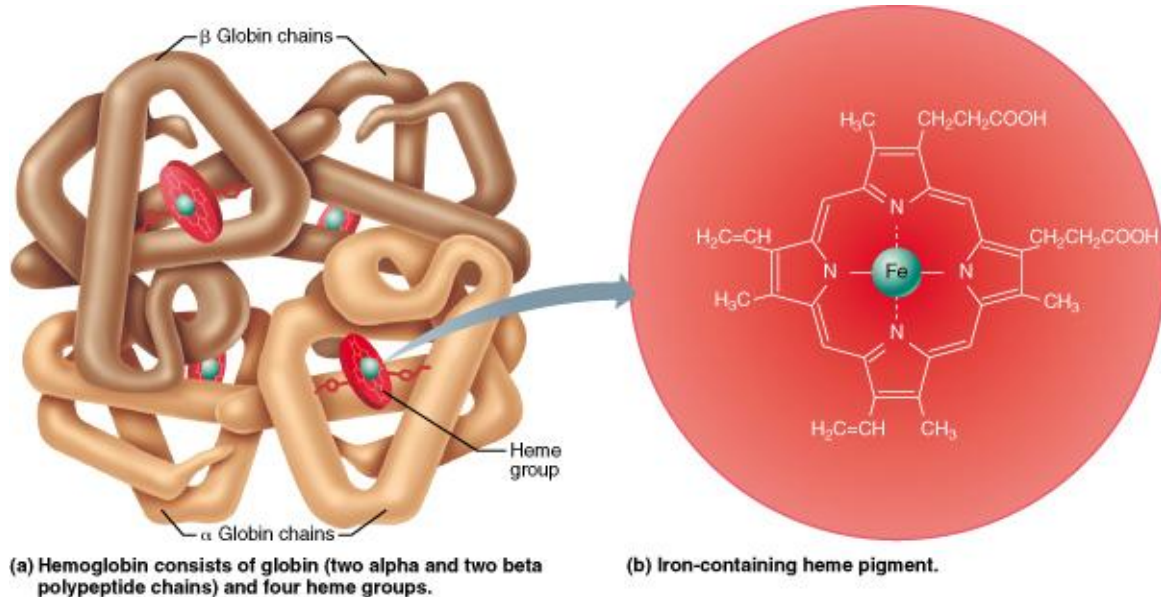




## هموگلوبین

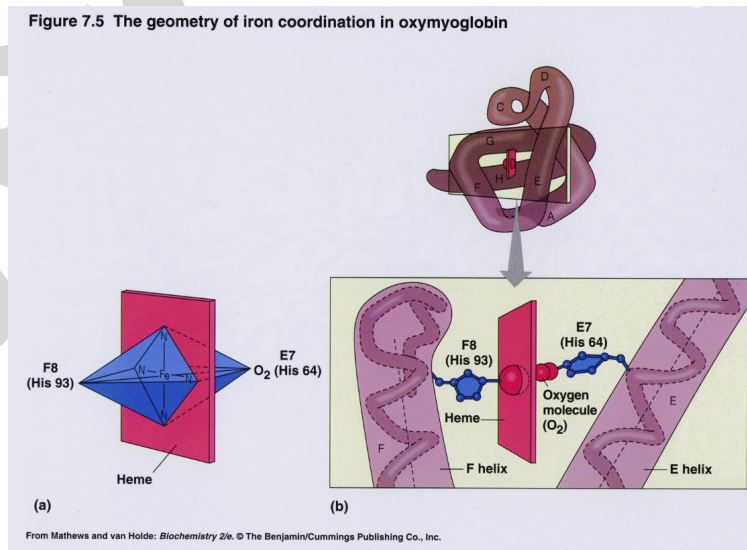
هموگلوبین را با نماد Hb نمایش می‌دهند، هموگلوبین ترکیب اصلی گویچه‌های قرمز یعنی RBC است و عامل مؤثری در حمل و نقل اکسیژن و دی‌اکسیدکربن می‌باشد.



