به نام خدا

کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی

دکتر رحمانی کهنموئی– دکتر عمواوغلی

ویرایش: حسین بخارائی

هماتولوژی – دکتر رحمانی

تعریف کلینیکال پاتولوژی: بخش پاراکلینیک بالین است و در جنب بالین است. تأیید تشخیص با آزمایشگاه است (مجموعه ای از ایمنی شناسی، میکروبیولوژی و انگل شناسی جهت تشخیص و تأیید بیماری ها است).

هماتولوژی: خون آینه ی تمام نمای بدن است و هر گونه تغییر در بافت ها را در خون می بینیم.

تغییرات هماتولوژی:

1- فیزیکی (مثلاً انگلی رشد می کند و گلبول لیز می شود)

2- شیمیایی (مثلاً فاکتوری در خون تجمع پیدا می کند و عمر گلبول ها را کم می کند)

تعریف خون: نوعی بافت پیوندی است که سلول های خونی جزء سلولی و پلاسما مایع بین سلولی یا ماتریکس آن را تشکیل می دهد.

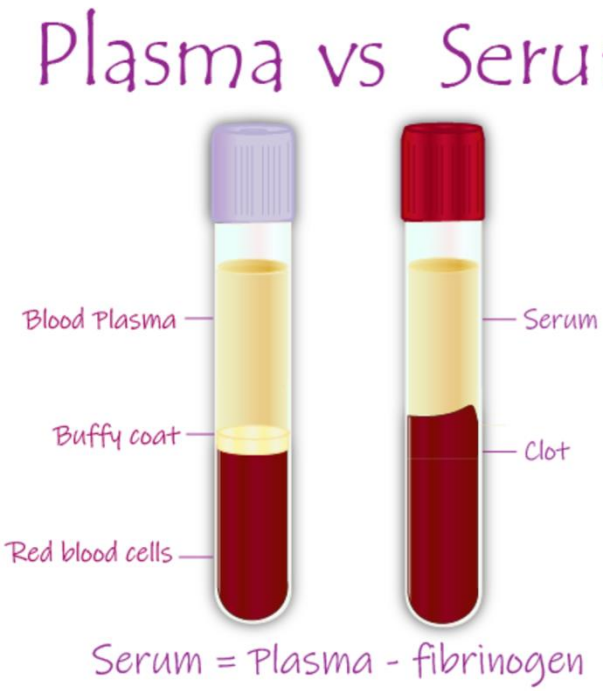
وظیفه خون: به واسطه سلول ها و پلاسمای خود در دفاع از بدن، حمل و نقل مواد و جلوگیری از خونریزی دخالت دارد.

پلاسما: برای تهیه پلاسما، یا ماده ضد انعقاد استفاده می کنیم یا اینکه خون بدون ضد انعقاد را بلافاصله سانتریفیوژ می کنیم.

❋تمامی مواد ضد انعقاد به استثنای هپارین، کلسیم را به عنوان فاکتور 4 در آبشار انعقادی شلاته (شلاته به معنای گرفتن چیزی از محیط می باشد) می کنند؛ در پلاسمایی که به این روش تهیه کردیم، کلسیم ارزش تشخیصی ندارد).

سرم: اگر اجازه دهیم خونی که اخذ کردیم منعقد شود و با یک اپلیکاتور لخته را از جداره جدا و بعد سانتریفیوژ 5000 دور در دقیقه به مدت 3-2 دقیقه کنیم سرم بدست می آید (در اینجا فاکتور های انعقادی مثل فیبرینوژن وجود ندارند).

❊سرم از پلاسما برای انجام آزمایشات بیوشیمی مناسب تر است.



❊سرم شفاف تر است و معمولاً به سفیدی می زند در حالیکه پلاسما ممکن است زرد، شیری رنگ یا ... باشد.

❊اگر پلاسما قرمز رنگ شود یعنی همولیز رخ داده است که در دو حالت رخ می دهد:

الف-تکنیکالی:

1) اگر لوله آزمایش مرطوب باشد

2) در حین خونگیری با پنبه الکل خیس شده خون گرفته شود (در این حالت سر سوزن که وارد می شود لیز رخ می دهد)

3) بعد از مخلوط کردن

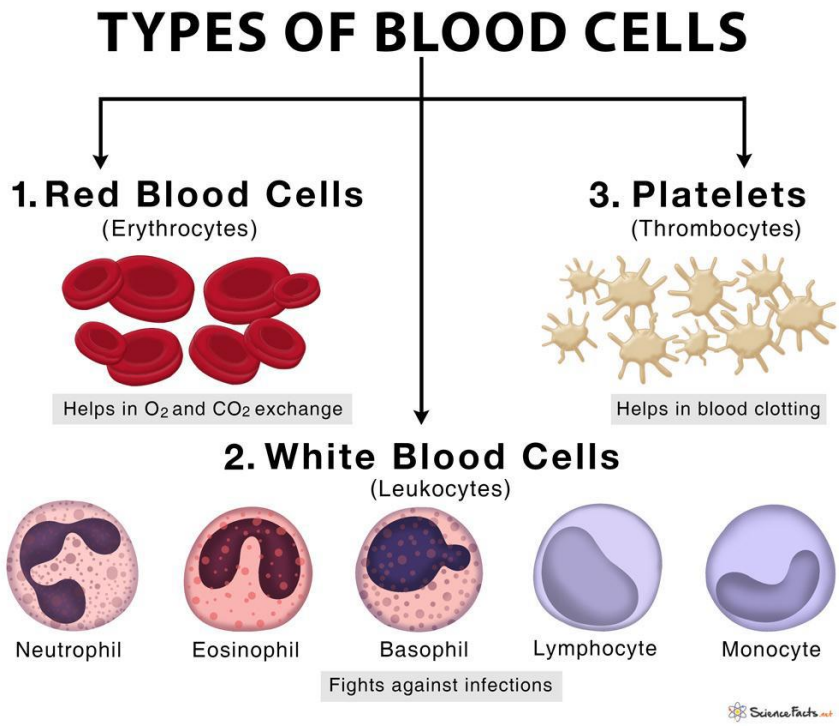
ب–واقعی: زمانی که هموگلوبین آزاد وجود داشته باشد یعنی هموگلوبینمی (همولیز داخل عروقی رخ می دهد)

همولیز دو نوع است:

1. **داخل عروقی**: RBC در حال گردش خون لیز می شود (مثلاً به علت شکل داسی گلبول یا وجود انگل در آن)؛ در این حالت هموگلوبین آزاد می شود و سرم و پلاسما را قرمز رنگ می کند
2. **خارج عروقی**: همولیز توسط سیستم رتیکولواندوتلیال (کبد و طحال) رخ می دهد و هموگلوبین تجزیه می شود (هِم به عنوان ذخیره آهن و گلوبین برای سلول سازی استفاده می شوند)

❋اگر هموگلوبینمی زیاد باشد، هموگلوبینوری هم رخ می دهد که آسیب زیادی به کلیه می زند؛ تا 70 mg/dl اگر هموگلوبین آزاد در خون باشد وارد ادرار نمی شود، چون هاپتوگلوبین به هموگلوبین ها وصل می شود و اندازه درشت تری پیدا می کنند که مانع از عبور از فیلتراسیون گلومرولی می شود (وظیفه هاپتوگلوبین، جلوگیری از آسیب رسانی هموگلوبین آزاد به گلومرول هاست).

❊در آزمایشات بیوشیمی به ازای هر یک ساعت تأخیر در انجام آزمایش 10 درصد از قند خون کم می شود.



خون شامل دو فاز است:

1- فاز مایع (Liquid phase): پلاسما (55٪) شامل؛ آب، ماکرومولکول ها، یون ها، ویتامینها، آنزیم ها، گازها، هورمون ها

2- فاز سلولی: Cellular Phase = Formed Elements

❊ائوزینوفیل گرانول های اسید دوست دارد (سیتوپلاسم اسیدی به رنگ قرمز).

❊بازوفیل گرانول های باز دوست دارد (سیتوپلاسم بازی به رنگ آبی).

❊نوتروفیل گرانول های خنثی دوست دارد (سیتوپلاسم رنگ نمی گیرد).

اجزای پلاسما:

مکانیسم انتقال مواد زیر را بر عهده دارد:

I. 90–92 درصد آب
II. 6–7٪ پروتئین (پروتئین ها شامل فاکتورهای انعقاد، گلوبولین ها، آنتی بادی های در گردش و فیبرینوژن)
III. 2–3٪ چربی ها
IV. کربوهیدرات ها (گلوکز)
V. الکترولیت ها
VI. گازها (O_2، CO_2)
VII. پیام رسان های شیمیایی مثل اینترلوکین ها

محل های خونگیری در حیوانات:

گاو: Jugular vein– ورید پستانی

سگ و گربه: Saphenous vein–Cephalic vein

اسب: Jugular vein

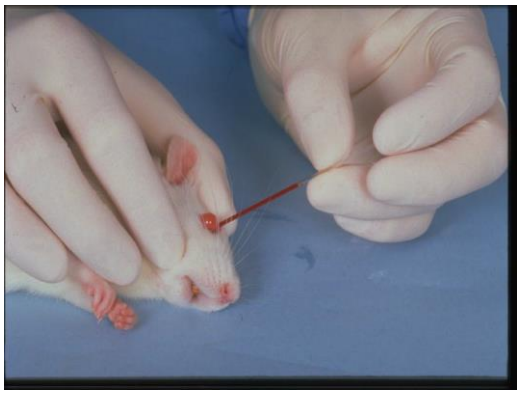
خرگوش: ورید مارژینال گوش (زیاد از این ناحیه خون نباید گرفت چون کلاپس ایجاد می کند)

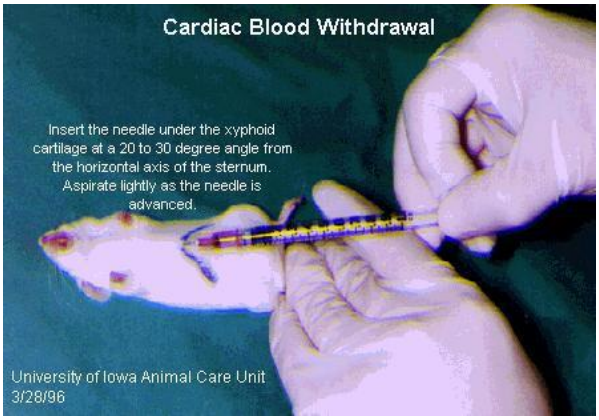
همستر: سینوس چشمی (orbital sinus)

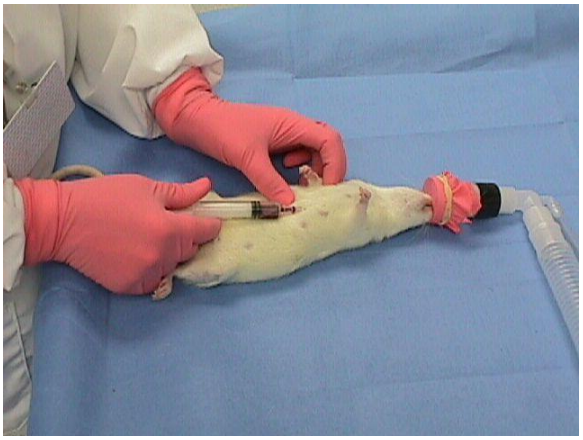
حیوانات کوچک مثل موش و ماهی: قطع دم (Tail vein)، قطع سر، مستقیماً از قلب و آئورت و Vena cava در صورت بیهوشی

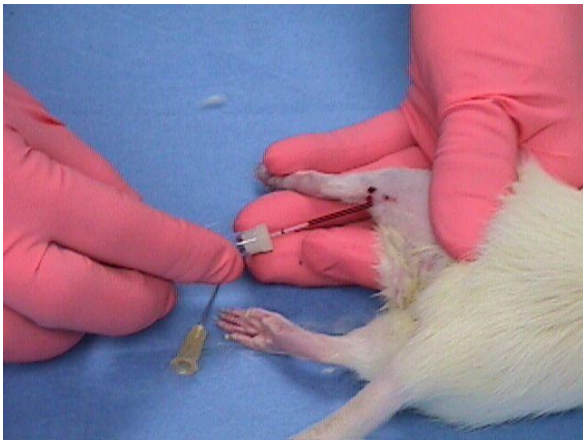
مرغ: ورید بال بازویی(Brachial wing vein)، ورید ژوگولار راست (right jugular vein)، قلبی (فقط در صورت بیهوشی)

Dog	cephalic, saphenous, femoral or jugular vein
G.pig	heart, saphenous or ear vein
Monkey	cephalic, saphenous, femoral or jugular vein
Mouse/Rat	heart, saphenous or tail vein, orbital sinus
Rabbit	heart, ear vein, orbital sinus
Hamster	heart, orbital sinus









هماتوپوئز: دو مرحله پیش از تولد و بعد از تولد دارد.

poiseis به معنای ساخته شدن است.

سه دوره کلی برای خونسازی وجود دارد:

Myeloid–3 Hepatic–2 embryonic–1

در ماه اول زندگی قبل از تولد حدود روز 18 تا 19 جنینی؛ خون سازی در خارج از جنین در مزانشیم کیسه زرده (Yolk Sac) در جزایر خونی (Blood Islands) آغاز می شود. این سلول های اولیه اریتروبلاست های اولیه (Primitive Erythroblasts) نام دارند.

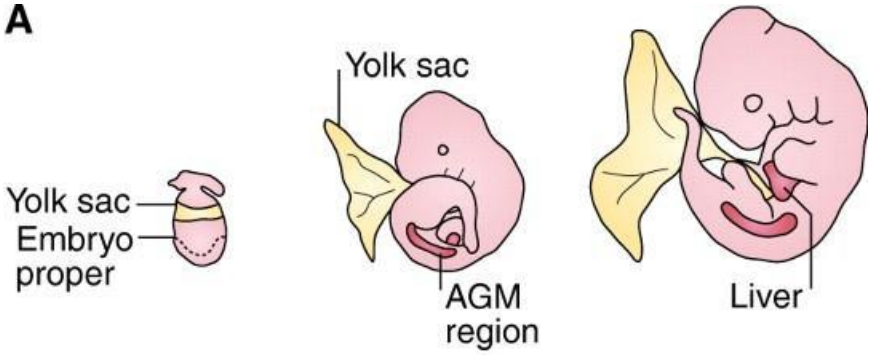
سلول همانژیوبلاست دارای توانایی ساخت سلول های خونی اولیه و سلول های رگ می باشد. جزایر خونی از این سلول منشأ می گیرند.

ویژگی اریتروبلاست های اولیه:

1. درون عروق تشکیل می شوند
2. بسیار بزرگ و مگالوبلاست هستند

3. از نظر محتوای هموگلوبولین متفاوت با سلول های بالغین اند
4. دارای هسته می باشند

در پستانداران این سلول ها به مکانی به نام AGM (Aorta-Gonad-Mesonephros) منتقل می شوند. تا این مرحله خون سازی رویانی است. خون سازی در کبد در هفته ششم آغاز می شود. این مرحله شروع خون سازی جنینی است. کبد عضو اصلی خونسازی در اوایل و اواسط زندگی جنینی است. سلول های ایجاد شده اریتروبلاستهای قطعی (DefinitiveErythroblasts) نام دارند.



ویژگی اریتروبلاست های قطعی:

1. بدون هسته هستند
2. تشکیل در خارج از عروق کبد رخ می دهد
3. هموگلوبین بیشتر جنینی است

نکته: در این مرحله گرانولوپوئز و مگاکاریوسیت ها به مقدار کمتر شکل می گیرند و لمفوپوئز آغاز می شود.

در حدود 18 سالگی، خون سازی تنها در مغز استخوان های پهن رخ می دهد. مثل:

1. جمجمه (Skull)
2. مهره ها (Vertebrae)
3. قفسه سینه (Thoracic cage)
4. شانه (Shoulder)
5. لگن (Pelvis)
6. دنده ها (Ribs)
7. قسمت های پروگزیمال استخوان های بلند مثل استخوان ران Femora و بازو Humeri

دو نوع مغز استخوان وجود دارد:

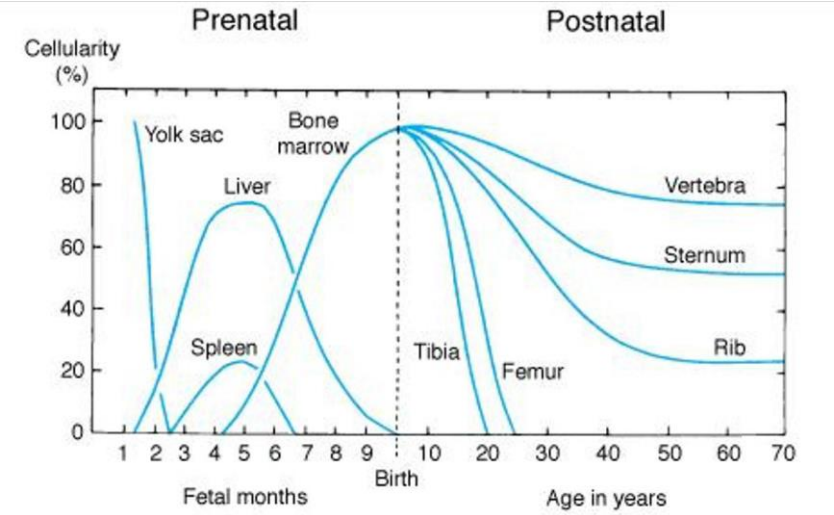
1. مغز زرد استخوان (دلیل زرد بودن هجوم چربی هاست)
2. مغز قرمز استخوان

در مواردی که خون سازی و تسریع عمل آن نیاز است، مغز زرد به مغز قرمز تبدیل می شود و اگر خون سازی لازم نباشد مغز قرمز به مغز زرد تبدیل می شود.

❋پس از تولد تولید لنفوسیت های B در مغز استخوان و اعضاء لنفاوی ثانویه ادامه می یابد؛ در حالی که لنفوسیت های T در تیموس و همچنین اعضاء لنفاوی ثانویه تولید می شوند.

❋ پس از 13 سالگی تیموس آتروفی شده و سلول های T با قدرت خودبازسازی به حیات خود ادامه می دهند.

❊ مگالوبلاست (بلاست یعنی سلول اولیه و مگا یعنی بزرگ) به معنای سلول بزرگ اولیه است که در هسته ی آن، هستک هم وجود دارد.



ویژگی های سلول های بنیادی خون ساز

1. تعداد کم و ثابت (کمتر از 1 % سلول های مغزاستخوان)
2. دارای خاصیت خودبازسازی (Self Renewal) در فاز G_0 چرخه سلولی به سر می برند
3. از نظر مورفولوژی مشابه بلاست ها هستند
4. در جایگاه خاصی در مغز استخوان به نام Niche ❊حضور دارند

❊**Nich**: در داخل لومن استخوان صاف نیست و زوائد زیادی وجود دارند؛ جایگاهی است که یک گلبول قرمز در آن جای می گیرد و اگر تقسیم شود به داخل لومن استخوان می افتد.

5. چند قوه ای یا چند پتانسیلی و غیر متعهد uncommitted هستند
6. شواهدی وجود دارد که HSC ها می توانند به سلول های غیر خون ساز تبدیل شوند

7. استئوکلاست ها (بخشی از سیستم مونوسیتی- فاگوسیتی) از سلول بنیادی خون ساز به وجود می آیند

تقسیم بندی سلول های بنیادی از نظر توانمندی

TotipotentialStem cells:

1. دارای بیشترین قدرت
2. توانایی ایجاد جفت و جنین

❊ toti به معنای همه است و این سلول ها قابلیت تبدیل به همه ی سلول ها را دارند.

PluripotentialStem Cells :

1. زودرس ترین سلول نارس در بدن ما که در BM وجود دارد
2. قابلیت تولید سلول های خون ساز و سلول های استرومال دارند
3. از نظر شکل ظاهری شبیه بلاست ها دارند
4. کمتر از 1 % سلول های مغز استخوان را تشکیل می دهند

MultipotentialStem Cells :

CFU-GEMM خیلی محدود شده اند و فقط می توانند چند رده خونی را ایجاد کنند (کلونی چند قوه زا است که احتمالاً به گرانولوسیت، اریتروسیت، مونوسیت یا مگاکاریوسیت تبدیل می شود).

❊مونوسیت تنها سلولی است که می تواند به بافت برود و برگردد.

❊CFU مخفف Colony Forming Unit است.

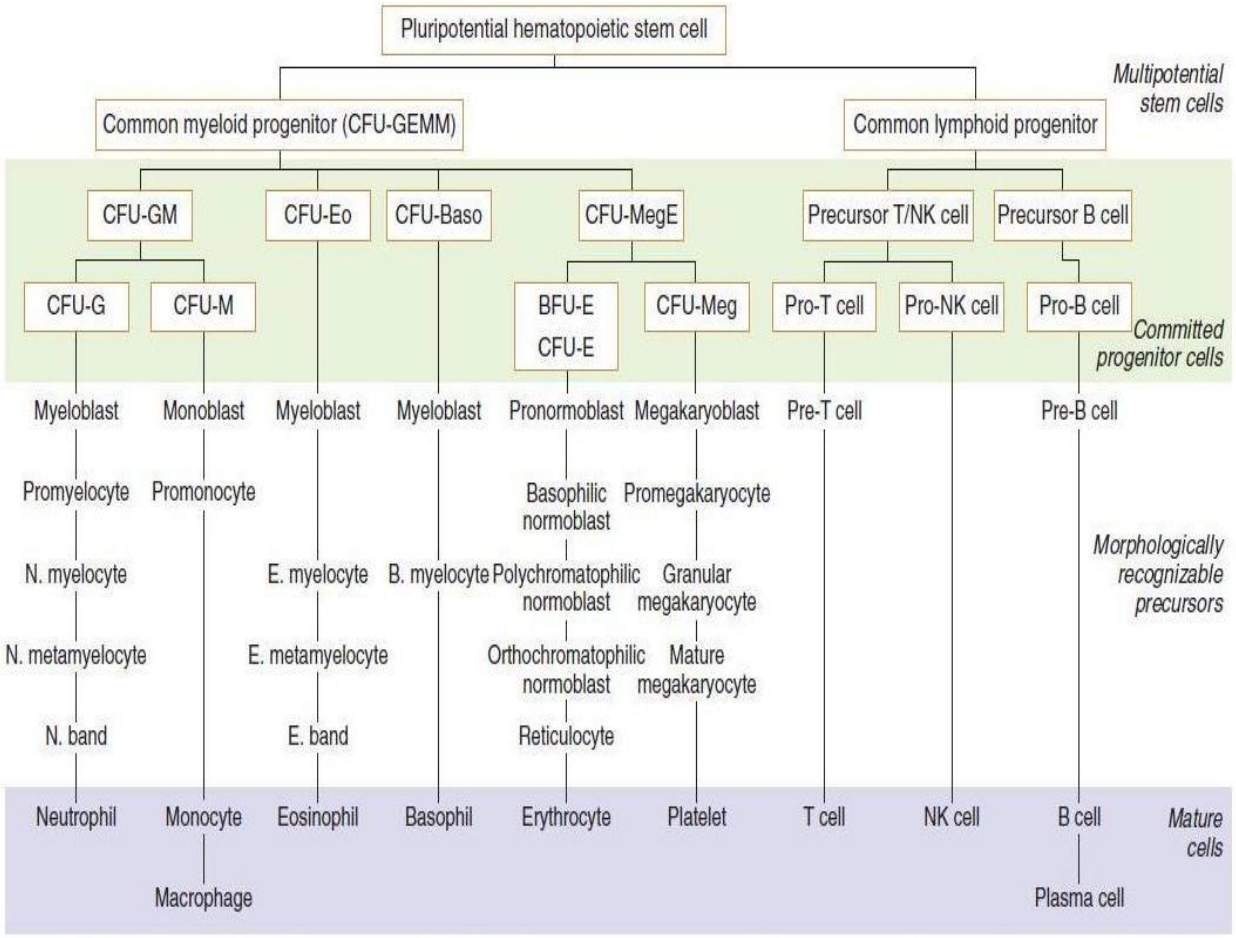


Figure 31-1 Hypothetical scheme of hematopoiesis. *B.*, Basophil; *BFU-E,* burst forming unit-erythrocyte; *CFU-Baso,* colony-forming unit-basophil; *CFU-E,* colony-forming unit-erythrocyte; *CFU-Eo,* colony-forming unit-eosinophil; *CFU-G,* colony-forming unit-granulocyte; *CFU-GEMM,* colony-forming unit-granulocyte/erythrocyte/macrophage/megakaryocyte; *CFU-GM,* colony-forming unit-granulocyte/macrophage; *CFU-M,* colony-forming unit-macrophage; *CFU-Meg,* colony-forming unit-megakaryocyte; *CFU-MegE,* colony-forming unit-megakaryocyte/erythroid; *E.*, eosinophil; *N.*, neutrophil.

Hematopoietic Growth Factors:

فاکتورهای بیوشیمیایی متصل به غشا یا محلول که در کنترل خونسازی دخالت دارند.

فاکتور محرک کلنی گرانولوسیت- ماکروفاژ GM-CSF :

1. فاکتور پان میلوییید، اما به طور عمده موجب افزایش نوتروفیل ها، مونوسیت ها، ائوزینوفیل ها و تشدید بیگانه خواری می شود
2. به طور بالینی برای مقابله با نوتروپنی در بیماران شیمی درمانی یا تحت پیوند مغز استخوان

(فاکتور محرک کلنی گرانولوسیت) G-CSF :

1. GM-CSF اغلب در درمان نوتروپنی استفاده می شود
2. CSF-1 یا (فاکتور محرک کلنی مونوسیت–ماکروفاژ) M-CSF: القاء تولید IL-1 از ماکروفاژها

اریتروپوئتین (EPO):

1. تحریک رشد و تمایز پیش سازهای اریتروئید
2. اثر غالب روی CFU-E ، پرونرموبلاستها و بازوفیلیک نرموبلاست ها
3. تولید در بالغین به طور عمده در کلیه ها (90 ٪) و به مقدار کمتر در کبد (10٪)
4. القاء تولید توسط هایپوکسی
5. زمان ایجاد پرونرموبلاست را کوتاه می کند و سبب آزاد شدن زودرس رتیکولوسیت به خون می شود
6. رسپتور اریتروپوئتین خاصیت تیروزین کینازی ندارد و مسیری که پیام آن را به داخل سلول منتقل می کند Jak2/Stat5 است

ترومبوپوئتین (TPO) :

1. تنظیم کننده اولیه تولید پلاکت
2. حضور آن برای بلوغ کامل مگاکاریوسیت ها و افزایش تولید پلاکت ها ضروری است
3. C-mpl یا CD_{110} رسپتور ترومبوپوئتین است

IL-3: اثر روی CFU-GEMM ، نام دیگر آنMultiCSF

IL-7 (لمفوپروتئین): اثر روی Pre-T و Pre-B

IL-5: اثر روی ائوزینوفیل ها

*اینترلوکین **5** در بیماری های انگلی و آلرژی روی بلاست اولیه اثر گذاشته و ائوزینوفیل ها را زیاد می کند.

IL-6,9,11: اثر روی مگاکاریوسیت ها

لیگاند **(KL) Kit:** Stem Cell Factor , Mast Cell Growth Factor

لیگاند Flt-3 (FL):

بیشترین بیان توسط سلول های مونونوکلئر خون محیطی

Bone Marrow Structure

سلول های خون ساز : ساکنین موقت مغزاستخوان، بعد از بلوغ وارد خون

سلول های پشتیبان :Stromal Cells بافتی حمایت کننده،محیطی مطلوب برای رشد و تکثیر سلول های خونی

سلول های پشتیبان:

- آدیپوسیت هاFat Cells

•اندوتلیال

•فیبروبلاست

• Reticular Adventitial Cells مثل نگهبان،با قدرت انقباضی و انبساطی خود، کنترل عبور و مرور سلولها. همچنین ساخت رشته های رتیکولنی

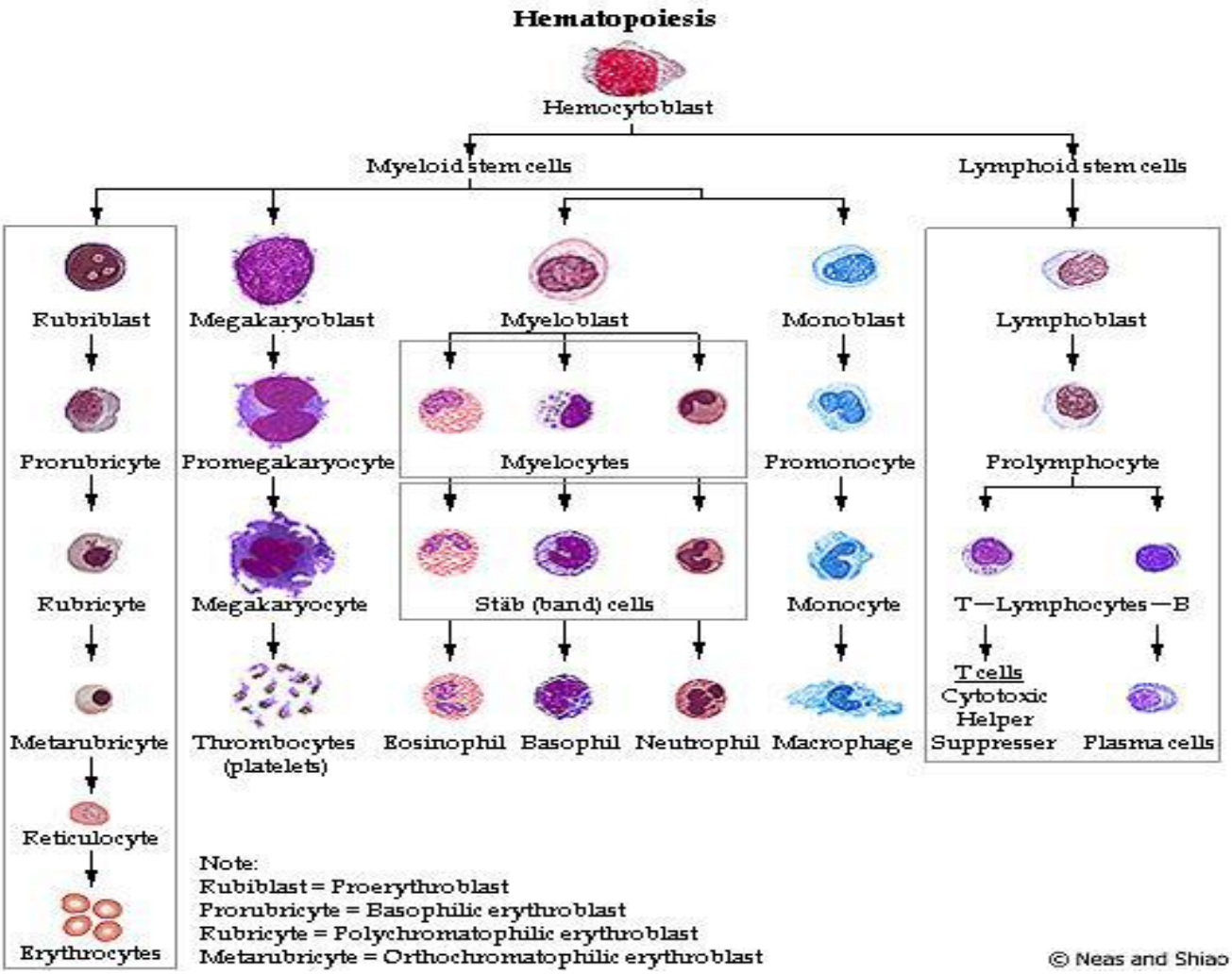
•ماکروفاژها

•سلول هایT

بافت های دخیل در خونسازی:

1. کلیه (ترشح اریتروپویتین)
2. روده ها(جذب آهن و اسید آمینه)
3. طحال، کبد
4. استخوان (Rib-Sternum-Vertebrae)

❊ shift to left یعنی حضور گلبول های نابالغ در خون و shift to right یعنی حضور گلبول های بالغ در خون.



❊در کم خونی جبران پذیر رتیکولوسیت زیاد شده است.

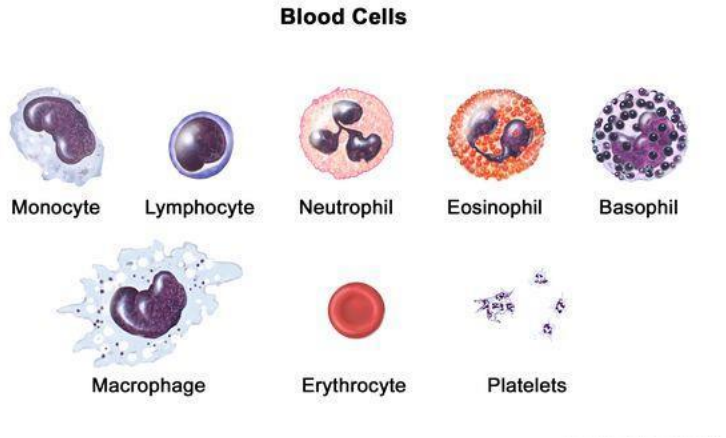
❊ در کم خونی جبران ناپذیر مغز استخوان پاسخی نداده وسلول نابالغ(رتیکولوسیت) در خون زیاد نشده است.

❊اگر مراحل قبل از رتیکولوسیت در خون دیده شود(مثل متاروبروسیت) نشان دهنده ی لوسمی است.

طبق روش **FAB (French American British)** چهار نوع لوسمی وجود دارد:

1- CLL (Chronic Lymphocyte Lukemia)
2- ALL (Acute Lymphocyte Lukemia)
3- AML (Acute Myeloid Lukemia)
4- CML (Choronic Myeloid Lukemia)

*در **CML** همه ی رده های نابالغ سلول های خونی وجود دارند.



بازوفیل: گرانول آبی تا آبی تیره(سیاه) دارد و گاهی انقدر گرانول ها زیادند که هسته دیده نمی شود و هسته ی دو لوبه دارند و حاشیه سلول گرد است.

لنفوسیت: 3 نوع است(کوچک، متوسط و بزرگ)، بر اساس فعالیت بیشتر در آنتی بادی بزرگ تر می شود و اکثریت سیتوپلاسم سلول هسته پوشانده و ممکن است سیتوپلاسم به صورت هاله ای روشن دیده شود.

ائوزینوفیل: گرانول های قرمز نارنجی تا قرمز کثیف (بر اساس نوع حیوان) دارد و هسته دولوبه است(معمولاً همراه بازوفیل افزایش می یابد و کاهش این دو سلول را هیچ وقت بررسی نمی کنیم چون هر دوتا بین 5-0 درصد گلبول های سفید خونند.

نوتروفیل: سیتوپلاسم شفاف، گرانول ها معمولاً رنگ نمی گیرند(مگر اینکه زیاد در رنگ آمیزی قرار گیرد) و هسته چند لوبه(5-3 لوبه) دارد و اگر بیش از 5 لوب هسته داشته باشد نوتروفیل پیر است (هایپرسگمنتد نوتروفیل نامیده می شود و نشانه ی انحراف به راست است).

مونوسیت: بزرگترین گلبول داخل گردش خون عمومی است و نسبت هسته به سیتوپلاسم 50 ٪ است و هسته وسیتوپلاسم شکل خاصی ندارند(ممکن است ستاره ای، گرد و ... باشد).

تفریق مونوسیت و لنفوسیت:

1- ابعاد منوسیت بزرگ تر است

2- نسبت هسته به سیتوپلاسم مونوسیت کمتر است(90 درصد سیتوپلاسم لنفوسیت هسته است)

3- مونوسیت شکل خاصی ندارد

4- رنگ پذیری مونوسیت ها کم رنگ تر است(هسته کم رنگ تری دارد)

پلاکت ها: کوچک اند، زاویه دارند(ستاره ای شکل)، هرچقدر فعالیت شان بیشتر باشد زوائد بیشتر و هر چقدر فعالیت شان کمتر باشد گرد ترند؛ گاهی در روند انعقاد خون به هم می چسبند و Giant cell ایجاد می کنند.

RBC: مقعر الطرفین (biconcave) است، وسط کم رنگ ترو نازک تر است(central polar).

❋در کم خونی فقر آهن RBC وسطش کمرنگ تر و ناحیه کم رنگ بزرگ تر می شود.

❋RBC در روند بلوغ هسته خود را از دست می دهد به استثنای طیور، دوزیستان و آبزیان.

محرک های خون سازی:

1- اریتروپویتین

2- هیپوکسی

3- هورمون های جنسی مردانه(تستوسترون و TSH)

کنترل خون سازی توسط اریتروپویتین و گیرنده های Fas و Fasl انجام می گیرد.

Fas رسپتور غشایی است که در همه ی رده های پیش ساز RBC وجود دارد.

Fasl رسپتور هایی که فقط روی روبریسیت و متاروبریسیت وجود دارد.

❊اریتروپویتین به گیرنده های Fas و Fasl در روی گلبول های قرمز وصل می شود(مقدار اریتروپویتین با حجم خون سازی فیدبک منفی دارد).

❊پروژسترون اثر منفی روی خون سازی دارد.

❊اینترلوکین های 1 و 3 و 5 هم خون سازی را تحریک می کنند.

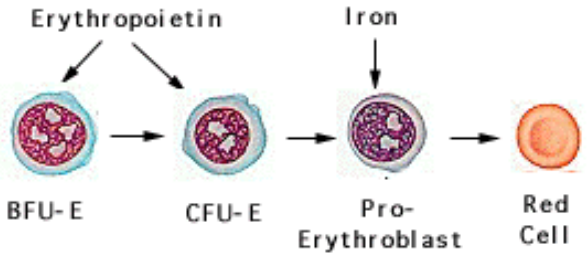
❊سطح پایین اریتروپویتین باعث آپوپتوزیس در بافت مغز استخوان می شود.

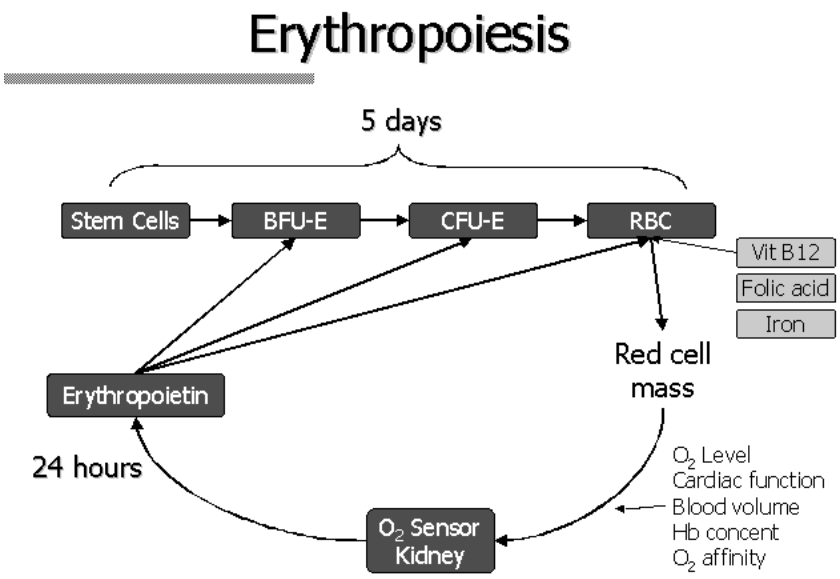
اریتروپویتین هورمون گلیکوپروتئینی است که از کلیه و کبد(کبد قبل از تولد و کمی بعد از تولد تولید می کند) ترشح می شود و سلول هدف آن سلول های متعهد اریتروئید (Comitted erythroid GEMM) است. به ازای هر 300-200 رسپتور اریتروپویتین وجود دارد و میزان اریتروپویتین با آنمی و هموگلوبین تنظیم می شود.

Transit Time: زمانی که سلول از stem cell(سلول اولیه) به RBC بالغ تبدیل شود (5 روز) و به خون تحویل داده شود را گویند.

❊اریتروپویتین عمر گلبول ها را بیشتر می کند و زمان تبدیل گلبول ها(بالغ شدن) را کمتر و تعداد گلبول ها را بیشتر می کند.

Figure 3



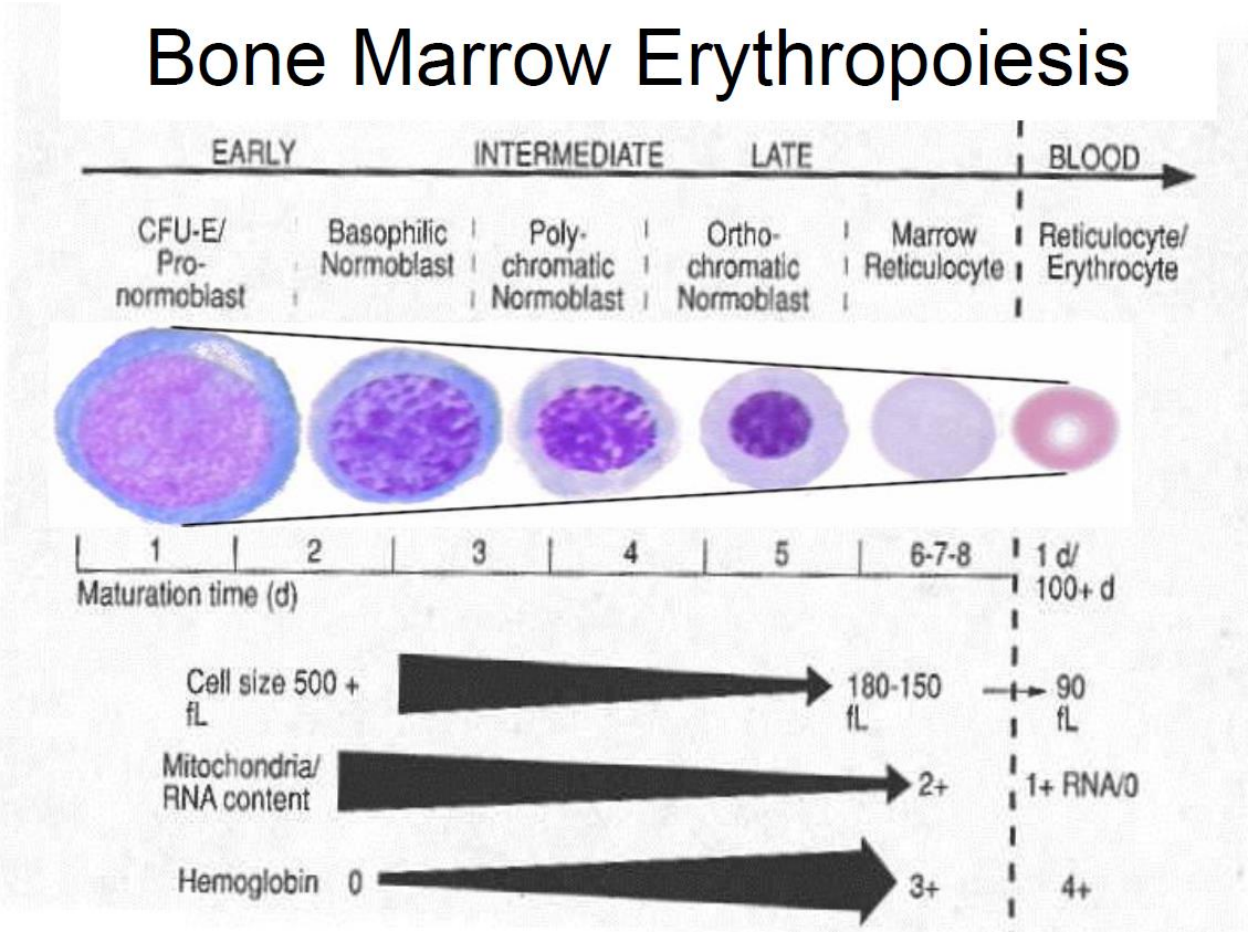


اریتروپویتین توسط فیبروبلاست های بینابینی در کلیه در ارتباط نزدیک با غلاف مویرگی و لوله پیچ خورده نزدیک تولید می شود.

