هماتوکریت

۲) مقدار هموگلوبین (Hb)

۳) تعدا گلبولهای قرمز در واحد حجم یا RBC. همچنین سه اندیس MCV ، MCH و MCHC، برای گلبولهای قرمز، تعیین می شود.

در حال حاضر روشهای دستگاهی برای بررسی بیشتر به کار می‌رود.

۱) هماتوکریت[2] یا حجم گلبولهای قرمز فشرده شده :

هماتوکریت (Hct)، نسبت حجم گلبولهای قرمز به حجم کل نمونه خون است و به صورت درصد بیان می‌شود. واحد آن (L/L) می‌باشد. هماتوکریت یا حجم گلبولهای قرمز متراکم به روش دستی ماکرو و میکرو و یا به طور غیر مستقیم در دستگاههای اتوماتیک از حاصلضرب میانگین حجم سلولی در شمارش گلبولهای قرمز، محاسبه می گردد(Hct= RBC × MCV).

در این روش لوله موئینه حاوی خون با ضد انعقاد هپارین در دور ۱۰ تا ۱۲ هزار سانتریفوژ می‌شود. زمان لازم ۵ دقیقه، و اگر هماتوکریت بیش از ۵۰ باشد، بایستی سانتریفوژ کردن تا ۱۰ دقیقه ادامه یابد.

منابع خطا در این روش عبارتست از :

۱) وجود پلاسما در لابلای گلبولهای قرمز ۲) وضعیت بدن، فعالیت عضلانی و بستن تورنیکه ۳) خطاهای تکنیکی مثل اضافه بودن مقدار EDTA

پس از سانتریفوژ کردن، برای تعیین هماتوکریت، لایه قرمز متمایل به خاکستری در بین گلبولهای قرمز و پلاسما یعنی بافی کوت تشکیل می‌شود که شامل پلاکت‌ها و لکوسیت ها می‌باشد.

عوامل تغییر دهنده رنگ پلاسما :

۱) رنگ نارنجی یا سبز ← افزایش بیلی روبین ۲) صورتی یا قرمز ← هموگلوبینمی

۳) کدورت ← مصرف غذای پرچربی و یا هیپرگلوبولینمی

محدوده طبیعی و تفسیر نتایج :

در آقایان ۴۸-۴۲، و در خانمها ۴۵-۳۶ درصد می‌باشد. در زمان بارداری به علت افزایش آب بدن، هماتوکریت کاهش پیدا می‌کند. کاهش آن در انواع مختلف کم خونی و افزایش آن در پلی سیتمی و دهیدراتاسیون (از دست دادن آب بدن) مثل شوک و سوختگی دیده می‌شود.

[1] - Volume of packed red cells (VPRC).
[2] - Hematocrit or packed cell volume

۲) هموگلوبین :

هموگلوبین، ماده اصلی تشکیل دهنده گلبولهای قرمز است. وظیفه اصلی آن انتقال اکسیژن و Co_2 بین ریه ها و بافتها می‌باشد. هر گرم هموگلوبین در صورت اشباع کامل، ۱/۳۴ میلی‌لیتر اکسیژن را حمل می‌کند. پس گلبولهای قرمز یک فرد بزرگسال که حدود ۶۰۰ گرم هموگلوبین دارد، قادر به حمل ۸۰۰ میلی لیتر اکسیژن خواهد بود. حدود ۹۸-۹۰ درصد هموگلوبین در ریه ها از اکسیژن اشباع شده و برای اکسیژن رسانی، ۷۰ درصد اکسیژن خود را آزاد می‌کند.

محدوده طبیعی هموگلوبین :

g/dl ۱۸-۱۴ : Male (مردان)

g/dl ۱۶-۱۲ : Female (زنان)

g/dl ۲۰-۱۴ : Infant (نوزادان)

یک مولکول هموگلوبین از دو جفت زنجیره پلی پپتیدی گلوبین و چهار گروه پروستتیک هم، که هر کدام دارای یک اتم آهن ۲ ظرفیتی (Ferrous) می‌باشند، تشکیل یافته است.

هموگلوبین احیا شده، هموگلوبینی است که آهن آن با اکسیژن همراه نیست. اگر هر یک از گروههای هم (Heme) با یک ملکول اکسیژن همراه شوند، هموگلوبین را- اکسی هموگلوبین- می نامند که در آن آهن دو ظرفیتی است. اگر آهن به حالت سه ظرفیتی (Ferric) اکسیده شود، متهموگلوبین یا همی گلوبین (Hi) تشکیل شده و توان حمل اکسیژن یا دی اکسیدکربن را از دست می‌دهد.

اندازه گیری هموگلوبین برای تشخیص کم خونی لازم است.

روشهای اندازه گیری هموگلوبین :

۱) **روش هموگلوبین سیانید (HiCN) :**

هموگلوبین با استفاده از محلول درابکین اندازه‌گیری می‌شود که ترکیب اصلی آن فری سیانید پتاسیم $[K_3Fe(CN)_6]$ و سیانید پتاسیم (KCN) می‌باشد. فری سیانید پتاسیم، هموگلوبین را به همی گلوبین (متهموگلوبین یا Hi) اکسیده می‌کند و با یونهای سیانید، همی گلوبین سیانید را تشکیل می دهد که در ۵۴۰ نانومتر دارای حداکثر جذب نوری است.

روش HiCN ، اکثر مشتقات هموگلوبین یعنی Hb، Hbo_2 ، Hi، $HbCo_2$ را اندازه گیری می‌کند به جز (سولفو هموگلوبین یا SHb).

۲) **روش تالکویست[1] :**

با استفاده از کاغذهای مخصوص که در اثر مقدار مشخص هموگلوبین، رنگ معینی را می‌یابند، انجام می‌گیرد که به دلیل خطای زیاد فقط در موارد اورژانس در آزمایشگاه های صحرایی بکار می رود.

[1] - Talkwist

۳) روش سالی[1] :

هموگلوبین در حضور اسید کلریدریک ، به کلریدرات هماتین تبدیل می‌شود، سپس رنگ حاصله را رقیق می‌کنند تا همرنگ استاندارد قهوه ای شده و مقدار هموگلوبین از روی درجات Sahli خوانده می‌شود.

مشتقات هموگلوبین

۱) همی گلوبین یا متهموگلوبین یا Hi :

آهن دو ظرفیتی تحت تاثیر عوامل اکسید کننده به آهن سه ظرفیتی یا فریک تبدیل شده و توان ترکیب با اکسیژن و دی اکسید کربن را از دست می دهد. ۱/۵ درصد مقدار هموگلوبین در افراد طبیعی را، همی گلوبین تشکیل می‌دهد. سیانوز درغلظت ۱/۵ گرم در دسی‌لیتر همی گلوبین، یعنی حدود ۱۰٪ کل هموگلوبین مشخص می‌شود.

مقدار اندک Hi تشکیل شده در بدن توسط سیستم متموگلوبین ردکتاز وابسته به NADH (NADH- سیتوکرم b_5 ردوکتاز) احیا می گردد. همچنین اسید اسکوربیک، گلوتاتیون احیا شده و NADPH – متهموگلوبین ردوکتاز، به عنوان سیستم های ذخیره ای عمل می‌نمایند.

متهموگلوبینمی (افزایش Hi) ناشی از افزایش تولید Hi یا کاهش فعالیت NADH – سیتوکرم b_5 ردوکتاز می‌باشد، و ارثی یا اکتسابی است. نوع ارثی ناشی از کمبود NADH- سیتوکرم b_5 ردوکتاز، و یا ساختار غیر طبیعی هموگلوبین است. انواع هموگلوبین های غیرطبیعی که سیانوز ایجاد می‌کنند، HbM نامیده می‌شوند. در اغلب اشکال HbM، تیروزین جایگزین هیستیدین در حفره هِم زنجیره پروگسیمال یا دیستال گلوبین، شده است.

در نوع اکتسابی، تماس با داروها و مواد شیمیایی نظیر نیتریت ها، نیترات ها، کلراتها و کینونها، سبب افزایش تشکیل همی گلوبین می‌شود. تجویز عوامل احیا کننده مثل اسید اسکوربیک، گلوتاتیون و سیستئین و آبی متیلن در موارد کمبود ارثی NADH- سیتوکرم b_5 ردوکتاز موثر است. در موارد اکتسابی، تجویز آبی متیلن مفید می‌باشد. ترکیب هموگلوبین با سیانید و سولفید سبب ایجاد سیانومتهموگلوبین و سولفوهموگلوبین و در موارد شدید، با تغییر ماهیت هموگلوبین سبب تشکیل هنزبادی[2] در گلبولهای قرمز خواهد شد.

۲- سولفوهموگلوبین (SHb) :

در جریان همولیز اکسیداتیو هموگلوبین، در اثر ترکیباتی مثل سولفونامید و فناستین و باکتریمی ناشی از کلستریدیوم پرفرنجنس، سولفوهموگلوبین تولید می‌شود. مقدار طبیعی آن در بدن کمتر از یک درصد است. سولفور به درون حلقه های هم وارد شده و ایجاد هموکروم سبزرنگ کرده و اکسیداسیون مجدد آن سبب دناتوراسیون و رسوب هموگلوبین به صورت اجسام هنز می‌شود. این ترکیب قابلیت انتقال اکسیژن را ندارد ولی می تواند با منوکسیدکربن، کربوکسی سولفوهموگلوبین تشکیل دهد.

افزایش مقدار سولفوهموگلوبین در خون، رنگ ارغوانی روشن ایجاد می کند.

[1] - Sahli
[2] - Heinz body

۳- کربوکسی هموگلوبین (HbCo)

منواکسید کربن در جریان تجزیه هم به بیلی روبین تولید می‌شود. میل ترکیبی هموگلوبین به منواکسیدکربن، ۲۱۰ برابر اکسیژن می‌باشد. HbCo قادر به اتصال با اکسیژن نبوده و رنگ آن آلبالویی روشن است. بررسی منوکسیدکربن خون با استفاده از روش کاتایاماو معرف سولفید آمونیوم انجام می‌شود در آلودگی هوا و استعمال دخانیات مقدار آن افزایش می‌یابد.

رنگ Hbo_2 قرمز روشن، HbCo آلبالویی روشن، متهموگلوبین(MetHb) قهوه ای شکلاتی، سولفوهموگلوبین (SHb) ارغوانی روشن است.

۳) شمارش گلبولهای قرمز :

شمارش گلبولهای قرمز، سفید و پلاکتها، به صورت تعداد سلول در واحد حجم خون بیان می‌گردد. در روش دستی، برای شمارش از هماسیتومتر استفاده می‌شود. روش شمارش سلولها شامل ۳ مرحله است : رقیق کردن خون، نمونه برداری از سوسپانسیون رقیق شده و شمارش سلول.

در روشهای خودکار شمارش سلولی، از اصول زیر استفاده می‌شود :

۱) ممانعت الکتریکی[۱]

در این حالت، سلولهای خونی که در مقایسه با محلولهای رقیق کننده (ایزوتون) از نظر هدایت الکتریکی ضعیف تر هستند، هنگام عبور از منفذی که در آن جریان الکتریکی وجود دارد، تغییراتی در مقاومت الکتریکی ایجاد، و این تغییرات بصورت پالس های ولتاژی[۲] شمارش می گردند.

۲)روش پراکندگی نور[۳]

در آنالیزور الکترواپتیکال (چشم الکترونی) ، تعداد و اندازه گلبولهای قرمز براساس پراکندگی نور در زمان عبور از یک جریان هیدرودینامیک اندازه گیری و توسط ثبات[۴] حساس به نور ثبت می‌شود. اندازه پالس ایجاد شده متناسب با اندازه ذره (WBC ، RBC و پلاکت) است. دستگاههای سل کانتر همچنین، سایر اندازه گیریها نظیر مقدار هموگلوبین، اندازه گلبولهای قرمز و شمارش افتراقی گلبولهای سفید و در بعضی از انواع دستگاهها، شمارش رتیکولوسیت را نیز انجام می‌دهند.

شاخص های اریتروسیتی (RBC indices) :

شاخص های اریتروسیتی برای تشخیص و طبقه بندی کم خونی ها به کار می روند و با شمارش گلبولهای قرمز، اندازه گیری مقدار هموگلوبین و هماتوکریت ، محاسبه می‌شوند.

۱) میانگین حجم سلولی[۵] یا MCV :

حجم متوسط گلبول قرمز است و از فرمول زیر محاسبه می‌شود :

[1] - Electric impedance
[2]- Voltage pulses
[3] - Ligt Scattering
[4] - detector
[5] - Mean corpuscular volume

$$MCV = \frac{\text{هماتوکریت (Hct)} \times ۱۰۰۰}{\text{تعداد گلبولهای قرمز (برحسب میلیون در میکرولیتر) (RBC)}}$$

(فرمول ۲-۱)

MCV با واحد فمتولیتر FL (برابر با $۱۰^{-۱۵}$ L) بیان می‌شود و محدوده طبیعی آن FL ۹۶-۸۰ است و در کم خونی های ماکروسیتی افزایش، و در کم خونی های میکروسیتی مثل آنمی فقر آهن و تالاسمی، کاهش نشان می دهد.

۲) **میانگین هموگلوبین سلول[1] یا MCH :**

میانگین محتوای (وزن) هموگلوبین (Hb) گلبول قرمز را بر حسب پیکوگرم نشان می دهد و از فرمول زیر محاسبه می‌شود :

$$\text{MCH برحسب pg} = \frac{Hb(g/l)}{\text{RBC (برحسب میلیون در میکرولیتر)}}$$

(فرمول ۲-۲)

یک پیکوگرم برابر با $۱۰^{-۱۲}$ گرم است. محدوده طبیعی MCH، ۳۳-۲۷ پیکوگرم، و در کم خونیهای میکروسیتی کاهش و در نوع ماکروسیتی افزایش می‌یابد.

۳) **میانگین غلظت هموگلوبین سلولی[2] یا MCHC :**

میانگین غلظت هموگلوبین در حجم معینی از گلبولهای قرمز متراکم است و از فرمول زیر محاسبه می‌شود :

$$MCH = \frac{\text{(بر حسب گرم در دسی لیتر)}}{\text{Hb}}$$

Hct

(فرمول ۲-۳)

واحد آن گرم در دسی‌لیتر، و محدوده طبیعی آن ۳۶-۳۳ گرم در دسی‌لیتر بوده و در کم‌خونی‌های میکروسیتی مقدار آن کاهش، و در کم خونی های ماکروسیتی طبیعی بوده، و یا کاهش نشان می‌دهد. مقدار MCHC ، در اسفروسیتوز افزایش می‌یابد.

۴) **پهنای توزیع گلبولهای قرمز یا RDW[3] :**

در حالت طبیعی، گلبولهای قرمز از نظر شکل و اندازه تا حدودی یکنواخت می‌باشند. RDW بیانگر تنوع اندازه گلبولهای قرمز یا آنیزوسیتوز است و در دستگاههای کولتر، از ناحیه مرکزی هیستوگرام بدست می آید. محدوده طبیعی RDW-CV ٪ ۱۴/۶-۱۱/۶ است.

RDW-SD ، براساس فمتولیتر بیان می‌شود.(مقدار طبیعی RDW-SD = ۴۲ ± ۵ fL) در آنمی فقر آهن، RDW افزایش و MCV طبیعی یا کاهش، و در بتا تالاسمی مینور RDW طبیعی و MCV کاهش نشان می دهد.

[1] - Mean Corpuscular hemoglobin
[2] - Mean Corpuscular hemoglobin concentration
[3] - Red cell distribution

RDWو MCV در تعدادی از بیماریها :

۱) RDW طبیعی، MCV پائین : تالاسمی مینور- آنمی بیماری مزمن

۲) RDW بالا، MCV پائین : آنمی فقر آهن ، بیماری HbH

۳) RDW طبیعی، MCV طبیعی: فرد طبیعی، اسفروسیتوزارثی،

۴) RDW بالا، MCV طبیعی : کمبود آهن یا ویتامین B_{12} یا فولات در مراحل اولیه، آنمی داسی شکل

۵) RDW طبیعی، MCV بالا : آنمی آپلاستیک، سندرم میلودیس پلاستیک

۶) RDW بالا، MCV بالا: کمبود B_{12} یا فولات، آنمی همولیتیک ایمنی، آگلوتینین‌های سرد.

شمارش رتیکولوسیت ها[1]

رتیکولوسیت ها، گلبولهای قرمز بدون هسته و نارس هستند که دارای RNA بوده و قادر به سنتز هموگلوبین هستند. اگر خون در محلول آبی متیلن یا بریلیان کرزیل بلو، انکوبه شود، RNA برنگ آبی تیره و به صورت یک شبکه توری رسوب می‌کند. در صد رتیکولوسیت از فرمول زیر محاسبه می‌شود :

درصد رتیکولوسیت = ×۱۰۰×

(فرمول ۴-۲)

برای محاسبه درصدرتیکولوسیت‌ها، هزار عدد گلبول قرمز شمرده شده و در بین آنها تعداد رتیکولوسیت‌ها مشخص می‌شود. همچنین می توان دیسک میلر [2] در محل عدسی چشمی قرار داد، در این حالت دو مربع در میدان دید ایجاد می شود که مساحت یک مربع نه برابر مربع دیگر است.

در ضمن بایستی حداقل ۳۰۰ گلبول قرمز شمرده شود تا درصد رتیکولوسیت در بین ۲۷۰۰ گلبول قرمز به دست آید. رتیکولوسیت‌ها در رنگ آمیزی رومانوفسکی، رنگ قرمز متمایل به آبی مشخص داشته، و پلی کروماتوفیل نامیده می‌شوند. افزایش درصد رتیکولوسیت با ماکروسیتوز نسبی و افزایش MCV همراه است. محدوده طبیعی رتیکولوسیت در بزرگسالان ۰/۵ تا ۱/۵ درصد و در نوزادان، ۲/۵ تا ۶/۵ درصد است که پس از ۲ هفته برابر با بزرگسالان خواهد شد. در شمارش دستگاهی، در صورت شمارش RBC آلوده به پلاسمودیوم فالیسیارم، رتیکولوسیتوز شدید کاذب دیده خواهد شد.

در کم خونی ها، برای اصلاح شمارش رتیکولوسیت و محاسبه دقیق تر آن از فرمول زیر استفاده می‌شود :

$$\text{شمارش اصلاح شده رتیکولوسیت} = \text{درصد رتیکولوسیت} \times \frac{\text{Hct}}{\text{Hct بیمار}}$$

[1] - Reticulocyte count
[2] - Miller

موارد افزایش رتیکولوسیت :

۱) خونریزی حاد یا مزمن

۲) پس از درمان آنمی فقر آهن و آنمی مگالوبلاستیک

۳) همولیز حاد یا مزمن

موارد کاهش رتیکولوسیت :

۱) کم خونی آپلاستیک

۲) کم خونی مگالوبلاستی

۳) آپلازی یا هیپوپلازی خالص سلولهای اریتروئید.

تغییرات فیزیولوژیک گلبولهای قرمز

میانگین هماتوکریت خون مویرگی ۰/۶۱ (بین ۰/۴۶ تا ۰/۷۶) و در خون بند ناف ۰/۵۳ است. هموگلوبین و هماتوکریت در هنگام تولد بیشترین مقدار را داشته و در دو ماهگی به کمترین میزان خود، کاهش می‌یابند. MCV در هنگام تولد ۱۰۴ تا ۱۱۸ فمتولیتر بوده و در یک سالگی به حداقل میزان کاهش پیدا می‌کند.

در آقایان، مقدار هموگلوبین یک تا ۲ گرم در دسی لیتر بیشتر از خانمها بوده، و با افزایش هماتوکریت و تعداد گلبولهای قرمز متناسب است. علت اختلاف، تاثیر آندروژن در تحریک تولید گلبولهای قرمز در مغز استخوان، و تا حدودی اثر استروژن در کاهش تولید گلبولهای قرمز می‌باشد. در افراد مسن‌تر اختلاف مربوط به جنس در مورد Hb کمتر از یک گرم است.

در فعالیت عضلانی، به دلیل از دست دادن آب پلاسما مقادیر Hb ، Hct ، RBC افزایش می‌یابند. Hb هنگام صبح حداکثر مقدار، و در هنگام عصر کمترین حد را دارد. در ارتفاعات و افراد سیگاری نیز مقدار Hb، Hct و RBC افزایش نشان می‌دهند.

خصوصیات گلبول های قرمز :

گلبول های قرمز دارای ۶ تا ۸ میکرون قطر هستند. مرکز هر سلول تا حدودی کمرنگتر از محیط آن است. در بیماریهای مختلف بسته به نوع بیماری، مقدار هموگلوبین، اندازه سلول و یا شکل، تغییر می‌یابد. درصد سلولهای غیر طبیعی در خون محیطی طبیعی بسیار اندک بوده و کمتر از یک دهم درصد در مورد شیستوسیت و پیکنوسیت می‌باشد.

الف) رنگ :

۱) نورموکروم: رنگ پذیری طبیعی

۲) هیپو کرومیا :ناحیه کم رنگ مرکزی بزرگتر و کمرنگتر و MCH و MCHC کاهش

۳) هیپرکروم : ناحیه کم رنگ مرکزی کاهش نشان می‌دهد. در آنمی مگالوبلاستی، MCH افزایش و MCHC طبیعی، در اسفروسیتوز، MCH طبیعی و MCHC به دلیل کاهش نسبت سطح به حجم افزایش نشان می‌یابد.

۴) آنیزوکرومی : یا کم خونی دی مورفیک در آنمی سیدروبلاستی دیده می‌شود در این حالت سلولهای هیپوکرم و نورموکروم با هم دیده می‌شوند.

۵) پلی‌کروماتوفیلی : در اثر باقی ماندن RNA در داخل اریتروسیت، سلول به رنگ آبی خاکستری و بزرگتر از اندازه معمول دیده می‌شود (این نوع سلول در رنگ آمیزی بریلیان کرزیل بلو، رتیکولوسیت خوانده می‌شود). در این حالت هموگلوبین به رنگ‌های اسیدی ولی بقایای RNA به رنگ های قلیایی تمایل دارند. رتیکولوسیتوز سبب افزایش MCV شده و دلالت بر فعالیت موثر خونسازی مغز استخوان دارد.

ب) اندازه :

گلبول قرمز با اندازه طبیعی را نرموسیـــت (۹۰-۸۰= MCV)، کوچک را میکروسیت fL

(MCV< ۸۰) ، و بزرگ را ماکروسیت fL (۱۰۰ <MCV) می نامند. آنیزوسیتوز[1] به معنی تنوع غیر طبیعی در اندازه سلول است.

ج) شکل :

اشکال غیر طبیعی و نامنظم گلبولهای قرمز، پوئی کیلوسیت، و تنوع در شکل سلول را پوئی کیلوسیتوزیس می نامند، و انواع اشکال غیرطبیعی گلبولهای قرمز عبارتند از :

الیپتوسیت[2] : در خون افراد سالم کمتر از ۱۰ درصد هستند. در سرطان، بیماریهای مزمن، میلوفیبروز به همراه متاپلازی میلوئید، آنمی فقر آهن و مگالوبلاستی و آنمی داسی‌شکل و الیپتوسیتوز ارثی دیده می‌شوند.دراین حالت گلبول قرمز بیضی‌شکل می‌باشد (oval cell).

اوالوسیت پهن تر از الیپتوسیت است و مقدار کلسترول غشای آن کاهش دارد. به عبارت دیگر الیپتوسیت شکل میله ای یا سیگاری، داشته و اوالوسیت، تخم مرغی شکل است.

اسفروسیت[3] :

گلبولهای قرمز کروی با قطر کمتر از حد طبیعی و ضخامت بیشتر، و فاقد ناحیه کمرنگ مرکزی است. در اسفروسیتوز ارثی (HS) و کم خونی همولیتیک اتوایمون (AIHA) و تاثیر آنزیمهای باکتریایی مثل لسیتیناز، آسیب فیزیکی یا شیمیایی، سوختگی به دلیل از دست رفتن قسمتی از غشا دیده می‌شود. در اسفروسیت نسبت سطح به حجم کاهش یافته، ودر نتیجه MCHC نسبتاً بالا می‌باشد. قطر اسفروسیت حدود ۶/۱ تا ۷ میکرون است.

سلولهای هدف[4] یا کدوسیت[5]

سلولهای هدف و یا لپتوسیت[1] نازکتر از اندازه طبیعی بوده، و پس از رنگ‌آمیزی دارای حلقه نازکی از هموگلوبین درحاشیه، همراه با ناحیه تیره‌مرکزی حاوی هموگلوبین می‌باشند.

[1] - Anisocytosis
[2] - Elliptocyte
[3] - Spherocyte
[4] - Target Cell
[5] - Codocyte

تارگت سل یا سلول هدف در یرقان انسدادی، کم خونی های هیپوکرم به خصوص در تالاسمی، بیماری هموگلوبین C و S و در فقدان طحال دیده می‌شود.

- **شیستوسیت**[۲] :

در اثر تکه تکه شدن گلبولهای قرمز، ایجاد می شود. این سلول در موارد زیر دیده می شود :

- بیماریهای ژنتیکی از قبیل تالاسمی، و الیپتوسیتوزارثی[۳].
- بیماریهای اکتسابی نظیر آنمی فقر آهن و آنمی مگالوبلاستیک.
- در اثر استرس های مکانیکی مثل آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک.
- آسیب ناشی از حرارت مانند سوختگی شدید.

در تمام موارد سه نوع سلول شیستوسیت دیده می‌شود :

- تکه های کوچک سلولی که دارای زاویه یا خار می‌باشند (spur cell).
- سلولهای بزرگتر کلاه خودی شکل یا هلمت سل[۴] .
- مثلثی شکل، که به آنها سلول مثلثی[۵] گفته می‌شود .

اکینوسیت یا Burr cell ، و آکانتوسیت :

در بعضی موارد مثل سندرم همولیتیک اورمیک، درجات مختلفی از پدیده Crenation دیده می‌شود.

اکینوسیت[۶]،یاسلول کنگره‌دار(Crenated cell)، دارای چروکیدگی منظم بوده ولی آکانتوسیت[۷]، دارای خارهای نامنظم است که انتهای خار گرد، و در بیماریهای کبدی و آبتالیپوپروتئینی[۸] دیده می‌شود. اکینوسیت در اثر افزایش اسمولالیته خون یا کاهش ATP در گلبول های قرمز ظاهر می گردد .

سلول های داسی شکل[۹] یا درپانوسیت[۱۰]:

---

[1] - Leptocyte
[2] - Schistocyte
[3] - Hereditary elliptocytosis
[4] - Helmet cell
[5] - triangularly cell
[6] - Echinocyte
[7] - Acantocyte
[8] - Abetalipo proteinemia
[9] - Sickle Cells
[10] - Drepanocyte

گلبول قرمز خمیده یا هلالی نوک تیز است که به علت اختلال در حلالیت هموگلوبین ایجاد، و در آنمی سیکل سل هموزیگوس، دیده می‌شود. در آتروفیه شدن طحال، با تارگت سل و اجسام هاول ژولی[1] همراه است. این سلول در هموگلوبینوپاتی[2] مثل SS، SC ، S- B.thalassemia مشاهده می گردد .

استوماتوسیت[3] :

در این سلول، ناحیه کم رنگ مرکزی شبیه شکاف می باشد. در استوماتوسیتوز ارثی، الکلیسم، سیروز و بیماری های کبدی دیده می شود .

د- ساختار :

انواع اختلالات ساختاری عبارتند از :

بازوفیلی نقطه نقطه[4] :

گرانولهای بازوفیلی نامنظم ظریف یا خشن در داخل گلبول های قرمز بوده و به علت ناپایداری RNA و تجمع ذرات ریبوزوم ایجاد می گردند. در موارد مسمومیت با سرب، کم خونی مگالوبلاستیک و تالاسمی ها آنمی سیدروبلاستیک ، الکلیسم، نقاط بازوفیلی مشاهده می‌شوند .

اجسام پاپن هایمر[5] :

گلبول‌های قرمز دارای گرانولهای حاوی آهن غیرآلی، سیدروسیت[6] خوانده شده، و با رنگ آمیزی مخصوص آهن قابل تشخیص هستند. این ذرات در رنگ آمیزی با رنگ رایت، اجسام پاپن هایمر نامیده می‌شوند، و به صورت ذرات آبی کمرنگ یا بنفش هستند، و از تجمع فریتین و باقیمانده آهن میتوکندری تشکیل می‌شوند. بر خلاف نقاط بازوفیلی، تعدادشان در یک گلبول قرمز معین، اندک است و در صورت طحال برداری در خون محیطی دیده می‌شوند .

اجسام هاول- ژولی[7] :

بقایای کروماتین هسته بوده و در آنمی مگالوبلاستیک، در کم خونی همولیتیک و طحال برداری (اسپلنوکتومی)، در تعدادی از گلبول‌های قرمز به صورت منفرد دیده می‌شوند ولی در استئاتوره[8] و کمبود فولات تعداد آنها در داخل گلبول قرمز متعدد است .

حلقه های کابوت[1] :

---

1 - Howell – Jolly bodies
2 - Hemoglobinopathies
3 - Stomatocyte
4 - Basophilic stippling
5 - papen heimer bodies
6 - Siderocytes
7 - Howell-Jolly bodies
8 - Steatorrhoea

ساختارهای حلقه ای شکل به شکل هشت لاتین (8) می‌باشند، و احتمالاً میکروتوبولهای باقیمانده از دوک تقسیم هستند. در کم خونی پرنیسیوز[۲] (وخیم)، مسمومیت با سرب، اختلالات اریتروپوئز دیده می‌شوند .

ذرات شوفنر[۳] :

گرانولهای قرمز ارغوانی ریز در رنگ آمیزی رایت هستند، و در اثر آلودگی گلبول قرمز به پلاسمودیوم ویواکس ایجاد می‌شوند.

هنزبادی[۴] :

ذرات به قطر ۲ تا ۳ میکرون به رنگ ارغوانی تیره، چسبیده به غشای داخلی گلبول قرمز هستند، قابل تشخیص با رنگ های رومانوفسکی نیستند و با رنگ های حیاتی مثل نیومتیلن بلو رنگ می‌گیرند. این ذرات در نتیجه دناتوره شدن هموگلوبین در اثر نقایص آنزیمی، مثل کمبود شدید گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز ایجاد می شوند. برداشت آنها توسط طحال سبب ایجاد بایت سل یا دگماسیت[۵] می شود.

سایر اختلالات :

پدیده رولو[۶] :

گلبولها به صورت سکه‌هایی بر روی هم قرار می‌گیرند. این حالت در افزایش فیبرینوژن یا گلوبولین‌های پلاسما و در نتیجه افزایش ESR، وجود دارد. در گسترش‌های خشک شده در هوا ممکن است پدیده رولو به طور کاذب ایجاد شود (به خصوص در مناطق ضخیم گسترش) آگلوتیناسیون بر خلاف رولو، با تجمع گلبول های قرمز به طور نامنظم همراه است .

اریتروبلاستمی[۷] :

اریتروبلاست‌ها در گسترش خون طبیعی بیماران مبتلا به آنمی شدید دیده می‌شوند، ولی در آنمی آپلاستیک بندرت یافت می گردند. گلبولهای قرمز هسته دار به طور طبیعی در مغز استخوان وجود دارند و مراحل تولید آنها به ترتیب، پرونورموبلاست، بازوفیلیک نورموبلاست، پلی کروماتوفیلیک نرموبلاست وارتوکروماتیک نورموبلاست می‌باشد، که در فصول بعدی توضیح داده خواهند شد.

---

[1] - Cabot rings
[2]- pernicious anemia
[3] - Schuffner
[4] - Heinzbody
[5] - Bit cell or Degmacyte

اریتروبلاست در خون کودکان بیشتر از بزرگسالان مشاهده می‌شود ولی در نوزادان نارس تعداد آن بیشتر است. در ضمن پس از برداشتن طحال به خصوص در اریتروپوئز خارج از مغز استخوان تعداد بلاست بیشتر است.

واکنش لکواریتروبلاستوتیک[1] :

وجود گلبول های قرمز هسته‌دار همراه با سلولهای نارس رده میلوئید، واکنش لکواریتروبلاستوتیک نامیده می‌شود. و در ضایعات درگیر کننده مغز استخوان مثل فیبروز، میلوم متعدد ، بیماری گوشه، همولیز، خونریزی های حاد، مشاهده می گردد.