یک مولکول همگلوبین تشکیل شده است از:

- گلوبین ← ۲ جفت زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی گلوبین (۲ جفت زنجیره = ۴ تا زنجیره)
- هم ← ۴ گروه هم که هر کدام حاوی یک اتم آهن دو ظرفیتی که فروس نام دارد می‌باشند.
- هر گروه هم با یکی از زنجیره‌های گلوبینی در یک چین یا پاکت قرار می‌گیرند و تشکیل همگلوبین را می‌دهند.
- هم به دلیل این که دارای آهن است نقش مهمی در نقل و انتقالات  $O_2$  و  $CO_2$  دارد که پیوند هم به  $O_2$  و  $CO_2$  برگشت پذیر می‌باشد.
- کار هموگلوبین این است که اکسیژن را از ریه‌ها به جایی ببرد که فشار اکسیژن در آن جا کم است مثل بافت‌ها.

Figure 7.5 The geometry of iron coordination in oxymyoglobin





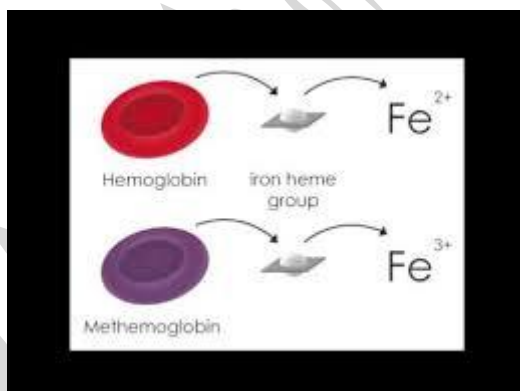
## کاربرد بالینی هموگلوبین:

در واقع برای تشخیص کم خونی به بررسی کاهش غلظت Hb، شمارشی اریتروسیت یا هماتوکرین به کمتر از میزان طبیعی در اقدام اولیه می پردازیم سپس آزمایشات تخصصی تر را انجام می دهیم.

## مشتقات هموگلوبین:

- اکسی هموگلوبین ← Hb<sub>20</sub>
- هموگلوبین احیا ← Hb
- همی گلوبین (مت هموگلوبین Hi) ← Hi
- سولف هموگلوبین ← SHb
- کربوکسی هموگلوبین ← HbCo
- هموگلوبین M ← HbM
- سیانوست هموگلوبین

## نکات همی گلوبین یا مت هموگلوبین Hi یا MHb:



- آهن موجود در این هموگلوبین Fe<sup>3+</sup> می باشد.
- آهن فریک موجب ناتوانی Hi در ترکیب برگشت پذیر با اکسیژن می شود.
- در این نوع از هموگلوبین یعنی Hi، زنجیره های پلی پپتیدی گلوبین تغییری پیدا نمی کند.
- وقتی که مقدار Hi از میزان مرجع آن یعنی ۱/۵٪ افزایش یابد موجب تغییر رنگ خون به قهوه ای شکلاتی و سپس سیانوز و کم خونی عملکردی می شود.
- درجه ی سیانوز لزوماً با غلظت Hi ارتباطی ندارد.
- درجات قابل مقایسه ای از سیانوز ممکن است با ۵ گرم Hb در دسی لیتر خون، ۱/۵ گرم Hi در دسی لیتر خون و ۰/۵ گرم SHb در دسی لیتر خون ایجاد می گردد.
- به طور نرمال حدوداً ۱/۵ g/dl (به عبارت دیگر ۱۰٪ از کل هموگلوبین) در بدن در حال تشکیل است که این Hi به واسطه ی سیستم های آنزیمی که درون RBC وجود دارد احیا می گردد و به HbO<sub>2</sub> تبدیل می شود و این گونه است که در فرد نرمال میزان Hi از مقدار مرجع خود افزایش پیدا نمی کند.

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است



- مهم‌ترین آنزیم‌هایی که موجب می‌شود که Hi برگشت‌پذیر شود و به  $HbO_2$  تبدیل شود شامل:
- سیستم مت‌هموگلوبین ردوکتاز وابسته به NADH (NADH - سیتوکروم  $b_5$  ردوکتاز) ← مهم‌ترین سیستم.
- اسید آسکوربیک ← سیستم ذخیره‌ای
- گلوکاتیون احیاء شده ← سیستم ذخیره‌ای
- NADPH مت‌هموگلوبین ردوکتاز ← سیستم ذخیره‌ای است و جهت فعال شدن به یک کوفاکتور طبیعی مثل متیلن بلو نیاز دارد.

