التحاليل المعملية وتفسيراتها

دكتور
سمير عطاليه محمد زعقوق



الدار العربية للنشر والتوزيع

التحاليل المعملية وتفسيراتها

دكتور

سمير عطيه محمد زعقوق

أستاذ الفسيولوجى

جامعة الأزهر

مدينة نصر - القاهرة

رقم التصنيف
٥٦١٫٥٦٩
ز٥٦١

١٤٢٧ هـ - ٢٠٠٦ م

مقدمة الناشر

يتزايد الاهتمام باللغة العربية فى بلادنا يوماً بعد يوم. ولا شك أنه فى الغد القريب ستستعيد اللغة العربية هيبتها التى طالما امتهنت واذلت من أبنائها وغير أبنائها. ولا ريب فى أن امتهان لغة أية أمة من الأمم هو إذلال ثقافى فكرى للأمة نفسها، الأمر الذى يتطلب تضافر جهود أبناء الأمة رجالاً ونساءً طلاباً وطالبات، علماء ومثقفين مفكرين وسياسيين فى سبيل جعل لغة العروبة تحتل مكانتها اللائقة التى اعترف المجتمع الدولى بها لغة عمل فى منظمة الأمم المتحدة ومؤسساتها فى أنحاء العالم لأنها لغة أمة ذات حضارة عريقة استوعبت – فيما مضى– علوم الأمم الأخرى وصهرتها فى بوتقتها اللغوية والفكرية، فكانت لغة العلوم والأدب، ولغة الفكر والكتابة والمخاطبة.

إن الفضل فى التقدم العلمى الذى تنعم به أوروبا اليوم يرجع فى واقعه إلى الصحوة العلمية فى الترجمة التى عاشتها فى القرون الوسطى. فقد كانت المرجع الوحيد للعلوم الطبية والعلمية والاجتماعية هو الكتب المترجمة عن اللغة العربية لابن سينا وابن الهيثم والفارابى وابن خلدون وغيرهم من عمالقة العرب، ولم ينكر الأوروبيون ذلك، بل يسجل تاريخهم ما ترجموه عن حضارة الفراعنة والعرب والإغريق، وهذا يشهد بأن اللغة العربية كانت مطواعة للعلوم والتدريس والتأليف، وأنها قادرة على التعبير عن متطلبات الحياة وما يستجد من علوم، وأن غيرها ليس بأدق منها، ولا أقدر على التعبير.

ولكن ما أصاب الأمة من مصائب وجمود بدأ مع نهاية عصر الوجود التركى، ثم الاستعمار البريطانى والفرنسى مما عاق اللغة عن النمو والتطور، وأبعدها عن العلم والحضارة ولكن عندما أحس العرب بأن حياتهم لابد من أن تتغير، وأن جمودهم لابد أن تدب فيه الحياة، اندفع الرواد من اللغويين والأدباء والعلماء نحو إنماء اللغة وتطويرها حتى أن مدرسة قصر العينى فى القاهرة، والجامعة الأمريكية فى بيروت درستا الطب بالعربية أول إنشائهما. ولو تصفحنا الكتب التى أُلفت أو تُرجمت يوم كان الطب يدرس فيها باللغة العربية لوجدناها كتباً ممتازة لا تقل جودة عن مثيلاتها من كتب الغرب فى ذلك الحين، سواء فى الطبع، أو حسن التعبير، أو براعة الإيضاح، ولكن هذين المعهدين تنكرا للغة العربية فيما بعد، وسادت لغة المستعمر وفُرضت على أبناء الأمة فرضاً، إذ رأى المستعمر أن فى خنق اللغة العربية مجالاً لعرقلة الأمة العربية.

وبالرغم من المقاومة العنيفة التى قابلها، إلا أنه كان بين المواطنين صنائع سبقوا الأجنبى فيما يتطلع إليه، فتفننوا فى أساليب التملق له اكتساباً لرضاته، ورجال تأثروا بحملات المستعمر الظالمة. يشككون فى قدرة اللغة على استيعاب الحضارة الجديدة، وغاب عنهم ما قاله الحاكم الفرنسى لجيشه الزاحف إلى الجزائر: "علموا لغتنا وانشروها حتى نحكم الجزائر، فإذا حكمت لغتنا الجزائر، فقد حكمناها حقيقة".

فهل لى أن أوجه نداءً إلى جميع حكومات الدول العربية بأن تبادر- فى أسرع وقت ممكن- إلى
التدابير، والوسائل الكفيلة باستعمال اللغة العربية لغة تدريس فى جميع مراحل التعليم العام و
والجامعى، مع العناية الكافية باللغات الأجنبية فى مختلف مراحل التعليم لتكون وسيلة الإطلاع على تطو
العلم والثقافة والانفتاح على العالم. وكلنا ثقة فى إيمان العلماء والأساتذة بالتعريب، نظراً لأن استعمال اللغ
القومية فى التدريس ييسر على الطالب سرعة الفهم دون عائق لغوى وبذلك تزداد حصيلته الدراسية، ويرتفع
بمستواه العلمى، وذلك يعتبر تأصيلاً للفكر العلمى فى البلاد، وتمكيناً للغة القومية من الازدهار والقيام
بدورها فى التعبير عن حاجات المجتمع، وألفاظ ومصطلحات الحضارة والعلوم.

ولا يغيب عن حكوماتنا العربية أن حركة التعريب تسير متباطئة، أو تكاد تتوقف بل تحارب أحياناً
ممن يشغلون بعض الوظائف القيادية فى سلك التعليم والجامعات ممن ترك الاستعمار فى نفوسهم عقد
وأمراضاً، رغم أنهم يعلمون أن جامعات إسرائيل قد ترجمت العلوم التطبيقية الحديثة إلى اللغة العبرية وعد
من يتخاطب بها فى العالم لا يزيد عن خمسة عشر مليون يهودياً، كما أنه من خلال زياراتى لبعض الدو
واطلاعى على مناهجها الدراسية وجدت كل أمة من الأمم تدرس بلغتها القومية مختلف فروع العلوم والآدب
والتقنية كاليابان، وإسبانيا، وألمانيا، ودول أمريكا اللاتينية، ولم تشك أمة من هذه الأمم فى قدرة لغتها على
تغطية العلوم الحديثة، فهل أمة العرب أقل شأناً من غيرها ؟!.

وأخيراً .. وتماشياً مع أهداف الدار العربية للنشر والتوزيع، وتحقيقاً لأغراضها فى تدعيم الإنتاج العلمى
باللغة العربية، وتشجيع العلماء والباحثين فى إعادة مناهج التفكير العلمى وطرائقة إلى رحاب لغتنا الشريفة
تقوم الدار بنشر هذا الكتاب المتميز الذى يعتبر واحداً من ضمن ما نشرته – وستقوم بنشرة – الدار من الكتب
العربية التى قام بتأليفها أو ترجمتها نخبة ممتازة من أساتذة الجامعات المصرية والعربية المختلفة.

وبهذا ... ننفذ عهداً قطعناه على المضى قدما فيما أردناه من خدمة لغة الوحى وفيما أراده الله تعالى لنا
من جهاد فيها.

وقد صدق الله العظيم حينما قال فى كتابة الكريم ﴿ وَقُلِ اعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ
وَسَتُرَدُّونَ إِلَى عَالِمِ الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُمْ بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ (106) ﴾ " سورة التوبة الآية "

محمد أحمد دربالة
الدار العربية للنشر والتوزيع

بسم الله الرحمن الرحيم

مقدمة Introduction

لقد تطورت الأجهزة المعملية تطوراً كبيراً خلال السنوات الأخيرة بحيث أصبحت هدفا أساسيا في تشخيص الأمراض التي تصيب الإنسان والتى غالبا مايصعب الاستدلال عليها أو تشخيصها بالفحص الإكلينيكي فقط . ويحتوى هذا الكتاب على ثمانية أبواب، حيث خصص الباب الأول لدراسة علم الدمويات Hematology والتى تشمل عد كرات الدم الحمراء والبيضاء والصفائح الدموية ونسبة الهيموجلوبين وقيمة الهيماتوكريت وتعد من دلالات التعرف على نوع الأنيميا (الضعف والهزال) ، كما تلعب سرعة النزف والتجلط وسرعة ترسيب الدم وتركيز البروثرومبين دورا هاما وهادفا لمعرفة مدي سيولة وتجلط الدم وعلاقتهما ببعض اعضاء الجسم وخاصة القلب .