[1] - Leuko erythroblastotic reaction

فصل ۳ : بررسی گلبولهای سفید

گلبولهای سفید براساس عمل، محل تولید و شکل طبقه بندی می‌شوند، مثل: نوتروفیل، لنفوسیت، منوسیت، انوزینوفیل و بازوفیل.

آزمایشات معمول بر روی گلبولهای سفید عبارتند از :

شمارش لکوسیت ها (WBC) :

در شمارش کلی گلبولهای سفید تمامی انواع گلبولهای سفید و گلبولهای قرمز هسته دار در حجم معینی شمرده می‌شوند. محدوده طبیعی شمارش گلبولهای سفید در بزرگسالان $۴/۵ - ۱۱ \times ۱۰^{۹}$ /L و ضد انعقاد مناسب EDTA می‌باشد.

از دو روش دستی با هماسیتومتر و دستگاهی برای شمارش استفاده می‌شود. تعیین درصد یا شمارش افتراقی گلبولهای سفید و اصلاح شمارش از نظر وجود گلبول قرمز هسته دار (NRBC) با استفاده از گسترش خون و رنگ آمیزی رومانوفسکی انجام می‌گیرد. در شمارش افتراقی دو گروه عمده از گلبولهای سفید مورد بررسی قرار می‌گیرند :

۱) گرانولوسیت ها مثل نوتروفیل ، ائوزینوفیل، بازوفیل.

۲) آگرانولوسیت ها یا سلولهای فاقد گرانول یا تک هسته‌ای ها شامل لنفوسیت و منوسیت.

منابع خطا در شمارش گلبول های سفید به روش دستی عبارتند از :

۱) انعقاد نسبی در خون سیاهرگی

۲) خطای انسانی

۳) خطای دستگاهی

۴) خطای‌میدانی: تغییرات در تعداد سلولهای توزیع شده در حجم معین.

برای تصحیح شمارش از نظر گلبولهای قرمز هسته دار از فرمول زیر استفاده می‌شود :

$$\text{شمارش صحیح لکوسیت‌ها} = \frac{\text{شمارش} \times ۱۰۰}{\text{تعداد کل NRBC}}$$

(فرمول ۱-۳)

شمارش دستگاهی بر مبنای مقاومت الکتریکی (کولترکانتر) و پراکندگی نور انجام می‌گیرد. در دستگاههای ساده‌تر، شمارش افتراقی سه قسمتی صورت می‌گیرد که در آن MID نشانگر منوسیت ها و ائوزینوفیل ها و بازوفیل ها است. در دستگاه Sysmex، ائوزینوفیل ها و بازوفیل ها با استفاده از اندازه گیری مقدار امپدانس آنها، پس از متلاشی شدن سایر انواع سلولها، در دو کانال مجزا شمارش شده و سپس نوتروفیلها با کسر مجموع ائوزینوفیلها و بازوفیلها از کل گرانولوسیت ها محاسبه می گردند.

افزایش غلظت مطلق لکوسیت را، افزایش مطلق و افزایش فقط در درصد آنها را افزایش نسبی می گویند.

نوتروفیل :

میانگین قطر نوتروفیل ها، ۱۲ میکرون است. هر نوتروفیل بین ۲ تا ۵ قطعه هسته‌ای دارد (متوسط سه عدد). در بزرگسالان ۵۶ درصد نوتروفیل، و سلول باند یا Stab ۳ درصد از گلبولهای سفید را تشکیل می‌دهند. افزایش نوتروفیل‌ها، نوتروفیلی نامیده می‌شود .

ائوزینوفیل :

قطر متوسط آن ۱۳ میکرون، گرانولها درشت تر، و هسته ۲ تا ۳ قطعه دارد. در شمارش افتراقی سه درصد از گلبول های سفید را تشکیل می دهد. گرانولها با ائوزین رنگ قرمز درخشان می‌یابند .

بازوفیل :

گرانولها درشت تر و به رنگ های قلیائی تمایل داشته و رنگ بنفش ارغوانی می‌گیرند. کمترین تعداد در بین لکوسیت ها را بازوفیل‌ها تشکیل می‌دهند که حدود ۰/۵ درصد گزارش شده است .

منوسیت :

بزرگترین سلول خون محیطی است. قطر آن ۱۴ تا ۲۰ میکرون، و هسته منفرد دندانه‌دار یا نعل اسبی دارد. منوسیت در بافت به ماکروفاژ تبدیل می‌شود که اندازه بزرگتری دارد. منوسیت ها به طور متوسط ۴ درصد از لکوسیت ها را شامل هستند .

لنفوسیت :

لنفوسیت های کوچک حدود ۶ تا ۱۰ میکرون قطر، و هسته به رنگ آبی تیره داشته و سیتوپلاسم آنها بسیار اندک است. لنفوسیت‌های بزرگتر قطر ۱۲ تا ۱۵ میکرون، هسته کمرنگتر و سیتوپلاسم فراوان داشته و شبیه منوسیت می‌باشند. لنفوسیت ها می‌توانند به پلاسما سل تبدیل شوند که دارای واکوئل روشن، هسته کناری و گرد و ناحیه شفاف با حدود مشخص که مربوط به دستگاه گلژی، در کنار هسته می‌باشند. لنفوسیت ها ۳۴ درصد از لکوسیت ها را تشکیل می‌دهند .

موارد غیر طبیعی لکوسیت ها :

۱) سلولهای شکسته شده یا آسیب دیده

۲) سلولهای سبدی : هسته سلولهای شکسته شده دارای رشته هایی به شکل شبکه خشن هستند. سلولهای سبدی در لوسمی لنفوسیتی مزمن (CLL) و لوسمی‌های حاد و لنفوسیتوز آتی‌پیک، مشاهده می‌شوند .

۳) تغییرات دژنراتیو: در اثر نگهداری بیش از حد نمونه، بخصوص در خون اکسالاته دیده می‌شوند.

۴) سلولهای چروکیده : به دلیل خشک شدن آرام نمونه در قسمتهای ضخیم تر، گلبولهای سفید به صورت چروکیده، و اریتروسیت ها به فرم رولو دیده می‌شوند. به طور کلی در این مناطق، شناسایی انواع سلولها مقدور نیست.

۵) سلولهای اندوتلیال : سلولهای پوشاننده رگ های خونی هستند و در اولین قطره خون ممکن است وجود داشته باشند.

تغییرات فیزیولوژیک گلبولهای سفید

در روز اول تولد، نوتروفیل و در هفته اول بعد از تولد لنفوسیت ها و پس از ۷ سالگی نوتروفیل ها، اکثریت سلولها را تشکیل می‌دهند. نوتروفیل ها هنگام صبح حداقل و در هنگام عصر حداکثر تعداد را دارا می‌باشند. ورزش سبب افزایش تعداد لکوسیت ها و نوتروفیلها می‌شود، چون در این حالت سلولهای حاشیه ای رگ ها نیز به داخل گردش خون، راه می‌یابند. در افراد سیگاری تعداد لکوسیت ها بیشتر از افراد غیرسیگاری است. در زمان قاعدگی نیز تعداد نوتروفیلها و منوسیت ها کاهش یافته ولی تعداد ائوزینوفیل‌ها افزایش می‌یابد.

فصل چهارم : بررسی پلاکت‌ها

بررسی پلاکت‌ها :

پلاکتها به طور مستقیم از سیتوپلاسم مگاکاریوسیتها تولید می شوند و ۸ تا ۱۰ روز در خون محیطی گردش می یابند. هر مگاکاریوسیت ۲۰۰۰ تا ۴۰۰۰ پلاکت ایجاد می کند. $\frac{2}{3}$ پلاکتها در خون در حال گردش و $\frac{1}{3}$ در طحال به صورت ذخیره هستند. تعداد طبیعی پلاکتها، $۱۵۰-۴۰۰\times۱۰^{۹}/L$ می باشد.

پلاکت‌ها، دیسک های نازکی هستند که۲ تا ۴ میکرون قطر و ۵ تا ۷ فمتولیتر حجم داشته و در پدیده هموستاز و انعقاد خون نقش دارند.حجم متوسط پلاکتی (MPV) در بزرگسالان۱۲-۶/۵ فمتولیتر است. ارتباط معکوس و غیر خطی بین MPV و شمارش پلاکت‌ها در افراد طبیعی وجود دارد.

MPV در پرکاری تیروئید و ITP (پورپورای ترومبوسیتوپنیک ایدیوپاتیک) و بیماریهای میلوپرولیفراتیو افزایش، و در ترومبوسیتوز کاهش پیدا می‌کند.

شمارش پلاکتها :

برای شمارش پلاکت، باید پس از خون گیری هر چه سریعتر نمونه مورد بررسی قرار گیرد. شمارش به روش دستی با هماسیتومتر به کمک محلول رقیق کننده اگزالات آمونیوم و با روش دستگاهی با استفاده از شمارش پالس ولتاژ (امپدانس یا مقاومت الکتریکی) انجام می‌گیرد. همچنین شمارش به صورت تخمینی از روی گسترش خون رنگ شده با رنگ های رومانوفسکی، میسر است.

روش انتخابی، فازکنتراست است که در آن بدون نیاز به رنگ آمیزی، پلاکتها در حالت سوسپانسیون شمرده می‌شوند.

منابع خطا در شمارش پلاکت عبارتند از :

۱) وجود قطعات لکوسیت ها در لوسمی ها که سبب افزایش کاذب تعداد پلاکت‌ها می‌شوند.

۲) چسبندگی پلاکت‌ها به نوتروفیل ها

۳) لخته شدن خون در زمان نمونه برداری

۴) تجمع پلاکتی

۵) کدورت پلاسما.

در بیماران مبتلا به ترومبوسیتوپنی ایمنی، سندرم برنارد سولیه[1] و سندرم های میلوپرولیفراتیو تعداد پلاکت‌های بزرگ افزایش می‌یابد.

[1] - Bernard-Soulier Syndrome

پلاکت‌های مشبک[1] :

پلاکت‌هایی هستند که به تازگی به گردش خون راه یافته، و دارای بقایای RNA می‌باشند و شمارش آنها برای تخمین ترومبوپوئز مفید است. پلاکت‌های مشبک با روش آنالیز فلوسیتومتریک قابل شمارش هستند، و ۲۰-۳ درصد پلاکتها را تشکیل می‌دهند. افزایش تعداد پلاکت‌های مشبک در هیپرتیروئیدی و کاهش آنها در سیروزکبدی گزارش شده است.

تغییرات فیزیولوژیک پلاکت‌ها :

شمارش پلاکت در موقع تولد مختصری کمتر از بزرگسالان بوده ولی پس از یک هفته برابر با بزرگسالان می‌شود. در زمان قاعدگی، تعداد پلاکت‌ها کاهش دارد. تعداد پلاکت، گلبول های سفید و نوتروفیل ها در زنان بیشتر از مردان است.

[1] - Reticulated platelets

فصل ۵ : بررسی گسترش خون محیطی و مغز استخوان

بررسی گسترش خون :

اطلاعات مفیدی در تشخیص انواع بیماریهای خونی فراهم می‌کند. چند روش برای تهیه گسترش وجود دارد:

۱) روش دولامی[1] :

یک قطره خون را در انتهای یک لام قرار داده و با لام دیگر با زاویه ۳۰ تا ۴۵ درجه گسترش شعله شمعی تهیه می‌کنند.

۲) روش لامل: یک قطره خون روی لامل گذاشته و لامل دیگر را به صورت متقاطع روی آن قرارداده و سپس لامل‌ها را به سرعت در جهت مخالف هم،ازیکدیگر جدا می‌کنند . از روشهای دیگر تهیهٔ گسترش می توان روش چرخانده با سانتریفوژ Spinner را نام برد.

رنگ آمیزی خون :

هسته را رنگ های قلیایی مثل متیلن بلو (بازوفیلیک) و سیتوپلاسم را رنگ های اسیدی مثل ائوزین (اسیدوفیلیک) رنگ می‌کنند. ساختمانهایی که ترکیبی از دو رنگ مختلف را به خود می‌گیرند نوتروفیلیک نامیده می‌شوند.

در یک گسترش مناسب بایستی سلولها به صورت یکنواخت توزیع شوند. در رنگ آمیزی رایت، گلبولهای قرمز صورتی رنگ، هسته لکوسیتها ارغوانی، گرانولهای نوتروفیلها قهوه‌ای مایل به زرد، گرانولهای ائوزینوفیلها قرمز مایل به نارنجی، گرانولهای بازوفیل‌ها ارغوانی تیره، پلاکت‌ها گرانولهای بنفش تیره، باکتریها در صورت وجود آبی رنگ، سیتوپلاسم لنفوسیت‌ها آبی روشن، و سیتوپلاسم منوسیت‌ها آبی خاکستری رنگ می‌گیرند.

همه انواع رنگهای رومانوفسکی [2]، در آب غیر محلول و در متیل الکل محلول هستند. بندرت ممکن است سلولها در اثر قلیایی شدن بافر و یا ضخیم بودن گسترش خون، رنگ آبی شدید بگیرند. اگر بافر اسیدی شود، سلولها به رنگ صورتی یا قرمز مشاهده می شوند.

بررسی گسترش خون

ابتدا برای اطمینان از مناسب بودن رنگ آمیزی و توزیع سلولی، گسترش با بزرگنمایی ۱۰ × یا ۲۰× بررسی می شود. استفاده از عدسی ۱۰۰× برای مطالعه انکلوزیونهای سلولی و گرانولهای سیتوپلاسمی ضروری است ، ولی شمارش افتراقی گلبولهای سفید یا بزرگنمایی کمتر نیز می تواند انجام شود.

آزمایش مغز استخوان

تشخیص بسیاری از بیماریهای خونی براساس آزمایش مغز استخوان، استوار است که بر روی دو نوع نمونه انجام می شود. نمونه اول به روش آسپیراسیون تهیه شده و از نظر مرفولوژی سلولها و تعداد عناصر سلولی مورد بررسی قرار می گیرد.

نمونهٔ دوم به روش بیوپسی به دست می‌آید و برای ارزیابی سلولاریته، فیبروز، عفونت مناسب است. همچنین در مواردی نظیر میلوفیبروز و لوسمی هیری سل، مغز استخوان را نمی توان آسپیره نمود لذا بیوپسی لازم می باشد.

[1] - Wedge method
[2] - Romanowsky

در موارد زیر، تهیه نمونه مغز استخوان لازم است :

۱) بررسی اختلالات خونی که ابتدا در خون محیطی، مشاهده شده است.

۲) بررسی تومورهای مغز استخوان و درجه بندی آنها

۳) تشخیص وجود عفونت در مواردی مثل تب با منشا نامعلوم و سل و تب مالت برای کشت مغز استخوان

۴) مطالعه بیماریهای ذخیره ای متابولیک

۵) در مواردی مثل نوتروپنی، ترومبوسیتوپنی، و پان سیتوپنی، لوسمی و میلوم مالتیپل

۶) در کم خونی های نورموسیتی که اندکس تولید رتیکولوسیت افزایش نیافته است.

۷) بررسی چگونگی پاسخ بیمار به درمان.

انتخاب محل برای آسپیراسیون یا بیوپسی، به عواملی مثل سن، وزن، وضعیت بیمار بستگی دارد. اسکلت افراد بزرگسال طبیعی، تقریباً ۱۳۰۰ تا ۱۵۰۰ گرم مغز استخوان دارد که ۴۰٪ آن در لگن قرار گرفته است، لذا خار خلفی خاصره لگن مناسبترین ناحیه برای نمونه گیری می‌باشد. درنوزادان و کودکان خردسال، فمور و تیبیا پروکسیمال محل مناسبی است (جدول ۱-۵).

Site	Age when Practical
Tibia	Birth to 12 mo
Fermur	Birth to 12 mo
Anterior iliac crest	Any age
Posterior iliac crest	Any age
Vertebral spinous process	2yr and older
Sternum	6 mo and older

جدول ۱-۵ نواحی مناسب برای آسپیراسیون مغز استخوان

تهیه و بررسی گسترش مغز استخوان :

بهترین ماده برای تهیه گسترش های مناسب، ذرات خاکستری مغز استخوان است که در زیر میکروسکوپ حاوی حفرات نامنظم چربی می باشد. وجود ذرات نامنظم چربی در گسترش، نشان دهنده مغز استخوان بودن نمونه است. برای بررسی می توان نمونه را با رنگ های رومانوفسکی[1] رنگ آمیزی نمود.

برای بررسی ذخایر آهن از تست پرل[2] استفاده می شود. در حضور هموسیدرین یا فریتین، واکنش آبی پروس ایجاد می گردد، که در بزرگسالان +۲ طبیعی است. آهن ذخیره ای مغز استخوان در ماکروفاژها قرار دارد و در موارد زیر افزایش می یابد : عفونتها، هموکروماتوز، هموسیدروز، سیروز کبدی، اورمی، سرطان و پس از انتقال خون مکرر.

سیدروبلاستها، اریتروبلاستهای دارای یک یا چند ذره آهن هستند که در زمان اختلال اریتروپوئز تعداد آنها بیشتر می شود.

[1] - Romanowsky’s
[2] - Perl’s test

در گزارش مغز استخوان بایستی سلولاریته، تعداد مگاکاریوسیتها (که کمترین تعداد یعنی کمتر از یک درصد سلولها را در حالت طبیعی در مغز استخوان تشکیل می دهند) و نسبت میلوئید به اریتروئید، همچنین نسبت سیدروبلاستها و یافته های غیرطبیعی مورد توجه قرار گیرند.

تراکم سلولی[1] مغز استخوان :

نسبت حجم سلولهای خونساز به کل حجم مغز استخوان، تراکم سلولی در نظر گرفته می‌شود معمولا سلولاریته برای یک استخوان مشخص مثل ایلیاک، اندازه گیری و اگر نسبت به سن بیماری بیشتر باشد، مغز استخوان پرسلول[2] یا هیپرپلاستیک[3] و در صورتی که کمتر از حد طبیعی باشد، مغز استخوان کم سلول[4] خواهد بود. تراکم سلولی با افزایش سن کاهش می‌یابد.

توزیع سلولها :

برای بررسی توزیع سلولها، حدود ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ سلول (متوسط ۵۰۰ سلول) را شمارش افتراقی نموده و درصد هر کدام از انواع سلولی محاسبه می گردد. نتایج حاصله براساس سن متفاوت است.

در زمان کودکی لنفوسیتها غالب هستند و تا ۴۰ درصد سلولاریته را تشکیل می دهند (در بزرگسالان کمتر از ۲۰٪). نسبت میلوئید به ارتیروئید (M/E) ، نسبت کل گرانولوسیتها به اریتروبلاستها است و در نوزادان و شیرخواران تا حدودی بیشتر از دوران کودکی و بزرگسالی می باشد. در بزرگسالان از ۱/۲ تا ۵ متغیر بوده و در عفونت، لوسمی میلوئیدی مزمن یا هیپوپلازی اریتروئید نسبت M/E افزایش دارد. کاهش نسبت در مواردی مثل هیپرپلازی سلولهای ارتیروئید و آگرانولوسیتوز دیده می‌شود .

جدول ۲-۵- شمارش افتراقی آسپیرهٔ مغز استخوان

	Birth	1month–1 Year	1-4 Years	4-12 Years	Adult
Neutrophilic series	۶۰	۳۳	۵۰	۵۲	۵۷
Eosinophilic series	۳	۳	۶	۳	۳
Lymphocytes	۱۴	۴۷	۲۲	۱۸	۱۷
Erythrocytic	۱۴	۸	۱۹	۲۱	۲۰
M: E ratio	۴/۳	۴	۲/۶	۲/۵	۲/۶

[1] - Cellularity
[2]- Hyper cellualr
[3] -Hyperplastic
[4] - Hypoplastic

سلولهای غیر طبیعی یا سلولهای کمیاب :

در بررسی مغز استخوان ممکن است سلولهای زیر دیده می شوند :

- ماست سل های بافتی : در کم خونی آپلاستیک، اختلالات میلوپرولیفراتیو، افزایش می یابند.

- استئوبلاستها[1] که سازنده ماتریکس کلاژنی می‌باشند و استئوکلاست ها[2]، که استخوان را باز جذب می کنند، در هیپرپار اتیروئیدیسم بیماری پاژه، تومورمتاستاتیک، شکستگی یا ترمیم استخوانی گزارش شده اند، در حالیکه مشاهده این سلولها در بزرگسالان معمول نیست، ولی به مقدار کم در شیرخواران و کودکان وجود دارند.

رنگهای سیتوشیمیائی

این رنگها در تشخیص و طبقه بندی لوسمی های حاد، به کار می روند. از رنگهای سیتوشیمیایی، برای رنگ آمیزی گسترش های خونی، آسپیرۀ مغز استخوان، و بیوپسی بافتها استفاده می شود.

رنگ میلوپراکسیداز[3] :

گرانولهای اولیه نوتروفیلها و گرانولهای ثانویه ائوزینوفیلها حاوی میلوپراکسیداز هستند، گرانولهای لیزوزومی منوسیت ها نیز به طور ضعیف مثبت هستند. لنفوسیت ها و گلبولهای قرمز هسته دار فاقد آنزیم می‌باشند.

رنگ سودان بلک B [4]:

فسفولیپیدهای داخل سلولی سایر لیپیدها را رنگ آمیزی می نماید، و الگوی رنگ پذیری مثل میلوپراکسیداز است ولی ممکن است گرانولهای آزروفیل لنفوبلاست ها را نیز رنگ کند.

استراز اختصاصی (نفتل AS-D کلرواستات)

این رنگ به نام Leder نیز موسوم است. برای شناسایی گرانولوسیتها به کار می رود ولی معمولاً قادر به رنگ آمیزی لنفوسیتها نمی‌باشد.

استرازهای غیر اختصاصی (α - نفتیل بوتیرات یا α نفتیل استات):

برای شناسایی سلولهای منوسیتی استفاده می شود. علاوه بر منوسیتها، با ماکروفاژها، هیستوسیت ها، و مگاکاریوسیتها نیز واکنش نشان می دهد.

ترمینال داکسی نوکلئوتیدیل ترانسفراز [5]:

TdT نوعی آنزیم داخل هسته ای است، و در تیموسیت ها و سلولهای لنفوئیدی نابالغ مغز استخوان یافت می شود، ولی در لنفوسیتهای بالغ وجود ندارد. این آنزیم، مارکر مناسبی برای تشخیص لوسمی های لنفوسیتی حاد[6] و لنفوم لنفوبلاستیک[7] می باشد.

---

[1] - Osteoblast
[2] - Osteoclast
[3] - Myleo proxidase stain
[4] - Sudan Black B
[5] - Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT)
[6] - Acute Lymphoblastic Leukemias
[7] - Lymphoblastic Lymphomas

آلکالن فسفاتاز لکوسیتی[1] (LAP) :

این آنزیم در سیتوپلاسم نوتروفیلها، استئوبلاستها و سلولهای اندوتلیال و بعضی از لنفوسیتها وجود دارد. برای تشخیص لوسمی میلوئید مزمن (CML) از واکنشهای لوکه موئید[2] گرانولوسیتی و سایر اختلالات میلوپرولیفراتیو[3] به کار می رود. این آنزیم در مرحله متاسیلوسیت قابل ردیابی است و در لوسمی میلوئید مزمن و حاد فعالیت کمتری نشان می دهد.

اسیدفسفاتاز :

اسیدفسفاتاز در همه سلولهای هماتوپویتیک وجود دارد، اما بیشترین مقدار آن در ماکروفاژها و استئوکلاستها دیده می شود. اسید فسفاتاز مقاوم به تارتارات یا TRAP[4] نوعی ایزوآنزیم اسیدفسفاتاز است که در سلولهای لوسمی هیری سل[5] به مقدار زیاد یافت می شود.

پریودیک اسید شیف (PAS)[6] :

PAS، گلیکوژن داخل سلولی که در اغلب سلولهای هماتوپولیتیک به مقدار مختلف وجود دارد، رنگ آمیزی می نماید. سلولهای لوسمی های لنفوبلاستیک و میلوژن را البته با اختلافات عمده رنگ آمیزی می نماید. برای تشخیص اریترولوکمی [7] مناسب است. همچنین برای تشخیص تجمع گلوکوسربروزیداز در بیماری گوشه[8]، مفید می باشد.

تولوئیدین بلو[9] :

این ماده با موکوپلی ساکاریدهای گرانولهای سلولی بازوفیلها و ماست سل ایجاد واکنش می کند. ولی بازوفیلها و ماست سلهای بدخیم، مقدار کمتری موکوپلی ساکارید داشته و با این رنگ، واکنش نمی دهند.

سایر بررسی های آزمایشگاهی :

آنالیز سیتوژنتیک[10] :

بسیاری از بدخیمی های خونی با تغییرات سیتوژنتیک اختصاصی همراه می‌باشند، نظیر تغییرات تعداد کروموزوم، ترانس لوکاسیون و انیورشن[11]. بنابراین آنالیز سیتوژنتیک اهمیت زیادی در تشخیص اختلالات هماتولوژیک دارد.

سدیمانتاسیون یا سرعت رسوب گلبولهای قرمز (ESR) :

[1] - Leukocyte Alkaline phosphatase
[2] - Leukemoid reaction
[3] - Myeloproliferative disorders
[4] - Tartrate resistant acid phosphatase (TRAP)
[5] - Hairy cell Leukemia
[6] - Periodic Acid-Schiff
[7] - Erythro Leukemia
[8] - Gaucher disease
[9] - Toluidine Blue
[10] - Cytogenetic Analysis
[11] _ Translocation, Inversuon

گلبولهای خون به حالت معلق در پلاسما شناور هستند، اما در خون حاوی ماده ضد انعقاد، تمایل به رسوب دارند. مقدار رسوب گلبولها، در مدت معین (معمولا یک ساعت)، را سدیمانتاسیون می نامند. و واحد آن میلیمتر در ساعت است (میزان سرعت رسوب گلبولهای قرمز در واحد زمان = ESR).

عوامل موثر بر ESR :

۱) **عوامل مربوط به گلبولهای قرمز :**

کم خونی به دلیل تغییر در نسبت اریتروسیت به پلاسما، سبب تشکیل رولو و افزایش ESR می‌شود. رسوب با وزن توده‌های گلبولی، نسبت مستقیم و با مساحت سطح گلبولها نسبت عکس دارد. هر قدر توده عناصر رسوب کننده بزرگتر باشند، با سرعت بیشتری رسوب می‌کنند. اتوآگلوتیناسیون نیز سبب افزایش سدیمانتاسیون می‌شود.

اگر شکل گلبولهای قرمز سبب عدم تشکیل رولو شود، میزان رسوب کم خواهد بود. در بیماری سیکل سل، شکل غیرطبیعی گلبولی قادر به تشکیل رولو نبوده، و لذا میزان ESR، اندک است. گلبولهای قرمز با داشتن بار منفی (پتانسیل زتا)[1] در سطح خود، به صورت مجزا در جریان خون حرکت می‌کنند ولی اگر بی‌حرکت بمانند، به یکدیگر نزدیک شده و تشکیل رولو می‌دهند. لذا نسبت سطح به حجم کاهش و سرعت رسوب افزایش می‌یابد. ماکروسیت‌ها نسبت به میکروسیت ها سریعتر رسوب می‌کنند چون نسبت سطح به حجم در ماکروسیت‌ها کاهش یافته است. اسفروسیت ها و آکانتوسیت ها هم به دلیل عدم توانایی تشکیل رولو سبب کاهش ESR می‌شوند ولی در کم خونی شدید، ESR به علت بیشتر شدن مقدار پلاسما، افزایش نشان می دهد.

کاهش تعداد گلبولهای قرمز در کم خونی شدید، سبب افزایش ESR و افزایش تعداد گلبولهای قرمز در پلی سیتمی سبب کاهش ESR می‌شود.

۲) **عوامل مربوط به پلاسما**

بار منفی گلبولها یا پتانسیل زتا، به علت بار منفی اسیدسیالیک سطح غشای گلبول و PH محیط می‌باشد. پروتئین ها، پتانسیل زتا را کاهش می‌دهند، لذا هنگامی که فیبرینوژن و تا حد کمتری گلوبولین های β, α_2 و γ ، افزایش یابند، پتانسیل زتا کاهش یافته و سبب تشکیل رولو و افزایش ESR می گردد.

پس سدیمانتاسیون در بیماریهایی که با هیپرفیبرینوژنمی و یا افزایش ایمونوگلوبولینها همراه است، مثل عفونت، میلوم مالیتیپل و ایمونوگلوبولینوپاتی ها و در زمان حاملگی، افزایش می‌یابد. بین مقدار هاپتوگلوبولین سرم و میزان ESR نسبت مستقیم وجود دارد.

۳) **عوامل مکانیکی و تکنیکی :**

انحراف پی پیت سدیمانتاسیون به میزان ۳٪ از حالت عمودی سبب ایجاد ۳۰ درصد خطا می‌شود. نگهداری خون در یخچال سبب کاهش ESR به دلیل افزایش غلظت پلاسما می‌شود. در ضمن افزایش دما نیز سبب افزایش ESR می گردد. مواد ضد انعقاد مثل اگزالات و هپارین، سبب چروکیدگی گلبولها و افزایش کاذب ESR می‌شود.

مراحل سرعت سدیمانتاسیون (ESR) :

سه مرحله وجود دارد :

[1] - Zeta potential

۱) در ۱۰ دقیقه اول، با تشکیل رولو، رسوب اندکی ایجاد می شود.

۲) در حدود ۴۰ دقیقه رسوب با سرعت ثابت

۳) در ۱۰ دقیقه آخر با تراکم سلولها در ته لوله، رسوب کاهش می‌یابد.

روشهای آزمایش :

۱) **روش وینتروب – لانسبرگ :**

بر روی خون رقیق نشده در لوله ماکروهماتوکریت انجام می گیرد.

۲) روش وسترگرن[1]

طول پی پت ۳۰ سانتی متر و قطر داخلی آن ۲/۷-۲/۴ میلیمتر است. در این تست، خون وریدی با ماده ضد انعقاد سیترات تری سدیم به نسبت ۴ حجم خون و یک حجم سیترات مخلوط، و سپس پی پت و سترگرین تا خط صفر از خون پر شده و در جای پی پت تا ۶۰ دقیقه قرار داده می‌شود. و در پایان زمان، سطح پلاسمای صاف شده، تا نزدیکترین خط ستون گلبول قرمز قرائت می‌شود.

نسبت رسوب زتا (ZSR) :

یک دستگاه سانتریفوژ یا zetafuge، لوله های موئینه را به صورت عمودی و چهار دور ۴۵ ثانیه ای چرخانده و سبب تشکیل رولو و رسوب در سه دقیقه می‌شود. لوله موئینه مثل روش میکروهماتوکریت قرائت شده و در نتیجه مقدار زتاکریت[2] محاسبه می گردد. هماتوکریت واقعی بر زتاکریت تقسیم و نتیجه حاصل که به صورت درصد بیان می‌شود را، نسبت رسوب زتا (ZSR) می نامند. این نسبت تحت تاثیر کم خونی قرار نداشته و تفسیر آن، نتایج بهتری را در بردارد.

تفسیر آزمایش ESR :

این تست غیر اختصاصی بوده و نشان دهندهٔ تغییرات پروتئین های پلاسما می‌باشد. با افزایش سن، به علت کاهش مقدار آلبومین، ESR افزایش می‌یابد. افزایش مقدار ماده ضد انعقاد سبب افزایش ESR می‌شود. طبیعی بودن ESR دلیل حتمی سلامتی، نمی‌باشد. اختلاف مقدار ESR در دو جنس مربوط به هورمونهای جنسی است. تستوسترون سبب کاهش ESR می‌شود. در دوران بارداری مقدار ESR از هفته ۱۲-۱۰ شروع به افزایش و یک ماه پس از زایمان به حد طبیعی کاهش می‌یابد.