## انواع Hi:

### ۱- ارثی:

#### ۱- کاهش توانایی RBC در احیای Hi:

علت: کمبود سیستم آنزیمی NADH سیتوکروم  $b_5$  ردوکتاز.  
نحوه‌ی ارث: اتوزومی مغلوب

۲- سیستم احیاء درون RBC طبیعی است ولی ساختار خود مولکول هموگلوبین، غیرطبیعی است.  
مکانیزم:

یک تغییر ژنتیکی مشخص در ترکیب اسید آمینه‌ی زنجیره‌های  $\alpha$  و  $\beta$  رخ می‌دهد که مولکول هموگلوبین ایجاد می‌کند به نام هموگلوبین M (HbM) که تمایل زیادی به اکسیده شدن دارد و قابلیت کمی در احیاء مت‌هموگلوبین دارد.  
علائم:

سیانوز (-) علائم ناشی از مت‌هموگلوبینمی  
واریانت‌های HbM ← ۷ واریانت دارد ← ۶ واریانت آن تیروزین جایگزین هیستیدین در حفره هم زنجیره‌ی پروگزیمال یا دیستال گلوبین.  
نحوه‌ی توارث ← اتوزومال غالب

### درمان:

در این افراد ضروری نیست.  
واریانت‌های HbM Bostong Saskatoon به صورت کاملاً احیاء شده تحت شرایط گردش خون باقی می‌مانند.

### ۲- اکتسابی:

اکثر موارد MHb یا Hi را تشکیل می‌دهد.  
علت: تماس با داروها و مواد شیمیایی که موجب افزایش تشکیل همی گلوبین می‌شود.  
داروهایی که مستقیماً  $HbO_2$  را به Hi تبدیل می‌نماید شامل: نیتريت‌ها، نیترات‌ها، کلرات‌ها و ؟؟؟؟  
داروهایی که غیرمستقیم  $HbO_2$  را به Hi تبدیل می‌نماید شامل: ترکیبات آمینو و نیتروآروماتیک، آستانیلیر، فناستین، سولفونامیدها و رنگ‌های آنیلین (مصرف زیاد سولفات آهن موجب Hi می‌گردد)

### درمان:

اسید آسکوربیک یا ترکیبات سولفیدریل مثل گلوکاتیون و سیتئین و همچنین متیلن بلو.  
\* متیلن بلو برای درمان همی گلوبین اکتسابی و ارثی از نوع کمبود فعالیت سیستم آنزیمی NADH سیتوکروم  $b_5$  ردوکتاز.

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است



## نکات سولف هموگلوبین:



• در طی همولیز اکسیداتیو می‌گردد.

• اکسیداسیون در SHb، ۲ با صورت می‌گیرد. در مرحله‌ی اول هموگلوبین اکسید می‌ود و سولفور به داخل حلقه‌های هم در هموگلوبین وارد می‌شود و یک هموکروم سبز را ایجاد می‌کند و در مرحله‌ی دوم یا مجدد اکسیداسیون موجب دناتور شدن و رسوب هموگلوبین به شکل اجسام‌ها نیز می‌شود.

• SHb توانایی حمل اکسیژن را ندارد و فرقی با Hi در این است که در Hi پیوندی برگشت‌پذیر دارد و می‌تواند به  $HbO_2$  احیاء شود ولی SHb نمی‌تواند مسیر برگشت را طی کند و به  $HbO_2$  تبدیل شود زمانی که SHb تشکیل شد دیگر راه برگشتی وجود ندارد.

• SHb می‌تواند با مونوکسیدکربن (CO) جهت شکل‌گیری کربوکسی سولف هموگلوبین ترکیب شود.

• SHb در افرادی که: ۱- تحت درمان با سولفونامیدها یا داروهای آمین آروماتیک مثل فناسیتین و استانیلید می‌باشند رخ می‌دهد. ۲- در افراد دارای یبوست شدید. ۳- افرادی که دچار باکتری می‌نشای از کلستریدیوم پرفرینجنس و سیانوز روده‌ای گشته‌اند.