وخصص الباب الثانى لدراسة كيمياء الدم التى تشتمل على الكشف عن وجود الجلوكوز في البول مع زيادة معدله الطبيعي في الدم فهى من دعامات تشخيص مرض السكر عند الانسان وهناك حالات كثيرة تم معرفتها مصادفة بالتحليل المعملي في حين أن اصحابها لايعانون ولايعلمون أنهم مصابون بهذا المرض .كما يتعرض هذا الكتاب للعوامل المصببة لمرض السكر وعلاقته بجميع أعضاء الجسم كما أن تقدير اليوريا والكرياتينين وحامض اليوريك Uric acid (داء النقرس أو مايعرف بداء الملوك) في الدم يساعد في معرفة مدي آداء الكليتين لوظائفهما الطبيعية ، كما أن تقدير الكوليسترول في مصل (Serum) الدم يساعد علي الكشف عن اي اضطراب أو خلل في تمثيل المواد الدهنية الذي قد ينشأ نتيجة لعدد من العوامل المختلفة والتي قد تكون مرتبطة باضطراب في وظائف الكبد.

كما أن لتقدير نشاط الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين GOT (AST) و GPT (ALT) أهمية خاصة في تحديد ومعرفة حالة الكبد بالاضافه الي أن تقدير صبغة

البيليروبين في مصل الدم يلقي ضوءا علي بعض حالات امراض الكبد . كذلك فإن تقدير انزيم الاميليز والملتيز له دلالة خاصة على نشاط او وجود أى التهابات في البنكرياس . كما يتعرض هذا الكتاب للتعرف على وظائف القلب .

ويحوي هذا الكتاب على الطرق المختلفة في تحليل الشوارد (الصوديوم ، البوتاسيوم) وبعض العناصر اللازمة لتكوين الهيموجلوبيين ومنها الحديد الضروري لنشاط العديد من الانزيمات المؤكسدة ، أما الباب الثالث يوضح فحص البراز الذى يدلنا على الطفيليات والديدان التى توجد بالقناة الهضمية عن طريق تحليل البراز يمكن التعرف على المواد الغير مهضومة . وكذلك فإن تحليل السائل المنوى له أهمية كبيرة للتعرف على عدد الحيوانات المنوية وطبيعتها ودرجة كفاءتها (كما جاء بالباب الرابع) . كما يتعرض هذا الكتاب لعلم المناعة Immunity كما هو موضح بالباب الخامس وكذلك فإن تحليل البول له أهمية عظمى فى التعرف على كثير من الأمراض المختلفة فهو يعتبر مرآة لحالة جسم الإنسان البيولوچية أو الفسيولوچية . ويجب أن يعلم المحلل جيداً أن أهمية نتائجه واجراءاته تستند علي ادراكه الجيد وممارساته العلمية الجيدة ، وعليه فعند التفكير في اتباع طريقة معملية(مختبرية) جديدة ينصح بضرورة قضاء فترة من الوقت في اجراء التحليل علي محاليل قياسية حيث ان تحليل نماذج السوائل الحيوية(الدم ، البول وغيرهما) يعتمد علي دقة الحصول علي النموذج وحفظه بطريقة سليمة لاتؤثر عليه ولاعلي محتوياته.

ويحتوى الكتاب على دلالات الأورام وشرح كامل لتحليل الهرمونات وأهميتها كما يحتوى هذا الكتاب على فهارس خاصة بالأشكال والجداول التوضيحية ودعمًا لعملية الإيضاح والتعريب ، كذلك تم الجمع بين المصطلح الأجنبى (اللاتينى) ودلالته العربية .

والله ولي التوفيق ..

الأستاذ الدكتور

سمير عطية محمد زعقوق

محتويات الكتاب

الموضوع	الصفحة
مقدمة الكتاب	١٣
الباب الأول	
.....	
تكوين الخلايا الدموية	
جمع الدم	٢١
المواد المانعة للتجلط	٢٨
طرق التعرف على بقعة الدم	٣٠
تكسير وهشاشية كرات الدم الحمراء	٣٣
عَدْ وحساب كرات الدم الحمراء	٣٧
أشكال خلايا الدم الحمراء الطبيعية	٤٢
الخلايا الحمراء الشوكية	٤٥
الخلايا الحمراء الفمية	٤٥
الخلايا الحمراء الكبيرة	٤٥
الخلايا الحمراء الصغيرة	٤٦
الخلايا الحمراء متعددة الحجم	٤٧
الخلايا الحمراء المنجلية	٤٧
الخلايا الحمراء الشبكية	٤٧
الخلايا الحمراء التى تحتوى على أجسام هوويل جولى	٤٧
الخلايا الحمراء التى تحتوى على أجسام هنز	٤٩
الخلايا الحمراء التى تحتوى على حلقات كابوت	٤٩
الخلايا الحمراء التى تحتوى على النورموبلاست	٥٠
تفاوت حجم الكريات البيضاء	٥٠

الموضـــــوع	الصفحة
الخلايا البيضوية الشكل	٥٠
الخلايا ناقصة اللون	٥٠
الخلايا زائدة اللون	٥٠
الخلايا المنشقة	٥٢
الخلايا الهدفية	٥٢
الخلايا المشرشرة	٥٣
فقر الدم (أنيميا الدم)	٥٣
التشخيص المعملى لفقر الدم	٥٥
فقر الدم التحللى	٥٦
١- فقر الدم التحللى داخل الأوعية الدموية	٥٧
٢- فقر الدم التحللى خارج الأوعية الدموية	٥٧
٣- فقر الدم التحللى السمى	٥٨
أ- السموم الكيميائية	٥٨
ب- السموم الحيوانية	٥٨
جـ- السموم النباتية	٥٨
فقر الدم الإصابى	٥٨
١- الإصابة بالملاريا	٥٨
٢- العدوى بالبلهارسيا	٥٨
٣- الإلتهابات الجرثومية	٥٨
فقر الدم الناتج عن خلل فى تكوين الخلايا الحمراء	٥٩
١- خلل فى نمو سيتوبلادم الخلايا الحمراء	٥٩
٢- خلل فى تكوين البروتوبورفين	٦٠

تابع محتويات الكتاب

الموضـــــوع	الصفحة
فقر دم سيدروبلاستى وراثى	
فقر الدم الخبيث	٦٣
فقر الدم الكلوى	٦٤
فقر دم نقص سرعة تكوين الخلايا الحمراء	٦٥
فقر دم نقص الحديد	٦٥
طريقة تعيين نسبة الهيموجلوبين	٦٧
طريقة تعيين نسبة الهيماتوكريت	٧٢
مؤشرات كريات الدم الحمراء	٧٥
الخلايا الدموية البيضاء	٧٨
تكوين الخلايا الدموية البيضاء	٧٨
طريقة عَدّ وحساب كريات الدم البيضاء	٨١
أشكال الخلايا الدموية البيضاء	٨٢
المحببات المتعادلة	٨٢
الخلايا الليمفاوية الصغيرة	٨٦
الخلايا الليمفاوية الكبيرة	٨٦
الخلايا وحيدة النواة	٨٧
الخلايا قاعدية الصبغ	٨٧
الخلايا حامضية الصبغ	٨٨
توزيع خلايا الدم البيضاء	٨٨
صفائح الدموية	٩٧
قياس زمن تجلط الدم	١٠٤
قياس زمن النزف	١٠٨

