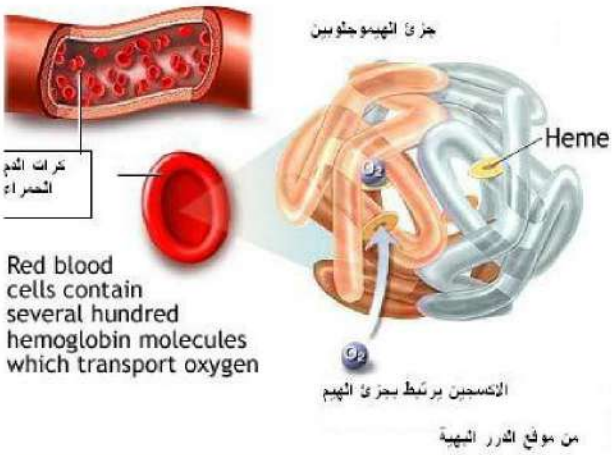
جامعة تكريت
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

علم الـــدم / العملي

المرحلة الثالثة
Lab.8
عبير امين مصطفى
ايه سعد ياسين
انس ياسين



صورة الدم الكاملة Complete Blood Count

الهيموجلوبين Hemoglobin

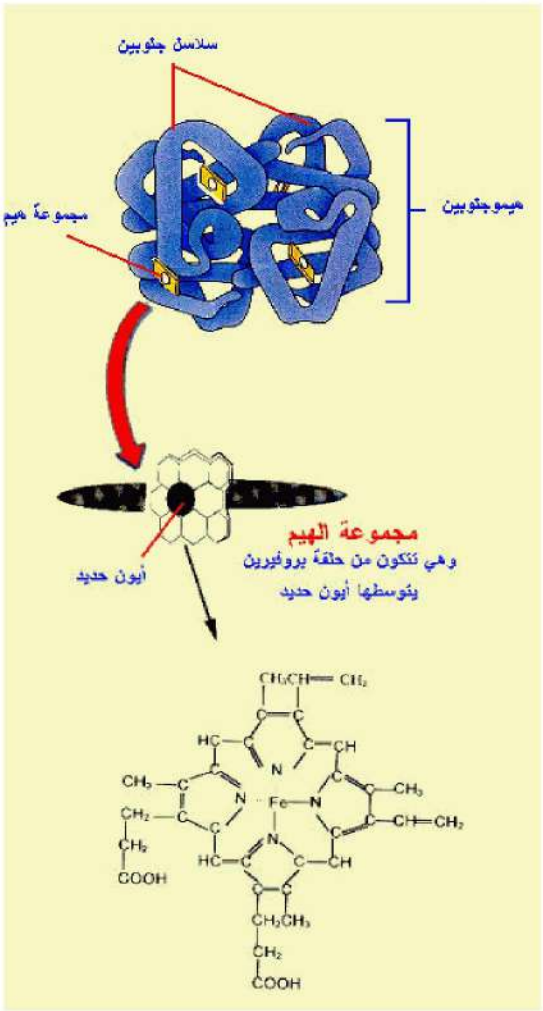
هيم تعني دموي وهي المادة الملونة لكرات الدم الحمراء وبها عنصر الحديد ، و جلوبين تعني بروتين الدم وهو مكون من سلسلة أحماض امينية ألفا و بيتا كما في الشكل المقابل

الهيموجلوبين هى المادة الناقلة للأكسجين والصابغة لخلايا الدم الحمراء. كما أنها عنصر أساسي في إمداد خلايا الدم الحمراء

يقوم الهيموجلوبين بدور تفاعل عكسي مع الأكسجين، أي عندما يقوم بنقل الأكسجين يسمي هيموجلوبين مؤكسد وهو نوع الهيموجلوبين الذي يحتوي علي أكسجين ويكون لونه أحمر داكن، وعندما يكون حاملاً لأول أكسيد الكربون يسمى هيموجلوبين غير مؤكسد ويكون لونه أزرق محمر.