الف- سدیمانتاسیون بیش از ۱۰۰ میلی متر در ساعت :

۱) میلوم مالتیپل، ماکروگلوبولینمی والدن اشتروم

۲) لوسمی ها، آنمی های شدید، سرطان، عفونت‌های شدید باکتریایی، وجود متاستاز در بیماران سرطانی

۳) بیماریهای شدید کلیوی، ریوی

ب- افزایش متوسط ESR :

۱) بارداری ، قاعدگی، بیماریهای عفونی

۲) تب رماتیسمی، انفارکتوس میوکارد، اختلالات تیروئید، هپاتیت، مسمومیت با سرب

[1] - Westergren method
[2] - Zetacrit

۳) هیپرلیپیدمی

۴) در افراد مسن

ج- طبیعی بودن ESR :

۱) تیفوئید

۲) تب مواج

۳) سیاه سرفه

۴) توکسوپلاسموز

د- کاهش ESR یا صفر بودن آن :

۱) پلی سیتمی

۲) کم خونی داسی شکل

۳) اسفروسیتوز

۴) بیماری HbC

محدوده طبیعی : آقایان mm ۱۵-۲

خانمها mm ۲۰-۳ در ساعت اول

از روشهای دیگر خون شناسی، می توان مطالعه با میکروسکپ الکترونی و ژنتیک ملکولی را نام برد.

بخش دوم

خون سازی

فصل ٦ : سلولهای بنیادی خون سازی و فاکتورهای رشد خون ساز

خون سازی به معنی تولید، تکثیر، تمایز و بلوغ سلولهای خونی است. سیستم هماتوپویتیک شامل بافت ها و اندامهایی است که در تکثیر، بلوغ و تخریب سلولهای خونی نقش دارند، نظیر طحال، غدد لنفاوی، تیموس، مغز استخوان، کبد و سیستم رتیکولواندوتلیال.

تولید و تکامل سلولهای خونی مثل اریتروسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، منوسیت‌ها و پلاکت‌ها، پس از تولد فقط در مغز استخوان صورت می‌گیرد. لنفوسیت‌ها، علاوه بر مغز استخوان، در تیموس و اعضای لنفاوی ثانویه نیز ساخته می‌شوند.

خون سازی مسئول تامین نیازهای بدن است. لنفوسیت‌ها در سیستم ایمنی، مونوسیت ها در عفونت های مختلف، پلاکت‌ها در خونریزی و سیستم انعقادی و التهاب، نقش دارند. همهٔ این سلولها توسط سلولهای ابتدایی یعنی سلولهای بنیادی پرقوه[1] یا چند قوه[2]، تولید می‌شوند که در مغز استخوان وجود دارند.

روند تولید سلولهای خونی معمولاً توسط فیدبک منفی تنظیم می‌شود، یعنی در زمان نیاز به تولید بیشتر، سیتوکین های تحریکی آزاد شده و سبب ایجاد سلولهای جدید می‌شوند.

سلولهای بنیادی پرقوه و چند قوه

در مغز استخوان سلول بنیادی پر قوه و چند قوه ، منشا دو نوع سلول دودمانی اصلی است که عبارتند از : سلول بنیادی لنفوئید[3]، و سلول بنیادی میلوئید یا خونساز[4] (پیش ساز مشترک گرانولوسیت‌ها، منوسیت‌ها، اریتروسیت‌ها، مگاکاریوسیت‌ها). سلولهای پیش ساز هماتوپوئتیک دارای آنتی ژن CD_{34} بوده و کمتر از ۱٪ سلول های مغز استخوان را تشکیل می‌دهند. شکل ظاهری آنها شبیه بلاست ها، و در خون محیطی، به تعداد اندک وجود دارند. این سلولها به دلیل توانایی تشکیل کلونی در طحال، CFU-S [5] نیز نامیده می‌شوند.

سلولهای ابتدایی مذکور، قابلیت تقسیم به سلولهای همنوع خود و همچنین سلولهای دودمانی متعهد با توان رده ای محدود به نام سلولهای دودمانی متعهد[6]، را دارا می‌باشند.

تکامل هر یک از سلولهای ذکر شده، در پاسخ به فاکتورهای محرک کلنی صورت می گیرد و هر کدام، انواعی از سلولهای دیگر را ایجاد می‌کنند :

CFU-GEMM در اثر فاکتور تحریک کننده کلونی گرانولوسیت، منوسیت،انترلوکین۳(IL-3)،فاکتورسلول بنیادی(SCF)، Flt-3L ، تبدیل به CFU-GM یعنی واحد تشکیل دهنده (گرانولوسیت- ماکروفاژ) می‌شود که خود تشکیل CFU-G (پیش ساز نوتروفیل) و CFU-M (پیش ساز منوسیت و ماکروفاژ) را می‌دهد.

---

[1] - pluripotential stemcell
[2] - multipotential stemcell
[3] - Lymphoid stemcell
[4] - myeloid or hematopoietic stem cell or CFU-GEMM
[5] - Colony – Forming units- Spleen
[6] - Commited stem cells

فاکتورهای رشد دیگر سبب ایجاد BFU-E ، CFU-Meg ، CFU-Eo و CFU-Baso و CFU-Mast می‌شوند که به ترتیب تولید اریتروسیت و مگاکاریوسیت وائوزینوفیل و بازوفیل و ماست سل را می نمایند.

برای تشخیص متعهد شدن رده سلولی از بروز آنتی ژنها استفاده می‌شود. سلول بنیادی ابتدایی یا پر قوه دارای آنتی ژن CD_{34} و فاقد CD_{38} است. برای تشخیص تعهد می توان، بروز CD_{38} را همراه با سایر آنتی ژنهای زیر را در نظر داشت : CD_{71} برای تمایز اریتروئید، CD_{33} برای میلوئید، CD_{10} برای B لنفوئید و CD_7/CD_5 برای T- لنفوئید. شکل ۱-۶- نحوه تکامل سلولهای بنیادی را به سلولهای خونی نشان می دهد.

فاکتورهای رشد خونساز یا انترلوکین[1] :

خصوصیات :

۱) این فاکتورها از نظر بیوشیمیایی محلول یا متصل به غشا بوده و در کنترل خونسازی نقش دارند. ۲)تکثیر و تمایز سلولهای پیش‌ساز را تنظیم و سبب تسهیل عملکرد سلولهای خونی می‌شوند.

۳) در مقادیر اندک عمل نموده و توسط انواع مختلف سلولها تولید شده و بر بیش از یک رده سلولی تاثیر می‌گذارند.

۴) از جنس گلیکوپروتئین هستند. از انواع آنها می‌توان موارد زیر را ذکرکرد :

- **اریتروپویتین (EPO)** [2] : تکثیر، رشد و تمایز پیش سازهای اریتروئیدی را بر عهده دارد، و روی بازوی بلند کروموزم ۷، کد بندی می‌شود. توسط کلیه‌ها و به مقدار کمتر از کبد ترشح، و در اثر هیپوکسی تولید آن تحریک می گردد. از نوع گلیکوپروتئین است، و سبب کاهش مدت زمان توقف گلبولهای قرمز در مغز استخوان می شود.

- **فاکتور محرک کلونی گرانولوسیت- ماکروفاژ (GM-CSF)** : اثر اصلی آن بر پیش سازهای گرانولوسیت ماکروفاژ و تحریک عملکرد نوتروفیل ها و ماکروفاژهای بالغ می‌باشد. بر روی بازوی بلند کروموزوم ۵ رمزبندی میشود. بر پیش سازهای مگاکاریوسیت، ائوزینوفیل و اریتروئید نیز موثر است.

- **فاکتور محرک کلونی گرانولوسیت (G-CSF)** : تحریک تولید گرانولوسیت و افزایش تعداد نوتروفیل در بدن را سبب می‌شود.

- **فاکتور محرک کلونی منوسیت- ماکروفاژ (M-CSF) یا (CSF-1)** : تحریک تولید ماکروفاژ و منوسیت و تحریک عملکرد و تکثیر سلولی ماکروفاژهای بالغ را بر عهده دارد.

- **ترومبوپویتین**[3] : لیگاند برای C-mpl ،و تنظیم کننده عمده تکثیر مگاکاریوسیت‌ها و تمایز و تولید پلاکتها و افزایش تعداد پلاکتها در بدن می‌باشد مشابه اریتروپویتین است.

- **انترلوکین (IL-1)** : تعدیل کننده التهاب بوده، و توسط منوسیتها، سلولهای دندرتیک، لنفوسیت ها و تقریباً تمام سلولها تولید می‌شود. تنظیم سیستم ایمنی، ایجاد تب، القای تولید پروتئین فاز حاد، را بر عهده دارد.

[1] - Interleukin
[2] - Erythropoietin
[3] - Thrombopoietin

- انترلوکین ۲ **(IL-2)** : سبب رشد و فعالیت B, T لنفوسیت ها و سلولهای کشنده طبیعی (NK) و افزایش تولید اینترفرون گاما و مهار تولید گلبولهای قرمز، می‌شود.

- انترلوکین ۳ **(IL-3)** یا **Multi-CSF** : مثل GM-CSF عمل، و سبب افزایش تعداد ائوزینوفیل‌ها، گرانوسیت‌ها منوسیت‌ها و ماست سل‌ها می‌شود.

- **خانواده گیرنده تیروزین کیناز** : گیرنده های لیگاند Flt-3 ، C-Kit ، PDGF (عامل رشد مشتق از پلاکت‌ها) و CSF-1 از اعضای این خانواده هستند. قسمت خارج سلولی این گیرنده‌ها حاوی سیستئین و قسمت سیتوپلاسمی دارای فعالیت تیروزین کینازی است.

- انترولوکین ۴ **(IL-4)**: توسط سلولهای T فعال ، و ماست سل ها تولید، و سلولهای B وT و ماکروفاژها و ماست سلها را فعال می‌کند.تولید ایمونوگلوبولین و تولید لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک و کمکی را تحریک می کند.

- انترلوکین ۵ **(IL-5)** : فعال کردن سلولهای T سیتوتوکسیک و ترشح ایمونوگلوبولینها و تحریک ائوزینوفیلها را سبب می‌شود.

- انترلوکین ۶ **(IL-6) :** تمایز سلول B و ترشح ایمونوگلوبولین ها را القا می‌کند. اثر سینرژیستی با اینترلوکین ۱، ۲، ۳، ۴ در تحریک و تکثیر سلولهای میلوئید، دارد.

- انترلوکین ۷ **(IL-7)** : تولید سلولهای pre-B و pre-T را تحریک و سبب افزایش تولید سیتوکین توسط منوسیت ها می‌شود.

- انترلوکین ۸ **(IL-8)** : فاکتور جذب کننده شیمیایی نوتروفیلها و منوسیت ها و سلولهای T است.

- انترلوکین ۹ **(IL-9)** : عامل رشد سلول T و ماست سل بوده و تحریک تکثیر اریتروئید و میلوئید را انجام می دهد.

- انترلوکین ۱۰**(IL-10)** : مهار تولید انترفرون گاما و فاکتور نکروزدهنده تومور (TNF)، را سبب می‌شود.

- انترلوکین ۱۱ **(IL-11)** : افزایش تکثیر سلولهای بنیادی و تشکیل سلولهای B، را بر عهده دارد.

- انترلوکین ۱۲ **(IL-12)** : عامل محرک سلولهای NK و سلولهای CD^{+}_{4} T و سلولهای CD^{+}_{8}T می‌باشد.

- انترلوکین ۱۳ **(IL-13)** : اثرات مشابه IL-4 بر سلولهای B و منوسیت ها را داشته سبب آثار ضد التهابی در ماکروفاژها و تنظیم عملکرد سلولهای B می‌شود.

- انترلوکین ۱۴ **(IL-14)** : القای تکثیر لنفوسیت B و مهار تولید ایمونوگلوبولین را انجام می‌دهد.

- انترلوکین ۱۵ **(IL-15)** : در فعالیتهای 1L-2 شرکت می‌کند.

- انترلوکین ۱۶ **(IL-16)** : محرک رشد لنفوسیت های CD^{+}_{4}T و فاکتور کموتاکتیک منوسیت ها و ائوزینوفیل ها می‌باشد.

- انترلوکین ۱۷ **(IL-17)** : تحریک تولید گرانولوسیت، تولید انواع انترلوکین و تکثیر سلولهای T را سبب می‌شود.

- انترلوکین ۱۸ **(IL-18)** : سبب تولید انترفرون گاما و افزایش فعالیت NK سل می‌شود .

ملکولهای چسبندگی در خون سازی :

این عوامل برای تنظیم واکنشهای بین سلولهای خونساز و فاکتورهای رشد لازم بوده و از مهمترین آنها می توان خانواده سوپرژن ایمونوگلوبولین، انتگرین و سلکتین، را ذکر کرد. پروتئین های چسبندگی علاوه بر تحریک سلولها، نقش تنظیمی دارند که در بعضی موارد شبیه نقش انترلوکین ها می‌باشد.

خونسازی جنینی و بعد از تولد

خونسازی را می توان به سه مرحله تقسیم نمود :

۱) مزوبلاستیک : خونسازی از روز ۱۹ زندگی جنینی در جزایر خونی کیسهٔ زرده آغاز می شود. این جزایر تا هفتهٔ ۸ تا ۱۲ فعال باقی می‌مانند. سلولهای اریتروبلاست اولیه خصوصیات مگالوبلاستیک دارند. هموگلوبین‌های تولید شده شامل پورتلند، Gower-1 و Gower-2 می‌باشند.

۲)کبدی: و در هفته ششم، خونسازی کبدی آغاز (به میزان کمتر در طحال و گره های لنفاوی) و تا هفته هیجدهم کبد عضو خونساز اصلی است. همچنین تولید گلبولهای سفید و مگاکاریوسیت‌ها نیز تا حدودی وجود دارد. هموگلوبین‌های تولید شده شامل F، A ، و A2 می باشد

۳) میلوئید : از نیمه دوم زندگی جنینی به بعد، کانونهای خونسازی در مغز استخوان اهمیت یافته و در زمان تولد، تمام فضای استخوان فعال و از مغز استخوان قرمز پر شده، و خون‌سازی کبدی متوقف می‌شود.

با افزایش سن، بافت چربی یا زرد جایگزین شده و در دوران کودکی، خون فقط در استخوانهای پهن نظیر جمجمه، مهره ها، قفسه سینه، شانه و لگن و بخشهای ابتدائی استخوانهای دراز، ساخته می‌شوند. در بعضی موارد بیماری مثل میلوفیبروز و متاپلازی میلوئید، کانونهای خونسازی کبد و طحال دوباره فعال می‌شوند .

فصل ۷ : اریتروپوئز

سلولهای رده اریتروئید

همانطور که گفته شد، اریتروپوئز[1] به معنی تولید گلبولهای قرمز بالغ از سلولهای پیش ساز اریتروئیدی است. تنظیم‌کننده اولیه این پروسه، اریتروپویتین می‌باشد. طی روند خونسازی ۳ بار تقسیم در مدت ۷۲ ساعت، رخ می‌دهد. سنتز هموگلوبین تا مرحله رتیکولوسیت ادامه می‌یابد. تولید رتیکولوسیت از پرونورموبلاست ۳ تا ۵ روز طول می‌کشد. رتیکولوسیت قبل از رها شدن، ۱ تا ۲ روز در مغز استخوان باقی مانده و در خون محیطی بلوغ آن، یک روز زمان لازم دارد(در مجموع، ۷ روز از پرونورموبلاست تا ایجاد گلبول قرمز بالغ).

برای تعیین علت کم خونی باید اریتروپوئز موثر (تولید و ورود اریتروسیت ها به خون محیطی) و اریتروپوئز غیر موثر (انهدام گلبولها قرمز و نرسیدن آنها به گردش خون محیطی) را بررسی کرد.

۱)پرونورموبلاست[2] :

اولین سلول قابل تشخیص، و بزرگترین سلول رده اریتروسیتی می‌باشد و در طی تقسیم میتوز، بین ۸ تا ۳۲ (متوسط ۱۶ عدد) اریتروسیت بالغ ایجاد می‌کند. کروماتین ظریف، یک تا دو هستک، ۱۲ تا ۲۰ میکرومتر قطر، غشای هسته مشخص، دارد و نام دیگر آن روبری بلاست[3] است. بیشترین نسبت هسته به سیتوپلاسم (۸:۱ = $\frac{N}{C}$) را در رده اریتروئیدی، دارد .

۲)نورموبلاست بازوفیلی[4] یا پروروبری سیت[5] :

سنتز هموگلوبین در این مرحله آغاز می گردد. سلول با ۲بار تقسیم ، ایجاد ۴ نورموبلاست پلی‌کروماتوفیلی می‌کند. ۱۵-۱۰ میکرومتر قطر، کروماتین فشرده و اندکی خشن‌تر است. سیتوپلاسم به علت وجود RNA، بازوفیل می‌باشد و هستک ممکن است دیده شود.

۳) نورموبلاست پلی کروماتوفیلی[6] یا روبری سیت[7] :

پلی کرومازی به معنی، مخلوط رنگ قرمز و هموگلوبین و رنگ آبی RNA است.سنتز هموگلوبین در این مرحله افزایش یافته و از مقدار RNA کاسته می گردد. آخرین مرحله در رده اریتروئیدی است که قدرت تقسیم را دارا می‌باشد. ۱۵-۱۰ میکرومتر قطر داشته، و کروماتین از فشردگی متوسطی ، برخوردار است.

---

[1] - Erythropoiesis
[2] - Pronormoblast
[3] - Rubriblast
[4] - Basophilic Normoblast
[5] - Prorubricyte
[6] - Polychromatic normoblast
[7] - Rubricyte

۴)نورموبلاست ارتوکروماتیک[1] یا متاروبری سیت[2] :

آخرین مرحله در رده اریتروئید است که هسته درآن وجود دارد، و با انقباضات و نوسانات سیتوپلاسمی هسته، از سلول، بیرون رانده می‌شود. قادر به سنتز DNA و تقسیم سلولی نیست و اغلب با عنوان گلبول قرمز هسته‌دار(NRBC) ،در خون محیطی گزارش می‌شود. ۸ تا ۱۰ میکرومتر قطر،کروماتین فشرده وهسته کوچک‌و پیکنوتیک است.

۵)رتیکولوسیت[3] :

اندکی بزرگتر از اریتروسیت بالغ با باقیمانده ای از RNA است که بصورت دانه های بازوفیلی رنگ گرفته و وضعیت پلی کرومازی را به سلول می بخشد. با رنگ های خاص مثل نیومتیلن بلو، قطعات RNA بصورت شبکه قابل مشاهده در میکروسکوپ، رنگ می‌گیرند. پس از یک تا دو روز به اریتروسیت بالغ تبدیل می‌شوند. شمارش رتیکولوسیت، اندیس مناسبی برای ارزیابی فعالیت خونسازی موثر مغز استخوان می‌باشد.

اریتروسیت

۶ تا ۸ میکرومتر قطر، ۱۲۰ روز طول عمر داشته و عمل آن انتقال اکسیژن از ریه ها به بافتها و سلولها (بوسیله هموگلوبین) است. ۹۰٪ آنرا هموگلوبین و ۱۰٪ آب، تشکیل می‌دهد. قابلیت انعطاف آن، سبب عبور آن از رگ های کوچک می‌شود. آنزیم های سنتز پروتئین و چربی را از دست داده و در نتیجه متابولیسم محدودی را دارا می‌باشد. برای انجام عملکرد و زنده ماندن، اریتروسیت باید دارای غشای سالم سلولی باشد. پایداری RBC ، مستلزم وجود ATP کافی است که از گلیکولیز حاصل می‌شود. برای تامین سلامتی گلبول قرمز، ۴ سیستم عمل می‌کنند. ۱) دوره امبدن میرهوف[4] ۲) شانت هگزوزمنوفسفات[5] که از انباشته شدن آب اکسیژنه در اریتروسیت جلوگیری می‌کند. آب اکسیژنه هموگلوبین رادناتوره می نماید ۳) آنزیم مت هموگلوبین ردکتاز که آهن را بصورت فریک نگه می دارد. ۴) شانت راپاپورت لوبرینگ[6] که تحویل اکسیژن را به بافتها تنظیم می‌کند.

تخریب اریتروسیت :

اسیدسیالیک غشا در اریتروسیت‌های پیر، کاهش یافته و سیالوگلیکوفورین یا آنتی ژن کهولت[7]، با آنتی بادی های میزبان تماس یافته، و در نتیجه گلبول قرمز به علت مقاومت کمتر در زمان عبور از پولپ قرمز طحال، تخریب می‌شود. در هر ثانیه، سه میلیون اریتروسیت به طور طبیعی تخریب می‌شوند. در بعضی حالات بیماری مثل کم خونی همولیتیک خود ایمنی با اتصال اتوآنتی بادی ها و یا در نقایص ساختمانی یا متابلیک، عمر گلبولهای قرمز کوتاهتر شده و بر تخریب اریتروسیت ها افزوده می‌شود.

---

[1] - Orthochromatic normoblast
[2] -Meta rubricyte
[3]- Reticulocyte
[4] - Embden-meyerhof pathway
[5] - Hexose monophosphate shunt
[6] - Luebering Rapaport sunt
[7] - Sceneseat Ag

بلوغ مگالوبلاستی

در اثر کمبود ویتامین B_{12} یا اسید فولیک، سلولهای غیر طبیعی مگالوبلاست، به دلیل اختلال در سنتز DNA ، ایجاد می‌شوند که در آنها بلوغ هسته ای از بلوغ سیتوپلاسمی عقب‌تر است.

تنظیم تولید اریتروسیت

تعداد اریتروسیت ها ، توسط تغییر سرعت تولید، تنظیم می‌شود. میزان تولید در اثر کاهش فشار اکسیژن و اختلالات قلبی ریوی بیشتر شده و در نتیجه تعداد رتیکولوسیت ها در خون محیطی، افزایش می‌یابد.

میل ترکیبی هموگلوبین به اکسیژن توسط ۲ و ۳ دی فسفو گلیسرات (2, 3-DPG) در اریتروسیت، تنظیم می‌شود. فسفاتها با زنجیره β مربوط به هموگلوبین احیا ترکیب و سبب کاهش میل ترکیبی هموگلوبین به اکسیژن می‌شوند (مثل شرایط بافت)، در نتیجه اکسیژن از هموگلوبین جدا می‌شود.

هیپوکسی بافتی سبب افزایش هموگلوبین احیا و اتصال آن به 2,3-DPG و کاهش تمایل به اکسیژن شده و در صورت ادامه وضعیت، کاهش مقدار 2,3-DPG ، سبب افزایش گلیکولیز و تولید بیشتر 2,3- DPG می گردد. همچنین هیپوکسی سبب تحریک تولید اریتروپویتین (EPO) و تاثیر آن بر سلولهای بنیادی و تولید پرونورموبلاست بیشتر می‌شود. افزایش اریتروپویتین در خون در هیپرپلازی اریتروئید و کم خونی آپلاستیک و کاهش آن در پلی سیتمی ورا، و پس از انتقال خون وجود دارد.

سنتز هموگلوبین

هِم[1] در سلولهای پیش ساز رده اریتروئید به جز اریتروسیت‌های بالغ و به مقدار کمتر در سایر سلولهای بدن ساخته می‌شود مراحل سنتز به قرار زیر است :

۱) سوکسینیل کوآنزیم A + گلیسین اسید دلتا آمینولوولینیک[2] (ALA)

واکنش در میتوکندری به کمک آنزیم ALA سنتتاز صورت می‌گیرد. دفع ALA در مسمومیت با سرب و یا اختلالات آنزیمی در ادرار افزایش می‌یابد.

۲) ۲ ملکول ALA ⟵ پورفوبیلینوژن منوپیرول[3]

آنزیم لازم برای واکنش، ALA- دهیدراز می‌باشد. دفع پورفوبیلینوژن در پورفیری دوره ای حاد افزایش می‌یابد.

۳) ۴ ملکول پورفوبیلینوژن ← حلقه تتراپیرول اوروپورفیرینوژن[4] III

۴) اوروپورفیرینوژن III ← کوپروپورفیرینوژن[5] III ← پروتوپورفیرینوژن IX ← پروتوپورفیرین IX

۵) پروتوپورفیرین[6] IX ⟵ HEME

در مسمومیت با سرب و کمبود آهن، سطح پروتوپورفیرین آزاد اریتروسیت (FEP) افزایش می‌یابد.

---

[1] - Heme
[2] - Δ -aminoLevuLinic acid
[3] - Monopyrrole porphobilinogen
[4] - Uroporphyrinogene III
[5] - Coproporphyrinogen
[6] - proto porphyrin

ساخت گلوبین در ریبوزوم سلولهای رده اریتروئید (نرموبلاستها و رتیکولوسیتها) انجام می‌گیرد. کنترل سنتز هم از طریق تنظیم فعالیت ALA سنتتاز صورت می‌یابد. ساخت گلوبین تابعی از Heme است.

ساختمان و عمل هموگلوبین :

هموگلوبین A از ۴ گروه Heme و ۲ زنجیره α و ۲ زنجیره β پلی پپتیدی تشکیل یافته است. اتمهای آهن فرو، با شش پیوند با ملکول در ارتباط هستند. ۴ پیوند با نیتروژنهای پیرول Heme، یک پیوند با نیتروژن ایمیدازول مربوط به هیستیدین زنجیره گلوبین و یک پیوند با اکسیژن ، وجود دارد. هر گروه Heme به یک ملکول اکسیژن متصل می‌شود.

با توجه به نمودار تفکیک Hb- اکسیژن، (نمودار ۱-۷) نتایج زیر حاصل می گردد:

۱)انحراف منحنی به راست : کاهش pH ، افزایش دما، افزایش 2,3 DPG

۲)انحراف منحنی به چپ : افزایش pH

تخریب هموگلوبین :

پس از تخریب گلبولهای قرمز، هموگلوبین آزاد شده و توسط ماکروفاژها به پروتوپورفیرین، گلوبین و آهن تجزیه می‌شود. آهن و گلوبین به منابع ذخیره‌ای مربوطه برگشت یافته، و پروتوپورفیرین تجزیه و به بیلی‌روبین تبدیل و دفع می‌شود.

پروتوپورفیرین توسط آنزیم هم اکسیداز با از دست دادن Co_2 به بیلی وردین تبدیل و آنهم به بیلی‌روبین احیا شده وتوسط آلبومین به کبد حمل و در آنجا با گلوکورونید، کونژوگه، و در صفرا دفع می‌گردد.در روده‌ها،بیلی‌روبین به اوروبیلینوژن[1]، مزوبیلی روبینوژن[2]، استرکوبیلینوژن[3] تبدیل می‌شود.

برای تخمین میزان شکسته شدن هموگلوبین از روشهائی مثل اندازه گیری Co بازدمی، و اوروبیلینوژن مدفوع استفاده می گردد.

بررسی اریتروپوئز موثر :

شمارش رتیکولوسیت : وجود رتیکولوسیت، نشانه تولید گلبول توسط مغز استخوان است، لذا پس از کاهش هماتوکریت باید در صورت موثر بودن اریتروپوئز، تولید رتیکولوسیت بیشتر شده، و در عرض یک هفته تعداد آن به ۲ یا ۳ برابر افزایش پیدا کند (به شرط وجود منابع کافی آهن).

شمارش رتیکولوسیت براساس مقدار هماتوکریت باید اصلاح شود با توجه به جدول ۱-۷، اگر میزان هماتوکریت به ۳۵ کاهش یافته و درصد رتیکولوسیت ۴ درصد و تعداد گلبولهای قرمز $۳/۷۵ \times ۱۰^{۱۲}$ باشد، تعداد رتیکولوسیت ها ۱۵۰×۱۰^{۹} /L خواهد بود، و در مقایسه با شمارش رتیکولوسیت طبیعی که حدود ۵۰×۱۰^{۹} /L است، در نتیجه تعداد رتیکولوسیت‌ها حدود ۳ برابر مقدار طبیعی می‌باشد، ولی با توجه به جدول زیر باید این مقدار به علت افزایش زمان بلوغ اصلاح شود یعنی : $3 \times \frac{1}{1/5} = 2$

بنابراین در این بیمار، تولید گلبولهای قرمز دو برابر مقدار طبیعی است.

[1] - Urobilinogen
[2] - Mesobilirubinogen
[3] - Stercobilinogen

جدول ۱-۷- مدت بلوغ رتیکولوسیت با توجه به میزان هماتوکریت

هماتوکریت (درصد)	مدت بلوغ رتیکولوسیت (برحسب روز)
۴۵	۱
۳۵	۱/۵
۲۵	۲
۱۵	۲/۵

برای بررسی اریتروپوئز موثر، می توان با استفاده از آهن رادیواکتیو ، مصرف آهن در اریتروسیت را نیز محاسبه نمود.

فصل ۸ : لکوپوئز

لکوپوئز[1]، پروسه ای است که در طی آن، گلبولهای سفید تمایز و تکثیر می‌یابند. لکوپوئز در مغز استخوان صورت می‌گیرد به جز لنفوسیتها که در تیموس و مغز استخوان و بافت های لنفاوی، تکثیر می‌یابند. لکوسیت ها براساس عملکرد، منشا، و مرفولوژی، طبقه بندی می‌شوند، و شامل نوتروفیل، انوزینوفیل و بازوفیل و لنفوسیت و منوسیت می‌باشند.

گرانولوسیت ها

گرانولوپوئز تولید گرانولوسیت های بالغ یعنی نوتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل را بر عهده دارد. تبدیل مرحله بلاست به اشکال بالغ و ورود به خون محیطی ۴ روز طول می کشد. نوتروفیل و بازوفیل و ائوزینوفیل دارای ۶ مرحله مرفولوژیک می‌باشند. گرانولوسیت ها، سلولهایی هستند که دارای گرانولهای قابل مشاهده بوده و براساس نوع گرانولها تقسیم بندی می‌شوند.

گرانولهای نوتروفیل حاوی اسید فسفاتاز، اسید هیدرولاز، پرکسیداز، مورامیداز، لاکتوفرین می‌باشند که برای عملکرد فاگوسیتی سلول ضروری هستند.

گرانولهای ائوزینوفیل شامل پراکسیداز، اسید فسفاتاز و آنزیم های پروتئولیتیک بوده، ولی فاقد فسفاتاز قلیائی هستند. عملکرد ائوزینوفیل در آلرژی، عفونتهای انگلی، مهم می‌باشد. ائوزینوفیل در حقیقت یک سلول بافتی اولیه بوده و مدت زمان بسیار کوتاهی را در خون محیطی سپری می‌کند.

گرانولهای بازوفیل حاوی هیستامین، هپارین، کندروتین سولفاتها می‌باشند، که در واکنشهای ازدیاد حساسیت فوری، اهمیت دارند.

جدول ۱-۸- اعمال گرانولوسیتها

نوع سلول	عمل
نوتروفیل	دفاع بدن در برابر باکتریها و اجرام خارجی و برداشت سلولهای مرده
ائوزینوفیل	دفاع در برابر انگلها و محدود کردن واکنشهای آلرژیک
بازوفیل	شرکت در واکنشهای ازدیاد حساسیت فوری با آزاد کردن هیستامین و هپارین از گرانولهای بازوفیلی

سلول اجدادی مشترک نوتروفیلها و منوسیت (CFU-GM) پس از تقسیم، سلولهای پیش‌ساز گرانولوسیت ها (CFU-G) و منوسیت ها (CFU-M) را می سازند. CFU-G و CFU-M، تحت تاثیر عوامل محرک به ترتیب میلوبلاستها و منوبلاستها را ایجاد می‌کنند.

بلوغ نوتروفیل، از میلوبلاست تا نوتروفیل بالغ حدود ۱۰ تا ۱۴ روز طول می‌کشد. در رده گرانولوسیت ها چند مرحله وجود دارد :

۱) مرحله میتوزی[2] یا مرحله‌ای که در آن، تکثیر صورت می‌گیرد، شامل سلولهایی که قادر به تقسیم میتوزی هستند.

۲) مرحله بعد از میتوز[3] یا مرحله‌ای که طی آن، تمایز صورت گرفته است، و شامل سلولهایی می باشد که میتوز انجام نمی‌دهند.