تابع محتويات الكتاب

الموضـــــوع	الصفحة
قياس زمن ونشاط البروثرومبين	١١٣
قياس الزمن الجزئى للثرومبوبلاستين	١١٦
لوكيميا الدم (سرطان الدم)	١١٧
سرعة ترسيب الدم	١١٨
فصائل الدم	١٢٢
تشخيص طفيليات الدم	١٢٦
١- التريبانوسوما	١٢٦
٢- الليشمانيا	١٢٧
٣- الملاريا	١٢٩
٤- الفيلاريا	١٣٠
الباب الثانى	١٣٥
كيمياء الدم	١٣٥
الإحتياطات المعملية الواجب إتخاذها عند إجراء التجارب المعملية	١٣٧
إختبارات للكشف عن وظائف الكبد	١٤٠
١- تقدير نشاط أنزيم جلوتاميك - بيروفيك ترانس أمينيز	١٤١
٢- تقدير نشاط أنزيم اكسالو اسيتك ترانس أمينيز	١٤١
٣- تقدير نشاط جاما جلوتاميك ترانسفيريز	١٥٠
٤- تقدير البيليروبين الكلى (المباشر وغير المباشر)	١٥٢
٥- تقدير البروتين الكلى فى المصل	٨
٦- تقدير نشاط أنزيم الفوسفاتيز القاعدى	٥٩
٧- تقدير الدهون الكلية	١٧٠
٨- تقدير الكوليستيرول فى المصل	١٧٤

تابع محتويات الكتاب

الموضـــــوع	الصفحة
٩- تقدير الجليسريدات الثلاثية فى المصل	١٥٠
١٠- تقدير نشاط أنزيم الأميليز	١٨٣
١١- تقدير الحديد فى مصل الدم	١٨٨
١٢- تقدير السعة الكلية لإرتباط الحديد فى المصل	١٩٢
إختبارات للكشف عن وظائف القلب	
١- تقدير نشاط أنزيم كرياتين - فوسفوكينيز	١٩٥
٢- تقدير نشاط أنزيم لاكتات ديهيدروجينيز	٢٠٠
٣- اختبارات أخرى ومنها التروبونين	٢٠٢
إختبارات للكشف عن وظائف الكلى	
١- تقدير بولينا الدم	٢٠٤
٢- تقدير الكرياتينين فى الدم	٢٠٨
٣- تقدير الصوديوم فى الدم	٢١٨
٤- تقدير البوتاسيوم فى الدم	٢٢٤
٥- تقدير حمض اليوريك فى الدم	٢٣١
تقدير الجلوكوز فى الدم	٢٣٦
العوامل المسببة لمرض السكر	٢٤١
تنظيم معدل الجلوكوز فى الدم	٢٤٢
تجربة التحمل الجلوكوزى	٢٤٤
التشخيص المعملى لمرض السكر	٢٤٦
الكشف عن البول السكرى	٢٤٦
الكشف عن الأجسام الكيتونية بالبول	٢٤٩

تابع محتويات الكتاب

الموضـــــوع	الصفحة
أنواع مرض السكر	٢٥٥
االنوع الأول TYPE I	٢٥٥
االنوع الثانى TYPE II	٢٥٧
السكر الكامن أو حالة ما قبل السكرى	٢٥٧
السكر المستتر أو المختفى	٢٥٧
السكر الكيميائى	٢٥٧
السكر الاكلينيكى	٢٥٨
الفرق بين الشخص العادى والشخص المريض بالبول السكرى	٢٦٠
الفرق بين البول السكرى والجلوكوزوريا الكلويه	٢٦١
الهيموجلوبين المتحد بالجلوكوز	٢٦٢
علاقة مرض السكر بأجهزة الجسم	٢٦٧
تقدير نسبة الكحول فى الدم	٢٧٠
تقدير نسبة الكالسيوم فى الدم أو البول	٢٧٢
الأنتيجينات والأجسام التناسلية	٢٧٦
فحوصات خاصة بالأمراض التناسلية	٢٧٦
١- الزهرى	٢٧٨
٢- السيلان	٢٨١
٣- الإيدز	٢٨٣
التيفويد والباراتيفويد	٢٨٦
التوكسوبلازما	٢٨٨
الإلتهاب الكبدى الفيروسى	٢٩٢
الإختبارات المصلية لأمراض الروماتويد	

تابع محتويات الكتاب

الموضـــــوع	الصفحة
أولا- الكشف عن عامل إلتهاب المفاصل	٢٩٢
ثانياً- إختبار البروتين المتفاعل	٢٩٤
ثالثاً- إختبارات للبكتريا التى تحلل كريات الدم الحمراء	٢٩٥
دلادات الأورام	
الفافيتو بروتين AFP	٢٩٩
سرطان الخلايا المشيمية	٢٩٩
سرطان الثدى CA 15.3	٢٩٩
سرطان البنكرياس CA 19.9	٢٩٩
سرطان الثدى CA 27.29	٣٠٠
سرطان المبيض CA 125	٣٠٠
سرطان الكبد والأمعاء والرئة والمعد CEA	٣٠٠
سرطان البروستاتا PSA	٣٠٠
الباب الثالث	
تحليل البراز	٣٠٣
طريقة فحص البراز	٣٠٣
فحص الدم المختفى فى البراز	٣١١
فحص طفيليات القناة الهضمية	٣١٣
- الاسكارس	٣١٣
- الديدان الدبوسية (القاعدية)	٣١٤
- الديدان الشريطية	٣١٧
- الديدان القزمة	٣١٧
- الدودة شعرية الذيل	٣١٨

تابع محتويات الكتاب

الموضـــــوع	الصفحة
- دودة الانكستوما	
- الدودة الخيطية	٣٢٠
- دودة البلهارسيا	٣٢١
فحص البراز للكشف عن الأوليات	٣٢٣
- الأنتاميبا هستولتيكا	٣٢٣
- الجارديا لامبليا	٣٢٤
- المشعره البشرية	٣٢٦
الباب الرابع	
تحليل السائل المنوى	٣٣١
طريقة عَدْ الحيوانات المنوية	٣٣٣
أشكال الحيوانات المنوية (الطبيعية والغير طبيعية)	٣٣٤
مدلولات فحص السائل المنوى	٣٣٥
العوامل التى تؤثر فى تكوين الحيوانات المنوية	٣٣٦
فحص غدة البروستاتا	٣٣٧
إختبار الحمل	٣٤٢
الباب الخامس	
تحليل البول	٣٤٧
طريقة جمع وحفظ البول	٣٤٩
الخواص الطبيعية	٣٥٠
الخواص الكيميائية للبول	٣٥٠
الكشف عن البروتين (الزلال)	٣٥٦
الكشف عن السكر فى البول	٣٦٠

تابع محتويات الكتاب

الموضـــــوع	الصفحة
الكشف عن الأسيتون فى البول	٣٦٦
الكشف عن أصباغ الصفراء	٣٦٨
الفحص الميكروسكوبى لرواسب البول	٣٧٥
الخلايا الدموية الحمراء	٣٧٨
الخلايا الدموية البيضاء	٣٨٠
الخلايا الطلائية	٣٨٢
الأسطوانات	٣٨٤
أهمية وجود الأسطوانات فى البول	٣٨٨
الرواسب البلورية (الأملاح)	٣٩٠
الفطريات (الكانديدا)	٣٩٦
الطفيليات (ترايكوموناس فاجيناليس)	٤٠١
الحصى البولية وتحليلها	٤٠٣
بعض السموم التى يمكن الإستدلال عليها فى البول	٤٠٣
الباب السادس	
تحليل الهرمونات	٤١٣
- وظائف الهرمونات	٤١٣
- الطبيعة الكيميائية للهرمونات	٤١٣
- خصائص الهرمونات	٤١٤
- طرق قياس الهرمونات	٤١٤
١- البرولاكتين	٤١٤
٢- هرمون النمو	٤١٦
٣- هرمونات الغدة الدرقية	٤١٨

