از تشخیص آزمایشگاهی تا درمان
آنمی‌ها

با همکاری مرکز [redacted]

تألیف و گردآوری

دکتر مجید اکبرزاده — مهشاد نوروزی

المیرا زارعی — علی اصغری قمی

حانیه کریمی نژاد فرسنگی — سیده مریم حسینی باندری

محدثه رستمی پور — حسین نژاد — سجاد کریمی

ویراستار علمی: محمد سعید غلامی

با مقدمه و تحت نظارت

دکتر عظیم مهرور و دکتر محمد فرانوش

فوق تخصص خون و سرطان کودکان (هماتولوژی و انکولوژی)

سرشناسه	:
عنوان و نام پدیدآور	:
مشخصات نشر	:
مشخصات ظاهری	:
شابک	:
وضعیت فهرست نویسی	:
یادداشت	:
یادداشت	:
موضوع	:
موضوع	:
موضوع	:
موضوع	:
شناسه افزوده	:
شناسه افزوده	:
شناسه افزوده	:
شناسه افزوده	:
شناسه افزوده	:
رده‌بندی کنگره	:
رده بندی دیویی	:
شماره کتابشناسی ملی	:
اطلاعات رکورد کتابشناسی	:

از تشخیص آزمایشگاهی تا درمان آنمی‌ها

تألیف و گردآوری: دکتر مجید اکبرزاده، مهشاد نوروزی، المیرا زارعی، علی اصغری قمی، حانیه کریمی نژاد فرسنگی، سیده مریم حسینی باندری، محدثه رستمی پور، حسین نژاد، سجاد کریمی.

ویراستار علمی: محمد سعید غلامی.

با مقدمه و تحت نظارت: دکتر عظیم مهرور و دکتر محمد فرانوش.

با همکاری.

طراح گرافیک جلد: رابین ویژن صفحه‌آرایی و ویراستاری: رابین ویژن

چاپ و صحافی:

شابک: قیمت: ۲۵۵,۰۰۰ تومان

همه حقوق چاپ و نشر برای ناشر و مؤلف محفوظ است.

تمامی حقوق این اثر محفوظ است. تکثیر یا تولید مجدد آن کلاً و جزئاً (چاپ، فتوکپی، صوت، تصویر و انتشار الکترونیکی) بدون اجازه مکتوب ناشر و مؤلف ممنوع است و پیگرد قانونی دارد.

تألیف و گردآوری

دکتر مجید اکبرزاده

پزشک متخصص بیماری های داخلی افلییشن: مدیر کل انتقال خون استان فارس، فارس ایران.

مهشاد نوروزی

دانشجوی کارشناس ارشد هماتولوژی و طب انتقال خون

افلییشن: گروه خون‌شناسی آزمایشگاهی و بانک خون، موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران.

المیرا زارعی

کارشناس ارشد هماتولوژی و طب انتقال خون

افلییشن: گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

علی اصغری قمی

دانشجوی کارشناس ارشد هماتولوژی و طب انتقال خون

افلییشن: گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

حانیه کریمی نژاد فرسنگی

کارشناسی ارشد خون‌شناسی آزمایشگاهی و بانک خون

افلییشن: کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

سیده مریم حسینی باندری

کارشناس ارشد هماتولوژی و طب انتقال خون

افلییشن: گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران.

محدثه رستمی پور

کارشناس ارشد هماتولوژی و طب انتقال خون

افلییشن: گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشگاه علوم پزشکی

حسین نژاد

کارشناس ارشد هماتولوژی و طب انتقال خون

افلییشن: گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشگاه علوم پزشکی

سجاد کریمی

کارشناس ارشد هماتولوژی و طب انتقال خون

افلییشن: کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

ویراستار علمی

محمد سعید غلامی

کارشناس ارشد هماتولوژی و طب انتقال خون

افلییشن ۱: عضو اداره کل انتقال خون استان فارس، فارس، ایران.

افلییشن ۲: عضو هیبت علمی وابسته مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشکده پیراپزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

با مقدمه و تحت نظارت

دکتر عظیم مهرور و دکتر محمد فرانوش

فوق تخصص خون و سرطان کودکان (هماتولوژی و انکولوژی)

افلییشن:

فهرست مطالب

پیش گفتار..... ۲۱

فصل ۱- کلیات..... ۲

مقدمه..... ۲
خونسازی (Hematopoiesis)..... ۴
اریتروپوئز..... ۶
پلی کروماتوفیلی..... ۷
شمارش رتیکولوسیت..... ۸
روش آزمایش شمارش رتیکولوسیت..... ۹
نحوه شمارش و گزارش درصد رتیکولوسیت..... ۱۱
اهمیت رتیکولوسیت..... ۱۳
شمارش دستگاهی رتیکولوسیت..... ۱۴
بررسی یک آزمایش CBC..... ۱۵
شاخص های RBC..... ۱۶
MCV..... ۱۶
شاخصها پراکندگی RBC ها..... ۱۹
۱- دامنه پراکندگی یاخته های سرخ از نظر اندازه: RDW..... ۱۹
۲- دامنه پراکندگی یاخته‌های سرخ از نظر Hb (HDW)..... ۲۱
ارتباط بین شاخص های مرکزی RBCها..... ۲۲
روش اندازه گیری «هماتوکریت HCT = P.C.V»..... ۲۳
روش انجام اندازه‌گیری هماتوکریت به روش دستی..... ۲۷
آزمایش سدیمانتاسیون (سدیمان) ESR..... ۳۴
مراحل مختلف تست ESR..... ۳۴
روش وسترن گرین..... ۳۵
عوامل تأثیرگذار بر ESR..... ۳۷
کاربرد ESR..... ۴۰
روش تهیه اسمیر خون محیطی..... ۴۱
ارزیابی و مطالعه‌ی گستره خون محیطی..... ۴۳
ویژگی‌های یک گسترش خونی..... ۴۵
علل ایجاد آرتیفکت درلامهاي رنگ‌آمیزی شده..... ۴۶

رنگ‌آمیزی اسمیر خون محیطی..... ۴۷
۱) رنگ‌آمیزی گیمسا..... ۴۸
۲) رنگ‌آمیزی رایت..... ۴۹
۳) رنگ‌آمیزی های گرون والد - گیمسا..... ۵۰
۴) رنگ‌آمیزی رایت گیمسا..... ۵۱
۵) رنگ‌آمیزی سودان بلک B یا SSB..... ۵۴
۶) رنگ آمیزی میلوپروکسیداز(MPO)..... ۵۵
۷) رنگ آمیزی PAS..... ۵۶
تخمین WBC از روی اسمیر خون محیطی..... ۵۷
تعیین درصد گلبول‌های سفید خون (Diff)..... ۵۷
شمارش پلاکت ها از روی لام خون محیطی..... ۵۷
مورفولوژی RBC..... ۵۸
تغییرات مورفولوژیک گلبول قرمز..... ۶۰
۱) تارگت سل..... ۶۱
۲) اسفروسیت..... ۶۱
۳) اوالوسیت..... ۶۲
۴) الیپتوسیت..... ۶۳
۵) سلول داسی شکل..... ۶۳
۶) استوماتوسیتوز..... ۶۴
7) اکینوسیت..... ۶۵
۸) آکانتوسیت..... ۶۶
۹) گلبول سرخ قطعه قطعه شده..... ۶۶
۱۰) سلول‌های قطره اشکی..... ۶۷
۱۱) سلول گاز گرفته شده..... ۶۸
۱۲- سلول تاول زده..... ۶۹
۱۳- رولکس..... ۶۹
انکلوزیون های داخل RBC..... ۷۲
۱) حلقه کابوت..... ۷۲
۲) اجسام هاینز..... ۷۲
۳) اجسام پاپن هایمر..... ۷۳
۴) اجسام هاول جولی..... ۷۴
۵) بازوفیلیک استپلینگ..... ۷۵

۶) کریستال های داخل RBC ۷۶
گلبول‌های قرمز هسته‌دار (nRBC)..... ۷۷

فصل ۲- آنمی فقر آهن ۸۲

مقدمه..... ۸۲
کم خونی فقر آهن..... ۸۲
مسیر جذب آهن..... ۸۲
سایر عوامل موثر در جذب آهن..... ۸۴
فقر آهن چگونه رخ می دهد؟..... ۸۵
تظاهرات بالینی فقر آهن..... ۸۵
فریتین..... ۸۷
هموسیدرین ۸۷
ترانسفرین و رسپتور آن ۸۷
ارزیابی وضعیت آهن..... ۸۸
تشخیص کم خونی فقر آهن ساده..... ۸۹
درمان آنمی فقر آهن ۹۱
درمان با آهن خوراکی..... ۹۲
درمان با آهن وریدی..... ۹۲
تزریق گلبولهای قرمز..... ۹۲
تداخلات دارویی..... ۹۳
آنمی فقر آهن ارثی..... ۹۵
کیس‌های بالینی فقر آهن..... ۹۶
کیس بالینی..... ۹۷

فصل ۳- آنمی بیماری‌های مزمن ۱۰۰

مقدمه..... ۱۰۰
پاتوژنز ۱۰۳
تخریب سلول های قرمز ۱۰۳
اثرات سرکوب کننده التهاب بر پیش سازهای اریتروپوئیتیک..... ۱۰۳
ترشح ناکافی اریتروپویتین و مقاومت در برابر اریتروپویتین ۱۰۴
محدودیت اریتروپوئیز به عنوان نتیجه ای از در دسترس نبودن آهن ۱۰۵
وابسته بودن غلظت آهن سرم به آهن آزاد شده از ماکروفاژها وهپاتوسیت ها ۱۰۵

اریتروپویزیس در کم خونی التهاب توسط آهن محدود می شود..... ۱۰۷
مهار جذب روده ای آهن و سایر عوامل ایجاد کننده کمبود سیستمیک آهن..... ۱۰۷
ویژگی های بالینی..... ۱۱۰
ویژگی های آزمایشگاهی..... ۱۱۰
رنگ آمیزی آهن مغز استخوان..... ۱۱۲
تشخیص های افتراقی..... ۱۱۳
درمان..... ۱۱۶
درمان کم خونی التهابی..... ۱۱۷
درمان کم خونی بیماری مزمن کلیه..... ۱۱۷
استفاده کمکی از آهن داخل وریدی با اریتروپویتین..... ۱۱۸
کیس بالینی..... ۱۱۹

فصل ۴- آنمی سیدروبلاستیک ۱۲۲

مقدمه..... ۱۲۲
انواع کم خونی سیدروبلاستیک..... ۱۲۳
۱) آنمیهای سیدروبلاستیک ارثی..... ۱۲۳
آنمی سیدروبلاستیک وابسته به X..... ۱۲۴
آنمی سیدروبلاستیک اتوزومال..... ۱۲۶
جهش های DNA میتوکندری..... ۱۲۷
۲) آنمیهای سیدروبلاستیک اکتسابی..... ۱۲۸
آنمیهای سیدروبلاستیک اولیه..... ۱۲۸
آنمیهای سیدروبلاستیک ثانویه..... ۱۲۹
پاتوفیزیولوژی..... ۱۳۲
ضایعات بیوشیمیایی و ژنتیکی..... ۱۳۲
نقص در سنتز هم..... ۱۳۲
کم خونی های سیدروبلاستیک ارثی..... ۱۳۲
متابولیسم پیریدوکسین..... ۱۳۴
سایر نقایص متابولیک و ارتباط اکتسابی با کم خونی سیدروبلاستیک با اهمیت نامشخص..... ۱۳۴
پاتوژنز تشکیل سیدروبلاست حلقه ای..... ۱۳۵
کم خونی سیدروبلاستیک اکتسابی اولیه (کم خونی مقاوم با سیدروبلاست حلقه - سندرم میلودیسپلاستیک)..... ۱۳۸

میوپاتی میتوکندری و کم خونی سیدروبلاستیک ۱۳۹
تظاهرات بالینی و آزمایشگاهی ۱۴۱
آنمی سیدروبلاستیک اکتسابی اولیه (کلونال) ۱۴۱
آنمی سیدروبلاستیک اکتسابی ثانویه ۱۴۱
آنمی سیدروبلاستیک ارثی ۱۴۲
مورفولوژی ۱۴۴
سیدروبلاست های طبیعی ۱۴۴
سیدروبلاست های پاتولوژیک ۱۴۴
بررسی CBC ۱۴۷
درمان ۱۴۹
سایر اشکال درمان ۱۵۰
تداخلات دارویی ۱۵۰
کیس های بالینی ۱۵۱
کیس بالینی اول ۱۵۱
کیس بالینی دوم ۱۵۳

فصل ۵ – آنمی مگالوبلاستیک ۱۵۷

مقدمه ۱۵۷
ویتامین B12 (کوبالامین) ۱۵۷
اسید فولیک ۱۵۸
ارزیابی وضعیت B12 و فولات ۱۶۰
یافته های آزمایشگاهی ۱۶۱
تشخیص افتراقی ۱۶۲
تظاهرات بالینی آنمی مگالوبلاستیک ۱۶۳
کمبود B_{12} یا فولات همیشه باعث کم خونی ماکروسیتیک نمیشود ۱۶۳
آنمی پرنیشیوز ۱۶۴
تست شیلینگ ۱۶۴
چه کسی را باید آزمایش کنید؟ ۱۶۶
به دنبال ناهنجاری های لام خون محیطی باشید ۱۶۶
تست بعدی چیست؟ ۱۶۶
آزمایش سرکوب دئوکسی یوریدین ۱۶۸
تفسیر نتایج: ویتامین B_{12} ۱۶۹

کاهش خفیف سطح B_{12} ۱۶۹
تشخیص کمبود B_{12} در بافت ۱۶۹
فولات ۱۷۰
سطح B12 پایین است - اقدام بعدی چیست؟ ۱۷۰
سطح فولات پایین است - اقدام بعدی چیست؟ ۱۷۰
درمان آنمی مگالوبلاستیک (کمبود کوبالامین و فولات) ۱۷۳
تداخل دارویی ۱۷۴
کیس بالینی آنمی مگالوبلاستیک ۱۷۵

فصل ۶- آنمی آپلاستیک ۱۷۹

مقدمه ۱۷۹
پاتوژنز بیماری ۱۸۱
لنفوسیتهای T سیتوتوکسیک خود واکنشی ۱۸۲
کوتاه کردن تلومر ۱۸۵
داروها ۱۸۵
مواد شیمیایی سمی ۱۸۹
ویروسها ۱۹۰
ویروس اپشتین بار ویروس اپشتین بار (EBV) ۱۹۰
بیماریهای خود ایمنی ۱۹۱
بارداری ۱۹۲
علل ناشی از عوارض درمان (Iatrogenic Causes) ۱۹۲
ریزمحیط استرومایی و عوامل رشد ۱۹۳
ویژگیهای بالینی ۱۹۵
ویژگی های آزمایشگاهی ۱۹۶
یافتههای خونی ۱۹۶
یافتههای پلاسما ۱۹۶
یافتههای مغز استخوان ۱۹۷
مطالعات سیتوژنتیک و ژنتیک ۱۹۸
مطالعات تصویربرداری ۱۹۸
تشخیصهای افتراقی ۱۹۹
درمان ۲۰۱
کم خونی آپلاستیک ارثی ۲۰۲

کم خونی فانکونی..... ۲۰۲
دیسکراتوز مادرزادی..... ۲۰۷
سندرم SHWACHMAN-DIAMOND..... ۲۱۰
سایر کم خونیهای آپلاستیک ارثی..... ۲۱۲
دیاموندبلک فان(آپلازی خالص رده ی اریتروئیدی)..... ۲۱۵
کم خونی دیس اریتروپویتیک ارثی (CDA)..... ۲۱۵
کیس بالینی..... ۲۱۸

فصل ۷- آنمی همولایتیک..... ۲۲۳

مقدمه..... ۲۲۳
ویژگیهای عمومی بالینی و آزمایشگاهی..... ۲۲۳
همولیز خارج عروقی در مقابل داخل عروقی..... ۲۲۴
تشخیص همولیز..... ۲۲۵
آزمایشات عمومی همولیز..... ۲۲۵
هاپتوگلوبین سرم..... ۲۲۷
شرایطی که در آن هاپتوگلوبین کاهش مییابد..... ۲۲۸
شرایطی که در آن هاپتوگلوبین افزایش مییابد..... ۲۲۸
بیلی روبین سرم..... ۲۲۹
اوروبیلین و اوروبیلینوژن..... ۲۲۹
هموسیدرین ادراری..... ۲۲۹
هموگلوبین پلاسما..... ۲۳۱
آزمون شوم..... ۲۳۲
کم خونی های همولیتیک ارثی..... ۲۳۳
اختلالات غشای گلبول قرمز..... ۲۳۳
اسفروسیتوز ارثی (HS)..... ۲۳۳
تست شکنندگی اسمزی..... ۲۳۵
درمان اسفروسیتوز ارثی..... ۲۳۷
الیپتوسیتوز ارثی..... ۲۳۸
درمان الیپتوسیتوز ارثی..... ۲۳۸
استوماتوسیتوز ارثی..... ۲۳۹
اکانتوسیتوز ارثی..... ۲۳۹
تظاهرات بالینی هموگلوبینوری حملهای شبانه (PNH)..... ۲۴۰

PNH چیست؟ ۲۴۱
تشخیص PNH ۲۴۲
درمان هموگلوبینوری حملهای شبانه (PNH) ۲۴۳
اختلالات همولایتیک مرتبط با آنزیم گلبول قرمز ۲۴۳
کمبود ارثی آنزیم G6PD ۲۴۳
فاویسم ۲۴۴
تشخیص کمبود G6PD ۲۴۵
درمان کمبود G6PD ۲۴۶
کمبود پیروات کیناز ۲۴۶
آزمایش اتوهمولیز ۲۴۶
درمان کمبود آنزیم پیروات کیناز (PK) ۲۴۷
کاهش آنزیم P5´N ۲۴۷
کم خونیهای همولیتیک اکتسابی ۲۴۸
انواع کم خونی همولیتیک اکتسابی ۲۴۸
تظاهرات بالینی آنمی همولیتیک اتوایمیون (AIHA) ۲۴۸
تشخیص آزمایشگاهی آنمی اتوایمیون ۲۴۹
درمان آنمی همولیتیک اتوایمیون (AIHA) ۲۴۹
کم خونی همولایتیک آلوایمیون ۲۴۹
هموگلوبینوری حمله ای سرد (PCH) ۲۵۰
ارزیابی همولیز ۲۵۴
تداخلات دارویی ۲۵۸
کیس های بالینی ۲۵۸
کیس بالینی شماره ۱: ۲۵۸
کیس بالینی شماره ۲: ۲۵۹
کیس بالینی شماره ۳: ۲۶۰
کیس بالینی شماره ۴: ۲۶۱
کیس بالینی شماره ۵: ۲۶۳

فصل ۸ – تالاسمی و هموگلوبینوپاتی‌ها ۲۶۶

اختلالات هموگلوبین ۲۶۶
مروری بر هموگلوبین‌های طبیعی و نحوه سنجش آن ها ۲۶۶
تالاسمی ها ۲۷۱

بتاتالاسمی ۲۷۲
بتاتالاسمی ماژور (هموزیگوت، کم خونی کولی) ۲۷۳
درمان بیماران مبتلا به کولی ۲۷۷
بتاتالاسمی مینور (هتروزیگوت، خصیصه کولی) ۲۸۰
خصیصه بتاتالاسمی همراه با مقادیر طبیعی HbA2 ..... ۲۸۱
تالاسمی $\delta\beta^0$ ۲۸۲
تالاسمی $\delta\beta^+$ (هموگلوبین لپور) ۲۸۲
تداوم ارثی هموگلوبین جنینی (HPFH) ۲۸۳
آلفاتالاسمی ۲۸۵
سندرم های تالاسمی آلفا ۲۸۵
هیدروپس جنینی همراه با هموگلوبین Bart's (--/--) ۲۸۶
بیماری هموگلوبین H (-α/--) ۲۸۷
خصیصه تالاسمی-α هتروزیگوت (αα/--) یا تالاسمی α^+ هموزیگوت (-α/-α) ۲۸۸
ناقل خاموش تالاسمی آلفا (تالاسمی α^+ هتروزیگوت) (-α/αα) ۲۸۹
هموگلوبین constant spring ($\alpha^{cs}\alpha$/) ۲۸۹
تالاسمی آلفا همراه با سندروم های عقب ماندگی ذهنی ۲۹۰
تالاسمی آلفا مرتبط با میلودیسپلازی ۲۹۰
درمان آلفا تالاسمی ۲۹۱
هموگلوبینوپاتی ها ۲۹۱
اختلالات سلول داسی شونده ۲۹۱
خصیصه سلول داسی ۲۹۴
آنمی سلول داسی ۲۹۴
درمان ۲۹۸
بیماری هموگلوبین SC ۳۰۱
HbS/ بتاتالاسمی ۳۰۲
HbSS/ تالاسمی α ۳۰۳
بیماری هموگلوبین SD (HbS/D-Los angeles) ۳۰۳
HbS/ O Arab ۳۰۳
Sickle cell/HPFH ۳۰۴
بیماری Sickle cell/Hb Lepore ۳۰۴
بیماری Sickle cell/HbE ۳۰۴

سایر واریان‌های شایع زنجیره بتا ۳۰۵
خصیصه HbC ۳۰۵
بیماری هموگلوبین C ۳۰۵
تالاسمی β^+/ HbC ۳۰۶
تالاسمی β^0/ HbC ۳۰۶
خصیصه هموگلوبینE ۳۰۷
بیماری هموگلوبین E ۳۰۷
بتاتالاسمی/HbE ۳۰۷
هموگلوبین D لوس آنجلس (پنجاب) ۳۰۸
واریان شایع زنجیره آلفا ۳۰۸
هموگلوبین G فیلادلفیا ۳۰۸
اختلالات عملکرد و پایداری هموگلوبین ۳۰۹
اختلالات هموگلوبین ناپایدار ۳۰۹
هموگلوبین‌های مرتبط با میل ترکیبی بالا به اکسیژن و پلی سایتمی ۳۱۱
واریان‌های هموگلوبین با میل ترکیبی پایین به اکسیژن ۳۱۲
هموگلوبین‌های M ۳۱۳
ارزیابی آزمایشگاهی انواع هموگلوبین برای تشخیص تالاسمی و هموگلوبینوپاتیها ۳۱۵
الکتروفورز ۳۱۵
الکتروفورز با pH قلیایی (pH=8.4-8.6) ۳۱۵
الکتروفورز با pH اسیدی (pH=6-6.2) ۳۱۶
میکروکروماتوگرافی ستونی (کروماتوگرافی تعویض یونی) ۳۱۷
تکنیک HPLC تعویض کاتیون ۳۱۸
تمرکز (فوکوس) ایزوالکتریک ۳۱۹
آزمون دناتوره شدن قلیایی (تقلیب قلیایی) ۳۱۹
آزمون اسلایدی شویش اسیدی (Betke - kleihour) ۳۲۱
شناسایی سلولهای F با استفاده از فلوسایتومتری ۳۲۱
آزمایش ناپایداری حرارتی ۳۲۲
آزمایش رسوب در ایزوپروپانول ۳۲۲
تست‌های مولکولی برای تشخیص تالاسمی ۳۲۲
آزمایش متابی سولفیت بر روی لام (آزمایش داسی شدن) ۳۲۳
آزمایش انحلال پذیری داسی ۳۲۴
تشخیص مولکولی بیماری سلول داسی ۳۲۵

غربالگری هموگلوبین نوزادی..... ۳۲۵
بررسی تالاسمی احتمالی..... ۳۲۵
کیس های بالینی..... ۳۲۷
کیس شماره یک..... ۳۲۷
کیس شماره دو..... ۳۲۸
کیس شماره سه..... ۳۲۹
فصل ۹ –اختصارات..... ۳۳۲
فصل ۱۰– منابع..... ۳۳۹
منابع..... ۳۳۹

فهرست جداول

جدول ۱-۱: رده‌های تکاملی اریتروسیتی ۶

جدول ۱-۲: ارتباط زمان بلوغ رتیکولوسیت با هماتوکریت ۱۳

جدول ۱-۳: افزایش کاذب و کاهش کاذب پارامتر های CBC ۳۱

جدول ۱-۴: مقادیر نرمال پارامترهای مرتبط با گلبول قرمز در گروه های سنی مختلف مرد و زن ۳۳

جدول ۱-۵: مقادیر نرمال پارامترهای مرتبط با گلبول سفید و پلاکت در گروه های سنی مختلف مرد و زن ۳۴

جدول ۱-۶: تغییرات مورفولوژی RBC ۷۰

جدول ۱-۷: انکلوزیون های RBC ۷۹

جدول ۲-۱: شاخص های تشخیصی آنمی فقر آهن ۹۱

جدول ۲-۲: لیست انواعی از داروهای مورد استفاده برای درمان فقرآهن ۹۲

جدول ۲-۳: کم خونی‌های هیپوکرومیکی که ممکن است با فقر آهن اشتباه شوند ۹۵

جدول ۳-۱: بیماری های شایع مرتبط با کم خونی التهابی ۱۰۱

جدول ۳-۲: ویژگی های آزمایشگاهی کم خونی بیماری مزمن ۱۱۲

جدول ۳-۳: تشخیص افتراقی انواع کم خونی های هیپوکروم ۱۱۵

جدول ۳-۴: انواع درمان کم خونی بیماری مزمن ۱۱۸

جدول ۴-۱: انواع کم خونی سیدروبلاستیک ۱۳۰

جدول ۵-۱: بررسی ارتباط متقابل فولات و ویتامین B12 در شرایط بالینی مختلف بیمار ۱۷۲

جدول ۶-۱: طبقه بندی انواع کم خونی آپلاستیک بر اساس شدت کاهش هموگلوبین ... ۱۸۰

جدول ۶-۲: ارتباط انواع دارو با خطر ابتلا به آنمی آپلاستیک ۱۸۷

جدول ۶-۳: طبقه بندی اتیولوژیک کم خونی آپلاستیک ۱۹۵

جدول ۶-۴: سایر سندرمهای ارثی نادر مرتبط با کم خونی آپلاستیک ۲۱۳

جدول ۷-۱: علل هموسیدرینوری ۲۳۱
جدول ۷-۲: علل افزایش هموگلوبین پلاسما..... ۲۳۲
جدول ۷-۳: علل ارثی کم خونی های همولیتیک ۲۳۳
جدول ۷-۴: علل کم خونی همولیتیک اکتسابی..... ۲۵۱
شکل ۷-۶: حضور شیستوسیت در لام خون محیطی ۲۵۲
شکل ۷-۷: تصویر سلول داسی شکل، شیستوسیت و اکانتوسیت در لام خون محیطی یک بیمار..... ۲۵۳
جدول ۷-۵: تشخیص افتراقی همولیز ۲۵۶
جدول ۸-۱: مثال های ناهنجاری ساختاری هموگلوبین و اختلال در تولید آن..... ۲۶۶
جدول ۸-۲: علل کاهش هموگلوبین A2 در مقابل افزایش آن ۲۶۸
جدول ۸-۳: میزان HbF در سنین مختلف..... ۲۶۹
جدول ۸-۴: بررسی سطح Hb، MCV و الگوی الکتروفورز در انواع تالاسمی و هموگلوبینوپاتی ها..... ۲۹۳
جدول ۸-۵: عنوان جدول؟؟؟؟..... ۳۱۴

فهرست تصاویر

شکل ۱-۱: بررسی اجمالی از هماتوپوئز ۵

شکل ۱-۲: رتیکولوسیت ها در لام خون محیطی با رنگ آمیزی حیاتی ۱۰

شکل ۱-۳: دیسک میلر ۱۲

شکل ۱-۴: اندازه گیری هماتوکریت با روش میکروهماتوکریت ۲۳

شکل ۱-۵: بررسی هماتوکریت به روش دستی ۳۰

شکل ۱-۶: تهیه اسمیر خون محیطی ۴۲

شکل ۱-۷: نواحی مختلف گستره خون محیطی ۴۳

شکل ۱-۸: قسمت های عمده یک اسمیر خون محیطی ۴۵

شکل ۱-۹: تارگت سل (Target cell) ۶۱

شکل ۱-۱۰: اسفروسیت(Spherocyte) ۶۲

شکل ۱-۱۱: اوالوسیت (Ovalocyte) ۶۲

شکل ۱-۱۲: الیپتوسیت (elliptocyte) ۶۳

شکل ۱-۱۳: سلول داسی شکل (Derpanocyte sickle cell) ۶۴

شکل ۱-۱۴: استوماتوسیتوز (Stomatocytosis) ۶۴

شکل ۱-۱۵: اکینوسیت (Burr cell) ۶۵

شکل ۱-۱۶: اکانتوسیت (Acanthocyte) ۶۶

شکل ۱-۱۷: گلبول سرخ قطعه قطعه شده و شیستوسیت ۶۷

شکل ۱-۱۸: سلول های قطره اشکی (Tear drop) ۶۸

شکل ۱-۱۹: بایت سل ۶۸

شکل ۱-۲۰: سلول تاول زده ۶۹

شکل ۱-۲۱: رولکس ۶۹

شکل ۱-۲۲: حلقه کابوت (Cabot ring) ۷۲
شکل ۱-۲۳: اجسام هاینز ۷۳
شکل ۱-۲۴: اجسام پاپن هایمر..... ۷۴
شکل ۱-۲۵: اجسام هاول جول بادی..... ۷۵
شکل ۱-۲۶: بازوفیلیک استپلینگ ۷۶
شکل ۱-۲۷: کریستال های هموگلوبین (کریستال هموگلوبین c) ۷۶
شکل ۱-۲۸: کریستال های هموگلوبین (کریستال هموگلوبین sc)..... ۷۷
شکل ۱-۲۹: nRBC در لام خون محیطی..... ۷۷
شکل ۱-۳۰: تصویر شماتیک انواع مورفولوژی گلبول های قرمز ۷۸
شکل ۲-۱: مروری بر جذب و متابولیسم آهن روده ای با مداخله ی انتروسیت ها، هپاتوسیت و ماکروفاژها ۸۴
شکل ۲-۲: علائم بالینی بیماران مبتلا به فقر آهن..... ۸۷
شکل ۲-۳: لام خون محیطی فرد مبتلا به فقر آهن..... ۹۰
شکل ۲-۴: تشخیص کمبود آهن با توجه به درصد گلبولهای قرمز هیپوکرومیک..... ۹۴
شکل ۳-۱: نمودار اثر التهاب بر غلظت آهن در پلاسما ۱۰۶
شکل ۳-۲: شمای کلی پاتوژنز آنمی بیماری های مزمن..... ۱۰۹
شکل ۳-۳: لام خون محیطی در نارسایی مزمن کلیه ۱۱۰
شکل ۴-۱: تصویر شماتیک ژن های جهش یافته و پاتوژنز آن در کم خونی سیدروبلاستیک ارثی..... ۱۲۴
شکل ۴-۲: A. اجسام پاپن هایمر. B. نمای سیدروبلاست حلقوی. ۱۳۱
شکل ۴-۳: تصویر شماتیک جذب آهن از ترانسفرین و تحویل آن به مولکول هموگلوبین ۱۳۸
شکل ۴-۴: سیدروبلاست حلقه ای (فلش ها) در مغز استخوان نشان داده شده با رنگ آبی پروس (×۱۰۰۰) ۱۴۵

شکل ۴-۵: کم خونی سیدروبلاستیک مقاوم به درمان ۱۴۷
شکل ۴-۶: طبقه بندی آنمی ها بر اساس MCV ۱۴۹
شکل ۵-۱: متابولیسم فولات و ویتامین B12 ..... ۱۵۹
شکل ۵-۲: لام خون محیطی بیماران با کمبود B12 و فولات ۱۶۲
شکل ۵-۳: . مراحل انجام تست شیلینگ ۱۶۵
شکل ۵-۴: لام خون محیطی آنمی مگالوبلاستیک ۱۶۷
شکل ۵-۵: آزمایش سرکوب دئوکسی یوریدین ۱۶۸
شکل ۵-۶: نحوه افتراق کمبود فولات از کمبود کوبالامین ۱۷۱
شکل ۶-۱: پاتوژنز ایمنی آپوپتوز سلول های خونساز مولتی پوتنت CD34 در کم خونی آپلاستیک اکتسابی..... ۱۸۴
شکل ۶-۲: بیوپسی مغزاستخوان بیمار مبتلا به کم خونی آپلاستیک..... ۱۹۹
شکل ۶-۳: گستره ی خون محیطی در کم خونی دیس اریتروپوئتیک تایپ ۱ ..... ۲۱۶
شکل ۶-۴: انواع مورفولوژی نرموبلاست در انواع دیس اریتروپوئز ارثی..... ۲۱۷
شکل ۷-۱: همولیز خارج عروقی در مقابل داخل عروقی ۲۲۶
شکل ۷-۲: نمودار بررسی شکنندگی اسمزی در دو گروه کنترل و بیمار ۲۳۶
شکل ۷-۳: انواع مورفولوژی های RBC در لام خون محیطی بیماران. ۲۴۰
شکل ۷-۴: تصویر لام خونی Basophilic stippling..... ۲۴۷
شکل ۷-۵: تصویر تست کومبز مستقیم ۲۵۰
شکل ۷-۸: تشخیص افتراقی انواع آنمی های همولایتیک ۲۵۴
شکل ۸-۱: جایگاه ژن‌های سازنده زنجیره‌های گلوبین..... ۲۶۷
شکل ۸-۲: ظاهر صورت یک کودک مبتلا به بتاتالاسمی ماژور ۲۷۵
شکل ۸-۳: اشعه ایکس جمجمه فرد بتاتالاسمی ماژور که انتقال خون مزمن نداشته است ۲۷۵
شکل ۸-۴: تالاسمی بتا هموزیگوت..... ۲۷۷

شکل ۸-۵: خصیصه بتاتالاسمی ۲۸۱
شکل ۸-۶: مکانیسم تولید هموگلوبین لپور ۲۸۳
شکل ۸-۷: تالاسمی آلفا: هیدرپس فتالیس، نتیجه حذف ۴ ژن آلفا ۲۸۶
شکل ۸-۸: بیماری هموگلوبین H ۲۸۸
شکل ۸-۹: سندرم دست و پا کودک مبتلا به آنمی داسی شکل ۲۹۵
شکل ۸-۱۰: زخم و نکروز در پای پسر ۱۵ ساله مبتلا به آنمی داسی‌شکل ۲۹۷
شکل ۸-۱۱: لام خون محیطی، آنمی سلول داسی ۲۹۸
شکل ۸-۱۲: بیماری هموگلوبین C بعد از طحال برداری..... ۳۰۶
شکل ۸-۱۳: الکتروفورز با pH قلیایی..... ۳۱۶
شکل ۸-۱۴: الکتروفروز با pH اسیدی..... ۳۱۷
شکل ۸-۱۵: تجزیه و تحلیل HPLC نشان دهنده صفت داسی (HbA + HbS)..... ۳۱۸
شکل ۸-۱۶: فوکوس ایزوالکتریک ۳۱۹
شکل ۸-۱۷: تجزیه و تحلیل HPLC نشان دهنده صفت بتا تالاسمی است ۳۲۷

پیش گفتار

از تشخیص آزمایشگاهی تا درمان آنمی‌ها

فصل اول: کلیات

فصل دوم: آنمی فقر آهن

فصل سوم: آنمی بیماری های مزمن

فصل چهارم: آنمی سیدروبلاستیک

فصل پنجم: آنمی مگالوبلاستیک

فصل ششم: آنمی آپلاستیک

فصل هفتم: آنمی همولایتیک

فصل هشتم: تالاسمی و هموگلوبینوپاتی ها

فصل دوازدهم: اختصارات

فصل سیزدهم: منابع

فصل اول: کلیات

فصل ۱- کلیات

مقدمه

هماتولوژی به عنوان یک شاخه از علوم بالینی به تشخیص، درمان و شناسایی بیماری های خونی چون آنمی، هموفیلی، بیماری های انعقادی و لوسمی ها می پردازد. کتاب پیش رو به بررسی آنمی ها به عنوان بخشی از علم هماتولوژی، می پردازد. جهت تشخیص ، پیشگیری و درمان انواع آنمی ها ، نیاز است با کلیات مفاهیم پایه هماتولوژی چون پروسه ی خون سازی، بررسی CBC و انواع اندکس های خونی، بررسی لام خون محیطی و انواع مورفولوژی های گلبول قرمز آشنا شویم که در ادامه به تفصیل هر کدام را بررسی خواهیم کرد.

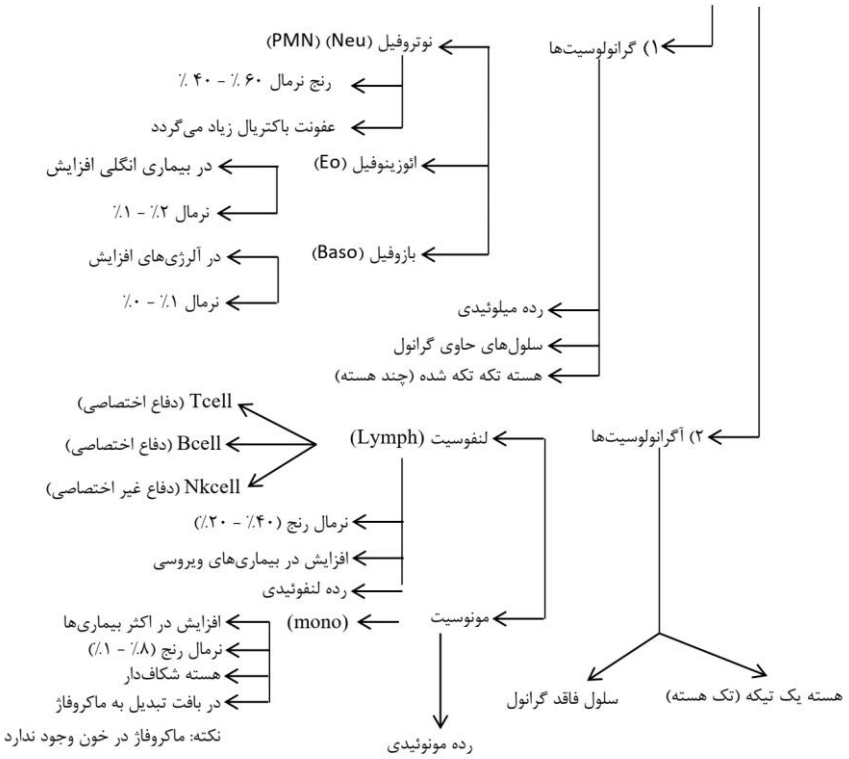
هماتولوژی، علم بررسی و شناخت بافت خون و اختلالات مربوط به آن می باشد. بافت خون از جنس بافت همبند است. انواع سلول های خونی شامل

۱- گلبول قرمز (RBC) (اریتروسیت) Red blood Cell

۲- گلبول سفید (WBC) (کلوسیت) White blood Cell

۳- پلاکت‌ها (Platelet (PLT هستند. گلبول های قرمز یا اریتروسیت ها به عنوان بیشترین سلول خونی، دارای حالت دیسکوئید (مقعر الطرفین) هستند. این سلول ها به دلیل حضور هموگلوبین، عملکرد انتقال اکسیژن را به عهده دارد. رنج نرمال این سلول ۶-۵ × $mm^3$۱۰^۶ می باشد.

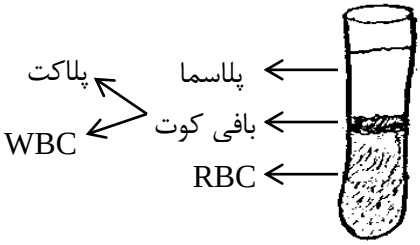
لوکوسیت ها نیز به دو دسته ی گرانولوسیت ها و آگرانولوسیت ها تقسیم می شوند که هر کدام زیر شاخه های مربوط به خود و عملکرد خاص خود را دارند. (شکل ۱-۱). مقادیر نرمال لوکوسیت ها ۱۰^۳× ۱۱-۴ mm^3 می باشد.



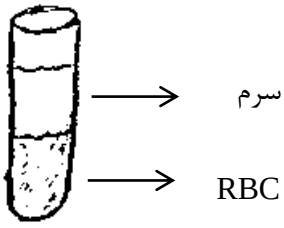
پلاکت ها یا ترومبوسیت ها کوچکترین سلول خونی فاقد هسته هستند که مقادیر نرمال $(150-440\times10^3 mm^3)$ دارند.

اگر خون را سانتریفیوژ کنیم دو حالت دارد:

۱- ضد انعقاد داشته باشد. (پلاسما) ۳ لایه



۲- ضد انعقاد نداشته باشد. ۲ لایه



تمامی اجزای خون دارای چگالی متفاوتی بود و بعد از سانترفیوژ در لایه‌های مختلفی براساس وزن حجمی قرار می‌گیرند؛

RBC > Retic > گرانولوسیت > مونوسیت > Lymph > PLT > پلاسما

خونسازی (Hematopoiesis)

پروسه تولید کلیه سلول‌های خونی هماتوپوئز گویند (تولید روزانه‌ی 10^{10} سلول خونی) و شامل:

- اریتروپوئز ⇐ ساخت RBC
- لکوپوئز ⇐ ساخت WBC
- گرانولوپوئز ⇐ ساخت EO، Base، Neu

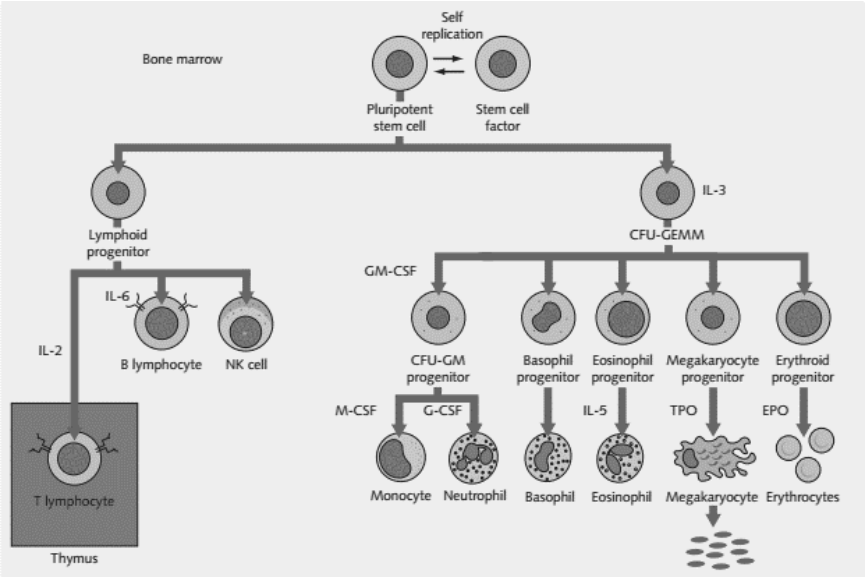
- مونوپوئز ⇐ ساخت mono
- لنفوپوئز ⇐ ساخت Lym
- ترومبوپوئز ⇐ تولید PLT
- مگاکاریوپوئز ⇐ تولید MK

نکته: مگاکاریوست سلولی است که از آن پلاکت ساخته می‌شود، بنابراین ابتدا مگاکاریوسیت ساخته شده پس از آن پلاکت تشکیل می‌گردد.

ترومبوپوئز: مگاکاریوپوئز ⇐ تولید مگاکاریوسیت ⇐ تولید PLT

ظرفیت تولید سلول‌های خونی ممتد به شرایط فیزیولوژیک و یا پاتولوژیک (مثل آنمی) افزایش و یا حتی کاهش می‌یابد. خونسازی در بعضی اوقات شاید حتی به ۸-۶ برابر حالت طبیعی نیز برسد.

سیستم هماتوپوئز جهت تولید بی‌پایان سلول‌های خونی نیازمند سلول‌هایی به نام Stem Cell (سلول‌های بنیادی) می‌باشد.



شکل ۱-۱: بررسی اجمالی از هماتوپوئز

جدول ا-ا: رده‌های تکاملی اریتروسیتی

ترمینولوژی روبری بلاست	ترمینولوژی نورموبلاست	ویژگی‌های کلیدی
روبری بلاست	**پرونورموبلاست**	14-24 μm، نسبت N:C 8:1 سیتوپلاسم کم تا متوسط و به شدت بازوفیل (آبی)؛ ناحیه بی رنگ (گلژی) نزدیک هسته ممکن است دیده شود. هسته بزرگ و گرد، کروماتین باز و ظریف؛ ۲-۱ هستک؛ درحالت نرمال منحصر به مغزاستخوان
پرو روبری سیت	**بازوفیلیک نورموبلاست**	12-17 μm، نسبت N:C : 6:1 مقدار متوسط سیتوپلاسم، به شدت بازوفیل، کروماتین خشن تر با اندکی پاراکروماتین؛ هستک معمولاً دیده نمی‌شود؛ در حالت نرمال منحصر به مغزاستخوان
روبری سیت	**پلی کروماتوفیلیک نورموبلاست**	10-15 μm؛ نسبت N:C :4:1 سیتوپلاسم به علت تولید Hgb پلی کروماتوفیلیک است. هسته غیر یکنواخت و غیر مرکزی، تجمع کروماتین با نواحی متمایز پاراکروماتین که بصورت توده توده دیده میشود؛ آخرین مرحله تقسیم در حالت نرمال منحصر به مغزاستخوان
متاروبری سیت	**ارتوکرومیک نورموبلاست**	8-12 μm؛ نسبت N:C : 1:2 هسته پیکنوتیک (تراکم غیرقابل برگشت کروماتین)؛ آخرین مرحله هسته دار؛ در حالت نرمال منحصر به مغزاستخوان
رتیکولوسیت	**پلی کروماتوفیلیک اریتروسیت**	7-10 μm؛ فاقد هسته؛ سیتوپلاسم بازوفیلی (آبی کم رنگ)؛ شبکه آندوپلاسمی با رنگ‌آمیزی فوق حیاتی قابل‌رؤیت؛ 0.5%-1.5% از جمعیت rbc را درخون محیطی بزرگ‌سالان تشکیل می‌دهد
اریتروسیت بالغ	**اریتروسیت بالغ**	7-8 μm؛ دیسک مقعرالطرفین؛ سیتوپلاسمی صورتی مایل به قرمز با هاله کمرنگ مرکزی به قطر ۱/۳ سلول

اریتروپوئز

Total Erythropoiesis (به کل سلول‌های تولید شده در BM)

۱- Effective Erythropoiesis

۲- Ineffective Erythropoiesis

❖ Effective

هرگاه در روند تولید سلول‌های رده اریتروئیدی، در نهایت رتیکولوسیت حاصل شود و وارد خون محیطی شود به آن اریتروپوئز مؤثر (خونسازی مؤثر) گفته می‌شود.

❖ Ineffective

هرگاه در روند تولید سلول‌های رده اریتروئیدی، رتیک تولید نشود و به خون محیطی تحویل داده نشود به آن خونسازی غیرمؤثر گویند.

در حالت طبیعی ۱۲-۴٪ گلبول‌های قرمز تولید شده در BM قبل از ورود به خون محیطی منهدم می‌شوند.

پلی کروماتوفیلی

- ترکیبی از تمایل Hb به رنگ اسیدی و تمایل RNA به رنگ قلیایی

- حضور بقایای RNA در RBC حاکی از جوان بودن RBC است که ۲-۱ روز به خون وارد شده است. این سلول‌ها بزرگتر و هرگز گلبول قرمز کمرنگ در آنها دیده نمی‌شود.

سلول‌های جوان دارای بقایای RNA در گستره‌های خشک شده در هوا و رنگ آمیزی شده با رنگ رایت به صورت RBCهای پلی کروماتوفیل هستند. حال اگر گسترده به روش فوق حیاتی و با برلیانت کریزل بلو رنگ کنیم. این سلول‌ها رتیکولوسیت هستند؛ افزایش پلی کرومازی به معنای رتیکولوسیتوز بوده و در این حالت در موارد، همولیز و خون ریزی حاد بسیار چشمگیر است.

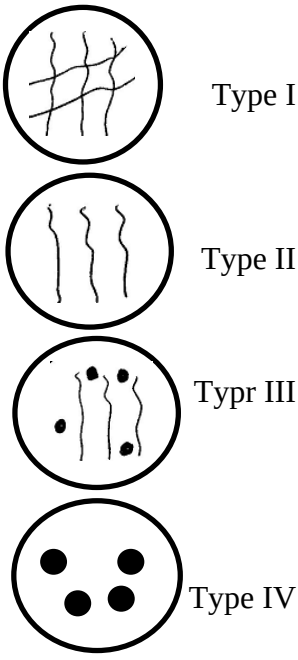
نکته: رتیکولوسیت با رنگ آمیزی: – رایت ⇐ پلی کرومازی – حیاتی ⇐ رتیک

شمارش رتیکولوسیت

به ازای هر ۱۰٪ کاهش HCT ، نیم روز از زمان استقرار رتیک در BM کم می‌شود.

مثلاً ، در شرایط سلامت، شمارش مطلق رتیکولوسیت‌ها حدود $50\times10^{9}L$ یا ۱٪ اریتروسیت‌های PB است ⇐ تولید روزانه $50\times10^{9}L$

انواع رتیک



Retic حداقل باید دارای ۲ گرانول رنگی باشد.

نکته: – تیپ I : رشته‌های فراوان و متراکم – تیپ II : رشته‌های فراوان با تراکم کمتر

– تیپ III : رشته‌ها و گرانول‌های متوسط – تیپ IV : رشته‌های نادر و گرانول‌های زیاد تا کم

روش آزمایش شمارش رتیکولوسیت

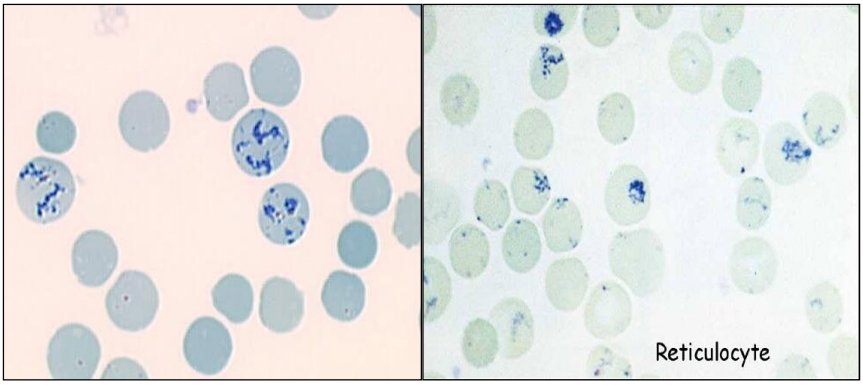
رتیکولوسیت ها گلبول‌های قرمز نابالغ حاوی باقیمانده‌های اسید ریبونوکلئیک ریبوزومی هستند که به تازگی از مغز استخوان آزادشده‌اند. ویژگی ریبوزوم‌ها، ایجاد واکنش بارنگ‌های قلیائی خاص مثل آزور B، بریلیانت کرزیل بلو یا نیو متیلن بلو (NMB) و تشکیل رسوبی به‌صورت گرانول یا فیلامانت آبی یا بنفش می‌باشد. این واکنش فقط با رنگ‌های حیاتی و در نمونه‌های فیکس نشده صورت می‌گیرد. به علت زنده بودن سلول‌ها هنگام رنگ‌آمیزی، به این نوع رنگ‌آمیزی، رنگ‌آمیزی حیاتی اطلاق می‌گردد.

مراحل مختلف بلوغ رتیکولوسیت ها با توجه به مشخصات مرفولوژیکی، قابل‌شناسایی می‌باشند. نابالغ‌ترین رتیکولوسیت ها حاوی بیشترین مقدار مواد رسوبی و بالغ‌ترین آن‌ها فقط دارای چند جز یا رشته کوتاه از این مواد می‌باشند. بر این اساس، رتیکولوسیت ها به چهار گروه تقسیم می‌شوند که گروه ۱ دارای کلامپ رتیکولوم و گروه ۴ حاوی چند گرانول کوچک می‌باشند. گروه ۲ و ۳ نیز از لحاظ مرفولوژی بین این دو گروه قرار می‌گیرند. چون اکثر رتیکولوسیت هایی که در خون محیطی دیده می‌شوند از گروه ۴ هستند، شناسایی دقیق رتیکولوسیت ها اثر قابل توجهی بر روی صحت شمارش این سلول‌ها دارد. بنابراین گلبولی می‌بایست به عنوان رتیکولوسیت شمارش گردد که دارای هسته نبوده و داخل آن دو یا چند قطعه از رسوب آبی رنگ که همان RNA ریبوزومی است، دیده شود.

رتیکولوسیت ها در رنگ‌آمیزی معمولی (با رنگ‌های گروه رومانوفسکی)، به دلیل ترکیب بازوفیلی سیتوپلاسم و اسیدوفیل هموگلوبین حالت بازوفیل منتشری پیدا

شکل رتیکولوسیت (رنگ آمیزی حیاتی)

کرده و به به‌صورت «پلی کروماتیک» مشاهده می‌گردند. این پدیده به‌طور معمول در رتیکولوسیت های نابالغ که دارای بیشترین میزان RNA هستند، دیده می‌شود.



شکل ۱-۲: رتیکولوسیت ها در لام خون محیطی با رنگ آمیزی حیاتی

تهیه محلول رنگ: رنگ توصیه‌شده در مراجع معتبر بین‌المللی نیو متیلن بلو می‌باشد برای تهیه محلول رنگ، می‌بایست ۰/۱ گرم رنگ نیومتیلن بلو (NMB)یا آزور B خالص را در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ایزو اسموتیک با PH = ۶/ ۵ حل نمود. برای ساخت بافر ذکر شده از محلول‌های زیر استفاده می‌شود:

A:	$NaH_2PO_4 , 2H_2O$	23.4g/L	(150mmol/L)
B:	Na_2HPO_4	21.3 g/L	(150mmol/L)

در صورتی که ۵۱ میلی‌لیتر از محلول A با ۳۵ میلی‌لیتر از محلول B مخلوط گردد، PH بافر حاصل، ۶/۵ خواهد بود. رنگ را می‌توان در ۱۰۰ میلی‌لیتر سیترات سالین نیز حل کرد که برای تهیه سیترات سالین، یک حجم سیترات سدیم ۳۰ گرم در لیتر با ۴ حجم کلرید سدیم ۹ گرم در لیتر مخلوط می‌شود.

محلول رنگ را می‌بایست درون شیشه‌ای قهوه‌ای‌رنگ ریخته و در مدت ۲۴ ساعت به دفعات تکان داد. این محلول در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری می‌باشد. در این دما، نیمه عمر رنگ حدود یک ماه است. هر بار قبل از استفاده، باید حجم

مورد نیاز از رنگ را به منظور خارج نمودن هر گونه ذره اضافی یا رسوب، با کاغذ صافی فیلتر نمود.

روش رنگ‌آمیزی

برای رنگ‌آمیزی باید دو یا سه قطره رنگ NMB را با پیپت پاستور داخل لوله شیشه‌ای یا پلاستیکی به ابعاد ۱۰×۷۵ میلی‌متر ریخته و به همین حجم، خون حاوی ضد انعقاد EDTA به آن اضافه کرده و پس از مخلوط کردن به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه نگهداری نمود. قبل از تهیه گسترش می‌بایست لوله را به آرامی تکان داد تا گلبول‌های قرمز مجدداً به حالت سوسپانسیون درآیند. گسترش‌ها پس از تهیه و خشک شدن، بدون فیکساسیون و انجام رنگ‌آمیزی دیگری، توسط میکروسکوپ قابل بررسی می‌باشند.

نکته: حجم دقیق خونی که به محلول رنگ اضافه می‌شود بستگی به تعداد گلبول‌های قرمز دارد. در موارد آنمی، مقدار خون بیشتر و در پلی سیتمی، مقدار خون کمتری، نسبت به حالت طبیعی، می‌بایست با رنگ مخلوط شود.

در یک گسترش مناسب، ریبوزوم رتیکولوسیت ها به رنگ آبی در آمده و سلول‌های بالغ در سطح لام به شکل سایه‌های کمرنگ آبی مایل به سبز دیده می‌شوند.

رنگ‌آمیزی و شمارش رتیکولوسیت خون در شرایطی که نمونه بعد از نمونه‌گیری در دمای ۶-۲ درجه نگهداری شود تا ۲۴ ساعت امکان‌پذیر می‌باشد. با گذشت ۸-۶ ساعت از زمان نمونه‌گیری و ماندن خون در حرارت آزمایشگاه، رتیکولوسیت ها به تدریج بالغ شده و به گلبول قرمز بالغ تغییر شکل می‌یابند که این امر به‌طور کاذب موجب کاهش درصد رتیکولوسیت ها می‌گردد. بنابراین توصیه می‌شود شمارش رتیکولوسیت بلافاصله بعد از جمع آوری نمونه انجام شود.

نحوه شمارش و گزارش درصد رتیکولوسیت

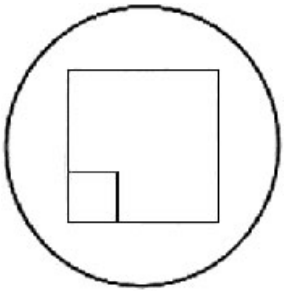
برای شمارش و تعیین درصد رتیکولوسیت، گسترش نباید خیلی نازک تهیه شده باشد و محلی از گسترش جهت شمارش انتخاب شود که سلول‌ها به خوبی رنگ شده و روی هم نیز قرار نگرفته باشند. برای تعیین درصد رتیکولوسیت ها از عدسی شیئی روغنی (x100) استفاده شود. در واقع باید تعداد رتیک را در بین ۱۰۰۰ گلبول قرمز شمرد و سپس درصد گرفت. اگر در یک فیلد RBC ها کنارهم قرارگرفته باشند این فیلد را ۲۵۰ تایی درنظرگرفته و تعداد رتیکولوسیت را در ۴ فیلدی که RBC به همین منوال قرار گرفته می‌شماریم، سپس بر صد تقسیم می‌کنیم.

مقادیر مرجع

در بزرگسالان سالم شمارش رتیکولوسیت ۰/۵ – ۱/۵ درصد و در نوزادان ۶-۲ درصد می‌باشد که تا انتهای هفته دوم زندگی، به میزان بزرگسالان تنزل می‌یابد.

دیسک میلر

روش دیگر شمارش رتیکولوسیت، به‌صورت دیسکی که روی عدسی چشمی قرار می‌گیرد، می‌باشد.



شکل ۱-۳: دیسک میلر

$$\text{رتیکولوسیت} = \frac{\text{تعداد رتیک در مربع بزرگ}}{\text{تعداد RBC در مربع کوچک} \times 9} \times 100$$

اهمیت رتیکولوسیت

از آنجایی که RNA رتیکولوسیت ها، حدود یک روز پس از ورود به خون از بین می رود، می‌توان با شمارش رتیکولوسیت ها تعداد سلولی که هر روز از مغز استخوان وارد خون می‌شود را اندازه‌گیری نمود که در واقع اندازه‌گیری اریتروپوئز مؤثر است. شمارش مطلق رتیکولوسیت ها از حاصل ضرب درصد رتیکولوسیت در شمارش اریتروسیت ها به دست می آید. شمارش مطلق رتیکولوسیت ها به طور طبیعی /L ۵۰×۱۰۹ یا ۱٪ اریتروسیت های در گردش است.

نکته‌ی دوم آن است که شمارش رتیکولوسیت ها باید در حالت افزایش زمان بلوغ رتیکولوسیت ها در خون که به دلیل آزادسازی سریع آن‌ها از مغز استخوان است، تعدیل گردد تا مثلاً رتیکولوسیت هایی که روز قبل از مغز استخوان رها شده‌اند و هنوز RNA خود را از دست نداده‌اند با رتیکولوسیت هایی که همان روز وارد خون شده‌اند شمارش نشوند و تولید روزانه‌ی اریتروسیت به صورت کاذب زیاد برآورد نشود. درواقع در این شرایط بدون پرکاری مغز استخوان رتیکولوسیتوزیس داریم. در این حالت نیاز به تصحیح بر اساس تخمین زمان بلوغ (MT)رتیکولوسیت‌ها در خون است. فاکتور تصحیح با هماتوکریت به صورت زیر در ارتباط است:

جدول ۱-۲: ارتباط زمان بلوغ رتیکولوسیت با هماتوکریت

هماتوکریت	زمان بلوغ رتیکولوسیت (روز)
۴۵	۱/۰
۳۵	۱/۵
۲۵	۲/۰
۱۵	۲/۵

برای تصحیح به روش زیر عمل می‌کنیم:

$$RPI = \frac{\%\ Retic \times HCT\ \ (Patient)}{45 \times (MT)}$$

$$\%\ Corrected\ Reticulocyte = \frac{\%\ Retic \times HCT\ (Patient)}{45}$$

RPI [1] به معنای ایندکس تولید رتیکولوسیت است.

RPI>2 به معنای افزایش خون‌سازی و پاسخ مغز استخوان به کم‌خونی است که در کم‌خونی‌های همولیتیک و از دست رفتن خون مشاهده می‌شود به شرطی که عامل دیگری تولید اریتروسیت ها را محدود نکند ولی RPI<2 به معنای عدم پاسخ مناسب مغز استخوان و هیپوپلازی می‌باشد که در کم‌خونی‌های با اختلال تولید اریتروسیت ایجاد می‌شود

شمارش دستگاهی رتیکولوسیت

با توجه به مدل خاص آنالیزگر، این فرآیند ممکن است نیمه خودکار یا تمام خودکار باشد. تمامی روش‌ها بر اساس اضافه کردن یک رنگ برای آشکار سازی محتوای RNA رتیکولوسیت‌ها عمل می‌کنند. این رنگ‌ها شامل نیومتیلن بلو، اکسازین، لورامین O، پلی متیلن و تیازول نارنجی می‌باشند. روش‌های شناسایی شامل امپدانس، تفرق نور، جذب و شدت فلورسانس است. در این آنالیزورها پارامترهای CHr(محتوای هموگلوبین رتیکولوسیت)،IRF (بخش رتیکولوسیت بسیار نابالغ) و درصد پلاکت رتیکوله نیز گزارش می‌شود.

[1] Reticulocyte Production Index

از CHr برای شناسایی زود هنگام فقر آهن و پاسخ به درمان با آهن می‌توان استفاده کرد. افزایش IRF نشان‌دهنده‌ی افزایش خون‌سازی در پاسخ به استرس کم‌خونی، درمان با اریتروپوئیتین و یا از دست دادن خون است. پلاکت رتیکوله در پاسخ به ترمبوسیتوپنی و هیپرتیروئیدیسم افزایش می‌یابد. مقدار طبیعی آن بین ۳ تا ۲۰ درصد متغیر است.

درصد مطلق رتیک از طریق درصد رتیک × تعداد RBC به دست می‌آید.

رنج نرمال درصد مطلق $25-125\times10^{9}/L$ است.

بررسی یک آزمایش CBC[1]

RBC : به معنای شمارش تمام یاخته‌های خون به انضمام تعیین تمام شاخص‌های RBCها:

۱- RBCها

بیانگر تعداد گلبول های قرمز خون می باشد. رنج نرمال آن $(/lit$ یا $/ml/$ یا $4-6\times10^{6}/mm^{3})$ است.

۲- Hb (هموگلوبین) (Hemoglubin)

- پروتئین هایی درون RBC هستند که نقش حمل و نقل O_2 و CO_2 را بر عهده دارند. - رنج نرمال $12-15\frac{gr}{dl}$

- مثال $16/5\frac{gr}{dl}$ یعنی در ۱ دسی لیتر خون این فرد $Hb\ 16/5\,gr$ وجود دارد.

۳- HCT ⇐ (Hemotaocrit = HCT = packed cell volume = P.C.V)

[1] Complete Blood Count

- نسبت حجم توده یاخته‌های سرخ به کل حجم خون = $\frac{\text{حجم کل RBC}}{\text{حجم کل خون}}$ هماتوکریت

رنج نرمال

- در خانم‌ها $\Leftarrow$ $0/36-0/45\ L/L$ (%36 – %45)
- آقایان $\Leftarrow$ $0/41-0/51\ L/L$ (%41 – %51)

در آنمی Hb – RBC و HCT کاهش اما در پلی سایتمی Hb ، RBC و HCT افزایش دارد.

شاخص های RBC

- MCV - MCH - MCHC

در حالت کلی شاخص های اریتروئیدی به دو دسته تقسیم می‌شوند:

۱- شاخص‌های مرکزی

- ✓ تعداد RBC
- ✓ Hb
- ✓ HCT
- ✓ MCV
- ✓ MCH
- ✓ MCHC

۲- شاخص‌های پراکندگی

- ✓ RDW
- ✓ RDW – CV
- ✓ RDW – SD
- ✓ HDW

MCV[1]

[1] Mean Corpuscular (Cell) volume

میانگین حجم یک یاخته سرخ ⇐ نسبت اریتروسیت‌های متراکم شده در یک لیتر خون، به تعداد یاخته‌ها سرخ موجود در همان حجم از خون:

$$MCV = \frac{\text{L/L} \quad \text{HCT} \times ۱۰۰۰}{mm^3 \text{ در RBC}}$$

$$MCV = \frac{\text{درصد HCT} \times ۱۰}{\text{تعداد یاخته سرخ در } \text{mm}^۳}$$

به صورت کلی ⇐ $MCV = \frac{HCT}{RBC}$

واحد MCV فمتولیتر بوده با $f\,L$ نشان می‌دهند و به معنای 10^{-15} می‌باشد.

رنج نرمال MCV ⇐ $80-96\ f\,l$ در هر دو جنس یکسان است.

اگر MCV ⇐ - نورموسیت : $80-6\ fl$ - $\downarrow 80\ fl$: میکروسیت

- $\uparrow 96\ fl$: ماکروسیت است.

آنیزوسایتوز[1]

- حضور همزمان RBCهایی با اندازه های مختلف در خون آنیزوسایتوز نام دارد که توسط شاخص RDW بررسی می‌گردد.

MCH[2]

- میانگین هموگلوبین یک یاخته سرخ

- نسبت مقدار Hb بر حسب گرم در لیتر از خون، به تعداد RBC موجود در همان حجم خون.

---

[1] Aisocytosis
[2] Mean Corpuscular (Cell) Hemogloin

$$MCH = \frac{(gr/L)\,Hb}{n}$$

$$MCH = \frac{(gr//dl)\,Hb \times 10}{n}$$

واحد اندازه گیری آن بر حسب پیکوگرم (10^{-12} گرم) می باشد.

MCH بسته به سن متفاوت اما در هر دو جنس یکسان است. رنج نرمال $27 - 33\ pg$

در نمونه نگهداری شده نتایج MCH معتبرتر از MCV است.

MCHC[1]

- میانگین غلظت Hb یک یاخته سرخ به نسبت حجم آن

- **روش دستگاهی** ⇐ فرمول $MCHC = \frac{MCH}{MCV} \times 100$

- **روش دستی:** $MCHC = \frac{(\frac{gr}{dl})\,Hb}{(\text{بر حسب})\,HCT} \times 100$ $\qquad MCHC = \frac{(\frac{gr}{dl})\,Hb}{(L/L)HCT}$

- در سنین مختلف متفاوت اما تغییر جنس تفاوت ایجاد نمی‌کند.

- رنج نرمال ⇐ ۳۶ – ۳۳ گرم بر دسی لیتر $\frac{gr}{dl}$

- در حالت اسفروسایتوزیس مقادیر MCHC از ۳۶ بیشتر می‌گردد. شرایط هیپرکرومیک واقعی فقط در اسفروسیتوزیس ارثی مشاهده می شود.

[1] Mean Corpuscular (ceu) Hemogloi Concetration

- به علت تورم و افزایش حجم RBCها در اثر ماندن خون در محیط، مقادیر MCHC به طور کاذب کاهش می یابد.

در دستگاه‌هایی که براساس نور لیزر کار می کنند، غلظت متوسط Hb هر یک از گلبول‌های قرمز به صورت مستقیم و تک تک سنجش می شود، اگر به دلیل اندازه-گیری مستقیم و غیرمحاسباتی آن، آن را به صورت CHCM می نویسند. CHCM ر سل کانترهای بر پایه امپانس قابل اندازه گیری نیست.

اگر MCH و MCHC

- ❖ نرمال ⇐ نورموکروم
- ❖ ↓ (کاهش یافته) ⇐ هیپوکروم
- ❖ ↑ (افزایش یافته)⇐ هیپرکروم

آنیزوکروم[1] ⇐ حضور همزمان RBCها از لحاظ نورموکروم بودن یا هیپوکروم و یا هایپرکروم در خون فرد از شاخص HDW استفاده می شود.

در صورت حضور RBC هیپوکروم و نورموکروم ⇐ آنمی دو شکلی Dimorphic می باشد مثل کم خونی سیدروبلاستیک، کم خونی فقر آهن در حال درمان با آهن و تزریق خون به فرد دچار آنمی هیپوکروم

شاخص‌ها پراکندگی RBC ها

۱- دامنه پراکندگی یاخته های سرخ از نظر اندازه: RDW[2]

- ➢ RDW ⇐ نشان دهنده تفاوت های موجود در حجم RBC ها بوده و نحوه انتشار آنها را از نظر حجم نشان می دهد ⇐ معیاری جهت بررسی ⇐ آنیزوسیتور

[1] Anisochrome
[2] Red cell Distribution width

- پوئیلیکوسیتوزیس (اختلاف در شکل RBCها) برخلاف آینزوسیتوزیس معادل دستگاهی ندارد.

الف) RDW - CV

نشان دهنده ضریب تغییرات RBC از نظر اندازه و به دو نوع RDW_1 و RDW_2 تقسیم می‌شود و واحد آن درصد است.

$RDW_1 \Leftarrow$ ۶۷ درصد از RBCها را از نظر اندازه زیر پوشش قرار می‌دهد.

$RDW_2 \Leftarrow$ ۹۵٪ از RBCها

$$RDW_1 = \frac{\text{یک انحراف معیار } SD}{MCV} \times 100 = \frac{SD}{MCV} \times 100$$

$$RDW_2 = \frac{\text{دو انحراف معیار } SD}{MCV} \times 100 = \frac{2SD}{MCV} \times 100$$

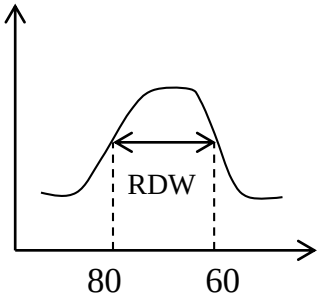
رنج نرمال: *درصد $RDW_1 \rightarrow 7-10$ * درصد ۱۴-۱۰ $\rightarrow RDW_2$

کاهش RDW فاقد ارزش بالینی می‌باشد.

در صورت بالا بودن MCV $\Leftarrow RDW_1$ می‌تواند نرمال گردد پس RDW_2 قابل اعتمادتر می‌باشد.

در صورت میکروسیستیک بودن $(\downarrow MCV) \Leftarrow \uparrow RDW_1$ و متأسفانه RDW_2 کمی افزایش می‌رود.

ب) RDW - SD



اختلاف حجم موجود بین بزرگترین و کوچکترین RBC موجود در نمونه بر حسب fl (فمتولیتر)

➢ رنج نرمال ⇐ $37-54\ _{fl}$

بیشترین مقدار RDW مربوط به کم خونی‌های همولیتیک میکروآنژیوپاتیک (MAHA) و سپس فقر آهن است.

ج) بررسی هیستوگرام اندازه اریتروسیت‌ها:

حالت طبیعی این منحنی به شکل زنگ یا ناقوس کلیسا است. پهن شدن آن نشانه آنیزوسایتوزیس و دو قله‌ای شدن آن نشانه دو شکلی یا Dimorphic است.

۲- دامنه پراکندگی یاخته‌های سرخ از نظر Hb (HDW[1])

- تنها به صورت HDW – CV و با در نظر گرفتن ۹۵٪ از RBCها (۲ انحراف معیار = 2SD) محاسبه می گردد.

- معیاری برای بررسی آنیزوکروم - رنج نرمال $2/64-1/82\%$

- افزایش آن ⇐ نشانه حضور دو گروه RBC از نظر Hb در خون است.

HDW بالا ⇐ کم خونی سیدروبلاستیک $HDW=\frac{2SD}{MCH}\times 100$

RDW و HDW به طور محسوس در آنمی فقر آهن، تالاسمی ماژور، آنمی‌های CDA ، سوختگی و DIC افزایش داشته و در تالاسمی مینور طبیعی است.

PDW : برای تغییرات اندازه و حجم پلاکت‌ها محاسبه می‌شود که در بیماری‌های DIC ، TTP و ITP و سوختگی‌های شدید افزایش دارد.

$$PDW=(SD\times 100)\div MPV$$

MCD[2] : قطر متوسط سلولی ارتباط و همبستگی بالایی با MCV دارد و در آنمی های ماکروسیستیک، نوزادان و رتیکولوسیتوزها افزایش و در آنمی‌های

[1] Haemoglobin Distribution width
[2] mean corpuscular Diameter

میکروسیستیک و اسفروسیتوز ارثی کاهش دارد. مقادیر نرمال آن $6/7-7/7\mu$ است.

MCT[1] : ضخامت متوسط سلولی

در اولین ساعات پس از خونریزی، هر چند حجم خون کاهش یافته و علائم بالینی مشاهده می‌گردد ولی کاهش چندانی در Hb و HCT و تعداد RBC که بتواند نمایانگر شدت خونریزی باشد رخ نمی دهد مگر اینکه جهت جبران حجم خون به تزریق مایعات رون عروقی روی آورده باشیم.

افزایش PCV، Hb و RBC دو علت دارد: ۱- پلی سایتمی ۲- کاهش پلاسما

ارتباط بین شاخص های مرکزی RBCها

میزان Hb خون بر حسب $\frac{gr}{dl}$ $\Leftarrow$ حدود ۳ برابر تعداد RBCها در mm^3 بر حسب میلیون ($\frac{gr}{dl}$)

Hb $\neq 3\times$ تعداد RBC $\Leftarrow$ تعداد RBC $= \frac{Hb}{3}$

این قانون نه تنها در حالت طبیعی بلکه در حالت نوموکرومیک بودن RBC صادق است.

۲- میزان Hb خون بر حسب $\frac{gr}{dl}$ حدود $\frac{1}{3}$ درصد هماتوکریت

$$(\frac{gr}{dl})\ Hb \neq \frac{\%PCV}{3}$$

این قانون در کم خونی های ماکرو و میکروسیستیک صادق نمی باشد.

۳- بر حسب mm^3 $RBC\times 9 \neq$ HCT بر حسب میلیون

[1] mean corpuscular thicknes

۴- بر حسب fl $MCH \times 3 \neq MCV$ بر حسب pgr

نکته بسیار مهم: این قوانین فقط در حالت طبیعی و آن هم تا حدودی نه صد در صد صدق می کند.

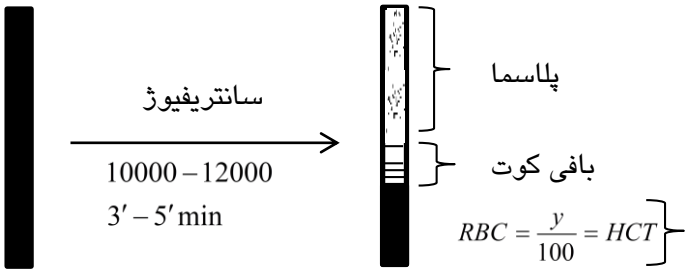
روش اندازه گیری «هماتوکریت HCT = P.C.V»

دارای دو روش دستی: ۱- روش ماکرو (روش وینترب wintrobe) ۲- روش میکرو

در روش دستگاه، خود دستگاه محاسبات را انجام می هد که روش مرجع برای اندازه گیری HCT نیست.

روش دستی: **- روش میکروهماتوکریت**

- روش مرجع جهت اندازه گیری HCT (برای کالیبراسیون سل کانتر با توجه به نتایج دستی)
- در این روش از لوله مویین استفاده می گردد.
- این لوله ها دارای ۷۵ mm طول و قطر داخلی ۱ mm است.
- برای انجام این آزمایش لوله مویین را با خون پر می کنند ($\frac{4}{5}$ لوله)
- محاسبه با خط کش میکروهماتوکریت
- RBC دارای بیشترین چگالی در بین سلول های خونی است.



شکل ۱-۴: اندازه گیری هماتوکریت با روش میکروهماتوکریت

روش ماکرو

توسط لوله هایی با قطر ۲/۵ mm و طول ۱۱۰ mm که دارای درجه بندی از صفر در پایین و ۱۰۰ در بالا می باشد. به کمک پیپت پاستو ۱ ml خون خوب مخلوط شده را در دداخل آن به طوری وارد می سازند که سطح بالایی آن در مقابل عدد ۱۰۰ قرار بگیرد. به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ g الی ۲۳۰۰۰ g سانتر گردد. بلندی ارتفاع یاخته های سرخ را پس از پایان مدت سانتریفیوژ از روی ناحیه مدرج شده لوله به دست آورده و به عنوان حجم یاخته های متراکم شده در مقایسه با کل حجم خون به صورت عدد گزارش می نماییم.

روش میکرو کاربردی تر می‌باشد.

- اگر هماتوکریت فرد ۵۰ < HCT ⟸ زمان سانتریفیوژ را افزایش می دهیم.

- تأخیر در خواندن نتیجه باعث متورم شدن RBCها ⟸ افزایش کاذب HCT می گردد.

روش دستگاهی HCT ⟸ در این روش HCT اندازه گیری نمی شود بلکه توسط فرمول محاسبه می گردد.

فرمول دستگاه: $MCV \times RBC$

اگر هماتوکریت بیمار کمتر از ۵۰٪ است از ضریب اصلاح ۲٪ و در مواقعی که هماتوکریت بیشتر از ۵۰٪ است، علاوه بر اصلاح ضریب ۳٪ مدت سانتریفیوژ را ۵ دقیقه افزایش می‌دهیم.

دقت کنید که وجود لوسمی باعث خطا در مقدار HCT می‌گردد (به دلیل بافی کوت ضخیم) .

منابع خطا در روش دستگاهی

- ❖ دستگاه باید حداقل سالی یک بار کالیبر گردد.

❖ میزان ضد انعقاد: دارا بودن میزان ضد انعقاد ⟸ چروکیدگی RBC ⟸ کاهش کاذب HCT ⟸ و از دست رفتن آب آن ⟸ کاهش کاذب MCV ⟸ خطای ناشی از EDTA ی اضافی منحصر به تست‌های MCV و HCT می‌باشد.

میزان مجاز استفاده از EDTA و CBC

❖ ۱/۲ میلی گرم (تقریباً ۴ میکرومول) برای جلوگیری از انعقاد ۱ میلی لیتر خون

❖ هر عاملی که MCV یا RBC را افزایش دهد به طور کاذب ⟸ HCT به طور کاذب افزایش می‌یابد.

ضد انعقاد مورد استفاده در HCT ، EDTA است.

EDTA ، از نوع k_2 بیشتر کاربرد دارد زیرا که k_3 به دلیل افزایش چروکیدگی RBCها باعث کاهش ۲٪ هموگلوبین می‌گردد.

نگهداری نمونه جهت انجام HCT

- حداکثر ۶ h ساعت در دمای اتاق (RT) - حداکثر ۴ h ساعت در دمای یخچال

نگهداری بیش از حد ⟸ تورم RBC ⟸ MCV ↑ ⟸ HST ↑ کاذب

نکته مهم: لایه بین پلاسما و RBC ها، بافی کوت نام دارد که محل حضور: WBC و PLT می‌باشد.

به طور کلی از خطاهای کاهنده HCT می‌توان به EDTA مایع، EDTA زیاد EDTA نوع k_3 ، Na_2 ، خون شریانی و اکسیژنه، سانتریفوژ طولانی، افزایش قدرت، سرعت و شعاع سانتریفوژ و ESR بالا اشاره نمود و از خطاهای افزاینده HCT نیز می‌توان به سانتریفوژ کوتاه مدت، کاهش قدرت، سرعت و شعاع سانتریفوژ، مکیروسیتوزیس، آنیزوسیتوزیس، اسفروسیتوزیس شدید، لکوسیتوزیس، خون داِکسیژنه و کهنگی نمونه اشاره کرد.

در موارد خیلی حساس با افزودن آلبومین رادیواکتیو به خون، میزان پلاسمای به تله افتاده در بین یاخته‌ها را به کمک روش‌های رادیومتری تعیین می‌نمایند.

روش ماکرو در موارد آنمی بسیار دقیق می‌باشد اما در پلی سایتمی نیاز به ۶۰ دقیقه سانتریفیوژ دارد تا خطای حدود ۳٪ آن جبران گردد.

HCT در آنمی کاهش و در پلی سایتمی ↑ می‌یابد.

تغییرات در هماتوکریت می تواند به صورت نسبی و یا مطلق باشد:

Relative (نسبی) در HCT : ۱- کاهش نسبی HCT ۲- کاهش نسبی HCT

۱- کاهش نسبی HCT

- توده RBC ثابت
- افزایش حجم پلاسما
- مثلاً در:
  - ✓ افزایش پروتئین‌های سرم
  - ✓ در تجویز کرایو (سرم)
  - ✓ در فضانوردان
  - ✓ در ماکروگلوبینمی
  - ✓ خانم‌های باردار

۲- افزایش نسبی HCT

- ❖ توده RBC ثابت
- ❖ حجم پلاسما کاهش یافته
- ❖ **مثلاً در:**
  - ✓ سوختگی
  - ✓ استفاده از داروهای ادرارآور
  - ✓ هر چیزی که باعث از دست رفتن آب بدن گردد
  - ✓ اسهال و استفراغ

تغییرات Absolute (واقعی) HCT

۱- یا کاهش HCT ۲- یا افزایش HCT

۱- کاهش HCT : - توده RBC پایین - بی ارتباط با حجم پلاسما

۲- افزایش HCT: - توده RBC افزایش - بی ارتباط به حجم پلاسما

در درمان با EPO ، زندگی در ارتفاعات، بیماری‌های انسداد ریوی، بیماری‌های میلوپرولیفراتیو (PMF , ET , CML , PV) انواع پلی‌سایتمی‌های ارثی و اکتسابی شاهد افزایش مطلق HCT هستیم.

میزان خطا در HCT مویرگی بیشتر ⇐ سرعت جریان خون در مویرگ کند ⇐ افزایش خروج پلاسما از مویرگ را داریم.

هیپرناترمی یا افزایش سدیم پلاسما با ایجاد اختلاف در فشار اسمزی باعث چروکیدگی و کاهش کاذب هماتوکریت می‌شود و برعکس هیپوناترمی باعث افزایش کاذب آن می‌شود.

در دیابت نیز به دلیل اینکه گلوکز برای ورود به RBC احتیاج به انسولین ندارد و قند داخل سلول نیز به موازات پلاسما افزایش پیدا می‌کند. لذا دیابت در روش هماتوکریت دستی ایجاد اختلال نمی‌کند ولی در روش دستگاهی هر دوی هیپرناترمی و دیابت، RBCهای بیمار در مواجهه با مایع ایزوتون دستگاه دچار اختلاف شیب اسفری شده و مایع ایزوتون را به داخل خود جذب نموده و باعث «پدیده تورم حاد» شده و باعث افزایش کاذب HCT و MCV و ماکروسیتوز کاذب می‌شود.

روش انجام اندازه‌گیری هماتوکریت به روش دستی

لوازم مورد نیاز:

- ✓ نمونه: خون کامل EDTA

- ✓ جالوله ای
- ✓ گاز
- ✓ پنبه
- ✓ خمیر جهت مسدود کردن انتهای لوله
- ✓ لوله میکروهماتوکریت
- ✓ خط کش مخصوص قرائت
- ✓ دستکش های یکبار مصرف

ابتدا نوک انگشت را توسط پنبه آغشته به الکل ضد عفونی می‌کنیم (البته می‌توان از خون وریدی نیز استفاده کرد). بعد توسط یک ضربه لانست نوک انگشت را سوراخ کرده، خون جریان پیدا می‌کند و قطره اول خون را حذف می‌کنیم. لوله موئینه را روی خون نوک انگشت گذاشته تا دو سوم لوله موئینه از خون پرشود حالا طرف دیگر لوله را توسط انگشت نشانه می‌بندیم تا خون از لوله خارج نشود. سپس نوک لوله موئینه را با چند بار فروبردن در داخل خمیر مخصوص هماتوکریت مسدود می‌کنیم.

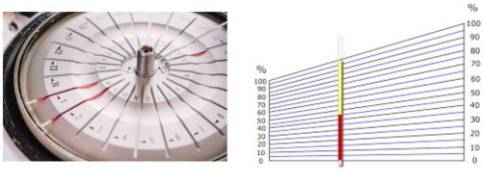
لوله موئینه را در دستگاه سانتریفیوژ طوری قرار می‌دهیم که نوک بسته شده لوله به طرف خارج روی واشر لاستیکی دستگاه و سر باز لوله به‌طرف داخل دستگاه قرار گیرد. صفحه محافظ دستگاه را می‌بندیم و دستگاه را روشن می‌کنیم. سپس تایمردستگاه را برای مدت پنج دقیقه تنظیم می‌کنیم.

وقتی دستگاه کاملاً از حرکت ایستاد، لوله موئینه را از آن خارج می‌کنیم. حالاخون داخل لوله موئینه به سه قسمت تقسیم شده است: ۱- گویچه‌های قرمز متراکم ۲- یک لایه خیلی نازک سفید رنگ به نام بافی کوت که شامل گویچه‌های سفید و پلاکت‌ها است. ۳ - پلاسمای خون

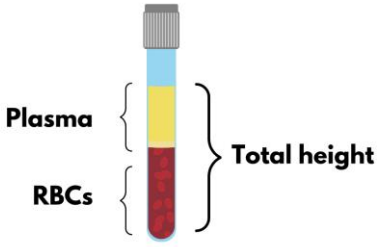
لوله موئینه را روی خط کش مخصوص قرار داده با حرکت لوله روی خط کش وضعیتی را به وجود می‌آوریم که فصل مشترک بین خمیر و خون روی عدد صفر و آخرین

سطح پلاسما روی عدد صد قرار گیرد حالا عددی که طول ستون گویچه‌های قرمز رانشان می‌دهد هماتوکریت شخص می‌باشد.