عندما تموت خلايا الدم الحمراء، يخرج الهيموجلوبين من هذه الخلايا وينتقل الحديد من الهيموجلوبين إلي لب العظام بواسطة بروتين يسمي ترانسفيرن ويستخدم مرة أخري في إنتاج خلايا الدم الحمراء

اما باقي الهيموجلوبين فيتحول إلي مادة كيميائية تسمي بيليروبين التي تفرز العصارة الصفراوية ومنها إلى الأمعاء لتساعد في الهضم



- أنواع هيموجلوبين دم الانسان الطبيعي :

١- هيموجلوبين A : ويشكل ٩٦ - ٩٨ % من هيموجلوبين دم الانسان الطبيعي ، ويتكون من سلسلتين من الفا وسلسلتين من بيتا
٢- هيموجلوبين A2 : ويشكل من ١،٥ - ٣،٥ % من هيموجلوبين دم الانسان الطبيعي ، ويتكون من سلسلتين الفا وسلسلتين دلتا
٣- هيموجلوبين F : ويشكل اقل من ٢% من هيموجلوبين دم الانسان ويعرف ب (الهيموجلوبين الجنيني) حيث تكون نسبته عاليه في هيموجلوبين الاجنة ، ويتكون من سلسلتين الفا وسلسلتين جاما

<u>انواع الهيموجلوبين الغير طبيعي :</u>

يوجد العديد من انواع الهيموجلوبين غير الطبيعي اهمها :
هيموجلوبين (C , J , E ، Hb S , H , D) والتي يكون سبب وجودها عادة مرض وراثي .
فمثلا هيموجلوبين (HbS) يختلف في تركيبه حيث يحل في سلسلة بيتا الحمض الاميني الفالين بدلا من الحمض الاميني الجلوتامين .
هذا النوع من الهيموجلوبين يجعل الكرية الحمراء سهلة الانحلال ويعطيها شكل المنجل لهذا تسمى كريات الدم المنجلية ، ويسمى بفقر الدم المنجلي
كما ان ارتفاع الهيموجلوبين (F) في البالغين عن المعدل الطبيعي له يسبب مرض انيميا البحر المتوسط (Thalassemia) حيث تزداد شدة هذا المرض بزيادة نسبة الهيموجلوبين (F) عن المعدل الطبيعي نفسه

١- تقدير نسبه الهيموجلوبين في الدم

أ - طريقة جهاز ساهلي : Sahli HAEMOMETER

تعتمد هذه الطريقة علي مقارنة الألوان وفيها يتحول الهيموجلوبين بواسطة حمض الهيدروكلوريك إلى هيماتين حمضي ويتكون هذا الجهاز من ثلاثة أنابيب – اثنتان ملونتان والثالثة(التي توجد بالمنتصف) تستعمل لأجراء الاختبار وهذه مدرجه لكي تعطي قراؤة الهيموجلوبين بطريقتين :
اما بالنسبة المئوية (%) أو بالجرام (جم)

كيفية العمل :

١. يؤخذ دم من الإصبع بواسطة ماصة الهيموجلوبين حتى العلامة (٠,٠٢ ملل]).

٢. تمسح الماصة من الخارج حتى لا يعلق بها أي دم زائد.

٣. توضع هذه الكمية من الدم في أنبوبة جهاز ساهلي موضوع بها حمض هيدروكلوريك مخفف (١٠/١) حتى العلامة ٢٠%.

٤. ترج الأنبوبـــة جيدا وتترك لمدة ١٠ دقائق حتى يتحول الهيموجلوبين إلى أحد مشتقاته الملونة.

٥. لاحظ اللون بعد ذلك: لو كان الناتج اغمق من لون الأنابيب الأخري ضع بواسطة ماصة باستير حمض هيدروكلوريك المخفف بالتدريج نقطة نقطة حتى يصبح اللون مماثلا في الأنابيب الثلاثة.

٦. اكتب قراءة الهيموجلوبين بواسطة التدريجيين الموجودين علي الأنبوبة (جم%) وبالنسبة المئوية.

ب - تقدير الهيموجلوبين بطريقة الدرابكن : Method Drabkin

تقدر كمية الهيموجلوبين بقياس اللون الناتج عن اتحاده بالسيانيد بجهاز قياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer)

الفكرة :
potassium ferricyanide and potassium cyanide
يعمل على تحليل RBC والهيموجلوبين يتأكسد Oxidation بواسطة ferricyanide إلى methemoglobin الذي له خاصية الرجوع إلى أصله لذا يتحول إلى stable
haemoglobincyanide HICN بواسطة Cyanide ثم يتم أمتصاص الطول الموجي له بواسطة جهاز الطيف الضوئي على طول موجي ٥٤٠nm

ويجب ان يكون لون محلول التخفيف اصفر باهتا رائقا يعطي درجة امتصاص صفر عند قراءته علي جهاز القياس الطيفي عند طول موجي ٥٤٠ نانوميتر باستعمال الماء المقطر (Blank)

تنتج الشركات كاشف لتقدير الهيموجلوبين بطريقة السيانيد يتم تخفيفه باتباع إرشادات الشركة المنتجة.
يحفظ محلول التخفيف في زجاجة بنية اللون لعدة شهور في درجة حرارة الغرفة.