## نکات کربوکسی هموگلوبین HbCO:

میزان تولید نرمال کربوکسی هموگلوبین در بدن ناشی از مونواکسید کربنی است که درون بدن تولید می‌شود که این CO در نتیجه‌ی تجزیه‌ی هم به بیلی‌روبین تولید می‌گردد. ولی در یک سری از شرایط و بیماری‌ها میزان تولید HbCO از حد نرمال فراتر می‌رود که شامل:

- کم‌خونی‌های همولیتیک
- مسمومیت حاد با مونوکسید کربن

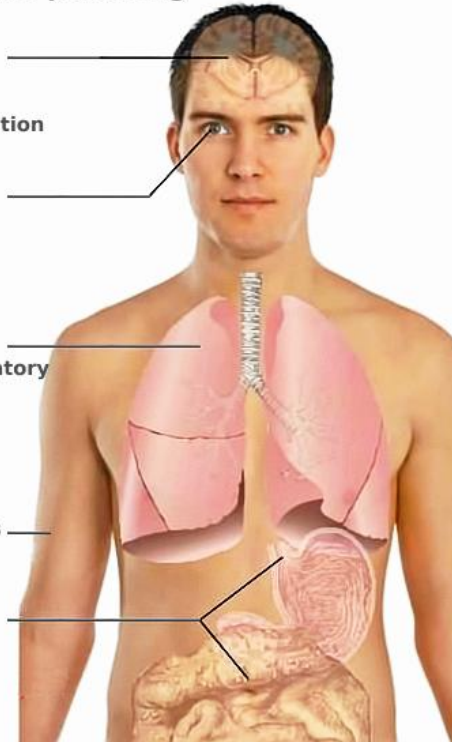
هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است



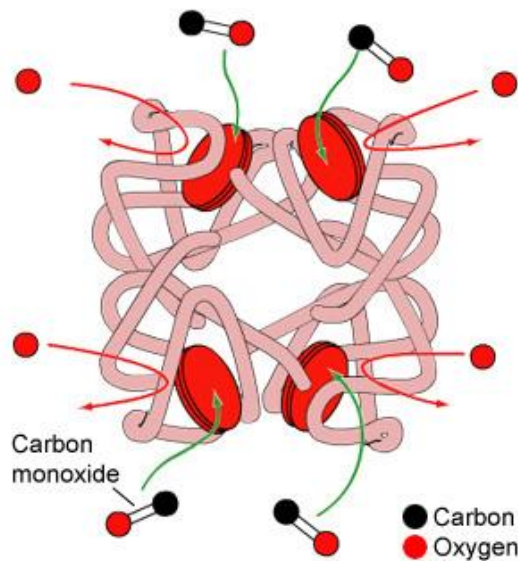
- منابع عمده‌ی گاز CO شامل موتورهای گازوئیلی، گاز روشنایی، بخاری‌های گازی، کوره‌های ناقص.
- استعمال دخانیات

## Symptoms of Carbon monoxide poisoning

- Dizziness
- Headache
- Disorientation
- Impairment of the cerebral function
- Coma
- Visual disturbances
- Disease of the heart and respiratory
- Muscle weakness
- Muscle cramps
- Seizures
- Nausea
- Aggravation of preexisting diseases



همان‌طور که می‌دانید میزان میل ترکیبی Hb در ترکیب با مونواکسید کربن ۲۱۰ برابر بیشتر از ترکیب شدن با اکسیژن است. به همین دلیل حتی اگر غلظت مونواکسید کربن در هوا کم هم باشد همین مقدار کم هم باعث تشکیل HbCO می‌گردد و از ترکیب شدن  $O_2$  با Hb جلوگیری می‌کند و مسمومیت مزمن با HbCO شروع می‌شود.



هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است





مسمومیت مزمن در نتیجه‌ی تماس طولانی مدت با مقادیر کم مونواکسیدکربن رخ می‌دهد مثل افسرهای پلیس راهنمایی و رانندگی. زمانی که HbCO به میزان انبوهی ساخته شد آن وقت علائم آشکار مسمومیت ظاهر می‌گردد و نشانه‌ها و علائم آشکاری از قبیل سردرد، گیجی، ضعف عضلانی و تهوع را نشان می‌دهد. افزایش غلظت HbO<sub>2</sub> منحنی تفکیک Hb - اکسیژن را به سمت چپ منحرف می‌کند و در نتیجه آنوکسی را افزایش می‌دهد.

## همی‌گلوبین سیانید یا سیان مت‌هموگلوبین یا HiCN:

روش آسان و در دسترس برای تشخیص سنجش غلظت هموگلوبین می‌باشد.