سلول های perisiusoidal کبد در دوران قبل از تولد و کمی بعد از تولد اریتروپویتین تولید می کنند.

❊طحال پرکار(Hyperspleenism) مقدار RBC را پایین می آورد و باید برای رفع این مشکل با مداخله جراحی اسپیلنکتومی کنیم.

اریتروپوئز بر اساس رنگ پذیری در شکل زیر آورده شده است:



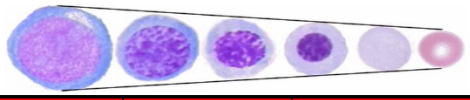
❊RNA و میتوکندری در اریتروپوئز رفته رفته کم رنگ تر می شوند.

❊ رتیکولوسیت از لحاظ اندازه از RBC بالغ بزرگ تر، بقایای هسته دارد و سرخابی polychromagy یا چند رنگی است و هم هموگلوبین(رنگ قرمز) و هم ریبوزوم و بقایای هسته(رنگ آبی) در آن وجود دارد.

❊گلبول های اولیه(بلاست ها) بزرگ ترند و نسبت هسته به سیتوپلاسم در آنها بزرگ تر است و سیتوپلاسم بازوفیلی تری دارند چون فعالیت تقسیم سلولی دارند(رفته رفته این فعالیت کم می شود) و گرانول های اولیه یا آزروفیلیک دارند و دارای هستک هستند که نقاط روشن تری اند و هسته هم باز تر و روشن تر است.

❊ در بررسی هسته سلول باید ظاهر هسته، سایز، نسبت هسته به سیتوپلاسم، شکل و رنگ را بررسی کنیم و در بررسی سیتوپلاسم سلول باید رنگ(بازوفیلی تر یعنی نابالغ تر و فعالیت آن بیشتر)، مقدار(هر چه مقدار سیتوپلاسم بیشتر بالغ تر)، سایز، شکل و محل قرار گیری بررسی شود.

Precursor Characteristics



Cell	Size	N/C Ratio	Cytoplasm	Nucleus
Rubriblast	14 – 20 μm	8:1	Basophilic	1-3 nucleoli Lacy chromatin
Prorubricyte	10 – 16 μm	6:1	Basophilic	Indistinct nucleoli Condensing
Rubricyte	10 – 12 μm	4:1	Gray pinking	Coarsely clumped Eccentric
Metarubricyte	8 – 10 μm	1:2	Violet-pink	Small, dense Eccentric
Reticulocyte	7 – 10 μm	N/A	Polychromat o-philic	None
Erythrocyte	7 – 9 μm	N/A	Pink	None

مراحل ساخت گلبول قزمز:

1- روبریبلاست: کروماتین باز، 3-1 هستک

2- پروروبریسیت: ممکن است هستک دیده شود یا دیده نشود

3- روبریسیت: هسته جمع شده و مرکزی است(سیتوپلاسم صورتی خاکستری است)

4- متاروبریسیت: سیتوپلاسم آبی صورتی، هسته کوچک متراکم و میانی

فاقد هسته هستند

5- رتیکولوسیت: سیتوپلاسم پلی کروماتیک (چند رنگی)

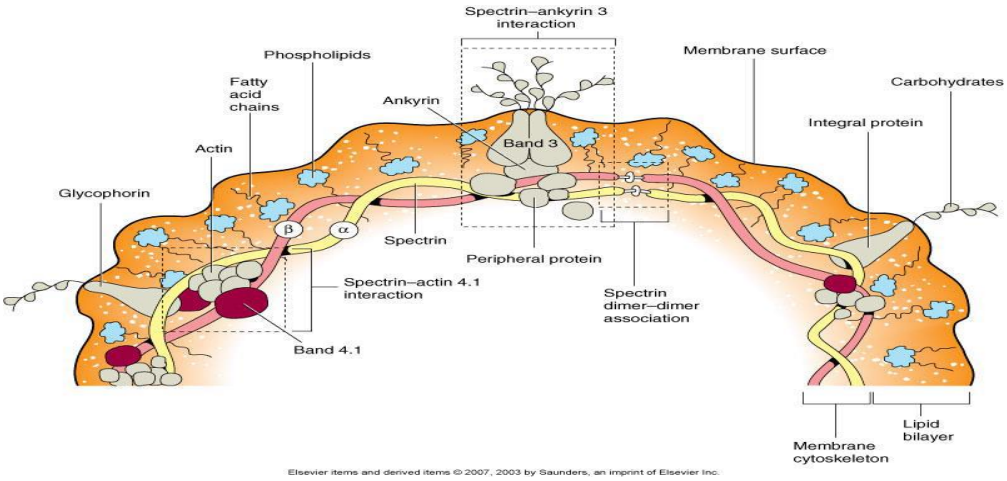
6- اریتروسیت: سیتوپلاسم صورتی رنگ

محتوای RBC: 40٪ لیپید، 52٪ پروتئین، 8٪ کربوهیدرات(موجود در گلیکوکالیکس).

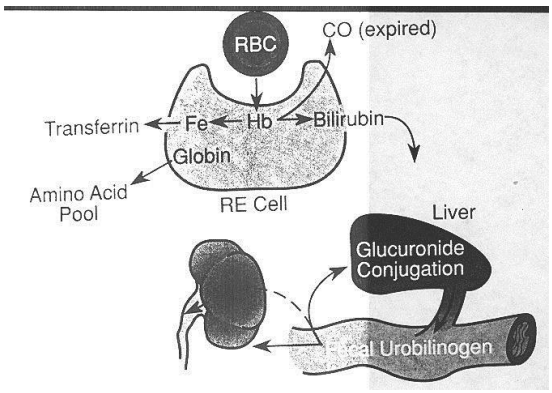
❊در غشای گلبول قرمز، پروتئین های peripheral شامل α و β + آکتین و باند های 1 و 2 و پروتئین های سرتاسری Integral شامل باند 3 + گلیکوفورین A وجود دارند.

❊لیپیدها شامل فسفولیپید ها، کلسترول می باشند.

❊ اگر کلسترول در RBC افزایش یابد حالتی به نام Target cell ایجاد می شود.



حذف RBC: تخریب داخل عروقی(در حال گردش خون) و تخریب خارج عروقی(در سیستم رتیکولواندوتلیال مثل طحال)

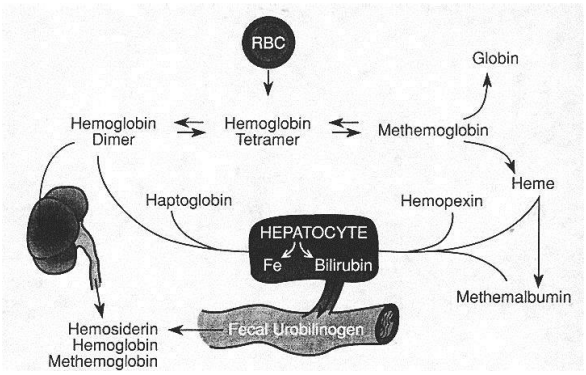


Extravascular Hemolysis

RBC → Iron : ferritin, hemosiderin; Globin chains

Heme

Bilirubin (excreted through bile duct)



Intravascular Hemolysis

RBC → Hemoglobin: binds haptoglobin (plasma protein)

Iron → Iron : binds transferrin

Globin chain

Heme → Binds hemopexin

عوامل تخریب RBC در طحال:

1- غشا RBC غیر نرمال باشد

2- کاهش آنزیم رخ داده باشد

3- هموگلوبین پاتی رخ داده باشد مثل بیماری کم خونی داسی شکل که موجب شکنندگی گلبول قرمز می شود(هموگلوبین دو تا رشته α و دو تا رشته β دارد که در این کم خونی جابجایی در رشته β رخ می دهد).

عوامل حذف RBC در گردش خون:

1- تمام شدن عمر RBC(120 روز در انسان و 160 روز در گاو)

2- سیستم کمپلمان

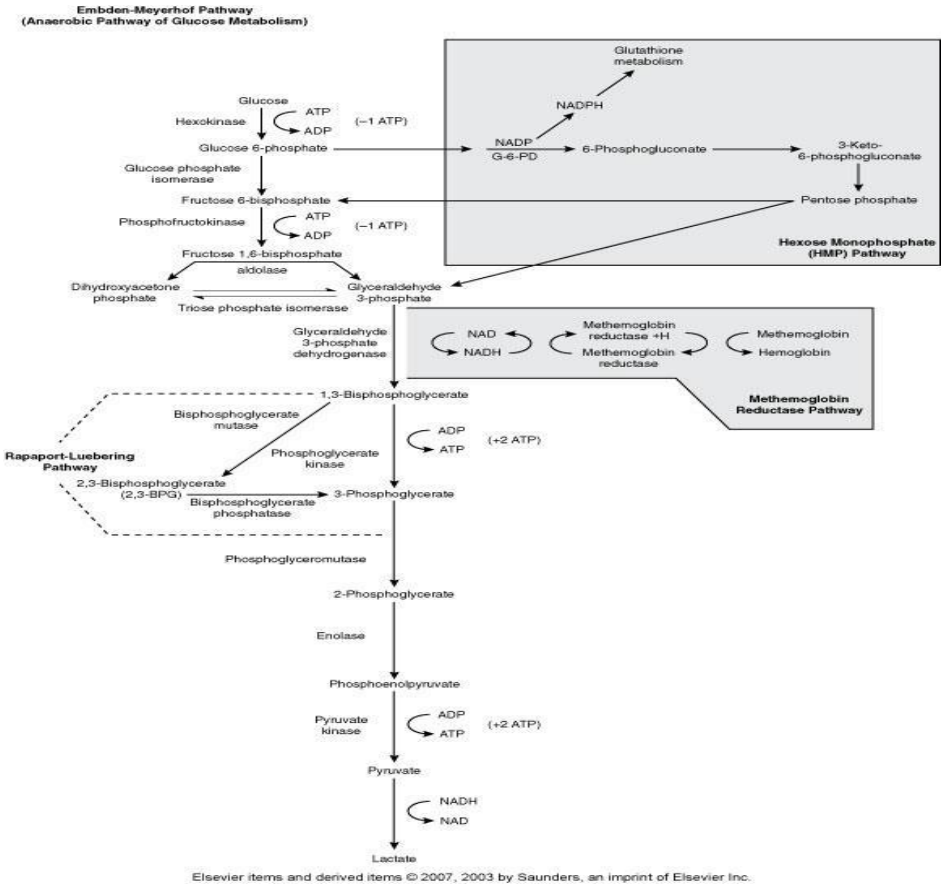
3- آسیب های فیزیکی و مکانیکی(تروما، DIC)

***DIC انعقاد منتشر داخل عروقی است که در آن خون منعقد شده و یک مانع فیزیکی ایجاد می شود که RBC ها به این مانع برخورد می کنند و لیز می شوند.**

4- مشکلات روی دریچه قلب

5- توکسین ها (باکتریایی یا مسمومیت با آرسنیک)

تفریق همولیز داخل عروقی و خارج عروقی: در آزمایشگاه در همولیز داخل عروقی نمونه خونی که گرفته می شود پلاسمایش قرمز رنگ است چون هموگلوبین آزاد در خون وجود دارد و در همولیز خارج عروقی پلاسما زرد تیره است چون هموگلوبین تجزیه گشته و بیلی روبین زیاد شده است.



منبع اصلی تأمین انرژی در RBC گلوکز می باشد که 4 مسیر متابولیسمی دارد که در هر کدام از این 4 مسیر یک بخش مسئول تولید ATP و بخش دیگر مسئول مهار مواد مضر مثل اکسیدان هایی که حین تولید ATP ایجاد می شوند است:

مسیر 1، مسیر امبدن–میرهوف(EMP): مسیر بی هوازی است که طی آن گلوکز به لاکتات و ATP تبدیل می شود و در صورت رخداد مشکل در این مسیر آنمی همولیتیک و کمبود PK رخ می دهد.

مسیر 2، Hexose Monophosphate Shunt: طی این مسیر گلوکز–6–فسفات به 6PG تبدیل و NADH تولید می شود و بالانس اکسی متهموگلوبین ایجاد می کند و در صورت رخداد مشکل در این مسیر آنمی همولیتیک رخ می دهد.

مسیر **3، rapaport leubering shunt**: طی این مسیر 1و3 دی فسفوگلیسرات تجزیه و 2و3 فسفوگلیسرات تولید می شود که توانایی چسبیدن هموگلوبین به اکسیژن را ایجاد می کند و در صورت رخداد مشکل در این مسیر هیپوکسی ایجاد می شود.

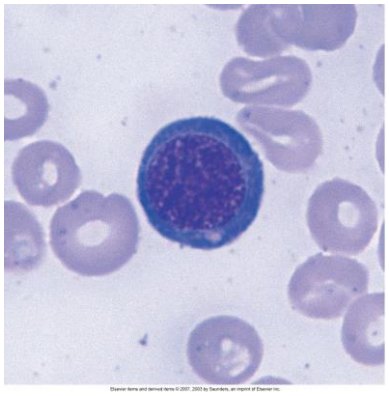
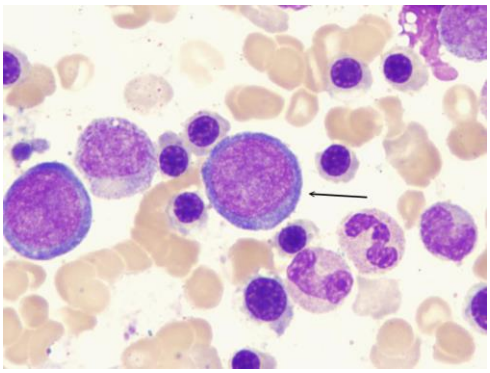
مسیر **4، methemoglobin reductase**: طی این مسیر G-3-P به NADH و 1,3 دی فسفوگلیسرات تبدیل شده و موجب محافظت از هموگلوبین توسط اکسیده شدن ناشی از NADH می شود و در صورت رخداد مشکل در این مسیر آنمی همولیتیک و هیپوکسی ایجاد می شود.

Role of Metabolic Pathways

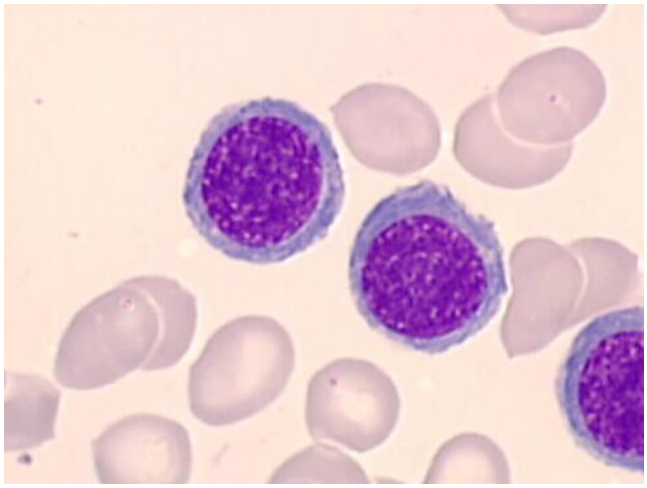
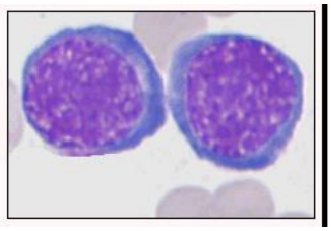
Pathway	Enzymes	Role	Problems
EMP	Phosphofructokinase Pyruvate kinase (PK)	Produce ATP RBC Shape (ion pumps)	Hemolytic Anemia PK Deficiency
HMS	Glutathione Reductase G6PD	NADPH Production OXY-METH HB Balance	Hemolytic Anemias
RLB	DPG Synthetase	2,3-DPG Production HB Oxygen Affinity	Hypoxia
MHBR	Methemoglobin reductase	Protects HB from Oxidation via NADH	Hemolytic Anemia Hypoxia

مراحل اریتروپوئز بر اساس رنگ پذیری:

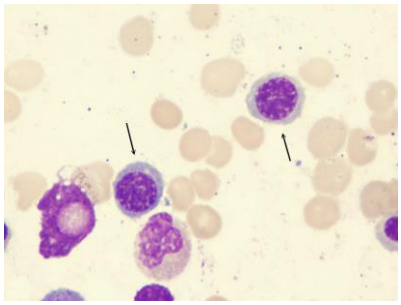
1- **پرونورموبلاست**: در گردش عمومی باشد، لوسمی رخ داده است. فعالیت میتوزی زیادی دارد و سیتوپلاسمش آبی رنگ است.

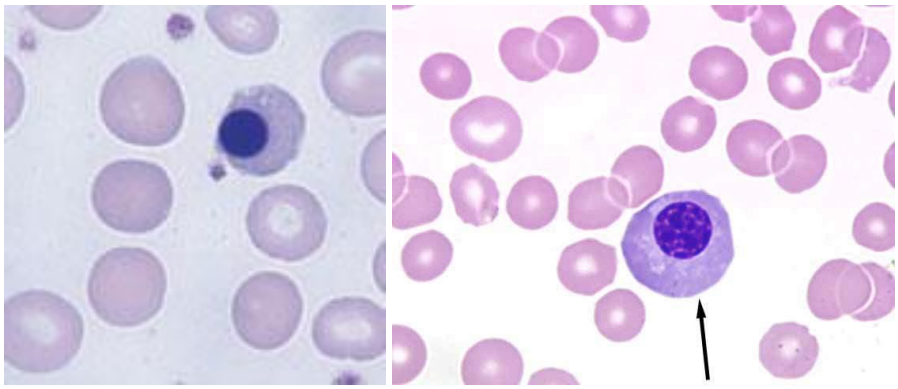
2- بازوفیلیک نورموبلاست: متراکم تر از بالایی است و سیتوپلاسمش آبی رنگ است.

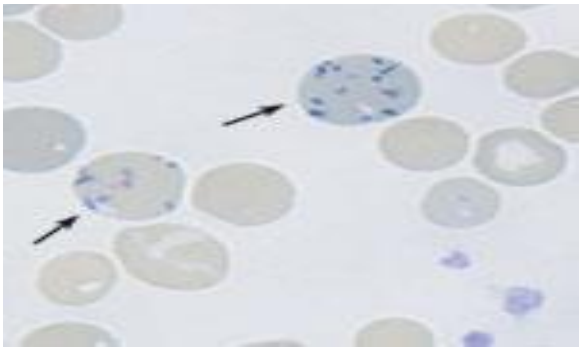
3- پلی کروماتوفیلیک نورموبلاست: رنگ سیتوپلاسم به خاکستری تبدیل می شود.



4- ارتوکروماتوفیلیک نورموبلاست: هسته مرکزی نیست و کناری است و متراکم شده و رنگ سیتوپلاسم قرمز تر می شود.



5- رتیکولوسیت(پلی کروماژی یا چند رنگی): در حالت عادی 5 ٪ RBC ها را تشکیل می دهد و اگر به بالای 5 ٪ (1000 تا RBC را شمارش کرده و درصد رتیکولوسیت ها را حساب می کنیم) برسد نشان دهنده ی کم خونی جبران پذیر است(رتیکولوسیتوزیس رخ می دهد که یعنی مغز استخوان پاسخ داده است). در گیمسا رتیکولوسیت رنگ سرخابی دارد و اندازه اش بزرگ تر از نوع بالغ RBC است.



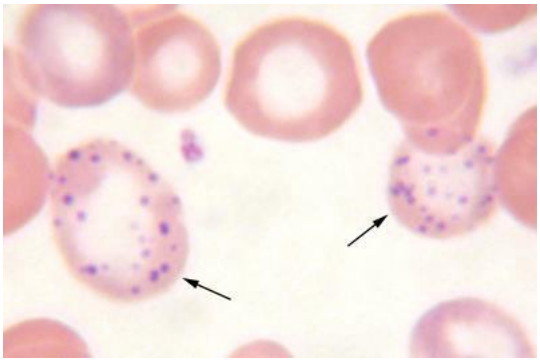
❊در اسب هیچ رتیکولوسیتی در هیچ شرایطی دیده نمی شود.

❊رنگ آمیزی حیاتی نیومتیلن بلو یا برلیانت کریزل بلو، رنگ آمیزی اختصاصی رتیکولوسیت هستند که در آنها بقایای هسته آبی و سیتوپلاسم سبز رنگ است(گلبول سبز رنگ است).

6- RBC بالغ یا اریتروسیت

❊هر چقدر سلول نابالغ تر باشد، گرانول ها و رشته هایش بیشتر و اندازه اش بزرگ تر است.

❊گاهی RBC ها به صورت بازوفیلی دانه دار هستند که نشان دهنده ی بقایای هسته است و نابالغ است که به آن **Basophilic Stippling** می گویند و از علائم کم خونی جبران پذیر می باشد.



❊دیدن رتیکولوسیت، پلی کروماژی، ماکروسیتوز، هاول ژولی بادی و **Basophilic Stippling از علائم کم خونی جبران پذیر هستند.**

❊هموگلوبین حداکثر 1/3 گلبول قرمز را فرا می گیرد.

کم خونی فقر آهن:

1- مرحله اول نورموسیت نورموکروم است(اندازه و رنگ RBC نرمال است)

2- مرحله دوم نوموسیت هیپوکروم است؛ چون هموگلوبین کمتر شده است

3- مرحله آخر میکروسیت هیپوکروم است که هم اندازه و هم رنگ کمتر شده است(ناحیه central polar کمتر شده)

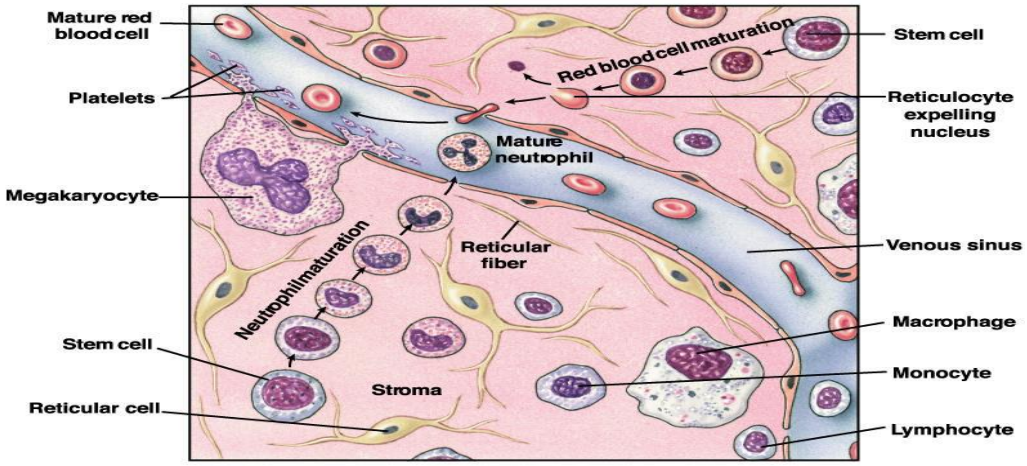
❊اصطلاح ماکروسیت برای RBC و مگالوسیت را برای گلبول های هسته دار(مغز استخوانی حاکی از لوسمی که shift to left است) استفاده می کنیم.

❊اصطلاح پلی کروماژی یا پلی کروماتیک را برای گلبول قرمز نابالغ رتیکولوسیت که چند رنگی است استفاده می کنیم.

کم خونی جبران ناپذیر:

هموگلوبین و RBC و هماتوکریت پایین آمده اند ولی رتیکولوسیتوزیس و Basophilic stippling (علائم پاسخ مغز استخوان) دیده نمی شوند. در این رخداد، مغز استخوان کم سلول است برخلاف کم خونی جبران پذیر که مغز استخوان پر سلول است.

❊مگاکاریوسیت بزرگترین سلول مغز استخوان است که سیتوپلاسمش به خون می ریزد و پلاکت ایجاد می کند.



توضیح شکل فوق: مایع استروما در مغز استخوان، مایع تغذیه ای است. سلول های رتیکولار و بافت چربی که جنس فیبروبلاست دارند، وظیفه ی تغذیه سلول ها را بر عهده دارند. RBC باید در مغز استخوان باریک شود تا از فیبروبلاست اندوتلیوم عروق خونی رد شود.

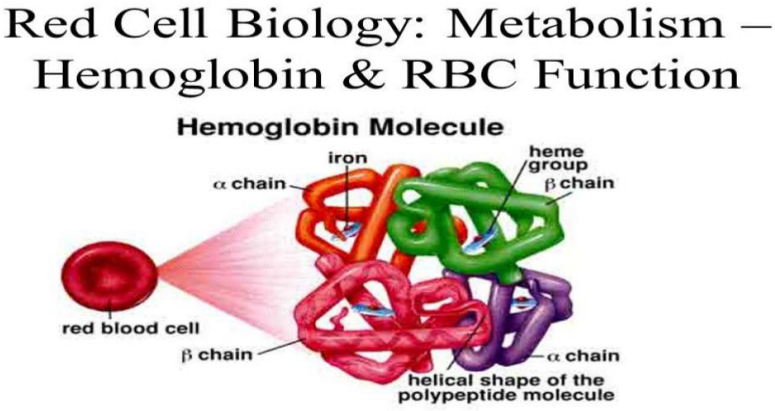
در 3 مرحله از زندگی هموگلوبین ها متفاوتند: Adult–3 Fetus–2 embryo–1

❋در دوره جنینی هموگلوبین بیشتر از نوع F است.

یکی از هموگلوبین ها Adult، A_{1c} نام دارد که $\alpha_2\beta_2$ glucose می باشد و وقتی که قند خون بالا بیاید(دیابت) ، گلوکز به این هموگلوبین متصل می شود و این فاکتور دائمی است و برای تشخیص دیابت استفاده می شود.

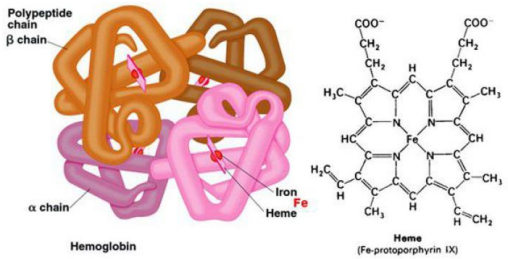
❋در آزمون قند خون ناشتا یا FBS (Fasting Blood Sugar) ، پاسخ انسولینی بدن را می سنجیم.

❋هر وقت قند از 180 mg/dl عبور کرد وارد ادرار می شود که این شرایط در حالت استرس هم رخ می دهد.



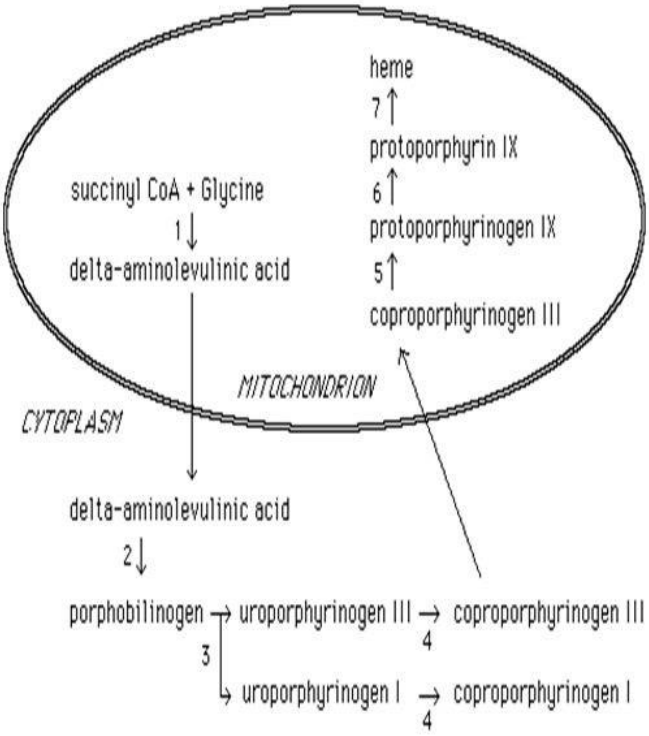
Hemoglobin Structure

- **Conjugated protein**
  - **Dimeric**
    - **2 α-globin chains**
    - **2 β-globin chains**
  - **4 heme groups**
    - **Four iron (ferrous) molecules**
    - **Four protoporphyrin IX rings**



Hemoglobin Synthesis: Heme

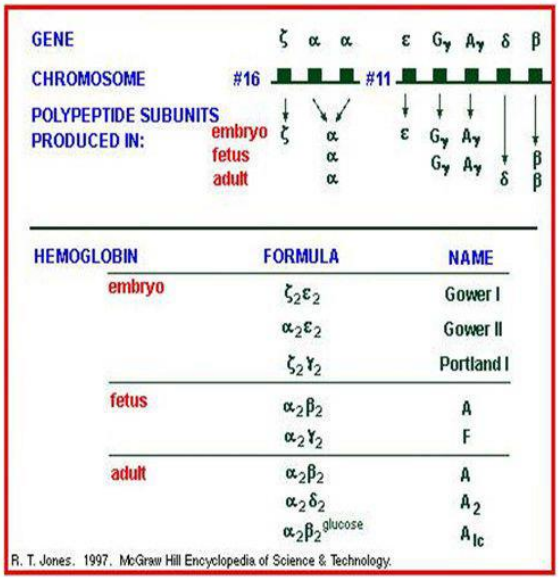
- 1 Aminolevulinate (ALA) synthase
- 2 ALA dehydratase
- 3 Uroporphyrinogen I synthase & Uroporphyrinogen III cosynthase
- 4 Uroporphyrinogen decarboxylase
- 5 Coproporphyrinogen III oxidase
- 6 Protoporphyrinogen IX oxidase
- 7 Ferrochelatase



@ dr.jrahmani
Instagram

Hemoglobin Synthesis: Globin

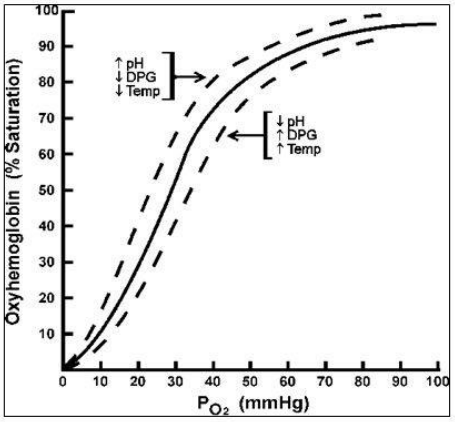
- Chains of amino acids
- Each protein is characterized by the number and sequence of amino acids
- Each globin chain is designated by a greek letter: α, β, γ, δ, ε, ζ
- Genetics
  - Chromosome 16 = α, ζ
  - Chromosome 11 = β, δ, ε, γ
- Synthesis in cytosol



@ dr.jrahmani
Instagram

Hemoglobin Function

- Hemoglobin must be able to bind oxygen in the lungs but release it in the tissues
- An oxygen dissociation curve illustrates affinity of oxygen for hemoglobin under various conditions
  - Partial pressure of oxygen/carbon dioxide
  - Concentration of 2,3-DPG
  - Concentration of hydrogen ions
  - Temperature
  - Concentration of fetal hemoglobin



@ dr.jrahmani
Instagram

اثر بوهر: هموگلوبین باید یا به اکسیژن یا به دی اکسید کربن متصل باشد. 4 عامل باعث می شوند تا اکسیژن در ریه ها به هموگلوبین وصل شود و در بافت ها به کربن دی اکسید:

1- دما؛ هرچقدر دما بالاتر رود باعث افزایش چسبیدن به اکسیژن می شود

2- PH

3- فشار گاز های خونی (در ریه که فشار گاز ها بالا است، باعث چسبیدن می شود)

4- 2و3 دی فسفوگلیسرات(در ریه ها و مقداری در کبد) موجب افزایش چسبیدن به اکسیژن می شود.

پس در ریه : **PH** پایین، **DPG** بالا و دما بالاست

و در بافت ها: **PH** بالا، **DPG** پایین و دما پایین است.

Hemoglobin Derivatives

Hemoglobin Name	Defect	Blood Concetration	Formation	Iron Oxidation State
Methemoglobin	Oxidized Iron	0.5-3.0%	reversible	Ferric
Carboxyhemoglobin	CO-bound HGB	<1%	reversible	Ferrous
Sulfhemoglobin	Sulfur-bound HGB	<0.1%	irreversible	Ferrous

By definition, a hemoglobin derivative differs from normal hemoglobin only by the molecule that occupies the space where oxygen binds. The resulting hemoglobin variant is **NON-functional**.

مشتقات هموگلوبین:

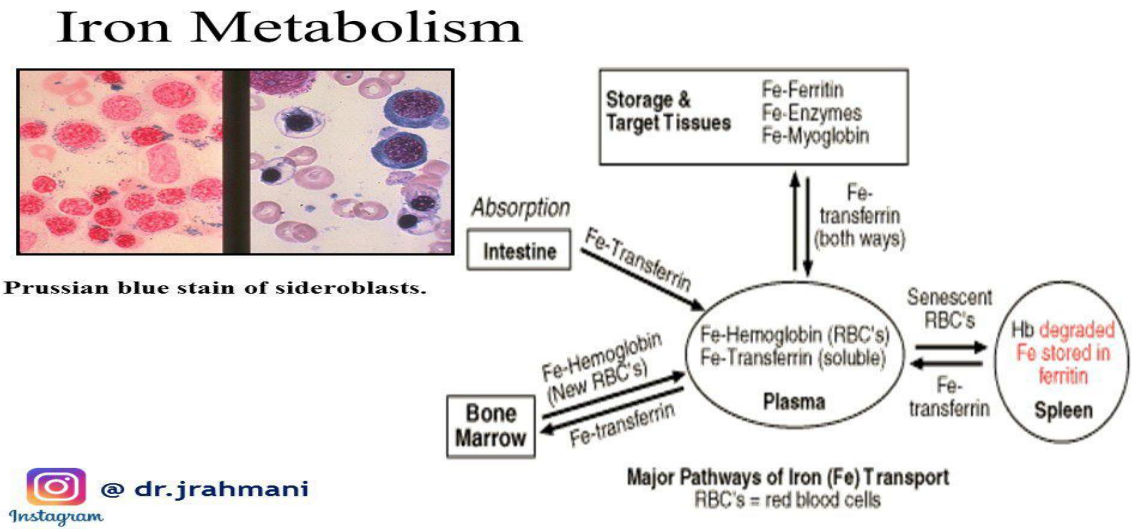
1. متهموگلوبین: Fe^{2+} آن، اکسید شده و به Fe^{3+} تبدیل شده است که این فرایند قابل برگشت است.
2. کربوکسی هموگلوبین: مونواکسید کربن با هموگلوبین باند شده که این فرایند قابل برگشت است. باید کمتر از 1 درصد هموگلوبین های بدن باشد.
3. سولف هموگلوبین: در مسمومیت های گوارشی و تنفسی رخ می دهد که غیر قابل برگشت است.

❊در بهترین حالت 10 درصد آهنی که می خوریم جذب می شود:

1-منابع هم(گوشتی)

2-منابع غیر هم(سبزیجات، لگومینه ها یا حبوبات)

ویتامین C در جذب آهن کمک می کند.



گردش آهن: در پلاسما آهن به شکل آزاد نیست و با پروتئین های ترانسفرین اتصال دارد و آهن به 2 حالت است یا به شکل متصل به هموگلوبین یا به شکل متصل با ترانسفرین است. آهن بوسیله ترانسفرین به طحال منتقل می شود و هموگلوبین در طحال لیز شده و آهن آن جدا می شود و به شکل فرتین ذخیره می شود(فرایند رفت و برگشتی).

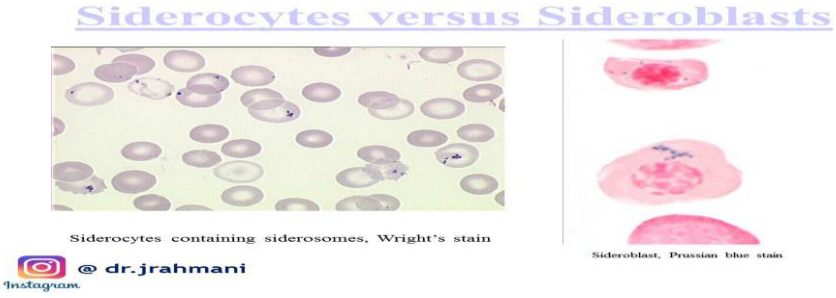
آهن توسط ترانسفرین به مغز استخوان منتقل می شود و در آنجا آهن برای ساخت گلبول قرمز استفاده می شود(فرایند رفت و برگشتی).

آهن در روده جذب می شود و بوسیله ترانسفرین وارد پلاسما می شود.

آهن در بافت های هدف و ذخیره ای، به شکل فرتین یا آنزیم یا میوگلوبین ذخیره می شود(فرایند رفت و برگشتی).

❊ترانسفرین در کبد ساخته می شود و در آسیب کبدی که میزان ترانسفرین پایین می آید، ازدیاد آهن و مسمومیت آهن در بافت ها(به صورت فرتین) بوجود می آید.

❊رنگ آمیزی اختصاصی آهن، آبی پروس است. سلولی که در آن آهن بالاست سیدروسیت نام دارد که ذخایر آهن آن آبی رنگ می شود.



برای سنجش هموگلوبین همه ی روش ها رنگ سنجی هستند؛ هموگلوبین یک کروموپروتئین است و هر چقدر هموگلوبین بالاتر رود، پررنگ تر می شود. متداول ترین روش سیانومتهموگلوبین است که در آن از یک محلول سیانیدی استفاده می کنیم(این محلول باید دور از نور مستقیم و در ظرف تیره باشد و نام این محلول دراپکین است). روش کار:

20 میکرولیتر از خون + 5 cc محلول دراپکین را 20 دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار داده و در این مدت گلبول ها لیز شده و هموگلوبین آزاد می شود و محلول واکنش رنگی ایجاد می کند. در طول موج 540 nm و در مقابل بلانک محلول دراپکین، جذب نوری نمونه را قرائت می کنیم.

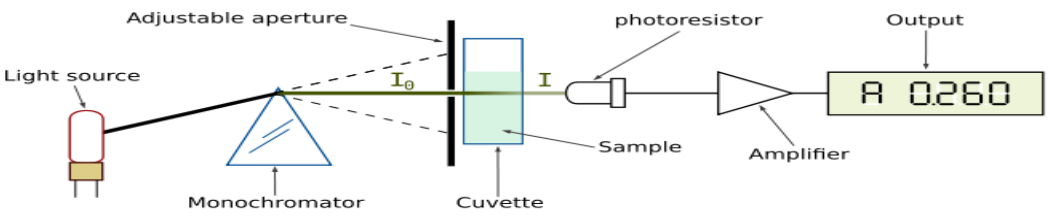
برای محاسبه غلظت دو روش وجود دارد:

1-تقریبی: جذب نوری نمونه را به ضریب 36.8 ضرب می کنند.

2-از منحنی استاندارد هموگلوبین استفاده می کنند.

روش اول:

قانون **Bear and Lembert**: هر گاه نور تک رنگی به یک محلول بخورد، قسمتی از نور جذب می شود و قسمتی عبور می کند. نور جذب شده با غلظت و شدت رنگ رابطه مستقیم و با نور رد شده رابطه عکس دارد.



گالوانومتر

❊عدد جذب نوری متناسب با شدت رنگ محلول است و شدت رنگ با غلظت ماده متناسب است.

❊مبنای تغییر طول موج: برای هر ماده، طول موج خاصی وجود دارد که بیشترین عدد را می دهد(منشور با تغییر طول موج می چرخد).

❊دلیل استفاده از Cuvette: چون تخت طراحی شده است، نور از آن یا عبور می کند یا جذب می شود و شکست پیدا نمی کند.

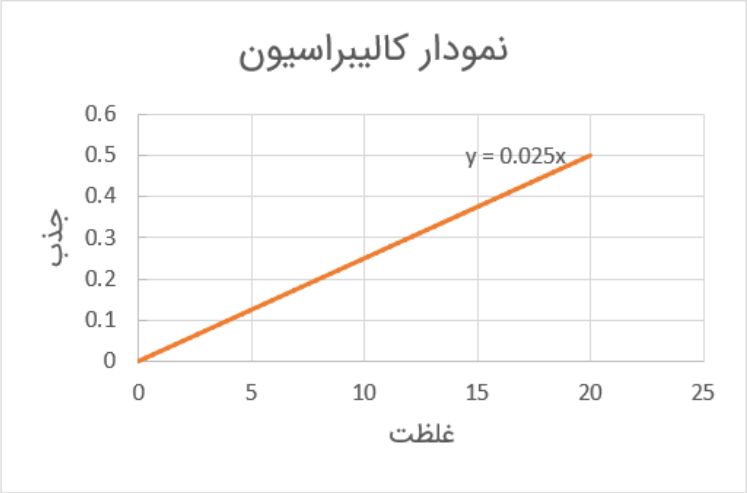
❊عدد ضریب: ابتدا محلول هایی با غلظت تعیین شده را اندازه گرفته و از روی عدد بدست آمده ضریب را پیدا می کنیم.