Direct measurement:



Hematocrit (Hct)



Hct = Height of RBC colum/total height

شکل ۱-۵: بررسی هماتوکریت به روش دستی

جدول ۱-۳: افزایش کاذب و کاهش کاذب پارامتر های CBC

پارامتر خونی	افزایش کاذب	کاهش کاذب
WBC	کرایوگلوبولین کرایوفیبرینوژن هپارین proمونوکلونال NRBC توده شدن پلاکتها RBCلیز نشده شیزونت مالاریا آگلوتیناسیون سرد	لخته شدن سلول اسماجSmudge اورمی همراه با سرکوب کنندههای سیستم ایمنی گذشت بیش از سه روز ازCBC
RBC	کرایوگلوبولین کرایوفیبرینوژن پلاکت غول آسا بالاWBC هایپرلیپمی لکوسیتوز شدید	آگلوتیناسیون خود به خودی لخته شدن همولیز RBCمیکروسیتی سوختگی هموگلوبینH
Hb	کربوکسیHb ۱۰٪ کرایوگلوبولین کرایوفیبرینوژن همولیز داخل عروقی هپارین بالاWBC هیپربیلی روبینمی* لیپمی* پروتئین مونوکلونال*	لخته شدن سولف هموگلوبین آگلوتیناسیون (نه رولو)
Automated HCT[1] ($MCV \times RBC$)	کرایوگلوبولین کرایوفیبرینوژن پلاکتهای غول آسا بالا WBC هایپرگلیسمی >۶۰۰	هایپوناترمی گیر افتادن پلاسما
Microhematocrit	عدم مخلوط کردن کامل نمونه خون خاموش کردن سانتریفیوژ با نگه داشتن دست در نظر گرفتن لایه ی بافی کوت و خواندن آن به اشتباه	زیاد بودن EDTA همولیز هایپرناترمی
MCV	آگلوتیناسیون خود به خودی	کرایوگلوبولین

پارامتر خونی	افزایش کاذب	کاهش کاذب
	WBCبالا هیپرگلیسمی (به دلیل تورم) کاهش تغییر شکل پذیری RBC ماندن خون در دمای اتاق و اورمی	کرایوفیبرینوژن پلاکت غول آسا همولیز میکروسیتیRBC عدم رعایت نسبت خون به EDTA
MCH[۲] $(\frac{Hb}{RBC})$	WBC بالا Hbبالا به صورت کاذب RBC پایین به صورت کاذب	Hb پایین به صورت کاذب RBC بالا به صورت کاذب
MCHC[۳] $(\frac{Hb}{HCT})$	آگلوتیناسیون خود به خودی لخته شدن همولیز افزایش کاذبHb کاهش کاذبHCT	WBC بالا کاهش کاذب Hb افزایش کاذب HCT
PLT	کرایوگلوبولین کرایوفیبرینوژن همولیز RBC میکروسیت	فعال شدن پلاکت ها در طول جمع آوری نمونه خون سودوترومبوسیتوپنی ناشی از آگلوتیناسیون in vitro به دلیل حضور آنتی بادی بر علیه EDTA اگریگیشن پلاکتی پدیده اقماری پلاکت ها آگلوتیناسیون سرد

*: به علت کدورت ۱: MCV * RBC ۲: Hb/RBC ۳: Hb/HCT

جدول ۱-۴: مقادیر نرمال پارامترهای مرتبط با گلبول قرمز در گروه های سنی مختلف مرد و زن

Parameter	Age (yr)	Male reference interval			Female reference interval		
		Lower limit	Upper limit	N†	Lower limit	Upper limit	N†
Hct (%)	3–5	33.0	41.0	752	33.0	41.0	643
	6–8	34.0	43.0	2,571	34.0	43.0	2,033
	9–11	35.4	43.4	4,979	35.4	43.4	3,402
	12–14	36.5	44.0	2,861	36.5	44.0	11,772
	15–99*	38.7	50.0	147,586	33.0	44.0	185,239
Hb (g/L)	3–5	113	142	761	113	142	657
	6–8	118	146	2,630	118	146	2,071
	9–17*	123	163	10,441	116	148	48,514
	18–99*	130	170	235,325	111	148	481,458
Red blood cell count (10^{12}/L)	3–45*	4.4	5.6	98,127	3.8	5.1	98,163
	46–74*	4.1	5.5	56,898	3.7	4.9	100,149
	75–99*	3.4	5.2	4,125	3.1	4.8	5,904
Mean corpuscular volume (fL)	3–5*	77.4	83.8	690	77.0	86.0	651
	6–11*	76.9	87.2	7,367	78.1	89.2	5,346
	12–14*	78.0	89.6	2,829	80.2	91.8	11,721
	15–99	83.3	98.0	123,886	83.3	98.0	180,171
Mean corpuscular hemoglobin (pg/cell)	3–11	25.8	30.0	8,149	25.8	30.0	5,950
	12–14*	26.0	30.7	2,828	26.6	31.0	11,687
	15–99	27.7	33.2	122,788	27.7	33.2	178,120
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/L)	3–99*	323	359	134,824	317	351	198,453
Red blood cell distribution width (%)	3–74	11.9	14.3	78,355	11.9	14.3	161,571
	75–99	12.2	14.7	3,411	12.2	14.7	4,810

جدول ا-۵: مقادیر نرمال پارامترهای مرتبط با گلبول سفید و پلاکت در گروه های سنی مختلف مرد و زن

Parameter	Age (yr)	Male reference interval			Female reference interval		
		Lower limit	Upper limit	N†	Lower limit	Upper limit	N†
White blood cell count (10^9/L)	3–99*	4.0	10.3	158,983	3.5	9.6	204,789
Neutrophils (%)	3–14	32.3	64.1	8,825	32.3	64.1	15,756
	15–99	37.2	70.0	70,455	37.2	70.0	152,115
Lymphocytes (%)	3–5	27.8	64.1	380	27.8	64.1	328
	6–14	26.1	57.5	8,457	26.1	57.5	15,437
	15–99	21.9	52.6	70,602	21.9	52.6	152,258
Monocytes (%)	3–99	3.9	10.0	78,083	3.9	10.0	165,138
Eosinophils (%)	3–99	0.4	7.5	79,644	0.4	7.5	168,201
Basophils (%)	3–11	0.1	1.0	5,855	0.1	1.0	4,509
	12–99	0.1	1.2	73,367	0.1	1.2	164,651
Platelet count (10^9/L)	3–11	216.0	469.0	8,242	216.0	469.0	6,038
	12–99	159.0	367.0	147,837	159.0	367.0	196,419
Platelet distribution width (%)	3–5	7.9	12.3	291	7.9	12.3	253
	6–99	9.2	14.6	81,466	9.2	14.6	170,485
Mean platelet volume (%)	3–99	8.9	11.8	76,364	8.9	11.8	161,003
Plateletcrit (%)	3–11	0.2	0.5	5,878	0.2	0.5	3,955
	12–99	0.2	0.4	69,642	0.2	0.4	155,020

آزمایش سدیمانتاسیون (سدیمان) ESR[1]

ارتفاع پایین رفتن سطح RBC در مدت زمان معین ESR نام دارد.

واحد mm بر ساعت $\frac{mm}{hr}$

مراحل مختلف تست ESR

ا- Single cell phase: ۱۰ دقیقه اول، در افراد سالم سرعت رسوب کم، در افراد مبتلا به مالیپتل میلوما و ماکروگلوبولینمی والدنشتروم و آگلوتینین سرد که از ابتدا دارای مقادیر قابل توجه رولو و آگلوتیناسیون در خون هستند با سرعت بیشتری پیش

[1] Erythrocyte Sedimentation Rate

می‌رود. و در افراد مبتلا به اسفروسیتوزیس و آنمی داسی شکل که کمتر تشکیل رولو می‌دهند این فاز از سرعت کمتری برخوردار است.

۲- Fall of rouleaux: ۴۰ دقیقه ، سرعت رسوب ثابت، قسمت عمده عوامل تأثیرگذار در این مرحله است.

۳- Packing phase : ۱۰ دقیقه انتهایی، سرعت رسوب کاهش می‌یابد.

RBC دارای بار منفی بوده که حدود ۶۰٪ بار منفی غشاء مربوط به گلیکوفورین‌های A و B حاوی اسید سیالیک و ۴۰٪ مربوط به فسفاتیدیل سرین و فسفاتیدیل اینوزیتول در غشاء و اختلاف pH و قدرت یونی بین محیط و سیتوزیل است.

پروتئین‌های فاز حاد که در بیماری‌های التهابی، بدخیمی، حاملگی و عفونت در سرم افزایش پیدا می‌کند به دلیل بار مثبت‌تری که در مقایسه با پروتئین‌های غشایی دارند باعث کاهش بار منفی و پتانسیل زتا شده و امکان نزدیک شدن گلبول قرمز و تشکیل رولو را فراهم می‌کند.

کاهش پتانسیل زتا در حضور اکثر پروتئین‌های پلاسمایی (به جز آلبومین) مشاهده می‌شود.

آلبومین برخلاف پروتئین‌های فاز حاد به دلیل داشتن بیشترین بار منفی باعث القاء بیشتر پتانسیل زتا و کاهش تشکیل رولو می‌شود.

روش مرجع اندازه گیری ESR روش وسترن- گرین است.

روش وسترن گرین

در این روش از لوله وسترن گرین استفاده می‌گردد.

این لوله به طول ۳۰ cm و ظرفیت داخلی آن ۱ ml است. درجه بندی ۲۰۰ mm – ۰ می‌باشد. از سیترات سدیم ۳/۲٪ به عنوان دقیق کننده و ضد انعقاد در آزمایش ESR استفاده می‌گردد.

روش انجام کار؛ ۲ ml خون + ۰/۵ ml سیترات سدیم (دقت $\frac{1}{5}$) نسبت ۱ به ۴ لوله را تا علامت صفر از خون پر نموده و سپس آن را به طور عمود در مکان مناسب (جای لوله) قرار می‌دهیم.

مکان می‌بایست: ۱- ثابت و بدون ارتعاش ۲- در دمای اتاق (RT) ۳- بدون مجاورت مستقیم با نور

یک ساعت بعد فاصله بین عدد ۰ تا ابتدای ستون RBC را بر حسب mm یادداشت می‌کنیم که ESR است.

در روش وسترن گرین اصلاح شده، همان روش قبلی اما:

۲ ml خون EDTA دار را با ۰/۵ ml سیترات سدیم به نسبت ۱ به ۴رقیق می کنیم.

- **روش وینتروب**، در این روش از خون EDTA دار یا اگزالات، بدون رقیق سازی استفاده می‌شود. از همان لوله‌های ماکروهماتوکریت استفاده می‌شود.
- **روش میکرو (m – ESR)** به دلیل مصرف ۲۰۰ لاندا خون، بیشترین کاربرد را در بین کودکان دارد.

عواملی که باعث خطا در ESR می‌گردد

۱- ضد انعقاد: هپارین ⇐ تغییر در پتانسیل زتا و تشکیل رولو ⇐ اختلال در ESR

فردی که از داروی هپارین استفاده می‌کند ⇐ باعث افزایش ESR می‌گردد.

۲- وجود همولیز باعث افزایش ESR ، حباب، یا هر ماده دیگر در لوله

۳- کج قرار دادن لوله ⇐ ۳ درجه کجی ⇐ افزایش ۳۰٪ ESR

۴- مدت زمان نگهداری نمونه (مدت مجاز) در دمای اتاق تا ۲ h پس از نمونه‌گیری و در یخچال تا ۱۲ h پس از نمونه‌گیری.

نکته: افزایش زمان نگهداری باعث افزایش کاذب ESR می‌شود.

اگر نمونه در یخچال بوده است ابتدا به دمای اتاق رسانده و خوب سر و ته گردد.

ESR توسط دستگاه Ves – MATC 20 بررسی می گردد که این دستگاه دارای جایگاهی برای محاسبه اتوماتیک ۲۰ نمونه می باشد که ESR ۱ ساعته را طی ۲۵ دقیقه و ESR ۲ ساعته را طی ۴۵ دقیقه خوانش می کند.

رنج نرمال ESR

- زیر ۵۰ سال
  - مرد ۱۵ – ۰
  - زن ۲۰ – ۰
- ۵۰ – ۸۵ سال
  - مرد ۲۰ – ۰
  - زن ۳۰ – ۰
- بالای ۸۵ سال
  - مرد ۳۰ – ۰
  - زن ۴۲ – ۰

نکته: سن ↑ ⇐ ESR ↑ زن ESR > مرد ESR (به دلیل آندروژن‌ها)

عوامل تأثیرگذار بر ESR

۱- عوامل پلاسمایی ۲- عوامل مربوط به RBC

۱- عوامل پلاسمایی

مهمترین اندیکس مقادیر پروتئین‌های پلاسما است.

- هر چه pro بیشتر ⇐ ESR ↑

مهمترین pro ها

- ✓ فیرینوژن (فاکتور I انعقادی)
- ✓ CRP
- ✓ اجزاء سیستم کمپلمان
- ✓ پلاسمینوژن
- ✓ فاکتور ۸ انعقادی

- ✓ کالیکوئین
- ✓ α_1 آنتی تریپسین ⇐ پروتئین‌های مهارکننده
- ✓ α_1 اسید گلیکوپروتئین ⇐ پروتئین سیستم ایمنی
- ✓ α_1 آنتی کیموتریپسین
- ✓ پروتئین‌های پاکسازی کننده ⇐ هاپتوگلوبین
- ✓ سروپلاسمین

در خون دِفیبرینه شده ⇐ ESR ↓

- ❖ **Alb (آلبومین) پروتئینی که باعث کاهش ESR می‌گردد.**
- ❖ **لیستین (فسفاتیدیل کولین) سبب کاهش ESR می‌گردد.**
- ❖ **حاملگی با افزایش ESR همراه می باشد.**

اختلالات همراه با افزایش مقادیر pro پلاسمایی همچون مالپتیل میلوما/ ماکروگلوبولینمی والدن اشترون و ... باعث افزایش ESR می‌گردد.

امروزه به طور روزافزون آزمایش تعیین ویسکوزیته پلاسما جای ESR را در کشورهای پیشرفته می‌گیرد.

- ➢ ویسکوزیته پلاسما کمتر تحت تأثیر نوسانات بین فردی است.
- ➢ عواملی چون جنس، سن، حاملگی بر روی نتیجه تأثیر ندارد.
- ➢ تحت تأثیر پلی سایتمی، آنمی، موروفولوژی RBCها نیست.
- ➢ سریع‌تر و آسان‌تر استاندارد می‌گردد.
- ➢ از نمونه نگهداری شده نیز در آن استفاده می‌گردد.

در صورتی که زیادی pro پلاسمایی موجب افزایش شاخص ویسکوزیته پلاسما شود، نتیجه آزمایش ESR دارای کاهش نسبی کاذبی به نسبت آزمایش تعیین ویسکوزیته پلاسما خواهد بود.

۲- عوامل مربوط به RBC

وجود اشکال غیرطبیعی RBC = پویکوسیتوز باعث کاهش ESR می‌شود.

- تعداد RBC دارای نسبت عکس با ESR ⇐ کم خونی ⇐ افزایش ESR

- در دوران بارداری، حجم پلاسما افزایش می‌یابد و کم خونی بروز می‌کند که این دو باعث افزایش ESR می‌شود.

- حجم RBC نسبت عکس با ESR ندارد بلکه نسبت آن مستقیم است.
- سطح RBC نسبت عکس با ESR دارد.

حجم RBC (MCV)

- ✓ میکروسیتوز باعث کاهش ESR می‌شود.
- ✓ ماکروسیتوز باعث افزایش ESR می‌شود.

روش استاندارد و پیشنهاد شده توسط ICSH

در این روش از نمونه CBC استفاده می‌شود (بدون رقیق کردن با سیترات سدیم) استفاده می‌شود. با این تفاوت که به علت عدم رقیق نمودن خون با سیترات سدیم (تری) نتیجه را به ترتیب زیر اصلاح می کنند:

$$\text{Corrected ESR (mm in 1 h)} = (\text{undiluted ESR} \times 0/86) - 12$$

تعیین ویسکوزیته پلاسما

۱- ویسکوزیته چرخشی که در آن ها فشار ریزش پلاسما در سرعت‌ها مختلف اندازه-گیری می‌شود.

۲- ویسکوزیته دارای توپ غلطان که در آن سرعت چرخش توپ کوچک فلزی در محفظه‌ای مملو از پلاسما اندازه گیری می شود.

۳- ویسکوزیته مویینه که در سرعت حرکت پلاسما در لوله های مویینه با طول و قطر مشخص تحت فشار یکسان و دمای ثابت با آب مقطر مقایسه شده و نتیجه به صورت ویسکوزیته پلاسما در مقابل آب مقطر گزارش می گردد.

این روش نیازمند ۰/۴ الی ۰/۵ میلی متر پلاسما که از خون حاوی EDTA تهیه می‌گردد.

توصیه می شود در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انجام گیرد.

- در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد رنج نرمال ۱/۳۳- ۱/۱۶ mpa/s (میانگین رنج نرمال ۱/۲۴ mpa/s)

نکته: ویسکوزیته نوزادان پایین است.

کاربرد ESR

- مقادیر ESR در التهاب، عفونت، بیماری ها، بدخیمی ها و ... افزایش می یابد.
- آزمایش غیراختصاصی جهت تشخیص التهاب، عفونت و ...
- ESR در گاماپاتی های مونوکلونال:
  - ✓ مالتیپل میلوما
  - ✓ مکروگلوبولینمی والدن- اشترون
  - ✓ بسیار افزایش می یابد حتی به ۱۰۰ هم می‌رسد.

کاربردهای جدید ESR

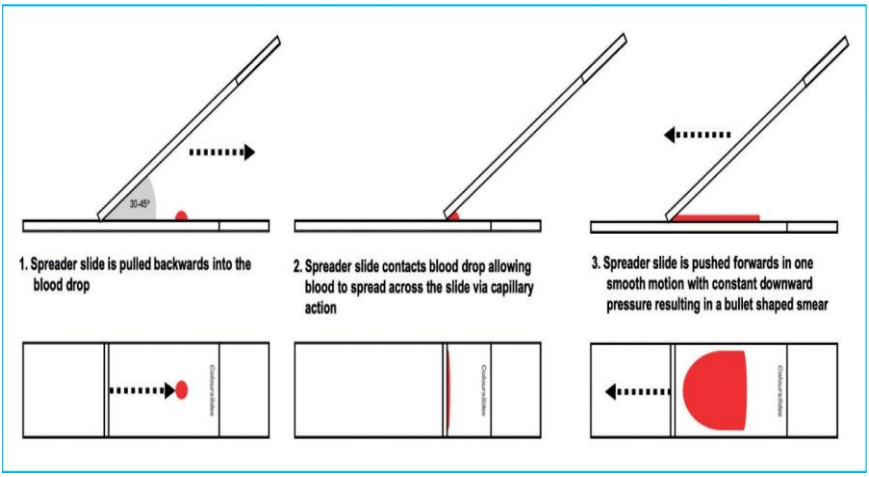
- مقادیر آن یک هفته مانده به شروع بحران‌های دردناک در آنمی داسی شکل افزایش می‌یابد.
- در استئومیلیت بالا و نتایج آن در پیگیری درمان ضروری است.
- ESR بالای بیش از ۲۷ mm/hr در افراد دچار سکته دارای پیش آگهی بد است.

- ESR بالای ۲۲ mm/hr موجب می شود بیماری قلبی عروقی در مردان سفید پوست را افزایش یابد.
- از نتایج آن برای پیش آگهی لنفوم هوچکین استفاده می شود.
- ESR در ۷۰٪ افراد دچار کارسینومای سلول کلیوی بالاست.
- در سرطان ESR بالای ۸۰۰ است و نشان دهنده متاستاز است.
  - ✓ اگر در ESR بالا به نئوپلاسم یا التهاب مشکوک شدیم، می توان نمونه خون را به مدت ۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه کرد و مجدداً تست را تکرار کرد. کاهش محسوس ESR باعث تشخیص بیماری های التهابی می شود و در نئوپلاسم ESR اصلاح نمی شود.
- ESR در کارسینومی کبدی و سیروز صفراوی افزایش دارد.
- در خون کهنه به دلیل پوئیکیلوسیتوز و اسفروسیتوز کاذب و کاهش تشکیل رولو، ESR کاهش کاذب دارد.

به طور کلی می توان گفت، عوامل افزاینده ESR شامل: آنمی، حاملگی، سن بالا، جنس مؤنث، ماکروسیتوز، افزایش کلسترول خون، هپارین تراپی یا ضد انعقاد، هپارین، دمای بالا، همولیز، التهاب، عفونت، بدخیمی، مالیتپل میلوما، ماکروگلوبولینمی والدنشتروم، آرتریت روماتوئید، بیماری های کلیوی و SLE می باشند و از عوامل کاهنده ESR می توان به لکوسیتوز شدید (مثل eLL)، پلی سایتمی، اسفروسیتوز، آکانتوسیتوز، میکروسیتوز، آنمی داسی شکل، Hb – C ، خون کهنه، افزایش آلبومین، لستین و اسید چرب، سرما، لخته های ریز، DIC ، افزایش ویسکوزیته خون، لرزش طی انجام تست، هیپوگاما گلوبولینمی، تزریق آسپرین و کوریتزون اشاره کرد.

روش تهیه اسمیر خون محیطی

گسترش خون محیطی به سه روش گوه ای، لامل (Cover Glass) و روش چرخاننده (spinner) تهیه می‌شود که روش مرسوم در آزمایشگاه روش گوه ای است که در ادامه روش انجام آن شرح داده شده است. ابتدا با لوله موئین از خونی که قبلاً تهیه کرده‌ایم برمی‌داریم و سپس اولین قطره خارج شده از لوله موئین را به بیرون می‌ریزیم. بعداً قطره خون دومی را طوری در انتهای اسلاید می‌چکانیم که فاصله‌ای در حدود یک سانتیمتر با لبه اسلایدها باقی ماند.

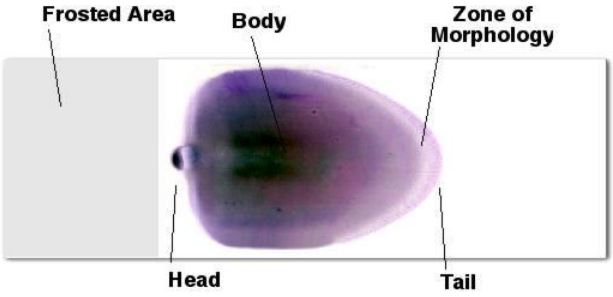


شکل ۱-۶: تهیه اسمیر خون محیطی

در ادامه اسلاید یا لام خود را در یک سطح صاف قرار می‌دهیم و با انگشت شست و اشاره لام دوم را نگه دارید و با زاویه ۴۵ درجه‌ای (در بعضی منابع ۳۰ درجه) لام اولی قرار می‌دهیم تا گسترش نازک و یکنواختی را ایجاد کنیم. برای این کار ما لام دومی را به قطره خون نزدیک می‌کنیم (لام دومی جلوتر از قطره خون قرار دارد) سپس به خون اجازه می‌دهیم که در طول عرض لام دوم پخش شود. بعداً در همان شرایط و همان زاویه اسلاید دوم را در روی اسلاید اول به آهستگی و بدون فشار به سمت چپ (راست در افراد چپ دست) حرکت می‌دهیم مواظب باشید که گسترش به لبه‌های اسلاید نرسد و مانند مرحله اول ۱ سانتیمتر را با لبه‌ها فاصله بگذارید. مهم‌ترین بخش در تهیه اسمیر زاویه‌ای است که بین دو لام قرار دارد چون اگر زاویه

بیشتر از ۴۵ درجه باشد گسترش ما ضخیم‌تر خواهد شد و اگر کمتر از ۴۵ درجه باشد گسترش نازک‌تر خواهد شد بنابراین سعی کنید که در طول تهیه اسمیر همان زاویه ۴۵ درجه را حفظ کنید تا به یک گسترش استاندارد دست یابید. در یک گسترش استاندارد میزان غلظت سلول‌ها در ابتدای اسمیر دو برابر سلول‌ها در انتهای اسیمر است.

بعد از اینکه گسترش خشک شد با استفاده از مداد مشخصات بیمار را در قسمت ضخیم‌تر گسترش نازک می‌نویسیم.



شکل ۱-۷: نواحی مختلف گستره خون محیطی

نکات: در ناحیه Body بیشتر لنفوسیت ومونوسیت دیده می‌شود و در ناحیه tail بیشتر نوتروفیل دیده می شود.

بهترین ناحیه برای دیف زدن SubFederian می‌باشد که در این ناحیه گلبول‌های قرمز در کنار هم قرارگرفته و روی هم افتادگی ندارند.

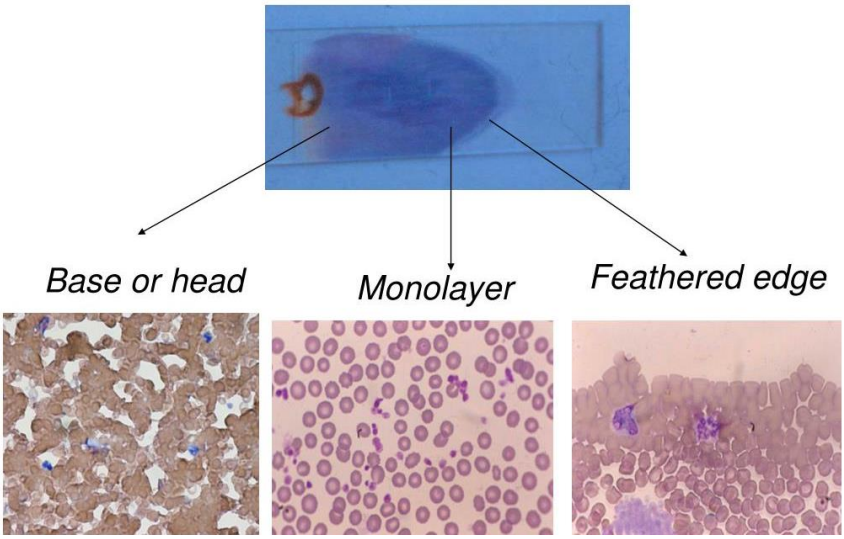
ارزیابی و مطالعه‌ی گستره خون محیطی

در هنگام مطالعه گستره خون محیطی، نخست باید اطلاعات برگه CBC را با اطلاعات برچسب شده بر روی اسلاید بیمار، مطابقت داد و سن و جنس بیمار را در تفسیر پارامترها، مدنظر داشت. برای مثال نباید برای نوزاد مورفولوژی ماکروسیت گزارش کرد، چون مقدار طبیعی MCV نوزاد 104-120 fL می‌باشد. همچنین به علت کم

کاری فیزیولوژیک طحال، مشاهده هاول ژولی و تعدادی تارگت سل و آکانتوسیت در خون محیطی نوزاد، طبیعی است. گستره خون محیطی ابتدا باید به‌صورت میکروسکوپی بررسی شود تا از شیوه‌ی پخش شدن خون بر روی گستره، تکنیک صحیح رنگ‌آمیزی و از نظر وجود هرگونه ذرات غیرطبیعی که ممکن است نشانه ذرات لخته و یا تجمع پلاکت‌ها و یا رسوب کرایوگلوبولین یا تجمع سلول‌های توموری باشد، بررسی شود. گستره خون محیطی دارای بخش‌های مختلف سر۱، دُم۲، بدنه۳، ناحیه‌ی شیاری یا پر مانند۴ و ناحیه‌ی مورفولوژی۵ می‌باشد.

شمارش افتراقی را می‌توان با حرکت زیگزاگی در ناحیه‌ی Zone of morphology انجام داد. ناحیه‌ی Zone of morphology که پشت قسمت شیاری است، ناحیه‌ای تک لایه از گلبول‌های قرمز در کنار هم شبیه سنگ‌فرش موزاییک، بدون هم‌پوشانی و بدون فاصله‌های نامتناسب است. در این ناحیه، شمارش افتراقی و تخمین گلبول‌های سفید و پلاکت و مورفولوژی گلبول‌های قرمز، آنالیز می‌شود.

1 Head
2 Tail
3 Body
4 Featherian
5 Zone of morphology



شکل ا-۸: قسمت های عمده یک اسمیر خون محیطی

منطقه ی diff همان منطقه monolayer می باشد.

شمارش افتراقی و بررسی مورفولوژی را باید در ناحیه ی monolayer انجام داد. گلبول های قرمز در قسمت شیاری، هاله مرکزی ندارند و ممکن است به اشتباه گزارش مورفولوژی اسفروسیت داده شود. لنفوسیت ها نیز در این ناحیه بزرگتر از اندازه ی طبیعی بوده و ممکن است به عنوان لنفوسیت های آتیپیک گزارش شوند.

ویژگی‌های یک گسترش خونی

تهیه یک گسترش خونی استاندارد و اصولی نخستین قدم در تشخیص سلول‌های خونی طبیعی از غیرطبیعی و حکم در خصوص آن‌هاست و یک گسترش خونی نادرست باعث اشکال در تشخیص سلول‌های خونی می‌شود.

- گسترش خونی دوسوم (۲/۳) سطح لام را اشغال کند-گسترش خونی کوتاه ارزش پائینی دارد.
- گسترش خونی از ابتدا وانتهای لام فاصله داشته باشد.
- گسترش خونی مطلوب دارای مناطق ضخیم متوسط و نازک می‌باشد.

- انتهای گسترش خونی شعله شمعی باشد، انتهای گسترش‌های خونی ناصاف، کج و نوک تیز بی‌ارزش تلقی می‌شود.
- یک گسترش خونی خوب دارای دو حاشیه دردو سمت لام دارد.
- اگر قسمت انتهایی گسترشی که خوب تهیه شده است گلبولهای قرمز به میزان ناچیزی روی هم، همپوشانی داشته و هر چه به انتهای گسترش نزدیک می شویم از این حالت کاسته می شود.
- اگر گسترش خیلی نازک تهیه شود و یا اگر لبه های لام پخش کننده زبر باشد اسمیر دارای دنباله های دندانه داری خواهد بود که مملو از لکوسیت است.

علل ایجاد آرتیفکت درلامهاي رنگ‌آمیزی شده

علت‌های ایجاد آرتیفکت در لام های رنگ‌آمیزی شده جهت شمارش افتراقی

الف) در موقع نمونه‌گیری

- بستن طولانی‌مدت تورنیکت باعث افزایش پارامترهای خونی[1] می‌شود. حداکثر مدت بسته بودن تورنیکت یک دقیقه است.
- کشیدن سریع خون در سرنگ باعث لیز گلبول‌های قرمز می‌شود.
- اگر اندازه نیدل سرنگ نامناسب باشد، باعث تغییر فرم گلبول‌ها می‌شود.
- انتقال خون به لوله با فشار باعث تغییر فرم گلبول‌ها می‌شود.
- نیدل باید از سرنگ جدا شود و خون به آرامی به جدار داخل لوله وارد شود و به آرامی با ماده ضد انعقاد مخلوط گردد.
- اگر لوله به مقدار بسیار کمی دترژنت آلوده باشد یا لوله خشک نباشد خون همولیز می‌شود.
- خون‌گیری از برانول بیماری که سرم دریافت می‌کند، از علل ایجاد آرتیفکت در لام است.

[1] Hemoconcentration

ب) ماده ضد انعقاد

- انتخاب ماده ضد انعقاد مناسب (ماده ضد انعقاد برای آزمایش CBC، EDTA است).
- مقدار کم ماده ضد انعقاد سبب ایجاد ذرات لخته و خطا در تست می‌شود.
- مقدار زیاد ماده ضد انعقاد باعث چروکیدگی و تغییر درشکل گلبول‌های قرمز را درپی دارد.
- مقدار زیاد ماده ضد انعقاد باعث کاهش حجم متوسط گلبول‌های قرمز می‌شود. در اصل کاهش MCV را درپی دارد.
- براثر ماندن خون بر روی ماده ضد انعقاد EDTA تغییراتی درشکل گلبول‌ها ایجاد می‌شود.

پ) زمان

تأخیر درفیکس کردن باعث تغییر شکل و تغییر اندازه گلبول‌ها می‌شود.

ج) رنگ‌آمیزی

- باز ماندن درب ظرف رنگ باعث تغییر PH رنگ می‌شود.
- اگر رنگ را صاف نکنیم رسوبات رنگ باعث مشکل می‌شود.
- خشک شدن رنگ بر روی لام در طی رنگ‌آمیزی
- شستن ناکافی لام بعد از پایان مرحله رنگ‌آمیزی

د) فوت کردن

قبل از فیکس کردن فوت کردن برای خشک کردن یا استفاده از پنکه با دور بالا باعث تجمع هموگلوبین در وسط گلبول‌های قرمز و ایجاد تارگت سل درروی لام می‌شود.

رنگ‌آمیزی اسمیر خون محیطی

به افتخار آقای رومانوسکی[1] ، رنگ رایت (wrigth-stian)، رنگ گیمسا (GIMSA- Stain)، Jenner،Leishman، Macneal و May-Grunwald بنام رنگ‌های رومانوسکی نام‌گذاری شدند.

۱) رنگ‌آمیزی گیمسا[2]

این رنگ حاوی دو رنگینه است. ۱- رنگینه های اسیدی مثل ائوزین. ۲- رنگینه های بازی یا قلیائی مثل متیلن بلو (آبی متیلن) میباشد. اجزا و ساختمان های اسیدی سلول ها، رنگ های قلیائی را می پذیرند. لذا این ساختمان ها را بازوفیلیک (قلیا دوست) یا دوستار مواد بازی گویند، مثل هسته سلول که در این رنگ آمیزی آبی رنگ میشود. اجزا و ساختمان هایی که فقط رنگینه های اسیدی را به خود راه می دهند اسیدوفیلیک (اسید دوست) یا ائوزینوفیلیک (ائوزین دوست) می نامند. این اجزا که در سیتوپلاسم بعضی سلول ها قرار دارند با این رنگ آمیزی رنگ نارنجی می شوند.

توجه: اجزا و ساختمان هائی که ترکیبی از دو رنگینه هم رنگینه اسیدی هم رنگینه بازی را به خود راه میدهند نوتروفیلیک (خنثی دوست) می نامند.

روش تهیه محلول گیمسا

۰/۵ تا ۰/۶ گرم از پودر گیمسا را در هاون کاملاً می سائیم. ۲۵ml گلیسرین که تا ۵۵ یا ۶۰ درجه سانتی گراد گرم شده است به آن می افزائیم و تا ۲ ساعت آن را کاملاً حل می‌کنیم و 50 ml الکل متیلیک خالص روی آن می‌ریزیم و رنگ را با کاغذ صافی، صاف می‌کنیم و در شیشه قهوه‌ای نگهداری می‌کنیم. در ضمن می‌توان از رنگ‌های آماده که به‌صورت تجاری عرضه می‌شوند استفاده نمود. برای استفاده روزانه می‌توان رنگ را به میزان دلخواه رقیق و استفاده کرد. به‌عنوان مثال رنگ را ۱:۱۰ رقیق کرده و به مدت ۱۵ دقیقه روی لام ریخته و سپس با آب جاری آن را شسته و

[1] Romanowsky
[2] Giemsa or Azor-Eosin-Methlenblue

خشک می‌کنیم. در این روش سیتوپلاسم لنفوسیت و منوسیت به رنگ آبی و سیتوپلاسم گرانولوسیت ها به رنگ صورتی مایل به ارغوانی درمی‌آید.

لازم به ذکر است که برای اخذ نتیجه مناسب بایستی بر اساس دستورات کارخانه سازنده رنگ عمل نموده و زمان مناسب در نظر گرفته شود. در موارد اورژانس می‌توان رنگ خالص را روی لام ریخته و ۳ تا ۵ دقیقه صبر کرد. پس از خشک شدن لام ها، سلول‌های خون را به کمک روغن ایمرسیون و یا روغن سدر زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده کنید.

نکات قابل توجه در رنگ آمیزی گیمسا

- جهت رقیق کردن رنگ گیمسا از بافر استفاده کنید ، در صورتیکه بافر در دسترس شما نیست می توانید از آب شیر استفاده کنید ولی هیچ گاه از آب مقطر استفاده نکنید.
- مدت زمان رنگ آمیزی برای بررسی لام خون محیطی از نظر انگل ملاریا ۳۰ تا ۴۵ دقیقه می باشد اگر زمان رنگ آمیزی بیشتر از ۴۵ دقیقه شود تشخیص انگل مشکل خواهد شد.
- محلول گیمسای آماده شده فقط یک روز قابل استفاده می باشد.
- قبل از اینکه سبد لام ها را داخل محلول گیمسا بگذارید جلای فلزی روی محلول را با استفاده از کاغذ صافی بردارید.
- اگر تعداد لام ها کم است می توانید لام را بر روی پایه رنگ آمیزی قرار داده ومحلول گیمسا را بر روی آن بریزید در این صورت بعد از اتمام زمان رنگ آمیزی با استفاده از یک بشر به آرامی مقداری آب از یک گوشه بر روی لام بریزید تا لام شسته شود.

۲) رنگ‌آمیزی رایت

این رنگ دارای رنگینه های اسیدی مثل ائوزین و رنگینه های بازی یا قلیائی مثل متیلن بلو (آبی متیلن) می‌باشد. اجزا و ساختمان‌های اسیدی سلول‌ها رنگ‌های قلیائی را می‌پذیرند لذا این ساختمان‌ها را بازوفیلیک (قلیادوست) دوست دار مواد بازی گویند. مثل هسته سلول که در این رنگ‌آمیزی آبی رنگ می‌شود.

روش تهیه محلول رایت

مواد لازم: پودر رایت ۰/۳ گرم و متانول ۱۰۰ میلی‌لیتر

طرز تهیه: محلولی که از مواد فوق به دست میاید محلول ذخیره است که باید یک تا دو روز در دمای آزمایشگاه بماند و پس از صاف شدن درون شیشه‌ی تیره‌رنگ در سمباده‌ای نگهداری شود. این محلول موقع استفاده رقیق نمی‌شود و مستقیماً روی لام ریخته می‌شود.

رنگ‌آمیزی با محلول رنگی رایت

سطح لام های گسترده را پس از خشک شدن به مدت ۵ دقیقه با مقداری از محلول رنگی رایت بپوشانید.

به میزان ۲ برابر حجم رنگ مورداستفاده، بافر فسفات رقیق (با PHحدود ۶/۵) روی لام بریزید با رنگ موجود روی لام رقیق شود.

رنگ رقیق‌شده را به مدت ۱۰ دقیقه روی لام نگه دارید و سپس دور بریزید.

لام را با آب شیر بشویید تا رنگ لام صورتی شود.

پس از خشک شدن لام ها، سلول‌های خون را به کمک روغن ایمرسیون و یا روغن سدر زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده کنید.

۳) رنگ‌آمیزی های گرون والد – گیمسا[1]

[1] May-Grunwald-Giemsa stain

به آن رنگ‌آمیزی پاپن هایمر pappenheim نیز گفته می‌شود. برای تهیه ۲ تا ۳ گرم از پودرهای گرون والد را در هاون کاملاً می‌ساییم و ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص را کم‌کم به پودر اضافه می‌کنیم تا پودر کاملاً حل شود و از صافی گذرانیده و رنگ‌آمیزی می‌نماییم.

روش کار

۱) پس از خشک شدن گسترش، برای فیکساسیون نمونه ۱ تا ۲ میلی‌لیتر رنگ مای گرون والد روی فروتی می‌ریزیم و ۳ تا ۵ دقیقه صبر می‌کنیم.
۲) به‌طور مساوی رنگ اضافه‌شده، آب مقطر روی رنگ اضافه و ۵ تا ۷ دقیقه صبر می‌کنیم.
۳) رنگ را خالی کرده و لام را با آب جاری می‌شوییم.
۴) محلول ۱۰ درصد گیمسا تهیه و روی لام ریخته و ۱۵ دقیقه صبر می‌نماییم.
۵) لام را شسته و پس از خشک شدن با عدسی ایمرسیون بررسی می‌کنیم.

تفسیر

این رنگ‌آمیزی برای گرانول‌ها مناسب است. رنگ سیتوپلاسم سلول‌ها آبی کمرنگ تا تیره و رنگ سیتوپلاسم ائوزینوفیل ها قرمزرنگ و پلی کروماتوفیل ها خاکستری می‌باشند.

گرانول‌های نوتروفیل ها صورتی کمرنگ، ائوزینوفیل ها نارنجی و بازوفیل‌ها بنفش تیره و گرانول‌های اولیه یا آزروفیل ارغوانی یا بنفش‌رنگ می‌گیرند.

٤) رنگ‌آمیزی رایت گیمسا[1]

[1] Wright Giemsa

روش تهیه رنگ

پودر رایت ۹ گرم + پودر گیمسا ۱ گرم + گلیسیرین خالص ۹ میلی‌لیتر + ۲۹۱ میلی‌لیتر متانول. سپس رنگ را یک هفته در بن ماری ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و هرروز ۵ دقیقه تکان داده می‌شود و سپس از صافی گذرانده و در شیشه قهوه‌ای دردار نگهداری می‌کنند.

ب- بافر فسفات با PH ۴/۶

فسفات منوبازیک KH_2PO_4 ۶۳/۶ گرم

فسفات دی بازیک Na_2HPO_4 ۵۶/۲ گرم

روش کار

۱) گسترش خشک و با متانول فیکس شود.
۲) رنگ روی لام ریخته شده و ۳ دقیقه صبر می‌کنیم.
۳) به مقدار مساوی رنگ ریخته شده، بافر اضافه و با فوت کردن رنگ و بافر مخلوط شود تا یک لایه سبز بر روی گسترش نمایان شود و ۱۰ دقیقه صبر می‌کنیم.
۴) لام را با آب جاری یا آب مقطر شسته و خشک می‌کنیم و با عدسی ایمرسیون بررسی می‌شود.

تفسیر

گلبول‌های قرمز به رنگ کمرنگ و هسته گلبول‌های سفید، آبی ارغوانی و دانه‌های نوتروفیل بنفش کمرنگ و ائوزینوفیل، قرمز روشن می‌باشند.

ویژگی‌های گسترشی که با رنگ رایت-گیمسا به خوبی رنگ آمیزی شده:

گسترشی که با رنگ رایت-گیمسا به خوبی رنگ امیزی شده باشد در هنگام بررسی با چشم غیر مسلح به رنگ صورتی خواهد بود. در بزرگنمایی کم میکروسکوپ، سلولها باید یکنواخت توزیع شده باشند. گلبول های قرمز به رنگ صورتی هستند، نه به رنگ

لیمویی یا قرمز. رسوب رنگ در گسترش باید در کمترین حد باشد. رنگ گسترش می بایست یکنواخت باشد. سلولهای خون باید عاری از هرگونه ارتیفکت نظیر واکوئل باشند. هسته لکوسیتها به رنگ اغوانی و کروماتین و پاراکروماتین آن به وضوح از هم جدا می باشند و گرانولهای نوتروفیلیک سیتوپلاسمی، رنگ قهوه ای مایل به زرد (برنزه)دارند. گرانولهای ائوزینوفیلیک، قرمز مایل به نارنجی هستند و هر کدام از آنها به وضوح قابل تشخیص می باشند. سلول بازوفیل گرانولهای ارغوانی تیره دارد. پلاکتها گرانولهای بنفش تیره دارند و باکتری ها (در صورت وجود) آبی رنگ می باشند. سیتوپلاسم لنفوسیتها معمولا به رنگ آبی روشن و سیتوپلاسم منوسیتها دارای ته رنگ آبی- خاکستری است. انگل های مالاریایی سیتوپلاسمی به رنگ آبی آسمانی دارند و کروماتین آنها قرمز-ارغوانی می باشد.

محدودیت ها و عوامل مداخله گر

۱. آبی رنگ شدن بیش از اندازه

در این صورت RBC ظاهر آبی یا سبز دارد. کروماتین هسته گلبولهای سفید یا NRBC آبی تیره تا سیاه رنگ است و گرانولهای نوتروفیل شدیداً رنگ اضافی میگیرند و بزرگ و برجسته به نظر می آیند و گرانولهای ائوزینوفیل آبی یا خاکستری میباشند. علت:

الف- گسترش ضخیم

ب- افزایش مدت زمان رنگ آمیزی

ج- شستن ناکافی

د- قلیایی بودن زیاد رنگ یا محلول رقیق کننده

راه رفع این مشکل:

الف- کم کردن مدت رنگ با استفاده از رنگ کمتر و رقیق کننده بیشتر

ب- احتمال دارد آب بیش از حد قلیایی باشد بنابراین اگر با راه حل اول مشکل حل نشد باید بافر با PH کمتر تهیه شود.

۲. صورتی شدن بیش از اندازه

در این صورت RBC ها قرمز یا نارنجی رنگ شده و کروماتین هسته آبی کمرنگ می باشد. گرانولهای ائوزینوفیل قرمز درخشان است .

علت:

الف- رنگ آمیزی ناقص

ب- طولانی بودن مدت شستشو

ج- اسیدی بودن آب یا بافر

۳. رسوب روی گسترش

علت:

الف- لام های کثیف

ب- خشک شدن اسمیر در طول دوره رنگ آمیزی

ج- شستشوی ناکافی در انتهای رنگ آمیزی

د- صاف نکردن کافی رنگ

ه- نشستن غبار روی لام یا گسترش

۵) رنگ‌آمیزی سودان بلک B یا SSB

برای رنگ‌آمیزی لیپید بکار می‌رود و سبب رنگ‌آمیزی گرانول‌های نوتروفیل می‌شود. واکنش مثبت در گرانول‌های آزروفیلیک نوتروفیل ها و منوسیت‌ها و گرانول‌های

اختصاصی ائوزینوفیل ها دیده می‌شود. واکنش پراکسیداز و سودان بلک در سلول های میلوئیدی نارس و رسیده مثبت بوده و برای تشخیص افتراقی لوسمی میلوسیتی حاد از لوسمی لنفوسیتی حاد بکار می رود. لنفوبلاست و میلوبلاست، لنفوسیت و مگاکاریوسیت در این رنگ آمیزی منفی هستند.

معرف ها

سودان بلک B: ۳/۰ گرم سودان بلک را در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درجه حل کنید.

محلول بافر

الف) ۱۶ گرم از فنل کریستاله را در ۳۰ ml اتانول ۹۶ درجه حل کنید.

ب) ۰/۳ گرم از فسفات دی سدیک (همراه با ۱۲ مولکول آب H2O ۱۲ + Na2HPO4) را در ۱۰۰ ml آب مقطر حل کنید. بروی فنل-اتانول (محلول الف) بریزید.

محلول کار

۶ ml محلول سودان بلک را با ۴۰ ml از بافر مخلوط و رنگ را صاف و در یخچال نگهداری کنید (تا ۳ ماه پایدار است).

روش آزمایش

لام های خشک شده را ۵ الی ۱۰ دقیقه در معرض بخار فرمالین – الکل (۱۰ ml فرمالدئید ۳۷٪ + ۹۰ ml اتانول خالص) قرار دهید و سپس با آب مقطر شسته و خشک کنید. لام ها را یک ساعت در محلول رنگ کار قرار دهید.

با اتانول ۷۰٪ بشویید. سپس با محلول گیمسای ۴٪ به مدت ۴۰ دقیقه رنگ کنید و با آب مقطر شسته، پس از خشک شدن مورد مطالعه قرار دهید.

٦) رنگ آمیزی میلوپروکسیداز(MPO)

میلوپراکسیداز یک آنزیم است که در گرانول های اولیه و ثانویه در رده های میلوئیدی وجود دارد. برای تشخیص رده ی میلوئید از رده ی لنفوئیدی اگر سلولی که رنگ آمیزی می کنیم این آنزیم را داشته باشد، وقتی سوبسترای این آنزیم را که اضافه کنیم که DAB (دی آمینو بنزیدین) می باشد، این آنزیم روی سوبسترا اثر می کند و فراورده اش را ایجاد می کند، فراورده ی آن رسوب رنگی می باشند (رنگ تیره قهوه ای-مشکی)

پس بلاست هایی که این واکنش در آن ها اتفاق بیفتد و تغییر رنگ دهند می گوییم میلوپراکسیداز مثبت هستند و میلوبلاست می باشند. پس برای تشخیص AML از ALLمیلوپراکسیداز خیلی کمک کننده می باشد.

برای گزارش لام از نظر میلوپراکسیداز، لام BM رنگ آمیزی می شود. ۱۰۰ تا بلاست را شمرده (فقط بلاست) و تعداد مثبت را از بین بلاست ها بدست می آوریم. اگر از این ۱۰۰تا بلاست ۳ تا یا بیشتر مثبت باشد، آن را MPO مثبت می گویند. کمتر از 3% MPOمنفی محسوب می شود.

۷) رنگ آمیزی PAS[1]

غیر آنزیماتیک بوده و از دو قسمت تشکیل شده است، گلیکوژن را رنگ می کند. گلیکوژن تحت تاثیرPeriodic Acid دی آلدئید ایجاد می کند وبعد معرف shiftروی دی آلدئید اثر می کند و رنگ صورتی تولید می کند. این رنگ در رده ی میلوئیدی معمولا منفی می باشد و بیشتر در تشخیص ALL و M6 اهمیت دارد. رده ی اریتروئیدی نرموبلاست های نرمال PAS منفی هستند ولی در M6 مثبت می شود.

1 Periodic acid shift

تخمین WBC از روی اسمیر خون محیطی

بررسی تعداد WBC شامل شمارش کامل WBC، شمارش افتراقی، شمارش مطلق و بررسی پیش‌سازها است. برای تخمین WBC با عدسی ۴۰ تعداد WBC را در ۱۰ فیلد می‌شماریم و میانگین گرفته شده را در ۲۰۰۰ ضرب می‌کنیم.

تعیین درصد گلبول‌های سفید خون (Diff)

مخفف و مختصر شده differential است که منظور از آن تعیین درصد گلبول‌های سفید خون به‌صورت چشمی است. در این آزمایش تعداد ۱۰۰ تا ۲۰۰ عدد گلبول سفید به‌طور چشمی شمارش می‌شود و درصد انواع مختلف سلول‌های سفید خون گزارش می‌گردد. عمدتاً در عفونت‌های میکروبی نوتروفیل ها درصد بالایی پیدا می‌کنند و در عفونت‌های ویروسی عمدتاً درصد لنفوسیت‌ها افزایش پیدا می‌کند.

شمارش گلبول‌های قرمز هسته‌دار (اریتروبلاست ها) و روش محاسبه گلبول‌های سفید حقیقی

در شمارش گلبول‌های سفید، چنانچه بیمار اریتروبلاستوز داشته باشد، باید گلبول‌های قرمز هسته‌دار نیز همراه با گلبول‌های سفید شمارش شده و درصد آن تعیین شود. (۱۰۰ گلبول شمرده می‌شود)

$$\text{شمارش گلبول‌های سفید حقیقی} = \frac{\text{تعداد گلبول سفیدهای شمارش شده} \times 100}{\text{مشاهده‌های شده} NRBC + 100}$$

شمارش پلاکت ها از روی لام خون محیطی

از نمونه خون روی ضد انعقاد گسترش تهیه شده و پس از رنگ‌آمیزی، در زیر میکروسکوپ بررسی می نماییم، بدین صورت که پلاکت‌های ۱۰ میدان میکروسکوپی با پاور ۱۰۰ را شمرده و سپس میانگین آن را حساب می‌کنیم. میانگین به دست آمده

را در عدد ۲۰ هزار ضرب کرده و تعداد کل پلاکت ها بدین طریق در میلی‌متر مکعب به دست می‌آید.

مقدار نرمال: ۴۵۰-۱۵۰ هزار در میلی‌متر مکعب خون

کمتر از ۱۵۰۰۰۰ را ترمبوسایتوپنی و بیشتر از ۴۵۰۰۰۰ را ترمبوسیتوز میگویند.

مورفولوژی RBC

در حین بررسی مورفولوژی RBCها باید به اندازه، رنگ، شکل آن‌ها و وجود اجسام غیرطبیعی در آن ها توجه کرد. در حالت نرمال RBC ، نرموسیت است که قطر آن $6-7\ \mu$ ، $MCV = 80-96\ fl$ است. حال اگر نرموسیت نباشد یا میکروسیت است یا ماکروسیت یا مگالوسیت.

۱- میکروسیت

- ✓ قطر کمتر از $6\ \mu$
- ✓ MCV کمتر از $75\ fl$
- ✓ کاهش MCH و MCHC
- ✓ مثال: کم خونی IDA

۲- ماکروسیت

- ✓ قطر بیشتر از ۸
- ✓ MCV بیشتر از $96\ fl$
- ✓ مثال: رتیکولوسیتوز

۳- مگالوسیت

- ✓ قطر $9/5\ \mu$
- ✓ ضخامت بالا
- ✓ مثال: آنمی مگالوبلاستیک

اختلال در سایز RBC در جواب آزمایش Anisocytosis گزارش شده که بیشتر در حالتی که در آن RBC ها خارج از رنج نرمال قرار دارند.

یکی از مواردی که در آن اختلاف در سایز دیده می‌شود حالتی است که به آن Dimorphism گفته می‌شود و عبارت است از وجود ۲ جمعیت RBC با سایزهای متفاوت که اغلب موارد، دسته‌ای از RBCها نرموسیت و دسته‌ی دیگر میکروسیت هستند؛ مهمترین مثال در این زمینه: آنمی سیدروبلاستیک، IDA و تزریق خون است.

در مشکلات کبدی هر چقدر چربی در خون (پلاسما) بیشتر، روی RBC می‌نشیند و با افزایش غشاء RBC آن را ماکروسیت می‌کند.

رنگ RBC

RBC در حالت طبیعی به صورت نورموکروم می‌باشد یعنی فقط یک سوم مرکزی RBC رنگ پریده است و اطراف پر رنگ می‌باشد.

اگر در لام خون محیطی تعدادی از RBCها نرموکروم و عده‌ای دیگر هیپوکروم (کم رنگ) باشند به آن آنیزوکروم می‌گویند.

برای بررسی آنیزوکروم از HDW استفاده می‌شود. HDW = ٪ ۲/۵ – ۳/۳

تغییر رنگ در RBC بصورت زیر است:

۱- هیپوکروم ⇐ در این حالت ناحیه‌ی کم رنگ RBC بزرگتر به نظر می‌رسد، RBC رنگ پریده که علت آن:

- ✓ ضخامت کم RBC
- ✓ کاهش غلظت Hb
- ✓ مثال: IDA (کم خونی فقر آهن)

۲- هایپرکروم ⇐ در این حالت به علت کاهش وسعت ناحیه‌ی کم رنگ مرکزی RBC پر رنگ دیده می‌شود که علت آن:

- ✓ افزایش ضخامت RBC
- ✓ افزایش غلظت Hb
- ✓ مثال: آنمی مگالوبلاستیک

نکته: پلی کرومازی یا پلی کروماتوفیلی؛ در صورتی که میزان زیادی Retic وارد خون محیطی می‌شوند، در رنگ‌آمیزی این لام با رنگ‌های رومانوفسکی، این سلول‌ها رنگ‌های قلیایی را جذب کرده (چون RNA اسیدی دارند) و کمی حالت بازوفیلی به خود می‌گیرند، بنابراین رنگ آنها آبی می‌شود.

تغییر در شکل RBC

اگر در لام خون محیطی از نظر شکل RBCها متفاوتی را ببینیم، پویکیلوسیتوزیس (poikiloeytosis) می‌گویند به سه حالت گزارش می‌شود:

- ✓ Mild - ۱ – ۵ عدد RBC
- ✓ Moderate ۶ – ۱۵ عدد RBC
- ✓ Severe - >۱۵ عدد RBC

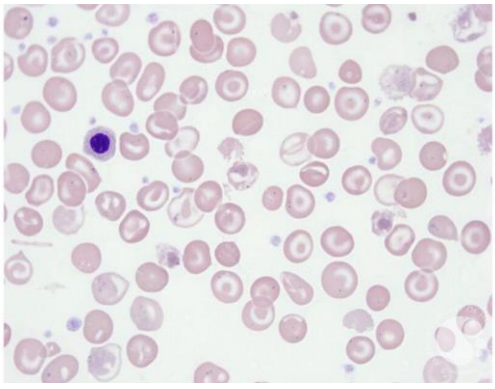
RBC نرمال

- ✓ قطر $6-8\mu$
- ✓ عرض $1/7\ \mu$
- ✓ حجم $80-96\ fl$
- ✓ مساحت $140\ \mu m^2$
- ✓ ضخامت $2\ \mu$

تغییرات مورفولوژیک گلبول قرمز

۱) تارگت سل[1]

به نام هایCodocyte,Bell cell,Mexician hat و سلول هدف شناخته میشود. در حالتی ایجاد می‌شود که با افزایش سطح غشایی RBC همراه باشد. در این گلبول‌ها مرکز سلول پررنگ‌تر از حاشیه آن می‌باشد. سلول هدف همیشه هیپوکروم است. این سلول‌ها نتیجه افزایش کلسترول و فسفولیپید غشاء و کاهش هموگلوبین می‌باشند. در این مورفولوژی نسبت سطح به حجم افزایش می یابد. بیشتر در بیماری‌های کبدی دیده می‌شوند. سلول هدف در اختلالات سنتز هموگلوبین نیز دیده می‌شود. البته این موفولوژی در تالاسمی ماژور و مینور، آنمی سلولی داسی شکل، بیماری هموگلوبین C، در آنمی فقر آهن، کمبود آنزیم LCAT و پس از اسپلنکتومی نیز مشاهده می‌شود.



شکل ۱-۹: تارگت سل (Target cell)

۲) اسفروسیت[2]

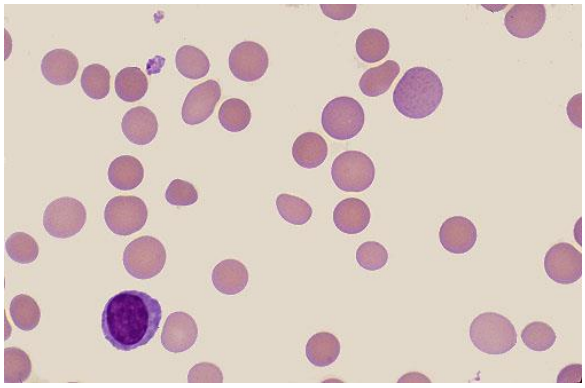
در این نوع یاخته سرخ نسبت سطح به جمع کاهش پیدا کرده است. پس قطر یاخته سرخ کاهش یافته و ضخامت آن افزایش یافته است. هموگلوبین در یاخته‌های سرخ تغلیظ می‌شود، در نتیجه رنگ پریدگی طبیعی که در وسط یاخته سرخ وجود داشته

[1] Target cell

[2] Spherocyte

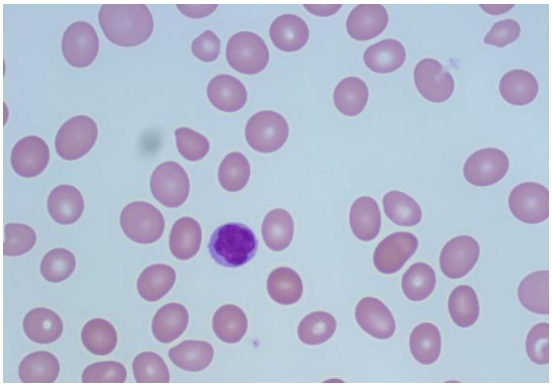
و ۱/۳ حجم گلبول را اشغال می‌کند، مشاهده نخواهد شد. MCHC افزایش یافته است. گلبول‌های سرخ پیر، به طور طبیعی حالت اسفروسیتی پیدا می‌کنند.

علل اسفروسیتوز عبارت‌اند از: اسفروسیتوز ارثی، ناسازگاری مادر و جنین به دلیل ناسازگاری ABO، آنمی همولیتیک اتوایمون، هموگلوبینوپاتی ها، سوختگی‌های شدید و دیگر اسیب های فیزیکی و شیمیایی، هیپراسپلنیسم و پس از اسپلنکتومی.



شکل ۱-۱۰: اسفروسیت(Spherocyte)

۳) اوالوسیت[1]



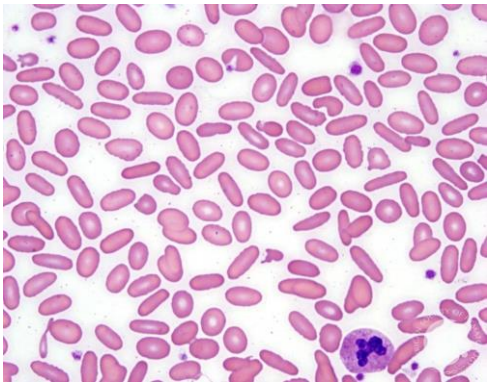
شکل ۱-۱۱: اوالوسیت (Ovalocyte)

[1] Ovalocyte

گلبول قرمز حالت تخم‌مرغی پیدا می‌کند؛ در این حالت محور طولی گلبول قرمز کمتر از ۲ برابر محور عرضی اش است. که ممکن است هیپوکروم یا نرموکروم باشد. اوالوسیتوز ارثی، تالاسمی، آنمی مگالوبلاستیک، آنمی سلولی داسی شکل، الیپتوسیتوز ارثی، آنمی فقر آهن و میلوفیبروز از مواردی هستند که با تولید اوالوسیت همراه می‌باشند.

۴) الیپتوسیت[1]

سلول های مدادی یا سیگاری نام دارند.RBC شبیه مداد می‌شود و به هیچ وجه نیز هیپوکروم نمی‌باشد. محور طولی آن ها بیشتر از ۲ برابر مجور عرضی است. الیپتوسیتوز ارثی، آنمی فقر آهن، میلوفیبروز، آنمی مگالوبلاستیک، آنمی داسی شکل، برخی موارد آنمی همولتیک از علل آن هستند.



شکل ۱-۱۲: الیپتوسیت (elliptocyte)

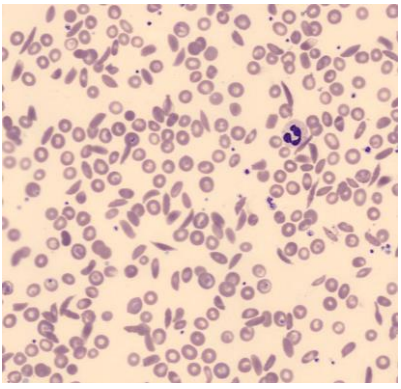
۵) سلول داسی شکل[2]

نام دیگر:Oat cell

[1] Elliptocyte

[2] Derpanocyte sickle cell

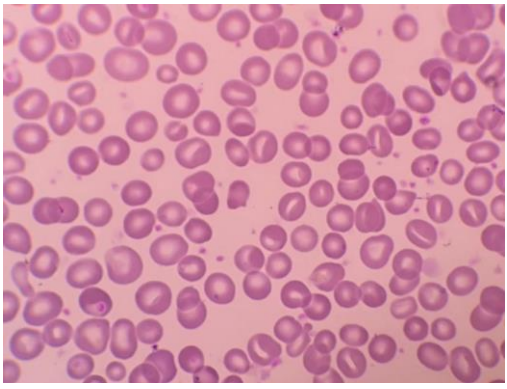
این مورفولوژی به دلیل پلیمریزاسیون زنجیره گلوبین در Hb ایجاد میشود. ظهور آن در موارد هموزیگوت بیماری است و در موارد هتروزیگوت به ندرت دیده می‌شود.(در ارتفاعات و مواقعی که اکسیژن محیط کم شود).



شکل ۱-۱۳: سلول داسی شکل (Derpanocyte sickle cell)

۶) استوماتوسیتوز[1]

به نام های هیدروسیت و سلول های دهان ماهی نیز شناخته میشود. اندازه گلبول قرمز طبیعی است ولی کانالی از ناحیه کم رنگ وسط گلبول به سمت جدار آن کشیده شده است.



شکل ۱-۱۴: استوماتوسیتوز (Stomatocytosis)

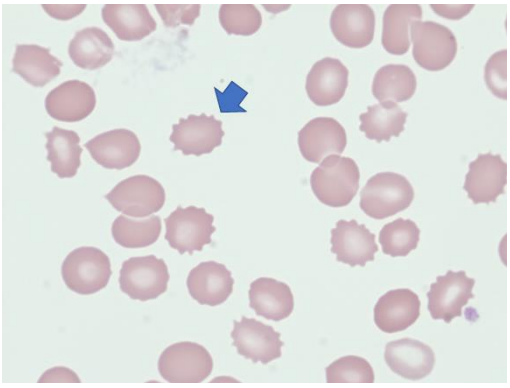
[1] Stomatocytosis

این گلبول‌ها، افزایش نفوذپذیری نسبت به سدیم و آب دارد. در این حالت MCV افزایش می یابد و سلول بزرگ میباشد. ممکن است به طور مصنوعی و یا در موارد اسفروسیتوز ارثی، بیاری های کبدی و فنوتیپ Rh null (عدم وجود آنتی‌ژن Rh) دیده شود.

7) اکینوسیت[1]

به نام های Burr cell,crenate cell,Berry cell نیز شناخته میشود. گلبول قرمز نرموکروم و نروموسیتیک و حاوی ۱۰-۳۰ زائده هم اندازه است. مشاهده آن ممکن است ناشی از آرتیفکت در اثر خطای تکنیکی تهیه گسترش باشد برای مثال بدلیل وجود آب در متانول، دبر خشک کردن لام، رنگ آمیزی در محیط مرطوب.

ولی در نارسایی مزمن کلیوی، بیماران قلبی، سرطان معده، خونریزی اولسرپپتیک، پس از تزریق هپارین، انتقال خون کهنه، هیپرتیروئیدی درمان نشده و دهیدراتاسیون نیز دیده می‌شود.

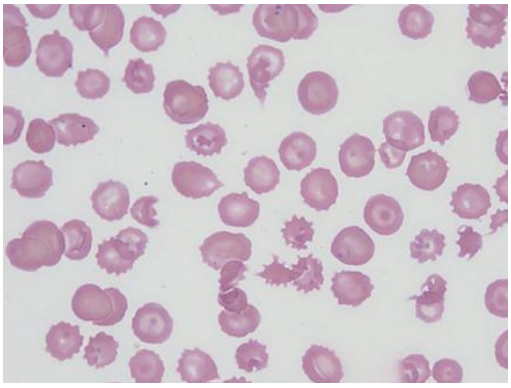


شکل ۱-۱۵: اکینوسیت (Burr cell)

[1] Burr cell

۸) آکانتوسیت[1]

نام های دیگر آن SPUR CELL و Spike cell است. یاخته سرخ اندازه طبیعی یا کوچک دارد و دارای ۱۰-۱۲ برجستگی با اندازه متفاوت است. در این نوع یاخته سرخ کلسترول غشاء بیشتر از فسفولیپید (با کاهش مشخص لیستین) است. در آبتالیپوپروتئینمی، کمبود آنزیم لیستین کلسترول اسیل ترانسفراز ((LCATکه در بیماران کبدی دیده می‌شود، هیپوتیروئیدی، کمبود ویتامین E، در فنوتیپ مک لوود و پس از اسپلنکتومی دیده می‌شود.



شکل ۱-۱۶: اکانتوسیت (Acanthocyte)

۹) گلبول سرخ قطعه قطعه شده[2]

نام های دیگر آن: Helmen cell، Cut cell، Triangle cell

در قالب ۲ فرم دیده می‌شود:

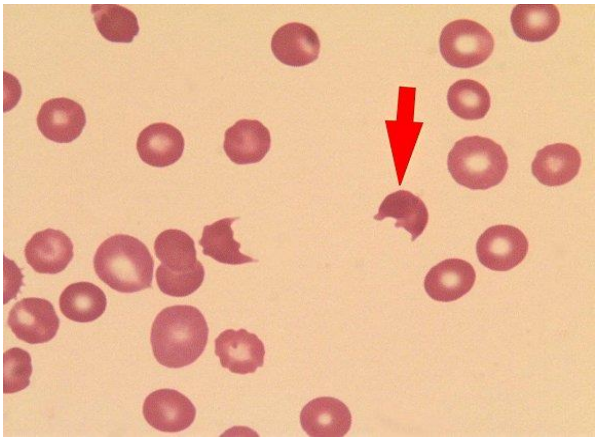
۱) وقتی تغییر جریان طبیعی خون سبب قطعه قطعه شدن یاخته سرخ شده باشد، نظیر واسکولیت، پرفشاری بدخیم خون،T.T.P و دریچه قلب مصنوعی

[1] Acanthocyte

[2] Fragmented RBC

۲) فرم دیگر ناشی از اختلالات خود یاخته سرخ است که در آن قابلیت تغییر شکل یاخته سرخ کاهش یافته و از این رو آن را مستعد آسیب نموده است. این مکانیسم در تخریب اسفروسیت ها و گلبول‌های حاوی

انکلوزین و همچنین گلبول‌هایی که پوشیده از آنتی بادی می‌باشند، دخیل است. شیستوسیت، شکل تشدید شده بیماری فوق است که در آن اشکال مختلف یاخته سرخ در خون محیطی دیده می‌شوند. این فرم در آنمی های همولیتیک میکروآنژیوپاتیک،D.I.C، جراحی دریچه قلب، سندرم همولیتیک اورمیک،T.T.P و سوختگی‌های شدید دیده می‌شود.



شکل ۱-۱۷: گلبول سرخ قطعه قطعه شده و شیستوسیت

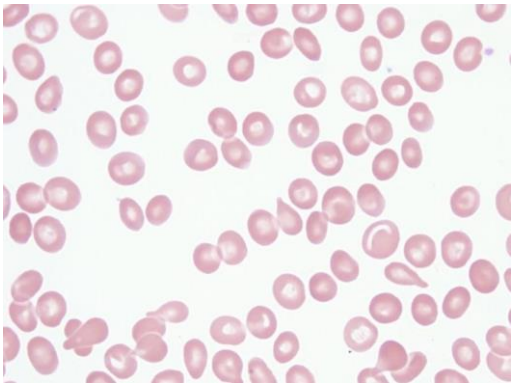
۱۰) سلول‌های قطره اشکی[1]

نام دیگر: داکروسیت

این سلول در خون محیطی به صورت سلول گلابی شکل دیده می‌شود. طول قسمت کشیده شده یاخته سرخ متفاوت است. این سلول‌ها از نظر اندازه می‌توانند طبیعی، بزرگ‌تر یا کوچک‌تر باشند. سلول قطره اشکی عمدتاً در میلوفیبروز همراه با متاپلازی

[1] Tear drop

میلوئید دیده می‌شود. علاوه بر این در سندرم تالاسمی، فقر آهن، آنمی میلوفتیزیک، آنمی آپلاستیک و مواردی که اجسام انکلوزیون وجود دارد، نیز دیده می‌شود.

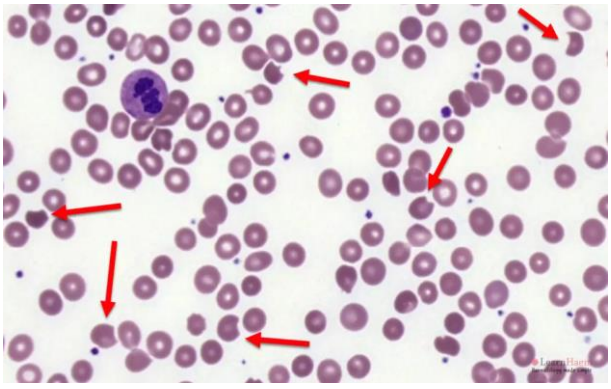


شکل ۱-۱۸: سلول های قطره اشکی (Tear drop)

۱۱) سلول گاز گرفته شده[1]

نام های دیگر: سلول گاز گرفته شده، Pincered cell, Degmacyte HOM cell

این مورفولوژی در مواردی مانند ,DICکاهش آنزیم G6PD و هایپر اسپلنیسم وجود دارد.

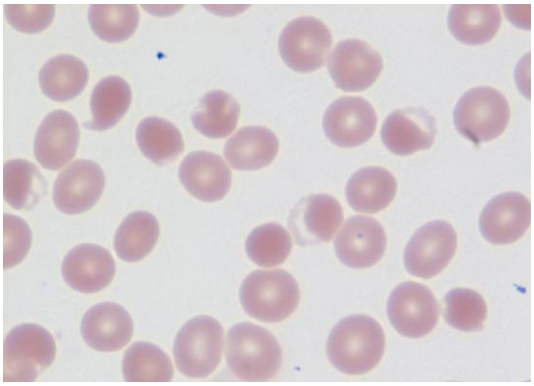


شکل ۱-۱۹: بایت سل

[1] Bite cell

۱۲- سلول تاول زده[1]

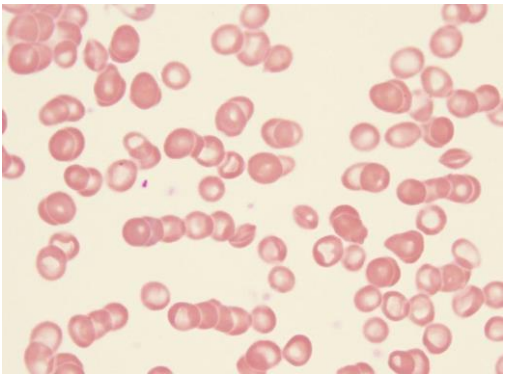
همان سلول تاول زده که در سوختگی ها و کاهش آنزیم G6PD دیده میشود.



شکل ۱-۲۰: سلول تاول زده

۱۳- رولکس[2]

در این حالت گلبول‌های قرمز به‌صورت رشته‌های طویل به دنبال هم می‌آیند و به حالت سکه از پهلو به هم می‌چسبند. این در حالت افزایش فیبرینوژن پلاسما دیده می‌شود. در موارد پاراپروتئینمی و گاماگلوبین منوکنال مثل مالتیپل میلوما بارزتراست. حالت رولو به صورت کاذب درگسترش های خونی که در هوا خشک شده اند ایجاد می‌شود.



شکل ۱-۲۱: رولکس

[1] Blister cell

[2] Rouleaux Formation

جدول ۱-۶: تغییرات مورفولوژی RBC

ناهنجاری	تعریف	اهمیت
آنیزوسیتوز	اختلاف اندازه	بسیاری از آنمی ها
ماکروسیت	rbcقطر>9µm	آنمی مگالوبلاستیک؛ بیماری کبد؛ رتیکولوسیتوز؛ در نوزادان این حالت نرمال است
میکروسیت	rbcقطر<6µm	آنمی فقر آهن؛ تالاسمی؛ آنمی در عفونت‌های مزمن
پویکیلوسیتوز	اختلاف شکل	در بسیاری از آنمی ها
الیپتوسیت / اوالوسیت	گلبول‌های بیضی یا مدادی / سیگاری شکل	نقص غشایی؛ اوالوسیتوز ارثی، آنمی های گوناگون
Rbc کنگره‌دار (crenated)	گلبول پر از برآمدگی‌های برجسته و یکنواخت	عدم تعادل اسمزی؛ اگر در اکثر سلول‌های بخش نازک اسمیر دیده شد گزارش ندهید؛ ممکن است به علت ضد انعقاد زیاد یا خشک شدن آهسته لام به‌صورت artifact این شکل دیده شود
سلول خاردار (اکینوسیت)	سلول مدور با خارهای یکنواخت با فاصله از هم یا برآمدگی‌های نوک تیز	نقص غشایی؛ اورمی، کمبود پیروات کیناز، ممکن است artifact حاصل از خشک شدن لام باشد، مقادیر اندک آن می‌تواند در افراد سالم مشاهده شود
آکانتوسیت (spur)	سلول‌های کوچک و متراکم با برآمدگی‌های نامنظم با فاصله از هم و اندازه‌های مختلف	نقص غشایی؛ بیماری کبدی شدید آبتالیپوپروتئینمیا
شیستوسیت	قطعات rbc	Rbc های جداشده با رشته‌های فیبرین آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتی (HUS،TTP،DIC)؛ دریچه قلب مصنوعی
پلی کرومازیا	رنگ خاکستری مایل به آبی	Rbc های جوان؛ retic ها با رنگ‌آمیزی فوق حیاتی؛ علامت خون‌سازی فعال؛ در افراد بالغ 1-2٪؛ افزایش در خونریزی حاد، آنمی همولیتیک، پاسخ به درمان در آنمی فقرآهن و پرنشیوز
تارگت سل (کودوسیت)	چشم گاوی؛ شبیه کلاه مکزیکی	هموگلوبینوپاتی ها، تالاسمی‌ها، بیماری کبد؛ اگر تنها در یک بخش از اسمیر دیده شود ممکن است artifact باشد

سلول های داسی شکل (درپانوسیت)	سلول هلالی، S یا C شکل، قایقی شکل یا به شکل جو دوسر	آنمی داسی شکل
آگلوتیناسیون	Rbc به‌صورت تجمعات نامنظم	اتوآنتی بادی‌ها، اتوآگلوتینین سرد

DIC = انعقاد داخل عروقی منتشر TTP= پورپورای ترومبوسایتوپنیک ترومبوتیک

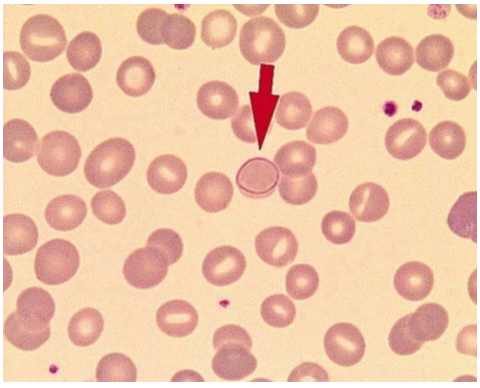
HUS= سندرم اورمیک همولیتیک

سایر اشکال مختلف گلبول قرمز بر اساس رفرنس های جدید به همراه عکس های جدید برای موار قبلی درج شود.

انکلوزیون های داخل RBC

۱) حلقه کابوت[1]

خط های قرمز رنگ دایره ای یا به صورت ۸ لاتین در درون RBC که بقایای میکروتوبولهای دوک تقسیم می‌باشند و در رنگ‌آمیزی معمولی دیده می‌شوند را حلقه کابوت می‌نامند. در رنگ آمیزی رایت به رنگ قرمز در می آید. وجود این حلقه معمولاً در اختلال در عمل اریتروپوتز (مانند آنمی پرنی شیوز و مسمومیت با سرب، آنمی کپالوبلاستیک، انمی سیدروبلاستیک و در اسپلنکتومی) دیده می‌شود.



شکل ۱-۲۲: حلقه کابوت (Cabot ring)

۲) اجسام هاینز[2]

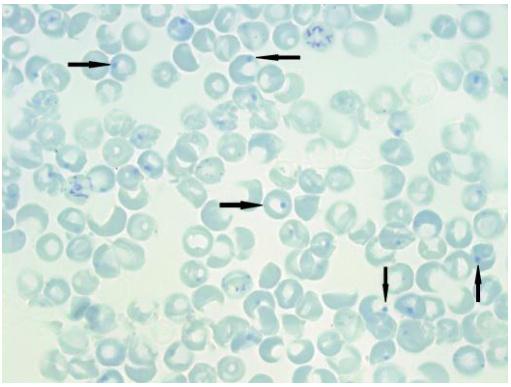
اجسام هاینز از تغییر ماهیت هموگلوبین و رسوب Hb در گلبول‌های قرمز و چسبیدن به غشا پدید می‌آید. این اجسام کروی شکل هستند و ۱-۴ میکرون قطر داشته و در کنار سلول و یا چسبیده به غشا یافت می‌شوند. اجسام هاینز انعطاف‌پذیری ندارند و موجب آسیب وارد شدن به غشاء سلول می‌گردند در

[1] Cabot ring

[2] Heinz bodies

نتیجه سلول را تخریب می‌کنند. عواملی که در تشکیل اجسام هاینز دخالت دارند عبارت‌اند از:

- کمبود آنزیم G6PD
- مقادیر زیاد ترکیبات اکسیدکننده قوی که بر مکانیسم محافظت کننده سلول غلبه می‌کند و بدون وجود نقص آنزیمی باعث تقلیب اکسیداتیو هموگلوبین و شکل‌گیری اجسام هاینز می‌گردد.
- هموگلوبین‌های ناپایدار
- کم کاری طحال در موارد وجود همولیز
- تالاسمی



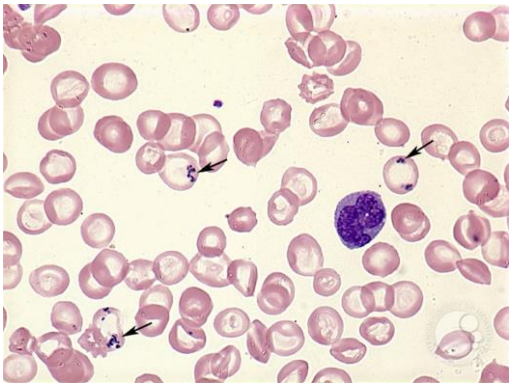
شکل ۱-۲۳: اجسام هاینز

۳) اجسام پاپن هایمر[1]

این اجسام از جنس آهن می‌باشد. RBCهایی را که گرانول‌های حاوی آهن غیر آلی دارند سیدروسیت می‌نامند. این گرانول‌ها با رنگ‌آمیزی مخصوص آهن نشان داده می‌شوند. گاهی این گرانول‌ها با رنگ رایت رنگ می‌گیرند که در این حالت اجسام پاپن هایمر اطلاق می‌شود. این‌ها برخلاف نقاط بازوفیلیک تعدادشان در یک RBC

[1] Papen Heamer bodies

معین کم است و به جز مواردی که طحال برداری می‌شود در خون محیطی بندرت دیده می‌شوند. حضور پاپن هایمر میتواند مرتبط با اریتروپوئز سیدروبلاستیک و هیپواسپلینیسم باشد.

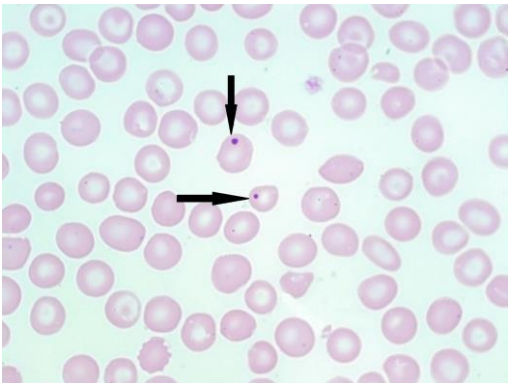


شکل ۱-۲۴: اجسام پاپن هایمر

۴) اجسام هاول جولی[1]

این اجسام به صورت دانه های گرد آبی رنگ با حدود صاف و از بقایای کروماتین هسته یا DNA در جریان تکامل گلبول قرمز پیدا می‌شوند. این اجسام به صورت گرد، کوچکتر از نیم نانومتر، منفرد و به رنگ بنفش پررنگ دیده میشود؛ و در کم‌خونی‌های همولیتیک، مگالوبلاستیک، تالاسمی ماژور، آتروفی طحال و اسپلنکتومی دیده می‌شود. در صورت وجود این اجسام در RBC، همه پارامترهای مربوط به پلاکت (تعداد Plt,PCT,MPV) مختل میشود و قابل اعتماد نیستند.

[1] Howell-Jolly bodies

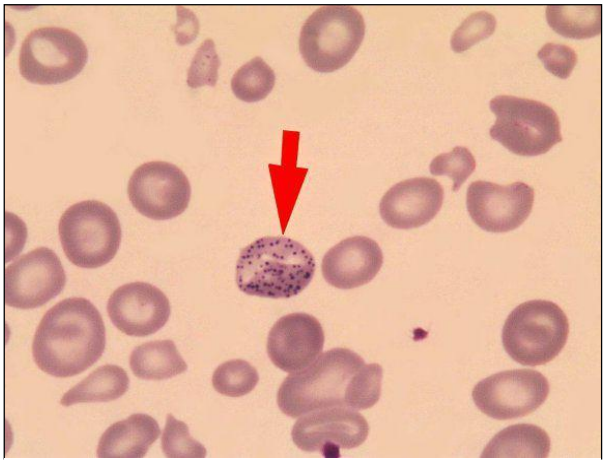


شکل ۱-۲۵: اجسام هاول جول بادی

۵) بازوفیلیک استپلینگ[1]

در صورت تخریب RNA در رتیکولوسیت ها، نوکلئوتیدهای پیریمیدین برای عبور از غشاء RBC باید توسط آنزیم پیریمیدین 5 نوکلئوتیداز (PN) دفسفوریله شوند. کمبود آنزیم PN باعث تجمع پیریمیدین درون سلول می گردد و اختلال در تخریب RNA باعث ایجاد شدن بازوفیلیک استپلینگ (بازوفیلی منقوط) درون RBCمی گردد. این اجسام که از جنس بقایای RNA ریبوزومی میباشد، با رنگ آمیزی رایت به رنگ آبی در می آید. بیماران دچار کمبود (PN) همولیز خفیف تا متوسط و رتیکولوسیتوز تا ۱۰ درصد دارند. منقوط شدن بازوفیلی قابل توجه دارند و بزرگی طحال وجود دارد. طحال برداری اثر بهبودی خاصی در بیماری فوق ندارد. کمبود اکتسابی (PN)، در مسمومیت با سرب، آنمی مگالوبلاستیک و تالاسمی بازوفیلیک استیپلنگ داریم. همچنین در آنمی سیدروبلاستیک نیز دیده می‌شود. توجه شود در صورت استفاده از ضدانعقاد K2-EDTA این اجسام رنگ نمی‌گیرند.

[1] Basophilic stippling

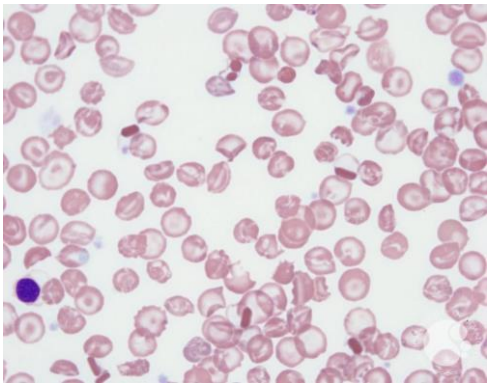


شکل ا-۲۶: بازوفیلیک استپلینگ

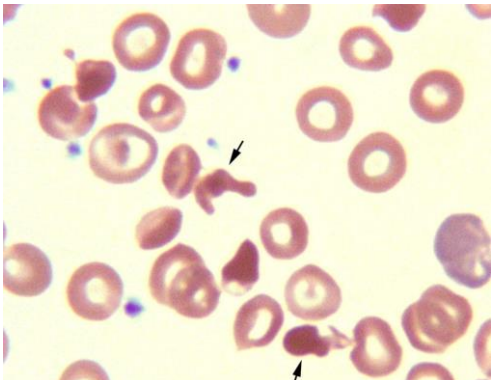
۶) کریستال های داخل RBC

این کریستال ها به صورت 6-4 ضلعی و یا باسیلی شکل و به رنگ

قرمز مایل به قهوه ای دیده میشود. این کریستال ها در بیماری های هموگلوبینوپاتی C و SC دیده میشود. در هموگلوبین Setif در شرایط هایپرتونیک نیز این کریستال ها دیده می‌شود.



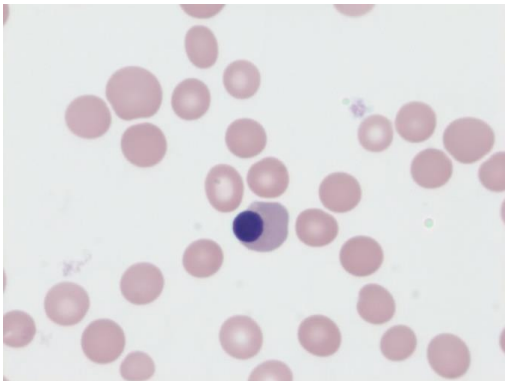
شکل ا-۲۷: کریستال های هموگلوبین (کریستال هموگلوبین C)



شکل ۱-۲۸: کریستال های هموگلوبین (کریستال هموگلوبین SC)

گلبول‌های قرمز هسته‌دار (nRBC)[1]

RBC های هسته‌دار (نرموبلاست) به طور طبیعی فقط در BM حضور دارند، اما در شرایطی ممکن است NRBC عمدتاً از نوع OCNB و گاهی پلی کروماتوفیلیک نورموبلاست وارد PB (خوان محیطی گردد). تشخیص قطعی از طریق الگوی هسته، جدا بودن واضح کروماتین از پاراکروماتین و رنگ پذیری شدید کروماتین صورت می گیرد. nRBC فقط در خون جنین و نوزادان بسیار کم سن وجود دارد، در بزرگسالان سالم این سلول‌ها فقط در BM وجود داشته و تنها در شرایط بیماری در PB ظاهر می‌شوند.