## روش هموگلوبین سیانید HiCN:

ابتدا باید محلول‌هایی را در اختیار داشته باشیم که ابتدا باعث تشکیل و تبدیل HbO<sub>2</sub> به Hi شود و در درجه‌ی بعد باعث تشکیل CN و ترکیب شدن آن با Hi و ایجاد ترکیب HiCN کند.

## محلول‌های موردنیاز و کاربردشان:

- ۱ - فری سیانید پتاسیم ← Hb را به Hi تبدیل می‌نماید (آهن فرس را به فریک تبدیل می‌کند)
- ۲ - سیانید پتاسیم ← باعث تشکیل یون‌های سیانید و شکل‌گیری HiCN می‌گردد.
- ۳ - درابکین تشکیل شده است از فری سیانید پتاسیم، سیانید پتاسیم، دی‌هیدروژن پتاسیم فسفات بی‌آب، استروکس SE، تریون X-100، آب مقطر.

## نکات آزمایش HiCN:

- ۱ - محلول درابکین را در محلول فری سیانید پتاسیم و سیانید پتاسیم رقیق کنید.
- ۲ - جذب محلول مورد آزمایش را در طول موج ۵۴۰ نانومتر متوسط اسپکتروفتومتر سنجش کنید و سپس با جذب محلول استاندارد HiCN مقایسه کنید.
- ۳ - آب به عنوان محلول بلانک سنجش شود و عدد صفر را نشان دهد.
- ۴ - در این آزمایش با جایگزین کردن دی‌هیدروژن پتاسیم فسفات در محلول واکنش‌گر به جای بی‌کربنات سدیم باعث می‌شود که زمان لازم جهت تبدیل کامل Hb به HiCN از ۱۰ دقیقه به ۳ دقیقه کاهش یابد.



- ۵ - در این آزمایش از دترجنت‌ها هم مثل استروکس SE یا ترتیون X-100 هم استفاده می‌شود چون باعث می‌شوند که تخریب گویچه‌های قرمز افزایش یابد و کدورت ناشی از رسوب پروتئین‌ها را هم می‌کند.
- ۶ - در تهیه‌ی محلول درابکین باید دقت لازم را در مورد پتاسیم سیانید یا KCN انجام داد چون سیانید سمی است.
- ۷ - محلول درابکین، محلولی معرف است که برای سنجش هموگلوبین به روش HiCN به کار می‌رود. این محلول شفاف و زرد کم رنگ است و دارای PH بین ۷ تا ۷/۴ می‌باشد.
- ۸ - محلول درابکین را در داخل بطری تیره و درهای اتاق نگهداری کنید و در پایان کار آن را در آب جاری دستشویی رها کنید و برای آزمایش بعد محلول تازه‌ای تهیه کنید.
- ۹ - مزیت روش HiCN این است که اکثر اشکال هموگلوبین به جز SHb توسط این روش اندازه‌گیری می‌شود.
- ۱۰ - درابکین به مدت یک ماه پایدار بوده و محلول کاری باید روزانه تهیه شود و باقی مانده‌ی محلول را روزانه باید دور ریخت.
- ۱۱ - محلول درابکین زمانی که توسط فتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر و در مقابل بلانکی مثل آب سنجیده می‌شود عدد صفر را نشان می‌دهد.

## نتایج پس از انجام آزمایش HiCN:

افزایش جذب نوری همیشه مرتبط با هموگلوبین و غلظت هموگلوبین نیست بلکه خطاهایی از قبیل:

- کدورت ناشی از پروتئین‌های غیرطبیعی پلاسما
- همپرلیمی
- تعداد زیاد نکوسیت‌ها
- قطرات چربی

هر کدام از موارد بالا ممکن است موجب افزایش پراکندگی و جذب آشکار نور گردند

## هماتوکریت:

تعریف هماتوکریت: نسبت حجم گویچه‌های قرمز به کل حجم خون (پلاسما + بافی کوت + پلاکت) را هماتوکریت می‌گویند.