كيفية العمل :

١. يوضع ٥ مل محلول درا بكين + ٢٠ ميكروليتر (٢٠ul) دم باستخدام ماصة أوتوماتيكية (أو ماصة الهيموجلوبين) .

٢. ترج الأنبوبة تم تترك لمدة ٣ – ٥ دقائق حتي يتم التفاعل .

٣. يقرا علي طول موجي ٥٤٠ نانوميتر بعد ضبط صفر الجهاز باستخدام محلول درابكين .

٤. تقرأ عينة قياسية (Standard) علي

الحساب : تركيز الهيموجلوبين _ بالجرام / ١٠٠ مليلتر) =

درجة امتصاص الاختبار X تركيز المحلول القياسي X معامل التخفيف على درجة امتصاص القياسي ١٠٠

ملحوظة : هناك بعض الكواشف يمكن قراءة نسبة الهيموجلوبين من جدول مرفق بالكاشف أو بعملية حسابية بسيطة وذلك في حالة عدم وجود المحلول القياسي.

طريقة أعداد منحني قياسي وجدول قياسي :

تعمل تخفيفات متتالية من المحلول القياسي Standard المعروف درجة تركيزه كآلاتي : ٢:١ و ٣:١ و ٤:١ و ٥:١وتقرا هذه التخفيفات بعد ضبط صفر الجهاز بمحلول درابكين.

يرسم منحني بياني تقدير الهيموجلوبين بالجرام / لتر في كل قراءة ومنه يمكن عمل جدول قياسي لكافة القراءات وينصح بقياس المحلول القياسي عند تغيير الكاشف أو اجراء صيانة للجهاز.

المعدل المرجعي :

الفئة	النسبة بالجرام
الرجال	١٣ –١٨ جم %
السيدات	١١,٥ – ١٦,٥ جم %
أطفال (حديث الولادة)	١٦,٥ – ١٩,٥ جم %
أطفال (ثلاثة شهور)	٩,٥ – ١٣,٥ جم %
أطفال السنة الأولى	١,٠٥ – ١٣,٥ جم %
أطفال السنة الأولى	١,٠٥ – ١٣,٥ جم %
أطفال ٣ – ٦ سنوات	١٢ –١٤ جم %
أطفال ١٠ – ١٢ سنة	١١,٥ - ١٤,٥ جم %
سيدات حوامل	لا يقل عن ١١ جم %

جـ • قياس نسبة الهيماتوكريت HCT .. PCV .. Packed Cell Volume /Haematocrit HT or crit

- تعني كلمة هيماتوكريت باللاتينية فصل الدم وهو عبارة عن حجم كمية من كريات الدم الحمراء بعد عملية الطرد المركزي لها معبراً عنه بالنسبة المئوية لحجم الدم الكلي ، ويعتبر الهيماتوكريت ليس مكون من مكونات الدم مثل كريات الدم الحمراء أو الهيموجلوبين. ويعد تحديد الهيماتوكريت من أكثر الفحوص الدموية استعمالاً وفائدةً لتشخيص فقر الدم

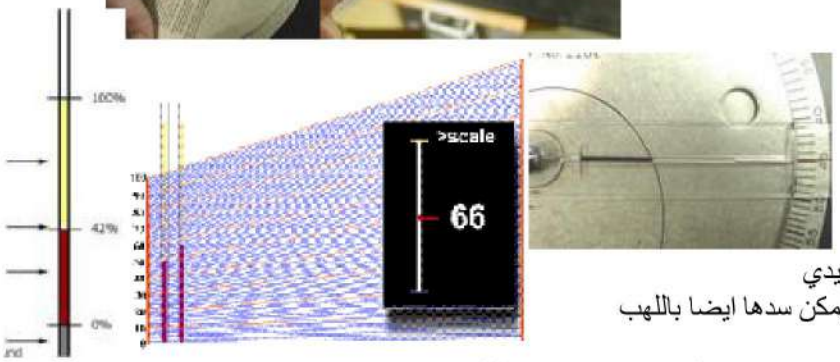
- للهيماتوكريت علاقة كبيرة بنتائج كريات الدم الحمراء والهيموجلوبين.
- قيمة الهيماتوكريت تستعمل أيضاً في تحديد بعض مؤشرات كريات الدم الحمراء مثل (MCV / MCHC).