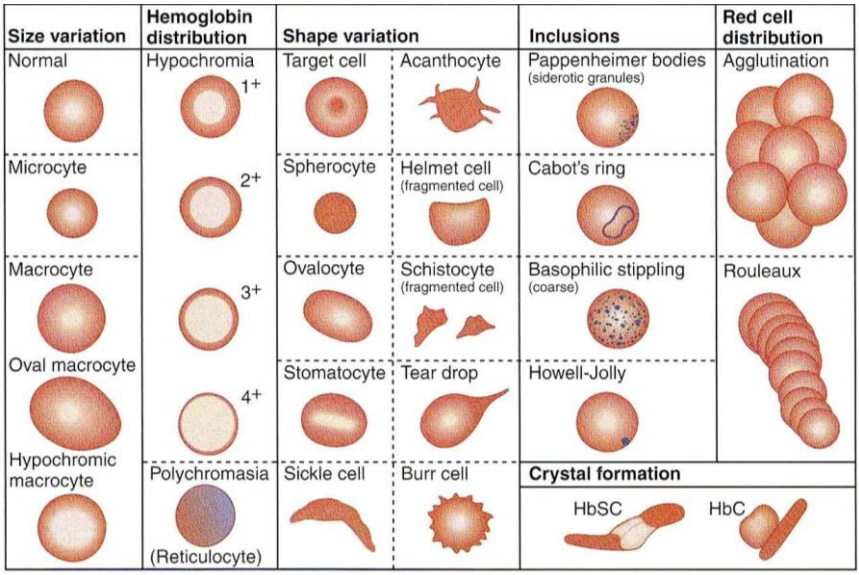


شکل ۱-۲۹: nRBC در لام خون محیطی

[1] Nucleated Red Blood Cells

علت حضور nRBC در PB

- تحریک شدن BM برای تولید (زودتر از موعد وارد PB)
- خونسازی خارج BM (extra medullary)
- جایگزینی سلول‌های BM با سلول‌های دیگر مثل سلول‌های تومور مثال: در اریتروبلاستوز جنینی؛ تالاسمی ماژور



شکل ا-۳۰: تصویر شماتیک انواع مورفولوژی گلبول های قرمز

جدول ۱-۷: انکلوزیون های RBC

انکلوزیون	رنگ‌آمیزی	توصیف	تعریف علمی	اهمیت	بیماری‌ها
بازوفیلیک استیپلینگ	رنگ‌آمیزی رایت و نیومتیلن بلو	انکلوزیون های متعدد، نامنظم و بنفش که به‌طور یکنواخت در سلول توزیع شدند	تجمع RNA (ریبوزوم‌ها)	ضخیم: تماس با سرب نازک: rbc های جوان	تماس با سرب سنتز غیرطبیعی یا سریع rbc تالاسمی
اجسام هاول ژولی	رنگ‌آمیزی رایت و نیومتیلن بلو	مدور، بنفش، به قطر 1-2 µm، معمولاً یکی در هرسلول	بقایای هسته (DNA)	معمولاً توسط طحال ایجاد می‌شود. در خون‌سازی سریع یا غیرطبیعی	پس از طحال برداری، تالاسمی، آنمی همولیتیک و مگالوبلاستیک، آنمی داسی شکل
حلقه‌های کابوت	رایت	حلقه‌های بنفش مایل به قرمز یا به شکل 8s	ممکن است بخشی از دوک میتوزی، بقایای میکروتوبول ها، یا قطعه ای از غشای هسته باشد	نوسازی سریع خون، خون‌سازی غیرطبیعی	آنمی مگالوبلاستیک، تالاسمی و پس از طحال برداری
اجسام پاپن هایمر	رایت (گرانول‌های سیدروتیک با رنگ‌آمیزی پروسیان بلو)	گرانول‌های آبی مایل به بنفش کوچک، دارای اندازه، شکل و تعداد مختلف؛ معمولاً در اطراف به‌صورت خوشه‌ای	ذرات آهن	مصرف ناقص آهن	آنمی سیدروبلاستیک، پس از طحال برداری، تالاسمی، آنمی سلول داسی، هموکروماتوز
گرانول‌های سیدروتیک	پروسیان بلو	گرانول‌های آبی به اندازه و اشکال مختلف	تجمع ذرات آهن	مصرف ناقص آهن در سنتز Hgb	آنمی سیدروبلاستیک، پس از طحال برداری، تالاسمی، آنمی داسی شکل، هموکروماتوز
رتیکولوسیت	نیومتیلن بلو (پلی کرومازیا در رنگ‌آمیزی رایت)	شبکه آبی رنگ درون سلول	بقایای RNA (ریبوزوم)	= >2% افزایش اریتروپوئز = <0.1% کاهش اریتروپوئز	آنمی همولیتیک، خونریزی، پاسخ به درمان در آنمی فقر آهن و مگالوبلاستیک

اجسام هاینز	رنگ‌آمیزی فوق حیاتی مثل کریستال ویوله، کروزول بلو بریلیانت، متیلن بلو	انکلوزیون های آبی رنگ و مدور با اندازه‌های مختلف نزدیک غشای سلول ممکن است بیش از یکی باشد	هموگلوبین رسوب کرده، اکسید شده یا دناتوره	درطی افزایش سن rbc ایجاد می‌شود ولی توسط طحال ایجاد می‌شود	کمبود G6PD، هموگلوبین‌های ناپایدار، آسیب شیمیایی rbc، آنمی همولیتیک القاشده با دارو

فصل دوم: آنمی فقر آهن

فصل ۲- آنمی فقر آهن

مقدمه

مقدمه نوشته شود

کم خونی فقر آهن

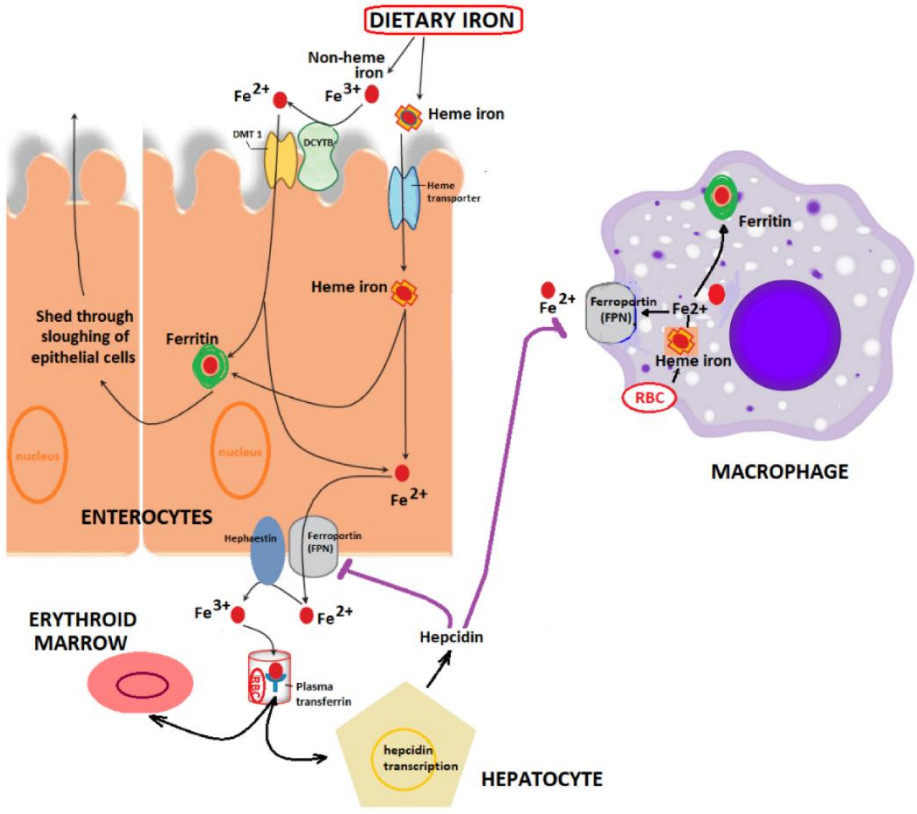
مسیر جذب آهن

آهن به عنوان فلزی مهم در هموگلوبین و میوگلوبین در ابتدای روده ی کوچک جذب می شود.آهن موجود در غذاها به صورت سه ظرفیتی است. ورود آهن از طریق گیرنده ی دو ظرفیتی DMT-1 صورت می گیرد که مشروط به دو ظرفیتی بودن آن یعنی Fe^{2+} است که این تبدیل سه ظرفیتی به دو ظرفیتی توسط سایتوکروم b ردوکتاز صورت می گردد. توالی IRE کنترل کننده ی تولید این نوع گیرنده است. در زمان کاهش آهن، پروتئین IRP به توالی IRE چسبیده و منجر به افزایش سنتز DMT-1 می گردد. پس ازورود آهن به سلول های گوارشی، یا به صورت ذخیره ی فریتین درآمده و یا از طریق کانال خروج، فروپورتین، در کنار هفاستین از سلول گوارش خارج می شود. هفاستین حاوی اتم های مس بوده و منجر به تبدیل Fe^{2+} به Fe^{3+} می گردد تا توسط انتقال دهنده ی آن یعنی ترانسفرین، به تمام نقاط بدن حمل و نقل یابد.(شکل ۱-۲)

ترانسفرین خود به صورت دو ظرفیتی برای آهن عمل می کند. ترانسفرین نیز از طریق اتصال به گیرنده ی ترانسفرین TFR1 آهن را به سلول مورد نظر تحویل می دهد که این میل گیرنده به ترانفسفرین دی فریک در PH فیزیولوژیک بدن بسیار بالاست. در سطح سلول با اتصال ترانسفرین دی فریک به گیرنده ی آن اندوسیتوز اتفاق می افتد.PH داخل وزیکول با افزایش تولید پروتون به ۵-۶ رسیده و آهن از ترانسفرین جدا می شود. در نهایت آهن توسط کانال دو ظرفیتی DMT-1 وارد فضای سیتوپلاسمی سلول می شود.کمپلکس گیرنده و ترانسفرین به سطح سلول برگشته و در PH فیزیولوژیک بدن آزاد و رها می شوند.(شکل ۱-۲)

گفتنی است که آهن به شکل هم کانال ورودی جداگانه و جذب راحت تری دارد.

تعداد گیرنده های ترانسفرین در رتیکولوسیت ها نسبت به نرموبلاست های اولیه کمتر می باشد که با بلوغ کامل RBC، این گیرنده ها شکسته و به صورت گیرنده های محلول در پلاسما Stfr در می آید.



شکل ۲-۱: مروری بر جذب و متابولیسم آهن روده ای با مداخله ی انتروسیت ها، هپاتوسیت و ماکروفاژها

سایر عوامل موثر در جذب آهن

هموجوولین به صورت ترشحی و گیرنده در سطح سلول های کبد، قلب و ماهیچه وجود داشته و در تنظیم سنتز هپسیدین نقش دارد و منجر به افزایش بیان آن می گردد.

هپسیدین با تخریب کانال های فروپورتین منجر به مهار جذب آهن توسط سلول های گوارش و ماکروفاژ ها می گردد.در نتیجه آهن خون پایین می آید.

هفاستین نقش فرواکسیدازی داشته که Fe^{2+} به Fe^{3+} تبدیل می کندو منجر به ورود آهن به خون می شود.

فقر آهن چگونه رخ می دهد؟

کم خونی فقر آهن از سنتز ناقص هموگلوبین ایجاد می‌شود و در نتیجه گلبول‌های قرمز کوچک تر از اندازه نرمال (میکروسیتیک) تولید می‌شوند و حاوی مقادیر کاهش یافته هموگلوبین (هیپوکرومیک) هستند. تشخیص کم خونی فقر آهن به طور کلی ساده است، اما ممکن است با کم خونی بیماری مزمن (ACD) یا سایر کم خونی‌های هیپوکرومیک اشتباه گرفته شود.

آهن در بسیاری از فرآیندهای متابولیک نقش اساسی دارد و یک فرد بالغ به طور میانگین بین ۳ تا ۵ گرم آهن دارد که دو سوم آن در مولکول حامل O2 یعنی هموگلوبین وجود دارد. با کمال تعجب، مکانیسم دفع خاصی برای آهن در انسان وجود ندارد. تعادل آهن در سطح جذب روده کنترل می‌شود و به دو پروتئین جداکننده آهن متکی است، ترانسفرین (انتقال آهن و بازیافت آهن) و فریتین (از آهن وارد شده به بدن محافظت می‌کند و آهن اضافی را به شکل ایمن و در دسترس حفظ می‌کند).

آنمی فقر آهن به صورت سه مرحله ی خالی شدن منابع ذخیره آهن، اریتروپوئز با کمبود آهن و در نهایت بروز آنمی فقر آهن رخ می دهد. در مرحله ی اول بسیاری از تست های تشخیص در مرحله ی نرمال قرار دارند.

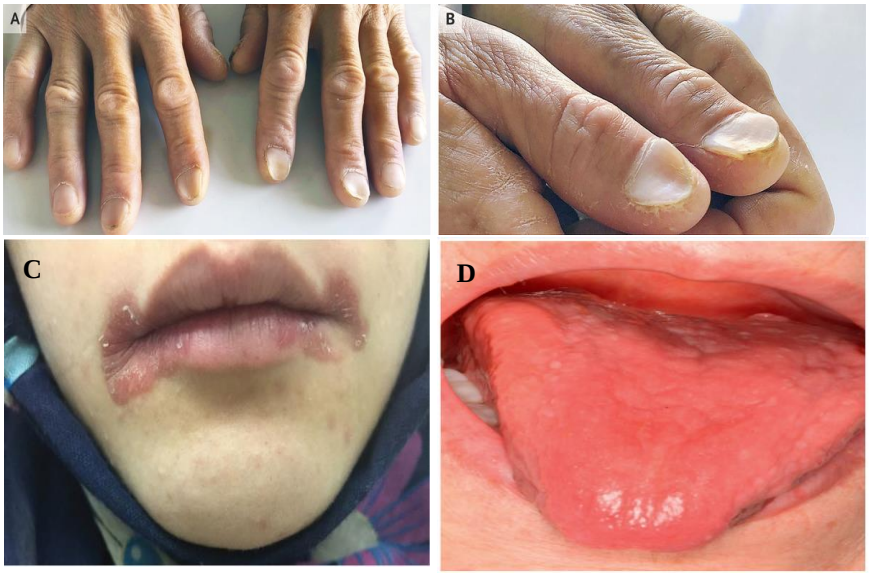
تظاهرات بالینی فقر آهن

شرایط بالینی خاصی با افزایش احتمال فقر آهن همراه هستند. بارداری، بلوغ، دوره-های رشد سریع و تاریخچه متناوب از دست دادن خون به هر ترتیبی، باید پزشک را از وجود فقر آهن احتمالی آگاه سازد. یک اصل اساسی عبارت از آن است که ظهور فقر آهن در یک مرد بالغ به معنای خون‌ریزی گوارشی است مگر خلاف آن ثابت شود. علائم مربوط به فقر آهن به شدت و زمان آنمی به همراه علائم معمول آنمی مانند ضعف و خستگی، رنگ پریدگی و کاهش توانایی فعالیت وابسته هستند.

از دیگر علائم آنمی فقر آهن پیکا (Pica) می‌باشد که به تغییرات الگوی غذایی، مانند خوردن خاک و نشاسته و یخ (Pagophaga)، اصرار بر خوردن یک نوع غذا و میل به موادی که زیر دندان ایجاد صدا می‌کند (Crunching sound) گفته می‌شود و تغییرات سلول‌های اپیتلیال هم در آنمی فقر آهن رخ می‌دهد به این صورت که عملکرد سلول‌های اپیتلیال در بستر ناخن، دهان، هایپوفارینکس، زبا ن و معده را تحت تاثیر قرار می‌دهد. ناخن‌های شکننده با شیارهای طولی، نازک و پهن شدن و گود یا قاشقی شدن (Koilonychia) از عوارض کمبود آهن است. ممکن است با احساس سوزش و زخم در گوشه‌های لب مشاهده شود.

به مجموع سوزش و اختلال در بلع و فقرآهن، سندرم پلومر وینسون یا سندرم پاترسون گفته می‌شود. شایع‌ترین ضایعه آناتومیک در فقر آهن ایجاد پرده‌ای مخاطی (Web) در محل اتصال هایپوفارینکس و مری است. شیلوز (شقاق‌هایی در گوشه‌های دهان) و قاشقی شدن ناخن‌ها (Koilonychia) علائمی از فقر آهن پیشرفته هستند. تغییرات در عملکرد ماهیچه ها نیز دیده می شود(شکل ۲-۲).

تشخیص کمبود آهن به طور معمول بر اساس نتایج آزمایشگاهی است.



شکل ۲-۲: علائم بالینی بیماران مبتلا به فقر آهن

A & B ناخن قاشقی شکل. Cترک گوشه لب (شیلیت). D. آتروفی پاپیلای زبان

فریتین

پروتئین ذخیره‌سازی اولیه آهن است که از ۲۴ زیر واحد آپوفریتین تشکیل شده است که یک کره توخالی را تشکیل می‌دهند (هر کدام می‌توانند تا ۴۵۰۰ اتم آهن را در خود جای دهند).کاهش فریتین به کمتر از ۱۲میکروگرم در لیتر نشان دهنده ی تهی شدن ذخایر آهن می باشد اما مقدار نرمال فریتین کمبود آهن را رد نمی کند ، چرا که فریتین در دسته ی پروتئین های فاز حاد است.

هموسیدرین

هموسیدرین که عمدتاً در ماکروفاژها قرار دارد، یک کمپلکس پروتئین-آهن با حلالیت کم در آب با ساختاری آمورف است.

ترانسفرین و رسپتور آن

ترانسفرین حاوی تنها ۴ میلی گرم آهن می‌باشد و پروتئین اصلی انتقال آهن است که توسط آن روزانه بیش از ۳۰ میلی گرم آهن به سراسر بدن منتقل می‌شود. مقادیر نرمال ترانسفرین ۲-۳ گرم در لیتر است و سنتز آن با ذخایر آهن بدن نسبت معکوس دارد و با کاهش ذخایر آهن، غلظت ترانسفرین افزایش می‌یابد. گیرنده ترانسفرین (TFR) یک دایمر متصل به دی سولفید است که از دو زیر واحد ۸۵ کیلو دالتونی یکسان تشکیل شده است. غلظت TFR سرم در کمبود آهن افزایش می‌یابد. با این حال، TFR سرم (sTFR) همچنین ممکن است در هر شرایطی که در آن اریتروپوئزیس افزایش یافته است، افزایش یابد، به عنوان مثال درکم خونی‌های همولیتیک، تالاسمی، پلی سیتمی ورا و سایر اختلالات میلوپرولیفراتیو.

ارزیابی وضعیت آهن

چندین پارامتر در دسترس است:

- غلظت هموگلوبین
- فریتین سرم
- آهن سرم و ترانسفرین (به عنوان ظرفیت اتصال کل آهن(TIBC))
- درصد سلول‌های هیپوکرومیک در خون محیطی
- سنجش پروتوپورفیرین گلبول قرمز (به طور گسترده در دسترس نیست)
- آسپیراسیون مغز استخوان (رنگ آمیزی شده برای آهن) – به عنوان گلد استاندارد
- سنجش گیرنده ترانسفرین محلول (sTFR)

به یاد داشته باشید، کمبود آهن یک پدیده "همه یا هیچ" نیست. در فقر آهن پیش رونده، از دست رفتن تدریجی آهن با تغییرات ظریف پارامترهای مرتبط با آهن وجود دارد که طی آن گلبول‌های قرمز ممکن است کاملاً طبیعی به نظر برسند. در مراحل اولیه ایجاد فقر آهن، ماکروفاژ ها از آهن تهی می‌شوند و فریتین سرم تا مرز پایینی

محدوده طبیعی کاهش می‌یابد؛ در طول این دوره "تاخیر" مقدار هموگلوبین طبیعی است. هر چه فقر آهن پیش می‌رود میزان آهن پلاسما کاهش می یابد و TIBC افزایش می‌یابد. با تجمع پروتوپورفیرین، رها شدن آن از گلبول قرمز (RBC) افزایش می‌یابد و در نهایت گلبول های قرمز هیپوکرومیک در خون محیطی ظاهر می‌شود. در این مرحله شمارش کامل خون (CBC) معمولا کاهش Hb, MCV, MCH, MCHC را نشان می‌دهد و لام خون محیطی گلبول‌های قرمز هیپوکروم میکروسیت را نشان می‌دهد.

تشخیص کم خونی فقر آهن ساده

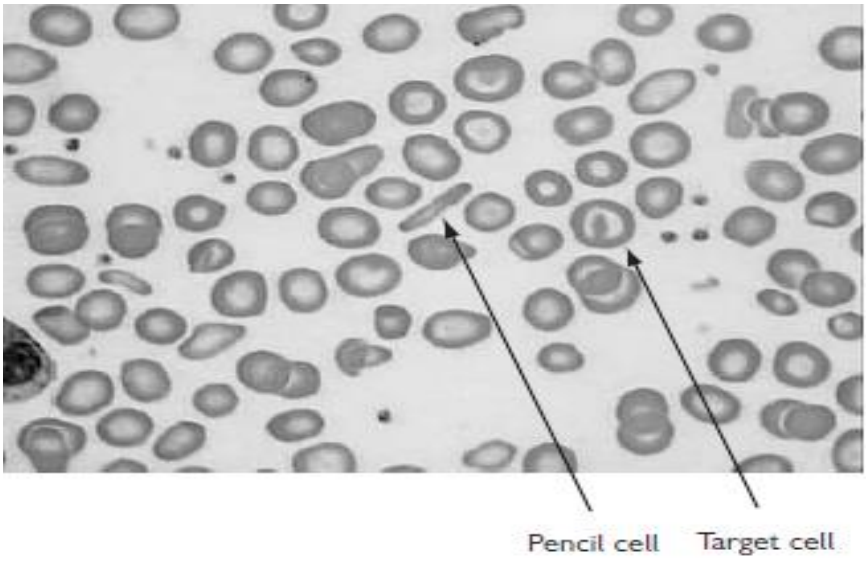
اولین نشانه های آنمی فقر آهن شامل افزایش RDW، کاهش هموگلوبین رتیکولوسیت هاCHr و فریتین اریتروسیت هاست.

- کاهش Hb (عموما کمتر از ۸ گرم در دسی لیتر)
- کاهش HbA2 و HbH
- کاهش فریتین سرم (کمتر از ۱۲ عموما)

توجه کنید: فرتین سرم یک پرونئین فاز حاد است و ممکن است در بیماری التهابی، بدخیمی یا بیماری کبدی طبیعی یا حتی افزایش یافته باشد. در طول پاسخ التهابی نسبت TIBC/آهن بعید است ارزشی داشته باشد (آهن و TIBC کاهش یافته خواهد بود). اگر به یک فرایند التهابی شک وجود داشته باشد، یک آزمایش جایگزین مورد نیاز است، به عنوان مثال sTFR، که تحت تاثیر اختلالات التهابی قرار نمی‌گیرد.

- آهن سرم و TIBC (اما امروزه کم استفاده می‌شود)
- افزایش sTFR
- کاهش MCV (کمتر از ۸۰)
- کاهش MCH و MCHC

- RBCهای میکروسیت و هیپوکروم در لام خون
- RBCهای مدادی شکل و کشیده و باریک
- غیبت آهن مغز استخوان (کاهش تعداد سیدروبلاست ها به کمتر از ۱۰ درصد)
- کاهش درصد اشباع ترانسفرین به کمتر از ۱۵ درصد
- افزایش میزان پرتوپورفیرین آزاد(پروتوپورفین روی)



شکل ۲-۳: لام خون محیطی فرد مبتلا به فقر آهن

به تنوع در اندازه و شکل سلول توجه کنید

جدول ۲-۱: شاخص های تشخیصی آنمی فقر آهن

شاخص	تشخیص فقرآهن
هموگلوبین (Hb)	<130 g/L مردان
	<120 g/L زنان
	<110 g/L در بارداری
فریتین (Ferritin)	<30 µg/L فقدان التهاب
	<100 µg/L در التهاب
ترفسفرین (Transferrin)	افزایش
ظرفیت کل اتصال به آهن (TIBC)	افزایش
آهن (Iron)	کاهش
درصد اشباع ترنسفرین (Transferrin saturation)	<20%
رتیکولوسیت	کاهش
MCV	کاهش
MCH	کاهش
MCHC	کاهش
RDW	افزایش

درمان آنمی فقر آهن

شدت و علت مسبب آنمی فقر آهن مشخص کننده رویکرد مناسب درمانی آن خواهد بود. به عنوان مثال، بیماران مسن علامتدار با آنمی فقر آهن شدید و بی ثباتی قلبی عروقی ممکن است نیاز به تزریق گلبول‌های قرمز داشته باشند. افراد جوانتر که تا حدی آنمی خود را جبران کرده‌اند، را می‌توان به صورت محافظه کارانه‌تری با مکمل-های آهن درمان کرد. مهمترین موضوع در این بیماران، شناسایی دقیق علت فقر آهن است.

در اکثر موارد فقر آهن (زنان باردار، کودک و نوجوانان در حال رشد، بیماران با خون ریزی‌های متناوب و افراد دارای مصرف غذایی ناکافی آهن)، درمان خوراکی آهن

کفایت می‌کند. برای بیماران دارای خون ریزی غیر طبیعی یا سوء جذب، آزمون‌های تشخیصی اختصاصی و درمان مناسب در اولویت قرار دارد. وقتی که تشخیص آنمی فقر آهن و علت آن انجام شود و رویکرد درمانی مناسب آن نیز انجام بگیرد، سه رویکرد درمانی عمده پیش روی ما قرار خواهد داشت که شامل: درمان با آهن خوراکی، درمان با آهن وریدی و تزریق گلبول‌های قرمز می‌باشد.

درمان با آهن خوراکی

در بیماران دچار فقر آهن تثبیت شده و بی علامت، درمان با آهن خوراکی اغلب کافی است. که این درمان با تجویز ۲۰۰ میلی گرم روزانه برای بزرگسالان و ۱,۵ تا ۲ میلی گرم در کودکان شروع می شود. پس از ۱۰ روز نمای اسمیر خون محیطی به صورت دی مورف در می آید(هایپوکروم و نرموکروم)

درمان با آهن وریدی

آهن وریدی را می‌توان برای بیمارانی که قادر به تحمل آهن خوراکی نیستند، دیالیز می شوند و یا نیازهایشان نسبتا حاد است و یا نیاز به آهن در یک جریان مداوم، معمولا به دلیل خون ریزی‌های مداوم گوارشی دارند، تجویز کرد.

دقت کنید که اولین علامت پاسخ به درمان افزایش CHr می باشد.

تزریق گلبول‌های قرمز

درمان با تزریق آهن مخصوص افرادی است که دارای علائم آنمی، بی ثباتی قلبی عروقی و خون ریزی ممتد و زیاد با هر منشا ممکن هستند و نیاز به مداخله فوری دارند. کنترل و درمان این بیماران کمتر به فقر آهن وابسته بوده و بیشتر با نتایج و تبعات آنمی شدید آن‌ها مرتبط است.

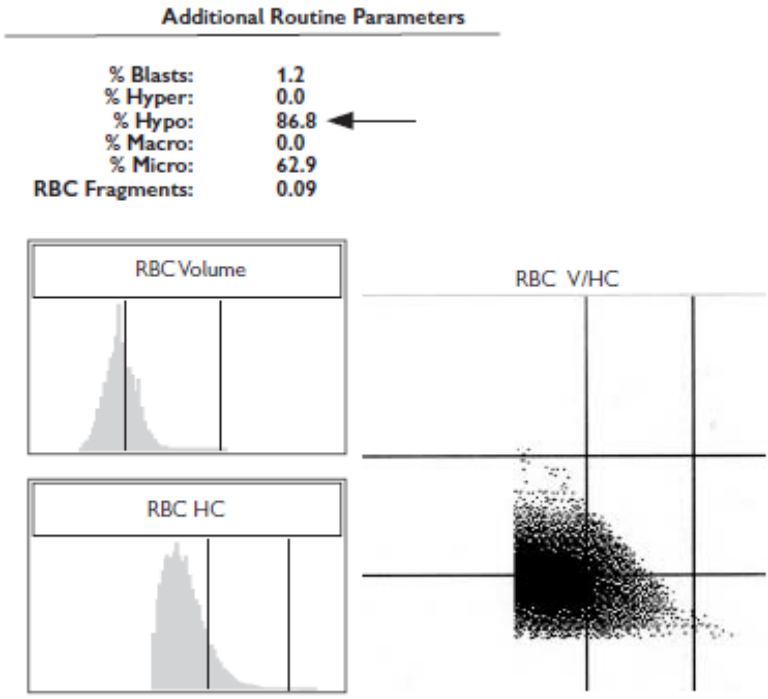
جدول ۲-۲: لیست انواعی از داروهای مورد استفاده برای درمان فقرآهن

فرم	دارو

Ferrous sulphate	قرص
Ferrous gluconate	قرص
Ferrous fumarate	قرص
Sodium feredate (Sytron)	مایع
Ferric maltol (Ferracru)	کپسول
Ferric carboxymaltose (Ferinject)	تزریقی
Ferric derisomaltose (Monofer)	تزریقی
Iron sucrose (Venofer)	تزریقی
Iron dextran (Cosmofer)	تزریقی

تداخلات دارویی

تداخلات دارویی آهن دارای اهمیت بالینی ممکن است در بسیاری از بیماران رخ دهد و شامل تعداد زیادی از درمان‌ها می شود. مصرف همزمان آهن باعث کاهش قابل توجهی در فراهمی زیستی تعدادی از داروها می شود. داروهایی که تحت تاثیر قرار می‌گیرند مانند تتراسایکلین، مشتقات تتراسایکلین (داکسی سایکلین، متاسیکلین و اکسی تتراسایکلین)، پنی‌سیلامین، متیل دوپا، لوودوپا، کاربیدوپا و سیپروفلوکساسین دارای ساختارهای شیمیایی و اثرات بالینی متنوعی هستند. مکانیسم اصلی این تداخلات دارویی، تشکیل کمپلکس‌های آهن-دارو (شلاته شدن یا اتصال آهن توسط داروی درگیر) است. تعداد زیادی از داروهای مهم و رایج دیگر مانند تیروکسین، کاپتوپریل و اسید فولیک کمپلکس های پایداری را با آهن تشکیل می دهند. اطلاعات کمی در مورد اثرات درمان همزمان با مکمل های آهن برای اکثر داروها وجود دارد.



شکل ۲-۴: تشخیص کمبود آهن با توجه به درصد گلبول‌های قرمز هیپوکرومیک

درصد گلبول‌های قرمز هیپوکرومیک (تهیه شده توسط برخی شمارشگرهای خودکار) به تشخیص کمبود آهن کمک می‌کند. توجه داشته باشید که حجم RBC و محتوای هموگلوبین (HC) هر دو به سمت چپ (=گلبول های قرمز کم رنگ کوچک) منتقل می‌شوند

جدول ۲-۳: کم خونی‌های هیپوکرومیکی که ممکن است با فقر آهن اشتباه شوند

اختلال	مثال
اختلالات متابولیسم آهن	آنمی فقر آهن _ از دست دادن خون _ کاهش جذب آهن _ اختلال در انتقال آهن
کم خونی بیماری‌های مزمن	بیماری‌های التهابی مزمن بیماری بدخیم
اختلالات سنتز هم	کم خونی‌های سیدروبلاستیک ارثی آیدیوپاتیک ثانویه (داروها - الکل - مسمومیت با سرب)
اختلالات سنتز گلوبین	تالاسمی‌ها (بتا تالاسمی – آلفا تالاسمی)

آنمی فقر آهن ارثی

آنمی فقر آهن به صورت ارثی نیز به شکل آتوزوم مغلوب می تواند رخ دهد که به صورت جهش در پروتئین DMT1 رخ می دهد که در این حالت افزایش انباشتگی آهن را در کبد مشاهده می شود . در حالتی دیگر جهش در پروتئین گلوتاردوکسین ۵ رخ می دهد که به شکل آنمی سیدروبلاستیک نمایان می شود. در موردی دیگر جهش در ترانسفرین ایجاد شده و با آنمی بسیار شدید فقر آهن همراه است. آنمی فقر آهن مقاوم به درمان نیز با جهش در ماتریپتاز۲ ایجاد می گردد، که به عنوان کاهش دهنده ی هپسیدین است و جهش در آن موجب افزایش بیان پروتئین هپسیدین می گردد.

کیس‌های بالینی فقر آهن

مورد ۱

یک مرد آمریکاییِ افریقایی تبارِ ۲۱ ساله به سفارش پزشک عمومیِ خود برای ارزیابی بیشتر در مورد آنمی مراجعه کرده است. بیمار سابقه ی melena ملنا یا هماتوشزی hematochezia ندارد. هیچ سابقه ای از درد استخوانی موقتی و یا سابقه ی خانوادگی اختلال خونی وجود ندارد. در معاینه ی فیزیکی این مرد جوان، هیچ گونه بزرگی طحال و کبد مشاهده نمی شود.

نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است.

WBC : 6500/ micro L

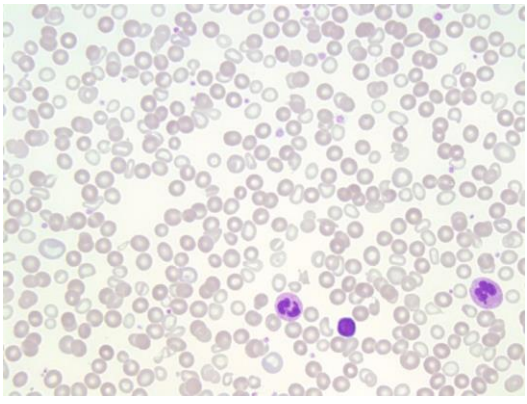
Hb: 7/2 g/dl

MCV: 67 fl

RBC: 2.2 million

PLT: 280000/micro L

لام خون محیطی در شکل زیر قابل مشاهده است.



تفسیر:

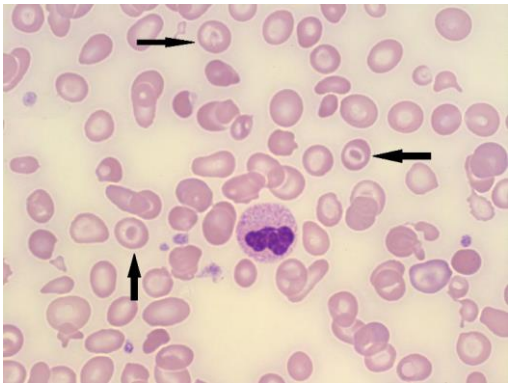
لام خون محیطی نشان دهنده ی گلبول های قرمز میکروسیت و هیپوکروم بدون بازوفیلیک استیپلینگ است. آنمی فقر آهن با RBCهای میکروسیت و هیپوکروم مشخص می شود. در بتا تالاسمی اینترمدیا و ماژور و همین طور خصیصه ی آلفا تالاسمی نیز انتظار بروز میکروسیتوز را داریم با این حال کاهش تعداد گلبول های قرمز در آنمی فقر آهن به صورت پایدارتر مشاهده می شود، در حالی که در اختلال تالاسمی معمولا پلی سایتمی میکروسیتی رخ می دهد و همچنین بازوفیلیک استیپلینگ در RBC ها دیده می شود منظور از پلی سایتمی، افزایش تعداد گلبول های قرمز است.

کیس بالینی

خانمی ۳۰ ساله باردار با علائم خواب آلودگی، خستگی زیاد، دست و پای سرد و سرگیجه به همراه ناخن های تقریبا قاشقی شکل مراجعه کرده است. ضمنا بیمار علاقه زیادی به خوردن مهر دارد. CBC بیمار به شرح زیر است:

- Hb:8 g/dL
- RBC:3 x 10^{12}/L
- MCV:74 fl
- MCH:24 pg
- HCT: 35
- WBC:6000/ µL
- PLT:200000/ µL

تصویر زیر لام خون محیطی بیمار را نشان می دهد. تشخیص شما چیست؟



تفسیر:

با توجه به قاشقی شدن ناخن ها و پیکا خواری، کاهش میزان هموگلوبین خانم به خصوص در دوران بارداری، و با توجه به کاهش اندکس های MCV و MCH و وجود تارگت سل های فراوان در لام خون محیطی بیمار به همراه الیپتوسیت های فراوان ، در صورت بررسی TIBC و Ferritin سرمی ، احتمالا بیمار به فقر آهن مبتلا بوده و به دلیل پیشرفت بیماری به سمت فرم شدید سریعا باید درمان شود.

فصل سوم: آنمی بیماری‌های مزمن

فصل ۳- آنمی بیماری‌های مزمن

مقدمه

اکثر بیمارانی که از عفونت مزمن، التهاب مزمن یا برخی بدخیمی‌های مختلف رنج می برند، دچار کم خونی خفیف تا متوسط می شوند. این کم خونی، کم خونی بیماری مزمن یا کم خونی التهاب مزمن نامیده می شود که با سطح پایین آهن سرم، سطح ترانسفرین پایین تا نرمال و سطح فریتین بالا تا نرمال مشخص می شود. این کم خونی ناشی از اثرات مهاری مستقیم و غیرمستقیم سیتوکین های التهابی بر تولید گلبول های قرمز است. در میان سیتوکین ها، اینترلوکین ۶ نقش اصلی را ایفا می کند و با افزایش تولید هپاتوسیتی هپسیدین (هورمون تنظیم کننده آهن) عمل می کند. سپس هپسیدین، آزادسازی آهن از ماکروفاژها و سلول‌های کبدی را مسدود می‌کند و دسترسی آهن به گلبول‌های قرمز در حال تکامل را محدود می‌کند. درمان موثر بیماری زمینه ای باعث بازیابی اریتروپوئز طبیعی می شود. هنگامی که این امکان وجود نداشته باشد و درمان ضروری باشد، آزمایشات درمانی نشان داده اند که کم خونی اغلب به دوزهای دارویی اریتروپویتین پاسخ می دهد.

کم خونی بیماری مزمن کلیوی مشابه کم خونی التهابی است، اما از آنجایی که کلیه ها محل غالب تولید اریتروپویتین هستند، پاتوژنز این کم خونی عمدتا تحت تأثیر کمبود نسبی اریتروپویتین است، جایی که غلظت اریتروپویتین در سرم کمتر از حد

انتظار برای شدت کم خونی است. التهاب سیستمیک ناشی از بیماری زمینه‌ای کلیوی، یا ناشی از درمان‌های دیالیز و عوارض آن، به شکلی شبیه به کم‌خونی التهاب، به پاتوژنز کمک می‌کند. غلظت هپسیدین در گردش نیز ممکن است به دلیل کاهش کلیرانس کلیوی آن افزایش یابد. اثرات سرکوب کننده اورمی بر اریتروپوئز و از دست دادن خون ناشی از همودیالیز ممکن است به کم خونی در مرحله نهایی بیماری کلیوی کمک کند. ترکیبی از عوامل محرک اریتروپوئز و آهن داخل وریدی معمولاً در معکوس کردن کم خونی مؤثر است، اما درمان بیش از حد ممکن است پیامدهای کلی را بدتر کند.

جدول ۳-۱: بیماری های شایع مرتبط با کم خونی التهابی

طبقه بندی	بیماری مرتبط با آنمی ناشی از التهاب
عفونت	AIDS/HIV، سل، مالاریا،راستئومیلیت، آبسه‌های مزمن، سپسیس
التهاب	آرتریت روماتوئید، سایر اختلالات روماتولوژیک، بیماری‌های التهابی روده، سندرم پاسخ التهابی سیستمیک
بدخیمی	کارسینوم، مولتیپل میلوما، لنفوم
اختلال در تنظیم سیتوکین	کم خونی ناشی از افزایش سن

اصطلاح کم خونی بیماری مزمن (ACD) یا کم خونی اختلالات مزمن به کم خونی خفیف تا متوسط شدید (هموگلوبین [Hgb] 7 تا ۱۲ گرم در دسی لیتر) اشاره دارد که با عفونت های مزمن و اختلالات التهابی و برخی بدخیمی ها همراه است.

نام جدیدتر، کم خونی التهاب (AI) ، نه تنها بیشتر منعکس کننده پاتوفیزیولوژی ACD است، بلکه شامل کم خونی بیماری بحرانی نیز می شود، وضعیتی که مشابه ACD ظاهر می شود اما در عرض چند روز پس از شروع بیماری ایجاد می شود. کم خونی مشابه AI در برخی از افراد مسن در غیاب یک بیماری مزمن قابل شناسایی

مشاهده می شود. این وضعیت گاهی به عنوان کم خونی غیرقابل توضیح سالمندان یا کم خونی ناشی از پیری نامیده می شود.

AI با تولید ناکافی گلبول‌های قرمز در شرایط کم آهن سرم و ظرفیت اتصال کم آهن (یعنی ترانسفرین کم) با وجود حفظ یا حتی افزایش ذخایر آهن ماکروفاژ در مغزاستخوان مشخص می شود. گلبول های قرمز معمولاً نرموسیت نورموکرومیک هستند اما می توانند هیپوکروم خفیف و میکروسیت باشند. کم خونی بیماری بحرانی می تواند به طور حاد (در عرض چند روز) در مراکز مراقبت های ویژه ایجاد شود که در آن اثرات عفونت یا التهاب با از دست دادن خون یا تخریب گلبول های قرمز مرتبط با بیماری یا با علل ناشناخته تشدید می شود، که به خودی خود آنقدر شدید نیستند که باعث کم خونی شوند. کم خونی ناشی از افزایش سن در افراد مسن زمانی تشخیص داده می شود که یک کم خونی نورموکرومیک نرموسیتی با آهن سرم پایین و ذخایر آهن حفظ شده بدون بیماری زمینه ای شناسایی شده ایجاد شود. بیماران مسن‌تر در این زیرمجموعه تعریف‌شده معمولاً دارای نرخ رسوب (ESR) و/یا پروتئین واکنش‌گر C (CRP)افزایش یافته و غلظت بالای اینترلوکین6-(IL) پلاسما هستند.

کم خونی بیماری مزمن کلیه (CKD) معمولاً با پیشرفت بیماری مزمن کلیوی ایجاد می شود و به طور کلی با کاهش کلیرانس کراتینین شدیدتر می شود. کم خونی مشابه AI ظاهر می شود، اما از آنجا که کلیه محل اصلی تولید اریتروپویتین (EPO) در بزرگسالان است، تخریب پیشرونده و فیبروز کلیه ها باعث کمبود نسبی EPO می شود که اغلب بر پاتوژنز این کم خونی غالب می شود. بیماران مبتلا به بیماری کلیه پلی کیستیک حداقل تا حدی از کم خونی در امان هستند، در حالی که بیماران مبتلا به نفرکتومی دوطرفه به شدت تحت تاثیر کمبود EPO هستند. التهاب سیستمیک، کمبود آهن واقعی و کاهش کلیرانس هپسیدین از پیامدهای شایع بیماری زمینه ای و درمان های دیالیز هستند و یک یا چند مورد از این عوامل اغلب کم خونی را بدتر می کنند یا پاسخ به درمان EPO را کاهش می دهند.

پاتوژنز

در شرایط مزمن، IA عمدتاً ناشی از ناتوانی بدن در افزایش تولید گلبول های قرمز برای جبران کاهش نسبتاً اندک در بقای گلبول های قرمز است. در حالت پایدار، تولید گلبول های قرمز به اندازه کافی زیاد است به طوری که کم خونی حاصل، خفیف تا متوسط است. کم خونی مرتبط با بیماری حاد، پاتوژنز مشابه سایر اشکال IA دارد، اما شاید به دلیل تخریب گسترده‌تر گلبول‌های قرمز و فلبوتومی تشخیصی که در این شرایط رایج است، با سرعت بیشتری ایجاد می‌شود.

تخریب سلول های قرمز

مطالعات انسانی نشان می دهد که گلبول های قرمز AI تزریق شده در گیرندگان طبیعی طول عمر طبیعی دارند، اما گلبول‌های قرمز طبیعی تزریق شده طول عمر کمتری در گیرندگان AI دارند. این یافته نشان می دهد که افزایش تخریب گلبول های قرمز در اثر فعال شدن فاکتورهای میزبان مانند ماکروفاژها ایجاد می شود که گلبول های قرمز پیر را از جریان خون خارج می کنند. این توضیح با غلبه گلبول های قرمز جوان در AI سازگار است. اینکه آیا عوامل بیرونی، مانند سموم باکتریایی و داروها، یا آنتی‌بادی‌های مشتق شده از میزبان یا مکمل‌ها در این فرآیند نقش دارند، ناشناخته است.

اثرات سرکوب کننده التهاب بر پیش سازهای اریتروپوئیتیک

برخی از سیتوکین ها، عمدتاً فاکتور نکروز تومور α-(TNF)، IL-1، و اینترفرون ها، اثر سرکوب کننده ای بر تشکیل کلونی اریتروئید دارند. تولید بیش از حد اینترفرون-γ با کاهش طول عمر گلبول‌های قرمز و کاهش اریتروپوئز بدون هیچ گونه شواهدی از محدودیت آهن، تولید گلبول های قرمز را در مدل موش سرکوب می کند. مشخص نیست که این مکانیسم ها تا چه حد و تحت چه شرایطی به IA انسانی کمک می کنند.

ترشح ناکافی اریتروپویتین و مقاومت در برابر اریتروپویتین

پاسخ طبیعی به افزایش تخریب گلبول های قرمز، کم خونی گذرا و به دنبال آن افزایش تولید EPO و افزایش جبرانی متعاقب آن در گلبول‌های قرمز است. توضیح پیشنهادی برای پاسخ ناکافی مغزاستخوان در AI، تولید کمتر EPO از آنچه که بر اساس سایر انواع کم خونی انتظار می رود، است. مطالعات بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و AI نشان داد که سطح EPO افزایش یافته است اما کمتر از کمخونی فقرآهن (IDA) است. یافته ها در بیماران مبتلا به کم خونی مرتبط با تومورهای جامد یا بدخیمی های خونی مشابه بود. با این حال، این مقایسه‌ها اثر قوی کمبود آهن را در هیپوکسی در نظر نگرفتند. این اثر می‌تواند تولید EPO را در IDA بالاتر از سایر انواع کم‌خونی افزایش دهد و باعث شود تولید EPO در AI در مقایسه کم به نظر برسد. در حمایت از فرضیه سرکوب EPO، آزمایش‌هایی با رده‌های سلولی تولیدکننده EPO نشان می‌دهد که تولید هورمون توسط سیتوکین‌های التهابی از جمله TNF-α و IL-1 مهار می‌شود. مهار توسط اثرات فاکتور رونویسی GATA-1 بر پروموتر ژن EPO انجام می شود، و سرکوب تولید EPO می تواند توسط یک مهار کننده GATA معکوس شود.

در مقابل، کمبود نسبی EPO اغلب یکی از عوامل اصلی کم خونی CKD است. بیشتر بیماری های مخربی که بر کلیه ها تأثیر می گذارند، آزادسازی EPO را نیز کاهش می دهند. در کلیه، فیبروبلاست‌های بینابینی احتمالاً منبع اصلی EPO هستند، اما هویت سلول‌های تولیدکننده EPO در کلیه بحث‌برانگیز است، عمدتاً به این دلیل که تولید پایه EPO بسیار کم است و روش‌های فوق حساس برای تشخیص آن مورد نیاز است. در پاسخ به کم خونی یا هیپوکسی، تعداد سلول های کلیوی تولید کننده EPO افزایش می یابد. در CKD پیشرفته، کلیه‌ها در مرحله پایانی فیبروز قرار می‌گیرند که طی آن این فیبروبلاست‌ها ممکن است به میوفیبروبلاست‌ها تبدیل شوند که توانایی خود را برای تولید مقادیر مناسب EPO در پاسخ به هیپوکسی از

دست می دهند. التهاب همچنین یک عامل قوی در پاتوژنز کم خونی CKD است. بیمارانی که بیماری کلیوی همراه با التهاب داشتند، به طور متوسط ۸۰ درصد دوزهای بالاتر EPO نسبت به بیماران با کمبود ساده اولیه EPO ناشی از بیماری کلیوی نیاز داشتند.

محدودیت اریتروپوئیز به عنوان نتیجه ای از در دسترس نبودن آهن

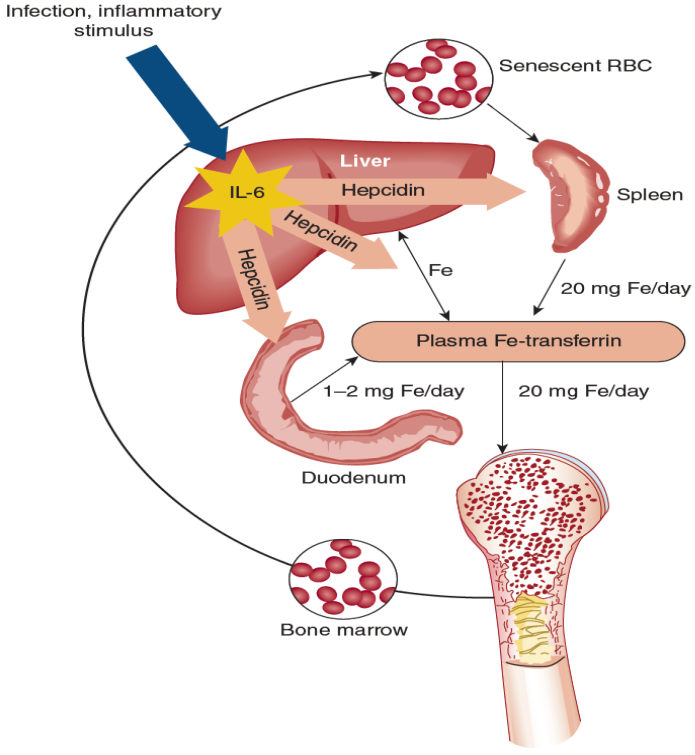
اینترلوکین-۶، هپسیدین و هیپوفرمی

هیپوفرمی (کاهش سطح آهن در گردش)، یکی از ویژگی های مشخص IA، که در عرض چند ساعت از شروع التهاب ایجاد می شود. اگرچه مطالعات قبلی در مورد واسطه‌های سیتوکین هیپوفرمی التهاب بی‌نتیجه بود، مطالعات بعدی نشان داد که پاسخ به IL-6 وابسته است که هورمون تنظیم‌کننده آهن، هپسیدین را القا می‌کند. تزریق IL-6 به داوطلبان انسانی باعث آزادسازی هپسیدین در عرض چند ساعت و همزمان ایجاد هیپوفرمی می شود. اکنون به نظر می رسد که محور IL-6-hepcidin مسئول ایجاد هیپوفرمی در طول التهاب باشد. با این حال، این مطالعات سهم بالقوه سایر سایتوکین‌ها، از جمله اکتیوین B و اینترفرون-γ، را در AI در بیماری‌های انسانی یا مدل‌های پیچیده‌تر موش رد نمی‌کنند.

وابسته بودن غلظت آهن سرم به آهن آزاد شده از ماکروفاژها وهپاتوسیت ها

در حالت ثابت، تقریباً تمام ۲۰ تا ۲۵ میلی‌گرم آهنی که روزانه وارد حوضچه آهن پلاسما/ترانسفرین می‌شود، از بازیافت ماکروفاژهای گلبول‌های قرمز پیر و از ذخایر آهن هپاتوسیتی ناشی می‌شود. تنها حدود ۱ تا ۲ میلی گرم، از آهن رژیم غذایی تامین می شود. فقط تقریباً ۲ تا ۴ میلی گرم آهن به ترانسفرین متصل می شود، اما کل جریان روزانه آهن از این محفظه عبور می کند. بنابراین آهن این محفظه هر چند ساعت یکبار برمی گردد. در طول التهاب، آزادسازی آهن از ماکروفاژها و احتمالاً از

ذخایر کبدی به طور قابل توجهی مهار می شود. در طول التهاب، IL-6 باعث تولید هپسیدین می شود که به نوبه خود آزادسازی آهن را از ماکروفاژها (و احتمالاً از سلول های کبدی) مهار می کند و منجر به هیپوفرمی می شود. هپسیدین با اتصال به مولکول‌های فروپورتین مرتبط با غشای سلولی که تنها مجرای انتقال آهن هستند، عمل می‌کند و باعث درونی‌سازی و تخریب فروپورتین می‌شود. با افزایش غلظت هپسیدین، فروپورتین کمتری برای انتقال آهن موجود است و آزادسازی آهن به پلاسما از ماکروفاژها، هپاتوسیت ها و انتروسیت ها کاهش می یابد(شکل ۳-۱)



شکل ۳-۱: نمودار اثر التهاب بر غلظت آهن در پلاسما

فلش هایی با برچسب "هپسیدین" نقاط کنترلی را نشان می دهد که هپسیدین از جریان آهن به داخل محفظه ترانسفرین پلاسما جلوگیری می کند.

اریتروپویزیس در کم خونی التهاب توسط آهن محدود می شود

به عنوان یک مرحله میانی در طول سنتز هم، آهن به پروتوپورفیرین IX وارد می شود. روی، یک لیگاند جایگزین پروتوپورفیرین است. در کمبود آهن، مقادیر بیشتری روی به پروتوپورفیرین وارد می شود. در AI، پروتوپورفیرین روی نیز افزایش می یابد. آهن ناکافی به محل‌های سنتز هم در گلبول‌های قرمز در حال رشد می‌رسد و منجر به جایگزینی روی می شود. علاوه بر این، تعداد سیدروبلاست ها، پیش سازهای گلبول های قرمز هسته دار، در AI کاهش می‌یابد. نشانه دیگری از نقش محدودکننده آهن در بیماران مبتلا به AI اما بدون وجود شواهدی دال بر کمبود آهن این است که مصرف همزمان آهن تزریقی می تواند مقاومت AI در برابر EPO را برطرف کند. تلاش‌ها برای درمان IAتنها با آهن معمولاً کمتر موفقیت‌آمیز بوده است، زیرا آهن به سرعت در محفظه ماکروفاژ به دام افتاده است.

در زمینه کم خونی CKD، افزایش پروتوپورفیرین روی و کاهش Hgb رتیکولوسیت نیز مشخصه کمبود آهن عملکردی در طی اریتروپوزیس شدید تحریک شده توسط دوزهای دارویی مشتقات EPO است.

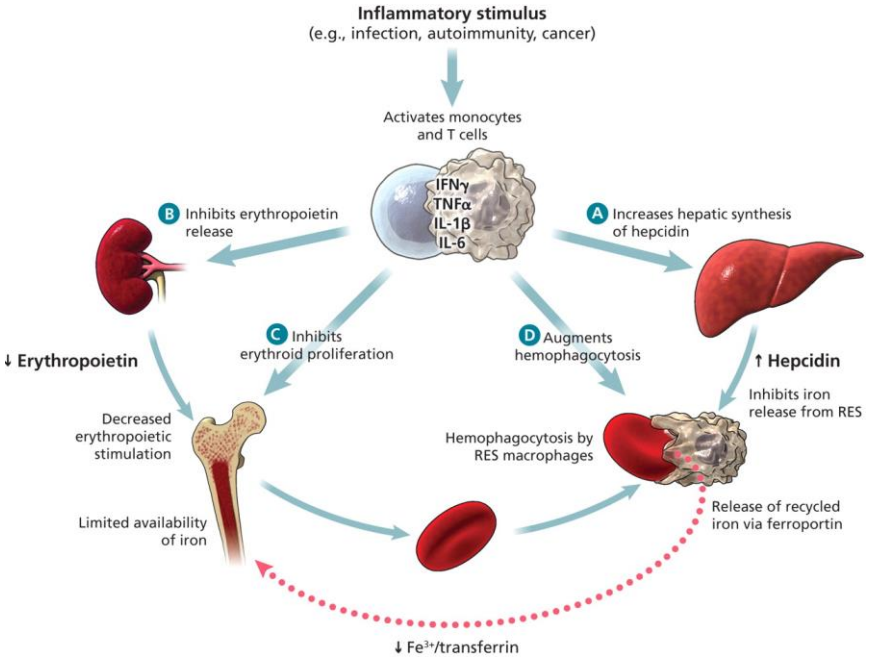
مهار جذب روده ای آهن و سایر عوامل ایجاد کننده کمبود سیستمیک آهن

در IA طولانی مدت، گلبول های قرمز می توانند هیپوکرومیک و میکروسیتیک شوند، به این دلیل که کاهش تدریجی ذخایر آهن محدودیت آهن را بدتر می کند. جذب روده ای آهن در طول التهاب توسط مکانیسم واسطه IL-6 و هپسیدین مهار می شود. تنها ۱ تا ۲ میلی گرم آهن مورد نیاز روزانه برای اریتروپوئز از رژیم غذایی تامین می شود و بیشتر بزرگسالان ۴۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی گرم ذخایر آهن دارند. بنابراین، زمان قابل توجهی برای تخلیه آهن ذخیره شده مورد نیاز است. کمبود آهن واقعی می تواند در نهایت در بیماری های التهابی مزمن ایجاد شود، به ویژه در کودکانی که

ذخایر آهن کمتری دارند و به دلیل رشد بدن نیاز بیشتری به آهن دارند، یا در شرایطی که سطح IL-6 بالاست، مانند آرتریت مزمن نوجوانی با شروع سیستمیک. کم خونی در این کودکان با افزایش EPO مناسب همراه بود، اما به جایگزینی آهن خوراکی پاسخ نداد. کم خونی، حداقل تا حدی، با آهن تزریقی اصلاح شد.

در کم خونی CKD، چندین عامل اضافی ممکن است در کمبود آهن واقعی نقش داشته باشند، از جمله مسدود شدن جذب آهن روده ای توسط غلظت های بالاتر هپسیدین به دلیل کاهش کلیرانس کلیوی آن و از دست دادن خون ناشی از همودیالیز، فلبوتومی برای مطالعات آزمایشگاهی و خونریزی مخفی گوارشی.

بنابراین می توان گفت که IA در درجه اول نتیجه کاهش اندک بقای گلبول های قرمز و جداسازی آهن در ماکروفاژ است که منجر به اریتروپوئیزیس محدود شده با آهن می شود. بسته به بیماری زمینه‌ای، این وضعیت با تولید ناکافی EPO، اثر سرکوب‌کننده التهاب بر پیش‌سازهای اریتروپوئیتیک یا کاهش ذخایر آهن ترکیب می‌شود. کم خونی CKD تحت تأثیر نارسایی نسبی EPO است، اما التهاب و از دست دادن خون نیز به پاتوژنز آن کمک می کند.



شکل ۳-۲: شمای کلی پاتوژنز آنمی بیماری های مزمن

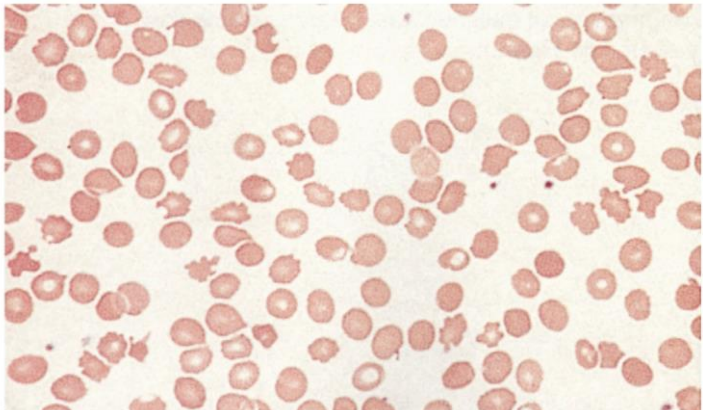
در بیماری های التهابی، سیتوکین های آزاد شده توسط لکوسیت‌های فعال و سایر سلول ها اثرات متعددی را اعمال می کنند که به کاهش سطح هموگلوبین کمک می کند: (الف) القای سنتز هپسیدین در کبد (به ویژه توسط اینترلوکین-۶ همراه با اندوتوکسین). هپسیدین به نوبه خود به فروپورتین متصل می شود، منافذی که اجازه خروج آهن را از ماکروفاژهای رتیکولواندوتلیال و سلول های اپیتلیال روده می دهد. اتصال هپسیدین منجر به درونی سازی و تخریب فروپورتین می شود. جداسازی مربوطه از آهن در ماکروفاژها دسترسی آهن به پیش سازهای اریتروئیدی را محدود می کند. (ب) مهار آزادسازی اریتروپویتین از کلیه (به ویژه توسط اینترلوکین-۱ β و فاکتور نکروز تومور (TNFα). تکثیر خونساز تحریک شده توسط اریتروپویتین به نوبه خود کاهش می یابد. (ج) مهار مستقیم تکثیر پیش سازهای اریتروئیدی (به ویژه توسط TNFα، اینترفرون گاما (IFNγ) و IL-1β. (د) تقویت اریتروفاگوسیتوز توسط ماکروفاژهای رتیکولواندوتلیال توسط TNFα. (RES: سیستم رتیکولواندوتلیال)

ویژگی های بالینی

تظاهرات بالینی AI و کم خونی CKD معمولاً با علائم و نشانه های بیماری زمینه ای پنهان می شوند. کم خونی متوسط (Hgb <10 گرم در دسی لیتر) می تواند علائم بیماری ایسکمیک قلبی یا بیماری تنفسی قبلی را تشدید کند یا به خستگی و عدم تحمل فعالیت کمک کند. کم خونی درمان نشده شدیدتر که عمدتاً با CKD دیده می شود، ممکن است باعث خستگی شدید، تنگی نفس در هنگام فعالیت و نارسایی احتقانی قلب با خروجی بالا شود. تشخیص بر اساس ویژگی های بالینی است که در ارتباط با ناهنجاری های معمول آزمایشگاهی یافت می شود.

ویژگی های آزمایشگاهی

گلبول های قرمز در AI و کم خونی CKD معمولاً نرموسیتیک و نورموکرومیک هستند، اما با افزایش شدت یا طول مدت، گاهی اوقات می توانند هیپوکرومیک و در نهایت میکروسیتیک شوند. شمارش رتیکولوسیت مطلق طبیعی است یا کمی افزایش می یابد.



شکل ۳-۳: لام خون محیطی در نارسایی مزمن کلیه

آکانتوسیت‌های درشت و بور سل را نشان می‌دهد.

هیپوفرمی، کاهش غلظت آهن سرم، یکی از ویژگی های مشخص AI است و در غیاب آهن درمانی، معمولاً در کم خونی CKD نیز دیده می شود و ظرف چند ساعت پس از شروع عفونت یا التهاب شدید ایجاد می شود. بر خلاف IDA که در آن غلظت ترانسفرین افزایش می یابد، غلظت پروتئین اتصال دهنده آهن، ترانسفرین (که به عنوان ظرفیت اتصال کل آهن اندازه گیری می شود) در AI به طور متوسط کاهش می یابد. کاهش غلظت ترانسفرین به دلیل نیمه عمر طولانی تر ترانسفرین (۸ تا ۱۲ روز) در مقایسه با گردش آهن پلاسما (تقریباً ۹۰ دقیقه) کندتر از کاهش سطح آهن سرم ایجاد می شود.

غلظت فریتین سرم، که منعکس کننده ذخایر آهن و التهاب است، در AI افزایش می یابد اما در فقر آهن کاهش می یابد. بنابراین، فریتین سرم در تشخیص افتراقی در بیماران با غلظت آهن سرم پایین مفید است. کمبود ذخایر آهن در بیماران مبتلا به التهاب همزمان ممکن است منجر به سطوح فریتین متوسط شود؛ زیرا فریتین یک پروتئین فاز حاد است و سیتوکین های التهابی سنتز فریتین را افزایش می دهند. در این شرایط، اگر غلظت فریتین کمتر از ۶۰ میکروگرم در لیتر باشد، باید به کمبود آهن شک کرد. سطوح گیرنده ترانسفرین محلول (sTfR) با افزایش تقاضای مغزاستخوان اریتروئید برای آهن افزایش می یابد، اما التهاب ممکن است اثر سرکوب کننده مستقیمی بر sTfR داشته باشد. در نتیجه، sTfR درفقر آهن افزایش می‌یابد، اما برخلاف فریتین، در طول عفونت یا التهاب تغییری نکرده یا کاهش می‌یابد. اگرچه این ویژگی ها باید sTfR را به تنهایی یا در ترکیب با فریتین به یک پارامتر تشخیصی مفید تبدیل کند، استفاده از sTfR در عمل به دلیل استانداردسازی ناکافی و گزارش های متناقض از کاربرد بالینی آن با مشکل مواجه شده است. نشانه امیدوارکننده دیگری که ممکن است AI را از فقر آهن سیستمیک متمایز کند، هپسیدین سرم است، زیرا سطوح بسیار پایین هپسیدین سرم در شرایط هیپوفرمی، تشخیص فقر آهن سیستمیک است.

غلظت‌های پایین فریتین سرم نشان‌دهنده کمبود آهن در کم‌خونی CKD است، اما غلظت طبیعی یا حتی بالا فریتین مانع از پاسخ بالینی (افزایش Hgb) پس از درمان تزریقی با آهن نمی‌شود. در این تنظیمات، سطوح بالای فریتین ممکن است تا حد زیادی منعکس کننده التهاب باشد، و ممکن است برای غلبه بر "کمبود آهن عملکردی"، یعنی تامین آهن کافی برای اریتروپوئز که توسط دوزهای دارویی متناوب EPO یا مشتقات آن تجویز می شود، نیاز به افزایش آهن باشد.

جدول ۳-۲: ویژگی های آزمایشگاهی کم خونی بیماری مزمن

هموگلوبین	کمتر از ۹۰ گرم در لیتر نیست
متوسط حجم جسمی	معمولاً ۷۷-۸۲) نرمال یا اندکی کاهش یافته است fL)
MCH	معمولاً عادی؛ گاهی کاهش یافته است
آهن سرم	کاهش یافته است
ظرفیت کل اتصال آهن TIBC (ترانسفرین)	کاهش یافته است
اشباع ترانسفرین	به طور ملایم کاهش می یابد
فریتین سرم	طبیعی یا افزایش یافته است
هپسیدین سرم و ادرار	افزایش یافته است
پروتئین واکنشی C	معمولاً افزایش می یابد
سدیمان گلبول های قرمزESR	معمولا افزایش می یابد
پروکلسی تونین	افزایش می یابد
sTFR	نرمال

رنگ آمیزی آهن مغز استخوان

آسپیراسیون مغز استخوان یا بیوپسی به ندرت برای تشخیص AI مورد نیاز است. به طور کلی، مغز استخوان طبیعی است، مگر اینکه بیماری زمینه ای تصویر را تغییر دهد. مهم ترین اطلاعاتی که از آزمایش مغز استخوان به دست می آید، میزان و توزیع آهن است. آهن در آماده سازی مغز استخوان می تواند به عنوان آهن ذخیره در سیتوپلاسم ماکروفاژها یا به عنوان آهن عملکردی در سلول های قرمز هسته دار یافت شود. در افراد عادی، چند پارتیکل رنگ شده با آبی پروس را می توان در داخل یا در مجاورت بسیاری از ماکروفاژها یافت. تقریباً یک سوم گلبول‌های قرمز هسته‌دار دارای یک تا چهار اجسام انکلوزیون آبی هستند و به این سلول‌ها سیدروبلاست می‌گویند. در فقرآهن سیدروبلاست و آهن ماکروفاژ وجود ندارند. در مقابل در AI ، سیدروبلاست ها کاهش یافته یا وجود ندارند، اما آهن ماکروفاژ افزایش می یابد. افزایش آهن ذخیره شده در ارتباط با کاهش سطح آهن در گردش و کاهش تعداد سیدروبلاست ها مشخصه AI است. اگرچه رنگ‌آمیزی مغز استخوان را می توان استاندارد طلایی برای تشخیص افتراقی AI و کمبود آهن در نظر گرفت، ناراحتی بیماران در این روش، گزارش های تغییرپذیری در تفسیر و در دسترس بودن گسترده سنجش فریتین سرم، استفاده از رنگ‌آمیزی مغز استخوان را در این زمینه کاهش داده است.

تشخیص های افتراقی

اکثر بیماران مبتلا به عفونت های مزمن، بیماری های التهابی یا اختلالات نئوپلاستیک، کم خون هستند. تشخیص AI تنها در صورتی باید انجام شود که کم خونی خفیف تا متوسط باشد، آهن سرم و ظرفیت اتصال به آهن پایین باشد و فریتین سرم بالا باشد. کم خونی CKD در بیماری کلیوی خفیف نادر است اما در مرحله نهایی بیماری کلیوی شایع و اغلب شدید است.

بیماری‌های زمینه‌ای، بیماری‌های همراه و درمان‌های آن‌ها می‌توانند باعث بسیاری از انواع کم‌خونی شوند، بنابراین سایر علل بالقوه باید در نظر گرفته شوند.

۱. سرکوب مغز استخوان ناشی از دارو یا همولیز ناشی از دارو می تواند عفونت ها، اختلالات التهابی، CKD و سرطان را پیچیده کند.

هنگامی که مغز استخوان با داروهای سیتوتوکسیک یا واکنش سمی ایدیوپاتیک سرکوب می شود، آهن سرم افزایش و تعداد رتیکولوسیت ها کم می شود. در همولیز، تعداد رتیکولوسیت ها، هاپتوگلوبین، بیلی روبین و لاکتات دهیدروژناز اغلب افزایش می یابد.

۲. از دست دادن مزمن خون باعث تخلیه ذخایر آهن و کاهش آهن سرم و فریتین سرم می شود اما ترانسفرین را افزایش می‌دهد. هنگامی که AI و از دست دادن خون مزمن با هم وجود دارند، فریتین سرم معمولاً نشان دهنده اختلال غالب است، اگرچه سطح آن می تواند در نتیجه خود التهاب افزایش یابد. از دست دادن خون مزمن ناشی از همودیالیز یا خونریزی مخفی گوارشی در کم خونی CKD شایع است و اثر کاهنده آن بر فریتین ممکن است با التهاب همزمان پنهان شود.

آزمایش مدفوع برای خون مخفی و جستجوی دیگر منابع از دست دادن خون از جمله فلبوتومی تشخیصی، از دست دادن ادرار و منوراژی، که اغلب منبع خونریزی را مشخص می کند نادیده گرفته شده است. که تشخیص این موارد می تواند در تعیین نهایی بیماری کمک کننده باشد.

۳. اختلالات غدد درون ریز، از جمله کم کاری تیروئید و پرکاری تیروئید، نارسایی بیضه و دیابت، می تواند با کم خونی نرموسیتی مزمن و نورموکرومیک همراه باشد. مگر اینکه التهاب یا کمبود آهن همزمان وجود داشته باشد، آهن سرم باید در این اختلالات طبیعی باشد.

۴. کم خونی ناشی از تهاجم متاستاتیک به مغزاستخوان، تومورها می تواند علامت بدخیمی باشد. کم خونی می تواند در صورت تشخیص قبلی کارسینوم یا لنفوم ایجاد شود و به خودی خود با میزان آهن سرم طبیعی یا افزایش یافته همراه باشد. لام خونی اغلب غیر طبیعی بوده و با پویکیلوسیت ها، گلبول های قرمز قطره ای شکل، نرموبلاست ها یا سلول های میلوئید نابالغ همراه است. معاینه مستقیم مغز استخوان برای ایجاد تشخیص ضروری است.

۵. تالاسمی مینور یکی از علل شایع کم خونی خفیف در بسیاری از نقاط جهان است. می توان آن را با IA اشتباه گرفت. میکروسیتوز در این افراد مادام العمر است و معمولاً در این گروه از اختلالات شدیدتر از AI است.

۶. کم خونی ترقیقی در بارداری و در بیماران با افزایش شدید سطح پروتئین پلاسما در نتیجه مولتیپل میلوما یا ماکروگلوبولینمی مشاهده می شود.

جدول ۳-۳: تشخیص افتراقی انواع کم خونی های هیپوکروم

	Iron deficiency	Chronic disease	Thalassaemia trait (α or β)	Sideroblastic anemia	IRIDA
MCV/MCH	↓	↓ or N	↓	↓ (congenital) ↑ N (Acquired)	↓

Serum iron	↓	↓	N	↑	↓
TIBC	↑	↓ or N	N	N	
Transferrin saturation	↓	↓	N	↑	↓
Serum ferritin	↓	N or ↑	N	↑	**N**
Serum TFR	↑	N	N	N or ↑	↑
Serum hepcidin	↓	↑	N	↓	**N or ↑**
Bone marrow iron stores	↓	N or ↑	N	N or ↑	↑
Erythroblast iron	↓	↓	N	Ring forms	

IRIDA, iron refractory iron deficiency anaemia; MCH, mean corpuscular haemoglobin; MCV, mean corpuscular volume; N, normal; TFR, transferrin receptor; TIBC, total iron-binding capacity.

درمان

کم خونی که در محیط عفونت، التهاب یا بدخیمی ظاهر می شود، نیاز به مطالعات تشخیصی کافی برای رد علل برگشت پذیر و بالقوه تهدید کننده تر، مانند خونریزی پنهان دارد. کمبود آهن، ویتامین B12 و فولات؛ همولیز؛ و واکنش دارویی اگر پس از چنین مطالعاتی بتوان آنمی را به عنوان AI تعیین کرد، درمان موثر بیماری زمینه ای کم خونی را برطرف می کند. اگر درمان بیماری زمینه ای مؤثر نباشد و بیمار علائم یا عوارض پزشکی منتسب به کم خونی داشته باشد، باید یک یا چند روش درمانی خاص برای کم خونی موجود در نظر گرفته شود. این توصیه‌ها برای کم‌خونی CKD نیز قابل استفاده است.

درمان اختصاصی برای AI و کم خونی CKD از تزریق گلبول های قرمز، عوامل محرک گلبول قرمز (ESAs) و آهن داخل وریدی استفاده می کند. هنگامی که کم خونی متوسط تا شدید است و بیمار علائم حاد دارد، از تزریق گلبول های قرمز برای اصلاح AI یا کم خونی CKD استفاده می شود. از آنجایی که درمان با ESA ها اغلب به طور موثر کم خونی مزمن را درمان می کند، اما ممکن است خطر حوادث

ترومبوآمبولی را افزایش دهد، دستورالعمل هایی برای استفاده مناسب از این عوامل پیشنهاد شده است.

درمان کم خونی التهاب

درمان EPO برای درمان AI در زمینه سرطان های مختلف، میلوم متعدد و سایر بدخیمی های هماتولوژیک، آرتریت روماتوئید، و بیماری های التهابی روده آزمایش شده است.

در بیشتر گزارش‌ها، بیش از ۵۰ درصد بیماران افزایش Hgb را بیش از ۲ گرم در دسی لیتر تجربه کردند. به دلیل گزارش‌هایی مبنی بر افزایش خطر ترومبوآمبولی در بیمارانی که این داروها را دریافت می‌کنند، پزشکان باید به دقت خطرات ترومبوآمبولی را در بیمارانی که ESA برای آنها تجویز می‌شود، ارزیابی کنند. ادامه درمان ESA بیش از ۶ تا ۸ هفته در صورت عدم پاسخ، مفید به نظر نمی رسد و درمان با EPO باید قطع شود. پایش پایه و دوره ای آهن، ظرفیت اتصال کل آهن، اشباع ترانسفرین، یا سطوح فریتین و جایگزینی آهن در صورت نیاز ممکن است در محدود کردن نیاز به EPO، به حداکثر رساندن بهبود علائم برای بیماران، و تعیین دلیل عدم پاسخگویی کافی به EPO ارزشمند باشد.

درمان کم خونی بیماری مزمن کلیه

برای بیماران بزرگسال، این دستورالعمل‌ها توصیه می شود که یک بیمار تازه کم خون مبتلا به CKD باید مطالعات آزمایشگاهی برای رد کمبود ویتامین B12 و فولات انجام دهد و اگر اشباع ترانسفرین آنها برابر یا کمتر از ۳۰ درصد و فریتین برابر یا کمتر از ۵۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر باشد، یک کارآزمایی درمانی آهن وریدی انجام شود. پس از انتشار دستورالعمل‌ها، توصیه برای کارآزمایی آهن IV از یک کارآزمایی تصادفی‌شده حمایت شد که نشان می‌دهد درمان با آهن وریدی نیاز به سایر مدیریت‌های کم خونی از جمله ESAs را به تاخیر می‌اندازد یا کاهش می‌دهد. با این

حال، معیارهای ورود برای این کارآزمایی محدودتر از معیارهای موجود در دستورالعمل ها بود. دستورالعمل‌ها در ادامه توصیه می‌کنند که درمان فردی با ESAs ممکن است زمانی شروع شود که غلظت Hgb به کمتر از ۱۰ گرم در دسی‌لیتر برسد و به گونه‌ای تنظیم شود که Hgb بیش از ۱۱,۵ گرم در دسی‌لیتر نباشد، مگر اینکه بیمار کیفیت زندگی را در سطوح بالاتر Hgb درک کند (نه بیش از ۱۳ گرم در دسی لیتر) و مایل به پذیرش خطرات افزایش یافته باشد.

استفاده کمکی از آهن داخل وریدی با اریتروپویتین

این استفاده از آهن IV یک استراتژی درمانی تجربی بر اساس این ایده است که وقتی تولید گلبول های قرمز مغز استخوان از نظر دارویی تحریک می شود آهن محدود می شود. در برخی موارد کمبود آهن پنهان همراه با IA وجود دارد. در شرایط دیگر، ذخایر محدود آهن ممکن است با شروع تجویز EPO تخلیه شوند. مطالعات نشان داد اند که در بیماران همودیالیزی با فریتین بالا، اشباع ترانسفرین پایین (کمتر از ۲۵ درصد) و بالاتر از حد متوسط نیاز به EPO، مکمل آهن در درمان EPO با یک دوره بارگیری ۱ گرمی گلوکونات آهن داخل وریدی منجر به افزایش اندکی در Hgb و کاهش دوز EPO می شود.

استفاده از آهن وریدی، به دلیل توانایی آن در کاهش استفاده از ESAs در حال حاضر در بیماران CKD که تحت همودیالیز هستند، بدون اجماع واضح در مورد نشانه‌ها و خطرات بالقوه این استراتژی، یک روش معمول است. نگرانی هایی وجود دارد که مکمل آهن در AI یا CKD ممکن است حساسیت به عفونت ها را افزایش دهد، اما مطالعات اپیدمیولوژیک به نتایج ثابتی در مورد این خطر نرسیده اند. استفاده از دوزهای بالای آهن در بیمارانی که کاتترهای داخل وریدی دارند ممکن است با افزایش عفونت همراه باشد.

جدول ۳-۴: انواع درمان کم خونی بیماری مزمن

روش ها	نشانه ها	شرایط	خطر و عوارض جانبی	مزایای خاص

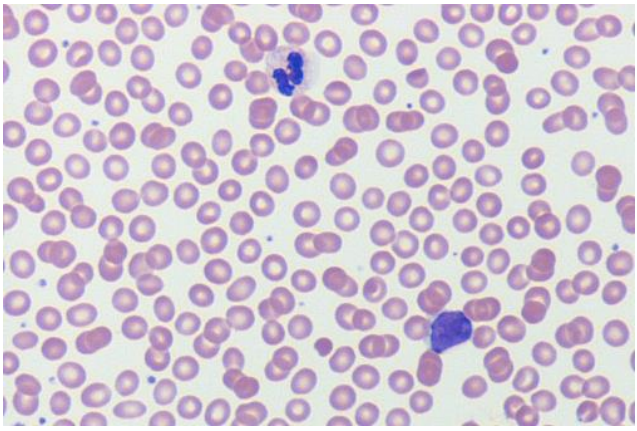
انتقال خون	• ایسکمی قلبی • عدم پاسخگویی به سایر روش ها	• Hgb <10 g/dL • درد قفسه سینه و تغییرات الکتروکاردیوگرام	• عفونت ها • اضافه بار حجمی • واکنش انتقال خون	• اصلاح سریع کم خونی
اریتروپوئتین	• خستگی، عدم تحمل فعالیت	• Hgb <10 g/dL • علائم کم خونی • تعادل در برابر عوارض جانبی در Hgb 10-12 g/dL	• پاسخ چند هفته طول می کشد • آپلازی نادر گلبول قرمز همراه با برخی از اشکال اریتروپویتین • ممکن است در برخی از سرطان ها نتیجه را بدتر کند • افزایش حوادث ترومبوآمبولی • گران بودن	• معمولاً به خوبی تحمل می شود، نسبتاً ایمن است
آهن (خوراکی یا تزریقی)	کمبود آهن همزمان مقاومت به اریتروپویتین (تحقیقی)	کمبود آهن مشکوک یا مستند	• عوارض گوارشی (خوراکی) • واکنش های سیستمیک و موضعی (تزریقی) • ممکن است مقاومت در برابر عفونت ها را کاهش دهد	• ارزان، نسبتاً ایمن

کیس بالینی

تصویر زیر لام خون محیطی بیمار مبتلا به روماتیسم را نشان می دهد ، داده های آزمایشگاهی نیز به شرح زیر می باشد:

Hb:9 gr%	MCV:76	MCH: 23	RDW:14
SFe: 40	TIBC:270	FER: 100	

به همراه افزایش غیر طبیعی ESR و CRP و پروکلسی تونین



تشخیص احتمالی شما چیست؟

از آن جا که آهن سرم کاهش یافته است و کاهش TIBC نیز دیده می شود ، تصویر لام خون محیطی این بیمار به صورت نرموکروم نرموسیت می باشد و با توجه به تست های التهابی این بیمارکه مثبت شده، احتمال زیاد آنمی بیماری های مزمن از نوع التهاب می باشد.

فصل چهارم: آنمی سیدروبلاستیک

فصل ۴- آنمی سیدروبلاستیک

مقدمه

کم‌خونی‌های سیدروبلاستیک گروهی از کم‌خونی‌های مقاوم را تشکیل می‌دهند که در آن تعداد متغیر سلول‌های هیپوکرومیک در خون محیطی و آهن اضافی در مغز استخوان وجود دارد. حداقل ۱۵ درصد از اریتروبلاست‌های در حال رشد در مراحل اولیه کم خونی حاوی گرانول‌های آهن هستند که به صورت حلقوی در اطراف هسته قرار گرفته اند. این سیدروبلاست‌های حلقوی (بیش از چهار گرانول دور هسته ای در هر سلول و پوشش یک سوم یا بیشتر از محیط هسته) ویژگی تشخیصی کم‌خونی هستند. سیدروبلاست‌های حلقوی ممکن است جمعیت کوچکی (کمتر از ۱۵٪) از اریتروبلاست‌ها را در طیف گسترده‌ای از اختلالات بالینی تشکیل دهند.

به طور خلاصه، کم‌خونی‌های سیدروبلاستیک گروه ناهمگنی از اختلالات هستند که به عنوان یک ویژگی مشترک موارد زیر را در بر میگیرند:

(۱) تعداد زیادی سیدروبلاست پاتولوژیک در مغزاستخوان، که به طور مشخص تجمع غیرطبیعی آهن میتوکندری را در دور هسته اریتروبلاست‌ها نشان می دهد که به عنوان سیدروبلاست‌های حلقوی شناخته می‌شوند.

(۲) اریتروپوئز غیرموثر.

(۳) افزایش سطح آهن بافت.

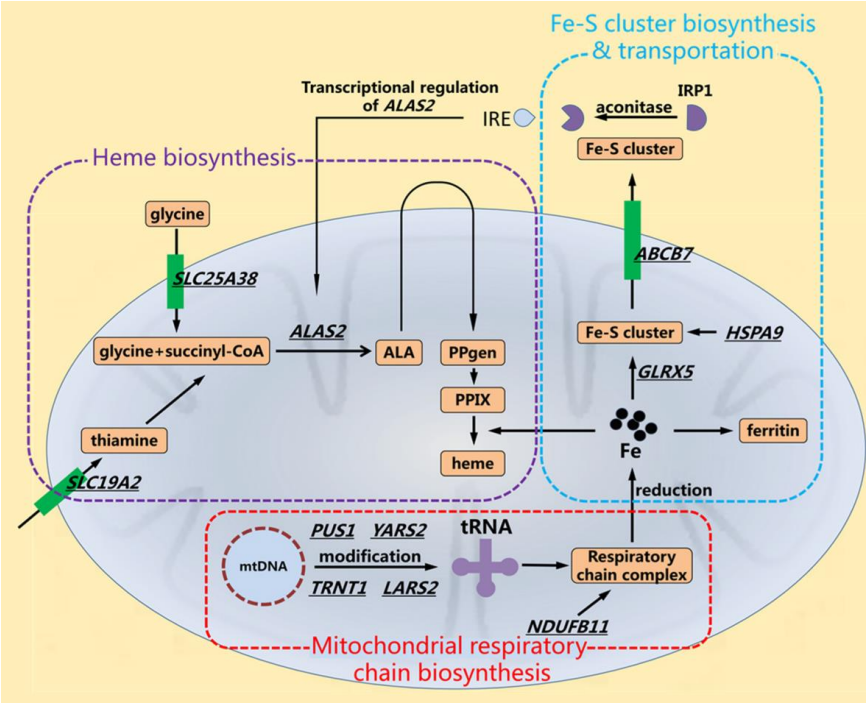
(۴) نسبت‌های مختلف اریتروسیت‌های هیپوکرومیک در خون.

این اختلالات ممکن است اکتسابی یا ارثی باشند. کم خونی سیدروبلاستیک مونوکلونال اکتسابی یک بیماری نئوپلاستیک است. یعنی یک سیتوپنی کلونال یا لوسمی میلوژن الیگوبلاستیک که می تواند به لوسمی حاد تبدیل شود. نئوپلاسم‌های میلوئیدی، که در آن‌ها سیدروبلاست‌های حلقوی یک ویژگی فنوتیپی رایج هستند. کم خونی سیدروبلاستیک پلی کلونال اکتسابی نیز ممکن است در نتیجه تجویز برخی داروها، قرار گرفتن در معرض سموم یا همزمان با بیماری نئوپلاستیک یا التهابی ایجاد شود. کم خونی های سیدروبلاستیک ارثی شامل موارد وابسته به X، اتوزومال و میتوکندریال می‌شوند.

انواع کم خونی سیدروبلاستیک

۱) آنمی‌های سیدروبلاستیک ارثی

اختلالات نادری هستند که عمدتاً در مردان ظاهر می شوند، معمولاً در دوران کودکی یا نوجوانی، اما گاهی اوقات در اواخر زندگی خود را نشان می‌دهند، زمانی که باید از شکل اکتسابی رایج تر به نام "کم‌خونی مقاوم به درمان با سیدروبلاست حلقوی" متمایز شوند. کم‌خونی‌های سیدروبلاستیک ارثی ممکن است تنها کم‌خونی را به عنوان علامت اصلی نشان دهند یا در سندرمی که شامل کم‌خونی در زمینه سایر تظاهرات غیر هماتولوژیک است، وجود داشته باشد(شکل ۱-۴)



شکل ۴-۱: تصویر شماتیک ژن های جهش یافته و پاتوژنز آن در کم خونی سیدروبلاستیک ارثی

آنمی سیدروبلاستیک وابسته به X

۱) جهش های ALAS2

در اکثر خانواده‌های گزارش شده، وراثت از یک الگوی وابسته به X پیروی می‌کند. بیش از ۲۵ جهش مختلف در ژن برای ALAS2 اختصاصی اریتروئید شناسایی شده است. همه از نوع جابه‌جایی تک باز بوده اند. اغلب آنها منجر به تغییر در ساختار پروتئین و در نتیجه باعث بی ثباتی یا از دست دادن عملکرد می‌شوند. این جهش‌ها به صورت پراکنده بر روی اگزون‌های کد کننده دومن فعال کاتالیتیکی پروتئین یافت می شوند. جهش‌های موثر بر پروموتر نیز نشان داده شده است که باعث بیماری می شود. عملکرد ممکن است با تجویز پیریدوکسال فسفات (کوفاکتور ضروری برای

ALAS2) تا حد متغیری بهبود یابد، بهترین پاسخ زمانی رخ می‌دهد که جهش بر دومن متصل شونده به پیریدوکسال فسفات اثر بگذارد. اگر اضافه بار آهن توسط فلبوتومی یا شلاته شدن آهن کاهش یابد، پاسخ بهتری دریافت می‌شود.

زنان حامل آنمی سیدروبلاستیک وابسته به X ممکن است اختلال هماتولوژیک نسبی را نشان دهند، که معمولاً همراه با آنمی خفیف یا بدون آنمی است، اگرچه به ندرت آنمی دیمورفیک شدید رخ می دهد. این امر به تغییر در شدت نقص و همچنین میزان لیونیزاسیون کروموزوم X مبتلا ممکن است بستگی داشته باشد. شروع دیرهنگام در برخی از بیماران نشان می دهد که درجه لیونیزاسیون ممکن است با افزایش سن تغییر کند. افزایش بار آهن همچنین ممکن است نقص در سنتز هم در مردان و زنان مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک را تشدید کند.