واحد هماتوکریت: واحد و روش مرسوم ← درصد می‌باشد. مورد پذیرش SI ← کسر اعشاری L/L

ضدانعقاد‌های مورد استفاده: هیپارین خشک، EDTA

انواع EDTA شامل:

- $K_3 - EDTA$  ← RBC را در حدود ۲٪ مجاله می‌کند و حجم سلول متراکم را پایین تر می‌آورد.  
K<sub>3</sub> به صورت مایع می‌باشد و شمارش RBC و WBC را ۱-۲٪ کاهش می‌دهد.  
بیش‌تر در بین عموم کاربرد دارد به دلیل مایع بودن و افزایش قابلیت مخلوش شدن و کمتر لخته شدن نمونه.
- $K_2 - EDTA$  ← مورد تأیید ICSH و NCCLS  
به صورت پودر می‌باشد.

## تفسیر نتایج هماتوکریت:

مقدار نرمال Hct:

• در مردان ← 0/41L - 0/5L

• در زنان ← 0/36L - 0/45L



اگر از مقادیر گفته شده برای Hct، برحسب سن و جنس از مقادیر معین شده و نرمال بالا بود احتمالاً فرد دچار پلی‌سایتمی می‌باشد و اگر مقادیر Hct برحسب سن و جنس پایین بود احتمالاً فرد دچار کم‌خونی می‌باشد.



- هماتوکریت انعکاسی از غلظت گویچه‌های قرمز است نه تعداد کل گویچه‌های قرمز. به طور مثال در شوک همراه با تغلیظ خون، هماتوکریت فرد به دلیل غلظت خون طبیعی و یا افزایش یافته است ولی تعداد کل گویچه‌های قرمز به دلیل از دست دادن خون کاهش می‌یابد.
- گرفتن تست هماتوکریت بلافاصله بعد از خونریزی و یا به دنبال اهدای خون غیرقابل اعتماد است.
- هماتوریت را می‌توان به ۲ صورت به دست آورد:
- مستقیم ← با سانتریفیوژ
- غیر مستقیم ←  $Hct = MCV \times RBC$  (به روش اتوماتیک)

نکته:

اندکس‌های وینتروبی به روش دیگری هم توسط دستگاه‌های امپدانس الکتریکی محاسبه می‌شود که شیوه‌ای متفاوت می‌باشد در این دستگاه‌ها، MCV را از میانگین ارتفاع پالس‌های ولتاژ که در حین شمارش گویچه‌های قرمز شکل گرفته‌اند به دست می‌آید و هموگلوبین را توسط HiCN محاسبه می‌کنند.

$$Hct = MCV \times RBC \quad Hb \rightarrow HiCN \quad MCV = \text{میانگین ارتفاع پالس‌ها}$$

$$MCH = \frac{Hb}{RBC} \quad MCHC = \frac{Hb}{Hct} \times 100$$

نکته:

- ↓ MCV
- ↓ MCH
- ↓ MCHC

در آنمی‌های میکروسیتیک: ←





نکته:

$\uparrow$  MCV  
 $\uparrow$  MCH  
 MCHC  
 در آنمی‌های ماکروسیتیک: ←

نرمال و یا پایین

$\uparrow$  MCV  
 $\leftarrow$  MCH  
 $\uparrow$  MCHC  
 استثناء تنها در آنمی اسفروسیتوز: ←  
 طبیعی

شمارش دستی سلول‌های خونی

هر روش شمارشی سلول‌های خونی شامل ۳ مرحله است:

- رقیق کردن خون
- نمونه‌برداری از سوسپانسیون رقیق شده در یک حجم مشخص
- شمارش سلول‌ها در همان حجم

شمارش اریتروسیت‌ها

رقیق‌کننده‌ی نیمه اتوماتیک (نیمه خودکار) که به جای روش‌های دستی به کار گرفته می‌شود این قابلیت را دارند که آسان و دقیق نمونه‌ها را رقیق کنند و هم این که نمونه را آسپیره نمایند و هم آن را با محلول رقیق‌کننده رقیق نمایند. رقیق‌کننده باید رقت‌های

$\frac{1}{250}$  یا  $\frac{1}{500}$  را با ضریب تغییرات CV کمتر از ۱٪ را مهیا نماید.

کاربرد مایع رقیق‌کننده در شمارش دستی لکوسیت

در این شمارش مایع رقیق‌کننده به وسیله‌ی متلاشی کردن اریتروسیت‌ها مانع از پوشیده شدن لکوسیت‌ها توسط آن‌ها می‌شود. مایع رقیق‌کننده را باید در یخچال نگهداری کرد و برای این که در این مدت آلودگی پیدا نکند باید مرتباً برای برداشتن مخمرها و کپک‌ها آن را از صافی بگذرانیم.