غلظت تقریبی هموگلوبین= ضریب 36.8×عدد جذب نوری

❊غلظت تقریبی هموگلوبین بر حسب g/dl یا گرم درصد (یعنی گرم در 100cc) می باشد.

❊1 lit= 1000 cc

روش دوم: محاسبه حقیقی



❊قبلاً غلظت ها را آزمایش کرده اند.

عدد جذب نوری بدست آمده را روی نمودار بررسی می کنیم.

❊دلیل استفاده از محلول بلانک: برای از بین بردن خطای آزمایش ناشی از جذب نوری معرف استفاده می شود.

❊محلول استاندارد: مقدار معینی از ماده را دارد.

اندیس های گلبول قرمز:

1-MCV (Mean Corpuscular Volume): میانگین حجم گلبولی است و بر حسب فمتولیتر (fl) محاسبه می شود.

$$MCV = \frac{\%Hct \times 10}{[RBC]}$$

In million/cu.mm

MCV = mean corpuscular volume
Hct = hematocrit
RBC = red blood cells

می توان از روش زیر هم محاسبه کرد:

$MCV = (PCV \times 10)/(RBC \times 10^6)$

❊ماکروسیت ها MCV بالایی دارند.

Normal range=80-97 fl

2-MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin): میزان هموگلوبین متوسط گلبول ها که بر حسب پیکوگرم (pg) محاسبه می شود.

MCH=(Hb(g/dl)×10)/RBC(in million/Cu.mm)

یا

$MCH=(Hb\times10)/(RBC\times10^{6})$

Normal range=27-31 pg

3-MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration): غلظت هموگلوبین به شکل درصد است که بر حسب ٪ یا g/dl محاسبه می شود.

MCHC=(Hb×100)/Hct or MCHC=(Hb×100)/PCV

Normal range= 32-36 (% or g/dl)

*حداکثر 1/3 یا 33٪ RBC هموگلوبین می باشد پس هیچ وقت افزایش حقیقی MCH و MCHC را نداریم.

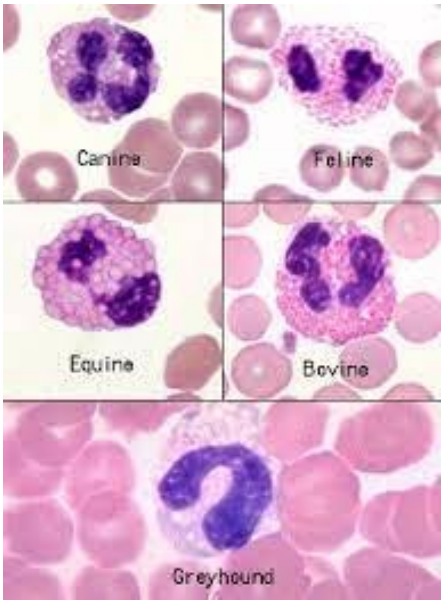
کم خونی:

1-تعداد RBC کم شده است 2-PCV از نرمال کمتر است

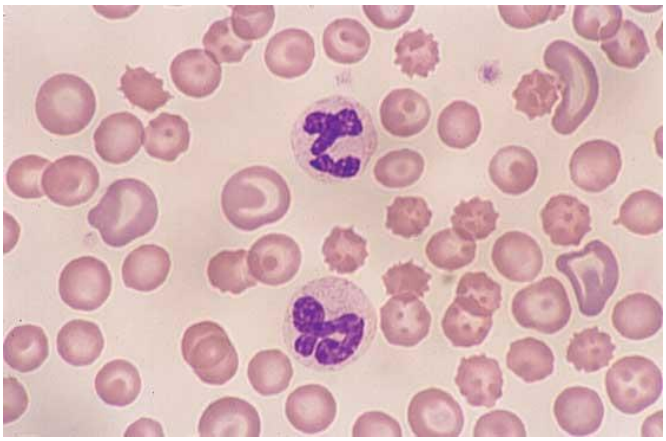
3-هموگلوبین کم شود 4-MCH و MCHC کم شود

شناسایی انواع خون حیوانات:

گاو: RBC گرد است و زیاد قابل تشخیص نیست–ائوزینوفیل دارای گرانول های گرد و هم اندازه و ریز و به رنگ قرمز روشن یا نارنجی است



گوسفند: RBC همانند گاو است– ائوزینوفیل شبیه گاو است ولی گرانول هایش درشت ترند – نوتروفیل ها همگی Hypersegmented هستند یعنی بیش از 5 لوب هسته دارند(در انسان 5٪ نوتروفیل ها این گونه اند).



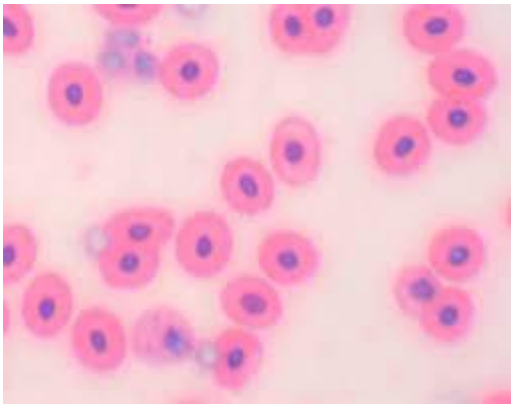
اسب: RBC به صورت رولکس است – ائوزینوفیل اسب دارای گرانول های بسیار درشت گرد و هم اندازه است که منظره تمشکی دارند.

شتر و خانواده شتر(لاما، آلپاکا): RBC ها اوالوسیت بدون هسته هستند

گربه: RBC ها حدود +1 تا +2 اکینوسیت و حدود +1 تا +2 رولکس است و 20 درصد RBC ها دارای اجسام هینز هستند–ائوزینوفیل ها گرانول های میله ای و به صورت کوتاه و خطی است.

سگ: RBC مشابه گربه است – ائوزینوفیل آن دارای گرانول های گرد غیر هم اندازه قرمز کثیف دارند.

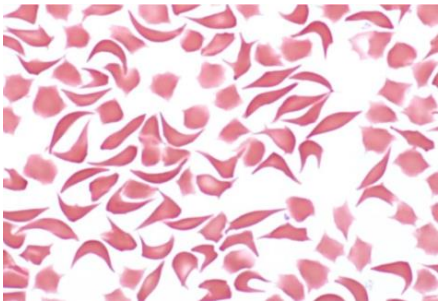
ماهیان، دوزیستان: RBC نه بیضی و نه گرد است و هسته دارد.



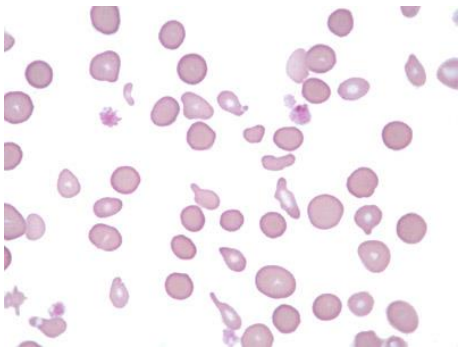
طیور: RBC اوالوسیت کامل و هسته دار است– به جای نوتروفیل، هتروفیل دارند.

❊هتروفیل سیتوپلاسم اسیدی و قرمز دارد و ائوزینوفیل کاذب است و تفاوت آن با ائوزینوفیل این است که شکل گرانول های ائوزینوفیل گرد و هتروفیل میله ای و خطی است.(در اردک برعکس مرغ است).

گوزن و آهو: RBC موزی شکل و داسی شکل است



بز: RBC ها کوچکترین در پستاندارن اند و پویکیلوسیتوز و آنیزوسیتوز شدید دارند.



شمارش گلبول های قرمز و سفید

شمارش گلبول های قرمز RBC Count

واحد آن میلی متر مکعب(3mm میکرو لیتر)است.

برای شمارش از لام نئوبار ،محلول رقیق کننده و پیپت رقیق کننده(ملانژور) استفاده می شود.

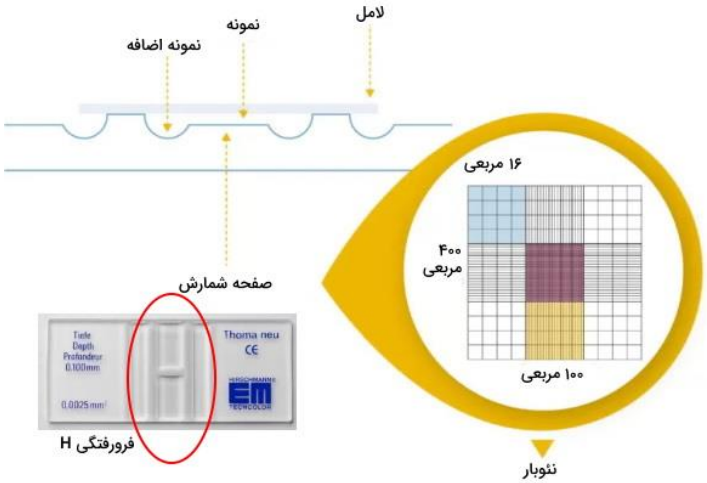
❊پیپت ملانژور:

این وسیله آزمایشگاهی در دو نوع سفید و قرمز به ترتیب برای اندازه گیری گلبولهای سفید و قرمز وجود دارد. هر یک از این ابزار ها از یک قسمت موئینه و یک قسمت حبابدار تشکیل شده اند . در

داخل حباب یک گرانول وجود دارد که برای مخلوط کردن خون با مایع رقیق کننده مورد استفاده قرار می گیرد. ملانژور مخصوص شمارش گلبول های قرمز می تواند خون را به نسبت ۱ به ۲۰۰ رقیق کند و **ملانژور مخصوص شمارش گلبول های سفید می تواند خون را به نسبت ۱ به ۲۰ رقیق نماید. پیپت ملانژور رقیق سازی خون برای شمارش RBC ، 101 واحد دارد و رنگ ساچمه آن قرمز است در صورتی که پیپت ملانژور رقیق سازی خون برای شمارش WBC ، 11 واحد دارد و رنگ ساچمه آن سفید است.**

لام نئوبار: از دو مستطیل شفاف در وسط تشکیل شده است که دارای درجه بندی برای شمارش گلبول سفید و قرمز است. هر مستطیل در زیر میکروسکوپ به صورت یک مربع ۳ میلیمتری که به ۹ مربع ۱ میلیمتری تقسیم شده است مشاهده می شود. مربع هایی که در چهارگوشه قرار دارند مسئول شمارش گلبول سفید می باشند و مربعی که در وسط قرار دارد، دارای تقسیم بندی ریزی است که برای شمارش گلبول قرمز باشد.

1) لام نئوبار 9 مربع بزرگ دارد
2) هر مربع بزرگ اضلاعی به ابعاد 1 mm دارد
3) مربع وسطی خودش به 25 مربع کوچکتر تقسیم شده است
4) از ۴ مربع بزرگ که در گوشه ها قرار دارند برای شمارش گلبول های سفید استفاده می کنند، از مربع های بزرگی که درون آنها W نوشته شده استفاده می کنند
5) از ۵ مربع کوچک که در چهار گوشه و وسط مربع بزرگ وسط قرار دارند برای شمارش گلبول های سفید استفاده می کنند، از مربع هایی که درون آنها R نوشته شده استفاده می کنند



لام نئوبار دو نوع است:

1) شیشه ای یا ساده
2) جیوه ای (آینه دار): در وسط بین دو لبه آن آینه ای شده است، جیوه انعکاس نور را بیشتر کرده و تشخیص گلبول ها راحت تر است.

دلیل رقیق کردن خون: چون تعداد گلبول ها زیاد است و شمردن آن ها با غلظت اصلی سخت است

دلیل استفاده از محلول رقیق کننده این است که چون تعداد RBC ها بیشتر از آن است که به راحتی بتوان شمرد، پس خون را رقیق کرده و بعد از شمارش عدد را در معکوس رقت ضرب می کنیم(اگر 200 برابر رقیق شده باشد ، باید عدد شمرده شده را در 200 ضرب کنیم).

ویژگی ها محلول رقیق کننده RBC:

1- شکل RBC را حفظ کند و آن را لیز نکند

2- گلبول های هسته دار و سفید را لیز کند

3- آنتی رولکس باشد

4- anti aggregationباشد(مانع تجمع RBC ها شود)

5- anti agglutinationباشد (از ایجاد لخته جلوگیری کند)

گلبول های قرمز دارای بار منفی در غشا هستند و همدیگر را دفع می کنند اما در برخی موارد(مثل التهاب یا عفونت)گلبول ها به هم می چسبند که در اینجا محلول رقیق کننده باعث می شوند که از هم جدا شوند.

آنتی بادی ها داری بار مثبت هستند، وقتی عفونتی در بدن اتفاق افتاد ،علیه آنتی ژن ها آنتی بادی ترشح می شود، آنتی بادی های با بار مثبت باعث خنثی شدن بار منفی گلبول ها و چسبیدن گلبول ها به هم می شود(رولکس به غیر از اسب نشانه التهاب است) .

از نمک طعام (NaCl) با غلظت مناسب(اگر غلظتی را بدست بیاوریم که ایزوتونیک باشد با غلظت درون گلبول های قرمز)می شود به عنوان محلول رقیق کننده استفاده کنیم اما به علت اینکه تعیین نسبت بسیار سخت است معمولا به کار گرفته نمی شود.

*** متداول ترین و مناسب ترین محلول رقیق کننده ،محلول هایم است .**

دلیل استفاده از ملانژور: زمانی که خون کمی در دسترس قرار دارد یا نمی توانیم به هر دلیلی از میزان خون زیاد استفاده کنیم.

روش شمارش**RBC**

پیپت را تا عدد 0.5 از خون پر می کنیم(با استفاده از خاصیت موئینگی)، سپس تا عدد101 از محلول رقیق کننده هایم پر می کنیم، بعد با دو انگشت یک دست به صورت افقی دو طرف پیپت را گرفته و بالا و پایین می کنیم(باعث مخلوط شدن خون و محلول رقیق کننده می شود) یا از دستگاه Shaker استفاده می کنیم و به مدت پنج دقیقه این کار را ادامه می دهیم، سپس دو تا سه قطره ابتدایی را خالی کرده و دور ریخته* و از قطرات بعدی برای شمارش استفاده می کنیم(اگر بیشتر از 3 قطره هم بیرون ریختیم مهم نیست زیرا نسبت و غلظت محلول خون به هم نمی خورد).

*** بعد از پر کردن ملانژور با محلول هایم، این محلول خون را به سمت مخزن هل داده و بنابراین از ابتدا تا واحد1 پیپت ملانژور فقط محلول هایم وجود دارد و خونی در آن نیست، پس 2 یا 3 قطره اول را دور می ریزیم تا محلول هایم خالص خارج شود و مخلوط هایم و خون به درون لوله برگردد.**

در زمان پر کردن با خون اگر از 0.5 بیشتر شد با استفاده از پنبه خشک آرام به نوک پیپت میزنیم تا کم شود، باید اطراف پیپت را تمیز کرد، بعد از پر کردن با محلول از ابتدا تا عدد 1 در پیپت فقط محلول رقیق کننده باقی میماند

محاسبه میزان رقیق سازی

2و 3 قطره اول آن را حساب نمی کنیم؛ ابتدا تا عدد 0.5 از خون پر کردیم و تا 101 محلول هایم کشیدیم، با دور ریختن 1 واحد ابتدایی، حال 100 واحد مخلوط خون و هایم داریم که0.5 واحد آن خون است، 0.5 واحد از 100 واحد معادل 1 واحد از200 واحد می باشد پس خون مد نظر 200 برابر رقیق شده است

فاصله لامل با لام نئوبار 0.1 mm است.

نحوه شمارش RBC توسط لام نئوبار:

1) برای شمارش گلبول های قرمز از مربع های کوچک R_1 ، R_2 ، R_3 ، R_4 و R_5 استفاده می کنیم
2) تمام گلبول های قرمز موجود در این ۵ مربع را شمرده و آنها را با هم جمع می کنیم

$$RT = R_1 + R_2 + R_3 + R_4 + R_5$$

3) ما خون را 200 برابر رقیق کردیم، پس عدد200 فاکتور رقت ما خواهد بود، از آنجایی که از25 مربع کوچک فقط 5 تا را شمرده ایم پس باید عدد شمرده شده را ۵ برابر کنیم، پس ۵ فاکتور سطح ما خواهد بود، از آنجایی که واحد حجم شمارش ما $1\ mm^3$ است و ابعاد مربع

بزرگ 1 mm ×1 mm است ولی فاصله لام نئوبار با لامل 0.1 mm است، پس باید این 0.1 را در 10 ضرب کنیم تا واحد حجم ما درست شود، پس 1 ۰ فاکتور ارتفاع ما خواهد بود

RBC count = RT × 200 × 5 × 10 = RT × 10000

- ❖ برای قرار دادن خون رقیق شده به زیر لامل، نوک پیپت ملانژور را به فاصله بین لام و لامل میزنیم، خون رقیق شده با خاصیت موئینگی که دارد خودش به زیر لامل وارد می شود، اگر در این مرحله دست ما لرزید و قطره ای خون به روی لامل افتاد باید کار را دوباره تکرار کنیم (از همان مرحله قرار دادن خون زیر لامل).
- ❖ اگر هنگام ریختن حباب هوا تشکیل شد، حباب هوا معنایش این است که خون زیر لامل تجمع نا پیوسته ای پیدا کرده، پس هیچ حباب هوایی بعد از ورود خون به روی لام نئوبار نباید وجود داشته باشد، اگر وجود داشت کار را تکرار می کنیم.
- ❖ تکرار کردن به این شکل است که لام نئوبار و لامل را بر میداریم و می شوریم و بعد با پنبه الکل چربی زدایی انجام می دهیم و در مرحله بعد که از همه مهم تر است باید لوازم را خشک کنیم.
- ❖ در هماتولوژی هیچ وقت از وسایلی که تازه شسته شده اند و خشک نشده اند نباید استفاده کرد اگر لام خشک نشود و به کارمان ادامه دهیم لیز اتفاق می افتد.

- ❖ زمانی که برای انجام آزمایش عجله داریم و زمانی برای خشک شدن وسایل نداریم یک بار محلول هایم استفاده می کنیم، محلول هایم را یکبار به داخل لوله می کسیم تا لایه نازکی درون لوله ایجاد کند در این صورت اختلالی در انجام کارمان ایجاد نمی کند.
- ❖ هنگام شمارش بعضی گلبول ها روی خطوط می افتند، برا ی شمارش این گلبول ها دو ضلع از چهار ضلع یعنی گلبول هایی که روی دو ضلع افتادند شمارش می کنیم(مثلا اضلاع بالا و چپ را می شماریم و اضلاع راست و پایین را نمی شماریم)

نکات مهم در شمردن RBC ها:

1) از عدسی شماره 4 و 10 استفاده می کنیم محیط را تنظیم میکنیم و مشاهده میکنیم، گاهی اوقات گلبول هایی را می بینیم که تمامیت گلبول را ندارند و تکه هایی از گلبول ها می باشند که ممکن است تکه هایی از گلبول های سفید باشد که آن ها را نمی شماریم.
2) وقتی خون بر روی لام ریخته شد یک الی دو دقیقه به آن فرصت می دهیم تا به شیشه بچسبند به علت اینکه چون مایع است سیال است و ممکن است گلبول ها جا به جا شوند و شمارش با اشتباه صورت گیرد زمانی که تثبیت شد شمارش را انجام می دهیم.
3) هنگام گزارش دادن باید با ضریب میلیون گزارش کنیم، یعنی مثلاً 5600000 را ما به صورت 5.6×10^6گزارش می کنیم(در گزارش دادن تعداد WBC ها ما از 10^3 استفاده می کنیم
4) ما می توانستیم در هنگام شمارش تمام مربع های کوچک وسط را بشماریم اما در این صورت دیگر عدد نهایی را لازم نیست در فاکتور سطح(ضرب کنیم)، یعنی به جای 10000 عدد را در2000 ضرب می کردیم

5) ما در تفسیر کم خونی ها از RBC Count ها استفاده میکنیم.

شمارش گلبول های سفید WBC Count

واحد شمارش گلبول های سفید میلی متر مکعب یا همان میکرو لیتر است.

تعداد گلبول های قرمز در خون بیشتر است .به همین خاطر در شمارش گلبول های قرمز بیشتر میزان رقیق کردن خون بیشتر از شمارش گلبول های سفید است.

پیپت ملانژور در شمارش گلبول های سفید از اعداد 0.5 و 1 و 11 تشکیل شده است، پس خون 20 برابر رقیق می شود.

دلیل رقت سازی کم به خاطر تعداد کم گلبول های سفید است که معمولاً بین10000-7000 است.

گلبول های سفید با تعداد کمتر از 5000 عدد را در انسان لکوپنی یا کاهش گلبول های سفید در نظر می گیرند.

تفاوت بین شمارش گلبول های سفید و قرمز :

در لام نئوبار و واحد شمارش تفاوتی وجود ندارد اما محلول رقیق کننده شمارش گلبول های سفید با محلول رقیق کننده در شمارش گلبول های قرمز متفاوت است و خصوصیات متفاوتی دار است.

خصوصیات محلول رقیق کننده در شمارش WBC ها:

1- گلبول های هسته دار را نباید لیز کند، در مقابل گلبول های قرمز را کاملاً لیز کند.

2- باید آنتی کواگولیشین، آنتی همولیز، اَگریگیشن و آنتی رولکس باشد؛ یعنی گلبول ها به هم نچسبند، تجمع نکنند، آگلوتینه نشوند و لیز نشوند.

***محلول های زیادی وجود دارد ولی بهترین محلول ،محلول مارکانو است.**

روش آماده کردن محلول خونی و لام:

1- پیپت ملانژور را وارد خون می کنیم و تا عدد 0.5 از خون پر می کنیم

2- اطراف لوله را پاک میکنیم

3- محلول مارکانو را وارد لوله می کنیم و تا عدد 11 می کشیم

4- 2 تا 5 دقیقه تکان می دهیم

5- دو، سه قطره اول را بیرون می ریزیم

*توجه داشته باشید که این 2 یا 3 قطره(که معادل 1 واحد پیپت است)فقط حاوی محلول مارکانو بوده و خونی ندارد، بنابراین مخلوط خون و مارکانو حاوی0.5 واحد خون در10 واحد مخلوط خون و مارکانو معادل 1 واحد خون در 20 واحد مخلوط خون و مارکانو است، پس خون 20 برابر رقیق تر شده است.

6- محلول را به زیر لامل انتقال می دهیم

7- در زیر میکروسکوپ مشاهده می کنیم

روش به دست آوردن تعداد WBC ها:

1- برای شمارش گلبول های سفید از مربع های بزرگ ۴ طرف لام نئوبار (W_1,W_2,W_3,W_4) استفاده می کنیم

2- تمام گلبول های سفید موجود در این ۴ مربع را شمرده و با هم جمع می کنیم

$W_T = W_1 + W_2 + W_3 + W_4$

3- ما خون را 20 برابر رقیق کردیم پس فاکتور رقت ما20 خواهد بود، به علت اینکه چهار مربع بزرگ را شمارش کردیم و هر مربع 1 میلی متر در 1 میلی متر است پس فاکتور سطح ما 1/4 خواهد بود، فاکتور ارتفاع را هم که قبلا عدد 10 به دست آوردیم.

$WBC\ Count = W_T \times 20 \times 14 \times 10 = W_T \times 50$

❋ به علت اینکه تعداد گلبول های سفید در حد 1000است ما عدد را به صورت 10^3گزارش یعنی 8300 را به صورت 8.3×10^3 گزارش می کنیم.

❋در گزارش گلبول های قرمز از 106و گلبول های سفید 103 استفاده می کنیم.

❋ممکن است حیوانی دچار لوسمی(RBC سرطان گلبول های قرمز)شده باشد که دارای گلبول های قرمز هسته دار در خون خود است، در اینجا از روش گلبول های قرمز اصلاح شده استفاده می کنیم که در این روش یک گسترش خون ی تهیه می کنیم و سپس 100 گلبول قرمز را در نظر می گیریم و محاسبه می کنیم که از این 100 گلبول چند عدد دارای هسته است، درصدی به دست می آید و می توانیم نتیجه RBC Count را اصلاح کنیم.

شمارش گلبول ها ی قرمز پرنده ها و دوزیستان:

برای شمارش گلبول های قرمز حیواناتی که دارای گلبول های قرمز هسته دار هستند از محلول رقیق کننده متفاوتی به نام نات و هریک استفاده می کنیم.

در **CBC** موارد زیر را می سنجیم:

1- RBC Count
2- WBC Count
3- ❊Htc/PCV
4- Hb
5- ❊Differerntion Count

گسترش خونی: دو نوع خون داریم:

1-Fresh(مستقیم از رگ گرفته می شود)؛ 3-2 قطره اول را استفاده نمی کنیم؛ چون با آسیب زدن به رگ، تغییراتی همچون اضافه شدن آب میان بافتی و پایین آمدن PCV رخ می دهد و از همه مهم تر 50٪ نوتروفیل ها به جداره عروق چسبیده اند و Marginal نامیده می شوند و هنگام آسیب به رگ این نوتروفیل ها وارد جریان خون خروجی می شوند.

2-خون کهنه(داخل لوله آزمایش و حاوی ماده ضد انعقاد)؛ نیاز به همگن سازی دارد که از روش های الف)8 لاتین ب)سر و ته کردن ج)چرخش برای همگن سازی استفاده می کنیم.

برای تهیه گسترش قطره خون را با لوله ی مویین می ریزیم و لوله ی مویین را روی لام نمی کوبیم؛ قطره را از 1 سانتی متری لام می ریزیم.

لام های تراش خورده و برش خورده پستی و بلند ندارند و برای تهیه گسترش مناسبند.(در غیر این صورت باید لام را 3-2 بار روی لام دیگر کشید تا پستی و بلندی ها صاف شود)

مواردی که باید در تهیه گسترش خونی رعایت شود:

1–انگشت نباید سطح لام را لمس کند؛ چون چرب است و اگر آب بریزیم به دلیل آب گریز بودن چربی، آب به خوبی پخش نمی شود.

2–قطره خون باید متناسب باشد(کم و زیاد نباشد)

3–دوسوم(2/3) طول لام باید گسترش خونی باشد.

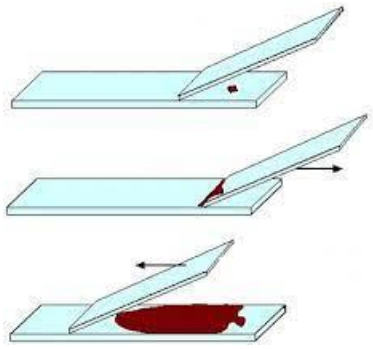
سه نوع روش تهیه گسترش خونی وجود دارد:

1–لام با لام(از همه متداول تر است)؛ با زاویه 35–30 درجه یک لام را روی لام دیگر می کشیم.

2–لام با لامل

3–لامل با لامل

❊ایجاد حالت شعله شمعی برای گسترش خیلی مهم نیست.



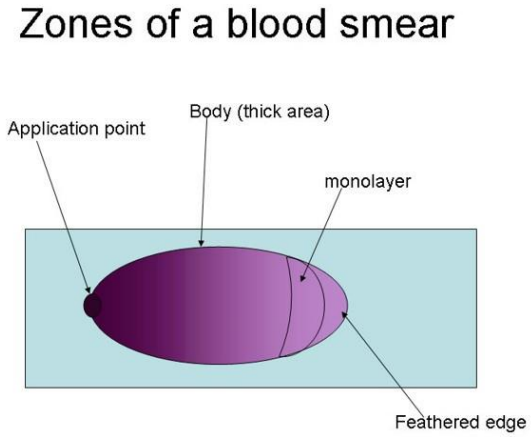
خشک کردن لام: در دمای محیط 2–1 دقیقه می گذاریم.

Labling: از اصول مهم است و روش هایی دارد شامل:

1–استفاده از قلم الماسه

2–مداد

3–استفاده از نوک تیز لام



3 ناحیه گسترش مهم اند: بدنه، ناحیه رنگین کمان(monolayer) و دم (feathered edge) می باشد.

Labling را در بدنه گسترش انجام می دهیم.

Fix کردن: از الکل متانول استفاده می کنیم(2 دقیقه روی میز می گذاریم تا فیکس شود)

رنگ آمیزی: **3 دسته می باشد:**

1–متداول: گیمسا، رایت، گیمسا–راست که رنگ های اسیدی و قلیایی می باشند

❊گیمسا باید به نسبت 1 به 10 رقیق شود.

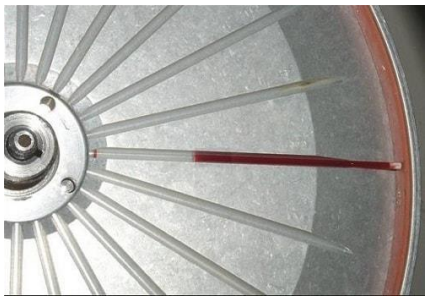
2–vital staining: رنگ آمیزی حیاتی می باشد که سلول زنده را رنگ می کند مانند نیومتیلن بلو–برلیان گریزل بلو

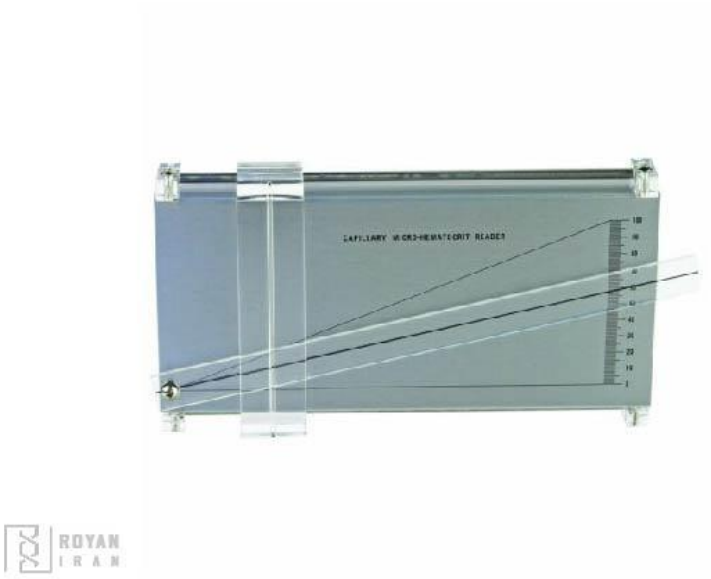
3-specific staining: زمانی استفاده می کنیم که دنبال مولکول خاصی در سلول باشیم مثل سودان 3 برای چربی و آبی پروس برای آهن

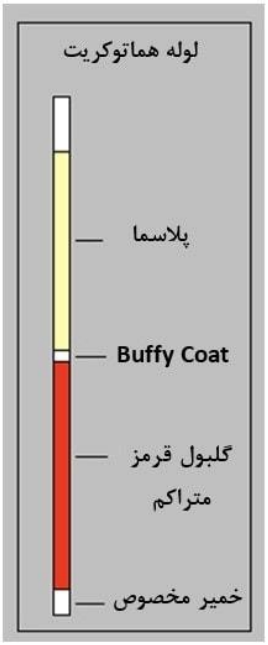
❊برای رنگ آمیزی می توان دو پایه گذاشته و لام را برعکس داخل رنگ گذاشت تا آرتیفکت رسوب رنگ رخ ندهد.

20-30 دقیقه رنگ را روی لام گذاشته و بعد می شوریم(از قسمت نازک گسترش بر می داریم و دست را زیر جریان کم آب گذاشته تا رنگ کنده نشود بعد بل پنبه پشت گسترش را خشک می کنیم).

❊برای سنجش هماتوکریت ابتدا خون داخل لوله آزمایش را 2 دقیقه با چرخاندن ملایم مخلوط می کنیم بعد با لوله هماتوکریت بدون ماده ضد انقعاد خون از داخل لوله برمی داریم و تا 2/3 لوله را پر می کنیم بعد یک انتهای آن را با خمیر بسته و بعد داخل سانترفیوژ 12000 دور در دقیقه به مدت 5 دقیقه گذاشته، طوری که خمیر به سمت بیرون باشد و بعد با خط کش مخصوص هماتوکریت را می سنجیم.(نرمال 50-40 درصد)







مورفولوژی گلبول های قرمز در خون محیطی

همزمان با مطالعه گسترده خون محیطی، تغییرات پنج گانه گلبول های قرمز نیز بررسی می شوند.

این تغییران عبارتند از:

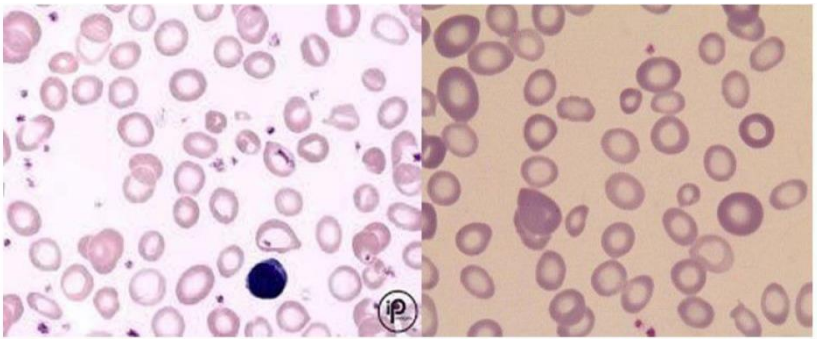
1. تغییر در رنگ پذیری
2. تغییر در اندازه
3. تغییر در توزیع و تجمعات گلبولی
4. تغییر در شکل
5. وجود اجسام غیر طبیعی

1-تغییر در رنگ پذیری:

تغییرات رنگ گلبول های قرمز، معمولاً در ارتباط با محتوای هموگلوبین آنها می باشد. گلبول های قرمز طبیعی بطور متوسط دارای MCH=30pg بوده که اکثراً در اطراف گلبول (اطراف ناحیه کم رنگ مرکزی) به صورت محلول وجود دارد. در برخی از بیماری ها، ناحیه کم رنگ مرکزی بزرگتر و یا کوچکتر می شود.

هیپوکروم **Hypochromia**

هنگامی که از میزان هموگلوبین کاسته شود، ناحیه مرکزی کم رنگ، بزرگتر شده و گلبول قرمز، رنگ پریده تر و کم رنگ تر دیده می شود. در این حالت معمولاً هم MCH و هم MCHC کاهش می یابند. سلول های هیپوکروم معمولاً کوچک تر از حد طبیعی بوده (36 fl) ولی ممکن است اندازه طبیعی نیز داشته باشند. گلبول های قرمز هیپوکروم در مواردی نظیر کم خونی فقر آهن، تالاسمی، کم خونی سیدروبلاستیک و گاهی در کم خونی بیماری های مزمن دیده می شوند.



هیپر کروم و آنیزوکروم **Hyperchromia and Anisochromia**

هیپرکروم: حالتی است که در آن ناحیه کم رنگ مرکزی کاهش پیدا کرده و گلبول قرمز پررنگ به نظر می رسد. در اصل هیپرکروم واقعی وجود ندارد. بزرگ شدن سلول و افزایش ضخامت (کم خونی مگالوبلاستیک و اسفروسیتوز ارثی) باعث این حالت می شوند.

آنیزوکروم

وجود همزمان سلول های هیپوکروم و نورموکروم در گستره خون محیطی، آنیزوکرومی یا گاهی کم خونی دو شکلی نامیده می شود. این حالت ویژگی کم خونی سیدروبلاستیک می باشد، اما در کم خونی فقر آهن به دنبال چند هفته درمان با آهن، یا در کم خونی هیپوکرومیک پس از تزریق خون نیز مشاهده می شود.(هموگلوبین به شکل یکنواخت پخش نمی شود و به Bipolar RBC معروف است).

2-تغییرات مربوط به اندازه سلول ها

گلبول های قرمز طبیعی Normocyte دارای قطر 3 میکرون و حجم متوسط در حدود 100-80 فمتولیتر هستند.

ماکروسیت **Macrocyte**

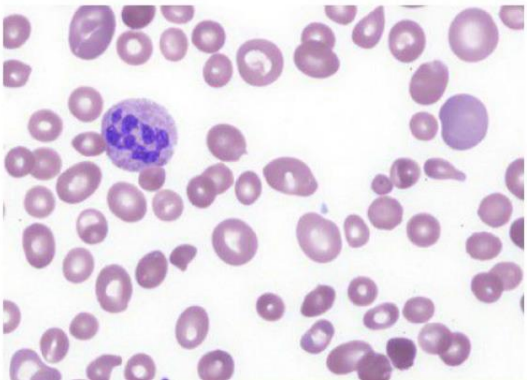
در صورتی که قطر گلبول های قرمز بیش از 8 میکرون شود و یا حجم آنها از 100 fl بیشتر شود، حالت ماکروسیتوز دیده می شود. ماکروسیت ها در مواردی نظیر بیماری های کبدی، الکلیسم، کم خونی مگالوبلاستیک و همچنین در مواردی نظیر برداشت طحال، کم خونی آپلاستیکف، اختلالات غدد درون ریز و میلودیسپلازی ها ممکن است دیده شود. ماکروسیت ها از لحاظ محتوای هموگلوبین، یعنی **MCHC، معمولاً طبیعی هستند**. اندازه سلول ماکروسیت، 12-9 میکرون بوده و در صورتی که اندازه آن به بیش از 12 میکرون برسد، سلول مگالوسیت نامیده می شود.

میکروسیت **Microcyte**

به گلبول های قرمز با اندازه کمتر از 8 میکرون و حجم کمتر از 80 fl، میکروسیت گفته می شود. کم خونی های میکروسیتیک **معمولاً به علت ساخت ناکافی هموگلوبین رخ می دهند و به همین دلیل میکروسیت ها معمولاً هیپوکروم می باشند.** در تالاسمی، کم خونی سیدروبلاستیک، کم خونی فقر آهن و در کم خونی ناشی از بیماری های مزمن، گلبول های میکروسیت دیده می شوند.

آنیزوسیتوز **Anisocytosis**

یک اصطلاح کلی برای بیان تنوع در اندازه گلبول های قرمز و بررسی MCV و یا RDW می باشد. در صورتی که طیف وسیعی از لحاظ اندازه سلول ها، شامل ماکروسیت، میکروسیت و نورموسیت در خون وجود داشته باشد، MCV ممکن است طبیعی باشد؛ زیرا که این پارامتر میانگینی از اندازه تمام گلبول های قرمز است. در این موارد شاخص RDW کمک زیادی به تشخیص و رفع این موارد می کند. **افزایش RDW نشان دهنده ی آن است که گلبول های قرمز از لحاظ اندازه، متنوع و ناهمگون هستند.**



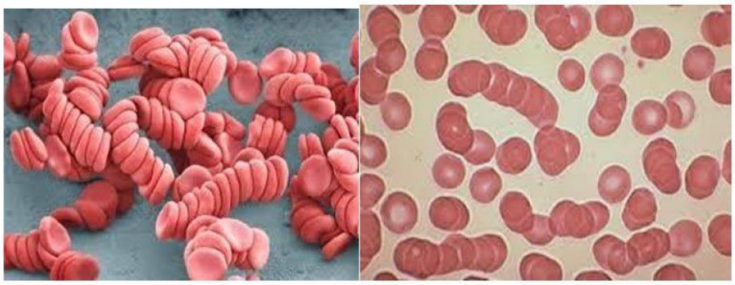
RDW سایزی از گلبول قرمز است که 50٪ گلبول ها از این سایز کوچک تر و 50٪ از این سایز بزرگ ترند. این فاکتور توسط Cell counter اندازه گرفته می شود.

3-تغییرات در توزیع و تجمعات گلبولی

در حالت طبیعی و در گستره خون محیطی که خوب و متناسب تهیه شده باشد، در نوک گستره، گلبول ها به طور یکنواخت در کنار یکدیگر قرار می گیرند. تجمعات غیر طبیعی گلبول ها در این منطقه از گستره می تواند نشان دهنده ی موارد پاتولوژیک باشد.(RBC ها پروتئین زتا دارند و دارای بار منفی هستند).

رولو **Rouleax**

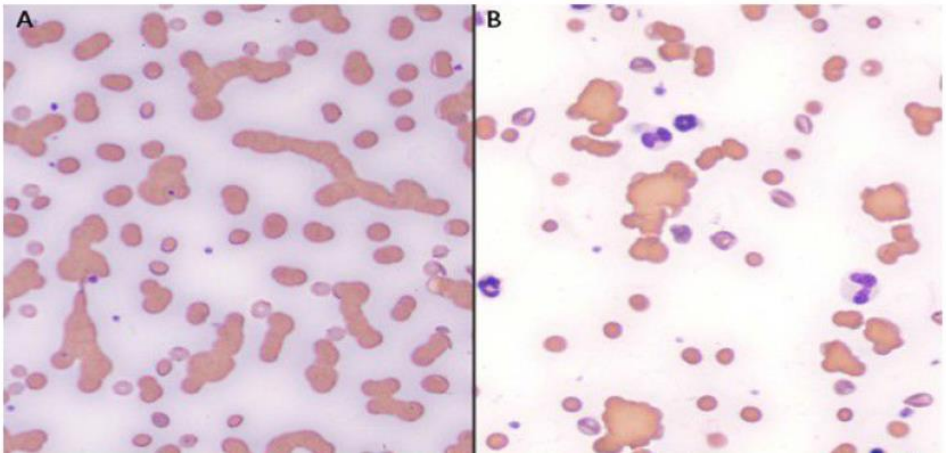
اصطلاح رولو به گلبول های قرمزی اشاره دارد که همچون سکه روی یکدیگر قرار گرفته، جدا از یکدیگر نبوده و در یک ردیف روی هم چیده شده اند. در اکثر موارد پدیده رولو به صورت آرتیفکت بوده و در اثر ماندن خون برای مدت طولانی بوجود می آید. در رابطه با موارد پاتولوژیک، بیشترین حالتی که با رولو همراه است، هیپرپاراپروتئینمی می باشد. افزایش فیبرینوژن یا گلوبولین ها، وجود اشکال غیر طبیعی نظیر گلبول های داسی شکل و مالتیپل میلوما، مواردی هستند که در آنها تشکیل رولو اتفاق می افتد.