بیماران مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک وابسته به X، کم خونی هیپوکرومیک، اغلب میکروسیتی را نشان می‌دهند. ممکن است تعدادی سیدروسیت، نورموبلاست و سلول با بازوفیلی نقطه ای (بازوفیلیک استیپلینگ) در گردش وجود داشته باشد، اما این ویژگی‌ها تنها در صورتی مشخص می‌شوند که طحال برداشته شده باشد. مغز استخوان هیپرپلازی اریتروئید را نشان می دهد و اریتروبلاست‌ها تمایل به میکروسیتی با سیتوپلاسم واکوئله شدن دارند. بیش از ۱۵ درصد سیدروبلاست حلقوی وجود دارد. اریتروپویزیس غیرموثر معمولاً با ناهنجاری‌های استخوانی همراه نیست، اما گاهی برجسته شدن جمجمه و بزرگ شدن استخوان‌های صورت ممکن است وجود داشته باشد. طحال ممکن است بزرگ شده باشد. بیماران ممکن است با اضافه بار آهن شدید حتی زمانی که کم خونی نسبتاً خفیف است، مراجعه کنند، اما در صورت تزریق گلبول قرمز سرعت بارگیری آهن تسریع می شود. اگرچه، اضافه بار آهن، کم خونی را تشدید می کند.

جهش های ABCB7

شکل نادری از کم‌خونی سیدروبلاستیک وابسته به X به دلیل ناهنجاری در ژن ناقل کاست متصل شونده به ATP (ABCB7) ایجاد می‌شود. این شکل با آتاکسی زودرس و غیر پیشرونده مخچه همراه است. یک تمایز تشخیصی مفید وجود افزایش پروتوپورفیرین روی در گلبول های قرمز، علیرغم ذخایر کافی آهن، به جای سطوح پایین/طبیعی موجود در بیماران مبتلا به ناهنجاری های ALAS2 است. بروز کم-خونی خفیف تا متوسط شدید است. کمبود آنزیم باعث ایجاد اختلال در بلوغ کلاستر های سیتوزولی آهن-گوگرد می‌شود. آتاکسی ممکن است به دلیل آسیب آهن به میتوکندری در سلول های عصبی رخ دهد.

آنمی سیدروبلاستیک اتوزومال

۱) میوپاتی میتوکندری و کم‌خونی سیدروبلاستیک

میوپاتی میتوکندری، اسیدوز لاکتیک و کم خونی سیدروبلاستیک (MLASA) از جهشی هموزیگوت در ژن رمزگذاری شده هسته‌ای سودوریدین سنتاز ناشی می‌شود. مانند سندرم پیرسون، نقص‌هایی در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری وجود دارد که بر کاهش دسترسی به فروشلاتاز تأثیر می‌گذارد. جهش‌های مؤثر بر ژن pseudouridylate synthase 1 (PUS1) باعث کمبود سودویوریدیلاسیون tRNA های میتوکندری می‌شود.

محصول ژن YARS2، tRNA-تیروسیل سنتتاز میتوکندریال، نیز ممکن است همان فنوتیپ MLASA را از طریق اختلال عملکرد زنجیره تنفسی ایجاد کند.

ناهنجاری های انتقال دهنده تیامین با میل ترکیبی بالا

ناهنجاری های ژن SLC19A2 که یک ناقل تیامین (THTR-1) را کد می کند، مسئول کم خونی مگالوبلاستی در کنار سیدروبلاستیک پاسخگو به تیامین است.

این جهش، سندرم دیدمود یا ول فرام نام دارد که به صورت اتوزومال مغلوب به ارث می‌رسد، ممکن است دیابت بی مزه، دیابت شیرین، آتروفی بینایی و ناشنوایی (DIDMOAD) را نیز به طور همزمان منجر شود که در درجات مختلف به دوزهای دارویی تیامین (ویتامین B1) پاسخ می دهند. سیدروبلاست‌های حلقوی در تعداد متفاوت معمولاً وجود دارند و شروع آن معمولاً از دوران کودکی است، اگرچه برخی علائم ممکن است در دوران نوزادی وجود داشته باشد. هنوز ارتباط مستقیمی بین حضور جهش و افزایش بار آهن میتوکندری نشان داده نشده است.

جهش گلوتاردوکسین-۵

این آنزیم در تشکیل خوشه آهن-گوگرد شرکت می کند.

دو خانواده با کم خونی میکروسیتیک هیپوکرومیک اتوزومال مغلوب با سیدروبلاست های حلقوی با جهش های ارثی آنزیم توصیف شده اند.

جهش های خانواده حامل املاح ۲۵، عضو ۳۸ (SLC25A38)

این حامل میتوکندری یک ناقل است که ممکن است در انتقال گلیسین به میتوکندری، مرحله ای ضروری در سنتز ALA نقش داشته باشد. جهش در کم خونی سیدروبلاستیک مادرزادی در چندین خانواده از گروه‌های قومی مختلف توصیف شده است. درجه کم خونی که میکروسیتیک و هیپوکرومیک است، معمولاً از دوران نوزادی شدید و وابسته به تزریق خون است. برخی از بیماران با پیوند مغز استخوان آلوژنیک بهبود یافته اند.

جهش های DNA میتوکندری

حذف DNA میتوکندری، که گاهی اوقات با جهش دوتایی همراه است، به عنوان علت سندرم مغزاستخوان-پانکراس پیرسون شناخته شده است، که معمولاً شامل کم خونی سیدروبلاستیک، اختلال عملکرد برون ریز پانکراس و اسیدوز لاکتیک است. پیرسون یک اختلال شدید با شروع زودرس است که معمولاً با عدم رشد، اسهال مداوم

و اسیدوز لاکتیک تظاهر می‌کند. این اختلال همه رده‌های سلولی خون‌ساز را می‌تواند تحت تأثیر قراردهد، و کم‌خونی به طور معمول ماکروسیتیک با واکوئل‌های برجسته در سلول‌های رده میلوئید و اریتروئید مشاهده می شود. DNA میتوکندری دارای کد ژنتیکی خاص خود است و tRNA میتوکندری و RNA ریبوزومی و همچنین چندین پروتئین میتوکندری را کد می کند. در سندرم پیرسون، حذف‌ها ممکن است شامل tRNA و همچنین ژن‌های میتوکندری شوند و بنابراین بر عملکرد تمام پروتئین‌های کدگذاری شده با میتوکندری تأثیر می‌گذارند و باعث از دست دادن قابل توجه عملکرد میتوکندری می‌شوند.

هنوز تعدادی از موارد کم خونی سیدروبلاستیک ارثی وجود دارد که در آنها نقص ژنتیکی اصلی مبهم باقی مانده است، که ممکن است وراثت وابسته به جنس داشته باشد یا نه و اغلب تصویر ماکروسیتی یا دیمورفیک را نشان می دهد.

۲) آنمی‌های سیدروبلاستیک اکتسابی

آنمی‌های سیدروبلاستیک اولیه

کم خونی مقاوم به درمان با سیدروبلاست حلقوی[1]

این مورد شکلی از میلودیسپلازی است و به عنوان یک اختلال کلونال خون‌سازی رخ می‌دهد. این کم خونی اغلب ماکروسیتیک با غلظت افزایش یافته پروتوپورفیرین گلبول قرمز است، برخلاف کم خونی سیدروبلاستیک وابسته به X.هیپرپلازی مشخص اریتروئید ممکن است همراه با افزایش ذخایر آهن وجود داشته باشد. در این بیماران، ناهنجاری در گلبول‌های سفید یا پیش‌سازهای پلاکتی معمولاً وجود ندارد و خطر تبدیل به لوسمی حاد میلوئیدی کمتر از سایر اختلالات میلودیسپلاستیک به نظر می

[1] Refractory Anemia with ring sidroblasts (RARS)

رسد. در کم خونی های رفراکتوری ،گلبول های قرمز ماکروسیت یا دای مورف با نمای میکروسیت و نرموسیت دیده می شود.

جهش‌های سوماتیک ژن SF3B1 اسپلایسوزوم در بیش از ۹۰ درصد بیماران مبتلا به کم‌خونی مقاوم به درمان با سیدروبلاست حلقوی (RARS) یافت شده است و امکان تشخیص با آزمایش مولکولی را فراهم می کند. تعداد کمتری (<۱۵٪) از سیدروبلاست‌های حلقوی ممکن است در بیماران مبتلا به سایر بیماری‌های میلودیسپلاستیک و میلوپرولیفراتیو وجود داشته باشد. نقص‌های اکتسابی DNA میتوکندری ممکن است زمینه ساز ناهنجاری‌های انتقال آهن در کم خونی مقاوم به درمان با سیدروبلاست حلقوی باشد.

آنمی‌های سیدروبلاستیک ثانویه

کم خونی سیدروبلاستیک ممکن است به عنوان عارضه شیمی درمانی ضد توبرکلوزیس، به ویژه با ایزونیازید و سیکلوسرین (آنتاگونیست‌های پیریدوکسین) یافت شود. کم خونی سیدروبلاستیک در الکلیسم در همراهی با سوءتغذیه و کمبود فولات رخ می‌دهد. مکانیسم‌های احتمالی دخیل در این امر شامل تداخل با تشکیل هم و متابولیسم پیریدوکسین است. روند کم خونی با پرهیز از الکل، رژیم غذایی عادی و درمان با پیریدوکسین به سرعت معکوس می‌شود. کلرامفنیکل سنتز پروتئین میتوکندری را مهار می‌کند و در برخی بیماران باعث تشکیل سیدروبلاست حلقوی می‌شود که احتمالاً به پروتئین‌های ساختاری میتوکندری آسیب می‌رساند. در برخی موارد، سیدروبلاست حلقوی در مغز استخوان قابل مشاهده است. سیدروبلاست‌های حلقوی همچنین ممکن است در پورفیری‌های اریتروپویتیک ایجاد شوند. این نوع از کم خونی سیدروبلاستیک در بیماران مبتلا به بدخیمی ، لوسمی، میلوفیبروز و میلوما نیز دیده شده است.

جدول ۴-۱: انواع کم خونی سیدروبلاستیک

Hereditary

X-linked
Erythroid-specific ALAS2 mutations
Associated with spinocerebellar ataxia: mitochondrial ATP-binding cassette (ABCB7) mutations

Autosomal recessive
Thiamine responsive, THTR-1 (SLC19A2) mutations: DIDMOAD syndrome
Glutaredoxin-5 (GLRX5) mutations
Associated mitochondrial myopathy: pseudouridine synthase-1 mutations, YARS mutations
SLC25A38 mitochondrial transporter mutations

Mitochondrial
Pearson (marrow–pancreas) syndrome
Kearns–Sayre syndrome

Acquired

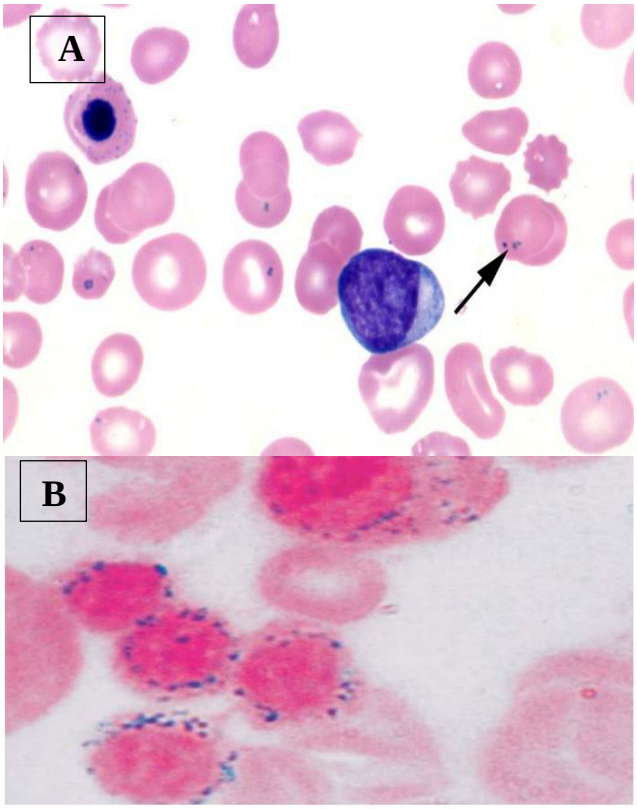
Primary
Refractory anemia with ring sideroblasts (RARS)

Secondary
Drugs: isoniazid, pyrazinamide, cycloserine, chloramphenicol, penicillamine
Mitochondrial toxicity: alcohol, lead poisoning Copper deficiency in systemic disease: carcinoma, rheumatoid arthritis

DIDMOAD, diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy , and deafness

به طور کلی این کم خونی به دو دسته ی ارثی و اکتسابی تقسیم می گردد.

.



شکل ۴-۲: A. اجسام پاپن هایمر. B. نمای سیدروبلاست حلقوی.

A. اجسام پاپن هایمر. بقایای رسوب آهن در سیتوپلاسم RBC هستند. اگر با رنگ آمیزی رومانوفسکی باشند پاپن هایمر بادی گفته میشود و اگر با رنگ آمیزی پرل استین یا پروسین بلو باشد به سلول، سیدروسیت گفته می شود.

B. نمای سیدروبلاست حلقوی. اریتروبلاست‌هایی که حلقه‌های دور هسته‌ای از آهن را نشان می‌دهند (رنگ آمیزی پرل).

پاتوفیزیولوژی

پاتوژنز اکثر کم خونی های سیدروبلاستیک به خوبی شناخته شده نیست. مشخص نیست که آیا مکانیسم اساسی که توسط آن تجمع غیرطبیعی آهن داخل میتوکندری رخ می دهد در اشکال ارثی و اکتسابی بیماری یکسان است یا خیر. با این حال، با توجه به وضعیت کنونی دانش، بهتر است که هر دو شکل را با هم مورد بحث قرار دهیم. پاتوژنز این اختلال را می توان از دو منظر بررسی کرد: ضایعات بیوشیمیایی زمینه ای و مکانیسم های خود کم خونی.

ضایعات بیوشیمیایی و ژنتیکی

در جستجوی ضایعات بیوشیمیایی مسئول ایجاد کم خونی سیدروبلاستیک، توجه بر نقص داخل میتوکندریایی در سنتز هم و اختلالات احتمالی در متابولیسم پیریدوکسین متمرکز شده است.

نقص در سنتز هم

نقش نقص در بیوسنتز هِم از زمان مطالعات اولیه Garby و همکاران، که فرض می کردند چنین نقصی ممکن است وجود داشته باشد، مرحله اصلی را رقم زده است. آنها نشان دادند که سطح پروتوپورفیرین اریتروسیت آزاد کاهش یافته است. پس از آن، انواع ناهنجاری‌های سطوح پیش‌سازها و میزان همراهی آن‌ها با هم ثبت شد. با این حال، همه یافته ها سازگار نبوده اند، زیرا سطح پروتوپورفیرین گلبول های قرمز آزاد اغلب افزایش یافته است، نه کاهش. نقش میتوکندری در علت شناسی آنمی سیدروبلاستیک زمانی که جهش ژنوم میتوکندری در بیماران مبتلا به سندرم پیرسون یافت شد اعتبار بیشتری به دست آورد.

کم خونی های سیدروبلاستیک ارثی

مدت کوتاهی پس از شناسایی ALA سنتاز اختصاصی اریتروئیدی (ALAS2)، اولین آنزیم در سنتز هم، آشکار شد که اکثر بیماران مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک مرتبط با X ارثی (XLSAs) دارای جهش در ژن ALAS2 هستند. با این حال، تعدادی از بیماران مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک مادرزادی دارای توارث اتوزومال مغلوب هستند. حداقل برخی از این بیماران نقص در ژن کدکننده پروتئین حامل میتوکندری اختصاصی اریتروئید SLC25A38 دارند. این ناقل برای بیوسنتز هم در یوکاریوت‌ها مهم است و احتمال داده می‌شود که این پروتئین در انتقال گلیسین به میتوکندری نقش داشته باشد. از این ر، انتظار می رود نقص SLC25A38 فنوتیپی مشابه با آنچه در بیماران مبتلا به نقص در ALAS2 مشاهده می‌شود ایجاد کند. کم‌خونی سیدروبلاستیک ارثی همراه با دژنراسیون مخچه نخاعی همراه با آتاکسی سندرمی نادر مرتبط با X است که به نظر می‌رسد از سایر اشکال کم خونی سیدروبلاستیک متمایز باشد. این بیماری در اثر جهش کاست اتصال به ATP (ABCB7) ایجاد می‌شود. جهش‌های نقطه‌ای هتروپلاسمی در زیرواحد ۱ سیتوکروم اکسیداز میتوکندریایی در برخی از بیماران مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک ثبت شده است.

اشکال اتوزومی نادر کم خونی سیدروبلاستیک ارثی نیز گزارش شده است، از جمله مواردی که کمبود آنزیم های اوروپورفیرینوژن دکربوکسیلاز و فروشلاتاز (FECH) دارند که هر دو برای سنتز هم ضروری هستند. سایر نقص های گزارش شده فروشلاتاز می تواند ناشی از اثر مهاری اضافه بار آهن میتوکندری بر فعالیت آنزیم باشد. نقص در coproporphyrinogen اکسیداز (CPO) را نمی توان با اندازه گیری مستقیم تایید کرد. یک فنوتیپ غیرمعمول با کم خونی سیدروبلاستیک ارثی، تاخیر در رشد با نقایص عصبی متغیر و لنفوپنی سلول B همراه با هیپوگاماگلوبولینمی با علت ناشناخته گزارش شده است.

متابولیسم پیریدوکسین

کم خونی سیدروبلاستیک می تواند توسط داروهایی ایجاد شود که سطح پیریدوکسال فسفات را در خون کاهش می دهد که باعث کاهش فعالیت ALAS2 در نرموبلاست‌ها می شود. علاوه براین، برخی از اختلالات سیدروبلاستیک، اگرچه ناشی از کمبود پیریدوکسین نیستند، با این وجود به دوزهای دارویی پیریدوکسین پاسخ می دهند. پیریدوکسال فسفات کوآنزیمی ضروری برای واکنش اولیه سنتز پروتوپورفیرین، تراکم گلیسین و سوکسینیل کوآنزیم A برای تشکیل ALA است، واکنشی که با واسطه ALA سنتتاز انجام می شود. علاوه بر این، پیریدوکسال فسفات عاملی در تبدیل آنزیمی سرین به گلیسین است. این واکنش شکلی از کوآنزیم فولات را تولید می کند که برای تشکیل تیمیدیلات، مرحله مهمی در سنتز DNA ضروری است. پیریدوکسال ۵'-فسفات، شکل فعال کوآنزیم، خود باید به طور آنزیمی از پیریدوکسین سنتز شود. کمبود در بیوسنتز آن نیز به عنوان علت احتمالی برخی از کم خونی های سیدروبلاستیک مورد استناد قرار گرفته است، اما اندازه گیری مستقیم پیریدوکسال کیناز در تایید وجود ضایعه فرضی ناموفق بود.

سایر نقایص متابولیک و ارتباط اکتسابی با کم خونی سیدروبلاستیک با اهمیت نامشخص

افزایش سطح اوروپورفیرینوژن ۱ سنتاز معمولاً در بیماران مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک مشاهده می شود. الکل به عنوان علتی شایع در کم خونی سیدروبلاستیک ثانویه، سنتز هم را در چندین مرحله مهار می کند. نسبت‌های تغییر یافته فعالیت در طیف وسیعی از آنزیم‌ها توصیف شده‌اند، برای مثال، افزایش فعالیت آرژیناز.

کم خونی سیدروبلاستیک در بیمار مبتلا به آپلازی آشکار گلبول قرمز با واسطه آنتی بادی یافت شده است. تغییرات در الگوهای آنتی ژن گلبول قرمز اغلب با افزایش آنتی ژن i و از دست دادن آنتی ژن A1 وجود دارد.

پاتوژنز تشکیل سیدروبلاست حلقه ای

تجمع آهن در داخل میتوکندری پدیده ای پاتولوژیک و غیرمعمول است که فقط در اریتروبلاست‌های بیماران مبتلا به کم‌خونی سیدروبلاستیک و به میزان بسیار کمتری درماهیچه قلبی بیماران مبتلا به آتاکسی فریدریش رخ می دهد. تجمع آهن میتوکندریایی در بیماران مبتلا به اضافه بارآهن اولیه یا ثانویه نشان داده نشده است. پاتوفیزیولوژی تشکیل سیدروبلاست حلقوی در بیماران مبتلا به نقص ALAS2 و آن‌هایی که ناشی از مهارکننده‌های بیوسنتز پورفیرین هستند، احتمالاً به دلیل جنبه‌های منحصر به فرد تنظیم متابولیسم آهن و سنتز هم در سلول‌های اریتروئید است. این تفاوت‌ها می تواند دلیل تجمع آهن غیرهم در میتوکندری اریتروئیدی بیماران آنمی سیدروبلاستیک باشد.

از این رو، مکانیسم‌ها و کنترل‌های خاص اریتروئید در انتقال آهن به داخل میتوکندری در سلول‌های اریتروئید نقش دارند، اما ماهیت این فرآیندها، از جمله نقش میتوفرین که پروتئین غشای داخلی میتوکندری بوده و احتمالا Fe2+ را به FECH ارائه می‌کند، به خوبی درک نشده است. آهن متصل به ترانسفرین برای سنتز هموگلوبین با کارایی بالایی استفاده می شود و در میتوکندری اریتروئیدی هدف قرار می‌گیرد و از آنجا که هیچ واسطه‌ای برای انتقال آهن سیتوپلاسمی در سلول‌های اریتروئیدی شناسایی نشده است، فرضیه زیر در این مورد پیشنهاد شده است. این مدل فرض می‌کند که آهن آزاد شده از ترانسفرین در اندوزوم مستقیماً از پروتئین به پروتئین منتقل می‌شود تا به FECH برسد، که Fe2+را در پروتوپورفیرین IX در میتوکندری ترکیب می‌کند. چنین انتقالی سیتوزول را دور می‌زند، زیرا حرکت آهن بین پروتئین‌ها می‌تواند با تعامل مستقیم آندوزوم با میتوکندری انجام شود. نتایج

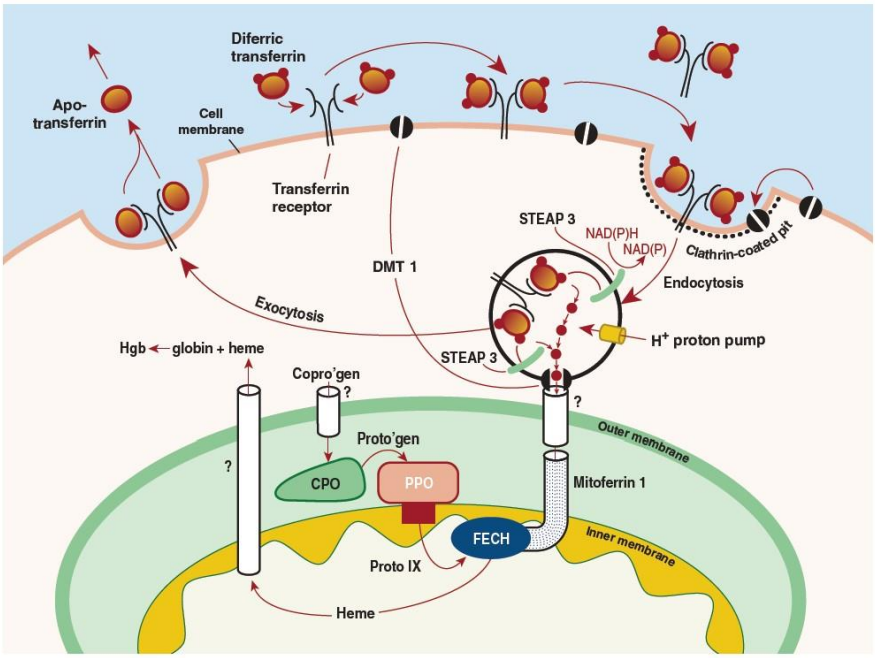
آزمایش‌ها نشان داد که (۱) آهن که از طریق مسیر گیرنده ترانسفرین-ترانسفرین رسپتور(TfR) به میتوکندری می‌رسد، برای شلاته کننده‌های سیتوپلاسمی در دسترس نیست. (۲) آندوزوم‌های حاوی ترانسفرین به سمت میتوکندری‌های سلول‌های اریتروئیدی حرکت کرده و با آنها تماس می‌گیرند. و (۳) حرکت اندوزومی برای انتقال آهن به میتوکندری مورد نیاز است (شکل۳-۴). این مطالعات همچنین نشان داد که آهن سیتوپلاسمی متصل نشده به ترانسفرین به طور ناکارآمد برای بیوسنتز هم استفاده می‌شود و تعامل آندوزوم-میتوکندری آهن قابل شلاته شدن میتوکندری را افزایش می‌دهد.

یک تمایز مهم بین سلول‌های اریتروییدی و غیراریتروئیدی وجود مکانیسم بازخوردی است که در آن هِم غیرمتعهد، جذب آهن از ترانسفرین را مهار می‌کند. اگرچه هنوز مشخص نشده است که هم، اندوسیتوز ترانسفرین را مهار می کند یا آزاد سازی آهن از ترانسفرین را، ولی فقدان هم نقش مهمی در تجمع آهن میتوکندری ایفا می کند. علاوه بر این، آهن غیرهمی که در میتوکندری اریتروئیدی تجمع می‌یابد، نمی‌تواند از اندامک آزاد شود، مگر اینکه در هِم وارد شود. این یافته نشان می‌دهد که میتوکندری‌ها تنها زمانی می‌توانند آهن را آزاد کنند که فلز در فرم شیمیایی مناسب باشد، در این مورد می‌تواند وارد پروتوپورفیرین IX شود. این ملاحظات چارچوبی را برای پاتوژنز تجمع آهن میتوکندری در اریتروبلاست‌های بیماران مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک ناشی از نقص ALAS2 و همچنین موارد ناشی از عوامل مهار کننده بیوسنتز پورفیرین فراهم می‌کند. جالب توجه است که، در سال ۲۰۱۴، فلمینگ و همکارانش نشان دادند که جهش در یک عنصر تقویت کننده در اینترون ۱، ALAS2، که حاوی محل اتصال GATA است، باعث ایجاد فنوتیپ بالینی مشابه بیماران مبتلا به XLSA می‌شود که ناشی از جهش در خود توالی کدگذاری ALAS2 است.

شکل متمایزی از XLSA که با آتاکسی (XLSA/A) همراه است در چندین خانواده با جهش‌های احتمالی در ناحیه کروموزوم Xq13 توصیف شده است. برخلاف بیماری

مرتبط با ALAS2، سندرم XLSA/A با افزایش سطح پروتوپورفیرین IX گلبول قرمز همراه است. نشان داده شد که جهش های ژن ABCB7 مسئول XLSA/A, است. تصور می‌شود پروتئین ABCB7 کلاسترهای آهن-گوگرد (Fe-S) را از میتوکندری به سیتوزول منتقل می کند. این که چگونه ممکن است اختلال در انتقال کلاستر Fe-S مانع بیوسنتز هم شود، مشخص نیست، اما تجمع روی-پروتوپورفیرین IX گلبول قرمز در XLSA/A یافت می‌شود.

نوع دیگری از کم خونی هیپوکرومیک ارثی توصیف شده است (shiraz (sir) zebra fish mutants). این موارد دارای کمبود گلوتاردوکسین ۵ (GLRX5)هستند که توسط یک ژن (GLRX5) کدگذاری شده است که محصول آن برای تشکیل کلاستر Fe-S مورد نیاز است. این مطالعه نشان داد که از دست دادن کلاستر Fe-S در پروتئین تنظیم کننده آهن ۱ (IRP1) ترجمه ALAS2 را با اتصال به عنصر پاسخگو به آهن (IRE) واقع در ناحیه ترجمه نشده ۵' mRNA ژن ALAS2 مسدود می‌کند. متعاقباً یک مورد کمبود GLRX5 در یک مرد کم خون با اضافه بار آهن و تعداد کم سیدروبلاست حلقوی گزارش شد. سطح فریتین پایین و سطح TfR در سلول های این بیمار بالا بود. این را می توان با افزایش اتصال IRP1 به IRE در mRNA های این دو پروتئین توضیح داد.



شکل ۴-۳: تصویر شماتیک جذب آهن از ترانسفرین و تحویل آن به مولکول هموگلوبین

ترانسفرین دی‌فریک خارج سلولی توسط گیرنده ترانسفرین متصل به غشاء (TfR) متصل می شود و از طریق اندوسیتوز با واسطه گیرنده به درون اندوزوم وارد می‌شود. آهن از ترانسفرین با کاهش pH (~ 5.5 pH) و STEAP 3 (آنتی ژن اپیتلیال شش غشایی پروستات ۳-فریک ردوکتاز) کاهش می یابد، به دنبال آن فلز توسط DMT 1 از طریق غشای اندوزومی منتقل می شود. در اریتروئید در سلول‌ها، بیش از ۹۰ درصد آهن باید وارد میتوکندری شود که در آن فروشلاتاز (FECH)، آنزیمی که Fe^{2+}را به پروتوپورفیرین IX وارد می‌کند، روی تیغه داخلی غشای داخلی میتوکندری قرار دارد. انتقال کوپروپورفیرینوژن (Copro'gen) به میتوکندری به طور کامل درک نشده است. نه مکانیسم و نه تنظیم حمل و نقل هم از میتوکندری به پلی پپتیدهای گلوبین شناخته شده نیست. با این حال، تصور می‌شود که یک پروتئین حامل، پروتئین هِم ۱ (ژن: HEBP1)، در این فرآیند نقش دارد.

کم خونی سیدروبلاستیک اکتسابی اولیه (کم خونی مقاوم با سیدروبلاست حلقه - سندرم میلودیسپلاستیک)

پاتوفیزیولوژی کم خونی های سیدروبلاستیک ایدیوپاتیک اکتسابی مرتبط با سندرم میلودیسپلاستیک از XLSA های مورد بحث در بالا متمایز است. در این بیماران شواهدی برای کاهش تشکیل پروتوپورفیرین IX وجود ندارد. در عوض، مقدار پروتوپورفیرین IX به طور متوسط افزایش می یابد. اختلال در کاهش آهن می تواند باعث تجمع آهن داخل میتوکندری در بیماران مبتلا به سندرم میلودیسپلاستیک شود. آهن ردوکتاز STEAP 3 (آنتی ژن اپیتلیال شش غشایی پروستات ۳-فریک ردوکتاز)، در کاهش Fe^{3+}به Fe^{2+}در اندوزوم ها نقش دارد. می توان فرض کرد که تنها یک مرحله کاهش در طول مسیر آهن از اندوزوم ها به FECH وجود دارد. با این حال، قرار دادن کارآمد مولکول‌های آهن در پروتوپورفیرین IX ممکن است همچنان به یک محیط کاهش‌دهنده در میتوکندری نیاز داشته باشد که توسط یک زنجیره تنفسی بدون وقفه ایجاد شود. این پیشنهاد با این واقعیت سازگار است که کم خونی سیدروبلاستیک همراه با سندرم مغز- پانکراس پیرسون ناشی از حذف ژن‌های DNA میتوکندری است که محصولات آنها در انتقال الکترون دخیل هستند. در واقع، حداقل مقداری میلودیسپلازی وجود دارد.

بیماران کم خونی سیدروبلاستیک مرتبط با جهش های اکتسابی در سیتوکروم اکسیداز، کدگذاری شده توسط DNA میتوکندری توصیف شده اند. با این حال، یک مطالعه دقیق نتوانست جهش سیتوکروم اکسیداز را در ۱۰ بیمار مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک مرتبط با میلودیسپلازی پیدا کند. از طرف دیگر، اینها شواهدی هستند مبنی بر اینکه ABCB7 (به بحث بالا در مورد XLSA/A مراجعه کنید) می تواند یک ژن کاندید احتمالی برای تشکیل سیدروبلاست های حلقه ای در کم خونی مقاوم به درمان با سیدروبلاست حلقه ای باشد.

میوپاتی میتوکندری و کم خونی سیدروبلاستیک

برخی شباهت ها و برخی تفاوت ها بین سندرم پیرسون و بیماران مبتلا به میوپاتی میتوکندری و آنمی سیدروبلاستیک (MLASA) وجود دارد. در هر دو مورد، نقایصی

در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری وجود دارد که احتمالاً محیطی را ایجاد می کند که دسترسی آهن به FECH را به شکل کاهش یافته به تاخیر می اندازد. هر دو اختلال ارثی هستند، اما سندرم پیرسون به دلیل حذف زیاد DNA میتوکندری ایجاد می شود، در حالی که MLASA ناشی از یک جهش هموزیگوت نادرست در DNA ژنومی pseudouridine synthase 1 است که توسط ژن PUS1 رمزگذاری شده است. RNA ها (tRNAs) پاتوژنز نوع MLASA کم خونی سیدروبلاستیک را توضیح می دهد.

فریتین میتوکندری یک ایزوفرم فریتین با فعالیت فرواکسیداز است که فقط در میتوکندری بیان می شود. این پروتئین توسط ژن هسته ای بدون اینترون کدگذاری می شود و می تواند آهن را در پوسته ای از هموپلیمرها ذخیره کند. اگرچه عملکرد و تنظیم بیان این پروتئین به طور کامل شناخته نشده است، اما القای فریتین میتوکندری باعث انتقال آهن از فریتین سیتوزولی به فریتین میتوکندری می شود. فریتین میتوکندری در تمام بافت ها به جز بیضه بیان بسیار کمی دارد. اگرچه فریتین میتوکندری در اریتروبلاست های طبیعی بیان نمی شود، اما در سیدروبلاست های حلقوی بیماران مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک ناشی از نقص ALAS2، و همچنین در موارد مرتبط با سندرم های میلودیسپلاستیک بیان می شود. در هر دو، آهن در فریتین میتوکندری جدا می شود. از آنجا که فریتین میتوکندری دارای فعالیت فرواکسیداز است، احتمالاً با تبدیل آهن سمی به آهن ذخیره شده، از میتوکندری محافظت می کند. تحقیقات بیشتری برای توضیح مکانیسم القای فریتین میتوکندری در اریتروبلاست بیماران مورد نیاز است.

با کم خونی سیدروبلاستیک، هم ارثی و هم اکتسابی. اینکه آیا فریتین میتوکندری همچنین آهن را در سیدروبلاست های حلقه بیماران مبتلا به XLSA/A تجمع می کند، هنوز مطالعه نشده است.

تظاهرات بالینی و آزمایشگاهی

آنمی سیدروبلاستیک اکتسابی اولیه (کلونال)

کم خونی در بیش از ۹۰ درصد بیماران وجود دارد. بیماران ممکن است بدون علامت باشند یا اگر کم خونی شدیدتر باشد، علائم غیر اختصاصی کم خونی از جمله رنگ پریدگی، ضعف، از دست دادن سرحالی و تنگی نفس ناشی از فعالیت را داشته باشند. تعداد کمی از بیماران عفونت مرتبط به گرانولوسیتوپنی شدید یا خونریزی مرتبط با ترومبوسیتوپنی شدید در زمان تشخیص دارند؛ با این حال، این نوع از سندرم میلودیسپلاستیک کمترین احتمال نوتروپنی علامت دار، ترومبوسیتوپنی و تبدیل به لوسمی حاد را در میان همه سندرم های میلودیسپلاستیک دارد. هپاتومگالی یا اسپلنومگالی نیز به ندرت در این نوع سندرم میلودیسپلاستیک رخ می دهد.

اضافه بار آهن با این اختلال همراه است، و معمولاً در کسانی که نیاز زیادی به تزریق خون دارند ممکن است علت مرگ باشد.

آنمی سیدروبلاستیک اکتسابی ثانویه

داروها و الکل

تجویز برخی داروها و مصرف الکل ممکن است باعث کم خونی سیدروبلاستیک شود. داروهایی که بیشتر با این نوع کم خونی مرتبط هستند عبارتند از ایزونیکوتینیک اسید هیدرازید، پیرازین آمید و سیکلوسرین، تمام آنتاگونیست های پیریدوکسین. اگر چه سطوح پیریدوکسال فسفات پلاسما اغلب در بیماران الکلی پایین است، هیچ ارتباطی بین این سطوح و ظهور سیدروبلاست‌های حلقوی در مغز استخوان وجود ندارد.

کم خونی ثانویه به دارو ممکن است شدید باشد، حتی نیاز به تزریق خون داشته باشد، اما مشخصاً زمانی که به بیمار پیریدوکسین داده می شود و یا هنگامی که تجویز

داروی دخیل در بیماری قطع می شود، کم خونی به سرعت بهبود می یابد. گلبول‌های قرمز هیپوکرومیک هستند و ظاهر دیمورفیک گلبول های قرمز در لام خون محیطی ممکن است قابل توجه باشد، یعنی دو جمعیت گلبول قرمز را می توان تشخیص داد، هیپوکرومیک و آنیزوسیتیک همراه با نورموکرومیک و نرموسیتیک. تعداد رتیکولوسیت ها کم یا طبیعی است.

کمبود مس

در سال ۱۹۷۴، دو بیمار مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک، یکی نیز با نوتروپنی، به دنبال جراحی وسیع روده و تغذیه طولانی مدت وریدی شرح داده شد.

با سیدروبلاست های حلقوی پس از بای پس معده-اثنی عشر (روش بیلروث II) این بیمار همچنین دارای نوروپاتی بینایی و سایر ناهنجاری‌های عصبی بود. ناهنجاری‌های خونی، برخلاف نقایص عصبی، به طور کامل با درمان مس برطرف شدند. از آن زمان موارد مشابه متعددی، با و بدون ناهنجاری های عصبی گزارش شده است.

آنمی سیدروبلاستیک ارثی

کم خونی سیدروبلاستیک ارثی بسیار نادر است. موارد بیشتری از انواع مرتبط با کروموزوم X نسبت به موارد ظاهراً اتوزومی ارثی ثبت شده است. این اختلال هتروژن است. نوع آتاکسی با اختلال عصبی و معمولاً کم خونی خفیف در مردان مشخص می شود. علائم عصبی شامل آتاکسی، دیسمتری، دیس دیادوکوکینزی (dysdiadochokinesia) ، دیزآرتری و لرزش ارادی که به عنوان سندرم نخاعی-مخچه‌ای شناخته می‌شود در این بیماری مشاهده می‌شود. همچنین ممکن است یک اختلال خفیف ذهنی دیده شود. در برخی از موارد کم‌خونی اضافه بارآهن ارثی، وجود سیدروبلاست ها در مغز استخوان یا ماهیت ارثی این اختلال مستند شده است، در حالی که در برخی دیگر فرض می شود اما به وضوح مستند نشده است.

کم خونی معمولاً در چند ماه اول یا سال‌های اول زندگی آشکار می‌شود. حتی ممکن است قبل از تولد رخ دهد. با این حال، بیمارانی هستند که کم خونی میکروسیتیک در آنها برای اولین بار در دهه هشتم و نهم زندگی آشکار شده و مشخص شد که دارای کم خونی میکروسیتیک و پاسخ به پیریدوکسین هستند که ظاهراً مربوط به جهش های ارثی ژن ALAS2 است.

رنگ پریدگی برجسته ترین یافته ظاهری است. اسپلنومگالی ممکن است وجود داشته باشد، اما به طور کلی یافت نمی‌شود. کم خونی مشخصاً میکروسیتی و هیپوکرومیک است و جمعیت گلبول قرمز دیمورفیک در زنان ناقل مرتبط با جنسیت مشاهده شده است .این امر به عنوان شاهدی از غیرفعال شدن X موثر بر مکان مسئول این اختلال در نظر گرفته شده است، اما قابل توجه است که گاهی اوقات دیمورفیسم مشخص در گلبول های قرمز مردان مبتلا و در اشکال اتوزومی بیماری دیده می شود. درجه آنیزوسیتوز و پویکیلوسیتوز معمولاً قابل توجه است. گاهی اوقات به خصوص در اشکال میتوکندریایی بیماری کم خونی می تواند ماکروسیتی باشد. گلبول‌های قرمز هتروژنی مشخصی را نسبت به مقاومت در برابر لیز اسمزی نشان می‌دهند: منحنی مسطح نشان می‌دهد که سلول‌هایی با مقاومت افزایش‌یافته و کاهش‌یافته در برابر لیز وجود دارند. تعداد گلبول های سفید معمولاً نرمال یا اندکی کاهش یافته است، مگر اینکه طحال برداری انجام شده باشد. سپس ممکن است بسیار بالا رود. اسپلنومگالی در اکثر موارد وجود دارد.

سندرم مغزاستخوان- پانکراس پیرسون یک کم خونی سیدروبلاستیک مقاوم به درمان با واکوئله شدن پیش سازهای مغز استخوان و اختلال در عملکرد قسمت برون ریز پانکراس است. اغلب در دوران نوزادی یا اوایل کودکی کشنده بوده و با نارسایی مغز استخوان همراه با کم خونی سیدروبلاستیک ماکروسیتیک، که به طور معمول وابسته به انتقال خون است، مشخص می شود. نوتروپنی و ترومبوسیتوپنی نیز ممکن است وجود داشته باشد. با این حال، اختلال غیرقابل تغییر برون ریز پانکراس ناشی از فیبروز

و آتروفی آسینار که منجر به سوء جذب مزمن و اسهال می شود، ممکن است در برخی از بیماران مبتلا، ویژگی های غالب عوارض و مرگ و میر سندرم پیرسون باشد.

اسیدوز لاکتیک، ناشی از نقص در فسفوریلاسیون اکسیداتیو و سایر اختلالات اندام، از جمله اختلال کبد، نیز شایع است. علل معمول مرگ عبارتند از سپسیس باکتریایی ناشی از نوتروپنی، بحران متابولیک و نارسایی کبدی. اکثر بیماران در دوران نوزادی می میرند، اگرچه تنوع فنوتیپی قابل توجهی احتمالاً بسته به تعداد میتوکندری های آسیب دیده و توزیع بافت آنها وجود دارد.

مورفولوژی

سیدروبلاست های طبیعی

همه اریتروبلاست‌های طبیعی سیدروبلاست هستند، زیرا حاوی آهن در ساختارهایی به نام سیدروزوم هستند. این ساختارها برای انتقال آهن به منظور سنتز هم (هموگلوبین) ضروری هستند. با میکروسکوپ نوری، تحت شرایط معمول رنگ‌آمیزی آبی پروس برای آهن، تعداد کمی از اریتروبلاست‌های طبیعی (تقریباً ۱۵ تا ۲۰ درصد) را می‌توان به‌عنوان اریتروبلاست‌های حاوی سیدروزوم شناسایی کرد.

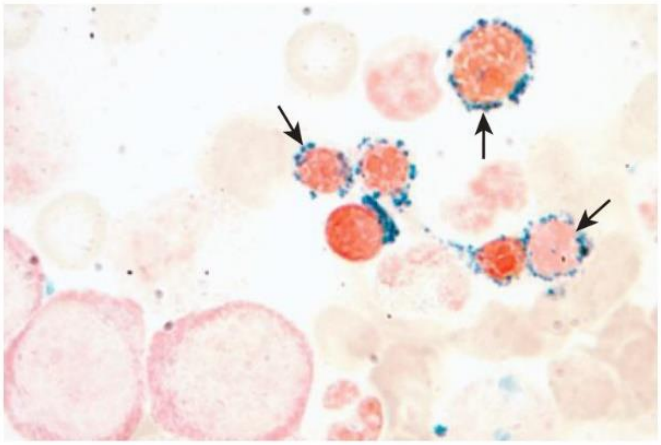
سیدروبلاست های پاتولوژیک

سیدروبلاست های پاتولوژیک دو نوع هستند. یک نوع اریتروبلاستی است که دارای افزایش تعداد و اندازه گرانول های سیدروتیک آبی پروسی در سراسر سیتوپلاسم است. نوع دیگر اریتروبلاستی است که گرانول های حاوی آهنی را نشان می دهد که در یک قوس یا حلقه کامل در اطراف هسته قرار گرفته اند. این سیدروبلاست های پاتولوژیک به عنوان سیدروبلاست حلقوی شناخته می شوند.

مطالعات میکروسکوپی الکترونی نشان می‌دهد که گرانول‌های موجود در سیدروبلاست‌های حلقوی، میتوکندری‌های آهن‌دار هستند. در سلول های دارای آهن

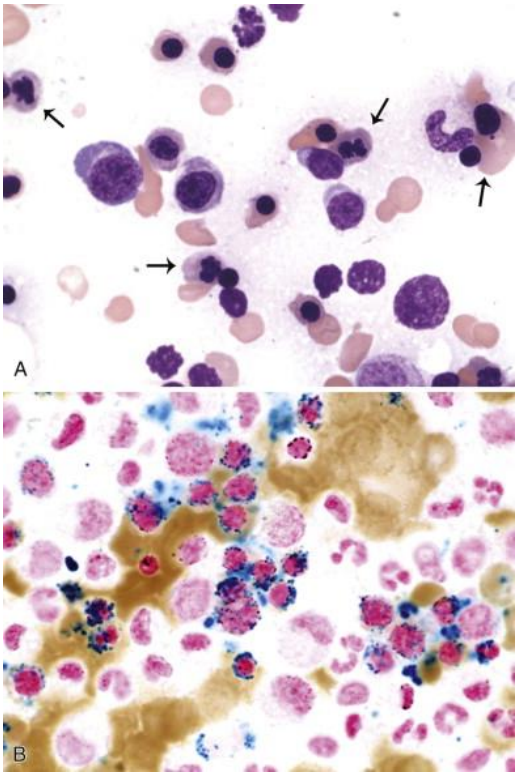
میتوکندری ، بسیاری از مولکول های فریتین بین غشاهای اریتروبلاست مجاور رسوب می کنند.

سیدروبلاست های حلقوی مشخصه کم خونی های سیدروبلاستیک هستند. برخلاف محل طبیعی سیتوپلاسمی گرانول‌های سیدروتیک، سیدروبلاست‌های پاتولوژیک در کم‌خونی‌های سیدروبلاستیک دارای مقادیر زیادی آهن هستند که به صورت میسل‌های گرد و غبار یا پلاک‌مانند بین کریستاهای میتوکندری رسوب می‌کنند. میتوکندری های آهن دار متورم هستند و کریستاهای آنها نامشخص است و شناسایی میتوکندری ها ممکن است به خودی خود دشوار باشد. در انسان، میتوکندری اریتروبلاست به صورت دور هسته ای توزیع می شود، که عامل مشخصه ی سیدروبلاست "حلقوی" است که با رنگ آمیزی آبی پروس شناسایی می شود.



شکل ۴-۴: سیدروبلاست حلقه ای (فلش ها) در مغز استخوان نشان داده شده با رنگ آبی پروس (۱۰۰۰×)

مشاهده ی تغییرات دیس پلاستیک مانند مورفولوژی پلگر کاذب به همراه نوترئفیل های کم لوبه و کم گرانول ، در کنار نمای دی مورفیک (ماکروسیت و نرمال) گلبول های قرمز و وجود سیدروبلاست حلقوی در مغز استخوان نمایانگر سندرم میلودیسپلاستیک است (شکل۴-۴).



شکل ۴-۵: کم خونی سیدروبلاستیک مقاوم به درمان

A. اسمیر مغز استخوان تعداد زیادی پیش سازهای دیس پلاستیک میانی و مراحل آخر رده ی اریتروئید و B .سیدروبلاست های حلقوی پس از رنگ آمیزی با آهن را نشان می دهد.

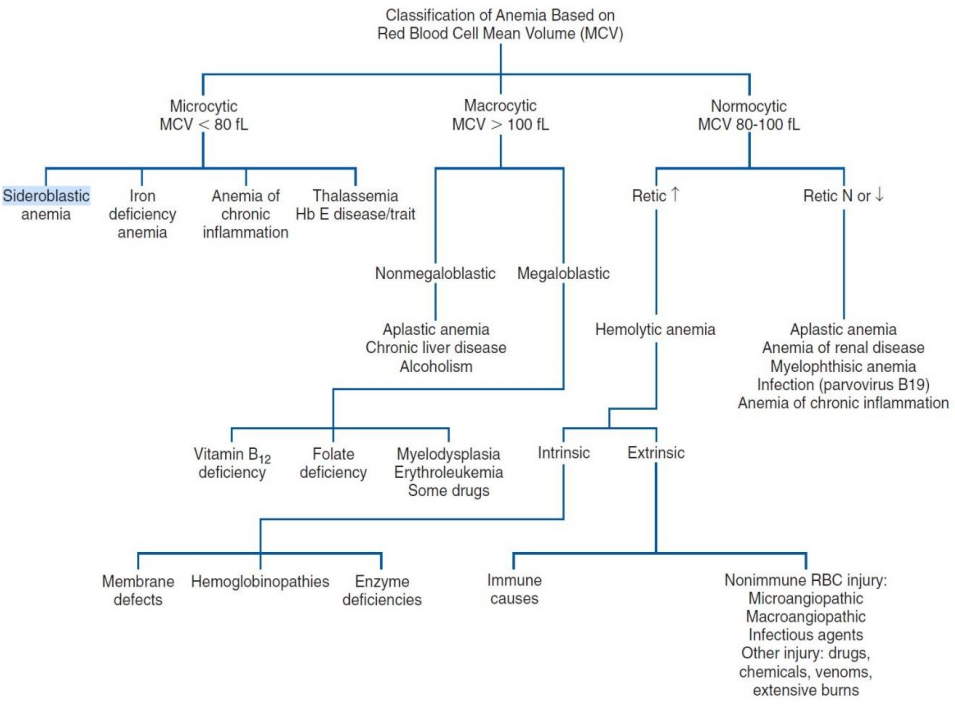
بررسی CBC

شمارش کامل خون (CBC)، اسمیر خون محیطی، مشخصات کامل آهن (مانند فریتین، ترانسفرین و ظرفیت اتصال آهن تام (TIBC)) و آسپیراسیون مغز استخوان برخی از آزمایشات ضروری هستند که باید در طول ارزیابی انجام شوند.

در CBC، تعداد گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها معمولاً طبیعی است. سطوح پایین می تواند نشان دهنده وجود اسپلنومگالی/هیپر اسپلنیسم یا علل زمینه ای احتمالی مانند سندرم میلودیسپلاستیک (MDS) باشد.

تعداد پلاکت ها در نئوپلاسم های میلوپرولیفراتیو/میلودیسپلاستیک با سیدروبلاست حلقوی و ترومبوسیتوز (NMP/MDS-RS-T) افزایش می یابد.

سطح هموگلوبین بین انواع مختلف کم خونی سیدروبلاستیک متفاوت است: در اشکال ارثی، هموگلوبین تمایل دارد برای مدت طولانی ثابت بماند و در کم خونی MDS-RS، می تواند به آهستگی پیشرونده باشد. MCV می تواند ابزار مفیدی در تشخیص کم خونی‌های سیدروبلاستیک باشد. اکثر کم خونی‌های سیدروبلاستیک مادرزادی بر خلاف سندرم های میلودیسپلاستیک با سیدروبلاست حلقوی که معمولاً با کم خونی ماکروسیتیک تظاهر می‌کنند، میکروسیتیک هستند. تعداد رتیکولوسیت‌ها معمولاً نرمال یا کم است که در بیشتر موارد به اریتروپوئز غیر مؤثر تبدیل می شود.



شکل ۴-۶: طبقه بندی آنمی ها بر اساس MCV

درمان

برخی از بیماران مبتلا به کم خونی سیدروبلاستیک وابسته به X به پیریدوکسین که در ابتدا در دوزهای ۱۰۰-۲۰۰ میلی گرم در روز تجویز می شود، پاسخ می دهند. پاسخ معمولاً نسبی است. بیماران ممکن است فقط به دوزهای کوچک (کمتر از ۱۰ میلی گرم در روز) برای حفظ غلظت هموگلوبین بالاتر نیاز داشته باشند. درمان با پیریدوکسین تقریباً همیشه در RARS بی اثر است. با این حال، برخی از کم خونی های سیدروبلاستیک ثانویه ممکن است به طور کامل با پیریدوکسین درمان شوند. این در الکلیسم، کم خونی همولیتیک و انتروپاتی ناشی از گلوتن و همچنین در

بیمارانی که شیمی درمانی ضد سل دریافت می کنند، که در آنها داروها قطع شده و پیریدوکسین تجویز شده است، مشاهده شده است.

سایر اشکال درمان

اسید فولیک ممکن است برای بیماران مبتلا به کم خونی ثانویه مفید باشد. برای بیماران مقاوم به درمان، کم خونی ممکن است پایدار بماند و اگر بیمار وابسته به تزریق خون نباشد، نیازی به درمان نیست.

در فرم اکتسابی آنمی سیدروبلاستیک تیامین در دوز های ۲۵ تا ۷۵ میلی گرم در روز تجویز می گردد که علاوه بر کمک به رفع عوارض آنمی منجر به رفع علائم دیابت و کری (سندرم دیدمود[1]) نیز می گردد.

بیمارانی که نیاز به تزریق منظم گلبول قرمز دارند نیاز به درمان با شلاتور آهن دارند. بار آهن ممکن است کم خونی را تشدید کند و در برخی از بیماران، بهبود کم خونی به دنبال حذف آهن توسط فلبوتومی یا درمان شلاتورهای آهن صورت گرفته است. معمولاً باید از اسپلنکتومی اجتناب شود، زیرا برای کم خونی فایده ای ندارد و منجر به افزایش مداوم تعداد پلاکت ها بعد از عمل می شود و بروز ترومبوآمبولی را بالا می برد. پیوند مغز استخوان ممکن است برای اشکال شدید غیر سندرمی کم خونی سیدروبلاستیک پیشنهاد شود.

تداخلات دارویی

داروهایی که گزارش شده باعث کم خونی سیدروبلاستیک می شوند شامل طبقات مختلفی هستند، مانند موارد زیر:

[1] DIDMOAD (Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy and deafness)

- آنتی بیوتیک ها (به عنوان مثال، کلرامفنیکل، اسید فوزیدیک، لینزولید، تتراسایکلین، ایزونیازید)
- هورمون ها (مثلاً پروژسترون)
- داروهای ضد درد (مانند فناستین)
- عوامل کیلیت مس (مانند پنی‌سیلامین و تریانتین)
- عوامل شیمی درمانی (مانند بوسولفان، ملفالان)
- در اکثر موارد کم خونی سیدروبلاستیک ناشی از دارو، قطع دارو تغییرات سیدروبلاستیک را معکوس می کند.

کیس های بالینی

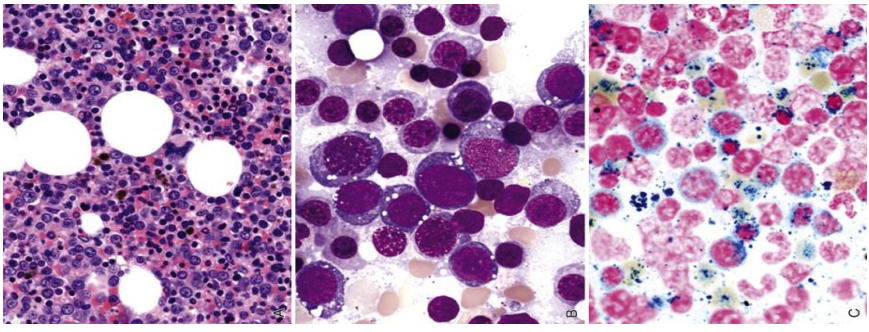
کیس بالینی اول

مردی ۷۹ ساله بدون سابقه‌ی پزشکی خاصی، برای ارزیابی بیشتر در مورد خستگی و ضعف عمومی طی چند ماه اخیر مراجعه کرده است. بیمار منکر تب تعریق و شبانه است. در معاینه‌ی فیزیکی اسپلنومگالی یا لنفانوپاتی وجود ندارد. نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است:

Hb = 10.1 g/dl ،MCV = 110 fl ،WBC= 5,600 /µl ،Plt = 136,000 /µl

لام خون محیطی در شکل زیر قابل مشاهده است.

سطح ویتامین B12 و فولات طبیعی است. بیمار منکر مصرف الکل است. بیوپسی از مغز استخوان نشان دهنده ی هایپرسلولار بودن مغز استخوان است. نمونه ی آسپیره ی مغز استخوان، همراه با نمونه ی رنگ آمیزی شده با پروسین بلو در شکل زیر قابل مشاهده است.



محتمل ترین تشخیص کدام است؟

پاسخ:

آنمی مقاوم به درمان همراه با سیدروبالست‌های حلقوی (RARS)

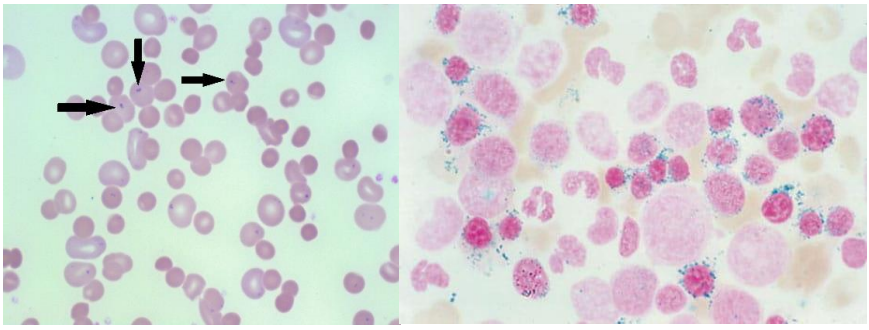
لام خون محیطی نشان دهنده ی گلبول‌های قرمز با مورفولوژی‌های متفاوت شامل اوالوسیت، RBCهای قطره اشکی است. همچنین حداقل دو جمعیت متفاوت از گلبولهای قرمز دیده می‌شود : یک جمعیت، طبیعی هستند و جمعیت دیگر همراه با هیپوکرومی و آنیزوپوئی کیلوسیتوز می‌باشند. در نمونه‌ی مغزاستخوان اریتروپوئز دیس پلاستیک، جوانه زنی هسته، واکوئلهای سیتوپلاسمی در پیش سازهای RBC، گرانولاسیون ناقص در پیشتازهای میلوئیدی و افزایش سیدروبلاست‌های حلقوی مشاهده می‌شود. نشانه ای از فیبروز در مغز استخوان وجود ندارد. این علائم بیشترین تطابق را با RARS دارد.

کیس بالینی دوم

مرد ۵۵ ساله‌ای با سابقه‌ی مصرف زیاد الکل به علت مسمومیت شدید با الکل در بیمارستان پذیرش شده است. معاینه‌ی فیزیکی نشان دهنده‌ی یرقان و هپاتومگالی خفیف است. نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است:

WBC = 25,700 /µl، Hb = 7.7 g/dl، MCV = 103 fl، Plt = 277,000 /µl، Total Bilirubin = 24.5 mg/dl . Direct Bilirubin = 21.7، AST = 229 U/L، ALT = 85 U/L، PT = 18.6'' ، Ferritin = 6,000 ng/ml، mg/dl

مقدار فولات و ویتامین B12 طبیعی است. لام خون محیطی و لام رنگ آمیزی آهن در خون محیطی در شکل زیر قابل مشاهده است.



محتمل ترین علت بروز آنمی چیست؟

پاسخ:

آنمی سیدروبلاستیک (SA) اکتسابی

لام خون محیطی نشان دهنده‌ی RBC های حاوی انکولوزیون‌های کوچک است که در رنگ آمیزی پروسین بلو برای آهن رنگ میگیرند. به این انکولوزیون‌ها اجسام پاپن هایمر گفته می‌شود که لیزوزوم‌هایی حاوی کمپلکسهای آهن- پروتئین هستند. به این گلبول‌های قرمز سیدروسیت گفته میشود. سیدروسیت‌ها معادل سیدروبلاست‌ها در مغز استخوان هستند و در بیماری SA اکتسابی، به علت مصرف زیاد الکل این سلولها در خون محیطی دیده میشوند. این حالت با افزایش ذخایر آهن همراه است. پرهیز از مصرف الکل منجر به ناپدید شدن سیدروسیت ها و بهبود آنمی میشود.

فصل پنجم: آنمی مگالوبلاستیک

فصل ۵- آنمی مگالوبلاستیک

مقدمه

مقدمه نوشته شود

ویتامین B12 (کوبالامین)

ویتامین B12 یک ویتامین محلول در آب است که از منابع غذایی حیوانی به دست می آید. برای سنتز DNA، تولید گلبول‌های قرمز و عملکرد عصبی ضروری است. برای اینکه ویتامین B12 از دستگاه گوارش جذب شود، فاکتور داخلی، گلیکوپروتئینی که توسط سلول های جداری معده ترشح می شود، باید وجود داشته باشد. در صورت کمبود فاکتور داخلی، ویتامین B12 جذب نمی‌شود و کم خونی پرنیشیوز، نوعی کم خونی ماکروسیتیک، رخ می دهد. آزمایش ویتامین B12، همراه با آزمایش اسید فولیک، برای تشخیص کم خونی ماکروسیتیک استفاده می شود. محدوده نرمال بر اساس 2SD در دو طرف میانگین است، بنابراین افراد "عادی" وجود خواهند داشت که سطوح "غیر طبیعی" B_{12} (یا فولات) دارند.

ویتامین B12 دارای ساختمان حلقوی تتراپیرول با اتم کبالت می باشد. در کبد انسان یک میکروگرم ویتامین B12 به ازای هر گرم کبد وجود دارد. جذب این ویتامین به فاکتور داخلی معده وابسته است. کوبالامین به گروهی از گلیکوپروتئین ها به نام ترانس کوبالامین II و هاپتوکورین ها متصل می شود.میزان طبیعی کوبالامین پلاسما ۹۰۰-۲۰۰ ng/L است. نیاز روزانه به کوبالامین ۲-۵ میکروگرم است.

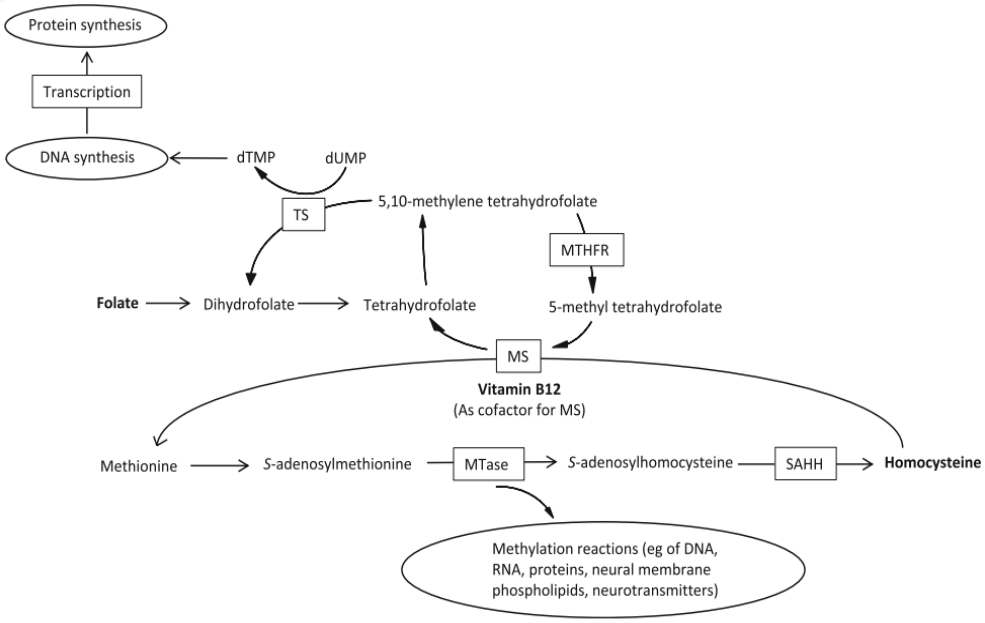
ویتامین B12 نقش کوآنزیمی در واکنش های زیر را به عهده دارد:

۱. سنتز متیونین از هموسیستئین

۲. تبدیل متیل مانولیل کوآ به سوکسینیل کوآ

اسید فولیک

اسید فولیک یک ویتامین محلول در آب است که توسط باکتری‌های روده تشکیل شده و در کبد ذخیره می شود. همچنین می توان آن را در منابع غذایی مانند تخم مرغ، میوه‌ها، سبزیجات برگدار سبز، جگر، شیر، آب پرتقال و مخمر یافت. این ویتامین برای عملکرد طبیعی گلبول های قرمز و گلبول های سفید ضروری است. همچنین در متابولیسم اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها نقش دارد. برای جلوگیری از نقص لوله عصبی در جنین در حال رشد، سطح اسید فولیک کافی برای زنان باردار ضروری است. بدن مقدار بسیار کمی اسید فولیک را ذخیره می کند، بنابراین سطح اسید فولیک ۲۱ تا ۲۸ روز پس از شروع حالت کمبود به کمتر از حد طبیعی می رسد. کاهش سطحی آن در بیماران بستری به دلیل تعادل منفی فولات دیده می‌شود. شکل اصلی اسیدفولیک در کبد و گلبول قرمز به صورت ۵-متیل تتراهیدروفولات است. مقدار فولات سرم ۵ تا ۱۰ میکروگرم در لیتر و در گلبول های قرمز ۱۵۰ تا ۶۰۰ میکروگرم در لیتر است. اسید فولیک در سنتز تیمیدین، سنتز متیونین از هموسیستئین ، سنتز پورین و کاتابولیسم هیستیدین نقش دارد. ویتامین B12 و اسید فولیک هر دو در سنتز DNA نقش دارند. جهت تشکیل شکل فعال اسید فولیک، ۵ و ۱۰ متیلن تترا هیدروفولات، نیاز به حضور ویتامین B12 است. متیلن تترا هیدروفولات کوآنزیمی برای آنزیم تیمیدیلات سنتتاز بوده و منجر به تشکیل دی اکسی تیمیدین مونوفسفات می گردد. بنابراین بخشی از کم خونی ناشی از کمبود B12 با اسید فولیک جبران می شود اما برعکس آن صحت ندارد. (شکل ۱-۵).



شکل ۵-۱: متابولیسم فولات و ویتامین B12

شکل ۵-۱.متابولیسم فولات و ویتامین B12 کاملاً به هم مرتبط هستند، بنابراین کمبود هر یک از این ویتامین‌ها منجر به بسیاری از تظاهرات مشابه می شود.هر دو ویتامین در انتقال تک کربن (متیلاسیون)، که برای تبدیل دئوکسی یوریدیلات به دئوکسی تیمیدیلات ضروری است، نقش دارند.ناکافی بودن فولات یا ویتامین B12 منجر به کاهش تیمیدین موجود برای سنتز DNA می شود و تقسیم و تکثیر سلولی را مختل می کند.در سنتز پیریمیدین، ۵،۱۰-متیلن تتراهیدروفولات به عنوان دهنده متیل عمل می کند، پس از آن به دی هیدروفولات تبدیل می شود، که باید احیا و سپس متیله شود تا دوباره استفاده شود. کاهش دی هیدروفولات ردوکتاز توسط داروهای متعددی مورد هدف قرار می گیرد که اثر آن کاهش دئوکسی تیمیدیلات موجود برای سنتز DNA و در نتیجه کم خونی مگالوبلاستیک است. dUMP: دئوکسی یوریدین مونوفسفات; dTMP: دئوکسی تیمیدین مونوفسفات; MS: متیونین سنتاز;MTase : متیل ترنسفراز; MTHFR: متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز; SAHH: S-آدنوزیل هوموسیستئین هیدرولاز; TS:تیامین سنتاز

ارزیابی وضعیت B12 و فولات

اندازه گیری سطح سرمی B12 و فولات گلبول قرمز در بررسی کم خونی ماکروسیتیک و برخی شرایط دیگر ضروری است. سطح فولات سرم، سنجش غیر قابل اعتمادی از ذخایر فولات بدن است و سطح فولات گلبول قرمز احتمالاً معنی دارتر است.

واحد B_{12}: ng/L

واحد فولات سرم و گلبول قرمز: µg/L

نمونه: نمونه خون لخته شده (به منظور سنجش B_{12} و فولات سرم) و نمونه خون محیطی حاوی EDTA (به منظور سنجش فولات گلبول قرمز)

کمبود هر یک از این دو ویتامین منجر به کم خونی مگالوبلاستیک می‌شود که در آن تقسیم سلولی در تمام سلول های در حال تقسیم فعال (شامل مغز استخوان و روده) مختل می‌شود. در مغز استخوان عدم همزمانی بلوغ هسته و سیتوپلاسم وجود دارد به صورتی که هسته سلول ها نابالغ می‌باشند درحالی که سیتوپلاسم بالغ و به خوبی حاوی هموگلوبین شده است. در خون محیطی ممکن است کم خونی، اغلب با پان سیتوپنی وجود داشته باشد. گلبول‌های قرمز تغییرات ماکروسیتی بیضی شکل همراه بازوفیلیک استیپلینگ و گاهی گلبول های قرمز هسته دار نشان می‌دهند. نوتروفیل ها به طور معمول هایپرسگمنته می‌شوند (آنها بیش از ۵ لوب دارند).

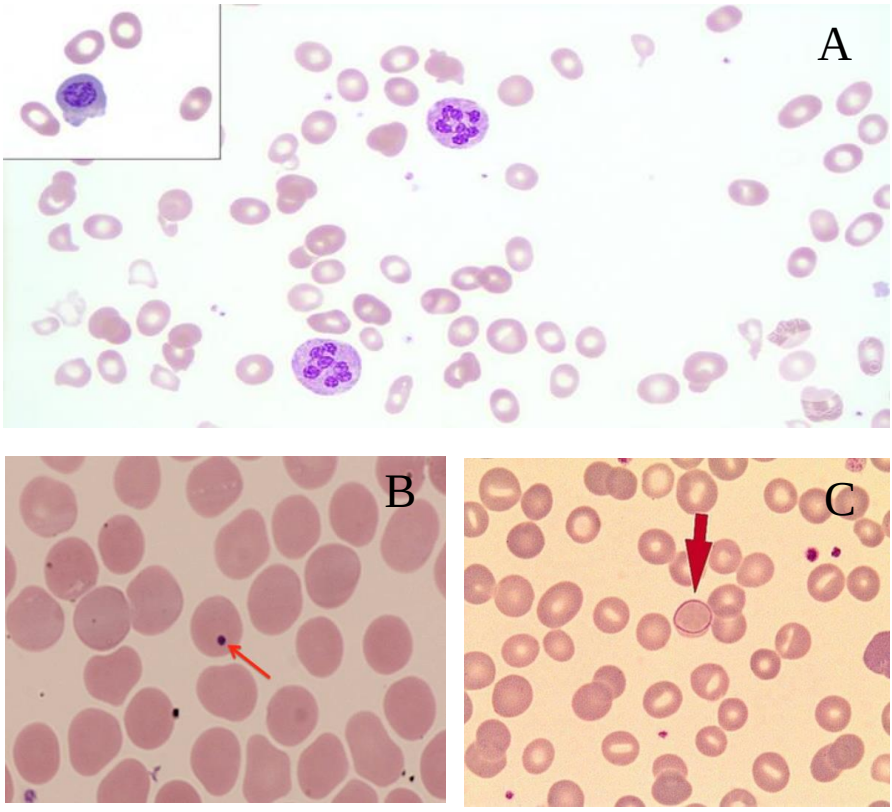
در حالتی که با کمبود اسید فولیک سرم مواجهه هستیم، اسید فولیک سرم و RBC هر دو کاهش می یابند، این در حالیست که میزان B12 نرمال می باشد. در حالت کمبود کوبالامین ، میزان کوبالامین سرم و اسید فولیکRBC کاهش می یابد ، اما اسید فولیک سرم طبیعی است. تا همین اواخر، سنجش‌های B_{12} و فولات، سنجش‌های میکروبیولوژیکی خسته‌کننده بودند، اما اکنون این روش‌ها با روش‌های

خودکار با استفاده از روش‌های رادیوایزوتوپی جایگزین شده‌اند که اجازه می‌دهد تعداد زیادی از نمونه‌ها به صورت دسته‌ای و نسبتاً ارزان آزمایش شوند.

یافته های آزمایشگاهی

کاهش اسید فولیک و ویتامین B12 منجر به حضور یوراسیل به جای تیمیدین در DNA می گردد که در نهایت توسط آنزیم ویرایش کننده DNA شکسته می شود و اختلال در میتوز ایجاد می گردد. در نتیجه بلوغ هسته صورت نمی گیرد و در مرحله ی ارتوکروم نرموبلاست ،هسته همچنان حالت غیر فشرده دارد. سلول های باند و متامیلوسیت بزرگ و غول آسا با هسته غیر نرمال نیز از دیگر یافته های آزمایشگاهی این نوع آنمی است. نوتروفیل های هایپر سگمنت (نوتروفیل ۶ لوب یا بیشتر و یا بیش از ۵ درصد نوتروفیل ۵ لوبه) نیز در اوایل بیماری ظاهر می گردند. نوتروپنی و ترومبوسیتوپنی نیز رخ می دهد. مورفولوژی گلبول های قرمز نیز به صورت ماکروسیت در آمده و داکروسیت، NRBC، هاول جولی بادی و حلقه ی کابوت نیز دیده می شود(شکل۲-۵) . افزایش فوق العاده ی LDH و بیلی روبین نیز به دلیل مرگ پیش ساز های اریتروئیدی ناکارآمد، دیده می شود.افزایش MCV،MCHو RDW، در کنار نرمال بودن MCHC و کاهش Hbدیده می شود. افزایش میزان سرمی و ادراری هموسیستئین و متیل مالونیک اسید در کمبود کوبالامین و افزایش هموسیستئین به تنهایی در کمبود اسید فولیک دیده می شود. هم چنین به دلیل خون سازی ناکارآمد،^ اندکس تولید رتیکولوسایت به کمتر از ۲ می رسد.

در مغز استخوان این بیماران نیز مگالوبلاست های شکسته و چند هسته ای دیده می شود.



شکل ۵-۲: لام خون محیطی بیماران با کمبود B12 و فولات

A.آنیزوسیتوز، ماکروسیتوز، ماکروسیت‌های بیضی شکل، پویکیلوسیت‌های قطره اشکی، نوتروفیل‌های هایپر سگمنته و مگالوبلاست. B. هاول جولی بادی. C.حلقه ی کابوت

تشخیص افتراقی

آگلوتینین سرد و هایپرگلایسمی از موارد افزایش MCV به صورت کادب هستند .در آگلوتینین سرد هر سه پارامتر MCV، MCHو MCHC بالا می رود.

در حالت هایپرترمی بیشتر از ۴۱ درجه سانتی گراد، آرایش لوب های نوتروفیل به شکل خوشه انگور در آمده و هسته ی لنفوسیت ها و مونوسیت ها نیز دچار لوبولاسیون می شوند که باید از فرآیند هایپر سگمنت نوتروفیل ها در آنمی مگالوبلاستیک افتراق داده شود.

تظاهرات بالینی آنمی مگالوبلاستیک

بسیاری از بیماران بدون علامت، با MCV افزایش یافته در یک آزمایش خون معمولی تشخیص داده می‌شوند. خصوصیات بالینی در موارد شدیدتر همان علامت‌های آنمی است. آنورکسی در بسیاری موارد مشاهده می‌شود و ممکن است کاهش وزن، اسهال یا یبوست هم در کنار آن وجود داشته باشد. گلوسیت، التهاب گوشه‌های لب، تب خفیف در بیمارانی که آنمی شدیدتری دارند، یرقان (غیرکونژوگه) و هایپرپیگمانتاسیون برگشت‌پذیر ملانین در پوست نیز ممکن است در هنگام کمبود فولات یا کوبالامین رخ دهد. گاهی اوقات ترومبوسیتوپنی به کبودشدگی منجر می‌شود و این وضعیت در بیمارانی که سوءتغذیه ویتامین C یا سوء مصرف الکل دارند، تشدید می‌شود. آنمی و کاهش تعداد لوکوسیت‌ها فرد را مستعد ابتلا به عفونت، به ویژه عفونت‌های تنفسی و ادراری – تناسلی می‌کند. فقر کوبالامین به علاوه، با اختلال در فعالیت باکتریسیدی فاگوسیت‌ها مرتبط شناخته شده است.

کمبود B_{12} یا فولات همیشه باعث کم خونی ماکروسیتیک نمی‌شود

در گذشته، کمبود B12 یا فولات مترادف با کم خونی ماکروسیتیک بود، اما کمبود هر یک از این ویتامین ها ممکن است بدون کم خونی یا ماکروسیتوز ظاهر شود به یاد داشته باشید، اینها ویژگی های دیررس بیماری هستند. با این حال، در بیشتر موارد کمبود، مغز استخوان تغییرات مگالوبلاستیک مشخصی را نشان می‌دهد (ناهمزمانی هسته‌ای همراه با متامیلوسیت‌های غول‌پیکر).

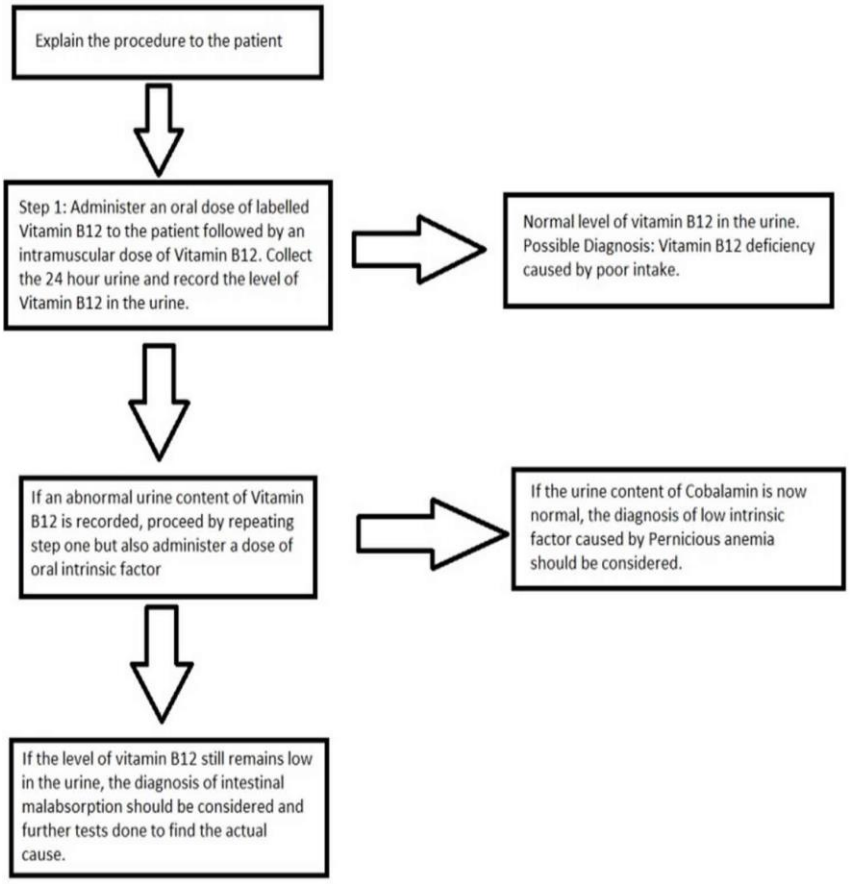
کمبود B_{12} ممکن است در غیاب کم خونی می تواند باعث مشکلات عصبی شود.

آنمی پرنیشیوز

یک نوع گاستریت اتوایمیون است که به علت حضور اتوآنتی بادی علیه فاکتور داخلی معده ایجاد می شود. با آزمایش شیلینگ می توان به کمبود این نوع فاکتور پی برد. آتروفی معده، کاهش اسید و اتو آنتی بادی علیه سلول های حشایه ای معده در سرم ۹۰٪ بیماران دیده می شود.

تست شیلینگ

برای ارزیابی توانایی روده کوچک در جذب ویتامین B12 استفاده می شود. وقتی ویتامین B12 خورده می شود، با فاکتور داخلی مخاط معده ترکیب می شود. سپس می تواند در ایلئوم جذب شود.این آزمایش شامل تجویز خوراکی ویتامین B12 رادیواکتیو است. سپس ویتامین B12 غیر رادیواکتیو به صورت عضلانی (IM) تجویز می شود تا محل های اتصال ویتامین B12 اشباع شود. یک نمونه ادرار ۲۴ ساعته جمع آوری می شود. بیماران عادی تا ۲۵ درصد از B12 رادیواکتیو را جذب و سپس دفع می کنند، زیرا آنها فاکتور داخلی دارند و بنابراین می توانند ویتامین را از دستگاه گوارش جذب کنند. بیمارانی که کم خونی پرنیشیوز دارند، که در آن فاکتور داخلی وجود ندارد، مقدار کمی از دوز خوراکی B12 را جذب می کنند و در نتیجه مواد رادیواکتیو کمی از ادرار دفع می شود یا اصلاً دفع نمی شود. اگر نتایج آزمایش شیلینگ جذب کم ویتامین B12 رادیواکتیو را نشان دهد، آزمایش همراه با تجویز فاکتور داخلی برای رد سوء جذب روده تکرار می شود. اگر دفع ادراری به سطح نرمال برسد، کمبود فاکتور داخلی وجود دارد. اگر دفع ادراری کم باقی بماند، سوء جذب احتمالاً علت کم خونی بیمار است.



شکل ۵-۳: . مراحل انجام تست شیلینگ

اگر در مرحله ی اول بیمار مقادیر نرمالی از ویتامین B12 را دفع کند احتمالا بیمار کاهش VIT B12 دارد.اگر در مرحله ی دوم مقادیر ادراری کوبالامین نرمال باشد احتمالا بیمار به آنمی پرنیشیوز مبتلاست.در مرحله ی آخر اگر همچنان مقادیر ادراری ویتامین B12 کم باشد سندرم های سو جذب باید بررسی شوند.

چه کسی را باید آزمایش کنید؟

- بیماران مبتلا به بیماری GIT، گلوسیت، اختلالات چشایی، جراحی قبلی یا رادیوتراپی معده یا روده کوچک.
- بیماری های عصبی، به عنوان مثال: نوروپاتی محیطی، دمیلیناسیون (از بین رفتن میلین اعصاب)
- اختلالات روانی، به عنوان مثال: پریشانی، زوال عقل
- سوء تغذیه، به عنوان مثال: اختلال رشد در کودکان؛ گیاهخواران
- سوء مصرف الکل
- بیماری خود ایمنی تیروئید، پاراتیروئید یا آدرنال
- بیماران با سابقه خانوادگی کم خونی پرنیشیوز
- دیگر موارد، به عنوان مثال داروهایی که با جذب یا متابولیسم ویتامین تداخل دارند مانند اکسید نیتروژن، فنیتوئین و غیره

به دنبال ناهنجاری های لام خون محیطی باشید

کمبود B_{12} و فولات باعث ایجاد ویژگی های بالینی و آزمایشگاهی مشابهی می‌شود.

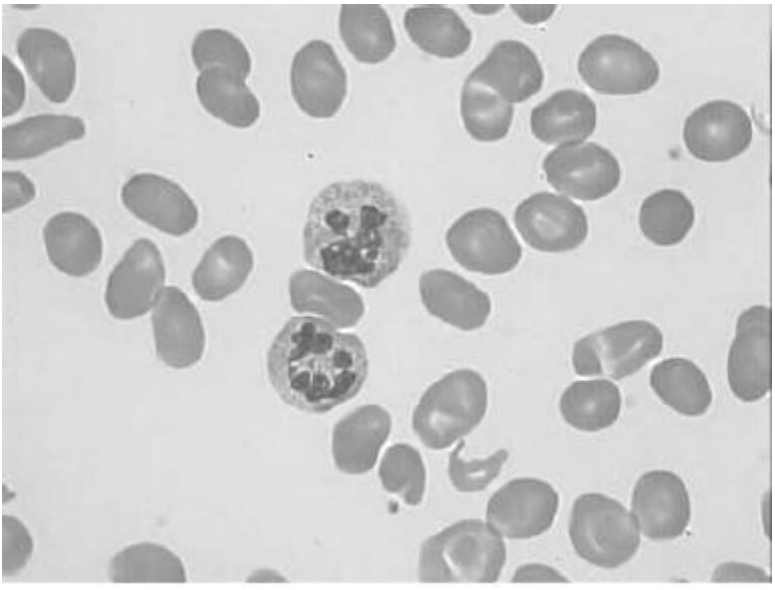
- ماکروسیت های بیضی شکل
- نوتروفیل هایپرسگمانته (همچنین در نارسایی کلیوی، فقر آهن و MDS دیده می‌شود)

تست بعدی چیست؟

از بررسی موارد زیر اطمینان حاصل کنید:

- CBC
- لام خون محیطی
- سطح سرمی B_{12}
- سطح فولات سرم و گلبول قرمز

- آنتی بادی های فاکتور داخلی (IFA)، در ۵۰ تا ۷۵ درصد بیماران مبتلا به آنمی پرنیشیوز (PA) حضور دارد.
- لام مغز استخوان (به حذف MDS، میلوما و سایر عوامل پاتولوژیکی که منجر به کم‌خونی ماکروسیتی می‌شوند کمک می‌کند، اما امروزه به ندرت انجام می‌شود).

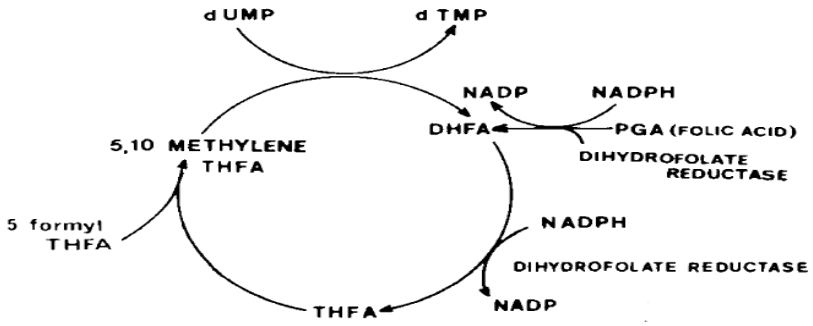


شکل ۵-۴: لام خون محیطی آنمی مگالوبلاستیک

شکل ۳,۷ لام خون محیطی آنمی مگالوبلاستیک. ماکروسیت‌های بزرگ بیضی شکل و دو نوتروفیل هایپر سگمنته وجود دارد.

آزمایش سرکوب دئوکسی یوریدین

حساسیت این آزمایش به حدی بوده که پیش از بروز ماکروسیتوز غیر طبیعی می گردد. این آزمایش کاهش ۵و۱۰ متیلن تترا هیدروفولات را نشان می دهد. در این آزمایش سلول های مغز استخوان را با دی اکسی یوریدن و تیمیدن نشان دار مواجهه کرده و در افراد نرمال تیمیدن از یوریدن شکل گرفته و کمتر از ۱۰ درصد از آن مصرف می شود. در حالی که در نبود کوبالامین یا اسید فولیک مقدار زیادی از این تیمیدن نشان دار مصرف می شود. (شکل ۵-۵)



شکل ۵-۵: آزمایش سرکوب دئوکسی یوریدین

سنتز دئوکسی تیمیدین مونوفسفات (dTMP) از دئوکسیوریدین مونوفسفات (dUMP) . مکان های اثر دی هیدروفولات ردوکتاز در تبدیل اسید فولیک و دی هیدروفولات (DHFA) به تتراهیدروفولات (THFA) مشخص شده است.

تفسیر نتایج: ویتامین B_{12}

محدوده نرمال بر اساس 2SD در دو طرف میانگین است، بنابراین افراد "عادی" وجود خواهند داشت که سطوح "غیر طبیعی" B_{12} (یا فولات) دارند.

علل B_{12} < نرمال

- کمبود B_{12}
- متابولیسم تغییر یافته
- 'طبیعی'

کمترین سطوح در افرادی که دارای کمبود هستند دیده می شود. آنچه مهم است این است که آیا کمبود B_{12} در بافت وجود دارد (که به تغییرات مغز استخوان و تغییرات عصبی منجر می‌شود).

کاهش خفیف سطح B_{12}

دشوار، اما رایج است! احتمالاً ارزش تکرار آزمایش و بررسی بیمار و سایر نتایج را دارد. اگر شواهدی از کمبود B_{12} در بافت وجود داشته باشد، بیمار نیاز به درمان دارد.

تشخیص کمبود B_{12} در بافت

مطمئن ترین روش احتمالاً اندازه گیری هموسیستئین سرم (انباشته شده در کمبود ویتامین B_{12} و فولات) است.

توجه کنید که کاهش B_{12} با کمبود بافت مرتبط نیست.