تابع محتويات الكتاب

الموضـــــوع	الصفحة
٤- هرمونات الغدة الكظرية	٤٢٣
٥- هرمونات المبيض	٤٢٤
٦- هرمونات البنكرياس	٤٢٦
٧- هرمونات الغدة الجاردرقية	٤٢٨
٨- الهرمونات وعلاقاتها بمرض السكر	٤٢٨
أ- الأميلين	٤٢٨
ب- س ببتيد	٤٢٨
جـ- الليبتين	٤٢٩
د- التستوسيترون	٤٣٠
هـ- هرمون الريسستين	٤٣٠
و- هرمون الاديبونكتين	
الباب السابع	٤٣٥
النسب الطبيعية لبعض قيم علم الدم وقياسات كيمياء الدم	
الباب الثامن	٤٥٣
المراجع	

الباب الأول

الدمويات Haematology

- خلايا الدم الحمراء
- نسبة الهيموجلوبين
- نسبة الهيماتوكريت
- الخلايا الشبكية
- فقر الدم (الأنيميا)
- خلايا الدم البيضاء
- الصفائح الدموية
- زمن التجلط
- زمن النزف
- سرعة الترسيب
- فصائل الدم
- طفيليات الدم

٤- الحافظ على توازن الجسم Body balance

إن الدم يوزع الحرارة بالتساوي على جميع أجزاء الجسم ، فينقل بسرعة الحرارة من الأنسجة العميقة ، إلى الأنسجة السطحية ، وبالعكس .

٥- الدفاع او المقاومة Defense

يقوم الدم بالدفاع عن الجسم بتكوين الأجسام المضادة antibodies ومضادات السموم antibodies كما أن كريات الدم البيضاء تقوم بابتلاع الجراثيم .

٦- عملية التجلط Clotting

يعمل الدم على الوقاية من النزيف بواسطة التجلط فيحافظ على كمية الدم الطبيعية في الجسم .

٧- نقل وتنظيم افرازات الهرمونات Transport and Regulation

حيث يقوم الدم بنقل الهرمونات التى تفرزها الغدد إلى الأنسجة .

٨- الحفاظ على توازن الماء Water balance

إذا يقوم الدم بنقل السائل الفائض من الأنسجة إلى الكليتين والغدد العرقية لطرحه خارج الجسم ، فيعمل بذلك على حفظ توازن الماء .

تكوين الخلايا الدموية Hamatopoiesis

تنشأ أول الخلايا الدموية من الطبقة المتوسط (Mesenchyme) بكيس مخ الجنين وتشكل جزرا مبعثرة كمقدمة للأنسجة المنتجة للخلايا الدموية (Hamatopoietic tissues)، يبدأ الكبد بتكوين الخلايا الدموية في الأسبوع السادس من بداية الحمل ويصبح المنتج الرئيسي للخلايا الدموية حتي منتصف فترة الحمل اذ يبدأ الطحال ، وبدرجة أقل ، العقد الليمفاوية والنخاع العظمي بمساعدة الكبد ، بشكل محدود، في تكوين الخلايا الدموية ، كماتزيد مساهمة النخاع العظمي وتقل مساهمة الكبد والطحال في تكوين الخلايا الدموية بشكل تدريجي في النصف الثاني لفترة الحمل حتي يقتصر تكوين الخلايا الدموية علي النخاع العظمي والجهاز الليمفاوي عند الولادة .

تتكون الخلايا الدموية الحمراء والبيضاء المحببة والبيضاء احادية النواة والصفائح الدموية في الانسجة المنتجة للخلايا الدموية الموجودة في النخاع العظمي، اما الخلايا

الـــدم Blood

١- الدم عبارة عن سائل أحمر اللون لوجود صبغة الهيموجلوبين وهو لزج القوام ، والأس الهيدروجيني له ما بين (٧,٣٠ - ٧,٥٠) والكثافة النوعية للدم تتراوح بين ١٠٤٥-١٠٧٠ كما في الإنسان ، وحجم الدم حوالى ٧٪ من وزن الجسم .

٢- يتكون الدم من سائل يميل الي الإصفرار قلوي التفاعل يعرف بإسم البلازما Plasma

وتتكون البلازما من ٩٠-٩٢٪ ماء والباقي ٨٪ مواد صلبة عبارة عن ٦,٥٪ بروتين ، ١٪ املاح غير عضوية والباقي مركبات عضوية (يوريا + حمض بوريك + كريانين + كرياتينين + نشادر + مركبات غذائية مثل الجلوكوز و غازات و فيتامينات و هرمونات وإنزيمات .

٣- يتكون الدم أيضا من كرات الدم الحمراء (Red Blood Corpuscles أو Erythrocytes) التي قد يتغير عددها تبعة لتغير نوع الغذاء وإحتوائه على العناصر الرئيسية .

٤- كريات الدم البيضاء Leucocytes or white blood corpuscles وتوجد منها خمسة انواع . كما يحتوي الدم علي الصفائح الدموية Thrombocytes or platele .

وللدم وظائف عديدة منها :

١- التنفس Respiration

يقدم الدم بنقل الأكسجين من الرئة إلى الأنسجة ثم يقوم بنقل ثانى أكسيد الكربون ، الناتج عن اقتران الأكسجين فى الخلايا إلى الرئتين ، ومن ثم يطرح خارج الجسم .

٢- التغذية Nutritision

يقوم الدم بنقل العديد من العناصر الغذائية ولا سيما الجلوكوز والأحماض الأمينية و الدهون والفيتامينات والمعادن من الجهاز الهضمى فى مستوى الأمعاء إلى مختلف أنسجة الجسم .

٣- الإخـــراج Excretion

يقوم الدم بتخليص الجسم من المواد السامة والضارة مثل البولينا Urea وحامض البوليك uric acid عن طريق الكلية .

الليمفاوية بنوعيها (T &B) و النخاعية والثيموسية فتتكون في الجهاز الليمفاوي الذي تنتشر في العقد الليمفاوية والنخاع العظمي وغدة الثيموس .

تنتشر الأنسجة المنتجة للخلايا الدموية في النخاع العظمي الخاص بجميع العظام عند الولادة، وتبدأ بالإنحسار تدريجيا من نخاع عظام الجمجمة وعظام القفص الصدري والحوض عند البلوغ ، يستبدل النخاع العظمي المنتج للخلايا الدموية بعد انحساره من عظام الاطراف بكتل دهنية تتخللها جزر صغيرة من الخلايا الجذعية (Stem Cells) .

ويوضح الشكل رقم(١) كيفية انتشار الانسجة المنتجة للخلايا الدموية

جمع الدم Blood Collection

تستخدم عينات الدم في معظم التجارب المعملية وخاصه في علم الدم (Hematology) وبنك الدم (Blood Bank) وعلم الكيمياء الحيوية (Biochemistry). لذا يجب اعتماد الطرق العلمية الصحيحة في سحب عينات الدم وحفظها بشكل يتلائم مع حاجة التجربة المطلوب انجازها ، وتسحب عينات الدم لاغراض الفحص المخبري بإحدى الطرق الآتية :

١- سحب الدم من الأوعية الشعرية السطحية (Capillary Blood Collection) : يجمع الدم بهذه الطريقة بعد احداث ثقب في الجلد (Skin Puncture) بواسطة مثقب او واخز مدبب الرأس (Lancet) الذي يجب ان تتوفر فيه الصفات التالية:

أ- يجب ان يكون المثقب معقما (Sterile)