* زيادة معدل الهيماتوكريت مؤشر على كل من:
١- احمرار الدم .. Polycythaemia.
٢- امراض القلب .. Heart disease / وأمراض الرئة .. Lung disease.
٣- حالات الجفاف Dehyadration.
٤- حالات الحروق .. Burns.

* انخفاض معدل الهيماتوكريت مؤشر على (فقر الدم / الحمل / سرطان الدم).

- طريقة حساب الهيماتوكريت

١. طريقة الانابيب الشعرية



تستخدم انابيب هيماتوكريت الشعرية الموجود بها مسبقا مادة مانعة للتجلط حيث طول الانبوبة ٧٥مم وقطرها ١مم
يؤخذ الدم الشعري من اطراف الاصابع حيث يرتفع فيها الدم بالخاصية الشعرية و يكفي ٤/٣ من حجم الانبوبة و من الممكن استخدام الدم الوريدي
تسد الانبوبة الشعرية بالصلصال من جهة الدم ويمكن سدها ايضا باللهب الهادئ مع التدوير
توضع في جهاز الطرد المركزي المخصص لذلك وتدار بسرعة ١٠٠٠٠ دورة\دقيقة لمدة ٥ دقائق
تحسب نسبة الهيماتوكريت = طول عمود الكريات x١٠٠ \ طول عمود الدم
او عن طريق قرص الهيماتوكريت او بالرسم البياني كما في الصور

٢. يمكن استخدام انابيب وينتروب wintrobe tube لحساب الهيماتوكريت

وذلك بملئها حتى العلامة ١٠٠ ثم تدار في جهاز الطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة \الدقيقة لمدة نصف ساعة ثم تقرأ النتيجة من على التدريج الموجود على الانبوبة والخاص بالهيماتوكريت بخلاف التدريج المعكوس الخاص بسرعة الترسيب ESR

٣. الطريقة الحسابية وهي الطريقة المتبعة في الاجهزة الالية
وذلك بمعلومية الهيموجلوبين وبضربه في ٣ يكون الهيماتوكريت وللدقة نستخدم المعادلة التالية مع العلم ان اختلاف الوحدات قد يعطي نتائج متفاوتة كما في الجدول التالي

Hb concentration (g/dL)	Conversion equation	Hct %	Reference
15*	Hct (%) = (0.0485 × *c*tHb (mmol/L) + 0.0083) × 100	45.98	[2]
15	Hct (%) = 2.8 × *c*tHb (g/dL) + 0.8	42.80	[13]
15	Hct (%) = *c*tHb (g/dL) / 0.34	44.12	[16]
15	Hct (%) = 2.941 × *c*tHb (g/dL)	44.12	[14,15]

*تركيز الهيموجلوبين *c*tHb , الهيماتوكريت Hct

*هذه الطريقة دقيقة في الحالات الطبيعية فقط

- ايضا يمكن حساب الهيماتوكريت بمعلومية متوسط حجم الكرية Mean Cell Volume .. MCV
طبقا للمعادلة التالية : في الاجهزة الالية

MCV = Hct (%) x 10 / RBC (in millions / cu.mm.)

10 \ RBC (in millions / cu.mm.) x MCV = Hct (%) ومنها يكون

$$\text{Hct (\%)} = \text{MCV} \times \text{RBC} \times 0.1$$

$$\text{Hct (\%)} = \frac{\textit{c}\text{tHb}}{\text{MCHC}} \times 100$$

- المقادير الطبيعية للهيماتوكريت كمايلي :

عند الرجال: ٤٠-٥٤%.
عند النساء: ٣٧-٤٧%.
عند الأطفال: ٣٦-٤٤%.
وينخفض الهيماتوكريت عند وجود نقص في عدد الكريات الحمر بسبب ضياعها أو نقص إنتاجها أو فرط تخربها، كما أن الزيادة في حجم البلازما دون الزيادة في عدد الكريات الحمر يقود إلى نقص هذه النسبة التي تزداد في كثرة الكريات الحمر الحقيقية أو الثانوية.

د. تقدير نسبة الهيموغلوبين عن طريق الترحيل الكهربائي Haemoglobin electrophoresis