- کمبود فولات
- بارداری
- میلوما
- کمبود ترانس کوبالامین I

فولات

کاهش سطحی که در بیماران بستری به دلیل تعادل منفی فولات دیده می‌شود.

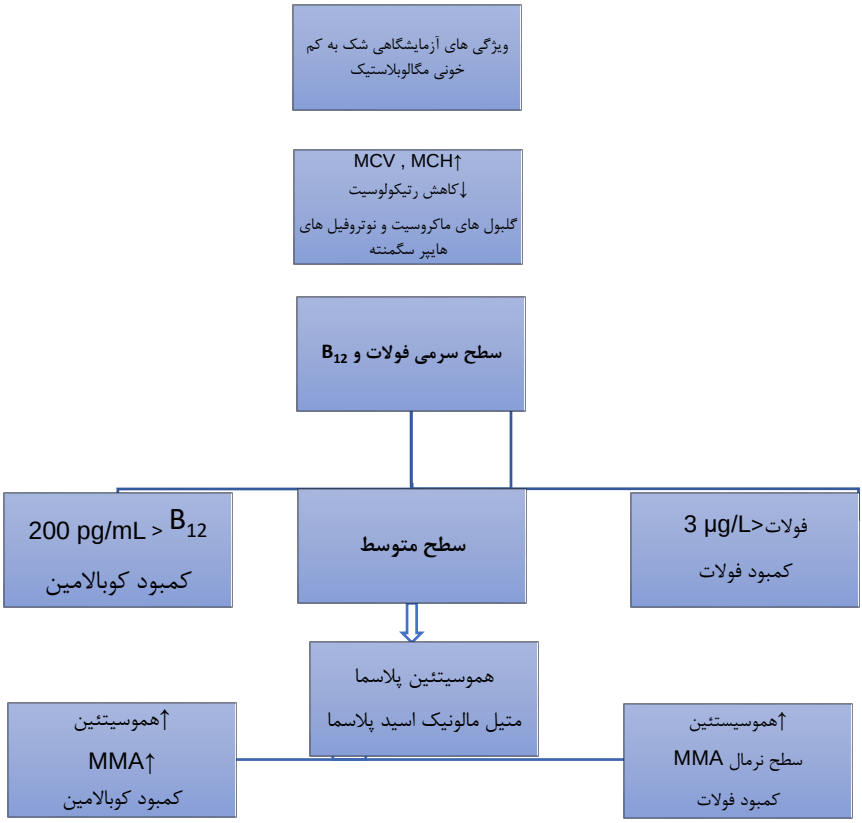
سطح B12 پایین است – اقدام بعدی چیست؟

آزمایش های موجود برای علت کمبود B12 عبارتند از:

- سلول پریتال (در سرم ۹۰ درصد بیماران مبتلا به PA وجود دارد اما همچنین در سایر اختلالات و ۱۵ درصد سالمندان نرمال دیده می‌شود.) و آنتی بادی‌های فاکتور داخلی (IFA بهتر است – اگر حضور داشته باشد تشخیص PA را تایید می‌کند).
- تست شیلینگ (روش دفع ادراری که در آن افزودن IF جذب B_{12} را در PA بازیابی می‌کند)
- شمارش B_{12} کل بدن
- آندوسکوپی با بیوپسی اثنی عشر
- سایر آزمایشات گوارشی برای سوء جذب

سطح فولات پایین است – اقدام بعدی چیست؟

- تاریخچه رژیم غذایی را بررسی کنید
- آندوسکوپی با بیوپسی اثنی عشر
- سایر آزمایشات گوارشی برای سوء جذب



شکل ۵-۶: نحوه افتراق کمبود فولات از کمبود کوبالامین

جدول ۵-۱: بررسی ارتباط متقابل فولات و ویتامین B12 در شرایط بالینی مختلف بیمار

وضعیت بالینی	شرایط نرمال B12 و فولات	کمبود B12	کمبود فولات
B12 سرمی	معمولا نرمال بوده اما در بیماری کبدی، نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو، التهاب حاد ، بهبودی از نوتروپنی اتوایمیون ممکن است افزایش باید. سطوح بالا ممکن است ناشی از B12 متصل شده به ایمونوگلوبولین باشد. سطوح B12 تام پایین در ۲۵ ٪ از افرادمسن دیده می شود.	معمولا پایین بوده اما تا ۵ ٪ از بیماران مبتلا به کم خونی مگالوبلاستیک ممکن است نتایجی در محدوده مرجع داشته باشند.	معمولا نرمال بوده اما سطوح پایین B12 ممکن است در کمبود فولات شدید دیده شود و با تک درمانی با تجویز اسید فولیک تصحیح گردد.
فولات سرمی	معمولا نرمال	معمولا نرمال، سطوح بالای فولات سرمی ممکن است در کمبود B12 ایجاد شود.	معمولا پایین بوده اما سطوح نرمال به دنبال بهبود رژیم غذایی دیده می‌شود.
فولات گلبول قرمز	معمولا نرمال	پایین	معمولا پایین بوده اما در وضعیت کمبود بسیار حاد نرمال می‌باشد.
هموسیستئین پلاسما	معمولا نرمال بوده اما در نارسایی کلیوی یا جهش MTHFR C677T ممکن است بالا باشد. با دریافت مکمل‌های فولات سطوح آن کاهش می یابد.	در کمبود B12 و ۵۰ ٪ از نمونه های بیمارانی که سطح پایین B12 آنها بطور ثابت همراه با کمبود B12متابولیکی بوده بالا است.	سطوح بالا در کمبود فولات که با اسید فولیک درمانی تصحیح می‌شود.
متیل مالونیک اسید سرمی	معمولا نرمال بوده اما در ۱۰٪ موارد نرمال یا برداشت زیاد متیونین با نارسایی کلیوی سطح آن بالا است.	در کمبود B12 و ۵۰ ٪ از نمونه های بیمارانی که سطح پایین B12 آنها بطور ثابت همراه با کمبود B12متابولیکی بوده بالا است.	معمولا نرمال بوده اما در ۵٪ از بیماران مبتلا به کمبود فولات بالا است.
متیل مالونیک اسید ادراری	نرمال حتی در نارسایی کلیوی	بالا	نرمال
هولوترانس کوبالامین	نرمال بوده اگرچه سطوح پایین تر در افراد مسن دیده می‌شود.	پایین (<23 µmol/L) در کمبود B12	نرمال

درمان آنمی مگالوبلاستیک (کمبود کوبالامین و فولات)

معمولا تشخیص این موضوع که علت آنمی ناشی از کمبود فولات است یا کوبالامین، امکان‌پذیر بوده و می‌توان پس از تشخیص به درمان با ویتامین مناسب پرداخت. با این حال در بیماران شدیدا بدحالی که به بیمارستان آورده می‌شوند، ممکن است درمان با دوزهای بالاتر از هر دو ویتامین، البته پس از گرفتن نمونه خون برای اندازه-گیری فولات و کوبالامین و پس از انجام بیوپسی از مغز استخوان (در صورت لزوم)، ضروری باشد. ترانس‌فوزیون معمولا ضروری نبوده و توصیه نمی‌شود. در صورت وجود نارسایی قلبی، لازم است که کیسه‌های گلبول قرمز به آهستگی داده شده، یک یا دو واحد هم بیشتر تزریق نشود و درمان معمول نارسایی قلبی در صورت وجود داده شود. مکمل‌های پتاسیم به منظور رفع خطر هیپوکالمی ضروری نیست، اما توصیه می‌شود. گاهی، یکی دو هفته پس از درمان، افزایش مفرط در تعداد پلاکت‌ها دیده می‌شود. درمان ضد پلاکتی از قبیل آسپیرین را باید در بیماری که شمارش پلاکتی بیش از $۸۰۰\times۱۰^{۹}/L$ دارند، در نظر گرفت.

در درمان کمبود کوبالامین معمولا لازم است که بیماران در تمام طول عمر، کوبالامین را به صورت منظم تزریق کنند. در درمان کمبود فولات دوزهای خوراکی ۱۵-۵ میلی‌گرمی فولیک اسید به صورت روزانه کافی است، چرا که مقدار کافی فولات از این دوزهای شدیدا بالا حتی در بیمارانی که سوءجذب شدید دارند جذب می‌شود. مدت زمانی که می‌بایست درمان را ادامه داد، به بیماری زمینه‌ای فرد بستگی دارد. معمول است که درمان را برای مدت ۴ ماه، یعنی مدت زمان لازم برای از بین رفتن تمام گلبول‌های قرمز با فولات کم و جایگزین شدن آن‌ها با گلبول‌های غنی از فولات ادامه دهند.

با درمان این نوع کم خونی ،اریتروپوئز تا ۴ روز بعد نرمال شده ، اما نوتروفیل های هایپر سگمنت تا ۱۴ روز پس از درمان همچنان در لام خون محیطی وجود دارند.

تداخل دارویی

شیمی درمانی با داروهای هیدروکسی اوره، سایتوزین و آرتبینوزاید، مرکاپتوپورین، تیوگوانین و آزاتیوپورین تصویر شبه مگالوبلاستیک ایجاد می کنند. داروهای متوتروکسات ،تری متوپریم و پیری متامین نیز با اتصال به دای هیدروفولات ردوکتاز مانع احیا فولات می شوند. الکلیسم نیز به نوبه خود بر متابولیسم و انتقال فولات اثر دارد.

بانبراین ، به طور کلی داروهایی که بر سنتز پورین تأثیر می گذارند :

- سرکوب کننده های ایمنی، به عنوان مثال، آزاتیوپرین و مایکوفنولات موفتیل
- داروهای شیمی درمانی، به عنوان مثال، آنالوگ های پورین (فل اودارابین، کلادربین و تیوگوانین)
- آلوپورینول، یک مهارکننده گزانتین اکسیداز که برای درمان نقرس استفاده می شود.

و داروهایی که بر سنتز پیریمیدین تأثیر می گذارند :

- داروهای تعدیل کننده ایمنی، به عنوان مثال، لف یونومايد و تریفل یونومايد
- داروهای شیمی درمانی، به عنوان مثال، سیتارابین، جمسیتابین، و فلوئوروراوراسیل
- متوترکسات، یک سرکوب کننده سیستم ایمنی و شیمی درمانی
- داروهای سولفا و تری متوپریم.

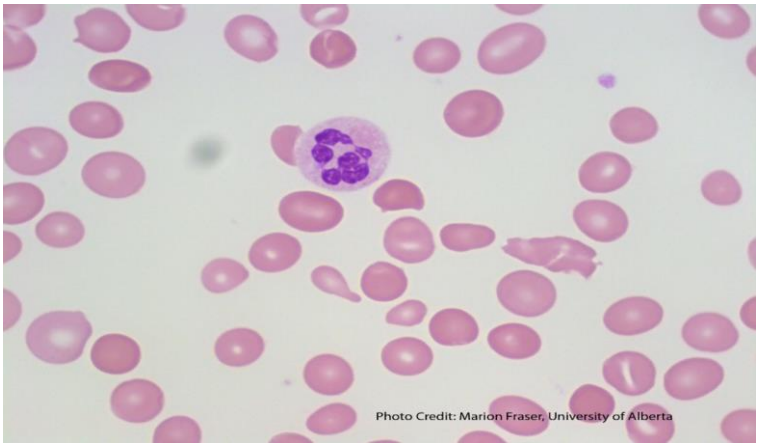
می تواند جذب فولات یا ویتامین B12 را کاهش دهد، اگرچه این به ندرت منجر به کمبود بالینی قابل توجه می شود.

کیس بالینی آنمی مگالوبلاستیک

یک زن ۷۴ ساله برای ارزیابی بیشتر در مورد خستگی و ضعف مزمن و پیشرونده مراجعه کرده است. هیچ گزارشی مبنی بر عمل جراحی قبلی وجود ندارد. بررسی ادرار نشان دهنده ی عدم وجود هماچوری یا هموگلوبینوری است. نمونه ی مدفوع از نظر خون مخفی منفی است. نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است.

- WBC = 2,100 /µl
- Hemoglobin = 4.2 g/dl
- Plt = 45,000/µl
- MCV = 120 fl
- LDH= ۴۷۰۰

لام خون محیطی در شکل زیر قابل مشاهده است.



بررسی های بیشتر نشان دهنده ی نتایج زیر است.

سطح ویتامین B12 برابر ۲۹۲ pg/ml ، فولات سرم برابر ۰,۹ ng/ml ، فولات RBC برابر ۲۴ ng/ml ، سطح متیل مالونیک اسید

طبیعی است، در حالیکه هموسیستئین افزایش دارد.

تفسیر:

کمبود اسید فولیک با کاهش سطح فولات سرم و فولات RBC و سطح طبیعی متیل مالونیک اسید همراه است. افزایش سطح متیل مالونیک اسید و هموسیستئین برای تشخیص زودهنگام کمبود ویتامین B12 به کار می روند. در کمبود اسید فولیک، سطح متیل مالونیک اسید طبیعی است ولی سطح هموسیستئین معمولا افزایش می یابد. به نظر می رسد که سطح فولات RBC در مقایسه با فولات سرم، انعکاس بهتری از ذخایر فولات بافتی باشد چون فولات سرم با توجه به وضعیت تغذیه نوسان می یابد. با این وجود، مطالعات نشان داده اند که اطلاعات ارائه شده توسط هر دو آزمون قابل مقایسه اند و در نتیجه آزمایش گران قیمت فولاتRBC برای مواردی که کمبود فولات مورد شک است ولی فولات سرم طبیعی است به کار می رود. فرضیه ی به دام افتادن متیل فولات) methylfolate trap hypothesis)اینگونه بیان می شود که در کمبود ویتامینB12 ، کاهش فولات RBC به همراه سطوح بالاتر فولات سرم را شاهد هستیم. در نتیجه ی کاهش ویتامینB12 ، فعالیت متیونین سنتاز کاهش می یابد که موجب کاهش متابولیسم متیل فولات داخل سلولی و نشت فولات از داخل سلول به گردش خون به دلیل عدم گلوتاماته شدن می شود که در نتیجه کاهش فولات درون سلولی و طبیعی شدن کاذب فولات سرم مشاهده می شود. با این حال، این فرضیه با قطعیت در انسان مطرح نشده است.

فصل ششم: آنمی آپلاستیک

فصل ٦- آنمی آپلاستیک

مقدمه

کم خونی آپلاستیک نوعی سندرم بالینی است که از کاهش قابل توجه در تولید سلول‌های خونی مغزاستخوان ناشی می‌شود. کاهش خون سازی منجر به رتیکولوسیتوپنی، کم خونی، گرانولوسیتوپنی، مونوسیتوپنی و ترومبوسیتوپنی می شود. تشخیص معمولاً مستلزم وجود پان سیتوپنی با تعداد نوتروفیل کمتر از ۱۵۰۰ در میکرولیتر (1.5×10^9 در لیتر)، تعداد پلاکت کمتر از 50,000 در میکرولیتر (50×10^9در لیتر)، غلظت هموگلوبین کمتر از ۱۰ گرم در دسی لیتر (۱۰۰ گرم در لیتر)، و تعداد رتیکولوسیت مطلق کمتر از 40,000 (40×10^9) همراه با مغزاستخوان هیپوسلولار بدون سلول‌های غیرطبیعی یا بدخیم یا فیبروز. این بیماری بر اساس شمارش خون (به خصوص تعداد نوتروفیلها) و درجه هیپوسلولی بودن مغزاستخوان به کم خونی آپلاستیک اکتسابی متوسط، شدید و بسیار شدید طبقه بندی شده است. اکثر موارد کم خونی آپلاستیک اکتسابی هستند. موارد کمتری در نتیجه یک اختلال ارثی مانند کم خونی فانکونی، سندرم شواخمن-دیاموند و موارد دیگر است.

جدول ۶-۱: طبقه بندی انواع کم خونی آپلاستیک بر اساس شدت کاهش هموگلوبین

طبقه بندی	هموگلوبین	غلظت رتیکولوسیت	شمارش نوتروفیل	شمارش پلاکت	بیوپسی مغز استخوان	توضیح
متوسط	<100 g/L	<40 × 109/L	<1.5 × 109/L	<50 × 109/L	کاهش قابل توجه سلول‌های خونساز.	در زمان تشخیص حداقل ۲ مورد از ۳ شمارش خون باید این معیارها را داشته باشد.
شدید	<90 g/L	<30.0 × 109/L	<0.5 × 109/L	<30.0 × 109/L	کاهش یا عدم وجود سلول‌های خون ساز مشخص.	در صورتی که سن اجازه دهد، باید برای یافتن خواهر و برادر سازگار بافتی اقدام شود.
بسیار شدید	<80 g/L	<20.0 × 109/L	<0.2 × 109/L	<20.0 × 109/L	کاهش یا عدم وجود سلول‌های خون ساز مشخص.	در صورتی که سن اجازه دهد، باید برای یافتن خواهر و برادر سازگار بافتی اقدام شود.

توجه: این مقادیر تقریبی هستند و باید در موقعیت هر بیمار در نظر گرفته شوند. (در برخی کارآزمایی‌های بالینی، آستانه شمارش خون برای کم‌خونی آپلاستیک نسبتاً شدید بالاتر است، به‌عنوان مثال، تعداد پلاکت‌ها کمتر از $۱۰^{۹}\times ۱۰۰$ در لیتر و تعداد رتیکولوسیت‌های مطلق کمتر از $۱۰^{۹}\times ۶۰۰۰۰$ در لیتر). بیوپسی مغز استخوان ممکن است حاوی تعداد نرمالی از لنفوسیت‌ها باشد. و در پلاسما؛ "نقاط داغ"، نواحی کانونی سلول‌های اریتروئید، ممکن است دیده شوند. هیچ موردی از فیبروز، سلول های غیرطبیعی یا سلول های بدخیم نباید در مغز استخوان مشهود باشد. ویژگی های بدشکلی سلول های خونی یا مغزاستخوان از ویژگی های کم خونی آپلاستیک اکتسابی نیست. تفاوت های قومیتی در حد پایین تعداد مطلق نوتروفیل ها باید در نظر گرفته شود.

پاتوژنز بیماری

آخرین مسیر مشترک برای بیماری، کاهش تشکیل سلول‌های خونی در مغزاستخوان است. تعداد سلول‌های CD34+ مغزاستخوان (پیش‌سازهای خونساز مولتی پوتنت) و مشتقات واحد تشکیل‌دهنده کلنی - گرانولوسیت-ماکروفاژ (CFU-GM) و واحد انفجاری-اریتروئید (BFU-E) در بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. مکانیسم‌هایی مسئول نارسایی اکتسابی سلول‌های مغزاستخوان هستند که عبارتند از: (۱) سرکوب سیستم ایمنی سلولی یا هومورال سلول‌های مولتی پوتنت مغزاستخوان، (۲) فرسایش پیشرونده تلومرهای کروموزوم، (۳) سمیت مستقیم سلولهای مولتی پوتنت خونساز یا بنیادی، (۴) نقص در ریزمحیط استرومایی مغز استخوان مورد نیاز برای رشد سلول‌های خونساز، و (۵) اختلال در تولید یا آزادسازی فاکتورهای رشد خونساز چند رده ای. شواهد تجربی کمی برای نقص ریزمحیط استرومایی یا کمبود فاکتورهای رشد خونساز حیاتی یا گیرنده‌های آن ها وجود دارد. جهش‌های تلومراز همراه با کوتاه شدن تلومر ممکن است در ۴۰ درصد از بیماران دخیل باشند. استعداد ابتلا به کم خونی آپلاستیک در افرادی با انواع خاصی از آنتی ژن لکوسیت انسانی (HLA) مانند HLA-DR15 وجود دارد.

نقص در ترمیم تلومر می تواند با تأثیر بر میزان محفظه سلولی خونساز مولتی پوتنت و کاهش پاسخ سلول مولتی پوتنت به آسیب مغزاستخوان، منجربه کم خونی آپلاستیک شود. همچنین از طریق ناپایداری ژنومی می تواند در تبدیل کم خونی آپلاستیک به اختلال میلوئید کلونال نقش داشته باشد. کاهش خون‌سازی در اکثر موارد کم‌خونی آپلاستیک ناشی از سرکوب سیستم ایمنی سلول‌های T اولیه سلول‌های بنیادی مولتی پوتنت CD34+خون‌ساز است.

برخی از موارد با قرار گرفتن در معرض مواد سمی، قرار گرفتن در معرض دارو یا عفونت ویروسی شروع می شود و در این موارد پاتوژنز نیز ممکن است به خودایمنی

مربوط باشد زیرا شواهدی از اختلال عملکرد ایمنی در هپاتیت سرونگاتیو، پس از قرار گرفتن در معرض بنزن وجود دارد، و بسیاری از این بیماران به درمان ضد سلول T پاسخ می دهند.

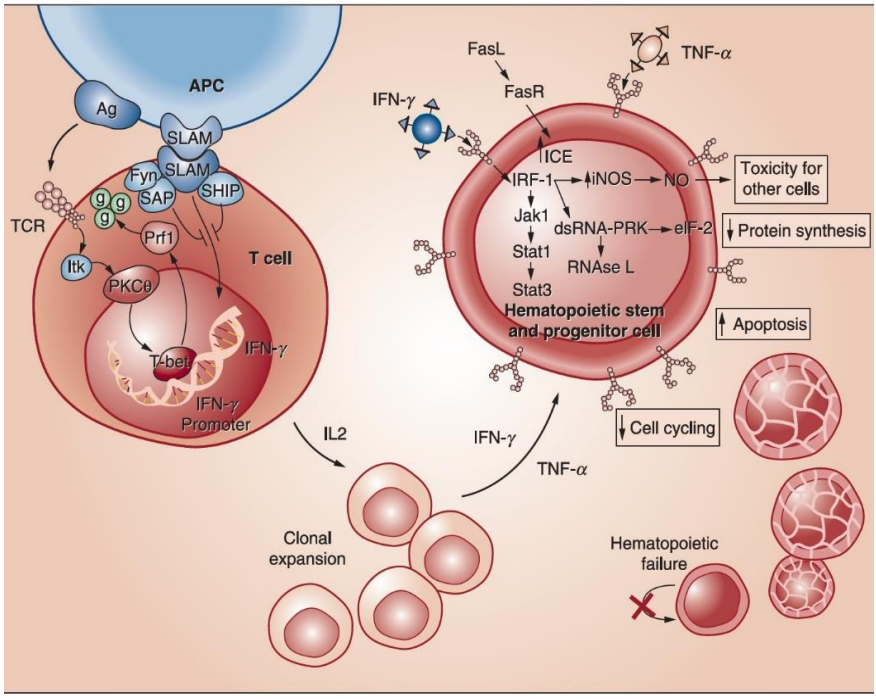
لنفوسیتهای T سیتوتوکسیک خود واکنشی

مشاهدات آزمایشگاهی و بالینی منجر به شناسایی حمله سیتوتوکسیک به واسطه سلول‌های T به سلول‌های خونساز مولتی پوتنت در بخش سلولی CD34+ به عنوان مبنایی برای اکثر موارد کم خونی آپلاستیک اکتسابی شده است. آسیب ایمنی سلولی به مغزاستخوان پس از آپلازی ناشی از دارو، ویروس یا سم می تواند ناشی از القای نئوآنتی ژن‌هایی باشد که حمله ثانویه به واسطه سلول های T را به سلول های خونساز تحریک می کند. این مکانیسم می تواند پاسخ به درمان سرکوب کننده سیستم ایمنی را در مواردی که به دنبال قرار گرفتن در معرض یک عامل برون زا است توضیح دهد. افزایش خود به خود یا القا شده توسط میتوژن در تولید سلول‌های تک هسته ای اینترفرون-γ، اینترلوکین 2-(IL) و فاکتور نکروز تومور-(TNF-α) α رخ می‌دهد. این فاکتورها مهارکننده‌ی رشد سلول‌های خونساز هستند . افزایش سطح سرمی اینترفرون-γ در ۳۰ درصد از بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک وجود دارد و بیان اینترفرون-γ در مغزاستخوان اکثر بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک اکتسابی مشاهده شده است.

کم‌خونی آپلاستیک اکتسابی نتیجه آپوپتوز القا شده ناشی از ایمنی سلولی پیش‌سازهای خونساز مولتی پوتنت CD34+ است که توسط لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک و تا حدی از طریق بیان سیتوکین‌های مهاری T-Helper نوع ۱ (Th1)، اینترفرون-γ و TNF-α صورت می گیرد. ترشح اینترفرون-γ در نتیجه تنظیم مثبت فاکتور رونویسی تنظیمی T-bet است، و آپوپتوز سلولهای CD34+ تا حدی از طریق FAS انجام می شود. از آنجایی که HLA-DR2 در بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک شایع تر است، شناسایی آنتی ژن ممکن است به عنوان عاملی

در این بیماران باشد. بسیاری از عوامل بالقوه دیگر در برخی از بیماران یافت شده است، از جمله پلی‌مورفیسم‌های نوکلئوتیدی در ژن‌های سیتوکین، بیان بیش از حد پرفورین در سلول‌های مغزاستخوان، و کاهش بیان پروتئین مرتبط با SLAM (SAP)، پروتئین تعدیل‌کننده ای که ترشح اینترفرون-γ را مهار می‌کند.

کاهش سلول‌های T تنظیمی (CD4+CD25+FoxP3+) به گسترش جمعیت سلول‌های T اتوری اکتیو CD8+CD28- کمک می‌کند، که باعث آپوپتوز سلول‌های خونساز مولتی پوتنت اتولوگ می‌شود. سلول‌های T تنظیمی جزء این سلول‌ها هستند.



شکل ۶-۱: پاتوژنز ایمنی آپوپتوز سلول های خونساز مولتی پوتنت CD34 در کم خونی آپلاستیک اکتسابی

آنتی ژن ها توسط سلولهای ارائه دهنده آنتی ژن (APCs) به لنفوسیت‌های T ارائه می شوند. این امر منجر به فعال شدن و تکثیر سلول‌های T می شود. T-bet، فاکتور رونویسی است که به ناحیه پروموتر اینترفرون-γ (IFN-γ) متصل می شود و بیان ژن را القا می کند. پروتئین مرتبط با SLAM (SAP) به Fyn متصل می شود و فعالیت مولکول فعال کننده سیگنالینگ لنفوسیت (SLAM) را در بیان IFN-γ تعدیل می کند و رونویسی ژن را کاهش می دهد. بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک بیان T-bet و سطوح پایین SAP را نشان می دهند. IFN-γ و فاکتور نکروز تومور-α (TNF-α) هم گیرنده‌های سلولی سلول T و هم گیرنده Fas را تنظیم می کنند. افزایش تولید اینترلوکین ۲ منجر به گسترش پلی کلونال سلول های T می شود. فعال شدن گیرنده Fas توسط لیگاند Fas منجر به آپوپتوز سلول‌های هدف می شود. برخی از اثرات IFN-γ از طریق فاکتور تنظیم کننده اینترفرون ۱ (IRF-1)، که از رونویسی ژن های سلولی و ورود به چرخه سلولی جلوگیری می کند، صورت می گیرد. IFN-γ القا کننده قوی بسیاری از ژن‌های سلولی، از جمله نیتریک اکسید سنتاز (NOS) القایی

است و تولید گاز سمی، اکسید نیتریک (NO)، ممکن است اثرات سمی را بیشتر کند. این رویدادها در نهایت منجر به کاهش چرخه سلولی و مرگ سلولی توسط آپوپتوز می شود.

کوتاه کردن تلومر

ارتباط بین کم خونی آپلاستیک اکتسابی و کم خونی آپلاستیک ارثی (کم خونی فانکونی یا دیسکراتوز مادرزادی) در برخی بیماران پیشنهاد شده است، زیرا نقص در ترمیم تلومراز و تلومر، مشخصه کم خونی فانکونی و دیسکراتوز مادرزادی در برخی از بیماران بزرگسال مبتلا به کم خونی آپلاستیک مشترک است. در این موارد هیچ سابقه خانوادگی چنین اختلالی و هیچ ناهنجاری فنوتیپی که مشخصه اختلالات ارثی باشد وجود ندارد (به «آنمی فانکونی» و «دیسکراتوز مادرزادی» در ادامه مراجعه کنید). تلومرها با افزایش سن از نظر فیزیولوژیکی کوتاه می‌شوند زیرا تلومراز کمتر فعال می شود. کم خونی آپلاستیک اکتسابی با واسطه سلول T با کوتاه شدن تلومر همراه است که می تواند منعکس کننده نقص ارثی در تلومراز یا فرسایش فعالیت پیری باشد. مکانیسم تلومراز شامل یک ترانس کریپتاز معکوس تلومراز (TERT)، یک الگوی RNA برای TERT، جزء RNA تلومراز (TERC) و سایر پروتئین های تثبیت کننده است. سلول‌های دارای تلومرهای کوتاه شده معمولاً تحت آپوپتوز قرار می‌گیرند، مگر اینکه مکانیسم‌های ترمیم DNA مختل شوند که امکان ایجاد آنیوپلوئیدی و تبدیل نئوپلاستیک را فراهم می‌کند.

داروها

کلرامفنیکل بدنام ترین دارویی است که برای ایجاد کم خونی آپلاستیک ثبت شده است. اگرچه این دارو به دلیل تأثیر آن بر DNA میتوکندری، در دوزهای بسیار بالا مستقیماً سرکوبگر میلووسکوپی است، به نظر می‌رسد بروز کم‌خونی آپلاستیک غیرعادی است، که احتمالاً مربوط به حساسیت ارثی به واسطه‌های سمی حاوی نیتروزو است. این حساسیت ممکن است باعث سرکوب ایمونولوژیک مغزاستخوان شود، زیرا بخش قابل توجهی از بیماران مبتلا به درمان با سرکوب کننده سیستم

ایمنی پاسخ می دهند. خطر ابتلا به کم خونی آپلاستیک در بیماران تحت درمان با کلرامفنیکل تقریباً ۱ در ۲۰۰۰۰ یا ۲۵ برابر جمعیت عمومی است. اگرچه استفاده از آن به عنوان یک آنتی بیوتیک تا حد زیادی در کشورهای صنعتی کنار گذاشته شده است، گزارش های جهانی از کم خونی آپلاستیک کشنده همچنان با استفاده موضعی یا سیستمیک از دارو ظاهر می شود.

شواهد اپیدمیولوژیک نشان داده که کویناکرین (آتابرین) خطر کم خونی آپلاستیک را افزایش می دهد. این دارو در طی سالهای ۱۹۴۳ و ۱۹۴۴ به عنوان داروی پیشگیری از مالاریا برای تمام نیروهای آمریکایی در اقیانوس آرام جنوبی و آسیا تجویز شد. بروز کم خونی آپلاستیک ۷ تا ۲۸ مورد در هر ۱،۰۰۰،۰۰۰ پرسنل در سال در مناطقی که پیشگیری انجام می شد بود. در حالی که سربازان درمان نشده بروز ۱ تا ۲ مورد در ازای هر ۱،۰۰۰،۰۰۰ پرسنل در سال نشان دادند. آپلازی در طول تجویز دارو رخ داد و تقریباً در نیمی از موارد با یک بثورات مشخص رخ داد.

موارد بسیاری از داروهای دیگر برای افزایش خطر کم خونی آپلاستیک گزارش شده اند، اما به دلیل گزارش ناقص اطلاعات و نادر بودن ارتباط، طیف کم خونی آپلاستیک ناشی از دارو ممکن است به طور کامل درک نشود. بسیاری از این داروها باعث ایجاد سیتوپنی‌های انتخابی مانند آگرانولوسیتوز می شوند که معمولاً پس از قطع دارو قابل برگشت هستند. این واکنش‌های برگشت‌پذیر با ریسک کم‌خونی آپلاستیک مرتبط نیستند، و تأثیر شمارش خون روتین را به عنوان یک استراتژی برای جلوگیری از کم‌خونی آپلاستیک مورد تردید قرار می‌دهند.

از آنجایی که کم خونی آپلاستیک یک رویداد نادر با مصرف دارو است، ممکن است به دلیل استعداد متابولیک یا ایمونولوژیک زمینه ای (پلی مورفیسم ژن) در افراد مستعد رخ دهد. در مورد آپلازی مغز استخوان مرتبط با فنیل بوتازون، اکسیداسیون و پاکسازی یک ترکیب مرتبط، استانیلید، در مقایسه با افراد سالم یا آن‌هایی که آنمی آپلاستیک ناشی از علل دیگر دارند، با تاخیر مواجه می شود. این یافته تجمع بیش از

حد دارو را به عنوان یک مکانیسم بالقوه برای آپلازی نشان می دهد. در برخی موارد، تداخل دارویی یا هم افزایی ممکن است در القای آپلازی مغز استخوان نقش داشته باشد. سایمتیدین، یک آنتاگونیست گیرنده H2 هیستامین، گاهی اوقات در شروع سیتوپنی و کم خونی آپلاستیک دخیل است، احتمالا به دلیل تأثیر مستقیم بر سلولهای پیش ساز خونساز اولیه. این دارو اثرات سرکوب کننده مغزاستخوان به واسطه داروی شیمی درمانی کارموستین را تشدید می کند. در چندین مورد، در صورت مصرف همراه با کلرامفنیکل، به عنوان یک علت احتمالی آپلازی مغز استخوان گزارش شده است.

جدول ۶-۲: ارتباط انواع دارو با خطر ابتلا به آنمی آپلاستیک

Category	High Risk	Intermediate Risk	Low Risk
Analgesic			Phenacetin, aspirin, salicylamide
Antiarrhythmic			Quinidine, tocainide
Antiarthritic			Colchicine
Anticonvulsant		Carbamazepine, hydantoins, felbamate	Ethosuximide, phenacemide, primidone, trimethadione, sodium valproate
Antihistamine			Chlorpheniramine, pyrilamine, tripelennamine
Antihypertensive			Captopril, methyldopa
Antiinflammatory		Penicillamine, phenylbutazone, oxyphenbutazone	Diclofenac, ibuprofen, indomethacin, naproxen, sulindac
Antimicrobial			
Antibacterial		Chloramphenicol	Dapsone, methicillin, penicillin, streptomycin, β-lactam antibiotics
Antifungal			Amphotericin, flucytosine

Antiprotozoal		Quinacrine	Chloroquine, mepacrine, pyrimethamine
Antineoplastic drugs			
Alkylating agent	Busulfan, cyclophosphamide, melphalan, nitrogen mustard		
Antimetabolite	Fluorouracil, mercaptopurine, methotrexate		
Cytotoxic antibiotic	Daunorubicin, doxorubicin, mitoxantrone		
Antiplatelet			Ticlopidine
Antithyroid			Carbimazole, methimazole, methylthiouracil, potassium perchlorate, propylthiouracil, sodium thiocyanate
Sedative and tranquilizer			Chlordiazepoxide, chlorpromazine (and other phenothiazines), lithium, meprobamate, methyprylon
Sulfa derivative		Sulfonamides	
Antibacterial			Numerous sulfonamides
Diuretic		Acetazolamide	Chlorothiazide, furosemide
Hypoglycemic			Chlorpropamide, tolbutamide
Miscellaneous			Allopurinol, interferon, pentoxifylline, penicillamine

داروهایی که همیشه با دوزهای بالا باعث آپلازی مغز می شوند، پرخطر نامیده می شوند. داروهایی با ۳۰ مورد یا بیشتر گزارش شده به عنوان خطر متوسط فهرست شده اند. برخی دیگر کمتر با کم خونی آپلاستیک (خطر کم) همراه هستند.

مواد شیمیایی سمی

بنزن اولین ماده شیمیایی مرتبط با کم خونی آپلاستیک بود که بر اساس مطالعات روی کارگران کارخانه قبل از قرن بیستم انجام شد. بنزن به عنوان یک حلال استفاده می شود و در ساخت مواد شیمیایی، داروها، رنگ‌ها و مواد منفجره استفاده می‌شود. این ماده یک ماده شیمیایی حیاتی در تولید کالاهای لاستیکی و چرمی بوده و به طور گسترده در صنعت کفش مورد استفاده قرار گرفته است که منجر به افزایش خطر ابتلا به کم خونی آپلاستیک (و لوسمی حاد میلوژن) در کارگرانی که در معرض محیطی نامناسب قرار دارند، می شود. در مطالعات انجام شده در چین، کم خونی آپلاستیک در بین کارگران شش برابر بیشتر از جمعیت عمومی بود.

نقش ترکیبات آفت کش ارگانوکلر و ارگانوفسفره در شروع کم خونی آپلاستیک مشکوک بوده است و چندین مطالعه نشان داده اند که خطر نسبی به ویژه در موارد قرار گرفتن در معرض سموم کشاورزی و خانگی وجود داشته است. DDT(دی کلرودی فنیل تری کلرواتان) ، لیندان و کلردان حشره کش‌هایی هستند که با موارد کم خونی آپلاستیک نیز همراه بوده اند. لیندان تا حدی به پنتاکلروفنل (PCP)، یکی دیگر از هیدروکربن‌های کلردار سمی که به عنوان نگهدارنده چوب استفاده می‌شود، متابولیزه می‌شود. موارد کم خونی آپلاستیک و اختلالات خونی مرتبط به PCP در ۲۵ سال گذشته نسبت داده شده است. قرار گرفتن طولانی مدت در معرض تقطیرهای نفتی به شکل حلال Stoddard و قرار گرفتن در معرض حاد با تولوئن از طریق عمل بوییدن چسب نیز گزارش شده که باعث آپلازی مغزاستخوان می شود. Trinitrotoluene (TNT)، ماده منفجره ای است که در طول جنگ‌های جهانی اول و دوم به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است و به راحتی از طریق استنشاق و از طریق پوست جذب می شود.

موارد مرگبار کم خونی آپلاستیک در کارگران مهمات در معرض TNT در بریتانیای کبیر از سال ۱۹۴۰ تا ۱۹۴۶ مشاهده شد. استدلال برای به حداقل رساندن قرار گرفتن در معرض سموم بالقوه در هر صورت منطقی است.

ویروس‌ها

ویروس هپاتیت غیر A، B، C، D، E، G-

ارتباط بین هپاتیت و ایجاد کم خونی آپلاستیک موضوع تعدادی از گزارش‌های موردی بوده است. در بسیاری از موارد، زمانی که کم خونی آپلاستیک ۴ تا ۱۲ هفته بعد از بهبود یا بر طرف شدن هپاتیت مشخص شد. تقریباً ۱۰ درصد موارد بیش از ۱ سال پس از تشخیص اولیه هپاتیت رخ داده است. اکثر بیماران جوان (سن ۱۸ تا ۲۰ سال) و دو سوم مرد بودند و بقای آنها کوتاه بود (۱۰ هفته). اگرچه هپاتیت های A و B در تعداد کمی از موارد در کم خونی آپلاستیک دخیل بوده اند، اکثر موارد مربوط به هپاتیت غیر A، غیر B و غیر C است. کم خونی آپلاستیک شدید در ۹ بیمار از ۳۱ بیمار که تحت پیوند کبد به دلیل هپاتیت غیر A، غیر B و غیر C قرار گرفته بودند، ایجاد شد، اما در هیچ یک از ۱۴۶۳ بیمار به دلیل سایر موارد پیوند رخ نداد. شواهد نشان می دهد که هیچ ارتباطی با ویروس هپاتیت C وجود ندارد، که نشان می دهد یک عامل ویروسی ناشناخته درگیر است. اگر فرآورده های خونی برای انتقال خون با دقت غربالگری نشده باشد، ویروس هپاتیت B یا C می تواند یک عفونت ثانویه باشد. چندین گزارش نشان می دهد که پارووویروس B19 با کم خونی آپلاستیک ارتباط دارد در حالی که در سایرین این رابطه برقرار نشده است. اثر هپاتیت سرم منفی ممکن است از طریق اثر سلولهای T خودایمنی به دلیل شواهدی از فعال شدن سلولهای T و بسط سیتوکین ایجاد شود. این بیماران همچنین مانند بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک ایدیوپاتیک به ایمونوتراپی ترکیبی پاسخ مشابهی دارند.

ویروس اپشتین بار ویروس اپشتین بار (EBV)

در پاتوژنز کم خونی آپلاستیک نقش دارد. معمولاً در عرض ۴ تا ۶ هفته پس از عفونت رخ می دهد. در برخی موارد، مونونوکلئوز عفونی تحت بالینی است، با یافتن لنفوسیت‌های فعال در لام خون و نتایج سرولوژیک مطابق با عفونت اخیر.

EBV در سلول‌های مغزی تشخیص داده شده است، اما مشخص نیست که آیا آپلازی مغز ناشی از یک اثر مستقیم است یا یک پاسخ ایمنی توسط میزبان. بیماران پس از درمان با گلوبولین آنتی تیموسیت بهبود یافته اند.

سایر ویروسها عفونت HIV اغلب با درجات مختلفی از سیتوپنی همراه است. مغز استخوان اغلب سلولار است، اما مواردی از کم خونی آپلاستیک دیده شده است. هیپوپلازی مغز ممکن است در اثر سرکوب ویروسی و داروهای مورد استفاده برای کنترل تکثیر ویروس در این اختلال ایجاد شود. ویروس هرپس انسانی 6-(HHV) باعث آپلازی شدید مغز پس از پیوند مغز برای سایر اختلالات شده است.

بیماری‌های خود ایمنی

بروز کم خونی آپلاستیک شدید در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید هفت برابر بیشتر از حد انتظار بود. مشخص نیست که آیا کم خونی آپلاستیک مستقیماً با آرتریت روماتوئید مرتبط است یا به داروهای مختلفی که برای درمان این بیماری استفاده می شود (نمک های طلا، دی پنی سیلامین و عوامل ضد التهابی غیر استروئیدی). موارد گاه به گاه آنمی آپلاستیک همراه با لوپوس اریتماتوز سیستمیک دیده می شود.

فاشئیت ائوزینوفیلیک، یک اختلال بافت همبند غیرشایع با تورم دردناک و سفت شدن پوست و بافت زیر جلدی بوده که با کم خونی آپلاستیک همراه است. اگرچه ممکن است در برخی موارد به واسطه آنتی بادی باشد، اما تا حد زیادی به درمان پاسخ نداده است. با این وجود، (۱) پیوند سلول‌های بنیادی، (۲) درمان سرکوب کننده سیستم ایمنی با استفاده از سیکلوسپورین، (۳) درمان سرکوب کننده سیستم ایمنی با استفاده از گلوبولین آنتی تیموسیت (ATG)، یا (۴) درمان سرکوب کننده سیستم

ایمنی با ATG و سیکلوسپورین، بیماری را در تعداد کمی از بیماران درمان کرده یا به طور قابل توجهی بهبود بخشیده است.

کم خونی آپلاستیک شدید نیز همزمان با بیماری تیروئید ایمیون (بیماری گریوز) گزارش شده است و آپلازی با درمان پرکاری تیروئید معکوس شده است. کم خونی آپلاستیک در ارتباط با تیموم رخ داده است. همچنین در برخی موارد بیماری خودایمنی کلیه و کم خونی آپلاستیک به طور همزمان رخ داده اند. ارتباط زمینه ای ممکن است نشان دهنده نقش لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک در پاتوژنز چندین بیماری خودایمنی و در کم خونی آپلاستیک باشد.

بارداری

تعدادی گزارش از کم خونی آپلاستیک مرتبط با بارداری وجود دارد، اما ارتباط بین این دو وضعیت همیشه واضح نیست. در برخی از بیماران، کم خونی آپلاستیک با بارداری تشدید می شود، و پس از ختم بارداری بهبود می‌یابد. در موارد دیگر، آپلازی در دوران بارداری با عود در حاملگی‌های بعدی ایجاد می شود. خاتمه بارداری یا زایمان ممکن است عملکرد مغزاستخوان را بهبود بخشد، اما ممکن است بیماری حتی پس از زایمان منجر به مرگ شود. درمان ممکن است شامل ختم انتخابی بارداری، مراقبت‌های حمایتی، درمان سرکوب کننده سیستم ایمنی یا پیوند مغزاستخوان پس از زایمان باشد. بارداری در زنانی که قبلاً تحت درمان با سرکوبگر سیستم ایمنی برای کم خونی آپلاستیک قرار گرفته اند، می تواند منجر به تولد یک نوزاد طبیعی شود.

علل ناشی از عوارض درمان (Iatrogenic Causes)

اگرچه مسمومیت مغز استخوان ناشی از شیمی درمانی یا پرتو سیتوتوکسیک باعث آسیب مستقیم به سلول های بنیادی و سلول های بالغ تر می‌شود که می تواند منجر به آپلازی مغز استخوان شود، اکثر بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک اکتسابی نمی توانند مواجهه‌ای را که مسئول آسیب مغزاستخوان است شرح دهند. قرار گرفتن مزمن

در معرض دوزهای پایین پرتو یا استفاده از پرتوهای ستون فقرات برای اسپوندیلیت آنکیلوزان با افزایش تاخیری خطر ابتلا به کم خونی آپلاستیک و لوسمی حاد همراه است.

بیمارانی که دی اکسید توریم (Thorotrast) را به عنوان ماده حاجب داخل وریدی دریافت کردند، دچار عوارض دیررس متعددی از جمله تومورهای بدخیم کبد، لوسمی حاد و کم خونی آپلاستیک شدند.

قرار گرفتن حاد در معرض دوزهای زیاد پرتو با ایجاد آپلازی مغزاستخوان و سندرم گوارشی همراه است. قرار گرفتن کل بدن در معرض ۱ تا ۲,۵ گری منجر به علائم گوارشی و کاهش تعداد لکوسیت‌ها می شود، اما بیشتر بیماران بهبود می‌یابند. دوز ۴,۵ گری منجر به مرگ در نیمی از افراد به دلیل نارسایی مغزاستخوان می شود. دوزهای بالاتر در محدوده ۱۰ گری عموماً کشنده است مگر اینکه بیمار مراقبت‌های حمایتی گسترده و به دنبال آن پیوند مغز را دریافت کند.

ریزمحیط استرومایی و عوامل رشد

سنجش‌های کلونال کوتاه‌مدت برای سلول‌های استرومایی مغز استخوان، نقص‌های متغیری را در عملکرد سلول‌های استرومایی در بیماران مبتلا به آنمی آپلاستیک نشان داده‌اند. سطوح سرمی فاکتور سلول‌های بنیادی (SCF) در چندین مطالعه در مورد کم خونی آپلاستیک نسبتاً کم یا طبیعی بوده است. اگرچه SCF رشد کلنی‌های خونساز را از مغزاستخوان بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک افزایش می دهد، استفاده از آن در بیماران منجر به بهبودی بالینی نشده است. عامل رشد اولیه دیگر، لیگاند FLT-3، ۳۰ تا ۱۰۰ برابر در سرم بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک افزایش یافته است، اگرچه اثر پاتوبیولوژیک این تغییر نامشخص است. فیبروبلاست‌های رشد یافته از بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک شدید تولید سیتوکین غیرطبیعی دارند. با این حال، سطح سرمی فاکتور تحریک کننده کلنی گرانولوسیت، اریتروپویتین و

ترومبوپوئیتین (TPO) معمولاً بالا است. سنتز IL-1، محرک اولیه خون سازی، در سلول‌های تک هسته‌ای بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک کاهش می یابد. مطالعات روی ریزمحیط، تکثیر سلولی استرومایی و تولید فاکتور رشد نسبتاً طبیعی را نشان داده است. این یافته‌ها، همراه با پاسخ محدود بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک به فاکتورهای رشد، نشان می دهد که کمبود سیتوکین در بیشتر موارد مشکل اتیولوژیک نیست. قانع‌کننده‌ترین استدلال این است که اکثر بیمارانی که برای کم خونی آپلاستیک پیوند شده‌اند با سلول‌های بنیادی دهنده آلوژنیک و استرومای اتولوگ درمان می‌شوند.

یک استثنای نادر از نقش پاتوژنتیک ناچیز فاکتورهای رشد خونساز در علت شناسی کم خونی آپلاستیک، جهش هموزیگوت یا مختلط هتروزیگوت ژن گیرنده TPO، MPL، است که می تواند باعث ترومبوسیتوپنی آمگاکاریوسیتی شود که بعدها می تواند منجر به کم‌خونی آپلاستیک شود. علاوه بر این، eltrombopag، یک آگونیست گیرنده TPO، می‌تواند باعث تحریک مونو، یا در برخی بیماران، بازیابی شمارش خونی دو یا سه رده ای شود که ممکن است بعد از درمان ادامه یابد.

جدول ۶-۳: طبقه بندی اتیولوژیک کم خونی آپلاستیک

ACQUIRED
Autoimmune
Drugs
Toxins
Benzene
Chlorinated hydrocarbons
Organophosphates
Viruses
Epstein-Barr virus
Non-A, -B, -C, -D, -E, or -G hepatitis virus
Human immunodeficiency virus (HIV)
Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria
Autoimmune/connective tissue disorders
Eosinophilic fasciitis
Immune thyroid disease (Graves disease, Hashimoto thyroiditis)
Rheumatoid arthritis
Systemic lupus erythematosus
Thymoma
Pregnancy
Iatrogenic
Radiation
Cytotoxic drug therapy
INHERITED
Fanconi anemia
Dyskeratosis congenita
Shwachman-Diamond syndrome
Other rare syndromes

ویژگی‌های بالینی

شروع علائم کم خونی آپلاستیک ممکن است تدریجی همراه با رنگ پریدگی، ضعف، تنگی نفس و خستگی در نتیجه کم خونی باشد. پتشی وابسته، کبودی، اپیستاکسی، خونریزی واژینال، و خونریزی غیرمنتظره در سایر نقاط، ثانویه به ترومبوسیتوپنی، علائم مکرر اختلال زمینه ای مغز استخوان هستند. به ندرت، ممکن است با تب، لرز، و فارنژیت یا عفونت سایر نقاط ناشی از نوتروپنی و مونوسیتوپنی شدید باشد. معاینه فیزیکی عموماً به جز شواهدی مبنی بر کم خونی (مانند رنگ پریدگی ملتحمه و پوست، تاکی کاردی در حالت استراحت) یا خونریزی پوستی (مانند اکیموز و پتشی)،

خونریزی لثه و پورپورای داخل دهانی آشکار نیست. لنفادنوپاتی و اسپلنومگالی از ویژگیهای کم خونی آپلاستیک نیستند. چنین یافته هایی یک تشخیص جایگزین مانند یک بیماری میلوئید کلونال یا لنفوئید را نشان می دهد.

ویژگی های آزمایشگاهی

یافته‌های خونی

بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک درجات مختلفی از پان سیتوپنی دارند. کم خونی با شاخص رتیکولوسیت کم همراه است. تعداد رتیکولوسیت‌ها معمولاً کمتر از ۱ درصد است و علیرغم سطوح بالای اریتروپویتین ممکن است صفر باشد. تعداد مطلق رتیکولوسیت‌ها معمولا کمتر از ۴۰۰۰۰/ μL (40×10^9/L) است. سلول های ماکروسیت ممکن است در خون وجود داشته باشند و میانگین حجم سلولی (MCV) افزایش یافته است. تعداد مطلق نوتروفیل و مونوسیت کم است. تعداد مطلق نوتروفیل کمتر از ۵۰۰/ μL (0.5×10^9/L) همراه با تعداد پلاکت کمتر از ۳۰,۰۰۰/ μL (30×10^9/L) نشان دهنده بیماری شدید و تعداد نوتروفیل های زیر ۲۰۰/ μL (0.2×10^9/L) نشان دهنده بیماری بسیار شدید است. تصور می شود تولید لنفوسیت طبیعی است، اما بیماران ممکن است لنفوپنی خفیف داشته باشند. پلاکت‌ها به طور طبیعی عمل می کنند. تغییرات کیفی قابل توجه مورفولوژی گلبول قرمز، لکوسیت یا پلاکت درلام خونی از ویژگی‌های کم خونی آپلاستیک اکتسابی کلاسیک نیست. در مواردی، تنها یک رده سلولی در ابتدا کاهش می یابد، که ممکن است منجر به تشخیص زودهنگام آپلازی گلبول قرمز خالص یا ترومبوسیتوپنی آمگاکاریوسیتی شود. در چنین بیمارانی، سایر رده‌های سلولی مدت کوتاهی پس از آن (روزها تا هفته ها) از بین می روند و امکان تشخیص قطعی را فراهم می کنند.

یافته‌های پلاسما

پلاسما حاوی سطوح بالایی از فاکتورهای رشد خونساز از جمله اریتروپویتین، TPO و عوامل محرک کلنی میلوئید است. با این حال، برای مراقبت‌های بالینی نیازی به اندازه گیری سطوح فاکتور رشد نیست. مقادیر آهن پلاسما معمولاً بالا است و ترخیص آهن طولانی‌تر و با کاهش ادغام در گلبول‌های قرمز است.

یافته‌های مغز استخوان

مورفولوژی

آسپیراسیون مغزاستخوان معمولاً حاوی اسپیکول‌های متعدد با فضاهای خالی و پر از چربی و سلول‌های خونساز نسبتاً کمی است. لنفوسیت‌ها، پلاسماسل‌ها، ماکروفاژها و ماست سل‌ها ممکن است وجود داشته باشند. گاهی اوقات اسپیکول‌ها سلولار یا حتی هایپرسلولار هستند (نواحی "hot spots")، اما مگاکاریوسیت‌ها معمولا کاهش یافته اند. به نظر نمی‌رسد این مناطق کانونی خونسازی باقیمانده از اهمیت پیش آگهی برخوردار باشند. سلول‌های گرانولوسیتی باقی‌مانده عموماً طبیعی به نظر می‌رسند، اما مشاهده اریتروپویزیس ماکرونورموبلاستیک خفیف، احتمالاً در نتیجه سطوح بالای اریتروپویتین، غیرعادی نیست. بیوپسی مغزاستخوان برای تأیید هیپوسلولار بودن ضروری است، زیرا در سایر اختلالات، به خصوص اگر فیبروز وجود داشته باشد، اسپیکول‌ها و سلول‌ها تولید ضعیفی دارند. در کم خونی آپلاستیک شدید، همانطور که توسط گروه بین المللی مطالعه کم خونی آپلاستیک تعریف شده است، کمتر از ۲۵ درصد سلولی یا کمتر از ۵۰ درصد سلولی همراه با کمتر از ۳۰ درصد سلول‌های خونساز در مغزاستخوان دیده می شود.

رشد سلول های پیش ساز

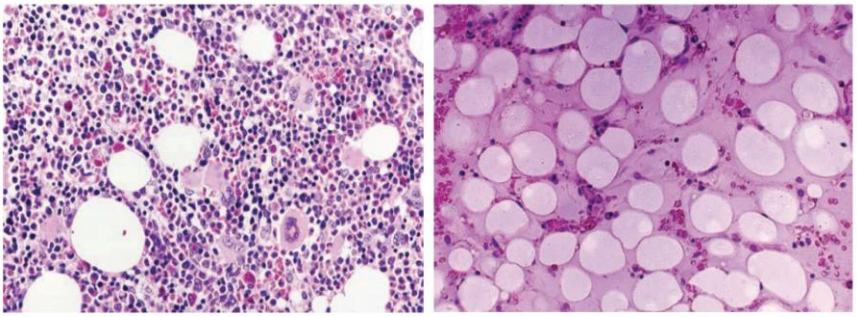
در شرایط آزمایشگاهی سنجش کلنی CFU-GM و BFU-E کاهش قابل توجهی در سلول های پیش ساز نشان می‌دهد.

مطالعات سیتوژنتیک و ژنتیک

انجام آنالیز سیتوژنتیک به دلیل سلولاریته کم ممکن است دشوار باشد. بنابراین، ممکن است آسپیره‌های متعدد نیاز باشد تا سلول های کافی برای مطالعه فراهم شود. نتایج در کم خونی آپلاستیک طبیعی است. ناهنجاری های سیتوژنتیک کلونال در کم خونی آپلاستیک آشکار، نشان دهنده یک بیماری میلوئید کلونال هیپوپلاستیک زمینه ای است. حرکت به سمت تکنیک‌های جدیدتر مانند هیبریداسیون ژنومی مقایسه‌ای مبتنی بر ریزآرایه (CGH) امکان تشخیص آنوپلوئیدی، حذف، تکرار، و/یا تقویت هر مکان نشان‌داده‌شده در یک آرایه را می‌دهد. علاوه بر این، CGH مبتنی بر ریزآرایه ابزاری موثر برای تشخیص ناهنجاری‌های کروموزومی زیر میکروسکوپ است. این رویکرد حساسیت را برای تشخیص ناهنجاری‌های کروموزومی در نمونه‌های مغز بسیار هیپوسلولار، در مقایسه با G-banding استاندارد، علی‌رغم رقیق شدن سلول‌های خونساز ناچیز با سلول‌های استرومایی غیرخونساز (مانند فیبروبلاست) افزایش می‌دهد. توالی یابی Nextgeneration اگزون های هدف، ۳۲ جهش مرتبط با بدخیمی های میلوئیدی را کشف کرده است. این جهش ها در نزدیک به ۲۰ درصد (۲۹ از ۱۵۰ بیمار) موارد کم خونی آپلاستیک رخ داده است. این جهش ها شامل ژن های ASXL1، DNMT3A و BCOR هستند که جهش های محرک در سندرم میلودیسپلاستیک و لوسمی میلوژن حاد محسوب می شوند.

مطالعات تصویربرداری

تصویربرداری رزونانس مغناطیسی (MRI) می تواند برای تمایز بین بافت چربی مغزاستخوان و سلول های خون ساز استفاده شود. این رویکرد ممکن است تخمین مفیدتری از تراکم سلول های خونساز مغز استخوان نسبت به تکنیک های مورفولوژیک باشد و ممکن است به افتراق لوسمی میلوژن هیپوپلاستیک از کم خونی آپلاستیک کمک کند.



شکل ۶-۲: بیوپسی مغزاستخوان بیمار مبتلا به کم خونی آپلاستیک

الف. بخش بیوپسی مغزاستخوان طبیعی یک بزرگسال جوان. ب- بیوپسی مغزاستخوان یک جوان با کم خونی آپلاستیک بسیار شدید. نمونه فاقد سلول‌های خون ساز است و فقط حاوی لنفوسیت-های پراکنده و سلول‌های استرومایی است. فضای خونساز به سلول‌های شبکه ای (فیبروبلاستهای پیش چربی) تبدیل شده با سلولهای چربی جایگزین می شود.

تشخیصهای افتراقی

اگر فقط شمارش خون در نظر گرفته شود، هر بیماری که می تواند با پان سیتوپنی تظاهر کند، ممکن است کم خونی آپلاستیک را تقلید کند. اندازه‌گیری تعداد رتیکولوسیت‌ها و مطالعه لام خونی و بیوپسی مغزاستخوان از گام‌های اولیه ضروری برای رسیدن به تشخیص است. درصد رتیکولوسیت ۰,۵ درصد تا صفر به شدت نشان دهنده اریتروپوئیزی آپلاستیک است و هنگامی که با لکوپنی و ترومبوسیتوپنی همراه شود، به کم خونی آپلاستیک اشاره دارد. عدم وجود ناهنجاری‌های کیفی سلول‌ها بر روی لام خون و هیپوسلولاری قابل توجه مغزاستخوان از مشخصه کم خونی آپلاستیک اکتسابی است. اختلالاتی که معمولاً با کم خونی آپلاستیک شدید اشتباه گرفته می شود شامل تقریباً ۵ تا ۱۰ درصد از بیماران مبتلا به سندرم میلودیسپلاستیک است که با مغز هیپوپلاستیک به جای هیپرسلولار مراجعه می کنند. اگر مورفولوژی غیرطبیعی لام خونی مطابق با میلودیسپلازی وجود داشته باشد (مانند پویکیلوسیتوز، بازوفیلیک استیپلینگ ، نوتروفیل‌ها با هیپوگرانولاسیون یا ناهنجاری شبه پلگر-هوت)

باید در نظر گرفته شود. پیش سازهای اریتروئید مغزاستخوان در میلودیسپلازی ممکن است ویژگی‌های بدشکلی داشته باشند.

پیش سازهای گرانولوسیت ممکن است کاهش یا گرانولاسیون غیر طبیعی داشته باشند. مگاکاریوسیت ها ممکن است دارای لوبولاسیون هسته ای غیر طبیعی باشند (به عنوان مثال، میکرومگاکاریوسیت های تک لوبولار).

اگر ناهنجاریهای سیتوژنتیک کلونال پیدا شود، یک اختلال میلوئیدی کلونال، به ویژه سندرم میلودیسپلاستیک یا لوسمی میلوژن هیپوسلولار محتمل است. مطالعات MRI استخوان ممکن است در افتراق کم خونی آپلاستیک شدید از سندرم های کلونال میلوئید مفید باشد. اولی یک سیگنال چربی و دومی یک الگوی سلولی منتشر می دهد.

مغزاستخوان هیپوسلولار اغلب با PNH همراه است.PNH با یک جهش اکتسابی در ژن PIG-A مشخص می شود که آنزیمی را کد می کند که برای سنتز مانولیپیدها لازم است. جهش ژنی از سنتز پیش ساز لنگر گلیکوزیل فسفاتیدیلینوزیتول جلوگیری می کند. این بخش چندین پروتئین، از جمله بازدارنده‌های مسیر کمپلمان به غشای سلول‌های خونی را لنگر می‌اندازد، و فقدان آن باعث همولیز با واسطه کمپلمان در PNH می‌شود. تقریباً ۵۰ درصد از بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک معمولی، شواهدی از نقص مولکول گلیکوزیل فسفاتیدیل انوزیتول و کاهش پروتئین متصل به فسفاتیدیل انوزیتول بر روی لکوسیت‌ها و گلبول‌های قرمز دارند که توسط فلوسیتومتری ارزیابی می‌شود، مشابه آنچه در PNH مشاهده می‌شود.

گاهی اوقات، کم خونی آپلاستیک آشکار ممکن است پیش آگهی لوسمی لنفوبلاستیک حاد دوران کودکی یا به طور کمتر شایع، بزرگسالان باشد. گاهی اوقات، بررسی دقیق سلول‌های مغزاستخوان توسط میکروسکوپ نوری یا فلوسیتومتری، جمعیتی از لنفوبلاست‌های لوسمیک را نشان می‌دهد.

در موارد دیگر، لوسمی حاد ممکن است دیرتر ظاهر شود. لوسمی سلول مودار، بیماری هوچکین، یا زیرگروه های دیگری از لنفوم ، به ندرت ممکن است قبل از یک دوره هیپوپلازی مغزاستخوان رخ دهد. ایمونوفنوتایپینگ مغزاستخوان و سلول های خونی با فلوسیتومتری برای CD25 ممکن است حضور سلول های مودار را آشکار کند. سایر ویژگی های بالینی ممکن است متمایز باشد. ارگانومگالی مانند لنفادنوپاتی، هپاتومگالی یا اسپلنومگالی با ویژگی‌های آتروفیک (هیپوپرولیفراتیو) کم خونی آپلاستیک ناسازگار است. لوسمی لنفوسیتی گرانولار بزرگ نیز با کم خونی آپلاستیک همراه است. موارد نادری از کم خونی آپلاستیک اکتسابی تیپیک توسط لوسمی لنفوسیتی حاد t(9;22)مثبت (ALL) یا لوسمی میلوژن مزمن (CML) مشاهده شده است.

درمان

کم خونی شدید، خونریزی ناشی از ترومبوسیتوپنی، و به طور غیرمعمول در زمان تشخیص، عفونت ثانویه به گرانولوسیتوپنی و مونوسیتوپنی نیازمند توجه فوری برای حذف شرایط بالقوه تهدیدکننده حیات و بهبود بیمار است. درمان اختصاصی‌تر آپلازی مغزاستخوان شامل دو گزینه اصلی است: (۱) پیوند سلول‌های بنیادی خونساز سیژنیک یا آلوژنیک یا (۲) درمان سرکوب‌کننده سیستم ایمنی ترکیبی با ATG و سیکلوسپورین. انتخاب روش خاص درمان به عوامل متعددی از جمله سن و وضعیت بیمار و در دسترس بودن اهداکننده سلول‌های بنیادی خونساز با HLA همسان با سطح آلل بستگی دارد. به طور کلی، پیوند درمان ارجح برای کودکان و در غیر این صورت بزرگسالان جوان سالم تر است. آزمایش سازگاری بافتی اولیه خواهر و برادر از اهمیت ویژه ای برخوردار است زیرا مشخص می کند که آیا اهداکننده بهینه در دسترس بیمار است یا خیر. برای پیوند منبع سلول های بنیادی ترجیحی یک خواهر و برادر سازگار با بافت است که در جایگاههای HLA-A، B-، C- و DR- همسان است.

کم خونی آپلاستیک ارثی

کم خونی فانکونی

تعریف و تاریخچه

کم خونی فانکونی شایع ترین شکل کم خونی آپلاستیک اساسی است و در ابتدا در سه برادر توسط فانکونی در سال ۱۹۲۷ توصیف شد. این بیماری به عنوان یک بیماری اتوزومال مغلوب به ارث می رسد که ناشی از نقص در ژن هایی است که ثبات DNA را تعدیل می کند.

اپیدمیولوژی

کم خونی فانکونی یک اختلال ناشایع است و تخمین زده می شود که در هر ۱ از ۱ میلیون نفر رخ دهد. در آفریقایی های اروپایی تبار به مراتب بیشتر است.

علت شناسی و پاتوژنز شانزده گروه مکمل، که توسط هیبریداسیون سلولهای سوماتیک تعریف شده اند، با ایجاد کم خونی فانکونی (FA) مرتبط هستند. گروه مکمل یک زیر گروه ژنتیکی است. شناسایی یک گروه مکمل مستلزم افزودن یک ژن به ژنوم یک سلول برای اصلاح (تکمیل) نقص ژنتیکی است. این روش را می توان با مطالعات همجوشی سلولی انجام داد. پس از ادغام دو سلول با هم و در نتیجه اتصال مواد ژنتیکی آن ها، می توان سلول ها را از نظر نقص ژنتیکی آزمایش کرد. در مورد کم خونی فانکونی، این امر با آزمایش دی اپوکسی بوتان خواهد بود. در این آزمایش دی اپوکسی بوتان منجر به تکه تکه شدن کروموزوم در سلول های بیماران مبتلا به کم خونی فانکونی می شود. هیبریدهایی که در آنها حساسیت بیش از حد به دی اپوکسی بوتان تصحیح می شود (مکمل) می تواند ناشی از ادغام سلولهای زیرگروه های ژنتیکی مختلف (گروههای مکمل) باشد، در حالی که هیبریدهایی که هنوز حساسیت را نشان می دهند نتیجه ادغام سلول های همان زیرگروه هستند. از آنجایی

که می توان گروه مکمل را بدون دانستن ژن درگیر تعیین کرد، این رویکرد اولین گام برای درک اساس ژنتیکی یک بیماری است. هنگامی که ژن ها شناخته شدند، دیگر نیازی به استفاده از همجوشی سلولی نیست بلکه می‌توان از ناقل‌های رتروویروسی برای وارد کردن ژن‌های اصلاح‌شده در سلول‌ها استفاده کرد.

گروه های مکمل FANCA، B، C، D1، D2، E، F، G، I، J، L، M، N، O، P و Q تعیین شده اند. اکثریت بیماران دارای جهش FANCA، FANCC یا FANCG هستند. تصور می شود که محصولات ژن A و C که پروتئین‌های سیتوپلاسمی هستند، با محصولات ژن‌های B، E، F، G، L و M که آداپتور یا فسفریل‌کننده هستند، یک «کمپلکس هسته‌ای FA» تشکیل می‌دهند. این کمپلکس به هسته منتقل می‌شود، جایی که برای Ubiquitination FANCD2 مورد نیاز است و سلول را از اتصال عرضی DNA محافظت می‌کند و در تعمیر DNA شرکت می‌کند. آسیب DNA باعث فعال شدن مسیر FA/BRCA و یوبی کوئیتیناسیون FANCD2 می شود که هدف آن DNA تغییر یافته است و با تعامل با پروتئین های ترمیم DNA، BRCA1، FANCD1/BRCA2، FANCN/PALB2 و RAD51، ترمیم را تسهیل می کند. در حضور یک محصول ژن جهش یافته، عملکرد طبیعی محافظتی و ترمیم مختل می شود که منجر به اثرات مخرب در بافت های حساس، از جمله سلولهای خونساز می شود.

به نظر می رسد آسیب ژنتیکی مربوط به اثرات نامطلوب رادیکال های اکسیژن فعال، مانند سوپراکسید و پراکسید هیدروژن و همچنین آلدئیدهای تولید شده توسط متابولیسم سلولی طبیعی باشد. علاوه بر نقایص ژنتیکی که منجر به بی ثباتی DNA و ناتوانی در ترمیم DNA می شود، TNF-α و γ - در مغزاستخوان بیماران کم خونی فانکونی بیش از حد بیان می شوند. TNF-α بیش از حد ممکن است در سرکوب اریتروپوئزیس در این بیماران نقش داشته باشد. تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال و آلدئیدها، مکانیسم‌های معیوب ترمیم DNA، حساسیت مفرط به

سیتوکین‌هایی مانند TNF-α، و کوتاه شدن تلومرهای محافظ DNA مرتبط با سن، استعداد قابل توجهی برای تکامل کلونال و نئوپلازی در بیماران کم خونی فانکونی ایجاد می‌کند.

ویژگی های بالینی

عقب ماندگی رشد، که منجر به کوتاهی قد و ناهنجاری های اسکلتی می شود، شایع است. ناهنجاری های قامتی، بدشکلی، یا انگشت شست های اضافی رادیوس دیسپلاستیک در نیمی از بیماران رخ می دهد. ناهنجاری های لگن و مهره نیز ممکن است رخ دهد. نقص های قلبی، ناهنجاری های چشمی و کلیه های از کار افتاده، بدشکل یا به هم ریخته ممکن است وجود داشته باشند. زنان ممکن است دچار آتروفی رحم و واژن، فقدان تخمدان، ناباروری و قاعدگی دیررس و یائسگی زودرس باشند و مردان ممکن است دچار هیپواسپرمی باشند. بنابراین، هیپوگنادیسم ممکن است مشهود باشد. ناتوانی یادگیری شایع است و میکروسفالی و عقب ماندگی ذهنی ممکن است یکی از ویژگی‌های آن باشد. پوست ممکن است به طور کلی هایپرپیگمانته باشد یا ممکن است مناطقی از رنگدانه‌های غیرطبیعی پوست داشته باشد که به آنها لکه-های cafe-au-lait گفته می شود، که صاف، قهوه ای روشن و به قطر ۱ تا ۱۲ سانتی متر هستند. هپاتواسپلنومگالی از ویژگی‌های این بیماری نیست. برخی از بیماران هیچ ناهنجاری فنوتیپی یا جزئی ندارند و ممکن است در نتیجه شروع نارسایی مغز استخوان یا سرطانی که مکان‌های زیادی را در اواخر دهه پنجم زندگی درگیر می کند، تشخیص داده شوند.

شروع نارسایی مغزاستخوان تدریجی است و معمولاً در نیمه آخر دهه اول زندگی مشهود است. تظاهرات کم خونی، از جمله ضعف، خستگی، و تنگی نفس در هنگام فعالیت، و ترومبوسیتوپنی همراه با اپیستاکسی، پورپورا، یا سایر خونریزی‌های غیرمنتظره، از یافته‌های اصلی هستند. تظاهرات هماتولوژیک و احشایی در نهایت در بیش از یک سوم بیماران با هم ترکیب می شوند، اما برخی از آن ها ممکن است

سیتوپنی و تغییرات جسمی غیرقابل مشاهده داشته باشند، در حالی که برخی دیگر ممکن است ناهنجاری های جسمی بدون یا با حداقل اختلال در تشکیل سلول های خونی برای ماه ها یا سال ها داشته باشند. برخی از حاملان ژن ممکن است عملاً تحت تأثیر قرار نگیرند. در گذشته تصور می‌شد که کودکان خانواده‌های فانکونی با شروع کم خونی آپلاستیک بدون ناهنجاری‌های جسمی مادرزادی دارای یک اختلال متفاوت به نام سندرم Estren-Dameshek هستند. با این حال، این کودکان که لنفوسیت-های آنها به دی اپوکسی بوتان حساسیت نشان می دهد، کم خونی فانکونی بدون ناهنجاری‌های اسکلتی دارند.

ویژگی های آزمایشگاهی

شمارش خون و سلولاریته مغزاستخوان اغلب تا ۵ تا ۱۰ سالگی طبیعی است، زمانی که پان سیتوپنی در یک بازه زمانی طولانی ایجاد می شود. ماکروسیتوز همراه با آنیزوسیتوز و پویکیلوسیتوز ممکن است قبل از هر گونه سیتوپنی وجود داشته باشد. ترومبوسیتوپنی ممکن است قبل از ایجاد گرانولوسیتوپنی و کم خونی باشد. مغز استخوان هیپوسلولار می شود و آزمایش‌های کلنی آزمایشگاهی کاهش CFU-GM و BFU-E را نشان می دهد.

شکستگی‌های کروماتیدی تصادفی در سلول‌های میلوئیدی، لنفوسیت‌ها و نمونه‌های بیوپسی پرزهای کوریونی وجود دارد. این آسیب کروموزومی پس از قرار گرفتن در معرض عوامل اتصال عرضی DNA مانند میتومایسین C یا دی اپوکسی بوتان تشدید می شود. حساسیت بیش از حد کروموزوم‌های سلول‌های مغزاستخوان یا لنفوسیت‌ها به عامل دوم به عنوان یک آزمایش تشخیصی برای این بیماری استفاده می شود. پیشرفت چرخه سلولی در انتقال G2- به M- طولانی می شود و سلول‌ها در کشت در شرایط آزمایشگاهی نسبت به سمیت اکسیژن حساس تر هستند. آزمایش لنفوسیت‌های بیماران اطفال مبتلا به کم خونی آپلاستیک از نظر حساسیت به دی

اپوکسی بوتان مهم است، زیرا درمان کم خونی فانکونی با درمان کم خونی آپلاستیک اکتسابی متفاوت است.

در آینده نزدیک، آزمایشگاه‌های بالینی قادر خواهند بود بیماران مشکوک را ژنوتیپ کنند. تعیین جهش ژنی خاص مسئول در بیمار مهم است زیرا تشخیص را تأیید می کند، ژنوتیپ مرتبط با BRCA2 را که ممکن است مستعد ابتلا به سرطان باشد (مانند سینه، تخمدان) شناسایی می کند و امکان تشخیص ناقل را فراهم می کند.

تشخیص های افتراقی

تشخیص افتراقی کم خونی فانکونی شامل سایر علل کم خونی آپلاستیک، به ویژه آن دسته از سندرم‌های خانوادگی مرتبط با ناهنجاری‌های اسکلتی و سایر ویژگی‌های بدشکلی است. سایر انواع خانوادگی کم خونی آپلاستیک با یا بدون آنومالی مرتبط گزارش شده است. در مواردی که هیچ حساسیتی نسبت به عوامل مخرب DNA مشاهده نمی شود، این سندرم نشان دهنده کم خونی فانکونی نیست. چندین سندرم غیر معمول از این نوع در ادامه توضیح داده شده و در جدول آورده شده است.

در طی درمان اغلب بیماران مبتلا به کم خونی فانکونی به ATG یا سیکلوسپورین پاسخ نمی دهند، اما با تجویز آندروژن، اغلب تا چندین سال، بهبود می یابند. سیتوکین‌ها ممکن است در شمارش خون مقداری بهبود ایجاد کنند، اما اثر آنها ممکن است کاهش یابد. مطالعات بر روی یک مدل موش همچنین نشان می دهد که اثرات سیتوکین ممکن است پایدار نباشد. متوسط عمر تجمعی از نارسایی پیشرونده مغز استخوان، تبدیل به سندرم میلودیپلاستیک، AML(حدود ۱۰ درصد بیماران)، یا توسعه انواع سرطان های دیگر، مانند سرطان های مربوط به سیستم عصبی، سیستم گوارش (به ویژه کبد)، یا سر و گردن تقریبا ۲۰ سال است. سرطان‌های متعدد در هر بیمار نیز رخ می دهد. سرطان ممکن است تا اواخر دهه پنجم زندگی رخ دهد و در ۲۵ درصد بیماران قبل از تشخیص کم خونی فانکونی باشد. وجود یک ناهنجاری

سیتوژنتیک کلونال یا مورفولوژی مغز استخوان سازگار با میلودیسپلازی به طور قابل توجهی بقای پنج ساله را کاهش می دهد.

کاهش قابل توجه دوز رژیم درمانی سیکلوفسفامید و پرتودرمانی با توجه به حساسیت بیش از حد بافت ها به قرار گرفتن در معرض آسیب DNA ضروری است. خطر سرطان به قدری بالا است که در آن باید از مراقبت های ویژه استفاده کرد؛ به عنوان مثال، معاینه مکرر لگن در زنان، اولتراسونوگرافی کبدی برای تشخیص ناهنجاری ها، و معاینه دقیق اورولوژی. درمان سرطان در بیماران مبتلا به کم خونی فانکونی نیاز به در نظر گرفتن حساسیت مشخص سلولهای آنها به عوامل پیوند دهنده DNA و رادیوتراپی دارد. DNA مکمل طبیعی به سلول های بیماران با بازسازی مقاومت در برابر عوامل آسیب رسان DNA منتقل شده است. مشکلات در این رویکرد شامل کمبود سلول های بنیادی در این بیماران و سمیت بالقوه روش انتقال ژن است.

دیسکراتوز مادرزادی

تعریف

این اختلال ارثی با ناهنجاری‌های پوست و غشای مخاطی، نارسایی پیشرونده مغز استخوان و استعداد تبدیل به بدخیمی مشخص می شود. این بیماری در مردان بسیار شایع تر از زنان است و تقریباً در ۱ نفر از هر ۱۰۰۰۰۰۰ نفر مشاهده می‌شود.

پاتوژنز

دیسکراتوز معمولاً به عنوان یک اختلال مغلوب وابسته به کروموزوم X به ارث می رسد، اگرچه موارد نادری می تواند دارای توارث اتوزومال غالب یا اتوزومال مغلوب باشد. این بیماری بازتابی از اختلال عملکرد کمپلکس تلومر است و در نتیجه فعالیت تلومراز معیوب ناشی از جهش در ژن‌های مرتبط با تلومراز رخ می‌دهد. کمپلکس تلومراز طول تلومرها ، که ساختارهای تکراری نوکلئوتیدی هستند و در انتهای کروموزوم‌های یوکاریوتی (مثلاً 5′-TTAGGG-3′) قرار دارند را حفظ می‌کند. در

دیسکراتوز مادرزادی، تلومرها به طور قابل توجهی کوتاه می شوند که منجر به بی ثباتی ژنومی و آپوپتوز سلولی (از جمله سلولهای مغزاستخوان) می شود. جهش ژن DKC1 مسئول شکل مغلوب مرتبط با X است. DKC1 دیسکرین را رمزگذاری می کند که یک جزء پروتئینی چند عملکردی حفاظت شده از مجموعه تلومراز است. جهش ژن‌های TERT، TERC و TINF2 ناهنجاری‌های اصلی در فرم اتوزومال غالب هستند. جهش TINF2 در بیماران مبتلا به دیسکراتوز مادرزادی توصیف شده است. جهش‌های مغلوب در NHP2 و NOP10، که بخش‌هایی از اجزای کوچک ریبونوکلئوپروتئین مرتبط با کمپلکس تلومرازرا رمزگذاری می کنند نیز در ارتباط با دیسکراتوزیس توصیف شده است. جهش‌های مغلوب هموزیگوت در ژن TERT یک نوع شدید از دیسکراتوز ایجاد می کند که به آن سندرم Hoyeraal-Hreidarsson می گویند.

یافته‌های بالینی

یافته‌های پوستی معمولاً بعد از ۵ سالگی ظاهر می شوند و شامل لکه‌های پوستی مشبک، برنزه تا خاکستری،هایپرپیگمانته و هیپوپیگمانته هستند. آلوپسی پوست سر، مژه‌ها و ابروها؛ آدرماتوگلیفی (از بین رفتن برجستگی‌های پوستی انگشتان دست و پا)؛ هیپرکراتوز کف دست و پا؛ لکوپلاکی مخاطی در ۷۵ درصد بیماران؛ و ناخن‌های دیستروفیک در بیش از ۸۵ درصد بیماران. سایر نقاط مخاطی مانند ملتحمه، مجرای اشکی، مری، مجرای ادرار، واژن و مقعد می توانند درگیر شوند که گاهی اوقات تنگی مجاری منجر به بلع دشوار یا سوزش در هنگام دفع ادرار می شود. درگیری عروق ریوی در اقلیت قابل توجهی از کودکان مبتلا رخ می دهد. کم خونی آپلاستیک معمولاً در اواخر کودکی یا اوایل بزرگسالی ایجاد می شود و در یافته‌های کلاسیک خون و مغز استخوان که در آنمی آپلاستیک اکتسابی توضیح داده شده است مشهود است. ناقلان زن دیسکراتوز مادرزادی مرتبط با X ممکن است ناهنجاریهای جزئی مانند ناخن دیستروفیک، یک ناحیه از هیپوپیگمانتاسیون یا لکوپلاکی خفیف داشته باشند.

تظاهرات بالینی پیش بینی بیماری را نشان می دهد که در نسل‌های بعدی زودتر رخ می دهد و به نظر می رسد که مربوط به کوتاه شدن زودتر تلومرها باشد.

تشخیص

تشخیص از ترکیب یافته‌های فنوتیپی و کمبود سلول‌های خونی حاصل می شود. تجزیه و تحلیل ژنتیکی برای جهش‌های ژنی کمپلکس تلومراز باید برای تایید نتیجه گیری بالینی استفاده شود. طول تلومر کوتاه شده در لوکوسیت ها نیز می تواند توسط مطالعات هیبریداسیون درجا فلوروسنت ارزیابی شود.

مدیریت

پیوند خونساز سلولهای بنیادی به دلیل عوارض مکرر و شدید پس از پیوند، نتایج متناقضی داشته است.

پیوند غیر میلوآبلاتیو ممکن است نتایج را بهبود بخشد. پیوند ممکن است سیتوپنیها را بهبود بخشد، اما ناهنجاریهای سایر اندامها یا فراوانی سرطان غیرخونساز ثانویه را بهبود نمی بخشد.

سیر و پیش آگهی

بروز کارسینوم سلول سنگفرشی در محل‌های مخاطی افزایش می‌یابد و کارسینوم سلول سنگفرشی اغلب از محل‌های لکوپلاکی در پوست، دستگاه گوارش یا دستگاه ادراری تناسلی منشأ می‌گیرد. این کارسینوم‌ها معمولا در سنین ۲۰ تا ۳۰ سالگی ایجاد می شوند.

مرگ و میر

عفونت نوتروپنیک یا خونریزی ترومبوسیتوپنی در حدود دو سوم بیماران مبتلا به کم خونی آپلاستیک رخ می دهد. میانگین بقا تقریبا ۳۰ سال است.

سندرم SHWACHMAN-DIAMOND

تعریف

این بیماری یک اختلال ارثی غیرمعمول است که تخمین زده می شود در هر ۷۵۰۰۰ تولد یک بار رخ دهد، نارسایی پانکراس برون ریز را با استئاتوره ثانویه، کمبود سلول های خونی، و ناهنجاری های اسکلتی نشان دهد. برای اولین بار در سال ۱۹۶۴ توصیف شد.

پاتوژنز

سندرم شواچمن-دیاموند ناشی از جهش در ژن SBDS در کروموزوم q11۷ است که باعث آپوپتوز سلولی تسریع شده از طریق مسیر FAS می شود. پرولیفراسیون حاصل ممکن است دلیل کوتاه شدن غیرطبیعی تلومر باشد که در لکوسیت‌ها در این شرایط ثبت شده است. مکانیسم پاتوژنتیکی که (۱) از رشد سلول‌های آسینار پانکراس جلوگیری می‌کند، (۲) منجر به مورفوژنز غیرطبیعی استخوان می‌شود و (۳) باعث اختلال مغزستخوان در تولید سلول‌های خونی می‌شود، شناخته نشده است. ژن SBDS باعث آزادسازی فاکتور ۶ آغاز یوکاریوتی از ریبوزوم pre ۶۰s می شود. این عمل برای تشکیل یک ریبوزوم عملکردی بالغ ۸۰s و اتصال ریبوزوم مناسب ضروری است. جهش در SBDS همچنین منجر به ناهنجاری در حرکت نوتروفیل و کموتاکسی می شود، اما تشکیل چرک در داخل بدن کافی به نظر می رسد.

یافته های بالینی

نارسایی پانکراس، استئاتوره و نوتروپنی در اکثر بیماران در زمان تشخیص وجود دارد. رنگ پریدگی ممکن است منعکس کننده کم خونی و کبودی آسان باشد. اپیستاکسی یا خونریزی از سایر نقاط منعکس کننده ترومبوسیتوپنی است.

نوتروپنی تقریباً در ۹۵ درصد، کم خونی در تقریباً ۵۰ درصد و ترومبوسیتوپنی در تقریباً ۳۵ درصد از بیماران رخ می دهد. بنابراین، تعداد قابل توجهی از بیماران مبتلا به بای سیتوپنی یا تری سیتوپنی با مغزاستخوان هیپوپلاستیک هستند. سطح هموگلوبین جنینی در تقریباً ۷۵ درصد بیماران افزایش یافته است که احتمالاً به دلیل هیپوپلازی اریتروئیدی است. ناهنجاری‌های سیتوژنتیک مربوط به کروموزومهای ۷ و ۲۰ در سلول‌های مغزاستخوان توصیف شده است. نارسایی‌های تغذیه ای مرتبط با سوء جذب روده ای منجر به عدم رشد می شود. کوتاهی قد از ویژگی های این بیماری است. ناهنجاری های اسکلتی در بیشتر بیماران به ویژه استئوپروزها وجود دارد، اما در این بیماران ناهنجاری های مینای دندانی نیز دیده می شود.

اختلال عملکرد کبدی که با افزایش آمینوترانس آمیناز سرمی مشاهده می شود، در اغلب بیماران جوان دیده می شود و به نظر می رسد با افزایش سن برطرف می شود.. تاخیر در بلوغ شایع است. نوتروپنی و ناهنجاری کموتاکتیک ممکن است منجر به عفونت‌های مکرر از جمله سینوزیت، اوتیت، پنومونی، استئومیلیت و غیره شود. تولید لیپاز سلول پانکراس با افزایش سن بهبود می یابد و تقریباً نیمی از بیماران ممکن است با گذشت زمان در جذب چربی در روده کوچک بهبود پیدا کنند.

تشخیص

تشخیص بر اساس یافته‌های بالینی عدم رشد، استئاتوره و نوتروپنی است. نارسایی پانکراس می تواند توسط تریپسینوژن سرمی کم در بیماران زیر ۳ سال ایجاد شود. مغز استخوان ممکن است در ابتدا طبیعی باشد، اما شواهدی از نارسایی مغز استخوان و گاهی ناهنجاری های سیتوژنتیک، به ویژه کروموزوم ۷، با افزایش سن کودک، به دست می آید. سن بیان خونسازی کلونال (به عنوان مثال، سندرم میلودیپلاستیک یا AML) متغیر است. جهش ژنی SBDS در ۹۰ درصد بیماران مبتلا به سندرم شوچمن - دیموند وجود دارد.۱۰ درصد باقی مانده ویژگی های بالینی سندرم را دارند، اما نقایص ژنی تعریف نشده است.

مدیریت

مراقبت های حمایتی، به ویژه با آنزیم های مکمل لوزالمعده، برای تامین تغذیه مناسب و درمان مناسب و سریع عفونت های باکتریایی با آنتی بیوتیک ها مهم است. بسیاری از عوامل از جمله G-CSF، گلوکوکورتیکوئیدها، عصاره لوزالمعده، ویتامین‌ها، سعی در بهبود نوتروپنی با نتایج غیرقابل پیش بینی داشته اند. برخی از عوامل خطرات بالقوه ای دارند، مانند G-CSF که تکامل کلونی را پرورش می دهد و گلوکوکورتیکوئیدها که نقص ایمنی را پرورش می دهند. اختلال خون سازی شدید و سیتوپنی را می توان با پیوند سلول های بنیادی خون ساز آلوژنیک اصلاح کرد.