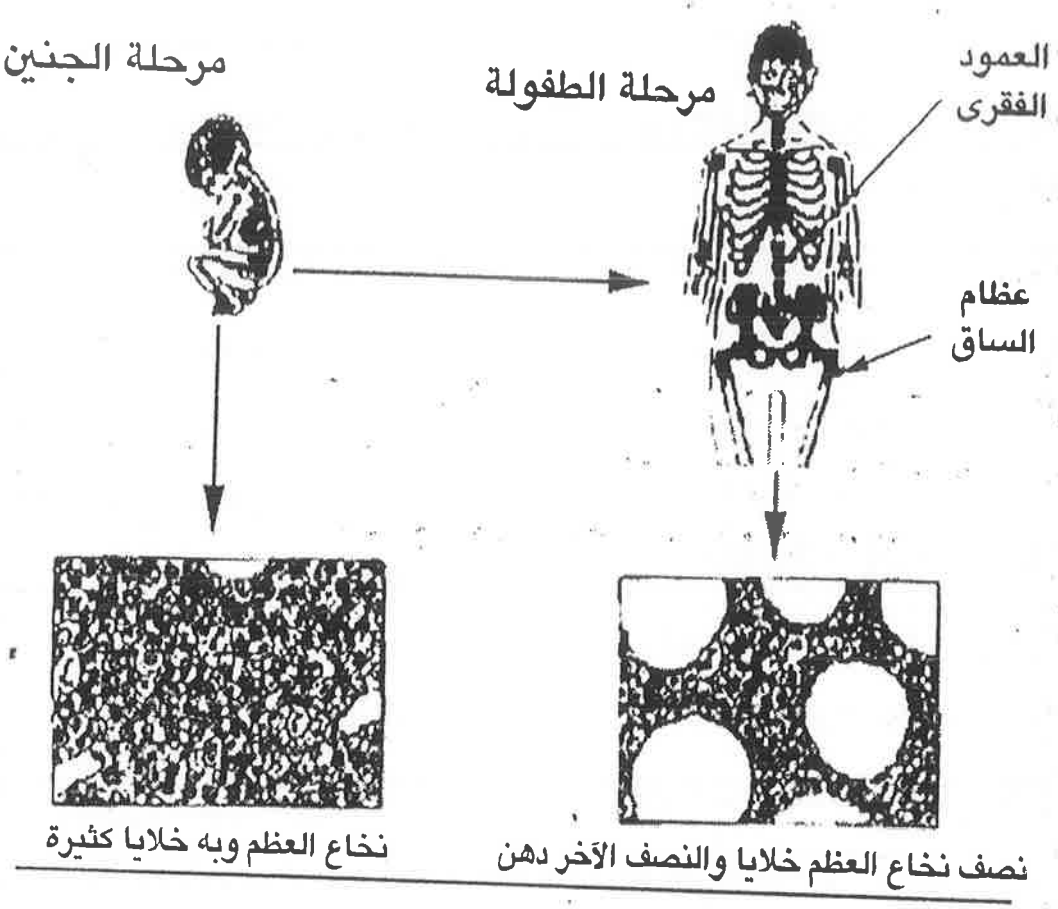
ب - يجب ان يكون رأس المثقب مدببا وحادا : يجب التأكد من حدة رأس المثقب أو الابر وانتظامه قبل استخدامه لاحداث جرح قياسي (ثابت الابعاد) .

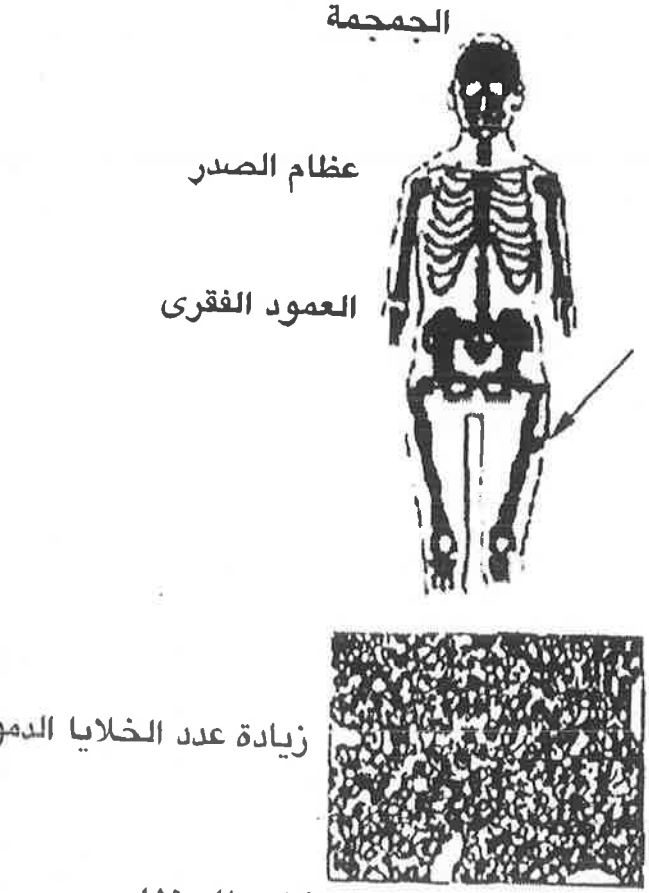
يتوفر في الاسواق مثاقب جلدية قياسية معقمة تستخدم لمرة واحدة (Disposable) ولايمكن استخدامها مرة اخرى ضماناً لعدم إنتشار الأمراض .

مواقع ثقب الجلد Positions of skin puncture

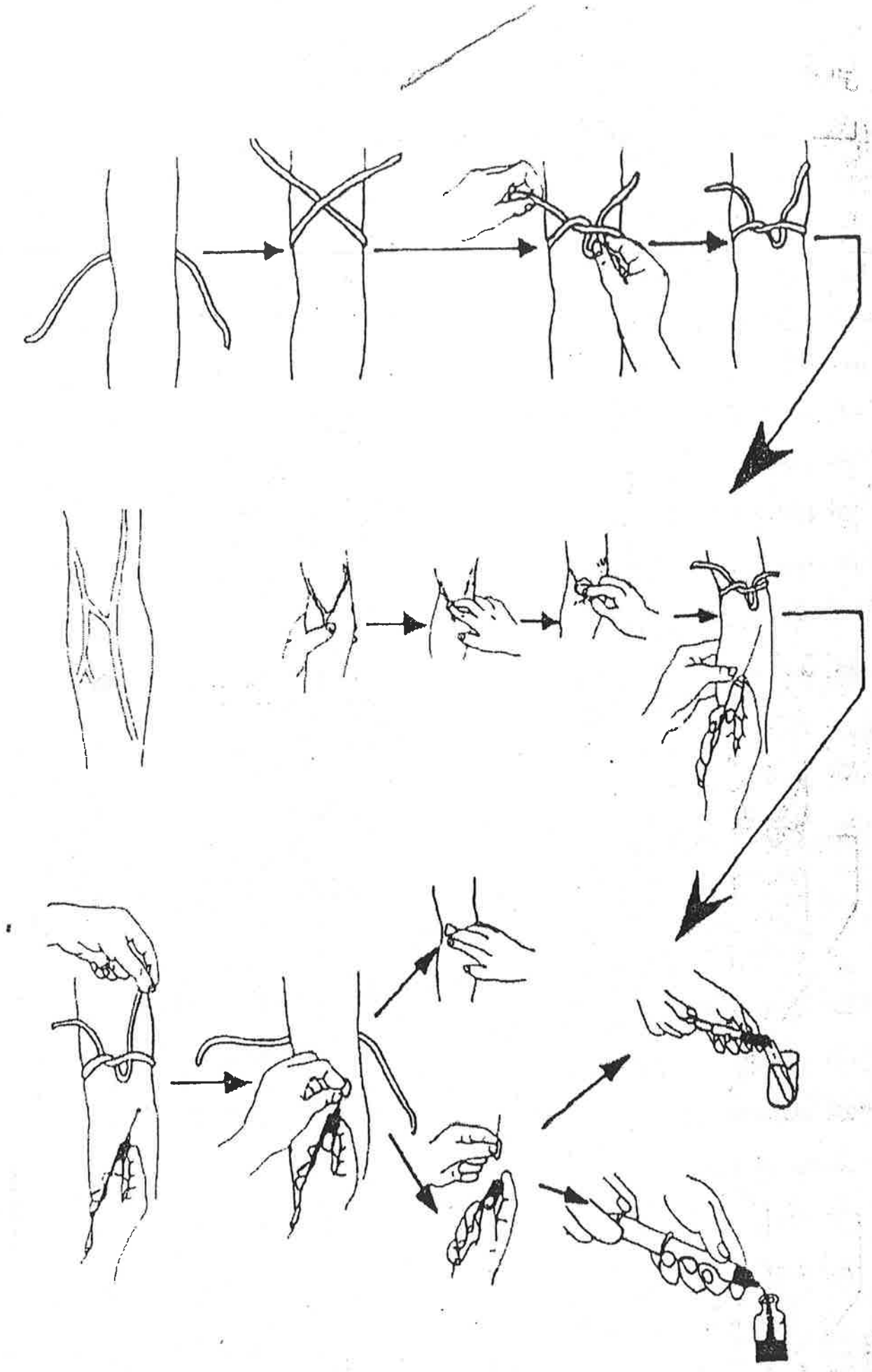
يتم اختيار الموقع المناسب لثقب الجلد كما فى الشكل (٢) بناءا علي عدة عوامل أهمها عمر المريض وحالته الصحية . وفيمايلى أهم مواقع ثقب الجلد وظروف استخدامها :