۳) مرحله ذخیره ای[1] که به دو حوزه حاشیه ای[2] و حوزه در گردش[3]، تقسیم می‌شود. حوزه حاشیه ای، نوتروفیل هایی را در بر می‌گیرد که به اندوتلیوم رگ ها چسبیده، و زمانی که نیاز به وجود نوتروفیل ها، افزایش یابد، به حوزه در گردش وارد می‌شوند. حوزه در گردش،

[1] - Leukopoiesis
[2] - Mitotoic pool or proliferation pool
[3] - Postmitotic pool

نوتروفیل هایی را شامل است که به عنوان شمارش گلبولهای سفید یا WBC ، مطرح هستند. در کمتر از یک روز پس از ورود به خون، نوتروفیل از جریان خون به بافتها وارد شده و اگر در تشکیل اگزودای التهابی مصرف نشود، در عرض چند روز از طریق ترشحات برونش، بزاق، دستگاه گوارش و ادرار از بدن خارج، و یا توسط سیستم رتیکولواندو تلیال تخریب می‌شود.

میلوبلاست[۴]

اولین سلول رده گرانولوسیتی در مغز استخوان است. قطر ۱۵ تا ۲۰ میکرومتر، هسته بزرگ و مدور تا بیضی شکل، کروماتین به صورت رشته‌های ظریف، هستک یک تا ۵ عدد به رنگ آبی و گرد، سیتوپلاسم کم رنگ، آبی روشن و فاقد گرانول، نسبت $\frac{N}{C}$، ۵ تا ۷ به یک می‌باشد .

پرومیلوسیت[۵]

اندازه ۲۱-۱۲ میکرومتر، شکل هسته بزرگ و گرد تا بیضی به رنگ آبی تیره، کروماتین ظریف ولی در بعضی قسمتها ضخیم تر است. هستک ۲ تا ۳ عدد، سیتوپلاسم افزایش یافته، گرانولهای غیر اختصاصی یا اولیه یا آزروفیلیک در سیتوپلاسم وجود دارند. نسبت $\frac{N}{C}$ ۲ تا ۵ به یک می‌باشد .

میلوسیت[۶]

اندازه ۱۰ تا ۱۸ میکرومتر، هسته بزرگ، گرد یا بیضی با کروماتین خشن تر به رنگ آبی، فاقد هستک، در سیتوپلاسم، گرانولهای اختصاصی یا ثانویه ظاهر می‌شوند. آخرین سلولهای با قابلیت تقسیم میتوزی می‌باشند.نسبت $\frac{N}{C}$ ۳ تا ۴ به یک است.

متامیلوسیت[۷]

۱۰ تا ۱۶ میکرومتر، هسته کلیوی یا لوبیایی شکل با کروماتین فشرده و خشن به رنگ آبی ارغوانی، سیتوپلاسم افزایش یافته و رنگ آن صورتی و پر از گرانولهای اختصاصی بوده و تعداد گرانولهای اولیه اندک است .

سلول باند[۸]

---

[1] - Storage pool
[2] - Marginal pool
[3] - Circulating pool
[4]- Myelocyte
[5] - Promyelocyte
[6] - Myelocyte
[7] - Metamyelocyte
[8] - Juvenile or Band or stab cell

قطر ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر، هسته به شکل C یا S به رنگ ارغوانی با کروماتین فشرده، سیتوپلاسم صورتی مایل به بنفش و تعداد بیشتری از گرانولهای اختصاصی را دارا می‌باشد .

نوتروفیل[1]

قطر ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر هسته دارای ۲ تا ۵ لوب به رنگ ارغوانی تیره و کروماتین خشن و فشرده ، سیتوپلاسم حاوی گرانولهای اختصاصی محتوی آنزیم های کلاژناز و مورامیداز و گرانولهای غیراختصاصی یا آزروفیل دارای آنزیم های لیزوزومی مثل اسید فسفاتاز، پراکسیداز و مورامیداز، می‌باشد. تعداد گرانولهای اختصاصی دو برابر گرانولهای آزروفیل است. گرانولهای نوع سوم که از نظر اندازه مشابه گرانولهای اختصاصی هستند، حاوی ژلاتیناز می‌باشند. نوتروفیلها در دفاع علیه بیماری های عفونی اهمیت داشته و برای بخش FC از IgG و کمپلمان C_3 ، گیرنده دارند، و به ذرات پوشیده از این اجزا چسبیده، و آنها را می‌بلعند .

ائوزینوفیل[2] :

از سلولهای پیش ساز متعهد ائوزینوفیل یعنی CFU-EO در مغز استخوان تولید و تمایز می‌یابند. اولین مرحله قابل تشخیص، میلوسیت ائوزینوفیلی است که از میلوبلاست جداگانه ای مشتق شده است. اندازه ائوزینوفیل ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر، هسته دارای یک تا سه لوب، به رنگ ارغوانی تیره، سیتوپلاسم حاوی گرانولهای اختصاصی ائوزینوفیل می‌باشد(شکل ۸-۸ و شکل رنگی ۱-۸). گرانولهای اختصاصی دارای MBP [3] یا پروتئین بازی اصلی است که برای انگلها و سلولها سمی بوده و هپارین را خنثی و آزاد شدن هیستامین از بازوفیلها را القا می‌کند. در گرانولهای اختصاصی همچنین،

۱) پروتئین کاتیونی ائوزینوفیل یا ECP [4] (که سبب کوتاه شدن زمان انعقاد می‌شود)،

۲) نوروتوکسین مشتق از ائوزینوفیل یا EDN و

۳) پروتئین X ائوزینوفیل، وجود دارند.

نیمه عمر ائوزینوفیل در خون ۱۰ تا ۱۸ ساعت و در بافتها ۱۰۰ برابر خون است. اعمال ائوزینوفیل عبارتند از :

۱) نقش فاگوسیتی

۲) تعدیل پاسخهای التهابی

۳) از بین بردن کرمها

۴) شرکت در واکنشهای حساسیت، آسم و بیماریهای میوکاردیال

۵) بیگانه‌خواری کمپلکس های آنتی ژن- آنتی بادی

[1] - Neutrophil
[2] - Eosinophil
[3] - Major basic protein
[4] - Eosinophilic cationic protein

بازوفیل[1]

از سلولهای پیش ساز CFU-Baso در مغز استخوان تولید و تمایز می‌یابد. اولین مرحله قابل تشخیص میلوسیت بازوفیلی است. گرانولهای بازوفیل حاوی هیستامین ، هپارین و پراکسیداز می‌باشد. بازوفیل هیستامین و ECFA [2] را ذخیره می‌کند. در زمان تحریک، ماده SRSA [3] یا ماده با واکنش آهسته مربوط به آنافیلاکسی و فاکتور فعال کننده پلاکت یا PAF[4] را سنتز و آزاد می‌نماید.

گرانولهای بازوفیل رنگ آبی بنفش تیره داشته و نامنظم و غیریکنواخت می‌باشند. بازوفیلها در واکنشهای افزایش حساسیت زودرس مثل آسم آلرژیک (به واسطه ایمونوگلوبین E) نقش داشته، و سبب تجمع ائوزینوفیلها (به واسطه آزادسازی ECFA) می‌شوند.

بازوفیل ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر قطر، هسته یک تا سه لوب به رنگ ارغوانی تیره با کروماتین خشن و فشرده و دارای گرانولهای آبی تیره در سیتوپلاسم می‌باشد(شکل ۹-۸ و شکل رنگی ۱-۸). ماست سل[5] یا بازوفیل بافتی از سلولهای بافت همبند با منشا مزانشیمی است که در خون دیده نمی‌شود، ولی در تمام بافت های بدن مثل مغز استخوان، تیموس و طحال وجود دارد. بزرگتر از بازوفیل بوده و هسته در زیر گرانولهای قرمز ارغوانی فراوان مخفی است گرانولهای ماست سل بر خلاف بازوفیل دارای سروتونین و آنزیمهای پروتئولیتیک می‌باشند .

رده منوسیت و ماکروفاژ

سلولهای رده منوسیتی مثل نوتروفیل از سلولهای CFU-GM مغز استخوان منشا می گیرد. بلوغ منوسیتها در مغز استخوان طی ۲ یا ۳ تقسیم میتوزی حدود ۶۰ ساعت طول کشیده و پس از آن به خون محیطی راه می‌یابند. در مغز استخوان ذخیره منوسیت وجود نداشته و در خون محیطی در دو حوزه حاشیه ای و در گردش تقسیم می گردند. منوسیت ها ۱۲ تا ۱۴ ساعت در خون محیطی حضور داشته و سپس به بافتها وارد و به ماکروفاژها تبدیل و ماهها تا سالها زنده باقی می‌مانند.

منوسیت ها و ماکروفاژهای تمایز یافته بخشی از سیستم فاگوسیت های تک هسته‌ای [6] (MPS) می‌باشند. ماکروفاژهای کبدی را- ، سلولهای کوپفر[7] می نامند.

اعمال منوسیت :

منوسیت ها دارای چند عملکرد می‌باشند :

۱) با فاگوسیتوز مواد مختلف، از بدن محافظت می‌کنند. منوسیت ها سلولهای مرده یا در حال مرگ، باکتریها، قارچها و ویروسها را از بین می برند. در زمان عفونت پس از افزایش نوتروفیلها، منوسیتها نیز ازدیاد یافته و به نوتروفیل‌ها کمک می‌کنند.

۲) منوسیت ها در پردازش آنتی ژنهای اختصاصی برای تشخیص توسط لنفوسیتها و انجام واکنشهای بعدی ایمنی نقش دارند.

---

[1] - Basophil
[2] - Eosiniphil chemotactic Factor of anaphylaxis
[3] - Slow-reacting Substance of anaphylaxis
[4] - Platelet – activating Factor

[6] - Mono nuclear phagocytic system(MPS)
[7] - Kupffer’s cells

۳) منوسیت ها به عنوان عوامل ضد تومور در تشخیص عوامل خودی یا غیرخودی موثرند.

۴) منوسیت ها تولید و ترشح مواد مختلف نظیر لیزوزوم ها، فاکتورهای محرکه کلنی (CSF)، ترومبوپلاستین مواد فعال کننده پلاکتی و کمپلمان را برعهده دارند.

مراحل بلوغ منوسیتی :

منوبلاست[1]

در مغز استخوان طبیعی، تشخیص منوبلاست از میلوبلاست امکان پذیر نیست. اندازه سلول ۱۲ تا ۲۰ میکرومتر، هسته گرد تا بیضی به رنگ آبی صورتی یا قرمز ارغوانی و کروماتین ظریف دارای صفر تا سه هستک، سیتوپلاسم بازوفیلی و یکنواخت و فاقد گرانول می‌باشد .

پرومنوسیت[2]

اندازه ۱۴ تا ۱۸ میکرومتر، هسته بیضی شیاردار با کروماتین نسبتاً متراکم به رنگ قرمز صورتی یا ارغوانی و حاوی صفر تا دو هستک، سیتوپلاسم آبی خاکستری و دارای گرانولهای آزروفیل ظریف می‌باشد .

منوسیت :

اندازه ۱۲ تا ۲۰ میکرومتر ، هسته نعل اسبی به رنگ ارغوانی و کروماتین با تراکم بیشتر، سیتوپلاسم آبی خاکستری،دارای گرانولهای ظریف و غبارمانند و واکوئل می‌باشد .

گرانولها در پرومنوسیت، منوسیت و ماکروفاژها، حاوی اسیدهیدرولاز، آریل سولفاتاز، واستراز غیر اختصاصی و پراکسیداز هستند.

ماکروفاژ[3]

اندازه ۲۰ تا ۵۰ میکرومتر، هسته گرد تا بیضی به رنگ آبی ارغوانی و کروماتین مشبک و یک تا دو هستک ، سیتوپلاسم دارای واکوئل و به رنگ آبی آسمانی و گرانولهای آزروفیل خشن می‌باشد.

آنی ژن CD_4 علاوه بر T – سل های کمکی، بر روی منوسیت ها و ماکروفاژها نیز وجود دارد، لذا ویروس HIV علاوه بر سلولهای T کمکی ، منوسیت ها و ماکروفاژها را نیز آلوده می‌کند.

رده لنفوسیتها

لنفوسیتها در تشخیص آنتی ژن و صدور پاسخ ایمنی نقش داشته، و به دو گروه لنفوسیت های B, T تقسیم می‌شوند. بلوغ سلولهای T در تیموس و سلولهای B در مغز استخوان و اعضای لنفاوی محیطی صورت می گیرد. لنفوسیت‌های T، ۶۰ تا ۸۰ درصد سلولها را در حوزه لنفوئیدی تشکیل می‌دهند. محل اولیه بلوغ لنفوسیت B در پرندگان، بورسافابریسیوس، و در انسان در هفته ۸ تا ۹ جنینی در کبد، و پس از تولد، تمایز لنفوسیت های B در مغز استخوان صورت گرفته و سپس در غدد لنفاوی ، طحال، و سایر بافت های لنفاوی توزیع می‌شوند. تمایز نهائی آنها، تبدیل لنفوسیت B به پلاسما سل در حضور سلولهای T و ماکروفاژ و آنتی ژن می‌باشد. لنفوسیتهای B ۱۰ تا ۲۰ درصد لنفوسیتها را تشکیل می‌دهند.

[1] - Monoblast
[2] - Promonocyte
[3] - Macropage

نوع سوم لنفوسیتها که خصوصیات T و B را ندارند، لنفوسیت های null را تشکیل می‌دهند، و کمتر از ۱۰ درصد جمعیت لنفوسیتها را شامل هستند. اکثر لنفوسیتها عمر طولانی حدود ۴ تا ۱۰ سال دارند اما عمر بعضی از آنها حدود ۳ تا ۴ روز است.

عملکرد لنفوسیتها

لنفوسیتهای B در سیستم ایمنی هومورال مسئول سنتز آنتی بادی و پاسخ به آنتی ژن می‌باشند. لنفوسیت های T در سیستم ایمنی سلولی، نابودی تومور، رد پیوند، دفاع در برابر عوامل درون سلولی و ازدیاد حساسیت تاخیری، نقش دارند. لنفوسیت های T همچنین تنظیم واکنشهای ایمنی هومورال را از طریق کمک یا مهار فعالیت لنفوسیت های B، و تنظیم فعالیت های خونسازی را به وسیلهٔ تولید فاکتورهای محرک کلنی (CSF) بر عهده دارند.

مراحل بلوغ لنفوسیت ها :

لنفوبلاست[1]

اندازه ۱۰ تا ۲۰ میکرومتر، هسته گرد یا بیضی با غشای هسته مشخص، رنگ هسته آبی ارغوانی، کروماتین خشن‌تر از میلوبلاست می‌باشد نسبت $\frac{N}{C}$ ۴ تا۷ به یک می باشد. هستک صفر تا سه عدد، سیتوپلاسم بازوفیلی و فاقد گرانول است .

پرولنفوسیت[2]

اندازه ۹ تا ۱۸ میکرومتر، هسته گرد به رنگ آبی تا قرمز ارغوانی ، کروماتین خشن، سیتوپلاسم بازوفیلی و فاقد گرانول است

لنفوسیت کوچک

اندازه ۷ تا ۱۰ میکرون، هسته گرد تا بیضی به رنگ آبی ارغوانی با کروماتین خشن، و سیتوپلاسم اندک بدون گرانول یا بندرت با گرانولهای آزروفیل می‌باشد .

لنفوسیت بزرگ

اندازه ۱۲ تا ۱۶ میکرون، هسته گرد تا بیضی به رنگ آبی ارغوانی با کروماتین خشن، و سیتوپلاسم بیشتر می‌باشد سیوپلاسم ممکن است حاوی چند گرانول آزروفیل باشد

لنفوسیت واکنشی[3] **یا آتی پیک**

اندازه ۱۰ تا ۲۰ میکرومتر، هسته گرد، ارغوانی قرمز، کروماتین ظریف تا خشن، سیتوپلاسم آبی رنگ که در قسمتهای حاشیه ای پر رنگ‌تر می‌باشد .

پلاسما سل

اندازه ۱۰ تا ۲۰ میکرون ، هسته گرد یا بیضی و خارج از مرکز به رنگ آبی ارغوانی تیره و کروماتین خشن و متراکم با سیتوپلاسم بازوفیلی و منطقه روشن در دور هسته، و بدون گرانول می‌باشد.

[1] - Lymphoblast
[2] - Prolymphocyte
[3] - Reactive Lymphocyte(Atypical Lymphocyte)

سلولهای کشنده طبیعی[1] (NK) :

سلولهای NK و T، ارتباط تکاملی نزدیکی داشته و احتمال دارد که هر دو پیش ساز مشترک (T/NK) داشته باشند، ولی به احتمال فراوان مغز استخوان ، جایگاه اصلی تمایز سلول NK است، گرچه در تیموس نیز، تمایز سلولهای NK مقدور می‌باشد.

بافت لنفاوی ثانویه

شامل طحال، گره های لنفاوی و بافت لنفوئیدی روده است. لنفوسیتها در اواخر زندگی جنینی و بعد از تولد در بافت لنفاوی ثانویه تولید می‌شوند.اعضای لنفاوی ثانویه ازسلولهای T, B تشکیل شده اند.

[1] - Nataral killer cell

فصل ۹ : تولید پلاکت

رده ترومبوسیت[1] یا پلاکت :

تولید پلاکت در نتیجه تمایز استم سل پر قوه در مغز استخوان ، انجام می گیرد. اولین سلول قابل تشخیص در رده پلاکت (در اثر فاکتور محرکه کلنی و ترمبوپوئیتین) مگاکاریوبلاست[2] می‌باشد.

اندومیتوز[3] (تقسیم هسته بدون تقسیم سیتوپلاسم یا سلول) در مگاکاریوبلاست سبب ایجاد یک سلول غول آسای چند هسته ای با ۸ تا ۱۸ هسته می‌شود. بلوغ مگاکاریوبلاست حدود ۵ روز طول می کشد.

پلاکتها از سیتوپلاسم مگاکاریوسیت تولید میشوند. پس از ورود پلاکتها به داخل سینوس ها، حدود ۸ تا ۱۰ روز در جریان خون زنده می‌مانند. هر مگاکاریوسیت حدود دو هزار تا چهارهزار پلاکت تولید می‌کند. $\frac{2}{3}$ پلاکتهای بدن در جریان خون و $\frac{1}{3}$ در طحال به صورت ذخیره‌ای، وجود دارند.

نقش اساسی پلاکتها، شرکت در هموستاز اولیه و حفظ یکپارچگی رگها، از طریق تشکیل میخ پلاکتی[4] در محل آسیب می‌باشد تا از خروج خون جلوگیری شود. اگر گاسیون پلاکتی عامل تشکیل میخ پلاکتی است.

مراحل بلوغ پلاکتی

مگاکاریوبلاست :

اندازه ۱۵ تا ۳۵ میکرومتر، هسته گرد یا بیضی به رنگ قرمز ارغوانی، دارای صفر تا ۶ هستک، سیتوپلاسم آبی بازوفیلی و معمولا بدون گرانول، نسبت $\frac{N}{C}$ ، ۳ تا ۵ به یک می‌باشد .

پرومگاکاریوسیت :

اندازه ۳۰ تا ۶۰ میکرومتر، هسته گرد یا بیضی دارای ۲ تا ۴ لوب به رنگ قرمز ارغوانی و کروماتین خشن با سیتوپلاسم آبی و دارای گرانولهای آزروفیلی می‌باشد .

مگاکاریوسیت گرانولر :

اندازه ۴۰ تا ۹۰ میکرومتر، گرانولهای قرمز صورتی در سیتوپلاسم و پراکندگی و افزایش لوبهای هسته دیده می‌شود.

مگاکاریوسیت بالغ :

اندازه ۴۰ تا ۱۰۰ میکرومتر، هسته، لوبهای متعدد و به رنگ قرمز ارغوانی با کروماتین خشن، سیتوپلاسم آبی کمرنگ تا صورتی و گرنولهای مجتمع به صورت توده های کوچک که در نهایت با فرو رفتن غشاهای سطحی پلاکتها بصورت قطعات سیتوپلاسمی جدا و رها می‌شوند .

---

[1] - Thrombocyte
[2] - Megakaryoblast
[3] - Endomitosis
[4] - Platelet plug

پلاکت :

اندازهٔ آن یک تا ۴ میکرون و دارای گرانولهای قرمز ارغوانی می باشد عمر آن در جریان خون ۷ تا ۱۰ روز است . ممکن است در بعضی اختلالات مثل میلوفیبروز و ترومباستنی ، پلاکت ژیانت[1] دیده شود . ژیانت پلاکت از گلبولهای قرمز و یا گرانولوسیتها بزرگتر است.

آزمایش مغز استخوان

مطالعه و بررسی سلولهای خونساز و اختلالات آن به دو روش بیوپسی و آسپیراسیون صورت می‌گیرد و قبل از آن حتماً بایستی خون محیطی بدقت آزمایش شود. مغز استخوان در بزرگسالان ۱۳۰۰ تا ۱۵۰۰ گرم وزن دارد و در عرض چند ساعت تا چند روز ممکن است کاملا تغییر شکل یابد. محل مناسب برای انجام آسپیراسیون مغز استخون، استخوان جناغ یا خار خلفی خاصره لگن می‌باشد.

گسترش های مغز استخوان :

بهترین ماده برای تهیه گسترش های مناسب، ذرات خاکستری مغز استخوان است که در زیر میکروسکپ حاوی حفرات نامنظم چربی می‌باشد. وجود ذرات نامنظم چربی در گسترش، نشان دهنده مغز استخوان بودن نمونه است. برای بررسی می توان نمونه را با رنگ های رومانوفسکی[2] رنگ آمیزی نمود.

برای بررسی ذخایر آهن از تست پرل[3] استفاده می‌شود. در حضور هموسیدرین یا فریتین واکنش آبی پروس ایجاد می گردد که در بزرگسالان +۲ طبیعی است. آهن ذخیر ای مغز استخوان در ماکروفاژها قرار دارد و در موارد زیر زیاد می‌شود : عفونتها، هموکروماتوز، هموسیدروز، سیروز کبدی، اورمی، سرطان و پس از انتقال خون مکرر.

سیدروبلاستها، اریتروبلاستهای دارای یک یا چند ذره آهن هستند که در زمان اختلال اریتروپوئز تعداد آنها افزایش می‌یابد.

آزمایش مغز استخوان

در روز بررسی مغز استخوان باید شمارش کامل سلولهای خونی، پلاکت، رتیکولوسیت از خون محیطی به عمل آید.

تراکم سلولی[4] مغز استخوان :

نسبت حجم سلولهای خونساز به کل حجم مغز استخوان، تراکم سلولی در نظر گرفته می‌شود معمولا سلولاریته برای یک استخوان مشخص مثل ایلیاک، اندازه‌گیری و اگر نسبت به سن بیمار بیشتر باشد، مغز استخوان پرسلول[5] یا هیپرپلاستیک[6] و در صورتی که کمتر از حد طبیعی باشد، مغز استخوان کم سلول[1] خواهد بود. تراکم سلولی با افزایش سن کاهش می‌یابد.

---

[1] - Giant Platelet
[2] - Romanowsky’s
[3] - Perl’s test
[4] - Cellularity
[5] - Hyper cellular
[6] - Hyperplastic

توزیع سلولها

در زمان کودکی لنفوسیتها غالب هستند. نسبت میلوئید به اریتروئید (M/E)، نسبت کل گرانولوسیتها به اریتروبلاستها است و در نوزادان و شیرخواران تا حدودی بیشتر از دوران کودکی و بزرگسالی می‌باشد. در بزرگسان از ۱ : ۱/۲ تا ۱ : ۵ متغیر بوده و در عفونت، لوسمی میلوئیدی مزمن یا هیپوپلازی اریتروئید نسبت M/E افزایش دارد. کاهش نسبت در مواردی مثل هیپرپلازی سلولهای اریتروئید و آگرانولوسیتوز دیده می‌شود.

برای بررسی توزیع سلولها حدود ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ سلول (متوسط ۵۰۰ سلول) را شمارش افتراقی نموده و درصد هر کدم از انواع سلولی محاسبه گردد.

سلولهای غیرطبیعی یا سلولهای کمیاب :

در بررسی مغز استخوان ممکن است سلولهای زیر دیده شوند :

- ماست سل های بافتی : در کم خونی آپلاستیک، اختلالات میلوپرولیفراتیو، افزایش می‌یابند.
- استئوبلاستها[۲] که سازنده ماتریکس کلاژنی می‌باشند و استئوکلاست‌ها[۳]، که استخوان را باز جذب می‌کنند، در هیپرپاراتیروئیدیسم بیماری پاژه، تومورمتاستاتیک، شکستگی یا ترمیم استخوانی گزارش شده اند در حالیکه مشاهده این سلولها در بزرگسالان معمول نیست، ولی به مقدار کم در شیرخواران و کودکان وجود دارند.

بررسی نمونه بیوپسی :

نمونه های بافتی برای تشخیص لنفومها و تومورهای متاستاتیک و همچنین برای تشخیص نوع نئوپلاسم مفید است. همچنین در مواردی نظیر میلوفیبروز و لوسمی هیری‌سل[۴]، مغز استخوان را نمی توان آسپیره نمود لذا انجام بیوپسی لازم می‌باشد.

تفسیر :

در گزارش مغز استخوان بایستی سلولاریته، تعداد مگاکاریوسیتها، نسبت میلوئید به اریتروئید مورد نظر قرار گرفته و نسبت سیدروبلاستها و یافته های غیرطبیعی نیز ذکر شوند.

موارد کاربرد بررسی مغز استخوان :

۱) در کم خونیهای میکروسیتی با بررسی ذخیره آهن و سیدروبلاستها برای تقسیم بندی کم خونی.

۲) در کم خونیهای ماکروسیتی جهت تشخیص مگالوبلاستی بودن مغز استخوان.

۳) در کم خونیهای نرموسیتی که اندکس تولید رتیکولوسیتها افزایش نیافته باشد.

۴) در موارد نوتروپنی، ترومبوسیتوپنی یا پان سیتوپنی یا لوسمی و میلوم مالتیپل، لنفوم

۵)تومورهای متاستاتیک مغز استخوان

---

[1] - Hypoplastic
[2] - Osteoblast
[3] - Osteoclast
[4] - Hairy cell Leukemia

۶)وجود عفونت هایی نظیر سل و تب مالت برای انجام کشت مغز استخوان

۷)در اختلالات ایمونوگلوبولینها ۸)پاسخ بیمار به درمان اختلالات خونی

بخش سوم

اختلالات گلبول قرمز

فصل ۱۰ – کم خونی

مقدمه

اختلالات اریتروسیتی شامل تغییرات کیفی و کمی در توانایی اریتروسیت برای انجام عملکردهای مناسب خود بوده و شامل دو دسته عمده اریتروسیتوز (افزایش تعداد اریتروسیت‌ها) و آنمی (کاهش تعداد اریتروسیت ها یا اختلال در حمل اکسیژن توسط اریتروسیت) می‌باشد.

آنمی [1] :

آنمی یا کم خونی را می توان به چند صورت تعریف کرد:

۱) کاهش تعداد اریتروسیت ها در گردش خون

۲) کاهش غلظت هموگلوبین

۳) کاهش هماتوکریت نسبت به محدوده طبیعی.

البته بایستی تغییرات این مقادیر در شرایط مختلف فیزیولوژیک نظیر کاهش مقدار هموگلوبین در سطح دریا و یا افزایش آن درارتفاعات، را نیز در نظر داشت. هماتوکریت در وضعیت اتلاف خون به علت کاهش پلاسما و توده گلبولهای قرمز به صورت همزمان، ممکن است طبیعی باشد، و یا اینکه در افزایش حجم خون با وجود افزایش توده گلبولهای قرمز، به دلیل افزایش پلاسما ممکن است هماتوکریت کمتر از مقدار طبیعی اندازه گیری شود. پس برای تعریف صحیح کم خونی، بایستی ، توانایی خون در اکسیژن رسانی به بافتها مورد توجه قرار گیرد.

کاهش در توده اریتروسیتها ، کم خونی مطلق و اگر با حجم بیشتر پلاسما همراه باشد، کم خونی نسبی در نظر گرفته می‌شود. کم خونی نسبی در مواردی مثل حاملگی، ماکروگلوبولینمی و اسپلنومگالی وجود دارد. علل کم خونی مطلق، شامل اختلال تولید و یا افزایش تخریب اریتروسیت‌ها (همولیز) می‌باشد. کم خونی ها را می توان، بر اساس اندازهٔ گلبول قرمز [2] (به سه گروه ماکروسیتی ، نورموسیتی، میکروسیتی،) و یا فیزیوپاتولوژی آنمی تقسیم بندی نمود. در مجموع هر دو نوع طبقه بندی به صورت همزمان برای تشخیص افتراقی نوع کم خونی به کار می روند.

تشخیص کم خونی :

تشخیص اولیه براساس تاریخچه، بررسی های فیزیکی و تعدادی تست آزمایشگاهی صورت می‌گیرد. طبقه بندی اولیه می تواند براساس CBC و شمارش رتیکولوسیت انجام شود. تقسیم بندی کم خونی براساس نقایص عملکردی گلبولهای قرمز در شکل ۲-۸ آمده است.

علایم بالینی کم خونی ها:

علایم بالینی به دلیل کاهش اکسیژن رسانی به بافتها ایجاد می‌شوند و شامل خستگی، تنگی نفس، غش، سرگیجه، تپش قلب، سردرد می باشند. از یافته های فیزیکی میتوان رنگ پریدگی، کاهش فشار خون، تب خفیف، سوفل های سیستولی و ادم را نام برد . از عوامل تعدیل

1- Anemia

2- RBC mass

کننده کم خونی نیز می‌توان تنظیم جبرانی برون ده قلب، سرعت تنفس و تغییر در میل ترکیبی هموگلوبین به اکسیژن را ذکر کرد. در فصول آینده انواع اختلالات گلبولهای قرمز براساس فیزیوپاتولوژی مورد بررسی قرار خواهند گرفت.

فصل ۱۱ : آنمی های ناشی از اختلال تولید

کم خونی فقر آهن

متابولسیم آهن

کمبود آهن

مراحل ایجاد آنمی فقر آهن

کم خونی مگالوبلاستیک

علل ایجاد کم خونی های ماکروسیتیک، مگالوبلاستیک

کمبود B_{12}

متابولیسم اسید فولیک

کم خونی ناشی از بیماریهای مزمن

کم خونی ناشی از بیماریهای کلیوی

کم خونی میلوفتیزیک

کم خونی های ناشی از عفونت

کم خونی ناشی از بیماریهای کبدی

کم خونی در بیماریهای غدد درون ریز

کم خونی آپلاستیک

کم خونی فانکونی

آپلازی خالص گلبولهای قرمز

کم خونی های دیس اریتروپوئیتیک مادرزادی

متابولیسم آهن:

آهن جزء اصلی هموگلوبین،میوگلوبین و بعضی از آنزیمها دارای هم و متالوفلاووپروتئین‌ها[1] می‌باشد. دوسوم آهن تام بدن در اریترون (نورموبلاستها و اریتروسیت ها) قرار دارد. هر میلی لیتر از گلبولهای قرمز خون حاوی حدود یک میلی گرم آهن است. آهن ذخیره در ماکروفاژهای سیستم رتیکواندوتلیال به دو شکل فریتین و هموسیدرین وجود دارد. فریتین کمپلکس محلول در آب از نمک فریک و پروتئینی به نام آپوفریتین می‌باشد. هموسیدرین در آب غیر محلول است و از تجمع بلورهای هسته ای فریک اکسی هیدروکسید (FeooH) با پوسته پروتئینی تقریباً تخریب شده، تشکیل یافته است.

آهن لازم برای سنتزهموگلوبین اغلب از تخریب هموگلوبین گلبولهای قرمز فرسوده حاصل می‌شود. آپو ترانسفرین نوعی بتاگلوبولین است و هر ملکول آن به دو اتم آهن پیوند می‌یابد.

ترانسفرین آهن را به بافتها حمل می کند. روزانه حدود یک میلی گرم آهن از راه دستگاه گوارش و بندرت پوست و ادرار دفع می‌شود این مقدار در زنان در زمان قاعدگی حدود دو میلی گرم در روز است. جذب آهن، اغلب در دوازدهه و قسمت فوقانی ژوژنوم صورت می‌گیرد، و توسط اسکوربات و سیترات تسهیل و توسط فیتات ها و تانن ها مهار می‌شود.