سیر و پیش آگهی

مرگ ناشی از سپسیس بسیار شایع است. این بیماران، به ویژه مردان، خطر قابل توجهی برای پیشرفت به سمت سندرم میلودیسپلاستیک یا AML دارند. ناهنجاری-های سیتوژنتیکی شایع هستند و تلومرها مانند سایر سندرم‌های نارسایی مغزاستخوان کوتاه می شوند. بقا تابعی از شدت سیتوپنی است. اگر سیتوپنی خفیف باشند، بقا تا دهه چهارم یا پنجم زندگی غیر معمول نیست. مشخص نیست که آیا سندرم شواخمن-دیاموند با افزایش بروز تومورهای سفت مرتبط است یا خیر.

سایر کم خونی‌های آپلاستیک ارثی

چندین سندرم نادر دیگر با پان سیتوپنی آپلاستیک همراه هستند و اینها در جدول توضیح داده شده است. ترومبوسیتوپنی آمیگاکاریوسیتی مادرزادی (ارثی) (CAMT) ناشی از جهش در ژن گیرنده TPO، MPL است. کودکان مبتلا را می توان به دو گروه تقسیم کرد: CAMT I با جهش هایی که منجر به از دست دادن کامل عملکرد گیرنده TPO می شود که منجر به ترومبوسیتوپنی شدیدتر و پیشرفت سریع به پان سیتوپنی (کم خونی آپلاستیک) می شود و CAMT II، ناشی از انواع مختلف جهش‌های نادرست، که در آن کودکان مبتلا با گذشت زمان، تعداد پلاکت‌ها به بیش

از 50×10^9 در لیتر افزایش می‌یابد و پیشرفت بسیار آهسته‌تری به پان سیتوپنی و گاهی اوقات با شدت کمتری دارند.

دیسژنزی رتیکولار ناشی از نقص سلول‌های بنیادی پرتوان است زیرا هم پیش سازهای لنفوئیدی و هم گرانولوسیتی تحت تأثیر قرار می گیرند. این یک اختلال اتوزومال مغلوب نادر است که در اثر جهش در ژن آدنیلات کیناز ۲ (AK2) ایجاد می‌شود و با ناشنوایی حسی عصبی دو طرفه، نقص ایمنی ترکیبی شدید و آگرانولوسیتوز مشخص می شود که نوزادان را در معرض عفونت‌های شدید و اغلب تهدید کننده زندگی قرار می دهد.

سندرم Seckel ناشی از جهش در ژن ATR است و سلول های مغز استخوان تبادل کروماتیدی بیشتری از خود نشان می دهند. آتاکسی - تلانژکتازی جهش یافته و کیناز مرتبط با ۳rad واکنش های سلولی به آسیب DNA و استرس تکثیر را میانجی گری می کند.

اکثر هشت سندرم مشخص شده در جدول زیر را می توان با پیوند مغز درمان کرد، اما این مرحله، در صورت موفقیت آمیز بودن، ناهنجاری‌های جسمی را اصلاح نمی کند، فقط نقص خون سازی و ایمونولوژیک را اصلاح می کند. ترمیم لنفوماتوپوز قوی با پیوند ممکن است تمایل آنها به تکامل کلونال به یک میلوئید کلونال یا در برخی موارد اختلال لنفوئیدی را کاهش دهد.

جدول ۶-۴: سایر سندرمهای ارثی نادر مرتبط با کم خونی آپلاستیک

اختلال	یافته‌ها	توارث	ژن جهش یافته

Unknown	AD	آتروفی مخچه و آتاکسی؛ پان سیتوپنی آپلاستیک؛ ± مونوزومی ۷; افزایش خطر ابتلا به AML	Ataxia-pancytopenia (myelocerebellar disorder)
MPL	AR (compound heterozygotes)	ترومبوسیتوپنی؛ وجود یا کاهش قابل توجه مگاکاریوسیتهای مغزاستخوان. تمایل به خونریزی؛ افزایش ترومبوپوئیتین؛ تمایل به پیشرفت به پان سیتوپنی آپلاستیک؛ تمایل به تکامل به بیماری میلوئید کلونال	Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia
LIG4	A (compound heterozygotes)	تاخیر رشد قبل و بعد از تولد؛ چهره دیسمورفیک؛ پان سیتوپنی آپلاستیک	DNA ligase IV deficiency
Unknown	AR	نارسایی رشد داخل رحمی و پس از زایمان؛ کوتاه قد؛ میکروسفالی؛ عقب ماندگی ذهنی؛ بدشکلی ظاهری مشخص؛ پان سیتوپنی آپلاستیک؛ افزایش خطر ابتلا به AML و ALL	Dubowitz syndrome
NBS1	AR	میکروسفالی؛ رخساره دیستروفیک؛ کوتاه قد؛ نقص ایمنی؛ حساسیت به تشعشع؛ پان سیتوپنی آپلاستیک؛ استعداد بدخیمی لنفوئیدی	Nijmegen breakage syndrome
Unknown	XLR	لنفوپنی؛ کم خونی و نوتروپنی؛ با پیوند سلولهای بنیادی خونساز اصلاح شد	Reticular dysgenesis (type of severe immunodeficiency syndrome)
ATR (and RAD3-related gene); PCNT	AR	نارسایی رشد داخل رحمی و پس از زایمان؛ میکروسفالی؛ بدشکلی ظاهری مشخص (نیمره سر پرنده)؛ پان سیتوپنی آپلاستیک؛ ? افزایش خطر ابتلا به AML	Seckel syndrome
Unknown	AD	ناهنجاریهای رادیال/ اولنار؛ پان سیتوپنی آپلاستیک؛ افزایش خطر ابتلا به AML	WT syndrome

AD, autosomal dominant; ALL, acute lymphocytic leukemia; AML, acute myelogenous leukemia; AR, autosomal recessive; XLR, X-linked recessive.

یافته های بالینی تعیین شده ممکن است در همه موارد سندرم وجود نداشته باشد. موارد جداگانه ای از کم خونی آپلاستیک خانوادگی با یا بدون ناهنجاری های مرتبط

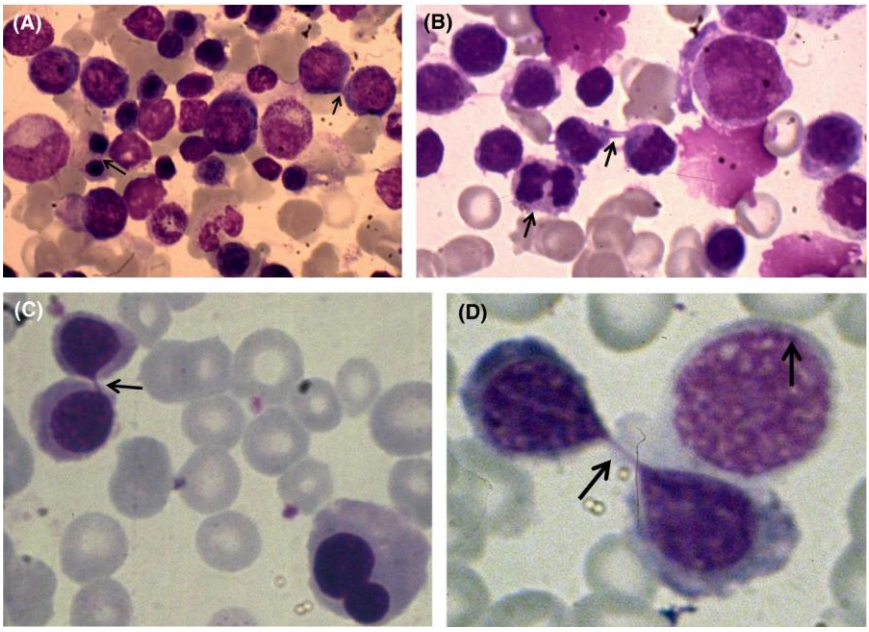
که با کم خونی فانکونی یا سایر سندرم های تعریف شده سازگار نیست گزارش شده است.

دیاموندبلک فان(آپلازی خالص رده ی اریتروئیدی)

این نوع آنمی در ۲۵ درصد موارد بیمار با کم خونی شدید بدو تولد شناخته می شود. در این آنمی آپلازی گلبول های قرمز به شکل نرموسیت نرموکروم بوده و کاهش شدید رتیکولوسیت ها به همراه فقدان پیش ساز های اریتروئیدی اتفاق می افتد. این نوع آپلازی ارثی به علت جهش در ژن های ریبوزومی اتفاق می افتد. آنومالی های ارثی گردن، صورت، اندام ها و ناهنجاری های کلیه و قلب در برخی از این بیماران گزارش شده است.کاهش خفیف لوکوسیت و ترومبوسیتوز نیز دیده می شود. حضور گلبول های قرمز ماکروسیتوز با آنتی ژن i به همراه افزایش HbF تا ۲۵٪ دیده می شود. از مهم ترین ویژگی های تشخیصی این نوع آنمی ، افزایش فعالیت آدنوزین دی آمیناز است.

کم خونی دیس اریتروپویتیک ارثی (CDA)

این نوع کم خونی به دسته ای اطلاق می گردد که با خون سازی غیر موثر همراه می باشد یعنی با وجود افزایش رده ی اریتروئیدی در مغز استخوان، رتیکولوسیت کافی به خون محیطی ارسال نمی گردد. در این دسته از بیماری، اختلالات دیس اریتروپوئز به شکل های نرموبلاست های دو یا چند هسته ای، پل بین هسته ای بین دو نرموبلاست، نرموبلاست با هسته شکسته ، جوانه دار، نامنظم و چند لوبوله ، نرموبلاست مگالوبلاست و نرموبلاست با انکلوزیون بازوفیلیک استپلینگ خشن دیده می شود.



شکل ۶-۳: گستره ی خون محیطی در کم خونی دیس اریتروپوئتیک تایپ I

پل های بین هسته ای در تمام تصاویر مشهود است.

تشخیص آزمایشگاهی

افزایش LDH، افزایش بیلی روبین غیر مستقیم و افزایش جذب آهن دیده می شود. این بیماری به سه تایپ مختلف تقسیم می شود که تایپ II شایع ترین آن می باشد.

کم خونی دیس اریتروپوئتیک تایپ I

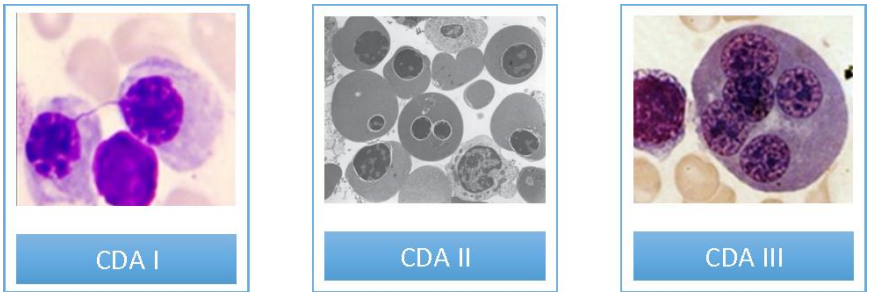
به شکل اتوزوم مغلوب به ارث می رسد و جهش در ژن CDAN1 که فرآورده ای به نام کودانین دارد رخ داده است. کم خونی به شکل ماکروستیک بوده و مورفولوژی داکروسیت و بازوفیلیک استپلینگ نیز دیده می شود. افزایش HbA2 گزارش شده است. وجود نرموبلاست های مغز استخوان به همراه پل کروماتینی بین هسته ای در ۰,۶ تا ۲,۸ درصد موارد و نرموبلاست های دو یا چند هسته ای از مهم ترین شاخص های این بیماریست.

کم خونی دیس اریتروپوئتیک تایپ II

این نوع دیس اریتروپوئز نیز به شکل آتوزوم مغلوب به ارث رسیده است. علت آن بیماری جهش در ژن CDA2 می باشد. این نوع دیس اریتروپوئز علاوه بر نرموبلاست های غیر طبیعی با اختلالات سرولوژیک نیز همراه است. کم خونی به شکل نرموسیتیک بوده اما تغییرات شکل و اندازه دیده می شود. بازوفیلیک نقطه ای، گلبول های با لبه نامنظم و نرموبلاست های دو هسته ای دیده می شود(۱۰ تا ۳۵ درصد پلی کروم و ارتوکروم). تست هامز یا سرم اسیدی شده مثبت است. از آن جا که این تست در بیماران مبتلا به PNH نیز مثبت است جهت افتراق این دو از هم باید دقت داشت که تست سوکروز فقط در PNH مثبت است. افزایش آنتی ژن i و کاهش قندی بودن سطح گلبول های قرمز از دیگر موراد گزارش شده است.

کم خونی دیس اریتروپوئتیک تایپ III

به شکل آتوزوم غالب به ارث می رسد. در مغز استخوان، هایپرپلازی نرموبلاست های چند هسته ای حتی تا ۱۲ عدد با تغییرات مگالوبلاستیک دیده می شود(۳۰ درصد).

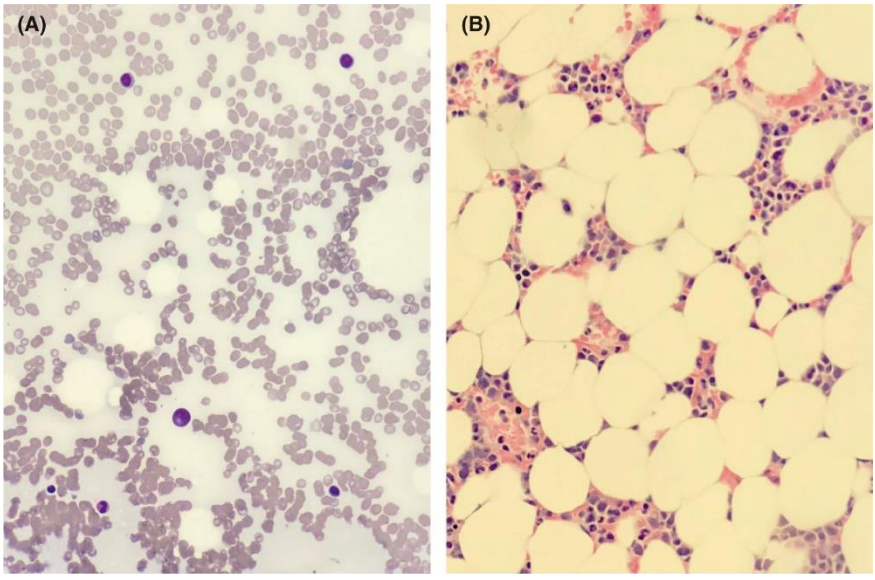


شکل ۶-۴: انواع مورفولوژی نرموبلاست در انواع دیس اریتروپوئز ارثی

کیس بالینی

زن 56 ساله ای پس از مراجعه به پزشک عمومی، برای ارزیابی بیشتر در مورد پان سیتوپنی مراجعه کرده است .او از خستگی و خونریزی از لثه به مدت 3 ماه شکایت دارد .بیمار منکر ابتلا به بیماری دیگر و استفاده از داروی جدید است .در معاینه ی فیزیکی لنفادنوپاتی یا هپاتواسپلنومگالی وجود ندارد .نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است.

Hb = 6 g/dl، % 0.5 = اندکس رتیکولوسیت، MCV = 97 fl ، WBC = 2,300 /µl ، شمارش مطلق نوتروفیل 1,100 /µl =، Plt = 12,000/µl



بیوپسی از مغز استخوان به عمل آمد .هیچگونه اختلال کروموزومی وجود ندارد .لام خون محیطی و بیوپسی مغز استخوان در زیر قابل مشاهده اند:

سوال ۱

کدام تشخیص بیشتر مطرح است ؟

۱) آنمی آپلاستیک (AA)
۲) آنمی بیماری های مزمن (ACD)
۳) سندرم میلودیسپلاستیک (MDS)
۴) نئوپلاسم های میلوپرولیفراتیو (MPN)
۵) آنمی همولیتیک اتوایمیون (AIHA)

پاسخ: ۱

پان سیتوپنی، آنمی ماکروسیتی، کاهش اندکس رتیکولوسیتی همراه با کاهش سلولاریته در بیوپسی مغز استخوان از علائم آنمی آپلاستیک هستند. MDS عمدتاً با هایپرسلولاریتی همراه است، MDS هیپوسلولار درصد اندکی از MDS ها را تشکیل می دهد.

وجود اختلال کلونال کروموزومی، مخصوصا مواردی که به طور معمول در MDS مشاهده می شوند، دلیل محکمی برای تشخیص MDS در مقابل AA است.

سوال ۲

نتیجه ی آزمایش های HIV ، هپاتیت ویروسی و فلوسایتومتری برای PNH منفی است .مصرف دارو یا مواد شیمیایی خاصی که ایجادکننده ی این بیماری باشد یافت نشد .علائمی مبنی بر وجود اختلال زمینه ایِ اتوایمیون یا بدخیمی نیز وجود ندارد . مناسب ترین روش کنترل بیماری کدام است ؟

۱) پیوند سلول بنیادی خونساز آلوژن
۲) ریتوکسماب
۳) سیکلوسپورین

۴) گلوبولین ضد تیموسیتی (ATG)

۵) ATG و سیکلوسپورین

پاسخ: ۵

پیوند سلول بنیادی آلوژنیک سازگار از خواهر یا برادر هم خون، اولین خط درمان برای بیماران زیر 40 سال است، در حالیکه سرکوب سیستم ایمنی با ATG و سیکلوسپورین برای بیماران بالای 40 سال یا بیمارانی که به هر علتی قادر به انجام پیوند سلول بنیادی آلوژن سازگار از خواهر یا برادر نیستند، استفاده می شود .در حال حاضر استفاده از اهدا کنندگان سازگار اما غیر خویشاوند یا خون بند ناف برای پیوند، در صورت عود بیماری یا در بیمارانی که اهدا کننده ی خواهر یا برادر ندارند در حال بررسی و تحقیق است.

سوال ۳

کدام نوع از ATG برای کنترل AA مناسب تر است ؟

۱) ATG اسب (h-ATG)

۲) ATG خرگوش (r-ATG)

۳) هر دو مورد فوق تاثیر مساوی دارند.

۴) اطلاعاتی در دسترس نیست.

پاسخ: ۱

مطالعات نشان می دهند، استفاده از h-ATG نسبت به r-ATG پاسخ و بقایی طولانی تری در بیمار ایجاد می کند.

سوال ۴

بیمار به طور مناسب با سرکوبگرهای ایمنی درمان شد .با این حال 46 ماه بعد، به علت درد شکم شدید به اورژانس مراجعه کرد.

بررسی ها نشان دهنده ی ترومبوز حاد در ورید مزانتریک است. مناسب ترین اقدام بعدی برای کنترل بیماری کدام است ؟

۱) بررسی جهش درJAK2
۲) بررسی فاکتور V لیدن و موتاسیون در ژن پروترومبین
۳) فلوسایتومتری برای CD55 وCD59
۴) بررسی سطح فاکتورVIII
۵) بررسی سطح فیبریوژن

پاسخ

در بیماران مبتلا به AA احتمال بروز اختلالات هماتوپوئتیک کلونال اکتسابی مثل PNH، سندرم میلودیسپلاستیک و لوسمی میلوئیدی حاد افزایش می یابد .در اکثر موارد AA ، در مرحله ی تشخیص یا در سیرِ بیماری، کلون های PNH وجود دارند . بیماران مبتلا به AA که ترومبوزهای وریدی جدید را تجربه می کنند باید به منظور شناسایی PNH از طریق فلوسایتومتری برای پروتئین های متصل به GPI شامل CD55وCD59 غربالگری شوند.

فصل هفتم: آنمی همولایتیک

فصل ۷- آنمی همولایتیک

مقدمه

طول عمر گلبول قرمز طبیعی ۱۲۰ روز است. کم خونی ناشی از کاهش طول عمر RBC را همولیتیک می نامند. ممکن است ارثی یا اکتسابی باشد و مکانیسم های اساسی ممکن است شامل ناهنجاری های غشای RBC، آنزیم های RBC و یا به شکل اکتسابی باشد.

ویژگی‌های عمومی بالینی و آزمایشگاهی

تظاهرات بالینی بیمار مبتلا به آنمی در درجه اول به شدت تحت تاثیر شروع ناگهانی یا تدریجی آنمی است و آنمی‌های همولیتیک نیز از این قاعده مستثنی نیستند. بیمار مبتلا به آنمی همولیتیک اتوایمیون یا مبتلا به فاویسم ممکن است یک اورژانس پزشکی محسوب شود، در حالی که بیماری‌های اسفروسیتوز ارثی خفیف یا آگلوتینین سرد ممکن است بعد از سال‌ها تشخیص داده شود. این وضعیت عمدتا ناشی از توانایی فوق العاده بدن برای سازگاری با آنمی‌هایی است که به آهستگی پیشرفت می‌کنند. آنچه آنمی‌های همولیتیک را از دیگر انواع آنمی متمایز می‌کند، این است که نشانه‌ها و علائم این بیماران مستقیما از همولیز خون ناشی می‌شود. از نظر بالینی، علامت اصلی یرقان است؛ به علاوه بیمار ممکن است متوجه تغییر رنگ در ادرار شود. در

بسیاری از موارد آنمی همولیتیک، طحال که محل اصلی و اولیه همولیز است بزرگ می‌شود و در برخی موارد بزرگی کبد ممکن است دیده شود. در تمامی انواع شدید مادرزادی آنمی همولیتیک ممکن است تغییرات استخوانی ناشی از فعالیت بیش از حد مغز استخوان پدید آید (اگر چه این تغییرات هیچ گاه به شدت آن ها در تالاسمی نیستند).

ویژگی‌های آزمایشگاهی آنمی همولیتیک ناشی از خود همولیز و پاسخ اریتروپویتیک مغز استخوان است. همولیز مرتبا موجب افزایش بیلی روبین غیرکنژوگه و افزایش آسپارتات ترانس آمیناز (AST) در سرم می‌شود. اوروبیلینوژن، هم در ادرار و هم مدفوع افزایش می‌یابد. اگر همولیز عمدتا داخل عروقی باشد، نشانه آن هموگلوبینوری است (اغلب همراه با هموسیدرینوری است) و افزایش لاکتات دهیدروژناز (LDH) و کاهش هاپتوگلوبین اتفاق می‌افتد. در مقابل سطح بیلی‌روبین ممکن است طبیعی یا اندکی افزایش یافته باشد. علامت اصلی پاسخ اریتروپویتیک مغز استخوان، افزایش رتیکولوسیت‌هاست. در بالین، چنانچه شک به آنمی همولیتیک وجود داشته باشد، معمولا آزمایشات خاصی برای تشخیص قطعی نوع خاص آنمی همولیتیک مورد نیاز خواهد بود.

همولیز خارج عروقی در مقابل داخل عروقی

همولیز خارج عروقی به معنای پارگی RBC توسط RES (به عنوان مثال کبد، طحال و ماکروفاژهای در سایر نقاط) است در حالی که همولیز داخل عروقی پارگی RBC را در خود گردش خون توصیف می‌کند. آزمایشات زیادی وجود دارد که به تعیین محل اصلی تخریب کمک می کند، که به نوبه خود به تعیین علت زمینه ای همولیز کمک می‌کند، به همین دلیل است که ما در وهله اول آزمایش ها را انجام می‌دهیم.

تشخیص همولیز

برای تشخیص همولیز پاسخ به این سوال اصلی اهمیت دارد که آیا کم خونی بیمار به دلیل همولیز است یا به دلیل مکانیسم‌های زمینه‌ای دیگر مانند از دست دادن خون، انفیلتراسیون مغز استخوان و غیره می‌باشد.

آزمایشات عمومی همولیز

آیا همولیز واقعا رخ می دهد؟ برای پاسخ ویژگی‌های پیشنهادی عبارتند از:

- شواهدی از افزایش تخریب گلبول‌های قرمز
- شواهد تولید گلبول‌های قرمز (برای جبران از دست دادن گلبول‌های قرمز)
- شواهد وجود اتوآنتی بادی در سرم بیمار

شواهدی از تخریب RBC

- افزایش بیلی روبین سرم
- افزایش LDH سرم (منعکس کننده گردش RBC)
- اسفروسیت‌ها یا سایر گلبول های قرمز غیر طبیعی، به عنوان مثال: فرگمنت‌های روی لام خون محیطی
- هاپتوگلوبین‌های پلاسما ممکن است کاهش یابند یا وجود نداشته باشند.
- افزایش اوروبیلینوژن مدفوع و ادرار (اوروبیلینوژن مدفوع اندازه گیری نمی‌شود.)
- کاهش طول عمر RBC (امروزه به ندرت اندازه گیری می‌شود.)

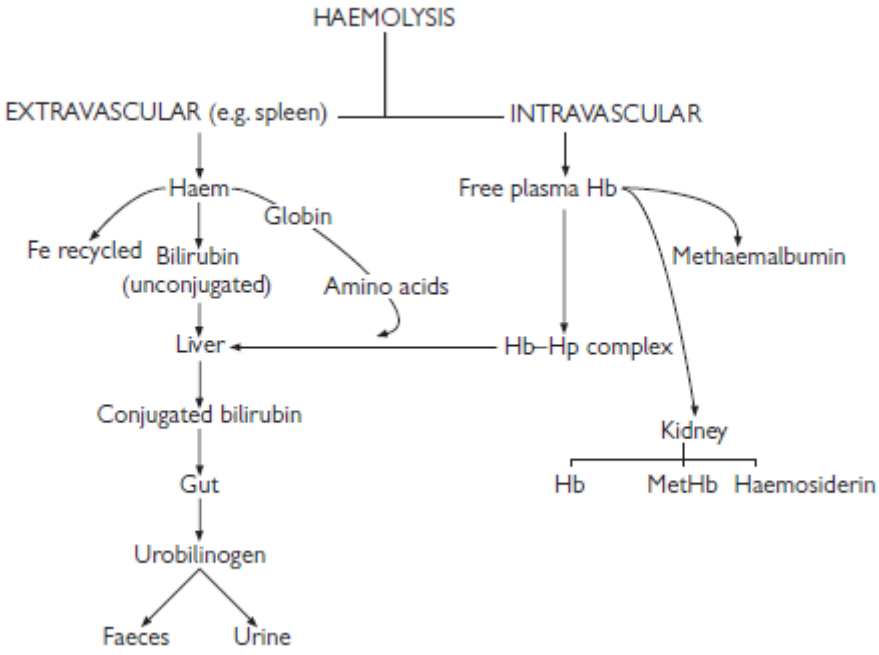
شواهدی از افزایش تولید RBC

- افزایش رتیکولوسیت‌ها (شمارش شده در لام، به صورت شمارش دستی یا خودکار)
- افزایش MCV (رتیکولوسیت ها بزرگتر از گلبول های قرمز بالغ هستند و کمبود فولات را که در اختلالات همولیتیک رخ می‌دهد فراموش نکنید.)

آیا همولیز عمدتاً داخل عروقی است؟

رخداد موارد زیر نشانه‌ای است از اینکه همولیز عمدتا داخل عروقی است:

- افزایش Hb پلاسما
- مت هم آلبومینمیا
- هموگلوبینوری
- هموسیدرینوریا



شکل ۷-۱: همولیز خارج عروقی در مقابل داخل عروقی

شکل۳,۸ افزایش پارگی گلبول‌های قرمز ممکن است خارج عروقی (خارج از گردش خون، عمدتاً طحال، کبد و مغز استخوان) یا داخل عروقی (در داخل عروق) باشد (Oxford Handbook of Clinical and Laboratory Investigation، ۲۰۰۲: ۱۸۵).

علت چیست؟

ژنتیک

- مورفولوژی RBC (به عنوان مثال اسفروسیت ها، الیپتوسیت‌ها).
- آنالیز Hb
- سنجش آنزیم RBC

اکتسابی

- سیستم ایمنی – کومبس مستقیم (DAT) را چک کنید.
- عوامل غیر ایمنی: موفولوژی RBC را بررسی کنید (مواردی مثل: TTP/HUS).
- آیا بیماری زمینه ای دیگری وجود دارد؟
- PNH (نادر) را هم در نظر بگیرید.

هاپتوگلوبین سرم

هاپتوگلوبین‌ها (Hp) پروتئین‌های پلاسما هستند که توسط کبد سنتز می‌شوند و عملکرد آنها حذف هموگلوبین آزاد پلاسما است. مولکول‌های Hp به هموگلوبین آزاد متصل می‌شوند و توسط سیستم رتیکولواندوتلیال برای تجزیه برداشته می‌شوند. کمپلکس‌های Hp-Hb در ادرار ظاهر نمی‌شوند زیرا اندازه بزرگ آنها مانع عبورشان از لوله‌های کلیوی می‌شود. کمپلکس Hp-Hb توسط سیستم رتیکولواندوتلیال با سرعت 15mg/100mL/h پاک می‌شود که به این معنی است که حتی همولیز بسیار خفیف باعث ناپدید شدن Hp از گردش خون می‌شود. هاپتوگلوبین سرم باید در بیماران مشکوک به همولیز داخل عروقی اندازه گیری شود. با این حال، سطح Hp اغلب در بیماران مبتلا به همولیز خارج عروقی کاهش می‌یابد و نمی‌توان از سطح Hp برای تعیین اینکه آیا فرآیند اصلی همولیتیک درون یا خارج عروقی است استفاده

کرد. معمولا باید با تخمین مت هم آلبومین سرم، هموگلوبین آزاد پلاسما و هموسیدرین ادرار همراه باشد.

نمونه: خون لخته

محدوده نرمال: (به صورت ظرفیت اتصال Hb بر حسب mg/dL بیان می‌شود): 30- 250mg/dL

شرایطی که در آن هاپتوگلوبین کاهش می‌یابد

همولیز از جمله:

- انتقال خون ناسازگار
- کم خونی همولیتیک اتوایمیون
- بیماری سلول داسی‌شکل
- تالاسمی ماژور
- PNH

دیگر موارد:

- ۱٪ جمعیت دارای کمبود ژنتیکی هاپتوگلوبین هستند.
- سطوح پایین تر در دوران نوزادی

شرایطی که در آن هاپتوگلوبین افزایش می‌یابد

هاپتوگلوبین همانند فریتین، پروتئین فاز حاد می‌باشد

- هر گونه اختلالی که با افزایش ESR همراه می‌باشد.
- کارسینوم به خصوص اگر ثانویه استخوانی باشد
- هر گونه اختلال التهابی
- تروما
- جراحی

- استروئید درمانی
- آندروژن درمانی
- دیابت ملیتوس

بیلی روبین سرم

بیلی روبین به دو شکل یافت می‌شود: بیلی روبین پیش کبدی (غیر کونژوگه) و بیلی روبین کونژوگه به اسید گلوکورونیک (کونژوگه). به طور کلی سطح بیلی روبین سرم در همولیز (عمدتا غیر کنژوگه) 17–50µmol/L است.

توجه کنید: سطوح بیلی روبین سرم ممکن است حتی در صورت وجود همولیز نرمال باشد. سطح >85µmol/L نشان دهنده بیماری کبدی است.

بیلی روبین سرم ممکن است در اختلالات دیس اریتروپوئتیک مانند کمبود ویتامین B_{12} یا فولات یا میلودیسپلازی، به دلیل اریتروپوئز غیر موثر که در آن گلبول‌های قرمز قبل از رها شدن در گردش خون در مغز استخوان از بین می‌روند، در حد متوسط افزایش یابد (به عنوان مثال: 20-30µmol/L).

اوروبیلین و اوروبیلینوژن

اوروبیلینوژن شکل کاهش یافته اوروبیلین است که در اثر فعالیت باکتری روی رنگدانه‌های صفراوی در دستگاه گوارش ایجاد می‌شود. اوروبیلینوژن مدفوع و ادرار در کم خونی‌های همولیتیک افزایش می‌یابند.

هموسیدرین ادراری

کاربرد

پرکاربردترین و قابل اعتمادترین تست برای تشخیص همولیز داخل عروقی مزمن می‌باشد. از حضور Hb در فیلتر گلومرولی حاصل می‌شود.

اساس ایجاد

Hb آزاد در طی همولیز داخل عروقی در پلاسما آزاد می‌شود. پروتئین های متصل شونده به هموگلوبین اشباع می‌شوند و در نتیجه منجربه ورود ترکیبات حاوی هم به داخل دستگاه ادراری می‌شود که از میان آن‌ها هموسیدرین به راحتی قابل تشخیص است.

روش تشخیص

۱) یک نمونه ادرار تمیز از بیمار گرفته می‌شود.
۲) نمونه در یک سیتوسانتریفیوژ چرخانده می‌شود تا یک آماده سازی سیتواسپینی از سلول های اوروتلیال بدست آید.
۳) رنگ آمیزی و شستشو با معرف پرل (آبی پروس) روی لام‌های شیشه ای انجام می‌شود.
۴) لام را توسط روغن ایمرسیون و زیر عدسی میکروسکوپ بررسی کنید.
۵) هموسیدرین به صورت نقاط آبی در داخل سلول های ادراری رنگ می‌شود.
۶) تمام لکه‌های اضافی، رنگ سلول‌های بیرونی یا قطعات ریز رنگ گرفته را نادیده بگیرید که تمامی این موارد رایج هستند.
۷) نتیجه صحیح فقط زمانی محقق می‌شود که تشخیص واضح در اسکوام های ادراری مشاهده شود.

هشدارها

یک نمونه کنترل رنگ‌آمیزی آهن باید در کنار کیس آزمایش قرار گیرد تا اطمینان حاصل شود که رنگ به طور رضایت‌بخش عمل کرده است. هموسیدرینوری ممکن

است تا ۷۲ ساعت پس از شروع اولیه همولیز داخل عروقی تشخیص داده نشود، بنابراین آزمایش ممکن است همولیز با شروع بسیار اخیر را از تشخیص ندهد، در این صورت آزمایش را ۳ تا ۷ روز بعد تکرار کنید. برعکس، هموسیدرینوری ممکن است برای مدتی پس از توقف فرآیند همولیتیک باقی بماند. تکرار در ۷ روز باید تایید شود.

جدول ۷-۱: علل هموسیدرینوری

علل رایج	- آنزیموپاتی های گلبول قرمز، به عنوان مثال: کمبود G6PD و PK اما فقط در طول دوره های همولیتیک - پنومونی مایکوپلاسما با هماگلوتینین سرد Anti-I - سپسیس - مالاریا - بیماری هماگلوتینین سرد - TTP/HUS - همولیز خارج عروقی شدید (ممکن است باعث همولیز داخل عروقی شود)
علل نادر	- هموگلوبینوری حمله‌ای شبانه (PNH) - دریچه های مصنوعی قلب - واکنش های انتقال خون ناسازگار با گلبول‌های قرمز - هموگلوبین‌های ناپایدار - هموگلوبینوری مارس

هموگلوبین پلاسما

در شرایط سلامت، هموگلوبین در گلبول های قرمز موجود است، اما در طی همولیز داخل عروقی ممکن است مقادیر بیش از حد هموگلوبین از گلبول های قرمز پاره شده آزاد شود. به طور معمول هاپتوگلوبین‌ها هموگلوبین آزاد را پاک می‌کنند. اگر هاپتوگلوبین کافی برای مقابله با هموگلوبین آزاد وجود نداشته باشد، کلیه‌ها هموگلوبین را پاک می‌کنند که منجر به هموگلوبینوری می‌شود. مقداری هموگلوبین ممکن است در گردش خون به هم و گلوبین تجزیه شود. هم می تواند به آلبومین متصل شود و مت هم آلبومین (مت هم آلبومینمیا) تولید می‌شود.

یافتن هموگلوبین آزاد در پلاسما به شدت حاکی از همولیز داخل عروقی است.

نمونه: خون حاوی سیترات سدیم (اما قبل از ارسال نمونه با آزمایشگاه هماتولوژی مشورت کنید).

جدول ۷-۲: علل افزایش هموگلوبین پلاسما

افزایش خفیف (50- 100mg/L)	افزایش متوسط (100- 250mg/L)	افزایش شدید (>250mg/L)
داسی/تالاسمی بیماری HbC	آنمی همولیتیک اتوایمیون بیماری سلول داسی تالاسمی ماژور HbSC دریچه قلب مصنوعی هموگلوبینوری مارس	تزریق خون ناسازگار هموگلوبینوری حمله‌ای شبانه (PNH) هموگلوبینوری حمله‌ای سرد (PCH) تب بلک واتر

محدوده نرمال: 10-40mg/L

دام‌ها: هر گونه آسیب RBC که در طول نمونه‌گیری خون رخ می‌دهد ممکن است به منجر به خوانش بالای اشتباه شود. در هنگام رگ‌گیری باید دقت زیادی کرد.

آزمون شوم

کاربرد: تشخیص مت هم آلبومین (بعد از مصرف همه هاپتوگلوبین‌ها در فرآیند همولیتیک دیده می‌شود، معمولاً نشان دهنده همولیز عمدتاً داخل عروقی است).

این تست اسپکتروفتومتری برای مت هم آلبومین (که نوار جذب مشخصی در طول موج ۵۵۸ نانومتر دارد) باید در بیماران مشکوک به همولیز داخل عروقی درخواست شود و ممکن است در بیمارانی که همولیز خارج عروقی (عموماً طحالی) قابل توجهی دارند غیرطبیعی باشد. این تست باید با ارزیابی سطح هاپتوگلوبین سرم، هموگلوبین آزاد پلاسما و هموسیدرین ادرار همراه باشد.

نوع نمونه: خون هپارینه یا لخته

تست در این موارد مثبت می‌شود:

- همولیز داخل عروقی
- تزریق خون ناسازگار
- سندرم‌های فراگمانتاسیون RBC
- کمبود G6PD با همولیز اکسیداتیو
- PNH
- هموگلوبینوری مارس
- هموگلوبین‌های ناپایدار

کم خونی های همولیتیک ارثی

علل ارثی زیادی برای کم خونی همولیتیک وجود دارد که در ۳ گروه اصلی در جدول زیر قرار می گیرند.

جدول ۷-۳: علل ارثی کم خونی های همولیتیک

مکانیسم	مثال
اختلالات غشایی گلبول قرمز	اسفروسیتوز ارثی الیپتوسیتوز ارثی
اختلالات آنزیمی گلبول قرمز	کمبود G6PD کمبود پیروات کیناز
اختلالات هموگلوبین	کم خونی سلول داسی شکل تالاسمی

اختلالات غشای گلبول قرمز

اسفروسیتوز ارثی (HS)

شناخته شده ترین ناهنجاری غشایی ارثی است که منجر به کاهش طول عمر گلبول قرمز و گاهی اوقات کم خونی شدید می‌شود. حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد از آنمی همولایتیک ارثی با شدت متوسط را در بر می گیرد. وراثت معمولا اتوزومال غالب است و اغلب سابقه خانوادگی وجود دارد. این نوع اختلال در ۶۰ درصد موارد مرتبط با کمبود همزمان اسپکترین و آنکرین به عنوان پروتئین های ساختار غشا می باشد .

تظاهرات بالینی و تشخیص

اسفروسیتوز ارثی (HS) به لحاظ شدت طیف گسترده‌ای دارد. موارد شدید می‌توانند خود را در دوران نوزادی و به صورت آنمی شدید نشان دهند، در حالی که انواع خفیف‌تر آن در بالغین جوان پدید می‌آیند و حتی ممکن است در سنین بالاتر دیده شوند. یافته‌های بالینی اصلی شامل یرقان، طحال بزرگ شده و اغلب سنگ‌های صفراوی هستند؛ در حقیقت، اغلب یافتن سنگ صفراوی در افراد جوان، سبب بررسی در مورد وجود HS می‌شود.

در بیماران مبتلا به HS، تظاهرات بالینی متغیر و متفاوتی به چشم می‌خورد که عمدتا ناشی از ضایعات مولکولی زمینه‌ای متفاوت در این افراد است، نه تنها جهش در ژن‌های متعددی سبب این بیماری می‌شود، بلکه جهش‌های مختلف رخ داده در یک ژن خاص هم می‌توانند تظاهرات بالینی متفاوتی ایجاد کنند. در موارد خفیف‌تر، همولیز غالبا جبران شده است، این موضوع می‌تواند حتی در همان بیمار در طول زمان باعث علائم متغیری شود؛ چرا که وضعیت‌های تداخلی (مثل بارداری، عفونت) قادرند همولیز را به سمت جبران نشدن هدایت کنند. آنمی معمولا نورموسیتیک است و سلول‌ها به لحاظ مورفولوژیک اسفروسیتیک هستند (و نام بیماری از همین ویژگی گرفته شده است). کم خونی و رتیکولوسیتوزیس دیده می شود. یک ویژگی مشخصه، افزایش غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) است زیرا این بیماری، تقریبا تنها موردی است که MCHC در آن بالا می‌رود. مدت طولانی است که آشکار شده که طحال نقش خاصی در بیماری اسفروسیتوز ارثی بازی می‌کند.از شایع ترین علائم

این بیماری می توان به کم خونی، زردی و بزرگی طحال اشاره کرد. در این بیماری آزمایش غیر طبیعی شکنندگی اسمزی(OFT) نیز دیده می شود.

تشخیص افتراقی

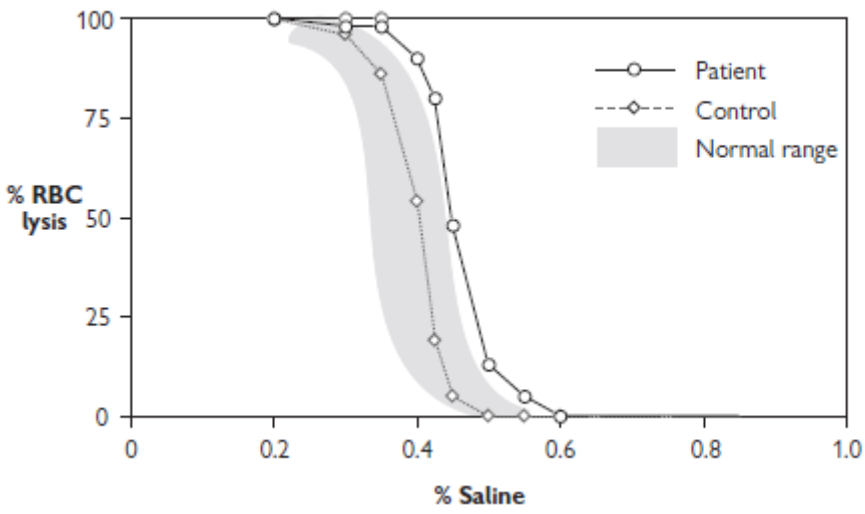
در عفونت با کلستریدیوم پرفریجنس ،در سوختگی ، کم خونی همولایتیک اتوایمیون و ناسازگاری ABO نیز تصویر لام خون محیطی به صورت اسفروسیتوز نمایان می گردد. دقت فرمایید که در کم خونی همولایتیک اتوایمیون اریتروفاگوسیتوز نیز دیده می شود.

تست شکنندگی اسمزی

اساس تست

این آزمایش توانایی گلبول‌های قرمز را برای جذب آب قبل از پاره شدن (لیز) اندازه گیری می‌کند. این مورد با نسبت حجم به سطح تعیین می شود. گلبول‌های قرمز معمولی می‌توانند حجم خود را تا ۷۰ درصد قبل از لیز شدن افزایش دهند (زیرا دیسکی شکل هستند و ظرفیت جذب آسان آب اضافی را دارند). گلبول‌های قرمز اسفروسیتی دارای افزایش نسبت حجم به سطح هستند و قادر به جذب آب کمتری نسبت به گلبول‌های قرمز نرمال قبل از لیز شدن هستند. MCF یا میانگین شکنندگی اسمزی ،غلظت محلول هیپوتونیک NaCl است که در آن ۵۰ درصد گلبول های قرمز لایز می شوند.

نمونه: خون تازه حاوی هپارین (نیاز به ارسال نمونه کنترل نرمال به طور همزمان).



شکل ۷-۲: نمودار بررسی شکنندگی اسمزی در دو گروه کنترل و بیمار

شکل ۳،۱۰ نمونه‌های آزمایش و کنترل تحت غلظت‌های مختلف نرمال سالین قرار می‌گیرند. نوار خاکستری پهن نشان دهنده محدوده نرمال است. گلبول‌های قرمز در نمونه آزمایش (از یک بیمار مبتلا به اسفروسیتوز ارثی) در غلظت‌های بالاتری از نرمال سالین نسبت به نمونه‌های کنترل معمولی لیز می‌شوند که نشان می‌دهد اسفروسیتوز ارثی (HS) یک تشخیص محتمل است.

روش

- گلبول‌های قرمز در غلظت‌های مختلف در نرمال سالین از ایزوتون تا آب مقطر به مدت نیم ساعت انکوبه می شوند. سپس سانتر شده و از لحاظ همولیز بررسی می شوند.این کار منجر به انبساط سلولی و در نهایت پارگی می‌شود. همولیز با اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۱۰ nm خوانش می شود.
- گلبول های قرمز طبیعی می‌توانند افزایش حجم بیشتری را نسبت به گلبول‌های قرمز اسفروسیتی تحمل کنند.
- نتیجه مثبت (تایید کننده اسفروسیتوز ارثی (HS در محدوده دم مانند نمودار OFT)) زمانی که گلبول‌های قرمز در نرمال سالین با غلظت ایزوتونیک، یعنی

0.6-0.8g/dL لیز می‌شوند، مشاهده می‌شود (گلبول‌های قرمز نرمال تورم را با لیز کمی نشان می‌دهند).

- شکنندگی اسمزی در بیمارانی که طحال آن‌ها برداشته نشده است و از لحاظ اسفروسیتوز خفیف هستند با نمونه خون کهنه صورت می پذیرد. به این معنی که گلبول‌های قرمز قبل از انجام آزمایش در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شوند، بیشتر مشخص می‌شود.
- دقت بفرمایید که این آزمایش به شدت به دما و PH محلول هایپوتونیک حساس است.

سایر آزمایشات کمک کننده

- در بسیاری از موارد سابقه خانوادگی اسفروسیتوز ارثی (HS) مثبت خواهد بود.
- لام خون محیطی افزایش گلبول‌های قرمز اسفروسیتی را نشان می‌دهد.
- آنمی، افزایش رتیکولوسیت، افزایش LDH، بیلی روبین غیرکنژوگه، اوروبیلینوژن ادراری همراه با کاهش هاپتوگلوبین.
- ازمایش کومبس مستقیم (DAT) منفی است.
- تست فلوسایتومتری با EMA نیز کمک کننده است که به دلیل کاهش باند ۳ در اسفروسیت ها ، کاهش میزان فلوئورسانس دیده می شود.

توجه کنید: این آزمایش برای اسفروسیتوز ارثی (HS) تشخیصی نیست، اما در هر شرایطی که تعداد گلبول‌های قرمز اسفروسیتی افزایش یافته باشد، مثبت خواهد بود. از این آزمایش همراه با شرح حال، لام خون محیطی و مطالعات خانوادگی استفاده کنید (اسفروسیتوز ارثی (HS) به صورت اتوزومال غالب به ارث می رسد، بنابراین یکی از والدین و برخی از خواهر و برادرها باید تحت تأثیر قرار گیرند).

درمان اسفروسیتوز ارثی

درمان علتی برای اسفروسیتوز ارثی وجود ندارد؛ به این معنی که هنوز هیچ راهی برای تصحیح نقص پایه‌ای غشا – اسکلت سلولی کشف نشده است. تنها در موارد

شدید اسپلنکتومی انجام می‌شود و به دلیل عواقب این جراحی بایستی در موارد خفیف از اسپلنکتومی اجتناب کرد.

الیپتوسیتوز ارثی

سندرم های الیپتوسیتوزیس به دلیل جهش در اتصالات عرضی غشا مانند اسپکترین، پروتئین ۱/۴ رخ می دهد. حداقل ۱۵ درصد و حداکثر ۹۰ درصد گلبول های قرمز به صورت سیگاری در لام خون محیطی دیده می شوند. الیپتوسیتوز ارثی به سه شکل دیده می شود:

- الیپتوسیتوز شایع ارثی غیر همولایتیک : بدون کم خونی با حضور ۱۵ تا ۱۰۰ درصد الیپتوسیت در لام خون محیطی ، دقت فرمایید که الیپتو.سیتوز ملایم همراه با همولیز در نوزادان به دلیل افزایش سطح آزاد 2,3DPG و کاهش میل ترکیبی آن با هموگلوبین F رخ می دهد که با تبدیل HbF به HbA بهبود می یابد.
- الیپتوسیتوز همولایتیک ارثی: به شکل کم خونی همولایتیک مزمن می شود و در لام خون محیطی الیپتوسیتوز همراه با الیپتوسیت های شکسته و کوچک دیده می شود. در این حالت طحال بزرگ شده و افزایش ابتلا به سنگ کیسه صفرا دیده می شود.
- پیروپویکیلوسیتوزیس ارثی: الیپتوسیتوز با همولیز بسیار شدید با گستره ی خون محیطی شامل میکرواسفروسیت، میکروالیپتوسیت و گلبول های شکسته و جوانه دار به خصوص در دمای ۴۶ درجه دیده می شود.MCV کاهش یافته و OFT افزایش می یابد.

درمان الیپتوسیتوز ارثی

هیچ نوع درمانی برای این بیماری نیاز نیست مگر در شرایط همولیز و آنمی شدید که برداشتن طحال می تواند کمک کننده باشد.

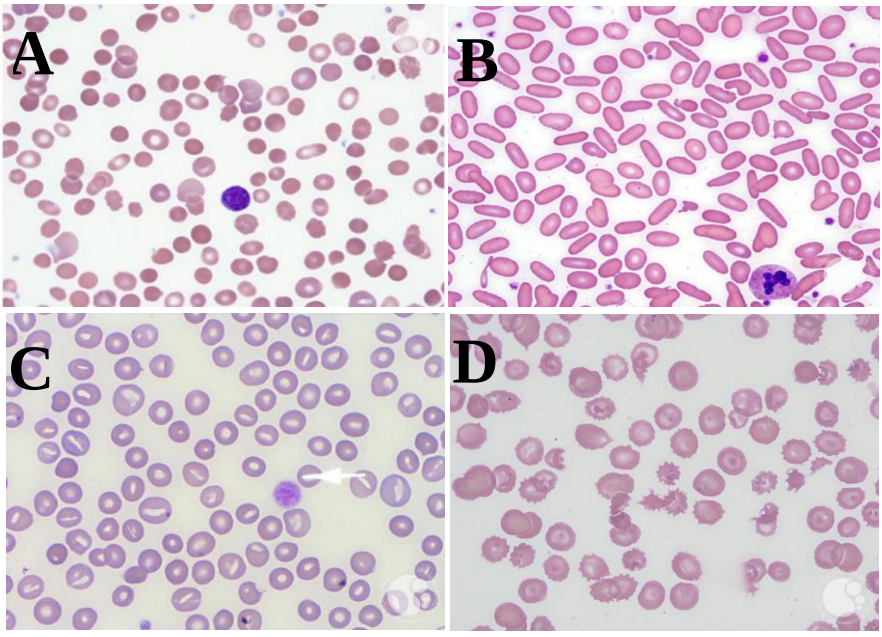
استوماتوسیتوز ارثی

در این حالت گلبول قرمز انحنای یک سمت را از دست داده و به صورت جام در می آید. در حالت ارثی به شکل آتوزوم غالب به ارث می رسد در این حالت گلبول آب بیشتری جذب کرده که کاهش MCHC و افزایش MCV نمایان می گردد. حدودا ۱۰ تا ۱۵ درصد گلبول ها به شکل دهان ماهی یا استوماتوسیت دیده می شوند. افزایش تست شکنندگی اسمزی نیز دیده می شود. همولیز خفیف تا متوسط نیز دیده می شود.

درمان در کودکان به شکل تزریق خون و یا حتی تعویض خون انجام می شود. دقت فرمایید که برداشتن طحال در استوماتوسیتوز ممنوع است زیرا منجر به ترومبوآمبولی و مرگ بیمار می شود.

اکانتوسیتوز ارثی

اکانتوسیت گلبول هایی با زوائد نامنظم هستند که به صورت اکتسابی در بیماری های کبد، سوء تغذیه و کم کاری تیروئید دیده می شوند. اکانتوسیتوز ارثی در فنوتیپ مک لود(جهش یا حذف ژن KX روی کروموزوم X)، فقدان بتالیپوپروتئین و سندرم های نورو اکانتوسیتوز دیده می شود. در سیروز کبدی نیز لیپوپروتئین های غیر طبیعی به غشای گلبول های قرمز رفته و مورفولوژی شبه اکانتوسیت یا اسپور سل ایجاد می کنند که با همولیز همراه است.



شکل ۳-۷: انواع مورفولوژی های RBC در لام خون محیطی بیماران.

A: Spherocytosis, B: Elliptocytosis, C: Stomatocytosis, D: Acanthocytosis

تظاهرات بالینی هموگلوبینوری حمله‌ای شبانه (PNH)

ممکن است بیمار به علت اینکه یک روز صبح به جای ادرار، خون دفع کرده است مراجعه کند. این واقعه پریشان کننده و رعب آور برای بیمار را می‌توان تظاهر کلاسیک بیماری در نظر گرفت؛ با این حال در بسیاری موارد بیمار متوجه این علامت نشده و یا اصلا وجود ندارد. در واقع بیماران اغلب برای تشخیص افتراقی آنمی خود (که ممکن است علامت‌دار باشد یا تصادفا کشف شود) مراجعه می‌کنند.

اقدامات لازم و انواع تشخیص های افتراقی:

- بررسی CBC و لام خون محیطی
- اسفروسیت‌ها (حضور آنتی بادی گرم را پیشنهاد می‌کند. همچنین در HS وجود دارد.)

- افزایش WBC، به عنوان مثال: ممکن است نشان دهنده اختلال لنفوپرولیفراتیو زمینه‌ای مانند CLL باشد.
- قطعات RBC (آسیب فیزیکی به RBC را نشان می‌دهد، به عنوان مثال: آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک(MAHA)، TTP/HUS، سوختگی‌ها، هموگلوبینوری مارس، دریچه های مکانیکی قلب
- انگل ها، به عنوان مثال: مالاریا
- عفونت‌ها، به عنوان مثال: کلستریدیوم، بارتونلا، بابزیا
- تست آنتی گلوبولین (DAT)
- IgG یا IgG به علاوه کمپلمان (C3d) روی RBC
- DAT معمولاً در همولیز با واسطه ایمنی مثبت است.
- عملکرد کلیه (غیر طبیعی در TTP/HUS)
- غربالگری انعقاد (DIC با تکه تکه شدن RBC)
- تست‌های سنجش عملکرد کبد (LFTs) (غیر طبیعی در سندرم زیو)
- اسپلنومگالی
- آگلوتینین‌های سرد:
  - IgM، معمولاً در برابر پروتئین های I یا i، پروتئین‌های غشای RBC
- در صورت مشکوک بودن به PNH، آزمایش هامز یا ایمونوفنوتیپ

PNH چیست؟

هموگلوبینوری حمله ای شبانه یک آنمی مزمن همولایتیک با همولیز درون عروقیست که به دلیل حمله کمپلمان به گلبول های قرمز فاقد GPI رخ می دهد. به دلیل فقدان ابزار دفاعی، تخریب WBC و پلاکت نیز رخ می دهد. این نوع کم خونی عموما نرموسیتیک بوده ، اما گاها میکروسیت است، آنمی همولایتیک بروز کرده و با پان سایتوپنی همراه استو افزایش زیاد LDH نیز دیده می شود. آزمایش سوکروز ۱۰٪ و هامز نیز مثبت است.

تشخیص PNH

- **تست سوکروز ۱۰٪** : اجزای کمپلمان در محیط با یون کم فعال می شوند و منجر به همولیز گلبول های قرمز می شوند. در صورت لایز بیش از ۵٪ PNH تایید می شود.حساسیت این تست بالا و اختصاصیت آن کم است.
- **آزمایش لایز اسید هامز:** این یک آزمایش برای اختلال اکتسابی نادر غشای گلبول قرمز به نام هموگلوبینوری حمله‌ای شبانه (PNH) است که بر حساسیت فوق العاده گلبول‌های قرمز به لیز شدن توسط اجزای طبیعی پلاسما متکی است. نمونه خون مورد نیاز باید حاوی ضد انعقاد اگزالات و یا هپارین و یا سیترات باشد. پاتوفیزیولوژی آن پیچیده است و PNH دارای یک ناهنجاری در غشای گلبول قرمز است که آن را مستعد لیز به واسطه کمپلمان می‌کند و دارای دوره-های همولیز داخل عروقی مشخص است که منجربه آزاد شدن هموگلوبین به داخل ادرار می‌شود (هموگلوبینوریا). کمپلمان با اسیدی شدن سرم بیمار تا pH 6.2 فعال می‌شود که باعث لیز گلبول های قرمز بیمار مبتلا به PNH می‌شود اما در گروه کنترل این گونه نیست. اختصاصیت این تست بالا است و واکنش مشابه تنها در سندرم نادر HEMPAS (نوعی کم خونی دیسریتروپوئیتیک مادرزادی نوع II) ایجاد می‌شود که باید به راحتی از نظر مورفولوژیکی قابل تشخیص باشد.حساسیت این تست پایین بوده زیرا واکنش به شدت به غلظت منیزیم در سرم بستگی دارد.
- تشخیص ایمونوفنوتیپی کمبود لنگرهای پروتئین غشایی PIG-A در سلول‌های فرد مبتلا به PNH در حال تبدیل شدن به یک جایگزین پرکاربرد است. آنتی بادی‌های مونوکلونال CD59 یا CD55 (DAF) در آنالیز فلوسایتومتری استفاده می‌شود. مزیت اصلی این است که آزمایش را می‌توان بر روی نوتروفیل‌ها و پلاکت‌های خون محیطی انجام داد که تعداد آنها از گلبول‌های قرمز فرد مبتلا به PNH بیشتر است.

درمان هموگلوبینوری حمله‌ای شبانه (PNH)

برخلاف دیگر انواع اکتسابی آنمی همولیتیک، PNH می‌تواند در تمام عمر همراه فرد بیمار باشد و بیشتر بیماران فقط درمان حمایتی دریافت می‌کنند که شامل تزریق گلبول‌های قرمز فیلتر شده در هنگام نیاز است که برای برخی از بیماران مکررا مورد استفاده قرار می‌گیرد. البته دو داروی eculizumab و ravulizumab از طریق اتصال به پروتئین های آسیب رسان کمپلمان و مهار آن ها و حفظ گلبول های قرمز منجر به کاهش القای همولیز و افزایش کیفیت زندگی این بیماران شده اند. استفاده از اریتروپویتین در جهت افزایش خون سازی نیز توصیه می شود. در جهت کاهش اختلالات ترومبوتیک، داروهای ضد انعقاد تجویز می گردد.

اختلالات همولایتیک مرتبط با آنزیم گلبول قرمز

بسیاری از آنزیم‌های گلبول قرمز مسئول حفظ یکپارچگی RBC هستند تا به آن اجازه دهند در تحویل O2 و حذف CO2 به طور موثر عمل کند. نقص آنزیم RBC منجر به کوتاه شدن بقای RBC (یعنی همولیز) و کم خونی می‌شود. اگرچه آنزیموپاتی‌های متعددی وجود دارند که ممکن است باعث همولیز شوند، مفیدترین سنجش‌های اولیه برای G6PD و پیروات کیناز (PK) هستند.

کمبود ارثی آنزیم G6PD

ژن این آنزیم روی کروموزوم X قرار دارد. بنابراین وراثت این ژن در آقایان با کمبود این آنزیم همراه است .فراوانی کمبود این آنزیم با شیوع مالاریا فالسی پاروم ارتباط دارد به این معنی که این انگل در گلبول های فاقد این آنزیم زنده نمی ماند. بر اساس WHO انواع کمبود G6PD بر اساس شدت همولیز دسته بندی شده اند:

- کلاس I همراه با کاهش شدید فعالیت آنزیم، کمتر از ۱۰ تا ۲۰ درصد نرمال به شکل آنمی همولایتیک مزمن (G6PD کانتون)

- کلاس II همراه با کاهش شدید فعالیت آنزیم کمتر از ۱۰ درصد نرمال و همولیز متناوب (G6PD مدیترانه ای)
- کلاس III کاهش متوسط فعالیت آنزیم ،۱۰ تا ۶۰ درصد نرمال ،همولیز متناوب ($G6PDA^-$)
- کلاس IV بدون کمبود آنزیم و بدون همولیز ($G6PD\ A^+$ و B)
- کلاس V همراه با افزایش فعالیت آنزیم

تظاهرات بالینی کمبود G6PD

کمبود آنزیم G6PD از نظر بالینی ممکن است با بیماری‌های زیر بروز کند:

۱) همولیز حاد
۲) فاویسم
۳) هیپربیلی روبینمی نوزاد
۴) کم خونی همولیتیک غیر اسفروسیتیک مزمن

همولیز در کمبود $G6PD\ A^-$ فقط در گلبول های پیر رخ می دهد اما در نوع مدیترانه ای لایز در کل گلبول ها اتفاق می افتد.

فاویسم

برخی افراد که کمبود G6PD دارند علی الخصوص از نوع مدیترانه ای ، با خوردن باقلا دچار همولیز شدید می شوند همولیز در این حالت به صورت خارج و داخل عروقی رخ می دهد .علائم بالینی بیمار در این بیماری شامل سردرد، تهوع، زردی، افت شدید هموگلوبین و تب و لرز می باشد. هموگلوبینوری نیز دیده می شود.

پارامترهای آزمایشگاهی

- حضور اجساهم هاینز در خون تازه رنگ آمیزی حیاتی (رسوب دناچوره هموگلوبین)

- کاهش هموگلوبین
- پلی کروماژی
- گلبول بایت سل (لخته هموگلوبین جدا شده از گلبول قرمز توسط فاگوسیت ها)

تشخیص کمبود G6PD

نمونه: خون تازه حاوی EDTA یا هپارین. آنزیم‌ها به مدت ۶ روز در دمای ۴ درجه سانتی گراد و ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد پایدار هستند.

اساسا ۳ روش برای تجزیه و تحلیل G6PD وجود دارد

۱) آزمایش آسکوربات سیانید: مخلوط کردن خون با آسکوربات و اکسی هموگلوبین، منجر به تولید H2O2 می شود چون سیانید، کاتالاز را از کار می اندازد ، بنابراین هموگلوبین اکسید شده و مت هموگلوبین ایجاد می شود. در حالت نبود G6PD این واکنش سریع تر اتفاق می افتد.

۲) سنجش کمی G6PD : بر اساس تبدیل NADP به NADPH صورت گرفته و در نهایت در طول موج ۳۴۰ نانومتر خوانش صورت می گیرد.

۳) تست لکه UV : در این روش خون بیمار را با مخلوطی از گلوکز ۶فسفات، بافر و ساپونین و NADP انکوبه می کنند و روی کاغذ ریخته و در مجاورت اشعه ماورا بنفش قرار می دهند. هیدروژن در حضور G6PD منجر به ایجاد NADPH می شود که خاصیت فلوئورسانس دارد.

دقت کنید که در طول یک دوره همولیتیک در بیماران مبتلا به کمبود G6PD، قدیمی‌ترین گلبول‌های قرمز ابتدا از بین می‌روند. گلبول‌های قرمز جوان تر (و به ویژه رتیکولوسیت‌ها) نسبت به سلول‌های مسن تر دارای سطوح بالاتری از آنزیم هستند. بنابراین، اگر سطح آنزیم در طول یک دوره حاد مورد سنجش قرار گیرد، سطح G6PD به دست آمده ممکن است به طور کاذب طبیعی باشد. همانطور که در دوران نقاهت پس از حمله حاد اتفاق می افتد، با ریختن رتیکولوسیت‌ها به خون محیطی،

این افزایش بیشتر خواهد شد. بهتر است منتظر بمانید تا حمله حاد تمام شود و بیمار در حالت ثابت قرار گیرد.

درمان کمبود G6PD

درمان کمبود G6PD بیشتر به صورت انجام اقدامات پیشگیرانه است به این صورت که با اجتناب از تماس با عوامل محرک مثل پرهیز از مصرف باقالا و همچنین پرهیز از مصرف برخی داروها و استفاده از داروی جایگزین افراد غربالگری شده می‌توانند تا حد زیادی از بروز آنمی همولیتیک حاد پیشگیری کنند. تزریق خون و مایعات وریدی در جهت جبران همولیز شدید بسیار کمک کننده است.

کمبود پیروات کیناز

آنزیم پیروات کیناز منجر به فسفریله شدن ADP به ATP در حضور فسفوانول پیروات می گردد و محصول واکنش پیروات است که در نهایت به اسید لاکتیک تبدیل می شود. در نهایت NADH به NAD تبدیل می شود. تصویر بالینی کمبود هموزیگوت پیروات کیناز یک آنمی همولیتیک است و اغلب در نوزاد تازه به دنیا آمده به صورت زردی نوزادی خود را نشان می‌دهد؛ یرقان باقی می‌ماند و معمولا با رتیکولوسیتوز بسیار شدیدی همراهی دارد. شدت آنمی متغیر است؛ گاهی چنان شدید است که نیاز به درمان با ترانس فوزیون منظم خون پیدا می‌شود؛ گاهی هم خفیف است و می‌توان آن را یک اختلال همولیتیک تقریبا جبران شده به حساب آورد.

آزمایش اتوهمولیز

یک روش قدیمی برای پایش نقص پیروات کیناز است که خون بیمار را در سه لوله ریخته و به یکی از آن ها گلوکز، به یکی ATP و آخری بدون هیچ افزودنی به عنوان کنترل به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه می گذارند. اگر لوله ی کنترل همولیز داد اختلال غشا یا آنزیم است. اگر لوله ی حاویATP کاهش همولیز داشت دال بر نقص

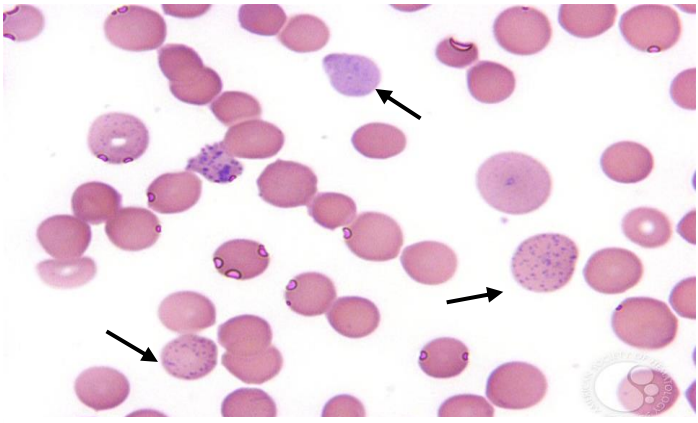
PK است و اگر لوله ی حاوی گلوکز با کاهش همولیز همراه بود نشان بر اسفروسیتوز است.

درمان کمبود آنزیم پیروات کیناز (PK)

کنترل و درمان کمبود PK عمدتا حمایتی است. با توجه به وجود افزایش قابل ملاحظه تغییر و تبدیل سلولی، باید مرتبا از مکمل‌های خوراکی فولیک اسید بهره گرفت. در صورت نیاز ترانسفوزیون خون صورت می‌گیرد و اگر ترانس فوزیون به حدی زیاد باشد که اضافه بار آهن پدید آید می‌توان عوامل شلاته کننده آهن را نیز به درمان اضافه کرد. در موارد شدیدتر اسپلنکتومی ممکن است مفید واقع شود.

کاهش آنزیم P5´N

کمبود آنزیم پیریمدین ۵ نوکلئوتیداز یک نوع اختلال ارثی آتوزوم مغلوب است که در این بیماری حضور بیش از حد پیریمیدین ها و تجزیه ی ناقص RNA منجر به حضور بازوفیلیک استپلینگ در لام خون محیطی این بیماران می گردد. یک نوع کم خونی مزمن بوده که با افزایش ۱۰ درصد رتیکولوسایت و طحال بزرگ و زردی بروز می کند. دقت کنید که تجمع پیریمدین ها در این بیماران به نوبه خود مهار کننده آنزیم G6PD نیز می باشد.



شکل ۷-۴: تصویر لام خونی Basophilic stippling

کم خونی‌های همولیتیک اکتسابی

تعیین علت کم خونی همولیتیک می تواند یک فرآیند پیچیده باشد. با حذف اختلالات ارثی هموگلوبین، غشای RBC یا آنزیم‌ها، گروه متنوعی از اختلالات با فنوتیپ مشترک افزایش تخریب گلبول‌های قرمز (و کاهش طول عمر RBC) باقی می‌ماند.

انواع کم خونی همولیتیک اکتسابی

ایمیون

- اتوایمیون (اولیه یا ناشی از لوپوس اریتماتوز سیستماتیک (SLE) یا لوسمی لنفوئیدی مزمن (CLL))
- آلوایمیون (به عنوان مثال: واکنش‌های انتقال خون، بیماری همولیتیک نوزاد)
- آنتی بادی می‌تواند گرم (IgG) یا سرد (معمولاً IgM) باشد.

آسیب RBC

- داروها
- سموم
- سوختگی‌ها

سندرم‌های فراگمانتاسیون RBC (قطعه قطعه شدن RBC)

- DIC
- TTP/HUS
- هموگلوبینوری مارس

تظاهرات بالینی آنمی همولیتیک اتوایمیون (AIHA)

آنمی همولیتیک اتوایمیون (AIHA) یک مورد جدیست که به معنای ساخت آنتی بادی توسط بدن علیه ساختارهای غشایی گلبول قرمز است. شروع AIHA اغلب ناگهانی است و می‌تواند در مدت چند روز تا حد 4g/dL کاهش یابد؛ از بین رفتن

حجم عظیمی از گلبول‌های قرمز باعث یرقان شده و گاهی اوقات طحال هم بزرگ می‌شود. در حضور این ترياد، شک زیادی به AIHA برانگیخته می‌شود. وقتی (بخشی از) همولیز داخل عروقی باشد، علامت مشخصه آن هموگلوبینوری است؛ در این صورت یا بیمار متوجه آن می‌شود و یا پزشک باید به بررسی وجود آن بپردازد. در حضور تست کومبس مثبت تشخیص قطعی است و وقتی که تست منفی است وجود بیماری نامحتمل است. ممکن است AIHA، از نوع کومبس منفی هم باشد.

تشخیص آزمایشگاهی آنمی اتوایمیون

افزایش اسفروسیتوز خون محیطی ، افزایش رتیکولوسیت ها ،پلی کروماژیا

NRBC ، پدیده اریتروفاگوسیتوز، هموگلوبینوری، افزایش LDH، تست کومبز مستقیم مثبت، یوروبیلینوژن ادرار و مدفوع مثبت، افزایش رتیکولوسیت

در حالتی که کم خونی اتوایمیون سرد باشد ، تشکیل توده های RBC منجر به کاهش کاذب تعداد آن ها و افزایش همزمان MCV، MCH و MCHC می گردد.

درمان آنمی همولیتیک اتوایمیون (AIHA)

AIHA حاد و شدید می‌تواند یک فوریت پزشکی باشد و درمان فوری تقریبا بلا استثنا ترانس فوزیون گلبول‌های قرمز است. پردنیزولون و ریتوکسیماب (انتی CD20) هم در مسیر درمان تجویز می‌شوند و برای بیمارانی که دچار عود شدند یا به درمان مقاوم‌اند اسپلنکتومی توصیه می‌شود.

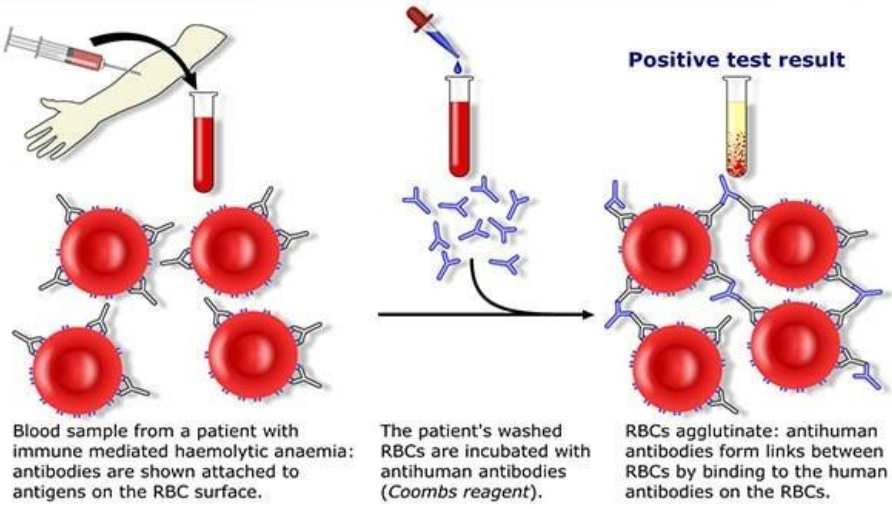
دقت کنید که در اختلالات لنفوپرولیفراتیو مانند لوسمی مزمن رده ی لنفوئیدی و لنفوم ها ، کم خونی اتوایمیون دیده می شود.

کم خونی همولایتیک آلوایمیون

در این حالت ساخت آنتی بادی بر علیه آنتی ژن های غیر خودی گلبول های قرمز صورت می گیرد که به دلیل حاملگی، مصرف دارو و تزریق خون مکرر رخ می دهد.

تست تشخیص

جهت شناسایی آنمی های ایمیون (اتوایمیون و آلوایمیون) تست کومبز مستقیم در خواست می شود که برای گلبول های قرمز حساس شده با آنتی بادی IgG و یا کمپلمان انجام می شود. جهت انجام این تست بایستی گلبول های قرمز بیمار پس از سه بار شست و شو با آنتی هیومن گلوبین گسترده طیف(آنتی بادی علیه IgG و C3d) مجاور شود.



شکل ۷-۵: تصویر تست کومبز مستقیم

هموگلوبینوری حمله ای سرد (PCH)

در بیماری های ویروسی دستگاه تنفسی فوقانی تولید اتو آنتی بادی علیه آنتی ژن P گلبول قرمز دیده شده است. این آتو آنتی بادی در حرارت کم در سطح پوست واکنش می دهد و پس از جذب اجزای کمپلمان به سطح RBC در دمای بالای بدن از گلبول قرمز جدا می شود . در نتیجه حضور کمپلمان منجر به تجزیه این گلبول های قرمز می گردد. پلی کروماژیا، اسفروسیت ها در لام خون محیطی دیده می شوندو.

تست تشخیصی

- کومبز مستقیم سرد مثبت
- دونات لندشتاینر مثبت می شود(نمونه ی خون بیمار ابتدا در ۴ درجه و سپس ۳۷ درجه قرار داده و شاهد لایز آن هستیم)

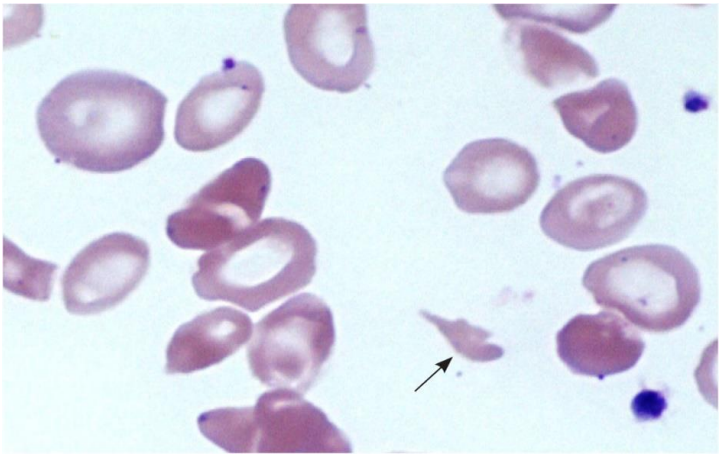
جدول ۷-۴: علل کم خونی همولیتیک اکتسابی

مکانیسم	مثال‌ها
اتوایمیون	**آنتی بادی گرم (عمدتا IgG)** -کم خونی همولیتیک ایدیوپاتیک -ثانویه به سایر بیماری‌های خود ایمنی (مانند SLE)، بدخیمی های لنفوئیدی (مثل CLL)، عفونت‌ها، داروها (مثل پنی سیلین، متل دوپا) **آنتی بادی‌های سرد (عمدتا IgM)** سندرم‌های آگلوتینین سرد، بیماری هماگلوتینین سرد (CHAD)، عفونت **آنتی بادی های مخلوط سرد و گرم** - لوپوس و سرطان ها **هموگلوبینوری حمله ای سرد** تولید اتو آنتی P از نوع IgG به شکل دو فازه
آلوایمیون	واکنش‌های همولیتیک انتقال خون، بیماری همولیتیک نوزادان (HDN)
عفونت‌ها	بسیاری از موارد مانند مالاریا، منینگوکوک، پنوموکوک، ویروسی مانند EBV
شیمیایی یا فیزیکی	داروها، سوختگی‌ها
سندرم‌های فراگمانتاسیون RBC (تکه تکه شدن RBC)	دریچه‌های مکانیکی قلب، کم خونی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک (MAHA)، در DIC دیده می‌شود، HUS، TTP، پره اکلامپسی، SLE، کارسینوما)
اختلالات غشایی	بیماری کبد، PNH

به طور کلی:

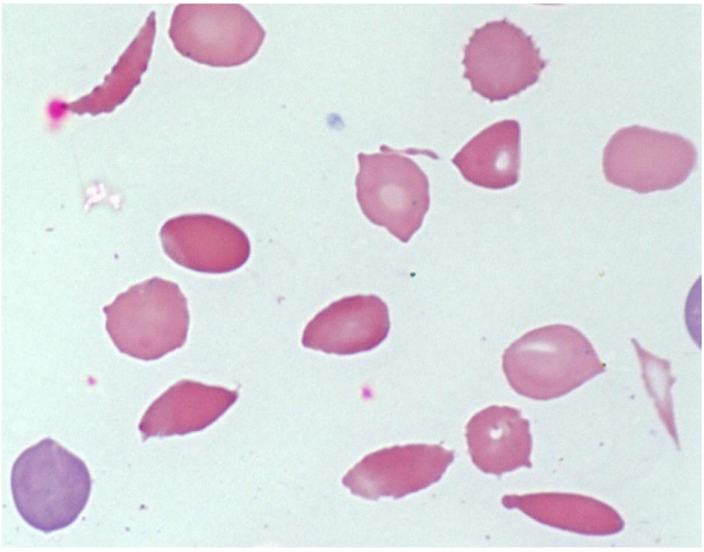
تصویر لام خون محیطی

کم خونی از نوع نرموسیتیک یا ماکروسیتیک می‌باشد. ماکروسیتوز ممکن است به علت افزایش رتیکولوسیت‌ها باشد. بسته به علت کم خونی همولیتیک مورفولوژی‌های مختلفی قابل مشاهده خواهند بود. اسفروسیت‌ها ، پیشنهاد کننده اسفروسیتوز ارثی (HS)یا همولیز اتوایمیون هستند. شیستوسیت‌ها ، نشان دهنده آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک هستند ؛ سلول های داسی شکل و سلول‌های هدف یا کریستال‌ها نمایانگر حضور هموگلوبینوپاتی هستند . در آنمی همولیتیک حاد ، اغلب افزایش در تعداد گلبولهای سفید و پلاکت‌ها و همچنین حضور انواع جوان تر این سلول ها به دلیل رها شدن آن‌ها به همراه گلبول های قرمز از مغزاستخوان به خون محیطی وجود دارد و نتیجه آن لکوسیتوز به همراه شیفت به چپ و ترمبوسیتوز به همراه پلاکت‌های نرمال و غول آسا می باشد .



شکل ۷-۶: حضور شیستوسیت در لام خون محیطی

اسمیر خون محیطی رایت-گیمسا (۱۰۰۰ ×). یک شیستوسیت (فلش) در مرکز تصویر وجود دارد.



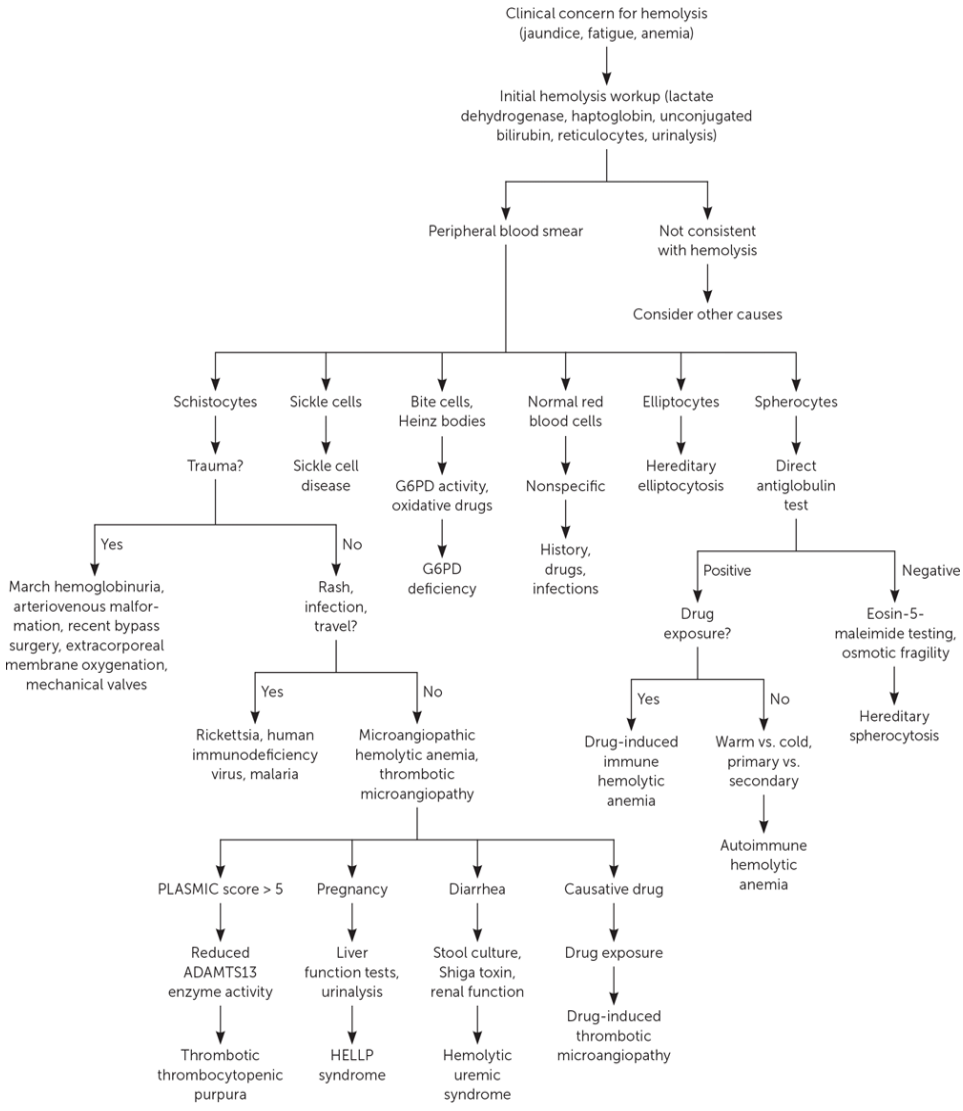
شکل ۷-۷: تصویر سلول داسی شکل، شیستوسیت و اکانتوسیت در لام خون محیطی یک بیمار

اسمیر خون محیطی رایت-گیمسا (۱۰۰۰ ×). سلول های داسی شکل، شیستوسیت ها و آکانتوسیت ها. پایین سمت چپ یک گلبول قرمز پلی کروماتیک را نشان می دهد که ممکن است نشان دهنده یک رتیکولوسیت باشد (لکه فوق حیاتی برای تایید لازم است)

تصویر مغز استخوان

در همولیز، هیپرپلازی اریتروئیدی وجود داشته و ممکن است درجات آن شدید باشد . به علت تکثیر سریع پیش‌تازهای اریتروئیدی ، ممکن است درجاتی از دیس پلازی در پیش‌تازها دیده شود. ذخیره آهن معمولا افزایش می‌یابد و تعداد سیدروبلاست‌ها طبیعی یا افزایش یافته است که نشان دهنده فراوانی آهن در دسترس ، برای سنتز هموگلوبین است .

ارزیابی همولیز



شکل ۷-۸: تشخیص افتراقی انواع آنمی های همولایتیک

G6PD = glucose-6-phosphate dehydrogenase; HELLP = hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count.

اتفاقاتی که برای سلول رخ می‌دهد

تخریب زودرس گلبول‌های قرمز می‌تواند به صورت داخل عروقی یا خارج عروقی در سیستم رتیکولواندوتلیال رخ دهد، اگرچه دومی شایع‌تر است. مکانیسم خارج عروقی اولیه، جداسازی و فاگوسیتوز به دلیل ناتوانی در تغییر شکل کافی RBC برای عبور از طحال است.

همولیز با واسطه آنتی بادی منجر به فاگوسیتوز یا تخریب به واسطه کمپلمان می‌شود و می‌تواند به صورت داخل عروقی یا خارج عروقی رخ دهد. مکانیسم‌های داخل عروقی شامل تخریب مستقیم سلولی، تکه تکه شدن و اکسیداسیون است. تخریب مستقیم سلولی در اثر سموم، تروما یا لیز ایجاد می‌شود. تکه تکه شدن در همولیز زمانی اتفاق می افتد که عوامل بیرونی باعث برش و پارگی گلبول‌های قرمز شوند. همولیز اکسیداتیو زمانی اتفاق می‌افتد که مکانیسم‌های محافظتی سلول‌ها تحت تأثیر قرار گیرد. علل همولیز متعدد است (جدول زیر). هموگلوبینوپاتی‌ها منجر به تخریب طحال و در مورد بیماری سلول داسی شکل، مکانیسم‌های متعدد باعث تخریب می شود. کمبود پروتئین ارثی منجر به افزایش تخریب در غشاها می‌شود. آنزیموپاتی ها به دلیل استرس اکسیداتیو شدید یا کاهش تولید انرژی منجر به همولیز می‌شوند. در کم خونی همولیتیک با واسطه ایمنی، آنتی بادی‌ها به گلبول‌های قرمز متصل می‌شوند که منجر به فاگوسیتوز یا تخریب به واسطه کمپلمان می‌شود. علل غیر ایمنی بیرونی شامل کم خونی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک (MAHA)، عفونت‌ها، ترومای مستقیم و همولیز ناشی از دارو و سایر موارد است.