أ - **اطراف الأصابع :** يتميز الجلد في هذه المنطقة بسمكه النسبي بالمقارنة مع المواقع الأخرى وبسهولة الوصول إليه وخاصه في حالة استلقاء المريض علي ظهره و يمكن السيطرة علي الجرح بسهولة عند تعرضه لمضاعفات عملية ثقب الجلد ، كما يمكن تنشيط





شكل (١) : تكوين الدم فى نخاع العظام



شكل (٢) : خطوات سحب الدم من الوريد

الدورة الدموية قبل ثقب الجلد عن طريق دعك طرف الاصبع او وضعه لمدة ٥ دقائق في حمام مائى بدرجة ٣٧ م. إلا أن الجرح في هذه المنطقة أشد ايلامًا وأكثر عمقًا وتعرضًا للالتهابات من المناطق الأخرى ويميل الجرح الي الإقفال بسبب سمك الجلد .

ب - **ملتحمة الأذن :** يفضل احداث ثقب الجلد بهذا الموقع بسبب رقة الجلد في هذه المنطقة ولان الجرح فيها اقل ايلاما وتعرضا للالتهابات بالمقارنة مع أطراف الأصابع ، يستخدم هذا الموقع في حالة المريض الجالس فقط حيث يتم التعامل مع ملتحمة الأذن من جانبه أو من خلفه .

جـ - **مناطق اخرى :** مثل كعب القدم عند الأطفال الرضع ومقدمة الساعد عند البالغين ، تتميز هذه المناطق برقة جلدها وسهولة الوصول اليها .

خطوات ثقب الجلد : Procedure

ينظف المكان المختار بقطعة قطن أو شاش مبللة بـ ٧٠٪ حول ويجفف ، يرافق ذلك تنشيط الدورة الدموية في الموقع المنتخب عن طريق الدعك أو الحرارة ، يتبع ذلك شد الجلد بالضغط علي الموقع قبل احداث ثقب الجلد بوخزة سريعة واحدة .

تمسح اول نقطة دم تظهر مع بقايا الكحول ويترك الدم يتجمع علي هيئة نقطة كبيرة حول الجرح ، يجب تجنب انسياب الدم من موقع الجرح ، كما يجب عدم عصر موقع الجرح بعد ثقب الجلد لتجنب تخفيف العينة بسوائل الانسجة التى تساعد علي تجلط الدم ، يتميز الجرح المناسب بحرية تدفق الدم بدون الحاجة الي عصر الموقع ،، يجب احداث ثقب آخر في حالة الحصول علي جرح غير مناسب .

يستخدم الدم المتدفق من ثقب الجلد بحرية للقيام بعدد من التجارب المعملية كقياس عدد الخلايا الدموية (الحمراء والبيضاء والصفائح الدموية) ونسبة الهيماتوكريت والهيموجلوبين وفصائل الدم .

٢- سحب الدم من الأوردة Vein Puncture For Blood Collection

تستخدم الإبر الأسطوانية الضيقة ذات الأبعاد المختلفة للوصول الي تيار الدم الوريدي أو الشرياني لأخذ عينات دم لمختلف الأغراض المعملية كما تستخدم أيضًا لاعطاء الجرعات العلاجية . تتألف الابرة من أسطوانة معدنية طويلة وحادة وضيقة في أحد أطرافها وأكثر إتساعاً في الطرف الآخر الذي يشكل قاعدة الابر كما فى شكل (٣) .

تصنف الابر بناءاً علي طبيعة حدها الي ابر صغيرة ، متوسطة وكبيرة القطر ، يفضل إستخدام الإبر ثلاثية الحد لقصر رأسها الحاد مما يقلل امكانية اختراق الجدران المقابلة للوريد كما يحدث عند استخدام الابر كبيرة القطر ، تتميز الابر صغيرة القطر بقصر رأسها الحاد وسهولة اختراق الأنسجة دون إحداث أى تلف أو تهتك ملموس ، يعبر عن القطر الخارجي للإبرة بأرقام (Gauge) تتناسب عكسيا مع القطر الداخلي لاسطوانة الابرة (Lumen) . يتم اختيار الابر المناسبة بناء علي حجم العينة المطلوب سحبها وطبيعة الاوردة المختارة كما يلي:

١- تسحب عينات الدم الصغيرة من الاوردة الصغيرة كما في الاطفال والرضع باستخدام الابرة ذات الأرقام G(23-21)

٢- تسحب عينات الدم الروتينية من الكبار بأرقام G(٢١-٢٠)

٣- تسحب عينات الدم المتوسطة الحجم (٢٠-٣٠ ملل) بأرقام G(٢٠-١٩)

٤- تسحب عينات الدم الكبيرة (٢٥٠-٥٠٠ ملل) كما في التبرع بالدم بأرقام G(١٧-١٥)

تتميز الابر ذات الارقام الكبيرة بسهولة استعمالها وبطء حركة الدم بداخلها ، يجب تجنب زيادة سرعة حركة الدم بسحب مكبس المحقن لمنع تحلل الخلايا الحمراء ، تطلي الابر عادة بطبقة من السيليكون لمنع تجلط الدم في رؤوسها .