در شمارش دستی لکوسیت‌ها خوب به نسبت ۱/۲۰ رقیق می‌شود ولی در شرایط لکوپنی به میزان ۱/۱۰ و در لکوسیتوز به نسبت ۱/۱۰۰ و یا ۱/۲۰۰ رقیق می‌شود.

شمارش دستی پلاکت‌ها

• مقادیر مرجع برای شمارش پلاکت  $150 - 400 \times 10^9 / L$

• میانگین حجم پلاکتی را با اندکسی به نام MPV نمایش می‌دهند که مقادیر مرجع MPV در بزرگسالان حدود 6/5 - 12fL می‌باشد.

نکته:

MPV معادل MCV است تنها تفاوت این است که MPV برای حجم متوسط پلاکت سنجیده می‌شود. ولی MCV برای حجم متوسط گلبول قرمز سنجیده می‌شود

• محلول رقیق‌کننده برای شمارش پلاکت اگزالات آمونیوم ۱٪ مخلوط با آب مقطر.



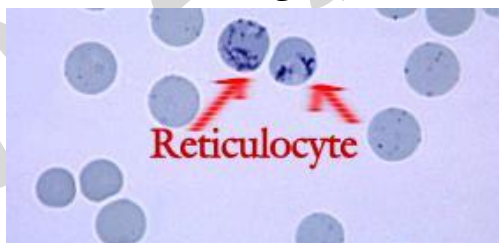
- شرایط نگهداری محلول رقیق کننده در داخل بطری و در یخچال نگهداری شود و مقدار مورد نیاز روزانه را قبل از مصرف کردن از صافی بگذرانید و قسمت مصرف شده را در انتهای روز دور بریزید.
- ضد انعقاد مورد استفاده EDTA
- میزان تغییرات MPV بر حسب زمان:
- در ساعات اولیه افزایش می‌یابد.
- بین ۱-۳ ساعت MPV ثابت می‌ماند.
- بعد از ۳ ساعت مجدد شروع به افزایش می‌کند.
- علت این افزایش حجم MPV در نمونه‌ی حاوی EDTA در مقایسه با خون دارای سیترات این است که در خون حاوی EDTA تغییر شکل پلاکتی از حالت دیسکوئیدی به حالت کروی را شاهد هستیم.
- اندازه‌گیری پلاکت و حجم پلاکتی باید توسط دستگاه‌های چندکاناله طی ۱-۳ ساعت پس از خون‌گیری انجام شود.
- توزیع فراوانی حجم پلاکت در یک فرد به صورت لگاریتم طبیعی می‌باشد.
- در افراد نرمال و طبیعی همیشه یک رابطه‌ی معکوس و غیرخطی بین MPV و شمارش پلاکت‌ها وجود دارد

## پلاکت‌های رتیکوله

- پلاکت‌ها رتیکوله‌ی پلاکت‌هایی هستند که به تازگی در گردش خون رها شده‌اند و دارای بقایای RNA می‌باشند. پلاکت رتیکوله معادل آن با رتیکولوسیت (گویچه‌های قرمز نابالغی است که دارای بقایای RNA است و به تازگی وارد گردش خون شده‌اند. شمارش پلاکت‌های رتیکوله شاخصی از ترومبوپوئز یعنی فعالیت پلاکت‌سازی (plt) می‌باشد مثلاً در ITP یا پورپورای ترومبوسیتوپنیک ایدیوپاتیک و پرکاری تیروئید میزان پلاکت‌های رتیکولیه افزایش می‌یابد

## شمارش رتیکولوسیت

- رتیکولوسیت معیاری از فعالیت RBC سازی یا اریتروپوئز می‌باشد.



## شمارش الکترونیکی

- مزایای روش شمارش الکترونیکی نسبت به روش دستی:

- قیمت نسبتاً ارزان
- صرف زمان کم‌تر، هم برای انجام کار و هم برای گرفتن نتایج
- افزایش صحت آنالیز رهای خودکار
- سرعت عملکرد
- حذف خستگی تکنسین
- افزایش دقت