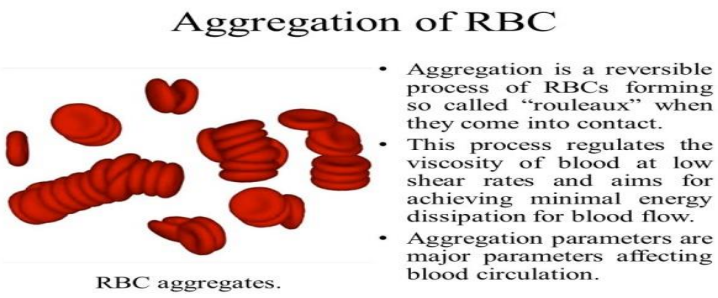
❋رخداد این پدیده در اسب و سگ و گربه طبیعی است(باید توجه کرد این پدیده را در ناحیه رنگین کمان لام ببینیم.

آگلوتیناسیون **Agglutination**

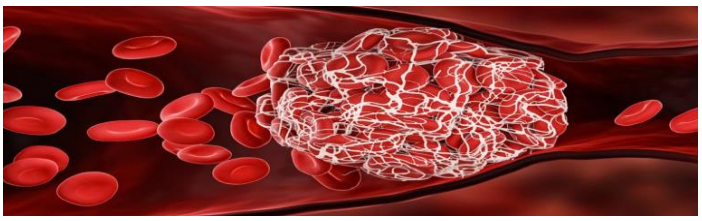
در صورت وجود آنتی بادی علیه گلبول های قرمز، این سلول ها آگلوتینه شده(B) و تشکیل تجمعات نامنظم در اندازه های مختلف می دهند. این تجمعات بواسطه شکل خوشه انگوری خود از رولو (A) قابل تشخیص هستند. در شمارش گلبول های قرمز با سل کانتر، به علت چسبندگی گلبول ها به یکدیگر، شمارش سلولی کاهش داشته، ولی MCV افزایش نشان می دهد. در این گونه موارد میزان طبیعی هموگلوبین می تواند نشان دهنده ی آگلوتیناسیون باشد.



❋آگلوتیناسیون در مشکلات ایمنی مثل انتقال نابجای خون رخ می دهد و در این پدیده گلبول ها لیز شده و در هم فرورفته اند و غشای گلبول ها نامشخص است اما در پدیده aggregation یا تجمع، گلبول های قرمز به هم چسبده اند و غشایشان مشخص است.

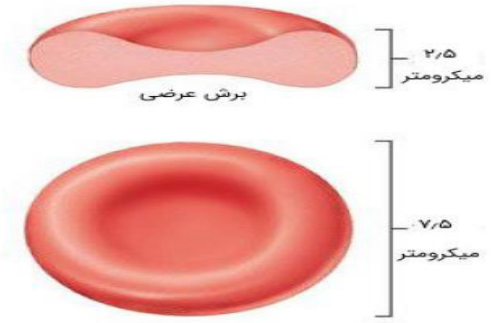


❊در لخته رشته های فیبرین وجود دارد که RBC ها در آن گیر افتاده اند و با agglutination فرق می کند.



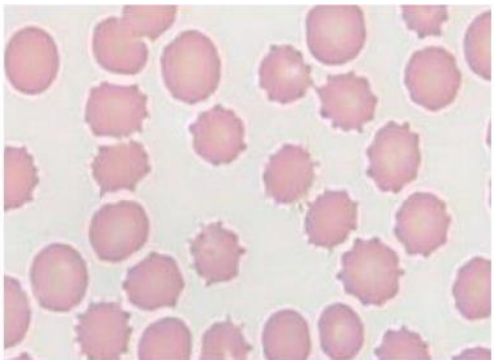
4-اشکال غیر طبیعی گلبول های قرمز

گلبول های قرمز یا اریتروسیت بالغ نرمال به صورت دیسک های دایره ای شکل مقعرالطرفینی به قطر 6-8 میکرومتر می باشند که اندکی کوچکتر از لنفوسیت های بالغ نرمال(حدود 6-10 میکرومتر) هستند. در شرایط مختلف مرضی اشکال مختلف گلبول های قرمز در گسترش خونی قابل تشخیص است .



اکینوسیت(بور سل) **Echinocyte or Burr cell**

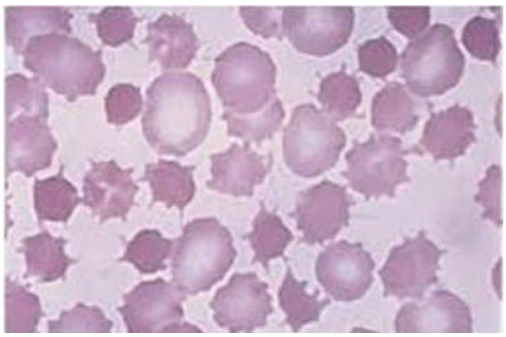
این سلول ها معمولاً کوچکتر از گلبول های قرمز طبیعی بوده و همراه زوائد و برآمدگی های ظریف، منظم و نیزه مانند در سطح گلبول قرمز می باشند. به عبارت دیگر، سلول حالت چروکیده و کنگره دار دارد. ایجاد اکینوسیت هم وجود حالات پاتولوژیک را مطرح می کند و هم می تواند به دلیل خطا های تکنیکی و در نتیجه به صورت آرتیفکت بروز کند. کمبود و نقص آنزیم پیرووات کیناز، ناراحتی های کلیوی و اورمی از جمله حالات پاتولوژیک ایجاد اکینوسیت می باشند. **وجود آب در متانول و همچنین ماندن خون بیمار به مدت چند روز در دمای 4 درجه و همچنین مقدار نامتناسب ضد انعقاد، از موارد ایجاد اکینوسیت به صورت آرتیفکت می باشند.** گلبول های اکینوسیت، قابلیت برگشت و تبدیل به سلول های طبیعی را دارا می باشند. در صورت تداوم این وضعیت ممکن است اکینوسیت توسط طحال به دام افتاده و در نهایت به اسفروسیت تبدیل شود که قابلیت برگشت به سلول طبیعی را ندارد.

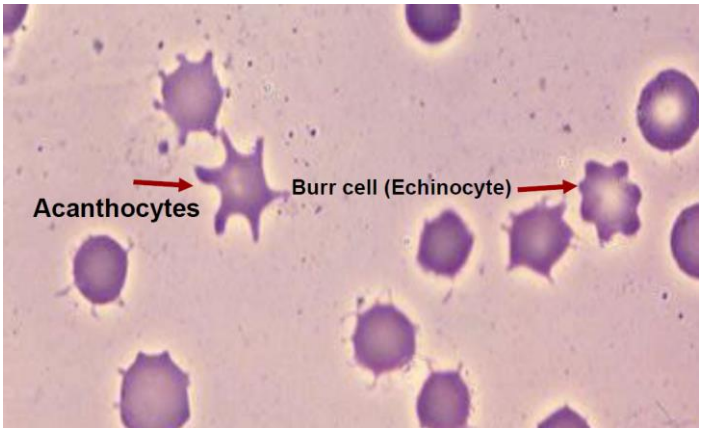


آکانتوسیت **Acanthocyte or Spur cell**

این گلبول ها دارای زوائد بزرگ و نامنظم بوده که اغلب انتهای این برآمدگی ها حالت چماقی شکل یا حبابی دارند. احتمالاً تغییر محتوای لیپیدی غشا و افزایش نسبت کلسترول به لسیتین، علت تشکیل

آکانتوسیت باشد. در بیماری های کبدی، Abetalipoproteinemia(عدم وجود بتا لیپوپروتئین ها)، سوء جذب چربی، اختلال در متابولیسم لیپید ها و التهاب رنگدانه ای شبکیه و همچنین در افراد دارای فنوتیپ مک لئود، دیده می شود. طول عمر آکانتوسیت ها طبیعی است و شکنندگی اسمزی ممکن است کاهش مختصری داشته باشد.



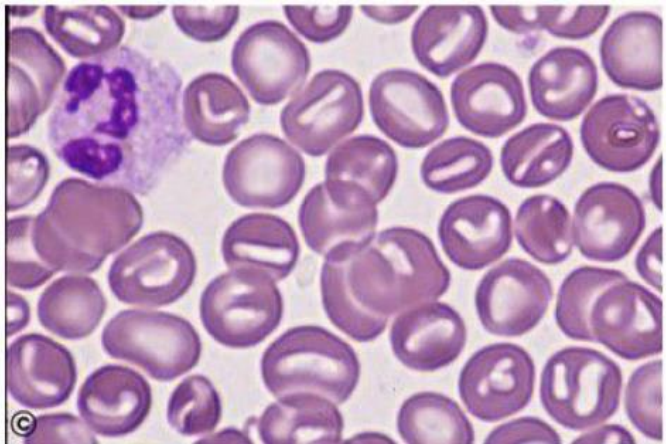


***آکانتوسیت گلبول قرمز با خار های بلند است ولی اکینوسیت با خار های کوتاه است.**

استوماتوسیت **Stomatocyte**

این سلول ها در گستره خون محیطی به صورت گلبول هایی دیده می شوند که ناحیه کم رنگ مرکزی آنها به شکل یک منطقه ی شکاف مانند شبیه دهان ماهی درآمده است. این گلبول ها در لام مرطوب، فنجانی شکل بوده و به شکل صفحاتی با یک سطح مقعر مشاهده می شوند. درست بر خلاف

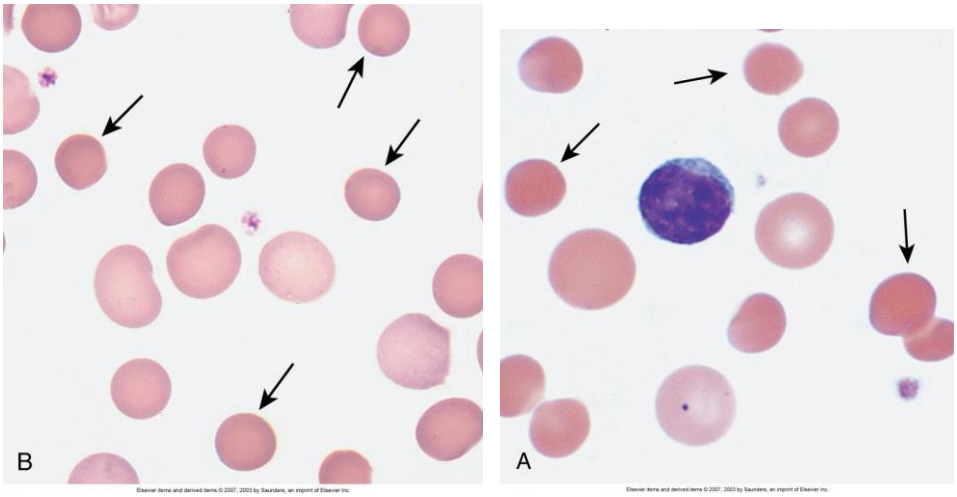
آکانتوسیت، تصور می شود که علت ایجاد استوماتوسیت، افزایش سطح لایه داخلی غشا در مقایسه با لایه خارجی می باشد. استوماتوسیت ها در موارد کم خونی نادر استوماتوسیتوز ارثی که به صورت اتوزوم غالب به ارث می رسد، دیده می شود. در مواردی نظیر سیروز الکلی، مسمومیت با سرب و نئوپلاسم ها نیز دیده می شود. **استوماتوسیت ها نیز همانند اکینوسیت ها، قابلیت بازگشت به سلول طبیعی را دارا هستند**، ولیکن ممکن است تحت شرایطی به اسفروسیت تبدیل گشته و امکان بازگشت به حالت طبیعی را از دست بدهند.



اسفروسیت **Spherocyte**

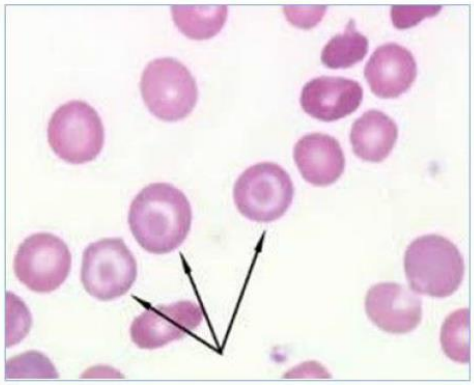
گلبول هایی هستند که شکل مقعر الطرفین دیسکوئیدی خود را از دست داده و حالت کروی به خود گرفته اند، در نتیجه نسبت سطح به حجم کاهش یافته است. **این سلول ها در گستره رنگ آمیزی شده به صورت کره های توپر و کوچک تر از حد طبیعی و فاقد ناحیه کم رنگ مرکزی و یا همراه با کاهش ناحیه کم رنگ مرکزی مشاهده می شوند.** اگرچه در گستره خون محیطی به صورت میکروسیت دیده می شوند، ولی حجم گلبول معمولاً طبیعی است زیرا متناسب با کاهش قطر، ضخامت سلول افزایش پیدا کرده است. به علاوه افزایش MCHC در اسفروسیتوز، حالت هیپرکروم

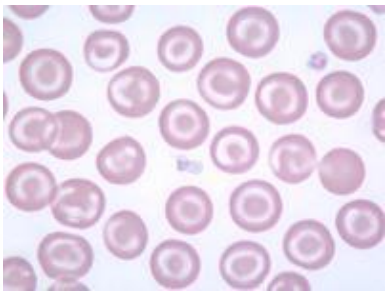
دیده می شود . هر چند که هیپرکروم واقعی وجود ندارد. در اسفروسیتوز، شکنندگی اسمزی افزایش دارد. اسفروسیت ها قابلیت انعطاف کمتری نسبت به گلبول های طبیعی داشته، طول عمر آنها کمتر بوده و به مرور توسط طحال از جریان خون برداشت می شوند. اسفروسیت ها بیشتر در اسفروسیتوز ارثی و به ندرت در کم خونی همولیتیک ایمیون، کم خونی همراه با اجسام هینز و سوختگی های شدید دیده می شوند.(ناحیه central polar به خاطر تغییر مولکول های غشا از بین می رود).



سلول هدف یا کودوسیت Target cell or Codocyte

این گلبول ها به شکل سلول های نازک و زنگوله ای شکل بوده که نسبت سطح به حجم آنها، افزایش پیدا کرده است. این سلول ها در گستره رنگ شده به شکل سیبل تیراندازی دیده می شوند، بدین صورت که مرکز سلول تیره رنگ بوده و اطراف سلول را حلقه سیتوپلاسم بدون رنگ فراگرفته است. علت ایجاد این سلول ها، افزایش لیپید های غشایی می باشد و در مواردی چون **بیماری های کبدی، متعاقب برداشت طحال، تالاسمی، هموگلوبیناپاتی های S و C و بیماری های کبدی**، دیده می شود. در کم خونی فقر آهن نیز ممکن است دیده شوند.(3 ناحیه دارد که از خارج به داخل پررنگ، کم رنگ و پررنگ است که ناشی از تغییر در میزان کلسترول غشا است و گلبول محدب الطرفین است).

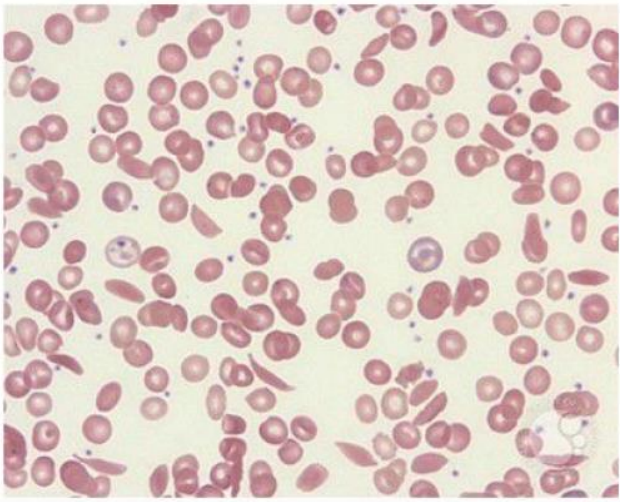




❊Hb_S: هموگلوبین گوگرد دار Hb_C:هموگلوبین کریستاله

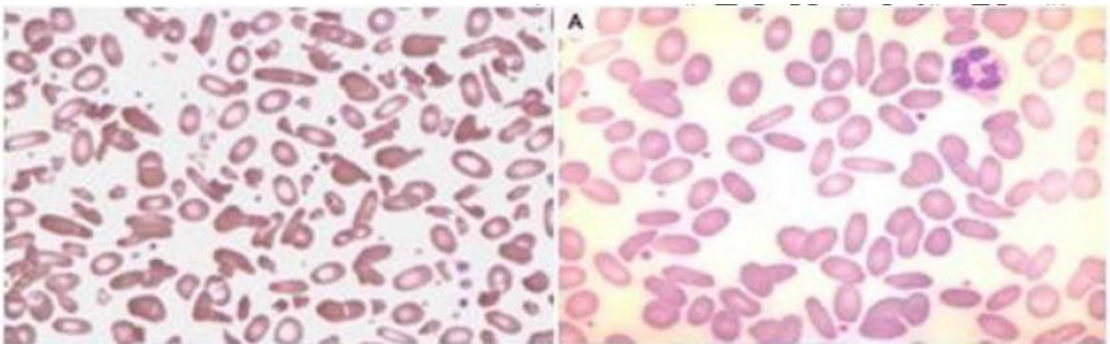
سلول های داسی شکل Sickle cell or Drepanocyte

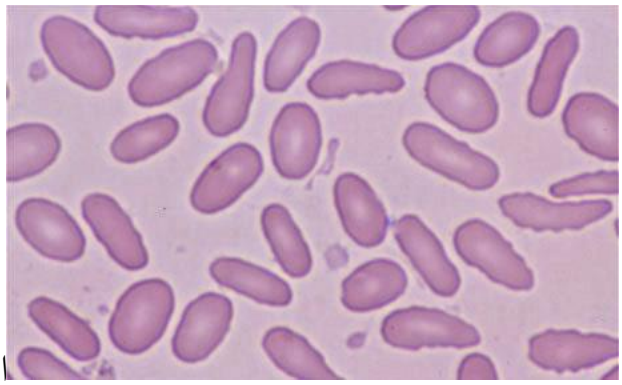
سلول های کشیده هلالی یا داسی شکل با انتهای تیز و باریک می باشند. سلول های داسی شکل در گستره رنگ نشده و مرطوب، قابل مشاهده هستند. علت تشکیل این سلول ها، جایگزینی اسید آمینه والین به جای گلوتامیک اسید در موقعیت ششم زنجیره بتا می باشد. در سلول داسی شکل، شکنندگی مکانیکی افزایش یافته ولی شکنندگی اسمزی کاهش می یابد. سلول داسی شکل با ممانعت از تشکیل رولو، باعث کاهش ESR، علی رغم وجود التهاب می شود.



الیپتوسیت و اوالوسیت

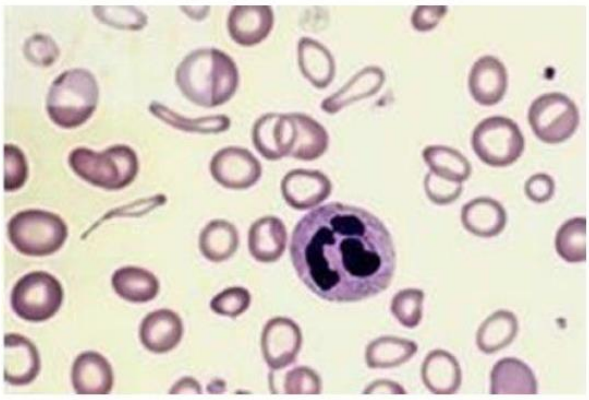
در برخی موارد گلبول های قرمز از حالت دیسکوئیدی خارج شده و به حالت بیضی تا حالت کشیده و سیگاری شکل دیده می شوند. گلبول های بیضی شکل را اوالوسیت و به گلبول های کشیده تر الیپتوسیت گفته می شود. در گلبول های الیپتوسیت، محور طولی بیش از 2 برابر محور عرضی سلول است. این سلول ها در الیپتوسیتوز ارثی و همچنین در کم خونی فقر آهن، تالاسمی و همچنین کم خونی همراه با لوسمی ممکن است دیده شوند. در صورتی که الیپتوسیتوز ارثی با مورفولوژی یکدست الیپتوسیت همراه باشد، در گروه غیر همولیتیک قرار می گیرد و چنانچه با گلبول های اسفروسیت و الیپتوسیت های شکسته همراه باشد، الیپتوسیتوز همولیتیک گفته می شود. علت تشکیل الیپتوسیت، نقص در پروتئین های غشایی اسپکترین و پروتئین 1/4 می باشد. در کم خونی مگالوبلاستیک نیز گلبول های بزرگ بیضی شکل به نام Macro ovalocyte دیده می شوند. شکنندگی اسمزی الیپتوسیت ها و اوالوسیت ها طبیعی است، مگر اینکه به علت بیماری الیپتوسیتوز ارثی ایجاد شده باشند.




الیپتوسیت

گلبول مدادی شکل **Pencil Shape RBC**

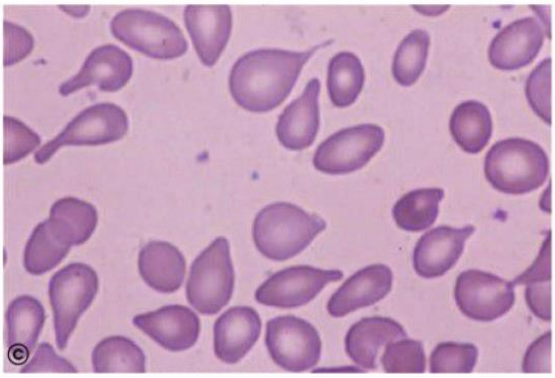
به الیپتوسیت های کشیده شده بسیار هیپوکروم می گویند که حاشیه های آنها بسیار به هم نزدیک شده اند. این مورفولوژی در کم خونی فقر آهن پیشرفته شایع است.



سلول قطره اشکی **Tear drop cell or Dacrocyte**

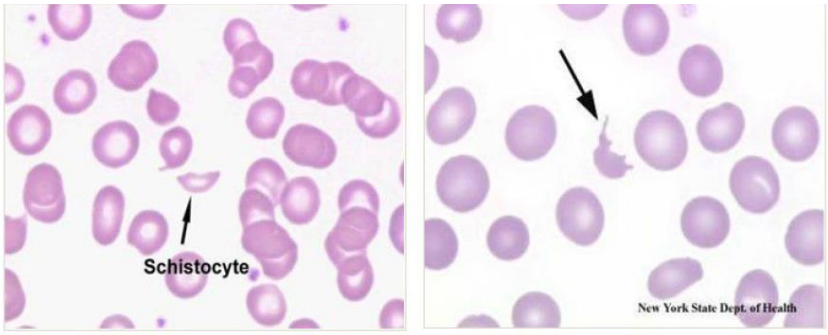
همانگونه که از نامشان پیداست، این سلول ها از یک طرف کشیده شده و شبیه قطره اشک می باشند. متعاقب ورود گلبول های قرمز دارای انکلوژن به طحال، سلول های قطره اشکی ایجاد می شوند. در جریان بیماری تالاسمی، سلول های دارای اجسام هینز پس از عبور از طحال و جدا شدن انکلوژن، به شکل سلول های قطره اشکی در می آیند. داکروسیت ها در مواردی نظیر میلوفیبروز و سرطان

متاستاز دهنده به مغز استخوان نیز دیده می شوند که مکانیسم ایجاد آنها در این حالت نامشخص است. **این سلول ها قابلیت برگشت به حالت طبیعی را ندارند.**



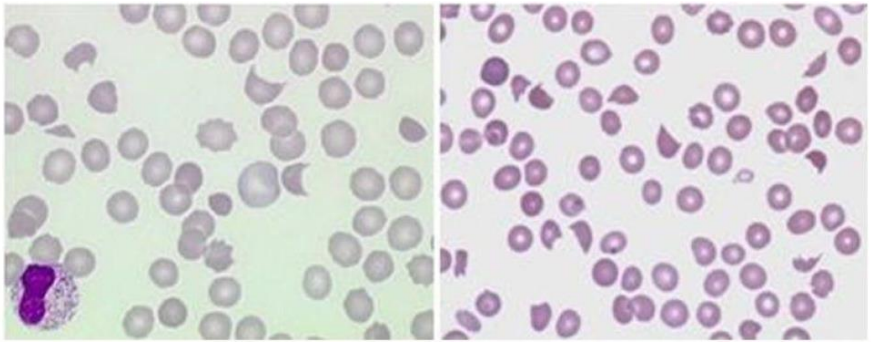
گلبول های قرمز شکسته شده Schistocyte

گلبول های قرمز قطعه قطعه هستند که به علت صدمه مکانیکی به سلول ایجاد شده اند. این سلول ها به اشکال مختلف نظیر مثلثی، کلاهخودی، شبیه کاما و غیره دیده می شوند. این سلول ها ممکن است در نتیجه اختلالات عروقی ایجاد شوند، به خصوص در مواردی که رشته های فیبرین در داخل عروق تشکیل می شود. گلبول های قرمز شکسته در حالاتی نظیر DIC و کم خونی های میکروآنژیوپاتیک دیده می شوند. اختلالات دریچه های قلبی، اورمی و سوختگی نیز ممکن است ایجاد شیستوسیت کنند.



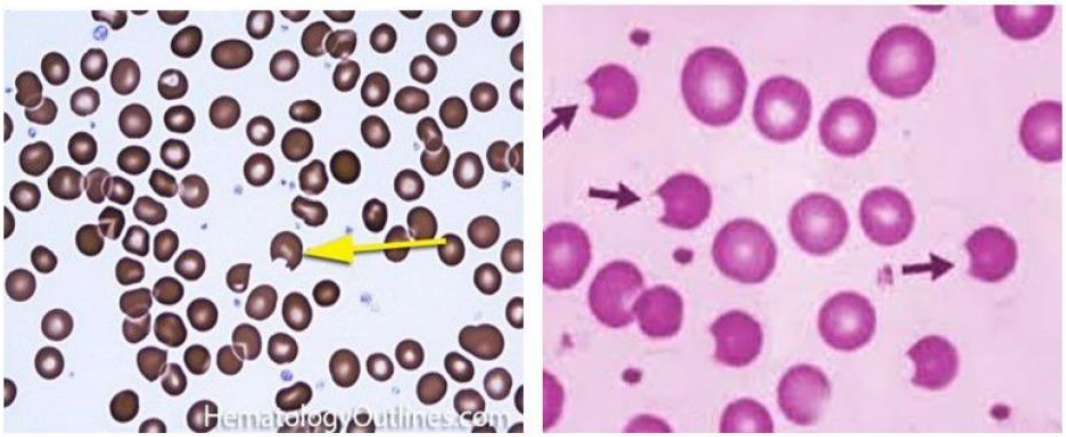
کراتوسیت **Keratocyte**

به گلبول های قرمزی گفته می شود که دارای دو زائده خاری شکل هستند. این گلبول به همراه مورفولوژی های دیگر مشاهده می شود.



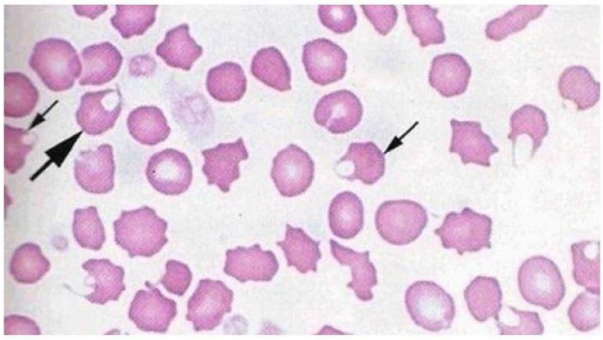
سلول های گاز گرفته شده **Bite cell**

سلولی است که گویی بخشی از آن کنده شده است. در مواردی نظیر همولیز با واسطه دارو و همچنین نقص G6PD(گلوکز 6 فسفات دهیدروژناز) دیده می شوند که از ویژگی های تشخیصی این دو بیماری می باشند. این موارد با تولید اجسام هینز همراه بوده که در هنگام عبور از طحال به دام افتاده و توسط ماکروفاژ ها بخشی از گلبول قرمز کنده می شود.



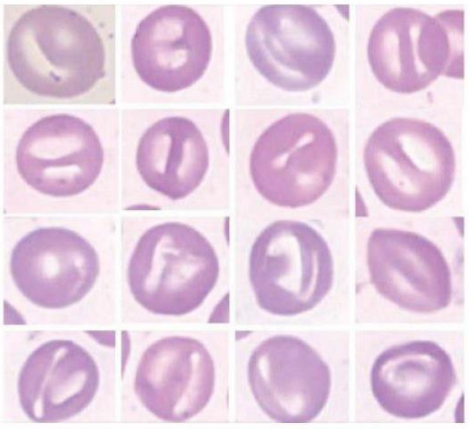
سلول تاولی **Blister cell**

سلولی است که ناحیه کم رنگ مرکزی در آن از حالت مرکزی خارج شده و به گوشه سلول منتقل شده است. این حالت در نقص G6PD دیده می شود.



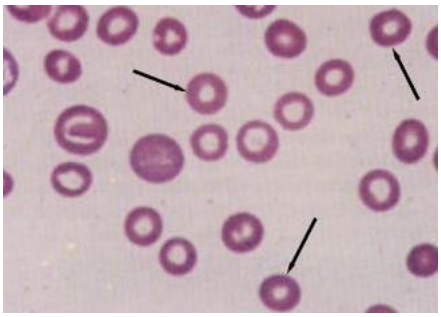
نیزوسیت **knizocyte**

سلول هایی هستند با بیش از دو سطح تقعر. مکانیسم تشکیل این سلول ها نامشخص بوده و در مواردی نظیر اسفروسیتوز دیده می شوند.



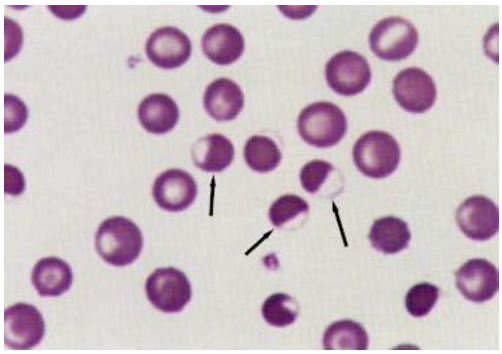
Torocyte

گلبول قرمزی که به شکل حلقه انگشتر دیده می شود.



Eccentrocyte

هموگلوبین به جای اینکه پخش در RBC باشد اگر به یک طرف رفته باشد این حالت ایجاد می شود و شکل ماه ناکامل دارد.



پویکیلوسیتوز **Poikylocytosis**

تغییرات شکل گلبول های قرمز با اصطلاح کلی پویکیلوسیتوز بیان می شود. هر شکل غیر طبیعی گلبول قرمز، یک پویکیلوسیت محسوب می شود. چنانچه تغییرات شکل و اندازه با هم مشاهده شوند، اصطلاح Anisopoikylocytosis گزارش می شود.

❊گزارش بر اساس آمار نسبی است:

1) +4 : همگی مختلف الشکل اند

2) +3 (75 ٪ RBC ها مختلف الشکل اند)

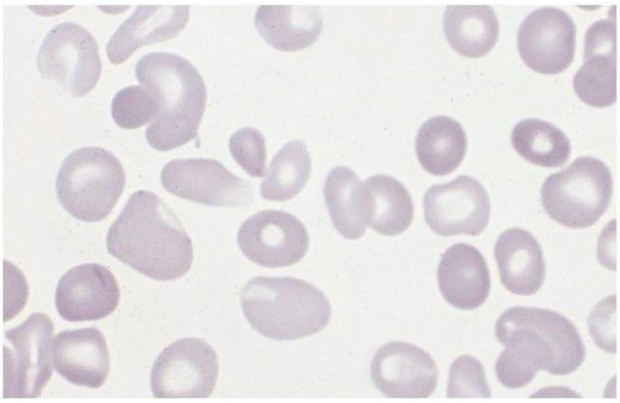
3) +2 (50 درصد مختلف الشکل اند)

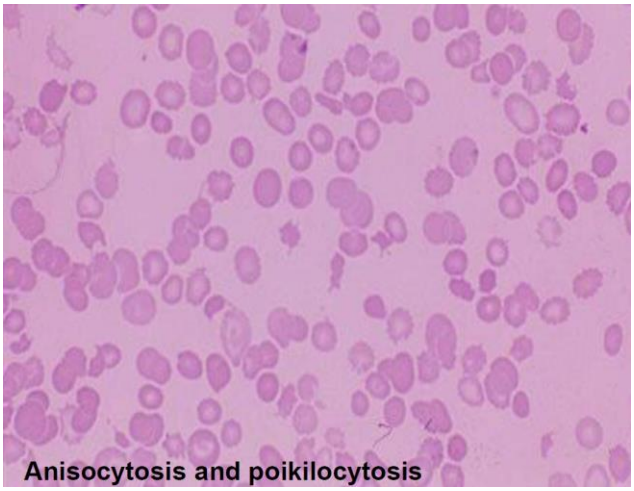
4) +1 (25 درصد مختلف الشکل اند)

❊هر + نشان دهنده ی 2 درصد است.

❊آنیزوسیتوز هم مانند پویکیلوسیتوز درجه بندی دارد.

❊در بیماری هایی که سموم بدن بالا روند مثل بیماری های کلیوی ، شکل گلبول ها مختلف می شود.





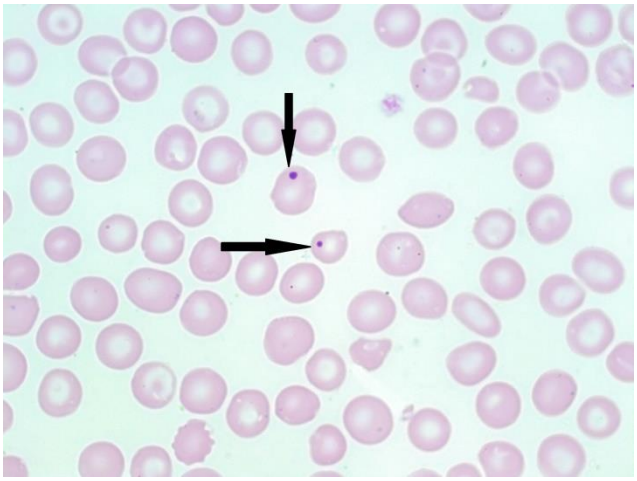
5-اجسام غیر طبیعی درون گلبول های قرمز

در حالت عادی گلبول های قرمز فاقد انکلوژن خاصی هستند و ممکن است در شرایطی به تعداد کم در برخی گلبول ها وجود داشته باشند که توسط فرایند pitting در هنگام عبور از طحال برداشته می شوند. در برخی بیماری ها، برخی انکلوژن ها به طور غیر طبیعی در داخل گلبول ها دیده می شوند.در انگل های خونی هم این مشکل وجود دارد.

اجسام هاول ژولی بادی Howell-Jolly bodies

این اجسام به صورت دانه های کروی بنفش و یا ارغوانی در داخل گلبول های قرمز دیده می شوند و در واقع قطعات DNA (بقایای هسته)می باشند. تعداد این گرانول ها معمولاً یکی و به ندرت بیش از دو عدد است. این گرانول ها همراه با اخلالات بلوغ هسته ای نظیر کم خونی مگالوبلاستیک و همچنین در کم خونی های همولیتیک ، کم خونی های شدید و متعاقب برداشت طحال دیده می شوند.(این گلبول تسریع در خون سازی را نشان می دهد)

❋این اجسام در گلبول های قرمز نابالغ بزرگ تر دیده می شوند.

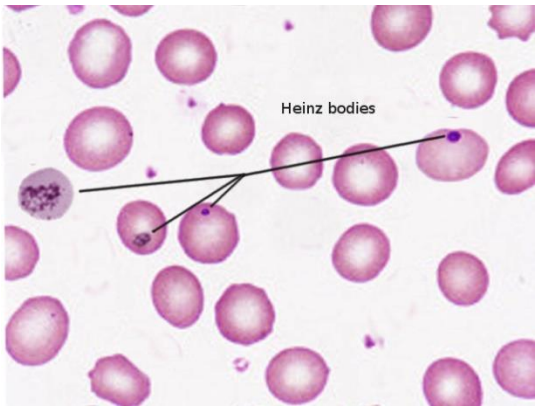


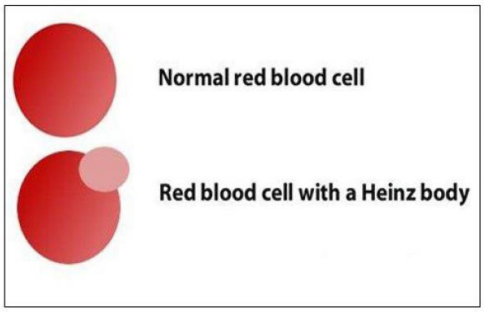
اجسام هینز Heinz bodies

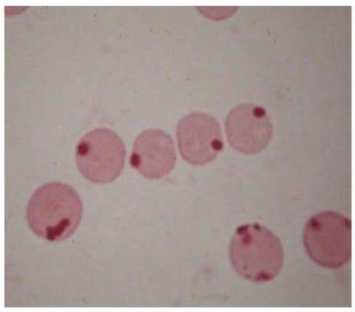
اجسام هینز به صورت دانه های گرد به اندازه 3-2 میکرون، نزدیک یا متصل به غشا گلبول های قرمز دیده می شوند. این اجسام متشکل از پروتئین دناتوره به **خصوص هموگلوبین** می باشند. در نقص G6PD، تالاسمی ها و هموگلوبینوپاتی ها و همچنین در اثر مصرف برخی دارو ها و سموم مؤثر بر هموگلوبین و متعاقب برداشت طحال ایجاد می شوند. زمانی که اکسیدان ها در خون زیاد شوند(داروها، خوردن سیر و پیاز)، این پدیده رخ می دهد. در این پدیده طحال این گلبول ها را حذف می کند و همین امر کم خونی ایجاد می کند.

❋در گربه در حالت طبیعی اجسام هینز +1 تا +2 گلبول های قرمز می باشند(50-25٪).

❋اجسام هینز در حاشیه خارجی سلول و هاول ژولی بادی در حاشیه داخلی سلول قرار دارند.

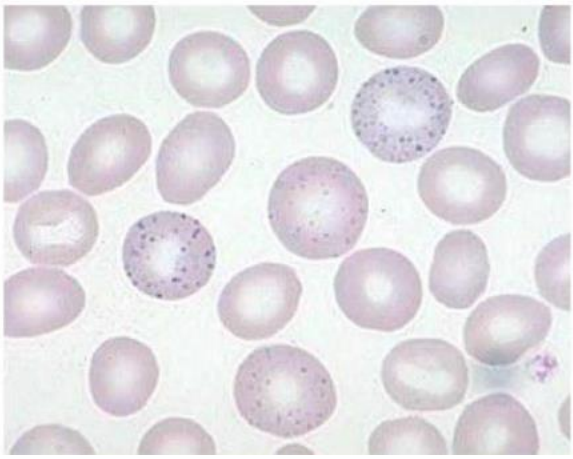






بازوفیلی دان دان **Basophilic stippling**

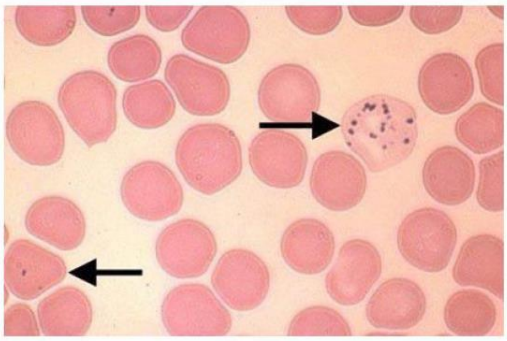
این گرانول ها به صورت ذرات آبی ارغوانی در داخل گلبول های قرمز دیده می شوند. این ذرات از لحاظ اندازه، متنوع بوده و ممکن است به صورت ریز و پخش در سرتاسر و یا با اندازه های درشت و تنها در بعضی نقاط گلبول مشاهده شوند. به نظر می رسد که در اثر تجمعات ریبوزومی و در نتیجه تجزیه ناقص RNA، این ذرات ایجاد شوند. در رنگ آمیزی رایت، این ذرات به صورت گرانول های آبی یا ارغوانی در درون سلول مشاهده می شوند. از رنگ آمیزی حیاتی نیز می توان برای مشاهده این ذرات استفاده کرد. بازوفیلی منقوط در مواردی نظیر مسمومیت با سرب، تالاسمی ، کم خونی سیدروبلاستیک و همولیز های شدید دیده می شود.



اجسام پاپن هایمر **Pappenheimer bodies**

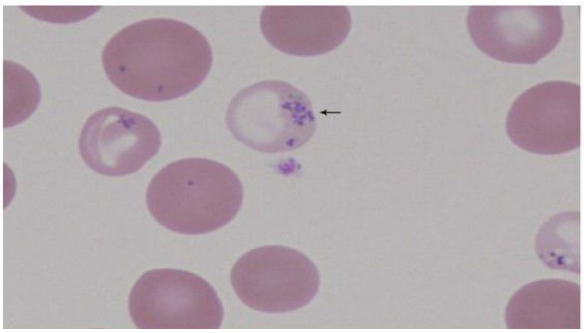
در حقیقت لیزوزوم های حاوی آهن و یا میتوکندری حاوی ذرات آهن می باشند. این گرانول های آهن به صورت رسوبات نامنظم بازوفیلی در داخل گلبول های قرمز و نورموبلاست ها دیده می شوند و هم با رنگ آمیزی های رومانوفسکی و هم با رنگ آمیزی خاص آهن، یعنی آبی پروس، رنگ می

گیرند. با آبی پروس، خود آهن نیز رنگ آمیزی می شود. در مقایسه با اجسام هاول ژولی بادی، بنفش یا ارغوانی هستند. اجسام پاپن هایمر در تالاسمی ها و کم خونی های سیدروبلاستیک دیده می شوند(در رنگ آمیزی پروس آبی یا Prussian blue سلول صورتی رنگ و ذخایر آهن آبی رنگ می شوند).