[1] - Metaloflavoprotein enzymes

کمبود آهن:

کمبود آهن سبب ایجاد آنمی هیپوکروم میکروسیتیک می‌شود. عوامل زیر سبب ایجاد وضعیت کمبود آهن در فرد می‌شوند.

۱) **فقر غذایی:** این حالت در نوزادان و یا افراد با رژیم غذایی نامناسب و عفونتهای انگلی مشاهده می‌شود. در کودکان و نوزادانی که با شیر مادر تغذیه می‌شوند، فقر آهن به کم خونی شیر معروف است. کمبود آهن در رژیم غذایی به عنوان تنها عامل فقر آهن در بزرگسالان، معمول نیست، مگر اینکه عوامل مساعد کننده مثل سوء جذب یا خونریزی وجود داشته باشد.

کمبود آهن احتمالاً شایع‌ترین علت کم خونی در جهان است، و کودکان به ویژه در سنین ۶ ماهگی تا دو سالگی مستعد فقر آهن می باشند.

۲) **سوء جذب :** سوء جذب آهن پس از اعمال جراحی مثل گاسترکتومی و سندرم های سوءجذب مزمن مثل اسپرو یا بیماری سلیاک پیش می آید.

۳) **انتقال نامناسب آهن به دلیل کمبود ترانسفرین :** در شرایط التهابی مثل آرتریت روماتوئید مزمن دیده می‌شود.

۴) **دفع بیش از حد آهن:** خونریزی از زخم های مخاطی معده و روده ، اختلالات عادت ماهیانه و هموروئید سبب فقر آهن می گردد .

۵) **افزایش نیاز:** در کودکان در حال رشد و زنان حامله و دوران شیردهی نیاز بیشتری به آهن وجود دارد. در انتهای سه ماهه دوم بارداری، میزان نیاز روزانه آهن تا ۵ الی ۶ میلی گرم افزایش می‌یابد.

کمبود آهن سبب افزایش میزان جذب سرب و آهن شده، و در نتیجه ممکن است در کمبود آهن، مسمومیت با سرب نیز وجود داشته باشد.

مراحل ایجاد آنمی فقر آهن:

هنگامی که دفع آهن بیش از جذب آن باشد، تعادل منفی آهن ایجاد و سبب کاهش آهن ذخیره و فریتین پلاسما و همچنین افزایش ظرفیت اتصالی آهن پلاسما می گردد. این مرحله تخلیه آهن[۱] نامیده می‌شود. سپس آهن پلاسما و درصد سیدروبلاست های مغز استخوان کاهش پیدا کرده و به علت کاهش سنتز Heme ، پروتوپورفیرین گلبولهای قرمز افزایش می‌یابد، ولی هنوز علایم کم خونی وجود ندارد، این مرحله اریتروپوئزبا کمبود آهن[۲] نامیده می‌شود. در مرحله سوم کم خونی فقر آهن پیش می آید که در آن، علاوه بر علایم شایع کم خونی ممکن است، زخمهای گوشه دهان، خاک خواری[۳] و ناخنهای قاشقی شکل[۴] دیده شود.

علایم بالینی :

علایمی مثل خستگی، تاخیر در رشد، خواب آلودگی، پوست بی رنگ، التهاب زبان ، ناخن قاشقی، خاک خواری وجود دارد.

علائم آزمایشگاهی:

علایم خون محیطی :

۱) ابتدا کم خونی نورموکروم نورموسیتیک و در مرحله بعد، کم خونی میکروسیتیک هیپوکروم و پوئی کیلوسیتوز ایجاد می‌شود

۲) درصد رتیکولوسیتها، مقدار هموگلوبین و هماتوکریت و گلبولهای سفید و MCV کاهش پیدا می کند.

۳) پلاکت ها ممکن است ، کمتر یا بیشتر از حد طبیعی باشند.

۴) RDW افزایش می‌یابد

[1] - Iron-store depletion
[2] - Iron – deficient erythropoiesis
[3] - Pica
[4] - Koilonychia

۵) آهن سرم نیز که مقدار طبیعی آن mg/dl ۱۶۰-۵۰ است به کمتر از ۵۰ کاهش و TIBC افزایش نشان می دهد، ولی به دلیل قابل تغییر بودن مقادیر آهن وTIBC در شرایط مختلف، برای تشخیص بیماری چندان قابل اعتماد نیستند. در ضمن حاملگی و داروهای ضد خوراکی TIBC را افزایش می دهند.

۶) درصد اشباع TIBC (نسبت آهن سرم به TIBC) که در حالت طبیعی ۵۵-۳۳ درصد است، در کم خونی فقر آهن کاهش یافته وبه کمتر از ۱۵ درصد می رسد، ولی در کم خونی ناشی از بیماریهای مزمن ۲۰ تا ۲۵ درصد می‌باشد، لذا برای تشخیص از کارایی بهتری برخوردار است. مقدار آهن درشبانه روز تغییرات عمده ای تا ۳۰٪ داشته و بیشترین مقدار آن در هنگام صبح و کمترین مقدار آن دربعد از ظهر دیده می‌شود. مقدار فریتین کاهش یافته ولی در بدخیمی ها و التهاب افزایش نشان می‌دهد.

۷) پروتوپورفیرین آزاد گلبولهای قرمز (FEP) در کم خونی فقر آهن و آنمی سیدروبلاستیک افزایش ولی در تالاسمی مینور طبیعی می‌باشد.

گیرنده های سرمی ترانسفرین (TfR) در کم خونی فقر آهن افزایش، ولی در آنمی آپلاستیک کاهش می یابند.آنمی فقر آهن را بایستی از سایر کم خونی های هیپوکروم میکروسیتیک تشخیص داد . (جدول ۱-۱۱)

علایم مغز استخوان

نورموبلاست‌ها کوچکتر از اندازه طبیعی و مقدار هموگلوبین درسیتوپلاسم‌شان اندک است. سیدروبلاست‌ها کاهش یافته و هموسیدرین وجود ندارد، ولی در کم خونی ناشی ازبیماریهای مزمن ذخایر هموسیدرین افزایش می‌یابد .

درمان:

بررسی علت ایجاد کمبود آهن و رفع آن توصیه می‌شود. پس از درمان، تابلوی علایم خونی بهبودپیدا کرده و هموگلوبین افزایش می‌یابد. بهتر است برای پر شدن ذخایر آهن، درمان تا ۲ ماه بعد از رفع علائم ، ادامه یابد.

علت	آنیزوسیتو/ پویی کیلوسیتوز	وجود دانه‌های بازوفیلیک	آهن	TIBC	اشباع آهن	ذخایر مغز استخوان
تالاسمی	+/-	+	↑ یا طبیعی	↓یا طبیعی	↑ یا طبیعی	↑ یا طبیعی
کمبود آهن	+	-	↓	↑	↓	↓
آنمی بیماری مزمن	-	-	↓	↓	↓	↑
آنمی سیدروپلاستی ارثی	+	+	↑	↓یاطبیعی	↑	↑
آنمی سیدروبلاستی اکتسابی	+/-	+	↑	↓یاطبیعی	↑	↑

جدول ۱-۱۱ مورفولوژی گلبولهای قرمز و وضعیت آهن در آنمی های هیپوکروم میکروسیتیک

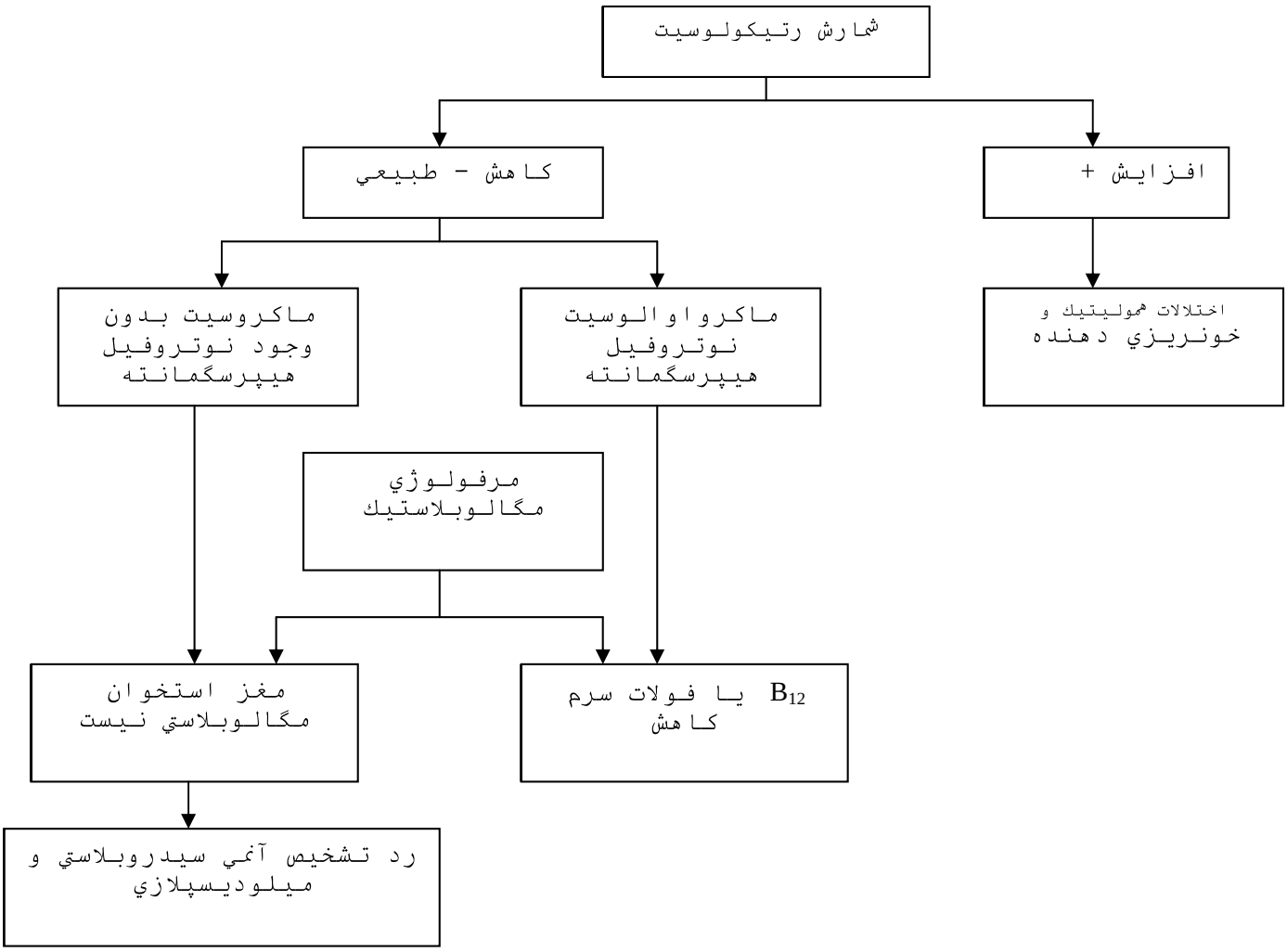
آنمی ماکروسیتیک[2] بر اساس وجود تغییرات مگالوبلاستی در مغز استخوان به دو نوع تقسیم می‌شود: ۱) در آنمی ماکروسیتیک ناشی از الکلیسم و بعضی از انواع آنمی های همولیتیک، هیپوتیروئیدی، بیماری کبدی و بیماریهای نارسایی مغز استخوان مثل کم خونی آپلاستیک، سندرم دیاموند بلک فان و کم خونی مقاوم به درمان ۲) آنمی مگالوبلاستیک. در آنمی ماکروسیتیک برخلاف آنمی مگالوبلاستیک، تغییرات مگالوبلاستی در مغز استخوان بصورت مگالوبلاستی وجود ندارد. MCV بیشتر از ۱۰۰ فمتولیتر است.

کم خونی مگالوبلاستیک

اصطلاح آنمی مگالوبلاستیک به تعدادی ازاختلالات

خونی اطلاق می‌شود که در آنها تغییراتی در تمایز سلول به دلیل اختلال در سنتز DNA در خون و مغز استخوان ایجاد می گردد. آنمی مگالوبلاستیک به چند گروه تقسیم می‌شود: کمبود فولات، کمبود B_{12} و آنمی‌هایی که به درمان پاسخ نمی‌دهند. شکل ۱-۱۱نحوه تشخیص انواع آنمی های مگالوبلاستیک را نشان می‌دهد. فولات و B_{12} برای سنتز DNA لازم میباشند.

شکل ۱-۱۱- نحوه تشخیص انواع آنمی های مگالوبلاستیک



[1] - Megaloblastic anemia
[2] - Macrocytic anemia

علل ایجاد کم خونی های ماکروسیتیک، مگالوبلاستیک

۱) کمبود B_{12}:

الف- کاهش دریافت:رژیم غذائی نامناسب، گیاهخواری ، سوء جذب در مواردی مثل: آنمی پرنیسیوز[1] نارسایی مخاط معدی در ترشح فاکتور داخلی، گاسترکتومی ، آنتی بادی بر ضد فاکتور داخلی [2]، غیر طبیعی بودن فاکتور داخلی، سندرم ImersLund ، بیماری سلیاک، اسپرو، التهاب ایلئوم، لنفوم، اسکلرودرما، سوءجذب ناشی از دارو، عفونت توسط کرم دیفیلوبوتریوم لاتوم، بیماری مزمن پانکراس، آکلریدری.

ب- افزایش نیاز: حاملگی، بدخیمی ها، هیپرتیروئیدیسم

ج- سایر اختلالات: اختلالات آنزیمی ، غیر طبیعی بودن ترانس کوبالامین

۲) کمبود فولات:

الف- کاهش دریافت : رژیم غذائی نامناسب، الکلیسم، همودیالیز، سوء جذب در مواردی نظیر : بیماریهای روده‌ای، استئاتوره، اسپرو، بیماری سلیاک ، مصرف فنی توئین، داروهای ضد بارداری خوراکی.

ب- افزایش نیاز : حاملگی، دورهٔ نوزادی، هیپرتیروئیدیسم، بدخیمی.

ج- سایر اختلالات : مصرف آنتاگونیست‌های اسیدفولیک مثل تریامترن، تری متوپریم و اختلالات آنزیمی.

۳) غیر وابسته به درمان با B_{12} و فولات:

نظیر سندرم لیش نایهان[3]، اوروتیک اسیدوری ارثی [4] کمبود فورمیمینو ترانسفراز[5] کمبود متیل ترانسفراز[6] و سندرم دی گوگلیلمو[7].

علایم آزمایشگاهی :

علائم خون محیطی: گلبولهای قرمز و سفید و پلاکتها و مقدار هموگلوبین کاهش، MCV افزایش ، و MCHC نرمال یا کاهش جزئی ، نشان می دهند پوئی کیلوسیت ها مثل شیستوسیت و داکروسیت و نوتروفیل های هیپر سگمانته (ماکروپولی سیت[8]) دیده می‌شوند. وجود پنج لوب در بیش از ۵ درصد نوتروفیل ها حاکی از هیپرسگمانتاسیون است. ماکرواولوسیت، گلبولهای قرمز هسته دار، هاول ژولی بادی، کابوت رینگ وجود دارند. RDW افزایش، شمارش رتیکولوسیت طبیعی بوده و یا کاهش پیدا می کند.

علایم مغز استخوان

بزرگی سلولهای مغز استخوان و کاهش ظرفیت سنتز DNA وجود دارد. علت بزرگ شدن سلولها آن است که سنتز RNA نسبت به سنتز DNA تاخیر کمتری داشته و لذا بلوغ و رشد سیتوپلاسمی ادامه یافته و سبب بزرگ شدن سلولها می‌شود. کروماتین هسته ظریف تر است. مراحل تمایز سلولی عبارتست از : پرومگالوبلاست، بازوفیلیک مگالوبلاست، پلی کروماتوفیلیک مگالوبلاست ، مگالوبلاست Late ، ماکروسیت. به این حالت ایست بلوغ [9] گفته می‌شود. نسبت میلوئید به اریتروئید کاهش یافته و متامیلوسیت و باندسل غول آسا وجود دارد در آنمی مگالوبلاستیک طول عمر گلبولهای قرمز ۲۵ تا ۶۰ روز است و همولیز سبب افزایش بیلی روبین غیر مستقیم و آهن سرم و منواکسید کربن و LDH می گردد. افزایش مورامیدازسرم نشانه گرانولوپوئز غیرموثر می‌باشد.

---

[1] -Pernicious anemia

[1-] Lesh – Nyhan syndrome
[2]- Hereditary orotic aciduria
[5]- Deficiency of formimino transferase
[6] - Deficiency of methyl transferase
[7] - Diguglielmos syndrome
[8] - Macropolycyte
[9] - Maturation arrest

متابولیسم کوبالامین:

کوبالامین از یک گروه نوکلئوتید و یک ساختمان حلقوی کورین با اتم مرکزی کبالت تشکیل یافته است. بسته به نوع گروه متصل به اتم کبالت، انواع کوبالامین مثل متیل، آدنوزیل، هیدروکسی و یا سیانید ایجاد می‌شوند.

آدنوزیل کوبالامین و متیل کوبالامین به طور طبیعی در بافتهای انسانی وجود دارند. کوبالامین فقط توسط میکروارگانیسم ها تولید شده وبه شکل آدنوزیل کوبالامین در کبد ذخیره می‌شوند. هر گرم از کبد دارای یک میکروگرم کوبالامین می‌باشد . کوبالامین ابتدا به هاپتوکورین بزاق متصل و سپس به فاکتور داخلی معده که نوعی گلیکوپروتئین است، متصل و در ایلئوم جذب می‌شود (ولی فاکتور داخلی جذب نمی‌گردد).

کوبالامین در پلاسما به صورت متیل کوبالامین و متصل به گروهی از پروتئین ها به نام ترانس کوبالامین (TCI) و هاپتوکورین ها[1] (یاR-binder, TCIII, TCI ،کوبالوفیلین) و ترانس کوبالامین II(TCII) حمل می‌شود. پروتئین اصلی حامل کوبالامین، TCII است.

علایم بالینی آنمی پرنیسیوز (کم خونی وخیم) :

معمولا در افراد با بیشتر از ۶۰ سال سن دیده می شود. خستگی، ضعف، رنگ پریدگی پوست، یرقان، علایم گوارشی مثل یبوست و اسهال و علایم عصبی، (در بعضی از بیماران آنتی بادی ضد سلولهای جداری) وجود دارد. مقدار طبیعی کوبالامین سرم ng/L ۹۰۰-۲۰۰ است.

تشخیص کمبود کوبالامین : با روشهای زیرانجام می‌شود :

بررسی کوبالامین سرم با ارگانیسم یوگلناگراسیلیس.

افزایش مقدار متیل مالونات در ادراردر کمبود کوبالامین.

سرکوب داکسی یوریدین برای بررسی توان سنتز DNA .

تست شیلینگ برای بررسی توانایی بیمار در جذب خوراکی کوبالامین رادیواکتیو (CO^{57}-B_{12}) صورت می‌گیرد. وجود بیش از ۷٪ رادیواکتیویته در ادرار نشانه وجود مقدار کافی فاکتور داخلی و جذب کوبالامین از دستگاه گوارش است.

متابولیسم اسید فولیک

اسید فولیک یا اسید پتروئیل منوگلوتامیک از اتصال سه ملکول پیریدین، اسید پارامینو بنزوئیک، اسید گلوتامیک تشکیل یافته و در حالت احیاء به اشکال مختلف تتراهیدروفولات وجود دارند. شکل اصلی فولات در سرم، گلبولهای قرمز و کبد، ۵- متیل تتراهیدروفولات است. محل اصلی ذخیره کبد، محدوده طبیعی آن ۵ تا ۲۱ میکروگرم در لیترسرم، و مقدار نیاز روزانه حدود ۴۰۰ میکروگرم فولات یا ۵۰ میکروگرم پتروئیل منوگلوتامات می‌باشد.

تشخیص کمبود فولات

۱) بررسی فعالیت اسید فولیک با لاکتوباسیلوس کازئی.

۲) اسید فورمیمینوگلوتامیک ادراری : کوانزیم های اسید فولیک برای تبدیل فرمیمینوگلوتامیک به اسید گلوتامیک در کاتابولیسم هسیتیدین ضروری است. پس از تجویز هستیدین خوراکی، در صورتیکه کمبود فولات وجود داشته باشد، مقدار زیادی فورمیمینوگلوتامیک FIGlu به ادرار راه خواهد یافت.

۳) سرکوب دی اکسی یوریدین.

۴) بررسی هموسیستئین پلاسما : در کمبود کوبالامین و اغلب موارد کمبود فولات، مقدار هموسیتئین پلاسما افزایش می‌یابد، ولی در کمبود فولات، برخلاف کمبود کوبالامین اسید متیل مالونیک ادرار طبیعی می‌باشد.

درمان آنمی مگالوبلاستیک:

بر اساس علت ایجاد کننده بیماری، درمان صورت می‌گیرد.

[1] - Hapto corrins

آنمی ناشی از بیماریهای مزمن یا ACD[1]:

کم خونی معمولاً خفیف بوده و متعاقب بیماریهایی مثل عفونت های مزمن، بیماریهای رماتیسمی (روماتوئید آرتریت، سرطان به خصوص در بیمارانی که مدتی طولانی در بیمارستان بستری بوده اند، دیده می‌شود.

علایم آزمایشگاهی :

آنیزوپوئی کیلوسیتوز وجود دارد.آنمی ممکن است نورموکروم نورموسیتیک باشد. رتیکولوسیت طبیعی یا مختصری افزایش می‌یابد. غلظت آهن سرم و درصد اشباع کاهش دارد. TIBC کاهش یافته یا طبیعی است و پروتوپورفیرین اریتروسیتی و فریتین طبیعی بوده یا افزایش نشان می‌دهند. RDW طبیعی می‌باشد.

کم خونی ناشی از بیماریهای کلیوی [2]

در این بیماری BUN (ازت اوره خون) بیشتر از یکصد میلی گرم در دسی لیتر و کراتی نین بیش از ۳mg/dl است. در خون محیطی بورسل، اکینوسیت دیده می‌شوند.آهن سرم و TIBC هر دو کاهش، ولی درصد اشباع طبیعی می‌باشد. مهمترین علت کم خونی، کاهش تولید اریتروپویتین بوده و هورمونهای پاراتیروئید و اسپرمین نیز در مهار اریتروپوئز نقش دارند. در این عارضه، همولیز و خونروی نیز وجود دارد. این نوع کم خونی به عنوان مثال در دیابت ملیتوس مشاهده می گردد.

کم خونی میلوفتیزیک [3] **یا کم خونی مربوط به متاستاز مغز استخوان :**

کم خونی‌های ناشی از اثر مستقیم تومور یا متاستاز مغز استخوان آنمی میلوفتیزیک نامیده می‌شوند. در خون محیطی نورموبلاست ها و نوتروفیل های نارس وجود دارد و این یافته ها، با اصطلاحاتی چون واکنش لکواریتروبلاستیک، کم خونی لکواریتروبلاستیک، ولکوایترو بلاستوز نیز مشخص می‌شوند. مهمترین علت خونروی در سرطانها، کاهش تعداد پلاکت است. به ندرت ژیانت پلاکت نیز دیده می شود.

کم خونی های ناشی از عفونت

علت آنمی، کاهش اریتروپوئز و اختلال در سنتز Heme می‌باشد . عفونت هایی مثل آبسه‌های احشائی، پیلونفریت، سل و اندوکاردیت تحت حاد باکتریال و عفونت های کلیوی از عوامل مهم کم خونی محسوب می‌شوند.

کم خونی ناشی از بیماریهای کبدی:

در سیروز و سرطان کبد، کم خونی در اثر خونریزی، سرکوب مغز استخوان توسط ویروس، کمبود فولات در سیروز الکلی و اختلالات چربی ایجاد می‌شود. تارگت سل در یرقان انسدادی وجود دارد. گلبولهای قرمز بصورت ماکروسیت یا نورموسیت یا میکروسیت ممکن است دیده شوند. بندرت همولیز همراه با هیپرلیپیدمی در هپاتیت حاد پس از مصرف زیاد الکل (سندرم Zieve) گزارش شده است.

کم خونی در بیماریهای غدد درون ریز :

در کم کاری تیروئید، کم خونی خفیف ممکن است وجود داشته باشد . گلبولهای قرمز به صورت ماکروسیت یا نورموسیت یا میکروسیت مشاهده می گردند. همچنین کم کاری قشر غده فوق کلیه و کاهش ترشح تستوسترون درمردان و کمبود هورمون رشد، سبب کم خونی می‌شوند.

کم خونی آپلاستیک [4]**:**

نوعی کم خونی ناشی از عدم تولید است . مغز استخوان هیپوسلولار (کمتر از ۳۰٪سلولاریته) بوده و تمامی رده های سلولی کاهش دارند (پان سیتوپنی [5]). بیماری ممکن است ارثی و یا اکتسابی ناشی از مواد شیمیایی ، اشعه ، عوامل عفونی، مصرف داروهای سیتوتوکسیک و یا ساختمانی (کم خونی فانکونی) باشد.

[1] - Anemia of chronic disease
[2] - Anemia of renal disease
[3] - Myelophthisic anemia
[4] - Aplastic anemia
[5] - Pancytopenia

علائم بالینی:

علایم وابسته به میزان کمبودها بوده و با کم خونی ، عفونت و خونریزی همراه می باشند. لکه های پراکنده پوستی [1] خونریزی لثه، و خون دماغ وجود دارد. عوارض دیررس بیماری شامل لوسمی های میلوئیدی و سندرم میلودیس پلاستیک (MDS) و هموگلوبینوری حمله ای شبانه (PNH) می‌باشد.

عوامل مرتبط با آنمی آپلاستیک:

۱) از عوامل فیزیکی و شیمیایی ایجاد کننده آنمی آپلاستیک سمی می توان اشعه های یونیزه کننده و ترکیبات خردل، بنزن، عوامل ضد نئوپلاستیک مثل بوسولفان و اورتان را ذکر کرد.

۲) آنتی بیوتیکهایی مثل کلرامفنیکل، سولفونامیدها. کلروتتراسیکلین، استرپتومایسین، ضد دردها مثل فنیل بوتازون ، داروی ضد تیروئید (کاربی مازول) حشره‌کش‌ها، و ترکیبات طلا، بیسموت و جیوه سبب کم خونی آپلاستیک حساسیتی می‌شوند.

۳) عفونت با هپاتیت نوع نه A ، نه B، و HIV و ویروس اپشتاین بار. ۴) هموگلوبینوری حمله ای‌شبانه ۵) حاملگی ۶) تیموما ۷) بیماریهای ایمونولوژیک مثل لوپوس ارسیتماتوس سیستمیک (SLE) و آرتریت روماتوئید . لازم به ذکر است که کم خونی آپلاستیک با PNH و MDS ارتباط نزدیک داشته و بعضی اوقات قابل تشخیص از یکدیگر نمی‌باشند.

علائم آزمایشگاهی :

علائم خون محیطی : کم‌خونی نورموکروم نورموسیتیک، RDW طبیعی یا افزایش، ماکروسیتوز و آنیزوسیتوز و پوئی کیلوسیتوز ممکن است وجود داشته باشد . لکوپنی شدید با گرانولوسیتوپنی، شمارش لنفوسیت طبیعی و ترومبوسیتوپنی و افزایش آهن سرم دیده می‌شوند. هموگلوبین کمتر از ۷ گرم در دسی لیتر، هماتوکریت کمتر از ۲۰ درصد و گلبولهای سفید کمتر از L / $۱۰^۹$ × ۱/۵ ، و پلاکتها L / $۱۰^۹$ × ۲۰-۶۰ می باشند.

علایم مغز استخوان : مقاطع مغز استخوان ، بافت چربی همراه با فیبروز واضح، کاهش سلولاریته و افزایش آهن ذخیره را نشان می دهد.

درمان :

۱) رفع نارسایی مغز استخوان

۲) پیوند مغز استخوان

۳) قطع تماس با داروها و مواد شیمیایی

کم خونی فانکونی [2]

در این حالت افزایش هموگلوبین F ، هیپوپیگمانتاسیون ، هیپوگنادیسم و میکروسفالی وجود دارد. نوع توارث، اتوزومال مغلوب می‌باشد.

آپلازی خالص گلبولهای قرمز [3]

نوع زودگذر و حاد این بیماری در کم خونی های همولیتیک مثل آنمی داسی شکل و تالاسمی ماژور ممکن است دیده شود و اغلب با عفونت پاروویروس B_{19} [4] در ارتباط است. اریتروبلاستوپنی گذرای کودکان [5] (TEC) در اکثر عفونت های ویروسی غیر از پاروویروس ایجاد می گردد. نوع مادرزادی بیماری یا کم خونی دیاموند- بلک فان [6] با افزایش هموگلوبین جنینی (۵ تا ۲۵ درصد) و بروز آنتی ژنi همراه می‌باشد. فرم مزمن و اکتسابی بیماری متعاقب تیموما و اختلالات ایمنی و بیماریهای کلاژن و مسمومیت دارویی (کلرا مفنیکل) مشاهده می‌گردد.

کم خونی سیدروبلاستیک [7]

---

[1] -Petechia
[2] - Fanconi anemia
[3] - Pure red cell aplasia
[4] - Parvovirus
[5] - Transient erthroblastopenia of childhood
[6] - Diamond- Blackfan anemia
[7] - Sideroblastic anemia

شبیه آنمی ناشی از بیماریهای مزمن است. مجموعه ای از عوامل در دو دسته ارثی و اکتسابی سبب ایجاد این بیماری می‌شوند. گلبولهای قرمز هیپوکروم و نورموکروم ، ظاهر دو شکلی (دیمورفیک) به بیماری می بخشند. اجسام پاین هایمر و نقاط بازوفیلی در داخل گلبولهای قرمز مشاهده می‌شوند. آهن سرم، فریتین و درصد اشباع آهن افزایش یافته و TIBC طبیعی است و یا کاهش نشان می‌دهد. سیدرو بلاست های حلقوی در مغز استخوان وجود دارند (رسوب هموسیدرین در میتوکندری سلولهای اریتروئیدی صورت می‌گیرد). الکلیسم، مسمومیت با سرب، تجویز داروهای ضد سل، کلرامفنیکل، کمبود مس و گرانباری روی از سایر عوامل بیماری هستند. علت ایجاد بیماری اختلال در سنتز Heme و مصرف آهن می‌باشد. در نوع ارثی، کاهش فعالیت آنزیم اسید دلتا آمینولوولینیک سنتتاز وجود دارد و اختلال وابسته به X می‌باشد.

گروهی از بیماران که اغلب سن بیشتر از ۵۰ سال دارند، به درمان با پیریدوکسین ، کوبالامین و فولات مقاوم بوده و به عنوان سندرم میلودیس پلاستیک طبقه بندی می‌شوند.

کم خونی های دیس اریتروپوئیتیک مادر زادی (CDA)[1] :

این اختلالات، با اریتروپوئز غیر موثر و چند هسته ای شدن سلولهای اریتروئید مشخص می‌شوند، و سه نوع هستند. نوع II شایعتر است. در این حالت حدود ۱۰ تا ۴۰درصد از پیش سازهای اریتروئید دو تا چند هسته ای هستند. این بیماری به کم خونی اریتروبلاستیک چند هسته ای ارثی همراه با آزمایش مثبت سرم اسیدی شده معروف است.

[1] - Congenital dyserythropoietic anemias

فصل ۱۲- کم خونی های ناشی از اتلاف خون- اختلالات غشای گلبولهای قرمز

کم خونی ناشی از خونریزی

آنمی همولیتیک

همولیز داخل رگی

همولیز خارج رگی

انواع کم خونی های همولیتیک

اختلالات غشای گلبول قرمز

اسفروسیتوز ارثی

الیپتوسیتوز ارثی

استوماتوسیتوز ارثی

هموگلوبینوری حمله ای شبانه (PNH)

کم خونی ناشی از اتلاف خون ۲ نوع است :

۱) **کم خونی پس از خونریزی**

۲) **همولیز در اثر نقایص غشایی ، متابلیک یا اختلالات هموگلوبین**

کم خونی ناشی از خونریزی

افراد طبیعی قادر به جبران خونریزی تا بیست درصد حجم خون در گردش می باشند. در ساعات اول پس از خونریزی حاد کاهش پلاکت، لکوسیتوز، و هموگلوبین و هماتوکریت طبیعی دیده می‌شود. از روز سوم به بعد تعداد رتیکولوسیت ها و MCV افزایش می‌یابد و ممکن است نورموبلاستها نیز در خون محیطی دیده شوند. در صورت مزمن شدن خونریزی، آنمی هیپوکروم میکروسیتیک و افزایش تعداد پلاکتها ملاحظه می گردد. شمارش لکوسیتها طبیعی و یا به دلیل نوتروپنی ، اندکی کاهش می‌یابد. در صورت کمبود شدید آهن، تعداد پلاکتها کمتر خواهد شد . خونریزی داخلی سبب افزایش بیلی روبین غیر مستقیم و کاهش هاپتوگلوبین سرم می‌شود. جبران خونریزی با تنظیم مکانیسم های قلبی عروقی، و تغییر میل ترکیبی هموگلوبین با اکسیژن و افزایش خونسازی در مغز استخوان صورت می‌گیرد.