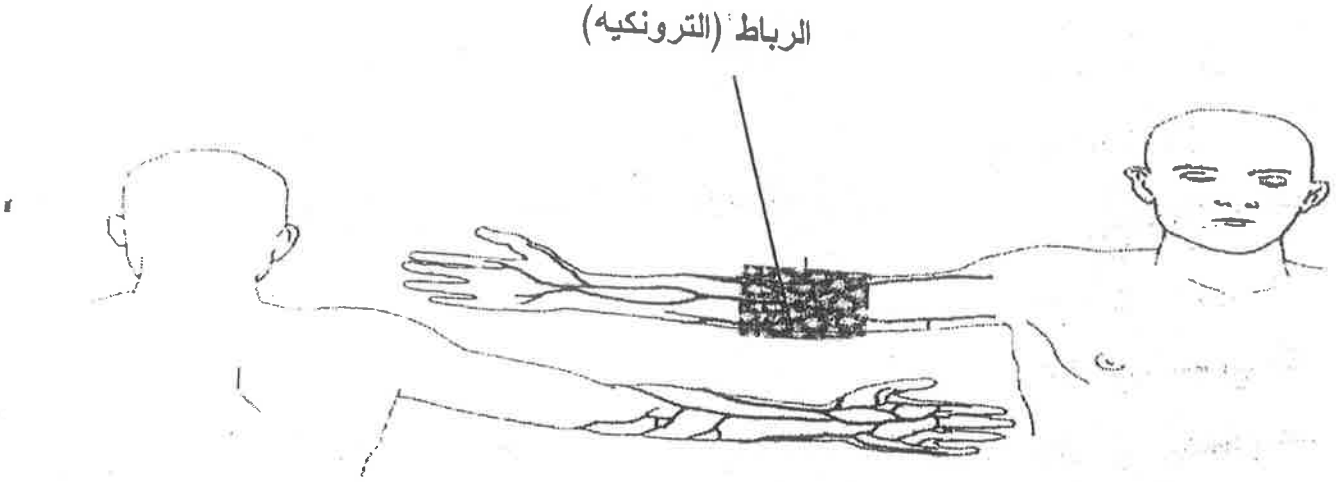
طرق سحب الدم الوريدى Techniques of Veinous Blood Collection

نظام الحقن : Syringe System

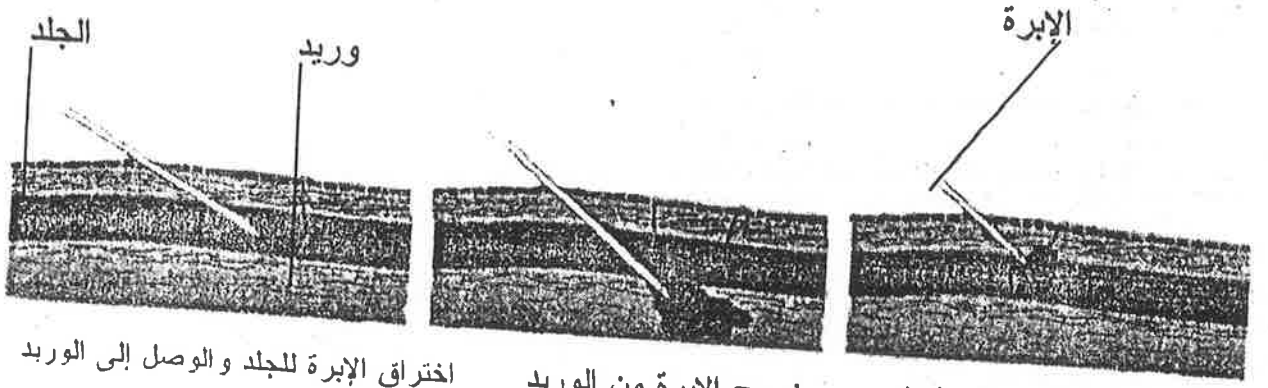
لاتستخدم المحاقن الزجاجية وابرها، بل تستخدم المحاقن البلاستيكية لمرة واحدة فقط وترمى Disposable .

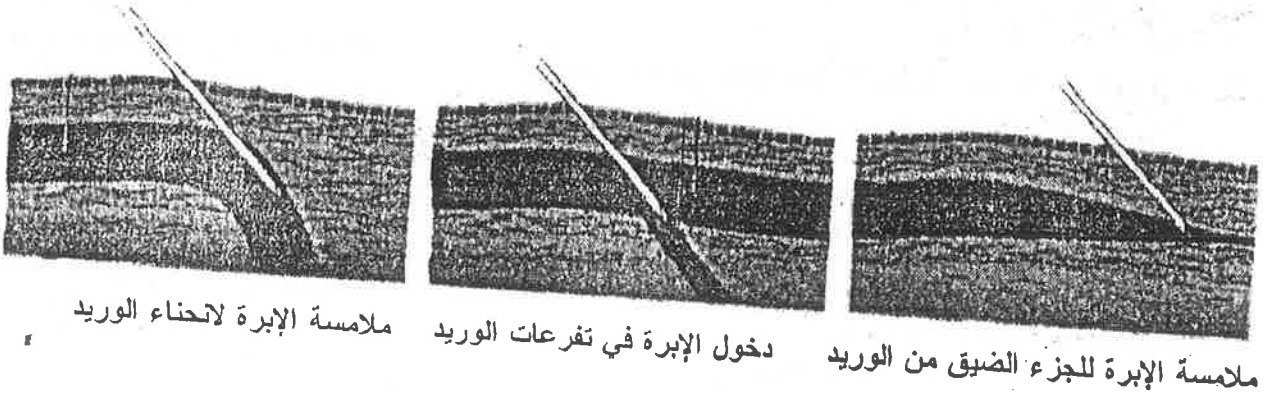
مواقع الإختراق الوريدي

يتم اختيار الوريد المناسب للاختراق بناءاً علي مايلي :



أوردة الـــــذراع





شكل (٣) : خطوات الاختراق الوريدي ٠

١- طبيعة الاوردة السطحية : يفضل اختراق الأوردة المستقيمة والثابتة غير المخترقة حديثا ، يجب الابتعاد عن الأوردة المتعرجة والمتفرعة بسبب التقدم في السن والتالفة بسبب تكرر اختراقها .

٢- أفضلية الأوردة : يفضل إعطاء الأولوية في الاختراق للاوردة في المواقع التالية عند البالغين بالترتيب : مقدمة الساعد ، داخل المرفق ، ظهر القدم ، يتم اختراق الاوردة الخاصة بالاطفال الرضع في المواقع التالية بالترتيب الجبهة (Scalpveins) العنق (Jegular Veins) التقاء الفخذ بالحوض (Fumeral Veins) .

٣- مدة الاختراق : تعتبر اوردة الاعضاء التي تتحرك بحرية انسب المواقع لاحداث الاختراق الوريدي لفترة زمنية طويلة كماهو الحال عند نقل الدم او المحاليل للمريض ، كما يجب الابتعاد عن اوردة المفاصل عند الحاجة لاحداث اختراق الاوردة لمدة طويلة لتجنب طرد الابرة من الوريد نتيجة حركة غير واعية للمفصل، تعتبر اوردة مقدمة الساعد وداخل المرفق اكثر الاوردة المرشحة للاختراق بسبب وضوحها وسهولة التعامل معها .

خطوات الاختراق الوريدى :

يجب ان يكون المريض والشخص المكلف بسحب الدم في وضع استرخاء نسبي ونفسي أثناء عملية سحب الدم . لذا يمكن ان يجلس المريض أو يستلقي علي ظهره وتسند ذراعه علي منضدة صغيرة بجانبه بحيث يكون سطحها لينا. يجب احداث الاختراق الوريدي وسحب الدم في مكان جيد الاضاءة والتهوية ، تعري ذراع المريض إلى مافوق المرفق ، تنشط الدورة الدموية بعد ربط الذراع فوق المرفق بحزام ضاغط بقبض الكف وبسطه وثني الذراع ومده عدة مرات ، يساعد الحزام الضاغط وحركة الكف والذراع علي ابراز الأوردة وتثبيتها ، يفضل اختراق الاوردة التي تنبض بشكل واضح ومحسوس علي اختراق الاوردة السحطية المرئية لأن النوع الاول اكثر ثباتا واقل قابلية للانهيار وجداره اقل سمكا .