سیدروبلاست و سیدروسیت **Sidroblast and Sidrocyte**

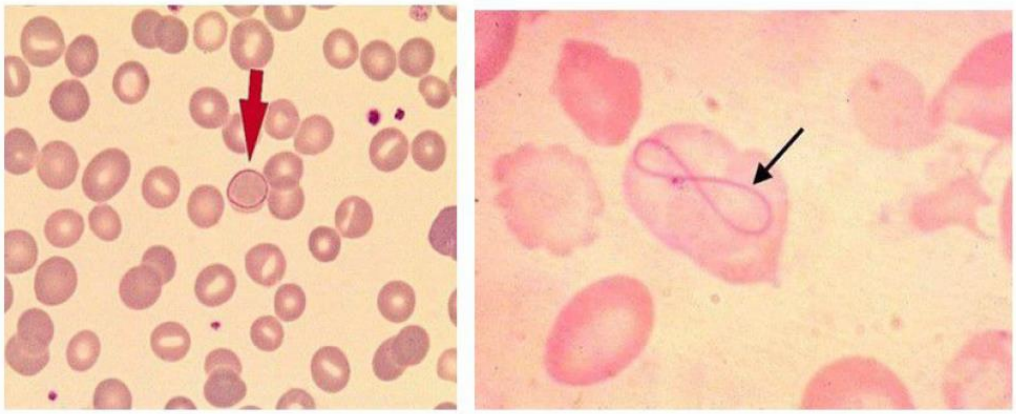
در حالت طبیعی در مغز استخوان، آهن اضافه به شکل ذرات فریتین و تجمعات فریتینی به نام Hemosiderin ذخیره می شود. فریتین در آب محلول و هموسیدرین غیر محلول بوده و بنابراین تنها هموسیدرین در داخل مغز استخوان رنگ آمیزی می شود. به سلول های پیشساز گلبول های قرمز که حاوی تجمعات آهن باشند، سیدروبلاست و به گلبول قرمز بالغ حاوی ذرات آهن سیدروسیت گویند. اگرچه هر دو اصطلاح پاپن هایمر و سیدروسیت معادل یکدیگر به کار می روند.



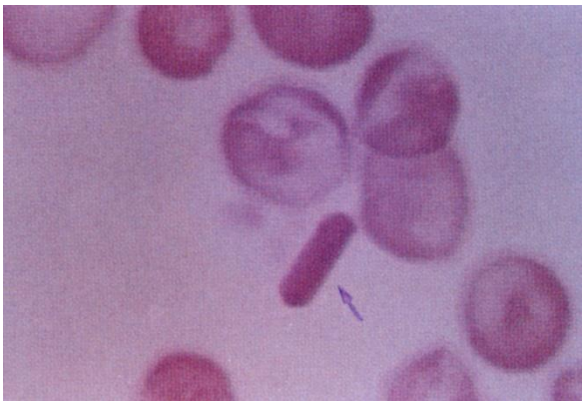
❊سیدروسیت همان پاپن هایمر است که در رنگ آمیزی گیمسا دیده می شود.

حلقه های کابوت Cabot rings

ساختار های حلقه ای شکل به صورت 8 یا پیچ دار بوده که در رنگ آمیزی رایت به رنگ قرمز یا ارغوانی دیده می شوند. به نظر می رسد که حلقه های کابوت، میکروتوبول های به جا مانده از دوک تقسیم باشند. در کم خونی های شدید، مسمومیت با سرب و در اختلالات اریتروپوئز دیده می شوند. وجود این حلقه ها نشان دهنده ی اریتروپوئز غیر طبیعی می باشد.(اختلال در تقسیم و ساخته شدن سلول رخ می دهد).



کریستال هموگلوبینC: اجسام باسیلی شکل زاویه داری از جنس هموگلوبین و به رنگ قرمز مایل به قهوه ای که در درون یا بیرون گلبول قرمز مشاهده می شوند. اجسام مذکور با رنگ آمیزی رومانوفسکی رنگ گرفته و اصطلاحا کریستال هموگلوبین C نامیده می شود. در بیماری هموگلوبین Cعلاوه بر اجسام فوق، تارگت سل نیز به وفور دیده می‌شود.(هموگلوبین کریستاله شده و RBC به صورت غیر محلول و پررنگ و کریستاله دیده می شود).



ناهنجاری های مورفولوژیکی گلبول های سفید

1–ناهنجاری در تعداد:

نوتروفیلی، بازوفیلی، ائوزینوفیلی، مونوسیتوز و لنفوسیتوز به ترتیب افزایش نوتروفیل ها، بازوفیل ها، ائوزینوفیل ها، مونوسیت ها و لمفوسیت ها می باشند.

نوتروپنی،مونوسیتوپنی و لنفوپنی به ترتیب کاهش نوتروفیل ها، مونوسیت ها و لمفوسیت ها می باشند.

❊به طور کلی لوکوسیتوز به معنای افزایش تمام WBC ها و لکوپنی به معنای کاهش تمام WBC ها می باشد.

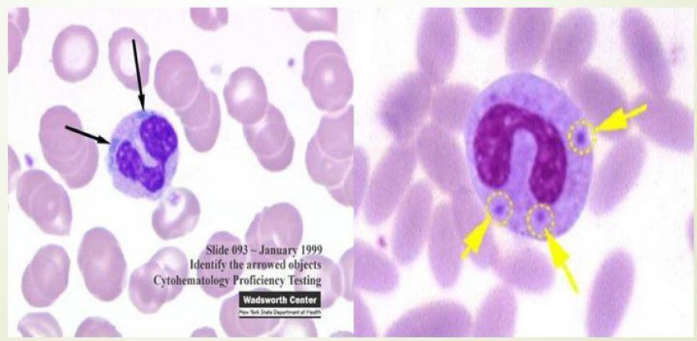
❊در بیماری های باکتریایی متوسط نوتروفیلی و در بیماری های باکتریایی شدید نوتروپنی وجود دارند.

2–ناهنجاری های شکلی:

دال بر عملکرد نامناسب است و معمولاً شکل نامناسب موجب عملکرد نامناسب می شود.

اجسام دلی یا دهل بادی **Dohle bodies**

نواحی بیضی به رنگ آبی–خاکستری روشن، نزدیک قسمت محیطی سیتوپلاسم نوتروفیل ها و ائوزینوفیل ها هستند که از تجمع شبکه اندوپلاسمی خشن ساخته می شوند. در عفونت های باکتریایی شدید، حاملگی، سوختگی، سرطان ها، کم خونی آپلاستیک و مسمومیت ها دیده می شوند. اجسام دهل غالباً همراه با گرانول های توکسیک دیده می شوند. این اجسام شبیه انکلوژن هایی هستند که در آنومالی مِی–هگلین دیده می شوند.(در نوتروفیل توکسیک این حالت دیده می شود).



نوتروفیل توکسیک:

1– سیتوپلاسم بازوفیلی می شود

2– جسم باکتریایی که فاگوسیت شده است ممکن است درون آن دیده شود

3– ممکن است گرانول های آبی درون آن دیده شود

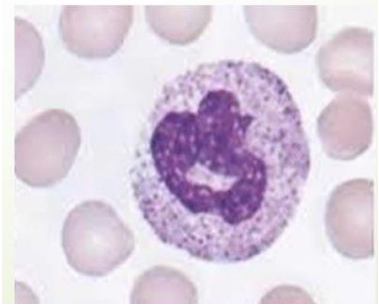
4– ممکن است هسته تکه تکه شده باشد

5– ممکن است واکوئل در آن دیده شود(در زمینه آبی رنگ شکل حباب شفاف دارد)

6– تغییر شکل هسته رخ می دهد(نوتروفیل در حالت دفاعی است و دچار آسیب می شود)

گرانول های توکسیک Toxic Grinulation

گرانول های بزرگ به رنگ آبی تیره یا آبی–سیاه بوده که در سیتوپلاسم نوتروفیل و برخی اوقات سلول باند و متامیلوسیت دیده می شوند. بررسی ها با میکروسکوپ الکترونی نشان داده که این گرانول ها در اصل همان گرانول های آزروفیل یا اولیه(یعنی از لحاظ محتوا بالغ نیستند) می باشند. معمولاً گرانول های آزروفیل با بلوغ سلول، خاصیت بازوفیلی خود را از دست می دهند و مقدار آنها در نوتروفیل بالغ، به یک سوم کاهش پیدا می کند. گرانول های اولیه توکسیک، بازوفیلی خود را در نوتروفیل بالغ به دلیل عدم بلوغ، حفظ کرده و در رنگ آمیزی و یا PH قلیایی بافر رنگ آمیزی، ممکن است به صورت آرتیفکت، گرانول هایی شبیه گرانول های توکسیک دیده شوند. گرانول های توکسیک در تمام حالات گفته شده برای اجسام دهل دیده می شوند.

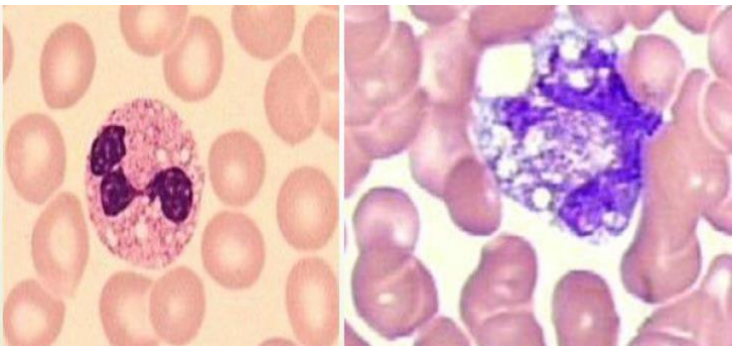


❋در پرومیلوسیت هم گرانول اولیه دیده می شود اما در ائوزینوفیل، بازوفیل و نوتروفیل گرانول ها ثانویه هستند.

واکوئل های سیتوپلاسمی Cytoplasmic Vacuoles

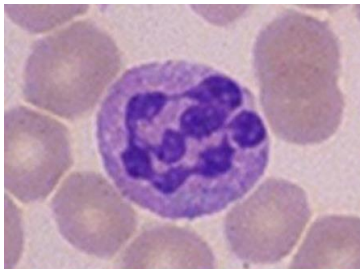
واکوئل های سیتوپلاسمی به صورت نواحی شفاف و بدون رنگ در سیتوپلاسم دیده می شوند که ممکن است در مرحله آخر هضم مواد فاگوسیتوز شده، مشاهده شوند و از جنس چربی یا سایر مواد

ذخیره شده هستند. این واکوئل ها نیز در تمامی حالات گفته شده برای اجسام دل و گرانول های توکسیک دیده می شوند. حضور واکوئل های سیتوپلاسمی به تنهایی ارزش تشخیصی ندارد، ولی می توانند به عنوان یک معیار حساس جهت سپتی سمی مطرح شوند. زمانی که این واکوئل ها همراه با افزایش سلول های باند و گرانولوسیت ها دیده شوند، احتمال عفونت خونی بیش از 93٪ خواهد بود. ماندن خون در EDTA نیز باعث ایجاد این واکوئل ها به صورت آرتیفکت می شود.(نشانه نوتروفیل توکسیک است).



هایپرسگمانتاسیون نوتروفیل Hypersegmentation

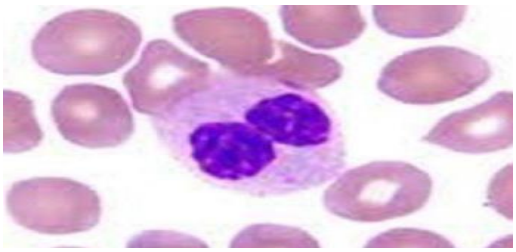
نوتروفیل های نرمال 5–3 لوب هسته دارند و نوتروفیل های بیش از 5 هسته را نوتروفیل های هایپرسگمانته می نامند. از ویژگی های تشخیصی کم خونی مگالوبلاستیک است. در فقر آهن و متعاقب شیمی درمانی نیز ممکن است مشاهده شود. به نوتروفیل های هایپرسگمانته بزرگ تر از حد طبیعی macropolycytes گفته می شود.(در حالت طبیعی 5 درصد نوتروفیل ها پیر هستند و اگر از 5 درصد بیشتر شوند این اصطلاح را به کار می برند).



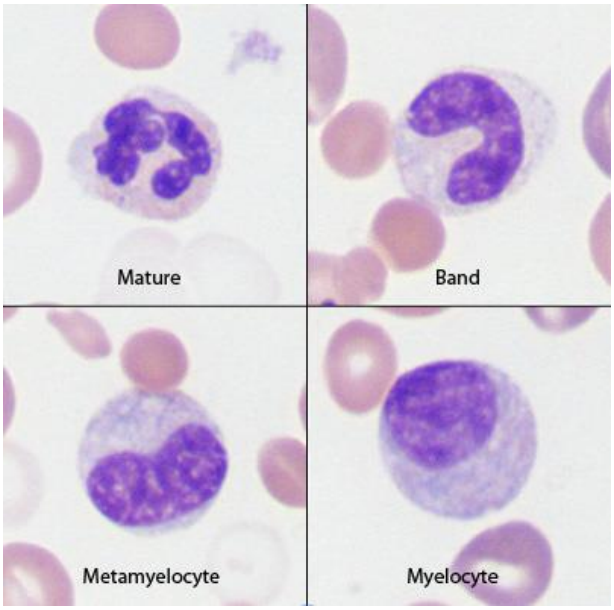
*آنمی مگالوبلاستیک: خون ساخته نمی شود و نوتروفیل ها بیشتر در بدن زنده می مانند و پیر می شوند و انحراف به راست رخ می دهد.

آنومالی پلگر-هیوت **Pelger-Huet anomaly**

آنومالی پلگر-هیوت به صورت خوش خیم و اتوزوم غالب به ارث می رسد. در حالت هتروزیگوت این بیماری، هسته نوتروفیل ها به صورت نوار سگمانته با بیشتر از دو لوب مشاهده نمی شود و اغلب ممکن است هسته، گرد و بدون سگمانته باشد(به هیپوسگمنتد هم معروف است). در حالت نادر هموزیگوت، هسته همه نوتروفیل ها گرد یا بیضی و گاهی هم به شکل بادام زمینی(دمبلی شکل) است. کروماتین هسته فشرده تر بوده و این مسئله کمک می کند تا نوتروفیل های پلگر هوئت را از سلول های باند افتراق داد. هسته های دولوبی به صورت دمبل شکل دیده می شوند که یک رشته ظریف کروماتین آنها را به هم متصل می کند. سلولی با این ظاهر، **Pince-nez cell** نامیده می شود. اهمیت تشخیصی این آنومالی، افتراق این بیماری ارثی از انحراف به چپ ایجاد شده در عفونت هاست.

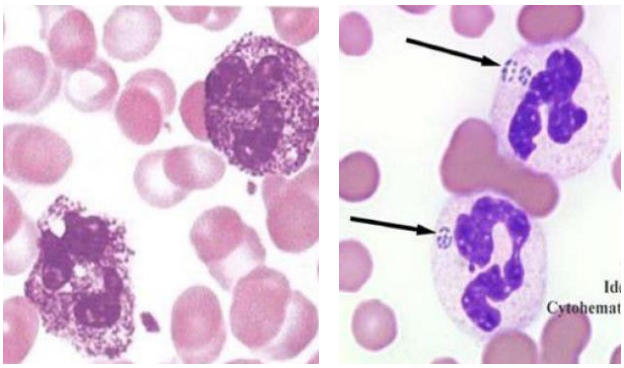


❊در عفونت ها نوتروفیل های بالغ در حال مقابله هستند و انحراف به چپ خفیفی رخ می دهد و نوتروفیل های باند زیاد می شوند که هسته ی نعل اسبی شکل دارند ولی در اینجا هسته بادام زمینی شکل یا نعل اسبی است.



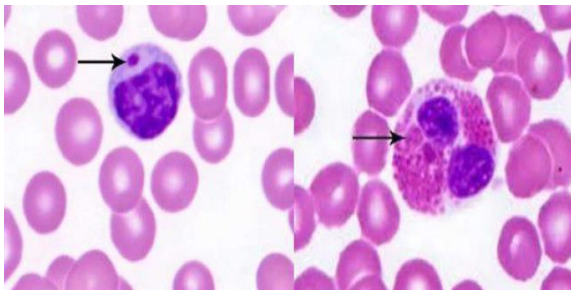
آنومالی آلدر–ریلی **Alder-Reily anomaly**

این بیماری به صورت اتوزومال مغلوب به ارث می رسد و مشخصه آن وجود گرانول های ارغوانی بزرگ در سیتوپلاسم همه گلبول های سفید است. **این گرانول ها در لنفوسیت ها به صورت دستجات خوشه انگوری یا کاما شکل، که توسط واکوئل احاطه شده اند، دیده شده که به این سلول ها، Gasser's cell می گویند.** این گرانول های غیر طبیعی، در **اختلالات موکوپلی ساکاریدی ارثی،** مانند سندروم **Hurler** و سندروم **Hunter** دیده می شوند. این گرانول ها، بیشتر در سلول های مغز استخوان دیده می شوند.



آنومالی چدیاک هیگاشی **Chediak Higashi aniomaly**

این بیماری یک اختلال نادر و اتوزوم مغلوب است و معمولاً در دوران نوزادی و کودکی به دلیل عفونت های چرکی شدید، منجر به مرگ می شود. **در سیتوپلاسم گلبول های سفید، اجسام غول آسا به رنگ سبز خاکستری با خاصیت پراکسیدازی، دیده می شوند.** در این بیماری، خاصیت کموتاکسی سلول ها از بین رفته و سلول های غیر طبیعی قادر به کشتن میکروارگانیسم ها نیستند. افراد مبتلا، دچار کاهش پیگمانتاسیون پوست، مو های سفید و ترس از نور photophobia هستند.

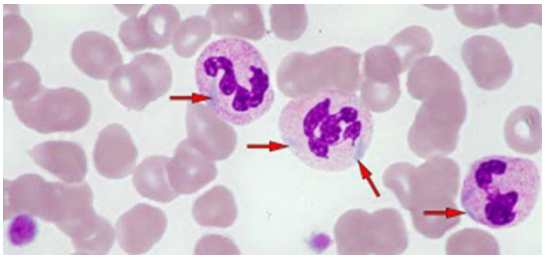


❊کودکان مبتلا به این عارضه زال هستند و زود می میرند.

آنومالی می–هگلین **May-Hegglin anomaly**

این بیماری به صورت اتوزوم غالب به ارث می رسد. گرانولوسیت ها دارای گرانول هایی به رنگ بازوفیلی هستند. این انکلوژن ها شبیه اجسام دهل بوده و حاوی RNA می باشند. **همراه با این**

اختلال، پلاکت های غول آسای حاوی گرانول**(giant platelets)**نیز دیده می شود.(پلاکت ها جمع می شوند و پلاکت غول آسا ایجا می کنند).



آئررود **Auer rod**

گرانول ها در سیتوپلاسم سلول های میلوبلاست به هم چسبیده، تشکیل ساختار هایی شبیه چوب کبریت می دهند که به آنها Auer rod می گویند و برای **AML معیار کامل تشخیصی است**؛ چون این ساختار ها فقط در میلوبلاست ها ایجاد می شوند و نه در لنفوبلاست ها.

ضد انعقاد های هماتولوژی

اتیلن دی آمین ترا استیک اسید

ضد انعقاد EDTA بوسیله عمل جذب و شلاته کردن کلسیم یونیزه و حذف آن از محیط پلاسما، عمل ضد انعقادی خود را انجام می دهد. EDTA که با نام های تجاری versene و sequestene نیز

در بازار موجود وجود دارد، به علت حفظ ساختار و مورفولوژی سلول های خونی، ضد انعقاد **انتخابی جهت آزمون CBC محسوب می شود.** EDTA بهترین ویژگی های ضد انعقاد مناسب جهت شمارش سلول ها را دارا می باشد که این **ویژگی ها عبارتند از: پایداری نمونه، امکان نگهداری طولانی مدت نمونه قبل از آنالیز، حداقل تغییرات سلولی و پخش یکنواخت سلول ها.** نمک های سدیم و پتاسیم آن از ضد انعقاد های قوی به حساب می آیند که علاوه بر خاصیت ضدانعقادی، با پخش یکنواخت سلول ها بر روی گستره خون محیطی، مطالعه مورفولوژی و تخمین شمارش سلولی را تسهیل می کنند.

اتیلن دی آمین ترا استیک اسید

کمیته های بین المللی (NCCLS(CLSI، ICSH و CLIA ، ضد انعقاد K2-EDTA را جهت آزمون CBC سفارش می کنند. K_2 نسبت به Na_2 از حلالیت بیشتری برخوردار است. تمامی نمک های EDTA هیپراسمولار بوده و موجب چروکیدگی گلبول های قرمز و کاهش میکروهماتوکریت می گردند. این مسئله در مورد K_3-EDTA چشمگیرتر بوده و در مورد K_2-EDTA و حتی Na_2-EDTA کمتر رخ می دهد زیرا که PH اسیدی این املاح(K_2 و Na_2) موجب تورم گلبول های قرمز و در مقابل، نمک بودن آنها موجب چروکیدگی RBC ها می شود که این دو پدیده در کنار هم، شرایط متعادلی را بوجود آورده و از چروکیدگی RBC جلوگیری می کنند. طبق استاندارد ICSH، نمونه های خون گرفته شده با K_3 بایستی طی 3 ساعت از نمونه گیری آزمایش شوند که این زمان برای نمونه های گرفته شده با K_2، 6 ساعت می باشد.

سیترات سدیم

سیترات سدیم با اتصال به کلسیم و شلاته کردن آن، عمل ضد انعقادی خود را انجام می دهد. به دلیل پایدار کردن فاکتور های V و VIII انعقادی، ضد انعقاد سفارش شده برای **تست های انعقادی PT** و **PTT می باشد** و با نسبت 1 به 9 با خون مخلوط می شود. سیترات سدیم کارایی پلاکت ها را حفظ کرده و بنابراین **جهت بررسی عملکرد پلاکت ها مناسب می باشد.** از آنجایی که باعث تجمع سلولی می شود، برای **انجام تست CBC مناسب نمی باشد.** ضمن اینکه مایع بودن سیترات سدیم نیز به جهت رقتی که ایجاد می کند، از عوامل نامناسب بودن آن برای شمارش سلول ها می باشد. در گذشته برای انجام تست های انعقادی PT و PTT در افراد معمولی و آنمیک، از سیترات سدیم 8.3 ٪ و در افراد پلی سیتمیکاز سیترات سدیم 2.3٪ استفاده می شده است. امروزه 8.3٪ به طور کلی منسوخ شده و سیترات سدیم 2.3٪ (سیترات دوآبه) به دلیل اسمولاریته مشابه با خون، از استاندارد بالاتری برخوردار است.

اگزالات پتاسیم و اگزالات آمونیوم

این ضد انعقاد پس از ترکیب با یون کلسیم موجب رسوب و دیونیزه شدن آن شده و از شروع روند انعقاد، تجمع پلاکتی و اتصال فاکتور های انعقادی جلوگیری می کند. اگزالات برخلاف EDTA ، یون کلسیم را به رسوب غیر محلول تبدیل می کند. **اگزالات فاکتور های V و VIII انعقادی را تخریب می کند و بنابراین برای آزمایش های PT و PTT مناسب نمی باشد.** در آزمایش های ESR، هماتوکریت و شمارش گلبول ها می توان از این ضد انعقاد استفاده نمود ولی از آنجایی که باعث تغییرات فاحشی در مورفولوژی اریتروسیت ها و لکوسیت ها می شود، **جهت ارزیابی های**

مورفولوژیکی این سلول ها مناسب نمی باشد. دوز مصرفی آن 1-2 mg/ml می باشد. اگزالات ها به صورت ترکیب با سدیم، پتاسیم و آمونیوم به کار گرفته می شوند که در بین آنها، اگزالات پتاسیم و اگزالات آمونیوم از کاربرد بیشتری برخوردار هستند. در بسیاری از موارد هم از ترکیب هر دوی آنها استفاده می شود که به آن اگزالات دوبل گفته می شود.

هپارین

موکوپلی ساکارید هپارین، پس از ترکیب با آنتی ترومبین III (مهار کننده فیزیولوژیک اصلی ترومبین و فاکتور Xa)، آن را غیر فعال کرده و مانع لخته شدن خون می شود. در حضور هپارین، سرعت واکنش بین ترومبین و آنتی ترومبین III حدود 200 برابر افزایش می یابد. برای جلوگیری از انعقاد خون، 20–10 واحد، معادل 0.1-0.2 mg هپارین HMWH به ازای هر میلی لیتر خون استفاده می شود. هپارین تا حدودی قدرت فعالسازی پلاکت ها را داشته و بنابراین باعث تجمع پلاکت ها و لکوسیت ها شده و در نهایت منجر به ایجاد اختلال در شمارش دستی و دستگاهی می شود. همچنین هپارین در رنگ آمیزی رتیکولوسیت ایجاد اختلال کرده و باعث کم رنگ شدن آن می شود و بنابراین برای شمارش رتیکولوسیت و در کل برای آزمایش **CBC** نامناسب می باشد.

هپارین حجم و شکل گلبول های قرمز را تغییر نداده و مانند سیترات محیط نمکی ایجاد نمی کند و بنابراین برای کاهش میزان تخریب سلول ها پس از خونگیری مناسب می باشد. حفظ شکل گلبول های قرمز و جلوگیری از تخریب آنها و همچنین عدم تغییر غلظت نمکی محیط، باعث شده تا هپارین ضد انعقاد مناسبی برای آزمایش شکنندگی اسمزی محسوب شود. هپارین با ممانعت از پیوند هورمون های T_3 و T_4 به پروتئین حامل، موجب افزایش فرم آزاد این هورمون ها می شود. در آزمایشات

مولکولی و PCR نباید از هپارین استفاده کرد؛ زیرا که این ضد انعقاد، بازدارنده آنزیم Taq پلیمراز است. نیمه عمر هپارین 8-6 ساعت و کمتر از سایر ضد انعقاد ها بوده و زودتر خاصیت ضد انعقادی خود را از دست می دهد، **بنابراین برای نگهداری طولانی مدت نمونه ها مناسب نمی باشد.**

تغییرات سلولی در اثر ماندن خون

❊هر چه خون بیشتر بماند، شروع به تغییرات مختلف مورفولوژیکی و عملکردی می کند و این تغییرات در دمای اتاق به مراتب بیش از تغییرات در دمای یخچال می باشد. معمولاً شروع تغییرات از یک ساعت بعد از خونگیری در دمای اتاق آغاز شده و طی 3 ساعت پس از آن به حالت محسوس و مشخص در می آید و پس از 12 ساعت تغییرات فاحش و حتی تخریب سلولی نمایان می شود:

1- هسته برخی نوتروفیل ها نسبت به سلول های تازه به صورت یکنواخت تری رنگ می گیرد. لوب های هسته ممکن است از یکدیگر جدا شده و حاشیه سیتوپلاسم مضرس گردد و یا اینکه واضح و روشن دیده نشود.

2- حضور واکوئل در سیتوپلاسم نوتروفیل های خون مانده، ممکن است با واکوئل دار بودن سمی نوتروفیل ها که در سپتی سمی ها مشاهده می گردد، اشتباه شود.

3- ممکن است در سیتوپلاسم مونوسیت ها، حفرات کوچکی دیده می شود و یا اینکه هسته تحت فشار زیاد، شروع به خرد شدن می کند.

4- ممکن است ذراتی در سیتوپلاسم لنفوسیت ها دیده شود و یا هسته شروع به جوانه زدن کند و در نهایت به صورت دو یا سه لوبه درآید. لوبولاسیون لنفوسیت ها در این حالت ممکن است با لنفوم سلول های T که در آن هسته به صورت گلبرگ در می آید، اشتباه شود.

5- نوتروفیل های خون مانده با هسته های فشرده، ممکن است با NRBC اشتباه شوند. بقایای گرانول های سیتوپلاسمی نوتروفیل در این حالت باعث تمایز از NRBC می شود.

6- گلبول های قرمز بعد از 6 ساعت در حرارت 25-18 درجه تحت تأثیر قرار گرفته و گذشت زمان باعث کنگره دار شدن به شکل اکینوسیت و کروی گشتن آنها به شکل اسفروسیت می شود.

7- با گذشت زمان، RBC ها متورم شده و میزان MCV به طور کاذب بالا می رود. به ازای هر 12 ساعت، تا 3-4 fl تغییر در MCV رخ می دهد.

8- تورم گلبول های قرمز در اثر ماندن خون، از ایجاد پدیده Roulex در هنگام آزمایش ESR جلوگیری می کند و سرعت رسوب را کاهش می دهد. آزمایش ESR باید تا 2 ساعت پس از خونگیری انجام شود.

9- شکنندگی اسمزی و PT به آرامی افزایش می یابد.

10- شمارش WBC و پلاکت، تدریجاً کاهش می یابد و MPV پلاکت افزایش پیدا می کند.

11- شمارش رتیکولوسیت پس از 6 ساعت کاهش یافته، ضمن اینکه پس از 2-1 روز ماندن خون، NRBC ها بالغ گشته و از خون ناپدید می شوند.

12- کاهش تعداد سایت های آنتی ژنی بر روی سلول ها و تضعیف واکنش های سرولوژیکی و بانک خون

13- کاهش عیار میلوپراکسیداز در لکوسیت ها و ایجاد خطا در بررسی های سیتوشیمی سلول ها

14- به شرط آلوده نبودن خون، میزان هموگلوبین تا چند روز ثابت و پایدار باقی می ماند.

15- نگهداری خون در دمای 4 درجه سانتی گراد، تغییرات قابل توجهی در MCV و سایر اندکس ها ایجاد نمی کند.

16- بنابراین با توجه به موارد فوق، تهیه هرچه سریع تر گسترش توصیه می شود. در گسترش های تهیه شده از خون تازه بدون ضد انعقاد، تجمع پلاکتی مشاهده می شود و بنابراین برای کنترل شمارش و یا تخمین تعداد پلاکت ها، نمونه مناسبی محسوب نمی شود. اهمیت و تأثیر مخلوط کردن خون قبل از انجام آزمایش و به خصوص زمانی که نمونه از قبل نگهداری شده، باید مورد تأکید قرار بگیرد. آنالیز نمونه سرد، هیستوگرام های ناهنجار ایجاد می کند و از این رو بایستی نمونه خون ابتدا به دمای اتاق برسد و سپس آنالیز شود. برای آنالیز نمونه هایی که دارای آگلوتینین سرد هستند، نخست باید خون را به دمای 33 درجه رساند و سپس به آنالیزور داد.

❊NRBC گلبول قرمز هسته دار است که اگر در خون دیده شود نشانه ی shift to left است و در حقیقت basophilic stippling ای است که در گلبول قرمز هسته دار رخ داده است و از نشانه های لوسمی می باشد.

❊ آزمایش ESR میزان رسوب گلبول های قرمز را اندازه گیری می کند. ESR مخفف عبارت Erythrocyte Sedimentation Rateاست. گاهی از این آزمایش با عنوان آزمایش میزان رسوب یا تست سرعت سد نیز یاد می شود. آزمایش ESR به پزشک کمک می کند تا تشخیص دهد که آیا در بدن بیمار التهاب وجود دارد یا خیر.

بیوشیمی– دکتر عمواوغلی

ارزیابی عملکرد کلیه

کلیه‌ها به تعداد یک جفت معمولاً از مهره‌های 11 سینه تا 3 کمر شروع می‌شوند. بسته به گونهٔ حیوان شکل متفاوت دارند. اکثراً لوبیایی و در بعضی هرمی یا لوبولار است. واحد عملکردی کلیه تحت عنوان نفرون می‌باشد. تعداد نفرونها بر حسب گونه متفاوت است مثلاً در گربه 190000 و در سگ 430000 در هر کلیه می‌باشد. هر نفرون از شبکه گلومرولی، کپسول بومن، لوله نزدیک، لوله هنله، لوله پیچیده دور و لوله‌های جمع‌کننده تشکیل شده است.

عملکرد کلیه

1– تنظیم هُموستاز بدن　　2– ترشح هورمون اریتروپوئتین

3– دفع مواد زائد　　4– دفع برخی از هورمونها و آنزیمها (آمیلاز و لیپاز)

فشار خون یا فشار هیدرواستاتیک موجود در عروق خونی سبب می‌شود مواد به داخل کپسول بومن فیلتره شود. از طرف دیگر در داخل خون فشار اسمزی داریم که مانع از دفع تمام مواد به داخل کپسول می‌شود.

عوامل موثر بر نقل و انتقال مواد به داخل نفرون ها:

1–فشار اسمزی

2–اندازه

3-بار الکتریکی منفی غشا

- قند نرمال انسان: 90-110 mg/dl
- قند نرمال گاو: 60-70 mg/dl(در نزدیکی زایمان مستعد کتوز است چون از چربی برای انرژی استفاده می کنند.
- قند خون پرندگان و جوندگان: 240 mg/dl
- دیابت به معنای تکرر ادرار است.
- دیابت بی مزه:عامل آن ADH است.
- دیابت شیرین:عامل انسولین و یا گیرنده انسولین است.
- اگر فردی 140 mg/dl در حالت ناشتا گلوگز داشته باشد و در ادرار قند نداشته باشد دارای دیابت ملیتوس مخفی است.
- اگر در ادرار هم قند وجود داشته باشد دارای دیابت ملیتوس آشکار است.
- آستانه دفع کلیوی گلوگز 180 mg/dl است.
- هُموستاز:تعادل آب و الکترولیت ها

اختلالات کلیه

1- *Pre renal*: در این حالت کلیه سالم است و مشکل در سایر ارگان‌ها است مانند مشکلات قلبی- عروقی و یا هر عاملی که خونرسانی را به کلیه مختل کند(مثل تومور).

2- *Renal* : که خود شامل سه بخش است
- درگیری گلومرول نظیر گلومرونفریت
- توبول کلیوی مانند ATN
- کاهش خونرسانی به توبول و گلومرول

3- *Post Renal*: خود کلیه سالم است ولی بعد از کلیه مشکل وجود دارد نظیر انسداد مجاری ادراری

آزمایشات کلیه

1) ارزیابی گلومرول: آزمایشاتی که گلومرول کلیه را ارزیابی می‌کنند و شامل دو مورد است:

الف) کلیرانس اینولین(3-2 ساعت نیاز به ارزیابی دارد) و کراتینین

ب) سنجش ***NPN***(نظیر اوره، اسید اوریک، کراتینین)

2) ارزیابی توبول‌های کلیه

الف) کلیرانس ***PSP***(فنل سولفو فتالئین) و ***PAH***(پارا آمینو هیپورات)

ب) آزمایش تغلیظ ادرار یا اندازه‌گیری وزن مخصوص

3) تجزیه کامل ادرار (Urinalysis)

آستانه دفع کلیه ***Renal threshold***

عبارت است از غلظتی از غلظت پلاسمایی ماده مورد نظر که اگر تمامی توبولها فعال شوند نتوانند مانع دفع آن شوند. بر این اساس مواد دو دسته می‌شوند:

1) موادی که آستانه دفع کلیوی آنها پایین است: مواد زائد مثل اوره، کراتینین

2) موادی که آستانه دفع کلیوی بالایی دارند: گلوکز، پروتئین

کلیرانس یا پاکسازی: عبارت است از تستی که به وسیله آن حجم خونی که در واحد زمان از یک ماده پاک می‌شود را محاسبه می‌کنند.

✓اوره تنها ماده‌ای است که اندازه‌گیری آن برای سنجش و ارزیابی گلومرول و توبول های کلیه توأماً می‌باشد.

آزمایشات گلومرول

کلیرانس اینولین: اینولین قند و پلیمری از فروکتوز است با اتصالات 2→1 6است با وزن مولکولی 5000 دالتون. به طور طبیعی در بدن وجود ندارد و ماده خارجی است و سنتتیک می‌باشد. اینولین را به صورت تزریقی استفاده می‌کنند اما امروزه به دلایلی استفاده نمی‌شود از جمله: سرطان‌زا بودن، طولانی بودن آزمایش، مراقبت از بیمار حین آزمایش.

کلیرانس کراتینین: کراتینین از سه اسید امینه گلیسین، آرژنین و متیونین در کبد، کلیه و روده سنتز می شود و از طریق گردش خون به قسمتهای مختلف مخصوصاً عضلات و مغز می‌روند و با مصرف *ATP* و تحت تاثیر فسفوکیناز یا کراتین کیناز به کراتین فسفات تبدیل می‌شوند که ذخیره انرژی است و در زمان کمبود مصرف خواهد شد. روزانه یک تا دو درصد کراتین فسفات به کراتینین تبدیل می‌شود و بایستی دفع شود.

دلایل استفاده از کراتینین

1- روزانه میزان ثابتی تولید می‌شود. 2- در مایعات مختلف بدن پخش نمی‌شود.

3- تنها راه دفع آن کلیه و از طریق شبکه گلومرول است و بازجذب نمی‌شود.(در عرق و بزاق دفع نمی شود).

4- بسته به رژیم غذایی نیست.

برای ارزیابی کلیرانس کراتینین ابتدا مثانه را خالی کرده و به حیوان آب می‌دهند و در دو زمان مختلف (با فاصله 2 ساعت) نمونه ادرار و سرم می‌گیرند و میزان کراتینین را می‌سنجند.

نکته: کراتین C:پیش ساز کراتینین کراتین K:پوست و ناخن

✓در آزمایشگاه مهمترین ماده‌ای که با کراتینین واکنش کاذب ایجاد می‌کند مواد کتونی هستند.

✓اگر کراتینین ادرار به سرم بیشتر از 50 به 1 باشد پیش‌کلیه و اگر کمتر از 37 به 1 باشد خود کلیه درگیر است.

اندازه‌گیری ***NPN***

مهمترین ***NPN***اوره است. اوره محصول نهایی متابولیسم پروتئین در بدن است. اوره 100٪ توسط شبکه گلومرولی فیلتره می‌شود بعد از فیلتر شدن در حدود 50-40٪ توسط انتشار غیرفعال بازجذب می‌شود و مابقی دفع خواهد شد. میزان دفع بسته به سرعت ادرار است. همچنین اوره از طریق عرق کردن و دستگاه گوارش هم دفع می شود.

Azotemia: یک نشانه آزمایشگاهی است و به افزایش ازت خون گفته می‌شود.

Uremia: یک سندرم است که در اثر نارسایی کلیوی می‌باشد که باعث استفراغ، تهوع، زخم‌های دهانی و زبانی و ... می‌شود. در این حالت اوره به آمونیاک تبدیل می‌شود و باعث بروز زخم‌های گوارشی می‌شود.

در ***Rum*** و ***Equ*** اوره دفع شده به داخل دستگاه گوارش توسط باکتری‌های اوره‌آز تجزیه شده و آمونیاک حاصل می‌شود. مقداری از آمونیاک دفع و مقداری توسط فلور دستگاه گوارش برای ساختن اسیدهای آمینه استفاده خواهد شد. بنابراین میزان اوره در نشخوارکنندگان بسته به نیتروژن دریافتی است. در حیوانی که میزان نیتروژن دریافتی کم است یا لاغر است و مشکل کلیوی داشته باشد اوره از طریق دستگاه گوارش دفع می‌شود و به همین دلیل ارزش تشخیصی کمتری خواهد داشت. اوره در مدفوع وجود ندارد و به صورت آمونیاک در مدفوع وجود دارد.

✓نسبت ***NPN/BUN*** جهت ارزیابی کل کلیه استفاده می‌شود که این نسبت بین 2.5–1.35 است. در بیماری‌های کلیوی میزان این نسبت کمتر و در بیماری‌های کبدی میزان افزایش خواهد داشت.

ازوتمی *Azotemia* به سه دسته تقسیم می‌شود

1) *Pre renal*: وقتی که فرد بیماری‌های قلبی– عروقی، دهیدراتاسیون، شوک، رژیم غذایی غنی از پروتئین، دیستروفی عضلانی، تزریق هورمونهای کورتیکواستروئیدی، دیابت ملیتوس، عفونت و تب داشته باشد ازوتمی از نوع پیش‌کلیه است.

***گلوکوکورتیکوئیدها افزایش متابولیسم پروتئین و افزایش گلوکونئوژنز را باعث می‌شوند. در دهیدراتاسیون فشار کم و میزان خون رسیده به کلیه کم است و میزان ازت خون افزایش می‌یابد و میزان ادرار در توبولها کم و سرعت ادرار کم است و افزایش بازجذب اوره از کلیه بیشترمی‌شود.**

2) *Renal* : تا زمانی که نفرونهای کلیه فعالیت خودشان را از دست بدهند در این زمان ازوتمی ظاهر خواهد شد. در ازوتمی کلیوی اوره و کراتینین سرم یا پلاسما نسبت به ادرار زیاد خواهد شد.

3) *Post renal*: که معمولاً بعد از کلیه درگیری وجود دارد که شامل التهاب مثانه، حالب، سنگ های مجاری ادراری، مشکلات پروستات و ... است که باعث می‌شود ادرار به کلیه پس بزند.

✓نسبت *BUN/Crea* در حالت طبیعی 16-12 است. اگر این نسبت افزایش یابد؛ ازوتمی پیش کلیوی، مصرف پروتئین بالا و یا مراحل انتهایی بیماری‌های تحلیل برنده عضلانی را داریم. **اگر این نسبت کاهش یابد؛ مشکل کبدی، رژیم غذایی فقیر، بیماری‌های تحلیل برنده عضلانی، دهیدراتاسیون و یا بیماری‌های پیش‌کیلوی** را داریم.

Uric Acid

در دامپزشکی به خصوص در حیوانات بزرگ ارزش تشخیصی ندارد. در حیوانات برخلاف انسان در زمانی که اسید اوریک تولید می‌شود آنزیم اوریکاز آن را به **ترکیبات آلانتوئیک** تبدیل می‌کند که محلول در آب است و به راحتی می‌تواند دفع شود. اسید اوریک جزء ***NPN*** ها بوده و از متابولیسم پروتئین و بازهای پورینی بدست می‌آید. در انسان، پریمات ها، سگهای نژاد دالماسی و طیور اسید اوریک ارزش تشخیصی دارد؛چون آنزیم اوریکاز ندارند.

افزایش میزان اسید اوریک در بدن تحت عنوان نقرس نامیده می‌شود که با رسوب اورات در مفاصل می‌باشد که می‌تواند اکتسابی یا مادرزادی باشد. میزان اسید اوریک در بدن *mg/dl* 7-2 است.