جدول ۷-۵: تشخیص افتراقی همولیز

نوع	بیماری	مکانیسم	مکان	تست آزمایشگاهی	درمان
آلوایمیون	واکنش‌های انتقال خون، بیماری همولیتیک جنین و نوزاد	به دام انداختن، فاگوسیتوز، کمپلمان	داخل عروقی	DAT نوزادی	توقف انتقال خون، درمان حمایتی
اتو ایمیون	آنمی همولیتیک اتوایمیون سرد یا گرم	به دام انداختن، فاگوسیتوز، کمپلمان	داخل عروقی یا خارج عروقی	DAT	استروئیدها، اجتناب، درمان بیماری زمینه‌ای
القا شده توسط دارو	میکروآنژیوپاتی ترومبوتیک ناشی از دارو، کم خونی همولیتیک ایمنی ناشی از دارو، همولیز اکسیداتیو	مستقیم، سمی، فاگوسیتوز، تکه تکه شدن	داخل عروقی یا خارج عروقی	DAT، شیستوسیت، هاینز بادی	عدم استفاده از دارو
مسمومیت	حشرات، کبرا، عنکبوت قهوه ای	مستقیم	داخل عروقی یا خارج عروقی	_	_
آنزیموپاتی	G6PD یا کمبود پیروات کیناز	لیز اکسیداتیو	داخل عروقی	اندازه گیری فعالیت آنزیم	اجتناب، برداشت طحال
هموگلوبینوپاتی	سیکل سل، تالاسمی، نقص هموگلوبین	به دام انداختن	خارج عروقی	الکتروفورز هموگلوبین	درمان مختص به بیماری
عفونت	مالاریا، بابزیا، بارتونلا، کلستریدیا، ریکتزیا، هموفیلوس آنفلوآنزا، ویروس نقص ایمنی انسان	مستقیم، توکسین، فاگوسیتوز، تکه تکه شدن	داخل عروقی یا خارج عروقی	تست‌های مختص به پاتوژن	درمان مختص به عفونت
اختلال غشایی	اسفروسیتوز ارثی، الیپتوسیتوز ارثی، PNH	به دام انداختن	خارج عروقی	تست شکنندگی اسمزی، اتصال ائوزین-۵-مالیمید	برداشت طحال، پلنکتومی، اکولیزوماب (هموگلوبینوری حمله ای شبانه)

نوع	بیماری	مکانیسم	مکان	تست آزمایشگاهی	درمان
کم خونی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک / میکروآنژیوپاتی ترومبوتیک	پورپورای ترومبوسیتوپنیک ترومبوتیک، سندرم اورمیک همولیتیک، انعقاد داخل عروقی منتشر، سندرم HELLP، میکروآنژیوپاتی ترومبوتیک ناشی از دارو	تکه تکه شدن	داخل عروقی	اسمیر خون محیطی (نمایش شیستوسیت)، ارزیابی فعالیت ADAMTS13، آزمایش آنزیم های کبدی، مطالعه انعقادی، کشت	تبادل پلاسما، استروئیدها ، ترک دارو
اسموتیک	غرق شدن در آب	لیز اسمزی	داخل عروقی	_	_
بیماری سیستمیک	فشار خون بدخیم، لوپوس اریتماتوز سیستمیک، اسکلرودرمی، بیماری کبد، واسکولیتیدها، بزرگی طحال	به دام انداختن، تکه تکه شدن	داخل عروقی یا خارج عروقی	تستهای مختص به بیماری	درمان‌های مختص به بیماری
تروما	دستگاه های اندوواسکولار، تنگی آئورت، اکسیژن رسانی غشای خارج بدنی، ناهنجاری شریانی وریدی، هموگلوبینوری مارچ، سوختگی	تکه تکه شدن، مستقیم	داخل عروقی	_	توقف تروما

PNH: هموگلوبینوری حمله ای شبانه، DAT : تست آنتی گلوبولین مستقیم، G6PD: گلوکز۶فسفات دهیدروژناز، HELLP: همولیز-افزایش آنزیم کبدی -کاهش پلاکت

درمان

با توجه به علت کم‌خونی همولیتیک درمان متفاوت است. هنگامی که کم‌خونی شدید وجود دارد، به ویژه هنگامی که خونریزی فعال وجود دارد، تزریق خون همیشه پایه اصلی درمان است.

هنگامی که همولیز علت شناخته شده کم خونی است، یا در صورت عدم نیاز به مداخله اضطراری، ممکن است روش های درمانی خاص تری دنبال شوند که بسته به

علت زمینه‌ای می‌تواند استفاده از داروهای استروئیدی، طحال برداری، آنتی بادی های مونوکلونال یا سرکوب کننده‌های ایمنی، پیوند مغز استخوان و دیگر درمان‌ها بهره برد.

تداخلات دارویی

داروهایی مانند فناستین و کینیدین با آنتی بادی ضد دارو کمپلکس تشکیل می‌دهند و کمپلکس ایمنی به گلبول‌های قرمز متصل می‌شود و معمولاً کمپلمان را فعال کرده و باعث همولیز حاد داخل عروقی می‌شود. سایر داروها (مانند پنی سیلین‌ها)، هنگامی که در دوزهای زیاد تجویز می‌شوند، گلبول های قرمز طبیعی را در داخل بدن می پوشانند و در برخی بیماران یک آنتی بادی ضد داروی IgG با تیتر بالا ایجاد می‌شود که با سلول‌های پوشش داده شده واکنش نشان می‌دهد. سفالوسپورین‌ها با مکانیسم مشابه با پنی‌سیلین‌ها یا با تغییر غشای گلبول قرمز که منجر به جذب غیرایمونولوژیک پروتئین‌های سرم می‌شود، آزمایش‌های DAT مثبت را در درصد کمی از بیماران ایجاد می‌کنند. چند دارو (به ویژه آلفا متیل دوپا) باعث ایجاد کم خونی همولیتیک خود ایمن می‌شوند.

کیس های بالینی

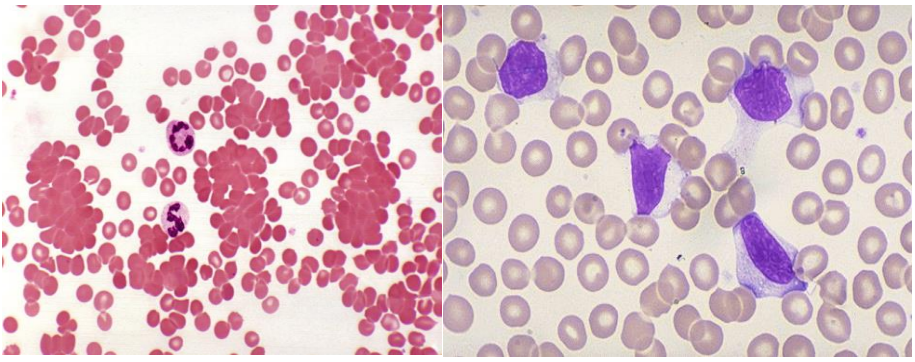
کیس بالینی شماره ۱:

دانشجوی ۲۰ ساله ای برای ارزیابی آنمی مراجعه کرده است. بیمار سابقه ی گلو درد در ۲ هفته ی گذشته را گزارش کرده است.

معاینه ی فیزیکی نشان دهنده ی لنفادنوپاتی دوطرفه در گردن و اسپلنومگالی خفیف است. نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است.

WBC = 11,200 /µl ،Hb = 8.7 g/dl ،MCV = 108 Fl ،Plt = 250,000 /µl .

لام خون محیطی در شکل زیر قابل مشاهده است. ضمنا تست مونواسپات نیز مثبت است. محتمل ترین تشخیص چیست؟



تفسیر :

لام خون محیطی نشان دهنده ی لنفوسیت های واکنشی و آگلوتیناسیون گلبول های قرمز است که منجر به افزایش کاذب سطح MCV می شود. همولیز ایجاد شده به واسطه آگلوتینین سرد با حضور آنتی بادی های IgM که علیه آنتی ژن I یا i بر سطح گلبول های قرمز عمل می کنند، ایجاد می شود. تولید آگلوتینین های سرد علل مختلفی از جمله وضعیت های خوش خیم مثل عفونت مانند مونونوکلئوز عفونی یا مایکوپلاسماپنومونیه و لنفوم های تهاجمی دارد. علت آنمی، همولیز خارج عروقی است. گزینه های درمان شامل دوری از سرما، ریتوکسیماب، شیمی درمانی سایتوتوکسیک و یا تعویض پلاسما با هدف حذف سریع IgM از جریان خون می باشند.

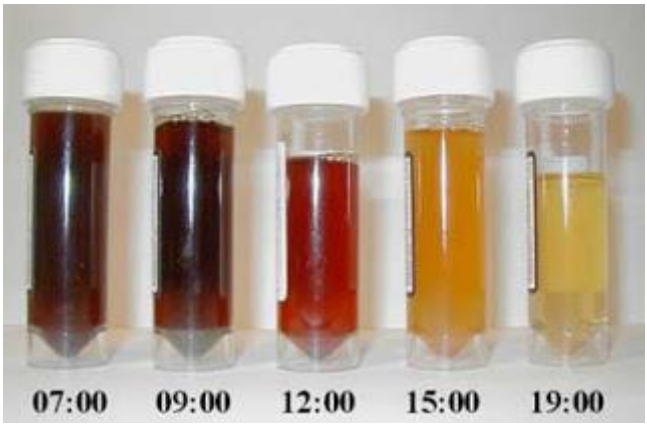
کیس بالینی شماره ۲:

زنی ۳۰ ساله برای ارزیابی در مورد خستگی مراجعه کرده است. نتایج آزمایشگاهی اولیه به شرح زیر است.

Hb = 7.6 g/dl ،MCV = 106 fL ،WBC = 3,200 /µl ،Plt = 178,000 /µl ،LDH = 1,200 U/L .

سطح هاپتوگلوبین پایین است. در بررسی علائم مشخص شد که ادرار در صبح تیره است ولی در عصر شفاف است. لوله های

آزمایش حاوی نمونه های متوالی بیمار در در شکل زیر قابل مشاهده است.



شایع ترین علت این بیماری چیست؟

PNH اختلالی اکتسابی در سلول های بنیادی خونساز است که به علت جهش سوماتیک در ژن PIG-A رخ می دهد. پروتئین حاصل از ژن PIG-A برای سنتز گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول GPIمورد نیاز است .GPI. به عنوان یک لنگر غشایی برای اتصال برخی از پروتئین های سلولی عمل می کند. جهش در PIG-A ، منجر به کمبود CD55 و CD59 می شود. در نتیجه اریتروسیت های مشتق شده از این کولون غیر طبیعی، فاقد توانایی مهار فعالیت مسیر فرعی کمپلمان در غشای گلبول های قرمز هستند و در نتیجه ی آن، آنمی همولیتیک بروز می یابد.

کیس بالینی شماره ۳:

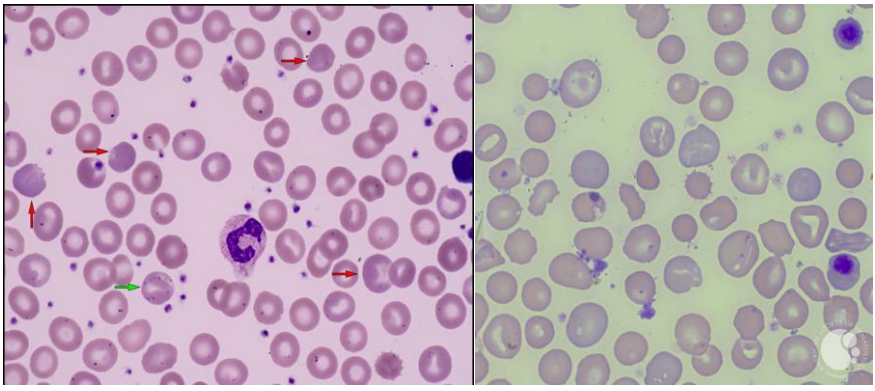
زن ۲۴ ساله ای از فرقه ی مسیحیت آمیش) Amish (برای ارزیابی در مورد آنمی ارجاع داده شده است. بنابه گفته ی بیمار، او به علت آنمی در کودکی اسپلنکتومی

شده است. همچنین خواهر یا برادرانش نیز متحمل اسپلنکتومی شده اند. نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است.

Hb = 9.2 g/dl ،MCV = 121 fl ،WBC = 7,400 /µl ،Plt = 565,000 /µl

آزمایش آنتی گلوبین مستقیم منفی است. سطح LDH اندکی افزایش و سطح هاپتوگلوبین کاهش یافته است.

لام خون محیطی در شکل زیر قابل مشاهده است. محتمل ترین تشخیص چیست؟

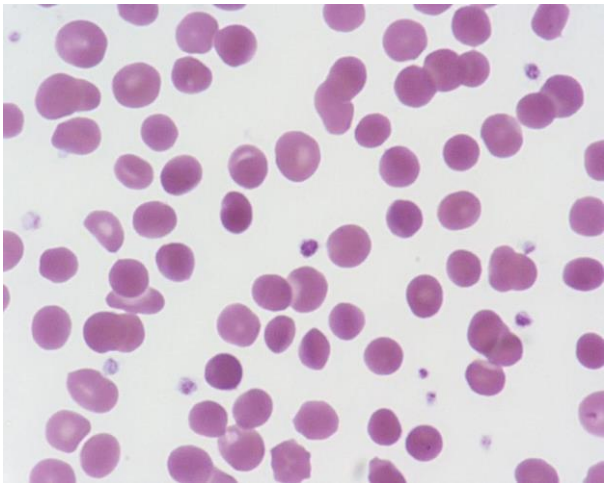


تفسیر:

لام خون محیطی نشان دهنده ی افزایش رتیکولوسیت، اکینوسیت)بورسل)، RBC هسته دار و اجسام هاول ژولی است. اسفروسیت وجود ندارد و RBC ها نورموکرومهستند.کمبود PK در جمعیت آمیش شایع است و در این جمعیت به علت یک جهش خاص ایجاد می شود. تایید سطح پایین فعالیت PK برای تشخیصِ صحیح الزامی است.

کیس بالینی شماره ۴:

در معاینه ی فیزیکی روتینِ یک زن ۳۲ ساله متوجه شدیم که او دارای اسپلنومگالی است. به گفته ی بیمار، او هیچ گونه تغییر شدید در سطح انرژی نداشته است ولی از زمانی که به یاد می آورد، در حین فعالیت فیزیکی شدید خیلی زود دچار خستگی می شود. بیمار سابقه ای از cholelithiasis یا همان سنگ کیسه صفرارا در ۱۰ سال گذشته گزارش کرد. تصویر لام خون محیطی را مشاهده می فرمایید. تشخیص احتمالی چیست؟



تفسیر:

لام خون محیطی نشان دهنده یک نوع جمعیت RBC است که فاقد ناحیه ی کم رنگ مرکزی است و اسفروسیت نام دارند.

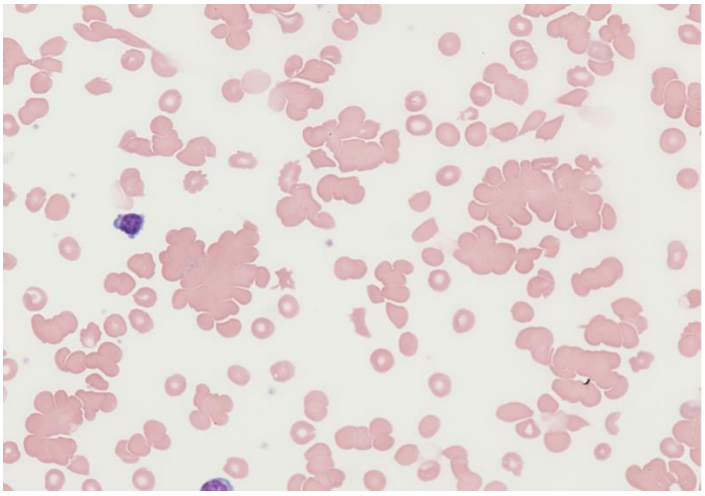
سابقه cholelithiasis و MCV طبیعی و طبیعی بودن سایر رده های خونی همراه با اسپلنومگالی با تشخیص اسفروسیتوز ارثی همراه با آنمی همولیتیک مزمن خفیف، تطابق دارد.

کیس بالینی شماره ۵:

یک زن ۶۰ ساله با سابقه ی فشار خون بالا و هایپرلیپیدمی در ماه دسامبر برای ارزیابی بیشتر در مورد چند ماه خستگی عمومی مراجعه کرده است. بیمار خونریزی، کاهش وزن یا تغییری در اشتها نداشته است. در معاینه ی فیزیکی یرقان، لنفادنوپاتی یا ارگانومگالی مشاهده نشد. نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است.

Hemoglobin =8.7 g/dl ۱۱۰ ، fl = =MCV ۵،۶۰۰ ، /µl WBC= ،Plt = 174,000 /µl .

لام خون محیطی در شکل زیر قابل مشاهده است. محتمل ترین تشخیص چیست؟



تفسیر:

لام خون محیطی نشان دهنده ی تجمعاتی از RBC است که موجب افزایش کاذب MCV می شود. علائم بیمار با بیماری اگلوتینین سرد منطبق است که مشخصه ی آن وجود IgM علیه آنتی ژن I در سطح RBC است. آنتی بادی های غیرطبیعی در دمای کمتر از دمای فیزیولوژیک بدن با RBC ها واکنش می دهند و موجب آنمی همولیتیک می شوند. وجود تیتر بالای اگلوتینین های سرد برای تایید تشخیص بیماری لازم است.

فصل هشتم: تالاسمی و هموگلوبینوپاتی‌ها

فصل ۸- تالاسمی و هموگلوبینوپاتی‌ها

اختلالات هموگلوبین

اختلالات هموگلوبین به دو دسته اصلی تالاسمی و هموگلوبینوپاتی تقسیم‌بندی می شود. در هموگلوبینوپاتی توالی آمینواسیدی گلوبین تغییر می‌کند (تغییر ساختاری) و در تالاسمی بیوسنتز گلوبین کاهش می‌یابد.

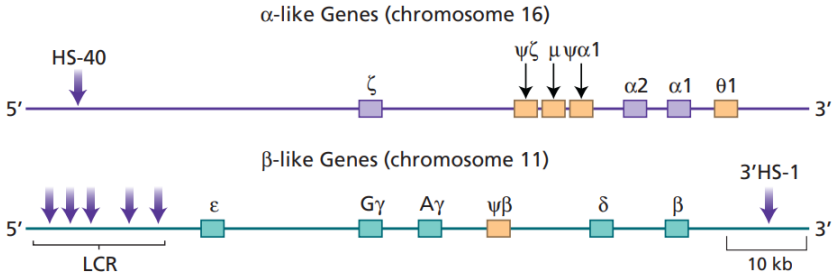
جدول ۸-۱: مثال های ناهنجاری ساختاری هموگلوبین و اختلال در تولید آن

مثال	ناهنجاری
هموگلوبین داسی، HbE، HbD	تغییرات ساختاری هموگلوبین
تالاسمی (آلفا، بتا و...)	تولید نامتعادل گلوبین

مروری بر هموگلوبین‌های طبیعی و نحوه سنجش آن ها

هموگلوبین‌های مختلفی در دوران رویانی، جنینی و بزرگسالی تولید می‌شود. هموگلوبین ساختار تترامری دارد که از دو جفت زنجیره گلوبینی تشکیل شده است. ژن‌های سازنده زنجیره‌های گلوبینی در ۲ ناحیه متمرکز شده‌اند. ژن‌های α-like شامل

زتا و آلفا می‌باشند که روی کروموزوم ۱۶ قرار گرفته‌اند. ژن‌های β-like روی کروموزوم ۱۱ قرار دارند و شامل اپسیلون، گاما، بتا و دلتا می‌باشند.



شکل ۸-۱: جایگاه ژن‌های سازنده زنجیره‌های گلوبین

(Postgraduate hematology، ۲۰۱۶: ۷۳)

در بدن سه هموگلوبین اصلی A1، A2 و F وجود دارد.

هموگلوبین A1: هموگلوبین اصلی بزرگسالی است که به طور نرمال در بدن یافت می‌شود و ۹۷ درصد هموگلوبین کل را تشکیل می‌دهد. این هموگلوبین از دو زنجیره آلفا و دو زنجیره بتا ساخته شده است.

هموگلوبین A2: از دو زنجیره آلفا و دلتا ساخته شده است. زنجیره دلتا (δ) در هفته ۳۵ بارداری شروع به ساخت می‌کند و پایان تولید آن مطابق با پایان عمر می‌باشد. میزان رونویسی از ژن مربوط به دلتا بسیار کمتر از میزان رونویسی از ژن بتا است. این هموگلوبین در دوران بارداری بسیار کم می‌باشد، در بندناف ۱تا ۲ درصد و در حالت نرمال در بزرگسالان ۱/۵ تا ۳ درصد است. میزان این هموگلوبین طی سال اول زندگی به تدریج افزایش یافته و در انتهای سال اول به میزان نرمال خود در افراد بالغ خواهد رسید. HbA2 فقط در بالغین و فقط در BM و در مراحل انتهایی حاملگی سنتز می‌شود و سنتز آن در مرحله اورتو کروماتوفیلیک نورموبلاست متوقف می‌شود و به دلیل ناپایداری mRNA زنجیره دلتا در مرحله رتیکولوسیت واریتروسیت سنتز

نمی‌شود. HbA2 از نظر اثر بوهر، اثر تعاون، پاسخ به 2,3DPG مانند Hb A بوده ولی میل آن به O_2، اکسیداسیون و تشکیل M –Hb بیشتر از Hb – A است.

جدول ۸-۲: علل کاهش هموگلوبین A2 در مقابل افزایش آن

افزایش میزان HbA_2	کاهش میزان HbA_2
بتاتالاسمی مینور	آنمی فقرآهن شدید
آنمی مگالوبلاستیک	هیپوتیروئیدی
خصیصه β تالاسمی	خصیصه تالاسمیα، δ، $\delta\beta$
بیماری هموگلوبین‌های ناپایدار	آنمی بیماری‌های مزمن
پرکاری تیروئید	آنمی سیدروبلاستیک
آنمی داسی شکل	لوسمی JMML، AML – M6، MDS

به دلیل ضروری بودن آهن برای سنتز زنجیره دلتا، این هموگلوبین در آنمی فقرآهن کاهش می‌یابد. در صورت ابتلای همزمان فرد به بتا تالاسمی مینور و آنمی فقر آهن، مقادیر HbA2 نرمال می‌شود؛ بنابراین برای تشخیص، باید فرد به مدت یک ماه با آهن درمان شود و سپس مجددا بررسی‌ها صورت گیرد. در تمام موارد بتاتالاسمی مینور HbA2 افزایش نمی‌یابد. هورمون‌های تیروئید باعث افزایش رونویسی از ژن دلتا می‌شوند، از این رو در پرکاری تیروئید افزایش HbA2 را داریم. به دلیل افزایش آهسته HbA2 در طول نوزادی، سنجش مقدار آن در نوزادان برای تشخیص تالاسمی فاقد ارزش است. در JMML، MDS، AML – M6 و آنمی آپلاستیک افزایش HbF با کاهش HbA2 همراه می‌باشد.

هموگلوبین F: هموگلوبین جنینی است که به آن هموگلوبین F نیز می‌گویند و به‌طور معمول در مقادیر بسیار کم در بزرگسالان یافت می‌شود. هموگلوبین اصلی جنین است و مسئول انتقال اکسیژن در هنگامی‌است که میزان کمی اکسیژن وجود دارد. معمولا ساخت این هموگلوبین در اولین سال زندگی کاهش می‌یابد و با هموگلوبین A1 و A2 جایگزین می‌شود. این هموگلوبین از دو زنجیره آلفا و گاما

تشکیل شده است و تولید آن از هفته ۶ بارداری (شروع خونسازی هپاتیک) شروع می‌شود. روی کروموزوم ۱۱، دو ژن γ_G و γ_A وجود دارد که زنجیره‌های پلی پپتیدی تولیدشده توسط آنها فقط در یک اسیدآمینه تفاوت دارند؛ به طوری‌که اسیدآمینه شماره ۱۳۶ در زنجیره پلی پپتیدی تولیدشده توسط γ_G گلیسین است اما همین موقعیت در زنجیره پلی پپتیدی γ_A آلانین می‌باشد. در بدو تولد میزان γ_G زیاد اما با افزایش سن میزان γ_G کاهش و میزان γ_A افزایش می‌یابد. HbF، تنها هموگلوبینی است که در هر سه مرحله رویانی، جنینی و بالغین وجود دارد. این هموگلوبین به به انگل مالاریا فالسی پاروم مقاوم است. Hb-F به دلیل اتصال ۴ تایی به 2,3DPG باعث میل منحنی تفکیک اکسیژن به سمت چپ می‌شود و در مقایسه با Hb-A کارآیی کمتری در انتقال CO2 دارد. در نوزاد نارس مقادیر HbF به مدت ۲۰ تا ۶۰ روز بعد از زایمان ثابت است. HbF در بالغین کمتر از ۱٪ است (۱٪ کل Hb). اگر این میزان در داخل RBC به حدود ۱۵٪ برسد (به ۱۵٪ کل Hb یک RBC برسد) به آن RBC ، Fcell گویند. میزان نرمال Fcell در بالغین حدود ۵-۳٪ است. هرچه میزان این هموگلوبین بیشتر باشد میزان Fcell نیز بیشتر می‌شود.

جدول ۸-۳: میزان HbF در سنین مختلف

سن	مقدار HbF
دوران جنینی	۹۰٪ کل Hb
۶ ماهگی	کمتر از ۸٪
۱ سالگی	کمتر از ۵٪
۲-۱ سالگی	کمتر از ۳٪
بالغین	کمتر از ۱٪

در خون بندناف میزان این هموگلوبین، ۵۰ تا ۸۵ درصد است. با افزایش سن میزان این هموگلوبین کاهش می‌یابد.

علل افزایش HbF:

- ✓ تداوم ارثی هموگلوبین جنینی(HPHF)
- ✓ پرکاری تیروئید
- ✓ نشت خون جنینی به گردش خون مادر
- ✓ لوسمی ها و تومورهای توپر
- ✓ آنمی سلول داسی
- ✓ تالاسمی ماژور (هموگلوبین F ۲۰-۹۰ درصد)
- ✓ تالاسمی مینور (هموگلوبین F ۲-۸ درصد)
- ✓ بیماری سلول داسی هموزیگوت (HbSS)
- ✓ تالاسمی $sickle/\beta^{+}$ (برخی موارد)
- ✓ تالاسمی $sickle/\beta^{0}$ (برخی موارد)
- ✓ لوسمی میلوئیدی مزمن جوانان، کم خونی فانکونی و اریترولوکمی (بالاترین سطح HbF را دارند)
- ✓ مالتیپل میلوما (شایع نیست و هرگز اندازه‌گیری نمی شود)
- ✓ آنمی آپلاستیک اکتسابی
- ✓ کم خونی مگالوبلاستیک
- ✓ میلوفیبروز
- ✓ هموگلوبینوری حمله ای شبانه
- ✓ کم خونی های مقاوم
- ✓ مول هیداتیفرم (افزایش معنی دار تا ۶ درصد)
- ✓ در بارداری به ویژه سه ماهه آخر (سوم) آن HbF به طور خفیف بالا می‌رود.

هموگلوبین‌های غیرطبیعی:

هموگلوبین C: در این هموگلوبین، گلوتامیک اسید در موقعیت ششم زنجیره بتا به لیزین تبدیل شده است. گلبول‌های قرمز حاوی این هموگلوبین راحت‌تر از گلبول‌های نرمال لیز می شوند و نیمه عمر کمی دارند.

هموگلوبین‌های D/E: در هموگلوبین E، لیزین جایگزین اسیدگلوتامیک در موقعیت ۲۶ زنجیره بتا شده است. جایگزین شدن گلوتامین به جای گلوتامیک اسید در موقعیت ۱۲۱ زنجیره بتا نیز باعث ایجاد هموگلوبین D می‌شود. این هموگلوبین‌ها در بیماران مبتلا به آنمی داسی شکل یا تالاسمی وجود دارند و معمولا ماهیت این بیماری جدی‌تر است.

هموگلوبین H: این هموگلوبین انتقال نرمال اکسیژن به بافت‌های بدن را مختل می‌کند. هموگلوبین H به اکسیژن متصل می‌شود و از انتقال آن به بافت‌ها جلوگیری می‌کند.

هموگلوبین S: این هموگلوبین شکل RBC را در پاسخ به سطح پایین اکسیژن به حالت داسی تغییر می‌دهد. حضور این هموگلوبین اساس تشخیص خصیصه و آنمی سلول داسی می‌باشد. در هموگلوبین S، اسیدگلوتامیک در ششمین جایگاه بر روی زنجیره بتا با والین جایگزین می‌شود.

تالاسمی ها

تالاسمی‌ها شایع ترین اختلالات تک ژنی هستند که در آن‌ها ساختار زنجیره گلوبین طبیعی است اما تولید زنجیره‌ها کاهش پیدا می‌کند. تولید نامتعادل گلوبین، ویژگی اصلی تالاسمی ها است. براساس این‌که تولید کدام زنجیره تحت تاثیر قرار می‌گیرد، تالاسمی‌ها نام‌گذاری می‌شوند؛ برای مثال در صورتی‌که تولید زنجیره آلفا کاهش یابد، آلفاتالاسمی نام می‌گیرد. دو دسته اصلی شامل تالاسمی آلفا و بتا می‌باشد، در حالی‌که

اشکال نادر شامل γ، δ و εγδβ تالاسمی‌ها می‌باشند. به لحاظ عملکردی، بعضی از موتاسیون‌های تالاسمی باعث فقدان سنتز زنجیره گلوبین می‌شود که به آن‌ها α^0- یا β^0- تالاسمی می‌گویند؛ درصورتی‌که زنجیره گلوبین با سرعت کاهش یافته‌ای تولید شود به آن‌ها α^+ یا β^+ تالاسمی اطلاق می‌شود. δβ تالاسمی نیز یکی دیگر از انواع تالاسمی‌هاست. سندروم‌های HPFH به گروهی از اختلالات گفته می‌شود که در آن‌ها تغییر تولید هموگلوبین جنینی به بزرگسالی به صورت ناقص انجام می‌شود و سطح هموگلوبین جنینی نسبت به افراد نرمال بالاتر است. δβ- و γδβ- تالاسمی نیز به دلیل سطوح بالای HbF با سندروم‌های HPFH درنظر گرفته می‌شوند.

به لحاظ بالینی، تالاسمی‌ها براساس شدت به سه دسته ی ماژور، حدواسط ومینور تقسیم بندی می‌شوند. تالاسمی ماژور، یک اختلال شدید و وابسته به تزریق خون است. تالاسمی مینور، وضعیت ناقل یا خصیصه بدون علامت است. تالاسمی حدواسط با یک آنمی (با یا بدون اسپلنومگالی) مشخص می‌شود و به عنوان تالاسمی بدون نیاز به تزریق خون در نظر گرفته می‌شود. این تالاسمی شامل بتالاسمی حدواسط، بیماری HbH و HbE/βthalassaemia می‌باشد.

بتاتالاسمی

تغییرات تک نوکلئوتیدی، شایع‌ترین جهش های بتاتالاسمی هستند، اما حذف های ژنی نیز در این نوع تالاسمی رخ می‌دهد. بعضی از جهش‌هایی که منجر به بتاتالاسمی می‌شوند شامل جهش در عناصر افزاینده (پروموتر) است که رونویسی از ژن را تحت تاثیر قرار می‌دهد و باعث β^+ تالاسمی خفیف و گاها خاموش می‌شود؛ جهش‌هایی در اتصالات بین اگزون‌ها و اینترون‌ها که پردازش mRNA را تحت تاثیر قرار می‌دهند که منجر به β^0 و β^+ تالاسمی می‌شود؛ واردشدن محل‌های alternative splice به درون اینترون‌ها و اگزون‌ها که معمولا باعث β^+ تالاسمی می‌شود؛ جهش‌هایی در توالی پردازشگر انتهای 3’ که از پلی آدنیله شدن RNA جلوگیری کرده و منجر به β^+

تالاسمی خفیف یا خاموش می‌شود؛ جهش‌هایی که از آغاز ترجمه جلوگیری می‌کنند و β^0 تالاسمی ایجاد می‌کنند؛ و واردشدن کدون‌های توقف که باعث خاتمه یافتن ترجمه به‌صورت زودرس (جهش های nonsense) و ایجاد تغییرات قالب خواندن و تولید mRNA گلوبین کوتاه شده و β^0 تالاسمی می‌شود.

در بتاتالاسمی، نقص در ساخت زنجیره گلوبین بتا باعث می‌شود که زنجیره‌های اضافی گلوبین آلفا در اریتروبلاست های در حال تشکیل رسوب کرده و منجر به اکسیداسیون لیپید و آسیب گردند. علت اصلی کم خونی، تخریب درون مدولاری پری کورسورهای اریتروئیدی است که به عنوان اریتروپوئز غیرموثر شناخته می‌شود. کاهش شکل پذیری و در معرض قرار گرفتن فسفاتیدیل سرین باعث همولیز درون یا خارج عروقی در اریتروسیت‌هایی می‌شود که وارد خون شدند.

بتاتالاسمی ماژور (هموزیگوت، کم خونی کولی[1])

در هنگام غیاب تولید زنجیره بتا (β^0) یا کاهش چشمگیر تولید زنجیره بتا (β^+)، زنجیره‌های آلفا افزایش پیدا می‌کند. تجمعات این زنجیره‌ها ناپایدار هستند و در نرموبلاست یا گلبول قرمز رسوب می‌کنند و به سلول آسیب می‌رسانند و موجب از بین رفتن اریتروبلاست‌های در حال تکامل در مغزاستخوان می‌شوند. تعدادی از پرواریتروبلاست‌هایی که مراحل بلوغ اریتروئیدی را شروع می‌کنند، زنده می‌مانند. RBCهایی که زنده می‌مانند حاوی بار زیادی از اجسام انکلوزیونی هستند که در طحال یافت می‌شوند و موجب کاهش طول عمر RBCها و پدید آمدن یک آنمی همولیتیک شدید می‌شوند. آنمی باعث افزایش آزادسازی اریتروپوئیتین و هیپرپلازی اریتروئیدیِ جبرانی می‌شود، اما پاسخ مغزاستخوان به دلیل اریتروپوئز غیرموثر متوقف

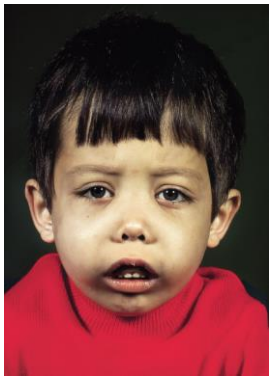
[1] Cooley's Anemia

می‌گردد. آنمی پایدار می‌ماند و ادامه هیپرپلازی اریتروئید سبب ایجاد توده‌هایی از بافت خونساز خارج از مغزاستخوان در کبد و طحال می‌شود.

تظاهرات بالینی

کم خونی شدید در ۳ الی ۶ ماهگی بعد از تولد آشکار می‌شود، یعنی درست زمانی‌که تولید زنجیره بتا باید جایگزین زنجیره گاما شود. به طور تیپیک، بیماری خود را با ضعف در گریه کردن، رنگ پریدگی و بزرگی شکم در سال اول زندگی نشان خواهد داد. **هپاتواسپلنومگالی** به علت تخریب بیش از اندازه گلبول های قرمز، خونسازی خارج مدولاری و بعدها به دلیل اضافه بارآهن رخ می‌دهد. به دلیل هیرپلازی شدید رده اریتروئیدی، **برجستگی استخوان**‌های پیشانی، گونه‌ها و آرواره‌ها به بیمار ظاهری شبه مغولی می‌دهند (شکل...). همچنین یافته‌های اشعه X نازک شدن قشر استخوان‌های دراز و پهن و ضخیم شدن جمجمه، همراه با استئوپوروز (نمای سیخ شدن مو) را نشان می‌دهند (شکل...). در این افراد به دلیل تزریق خون از سال اول زندگی، **اضافه بارآهن** دیده می‌شود. همچنین به علت افزایش ترشح پروتئین‌هایی همچون GDF15 و TWSG از سلول‌های اولیه پیشساز رده اریتروئیدی (که تعداد آن‌ها به دلیل اریتروپوئز غیرموثر افزایش پیدا کرده‌است)، مقادیر هپسیدین سرم کاهش داشته و منجر به افزایش جذب آهن از دستگاه گوارش می‌شود. رشد بیمار متوقف گشته و بلوغ به تاخیر می‌افتد. **عفونت** نیز در این افراد شایع بوده و به دلایل مختلف ایجاد می‌شود. در دوران نوزادی و در صورت عدم انتقال خون کافی، کم‌خونی موجب افزایش بروز عفونت‌های باکتریال در نوزاد می‌شود. احتمال سپتی‌سمی‌های پنوموکوکی، *هموفیلوسی* و مننگوکوکی در بیماران طحال‌برداری شده بالاست. *یرسینیا اینترکولیتیکا* در بیماران دارای اضافه بار آهن که با داروی دفروکسامین درمان می‌شوند، گاستروانتریت حاد ایجاد می‌کند. همچنین افزایش بار آهن موجب مستعد شدن بیماران نسبت به عفونت‌های باکتریائی مانند کلبسیلا و عفونت‌های قارچی می شود. **بیماری کبدی** در بیماران مبتلا به تالاسمی در اغلب موارد ناشی از

ابتلا به هپاتیت C است اما با این حال هپاتیت B هم می‌تواند در مناطق اندمیک باعث این بیماری شود. اضافه بار آهن نیز می‌تواند باعث آسیب کبدی شود. ویروس HIV از طریق انتقال خون به بعضی از بیماران می‌تواند منتقل شود. **پوکی استخوان** در مبتلایانی که خون زیادی دریافت می‌کنند شایع است ولی در بیماران دیابتی شیوع بیشتری دارد. **کارسینومای هپاتوسلولار** در بین بیماران گرفتار اضافه بارآهن و مبتلایان به هپاتیت های مزمن B و C افزایش دارد. بهتر است سطح سرمی آلفافیتوپروتئین و اولتراسونوگرافی هر ۶ ماه یک بار در این افراد بررسی شود.



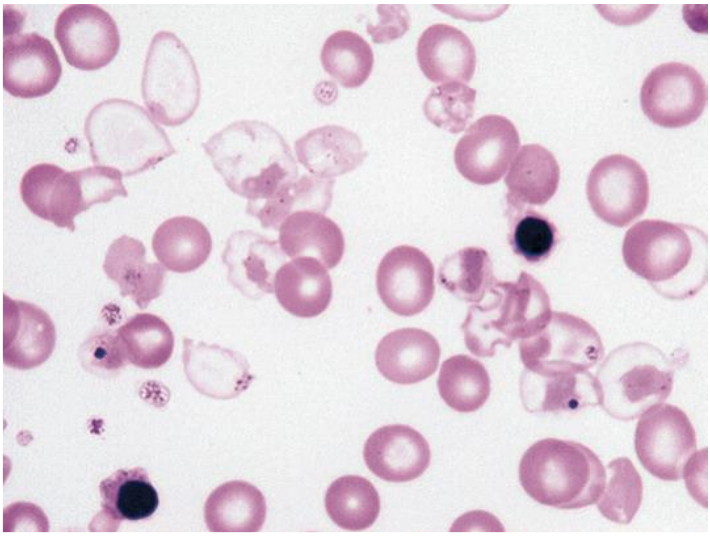
شکل ۸-۲: ظاهر صورت یک کودک مبتلا به بتاتالاسمی ماژور

(Hoffbrand's Essential hematology، ۲۰۲۰: ۸۴)

شکل ۸-۳: اشعه ایکس جمجمه فرد بتاتالاسمی ماژور که انتقال خون مزمن نداشته است

تشخیص آزمایشگاهی

بیماران مبتلا به بتاتالاسمی شدید که خون دریافت نکرده باشند، آنمی شدید با هموگلوبین کمتر از ۵ گرم بر دسی‌لیتر را نشان می‌دهند. MCH و MCV پایین و RDW افزایش دارد. تعداد سلول‌های هسته دار بسیار زیاد است. در لام خون محیطی آنیزوپوئیکیلوسیتوز چشمگیر همراه با بازوفیلیک منقوط و قطعات کوچک گلبول قرمز، حلقه‌های کابوت، اجسام هاول ژولی، آنیزوکروم و سیدروسیت دیده می‌شوند (شکل). تعداد رتیکولوسیت‌ها افزایش پیدا می‌کند اما به دلیل اریتروپوئز غیرموثر، مقدار آن کمتر از حد قابل انتظار برای این درجه از آنمی است. عملکرد کلیوی نرمال است اما تست‌های عملکرد کبد، افزایش در بیلی‌روبین، آسپارتات آمینوترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز همراه با سطح نرمال آلانین آمینوترانسفراز را نشان می‌دهند. سطح اریتروپوئیتین افزایش خواهد داشت و میزان رسپتور محلول ترانسفرین تا ۳۰ برابر بیشتر از حد نرمال است. تعداد گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها نرمال می‌باشند مگر اینکه با عملکرد بیش از حد طحال همراه باشند. میزان آهن سرم و مقاومت اسمزی گلبول قرمز افزایش می‌یابند. آسپیره مغزاستخوان برای برای تشخیص لازم نیست، اما اگر انجام شود هیپرپلازی اریتروئیدی بسیار شدید همراه با دیس اریتروپوئز را نشان خواهد داد. سلول‌های شبه گوشه نیز در مغز استخوان حضور دارند و آهن ذخیره و سیدروبلاست‌ها افزایش خواهند داشت. بسیاری از پیشتازهای اریتروئیدی پس از انکوبه شدن با متیل بنفش، انکلوزیون‌هایی مشابه با آنچه که در گلبول‌های قرمز پس از طحال‌برداری دیده می‌شود، نشان می‌دهند. آنالیز هموگلوبین با استفاده از تکنیک‌های الکتروفورز یا کروماتوگرافی برای تائید تشخیص لازم است.



شکل ۸-۴: تالاسمی بتا هموزیگوت

تعدادی از سلول ها به ندرت هموگلوبین دارندو اغلب هموگلوبین در غشا رسوب کرده‌است. سلول های هدف عجیب و غریب، اجسام هاول ژولی، و سلول‌های هسته داری که به طور ضعیفی هموگلوبین‌دار شدند در تصویر دیده می‌شوند.

(HENRY'S clinical diagnosis and management by laboratory methods، 2017: 588)

در تالاسمی β^0، HbA وجود ندارد، HbF تا حدود ۹۸ درصد و HbA2 حدود ۲ درصد است. در تالاسمی β^+ (مدیترانه ای)، هموگلوبین F، ۶۰ تا ۹۵ درصد است و HbA وجود دارد. اگرچه HbA2 ممکن است افزایش داشته و یا اینکه نداشته باشد، اما همیشه نسبت A2 به A افزایش می یابد. آزمایش های والدین نیز باید تشخیص را تائید کنند، هر دو معمولا ناقل بتاتالاسمی با هموگلوبین A2 بیش از ۳/۵ درصد و MCH زیر ۲۷ پیکوگرم هستند. این یافته ها برای تائید تشخیص بتاتالاسمی شدید کافی هستند، اگرچه جایی‌که آنالیز DNA در دسترس است اغلب از این تست برای شناسایی جهش‌های گلوبین بتا و تائید تشخیص استفاده می‌شود.

درمان بیماران مبتلا به کولی

تزریق خون و شلاته کردن آهن

هدف از تزریق خون منظم، اصلاح آنمی و سرکوب هیپرپلازی اریتروئیدی غیرنرمال است. اصلاح آنمی، تحویل اکسیژن به بافت‌ها را بهبود می‌بخشد و رشد و تکامل طبیعی را تسهیل می‌کند. سرکوب اریتروپوئز باعث کاهش آسیب به استخوان‌ها، کاهش جذب آهن زیادی و کاهش هماتوپوئز خارج از مغزاستخوان می‌شود. تزریق خون با استفاده از پک سل صورت می‌گیرد و پک‌سل با لکوسیت کاهش‌یافته، خطر واکنش‌های انتقال خون و عفونت سیتومگالوویروس را کاهش می‌دهد و باید در صورت وجود استفاده شود. تزریق خون هر ۴-۲ هفته (با غلظت هموگلوبین قبل از تزریق g/dL ۹ تا ۱۰/۵) همراه با شلاته کننده‌های آهن خوراکی برای جلوگیری از تجمع آهن سمی اضافی صورت می‌گیرد. شلاته‌کننده‌های آهن از ایجاد کاردیومیوپاتی و اختلالات اندوکرین جلوگیری کرده و عمر افراد را تا حداقل ۵۰ سال افزایش می‌دهد. دو شلاته‌کننده موثر خوراکی (deferasirox و deferiprone) و یک شلاته‌کننده درون عروقی (دفروکسامین) در دسترس هستند. قبل از شروع تزریق خون، بیمار باید علیه هپاتیت B و در حالت ایده آل علیه هپاتیت A واکسینه شود. نظارت منظم بر ذخایر آهن در بیماران وابسته به ترانسفوزیون که شلاته کننده آهن دریافت می کنند، بسیار مهم است. فریتین سرم متناسب با مقدار آهن ذخیره شده در کبد است و می توان از آن برای نظارت موثر بر اضافه بار آهن استفاده کرد، به خصوص اگر بصورت پشت سر هم اندازه‌گیری شود. از آنجایی‌که فریتین پروتئین فاز حاد مثبت است، در مواردی‌که التهاب وجود دارد (برای مثال، عفونت همزمان با هپاتیت) میزان فریتین افزایش می‌یابد و می‌تواند نتیجه گمراه‌کننده‌ای باشد. آهن کبد را می‌توان با استفاده از بیوپسی کبد به طور دقیق ارزیابی کرد، اما این روش تهاجمی با خطر عوارض همراه است. تصویربرداری رزونانس مغناطیسی (MRI) برای اندازه گیری کمی آهن کبد استفاده می‌شود. بعلاوه، MRI قلب یک روش مهم برای شناسایی بیمارانی است که آهن موجود در قلب آن‌ها به‌طور قابل توجهی بالاست.

مانیتورینگ و شلاته‌کردن آهن بسیار گران است و برای اکثر بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور در جهان در دسترس نیست.

پیوند سلول بنیادی هماتوپوئیتیک

این روش به دلیل سختی تزریق خون در سراسر طول عمر و مصرف شلاتاتورهای خوراکی برای بیمارانی که دهنده مناسب برای پیوند دارند، پیشنهاد می‌شود. کیفیت زندگی در بیمارانی‌که به طور موفقیت آمیزی پیوند زده‌اند نسبت به افرادی‌که با تزریق خون و شلاتورها درمان می‌شوند، به مراتب بیشتر است. پیوند از دهندگان خواهر یا برادر سازگار در بیش از ۸۰ درصد موارد شفابخش است. متاسفانه، تنها یک سوم بیماران دهنده سازگار دارند. از عوارض اصلی این روش، عفونت شدید در دوره پیوند و بیماری حاد و مزمن پیوند علیه میزبان است.

بهبود اریتروپوئز غیرموثر

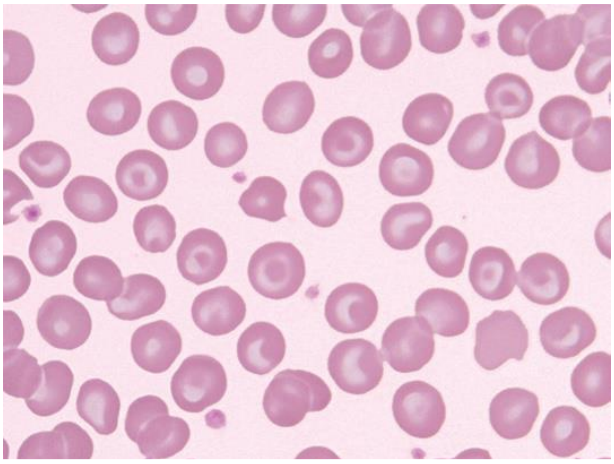
Luspatercept، یک پروتئین اتصالی حاوی دومین رسپتور تیپ IIB اکتیوین انسانی و دومین Fc از IgG انسانی است که اخیرا برای درمان تالاسمی وابسته به تزریق خون تائید شده است. این ترکیب با اتصال به لیگاندهای سوپرخانواده TGF-β و کاهش سیگنالینگ smad2/3 باعث افزایش اریتروپوئز مرحله آخر می‌شود. تزریق زیرپوستی ۱mg/kg از این دارو هر سه هفته باعث کاهش ۳۳ درصدی نیاز به تزریق خون می‌شود.

ژن درمانی

ژن درمانی به واسطه لنتی‌ویروس‌ها با استفاده از سلول‌های بنیادی هماتوپوئتیک CD34+ در اروپا برای بعضی از بیماران مبتلا به تالاسمی وابسته به تزریق خون که دهنده سازگار ندارند تائید شده‌است. نتایج اولیه ویرایش CRISPR/CaS برای کاهش *BCL11A* در بتاتالاسمی، نیاز به تزریق خون را برطرف کرده و سطوح هموگلوبین را نرمال کرده‌است.

بتاتالاسمی مینور (هتروزیگوت، خصیصه کولی)

ناقلین بتاتالاسمی معمولا بدون علامت هستند؛ به جز در دوران بارداری که ممکن است آنمی قابل ملاحظه ای داشته باشند. گاهی اوقات تزریق خون در طول بارداری لازم است اما هیچ درمان یا پیگیری دیگری نیاز نیست. اسپلنومگالی قابل لمس نادر است. ناقلین ممکن است آنمی خفیفی داشته باشند و مقدار هموگلوبین در رنج g/dL ۹-۱۲ است. گلبول‌های قرمز هیپوکروم (MCH کمتر از ۲۲ پیکوگرم) و میکروسیت (MCV بین ۵۵ تا ۷۰ فمتولیتر) هستند. MCHC اغلب طبیعی است. تعداد RBC افزایش پیدا می‌کند (۵ تا ۷ میلیون در هر میکرولیتر). تعداد رتیکولوسیت‌ها دو برابر مقدار طبیعی است. مغز استخوان هیپرپلازی اریتروئیدی متوسط همراه با افزایش میزان رسپتور محلول ترانسفرین را نشان می‌دهد. ویژگی اصلی آن افزایش HbA2 معمولا بیش از ۳/۵ درصد (۷-۳/۵ درصد) است. افزایش خفیف HbF در رنج ۳-۱ درصد، در حدود ۵۰ درصد از موارد دیده می‌شود. در تعداد کمی از موارد که HbF بیش از ۴ درصد است، این احتمال وجود دارد که یک ژن HPFH (تداوم ارثی هموگلوبین جنینی) نیز وجود داشته باشد. اشکال حذفی نسبتا کمیاب، تمایل دارند تا سطوح بالاتری از HbF (تا ۹ درصد) داشته باشند و در تعداد کمی از خانواده ها که در آن‌ها حذف در ناحیه پروموتری رخ می‌دهد، مشاهده شده است که HbF به طور غیرمعمولی بالاست (تا ۱۴٪). در شیرخواران مبتلا، HbF نسبت به حالت طبیعی آهسته تر کاهش می‌یابد و تا دوران نوجوانی به سطح ثابت بزرگسالان نمی‌رسد. این موضوع در مورد هتروزیگوت‌های دوگانه برای تالاسمی بتا و HbS (وقتی که سطح HbF جهت پیش‌بینی پیش آگهی مورد استفاده قرار می‌گیرد)، یک ارزیابی بسیار با اهمیت است.



شکل ۸-۵: خصیصه بتاتالاسمی

گلبول‌های قرمز میکروسیت و هیپوکروم همراه با سلول‌های هدف فراوان و کم خونی خفیف.
(HENRY'S clinical diagnosis and management by laboratory methods ،2017: 589)

خصیصه بتاتالاسمی همراه با مقادیر طبیعی HbA2

در تعداد کمی از موارد، میزان هموگلوبین A2 و F طبیعی است. افتراق این موارد از آلفاتالاسمی مشکل است و تنها بررسی‌های مولکولی، آن‌ها را تمایز می‌دهند. مطالعات حاکی از آن است که بیشتر این موارد ناشی از هم‌توارثی تالاسمی β و δ، یا در سیس یا در ترانس ژن تالاسمی بتا می‌باشند.

با این‌که فقر آهن اغلب خصیصه تالاسمی را در طی دوران کودکی و بارداری بغرنج می‌سازد، اما ارزیابی‌های آهن تفاوت اندکی با حالت طبیعی دارند. در فقر آهن شدید، سطح HbA2 ممکن است به داخل دامنه طبیعی افت کند و بنابراین تشخیص خصیصه بتاتالاسمی را مبهم سازد، اما این موارد نامعمول هستند. در اکثر موارد، اگرچه سطح HbA2 افت می‌نماید، اما بالاتر از دامنه طبیعی باقی می‌ماند. با این حال، در زمانی‌که فقرآهن وجود دارد، تکرار اندازه گیری HbA2 پس از جایگزینی آهن، توصیه می‌شود. تشخیص افتراقی بین فقر آهن و خصیصه آلفا یا بتا می‌تواند

مشکل باشد. افزایش در تعداد RBC به همراه MCV کاهش یافته، نماد خصیصه تالاسمی است. نسبت MCV/RBC کمتر از ۱۳، خصیصه تالاسمی را پیشنهاد می‌کند و نسبت بالاتر از ۱۳، بیشتر نشانه کم خونی فقرآهن است اما این فرمول‌ها برای تشخیص به اندازه کافی قطعی نیستند.

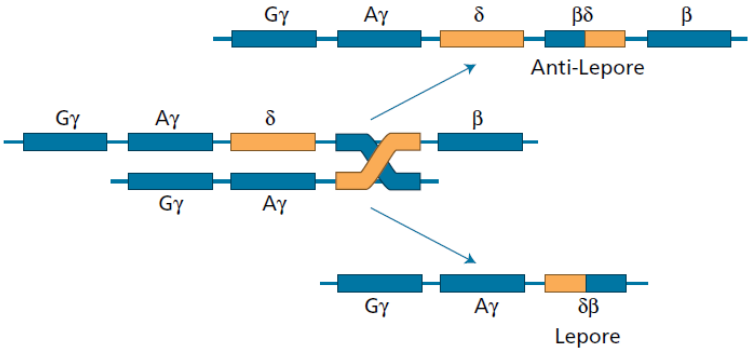
تالاسمی $\delta\beta^0$

از آنجایی که در این اختلال، اندیس‌های تالاسمی و افزایش قابل توجه در سطح HbF وجود دارد به آن تالاسمی F نیز می‌گویند. زنجیره‌های بتا و دلتا ساخته نمی‌شوند اما این کاهش با افزایش زنجیره گاما تقریبا جبران می‌شود. وضعیت هتروزیگوت آن مشابه خصیصه بتاتالاسمی خفیف است به استثنا این‌که HbA2 افزایش نیافته، یا حتی مقداری کاهش دارد. HbF به طور معنی داری (۵/۴ تا ۲۰ درصد) افزایش می‌یابد. در وضعیت هتروزیگوت، هموگلوبین طبیعی یا اندکی کاهش یافته است، MCH بین ۲۱ تا ۲۶ پیکوگرم و MCV ۶۵ تا ۷۹ فمتولیتر می‌باشد. علائم بالینی وجود ندارد. افراد هموزیگوت، شکل خفیفی از تالاسمی حدواسط همراه با سطحی از هموگلوبین g/dL ۱۰-۱۳، اندکس‌های گلبول قرمز مربوط به تالاسمی خفیف و تنها بزرگی جزئی کبد و طحال را دارند. در این وضعیت فقط HbF وجود دارد.

تالاسمی $\delta\beta^+$ (هموگلوبین لپور)

هموگلوبین لپور یک هموگلوبین غیرطبیعی است که به علت کراسینگ اور ژن‌های دلتا و بتا ایجاد شده و باعث تولیدشدن زنجیره پلی‌پپتیدی می‌شود که انتهای آمینی آن زنجیره دلتا و انتهای کربوکسیل آن را زنجیره بتا تشکیل داده است (شکل..). تولید زنجیره دلتا و بتا متوقف می‌شود و زنجیره ترکیبی نیز با سرعت کمتری تولید می‌شود. تولید هموگلوبین F اندکی افزایش دارد و این موارد باعث می‌شود که فنوتیپ تالاسمی شدید ایجاد شود (مشابه تالاسمی β^0). هموگلوبین لپور در الکتروفورز قلیایی کمی سریع‌تر از HbS حرکت می‌کند و معمولا حدود ۱۰ درصد از کل هموگلوبین را در

افراد هتروزیگوت تشکیل می‌دهد درحالی‌که هموگلوبین A2 به طور میانگین ۲٪ ، هموگلوبین F، ۲ تا ۳ درصد است. در هموزیگوت‌ها، هموگلوبین لپور ۱۰ تا ۱۵٪ است و مابقی آن، هموگلوبین F می‌باشد.



شکل ۸-۶: مکانیسم تولید هموگلوبین لپور

(Postgraduate hematology، ۲۰۱۶: ۸۹)

تداوم ارثی هموگلوبین جنینی (HPFH)

در این اختلال، تولید هموگلوبین F بدون ناهنجاری مهم خون‌شناختی بعد از شیرخوارگی ادامه پیدا می‌کند. این اختلال به دو نوع پان سلولار و هتروسلولار تقسیم‌بندی می‌شود. شکل پان‌سلولار با تالاسمی‌های β و δβ ارتباط نزدیکی دارد. در افراد هتروزیگوت نشانه واضحی از تالاسمی دیده نمی‌شود (به استثناء یک میکروسیتوز حدواسط در تعداد کمی از موارد) و این موضوع به عنوان یک معیار تشخیصی عمل می‌کند. در این بیماری، افزایش قابل توجه در HbF و کاهش HbA2 دیده می‌شود؛ در صورتی که اندیس‌های تالاسمی وجود داشته باشند به تالاسمی $\delta\beta^0$ شک می‌شود. HbF به طور همگنی (یکنواخت) در بین گلبول‌های قرمز توزیع شده است و این حالت برخلاف تالاسمی‌های β و δβ است که در آن‌ها توزیع هموگلوبین F هتروسلولار است.

HPFH پان سلولار حذفی

در شکل حذفی، کمپلکس ژنی $\delta\beta$ حذف شده است اما افزاینده‌های بتا باقی مانده‌اند و باعث تولید بیشتر زنجیره گاما می‌شوند. شایع‌ترین شکل آن مربوط به قفقازی‌ها و سیاهپوستان است. افراد هموزیگوت گلبول‌های قرمز هیپوکروم و اندکی میکروسیت دارند ولی هیچ کم خونی وجود ندارد. HbF، ۱۰۰درصد است و هیچ HbA یا HbA2 وجود ندارد. به دلیل میل ترکیبی بالای HbF به اکسیژن، هماتوکریت می‌تواند افزایش داشته‌باشد. در افراد هتروزیگوت، هیچ ناهنجاری خون‌شناختی وجود ندارد. HbF، ۱۵ تا ۳۰ درصد و HbA2، ۱ تا ۲/۱ درصد است.

هموگلوبین Kenya

آنالوگ هموگلوبین لپور است که در ارتباط با یک فنوتیپ HPFH می‌باشد. این هموگلوبین دارای یک ژن فیوژن $^{A}\gamma\beta$ است. در افراد هتروزیگوت، میزان آن حدود ۱۰ درصد، و HbF، ۷ درصد است و هموگلوبین A2 کاهش می‌یابد.

HPFH پان سلولار غیرحذفی

در ناحیه پروموتری یکی از ژن‌های گاما جهش رخ می‌دهد که منجر به افزایش سنتز HbF می‌شود. برون‌ده ژن‌های دلتا و بتا در موقعیت سیس کاهش می‌یابد. در اشکال مختلف، هموگلوبین F در دامنه ۳ تا ۳۱ درصد قرار دارد، HbA2 به طور ثابتی پایین است و اندیس‌های گلبول قرمز نزدیک به مقدار طبیعی است. سنتز زنجیره بتا در کروموزوم درگیر کاهش پیدا می‌کند اما همچنان تولید می‌شود، و هتروزیگوت‌های مرکب این شکل از HPFH و HbS روی کروموزوم دیگر، حدودا ۳۰ درصد HbA دارند.

HPFH هتروسلولار (سوئیسی)

این نوع HPFH برای اولین بار در سربازهای سالم ارتش سوئیس شناسایی شد اما در جمعیت‌های دیگر نیز وجود دارد و کاملا شایع است. هموگلوبین F در دامنه ۵-۲

درصد قرار دارد و توزیع آن ناهمگن است یعنی سلول‌های F و اریتروسیت‌های بدون F وجود دارند. HPFH هتروسلولار توسط تغییرات پلی مورفیک در لکوس‌های تنظیم کننده HbF ایجاد می‌شود. در افراد طبیعی یا در ناقلین بتاتالاسمی یا HbS، تنها یک افزایش خیلی کم در HbF وجود دارد. اگر این بیماری همزمان با HbSS یا بتاتالاسمی هموزیگوت به ارث برسد، باعث افزایش غیرمعمول HbF یا بیماری خفیف تر می‌شود.

آلفاتالاسمی

سندرم های تالاسمی آلفا

آلفا تالاسمی اغلب در جوامع آسیایی یافت شده و معمولا به دلیل حذف ژن‌های گلوبین آلفا ایجاد می‌شود. از آنجایی‌که در حالت طبیعی ۴ ژن مسئول ساخت زنجیره‌های گلوبینی آلفا هستند، شدت بیماری بستگی به تعداد ژن‌های حذف یا غیرفعال شده دارد. دو ژن گلوبین آلفا روی هر کروموزوم ۱۶ قرار دارد که در تالاسمی α^0، هر دو ژن غیرفعال هستند (--/) اما در تالاسمی α^+، تنها یک ژن معیوب است که ناشی از حذف (-α/) یا به میزان کمتر، جهش ($\alpha^T\alpha$/) می‌باشد. اشکال غیرحذفی معمولا منجر به برون ده کمتری از ژن آلفا پیوسته و فنوتیپ‌های شدیدتری می‌شوند. برخلاف زنجیره‌های آلفا که در تالاسمی بتا به شدت ناپایدار بودند، در این جا زنجیره‌های بتا و گامای اضافی می‌توانند تترامرهای پایدار هموگلوبین H (β4) و هموگلوبین Bart's (γ4) را تشکیل بدهند. این هموگلوبین‌ها در گلبول‌های قرمز پیر رسوب می‌کنند و از طریق برهمکنش با غشای سلولی باعث همولیز می‌شوند. این اختلال، عمدتا یک کم خونی همولیتیک است.

چهار سندروم تالاسمی آلفا از ترکیب این ژنوتیپ ها ایجاد می شود که در ادامه توضیح داده خواهد شد.

هیدروپس جنینی همراه با هموگلوبین Bart's (--/--)

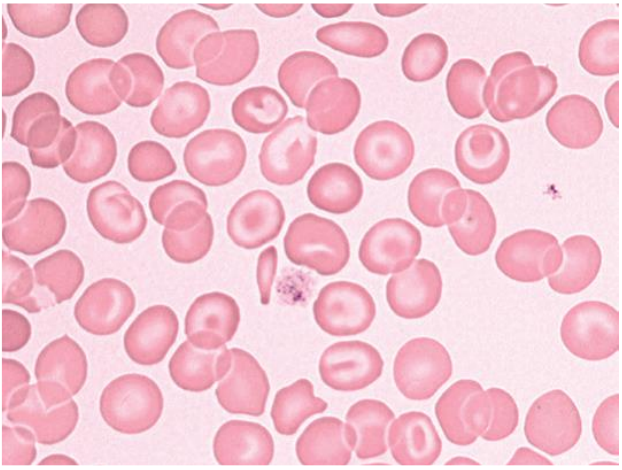
این اختلال، علت اصلی مرگ جنینی در مدیترانه شرقی و آسیای جنوب شرقی است و در جنوب چین نیز دیده می‌شود. زنجیره آلفا تولید نمی‌شود، بنابراین هموگلوبین جنینی و بزرگسالی وجود ندارد. این حالت با حیات ناسازگار است و معمولا بین هفته‌های ۲۸ و ۴۰ سقط می‌شوند، یا این‌که شیرخواران با ادم شدید، کم خونی قابل توجه و هپاتواسپلنومگالی چشمگیر، مرده به دنیا می‌آیند و یا اگر نوزاد، زنده متولد شود حدود یک ساعت پس از تولد از دنیا می‌رود شکل . آنمی شدید ناشی از فقدان هموگلوبین طبیعی می‌باشد و اریتروپوئز آن‌ها غیرموثر است. خون آن‌ها، آنیزوسیتوز، پوئی کیلوسیتوز، میکروسیتوز و اریتروبلاسیتوز قابل توجهی را نشان می‌دهد. هموگلوبین در رنج g/dL ۶-۸ است. حدود ۸۰ درصد هموگلوبین Bart's (γ4)، مقادیر متنوعی هموگلوبین پورتلند (حدود ۲۰ درصد) و مقادیر ناچیزی HbH (β4) وجود دارد که همه این هموگلوبین‌ها در الکتروفورز قلیایی سریع‌تر از هموگلوبین A حرکت می‌کنند. هموگلوبین Bart's و HbH تمایل بسیار بالایی به اکسیژن دارند و اکسیژن را به بافت‌ها تحویل نمی‌دهند و همین امر موجب هیپوکسی داخل رحمی شدیدی می‌شود.

شکل ۸-۷: تالاسمی آلفا: هیدرپس فتالیس، نتیجه حذف ۴ ژن آلفا

بیماری هموگلوبین H (-α/--)

این اختلال در جنوب شرقی آسیا بسیار شایع است، اما در خاورمیانه و نواحی میدیترانه‌ای نیز دیده می‌شود. این بیماری در افراد سیاهپوست بسیار نادر است. در این بیماری سه تا از ۴ ژن آلفا وجود ندارد. درجه آنمی و اسپلنومگالی متغیر است. گاهی اوقات بزرگی کبد نیز دیده می‌شود. عفونت با پاروویروس B19 ممکن است باعث رتیکولوسیتوپنی موقت همراه با آنمی شدید شود و فرد به تزریق خون احتیاج پیدا کند. به علاوه، داروهای اکسیدان، ممکن است میزان رسوب HbH را افزایش دهند و آنمی شدت پیدا کند. مقدار هموگلوبین ۳g/dL کمتر از افراد کنترل هم جنس و هم سن است. تزریق خون به ندرت نیاز است. کم خونی در طی حاملگی شدیدتر می‌شود، اما هموگلوبین به ندرت کمتر از ۷ g/dL افت می‌کند. MCV (۶۰-۷۰ fL) و MCH (۱۷-۲۱ pg) کاهش می‌یابند و شمارش RBC افزایش می‌یابد (۶ تا ۶/۲ میلیون بر میکرولیتر). رتیکولوسیتوز متوسط در محدوده ۴ تا ۵ درصد وجود دارد. لام خون محیطی هیپوکرومی، منقوط شدن بازوفیلیک و آنیزوپوئی کیلوسیتوز را همراه با سلول های هدف نشان می‌دهد. آنالیز هموگلوبین ۵ تا ۴۰٪ هموگلوبین H همراه با هموگلوبین A و سطح نرمال یا کاهش یافته ای از HbA2 را نشان می‌دهد. هموگلوبین Bart's در زمان تولد ۲ تا ۴۰ درصد است و بعد از تولد به تدریج به میانگین ۴/۸٪ افت می‌کند، اما در بزرگسالان سطح آن کاملا متغیر است. همانند سایر سندروم های تالاسمی، سطح هموگلوبین Bart's در زمان تولد، بیشتر از میزان HbH در دوران بزرگسالی است. HbH هموگلوبین ناپایداری است، به همین دلیل در این بیماری منجر به آسیب اکسیداتیو غشا و همولیز خارج عروقی در طحال و اریتروپوئز غیرموثر می‌شود. پس از انکوبه شدن گلبول‌های قرمز با رنگ اکسیدکننده‌ای مثل آبی کریزل درخشان، درون آن‌ها اجسام انکلوزیونی به دلیل رسوب HbH تشکیل می‌شود. انکلوزیون‌های HbH را باید از موارد زیر افتراق داد: ۱- گرانول ها و رتیکولر در رتیکولوسیت ها که رنگ آبی تیره‌تری دارند. ۲- اجسام

هاینز که بزرگ‌تر هستند و رنگ آبی تیره‌تری را از خود نشان می‌دهند. این اجسام معمولا به غشا چسبیده اند. اجسام هاینز بزرگ تر و منفرد ممکن است بعد از طحال‌برداری در بیماری HbH دیده شوند.



شکل ۸-۸: بیماری هموگلوبین H

آنمی خفیف و سلول های هدف در لام خون محیطی دیده می شود

خصیصه تالاسمی-α هتروزیگوت (−−/αα) یا تالاسمی α^{+} هموزیگوت (−α/−α)

فقدان دو ژن آلفا باعث آنمی هیپوکروم بسیار خفیف می‌شود که اندیس‌های گلبول قرمز مشابه با خصیصه تالاسمی بتا است؛ MCH کمتر از ۲۵ پیکوگرم، MCV در محدوده ۶۵ تا ۷۵ فمتولیتر و HbA2 طبیعی است. بهترین راه تشخیص، وجود ۵ تا ۱۰ درصد هموگلوبین Bart's در خون بندناف است؛ در حالت طبیعی، میزان هموگلوبین Bart's در خون بندناف کمتر از ۰/۵ درصد است. در تالاسمی α^{0} ، انکلوزیون‌های HbH یافت می‌شود اما در تالاسمی α^{+} هتروزیگوت یا هموزیگوت، در صورتی‌که نمونه به دقت بررسی شود و غنی از گلبول‌های قرمز حاوی HbH باشد، به ندرت انکلوزیون‌های HbH تنها در درصد بسیار کمی از از سلول ها کشف می‌شوند.

به جز آنالیز DNA، هیچ تست تشخیصی که به وسیله آن بتوان به طور قطعی این شرایط را تشخیص داد وجود ندارد. ناقلین تالاسمی α^+ حذفی، یافته‌های خون شناختی تقریبا طبیعی دارند. وضعیت‌های هتروزیگوت برای اشکال غیرحذفی تالاسمی α^+، با آنمی هیپوکروم بسیار خفیف مرتبط هستند؛ نوع مرتبط با هموگلوبین Constant spring با حضور مقادیر کمی از این واریان در الکتروفورز قلیایی مشخص می‌شود. در مقایسه با تالاسمی بتا، HbF طبیعی و HbA2 طبیعی یا کاهش یافته است.

ناقل خاموش تالاسمی آلفا (تالاسمی α^+ هتروزیگوت) ($\alpha\alpha/-\alpha$)

در این حالت فقدان یک زنجیره ی آلفا دیده می‌شود. هر چند MCV و MCH ممکن است کمی کاهش داشته باشد اما عموما CBC این افراد نرمال است. اگر از خون بند ناف این نوزادان الکتروفورز انجام شود ۱ الی ۲ درصد هموگلوبین بارت دیده می‌شود که پس از ۶ ماهگی نرمال می‌شود. امکان تشخیص این دسته مشکل است. در بسیاری از مواقع اندیس‌های گلبول قرمز کاملا طبیعی هستند، به استثناء این که MCV ممکن است اندکی کاهش داشته باشد (مقدار متوسط آن ۸۱/۵ فمتولیتر) و MCH نیز ممکن است به صورت جزئی کاهش یابد. می توان این وضعیت را با افزایش هموگلوبین Bart's (۱ تا ۲٪) در خون بندناف شناسایی کرد. هموگلوبین Bart's تا سن ۶ ماهگی ناپدید می‌شود و تشخیص تنها با استفاده از مطالعات مولکولی یا ارزیابی‌های سنتز زنجیره گلوبین، امکان‌پذیر می‌شود.

هموگلوبین constant spring ($\alpha^{cs}\alpha/$)

این هموگلوبین در اثر یک کدون خاتمه غیرعادی در ژن آلفا ایجاد شده که باعث تولید یک زنجیره آلفا طویل (با ۳۱ اسیدآمینه اضافه) می‌شود. در آسیای جنوب شرقی (جایی که این هموگلوبین در ۵۰ درصد از موارد بیماری HbH دیده می‌شود) شایع است. این حالت، تاکنون شایع ترین واریان زنجیره آلفا طویل شده است. به

دلیل این که پایداری mRNA کاهش چشمگیری دارد، فنوتیپ بالینی تالاسمی آلفا دیده می‌شود. وضعیت هموزیگوت به صورت یک کم خونی همولیتیک خفیف و بدون نشانه، همراه با سطح هموگلوبین ۹ تا ۱۱ گرم بر دسی لیتر است. MCV طبیعی است و شمارش RBC پایین می‌باشد. حدود ۵تا۸ درصد هموگلوبین Constant spring وجود دارد. هموگلوبین A2 طبیعی، هموگلوبین Bart's بسیار کم است و بقیه هموگلوبین فرد را هموگلوبین A تشکیل می‌دهد. افراد هتروزیگوت فنوتیپ ناقل خاموش دارند، هیچ نوع ناهنجاری خون‌شناختی در آن‌ها مشاهده نمی‌شود و حدودا ۱ درصد هموگلوبین constant spring دارند.

تالاسمی آلفا همراه با سندروم های عقب ماندگی ذهنی

دو شکل از تالاسمی آلفا با عقب ماندگی ذهنی همراه هستند؛ یکی از آنها ATR-16 است که روی کروموزم ۱۶ کد می‌شود و دیگری، ATR-X که روی کروموزوم X قرار دارد. ATR-16 ناشی از بازآرایی‌های کروموزومی و حذف‌های بزرگ ۱ تا ۲ مگابازی از ناحیه زیرتلومر در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۶ است. کودکان مبتلا به این بیماری عموما یک درجه نسبتا خفیفی از اختلال شناختی را نشان می‌دهند و ویژگی های بدشکلی ندارند. از سوی دیگر، ATR-X که به دلیل نحوه وراثتش پسران را تحت تاثیر قرار می‌دهد، همراه با ویژگی‌های بدشکلی گسترده و مشکلات یادگیری شدید است. این بیماری ناشی از جهش‌های مختلف در ژن ATRX است. پروتئین ATRX ویژگی‌های مشترکی با هلیکازهای DNA (فاکتورهای رونویسی که در مدلینگ کروماتین و تنظیم ژن درگیر می شوند) دارد. همچنین، ظاهرا ATRX در رونویسی از ژن‌های گلوبین آلفا و بسیاری از ژن‌ها در طی تکامل اولیه نقش مهمی دارند. به علاوه، گزارش شده است که ژن ATRX در تعداد قابل ملاحظه ای از سندروم‌های عقب ماندگی ذهنی وابسته به X بدون فنوتیپ تالاسمی آلفا درگیر می‌شود.

تالاسمی آلفا مرتبط با میلودیسپلازی

لام خون محیطی چنین بیمارانی ویژگی‌های دوشکلی همراه با جمعیتی از گلبول های قرمز حاوی اجسام انکلوزیون HbH و سطح متغیری از HbH را در خون محیطی نشان می‌دهد. جهش‌های اکتسابی در ژن ATRX در سلول های خونی بیماران مبتلا به این سندروم شناسایی شده است. هنوز باید ارتباط جهش های ATRX با فنوتیپ نئوپلاستیک تعیین شود.

درمان آلفا تالاسمی

- دریافت دوزهای روزانه فولیک اسید
- تزریق خون در صورت نیاز
- اسپلنکتومی
- داروهای شلاته کننده آهن
- اجتناب از مصرف داروهای اکسیدانت در بیماران مبتلا به HbH

هموگلوبینوپاتی ها

اختلالات سلول داسی شونده

HbS از نظر فیزیولوژیک شبیه به HbA است با این تفاوت که در شرایط کمبود اکسیژن پلیمریزه می‌شود. این هموگلوبین در اثر جهش در موقعیت ششم زنجیره بتا و تبدیل گلوتامیک اسید به والین به وجود می‌آید. HbS در هنگامیکه اکسیژنه است بصورت محلول می‌باشد اما هنگام کمبود اکسیژن به صورت برگشت پذیر پلیمریزه می‌شود. پلیمریزاسیون طی چند ثانیه تا چند دقیقه بعد از کمبود اکسیژن رخ می‌دهد. در آغاز، داسی شدن سلول‌ها برگشت پذیر است اما بعد از تعداد نامشخصی از فرایندهای داسی شدن، سلولها به صورت برگشت ناپذیر داسی می‌شوند که تحت عنوان irreversibly sickled cells (ISCs) شناخته می‌شوند. اریتروسیتهای داسی با سلول‌های اندوتلیال و دیگر سلول‌های خونی واکنش می‌دهند و جلوی جریان خون

را در عروق کوچک و گاهی بزرگ می‌گیرند و باعث عوارض زیادی ناشی از انسداد عروق می‌گردند. هم‌چنین سلول‌های داسی کمتر از ۲۰ روز عمر می‌کنند و بصورت داخل و خارج عروقی همولیز می‌شوند. در همولیز داخل عروقی هاپتوگلوبین و هموپکسین کاهش می‌یابند در حالیکه هم، آرژیناز و الگوهای مولکولی مرتبط با خطر (DAMP) به درون خون آزاد می‌شوند. این اتفاق نیتریک اکساید را پاکسازی می‌کند، پلاکت‌ها و اندوتلیوم را فعال می‌کند، فعالیت آنتی اکسیدانی را کاهش می‌دهد، منجر به انقباض عروقی و وضعیت پیش التهابی می‌گردد.

اختلالات داسی شونده متعددی در نتیجه توارث HbS از یکی از والدین و توارث هموگلوبینوپاتی‌های دیگری از جمله بتاتالاسمی یا HbC از والد دیگر رخ می‌دهند. این اختلالات در جدول زیر نشان داده شده اند.

جدول ۸-۴: بررسی سطح Hb، MCV و الگوی الکتروفورز در انواع تالاسمی و هموگلوبینوپاتی ها

وضعیت	ناهنجاری های بالینی	میزان هموگلوبین (g/dl)	MCV (fl)	الکتروفورز هموگلوبین (٪)
خصیصه سلول داسی	هماچوری، نکروز پاپیلاری، هیپوستنوری (ادرار تغلیظ نشده)، بروز بالای بیماری کلیوی مزمن، افزایش ۲تا۴ برابری خطر ترومبوامبولی ریوی	طبیعی	طبیعی	HbS: 30-40 HbA: 60-70 درصد HbS بسته به حضور یا غیاب آلفاتالاسمی است.
آنمی سلول داسی	علائم مرتبط با گرفتگی عروق: درد، سندروم حاد قفسه سینه، استئونکروز، انفارکتوس طحالی علائم مرتبط با همولیز: سکته، واسکولوپاتی سیستمیک و ریوی، نفروپاتی، پریاپیسم، سنگ صفراوی، زخم های مچ پا	۷-(۷-۱۰)۷۰-۱۰۰	۸۰-۱۰۰	HbS:>75 HbF: 2-25 HbA2: 3-4
تالاسمی S/β^0	عوارض مشابه با HbSS	۷-(۷-۱۰)۷۰-۱۰۰	۶۰-۸۰	HbS:>75 HbF: 2-15 HbA2: 5-6
تالاسمی S/β^+	میزان عوارض نصف عوارض HbSS (بستگی به درصد HbAدارد)	۱۰-(۱۴-۱۰)۱۰۰-۱۴۰	۷۰-۸۰	HbS: 60-90 HbA: 5-40 HbF: 1-10 HbA2: 5-6
هموگلوبین SC	بیماری از حالت بدون علامت تا شدید، تقریبا نیمی از عوارض HbSS را دارد. خطر زیاد رتینوپاتی	۱۰-(۱۴-۱۰)۱۰۰-۱۴۰	۷۰-۱۰۰	HbS:50 HbC: 50
هموگلوبین SE	از نظر بالینی مشابه تالاسمی S/β^+ است	۹-(۱۳-۹)۹۰-۱۳۰	۶۵-۷۵	HbS:65 HbE:35 HbF:1-5
HbSS-α thalassemia	تقریبا در ۳۰ درصد افراد مبتلا به HbSS رخ میدهد. علائم مشابه با HbSS اما با سکته ها و زخم های مچ پا و بیماری کلیوی و ریوی کمتر	۸-(۱۰-۸)۸۰-۱۰۰	۶۰-۸۵	HbS:>75 HbF: 2-15 HbA2: 4-5
HbS-HPFH	بدون علامت	۱۱-(۱۴-۱۱)۱۱۰-۱۴۰	۷۰-۸۰	HbS:70 HbF:20-30 HbA2:1-2

خصیصه سلول داسی

وضعیت هتروزیگوت HbS، شایعترین هموگلوبینوپاتی در ایالات متحده است. خصیصه HbS یک حالت کاملا خوش‌خیم و بدون علائم بالینی یا ناهنجاری‌های خون شناختی است. هماچوری معمول‌ترین عارضه در این بیماران است که ظاهرا ناشی از سکته‌های کوچک و خفیفی است که در مویرگ‌های پاپی‌های کلیه رخ می‌دهد. ایزوستنوری (نقص در توانایی تغلیظ ادرار) نیز در این افراد دیده می‌شود. فشارهای شدیدا پایین اکسیژن می‌تواند باعث داسی شدن سلول‌ها شود. همچنین ممکن است انفارکتوس طحال در ارتفاعات بسیاربالا رخ دهد. شمارش سلول‌های خونی طبیعی است. لام خون محیطی بجز چند سلول هدف، طبیعی به نظر می‌رسد. آزمایش داسی شدن گلبول‌ها مثبت است و تقریبا تمام گلبول‌های قرمز به طور یکنواخت داسی می‌شوند. مراقبت‌های ویژه در زمان بیهوشی، حاملگی و صعود به ارتفاعات باید صورت گیرد. همچنین جلوگیری از دهیدراسیون یا استرس فیزیکی شدید توصیه می‌شود.

درصورتی‌که آلفاتاسمی نیز به طور همزمان وجود داشته باشد، میزان HbS کاهش می‌یابد. اگر یک ژن آلفا حذف شده باشد HbS کمتر از ۳۵ درصد می‌باشد و اگر هر دو ژن حذف شده باشند، میزان این هموگلوبین کمتر از ۲۹ درصد خواهد بود که در این حالت گلبول‌ها میکروسیتیک هیپوکروم هستند. از نظر بالینی ترکیب خصیصه سلول داسی و خصیصه آلفا تالاسمی خوش‌خیم بوده و احتمالا با کم‌خونی میکروسیتیک خفیف همراه است.

آنمی سلول داسی

تظاهرات بالینی

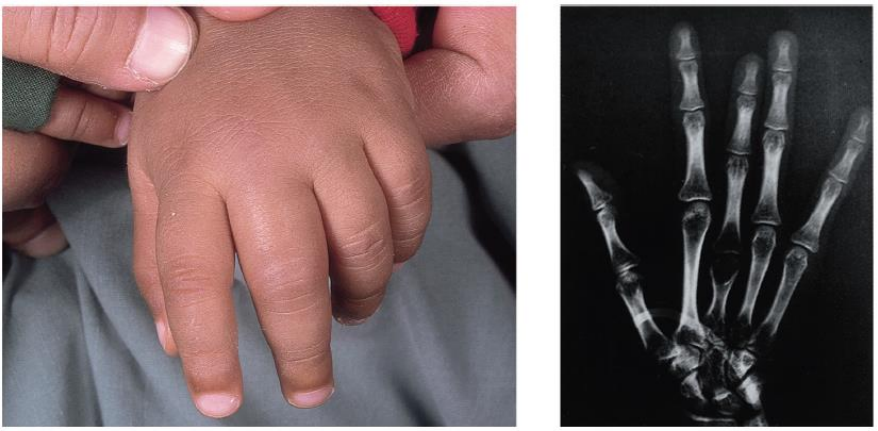
بیماری HbS هموزیگوت، یک کم خونی همولیتیک مزمن جدی می‌باشد که ابتدا در اوایل دوران کودکی تظاهر می‌کند و اغلب قبل از ۳۰ سالگی کشنده است. علامت اصلی آن درد است که ممکن است یک سندروم دست-پا شبه آرتریت در کودکان

جوان باشد یا دوره حاد معمول دردناک در کودکان با سن بالاتر و بزرگسالان باشد. در بیماری HbSC و تالاسمی $HbS-\beta^{+}$، دوره‌های حاد انسداد عروق کمتر رخ می‌دهد و عوارض بعدا در زندگی ایجاد می‌شود.

عوارض

عوارض بیماری سلول داسی به دو دسته اصلی تقسیم بندی می‌شود. دسته اول پیامدهای انسداد عروقی است و دسته دوم به دلیل همولیز درون عروقی ایجاد می‌شود.

سندروم دست – پا یا التهاب انگشتان سلول داسی در اوایل دوران کودکی رخ می‌دهد که در آن تورم دردناک و دوطرفه پشت دست و پاها به خاطر داسی شدن گویچه ها و انسداد مویرگی اتفاق می‌افتد. غالبا اولین تظاهر بیماری بوده، ممکن است منجر به تغییر در طول و اندازه انگشتان شود. (شکل ۸-۹).



شکل ۸-۹: سندرم دست و پا کودک مبتلا به آنمی داسی شکل

a) انگشتان متورم دردناک و شکل b) دست یک پسر ۱۸ ساله با سندروم دست-پا

بحران احتباس طحال به دلیل انباشته شدن ناگهانی خون و بزرگ شدن سریع طحال ایجاد می‌شود که منجر به شوک کم حجمی خون می‌شود. این بحران که در کودکی بروز نادری دارد، ممکن است نیازمند ترنسفوزیون اورژانس یا اسپلنکتومی برای جلوگیری از به دام افتادن کل برون ده شریانی در طحال دچار انسداد باشد. **بی عملکردی طحالی**، شامل پاسخ ناکافی به آنتی بادی تحت بعضی شرایط و اختلال در توانایی سیستم رتیکولواندوتلیال در پاکسازی باکتری‌ها و مواد ذره‌ای از خون است که احتمالا ناشی از بلوکه شدن سیستم رتیکولواندوتلیال می‌باشد و به همین دلیل خطر ابتلا به عفونت در این کودکان افزایش یافته‌است. رخدادهای انسداد رگی باعث انفارکتوس پیشرونده، فیبروز و چروکیدگی طحال یا اصطلاحا **اتواسپلنکتومی** می‌شوند (اسپلنومگالی در دوران کودکی وجود دارد اما در بزرگسالان اتواسپلنکتومی رخ می‌دهد).

بحران‌های انسداد عروقی حملات ناتوان کننده‌ای از درد شکمی، استخوانی و مفصلی همراه با تب می‌باشند که احتمالا به دلیل گیرکردن توده‌هایی از سلول‌های داسی در رگ‌های خونی کوچک رخ می‌دهد. نکروز استخوان در ۱۰ تا ۵۰ درصد بیماران اتفاق می‌افتد. سندروم حاد سینه نشان دهنده حملات درد حاد سینه است که اغلب با ارتشاحی جدید در عکس قفسه سینه مرتبط است. تقریبا ۵۰ درصد از بیماران حداقل یک حمله از سندروم حاد را تجربه می‌کنند. ظاهرا آمبولی چربی نقش اصلی را در این سندروم دارد. **بحران‌های آپلاستیک** نیز گاهی در بیمار مبتلا به کم خونی همولیتیک دیده می‌شوند. این بحران‌ها در اثر عفونت با parvovirus یا کمبود فولات ایجاد می‌شود و با کاهش ناگهانی هموگلوبین و تعداد مطلق رتیکولوسیت‌ها همراه بوده و معمولا نیاز به تزریق خون دارد. سکته مغزی عارضه شایعی در کودکان است و در زیرمجموعه خاصی از آنان دوره‌های مکرری از سکته رخ می‌دهد؛ سکته مغزی در بالغین شیوع کمتری دارد و اغلب هموراژیک است. اولتراسونوگرافی داپلر جمجمه قادر است تا جریان خون غیرطبیعی را که دلالت بر انسداد شریانی دارد،

تشخیص دهد. با این وسیله به‌خصوص می‌توان کودکان در معرض خطر را شناسایی نموده و با تزریق منظم خون از بروز سکته در آن‌ها تا حد زیادی پیش‌گیری نمود.

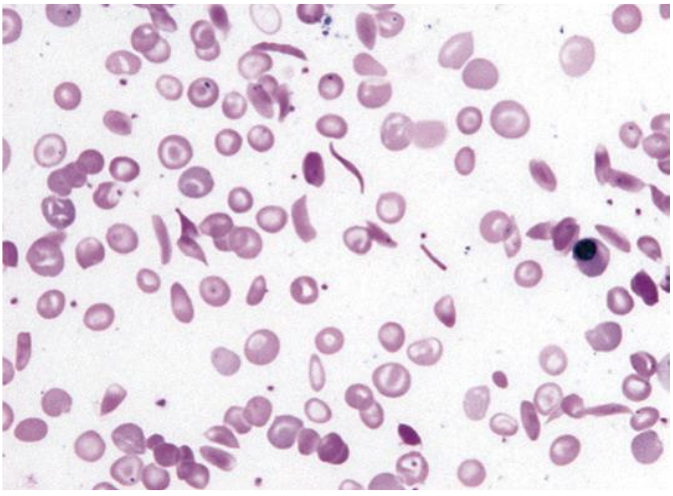
زخم‌های عمیق در قسمت‌های تحتانی پاها به دلیل گرفتگی عروق و کاهش خونرسانی موضعی شایع است (شکل ۸-۱۰)

شکل ۸-۱۰: زخم و نکروز در پای پسر ۱۵ ساله مبتلا به آنمی داسی‌شکل

تشخیص

کم خونی نرموسیتیک و نورموکروم است. پلی کرومازی، گلبولهای قرمز هسته دار و سلول‌های داسی در لام خون محیطی دیده می‌شوند(شکل). سلول‌های هدف، اجسام هاول ژولی و پاپن هایمر (به دلیل فقدان طحال در کودکان بزرگتر و بزرگسالان) همیشه یافت می‌شوند. نوتروفیلی و ترومبوسیتوز معمول هستند. مغزاستخوان نمای هیپرپلازی نرموبلاستیک دارد. درصورت عدم تزریق خون، HbS بیش از ۸۰ درصد، HbF یک تا ۲۰ درصد و HbA2 ۲ تا ۴/۵ درصد می‌باشد. بنابراین برای تشخیص باید درصد هموگلوبین‌های مختلف را با روش‌هایی که قبلا ذکر شده است بررسی

کرد. همچنین از آزمون‌های داسی شدن برای تائید تشخیص استفاده می‌شود. براساس ویژگی‌های آزمایشگاهی گفته شده و دوره‌های متناوب درد ایسکمیک، پزشک به این بیماری شک می‌کند.