آنمی همولیتیک [1]

آنمی همولیتیک شامل گروهی از بیماریهاست که می تواند ارثی ، اکتسابی یا ناشی از دارو باشد. این بیماری با افزایش تخریب و یا کاهش طول عمر اریتروسیتها مشخص می‌شود. در نوع ارثی ، بیماران دارای نقص در گلبول قرمز هستند . این نقص می تواند ناشی از اختلال غشائی ، اختلال آنزیمی، ساختار غیر طبیعی هموگلوبین یا اختلال تولید هموگلوبین، باشد.

در نوع اکتسابی، گلبولهای قرمز طبیعی است ولی در اثر عوامل خارجی سلولها تخریب می‌شوند و بیماری ممکن است خفیف یا شدید باشد.

در آنمی همولیتیک، افزایش فعالیت مغز استخوان . پلی کرومازی، وجود گلبولهای قرمز هسته‌دار (NRBC) و افزایش شمارش رتیکولوسیتها وجود دارد.

همولیز داخل رگی

در تخریب داخل رگی، هموگلوبین به مت هموگلوبین تبدیل و سبب ایجاد هموگلوبینمی می‌شود. همچنین هموگلوبین آزاد به دیمرهای $\alpha\beta$ تجزیه و با هاپتوگلوبین [2] ، کمپلکس هموگلوبین- هاپتوگلوبین را می سازد که در کبد متابلیزه می‌شود . ظرفیت هاپتوگلوبین (که نوعی α_2 گلوبین است) در جذب هموگلوبین حدود ۲۰۰-۵۰ میلی گرم در دسی لیتر است . مازاد هموگلوبین به صورت دیمر $\alpha\beta$ به ادرار راه یافته و هموگلوبینوری ایجاد می کند.

[1] - Hemolytic anemia
[2] - Haptoglobin

هموگلوبین پلاسمایی آزاد، به همی گلوبین اکسید می‌شود. هِم اکسید شده یا همین [1] به هموپکسین [2] (نوعی B- گلوبولین) متصل و توسط کبد متابلیزه می گردد. در صورت کاهش هموپکسین، همین به آلبومین متصل و مت هِم آلبومین را می سازد که وجود آن نشانه همولیز شدید داخل رگی است.

در همولیز، لاکتات دهیدروژناز (LDH) از گلبولهای قرمز آزاد، و تا IU/L ۸۰۰ افزایش می‌یابد. افزایش LDH در آنمی مگالوبلاستیک شدید و تا چند هزار واحد، گزارش شده است. در آنمی همولیتیک LDH_1 بیشتر از LDH_2 می‌باشد.

در نمونه خون طبیعی ، هموگلوبین آزاد به مقدار mg/dl ۵-۰/۵ وجود دارد و اگر مقدار آن از ۱۰ میلی گرم فراتر رود، سبب تغییر رنگ پلاسما به صورت زرد متمایل به نارنجی یا صورتی می‌شود. در کم خونی همولیتیک، هموگلوبین آزاد پلاسما حدود mg/dl ۳۰-۲۵ است و در واکنشهای همولیتیک انتقال خون و هموگلوبینوریهای حمله ای شبانه و سرد، افزایش بیشتری نشان می دهد.

همولیز خارج رگی

هموگلوبینمی، هموگلوبینوری و هموسیدرینوری وجود ندارد، بررسی همولیز با اندازه گیری افزایش یکی از محصولات کاتابولیسم هِم انجام می‌گیرد :

۱)افزایش بیلی روبین غیر مستقیم خون تا ۴ یا ۵ میلی گرم در دسی لیتر ۲) افزایش اوروبیلینوژن ادرار و مدفوع : اوروبیلینوژن ادرار۲۴ ساعته از mg ۴-۰/۵ به حدود mg ۲۰۰-۵ افزایش، و در مدفوع ۲۴ ساعته نیز، اوروبیلینوژن از mg ۲۸۰-۴۰، به ۴۰۰-۳۰۰ میلی گرم، افزایش می‌یابد. بررسی اوروبیلینوژن در مدفوع برای تشخیص همولیز حساستر از ادرار است.

۳)افزایش منواکسید کربن بازدمی یا افزایش کربوکسی هموگلوبین خون.

تشخیص آزمایشگاهی :

علایم خون محیطی :

کم خونی نورموسیتیک یا ماکروسیتیک (به دلیل وجود گلبولهای قرمز نارس) و پلی کرومازی وجود دارد . گلبولهای قرمز با اشکال غیر طبیعی، هر یک درنوع خاصی ازآنمی همولیتیک دیده می‌شوند(جدول۱-۱۱).

مورفولوژی	علت	اختلالات
اسفروسیت	از بین رفتن غشا	اسفروسیتوزارثی – کم خونی همولیتیک اتوایمون (AIHA)
تارگت سل	افزایش نسبت سطح به حجم	هموگلوبینوپاتی‌ها،تالاسمی، بیماری کبدی Hbc و Hbs
شیستوسیت	آسیب غشا به دنبال تروما	وجود وسایل مصنوعی داخل رگ، کم خونی همولیتیک تروماتیک
سلولهای داسی شکل	پلیمریزه شدن Hbs	سندرم سلول داسی شکل
آکانتوسیت	چربیهای غیر طبیعی غشا	بیماری شدید کبد (کم خونی سلول مهمیزی)
سلولهای آگلوتینه شده	وجود آنتی بادی IgM	بیماری آگلوتینین سرد
اجسام هنز	رسوب هموگلوبین	استرس، هموگلوبین ناپایدار

جدول۱-۱۲- اهمیت ساختمان و شکل گلبول قرمز برای تشخیص نوع کم خونی همولیتیک

[1] -Hemin
[2] - Hemopexin

علایم مغز استخوان :

معمولا هیپرپلازی سلولهای اریتروئیدی و افزایش ذخایر آهن وجود دارد. تعداد سیدروبلاستها طبیعی است، یا اینکه افزایش نشان می دهد. آپلازی مغز استخوان در مراحل خاصی از کم خونی های همولیتیک مزمن مثل عفونت با پاروویروس، دیده می‌شود.

انواع کم خونی های همولیتیک :

اختلالات غشای گلبول قرمز :

۱) اسفروسیتوزارثی[1] (HS) :

نقص ملکولی در افراد مبتلا به اسفروسیتوزارثی، کمبود اسپکترین در تقریبا همه بیماران، و در ۵۰ درصد از افراد، اختلال در ساختمان آنکیرین[2] می‌باشد. غشای گلبول در تعادل آب و الکترولیتها، نقش مهمی دارد. در حالت اسفروسیتوز، با تجمع سدیم در داخل سلول، مایعات بین سلولی به داخل گلبول نفوذ و سبب تبدیل شکل دیسکی گلبول قرمز به کروی (اسفروسیت) و تخریب سلول و همولیز می‌شود.

علل مختلف اسفروسیتوزارثی عبارتست است :

۱) کمبود نسبی اسپکترین

۲) کمبود نسبی مرکب اسپکترین و آنکیرین

۳) کمبود نسبی پروتئین باند ۳

۴) کمبودپروتئین ۴/۲ . این بیماری اغلب بصورت اتوزومال غالب به ارث می‌رسد. ولی ممکن است به صورت مغلوب نیز باشد.

علایم بالینی :

اسپلنو مگالی، یرقان و آنمی وجود دارد، ولی علایم متغیر می‌باشند. تعداد گلبولهای قرمز اسفروسیتی بر حسب شدت کم خونی، متغیر است. به دلیل وجود یرقان، این بیماری قبلاً، یرقان همولیتیک مادرزادی نامیده می‌شد. کم خونی معمولا خفیف یا متوسط و یا به دلیل جبران کامل مغز استخوان، اصلا وجود ندارد ولی ممکن است هیپوپلازی اریتروئید در اثر عفونت، تروما، جراحی و بارداری روی دهد. یا برداشتن طحال، علایم همولیز کاهش یافته ولی اسفروسیتوز باقی می ماند. افزایش بیلی روبین غیر مستقیم، ممکن است سبب ایجاد سنگ صفراوی گردد. زخم های مزمن پا، شبیه آنمی داسی شکل، دیده می‌شود.

علایم آزمایشگاهی :

توانایی اسفروسیت ها در جذب آب، کمتر است و به همین دلیل در مقایسه با حالت طبیعی، در غلظت های بالاتر سالین، لیز می‌شوند (افزایش در شکنندگی اسمزی)، قطر اسفروسیتها کوچکتر و پررنگتر بوده، MCV طبیعی یا کاهش، و MCHC اغلب افزایش (۳۹-۳۷) دارد که نشان دهنده کاهش سطح سلولی است. همچنین بیلی روبین غیرمستقیم و شمارش رتیکولوسیت افزایش نشان می‌دهد. مقدار هاپتوگلوبین نیز کاهش پیدا می کند.

در HS ، اتوهمولیز افزایش، و با اضافه کردن گلوکز، میزان تخریب، کاهش می‌یابد. لازم به ذکر است که اسفروسیت در شرایط اکتسابی، سوختگی و به دنبال انتقال خون و کمبود گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز، نیز مشاهده می‌شود.

۲) الیپتوسیتوزارثی[3] (HE) :

HE، براساس شکل گلبول قرمز به چند گروه تقسیم می‌شود: HE معمول، پیروپویی کیلوسیتوز ارثی HPP یا الیپتوسیت‌های استوانه‌ای، HE اسفروسیتیک، و اوالوسیتوز آسیایی‌های جنوب شرقی. شایعترین علت، اختلال ساختمان اسپکترین و سایر علل شامل نقص در پروتئین ۴/۱ و کمبود گلیکوفورین C می‌باشد. بیماری معمولا بصورت اتوزومال غالب به ارث می رسد. بر خلاف HS ، تغییر شکل سلول به دلیل خروج بیش از حد سدیم می‌باشد و تراکم هموگلوبین در دو قطب سلول بیشتر از حالت طبیعی است.

[1] - Hereditary Spherecytosis
[2] - Ankyrin
[3] - Hereditary elliptocytosis

الف- **HE معمول :** در افراد مبتلا، حداقل ۲۵ درصد و معمولا بیش از ۷۵ درصد گلبولهای قرمز، بیضی شکل هستند (در حالت طبیعی فقط کمتر از ۵ درصد گلبولها بیضی می باشند). نتیجه آزمایش شکنندگی اسموتیک طبیعی و یا در موارد همولیز واضح، افزایش نشان می‌دهد. تست اتوهمولیز در این بیماری طبیعی است.

ب- **پیروپویی کیلوسیتوزارثی HPP** [1] : شبیه فرم شدید الیپتوسیتوز مادرزادی می‌باشد. میکروسیت های با اشکال عجیب، اسفروسیت و تکه تکه شدن گلبولهای قرمز دیده می‌شود. گلبولهای قرمز در حالت طبیعی در دمای ۴۹ درجه سانتی گراد تکه تکه می‌شوند ولی در HPP در دمای ۴۵ تا ۴۶ این امر صورت می‌گیرد. MCV حدود ۵۵ فمتولیتر است. اتوهمولیز، شکنندگی اسمزی در این بیماری افزایش نشان می دهند. نحوه توارث اتوزومال مغلوب می‌باشد.

ج- **HE اسفروسیتیک :** کم خونی همولیتیک ملایم تا متوسط و بزرگی طحال و الیپتوسیت و اسفروسیت وجود دارد، ولی قطعات سلولی دیده نمی‌شود.

د- **اوالوسیتوز آسیای جنوب شرقی :** اریتروسیت ها طول کمتری داشته و شکل اوالوسیتهای استوماتوسیتی را دارند.

۳) استوماتوسیتوزارثی [2] (هیدروسیتوز) [3] :

استوماتوسیت ها، گلبولهای قرمز فنجانی شکل هستند که در یک طرف مقعر و در طرف دیگر محدب و ناحیه رنگ پریدگی مرکزی شبیه شکاف دارند. نحوه توارث اتوزومال غالب است. اختلال غشا سبب افزایش نفوذ پذیری به سدیم و پتاسیم شده و سبب ایجاد استوماتوسیت های بسیار پرآب یا هیدروسیت، (در اثر افزایش یونها و آب) می‌شود. MCV افزایش، MCHC کاهش و شمارش رتیکولوسیت و بیلی روبین افزایش می‌یابند. گزارشاتی مبنی بر فقدان پروتئین غشایی به نام استوماتین وجود دارد. در خون محیطی ۱۰ تا ۵۰ درصد گلبولهای قرمز را استوماتوسیت ها تشکیل می‌دهند. همچنین شکنندگی اسمزی و اتوهمولیز افزایش می‌یابند.

۴) هموگلوبینوری حمله ای شبانه (PNH) [4] :

اختلال اکتسابی استم سل چند قوه می‌باشد و با تولید اریتروسیتها، گرانولوسیت ها و پلاکتهای غیر طبیعی مشخص می گردد. همچنین سبب تخریب گلبولها در شرایط اسیدی پلاسما(نظیر زمان خواب به دلیل افزایشCO_2) می‌شود. کم خونی همولیتیک مزمن داخل رگی وجود دارد و در ۲۵٪ موارد با حملات هموگلوبینوری شبانه همراه است.

افزایش همولیز به دلیل کاهش چند پروتئین مدافع در برابر کمپلمان، مثل : عامل تشدید کننده تخریب [5] (DAF)، مهار کننده غشایی تخریب واکنشی (MIRL) [6] و پروتئین متصل کننده C_8 می‌باشد. همچنین کمبود استیل کولین استراز نیز وجود دارد.

PNH اغلب در جوانان مشاهده می گردد. هموگلوبینوری ممکن است وجود داشته باشد، ولی هموسیدرینوری معمولاً دیده می‌شود. آزمایش آنتی گلوبولین مستقیم اغلب منفی است. بیماری ممکن است در ابتدا آنمی آپلاستیک تشخیص داده شده و در ادامه علایم PNH را نشان دهد.

تقریبا در ۳ تا ۵ درصد بیماران، عارضه به صورت لوسمی حاد پیشرفت می کند. از ۲ آزمایش زیر می‌توان برای تشخیص استفاده کرد.

۱) **آزمایش همولیز سوکروز :** سوکروز با کاهش قدرت یونی محیط سبب تشدید اتصال کمپلمان به گلبولهای قرمز می‌شود. در این تست درصد همولیز اندازه گیری و اگر بیش از ۱۰ درصد باشد، مثبت تلقی می گردد. در PNH تست همولیز سوکروز مثبت است. تست آب قند [7] نیز نتایج مشابه را نشان می دهد.

۲) **آزمایش سرم اسیدی شده [8] یا تست هام [9] :** تشخیص قطعی PNH بستگی به مثبت بودن این تست دارد. در سرم اسیدی شده، کمپلمان از مسیر فرعی فعال و به گلبولهای قرمز متصل و سبب تخریب سلولهای غیر طبیعی PNH که به کمپلمان حساسیت بیشتری دارند، می‌شود.

---

[1] - Hereditary Pyropoikilocytosis
[2] - Hereditary stomatocytosis
[3] - Hydrocytosis
[4] - Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria(PNH)
[5] - Decay accelerating factor
[6] - Membrane inhibitor of reactive lysis
[7] - Sugar water test
[8] - Acidified serum
[9] - Ham test

در کم خونی دیس اریتروپوئیتیک مادرزادی نوع II (CDA-II) ، نیز این تست مثبت است، ولی تخریب با سرم خود فرد ایجاد نمی‌شود، و تخریب فقط با ۳۰ درصد از سرمهای طبیعی صورت می‌گیرد. در CDA-II همچنین آزمایش آب قند منفی است.

وضعیت خون محیطی شبیه آنمی فقر آهن می‌باشد ولی درمان با آهن، سبب افزایش همولیز می‌شود. آلکالن فسفاتاز لکوسیتی[1] (LAP) افزایش نشان می دهد. لازم به ذکر است که تشخیص نهایی بیماری براساس حساسیت گلبولهای قرمز بیمار در برابر تخریب با کمپلمان انجام می‌گیرد که با اسیدی کردن سرم با عواملی مثل سوکروز و اینولین مقدور می‌باشد.

فصل ۱۳- کم خوانی های ناشی از اتلاف خون- اختلالات هموگلوبین

اختلالات هموگلوبین

هموگلوبین های طبیعی

هموگلوبین A

هموگلوبین F

هموگلوبین A_2

هموگلوبین های دوره رویانی

هموگلوبین های گلیکوزیله

نام گذاری انواع هموگلوبین ها

طبقه بندی اختلالات هموگلوبین

اختلالات ساختمانی هموگلوبین

انواع تالاسمی ها

انواع هموگلوبین های تالاسمیک

بقای ارثی هموگلوبین جنینی

اختلالات اکتسابی هموگلوبین

روشهای تشخیص انواع هموگلوبین های غیر طبیعی

آزمایش دناتوراسیول قلیایی

کروماتوگرافی ستونی

آزمایش پایداری در ایزوپروپانول

آزمایش ناپایداری حرارتی

آزمایش داسی شدن با متابی سولفیت سدیم

الکتروفورز هموگلوبین

اختلالات ساختمانی هموگلوبین

واریانهای ساختاری زنجیره بتا

بیماری سلول داسی شکل

خصیصه سلول داسی شکل

بیماری هموگلوبین C

خصیصه هموگلوبین C (HbAC)

[1] - Leukocyte alkaline phospatase (LAP)

هموگلوبین D

هموگلوبین E

بیماری هموگلوبین SC

هموگلوبین M

هموگلوبین chesapeal

هموگلوبین کانزاس

هموگلوبین های ناپایدار

تالاسمی ها

سندرم های β تالاسمی

بتا تالاسمی هموزیگوس

بتا تالاسمی هتروزیگوس

تلاسمی $\delta\beta$

هتروزیگوسی دوگانه

تالاسمی آلفا

هیدروسپس جنینی

بیماری هموگلوبین H

آلفا تالاسمی مینور

هتروزیگوس تالاسمی α^+

اختلالات هموگلوبین :

هموگلوبین برای انتقال طبیعی اکسیژن به بافتها ضروری است، و اختلالات آن می تواند سبب تغییر شکل، عملکرد و ویسکوزیته گلبولهای قرمز شود. اختلالات هموگلوبین ، اشکالاتی در ساختمان ، عملکرد و یا تولید هموگلوبین است و معمولا ارثی بوده و با شدت متغیر ظاهر می‌شوند. اختلالات، اغلب به دلیل جانشینی یک اسید آمینه به جای اسید آمینه دیگر در زنجیره های α یا β ایجاد می‌شوند.

هموگلوبین های طبیعی

گروه هِم در همه انواع هموگلوبین های انسانی یکسان است. سه نوع هموگلوبین طبیعی پس از تولد عبارتند از :

هموگلوبین A $(\alpha_2\beta_2)$: هر مولکول هموگلوبین از یک تترامر زنجیره پلی پپتیدی گلوبین تشکیل یافته است. یک جفت زنجیره α هر کدام با ۱۴۱ اسید آمینه، و یک جفت زنجیره β هر کدام با ۱۴۶ اسید آمینه، در ساختمان آن وجود دارد. هر زنجیره به یک گروه هم متصل می‌شود. هموگلوبین اصلی دوره پس از تولد است.

هموگلوبین F $(\alpha_2\gamma_2)$: طی دوره جنینی، هموگلوبین غالب می‌باشد. دو زنجیره α با زنجیره‌های α هموگلوبین A یکسان هستند. همچنین یک جفت زنجیره γ با ۱۴۶ اسید آمینه موجود است که، در افراد طبیعی ، ۲ نوع می‌باشد، یعنی در موقعیت ۱۳۶ آلانین و یا گلیسین وجود دارد. نسبت زنجیره گلیسین به آلانین در زمان تولد ۳:۱ و در ۱۲ ماهگی ۲:۳ است. در زمان جنینی مقدار هموگلوبین F از هفته بیستم با شروع سنتز زنجیره β کاهش و در زمان تولد حدود ۶۰ تا ۹۰ درصد هموگلوبین تام خون را تشکیل می دهد. حدود ۱۲ ماهگی به کمتر از ۵٪ و پس از دو سالگی به ۲- ۱ درصد هموگلوبین تام خون کاهش می‌یابد. مقدار HbF در بزرگسالان حدود ۲-۱ درصد است و در حاملگی طبیعی و سندرم‌های نارسایی مزمن مغز استخوان افزایش نشان می دهد.

هموگلوبین A_2 $(\alpha_2\delta_2)$: زنجیره α با HbA و HbF یکسان است و دو زنجیره δ آن در ۸ اسید آمینه از ۱۴۶ اسید آمینه با زنجیره β فرق دارد. مقدار هموگلوبین A_2 در β تالاسمی، هیپرتیروئیدیسم و کم خونی مگالوبلاستیک افزایش می‌یابد. کمبود آهن سبب کاهش سنتز HbA_2 می‌شود.

جدول ۱-۱۳- انواع هموگلوبین های طبیعی

نوع هموگلوبین	ساختمان	درصد هموگلوبین
بزرگسالان		
A_1	$\alpha_2\beta_2$	>٪۹۵
A_2	$\alpha_2\delta_2$	<۳/۵٪
F	$\alpha_2\gamma_2$	<٪۱-٪۲
زمان تولد		
F	$\alpha_2\gamma_2$	٪۶۰-٪۹۰
A	$\alpha_2\beta_2$	٪۱۰-٪۴۰

هموگلوبین های دوره رویانی

گلبولهای قرمزی که اولین بار در حدود هفته ششم پس از لقاح ظاهر می‌شوند، دارای هموگلوبین های رویانی می باشند :

۱) HbGower-I , زنجیره زتا (ξ) مشابه رویانی زنجیره α است $(\xi_2 \in_2)$. زنجیره $\in$ همتای رویانی زنجیره های γ، β، δ می‌باشد.

۲) Hb پورتلند $(\xi_2\gamma_2)$ ۳) Hb Gower-II $(\alpha_2 \in_2)$.

در هفته های ۱۰ تا ۱۱، هموگلوبین جنین به طور عمده از نوع HbF است. باید توجه داشت که پس از تولد تعداد اندکی از دودمانهای گلبولهای قرمز که سلولهای F نامیده می‌شوند، توانایی تولید HbF را حفظ نموده و در بعضی شرایط مثل کم خونی همولیتیک شدید سبب سنتز HbF بیشتر می‌شوند.

ژنهای α,ξ روی کروموزم ۱۶ و ژنهای $\in$، γ، δ، β روی کروموزوم ۱۱ قرار دارند .

همو‌گلوبین های گلیکوزیله

گلیکوزیلاسیون، اتصال یک قند به یک پروتئین است. هموگلوبین های گلیکوزیله عبارتند از :

۱) HbA_1a = کمتر از ٪۱

۲) HbA_1b = کمتر از ٪۲

۳) HbA_1c =٪۳ . گلیکوزیله شدن در طی ۱۲۰ روز حیات گلبولهای قرمز به صورت خطی افزایش می‌یابد. در HbA_1C یک ملکول گلوکز به گروه آمین انتهائی زنجیره β متصل شده است. HbA_1C شاخص مناسبی برای کنترل بیماری دیابت می‌باشد.

نام گذاری انواع هموگلوبین ها

۱) HbA = هموگلوبین بزرگسالان[1]

۲) HbS = هموگلوبین کم خونی سلول داسی شکل[2]

۳) HbM = هموگلوبینهای مربوط به مت هموگلوبینمی[3]

۴) HbF = هموگلوبین دوره جنینی[4] سایر هموگلوبینها معمولا به صورت حروف الفبایی و یا با اسامی جغرافیایی برای تشخیص انواع هموگلوبین مشخص می‌شوند.

[1] - Adult
[2] - Sickle cell anemia
[3] - Methemoglubinemia
[4] - Fetal

۱) اختلالات ساختمانی هموگلوبین : در این حالت هموگلوبین های با توالی تغییر یافته اسیدهای آمینه که عملکرد یا خصوصیات فیزیکی یا شیمیایی آنها تغییر کرده است، وجود دارد. انواع اختلالات عبارتند از :

الف- پلیمریزاسیون غیرطبیعی هموگلوبین : HbS ، داسی شدن هموگلوبین

ب- تغییر در میل ترکیبی برای اتصال به اکسیژن :

افزایش میل ترکیبی (پلی سیتمی)، کاهش میل ترکیبی (سیانوز، کم خونی کاذب).

ج- هموگلوبین هایی که به آسانی اکسیده می‌شوند :

هموگلوبین‌های ناپایدار (کم‌خونی‌همولیتیک،یرقان) ،هموگلوبین‌های M-(مت‌هموگلوبینمی، سیانوز).

۲)تالاسمی‌ها- اختلال در بیوسنتز زنجیره‌های گلوبین :

الف- α تالاسمی ها

ب- β تالاسمی ها

ج- $\alpha\beta, \gamma\delta\beta, \delta\beta$ - تالاسمی‌ها، در صفحات آینده مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

۳) انواع هموگلوبین های تالاسمیک : هموگلوبین های با ساختمان ناهنجار با فنوتیپ وراثت همزمان ژن تالاسمی :

الف- HbE

ب- Hb مارپیچ ثابت

ج- Hb لپور

۴)بقای ارثی هموگلوبین جنینی HPFH : بقای HbF به مقدار زیاد پس از تولد

۵)اختلالات اکتسابی هموگلوبین :

الف-ایجاد مت هموگلوبین یا سولفو هموگلوبین به علت تماس با سموم.

ب- HbH در اریترولوسمی، افزایش HbF در وضعیت های استرس خونسازی و دیسپلازی مغز استخوان.

روشهای تشخیص انواع هموگلوبین های غیر طبیعی:

۱) **آزمایش دناتوراسیون قلیائی** [1]

این تست درصد HbF را نشان می‌دهد. اساس این آزمون بر مبنای مقاومت HbF در PH قلیائی است (برخلاف HbA). مقدار طبیعی HbF در بزرگسالان کمتر از دو درصد می‌باشد، و افزایش آن در بعضی هموگلوبینوپاتی ها، بتاتالاسمی ها، بقای وراثتی هموگلوبین جنینی (HPFH) دیده می‌شود. در برخی از اختلالات اکتسابی خون سازی نظیر کم خونی مگالوبلاستیک، میلوفیبروز، کم خونی آپلاستیک، لوسمی ها، اریترولوسمی، حاملگی و PNH نیز میزان HbF ممکن است افزایش یابد.

۲) **کروماتوگرافی ستونی** [2]

کروماتوگرافی تعویض یونی با استفاده از دی اتیل آمینواتیل (DEAE) – سلولز ، درصد HbA_2 را اندازه‌گیری می‌کند. مقدار طبیعی ۳/۵-۱/۵ درصد و در β تالاسمی بیشتر از ۳/۵ تا ۸ درصد می‌باشد. در کم خونی فقر آهن میزان HbA_2 کاهش ولی در هیپرتیروئیدی و کم خونی مگالوبلاستیک ممکن است مقدار آن افزایش نشان دهد.

[1] - Alkali denaturation
[2] - Column chromatography

۳) آزمایش پایداری در ایزوپروپانول[1] :

خون کامل را به همولیزیت تبدیل و سپس بافر ایزوپروپانول را به آن اضافه کرده و در ۳۷ درجه نگهداری و هر ۵ دقیقه یکبار رسوب هموگلوبین بررسی می گردد. ایزوپروپانول با تضعیف پیوندهای داخلی هموگلوبین، سبب کاهش پایداری هموگلوبین و در نتیجه رسوب در حلال ایزوپروپانول می‌شود. هموگلوبین های ناپایدار در عرض ۵ تا ۱۰ دقیقه رسوب می‌کنند، ولی همولیزیت طبیعی پس از ۳۰ تا ۴۰ دقیقه رسوب می نماید. هموگلوبین های F, S و مت‌هموگلوبین نتایج مثبت کاذب ایجاد می کنند.

۴) آزمایش ناپایداری حرارتی[2] :

اکثر هموگلوبین های ناپایدار در دمای ۵۰ درجه سریعتر از هموگلوبین های طبیعی رسوب می‌کنند. رسوب انواع هموگلوبین های طبیعی و ناپایدار در بافر تریس[3] سریعتر از بافرهای فسفات است. در اختلالات هموگلوبین ناپایدار، ۱۰ تا ۴۰ درصد هموگلوبین رسوب می کند.

۵) آزمایش شسته شدن توسط اسید بر روی لام[4] :

روش اصلاح شده Betke , Kleihauer توسط Shepard ، برای بررسی توزیع HbF در گلبولهای قرمز به کار می رود. این تست در تشخیص گلبولهای قرمز حاوی HbF در جریان خون مادران Rh منفی مفید بوده و اصول آن به قرار زیر است :

گلبولهای قرمز دارای HbF در برابر Acid-elution مقاومت بیشتری داشته و در گسترش گلبولهای قرمز حاوی HbF به رنگ قرمز پر رنگ و بقیه به حالت کم رنگ مشاهده می‌شوند. باید توجه داشت که رتیکولوسیت نیز ممکن است مقاومت نشان دهد.

در بزرگسالان ۱ تا ۵ درصد گلبولهای قرمز حاوی HbF هستند در بیماری HPFH ، HbF به صورت یکنواخت بین گلبولهای قرمز توزیع می‌شود ولی در تالاسمی یا هموگلوبینوپاتی توزیع یکنواخت نمی‌باشد.

۶) آزمایش داسی شدن با متا بی سولفیت[5] سدیم :

اساس آزمایش مربوط به کاهش قابلیت حل هموگلوبین غیرطبیعی (HbS) در فشار کم اکسیژن می‌باشد. داسی شکل شدن در گلبولهای قرمز حاوی HbS سریعتر بوده ولی برای تفکیک آنمی سیکل سل از خصیصه داسی (Trait) مناسب نیست. واکنش مثبت در هموگلوبین‌های غیرطبیعی کمیاب مانند Hb-Barts ، HbI ، HbC-Harlem نیز ممکن است دیده شود. تست تاییدی الکتروفورز هموگلوبین می‌باشد.

۷) آزمایش قابلیت انحلال بادی تیونایت[6]

دی تیونایت (هیدروسولفیت سدیم) گلبولهای قرمز را تخریب و HbS را احیا می کند. HbS احیا شده در بافرهای غیر آلی تغلیظ شده نامحلول است. این آزمایش به عنوان یک تست موردیابی[7] برای وجود HbS مفید می‌باشد.

واکنش مثبت یعنی کدورت محلول (علت کدورت وجود پلیمرهای HbS احیا شده، می‌باشد)، در حضور اجسام هنز و اختلالات هموگلوبین های ناپایدار و طحال برداری و اختلالات پروتئینی، نیز دیده می‌شود. اگر هموگلوبین کمتر از ۷ گرم در دسی لیتر باشد باید نمونه را برای ایجاد کدورت مناسب دو برابر کرد. در ضمن باید توجه داشت که نمونه های لیپمیک سبب واکنش مثبت کاذب می‌شوند.

۸) الکتروفورز هموگلوبین :

مولکولهای هموگلوبین در محلول قلیایی دارای بار منفی بوده و در الکتروفورز به سوی آند یا قطب مثبت حرکت می کنند. سرعت حرکت هموگلوبین به طرف آند بستگی به مقدار بار منفی آن دارد. در PH اسیدی، هموگلوبین بار مثبت گرفته و حرکت آن در خلاف جهت PH قلیائی صورت می‌گیرد. جانشینی اسیدهای آمینه سبب تغییر مقدار بار الکتریکی ملکول هموگلوبین و تغییر سرعت حرکت آن می‌شود. ۱) هموگلوبین های با سرعت حرکت کم: O, A_2, E, C ۲) هموگلوبین های با سرعت حرکت متوسط : D ، G ، S و لپور ۳) هموگلوبین های سریع : I, H و سریعترین Hb Bart .