ارزیابی توبولها

*PSP*و *PAH* اسید ضعیف‌اند و یک ماده خارجی. بعد از تزریق 90٪ توسط کلیه و 10٪ توسط کبد برداشته می‌شود. از 90٪ کلیه 90-85٪ توسط توبولها برداشت می‌شود و به ادرار ترشح می‌شود در سگ و انسان ارزش تشخیصی دارد و به دو روش محاسبه می‌شود:

1- میزان ترشح را بسنجیم که در این حالت مثانه را با سوند تخلیه می‌کنیم و بدون در نظر گرفتن وزن حیوان *6mg* از ماده را تزریق می‌کنیم سپس در دو نوبت 10 و 20 دقیقه نمونه ادرار می‌گیریم *10ml* سود 2.5 نرمال به آن اضافه می‌کنیم و حجم ادرار را با آب مقطر به 1 لیتر می‌رسانیم و میزان جذب نوری را در 560 نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت می‌کنیم.

2- اندازه‌گیری نیمه عمر ($T_{1/2}$) *0.5 mg/kg* از ماده فوق را تزریق کرده، 15 و 25 دقیقه بعد دو نمونه خون می‌گیریم و از نمونه‌ها پلاسما را جدا می‌کنیم پس از آن *1ml* پلاسما را با *3ml* استن و *0.5ml* سود 4 نرمال مخلوط کرده سانتریفیوژ کرده و مایع رویی را در مقابل آب مقطر قرائت می کنیم. $T_{1/2}$ در سگها *min* 24-18 می‌باشد.

✓وزن مخصوص نشانگر مواد جامد محلول در یک مایع است که توسط اورینومتر یا هیدرومتر اندازه‌گیری می‌شود و در حیوانات این رنج 1045-1010می‌باشد. افزایش آن در اسهال، استفراغ،

تب، نبود آب کافی التهاب مثانه، التهاب بینابینی حاد دیده می‌شود و **کاهش آن در اثر نوشیدن آب زیاد، التهاب بینابینی مزمن و دیابت بی‌مزه دیده می‌شود.**

اخذ ادرار: در حالت طبیعی در بعضی حیوانات با حبس تنفسی (در گوسفند)، با تحریک ناحیه پرینه (گاو ماده)، استفاده از سوند و سوراخ کردن مثانه یا سیستوسنتز که استریل‌ترین راه است. بهترین زمان گرفتن ادرار اول صبح ناشتا است که بدن متابولیسم ندارد و در حد طبیعی است.

نگهداری نمونه: بهترین دما، دمای یخچال (**c**°4-2) است که 24-12 ساعت می ماند. اگر بخواهیم رسوبات حفظ شود از فرمالین 40٪، 1 قطره برای ***ml***30 ادرار و یا محلول تولوئن یا تیمول تا حدی که در سطح ادرار یک لایه تشکیل دهد استفاده می‌کنیم.

Urinalysis

1) فیزیکی 2) شیمیایی 3)میکروسکوپی

آزمایشات فیزیکی

الف) شفافیت: ادرار طبیعی شفاف است به جزء اسب که به علت داشتن موکوس و کربنات کلسیم کدر است. **ماندن ادرار به مدت طولانی، وجود عفونت، وجود پروتئین و سنگ، اسپرم و چربی می‌تواند باعث از بین رفتن شفافیت شود.** درگربه در اثر استرس چربی وارد ادرار شده و رنگ را کدر می‌کند. **برای تشخیص از اتر، کلروفورم و یا حرارت استفاده می‌شود.**

ب) رنگ ادرار: زرد روشن یا زرد تیره یا کهربایی است که بستگی به حجم ادرار دارد. ادرار اسب سالم زرد رنگ است ولی در اثر ماندن به دلیل اکسید شدن ماده‌ای به نام پیروکاشین (***Pyrocatechin***) رنگ ادرار قهوه‌ای تا سیاه رنگ می‌شود.

ج) بو: هر حیوانی بوی خاص خود را دارد. دو حالت مهم یکی بوی استن است که در بیماری کتوز دیده می‌شود و دیگری آمونیاک است که یا ادرار زیاد مانده است(زیاد ماندن ادرار موجب ایجاد زخم در دستگاه ادراری می شود) و یا عفونت ادراری وجود دارد.

د) کف: در ادرار طبیعی 10–5 دقیقه کف باقی می‌ماند. اگر بیشتر از 10 دقیقه باقی بماند نشان دهندۀ وجود پروتئین است(وجود پروتئین موجب پایین آمدن کشش سطحی ادرار می شود).

و) وزن مخصوص: وجود 2.7 گرم گلوکز، 4 گرم پروتئین و 3.6 گرم اوره وزن مخصوص را 0.001 زیاد می‌کند.

ه) حجم ادرار: بسته به جثه حیوان حجم ادرار هم متفاوت است.

وزن مخصوص ادرار

1. $\rho=m/v$ وزن مخصوص ادرار
2. وزن مخصوص ادرار واحد ندارد
3. با هیدرومتر یا اورینومتر وزن مخصوص ادرار را می سنجند.

4. افزایش وزن مخصوص به معنای این است که مواد جامد (m) بالا رفته و حجم (v) پایین آمده که در موارد کم آبی و دهیدراتاسیون رخ می دهد. **کاهش وزن مخصوص هم در موارد مصرف مایعات زیاد یا دیابت بی مزه رخ می دهد.**

5. در ارزیابی پروتئین در ادرار وزن مخصوص را می سنجیم که با پروتئینوری در حالت نرمال وزن مخصوص هم زیاد می شود.

6. گلوگز اوری در اثر دیابت شیرین و همچنین کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ D (قلوه نرمی) ایجاد می شود.

✓ ***Isostheneuria***: حالتی است که وزن مخصوص ادرار مابین 1012–1008 می‌باشد و تغییر پیدا نمی‌کند و زمانی اتفاق می‌افتد که یا حداقل نفرونها از بین رفته‌اند یا توانایی تغلیظ توبولها از دست رفته باشد.

آزمایشات شیمیایی

الف) ***PH***: ***PH*** ادرار در علفخواران قلیایی و در حدود 7/4–8/4 می‌باشد در حالیکه در گوشتخواران ***PH***ادرار اسیدی و در حدود 7–5 می‌باشد. **در نوزادان به خاطر مصرف شیر ادرار اسیدی است.** ***PH***ادرار در فعالیتهای شدید عضلانی،تب، تجویز املاح کلرور (سدیم، آمونیوم) ، اسیدوز کمتر می‌شود در حالیکه در آلکالوزها، تجویز املاح نظیر استات، بی‌کربنات، نیترات، التهاب مثانه، انسداد مجاری ادراری زیادتر می‌شود.

✓ ***Alkalin tide*** که در گوشتخواران خصوصاً در گربه دیده می‌شود، و در نتیجه ترشح اسید میزان *PH*ادرار وپلاسما تغییر پیدا خواهد کرد.(در گربه بعد از غذا خوردن ادرار قلیایی می شود چون برای ترشح اسید معده، H^+ از ادرار می گیرد).

ب) پروتئین: در حالت طبیعی پروتئین در داخل ادرار نیست مگر در زمان زایش، فعالیت شدید عضلانی، جیره غنی از پروتئین، دامهای نوزاد، استرس و هیجان. **در زمان زایمان به علت تغییرات هورمونی (ترشح استروژن و پروژسترون)** و کششهای عضلانی زیاد و در **استرس** به علت ترشح **کورتیکواستروئیدها** پروتیئن در ادرار دیده می‌شود.

✓ برای ارزیابی پروتئین در ادرار همیشه وزن مخصوص را همراه آن اندازه می‌گیریم. نسبتی تحت عنوان **پروتئین ادرار بر کراتینین** داریم که **در حالت طبیعی کمتر از 0/5** است. اگر مابین 1-0.5 باشد مشکوک می‌شویم و اگر بیشتر از 1 باشد پروتئین اوری قلمداد می‌شود.

***سه حالت پاتولوژیک برای پروتئین‌اوری داریم**

1) پیش‌کلیوی: در حالت پیش‌کلیوی عواملی مثل تب، شوک، فعالیتهای شدید عضلانی، کشیدگی‌های عضلانی باعث می‌شود که نفوذپذیری گلومرولها بیشتر شود و پروتئین‌اوری دیده می‌شود. در این حالت خون در ادرار نیست.

2)کلیوی: در این نوع خون در ادرار نداریم و تعداد زیادی سلول در رسوبات دیده می‌شود. **اگر بیماری از نوع گلومرولی باشد نسبت بیشتر از 3 و جزء اصلی پروتئین آلبومین است اما اگر**

توبولهای کلیوی درگیر شوند نسبت کمتر از 2 و جزء اصلی پروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم خواهند بود.

3) پس‌کلیوی: در اثر التهابات، نئوپلاسم، ضربه دیده می‌شود. همراه با پروتئین،گلبول‌های سفید و قرمز همراه است. میزان کمتر از 2 می‌باشد.

ج) گلوکز: در حالت طبیعی در ادرار گلوکز نداریم اما در زمانیکه میزان گلوکز بیشتر از آستانه دفع کلیوی باشد در ادرار گلوکز دیده خواهد شد. در بیماری‌های نظیر دیابت ملیتوس، درگیری توبولهای کلیوی، آنتروتوکسمی در گوسفند، پرکاری یا تومور سلول‌های آلفای جزایر لانگرهانس و.... این حالت ایجاد می‌شود.

د) کتون‌بادی: در حالت طبیعی یک یا دو درصد بدن تولید می‌شوند. مغز و کبد می‌توانند مصرف کنند. به مقدار جزئی هم از ادرار دفع می‌شوند. مهمترین آنها β هیدروکسی بوتیریک اسید، اسید استواستیک و استون است.

و) رنگدانه‌ها و املاح صفراوی: در حالت نرمال رنگدانه‌ای که سبب رنگ ادرار خواهد شد اورو بیلینوژن می‌باشد و به مقدار کم بیلی‌روبین کونژوگه (محلول در آب) است.

ه) خون در ادرار: در حالت طبیعی 2-1 عدد گلبول قرمز و 1-0 عدد گلبول سفید در رسوبات ادرار ممکن است دیده شود. در موقع ادرار گرفتن اگر خون در ابتدای ادرار باشد پیش‌آبراه، **اگر ادرار توأم با خون باشد کلیه و میزنای** و اگر بعد از اتمام ادرار خون بیاید مثانه درگیر است.

ی) **نیترات:** آزمایش غربالگری برای وجود یا عدم وجود بیماری باکتریایی است. در صورتی که باکتری نیترات باشد نیترات را به نیتریت تبدیل می‌کند.

رنگ قرمز ادرار ناشی از 3 حالت است:

1- هماچوری (گلبول قرمز در ادرار): در این حالت ادرار قرمز است ولی بعد از سانتریفیوژ شفاف می‌شود. در رسوبات گلبول قرمز داریم.

2- هموگلوبینوری: هموگلوبین درشت می‌باشد و نمی‌تواند از سد گلبول دفع شود و اگر دفع شود چون آستانه دفع کلیوی آن *70 mg/dl* می‌باشد بازجذب می‌شود در این حالت:

I. با سانتریفیوژ کردن ادرار شفاف نمی‌شود.
II. آنمی یا کم‌خونی داریم و اگر خونگیری کنیم و پلاسما را بدست بیاوریم قرمز رنگ است و شفاف نمی‌شود.

3- میوگلوبینوری: در این حالت ادرار با سانتریفیوژ شفاف نمی‌شود **ولی پلاسما یا سرم شفاف است و نشان دهنده وجود بیماری عضلانی است.**

- ❖ برای تمایز هموگلوبینوری و میوگلوبینوری، اگر پس از اخذ سرم یا پلاسمای خون بیمار سانتریفیوژ کردیم و کدورت دیده شد(قرمزی یا صورتی) هموگلوبینوری است چون به آلبومین متصل است و اگر شفاف بود میوگلوبینوری است.
- ❖ نوع سلول پوششی در ادرار نشان دهنده ی محل درگیری دستگاه ادراری است.
- ❖ گلوکونئوژنز: تولید مواد قندی از غیر قندی

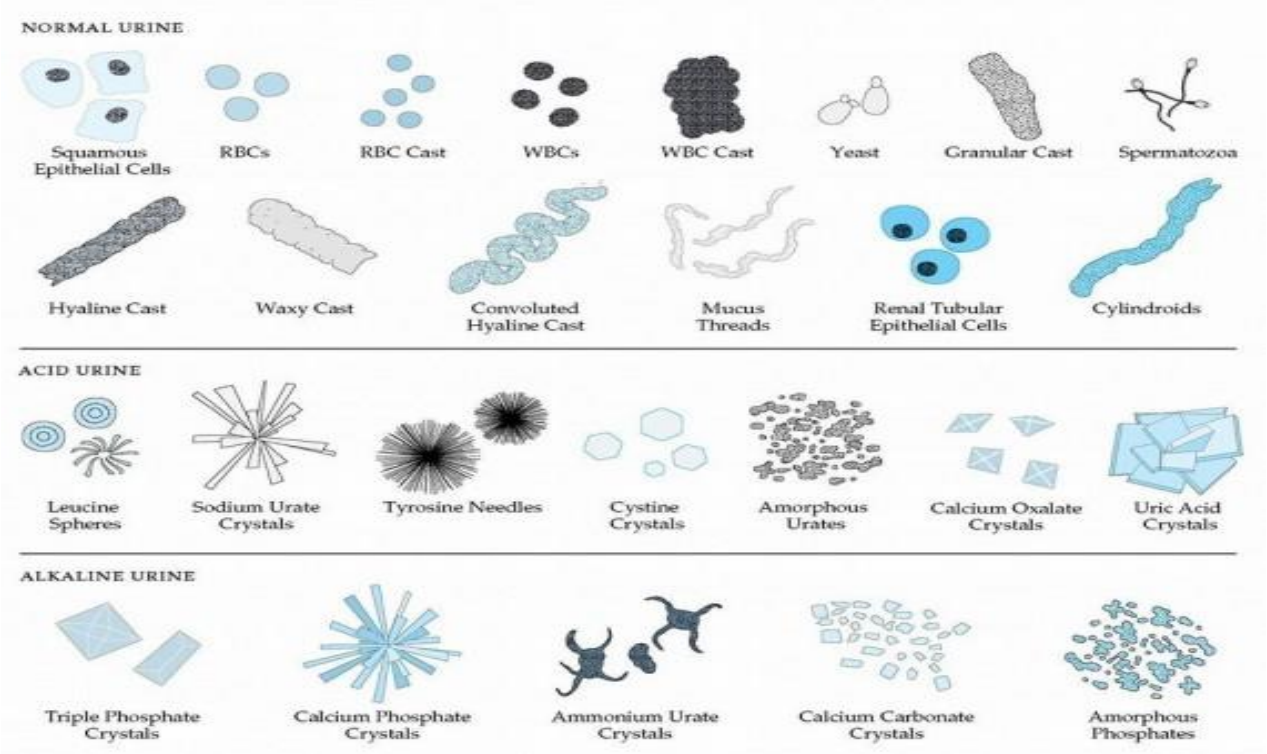
✓**آنزیم‌های کبدی موجود در ادرار:** ***GGT*** (گاما گلوتامین ترانسفراز) یک کربوکسی پپتیداز می باشد. در حالت نرمال توسط توبول‌های کلیوی ساخته می‌شود. بنابراین آسیب توبولها یا سلول‌های توبولی سبب می‌شود که ***GGT*** در ادرار بیشتر شود. **افزایش این آنزیم در خون نشان دهنده بیماری کبدی است.**

آزمایشات میکروسکوپی

در یک فرد نرمال در رسوبات ادرار ممکن است گلبول قرمز، گلبول سفید، اسپرم و سلول‌های پوششی پیش‌آبراه، مثانه، حالب، لگنچه و کلیه را می‌بینیم. در گوشتخواران بلورهای فسفات و در تک سمی‌ها بلورهای کربنات کلسیم دیده خواهد شد. هرکدام از نواحی کلیوی که درگیر شود سلولهای پوششی آن ناحیه وارد ادرار خواهد شد. زمانی که خونریزی داشته باشیم گلبول‌های قرمز بیش از 2-1 عدد و معمولاً گرد، شفاف و شبیه قطره چربی دیده می‌شود. در زمانیکه عفونت داشته باشیم گلبول سفید به صورت دانه‌دار و کمی بزرگتر از گلبول قرمز دیده می‌شود. وجود چرک در ادرار را ***Pyuria*** می‌گویند. اگر ادرار به طور استریل تهیه شده باشد معمولاً فاقد باکتری است. بیماری‌های قارچی در دستگاه ادراری و به خصوص افراد مونث دیده می‌شود اما در حالت نرمال نداریم. در داخل ادرار ممکن است تخم برخی انگل‌ها(مثل شیستوزوما یا دیکتیوکولوس رناله) را داشته باشیم.

کستهای ادراری:

کست عبارت است از قالبهای سیلندری شکل که در زمان کاهش سرعت ادرار، کاهش ***PH***، غلیظ شدن و وجود پروتئین در قوس هنله و بعد از آن تشکیل می‌شود.



انواع کست:

1) کست هیالن: یک کست فیزیولوژیک است. یک انتها گرد و انتها دیگر رشته مانند و پیچ خورده است(شکل شبیه اسپرم). بی‌رنگ و شفاف و عمدتاً موکوپروتئین می‌باشد. تحت عنوان ***Tamm harsphall***است که در زمان استرس، فعالیت شدید عضلانی و همچنین در زمان بیماری‌ها در ادرار ظاهر می‌شود.**(اگر این کست تنها دیده شود فیزیولوژیک است و اگر با کست های دیگر دیده شود پاتولوژیک است).**

2) کست پوششی یا اپی‌تلیال: از دلمه شدن یا تجمع سلول‌های پوششی همراه با پروتئین ایجاد می شود که پروتئین به عنوان یک سیمان ساختمانی است وجود این سلول پوششی دلیل بر حاد بودن بیماری است.

اگر بیماری پیشرفت بکند کستهای اپی‌تلیال دچار تغییر شده، دیواره کست از بین رفته و فقط هسته‌ها باقی می‌ماند که تحت عنوان **کست گرانولار** گفته می‌شود با ادامه بیماری هسته‌ها نیز از بین می‌رود و منظره دانه‌داری باقی می‌ماند که **کست سلولی** است. بعد از کست سلولی نیز ساختمانهای عریض و گسترده ایجاد می‌شود که بدون دانه، شفاف‌اند و فوراً شکسته می‌شود که تحت عنوان **کست مومی** می باشد.

3) کست گلبول قرمز: از گلبول قرمز منشاء می‌گیرد در خونریزی‌ها، التهابات و مسمومیت در داخل ادرار دیده می‌شود معمولاً به صورت قرمز مسی است.

4) کست گلبول سفید: منشاء آن گلبول‌های سفید خون است در نتیجه عفونت ظاهر می‌شود و اگر پروسه بیماری مزمن شود کست گلبول سفید به نوع سلولی تبدیل خواهد شد.

5) کست چربی: این کست در ادرار گربه ممکن است به صورت طبیعی دیده شود. مشکل سلولی ندارد و بایستی با رنگ‌آمیزی تشخیص دهیم.

✓در نهایت بیماری‌های کلیوی که کلیه‌ها منقبض می‌شود کستی ظاهر می‌شود به نام **کست** نارسایی کلیوی یا ***Renal Failure Cast*** که در حقیقت نشان دهنده وخیم بودن بیماری است.

کریستالهای موجود در ادرار

کریستالها(پیش ساز سنگ ادراری) زمانی اهمیت دارند که کلیه سنگ‌ساز باشد. اما جنس سنگ را کریستالها تعیین می‌کنند به طوریکه در ادرارهای قلیایی کست‌هایی همچون کربنات کلسیم، فسفات

تری‌یل، اورات آمونیوم؛ در **ادرارهای خنثی اگزالات** و در ادرارهای اسیدی کریستال‌های اسید اوریک و اورات دیده می‌شود.

کریستالهای پاتولوژیک

1) کریستالهای آمونیوم بیورات: در زمانی که بیماری کبدی و افزایش آمونیاک و همچنین شانت پروتوسیسمیک داریم دیده می‌شد

2) کریستالهای تیروزین: در بیماری‌های کبدی

3) کریستالهای اگزالات: در مسمومیت با اتیلن گلیکول و مصرف چغندر دیده می‌شود.

4) کریستالهای سیستئین: در تغییر متابولیسم پروتئین دیده می‌شود.

✓ در بیماری‌های کلیوی فسفر خون افزایش پیدا می‌کند به **جز نشخوارکنندگان که از طریق بزاق دفع می‌شود.**

✓ در نارسایی‌های کلیوی، کم ادراری، بی‌ادراری و اسیدوز سرم رینگر استفاده نمی‌شود به دلیل اینکه هایپرکالمی کاذب داریم و ایست قلبی می‌دهد.(ابتدا باید سرم بی کربنات دار زد). در اسب در اثر نارسایی کلیه میزان کلسیم بیشتر و در گاو کمتر می‌شود.

✓ در بیماری‌های کلیوی به علت دفع پروتئین خیز و ادم داریم.

✓ در بیماری‌های کلیه میزان آمیلاز و لیپاز افزایش پیدا می‌کند، چرا که راه دفع آن کلیه است.

ارزیابی بیماری‌های کبدی

کبد از فعالترین و بزرگترین ارگانها می‌باشد. 80٪ خون آن توسط ورید باب و 20٪ توسط سرخرگ کبدی تأمین می‌شود. واحد ساختمانی آن ساختارهای 6 گوشه‌ای به نام لوبول می‌باشد. در حدفاصل بین لوبول‌ها فضای پورتال که ورید، شریان و مجرای صفراوی در آنجا هست. در داخل لوبول هپاتوسیتها به صورت شعاعی قرار گرفته‌اند و حدفاصل آنها سینوزوئیدهای کبدی و سلولهایی به نام کوپفر که عمل ماکروفاژی و ذخیره آهن را بر عهده دارند دیده می‌شود. از اعمال کبد می‌توان به دخالت در گوارش، دتوکسیفیه کردن مواد، ساخت و ذخیره عوامل انعقادی، متابولیسم اشاره کرد.

✓**در مورد تستهای کبدی سه مورد باید در نظر گرفته شود**

1- ارزن قیمت بودن 2- حساسیت بالا 3- ویژگی بالا

علایم بیماری‌های کبدی

1) زردی: در این مورد باید به حیواناتی که زردی مختصری دارند مثل گاو و گوسفند دقت کرد.

2) هپاتوآنسفالوپاتی: می‌تواند ناشی از افزایش آمونیاک، از بین رفتن *GABA* ترانس‌آمیناز کبدی، به هم خوردن تعادل اسید آمینه و خروج گلوتامین از سلولهای مغزی و ورود تریپتوفان، فنیل‌آلانین و تیروزین که نتیجه آن سنتز نوراپی‌نفرین کم و سروتونین بیشتر است که مهاری است.

3) آسیت: که در نتیجه وجود مانع در مسیر ورید باب ظاهر خواهد شد.

4) خیز و ادم: به دلیل کاهش آلبومین و باقی ماندن رنین.

5) لاغری: به دلیل اختلال در متابولیسم بدن

6) اسهال و یبوست: اگر صفرا بیش از اندازه ترشح شود اسهال و **اگر صفرا ترشح نشود یبوست داریم**

7) خونریزی و عدم انعقاد

8) حساسیت به نور

9) بروز صفات زنانگی: به علت از بین نرفتن استروژن تولیدی در بدن

10) درد شکم

آزمایشات کبدی

1) **آزمایشات ترشحی:** بیلی‌روبین، آزمایشات ترشحی با مواد خارجی مثل ***BSP***(برم سولفوفتالئین)، ایندوسیانین
2) **آزمایشات متابولیسمی:** چربی، کربوهیدرات، پروتئین
3) **آزمایشات آنزیمی**
4) **آزمایشات سنتزی**

آزمایشات ترشحی

1)متابولیسم بیلی‌روبین: گلبول قرمز پس از عمر طبیعی خود توسط سیستم رتیکلواندوتلیال خصوصاً طحال حذف می‌شود. از داخل گلبول قرمز هموگلوبین آزاد می‌شود. هموگلوبین به هِم و گلوبین تجزیه می‌شود. گلوبین منبع اسید امینه است که یا تجزیه می‌شود و یا دوباره به مصرف ساخت مجدد

هموگلوبین می‌رسد. هِم توسط هِم اکسیژناز شکسته، آهن آن آزاد می‌شود باقیمانده آن بیلی‌وردین است که توسط ردوکتاز به بیلی‌روبین غیرکونژوگه (غیرالحاقی، نامحلول) تبدیل می‌شود که برای کونژوگه شدن باید به کبد برود این عمل توسط آلبومین انجام می‌شود. **در کبد توسط گیرنده‌هایی به نام لیگاندین *X*و *Y*برداشته شده،** در سیستم میکروزومال تحت تاثیر آنزیم *UDP*گلوکرونیل ترانسفراز کونژوگه شده و تولید بیلی‌روبین گونژوگه (محلول، الحاقی) بدست می‌آید و از طریق صفرا ترشح می‌شود. **در روده توسط باکتری‌های β-گلوکورونیداز مثبت اسید گلوکرونیک آن گرفته شده و باقیمانده احیاء شده و تولید استرکوبیلی‌نوژن و فروبیلی‌نوژن** (در مدفوع مانده و رنگ مدفوع را باعث می‌شود) و **اوروبیلی‌نوژن** را می‌کند که 80٪ در مدفوع باقی مانده و 20٪ بازجذب می‌شود و به کبد می‌رود. از این مقدار 98-95٪ توسط کبد گرفته شده و به روده ترشح می‌شود و 5-2٪ نیز در ادرار ظاهر می‌شود.

✓**هیپربیلی‌روبینمی:** به افزایش میزان بیلی‌روبین اطلاق می‌شود. اگر این میزان بیشتر از *1mg* باشد، زردی در قسمتهای مختلف ظاهر می‌شود.

عواملی که سبب افزایش میزان بیلی‌روبین غیرکونژوگه می‌شوند:

1- افزایش میزان تولید: که شامل موارد زیر است:

الف) همولیز اکتسابی یا ارثی: در فاویسم و مسمومیت با کلم دیده می‌شود. در **مسمومیت با کلم** دو ماده وجود دارد **تیوسیانات‌ها** که ید را به خود جذب کرده و باعث بیماری گواتر می‌شود و ***S*متیل سیستئین** که در محیط شکمبه به دی‌متیل دی‌سولفوکسید تبدیل می‌شود. این ماده تمایل دارد

گروههایی که حاوی ***SH***هستند را از کار بیندازد مثل گلوتاتیون پراکسیداز. در نتیجه رادیکالهای آزاد، غشاء را مورد حمله قرار می‌دهند.

ب) اریتروپوئز غیر موثر

ج) یرقان فیزیولوژیک نوزادان: که در موقع زایمان دچار هایپوکسی می‌شوند.

2- اشکال در حمل بیلی‌روبین: که بیشتر مربوط به آلبومین است و اگر به هر دلیلی میزان آلبومین کم شود این حالت اتفاق می‌افتد. مانند سوء تغذیه، دفع، عدم جذب، نقص کلیه، بیماری‌های انگلی، شانت پروتوسیستمیک، نارسایی قلبی و کاهش فشار خون

3- نقص در گیرنده‌های کبد: در اثر رقابتهای دارویی و یا کمبود گیرنده به صورت ارثی و یا به صورت فقر غذایی

4- نقص در کونژوگاسیون:

الف) ***UDP***گلوکرونیل ترانسفراز به علت عدم تکامل کبد عمل خود را انجام نمی‌دهد (یرقان فیزیولوژیک نوزادان)

ب) اشغال شدن ***UDP*** گلوکرونیل ترانسفراز توسط مواد دیگر مثل فنوباربیتالها

ج) یرقان همولتیک مادرزادی یا سندرم ***Crigler Najjar***که دو تیپ است: در تیپ 1 آنزیم وجود ندارد، حداکثر عمر این افراد 2 سال است. چون آنسفالیت غیرقابل برگشت ایجاد می‌شود. اشعه ***UV*** اثر دارد ولی فنوباربیتال اثر ندارد. **در تیپ 2 آنزیم وجود دارد ولی فعالیت آن کم است وخامت بیماری نسبت به حالت اول کمتر است اشعه *UV*و فنوباربیتال جواب می‌دهد.**

✓در هپاتیت برداشت، کونژوگاسیون و ترشح بیلی‌روبین به علت التهاب سلول‌های کبدی مختل شده است.

سندرم ژیلبرت ***Gillbert***: در گوسفندان موتاسیون یافته دیده می‌شود در این حالت آنزیم وجود دارد ولی فعالیت آن کم است.

✓اگر میزان بیلی‌روبین غیرکونژوگه بیش از *20mg/dl* شود ایجاد نوعی آنسفالیت غیرقابل برگشت به نام *Kernicterus*می‌کند.

✓**در یرقان فیزیولوژیک نوزدان 1) اشعه *UV*می‌دهند 2) داروهای فنوباربیتالی استفاده می‌کنند 3) تعویض خون انجام می‌دهند.**

5- افزایش میزان بیلی‌روبین کونژوگه:

1- به هر دلیلی مسیر عبور بیلی‌روبین کونژوگه بسته شود شامل:کولستاز، التهاب، انگل، سنگ، تورم عقده لنفاوی، تومور، یبوست و تومور روده‌ای که باعث می‌شود بیلی‌روبین کونژوگه ترشح نشود.

2- یرقان با علت ناشناخته یا سندرم دوبین جانسون که مجاری صفراوی وجود ندارد.

در افراد با انسداد مجاری صفراوی علاوه بر بیلی‌روبین کونژوگه و املاح صفراوی که در خون زیاد است کلسترول هم که پیش‌ساز صفرا است در خون زیاد است.

آزمایش واندنبرگ (دیازو)

معرف دیازو یا آزمایش واندربرگ از نیتریت سدیم، اسید سولفانیلیک و اسید کلریدریک تشکیل شده است که با بیلی‌روبین مستقیم واکنش نشان می‌دهد. با اضافه کردن محلول الکلی بیلی‌روبین غیرمستقیم نیز حل شده و مجموعه این دو بیلی‌روبین توتال بدست می‌آید.

آزمایش واندنبرگ در سگ

آستانه دفع کلیوی برای بیلی‌روبین مستقیم در سگ پایین بوده و مشابه انسان است. بنابراین در زمان توقف ترشح صفرا و یا انسداد میزان بیلی‌روبین توتال ثابت و یا پایین است. یرقان معمولاً زمانی ظاهر می‌شود که میزان بیلی‌روبین بیشتر از 1.5 باشد. بیماری‌های همولتیک و بیماری‌های کبدی مهمترین عوامل افزایش دهنده بیلی‌روبین هستند. اگر میزان بیلی‌روبین غیرکونژوگه بیشتر از حد نرمال باشد نشان دهنده بیماری همولتیک است و **اگر همزمان با آن بیلی‌روبین مستقیم نیز افزایش نشان دهد بیماری کبدی مطرح خواهد بود.**

هپاتیت:

1- افزایش بیلی روبین غیر کونژوگه
2- آلبومین پایین می آید
3- به دلیل التهاب همه ی بیلی روبین ها در کبد وارد نمی شوند

4-کونژوگاسیون در کبد با مشکل مواجه است(دفع بیلی روبین کونژوگه به روده با مشکل مواجه است و رنگ مدفوع کم رنگ تر شده و مابقی بیلی روبین کونژوگه به کلیه رفته و در آنجا زیاد شده و ادرار زردرنگ تر می شود و اوروبیلی نوژن پایین می آید).

انسداد صفرا:

1- تولید بیلی روبین کونژوگه طبیعی است ولی از کبد به داخل روده دفع نمی شود و به خون وارد می شود و در خون مقدار آن افزایش می یابد و همچنین در ادرار زیاد شده و ادرار پررنگ و مدفوع سفید می شود.

2- در اینجا کلسترول هم بالا می رود.

*بیلی روبین+آلبومین=بیلی روبین کونژوگه(محلول در آب)

***نکته:آستانه دفع کلیوی برای بیلی روبین سگ همانند انسان پایین است که موجب می شود وقتی انسداد صفرا وجود داشته باشد بیلی روبین از کلیه دفع شود و ادرار پررنگ شود که برای سنجش بیلی روبین سگ به جای خون باید نمونه ادرار بگیریم.**

اسب: در اسب بدنبال هرگونه ضایعه چه کبدی، چه پیش‌کبدی و چه پس کبدی میزان بیلی‌روبین غیرکونژوگه افزایش پیدا می‌کند چرا که کونژوگاسیون توسط سلول‌های کبدی مختل می‌شود. در اسب بیلی‌روبین اندیس مهمی در تشخیص نمی‌تواند باشد برای اینکه در زمان بیماری‌های غیراختصاصی مثل گرسنگی، تشنگی، یبوست و... میزان بیلی‌روبین افزایش نشان می‌دهد.

❋در گاو و سایر نشخوارکنندگان تغییرات بیلی‌روبین در بیماری‌های کبدی مختصر است اما در آنمی همولیتیک ، انسداد مجاری صفراوی توسط انگل یا سنگ می‌تواند برای تشخیص استفاده شود.

✓در ادرار نرمال رنگدانه اصلی اوروبیلی‌نوژن و به مقدار کم بیلی‌روبین است.

✓زمانیکه ادرار جهت آزمایش اخذ می‌شود بایستی زودتر آزمایش انجام شود چرا که اوروبیلی نوژن به اوروبیلین تبدیل می‌شود.

✓**استرکوبیلی‌نوژن، فروبیلی‌نوژن و به مقدار کم اوروبیلی‌نوژن رنگدانه‌های مدفوع هستند.**

برای تشخیص استرکوبیلی‌نوژن در مدفوع از واکنش اشمیت استفاده می‌کنیم که معرف آن کلرور جیوه 5٪ است. **برای تشخیص اورو بیلی‌نوژن در ادرار و یا مدفوع از آزمایش ارلیش استفاده می‌کنیم که ماده مورد استفاده پارا دی متیل آمینوبنزآلدئید است که در صورت مثبت بودن به صورتی قرمز تغییر رنگ می‌دهد.**

✓برای ارزیابی بیلی‌روبین از آزمایش روزنباخ (اسید نیتریک غلیظ) و همچنین آزمایش گلمن و فوشت که معرف آنها اسیدتری کلرو استیک است استفاده می‌شود.

✓**آزمایش پنتن‌کوفر اختصاصی برای املاح صفراوی است در این روش از فورفورال که در نتیجه تاثیر اسید سولفوریک بر روی ساکاروز بدست می‌آید استفاده می‌کنند.**

اندیس زردی: اندیس زردی برای بررسی رنگ زرد سرم یا پلاسما استفاده می‌شود. ماده مورد استفاده دی‌کرومات پتاسیم 0.01٪ می‌باشد که یک حالت زردی ایجاد می‌کند که استاندارد می‌باشد.

برای آزمایش سرم یا پلاسما را با آب رقیق می‌کنیم تا همرنگ این ماده شود. میزان اندیس زردی در گاو 15-6، در سگ و گربه 6-4 و در اسب 25-10 می‌باشد.**(در اسب بالاست و پلاسمای آن خیلی زرد رنگ است).**

پاکسازی مواد خارجی

مهمترین ماده‌ای که استفاده می‌کنیم ***BSP***(برم سولفوفتالئین)است. در این آزمایش یا میزان پاکسازی و یا میزان احتباس محاسبه می‌شود. این ماده مشابه بیلی‌روبین از کبد دفع می‌شود. در حیواناتی که جثه کوچک دارند (گوسفند، بز، سگ، گربه) درصد احتباس و **در مورد حیواناتی با جثه بزرگ (گاو و اسب) میزان پاکسازی** محاسبه می‌شود. این ماده بایستی به بدن تزریق شود. بعد از تزریق دو نمونه اخذ خواهد شد یک قسمت از سرم با اسید کلریدریک و یک قسمت به عنوان شاهد با هیدروکسید سدیم مخلوط می‌شوند و میزان جذب نوری را با اسپکتروفوتومتر می‌خوانیم.

در مورد تفسیر:

1- اگر فرد یا حیوان بیماری‌های قلبی عروقی، دهیدراتاسیون و.... داشته باشد میزان احتباس یا کلیرانس افزایش نشان می‌دهد

2- در دوره نقاهت بیماری‌های کبدی با وجود نرمال بودن سایر آزمایشات به علت کاهش جریان خون کبد و وجود التهابات ***BSP***بالاتر نشان می‌دهد.

3- در کبد چرب ***BSP***بالا است.

آزمایشات متابولیسمی

مهم ترین آزمایش متابولیسمی ارزیابی چربی‌ها است و مهم ترین چربی کلسترول است. کلسترول موجود در بدن از دو ناحیه تامین می‌شود:

1) مواد غذایی

2) سنتز در بدن که در انسان روده و کبد و در دامها فقط کبد می‌باشد.

سه مولکول استیل کوآنزیم *A*با همدیگر ترکیب شده و تولید هیدروکسی متیل گلوتاریک *COA* (*HMG COA*) را می‌کند. این ماده توسط ردوکتاز به موالونیک اسید احیا می‌شود و ماده فوق به ایزوپنتنیل پیرو فسفات و در مرحله بعدی به اسکوالن، لانسترول و کلسترول تبدیل می‌شود.

کلسترول ماده غذایی مهار کننده آنزیم *HMG COA*ردوکتاز است که در کبد می‌باشد. کلسترول توسط آنزیمی به نام کلسترول استراز در کبد استرفیه می‌شود یعنی با یک اسید چرب همراه می‌شود. به همین دلیل در بیماری‌های کبدی کلسترول آزاد بیشتر می‌شود.

چربیها توسط لیپوپروتئین‌ها در بدن منتقل می‌شود. چهار نوع لیپوپروتئین داریم

شیلومیکرون که محل سنتزش روده و حاوی تری‌گلیسرید، کلسترول و اسیدهای چرب است و کلسترول خود را به کبد و تری‌گلیسرید را بافتهای ذخیره‌ای مثل بافت چربی، عضلات منتقل می‌کند باقیمانده آن در کبد به *HDL* تبدیل می‌شود. ***HDL*لیپوپروتئین خوب بوده و کلسترول اضافی را از سلولها جمع‌آوری کرده و به کبد می‌برد.** *VLDL*در کبد می‌باشد و تری‌گلیسرید تولیدی را به

بافتهای مختلف منتقل می‌کند باقیمانده آن به ***LDL***که لیپوپروتئین بد است تبدیل می‌شود چرا که گیرنده همگانی بخصوص در سلولهای آندوتلیال دارد و به خاطر همین کلسترول در قسمتهای مختلف حمل می‌کند.

- نقش کلسترول: 1-سیالیت غشا 2-هورمون ها 3-املاح صفراوی 4-تولید ویتامین D
- کنترل کلسترول در انسان سخت تر است؛چون در روده هم علاوه بر کبد تولید می شود.
- کلسترول حاوی یک قسمت الکلی نیز می باشد ولی قسمت اسید چرب آن بیشتر است.
- **شیلو میکرون در هنگامی که غذا می خوریم در خون زیاد می شود و اگر در این هنگام خون اخذ شود به علت وجود آن پلاسما شیری رنگ می شود.**
- کلسترول در کبد تبدیل به املاح صفراوی می شود که املاح صفراوی: 1-چربی ها را به میسل تبدیل می کنند 2-PH اسید معده را خنثی می کنند 3-مواد سمی را دفع می کنند.
- با افزایش سن HDL پایین می آید و در نتیجه آن کلسترول خون بالا می رود.
- کربوهیدرات ها بر خلاف چربی ها سهل الورود، سهل الهضم، سهل الجذب و سهل المتابولیسم هستند.

اسیدها و املاح صفراوی:

منشأ اسیدها و املاح صفراوی کلسترول است. برای سنتز اسیدهای صفراوی زنجیره کربن انتهایی کلسترول حذف شده و به جای آن گروه کربوکسیل قرار می‌گیرد. اولین اسیدهای صفراوی که بدست

می‌آید (اسیدهای صفراوی نسل اول) تحت عنوان اسید کولیک و اسید کنوداکسی کولیک می‌باشد که این دو اسید نسل اول توسط تورین، گلایسین کونژوگه می‌شوند و ایجاد املاح صفراوی نسل اول را می‌کنند (کولی‌گلیسین، کولی تورین، کنوکولی گلیسین و کنوکولی تورین) که در کیسه صفرا تجمع پیدا کرده و با ترشح سکرتین و کوله سیتوکینین متعاقب غذا خوردن ترشح می‌شوند در این میان تعدادی از املاح صفراوی بازجذب می‌شوند و مقداری نیز تحت تأثیر باکتری‌های روده قرار گرفته از اسید کولیک و مشتقات آن اسید دزوکسی کولیک و از اسید کنوداکسی کولیک و مشتقات آن اسید لیتوکولیک بدست می‌آید که اسیدهای صفراوی نسل دوم هستند که می‌توانند بازجذب شده وسیکل روده‌ای – کبدی را ایجاد بکند. مقداری از اسیدها و املاح صفراوی می‌تواند وارد ادرار شوند و از طریق ادرار دفع شوند.

اعمال صفرا:
- امولسینه کردن چربی
- دفع مواد زائد
- خنثی کردن *PH* اسیدی معده

آزمایش متابولیسمی پروتئین

تغییرات میزان پروتئین‌ها در اوایل بیماری‌های کبدی نامحسوس است و تا زمانیکه میزان پروتئین کمتر از *3–5gr/dl* نرسد علایمی دیده نمی‌شود. بنابراین برای ارزیابی سریع و زودهنگام بیماری های کبدی به درد نمی‌خورد. در برخی بیماریها تغییرات بدین صورت است:

در فیبروز سیاهرگ باب ⟵ آلبومین کم و گاما گلوبولین افزایش می‌یابد

در سرطان کبد ⟵ α_1 فیتوپروتئین افزایش می‌یابد

در بیماری‌های مجاری صفراوی ⟵ بتا لیپوپروتئین‌ها افزایش می‌یابد

در بیماری‌های مزمن کبدی ⟵ گاما گلوبولین‌ها افزایش می‌یابد

متابولیسم کربوهیدرات

از متابولیسم و تست تحمل گلوکز، فروکتوز و گالاکتوز استفاده می‌شود. بیشتر گالاکتوز مطرح است چرا که تنها مصرف کننده آن کبد است. محلول استریل گالاکتوز یا قند دیگر را تهیه کرده و تزریق می کنند و میزان مصرف قند را درخون محاسبه می‌کنند.