شکل ۸-۱۱: لام خون محیطی، آنمی سلول داسی

گلبول های قرمز از یکدیگر فاصله دارند و این نشان دهنده آنمی شدید است. سلول های داسی نوک تیز متعدد و سلول های هدف حضور دارند. نزدیک به سلول های هسته دار، سلول های ایپتیکال دیده می شود. این سلول ها، یک مرکز متراکم دارند (به جای ناحیه کمرنگ مرکزی) که پیشنهاد می کند که آنها سلول های داسی درحال شکل گیری هستند.

درمان

- هیدروکسی اوره: استاندارد مراقبت برای همه بیماران مبتلا به آنمی سیکل سل و HbS-β0 thalassemia است. این دارو برای همه سنین صرف نظر از علائم آن‌ها پیشنهاد می‌شود و استفاده از آن باید در سال اول زندگی شروع شود. مکانیسم اصلی فعالیت هیدروکسی اوره القای سطوح بالای HbF است. این دارو به طور غیریکنواخت HbF را در جمعیت گلبول قرمز افزایش می‌دهد. هیدروکسی اوره درد و سندروم سینه حاد را کاهش داده وغلظت هموگلوبین را تا تقریبا یک درصد افزایش می‌دهد.

- Voxelotor: تمایل مولکول هموگلوبین به اکسیژن را افزایش می‌دهد. مصرف ۱۵۰۰ میلی گرم Voxelotor بصورت روزانه باعث افزایش غلظت هموگلوبین به میزان 1g/dL در ۵۹ درصد از بیماران می‌شود. در مورد مصرف طولانی مدت این دارو سوالات زیادی مطرح است و نیاز به بررسی و تحقیق بیشتر دارد.
- Crizanlizumab: اثرات پایین دست پلیمریزاسیون HbS شامل تعامل‌های چسبنده بین سلول‌های اندوتلیال، لکوسیت‌ها، پلاکت‌ها و اریتروسیت‌ها می باشد. P-selectin مولکولی است که در این تعامل‌ها درگیر می‌شود؛ بنابراین بلاک کردن سلکتین‌ها از اتصال سلول داسی به اندوتلیال جلوگیری می‌کند. تجویز درون رگی آنتی بادی مونوکلونال بلاک کننده P-selectin بصورت ماهانه باعث کاهش اپیزودهای دردناک حاد تا ۴۵ درصد می‌شود (کاهشی مشابه با آنچه که پس از مصرف هیدروکسی اوره دیده می‌شود). این دارو هیچ تاثیری روی همولیز ندارد.
- L-Glutamine: مکانیسم عمل این ترکیب هنوز مشخص نشده است اما فرض شده است که استرس اکسیداتیو را در اریتروسیت داسی کاهش می‌دهد. در فاز ۳ کارآزمایی بالینی، این ترکیب در مقایسه با دارونما باعث کاهش ۲۵ درصدی در اپیزودهای دردناک و کاهش ۳۵ درصدی در بستری شدن در بیمارستان شده است.
- تزریق خون: اندیکاسیون‌های اصلی تزریق خون شامل آنمی علامت دار شدید، درمان و پیشگیری از سکته، افزایش سطح هموگلوبین به g/dL۱۰ قبل از عمل جراحی که نیاز به بیهوشی جنرال دارد و سندروم حاد قفسه سینه همراه با هیپوکسی یا درگیری چند لوب می‌باشد. باید از تزریق خون در دوره‌های درد حاد و نیز در آنمی مزمن پایدار پرهیز شود.
- پیوند سلول بنیادی: این راهکار برای بیمارانی که دهنده‌های مناسبی داشته باشند مناسب است. متاسفانه تنها ۱۵ درصد از بیماران، دهنده با سازگاری کامل

دارند. پیوند می‌تواند درمان و بهبودی قابل توجهی را در بیماران ایجاد کند، اما استفاده از آن تنها در کودکان موثر و ایمن شناخته شده است. عوامل پیش آگهی‌کننده پیوند مغزاستخوان شامل وجود بحران‌های مکرر و متعدد در اوایل زندگی، تعداد بالای نوتروفیل‌ها یا ایجاد سندروم دست-پا هستند.

- واکسیناسیون علیه پنوموکوک، هموفیلوس و منینگوکوک به همراه مصرف منظم پنی سیلین خوراکی در کاهش احتمال ابتلا به این عفونت ها بسیار موثر هستند.
- درمان حملات شامل استراحت، گرم نگه داشتن بیمار، جایگزین کردن آب توسط مایعات خوراکی یا تزریق داخل وریدی نرمال سالین و درمان عفونت احتمالی با استفاده از آنتی بیوتیک می‌باشد.
- بیماران نیاز به توجهات ویژه‌ای در دوران حاملگی و هنگام بیهوشی دارند. در مورد این‌که آیا در طی دوران بارداری، هنگام زایمان و جراحی‌های کوچک بیماران نیازمند انتقال خون جهت کاهش مقادیر HbS هستند یا خیر اتفاق نظری وجود ندارد. تزریق منظم خون در طی دوران بارداری برای افرادی استفاده می‌شود که دارای سابقه وضع حمل خطرناک یا حملات مکرر هستند.

اقدامات پیشگیرانه و غربالگری

غربالگری خون بندناف برای بیماری سلول داسی در بسیاری از کشورها انجام می‌شود. سپس بیماران برای آغاز مراقبت‌های پیشگیرانه اولیه به کلینیک‌ها ارجاع داده می‌شوند. در دوران کودکی، سونوگرافی داپلر ترانس کرانیال در سن دو سالگی آغاز می‌شود و به صورت سالانه تا ۱۶ سالگی تکرار می‌شود تا از سکته مغزی پیشگیری شود. پنی سیلین پروفیلاکتیک (۱۲۵ میلی گرم در بچه های کمتر از ۳ سال؛ ۲۵۰ میلی گرم برای بچه های ۳ سال و بزرگتر) دوبار در روز تا ۵ سالگی برای جلوگیری از عفونت استفاده می‌شود. واکسیناسیون علیه پنوموکوک، هموفیلوس و منینگوکوک به همراه مصرف منظم پنی‌سیلین خوراکی در کاهش احتمال ابتلا به این عفونت ها

بسیار موثر هستند. اسیدفولیک (۱ میلی گرم روزانه) برای جلوگیری از اریتروپوئز مگالوبلاستیک تجویز می‌شود و برای افرادیکه رژیم غذایی مغذی دارند ضروری نیست.

درمان های جدید

ژن درمانی پتانسیل درمانی داشته و نیاز به دهنده سازگار یا سرکوب ایمنی ندارد. سلول های بنیادی هماتوپوئتیک +CD34 اتولوگ جمع آوری شده و به صورت ex vivo برای تولید گلوبین antisickling اصلاح می‌شوند. سپس بعد از شرایط myeloablative مجددا به بدن تزریق می‌شوند. کارآزمایی‌های بالینی فاز ۱/۲ از انتقال لنتی ویروسی سلول‌های +CD34 حاوی بتاگلوبین antisickling استفاده کرده‌اند یا با به کارگیری CRISPR/CaS، نوکلئازهای انگشت روی یا ShRNA در اثرات BCL11A (اثرات سرکوب کننده HbF دارد) تداخل ایجاد کرده‌اند. این رویکردها منجر به افزایش HbF یا هموگلوبین antisickling حدودا تا ۵۰ درصد، کاهش همولیز ، رساندن سطح هموگلوبین به بیش از ۱۱ g/dL و برطرف شدن رخدادهای حاد انسدادعروقی می‌شوند. بسیار زود است تا ایمنی طولانی مدت و میزان درمان این روش مشخص شود.

بیماری هموگلوبین SC

این بیماری باعث کم خونی همولیتیک خفیف می‌شود. تعداد بحران‌ها و دردناک بودن آن‌ها در این بیماری کمتر است. شروع بیماری معمولا در دوران کودکی است اما ممکن است تا سنین بالاتر زندگی هم کشف نشود. اسپلنومگالی ممکن است تنها یافته معاینه فیزیکی باشد. خستگی، تنگی نفس در حین فعالیت، عفونت‌های مکرر در دستگاه تنفس فوقانی، حملات یرقان خفیف و درد مفاصل در این بیماری دیده می‌شود. در حاملگی بحران‌ها فراوان ترند و میزان ترومبوز افزایش یافته و منجر به ترومبوامبولیسم وسیع و مرگ ناگهانی پس از زایمان می‌گردند. بروز رتینوپاتی در این بیماری بیشتر از آنمی داسی شکل است. کم خونی از متوسط تا بسیار خفیف متغیر

است و نرموکروم نرموسیتیک می‌باشد. تعداد سلول‌های هدف بسیار زیاد و تا ۸۵ درصد اریتروسیت ها را شامل می‌شود. گلبول‌های داسی و زاویه دار در گسترش خون محیطی دیده می‌شود. آزمون داسی شدن مثبت است و HbS ۵۰ درصد هموگلوبین تام و HbF کمتر از ۲ درصد می‌باشد. آزمایش انحلال پذیری نیز مثبت می‌باشد. ظاهر الکتروفورتیک HbSC، HbSE و HbSO Arab در pH ۸,۴ مشابه است اما تمایز می‌تواند براساس قومیت، تمرکز ایزوالکتریک و الکتروفورز روی ژل آگار در pH ۶,۱ باشد.

HbS/ بتاتالاسمی

این بیماری پس از HbSS و HbSC از نظر شیوع سومین اختلال داسی شونده در آمریکایی‌های آفریقایی تبار است و شایع‌ترین اختلال داسی شونده در مردمان مدیترانه‌ای می‌باشد. در افرادی از تبار ایتالیایی، ترکی یا یونانی منجر به یک اختلال داسی شونده شدید با تظاهراتی مشابه کم خونی داسی می‌شود اما معمولا در افراد سیاه پوست دوره‌های خفیف تری از بیماری دیده می‌شود.

در تالاسمی HbS/β^0 هموگلوبین A وجود ندارد و از نظر بالینی و خون شناختی مشابه بیماری سلول داسی است، بجز اینکه در این اختلال طحال در دوران بزرگسالی بزرگ باقی می‌ماند. در تالاسمی HbS/β^0، میزان MCV و MCH کاهش می‌یابد و HbA2 ممکن است افزایش چشمگیری داشته باشد. رتیکولوسیتوز (۱۰ تا ۲۰ درصد) نیز افزایش می‌یابد. برای افتراق این دو بیماری، بررسی خانوادگی ضرورت دارد. در گسترش خونی میکروسیتوز قابل توجه، هیپوکرومی متغیر و تعداد زیادی سلول هدف وجود دارد. به دلیل اینکه میزان هموگلوبین در این شرایط کمتر است، پلیمرهای HbS با سرعت آهسته تری تشکیل می‌شوند و تعداد کمتری سلول داسی در گسترش خون محیطی در مقایسه با HbSS دیده می‌شود. (HbS:>75، HbF: 2-15، HbA2: 5-6)

تالاسمی HbS/β^{+}: از نظر بالینی این افراد ممکن است شبیه بیماران مبتلا به خصیصه داسی شکل باشند اما در این اختلال، مقدار HbS همیشه بیشتر از HbA است درحالی‌که در خصیصه داسی میزان HbA همیشه بیشتر از HbS است. هموگلوبین A، ۱۵ تا ۳۰ درصد، هموگلوبین S بیش از ۵۰ درصد، HbF ۱ تا ۲۰ درصد و HbA2، ۴ تا۶ درصد است.

HbSS/ تالاسمی α

توارث همزمان آلفاتالاسمی و آنمی داسی شایع است. کم خونی شدت کمتری دارد و به صورت هیپوکروم و میکروسیتیک می‌باشد (MCV در هتروزیگوت ها ۸۳fL و در هموزیگوت ها ۷۲fL). در مقایسه با کم خونی داسی‌شکل، سطح هموگلوبین بالاتر و شمارش رتیکولوسیت به طور معنی داری پایین تر است. سطح هموگلوبین A2 افزایش می‌یابد. در گسترش خون محیطی، سلول‌های داسی ناشایع هستند (مشابه تالاسمی HbS/β^{0}). از نظر خون‌شناختی، این اختلال را نمی‌توان از تالاسمی HbS/β^{0} افتراق داد. هر زمان که در کم خونی سلول داسی میکروسیتوز و افزایش HbA2 وجود داشته باشد، بررسی‌های مولکولی یا خانوادگی برای تمایز این دو بیماری باید صورت گیرد.

بیماری هموگلوبین SD (HbS/D-Los angeles)

این بیماری شبیه کم خونی داسی است اما شدت کمتری دارد، بنابراین ممکن است شبیه به بیماری SC باشد. با الکتروفورز قلیایی نمی‌توان کم خونی داسی را از این بیماری افتراق داد زیرا HbS و HbD را نمی‌توان از یکدیگر جدا کرد، بنابراین از الکتروفورز اسیدی برای تمایز استفاده می‌شود. سلول‌های هدف و سلول‌هایی که به طور غیرقابل بازگشتی داسی شده‌اند در لام خون محیطی دیده می‌شوند.

HbS/ O Arab

Hb O Arab ناشی از جایگزینی لیزین (بجای گلوتامیک اسید) در موقعیت ۱۲۱ زنجیره بتا است که در مردم سیاه پوست و عرب یافت می شود. افراد هتروزیگوت مرکب HbS و Hb O Arab یک اختلال داسی شونده شدید دارند. هموگلوبین O Arab در الکتروفورز قلیایی در جایگاه یکسانی با HbC قرار می گیرد. این بیماری شدیدتر از HbSC است و اریتروسیت های داسی متعددی در لام خون محیطی دیده می شوند.

Sickle cell/HPFH

تقریبا یک نفر از هر ۱۰۰ بیمار مبتلا به کم خونی داسی سطح افزایش یافته‌ای از HbF را به دلیل جهش‌های حذفی و غیرحذفی که بیان ژن گلوبین گاما را بعد از تولد حفظ می‌کند دارد. چنین افرادی ۲۰ تا ۳۰ درصد هموگلوبین F و کمتر از ۲,۵ درصد هموگلوبین A2 دارند. سطح هموگلوبین در این افراد نرمال است، میکروسیتوز و سلول‌های هدف در گسترش خون محیطی دیده می‌شود. این بیماری خوش خیم است و عوارض انسداد عروقی به دلیل مهار داسی‌شدن گلبول‌ها (به دلیل افزایش HbF) نادر است.

بیماری Sickle cell/Hb Lepore

توارث همزمان هموگلوبین لپور با جهش سلول داسی، تصویر بالینی مشابه آنچه که در HbS/β -thalassaemia دیده می‌شود را ایجاد می‌کند با این تفاوت که در این بیماری سطح هموگلوبین A2 پایین است.

بیماری Sickle cell/HbE

بیماری SE باعث همولیز خفیف می‌شود و هیچ ناهنجاری قابل ملاحظه ای در مورفولوژی گلبول قرمز ایجاد نمی‌کند. HbE تنها ۳۰ درصد از کل هموگلوبین را تشکیل می‌دهد. عموما بیماران بدون علامت هستند، اگرچه گاهی اوقات عوارض انسداد عروقی چشمگیر و آنمی دیده شده‌است.

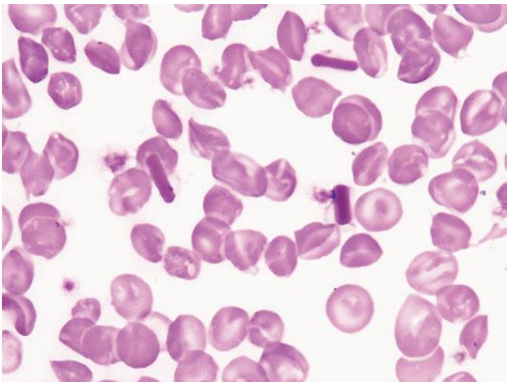
سایر واریان‌های شایع زنجیره بتا

خصیصه HbC

هموگلوبین C به دلیل جایگزینی لیزین بجای گلوتامیک اسید در موقعیت ششم زنجیره بتا ایجاد می‌شود و در آفریقای غربی شایع است. این خصیصه بدون نشانه و بدون کم خونی است و طول عمر گلبول‌های قرمز طبیعی است. MCV طبیعی یا اندکی کاهش یافته است و ممکن است MCHC اندکی افزایش داشته باشد. سلول‌های هدف در لام خون محیطی وجود دارند. HbC، ۴۰ درصد هموگلوبین تام را تشکیل می‌دهد. در صورتی‌که فرد به طور همزمان به آلفاتالاسمی مبتلا باشد، میکروسیتوز قابل توجهی ملاحظه می‌شود.

بیماری هموگلوبین C

کم‌خونی همولیتیک خفیف همراه با اسپلنومگالی است که اغلب بدون علامت است اما گاهی منجر به یرقان ناراحتی شکمی می‌شود. این هموگلوبین تمایل به ایجاد کریستال‌های لوزی شکل دارد. برخلاف HbS، کریستال‌های HbC در PO2 (فشار نسبی اکسیژن) پایین تمایل به حل شدن دارند و باعث انسداد عروقی نمی‌شوند. کم خونی عمدتا به دلیل میل پیوندی پایین HbC برای اکسیژن است. MCV طبیعی یا کاهش یافته و MCHC طبیعی یا افزایش یافته است. رتیکولوسیتوز با توجه به میزان کم‌خونی پایین است. تعداد زیادی سلول هدف به همراه میکرواسفروسیت و پلی کرومازی جزئی در خون مشاهده می‌شود. کریستال‌های شش گوشه یا میله ای شکل ممکن است در گسترش رنگ شده (به خصوص پس از طحال برداری یا خشک شدن آهسته گسترش) در اریتروسیت‌ها دیده شوند(شکل ۸-۱۲).



شکل ۸-۱۲: بیماری هموگلوبین C بعد از طحال برداری

تنها ناهنجاری مورفولوژیک قبل از طحال برداری، حضور سلول های هدف است. بعد از طحال برداری، کریستال های هموگلوبین و اجسام هاول ژولی نیز حضور دارند.

تالاسمی β^{+}/ HbC

این حالت عمدتا در سیاه پوستان روی می‌دهد. گلبول‌های قرمز اندیس‌های مرتبط با بتاتالاسمی را دارند اما در این جا آنیزوسیتوز وجود دارد و سلول‌های هدف ۲۰ تا ۵۰ درصد هستند. معمولا بین ۶۵ تا ۸۰ درصد هموگلوبین C، ۱۶ تا ۳۰ درصد هموگلوبین A و ۲ تا ۵ درصد HbF وجود دارد. الکتروفورز هموگلوبین، HbC را نشان می‌دهد و تشخیص با یافتن خصیصه HbC در یکی از والدین و بتاتالاسمی در دیگری تائید می‌شود.

تالاسمی β^{0}/ HbC

افراد با اصل و نسب مدیترانه‌ای با ژنوتیپ β^{0} و β^{+} شدید معمولا یک کم خونی همولیتیک نسبتا شدید دارند. افتراق این بیماری از بیماری هموگلوبین C ممکن است مشکل باشد زیرا در هر دو بیماری هموگلوبین A وجود ندارد و در مورد سطوح HbA2 و HbF همپوشانی وجود دارد. HbA2 حدودا دو برابر مقدار طبیعی و HbF به مقدار ۳ تا ۱۰ درصد افزایش می‌یابد.

خصیصه هموگلوبینE

احتمالا HbE شایع‌ترین هموگلوبین غیر طبیعی در جهان است. این هموگلوبین عمدتا در آسیای جنوب شرقی به خصوص در افراد با اصل و نسب تایلندی و برمه ای، یافت می‌شود اما در سفیدپوستان و سیاهپوستان نیز وجود دارد. HbE ناشی از جایگزینی لیزین بجای گلوتامیک اسید در موقعیت ۲۶ زنجیره بتا است. بیوسنتز این زنجیره به دلیل این‌که محل جهش باعث تغییر در پردازش mRNA می‌شود کاهش می‌یابد و فنوتیپ بتاتالاسمی را نشان می‌دهد. ناپایدار بودن HbE را می‌توان در آزمایشگاه نشان داد و در آزمایش تقلیب حرارتی و با ایزوپروپانول به طور غیر طبیعی رسوب می‌کند. عمر گلبول‌های قرمز طبیعی است.

خصیصه هموگلوبین E بدون نشانه و بدون کم خونی اما همراه با میکروسیتوز است. HbA، ۶۵ تا ۷۰ درصد هموگلوبین تام و HbE، ۳۰ درصد و HbF طبیعی است. وجود همزمان یک ژن تالاسمی آلفا هیچ کدام از پارامترهای فوق را تغییر نمی‌دهد و تنها می‌توان به وسیله آنالیز DNA آن را نشان داد.

بیماری هموگلوبین E

این بیماری یک کم خونی میکروسیتیک خفیف همراه با اریتروسیتوز و MCHC طبیعی می‌باشد که شبیه به یک خصیصه تالاسمی است. هموگلوبین E مانند یک تالاسمی خیلی خفیف رفتار می‌کند. شمارش رتیکولوسیت طبیعی است اما ۲۰ تا ۸۰ درصد سلول هدف در لام خون محیطی وجود دارد. در این بیماری هموگلوبین E بیش از ۹۰ درصد هموگلوبین تام را تشکیل می‌دهد، هموگلوبین A وجود ندارد و میزان HbF از ۱ تا ۱۰ درصد است.

بتاتالاسمی/HbE

یکی از مهم‌ترین سندروم‌های تالاسمی است و نزدیک به ۵۰ درصد موارد شدید بتاتالاسمی را به خود اختصاص می‌دهد. این اختلال، شایع‌ترین سندروم تالاسمی در

جنوب شرقی آسیاست. ویژگی‌های بالینی و خون‌شناختی متغیر هستند. اریتروپوئز غیرموثر (ناشی از گلوبین‌های الفای زیادی)، اندیس‌ها و مورفولوژی گلبول قرمز و تظاهرات بالینی شبیه بتاالاسمی هموزیگوت است. مغزاستخوان، هیپرپلازی اریتروئیدی چشمگیری را نشان می‌دهد. تقریبا همیشه آنمی و اسپلنومگالی وجود دارد. مقدار هموگلوبین در رنج ۴ تا ۱۰ g/dL است (با میانگین g/dL ۷-۶). هموگلوبین‌های E، F و A2 حضور دارند. میزان HbF تنوع بسیار زیادی از ۵ تا ۸۵ درصد نشان می‌دهد؛ متوسط HbF، ۴۲ درصد و متوسط HbE، ۵۸ درصد می‌باشد. تشخیص پیش از تولد به ویژه برای تمایز دادن بین بیماری HbE (هموزیگوت) و تالاسمی β^0/ HbE مشکل است و در این شرایط بررسی‌های خانوادگی و آنالیز DNA سودمند است.

هموگلوبین D لوس آنجلس (پنجاب)

در موقعیت ۱۲۱ زنجیره بتا، گلوتامین جایگزین گلوتامیک اسید می‌شود و این هموگلوبین بوجود می‌آید. شایع‌ترین واریان D در آمریکایی‌های آفریقایی تبار است. افراد هموزیگوت هیچ نشانه‌ای از همولیز ندارند و اندیس‌های گلبول قرمز طبیعی می‌باشند. ۹۵ درصد هموگلوبین D همراه با هموگلوبین‌های A2 وF طبیعی وجود دارد. هتروزیگوت‌های دوگانه برای هموگلوبین D پنجاب/ تالاسمی β^0 دارای یک کم خونی همولیتیک خفیف با اندیس‌های گلبول قرمز تالاسمیک و افزایش هموگلوبین‌های A2 و F هستند. اهمیت این هموگلوبین در این است که با HBS هتروزیگوت دوگانه تشکیل دهد که در این حالت باعث ایجاد اختلال داسی شونده نسبتا شدیدی می‌شود.

واریان شایع زنجیره آلفا

هموگلوبین G فیلادلفیا

این حالت شایع ترین واریان زنجیره آلفا در سیاهپوستان است. در موقعیت ۶۸ زنجیره آلفا، لیزین جایگزین آسپارژین می‌شود. تقریبا به طور ثابتی، ژن α مرتبط (Linked α-gene) حذف شده‌است ($-\alpha^{G}$). هتروزیگوت های ساده ($-\alpha^{G}/\alpha\alpha$) دارای ۳۰ درصد هموگلوبین هموگلوبین G و اندیس‌های طبیعی گلبول قرمز هستند اما هتروزیگوت‌های دوگانه همراه با حذف ژن α روی کروموزوم دیگر دارای ۴۵ درصد هموگلوبین G و فنوتیپ خصیصه تالاسمی می‌باشند.

اختلالات عملکرد و پایداری هموگلوبین

این هموگلوبینوپاتی‌های مهم از نظر عملکردی، هتروزیگوت هستند و معمولا غلظت هموگلوبین غیرطبیعی کمتر از ۵۰ درصد است.

اختلالات هموگلوبین ناپایدار

این اختلالات گروه نادری از آنمی‌های همولیتیک ارثی هستند که ناشی از تغییرات ساختاری در مولکول هموگلوبین می‌باشند و با تشکیل هاینزبادی باعث رسوب‌های درون اریتروسیتی می‌شوند. برخلاف موتاسیون‌های رایج تر در ژن گلوبین، هیچ تنوع جغرافیایی و قومیتی مشهودی در شیوع هموگلوبین‌های ناپایدار وجود ندارد. شاید رایج‌ترین آن‌ها هموگلوبین Koln (β^{98}, Val→Met) باشد. اکثر هموگلوبین‌های ناپایدار ناشی از جایگزینی تک آمینواسید یا حذف‌های کوچک است. برای مثال جایگزینی‌هایی درون یا اطراف پاکت هِم می‌تواند منجر به بر هم خوردن ساختار آن، وارد شدن آب و آسیب اکسیداتیو به هِم شده و نهایتا موجب رسوب هموگلوبین می‌گردد. بعضی از جایگزینی‌ها مثل آن‌هایی که رزیدوهای پرولین را درگیر می‌کند باعث اختلال چشمگیری در ساختار ثانویه زنجیره‌های گلوبین می‌شود. واریان‌های متعددی ناشی از حذف‌های یک یا چند رزیدو هستند. سه هموگلوبین ناپایدار رایج شامل هموگلوبین Köln، هموگلوبین Hasharon (α^{47} asp-his) و هموگلوبین Zurich (β^{63} his-arg) می‌باشند.

هموگلوبین‌های ناپایدار با یک آنمی همولیتیک غیراسفروسیتیک مزمن و اسپلنومگالی مشخص می‌شوند. همانند همه آنمی‌های همولیتیک مزمن، بروز بالایی در سنگ‌های صفراوی همراه با عوارض مرتبط با آن‌ها وجود دارد؛ اگر وراثت همزمان سندروم گیلبرت وجود داشته باشد خطر آن به طور ویژه‌ای بالا می‌رود. این شرایط ممکن است طی دوره‌های عفونت بدتر شود و موجب تب گردد و در موارد شدیدتر، چنین دوره‌هایی مرتبط با آنمی کشنده می‌شوند و نیاز به تزریق خون دارند. بعضی از داروهای اکسیدان ممکن است میزان همولیز را افزایش دهند و عفونت با پارووویروس B19 ممکن است باعث رتیکولوسیتوپنی موقت شود. یافته مشخص‌تر در برخی از موارد، دفع ادرار تیره رنگ پیگمانته (تنها در طی بحران‌های همولیتیک در واریان‌های خفیف) می‌باشد. سیانوز در بعضی بیماران حضور دارد و در نتیجه مت‌هموگلوبینوری، سولف‌هموگلوبینوری یا میل ترکیبی پایین به اکسیژن می‌باشد.

کم‌خونی نرموسیتیک و نرموکرومیک تا هیپوکرومیک است. هیپوکرومی به دلیل برداشت هموگلوبین رسوب کرده از گلبول‌های پیر به وسیله ماکروفاژهای طحال و دیگر اندام‌های ریتیکولواندوتلیال است. منقوط شدن چشمگیر بازوفیلیک که احتمالا در ارتباط با توده شدن بیش از حد ریبوزوم‌ها می‌باشد، یک ویژگی معمول است. گاهی اوقات سلول‌های گاززده مشاهده می‌شوند. هاینزبادی‌ها در خون محیطی پس از طحال برداری دیده می‌شوند. همچنین می‌توان با انکوبه کردن گلبول‌های قرمز با آبی کریزل درخشان و آبی متیلن جدید این اجسام را ایجاد نمود. در بیماران طحال برداری شده این اجسام ممکن است در تعیین هموگلوبین و شمارش الکترونیکی پلاکت‌ها و گلبول‌های سفید خون تداخل ایجاد کنند. قبل از اندازه گیری جذب نوری همولیزات، باید آن را جهت از میان برداشتن اجسام هاینز سانتریفیوژ کرد. همچنین شمارش پلاکتی و لکوسیتی را باید به صورت چشمی انجام داد. ممکن است در واریان‌های زنجیره بتا در نتیجه از دست رفتن هموگلوبین غیر طبیعی از گلبول قرمز، HbA2 افزایش یابد و این فنوتیپ ممکن است شبیه تالاسمی حدواسط باشد. HbF

ممکن است تا سطح ۱۰ تا ۱۵ درصد افزایش یابد. ویژگی مشخص این هموگلوبین‌ها ناپایداری در برابر گرما می‌باشد. اگر محلول رقیق شده هموگلوبین در درمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه گرم شود، هموگلوبین ناپایدار مانند یک ابر متراکم رسوب می‌کند. اثر مشابهی می‌تواند توسط ایزوپروپانول در دماهای پایین تر القا شود. تست با ایزوپروپانول حساسیت و اختصاصیت بیشتری نسبت به ناپایداری حرارتی دارد. بعضی از این واریان‌ها در الکتروفورز هموگلوبین رویت می‌شوند اما بعضی دیگر دیده نمی‌شوند؛ به دلیل این که آن‌ها ناشی از جایگزین شدن یک آمینواسید خنثی هستند و تنها با تست رسوب حرارتی نشان داده می‌شوند. آنالیز DNA با استفاده از توالی‌یابی ژن‌های گلوبین آلفا و بتا می‌تواند تشخیص قطعی را فراهم کند.

اسپلنکتومی ظاهرا در بعضی از موارد سودمند است. تزریق خون متناوب ممکن است ضروری باشد. اگر همولیز بسیار شدید باشد، برای بیمار باید تزریق خون منظم و پیوند مغزاستخوان در نظر گرفته‌شود.

هموگلوبین‌های مرتبط با میل ترکیبی بالا به اکسیژن و پلی سایتمی

بعضی از واریان‌های هموگلوبین باعث افزایش میل ترکیبی اکسیژن شده و منجر به درجه‌های مختلفی از پلی سایتمی می‌شود. این هموگلوبین‌ها نادر هستند و به صورت تک‌گیر رخ می‌دهند. هموگلوبین Chesapeake (α92, Arg→Leu) اولین هموگلوبین با میل ترکیبی بالا به اکسیژن بود که شناخته شد. این هموگلوبین‌ها ناشی از جایگزینی‌های تک آمینواسیدی در قسمت‌های حیاتی مولکول هموگلوبین هستند که در تغییرات ساختمانی که تعامل هم-هم را تحت تاثیر قرار می‌دهند، درگیر می‌شوند. کاهش اتصال ۲،۳ دی‌فسفوگلیسرات باعث شیفت منحنی تفکیک اکسیژن به سمت چپ شده، P50 را کاهش می‌دهد و در نتیجه هموگلوبین اکسیژن را بیشتر از حالت نرمال در خود نگه می‌دارد. این اتفاق باعث آنمی عملکردی همراه با هیپوکسی بافتی شده که نهایتا تولید اریتروپوئیتین و توده گلبول قرمز را افزایش می‌دهد. اکثر افراد کاملا سالم هستند و تنها زمانی مشخص می‌شود که بررسی خون

شناختی روتین، سطح هموگلوبین یا هماتوکریت بالایی را نشان بدهد (به صورت غیرطبیعی افزایش داشته باشد). اسپلنومگالی وجود ندارد و به جز افزایش توده گلبول قرمز، یافته‌های خون شناختی دیگری دیده نمی‌شود. غلظت هموگلوبین طیفی از ۱۵ تا ۲۳/۸ گرم بر دسی لیتر می‌باشد. اندازه‌گیری میل ترکیبی اکسیژن برای اثبات تشخیص ضروری است. به دلیل این‌که جایگزینی اسیدآمینه در داخل مولکول می‌باشد، اغلب هموگلوبین غیرطبیعی در HPLC یا الکتروفورز غیرقابل افتراق از HbA می‌باشد.

در افراد بدون علامت هیچ درمانی لازم نیست. اگر بیماری عروقی مرتبط (به ویژه نارسایی عروق کرونری یا سربرال) وجود داشته باشد مشکل ایجاد می‌شود. از آنجایی‌که این بیماران نیاز به سطح بالای هموگلوبین برای انتقال اکسیژن دارند، فلبوتومی با احتیاط زیاد باید انجام شود. فلبوتومی به دلیل خطر بالای عوارض عروقی و نگه داشتن هماتوکریت زیر ۵۵ درصد انجام می‌شود، اگرچه شواهد کمی برای حمایت از این اقدام وجود دارد.

واریان‌های هموگلوبین با میل ترکیبی پایین به اکسیژن

بیش از ۵۰ واریان هموگلوبین با میل ترکیبی پایین به اکسیژن شناسایی شده‌است (نسبت به موارد با افزایش میل ترکیبی بالا کمترند)، اغلب مرتبط با ویژگی‌های غیرطبیعی دیگری مثل ناپایداری هستند. Hb Kansas (β102 Asn→Thr) اولین هموگلوبین با میل ترکیبی پایین به اکسیژن بود که در مادر و پسری با سیانوز غیرقابل توضیح یافت شد. این افراد کم خونی خفیفی دارند، به دلیل این که آن‌ها می‌توانند مقادیر بیشتری از اکسیژن را در بافت‌ها آزاد کنند (منحنی تفکیک اکسیژن به سمت راست جابجا شده است). تعداد کمی از واریان‌های با کاهش چشمگیر میل ترکیبی برای اکسیژن با سیانوز مرتبط هستند. در این افراد، برداشت اکسیژن از ریه‌ها مختل شده و سطح هموگلوبین بدون اکسیژن آن‌ها بیش از ۵g/dL است و منجر به سیانوز

می‌گردد. رنگ پوست و مخاط این افراد مشابه سنگ متورق خاکستری است. این افراد کم‌خونی ندارند.

هموگلوبین‌های M

چندین واریان گلوبین آلفا و بتای مرتبط با مت هموگلوبینمیا کشف شده است. معمولا به عنوان هموگلوبین‌های M (مانند هموگلوبین M-Boston) اشاره می‌شوند. HbM ناشی از اکسیدشدن فرم فروس (دوظرفیتی) آهن به فرم فریک (سه ظرفیتی) می‌باشد. این اختلالات الگوی اتوزوم غالب دارند. ویژگی بالینی اصلی این افراد سیانوز بدون علامت است. رنگ این بیماران مشابه سیانوز قهوه‌ای رنگ یا شبیه به سنگ متورق خاکستری است و ممکن است پلی سایتمی خفیفی داشته باشند، زیرا این هموگلوبین قادر به حمل اکسیژن نیست. سیانوز از ابتدای تولد در بیماری هموگلوبین M همراه با ناهنجاری‌های زنجیره آلفا، یا در HbM جنینی (HbFM-osaka) مشاهده می‌شود. در HbM جنینی، بعد از این‌که زنجیره‌های گاما تا سن ۶ ماهگی توسط زنجیره بتا جایگزین شدند، سیانوز ناپدید می‌شود. البته سیانوز در این بیماران مرتبط با ناهنجاری‌های آنزیمی گلبول قرمز، داروهای سمی یا بیماری‌های قلبی سیانوتیک نیست و باید در تشخیص افتراقی مورد بررسی قرار گیرند. برای تمایز هموگلوبین‌های M از مت‌هموگلوبینمیا به واسطه داروها یا نقص در سیتوکروم b5 ردوکتاز می‌توان پتاسیم سیانید (KCN) را به همولیزات اضافه کرد؛ خون حاوی مت‌هموگلوبین قرمزرنگ خواهدشد اما KCN هیچ اثری روی هموگلوبین M ندارد.

مت‌هموگلوبین در انسان‌های سالم بیش از ۳ درصد هموگلوبین تام را تشکیل نمی‌دهد. تشخیص برپایه شناسایی سطوح بالای مت‌هموگلوبین می‌باشد که با آنالیزورهای گاز خونی و بعضی از پالس‌اکسی‌مترها اندازه گیری می‌شوند. افزایش سطوح مت هموگلوبین بایستی با اسپکتروفوتومتری نیز تائید گردد. آنالیز هموگلوبین با الکتروفورز یا mass spectrometry و یا توالی‌یابی ژن‌های گلوبین آلفا و بتا هم می‌تواند انجام شود. بعضی از انواع این هموگلوبین در الکتروفورز قلیایی از HbA جدا

نخواهندشد. درصورتی‌که در ابتدا همولیزات به مت‌هموگولبین تبدیل شود، HbM در pH=7.1 متفاوت از مت‌هموگلوبین طبیعی مهاجرت خواهدکرد. طیف جذبی HbM شویش شده که ممکن است مشخص باشد، را می توان با طیف جذبی مربوط به مت‌هموگلوبین طبیعی مقایسه کرد.

جدول زیر خلاصه‌ای از این ۴ دسته را ذکر کرده است.

جدول ۸-۵: عنوان جدول؟؟؟؟

طبقه بندی	ناهنجاری بالینی	سطح هموگلوبین (g/dL)، MCV (fL)	اجزای هموگلوبین (٪)
هموگلوبین‌های با میل ترکیبی بالا به اکسیژن	اریتروسیتوز منفرد، اغلب خانوادگی، بدون اسپلنومگالی، بدون موتاسیون $JAK2^{V617F}$	۱۵-۲۰	بیماران هتروزیگوت هستند، ۲۰ تا ۵۰ درصد واریان
هموگلوبین‌های با میل ترکیبی پایین به اکسیژن	آنمی خفیف بدون علامت، سیانوز	۱۰-۱۴	تقریبا ۵۰ درصد واریان
هموگلوبین‌های ناپایدار	همولیز، رتیکولوسیتوز، اسپلنومگالی	۹-۱۴ ۷۰-۹۰	۲۰-۳۵ درصد واریان؛ واریان های بسیارناپایدار می توانند غیرقابل تشخیص باشند و فنوتیپ تالاسمی دارند.
هموگلوبین‌های M	بعضی از افراد همولیز خفیف دارند، علائم بسیارکم	۱۰-۱۴ ۸۰-۹۰	۲۰-۵۰ درصد واریان (بسته به ژنی که تحت تاثیر قرار گرفته است)

ارزیابی آزمایشگاهی انواع هموگلوبین برای تشخیص تالاسمی و هموگلوبینوپاتیها

برای اندازه گیری هموگلوبین A_2 از روشهای الکتروفورز استات سلولز، دانسیتومتری باندها، میکروکروماتوگرافی ستونی، HPLC تعویض کاتیون استفاده می‌شود. روش‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری HbF شامل شویش اسیدی، تقلیب قلیایی، HPLC و فلوسیتومتری می‌باشند و اندازه گیری HbS با روش‌های آزمایش متابی‌سولفیت سدیم بر روی لام، انحلال پذیری داسی و بررسی‌های مولکولی صورت می‌پذیرد.

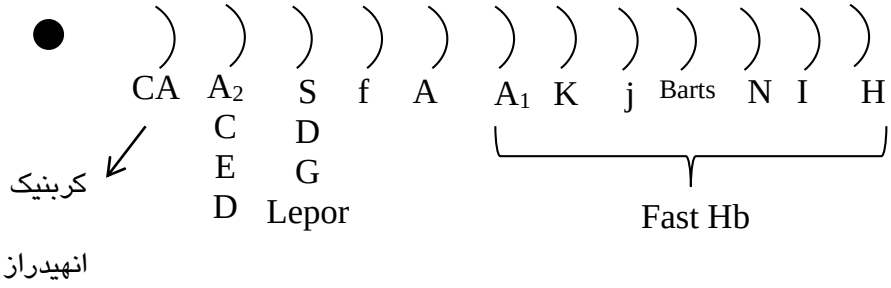
الکتروفورز

الکتروفورز یک روش الکتریکی برای جداسازی مولکول‌ها براساس سایز (برای قطعات DNA) یا بار الکتریکی کل (برای پروتئین‌ها) می‌باشد. در الکتروفورز Hb، جداسازی هموگلوبین‌های مختلف براساس تفاوت بار آن‌ها صورت می‌گیرد (مولکول‌های هموگلوبین با وزن یکسان بایکدیگر روی ژل حرکت می‌کنند و قابل تمایز ازهم نیستند). بار خالص کل یک پروتئین به PH محلولی که در آن قرار دارد و نیز به pK آمینواسیدها بستگی دارد (pK، PH ای است که در آن نیمی از زنجیره‌های جانبی یونیزه هستند). الکتروفورز به دو صورت الکتروفورز با pH قلیایی و pH اسیدی انجام می‌شود.

الکتروفورز با pH قلیایی (pH=8.4-8.6)

الکتروفورز روتین برای بررسی‌های هموگلوبین می‌باشد. به دلیل استفاده از ژل استات سلولز به الکتروفورز استات سلولز نیز معروف است. برای انجام آن از خون وریدی حاوی EDTA استفاده می‌شود. الکتروفورز از دو فاز ثابت و متحرک تشکیل شده که فاز ثابت آن معمولاً استات سلولز و فاز متحرک آن بافری با قدرت یونی پایین است. بار الکتریکی پروتئین‌ها من جمله هموگلوبین در pH اسیدی مثبت بوده و جهت

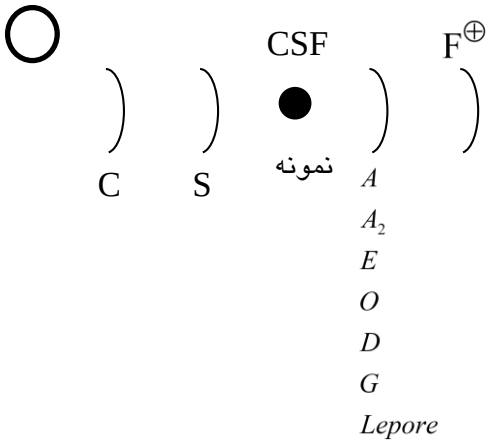
حرکت آنها به سمت کاتد (منفی) خواهد بود و در pH قلیایی بار آن‌ها منفی بوده و به سمت آند (مثبت) حرکت می‌کنند. بعد از اتمام الکتروفورز برای ظهور مواد تفکیک شده، از رنگ‌آمیزی خاصی استفاده می‌شود برای Hb از آبی کوماسی یا بنزیدین استفاده می‌شود که بنزیدین رنگ آمیزی اختصاصی Hb است که باند C.A و پس زمینه رنگ نمی‌شوند. برای پروتئین از پانسو، برای لیپوپروتئین از SBB یا oil red 0 – و برای اسید نوکلئیک از متیلن بلو استفاده می‌شود. HbA2 کندترین و Hb A سریع‌ترین هموگلوبین در بین ۳ هموگلوبین طبیعی بدن می‌باشد. تزریق خون اخیر تا ۴-۳ ماه، باعث اشکال در الکتروفورز بیمار می‌شود. همچنین نمونه‌ها باید در یخچال ۴ درجه نگه‌داری شود و حداکثر تا ۱ هفته ارزیابی شود. الگوی حرکت هموگلوبین‌ها در این الکتروفورز مطابق شکل‌های زیر می‌باشد.



شکل ۸-۱۳: الکتروفورز با pH قلیایی

الکتروفورز با pH اسیدی (pH=6-6.2)

این الکتروفورز روی ژل سیترات آگار و پس از الکتروفورز قلیایی صورت می‌پذیرد و برای افتراق Hbs از HbD و HbG و همچنین افتراق HbC از HbE و HbO انجام می‌شود. این الکتروفورز قادر به تفکیک A از A2 نیست. سریع‌ترین Hb، HbH (تترامر β_4) می‌باشد.



شکل ۸-۱۴: الکتروفروز با pH اسیدی

میکروکروماتوگرافی ستونی (کروماتوگرافی تعویض یونی)

در این روش ستون با رزین‌های دارای بار مثبت استفاده می‌شود که Hb دارای بار منفی به رزین متصل شود. سپس بافری با قدرت آنیونی بیشتر از Hb به ستون اضافه می‌کنیم که Hb را از رزین جداکرده و خود جایگزین آن‌ها می‌شود و Hb A2 از ستون خارج می‌شود. اساس این آزمایش مبتنی بر کروماتوگرافی ستونی است. در شرایط قلیایی هموگلوبین دارای بار منفی است و به رزین دارای بار مثبت می‌چسبد. لذا با استفاده از معرف اختصاصی، هموگلوبین به‌طور رقابتی از رزین جدا شده و با اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. ضدانعقاد مورد نیاز برای این تست هپارین یا EDTA است. محدودیتی در مورد نوشیدن مایعات و یا ناشتا بودن ندارد. نمونه به مدت حداکثر یک هفته در ۸-۲ درجه سانتی گراد پایداری دارد.

مقادیر نرمال A2

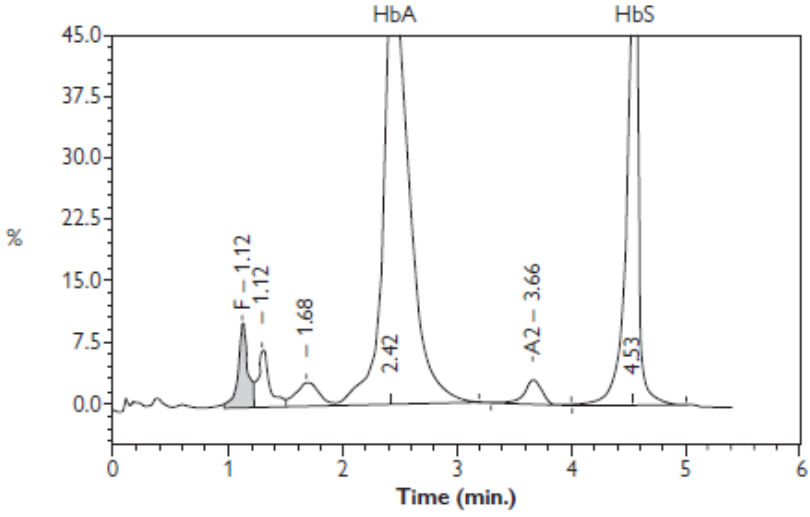
- ✓ افراد سالم ۳/۵ – ۱/۵ درصد

✓ بتا تالاسمی هتروزیگوت ۱۰- ۳/۵ درصد

نکته: هموگلوبین‌های D-G-S-F-O-C هراه با A2 از ژل عبور می‌نمایند. توصیه می‌شود افزایش بیش از ۶ درصد با الکتروفورز تائید شود.

تکنیک HPLC تعویض کاتیون

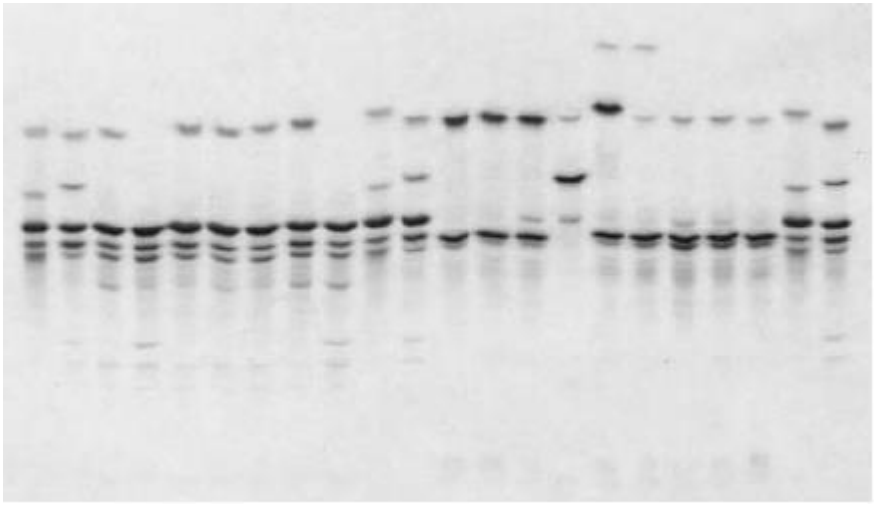
از این تکنیک نیز می‌توان برای اندازه‌گیری Hbها استفاده کرد. HPLC تعویض کاتیون روش مرجع اندازه گیری HbA2 می‌باشد. زمان الوشن (Elution Time) Hbها در HPLC تعویض کاتیون به ترتیب از راست به چپ: HbF، HbA، HbA2، HbD، HbS، HbC و ... . در حضور HbS میزان واقعی HbA2 بیش از حد واقعی برآورد می‌شود زیرا زمان الوشن HbA2 و S یکسان است. در جنین بهتر است از روش میکروکروماتوگرافی ستونی استفاده گردد.



شکل ۸-۱۵: تجزیه و تحلیل HPLC نشان دهنده صفت داسی (HbA + HbS)

تمرکز (فوکوس) ایزوالکتریک

روشی با وضوح بالاست که برای جداسازی مولکول‌های هموگلوبین مختلف استفاده می‌شود. اصول کلی این تست برپایه این نکته است که همه پروتئین‌ها و آمینواسیدها یک PH دارند که در آن بار خالصشان صفر است که به آن نقطه ایزوالکتریک می‌گویند. در این pH هیچ حرکت خالصی در حضور میدان الکتریکی اعمال شده خارجی وجود ندارد. مولکول‌های Hb تحت یک گرادیان pH قرار می‌گیرند. این روش دارای مزیت وضوح بالا است اما گران تر از الکتروفورز استاندارد است.



شکل ۸-۱۶: فوکوس ایزوالکتریک

آزمون دناتوره شدن قلیایی (تقلیب قلیایی)

HbF برخلاف سایر هموگلوبین‌های انسان، به دناتورسیون قلیایی مقاوم است. در این روش ابتدا همولیزات قلیایی می‌گردد و سپس هموگلوبین‌های دناتوره رسوب داده می‌شوند. آنگاه جذب نوری مایع رویی (Supernatant) که حاوی هموگلوبین مقاوم به قلیا می‌باشد در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده و درصد Hb F محاسبه می‌گردد. در این روش از خون وریدی به همراه ماده ضد انعقاد EDTA استفاده می‌شود و

نیازی به ناشتا بودن بیمار نمی‌باشد. این روش قادر است مقادیر بسیار پائین تا مقادیر نسبتاً زیاد HbF (حدود ۵۰ درصد) را اندازه‌گیری نماید.

HbF در افراد بالغ طبیعی معمولاً کمتر از یک درصد و حداکثر تا ۲ درصد از هموگلوبین تام را تشکیل می‌دهد.

در هنگام تفسیر نتایج به نکات زیر توجه داشته باشید

- تقریباً در نیمی از بیماران مبتلابه بتا تالاسمی هترو زیگوت ($\beta -$ $thalassemiatrait$) مقدار HbF، ۲ الی ۵ درصد است اما در بیماران مبتلا به بتا تالاسمی هموزیگوت میزان آن تقریباً همیشه افزایش قابل‌ملاحظه دارد و معمولاً به ۱۵ الی ۱۰۰ درصد می‌رسد.
- در بیمارانی که ازنظر ژن HbS هموزیگوت هستند، HbF ممکن است طبیعی و یا تا ۲۰ درصد باشد اما در افرادی‌که ازنظر ژن HbS هتروزیگوت می‌باشند میزان HbF معمولاً طبیعی است.
- چنانچه مقدار HbF ۵ الی ۲۰ درصد باشد ممکن است بیمار مبتلابه $\alpha\beta -$ $thalassemia$ و یا پایداری ارثی هموگلوبین جنینی باشد. وجود میکروسیتوز واضح به نفع مورد اول است. در مورد دوم تست سیتوشیمیایی Kleihauer یک توزیع پان‌سلولار را نشان خواهد داد. البته در بیمارانی که مبتلا به هیچ یک از اختلالات هماتولوژی آشکار نیستند، ولی HbF آن‌ها ۱۰ الی ۱۵ درصد است و باید به وجود ژن پایداری ارثی هموگلوبین جنینی مشکوک شد.
- افزایش مقدار متوسط HbF (در حدود ۲ الی ۵ درصد) در برخی موارد اسفروسیتوز ارثی، آنمی هیپوپلاستیک، لوسمی حاد و مزمن، آنمی میلوفتیزیک، آنمی پرنیشیوز درمان‌نشده، اریترولوکمیا، آنمی‌های مقاوم به درمان، PNH و کارسینوم دارای متاستاز با مغز استخوان گزارش‌شده است.

- مقدار HbF در کودکان مبتلابه آنمی آپلاستیک ارثی یا اکتسابی ممکن است بیشتر از ۱۰ درصد و در کودکان مبتلابه شکل Juvenile لوسمی میلوژنوس مزمن بیشتر از ۳۰ درصد باشد.
- میزان HbF طی بارداری معمولاً افزایش می‌یابد و ممکن است تا ۱۵ درصد نیز برسد.
- انواع نادری از هموگلوبین مانند Hb Rainier و Hb Bethesda نیز نسبت به دناتوراسیون قلیایی مقاوم‌اند.

آزمون اسلایدی شویش اسیدی (Betke - kleihour)

از خون بیمار گستره تهیه می‌شود، آن را در هوا خشک کرده و سپس روی آن اسید استیک با بافر فسفات pH = ۳/۴ ریخته می‌شود، تمام Hbها به جزء HbF تخریب شده و RBCها به شکل شبح در می‌آیند (Ghost cell). این روش، روش مناسبی برای چگونگی توزیع HbF است (نه برای اندازه‌گیری آن). در افراد نرمال، همه RBCها به شکل شبح می‌شوند. توزیع این هموگلوبین در اختلالات با افزایش HbF به دو صورت یکنواخت (پان سلولار) و غیریکنواخت (هتروسلولار) می‌باشد. توزیع غیریکنواخت در هموگلوبینوپاتی ها و سندروم‌های تالاسمی دیده می‌شود. توزیع HbF در اکثریت HPFH ها به جزء HPFH سوئیسی یکنواخت است. این تست برای شناسایی HPFH از تالاسمی ماژور، برای محاسبه حجم خون جنینی وارد شده به خون مادر، برای تعیین دوز آمپول روگام و نیز برای منشاء خون موجود در دهان نوزاد در زمان تولد استفاده می‌شود.

شناسایی سلول‌های F با استفاده از فلوسایتومتری

این روش نسبت به روش شویش اسیدی بر روی لام از صحت بالاتری برخوردار است. اکثر سلولهای بالغین منفی هستند، سلول‌های F دارای شدت فلورسانس متوسط و

سلول‌های جنینی نوزادان فلورسانس بارزی را در هنگام رنگ‌آمیزی با آنتی بادی anti-F، به نمایش میگذارند.

آزمایش ناپایداری حرارتی

اکثر هموگلوبین‌های ناپایدار پس از انکوبه شدن در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد، در مقایسه با هموگلوبین‌های طبیعی سریع‌تر رسوب می‌کنند. در صورت وجود هموگلوبین‌های ناپایدار در همولیزات (در بافر تریس)، رسوب قابل مشاهده‌ای در مدت زمان یک ساعت تشکیل می‌شود اما نمونه کنترل شفاف یا اندکی تیره است. رسوب کم شک برانگیز است و باید آزمایش مجددا تکرار شود، همچنین تست رسوب در ایزوپروپانول بایستی انجام شود. رسوبی که در برگیرنده ۱۰ تا ۴۰ درصد کل هموگلوبین است در اختلالات هموگلوبین ناپایدار یافت می‌شود.

آزمایش رسوب در ایزوپروپانول

یک حلال نسبتا غیر قطبی، پیوندهای داخل هموگلوبین را سست می‌کند و پایداری آن را کاهش می‌دهد. هموگلوبین ناپایدار طی ۲۰ دقیقه در حلال غیرقطبی ایزوپروپانول رسوب می‌کند، درصورتی که همولیزات طبیعی تا ۳۰ الی ۴۰ دقیقه شفاف باقی می‌ماند. نتایج مثبت کاذب همراه با سطوح بالای HbF یافت می‌شوند.

تست‌های مولکولی برای تشخیص تالاسمی

اگرچه اکثر آزمایشگاه‌های هماتولوژی می‌توانند خصیصه بتاتالاسمی و بتاتالاسمی ماژور را تشخیص دهند، با این حال موقعیت‌هایی وجود دارد که تست‌های مولکولی نیاز می‌شوند، مانند تشخیص پیش از تولد که در آن یک زوج در خطر داشتن فرزندی با بتالاسمی ماژور یا هیدروپس فتالیس هستند (غیاب آلفا گلوبین معمولا کشنده است). علاوه براین، تشخیص آلفا تالاسمی مشکل است و نیاز به آنالیز DNA با استفاده از ساترن‌بلات یا PCR ژن‌های گلوبین دارد.

تاکنون بیش از ۲۰۰ جهش در زنجیره بتا شناخته شده‌است اما خوشبختانه هر جمعیت، گروه جهش‌های ژنی مربوط به خودش را دارد (این موضوع مانع از این می‌شود که برای همه جهش‌های شناخته شده تست داشته باشیم). تکنیکهایی که براساس PCR هستند جهت غربالگری جهشهای نقطه‌ای شایع موجود در بتاتالاسمی و واریان‌های هموگلوبین، توسعه یافته‌اند. روش ARMS PCR یک سیستم جهشی مقاوم به تکثیر است که در آن، پرایمرهای PCR برای اتصال به توالی جهش یافته طراحی میشوند. اگر بیمار جهش داشته باشد تکثیر PCR رخ میدهد. اگر بیمار فاقد جهش باشد، اتصال پرایمرها به DNA رخ نمیدهد و در نتیجه تکثیر نیز اتفاق نمی‌افتد. دیدن باند روی ژل به این معنی است که جهش وجود دارد. اگر ARMS PCR توانایی شناسایی نداشت از تکنیک‌های دیگر مانند بلات‌های نقطه‌ای معکوس و توالی‌یابی DNA انجام می‌شود. تعیین توالی مبتنی بر PCR، جهت تایید جهشهای تک نوکلئوتیدی و حذف‌های کوچک مورد استفاده قرار می گیرد.

روش‌های مورد استفاده برای تشخیص مولکولی آلفا تالاسمی: درحالی‌که بتاتالاسمی عمدتا نتیجه جهش‌های نقطه‌ای است (تغییرات تک باز)، آلفا تالاسمی معمولا نتیجه حذف‌های بزرگ DNA در نواحی ژن‌های گلوبین آلفا است. ساترن بلات برای شناسایی حذف‌ها مفید است چون اندازه‌های باند DNA بعد از هضم با آنزیم محدودکننده نسبت به حالت نرمال متفاوت است. همچنین Gap PCR جهت شناسایی حذفهای شایع در ژن آلفا استفاده می‌شود. در Gap PCR، پرایمرها به دو طرف قسمت حذف شده می‌چسبند. محصول PCR تنها از آللهایی که حذف ژنی در آنها رخ داده بدست می‌آید، زیرا پرایمرها در ژنهای طبیعی با فاصله زیادی از هم قرار می‌گیرند.

آزمایش متابی سولفیت بر روی لام (آزمایش داسی شدن)

اضافه کردن متابی‌سولفیت سدیم (ماده احیاکننده) به خون باعث افزایش حذف اکسیژن از هموگلوبین و داسی شدن Hb می‌شود. این آزمایش کم خونی سلول داسی

را از خصیصه داسی یا سندروم‌های HbS تمایز نمی‌دهد به دلیل اینکه همه گلبول‌های قرمز داسی می‌شوند، با این حال، داسی شدن در گلبول‌هایی که مقادیر بیشتری از HbS را دارا هستند، با سرعت بیشتری رخ می‌دهد. در صورتی‌که غلظت HbS کمتر از ۱۰ درصد باشد (مانند شیرخواران بسیار کوچک) و یا چنانچه حذف اکسیژن ناکافی باشد (مانند فاسدشدن معرف)، ممکن است نتایج منفی کاذب در آزمایش روی دهند.

آزمایش انحلال پذیری داسی

هموگلوبین داسی ناشی از جهش نقطه‌ای در ژن گلوبین بتا است که منجر به تغییر گلوتامات به والین در جایگاه شماره ۶ پروتئین گلوبین بتا می‌شود. هموگلوبین داسی (HbS) فیلامنت‌های بلندی (تاکتوئید) را شکل می‌دهد که زمانی‌که فشار اکسیژن کاهش می‌یابد انحلال‌پذیری آن کم می‌شود. این موضوع اساس تست انحلال‌پذیری داسی است.

نمونه را می‌توان در هر ضدانعقادی جمع آوری کرد. در این آزمایش، گلبول‌های قرمز بیمار به وسیله ساپونین لیز می‌شوند و سپس هموگلوبین توسط محلول سدیم دی‌تیونات احیا می‌شود. از یک نمونه داسی مثبت به‌عنوان کنترل استفاده می‌شود. هنگامی‌که محلول شفافی دیده‌شود یعنی HbS وجود ندارد و زمانی‌که محلول کدر باشد، حضور هموگلوبین داسی در نمونه بیمار تائید می‌شود. نتیجه مثبت برای ناقلین سیکل (HbAS) و هموزیگوت سلول داسی (HbSS) بدست خواهد آمد. اگر نتیجه مثبت بدست آید، باید الکتروفورز Hb برای تعیین این‌که آیا بیمار ناقل است یا آنمی سلول داسی هموزیگوت دارد انجام شود. واکنش‌های مثبت کاذب (محلول کدر) در صورت وجود تعداد زیاد اجسام هاینز (مانند اختلالات هموگلوبین های ناپایدار بعد از طحال برداری) و در اختلالات پروتئین‌های خون در نتیجه رسوب پروتئین های پلاسما، رخ می‌دهند. واکنش‌های منفی کاذب (محلول شفاف) نیز در هنگام وجود مقدار بسیار کم HbS (مانند کم خونی شدید) روی می‌دهند.

تشخیص مولکولی بیماری سلول داسی

این روش برای تشخیص پیش از تولد استفاده می‌شود. ژن‌های گلوبین بتا در جنین با استفاده از PCR تکثیر می‌شوند (سلول‌هایی که از آمنیوسنتز یا CVS بدست می‌آیند) و با یک آنزیم محدودکننده باکتریایی مانند MST II هضم می‌شوند. اگر جهش داسی وجود داشته باشد هیچ هضمی رخ نخواهد داد (جهش، مکان محدودکننده را حذف می‌کند). در روش دیگری از ARMS PCR استفاده می‌کنند:

نحوه عملکرد تکنیک ARMS PCR

- جهش‌های نقطه‌ای خاص برای جهش‌های گلوبین بتا شناخته شده‌اند.
- پرایمرهای PCR برای اتصال با توالی جهش یافته طراحی شده‌اند.
- اگر بیمار جهش داشته باشد، تکثیر توسط PCR انجام خواهد شد.
- اگر بیمار فاقد جهش باشد، اتصال پرایمرها به DNA بیمار وجود ندارد و تکثیر نمی‌شود.
- بنابراین، یک باند روی ژل به این معنی است که جهش وجود دارد (و برعکس آن صادق است - اگر باند وجود نداشته باشد، آن جهش خاص وجود ندارد).

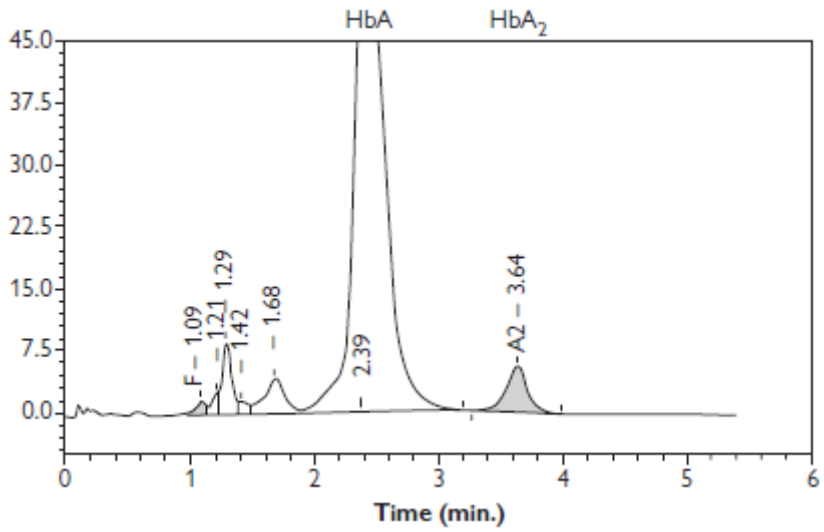
در صورت شکست ARMS PCR، گاهی اوقات تکنیک‌های دیگری از جمله reverse dot blots و تعیین توالی DNA مورد نیاز است.

غربالگری هموگلوبین نوزادی

خون نوزدانی که در خطر بتاتالاسمی ماژور یا سیکل هستند جمع‌آوری می‌شود. (مادر یکی از ژن‌های مرتبط با هموگلوبین C، S، D^{Punjab}، E، O^{Arab}، بتا یا دلتابتا تالاسمی داشته باشد). معمولا ازغربالگری همگانی نوزادان در مناطقی که بروز بالایی از هموگلوبینوپاتی وجود دارد استفاده می‌شود.

بررسی تالاسمی احتمالی

۱) CBC را بررسی کنید و به MCV نگاه کنید.
۲) آیا MCV طبیعی است (>76fL)؟ اگر چنین است، تالاسمی بعید است.
۳) آیا CBC چیز دیگری را نشان می‌دهد؟ افزایش تعداد RBC همراه با کاهش MCV و MCH در تالاسمی محتمل است.
۴) HbA2 را اندازه گیری کنید: به طور کلی در صفت بتا تالاسمی (ناقل) افزایش می‌یابد.
۵) HPLC را انجام دهید.
۶) سطح HbF را اندازه گیری کنید.
۷) به توزیع HbF در گلبول‌های قرمز نگاه کنید (HbF در تمام گلبول‌های قرمز در HPFH آفریقایی وجود دارد (تداوم ارثی هموگلوبین جنینی))، اما در همه سلول های ناقل دلتا بتا تالاسمی وجود ندارد.
۸) وضعیت آهن را ارزیابی کنید (علت رایج کاهش MCV است – این مورد را نادیده نگیرید!).
۹) به دنبال انکلوزیون‌های RBC باشید (به عنوان مثال: اجسام H در تالاسمی یا اجسام هاینز در اختلالات هموگلوبین ناپایدار).
۱۰) انجام تجزیه و تحلیل DNA، بررسی ژن‌های گلوبین آلفا و بتا.



شکل ۸-۱۷: تجزیه و تحلیل HPLC نشان دهنده صفت بتا تالاسمی است

(HbA2 بالا)

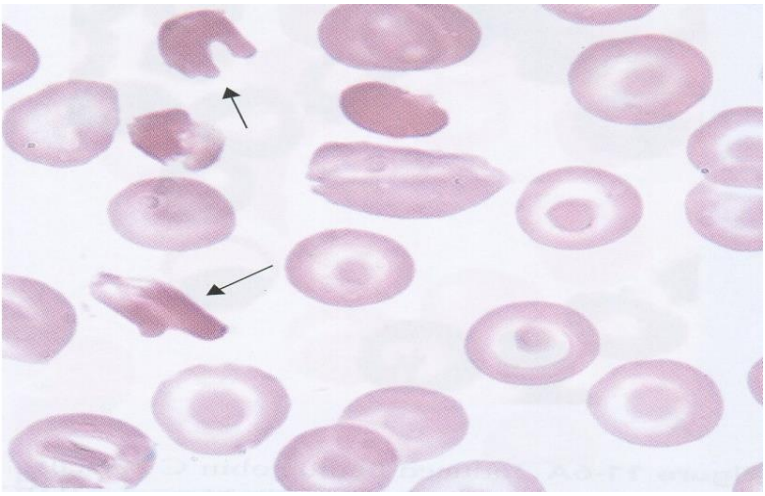
کیس های بالینی

کیس شماره یک

مردی ۳۵ ساله و مهاجر از کشور غنا برای بررسی بیشتر در مورد نتیجه ی غیر طبیعی CBC که در غربالگری سلامت به دست آمده،مراجعه کرده است. طبق گزارش بیمار، حال او خوب است. در معاینه ی فیزیکی اسپلنومگالی خفیف وجود دارد. نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است.

Hb = 13.2 g/dl، RBC = 4.8 million/µl، MCV = 74 fl، WBC = 6,200 /µl، Plt = 278,000 /µl، بیلی روبین مستقیم برابر ۰,۳ mg/dl و بیلی روبین کل برابر ۱,۶ mg/dl است. در الکتروفورز HbA وجود ندارد، سطح HbF نیز ۶ ٪ است.

لام خون محیطی در شکل زیر قابل مشاهده است.



تشخیص احتمالی چیست؟

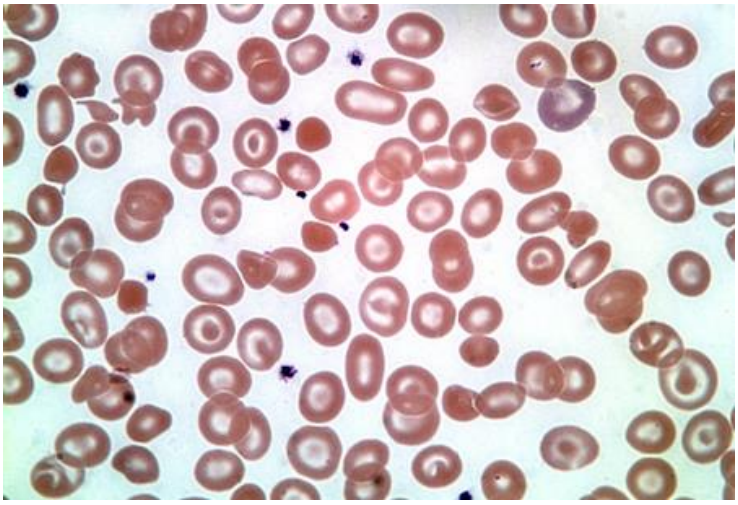
علائم بالینی فوق نشان توصیف گرِ یک مهاجر از آفریقای غربی با آنمی خفیف، میکروسیتوز و همولیز است. در لام خون محیطی، کودوسیت ها و RBC هایی با پخش غیر مساوی Hb در یک بخش سلول مشاهده می شود. در الکتروفورز هموگلوبین، HbCبرابر ۹۴ ٪ است، HbAوجود ندارد و سطح HbF افزایش یافته است. مجموعه ی علائم فوق، ویژگی های معمول بیماری HbCC است. جهش در زنجیره ی بتای هموگلوبین که منجر به ایجاد HbC می شود در آفریقای غربی شایع است.

کیس شماره دو

یک مرد ۳۶ ساله ی آفریقایی آمریکایی برای بررسی بیشتر آنمی خفیف خود مراجعه کرده است. وضع عمومی بیمار خوب است و بدون محدودیت چند نوع ورزش را انجام می دهد. سابقه ای از خونریزی یا درد متناوب استخوان ندارد. در معاینه ی فیزیکی اثری از هپاتواسپلنومگالی یا لنفادنوپاتی وجود ندارد. نتایج آزمایشگاهی به شرح زیر است.

Hemoglobin = 12.1 g/dl ،MCV=62 fl ،RBC=6,100,000 /µl ،l µ Plt =254,000 / .

الگوی الکتروفورز هموگلوبین طبیعی است. لام خون محیطی در زیر نشان داده شده است.



تشخیص احتمالی چیست؟

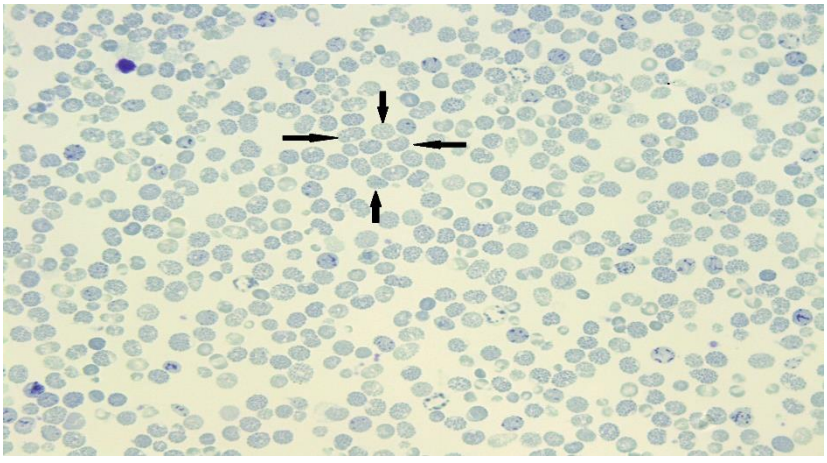
خصیصه آلفا تالاسمی. این بیماری به علت حذف دو ژن آلفا گلوبین ایجاد می شود. این اختلال با آنمی میکروسیتی و هیپوکرومیک خفیف بدون علامت یا با علائم خفیف همراه است. الکتروفورز هموگلوبین عمدتا طبیعی است. در مقابل، در بتا تالاسمی HbA2افزایش می یابد HbF .افزایش خفیفی دارد. پلی سایتمیِ میکروسیتی از ویژگی های افتراقیِ اختلالات تالاسمیک از آنمی فقر آهن است و در نتیجه افزایش سطح RBC در این مورد نیز با اختلال تالاسمیک بیشتر سازگار است تا با فقر آهن.

کیس شماره سه

معاینه ی فیزیکی بیمار نشان دهنده ی وجود اسپلنومگالی است. طبق گفته ی بیمار، یک نفر از بستگان او سابقه ی مشابهی از آنمی در طول عمر خود دارد. در بررسی خویشاوند بیمار علائم آزمایشگاهی به شرح زیر است.

Hemoglobin = 8.4 g/dl ،RBC=4,900,000 /µl ،MCV=65 fl ،Plt=361,000 /µl .

لام خون محیطی خویشاوند بیمار در شکل زیر قابل مشاهده است. در رنگ آمیزی با متیلن بلو، RBCها ظاهری شبیه توپ گلف دارند.



تشخیص احتمالی چیست؟

بیماری هموگلوبین H. بیماری HbH ناشی از حذف ۳ ژن آلفا گلوبین است و با آنمی میکروسیت هیپوکروم، همولیز و اسپلنومگالی شدید همراه است. ممکن است بیماران به تزریق حمایتی RBC نیاز داشته باشند و به همین واسطه، اضافه بار آهن هم ممکن است در آن‌ها شایع باشد. متیلن بلو با رنگ آمیزی رسوب HbH ، باعث می‌شود RBC ها ظاهری شبیه توپ گلف پیدا کنند.

فصل نعم: اختصارات

فصل ۹- اختصارات

اختصارات		
معادل فارسی	معادل انگلیسی	اصطلاح انگلیسی
دئوکسی ریبونوکلئیک اسید	deoxyribonucleic acid	**DNA**
ریبونوکلئیک اسید	ribonucleic acid	**RNA**
انتقال دهنده فلزات دو ظرفیتی	divalent metal transporter	**DMT-۱**
عنصر پاسخگو به آهن	iron-responsive element	**IRE**
پروتئین تنظیم کننده آهن	Iron regulatory protein	**IRP**
سلول‌های قرمز خون	red blood cells	**RBC**
کم خونی بیماری مزمن	Anemia of chronic disease	**ACD**
گیرنده ترانسفرین	Transferrin receptor	**TFR**
گیرنده ترانسفرین محلول	Soluble transferrin receptor	**sTFR**
ظرفیت کل اتصال آهن	Total iron binding capacity	**TIBC**
شمارش کامل خون	Complete blood count	**CBC**
میانگین هموگلوبین سلولی	Mean corpuscular hemoglobin	**MCH**
میانگین حجم سلولی	mean corpuscular volume	**MCV**
هموگلوبین	Hemoglobin	**Hb**
میانگین غلظت هموگلوبین سلولی	mean corpuscular hemoglobin concentration	**MCHC**
پهنای توزیع گلبول‌های قرمز	red cell distribution width	**RDW**

CHr	reticulocyte haemoglobin content	محتوای هموگلوبین رتیکولوسیت
WBC	white blood cells	گلبول‌های سفید خون
PLT	platelet count	شمارش پلاکت
dUMP	deoxyuridine monophosphate	دئوکسی یوریدین مونوفسفات
dTMP	deoxythymidine monophosphate	دئوکسی تیمیدین مونوفسفات
MS	Methionine synthase	متیونین سنتاز
MTase	methyltransferase	متیل ترنسفراز
MTHFR	Methylenetetrahydrofolate Reductase	متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز
SAHH	S-adenosylhomocysteine hydrolase	S-آدنوزیل هوموسیستئین هیدرولاز
TS	thiamine synthase	تیامین سنتاز
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid	اتیلن دی آمین ترا استیک اسید
NRBC	nucleated red blood cells	گلبول‌های قرمز هسته دار
LDH	lactate dehydrogenase	لاکتات دهیدروژناز
IM	intramuscular	داخل عضلانی
GIT	gastrointestinal tract	دستگاه گوارش
MDS	Myelodysplastic syndromes	سندرم‌های میلودیسپلاستیک
IFA	Intrinsic Factor Antibody	آنتی بادی‌های فاکتور داخلی
PA	Pernicious anemia	آنمی پرنشیوز
DHFA	Dihydrofolic acid	دی هیدروفولیک اسید
THFA	Tetrahydrofolic acid	ترا هیدروفولیک اسید
SD	Standard deviation	انحراف معیار
IF	intrinsic factor	فاکتور داخلی
MMA	methylmalonic acid	متیل مالونیک اسید
AST	aspartate aminotransferase	آسپارتات آمینو ترانسفراز
RES	reticuloendothelial system	سیستم رتیکولواندوتلیال
DAT	Direct Antiglobulin Test	تست آنتی گلوبولین مستقیم
TTP	Thrombotic Thrombocytopenia Purpura	پورپورای ترومبوسایتوپنیک ترومبوتیک
HUS	Hemolytic uremic syndrome	سندرم اورمیک همولیتیک
PNH	Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	هموگلوبینوری حمله‌ای شبانه

Hp	haptoglobin	هاپتوگلوبین
ESR	Erythrocyte Sedimentation Rate	سرعت رسوب گلبول قرمز
G6PD	Glucose-6-phosphate dehydrogenase	گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز
PK	Pyruvate kinase	پیروات کیناز
PCH	Paroxysmal cold Hemoglobinuria	هموگلوبینوری حمله‌ای سرد
HS	Hereditary Spherocytosis	اسفروسیتوز ارثی
OFT	Osmotic Fragility Test	تست شکنندگی اسمزی
MCF	Median Corpuscular Fragility	میانگین شکنندگی اسمزی
EMA	Eosin-5'-Maleimide	ائوزین-۵'-مالیماید
2,3DPG	2,3-diphosphoglycerate	۲و۳ دی فسفوگلیسرات
CLL	Chronic lymphocytic leukemia	لوسمی لنفوئیدی مزمن
MAHA	Microangiopathic hemolytic anemia	آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک
DIC	Disseminated intravascular coagulation	انعقاد درون عروقی منتشره
LFTs	Liver function tests	تست‌های سنجش عملکرد کبد
GPI	Glycosylphosphatidylinositol	گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول
HEMPAS	Hereditary erythroblastic multinuclearity with positive acidified serum lysis test	
DAF	Decay-accelerating factor	عامل تسریع پوسیدگی
WHO	World Health Organization	سازمان بهداشت جهانی
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات
UV	Ultraviolet	اشعه ماوراء بنفش
ADP	Adenosine diphosphate	آدنوزین دی فسفات
ATP	Adenosine triphosphate	آدنوزین تری فسفات
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide	نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotide	نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید
P5´N	Pyrimidine-5'-nucleotidase	پیریمیدین-۵'- نوکلئوتیداز

SLE	Systemic lupus erythematosus	لوپوس اریتماتوز سیستماتیک
AIHA	Autoimmune hemolytic anemia	آنمی همولیتیک اتوایمیون
NRBC	Nucleated red blood cells	گلبول‌های قرمز هسته دار
CHAD	Cold haemagglutinin disease	بیماری هماگلوتینین سرد
HDN	Hemolytic disease of the newborn	بیماری همولیتیک نوزادان
EBV	Epstein-Barr virus	اپشتین‌بار ویروس
HELLP	hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count.	همولیز-افزایش آنزیم کبدی -کاهش پلاکت
ADAMTS13	a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13	
GPI	glycosylphosphatidylinositol	گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول
PIG-A	Phosphatidylinositol N-acetylglucosaminyltransferase subunit A	زیر واحد A فسفاتیدیل اینوزیتول N-استیل گلوکز آمینیل ترانسفراز
mRNA	messenger RNA	RNA پیام‌رسان
MDS	Myelodysplastic syndromes	سندرم‌های میلودیسپلاستیک
AML	Acute myeloid leukemia	لوسمی میلوئید حاد
JMML	Juvenile myelomonocytic leukemia	لوسمی میلومونوسیتی نوجوانان
HPFH	Hereditary persistence of fetal hemoglobin	تداوم ارثی هموگلوبین جنینی
GDF15	growth differentiation factor 15	
TWSG		
HIV	human immunodeficiency virus	ویروس نقص ایمنی انسانی
MRI	Magnetic resonance imaging	تصویربرداری رزونانس مغناطیسی
TGF	Transforming growth factor	عامل رشد تبدیل کننده
CRISPR/CaS	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats	
BCL11A	B cell chronic lymphocytic leukemia/lymphoma 11 A	

ATR-16	α-thalassemia chromosome 16-linked mental retardation syndrome	
ISCs	irreversibly sickled cells	سلول‌های داسی شکل برگشت ناپذیر
DAMP	Damage-associated molecular patterns	الگوهای مولکولی مرتبط با خطر
ShRNA	Short hairpin ribonucleic acid	
SE	Sickle cell/HbE	
PO2	Partial pressure of oxygen	فشار نسبی اکسیژن
HPLC	High-performance liquid chromatography	کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا
JAK2	Janus kinase 2	جانوس کیناز ۲
SBB	sudan black B	سودان سیاه B
PCR	polymerase chain reaction	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
ARMS PCR	amplification-refractory mutation system polymerase chain reaction	
CVS	chorionic villus sampling	نمونه برداری از پرزهای جفتی
MST II	mercaptopyruvate sulfurtransferase II	
PMC	PubMed centeral	سامانه مرکزی پابمد

فصل دهم: منابع

فصل ۱۰- منابع

منابع

1. Alipoor R, Gholami MS, Heidari-Soureshjani R, reza Rajabi M, Anari MJ, Vaziri MS, Vajdi S, Shamshirian A. The prevalence of Iron deficiency Anemia among high school students in Iran: a systematic review. Internal Medicine and Medical Investigation Journal. 2017 Mar 20;2(1):1-6.
2. Auerbach, Michael, and John W Adamson. “How we diagnose and treat iron deficiency anemia.” American journal of hematology vol.2016
3. Baldwin C, Pandey J, Olarewaju O. Hemolytic Anemia. [Updated 2022 Jul 25]. In: StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022
4. Campbell NR, Hasinoff BB. Iron supplements: a common cause of drug interactions. Br J Clin Pharmacol. 1991 Mar
5. Dacie And Lewis PRACTICAL HEMATOLOGY Eleventh Edition 2011.
6. George Garratty, Lawrence D. Petz, Drug-induced immune hemolytic anemia,The American Journal of Medicine
7. Gholami MS, Shahidi M, Tabibian S, Naderi M, Dorgalaleh A. Genotyping of blood groups in alloimmunized patients with β-thalassemia major by T-ARMS-PCR and multiplex-aso-pcr. Transfusion and Apheresis Science. 2021 Feb 1;60(1):102984.

8. Hariz A, Bhattacharya PT. Megaloblastic Anemia. [Updated 2022 Sep 26].
9. HENRY'S clinical diagnosis and management by laboratory methods ،2017: 590
10. Hoffbrand's Essential hematology
11. Kitchens CS, Konkle BA, Kessler CM. Consultative Hemostasis and Thrombosis E-Book. Elsevier Health Sciences; 2013 Feb 20.
12. Kumar, Aditi et al. "Iron deficiency anaemia: pathophysiology, assessment, practical management." BMJ open gastroenterology vol. 9,1(۲۰۲۲)
13. Long Z, Li H, Du Y, Han B. Congenital sideroblastic anemia: advances in gene mutations and pathophysiology. Gene. 2018 Aug 20;668:182-9.
14. McPherson, R. A., & Pincus, M. R. (2017). Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods (23rd edition.). Elsevier
15. Naeim F. Atlas of hematopathology: morphology, immunophenotype, cytogenetics, and molecular approaches. Academic press; 2012 Dec 31.
16. Oxford Handbook of Clinical and Laboratory Investigation ، 2002: 196.
17. Phillips, James, and Adam C Henderson. "Hemolytic Anemia: Evaluation and Differential Diagnosis." American family physician vol. 98,6(۲۰۱۸)
18. Provan, Drew (ed.), Oxford Handbook of Clinical and Laboratory Investigation, 3 edn, 2010
19. Rusu IG, Suharoschi R, Vodnar DC, Pop CR, Socaci SA, Vulturar R, Istrati M, Moroșan I, Fărcaș AC, Kerezsi AD, Mureșan CI. Iron supplementation influence on the gut microbiota and probiotic intake effect in iron deficiency—A literature-based review. Nutrients. 2020 Jul 4;12(7):1993.

20. Socha, Daniel S et al. “Severe megaloblastic anemia: Vitamin deficiency and other causes.” Cleveland Clinic journal of medicine vol. 87,3.(۲۰۲۰)
21. Wee, Andrew Kien Han. “Serum folate predicts muscle strength: a pilot cross-sectional study of the association between serum vitamin levels and muscle strength and gait measures in patients >65 years old with diabetes mellitus in a primary care setting.” Nutrition journal vol. 15,1 89. 18 Oct. 2016
22. Wilson Denise D. 2008. Mcgraw-Hill's Manual of Laboratory & Diagnostic Tests.

۲۳. دونالد.سی, د., خ. عباس and ,ک.ق.س. امید, مروری بر کیس های هماتولوژی , ed.پ. مصطفی :Vol. 0. 1397 .خسروی.

۲۴. محمدسعید غلامی، حسنا سارانی، حجت شهرکی، محسن ولیخانی، فرهاد ذاکر. ۱۳۹۹. از نمونه‌گیری تا کنترل کیفی در آزمایشگاه هماتولوژی. جامعه‌نگر.

۲۵. محمدسعید غلامی، حجت شهرکی، پیام سیادت، مهلا میر، نگار ونکی، ام‌البنین سرگزی‌اول، فرهاد ذاکر، مائده گودرزیان. ۱۳۹۹. کنترل کیفی در آزمایشگاه هماتولوژی و بانک خون. جامعه‌نگر.