[1] - Isopropanol stability test
[2] - Heat instability test
[3] - Tris-Buffer
[4] - Acid elution test
[5] - Sickling test
[6] - Solubility test-Dithionite
[7] - Screening test

اختلالات ساختمانی هموگلوبین :

ساختار یکی از چهار نوع زنجیره پلی پپتیدی تشکیل شده غیر طبیعی است و معمولا ناشی از جایگزین شدن یک اسیدآمینه واحد می‌باشد. در انواع مهم، زنجیره β یا α دچار اختلال شده است، ولی ناهنجاری زنجیره γ و δ به دلیل پایین بودن سطح هموگلوبین دچار اختلال، کمتر آشکار شده و اهمیت بالینی چندانی ندارد. بسته به نوع اسیدآمینه جایگزین شده و جایگاه آن، عملکرد هموگلوبین غیرطبیعی گشته، و یا خواص شیمیایی یا فیزیکی آن تغییر می‌یابد(جدول ۲-۱۳).

واریانهای ساختاری زنجیره بتا

بیماری سلول داسی شکل (S/S) :

HbS به علت بروز جهش در ژن β - گلوبولین ایجاد می‌شود که در جایگاه اسید آمینه ششم والین به جای اسید گلوتامیک می نشیند. HbS ($\alpha_2\beta_2^{6glu\rightarrow Val}$) در صورت از دست دادن اکسیژن به صورت قابل برگشت پلیمریزه شده و ویسکوزیته افزایش می‌یابد. خروج پتاسیم از سلول و ورود کلسیم به آن سبب کاهش آب سلول می‌شود. این تغییرات سبب داسی شدن سلول و از دست دادن قابلیت تغییر شکل گلبول که برای عبور از مویرگ های کوچک لازم می‌باشد، خواهد شد. همولیز نتیجه تخریب گلبولهای قرمز غیرطبیعی توسط طحال می‌باشد.

علایم بالینی اصلی بیماری شامل تب، حملات دردایسکمیک، انفارکتوس طحال و اختلالات سیستم اعصاب مرکزی و استخوانها، کبد، کلیه‌ها، ریه‌ها، و زخمهای ساق پا می باشند.

بیماری در اوایل دوران کودکی دیده می‌شود. تورم دردناک دو طرفه پشت دستها یا پاها در اثر رکود خون مویرگی (به علت گلبولهای قرمز داسی شکل) سبب سندرم دست – پا می‌شود. در این بیماری، شوک کم حجمی خون[1] به علت اتساع طحال، بی طحالی عملکردی ، و شیوع عفونت های سالمونلایی و پنوموکوکی ، اتواسپلنوکتومی در بزرگسالان(در دوره کودکی طحال بزرگ است)، و نارسایی کلیه در تعدادی از بزرگسالان ممکن است مشاهده گردد. بحرانهای آپلاستیک ممکن است در این بیماری ایجاد و سبب کاهش بیشتر غلظت هموگلوبین شود.

تشخیص آزمایشگاهی :

الکتروفورز هموگلوبین نتایج زیر را نشان می دهد : صفر : A ، ۹۰-٪۸۰ : S ،متغیر : F, A_2

علایم خون محیطی :

در خون محیطی MCV و MCHC طبیعی است. اجسام هاول ژولی و پاپن هایمر به علت فقدان طحال، در داخل گلبولهای قرمز دیده می‌شوند. سلولهای داسی شکل، ترومبوسیتوز و نوتروفیلی و گلبولهای قرمز هسته دار، وجود دارند. مغز استخوان هیپرپلازی نورموبلاستیک و افزایش آهن ذخیره نشان می دهد. تشخیص بیماری با الکتروفورز هموگلوبین و تست داسی شدن صورت می‌گیرد. شکنندگی اسمزی در این بیماری کاهش می‌یابد.

خصیصه سلول داسی شکل (S/A) یا (HbAS) :

معمولا بدون علامت است، ولی هماتوری ممکن است دیده شود. این اختلال می تواند سبب مقاومت در برابر مالاریای ناشی از پلاسمودیوم فالسیپاروم شود. در الکتروفورز، هموگلوبین A بیشتر از ۵۰ درصد هموگلوبین S کمتر از ۵۰ درصد و هموگلوبین A_2 طبیعی یا مختصری افزایش، و هموگلوبین F طبیعی می باشند. در خون محیطی هموگلوبین، هماتوکریت طبیعی و تست داسی شدن مثبت است.

بیماری هموگلوبین C

ساختار زنجیره‌ها بصورت $\alpha_2B^c\beta^c$ است بیماری HbC ($\alpha_2B_2^{6GLu\rightarrow Lys}$) نوعی کم خونی همولیتیک خفیف همراه با اسپلنومگالی می‌باشد. در خون محیطی کاهش تعداد گلبولهای قرمز و هموگلوبین و هماتوکریت و تعداد زیادی تارگت سل دیده می‌شود. در الکتروفورز هموگلوبین A صفر، هموگلوبین C بیش از ۹۰ درصد و هموگلوبین F طبیعی است.

[1] - Sicklecell trait

خصیصه هموگلوبین C[1] (HbAC) :

ساختار زنجیره ها به صورت $\alpha_2 B^A \beta^C$ است. علایم بالینی وجود ندارد. یافته های خون محیطی طبیعی و بندرت تارگت سل دیده می‌شود. در الکتروفورز، HbA بیش از ۵۰ درصد و هموگلوبین C کمتر از ۴۰ درصد و هموگلوبین F طبیعی است.

هموگلوبین D $(\alpha_2 B_2^D)$ **:**

بدون علامت بالینی است. مورفولوژی سلولها در خون محیطی طبیعی، ولی ممکن است تعدادی تارگت سل دیده شود. در الکترزفورز هموگلوبین D ۹۵ درصد است ولی در نوع Trait هموگلوبین A, D مقدار مساوی دارند.

هموگلوبین E $(\alpha_2 B_2^E)$ **:**

در هموگلوبین E ، در زنجیره β در موقعیت ۲۶، به جای اسید گلوتامیک، لیزین نشسته است. معمولا بدون علامت بوده و در خون محیطی MCV و MCHC کاهش ، رتیکولوسیت ها طبیعی و تارگت سل، میکروسیت و سلولهای هیپوکروم دیده می‌شوند. در الکتروفورز هموگلوبین E ۹۰ تا ۹۵ درصد و در نوع Trait هموگلوبین A, E به مقدار مساوی دیده می‌شوند.

بیماری هموگلوبین SC $(\alpha_2 B^S B^C)$**:**

علایم بالینی کم خونی داسی شکل، ولی با شدت خفیف تر، دیده می‌شوند، ولی برخلاف آن معمولاً بزرگی طحال وجود دارد. در خون محیطی کاهش تعداد گلبولهای قرمز و هموگلوبین و هماتوکریت، MCV و MCHC طبیعی و رتیکولوسیتوز مشاهده می گردد. در الکتروفورز، هموگلوبین A صفر و هموگلوبین S, C مساوی و حدود ۴۷ درصد می‌باشد، و HbF متغیر است.

هموگلوبین M :

جهش سبب می‌شود که آهن در وضعیت فریک باقی بماند، و یا اینکه آنزیم های احیا کننده مت هموگلوبین را دچار اختلال می کند. در این حالت مت هموگلوبین رنگ آبی – قهوه ای کدر شبیه سیانوز ایجاد می نماید. میل ترکیب مت هموگلوبین به اکسیژن زیاد است. مت هموگلوبینمی در حد بیش از ۱۵ درصد، سبب بروز علایم ایسکمی مغزی، و در سطح بیش از ۶۰ درصد کشنده می‌باشد. تزریق داخل وریدی متیلن آبی به میزان mg/kg ۱، در درمان موثر است.

هموگلوبین chesapeak :

اختلال زنجیره α مرتبط با پلی سیتمی خفیف است و میل ترکیبی زیادی با اکسیژن دارد.

هموگلوبین کانزاس :

میل ترکیبی اندکی با اکسیژن دارد.

هموگلوبین های ناپایدار :

بعضی اوقات جایگزینی اسیدهای آمینه سبب کاهش حلالیت یا افزایش حساسیت هموگلوبین نسبت به اکسیداسیون شده و ملکولهای هموگلوبین پس از رسوب اجسام انکلوزیونی به نام اجسام هنز را ایجاد می کنند که با رنگ آمیزی فوق حیاتی مثل کریستال ویوله قابل تشخیص هستند. انکلوزیونها به غشای گلبولهای قرمز آسیب رسانده و سبب کوتاه شدن طول عمر گلبولها می‌شوند. جهش های این گروه عبارتند از : ۱) تغییر محل تماس بین α و β مثل Hb philly ۲) تغییر قطعات مارپیچی مثل Hb Genova ۳) اختلال واکنش متقابل حفره هیدروفوبیک زیر واحدهای گلوبین با حلقه Heme مثل Hb koln .

برداشته شدن انکلوزیونها توسط طحال، سبب ایجاد سلولهای با عمر کمتر و بروز کم خونی همولیتیک می‌شود. زخم های اندام تحتانی و بیماری کیسه صفرا، و یرقان و بزرگی طحال معمول می‌باشد. ادرار حاوی رنگدانه دی پیرول در برخی موارد بوده، و سیانوز در بعضی از بیماران، وجود دارد.

در خون محیطی سلولهای گاز زده[2] ممکن است دیده شوند. کم خونی نورموسیتیک و نورموکروم تا هیپوکروم وجود دارد.

در بیمارانی که اسپلنوکتومی شده اند، به دلیل تداخل اجسام هنز در تعیین هموگلوبین و شمارش الکترونیکی پلاکتها و گلبولهای سفید، بایستی شمارش با روشهای دستی انجام شود. تشخیص اصلی با تست ناپایداری حرارتی و پایداری در ایزوپروپانول صورت می گیرد.

[1] - Hb c trait
[2] - Bite cell

جدول ۲-۱۲- انواع مشخص هموگلوبین های غیرطبیعی

نام‌هموگلوبین	جهش	اثرات عمده بالینی
S	$B^{6Glu\rightarrow Val}$	کم خونی- انفارکتوس های ایسکمیک
C	$B^{6Glu\rightarrow Lys}$	کم خونی خفیف، انفارکتوس های ناشی از HbS
E	$B^{26Glu\rightarrow Lys}$	کم خونی میکروسیتیک، بزرگی طحال، فنوتیپ تالاسمی
کلن	$B^{98Val\rightarrow Met}$	کم خونی همولیتیک، اجسام هنزپس از برداشتن طحال
یاکیما	$B^{99\,ASP\rightarrow His}$	پلی سیتمی
کانزاس	$B^{102\,Asn\rightarrow Lys}$	کم خونی خفیف
ایواتا	$\alpha^{87\,His\rightarrow Tyr}$	مت هموگلوبینمی

تالاسمی ها

سندرم های تالاسمی به طور اولیه در افرادی با تبار مدیترانه ای، آسیایی و آفریقایی دیده می‌شوند. این سندرم ها سبب ایجاد درجات متغیری از اختلال سنتز زنجیره‌های پلی پپتیدی سازنده ملکول هموگلوبین می‌گردند.خصوصیات سندرم‌های تالاسمی عبارتند از :

۱) اختلال سنتز هموگلوبین که سبب ایجاد انواع غیرطبیعی گلبولهای قرمز نظیر کدوسیت، میکروسیت، اوالوسیت و نقاط بازوفیلی[1] می‌شوند.

۲) عدم تعادل در تولید زنجیره های گلوبین که سبب تشکیل تترامرهایی از یک زنجیره واحد مثل هموگلوبین Bart و هموگلوبین H و یا ترامر α شده و تخریب سریع گلبولهای قرمز را موجب می گردند. همچنین معمولا افزایش مقدار هموگلوبین A_2 و یا F و یا هر دو در سندرم های β تالاسمی وجود دارد.

در تالاسمی ها میزان سنتز زنجیره ها کاهش یافته است، ولی زنجیره تشکیل شده، اغلب ساختار طبیعی دارد. در β تالاسمی سنتز زنجیره β، و در نوع α، ساخت زنجیره α کاهش یافته است. در تالاسمی β°عدم سنتز β ، و در تالاسمی β^{+} کاهش سنتز زنجیره β وجود دارد. تالاسمی های β ناشی از نقایص ملکولی مختلف هستند. تالاسمی های α ناشی از حذف ژنی با طول متفاوت می باشند. تالاسمی α° $(\alpha$- تالاسمی ۱)، از حذف هر دو ژن زنجره α ناشی می‌شود. در تالاسمی α^{+} (α - تالاسمی ۲) حذف های با اندازه متفاوت سبب غیبت یکی از دو ژن α گلوبین بر روی کروموزم ۱۶ می‌شوند و یا اینکه اختلالات غیرحذفی با کاهش برون ده mRNA وجود دارند (ژنهای عامل زنجیره های بتا (β) و دلتا (δ) و دو زنجیرهٔ گاما $(A\gamma,G\gamma)$ بر روی کروموزم ۱۱ قرار دارند).

سندرم های β تالاسمی

در تمام انواع β تالاسمی ها، خاصیت هیپوکرومی و میکروسیتوز دیده می‌شود. در هتروزیگوتها (صفت تالاسمی بتا) کم خونی به صورت خفیف وجود دارد. در وضعیت هموزیگوت، تولید نامتعادل زنجیره های α و β گلوبین، سبب تجمع زنجیره های α و ایجاد اجسام انکلوزیونی سمی می‌شود. این اجسام موجب تخریب اریتروبلاستها در مغز استخوان و کاهش طول عمر گلبولهای قرمز و کم خونی همولیتیک شدید می گردد. کم خونی سبب افزایش اریتروپویتین و هیپرپلازی اریتروئید و خونسازی غیرموثر شده و کانونهای خونسازی خارج مغز استخوان مثل کبد و طحال نیز ایجاد می‌شود. اختلالات رشد و تکامل در کودکان وجود داشته و برجستگی استخوان پیشانی و هیپرپلازی مغز استخوان فک فوقانی، صورت سنجابی شکل را ایجاد می کند. زخم های اندام تحتانی، بزرگی کبد و طحال، سنگ‌های صفراوی، نارسایی احتقانی قلب، حساسیت به عفونت، و اختلال عملکرد غدد از عوارض بیماری می باشند. انتقال خون سبب بهبود علایم شده، ولی به سبب افزایش بار آهن بدن معمولا سبب مرگ بیمار به دلیل سیدروز عضله قلبی و نارسایی قلبی می‌شود (قبل از ۳۰ سالگی). اصطلاحات ماژور و حد واسط ، و مینور، شدت بالینی بیماری را نشان می دهند.

[1] - Basophilic stippling

الف- بتا تالاسمی هموزیگوس (تالاسمی ماژور، آنمی کولی[1]) :

ساختار $\alpha_2 B^{\circ}\beta^{\circ}$ یا $\alpha_2 B^{+}\beta^{+}$ دارد. تولید زنجیره γ زیاد است. و تجمع زنجیره های α وجود دارد.

علایم بالینی :

علایمی نظیر یرقان، آنمی و بزرگی طحال و کبد ظاهر سنجابی شکل یا شبه مغولی[2] در کودکان دیده می‌شود. ادامه زندگی بیمار وابسته به انتقال خون است. خونسازی غیرموثر، وجود دارد.

تشخیص آزمایشگاهی :

علایم خون محیطی :

کاهش تعداد گلبولهای قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت و کاهش MCV و افزایش MCHC (به دلیل کاهش MCV و طبیعی بودن مقدار MCH ، MCHC افزایش نشان می دهد.)، آنیزوسیتوز و پویی کیلوسیتوز شدید و تارگت سل، شیستوسیت، اوالوسیت، گلبولهای قرمز هسته دار و نقاط بازوفیلی مشاهده می‌شوند. تعداد رتیکولوسیت ها متغیر است. مقاومت اسمزی گلبولهای قرمز، آهن سرم و بیلی روبین غیرمستقیم افزایش نشان می دهند.

علایم مغز استخوان :

هیپرپلازی اریتروئید وجود دارد. آهن ذخیره افزایش یافته و سیدروبلاستها دیده می‌شوند.

الکتروفورز هموگلوبین : در نوع تالاسمی B° ، HbA صفر و هموگلوبین A_2 ,F افزایش می‌یابند ولی افزایش هموگلوبین F بسیار بیشتر از A_2 است. در نوع B^{+} هموگلوبین A نیز در الکتروفورز دیده می‌شود.

درمان : درمان با انتقال خون تا افزایش هماتوکریت به ۲۷ تا ۳۰ برای مهار خونسازی و برداشت طحال و واکسیناسیون پنموکک و پیوند مغز استخوان، انجام می‌گیرد.

ب- بتا تالاسمی هتروزیگوس (تالاسمی مینور، خصیصه کولی[3]) :

دارای ساختار $\alpha_2 B\beta^{\circ}$ و یا $\alpha_2 B\ \beta^{+}$ می‌باشد. آنمی هیپوکروم و معمولا بدون علامت است. علایم آنمی در زمان بارداری و عفونت تشدید می یابند، ولی اغلب افراد مبتلا، علامت خاصی را نشان نمی دهند.

تشخیص آزمایشگاهی :

علایم خون محیطی :

تعداد گلبولهای قرمز، ورتیکولوسیت‌ها افزایش یافته، ولی هماتوکریت و هموگلوبین طبیعی یا اندکی کاهش دارند. MCV و MCHC کمتر از حد طبیعی می‌باشد. در تالاسمی مینور بر خلاف آنمی فقر آهن تعداد اریتروسیت ها افزایش یافته و تغییرات گلبولهای قرمز شدیدتر است.

الکتروفورز هموگلوبین : هموگلوبین A کاهش، هموگلوبین F طبیعی یا افزایش، هموگلوبین A_2 افزایش نشان می‌دهد. مقدار هموگلوبین A_2 از F بیشتر است (برخلاف نوع ماژور).

ج- تالاسمی δB :

به دو زیر گروه اصلی $(\delta B)^{\circ}$ و $(\delta B)^{+}$ تقسیم می‌شود. هموگلوبین Lepore نمونه ای از تالاسمی $(\delta B)^{+}$ است که دارای یک زنجیره α طبیعی به همراه ترکیبی از زنجیره δB می‌باشد. هموگلوبین لپور در الکتروفورز قلیایی مشابه HbS حرکت می کند. تالاسمی هموزیگوت $(\delta B)^{\circ}$ با فقدان HbA و HbA_2 مشخص می‌شود.

---

[1] - Cooley's anemia
[2] -Mongoloid
[3] - Cooley's trait

د- هتروزیگوسیتی دوگانه :

۱- تالاسمی‌سلول داسی‌شکل(HbS / تالاسمی بتا):

دارای ساختارهای $\alpha_2 B^S B^\circ$ و یا $\alpha_2 B^S B^+$ می‌باشد. نوع B° شدیدتر از نوع B^+، علایم شبیه کم خونی داسی شکل می‌باشد، ولی بر خلاف آن طحال بزرگ است. MCV و MCHC کاهش یافته و میکروسیت، تارگت سل و درپانوسیت دیده می‌شود.

الکتروفورز هموگلوبین :

- نوع $\alpha_2 B^S B^\circ$:

HbA_2 =٪۴ HbF = ۱-٪۳۰، HbS = ۷۰-٪۹۰ ، صفر = HbA

- نوع $\alpha_2 B^S B^+$:

متغیر = HbF, A_2 HbS = > ٪۵۰ ، HbA = < ٪۵۰

۲- تالاسمی هموگلوبین C (HbC / تالاسمی بتا) :

دارای ساختارهای $\alpha_2 B^C B^\circ$ و یا $\alpha_2 B^C B^+$ می‌باشد. کم خونی همولیتیک با شدت متوسط وجود دارد. MCV و MCH کاهش، شیستوسیت، میکرواسفروسیت، و تارگت سل دیده می‌شود.

الکتروفورز هموگلوبین :

- در نوع $\alpha_2 B^C B^\circ$: HbF =۵-٪۱۰ HbC =۹۰-٪۹۵ HbA = ۰

- در نوع $\alpha_2 B^C B^+$: HbC =۷۰-٪۸۰ HbA =۲۰-٪۳۰

لازم به ذکر است که در حال حاضر روش مناسبی برای جداسازی هموگلوبین های A_2 و C از هم وجود ندارد.

۳- تالاسمی هموگلوبین E (HbE / تالاسمی بتا) :

علایم شبیه تالاسمی ماژور است. در الکتروفورز، HbE ۱۵ تا ۹۵ درصد، و HbF ۵ تا ۸۵ درصد و HbA تقریباً صفر می‌باشد.

۴- بقای ارثی هموگلوبین جنینی(HPFH) [1]:

در این حالت، تولید HbF پس از نوزادی نیز ادامه دارد. در فرد هموزیگوت مقدار HbF ، ۱۰۰ درصد و عدم سنتز زنجیره δ, β ، به علت حذف ژنهای δB می‌باشد. علامت خاصی از کم خونی دیده نمی‌شود.

تالاسمی آلفا :

احتمالاً شایعترین اختلال تک ژنی است، حاملین بیماری نسبت به عفونت با پلاسمودیوم فالیسپارم مقاوم هستند. اختلالات ژنتیکی در تالاسمی α از نوع حذف ژن [2] در کروموزم ۱۶ است. دو ژن α گلوبین در برابر یک ژن β قرار دارد (در مجموع چهار ژن) . لذا انواع هموزیگوس و هتروزیگوس بیماری به قرار زیر است :

الف- هیدروپس جنینی [3] **(فتالیس) یا بیماری *Hb Bart's* :**

به علت فقدان هر چهار ژن (ژنوتیپ --/--) است. علایم بالینی شبیه اریتروبلاستوز فتالیس در ناسازگاری Rh می‌باشد. و عدم سنتز زنجیره‌های α سبب سقط جنین و یا مرگ در زمان تولد می‌شود. HbF و HbA وجود ندارد. مقدار زیادی (γ_4) Hb Bart's و (β_4) HbH موجود می‌باشد. و به این بیماری ، α تالاسمی ماژور تیپ ۱ گفته می‌شود. در الکتروفورز، هموگلوبین بارت بیش از ۸۰ درصد مشاهده می گردد.

ب- بیماری هموگلوبین H [4] :

در این حالت سه ژن از چهار ژن α وجود ندارد. (ژنوتیپ α - / --) آنمی متوسط یا خفیف ایجاد می‌شود که در زمان بارداری و عفونت تشدید می‌یابد.

---

[1] - Hereditary persistance of fetal Hb
[2] - Deletion
[3] - Hydrops fetalis
[4] - Hb H disease

تشخیص آزمایشگاهی :

علایم خون محیطی :

تعداد گلبولهای قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت و MCV و MCHC کاهش یافته و رتیکولوسیت ها افزایش نشان می دهند. سلولهای میکروسیت و هیپوکروم و تارگت سل، دیده می‌شود.

الکتروفورز هموگلوبین :

در بزرگسالان، ۴۰ تا ۵۰ درصد هموگلوبین H و مقداری Hb Bart's وجود دارد. درصد Hb Bart's در هنگام تولد ۲۰ تا ۴۰ درصد است.

ج- آلفا تالاسمی مینور (تالاسمی α° هتروزیگوس یا تالاسمی α^{+} هموزیگوس)[1]

دو ژن از چهار ژن α، در این حالت وجود ندارد. [(ژنوتیپ (α -/ α -) یا (α α /--)] . علایم بالینی شبیه β تالاسمی مینور است.

علایم خون محیطی :

تعداد گلبولهای قرمز، مقدار هموگلوبین و هماتوکریت طبیعی یا کاهش، MCV و MCHC کاهش و تعداد رتیکولوسیت ها طبیعی یا افزایش نشان‌می‌دهد.آهن و فریتین سرم و پروتوپورفیرین گلبولهای قرمزطبیعی‌می‌باشند.به این‌بیماری α thalssemia trait- 1 نیز گفته می‌شود.

د- تالاسمی α^{+} هتروزیگوس یا ناقل خاموش:

دراین‌حالت‌یک ژن از چهار ژن αگلوبولین وجود نداشته و به(α – thalassemia trait-2) موسوم است. علامت بالینی یا آزمایشگاهی خاصی دیده نمی‌شود در نوزادان Hb Bart's یک تا دو درصد هموگلوبین خون را تشکیل می‌دهد.

هموگلوبین Constant Spring یا HbCS:

در این اختلال،زنجیره α دارای ۳۱ اسید آمینه اضافی است. در حالت هموزیگوت تالاسمی خفیف به همراه میکروسیتوز وجود دارد. در الکتروفورز خون ۵ تا ۸ درصد HbCS دیده می‌شود در حالت هتروزیگوت اختلالی مشاهده نمی گردد و HbCS کمتر از یک درصد است.

تشخیص قبل از تولد اختلالات هموگلوبین :

با روشهای زیر صورت می‌گیرد :

۱) آنالیز خون جنینی [2] و تعیین نسبت سنتز زنجیره های گلوبین α و β و γ صورت می‌گیرد. در هفته ۱۸ تا ۲۰ حاملگی نسبت طبیعی γ / β ، ۰/۱ تا ۰/۱۲ است.

۲) آمنیوسنتز و آنالیز DNA جنینی و مشخص کردن حذف و جهش های ژنی.

[1] - α Thalassemia trait
[2] - Placental aspiration

فصل ١٤ – کم خونی های ناشی از اتلاف خون

اختلالات متابولیک (نقص در فعالیت آنزیمی)

نقایص مسیر امبون میرهوف

نقایص شنت هگزوزمنوفسفات

سایر نقایص آنزیمی

همولیز اکتسابی وابسته به نقص خارج سلولی

همولیز ناشی از عوامل شیمیایی یا سموم

همولیز ناشی از عوامل فیزیکی

همولیز ناشی از عوامل عفونی

کم خونی های همولیتیک ایمنی

کم خونی همولیتیک اتوایمیون

AIHA وابسته به آنتی بادی های گرم

AIHA وابسته به آنتی بادی های سرد

هموگلوبینوری حمله ای ناشی از سرما

کم خونی همولیتیک ایزوایمیون

کم خونی همولیتیک ایزوایمیون ناشی از ناسازگاری Rh

کم خونی همولیتیک ایزوایمیون نوزادان ناشی از ناسازگاری ABO

کم خونی همولیتیک ایمنی ناشی از دارو

پلی سیستمی – تشخیص اختلالات گلبولهای قرمز

پلی سیتمی

انواع پلی سیتمی

پلی سیتمی واریا اولیه

پلی سیتمی مطلق یا ثانویه

تشخیص اختلالات گلولهای قرمز

کم خونی نورموکروم نورموسیتیک

کم خونی همولیتیک

کم خونی ماکروسیتیک

کم خونی هیپو کروم – میکروسیتیک

کم خونی سیدروبلاستیک

کم خونی بیماری مزمن

کم خونی آپلاستیک

خصیصهٔ آلفا تالاسمی

بتا تالاسمی هتروزیگوس

بتا تالاسمی هموزیگوس

پلی سیتمی ورا

گلبول قرمز در طی بلوغ، هسته، ریبوزوم ها و میتوکندری هایش را از دست داده و بنابراین فاقد توانایی تولید پروتئین و فسفریلاسیون اکسیداتیو می‌باشد. تولید انرژی به طور عمده از راه گلیکولیز صورت می‌گیرد که ۹۰ درصد آن به صورت بی هوازی از مسیرامبدن میرهوف و ۱۰ درصد به طور هوازی از شانت هگزوزمنوفسفات (HMP) تامین می‌شود.

گلوکز برای انجام فعالیت های متابولیک و نگهداری ساختار طبیعی گلبول، قابلیت تغییر شکل غشا و حفظ شکل مقعرالطرفین گلبول، لازم است. در مسیرامبدن میرهوف[1] ۲ ملکول ATP ایجاد می‌شود. شنت هگزوزمنوفسفات (یاپنتوزفسفات) از نظر تولید NADPH و تامین گلوتاتیون احیا شده (GSH) اهمیت دارد. در مسیر پنتوزفسفات، آنزیم گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز، در واکنش تبدیل گلوکز-۶-فسفات به ۶ فسفوگلوکونات، NADPH تولید می‌کند. تولید NADPH به احیای گلوتاتیون، وابسته می‌باشد. قسمت عمده مت هموگلوبین تولید شده در گلبول قرمز توسط مت هموگلوبین ردکتاز، و بخشی نیز توسط گلوتاتیون (GSH) احیا می‌شود.

اگر سلول در معرض عوامل اکسید کننده قرار گیرد احتمالاً در اثر افزایش تولید NADP ، فعالیت شانت HMP بیشتر می‌شود ولی اگر آنزیمی در این مسیر فاقد فعالیت باشد، GSH تولید نشده و هموگلوبین در اثر عوامل اکسیدان ، به صورت اجسام هنز رسوب، و سبب تخریب گلبول قرمز می‌شود.

همچنین شانت راپاپورت لوبرینگ[2]، با تولید 2, 3 DPG از DPG ۳و ۱ سبب انحراف منحنی تجزیه اکسی هموگلوبین به سمت راست می‌شود، چون 2, 3 DPG با زنجیره β ترکیب و میل ترکیبی هموگلوبین به اکسیژن را کاهش می دهد. در صورت فعالیت این شنت، تولید ATP برای تامین انرژی سلولی متوقف می‌شود.

مجموعه عوامل فوق تحت تاثیر آنزیم های متعددی تنظیم شده، و نقش عمده ای در عملکرد طبیعی گلبول قرمز، بر عهده دارند. کاهش فعالیت آنزیمی در اریتروسیت سبب ایجاد اختلالاتی می‌شود که نتیجه آن، تخریب گلبول و ایجاد کم خونی همولیتیک است. کاهش فعالیت آنزیم به طور تدریجی و در اثر پیر شدن سلول ایجاد و سبب مرگ سلول به طور طبیعی می گردد. نقص فعالیت آنزیم ها به صورت ارثی و از طریق والدین انتقال یافته و سبب همولیز می‌شود.

۱) نقایص مسیرامبدن میرهوف :

اختلالات مختلف آنزیمی در این مسیر از نظر علایم بالینی مشابه هم هستند. در این حالت، اغلب گلبولهای قرمز از نظر ATP دچار کمبود می باشند. کمبود پیروات کیناز و هگزوکیناز محدود به گلبولهای قرمز است و اختلالی در لکوسیت ها وجود ندارد. ولی کمبود فسفات ایزومراز و فسفوگلیسرات کیناز، گلبولهای سفید را هم درگیر می کند ولی اختلال واضحی در عملکرد گلبولهای سفید مشاهده نمی‌شود. ۹۵ درصد نقایص مربوط به کمبود پیروات کیناز (PK) و ۴ درصد به دلیل کمبود گلوکز فسفات ایزومراز می باشند.

اغلب نقایص آنزیم های گلیکولیتیک توراث اتوزومال مغلوب دارند، یعنی والدین فرد بیمار، هتروزیگوت بوده و با وجود کاهش فعالیت آنزیم تا نصف مقدار طبیعی، اختلالی در آنان دیده نمی‌شود، چون حتی این مقدار نیز برای فعالیت طبیعی سلول کفایت می کند.

در افراد مبتلا به کمبود پیرووات کیناز (PK)، کم خونی همولیتیک خفیف تا شدید و یرقان و بزرگی طحال وجود دارد، ولی به دلیل مقدار زیاد 2, 3 DPG - (۲ و ۳ دی فسفوگلیسرات) کم خونی تحمل می‌شود.

قبل از برداشتن طحال، اختلال گلبولهای قرمز وجود ندارد. ولی پس از طحال برداری اکینوسیت دیده می‌شود در ضمن افزایش شمارش رتیکولوسیت ها و درجاتی از پوئی کیلوسیتوز و گلبول های قرمز هسته دار نیز مشاهده می گردد (هنز بادی در گسترش خون محیطی دیده نمی‌شود).