آنزیم ها

تغییرات آنزیم در بیماری‌های کبدی

کبد محل فعالیت متابولیکی بدن است و بسیاری از واکنش های بیوشیمیایی در کبد انجام می‌گیرد بنابراین آنزیم‌های زیادی را می‌توان در سلول‌های کبدی و یا مجاری صفراوی بررسی کنیم. تغییرات آنزیم در 4 مورد بررسی می‌شود:

1- به هر دلیل سلول کبدی نکروز شود، تخریب ایجاد شود و یا نفوذپذیری غشاء تغییر بکند افزایش آنزیم دیده می‌شود. از این دسته از آنزیم‌ها می‌تواند به *ALT*(*GPT*)، *AST*(*GOT*)، آرژیناز و سوربیتول دهیدروژناز اشاره کرد.

2- **عدم از بین رفتن آنزیم‌ها در کبد** که بدلیل آسیب سلول‌کبدی آنزیم نمی‌تواند توسط کبد غیر فعال شود از جمله **استرازها یا استیل کولین استرازها**

3- آنزیمهایی که در اثر اختلالات سلولهای مجاری صفراوی از این سلول‌ها آزاد می‌شوند که می‌توان به ***ALP*** و ***GGT*** اشاره کرد.

4- برخی از آنزیمها در بیماری‌های کبدی **تغییرات چندانی نمی‌کنند** مانند **LDH** و **CPK**

در زمانی که سلول کبدی تحت تاثیر عوامل بیماریزای مختلف قرار می‌گیرد ابتدا غشای سلول آسیب می‌بیند و در نتیجه آن آنزیم‌های متصل به غشاء و همچنین آنزیم‌های سیتوپلاسمی آزاد خواهد شد در مرحله بعدی ارگانهای سلولی و در نهایت هسته مورد هدف قرار می‌گیرد و آنزیمها در خون افزایش نشان می‌دهد.

ALT یا ***GPT***

این آنزیم یک آنزیم سیتوپلاسمی است. جزو آمینوترانسفرازها(نقل و انتقال آمین) است عامل آمین اسید آمینه آلانین را بر روی اسید آلفاستونی به نام آلفا ستوگلوتاریک اسید منتقل می‌کند و درنهایت تولید گلوتامات و پیروات می‌کند. برای فعالیت آمینوترانسفرازها وجود ویتامین B_6 ضروری است. فعالیت این آنزیم بیشتر در انسان، پریمات‌ها و سگ و گربه مطرح است. این آنزیم علاوه از کبد که بیشترین مقدار آنزیم را دارد در کلیه و قلب هم دیده می‌شود در **نشخوارکنندگان و تک سمی‌ها تغییرات آنزیم جزئی است.**

AST*یا *GOT

یک آنزیم میتوکندریایی(در اصل سیتوپلاسمی-میتوکندریایی) است. جزء آمینوترانسفرازها است. عمل آن انتقال عمل آمین آسپارتیک اسید به اسید آلفا ستوگلوتاریک است که در نهایت تولید اگزالواستات و گلوتامات را می‌کند. در تمام حیوانات بخصوص در نشخوارکنندگان و تک‌سمی‌ها ارزش تشخیصی دارد. **علاوه از کبد در عضلات اسکلتی، قلب، گلبولهای قرمز و طحال هم وجود دارد.**

- ALT:آلانین آمینوترانسفراز(پیش ساز)
- GPT:گلوتامات-پیرووات ترانس آمیناز(محصولات)
- sGPT: s مخفف سرم است
- AST:آسپارتات آمینوترانسفراز
- GOT:گلوتامات اگزالواستات ترانس آمیناز

کیس ریپورت: گاو ماده ای 4 ساله که 1 ماه زایمان کرده است،تب 40 درجه دارد و تولید شیر آن از 30 کیلوگرم به 15 کیلو گرم رسیده و بی حال و بی اشتها است و آزمایش هایی که انجام داده ایم به شرح زیر است:

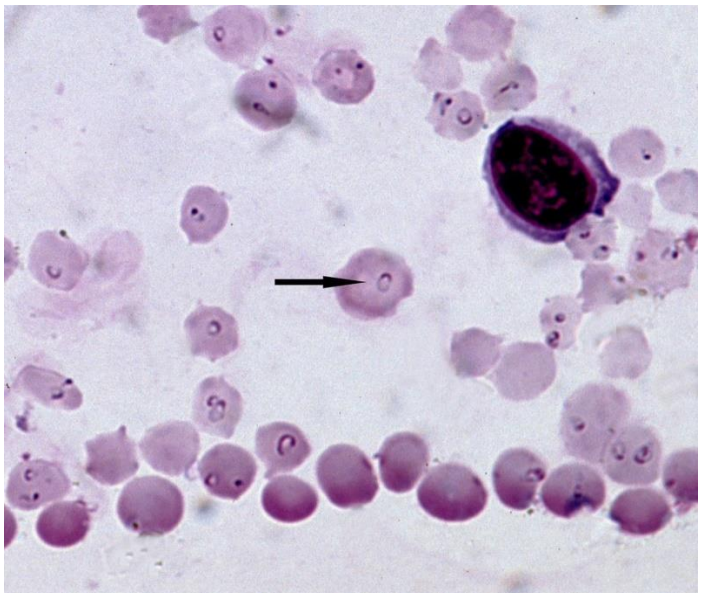
1. کلسیم خون نرمال است
2. AST نرمال و ALT کمی بالا می باشد
3. در آزمایش شیر،CMT منفی است

***نکته:در نشخوارکنندگاه بر خلاف سایر حیوانات لنفوسیت ها غالبند و در زمان عفونت نوتروفیل ها زیاد و لنفوسیت ها کم می شوند و مجموع WBC تغییری نمی کند،اما نوتروفیل ها تغییر شکل می دهند و حاوی گرانول های توکسیک می شوند که در این کیس،این نوتروفیل ها رویت شدند.**

4. غشای گلبول های قرمز در این کیس به علت تب مضرس است(گلبول های قرمز لیز شده اند).
5. توتال بیلی روبین افزایش یافته و بیلی روبین مستقیم نرمال و بیلی روبین غیر مستقیم بالا رفته است.
6. ادرار ++(پررنگ) و رنگ مدفوع نرمال است

نتیجه:بیماری یا تیلریوز است و یا مشکل زایمانی(جابجایی شیردان)؟

صدای زنگی در کیس نمی شونویم پس مشکل زایمانی نیست.



با تهیه گسترش خون انگل تیلریا را مشاهده می کنیم

درمان:بوتالکس و اکسی تترا سایکلین

*اگر درمان نشود،بیلی روبین مستقیم هم بالا می رود و AST هم بالا رفته و کبد آسیب می بیند.

آرژیناز

آرژیناز یک آنزیم سیتوپلاسمی و میتوکندریایی است و **اولین آنزیمی است که در آسیب کبدی افزایش نشان می‌دهد**. یک آنزیم بسیار اختصاصی است و **در تمام حیوانات کاربرد دارد**. ایراد این آنزیم نیمه‌عمر خیلی کم آن است که در عرض 6-5 ساعت باید آزمایش کرد در غیر این صورت جواب نمی‌دهد.

آلکالین فسفاتاز *ALP*

فسفاتازها آنزیم‌هایی هستند که بر روی استرهای فسفات اثر کرده و در نهایت تولید فسفر غیرآلی می کنند. دو نوع فسفاتاز در بدن وجود دارد:

1- اسید فسفاتاز: که در *PH* اسیدی فعالیت می‌کند. مهمترین منبع آن غده پروستات است و بیشتر در انسان کاربرد دارد و در حیوانات در سگ می‌توانیم اندازه‌گیری کنیم.

2- آلکالین فسفاتاز: در *PH* قلیایی فعالیت می‌کنند. چندین ایزوآنزیم آلکالین فسفاتاز در بدن وجود دارد که بر حسب نوع فعالیت آن نامگذاری شده است که شامل ایزوآنزیم‌های استخوانی، کبدی، کلیوی، جفتی، گلبول قرمز، روده و کورتون است. در تفسیر آلکالین فسفاتاز بایستی به موارد زیر توجه کرد:

1- در حیوانات در حال رشد میزان آلکالین فسفاتاز به خاطر فعالیت استخوان سازی بیشتر است.

2- در دامهای آبستن به علت رشد جنین و ***ALP*** جفتی میزان آنزیم زیاد است.

به طور کلی آلکالین فسفاتاز در دو دسته بیماری ارزش تشخیصی دارد:

1- بیماری کبدی از نوع مجاری صفراوی

2- بیماری‌های استخوانی

GGT **یا گاما گلوتامید ترانسفراز:**

جزء آنزیم‌های غشایی است و در کبد به خصوص مجاری صفراوی ارزش تشخیصی دارد. اگر میزان آن در سرم یا پلاسما زیاد شود بیماری کبدی(مجاری صفراوی) داریم ولی اگر در ادرار زیاد شود مربوط به توبول‌های کلیوی است.

سوربیتول دهیدروژناز:

یک آنزیم اختصاصی برای کبد است و عمل آن تبدیل سوربیتول به فروکتوز است. در تمام حیوانات ارزش تشخیصی دارد ولی عیب آن نیمه عمر کم است.

LDH **یا لاکتات دهیدروژناز**

عمل آن تبدیل پیروات به لاکتات است. یک آنزیم سیتوپلاسمی است و به **مقدار زیادی در قلب، عضلات اسکلتی، گلبول قرمز و سفید، مغز و به مقدار جزئی در کبد دیده می‌شود.** دارای 5 ایزوآنزیم است LDH_1 در قلب است و LDH_5 مختص عضلات اسکلتی است.

CPK کراتین فسفوکیناز

آنزیم اختصاصی در تشخیص بیماری‌های عضلانی و اسکلتی است. در ارزیابی بیماری‌های کبدی ارزش چندانی ندارد دارای 3 ایزوآنزیم است. CK_1 مختص مغز(BB) است، CK_2 در مغز و عضلات(BM) و CK_3 مختص عضلات(MM) است.

پانکراس

از دو قسمت تشکیل شده است. آسینی یا خوشه‌ای و بخش جزایر لانگرهانس.

بخش آسینی به نام اگزوکرین معروف است و تولید آنزیمها را برعهده دارد. بیشتر در فرایند هضم غذا شرکت می‌کند. آمیلاز، لیپاز، ترپسین، کموترپسین، کربوکسی پپتیداز و یونهای مثل سدیم، کلر، کلسیم و بی‌کربنات را ترشح می‌کنند. **بخش جزایر لانگرهانس نیز به نام اندوکرین معروف است تولید هورمونهای انسولین، گلوکاگون، سوماتواستاتین و پلی‌پپتید لوزالمعده را بر عهده دارد.**

لیپاز به تنهایی نمی‌تواند چربی‌ها را هضم کند و در عمل نیاز به املاح صفراوی دارد اما املاح صفراوی به صورت غشایی اطراف چربی را احاطه می‌کند. پروتئین کوچکی توسط لوزالمعده به نام کولی‌پاز سنتز می‌شود که شبیه لنگر لیپاز را به داخل میسل می‌کشاند.

بخش آندوکرین جزایر لانگرهانس شامل:

1- سلول‌های آلفا α حدود 25٪ سلولها را تشکیل می‌دهد و وظیفه آن تولید گلوکاگون است.

2- **سلولهای بتا** β حدود 70٪ سلول‌ها را تشکیل می‌دهد و عمل آن تولید **انسولین** است.(عملکرد این سلول ها را با پپتید C می سنجند).

3- سلولهای دلتا یا *D* کمتر از 5٪ است و تولید سوماتواستاتین می‌کند.

4- **سلولهای *F*** میزان آن بسیار جزئی است و **پلی‌پپتید لوزالمعده** را تولید می‌کند.

پلی‌پپتید لوزالمعده

توسط سلولهای *F* تولید شده و 36 آمینواسید در ساختمان آن وجود دارد. وزن مولکولی حدود 4200-4400 دالتون است. عملکرد آن دقیقاً مشخص نیست ولی بر ذخایر گلیکوژن اثر کاهنده و بر ترشحات معدی- روده‌ای اثر افزاینده دارد. **توسط سوماتواستاتین مهار می‌شود و باعث افزایش گلوکز خون می‌شود.**

سوماتواستاتین

در ساختمان آن 28 آمینواسید وجود دارد و وزن مولکولی آن 1600 دالتون است. علاوه بر لوزالمعده از هیپوتالاموس و هیپوفیز هم ترشح می‌شود. اگر وارد سلولهای مغزی شود ترشح *TSH* و هورمون رشد را کم می‌کند. سوماتواستاتین با اعمال موارد زیر جذب مواد غذایی را از روده کم می کند و به طور کلی بر روی میزان گلوکز اثر منفی دارد: **1- تخلیه معده را کم می‌کند**

2- مانع از انقباض کیسه صفرا می‌شود. 3- گردش خون احشایی را کم می‌کند. 4- ترشح گاسترین یا اگزوکرین لوزالمعده را کم می‌کند.

گلوکاگون

توسط سلولهای α سنتز می‌شود. به صورت تک زنجیری است و 29 آمینواسید در ساختمان آن وجود دارد. وزن نمونه فعال آن 4.3 کیلودالتون است و بعد از تولید وقتی از کبد عبور می‌کند 2 اسید آمینه از آن گرفته می‌شود و مقداری از فعالیت خود را از دست می‌دهد. در صورتی که گلوکاگون درگیر شود مگا گلوکاگون با وزن مولکولی 160 کیلودالتون نیز تولید خواهد شد. **در کبد با فعال کردن آدنیلات سیکلاز و در نتیجه افزایش فسفوریلاز، گلیکوژنولیز را تسریع می‌کند و با مهار آنزیم گیلکوژن سنتتاز، سنتز شدن گلیکوژن را مهار می‌کند.** گلوگاکون گلوکونئوژنز یعنی تبدیل سایر مواد منجمله اسیدهای آمینه به گلوکز از طریق فعال‌سازی فسفوانول پیروات کربوکسی‌کیناز و در نتیجه افزایش میزان رونویسی *RNA* را افزایش می‌دهد. با افزایش میزان *CAMP* در سلولهای چربی لیپولیز را افزایش خواهد داد.

انسولین

توسط سلولهای β سنتز می‌شود بعد از سنتز دارای 109 اسید آمینه است در شبکه آندوپلاسمیک 23 اسید آمینه جدا و در مرحله بعدی به صورت پروهورمون وارد دستگاه گلژی می‌شود. در دستگاه گلژی دو دی‌پپتید و یک پپتید به نام پپتید *C* با 31 اسید آمینه جدا می‌شود. در نهایت انسولین به صورت دو زنجیر *A* و *B* با 51 آمینواسید تولید می‌شود. در زنجیر *A* 21 آمینواسید و در زنجیر *B* 30 آمینو اسید وجود دارد. اختلاف انسولین‌ها مربوط به جایگاه 30 زنجیر *B* و جایگاه 8، 9 و 10 زنجیر *A* است.

✓از لحاظ پاسخ بافتها به انسولین مغز و گلبول قرمز بدون حضور انسولین از گلوکز استفاده می کنند. کبد در صورتیکه انسولین باشد میزان برداشت گلوکز آن افزایش می‌یابد. بقیه اندامها هم باید گلوکز بیشتر باشد تا گلوکز به آنها نفوذ کند.

تستهای ارزیابی پانکراس

1- ارزیابی ماکروسکوپی: وجود رشته‌های هضم نشده پروتئین یا وجود چربی می‌تواند دلیل بر وجود نارسایی پانکراس باشد. چربی با سودان 3 رنگ ایجاد می‌کند و کربوهیدرات به خصوص نشاسته با لوگول باید بنفش شود. پروتئین هم به صورت رشته‌های هضم نشده در زیر میکروسکوپ مشاهده می‌شود.

2- سنجش میزان گلوکز خون و تستهای جذبی

آنزیم‌های پانکراس عبارتند از:

1- ترپسینوژن: که در حالت طبیعی در محلول به ترپسین فعال تبدیل می‌شود و در حضور کلسیم میزان این فعالیت بیشتر می‌شود. کیموترپسین، الاستاز، کلاژناز و کربوکسی پپتیداز جزء آنزیم‌های مهم هستند.

2- لیپاز و آمیلاز: لیپاز بعد از ترشح از پانکراس در حضور املاح صفراوی می‌تواند بر چربیها اثر کرده و باعث تجزیه آنها شود. برای اثر لیپاز پروتئین به نام ***co-lipase*** ضروری است. راه حذف لیپاز کلیه است. بنابراین در ارزیابی پانکراس بایستی از سالم بودن کلیه اطمینان حاصل کرد.

✔آنزیم کلسترول استرهیدرولاز هم یک آنزیم ترشحی از پانکراس و مربوط به چربیها است

آمیلاز

بر روی نشاسته اثر کرده ترکیبات 4 ⟵ 1را هیدرولیز کرده و در نهایت تولید دی‌ساکارید مالتوز می کند. **کلسیم جزئی از ساختمان آنزیم است** و برای فعالیت نیاز به کلرور دارد. تنها در سگ آمیلاز سرم به وسیله کلیه تصفیه می‌شود و بازجذب می‌شود و عملاً در ادرار آمیلاز نداریم. در حالیکه در بقیه حیوانات آمیلاز در ادرار دیده می‌شود. در بین حیوانات فقط خوک آمیلاز بزاقی دارد(انسان هم آمیلاز بزاقی دارد).

بیماری‌های پانکراس

مهمترین بیماری پانکراتیت یا التهاب پانکراس است. عواملی که در بیماری پانکراس نقش دارد و بخصوص باعث التهاب حاد می‌شوند نامشخص است ولی عواملی چون **چاقی، ضربه، جراحات عروقی و بیماری‌های مجاری صفراوی مؤثر هستند.** در گربه چون مجرای صفراوی و مجرای پانکراس نزدیک هم هستند بیماری‌های مجاری صفراوی می‌تواند باعث مسدود شدن مجرای پانکراس شده و باعث بیماری پانکراس شود. در التهابات به دلیل اینکه پانکراس منبع پر از آنزیم است آنزیم‌های آزاد شده می‌تواند باعث صدمات زیادی در ناحیه شود. از جمله الاستاز فعال شده باعث هضم رشته‌های الاستین دیواره عروق می‌شود. فسفولیپاز *A* و *B* باعث ایجاد ترکیبات لیزوفسفولیپدی می‌شود. کالکرینوژن به کالکرین تبدیل شده که باعث گشاد شدن عروق و در نتیجه

افزایش نفوذپذیری و ادم و خیز در ناحیه و درد و در نهایت شوک هیپوولومیک ایجاد می‌شود. عامل مرگ نیز فاکتور ***MDF(myocardial depressing factor)*** است.

در این بیماری میزان آمیلاز خون و لیپاز افزایش یافته است، کلسیم به دلیل ناشناخته کاهش نشان می‌دهد که احتمالاً به دلیل ارتباط کلسیم با پروتئین‌ها است. اگر التهاب هموراژیک در ناحیه داشته باشیم میزان مت‌هم آلبومین در داخل خون افزایش پیدا می‌کند. اگر روند بیماری ادامه یابد و مزمن شود بافت فیبروزه جایگزین بافت پانکراس می‌شود و میزان آنزیم‌ها کاهش می‌یابد. برای تشخیص قابلیت ترشح آنزیم‌های پانکراس تست جذب چربی را انجام می‌دهند.

کلسیم و فسفر

به طور کلی کلسیم و فسفر 1.5–1٪ میزان مواد معدنی و 4٪ وزن بدن را تشکیل می‌دهد. از وظایف کلسیم و فسفر می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

1- 99٪ کلسیم و فسفر در ساختمان دندان و استخوان است.
2- نقش انعقادی
3- به عنوان پیامبر ثانویه
4- انقباضات عضلانی
5- فعال شدن آنزیم‌ها
6- ساختمان ترکیبات پرانرژی
7- کوآنزیم
8- فعالیت میکروارگانیسم‌های داخل شکمبه

کلسیم در خون به میزان *mg/dl* 11–9 است. سلول‌های خونی تقریباً عاری از کلسیم‌اند. قسمتی از کلسیم به صورت اتصال با پروتئین و بخصوص با آلبومین است که غیر قابل انتشار است و بقیه آزاد و می‌تواند منتشر شود. **بنابراین در کمبود پروتئین و بخصوص آلبومین میزان کلسیم کاهش می یابد.** در زمان اندازه‌گیری کلسیم اصلاح شده یا *Corrected Calcium* از فرمول‌های زیر استفاده می‌کنیم:

- *(Ca-Alb)+3.5*
- *(Ca-0.4Total Protein)+3.3*

میزان اسیدیته خون در میزان کلسیم نقش ایفا می‌کند به طوریکه در آلکالوز کمبود کلسیم ظاهر می شود چرا که پروتئین یونیزه بیشتر شده و کلسیم بیشتری جذب کرده و میزان کلسیم آزاد کم می شود.(در آلکالوز OH^- بالا می رود و با کلسیم باند می شود و تب شیر ایجاد می کند).

فسفر نیز در بدن به دو شکل آلی و معدنی دیده می‌شود. فرم آلی در ساختمان غشاءها (فسفولیپید) و فرم معدنی در استخوانها است. میزان کل فسفر *mg/dl* 15–14 است اما همه آن را نمی‌توان اندازه گرفت و فقط فسفر معدنی را می‌توان اندازه گرفت که میزان آن *mg/dl* 9–4 است.

برای اندازه گیری فسفر آلی باید آب اضافه شود تا غشا گلبول های قرمز لیز شود تا فسفولیپید آزاد شود.

عوامل موثر در هضم و جذب

1- بیشترین مقدار هضم و جذب کلسیم و فسفر در قسمت ابتدای روده باریک است درحالیکه در تک‌سمی‌ها در قولون است.

2- تمام کلسیم و فسفر شیر جذب می‌شود و در غلات و مواد دانه‌ای در حدود نصف جذب می‌شود.

3- در صورتیکه در جیره اسید امینه لیزین و آرژنین بیشتر باشد جذب کلسیم بیشتر است چون آرژنین و لیزین بیشترین مقدار ترپسین را تشکیل می‌دهد و میزان پروتئین هضم شده هم بیشتر می شود.

4- اگر رژیم غذایی چربی بیشتر از اندازه باشد قسمتی از چربی که هضم نشده با کلسیم ترکیب شده و ایجاد صابون غیر محلول کلسیم را می‌دهد. اگر بیماری‌های کبدی و مجاری صفراوی داشته باشیم در این زمان هم هضم و هم جذب چربی مختل می‌شود و حالت قبلی را داریم.

5- نسبت کلسیم به فسفر 3/1 است

6- حاصلضرب کلسیم و فسفر بایستی کمتر از 70 شود. اگر بیشتر از 70 باشد باعث رسوب کلسیم و فسفر در بافتها بویژه در کلیه می‌شود و باعث کلسیفیکاسیون می‌شود.

7- ویتامین *D* باعث افزایش جذب کلسیم می‌شود.

8- در مسمویت با اگزالات، اگزالات با کلسیم باند می‌شود و مانع عملکرد کلسیم می‌شود.

9- در کمبود منیزیم به دو دلیل کمبود کلسیم ظاهر می‌شود: الف) سنتز پاراتورمون کم می‌شود.

ب) α_1 هیدروکسیلاز کلیوی که متابولیت فعال D را در کلیه سنتز می‌کند وابسته به منیزیم است.

10- زمانیکه نسبت 3 به 1 کلسیم و فسفر به هم بخورد و فسفر زیاد شود: الف) آنزیم α_1 هیدروکسیلاز مهار می‌شود. ب) تولید متابولیت غیرفعال می‌کند. ج) رسوب کلسیم به صورت فسفات تری‌کلسیک باعث کمبود کلسیم می‌شود.

11- در افراد پیر کلسیم و فسفر در استخوان رسوب نمی‌کند و چون بدن احساس کمبود کلسیم و فسفر دارد از استخوانها برداشت می‌کند که باعث پوکی استخوان و پادرد می‌شود. در اثر استفاده از کلسیم و فسفر به صورت مصنوعی باعث مستعد کردن کلیه و صفرا به تشکیل سنگ می‌شود.

- ❖ کلسترول در کبد در اثر آنزیم 25 هیدروکسیلاز به 25 هیدروکسی کوله کلسیفرول تبدیل می شود. 25 هیدروکسی کوله کلسیفرول در کلیه توسط آنزیم α_1 هیدروکسیلاز(که وابسته به Mg^{2+} است) به 1و25 دی هیدروکسی کوله کلسیفرول(ویتامین D) تبدیل می شود که ویتامین D جذب یون کلسیم را از روده بالا می برد. پس در کمبود منیزیم فرایند فوق رخ نمی دهد و کلسیم خون پایین می آید.
- ❖ در کلیه علاوه بر ویتامین D ، 24و25 دی هیدروکسی کوله کلسیفرول هم تولید می شود که متابولیت غیر فعال است که در اثر ازدیاد فسفر تولید می شود.
- ❖ **اثرات پاراتورمون: کلسیم خون را بالا میبرد+ لیز کلسیم از استخوان را بالا می برد+ فسفر خون را کم می کند+ کلسیم ادرار را کم و فسفر ادرار را زیاد می کند**
- ❖ در تب شیر کلسیم خون پایین است.

راههای دفع کلسیم و فسفر

مهمترین راه دفع ادرار، شیر و عرق کردن در تک‌سمی‌ها است. **در نشخوارکنندگان فسفر از طریق مدفوع و بزاق هم دفع می‌شود.**

هورمونهای تنظیم کننده

1– **پارراتورمون:** از غده پاراتیروئید که به صورت دو جفت در مجاورت تیروئید است آزاد شده و با فعال کردن آدنیلات سیکلاز و در نتیجه افزایش *cAMP* عمل خود را انجام می‌دهد و بر روی استخوان و کلیه مستقیم اثر کرده و از استخوان آزاد کردن کلسیم و فسفر را سبب شده و در کلیه نیز باعث جذب کلسیم و دفع فسفر می‌شود. همچنین در کلیه باعث افزایش سنتز متابولیت فعال *D* می شود.

2– **کلسی‌تونین:** از سلولهای *C* غده تیروئید آزاد شده و باعث کاهش میزان کلسیم و فسفر می‌شود.

ویتامین *D* : ویتامین *D* در بدن یا از طریق مواد غذایی وارد می‌شود یا در بدن سنتز می‌شود. در بدن پیش‌ساز ویتامین *D* در کبد تحت‌تاثیر آنزیم‌های میکروزومال به نام کلسترول 25–هیدروکسیلاز، هیدروکسیله شده و ماده‌ای به نام 25–هیدروکسی‌کلی‌کلسی‌فرول ایجاد می‌شود این ماده در کلیه تحت تاثیر آنزیم α_1 هیدروکسیلاز کلیوی به 25و1 دی‌هیدروکسی کلی‌کلسی‌فرول تبدیل می‌شود. اگر کلسیم نرمال یا افزایش یافته باشد متابولیت غیرفعال تولید می‌شود.

بیماری‌ها

1- هیپرپارتیروئیدیسم اولیه: مشکل اصلی در خود غده است و سلول‌های آن سرطانی شده است. در تابلو بیوشیمیایی پاراتورمون و **کلسیم افزایش یافته** و **فسفر کاهش یافته** است. در این حالت شکنندگی استخوان‌ها هم بیشتر می‌شود.

2- هیپرپاراتیروئیدیسم ثانویه کلیوی: در این حالت کلیه درگیر است و به طور ثانویه روی پاراتیروئید اثر می‌کند. به علت عدم سنتز ویتامین ***D*** میزان کلسیم کاهش می‌یابد و در نتیجه پاراتورمون تحریک می‌شود.

3- هیپرپاراتیروئیدیسم ثانویه تغذیه‌ای : مشکل در جیره است. در این حالت یا **کلسیم جیره پایین است و یا عدم بالانس کلسیم و فسفر را در جیره داریم.**

4- هیپرپاراتیروئیدیسم کاذب: در سگ دیده می‌شود که در واقع آدنوکارسینومای ***Anal sac*** می باشد که موادی تولید می‌کند که عمل پاراتورمون را تقلید می‌کنند.

5- هایپوپارتیروئیدیسم: به هر دلیل عمل تیروئید مختل شود.

دیابت ملیتوس

1- دیابت تیپ *I*: دیابت جوانان یا دیابت مستعد کتوز. این فرم از دیابت ارثی است و انسولین پایه در این موارد خیلی کم یا صفر است. به تست گلوکز داخل وریدی پاسخ نمی‌دهد و باید همیشه گلوکز تزریق کنند. به این فرم دیابت ملیتوس وابسته به انسولین ***IDDM*** نیز می‌گویند.

2- دیابت تیپ *II* (*NIDDM*): به تست گلوکز داخل وریدی جواب نمی‌دهند. در این حالت انسولین نرمال است و مشکل در گیرنده‌های سلولی است. مستعد کتوز نیستند و باید رژیم غذایی رعایت شود. معمولاً بعد از بلوغ دیده می‌شود.

3- دیابت نوع *III* یا دیابت تاخیری: در این حالت گلوکز تزریق می‌شود و به جای اینکه در 60 دقیقه به حد نرمال برسد در 80-70 دقیقه به حد نرمال می‌رسد. در این فرم علایم مشخصی نداریم و باید رژیم غذایی را رعایت کرد.

علایم

1- Preclinical : هیچ علائمی در فرد دیده نمی‌شود و فقط با تست گلوکز می‌توانیم تشخیص دهیم.

2- هیپرگلایسمی آشکار: قند خون در حالت ناشتا بیشتر از حد طبیعی است ولی به آستانه دفع کلیوی نمی‌رسد. مهمترین علامت در این حالت سردرد و تشنگی است.

3- گلوکز اوری: میزان قند خون بیشتر از آستانه دفع کلیوی است و از طریق ادرار دفع می‌شود. در این حالت معمولاً اوره، تری‌گلیسرید و کلسترول افزایش می‌یابد.

4- کتواسیدوز: یعنی کتون‌بادی‌ها ایجاد می‌شود و در نهایت کما و اغما ایجاد می‌شود.

مکانیسم دیابت ملیتوس

در دیابت میزان انسولین کم و میزان گلوکاگون افزایش پیدا می‌کند. گلوکاگون سبب گلوکونئوژنز، گلیکوژنولیز و لیپولیز می‌شود. در نتیجه این اعمال:

1- در نتیجه تجزیه گلیکوژن، گلوکز آزاد می‌شود.

2- در نتیجه لیپولیز چربی‌های ذخیره‌ای آزاد می‌شود و میزان VLDL، LDL، تری‌گلیسرید و کلسترول افزایش پیدا می‌کند. از آنجایی که سلولهای بدن به انرژی نیاز دارند و مسیر گلیکولیز مختل است بدن به استفاده از چربی روی می‌آورد و در نتیجه استیل کوآنزیم A تولید خواهد شد که برای ورود به چرخه کربس نیاز به اگزالواستات دارد ولی میزان آن کم است. تجمع استیل کوآنزیم A باعث فعال شدن دو مسیر می‌شود:

الف) سه واحد استیل کوآنزیم A با هم ترکیب شده و ایجاد کلسترول می‌کند.

ب) استیل کوآنزیم A سبب کتوژنز می‌شود. در نتیجه استن، β هیدروکسی بوتیریک اسید، استواستات تولید خواهد شد و در بدن حالت اسیدوز اتفاق می‌افتد.

در نتیجه گلوکونئوژنز میزان اوره و آمونیاک افزایش یافته و باعث تضعیف سیستم ایمنی، کاهش میزان گلبول قرمز و بروز حالت تهوع و استفراغ می‌شود. **بدنبال دفع گلوکز از ادرار آب نیز دفع خواهد شد و به دنبال آنها سدیم و پتاسیم نیز دفع می‌شود. در نهایت فشار خون کاهش می‌یابد و یک اسیدوز متابولیک اتفاق می‌افتد.**

از مهمترین ارگانهایی که تحت تاثیر دیابت قرار می‌گیرد کلیه‌ها هستند که به صورت نفروپاتی مشخص هستند. بدنبال نفروپاتی، تراسفرین اوری و آلبومین اوری نیز دیده می‌شود.

❖ علت گانگرن پا در دیابت:

1 – عدم استفاده از گلوکز در سلول های پا

2 – کاهش فشار خون پا

3 – افزایش آمونیاک و اوره

❖ Hb_{A1C} : قدرت گلیکوزیله شدن دارد یعنی با قند ترکیب می شود و در حالت نرمال 6–5 درصد هموگلوبین ها را شامل می شود و با افزایش قند به 10–9 درصد می رسد.

❖ **تفریق کتوز و دیابت:**

1–دیابت:قند و کتون بادی ها بالا می روند

2–کتوز:فقط کتون بادی ها بالا می روند

❖ واحد گلوکز mg/dl و واحد آمیلاز U/L است.

❖ هایپرانسولینمی دقیقا عکس دیابت است.

هیپوگلایسمی بچه خوکها

بچه خوکها بعد از تولد حتماً باید از مادر تغذیه کنند چرا که میزان گلوکز خون در زمان تولد کم است. چون ذخایر گلیکوژن کمی دارند.

کیس ریپورت:گوسفندی با تب،ادرار قرمز و بی اشتهایی آورده شده است و دارای مشخصات پاراکلینیکی زیر است:

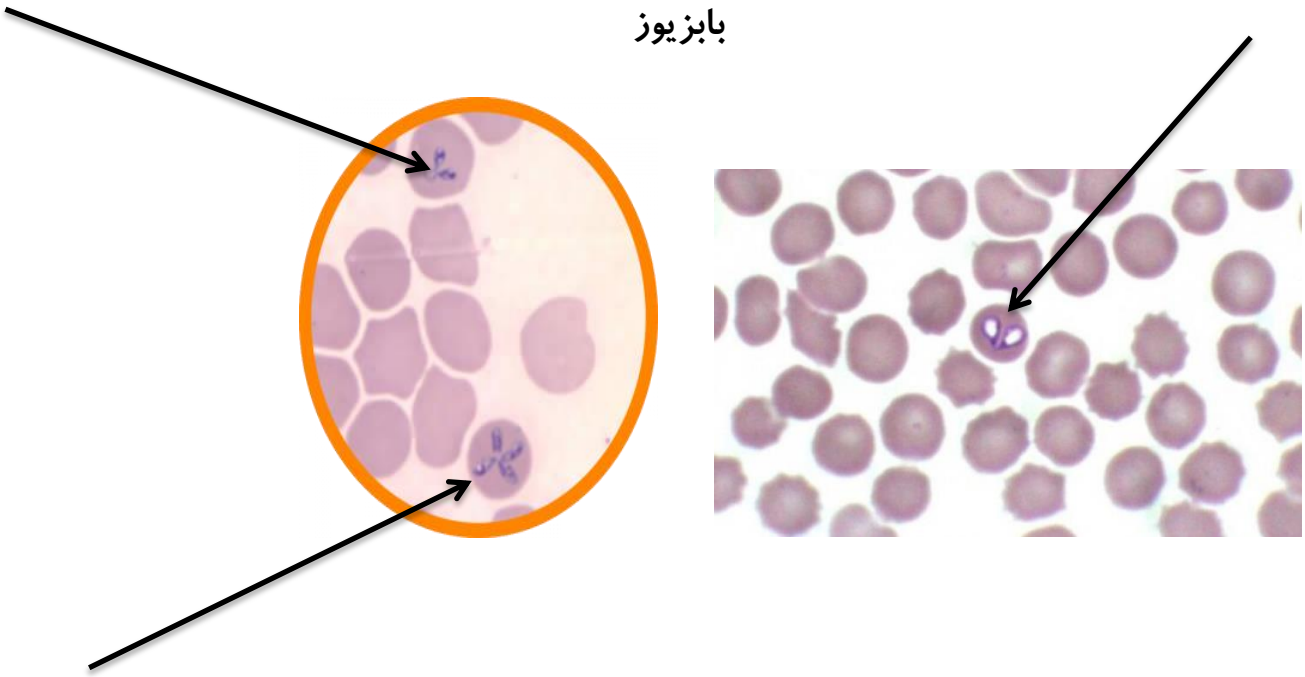
1- ادرار فاقد چرک یا عفونت و دارای پروتئین و هموگلوبین می باشد

2- در آزمایش خون 7000 WBC در هر میکرولیتر است و نوتروفیل توکسیک مشاهده می شود و لمفوسیت ها کاهش و نوتروفیل ها افزایش یافته اند و توتال بیلی روبین افزایش یافته است(در اینجا هم بیلی روبین مستقیم و هم غیر مستقیم افزایش یافته اند).

نتیجه:با تهیه گسترش متوجه می شویم بیماری بابزیوز است.

تفریق بابزیوز و تیلریوز: بابزیوز همیشه همولیز داخل عروقی می دهد و در گلبول های قرمز تکثیر گشته و موجب پارگی گلبول های قرمز و آزاد شدن هموگلوبین در خون می شود و در نتیجه هموگلوبین خون افزایش می یابد. اما تیلریوز همولیز خارج عروقی می دهد و گلبول ها در سیستم رتیکولواندوتلیال تخریب می شوند.(تیلریوز گاهی خون شاشی می دهد).

بابزیوز



مایع مغزی- نخاعی **Cerebro spinal fluid**

به عنوان یک عامل حفاظت کننده سیستم عصبی مرکزی است و توسط سلول‌های اپاندیمال ترشح می شود. این سلولها اهمیت زیادی داشته و در نهایت شبکه کورئید را تشکیل می‌دهند. میزان CSF بسته به جثه متفاوت است از 50-400 ml متغیر است. در نهایت مایع CSF از طریق عنکبوتیه به وریدهای وداج تخلیه می‌گردد. میزان تولید روزانه CSF در انسان 50 ml، در گاو 500 ml، در سگ 70ml و در خرگوش 15 ml است.

CSF دارای یک فشار در حدود 30 ml سرم رینگر است که معادل 10-7 میلی‌لیتر جیوه است. در صورتی که تغییر در خونرسانی وجود داشته باشد فشار CSFهم تغییر خواهد کرد. به طوری که با **گرفتن ناحیه گردن، فشار به ورید، عطسه، سرفه و گریه کردن به دلیل کاهش تخلیه و همچنین در زمان تزریق مایعات هایپوتونیک و ایزوتونیک فشار CSF بیشتر می‌شود.** ولی با تزریق مایعات هایپرتونیک فشار CSF کم می‌شود.

اعمال CSF

1- جدا کردن و ایزوله کردن CNB 2- حفاظت

3- تغذیه 4- تنظیم الکترولیت و مایعات

✓CNS ارتباط مستقیم با خون ندارد بلکه سد خونی- مغزی (Blood Brain Barrier) وجود دارد که یک غشاء نیمه‌تراوا بوده و به تمام مواد اجازه عبور نمی‌دهد.

ترکیبات CSF

CSF یک مایع فوق تصفیه شده (Ultra Filtration) از سرم یا پلاسما است که ترکیب آن تقریباً مشابه سرم است ولی از لحاظ پروتئین، بیلی‌روبین، فیبرینوژن و برخی الکترولیت‌ها تفاوت دارد.

نمونه‌گیری
- الف) Atlanto occipital : مابین مره اول و دوم گردن
- ب) Lumbo sacral

آزمایشات CSF

الف) فیزیکی:

1- رنگ: از لحاظ رنگ شبیه آب مقطر بوده و رنگ خاصی ندارد. **متداول‌ترین رنگی که در CSF دیده می‌شود قرمز است که به دو علت است؛ یا خونریزی قبلی است که تبدیل به هموگلوبین شده و آن هم تبدیل به مت هموگلوبین می‌شود و رنگ آن قرمز متمایل به قهوه‌ای است ویا در اثر آسپیراسیون است که در هنگام نمونه‌گیری است که با سانتریفیوژ شفاف می‌شود.**

✓رنگ زرد CSF تحت عنوان Xantho chromia گفته می‌شود که ناشی از چهار مورد است: بیلی‌روبین، پروتئین زیاد، خونریزی، آسیب سد خونی- مغزی.

✓در نوزادان رنگ CSF به چند دلیل زرد است :

I. سد خونی- مغزی تکامل نیافته

II. پروتئین با آغوز بالا

III. بالا بودن میزان بیلی‌روبین

2- کدورت: هرچه سلول یا پروتئین زیاد باشد کدورت زیاد است. اگر تعداد سلول بیشتر از 500 عدد در هر میکرولیتر باشد کدورت وجود دارد.

3- لخته شدن: فاقد فیبرینوژن است. اگر لخته وارد CSF شود عفونت و خونریزی داریم

4- وزن مخصوص: در حدود 1006-1003 است.

ب) آزمایشات شیمیایی

1- پروتئین: در مایع CSF از لحاظ مقدار با سرم متفاوت است. در سرم 6-8 gr/dl و در CSF، 10-40 mlgr/dl است. برای ارزیابی CSF دو روش کیفی و یک روش کمی وجود دارد.

روش کیفی:

الف) پاندی Pandy : در این روش بر روی 1cc از CSF یک قطره فنول اضافه می‌کنیم در صورتی که میزان پروتئین بیش از اندازه باشد کدروت سفید ظاهر می‌شود در حالی که در حالت نرمال شفاف است.

ب) Nonne Aplet : بر روی 1cc از محلول CSF یک سی‌سی سولفات آمونیوم اشباع می‌ریزیم اگر پروتئین بالا باشد کدورت سفید ظاهر می‌شود.

روش کمی:

روش فنول فولین سیموکالتو (روش Lowri) که کمتر از 1 gr/dl را می‌تواند تشخیص دهد.

مواردی که پروتئین در CSF افزایش نشان می‌دهد:

1- آسیب سد خونی- مغزی در اثر مواد مکانیکی، متابولیکی و....

2- اختلال در مسیر تخلیه CSF، به هر دلیلی CSF نتواند وارد ورید اجوف شود.

3- اختلالات خونی و خونریزی

4- سنتز پروتئین در داخل CSF، در داخل CSF دو پروتئین سنتز می‌شود IgG و IgM که در بیماری M.S میزان این دو افزایش می‌یابد.

مواردی که پروتئین در CSF کاهش می‌یابد

1- نمونه‌گیری مجدد

2- افزایش فشار داخلی جمجمه

3- پرکاری تیروئید

✓ **برای ارزیابی سد خونی- مغزی و همچنین پروتئین داخل CSF از دو اندیس استفاده می‌کنیم**

1- یک مورد سنتز پروتئین و یا ورود آن به علت آسیب سد خونی- مغزی را نشان می‌دهد.

$$Alb\ Quoteint = \frac{Alb\ CSF}{Alb\ Serum} \times 100$$

این نسبت در حالت طبیعی باید کمتر از 2.35 باشد.افزایش آن نشان‌دهنده ورود آلبومین از طریق سد خونی- مغزی است.

2- اندیس دوم که در حالت طبیعی کمتر از 0.272 است.

$$IgG\ Index = \frac{IgG\ CSF}{IgG\ Serum} \times \frac{Alb\ Serum}{Alb\ CSF}$$

✓اگر هر دو بیشتر شود سد خونی- مغزی آسیب دیده است ولی اگر اندیس اول نرمال باشد و اندیس IgG بیشتر شود در این حالت سنتز پروتئین در داخل CSF بیشتر شده است.

2- گلوکز: مقدار آن70-60٪ گلوکز سرم است. به کاهش گلوکز CSF هیپوگلیکورآلی (Hypogylcorrochi) می‌گویند و زمانی اتفاق می‌افتد که عفونت و یا التهاب باشد که باکتری‌ها از گلوکز استفاده کنند و یا قند خون کاهش یافته است.

3- الکترولیت: کلسیم، منیزیم و پتاسیم در CSF کمتر از سرم است در حالی که سدیم و مس بیشتر از سرم است. اوره و کراتینین هم کمتر از سرم است.

3- آنزیم: از آنجایی که مولکول‌های بزرگی هستند نمی‌تواند از سد خونی- مغزی عبور کنند. ولی در حالت کلی 3 آنزیم در CSF وجود دارد

الف) لاکتات دهیدروژناز LDH : میزان آن در CSF 10–5٪ سرم است. LDH موجود در CSF از طریق انتشار غیرفعال از سرم، بافت عصبی و همچنین عناصر موجود در CNS از جمله موکوسین، باکتری و سلول تامین می‌شود.

ب) CPK : اگر میزان CSF به اندازه‌ای برسد که بتوان یک آنزیم را اندازه‌گیری کنیم اختصاصاً CPK را اندازه می‌گیریم. دارای 3 ایزوآنزیم است، CK_1 مختص مغز، CK_2 در مغز و عضلات و CK_3 مختص عضلات.

ج) AST : در سلول‌های مغزی است ولی به عنوان یک آنزیم اختصاصی نمی‌توان قضاوت کرد.

سلول‌شناسی

در مایع CSF نرمال تعداد کمی سلول است. به طوری که در بالغین 5–0 عدد در میکرولیتر و در نوزادن 3–0 عدد در میکرولیتر است. به افزایش گلبول‌های سفید در CSF، Pleocytosis اطلاق می‌شود. در زمانی که تعداد سلول‌ها بیشتر از 500 عدد باشد و کدورت داشته باشیم بایستی از نمونه گسترش تهیه کرده و بعد از رنگ‌آمیزی گیمسا بررسی سلولی به عمل آوریم. اگر نوتروفیل بیشتر شود منتژیت، التهاب ها و عفونت‌های باکتریایی وجود دارد. اگر لنفوسیت بیشتر باشد به التهاب دژنراتیو مشکوک می‌شویم. در بیماری‌های قارچی و لیستریوز به جای نوتروفیل منوسیت افزایش می‌یابد.

مایع مفصلی

استخوانها بوسیله مفاصل که از نوع بافت همبند هستند حرکت می‌کنند. از نظر تحرک دو نوع مفصل داریم:

1- Synarthrosis : مفاصلی هستند که قدرت تحرک خیلی کمی دارند

2- Diarthriosis : مفاصلی که میزان تحرک بالایی دارند

در داخل مفاصل مایع بی‌رنگ، شفاف، چسبنده و غلیظ وجود دارد که علاوه بر لغزنده کردن سطح مفصلی، مواد غذایی و اکسیژن را به غضروف مفصل که بدون رگ است تامین می‌کند. در مفصل Diarthriosisکپسول مفصلی دو لایه است. لایه خارجی فیبروزه و لایه داخلی سینویال است که دارای دو نوع سلول است:

الف) سلول‌های A که شبیه ماکروفاژ است. دستگاه گلژی بزرگ و لیزوزوم زیادی دارند و شبکه آندوپلاسمیک خشن کمی دارند.

ب) سلول‌های B که شبکه آندوپلاسمیک خشن زیادی دارند.

سلولهای A اسید هیالورونیک تولید می‌کنند ولی نوع B عمل بیگانه‌خواری دارند و مقداری کمی از پروتئین‌ها را تامین می‌کند.

اغلب ترکیبات مایع مفصلی شبیه پلاسما است ولی ویژگی مهمی دارد

1) قدرت لرزان کنندگی (Lubrication) که ناشی از گلیکوپروتئین‌های مایع است.

2) خاصیت ناروایی یا ویسکوزیته که ناشی از اسید هیالورونیک است.

مایع مفصلی طبیعی بی‌رنگ، شفاف، از لحاظ پروتئین میزان آن 0.9-1 gr/dl است. فاقد فیبرینوژن است و عوامل انعقادی ندارد. مایع مفصلی طبیعی زمانی که در یک جا بدون حرکت باقی بماند حالت

ژله مانند به خود می‌گیرد که تحت عنوان Thixotropism عنوان می‌شود. از لحاظ آنزیمی AST، ALT، ALP و LDH مهم هستند. از نظر الکترولیت مشابه سرم است. با این تفاوت که میزان کلر و بیکربنات مایع مفصلی بیشتر از سرم است. گلوکز مایع مفصلی نیز مشابه سرم است. از لحاظ فیزیکی مایعی است شفاف، بی‌رنگ، با ویسکوزیته شدید، فاقد مواد معلق و برحسب نوع مفصل و جثه حیوان میزان مایع متفاوت است.

آزمایش لخته موسین: برای ارزیابی کمیت و کیفیت اسید هیالورونیک این آزمایش را انجام می‌دهند. یک قسمت مایع مفصلی را با چهار قسمت اسید استیک گلاسیال 2.5٪ مخلوط می‌کنند و یک ساعت در دمای آزمایشگاه قرار می‌دهند و بعد کیفیت لخته را مطالعه می‌کنند. اگر لخته یکپارچه و بزرگ باشد لخته خوب، اگر لخته نرم و اطرافش مایع کدر باشد متوسط، اگر به سهولت در اثر تکان دادن به قطعات ریز تبدیل شود ضعیف و اگر به جای لخته قطعات ریزی دیده شود لخته خیلی ضعیف است.

بررسی ایمنولوژیکی: فقط در بیماری‌های اتوایمیون بررسی می‌شود که بیشتر کمپلمان در نظر است.

بررسی میکروبی: در زمانی که عفونت داشته باشیم حتماً باید کشت میکروبی داده شود.

بررسی بلور: گاهاً در مایع مفصلی بلورهایی دیده می‌شود از جمله کریستال‌های اسید اوریک، بلورهای کلسترول و ....

تغییرات مایع مفصلی در بیماریها: اکسودا، ترانسودا

ترانسودا: مایع خارج سلولی است با غلظت پایین پروتئین و چسبندگی پایین و تعداد کم سلول نوکلئوتید. ترانسودا نتیجه ی اولترا فیلتراسیون پلاسما است.

ترانسودا اکثرا در نارسایی قلب و سیروز کبدی، سندرم نفروتیک، هیپوپروتئینمی مشاهده می شود

اگزودا: مایع خارج سلولی است که در نتیجه ی تغییر وریدها هنگام التهاب بوجود می آید که باعث ایجاد یک مایع خارج سلولی با غلظت بالای پروتئین و چسبندگی بالا می شود. در واقع اگزودا طرف مقابل ترانسودا است.

اگزودا به طور شایع در عوارض انفلامیتور ، عفونت ها و عوارض نئوپلاستیک خواهد بود. در انفارکتوس ریه ، تروما و حساسیت به دارو ممکن است مایع اگزودا ایجاد شود.

مایع مفصلی سالم: شفاف، زرد کم‌رنگ، نارواییی زیاد، لخته موسین خوب، تعداد سلول (WBC) کمتر از 500، نوتروفیل کمتر از 10٪، گلبول قرمز و ماکروفاژ کم و فاقد میکروارگانیسم.

در التهابات غیرچرکی؛ شفاف تا مه‌آلود، زرد رنگ تا دودی، نارواییی زیاد، لخته موسین خوب، WBC کمتر از 5000، نوتروفیل 25٪، RBC متغیر، ماکروفاژها متغیر.

در التهاب چرکی غیر عفونی؛ مه‌آلود تا خونی، زرد کم رنگ، نارواییی زیاد، لخته موسین متغیر، WBC بیشتر از 5000، نوتروفیل 50٪، RBC متغیر و سلول‌های فاگوسیت کننده دیده می‌شود.

التهاب چرکی عفونی؛ مشابه فرم غیرعفونی است با این تفاوت که دارای میکروارگانیسم است.

پروتئین

دسته‌ای از مواد آلی هستند که وظایف متعددی دارند از جمله: تعادل آب بدن، شرکت در ساختمان آنزیم، شرکت در ساختمان فاکتورهای انعقادی، شرکت در سیستم دفاعی، سیستم حمل و نقل، تولید انرژی و ....

میزان پروتئین را همراه با PCV خون اندازه‌گیری می‌کنند که این دو بیشتر همزمان باهم بالا یا پایین می‌روند. اگر با هم یک اندازه کاهش یابند آب بدن زیاد است و یا خونریزی داریم و اگر همراه با هم افزایش یابند آب بدن کاهش یافته است.

روشهای اندازه‌گیری پروتئین

1- شیمیایی:

الف) کلدال: بیشتر در تغذیه استفاده می‌شود.

ب) بیوره: روش خوبی است ولی مشکل آن این است که اگر میزان پروتئین باید بین 1-10 gr باشد قابل اندازه‌گیری است.

ج) فنل فولین سیوکالتو: روش اختصاصی و حساس برای CSF است.

د) روش رسوب: پروتئین‌ها در نقطه ایزوالکتریک رسوب می‌کنند و از این طریق می‌توان پروتئین‌ها را تشخیص داد.

2- فیزیکی:

الف) انکسار سنجی: از دستگاه رفراکتومتر استفاده می‌کنیم. پروتئین‌ها بر حسب غلظتشان در محلول باعث تغییر اندیس یا ضریب شکست می‌شوند. سرم یا مایعات نبایستی کدر و یا دارای چربی باشند.

ب) انکسار سنجی- رسوبی: روش اختصاصی برای فیبرینوژن است. در این روش ابتدا به روش انکسار سنجی پروتئین تام را اندازه‌گیری می‌کنند سپس به مدت 5-3 دقیقه پلاسما را در 56 درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهند. دوباره به روش انکسارسنجی میزان پروتئین را می‌سنجند. فیبرینوژن در این درجه حرارت رسوب پیدا می کند و اختلاف این دو برابر است با میزان فیبرینوژن.

تفکیک پروتئین‌ها

1- **تفکیک با نمک**: در این روش از نمک‌هایی مانند سولفات آمونیوم و سولفات سدیم استفاده می شود. نمک باعث دهیدراتاسیون پروتئین و رسوب آن می‌شود.

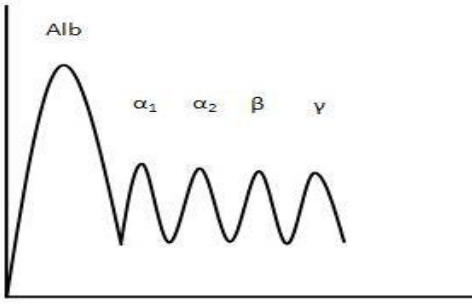
2- **روش گلی اکسیلیک**: در این روش گلوبولین‌ها واکنش نشان می‌دهند و مجموعه ارغوانی رنگی ظاهر می‌شود.

3- **روش اسید بنزوئیک**: اسید بنزوئیک به آلبومین متصل می‌شود و باعث جداشدن آلبومین می‌شود.

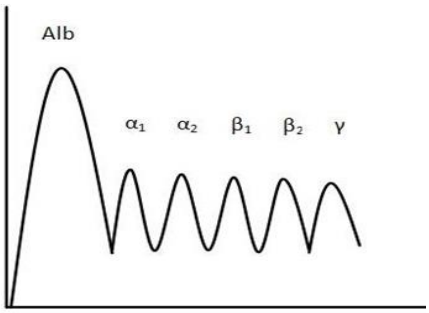
4- **الکتروفورز**: پروتئین‌ها بر اساس بار الکتریکی و اندازه مولکول از همدیگر جدا می‌شوند.بر اساس الکتروفورز سه باند(فراکسیون) α، β و γ تعریف می‌شود. به طور متوسط میزان پروتئین را در انسان و حیوان 8-6 gr/dl در نظر می‌گیریم.

❊الکتروفورز اگر افقی باشد بر اساس بار الکتریکی است و اگر عمودی باشد براساس اندازه و بار الکتریکی است.

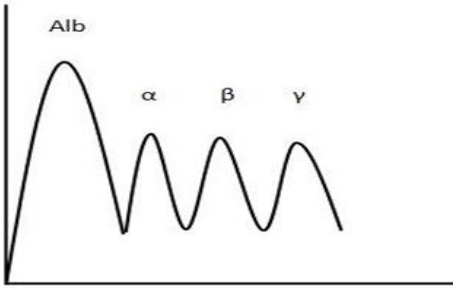
انسان: میزان پروتئین gr/dl 6–8 است و منحنی الکتروفورز به صورت آلبومین،α_1، α_2، β و γ تقسیم می‌شود.



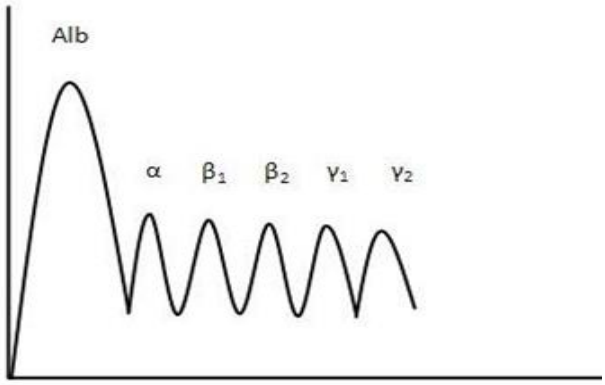
اسب: میزان پروتئین *gr/dl* 5.2–7.9 می‌باشد و منحنی به صورت آلبومین،α_1، α_2،β_1،β_2 و γ است.



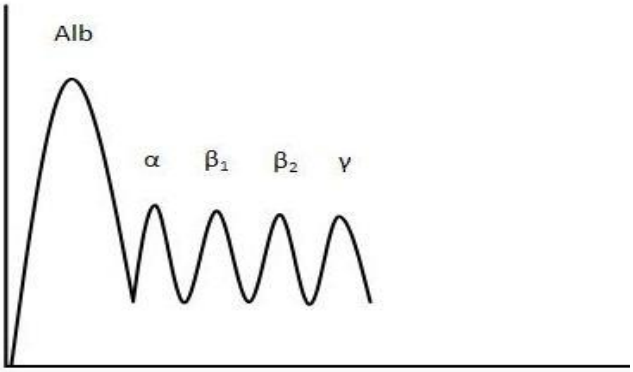
گاو: میزان پروتئین gr/dl 7/6–4/7 است و منحنی به صورت آلبومین، α،β و γ می‌باشد.



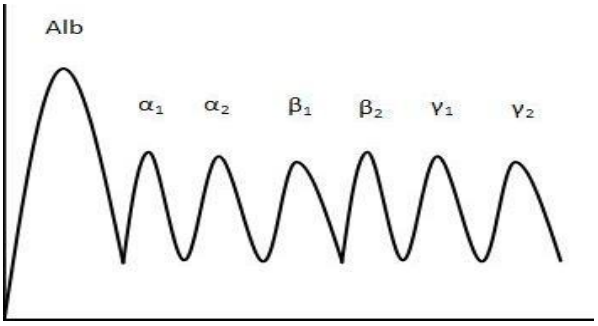
گوسفند: میزان پروتئین gr/dl 6–9/7 می‌باشد و منحنی به صورت آلبومین، α،β_1،β_2،γ_1 وγ_2 است.



بز: میزان پروتئین gr/dl 4/6–7 است و منحنی به صورت آلبومین،α،β_1،β_2 وγ است.



سگ و گربه: منحنی به صورت یکسان است و به صورت آلبومین، α_1،α_2 ،β_1،β_2،γ_1 وγ_2 است. میزان پروتئین در سگ mg/dl 4/5–1/7 و در گربه mg/dl 4/5–8/7 می‌باشد.



پروتئین‌های موجود در الکتروفورز

1- Pre Albumin: در سرم حیوانات اهلی گزارش نشده است و مختص انسان است. عمل آن حمل و نقل تیروکسین است و همچنین با پروتئین‌هایی به نام پروتئین‌های باند شونده به رتینول که در سنتز ویتامین A نقش دارد در ارتباط است. در انسان در CSF غلظت آن زیاد است.

2- آلبومین: 50-35٪ پروتئین‌ها را تشکیل می‌دهد و دارای اعمال متعددی است از جمله تنظیم فشار انکوتیک، شرکت در حمل و نقل مواد و استفاده به عنوان منبع اسید آمینه.

***در سرم خون اسب پروتئین کوچکی به نام Post Albumin وجود دارد که در بیماری‌های التهابی میزان آن افزایش می‌یابد.**

میزان Turn overدر حیوانات بزرگ‌جثه زیاد و در حیوانات کوچک جثه زودتر است. بنابراین خیز و ادم ناشی از کمبود آلبومین در حیوانات بزرگتر دیرتر به حالت نرمال برمی‌گردد.

افزایش آلبومین فقط در افزایش غلظت خون دیده می‌شود. کاهش آلبومین در بیماری‌های کبد، کلیه، خونریزی، سوء تغذیه و رقیق کردن خون (سرم‌تراپی) دیده می‌شود.

گلوبولین‌ها به صورت α،β وγ در الکتروفورز دیده می‌شود.

پروتئین‌های ناحیه α_1

1- TBG : تحت عنوان گلوبولین متصل شونده به تیروکسین است. وزن مولکولی آن 50کیلو دالتون است و عمل آن شرکت در حمل و نقل تیروکسین است.کاهش این پروتئین گزارش نشده است ولی در حاملگی افزایش می‌یابد.

2- α_1 فیتوپروتئین: با وزن مولکولی 65 کیلودالتون در دوران جنینی و حاملگی دیده می‌شود و در افراد بالغ دیده نمی‌شود. عملکرد آن در دوران جنینی مشخص نیست اما افزایش آن بعد از تولد اختصاصاً در سرطان کبد به خصوص هپاتوما دیده می‌شود.

3- α_1 آنتی‌ترپسین: وزن مولکولی آن 54 کیلودالتون است. مهمترین نقش آن، نقش آنزیمی است. جزء پروتئین‌های فاز حاد است. فعالیت ضدترومبینی ضعیفی دارد.

4- α_1 آنتی‌کیموترپسین: جزء پروتئین‌های فاز حاد است و وزن مولکولی آن 68 کیلودالتون است.

5- α_1 اسید گلیکوپروتئین: وزن مولکولی آن 64 کیلودالتون است و جزء پروتئین‌های فاز حاد است. برخی عقیده دارند حمل و نقل پروژسترون را انجام می‌دهند اما **امروزه مهمترین عمل آن محدود ساختن پاسخ ایمنی به وسیله تکثیر مغز استخوانی لنفوسیت و تولید آنتی‌بادی است. در سگ، گربه، اسب و گاو ارزش تشخیصی دارد.**

6- α_1 آنتی‌ترومبین III: وزن مولکولی آن 65 کیلودالتون است و مهار کننده ترومبین است. در صورتی که در مجاورت هپارین قرار بگیرد و با آن ترکیب شود فعالیت ضد ترومبینی آن شدیداً افزایش می‌یابد.

7- HDL : لیپوپروتئین با دانسیته بالا است. متوسط وزن مولکولی آن 200 کیلودالتون است و انتقال کلسترول در بدن به کبد را بر عهده دارد.

پروتئین‌های ناحیه α_2

1- α_2 ماکروگلوبولین: وزن مولکولی آن 820 کیلودالتون می‌باشد. اعتقاد بر این است که می‌تواند به انسولین وصل شود و باعث نقل و انتقال آن شود اما خاصیت ضد انعقادی و آنتی‌ترپسین هم دارد. **در بیماری‌های مزمن کبد، سندرم نفروتیک و بیماری‌های التهابی افزایش نشان می‌دهد.**

2- α_2 گلوبولین: این پروتئین مسئول 25٪ از فعالیت ضدترومبینی است و به نام مهار کننده α_2 پلاسمین نیز معروف است.

3- سرولوپلاسمین: وزن مولکولی آن 160 کیلودالتون است. پروتئین فاز حاد مثبت است و نقش حمل و نقل و همچنین نقش فرواکسیدازی(تغییر بار الکتریکی آهن) دارد.(مهم ترین حامل مس در بدن است).

4- هاپتوگلوبولین: وزن مولکولی آتن 160-80 کیلودالتون است. جزء پروتئین‌های فاز حاد است و به هموگلوبین وصل می‌شود. در آنمی همولیتیک و بیماری‌های کبدی کاهش دارد.

5- پروتئین C: پروتئین خیلی کوچکی است و 60 کیلودالتون وزن دارد. نقش پروتئازی دارد و رشته‌های فیبرین را می‌شکند.

✓ Pre β: به نام VLDL (وظیفه انتقال تری گلیسیرید)است.

پروتئین‌های ناحیه β

1- β – لیپوپروتئین: شامل LDL است.

2- **ترانسفرین:** وزن آن 76 کیلودالتون است. عمل آن حمل و نقل آهن است. پروتئین فاز حاد منفی است و در بیماری‌های التهابی و بیماری‌مزمن کبدی کم می‌شود.

3- **فررتین:** با وزن مولکولی 460 کیلودالتون به عنوان ذخیره آهن در بدن عمل می‌کند. در بیماری های التهابی بیشتر می‌شود.

4- **هموپکسین:** با وزن مولکولی 80 کیلودالتون انتقال هم را بر عهده دارد. در آنمی همولتیک و بیماری‌های کبدی مزمن کم می‌شود.

5- **CRP** (**C-reactive protein**): وزن مولکولی آن 140 کیلودالتون است از مهمترین پروتئین های فازحاد مثبت است و در نتیجه پاسخ التهابی آزاد می‌شود عمل آن به صورت اپسونیزاسیون سلولهای آسیب دیده و اجسام خارجی و بیگانه، تنظیم فعالیت پلاکتها و گلبولهای سفید و تنظیم فعالیت سیستم کمپلمان است. **در اسب، سگ و خوک ارزش تشخیصی دارد.**

❊CRP پروتئینی است که **در کبد و در پاسخ به فاکتور های آزاد شده از ماکروفاژ و سلول چربی** سنتز می شود که در موارد التهاب و روماتیسم در خون افزایش می یابد. در سندروم نفروتیک پروتئین اوری، هایپوپروتئین، خیز یا ادم و آلبومین اوری وجود دارد. طبق یافته های علمی رابطه مستقیمی بین میزان عفونت ریه و CRP وجود دارد که سطح بالای این پروتئین در 86 درصد بیماران کرونایی رویت شده است.

6- **کمپلمان C_3 و C_4**: اگر بیماری التهابی داشته باشیم میزان آن افزایش می‌یابد. اما در بیماری‌های خودایمن کاهش پیدا می‌کند.

7- پلاسمینوژن: به عنوان پیش‌آنزیم است. در نتیجه فعال شدن به پلاسمین تبدیل می‌شود و فیبرین را قطعه قطعه می‌کند. در DIC افزایش پیدا می‌کند.

8- سرم آمیلوئید A (SAA): یکی از پروتئین های فاز حاد است که توسط سلول های کبدی در پاسخ به آسیب سلولی- بافتی، عفونت یا بدخیمی ها ساخته می شود .با ورود به خون، سرم آمیلوئید به صورت یک آپولیپوپروتئین مرتبط با **HDL** نمایان می شود.

9- فیبرینوژن: وزن مولکولی آن 340 کیلودالتون است و **مهمترین پروتئین فاز حاد است** و افزایش آن نشان دهنده التهاب حاد و مزمن و یا تخریب بافتی است. **کاهش فیبرینوژن در DIC و بیماری‌های شدید کبدی دیده می‌شود.**(سرم فاقد فیبرینوژن است ولی پلاسما حاوی آن است).

پروتئین‌های ناحیه γ

در این ناحیه ایمنوگلبولین‌ها قرار دارند که توسط پلاسماسل‌ها آزاد می‌شود و شامل IgA، IgM، IgG، IgE و IgDمی‌باشد.

IgA: وزن مولکولی آن 160 کیلودالتون است و به عنوان آنتی‌بادی ترشحی در مخاطات است. در بیماری‌های عفونی میزان آن افزایش می‌یابد. در **جنین تازه متولد شده و همچنین در صورت عدم دریافت آغوز میزان آن کاهش می‌یابد.**

IgM: به عنوان اولین آنتی‌بادی است که در بدن تولید می‌شود و بزرگترین آنتی‌بادی است.

IgG: متعاقب کاهش IgM تولید شده و مدت طولانی باقی می‌ماند.

IgE: در واکنشهای ازدیاد حساسیت و آلرژی دیده می‌شود.در بیماری های انگلی که تخریب بافتی انجام می دهند من جمله تیلریوز و بابزیوز هم افزایش می یابد.

آشفتگی‌های پروتئین‌های سرم در سه قسمت بحث می‌شود:

1- منحنی الکتروفورز طبیعی و نسبت Alb/Globulin ثابت است.

❋ در حالت اول دو مورد هیپرپروتئینمی و هایپوپروتئینمی مطرح است.

2- نسبت Alb/Globulin کاهش یافته(گلوبولین زیاد می شود) و منحنی غیر طبیعی است.

3- نسبت Alb/Globulin افزایش یافته(گلوبولین کم می شود) و منحنی غیرطبیعی است.

❋ در حالت سوم نسبت آلبومین به گلبولین افزایش یافته است. افزایش آلبومین فقط در دهیدراتاسیون و کاهش گلبولین به علت عدم دریافت آغوز دیده رخ می‌دهد.

در حالت دوم که نسبت Alb/Globulin کاهش یافته است که در این حالت آلبومین کاهش یافته و گلوبولین افزایش یافته است. کاهش آلبومین در بیماری‌های کبدی، کلیوی، سوء تغذیه، بیماری‌های انگلی و از دست دادن خون دیده می‌شود کاهش آلبومین موجب ادم و خیز در شکم و ایجاد آسیت می شود. افزایش گلبولین در حالات زیر بررسی می‌شود:

1- پروتئین‌های ناحیه آلفا که اکثراً فاز حاد مثبت هستند در بیماری‌های عفونی و التهابی افزایش نشان می‌دهند از این ناحیه α_1 آنتی‌ترپسین، α_1 اسید گلیکوپروتئین، α_1 آنتی‌ترومبین III، سرولوپلاسمین، هاپتوگلوبولین و α_2 ماکروگلوبولین اهمیت زیادی دارند.

2- در ناحیه بتا مهمترین پروتئین‌ها؛ ترانسفرین (فار حاد منفی) و هموپکسین افزایش می‌یابد. گاهی افزایش ناحیه گاما بخصوص IgM سبب افزایش ناحیه بتا می‌شود.

3- پل بین بتا و گاما در این حالت حد و مرزی بین ناحیه بتا و گاما دیده نمی‌شود که ناشی از افزایش IgM و IgA است و مهمترین مشخصه هپاتیت مزمن فعال است.

4- ناحیه گاما یا به صورت مونوکلونال است یعنی یک دسته خاص از پلاسماسل‌ها فعال شده و یک آنتی‌بادی تولید می‌شود و یا به صورت پلی‌کلونال است.

در نتیجه حضور عوامل پاتوژن در بدن یکسری سیستم‌های دفاعی در بدن ایجاد می‌شود که می‌تواند با فعال شدن لوکوسیت‌ها، تولید آنتی‌بادی و یا در نتیجه ایجاد سایتوکائین‌هایی نظیر IL_1 و IL_6 پروتئین هایی به نام پروتئین‌های فاز حاد تولید می‌شود. برخی از پروتئین‌های فاز حاد منفی هستند(در عفونت کاهش می یابند) که شامل آلبومین، ترانسفرین و پره‌آلبومین هستند و برخی هم مثبت هستند(در عفونت افزایش می یابند) که به سه نوع تقسیم می‌شوند:

1 پروتئین‌هایی که تا 50٪ افزایش می‌یابند مانند سرولوپلاسمین.

2 پروتئین‌هایی که 100-50 برابر افزایش می‌یابند نظیر CRP و سرم آمیلوئید A.

3 پروتئین‌هایی که سه برابر می‌شوند مانند هاپتوگلوبولین و فیبرینوژن.

***دلیل کاهش پروتئین های فاز حاد منفی در عفونت:**

I. کبد سنتز سایر پروتئین ها را انجام دهد

II. آهن از دسترس میکروارگانیسم ها خارج شود

بخش عملی بیوشیمی

جلسه 1

کراتینین را به روش ژافه اندازه گیری می کنیم

محاسبه کراتین:غلظت استاندارد×(عدد تست تقسیم بر عدد استاندارد)

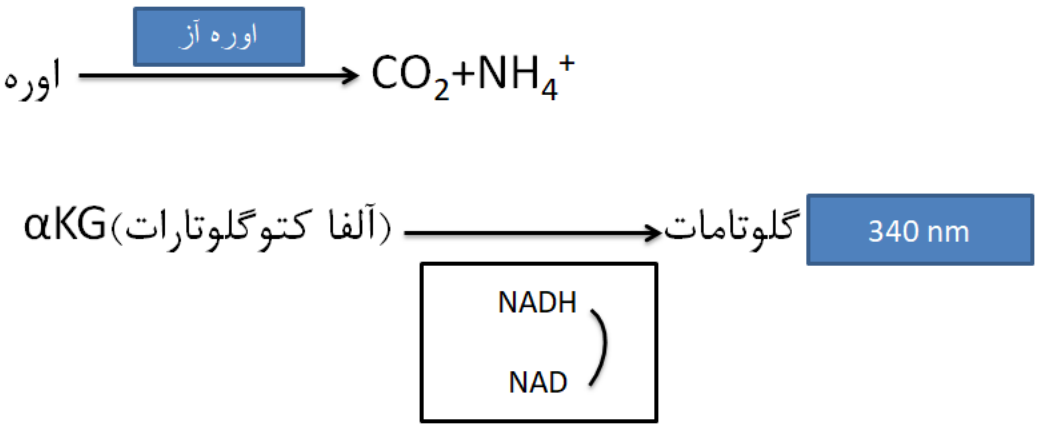
محلول کاری به عنوان معرف استفاده می شود

طول موج قرائت 500 نانومتر است

از سه لوله بلانک،استاندارد و تست استفاده می کنیم

غلظت استاندارد 2 mg/dl می باشد

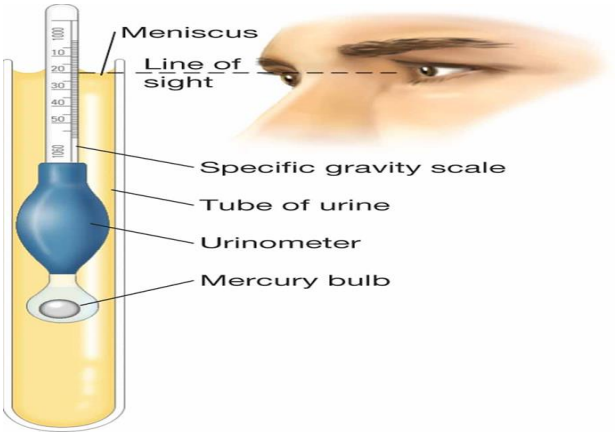
ظرفی که در فوتومتر می گذاریم کووِت نام دارد



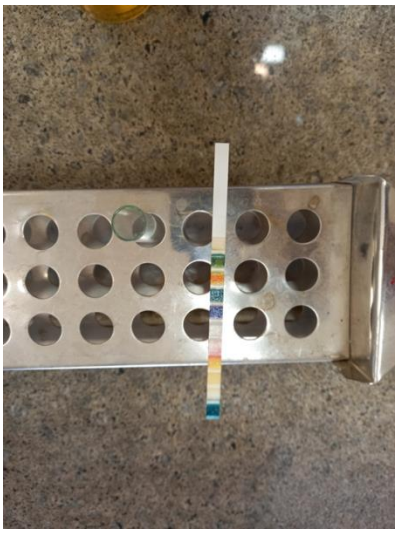
اوره و کراتینین دو معرفه می باشند.

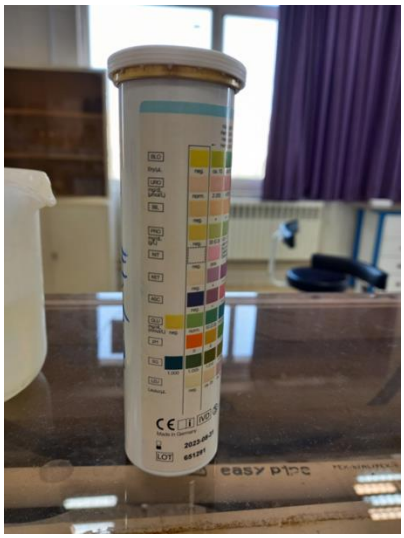
جلسه 2

برای تعیین وزن مخصوص ادرار سر هیدرومتر را با پنس گرفته و به صورت عمودی داخل استوانه مدرج می اندازیم طوری که کج نشود و به دیواره استوانه نچسبد.(استوانه مدرج را پر نکنید تا هنگام انداختن هیدرومتر سرریز نشود) هیدرومتر تا حدودی داخل ادرار فرو می رود و بر روی آن شناور می ماند. از سطح زیر به استوانه نگاه کنیدو عددی را که هیدرومتر نشان می دهد یادداشت نماییداین عدد برابر با وزن مخصوص ادرار است



تست نوار ادراری





نوار را 30 ثانیه تا 1 دقیقه در ادرار نگه می داریم و دست ما به اندیکاتور نباید بخورد.

با آنالیز این نوار، پروتئین ها، گلوکز، کتون ها، هموگلوبین، بیلی روبین، اوروبیلینوژن، استون، نیتریت و لکوسیت‌ها و همچنین pH و وزن مخصوص یا وجود عفونت ایجاد شده توسط عوامل بیماری‌زای مختلف در ادرار بررسی می‌شود.

جلسه 3

❊**وجود پروتئین در ادرار**(عامل ایجاد کف در ادرار) را با سولفاسیلیک اسید 3 درصد می سنجند که اسید ضعیف است و اگر پروتئین وجود داشته باشد کدورت سفید ابری ایجاد می کند.(نوار ادراری تا 150میلی گرم را منفی نشان می دهد).

❊ادرار را اگر 5 دقیقه در 2500 دور در دقیقه سانتریفیوژ کنیم می توانیم موارد زیر را بسنجیم:

1-سلول ها(اپیتلیال،WBC،RBC)

2-کست ها

3-کریستال

با محلول بندیکت وجود قند در ادرار را بررسی می کنیم

***وجود خون در ادرار:** ابتدا خون را سانتریفیوژ می کنیم بعد چند قطره H_2O_2 و اسید استیک از هرکدام را در محلول خون و الکل پیرامیدون می ریزیم که درصورت وجود مولکول هم رنگ بنفش ایجاد می کنند.

I. الکل پیرامیدون از طریق مکانیسم تغییر رنگ تشخیص خون مخفی را با یک قطره ادرار می دهد.

II. هِم(خون) و مشتقات آن خاصیت پراکسیدازی دارند و H_2O_2 را به رادیکال آزاد OH تجزیه می کنند.

***وجود کتون در ادرار را با روترا(پودر پروسیانات سدیم) از طریق تغییر رنگ می سنجند**

I. کتون بادی ها شامل بتاهیدروکسی بوتیرات(78٪)،اسید استواستیک(20٪) و استون(2٪) می باشند که از بین آنها استون راحت تر وارد ادرار می شود.

II. در کتوز و دیابت ملیتوس استون زیاد دفع می شود.

جلسه 4

بیلی روبین توتال شامل:

1-بیلی روبین کونژوگه(الحاقی، محلول در آب، نامحلول در چربی، مستقیم) که با معرف دیازو می سنجیم.

2-بیلی روبین غیر کونژوگه(اگر تسریع کننده مثل الکل اضافه کنیم تبدیل به کونژوگه می شود).

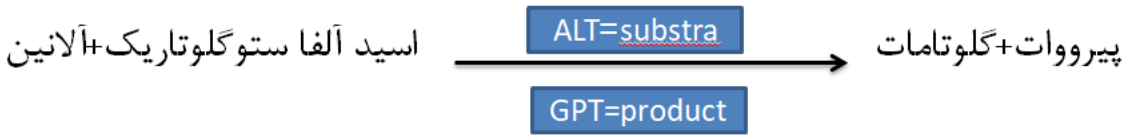
بیلی روبین با دو معرف سنجیده می شود: ابتدا 25 میکرولیتر تست و استاندارد (هر کدام جدا در لوله های مختلف) به همراه 1 سی سی محلول شماره 1 را 5 دقیقه در بنماری قرار داده و سپس 250 میکرولیتر معرف شماره 2 را در لوله ها ریخته و دوباره 5 دقیقه در بنماری نگه می داریم و سپس خوانش می کنیم.

اسید اوریک حاصل متابولیسم باز های پورینی و پیریمیدنی است و در انسان 2-6 mg/dl می باشد، بالای 6 به شکل اورات کلسیم در مفاصل تجمع پیدا می کند.

اسید اوریک تک معرفه است و 20 میکرولیتر از آن را با 1 سی سی محلول معرف به مدت 5 دقیقه در بنماری گذاشته و بعد خوانش می کنیم.

جلسه 5

اندازه گیری ALTو AST



اگزالواستات تبدیل به پیرووات و دی اکسید کربن می شود

درصد پیرووات را بر اساس کیت پیرووات می سنجیم

تقلای حیوان در هنگام خون گیری می تواند AST را بالا ببرد

معرف ها را به نسبت 1 به 4 مخلوط می کنیم

4 بار خوانش می کنیم و خوانش 1 را از 2، 2 را از3 و 3را از 4 کم کرده و میانگین اعداد حاصل را در عدد 1.985 ضرب می کنیم.

جلسه 6

❊کلسیم ارتباط با پروتئین سرم(آلبومین) دارد.

کلسیم آزاد در واکنش های انقباضی شرکت می کند.

افزایش پروتئین در مقدار کلسیم تأثیر دارد

❊فسفر به دو صورت معدنی(سرم) و آلی(فسفولیپید) وجود دارد

❊اثرات هورمون پاراتورمون(کلسی تونین عکس این هورمون عمل می کند):

I. کلسیم و فسفر را در استخوان ها تجزیه می کند
II. بازجذب کلسیم از کلیه و دفع فسفر از کلیه را زیاد می کند
III. به صورت غیر مستقیم بازجذب کلسیم از روده را زیاد می کند(سبب افزایش فعالیت آلفا 1 هیدروکسیلاز درکلیه می شود که در فرایند تولید ویتامین D نقش دارد).

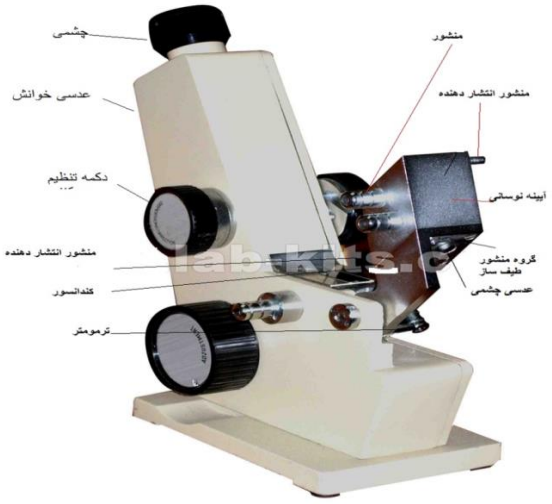
❊ALP :7 تا ایزوآنزیم دارد که استخوانی و کبدی(مجاری صفراوی) از بقیه مهم ترند.PH قلیایی است. در رشد و آبستنی زیاد می شود. اگر فعالیت پاراتورمون زیاد شود مقدار ALP افزایش می یابد.

جلسه 7

رفراکتومتر

رفراکتومتر یا رفرکتومتر به معنای شکست سنج، نوعی دستگاه آزمایشگاهی است که جهت شناسایی و تشخیص درجه خالص بودن مواد آزمایشگاهی به کار برده می شود. در واقع این دستگاه عملیات رفراکتومتری را با اندازه گیری ضریب شکست مواد (مایعات، جامدات و گازها) انجام می دهد.

عملکرد این دستگاه به گونه ای است که با عبور نور از یک مایع، میزان زاویه شکست نور (میزان تغییر مسیر نور هنگام عبور از مایع) را محاسبه کرده و سپس بعد از مرتبط سازی با شاخص های انکساری ((ND، ضریب شکست مواد و غلظت محلول ها را اندازه گیری می کند.



برای کار با این دستگاه لازم است که ۱ الی ۲ قطره از یک مایعی که ماده حل شده در آن موجود می باشد را برای اندازه گیری در ابتدا بر روی صفحه شیشه ای دستگاه بریزید و سپس پس از بستن درپوش، آن را در مقابل نور (مصنوعی یا طبیعی) قرار دهید. نحوه خواندن رفراکتومتر به این صورت

است که با نمایان شدن عدد بر روی دستگاه می توانید با کمک جداول بریکس و یا جداول حرارتی، عدد به دست آمده را تفسیر نمایید.

مراحل خوانش در رفراکتومتر

1-تنظیم پیچ بالا و ایجاد یک خطو محو دوخط

2-تنظیم پیچ پایین و ایجاد فضای نصف رنگی

3-خوانش شماره:بریکس(شماره بالا) و غلظت(شماره پایین)

❊آلبومین را به مقدار 10 میکرولیتر و پروتئین تام را 20 میکرولیتر در معرف های خود به مقدار 1 سی سی ریخته و به ترتیب 10 و 5 دقیقه در بنماری گذاشته و بعد خوانش می کنیم.

آلبومین و پروتئین تام تک معرفه هستند.

اسپکتروفتومتر

دکمه A-Z را هنگام گذاشتن بلانک در دستگاه می زنیم تا دستگاه جذب نوری معرف را حذف کند و بعد از آن برای لوله های استاندارد و تست از دکمه استارت استفاده می کنیم.