تشخیص آزمایشگاهی :

الف) آزمایش لکهٔ فلوئورسان :

آنزیم PK ، پیروات و ATP ایجاد می کند. پیروات نیز با تشکیل لاکتات، NADH را به NAD احیا می‌کند. مشاهدهٔ کاهش فلوئورسان NADH در نور فرابنفش، نشانه وجود پیرووات کیناز است. فعالیت پیرووات کیناز در لکوسیت ها ۳۰۰ برابر اریتروسیت‌ها می‌باشد لذا جدا کردن لکوسیت ها قبل از انجام تست الزامی است.

[1] - Embden- Meyerhof pathway
[2] - Rapaport – Luebering shunt

ب) بررسی کمی PK :

انجام بررسی با غلظت های کم و زیاد فسفوانول پیرووات (PEP) ضروری است تا بتوان فعالیت PK را بررسی نمود.

۲) نقایص شنت هگزوز منوفسفات :

هنگامی که گلبولهای قرمز طبیعی در معرض مواد اکسید کننده قرار گیرند، گلوتاتیون احیا، سبب حفظ غشای گلبول قرمز در برابر اکسیداسیون می‌شود. ولی اگر میزان گلوتاتیون احیا کافی نباشد، گروههای سولفیدریل هموگلوبین اکسید شده و هموگلوبین در داخل اریتروسیت‌ها رسوب و تشکیل اجسام هنز را می دهند. شایعترین نقص مادرزادی کمبود G6PD است و مثل HbS ، این عارضه نیز سبب مقاومت در برابر بیماری مالاریا می‌شود. آنزیم G6PD طبیعی موسوم به نوع B می‌باشد. حدود ۲۰ درصد از سیاه پوستان دارای نوع A^+ هستند که دارای فعالیت طبیعی است ولی در یک اسید آمینه با نوع B فرق دارد. در نوع A^- جایگزینی در دو باز، صورت گرفته است. نوع A^- فقط ۵ تا ۱۵ درصد فعالیت طبیعی آنزیم را دارد و در سیاه پوستان مذکر دیده می‌شود. شایعترین نوع در سفید پوستان، G6PD مدیترانه ای است که سطح فعالیت آن اغلب کمتر از یک درصد می‌باشد.

کمبود آنزیم صفت وابسته به جنس مغلوب (کروموزم X) است. مادران معمولا حامل و پسران مبتلا (همی زیگوت) هستند. افراد هتروزیگوت دارای دو گروه اریتروسیت با مقدار طبیعی G6PD و کمبود G6PD می باشند. فعالیت آنزیمی رتیکولوسیت ها ۵ برابر بیشتر از گلبولهای پیراست (فعالیت آنزیم به تدریج در گلبول قرمز کاهش می‌یابد).

داروها یا سمومی که خاصیت اکسیدان دارند، سبب همولیز در افراد مبتلا به کمبود G6PD می‌شوند نظیر داروهای ضدمالاریا (مثل پریماکین) و نیتروفورانتوئین و نفتالین. اسیدوز متابولیک نیز در شرایط کمبود فعالیت آنزیم، سبب همولیز می گردد. در بعضی از افراد مبتلا، همولیز شدید ظرف چند ساعت پس از خوردن باقلا، فاویسم[1] نامیده می‌شود. کمبود G6PD معمولاً بدون علامت است. شمارش رتیکولوسیت، ۴ تا ۵ روز پس از همولیز افزایش می‌یابد. در گسترش خون علایم کم خونی همولیتیک مثل پوئی کیلوسیتوز، اسفروسیت و هنزبادی (در رنگ آمیزی فوق حیاتی[2]) دیده می‌شود.

تشخیص آزمایشگاهی :

برای تشخیص میتوان از آزمایشات زیر استفاده کرد :

۱) بررسی وجود هنزبادی

۲) آزمایش آسکوربات سیانید که اختصاصی نیست و در PNH و کمبود پیرووات کیناز نیز نتیجه مثبت دارد ولی حساس ترین تست موردیابی محسوب می‌شود.

برای انجام آزمایش، خون با محلول سیانید سدیم و آسکوربات سدیم انکوبه شده و پراکسید هیدروژن ایجاد می‌شود. سیانید با مهار کاتالاز سبب اکسیده شدن هموگلوبین توسط پراکسید هیدروژن و رنگ قهوه‌ای می‌شود که در سلولهای معیوب سریعتر است.

۳) آزمایش لکهٔ فلوئورسان

۴) اندازه‌گیری فعالیت G6PD

۳) سایر نقایص آنزیمی :

کم خونی همولیتیک ممکن است بعضی اوقات در اثر اختلالات آنزیم های متابولیسم نوکلئوتید ایجاد شود. افرادی که کمبود پیریمیدین-5 - نوکلئوتیداز دارند، دارای نقاط بازوفیلی درشت در گلبولهای قرمز خود هستند چون mRNA در این سلولها به خوبی متابولیزه نمی‌شود. پس از تخریب RNA در رتیکولوسیت ، نوکلئوتیدهای پیریمیدین برای عبور از غشای گلبول، بایستی توسط پیریمیدین-5- نوکلئوتیداز دفسفریله شوند. کمبود اتوزمی مغلوب این آنزیم سبب تجمع پیریمیدین ها و ایجاد نقاط بازوفیلی می‌گردد.

[1] - Favism
[2] - Supravital

همولیز اکتسابی وابسته به نقص خارج سلولی

در بیماران مبتلا به همولیز اکتسابی، گلبولهای قرمز به صورت طبیعی تولید می‌شوند، ولی به دلیل آسیب در دستگاه گردش خون، تخریب می‌گردند. آسیب ممکن است در نتیجه آنتی بادی یا سموم و ... باشد. این نوع کم خونی همولیتیک را می توان براساس علت ایجاد کننده طبقه‌بندی نمود :

۱) همولیز ناشی از عوامل شیمیایی یا سموم :

عواملی مثل تولوئن، تری نیتروتولوئن، نیتروبنزن، استانیلید و فناستین علاوه بر کم خونی همولیتیک متهموگلوبینمی و سیانوز ایجاد می کنند. شایعترین نوع مسمومیت با مواد شیمیایی، مسمومیت با سرب است که با ظهور نقاط بازوفیلی، رتیکولوسیتوز، حلقه‌های کابوت و همولیز همراه می‌باشد. مس نیز با تاثیر بر گلبولهای قرمز همولیز ایجاد می کند. همولیز در افراد مبتلا به بیماری ویلسون متعاقب همودیالیز مشاهده شده است. آب مقطر نیز سبب همولیز می‌شود.

۲) همولیز ناشی از عوامل فیزیکی :

الف- گرما : سوختگی شدید با حرارت بیشتر از ۴۹ درجه سانتیگراد سبب آسیب گلبولهای قرمز و کم خونی همولیتیک می‌شود.

ب- همولیز ناشی از ترومادرجریان خون :

گلبولها در جریان خون، در اثر ضربه قطعه قطعه شده و همولیز داخل عروقی ایجاد می‌شود. اختلالات شامل ظهور شیستوسیت و گلبولهای چروکیده و مثلی شکل می‌باشد. ضربات مکانیکی در چند حالت ممکن است منجر به همولیز شود.

ج- ضربات خارجی :

مواردی نظیر هموگلوبینوری رژه و یا دونده ها و سایر ورزشکاران به علت ضربات خارجی گزارش شده است.

د- همولیز تروماتیک عروق بزرگ :

همولیز مزمن داخل رگی سبب کاهش هاپتوگلوبین سرمی، هموسیدرینوری و رتیکولوسیتوز و افزایش LDH می‌شود. اختلالات مورفولوژیک گلبولهای قرمز خون پس از جراحی تعویض دریچه قلبی و یا دریچه مصنوعی مشاهده می‌شود. دریچه آئورت یا میترال مصنوعی نیز می‌تواند ایجاد همولیز کند. دریچه های کوچک بیشتر از دریچه های بزرگ ، همولیز ایجاد می‌کنند.

هـ کم خونی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک[1] :

قطعه قطعه شدن گلبولهای قرمز ، به خصوص در عارضه TTP یا ترومبوتیک ترومبوسیتوپنیک پورپورا و افزایش فشار خون بدخیم و لخته داخل عروقی منتشر DIC)، دیده می‌شود. میکروآنژیوپاتی ترومبوتیک (TMA) دو دسته است : ۱) سندرم همولیتیک اورمیک(HUS) ، اغلب در کودکان زیر دو سال و به واسطه تولید وروتوکسین توسط اشرشیاکولی ایجاد می‌گردد، و برای اپی تلیوم روده ای و اندوتلیوم رگی، سمی می‌باشد. HUS بزرگسالان ایدیوپاتیک است. ترومبوسیتوپنی و اورمی از مشخصات اصلی HUS بوده و اختلال کلیه نیز ممکن است وجود داشته باشد.

۲) TTP بیشتر در دهه سوم زندگی دیده می‌شود علایم بالینی شامل کم خونی همولیتیک، ترومبوسیتوپنی و علایم عصبی، و تب و بیماریهای کلیوی می‌باشد. در این عارضه، کمبود آنزیم پروتئاز تجزیه کننده فاکتور فون ویلبراند، سبب تجمع پلاکتی می‌شود.

لازم به ذکر است که پره اکلامپسی و اکلامپسی نیز از اختلالات میکروآنژیوپاتیک هستند که در زمان بارداری ایجاد و شبیه TMA می باشند. تعدادی از مبتلایان به اکلامپسی سندرم HELLP[2] را نشان می دهند.

[1] - Microangiopathic Hemolytic Anemia
[2] - Hemolysis Elevated Liver enzymes and Low platelet count(HELLP)

۳) همولیز ناشی از عوامل عفونی[1] :

عوامل عفونی ممکن است سبب همولیز شدید شوند. پلاسمودیوم فالسیپارم عامل بیماری مالاریا، بارتونلا باسیلی فرمیس عامل تب oroya یا بارتونلوز[2]، بابزیا نوعی تک یاخته عامل بابزیوز[3]، کلستریدیوم پرفرنجنس و کلستریدیوم ولشی عامل سپتی سمی، از جملهٔ این عوامل می باشند.

۴) کم خونی های همولیتیک ایمنی :

براساس وجود اتوآنتی بادیها، ایزوآنتی بادیها و یا آنتی بادی های مربوط به دارو، طبقه بندی می‌شوند.

الف- کم خونی همولیتیک اتوایمیون[4] (AIHA) :

AIHA به طور اکتسابی ، به علت تغییر در پاسخ ایمنی بدن و تولید آنتی بادی بر علیه اریتروسیت های فرد، ایجاد می گردد. علت تولید اتوآنتی بادی در بیمار مبتلا به AIHA نامعلوم است ولی امکان ایجاد اتوآنتی بادی در عفونت بامیکوپلاسما پنومونیه[5] (نوع AIHA سرد) Anti- I و در عفونت با منونوکلئوز عفونی Anti-i در سرم بیماران مشاهده می‌شود.

تخریب گلبولهای قرمز در داخل و یا خارج رگ ممکن است رخ دهد. تخریب داخل رگی به علت اپسونیزاسیون، و در خارج رگ به سبب برداشت گلبولها توسط ماکروفاژهای بافتی به خصوص در طحال ایجاد می‌شود. از سایر علل میتوان تولید آنتی بادی ضد گلبول قرمز در اختلالات لنفوپرولیفراتیو به واسطه اختلال سلولهای B و T و ماکروفاژ و فقدان عملکرد Ts (سرکوبگر) را ذکر کرد. متیل دوپا با مهار فعالیت Ts سبب تولید آنتی بادی ضد گلبولهای قرمز می‌شود. سه گروه عمده از آنتی بادی ها در ارتباط با کم خونی های همولیتیک ایمنی فعالیت دارند :

آنتی بادی های گرم[6]، آنتی بادی های سرد[7] و آنتی بادی Donath Landsteiner در بیماری هموگلوبینوری حمله ای ناشی از سرما (PCH)[8] .

- AIHA وابسته به آنتی بادی های گرم :

آنتی بادی هایی که با آنتی ژنهای پروتئینی واکنش می دهند، معمولاً از نوع IgG هستند و در گرما (دمای بدن) فعالیت، و بندرت از نوع IgA یا IgM می باشند.

علایم بالینی : در افراد بالاتر از ۴۰ سال به خصوص در زنان دیده می‌شود. این نوع به عنوان عارضه ای ناشی از بیماری های زمینه ای مثل تومور، لنفوم، لوسمی ، عفونت های ویروسی، SLE ، بیماریهای کلاژن، و یا مصرف متیل دوپا و پنی سیلین در تعدادی از بیماران مطرح می‌باشد.

علایم آزمایشگاهی : کم خونی متوسط تا شدید و افزایش نوتروفیل، رتیکولوسیتوز در ۵۰ درصد موارد ، کاهش هاپتوگلوبین سرم و افزایش بیلی روبین غیر مستقیم و لاکتات دهیدروژناز، دیده می‌شود. اتوآنتی بادی اغلب بر علیه آنتی ژنهای سیستم Rh، و از نوع IgG_1 و به میزان کمتر از نوع IgG_3 می‌باشد.

- AIHA وابسته به آنتی بادی های سرد :

این آنتی بادی ها از نوع IgM بوده و با پلی ساکاریدها وارد واکنش می‌شوند. در دمای کمتر از ۳۷ درجه واکنش مناسبی دارند لذا، آنتی بادی های سرد نامیده می‌شوند.

---

[1] - Infectious hemolysis
[2] - Bartonellosis
[3] - Babesiosis
[4] - Auto immune hemolytic anemia (AIHA)
[5] - Mycoplasma pneumonia
[6] - Warm reacting auto antibodies
[7] - Cold agglutinins
[8] - Paroximal cold hemoglobinuria

بیماری هماگلوتینین سرد[1] :

در بین زنانی که سن آنها بیش از ۵۰ است، بیشتر مشاهده می‌گردد. این بیماری به صورت اولیه و یا متعاقب پنمونی، منونوکلئوزعفونی ، لوسمی لنفوسیتی مزمن، بیماریهای کلاژن ، SLE ، عفونت های ویروسی، سرطانها و عفونت با میکوپلاسما پنومونیه (با تولید Anti-I) ظاهر می‌شود. آگلوتینین های سرد بر علیه سیستم Ii فعالیت می‌کنند.

علایم بالینی دو نوع هستند : آکروسیانوز (سیانوز انتهاها) و علایم همولیز داخل رگی. در خون محیطی، اسفروسیت، رتیکولوسیتوز خفیف، آگلوتیناسیون گلبولهای قرمز، دیده می‌شود. هموگلوبینوری و کاهش هاپتوگلوبین وجود دارد.

- هموگلوبینوری حمله ای ناشی از سرما(PCH) [2]:

PCH از اختلالات نادر همولیتیک است و متعاقب سیفیلیس مرحله سوم، بیشتر دیده می‌شد. در حال حاضر پس از عفونت ویروسی و یا بیماریهای خود ایمنی ایجاد می‌شود. این عارضه در اثر آنتی بادی دونات- لندشتاینر بوجود می آید که نوعی IgG بوده و بر علیه آنتی ژن P غشای گلبولهای قرمز عمل می کند و سبب تخریب سلولی با واسطه کمپلمان می‌شود. این ایمونوگلوبولین ابتدا اجزای اولیه کمپلمان (C_1 تا C_4) را در $4^{\circ}C$ تثبیت کرده و در حرارت $^{\circ}C$ ۲۵ تا ۳۵ سایر اجزای کمپلمان را فعال و تخریب ایجاد می‌کند.

قرار گرفتن در معرض سرما سبب حمله بیماری می‌شود که با هموگلوبینوری و هموگلوبینمی، تب و لرز، درد پشت و ساق پا، همراه است.

PCH با عفونت های ویروسی زمان کودکی مثل آبله مرغان[3]، اوریون[4]، سرخک[5] نیز مرتبط می‌باشد. تست کومس مستقیم در زمان حمله مثبت است.

AIHA وابسته به آنتی بادی گرم و سرد :

در این عارضه IgM و IgG و کمپلمان نقش دارند. این اختلال در تعدادی از بیماران مبتلا به SLE دیده می‌شود.

ب- کم خونی همولیتیک ایزوایمیون :

این بیماری اغلب ناشی از ناسازگاری Rh و یا سیستم ABO بین مادر و جنین می‌باشد. عبور آنتی بادی مادری به جنین از راه جفت، سبب تخریب گلبولهای قرمز جنین یا نوزاد می‌شود.

کم خونی همولیتیک ایزوایمیون ناشی از ناسازگاری Rh :

ورود گلبولهای قرمز جنینی Rh^{+} از راه جفت به خون مادر سبب تحریک سیستم ایمنی و تولید آنتی بادی ضد Rh در مادر می گردد که با ورود آن به خون، در حاملگی بعدی می تواند سبب عوارض متغیری از یرقان خفیف تا اریتروبلاستوز فتالیس در جنین شود. افزایش بیلی روبین غیر مستقیم و رسوب آن در گانگلیونهای مغزی سبب عارضه کرنیکتروس[6] می گردد. در موارد بسیار شدید هیدروپس فتالیس ایجاد خواهد شد.

علایم آزمایشگاهی :

۱- وجود گلبولهای قرمز هسته دار (NRBC) به مقدار زیاد

۲) کم خونی ماکروسیتی و افزایش رتیکولوسیت ها

۳) افزایش لکوسیت ها

۴) کومس مستقیم (با گلبولهای قرمز جنین) مثبت است، و کومس غیرمستقیم (با سرم مادر) مثبت می‌باشد.

---

[1] - Cold hemaglutinin disease
[2] - Paroxysmal cold hemoglobinuria(PCH)
[3] - Chicken pox
[4] - Mumps
[5] - Measles
[6] - Kernicterus

- کم خونی همولیتیک ایزوایمیون نوزادان ناشی از ناسازگاری ABO:

از نوع قبلی خفیف تر است و در نوزاد با گروه خونی A یا B (از مادر با گروه خونی O^+) ، ظاهر می‌شود. در صورت بروز اختلالات شدید، عدم درمان به عوارض عصبی و مرگ منجر می گردد. معمولاً کم خونی خفیف و رتیکولوسیتوز متوسط وجود دارد.

ج- کم خونی همولیتیک ایمنی ناشی ازدارو

پس از مصرف مواد شیمیایی یا داروهای مختلف رخ می دهد و چهار مکانیسم زیر می تواند در بروز همولیز ایمنی نقش داشته باشد :

- جذب سطحی کمپلکس های ایمنی به روی غشای گلبولهای قرمز:

آنتی بادی از نوع IgM ، پس از تشکیل کمپلکس با دارو، جذب غشای گلبول شده و با تثبیت کمپلمان سبب تخریب سلول می گردد. داروهایی مثل آنتی هیستامین، فناستین، سولفونامیدها و آمینوپیرین، ریفامپین و مفنامیک اسید می توانند این نوع کم خونی را ایجاد نمایند.

- جذب سطحی دارو روی غشای گلبول قرمز :

داروهایی مثل پنی سیلین و سفالوسپورین ها با پروتئین های غشای گلبول قرمز ترکیب و با ایجاد گروههای هاپتنی، سبب تولید آنتی بادی می‌شوند. گلبولهای پوشیده از IgG توسط ماکروفاژهای طحالی تخریب می گردند.

- ایجاد اتوآنتی بادی بر علیه گلبول قرمز :

در ۱۵ درصد بیمارانی که از داروی ضد فشار خون متیل دوپا استفاده می‌کنند، واکنش کومس مستقیم مثبت است. آنتی بادی از نوع IgG می‌باشد. از سایر داروها می توان، ال دوپا، و مفنامیک اسید را نام برد.

- جذب سطحی غیرایمونولوژیک آنتی بادی ها بر روی غشای گلبول قرمز :

سفالوسپورین‌ها با تغییر غشای اریتروسیت ها سبب جذب غیر اختصاصی پروتئین های پلاسما به سطح گلبول قرمز می‌شوند، در نتیجه آنتی بادی های از نوع IgG و IgM اتصال سستی به سطح گلبول پیدا کرده و سبب مثبت شدن کومس مستقیم می گردند، ولی اختلال چندانی در این عارضه گزارش نشده است.

پلی سیتمی [1]

اصطلاح پلی سیتمی به معنی افزایش در خونسازی است. تعداد گلبولهای قرمز، مقدار هموگلوبین و هماتوکریت افزایش می‌یابد. پلی سیتمی به سه گروه تقسیم می‌شود : ۱) پلی سیتمی ورا یا اولیه [2] ۲) پلی سیتمی مطلق یا ثانویه ۳) پلی سیتمی نسبی.

انواع پلی سیتمی :

۱) پلی سیتمی ورا یا اولیه

نوعی اختلال میلوپرولیفراتیو با افزایش هر سه رده سلولی می‌باشد. اغلب در مردان رده سنی ۴۰ تا ۶۰ سال با علایمی مثل اسپلنومگالی، اختلالات عصبی، رگی و ترومبوتیک ظاهر می‌شود. تعداد گلبولهای قرمز، و مقدار هموگلوبین (تا بیشتر از ۲۰ گرم در دسی لیتر) و هماتوکریت افزایش ، پلاکتها طبیعی یا افزایش یافته، و MCV و MCH طبیعی می باشند. آلکالن فسفاتاز لکوسیتی (LAP) افزایش می‌یابد. در مغز استخوان هر سه رده سلولی هیپرپلازی نشان می‌دهند (پان هیپرپلازی). مقدار اریتروپویتین و po_2 طبیعی می باشند. میزان اریتروسیتوز به سطح اریتروپویتین بستگی ندارد. بیماران سیانوز قرمزرنگ نشان می‌دهند و در $\frac{2}{3}$ موارد بیماری، بزرگی طحال وجود دارد. بیماری مزمن است ولی در نیمی از بیماران پدیده های ترومبوتیک و هموراژیک ظاهر می‌شود. انفارکتوس های میوکارد و طحال و ریه و ترومبوزمغزی و ترومبوفلبیت شایع‌ترین حملات ترومبوتیک هستند. خونریزی از دستگاه گوارش و خارش پس از حمام شایع می‌باشند.

[1] - Polycythemia
[2] - Polycythemia rubravera(primary erythrocytosis)

۳) پلی سیتمی مطلق یا ثانویه :

پاسخ فیزیولوژیک به نیاز بدن به اکسیژن در بیماری ریوی، و یا افزایش نابجای اریتروپویتین می‌باشد. اندازهٔ طحال طبیعی و سیانوز و بیماری قلبی یا ریوی دیده می‌شود. در خون طبیعی هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبولهای قرمز افزایش نشان می دهند. MCV و MCH و تعداد گلبولهای سفید و پلاکتها و آلکالن فسفاتاز نوتروفیلی (LAP) طبیعی می باشند. در مغز استخوان هیپرپلازی اریتروئید وجود دارد. PO_2 برخلاف پلی سیتمی ورا کاهش یافته است. تشخیص پلی سیتمی مطلق براساس اندازه گیری حجم اریتروسیتها و پلاسما به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انجام می شود. در مردان مبتلا حجم گلبولهای قرمز ml/kg ۳۶ و در زنان بیمار ml/kg ۳۲ می‌باشد. حجم طبیعی گلبولهای قرمز در مردان ۲۰ تا ۳۰ و در زنان ۱۹ تا ۳۱ میلی لیتر در هر کیلوگرم است. حجم پلاسما در مردان ۴۳-۲۵ و در زنان ۲۸ تا ۴۵ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد. حجم پلاسما طبیعی بوده یا کاهش دارد.

پلی سیتمی مطلق یا اریتروسیتوز ثانویه، وابسته به اریتروپویتین است. در شرایط هیپوکسی، تعداد گلبولهای قرمز و مقدار هموگلوبین افزایش می‌یابد. در پلی سیتمی مطلق، بر خلاف پلی سیتمی حقیقی لکوسیتوز و ترومبوسیتوز وجود ندارد. آلکالن فسفاتاز نوتوفلی طبیعی است بیماریهایی نظیر تومورهای مختلف ، بیماریهای کلیوی مثل هیدرونفروز[1] و بیماری کیستیک، و افزایش ترشح غدد فوق کلیه، می توانند سبب اریتروسیتوز ثانویه شوند.

۴) پلی سیتمی نسبی :

این حالت در اثر دهیدراسیون (در مواردی مانند اسهال یا سوختگی شدید) و کاهش حجم پلاسما ایجاد می‌گردد. تعداد گلبولهای قرمز، مقدار هموگلوبین و هماتوکریت افزایش می‌یابند، و تعداد گلبولهای سفید و پلاکتها طبیعی است. این حالت اغلب در اثر دهیدراسیون یا غلیظ شدن خون و یا سندرم Gaisbock (پلی سیتمی کاذب[2]) دیده می‌شود. مصرف دخانیات نیز می تواند عامل پلی سیتمی کاذب باشد.

تشخیص اختلالات گبولهای قرمز :

۱) کم خونی نورموکروم- نورموسیتیک :

مقدار هموگلوبین کاهش، هماتوکریت طبیعی ، MCV = ۸۵-۱۰۰ ، MCHC =۳۱ -۳۵ ، RDW < ۱۴/۵٪ و مرفولوژی خون محیطی طبیعی می‌باشد. علت عارضه، خونریزی حاد است.

۲) کم خونی همولیتیک :

مقدار هموگلوبین ، هاپتوگلوبین کاهش ، بیلی روبین، MCV و RDW افزایش، MCHC طبیعی یا افزایش نشان می دهد. اسفروسیت، میکرواسفروسیت و شیستوسیت در خون محیطی دیده می‌شود. از عوامل خارجی ایجاد آنمی، می‌توان پارازیتمی، واکنش های انتقال خون و از عوامل داخلی می توان هموگلوبینوپاتی‌ها، نقایص غشا و اتوآنتی بادی را ذکر کرد.

۳) کم خونی ماکروسیتیک :

MCV افزایش می‌یابد. ماکروسیت های بیضی شکل و نوتروفیل های هیپرسگمانته در خون محیطی دیده می‌شوند. کمبود B_{12} و فولات، از عوامل ایجاد کننده بیماری می باشند.

۴) کم خونی هیپوکروم- میکروسیتیک :

MCV و MCH کاهش می یابند، ولی MCHC طبیعی است و یا کاهش نشان می‌دهد. گلبولهای قرمز سیگاری شکل[3]، میکروسیت های هیپوکروم و بندرت تارگت سل در خون طبیعی دیده می‌شوند. تالاسمی و کمبود آهن این نوع آنمی را ایجاد می کنند. تست های تشخیصی عبارتند از : CBC ، اسمیرخون محیطی، آهن سرم، TIBC ، رنگ آمیزی آهن مغز استخوان ، الکتروفورز هموگلوبین.

۵) کم خونی سیدروبلاستیک

MCV متغیر است و RDW افزایش نشان می دهد. گلبولهای قرمز طبیعی و یا به صورت هیپوکروم میکروسیتیک در خون محیطی دیده می‌شود. عوامل ارثی، و مصرف دارو از عوامل ایجاد بیماری محسوب می‌شوند.

---

[1] - Hydronephrosis
[2] - Pseudopolycythemia or stress erythrocytosis
[3] - Cigar shaped cells

۶) کم خونی بیماری مزمن :

مقدار هموگلوبین کاهش دارد. MCV طبیعی است. گلبولهای قرمز طبیعی و یا به صورت هیپوکروم – میکروسیتیک در خون محیطی دیده می‌شوند. بیماریهای کلاژن، التهاب، و روماتوئیدآرتریت این عارضه را ایجاد می کنند.

۷) کم خونی آپلاستیک :

MCV افزایش دارد، ولی MCH و MCHC طبیعی می باشند. این بیماری در اثر عوامل شیمیایی، اشعه های یونیزه کننده، هپاتیت ویروسی و یا با علل ناشناخته ، ایجاد می‌شود.

۸) خصیصه آلفا تالاسمی :

MCV کاهش دارد. هموگلوبین طبیعی است و یا کاهش نشان می دهد. دو ژن از چهار ژن α وجود ندارد. میکروسیت های هیپوکروم در خون محیطی دیده می‌شوند.

۹) بیماری HbH یا بیماری آلفا تالاسمی :

مقدار هموگلوبین و MCV کاهش می‌یابد. مقدار بیلی روبین و HbH افزایش نشان می‌دهند سه ژن از چهار ژن α وجود ندارد. در خون محیطی تارگت سل، اوالوسیت، میکروسیت، وانکلوزیونهای HbH در داخل گلبولهای قرمز دیده می‌شوند.

۱۰) بتاتالاسمی هتروزیگوس :

مقدار هموگلوبین و MCV کاهش می‌یابد، و تعداد گلبولهای قرمز و HbA_2 و HbF افزایش نشان می دهند در خون محیطی میکروسیت، تارگت سل، الیپتوسیت و نقاط بازوفیلی در داخل گلبول قرمز دیده می‌شوند.

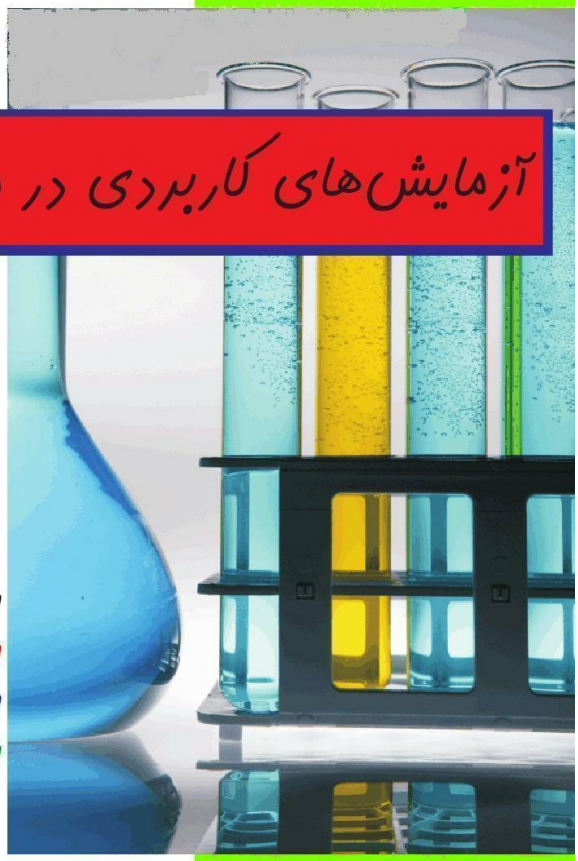
۱۱) بتاتالاسمی هموزیگوس :

مقدار هموگلوبین و MCV و TIBC کاهش یافته، و HbF و HbA_2 و آهن سرم افزایش نشان می دهند. در خون محیطی اوالوسیت، تارگت سل و نقاط بازوفیلی در داخل گلبولهای قرمز، دیده می‌شوند.

۱۲)پلی سیتمی ورا :

افزایش مقدار هموگلوبین ، تعداد گلبولهای قرمز و سفید و پلاکتها و آلکالن فسفاتاز نوتروفیلی (NAP) وجود دارد. مورفولوژی خون محیطی و اندیس های گلبولی طبیعی هستند.

آزمایش‌های کاربردی در مامایی



مؤلفان:

مراد رستمی

معصومه جرفی

محمد علی‌محمدی

WWW.LABWORLD.IR

بیوشیمی عملی (با تکیه بر نکات بالینی)

قابل استفاده برای دانشجویان گروه‌های مختلف پزشکی

ویژه دانشجویان علوم آزمایشگاهی

مولفان:

محمد علی‌محمدی – مراد رستمی

WWW.LABWORLD.IR

WWW.LABWORLD.IR

دنياي گسترده علوم آزمايشگاهي

وبلاگي جامع و كامل و با محتواي علوم آزمايشگاهي با موضوعاتي از قبيل:

۱ـ دروس علوم آزمايشگاهي

۲ـ فايلها، كليپها و اسلايدهاي آموزشي

۳ـ كتابها و اطلسهاي متعدد پزشكي به خصوص علوم آزمايشگاهي

۴ـ سوالات و مشكلات صنفي

۵ـ مسائل مرتبط با استخدامي و ادامه تحصيل

۶ـ تازه‌هاي چاپ و نشر علوم آزمايشگاهي

۷ـ بحث و تبادل نظر علمي

۸ـ اخبار مرتبط با كنگره‌ها، همايشها، سمينارها و ...