ينظف مكان سحب الدم بقطعة قطن مبللة بمحلول ٧٠٪ كحول في الحالات العادية وبمحلول اليود قبل الكحول عند الحاجة لزراعة عينة الدم جرثوميا ، تثبت الأوردة السطحية

وتمنع حركتها اثناء اختراقها بشد الجلد من خلف الذراع باليد اليسري عند الحاجة ، يقبض علي المحقن بعد التأكد من تثبيت الابرة المناسبة في مقدمته بأصابع اليد اليمني ، يتم إختراق الوريد بحيث تكون الابرة موازية لاتجاه الوريد وبزاوية حادة جدا (٤٥°) مع سطح الجلد. يجب التأكد من خلو المحقن من الهواء وذلك بضغط المكبس الي آخر مداه ، يسحب المكبس بلطف بعد إخراق الوريد بسرعة محدودة ومنتظمة وبشكل يسمح بدخول الدم في اسطوانة المحقن حسب الحاجة . يراعي إحداث الإختراق الوريدي بثقة ودون تردد ، يجب فك الحزام الضاغط بعد جمع العينة اللازمة ، توضع قطنة مبللة بمحلول ٧٠٪ كحول فوق الابرة في موقع الاختراق ثم تسحب الإبرة من الوريد وتضغط القطنة فوق الجرح ولاتدعك ومن ثم تثبت بواسطة قطعة لاصق ، تفصل الابرة من مقدمة المحقن وينقل الدم الي الأنبوبة المناسبة بلطف دون الضغط بقوة علي المكبس لتجنب تحلل الخلايا الحمراء .

المواد المانعة للتجلط Anticoagulants

إن اختيار مادة مناسبة من المواد المانعة للتجلط ، وتحديد مقدارها الادني الكافي لمنع تجلط الدم أمر بالغ الأهمية في معمل امراض الدم ، ومع الأسف نقول لاتوجد حتي الآن مادة واحدة يمكن إستخدامها في جميع الفحوص المعملية،

وأهم موانع التجلط هى :

اولا : Ethylene Diamine Tetra Acetic acid :

ويرمز له اختصارا (EDTA)واهم ميزاتها وخصائصها هي:

أ- مادة جيده وفعالة جدا في منع تجلط الدم وهي افضلها إستخدامًا في معامل الدم واحتلت المرتبة الأولى علي المواد الاخري المانعة لتجلط الدم .

ب - يمكن تحضير المحلول (E.D.T.A)وذلك كالتالي :

١ جرام من المادة وتذاب في ١٠٠سم٢ من الماء المقطر كما أن ١سم٣ من هذا المحلول كاف لمنع تخثر ١٠ سم من الدم

جـ - يوزع ١ ,سم٣ من هذا المحلول في أنابيب نظيفة جداً ، تترك الانابيب لتجف في حرارة الغرفة ، وتكون صالحة للاستخدام لمدة غير محدودة دون ان تفسد ، يمنع هذا المحلول الصفيحات الدموية من ان يجتمع بعضها الي البعض وهذه الميزة تساعدنا علي تقدير عددها وأن هذه الميزة لاتتوفر في المحاليل الاخري ، ويمتاز هذا المحلول بعدم تغييره لحجم الكريات الدموية .

ثانيا - خلط اوكسلات الأمونيوم والبوتاسيوم :

Ammonium and Potassium Oxalate Mixture

ويمكن تسميته اختصارا مزيج الأوكسلات المضاعف Double Oxalate Mixture ' أو الاوكسلات المتوازنة (Balanced Oxalate) ويمكن تحضير لتر من هذا المحلول كالآتى :

أكسلات الأمونيوم ١٢ جرام Ammonium Oxalate 12gm

أكسلات البوتاسيوم ٨ جرام Potassium OxAlate 8 gm

تذاب فى كمية من الماء وتكمل حتى ١٠٠٠سم Up to 1000 Distilled water

وبعض الآراء تقول يمكن اضافه الفورمالدهيد ذو النسبة ٣٨٪ Neutral Formaldehyde 38% بمقدار ١٠سم٣ ثم يتمم الحجم بعد ذلك بالماء المقطر الي لتر واحد ، وإن كل ١ ,سم٣ من المحلول كاف لمنع ١سم٣ من الدم المتجلط . وعلي هذا الاساس يوزع في انابيب نظيفة بمقدار معين من هذا المحلول تتناسب وكمية الدم المراد جمعها . ثم تترك الأنابيب لتجف في درجة حرارة الغرفة او بدرجة حرارة لاتزيد عن ٦٠ درجة مئوية . فالمواد المتبقية بعد تبخر ماء المحلول تبقي صالحة للاستخدام مدة غير محدودة دون أن تفسد.

يمتاز هذا المحلول بقلة تحلله لكريات الدموية والمحافظة علي شكلها ، لذلك يلجأ إليه اذا أريد معايرة البليروبين في البلازما .

ثالثا - سترات الصوديوم الثلاثية Tri Sodium Citrate

يتركب هذا المحلول المانع للتجلط من ملح $Na_3 C_6H5 0_{72} H_2 0.$ أو ملح $C_6H_5 0_{71} H_2 0.$ وذلك باذابة ٣٨ جرام من إحداهما في ١٠٠٠سم ماء مقطر. إن ١ ,سم٣ من أحد المحلولين كاف لمنع ١سم من الدم من التجلط ، وإن محلول السترات هو المحلول المفضل في دراسة عوامل الدم المجلطة .

رابعا - الهيبارين Heparin

مادة قوية من المواد المانعة للتجلط وقوته ١٠-٥٠ وحدة عالمية لمنع تجلط ١سم٣ من الدم ، وتمتاز بأنها لاتغير أحجام كريات الدم الحمراء ولاتسبب إنحلالاً مذكورا في عينة الدم ، لذلك فهي المادة المفضلة في فحص تحلل الخلايا الدموية الحمراء وأيضا في التحري والبحث عن خلايا الدم البيضاء وما عدا ذلك فليس لها إستخدام في معمل امراض الدم .

خامسا - آلية المواد المانعة للتجلط :

إن الـ E.D.T.A والأمونيوم أوكسلات والبوتاسيوم أوكسلات تمنع تخثر الدم بازالتها الكالسيوم الضروري في آلية التجلط بترسيبه بشكل اوكسلات الكلسيوم غير المنحلة ، أما الهيبارين فيمنع التجلط بواسطة عامل خاص موجود في الألبيومين الموجود في الدم .

طرق التعرف على بقع الدم

١- تجربة البنزيدين Benzidine Test

ضع في انبوبة اختبار ٢سم٣ من حمض الخليك الثلجي ، ٣سم٣ محلول مشبع من البنزيدين ثم أضف ٢سم٣ من الدم المخفف (١:١٠٠) ثم أضف ١سم٣ من محلول فوق اكسيد الهيدروجين $H_2()_2$ ٣٪ ولاحظ ظهور لون أزرق او اخضر دلالة علي وجود الدم ونتيجة لأكسده البنزيدين بالأكسجين المتصاعد من اكسدة الهيموجلوبين فوق أكسيد الهيدروجين.

٢- تجربة الحديد Iron test

أضف نقطتان من حمض الخليك الثلجي الي ٥سم٣ من الدم في أنبوبة إختبار ، أخلط جيدا ، ثم أضف محتويات الأنبوبة الأولي الي انبوبة أخري تحتوي علي ٢-٥ سم٣ ماء سبق غليه ، ثم أغلى لمدة دقيقة واحدة ، برد المخلوط ثم رشحه . ضع

الراسب في برتقه ثم سخن تدريجيا ثم بقوة لكي تحصل علي رماد . يبرد هذا الرماد ثم يذاب في ١سم٣ من حمض الهيدروكلوريك المركز ثم يخفف بالماء، اضف إلى هذا المخلوط بضع نقاط من ثيوسيانات البوتاسيوم ، لاحظ تكوين لون أحمر ، دلالة علي وجود الحديد .

٣- تكوين بلورات الهيم بواسطة طريقة (تيشمان) :

١- ضع نقطة من الدم علي شريحة زجاجية نظيفة وأتركها حتي تجف وضع عليها غطاء زجاجي .

٢- ضع نقطة أو أثنين من كاشف تيشمان (١, جم يوديد البوتاسيوم + ١, ٠جم كلوريد الصوديوم + ١, ٠جم بروميد البوتاسيوم + ١٠٠سم٣ من حمض الخليك الثلجي).

٣- سخن الشريحة بلطف ثم أتركها تبرد .

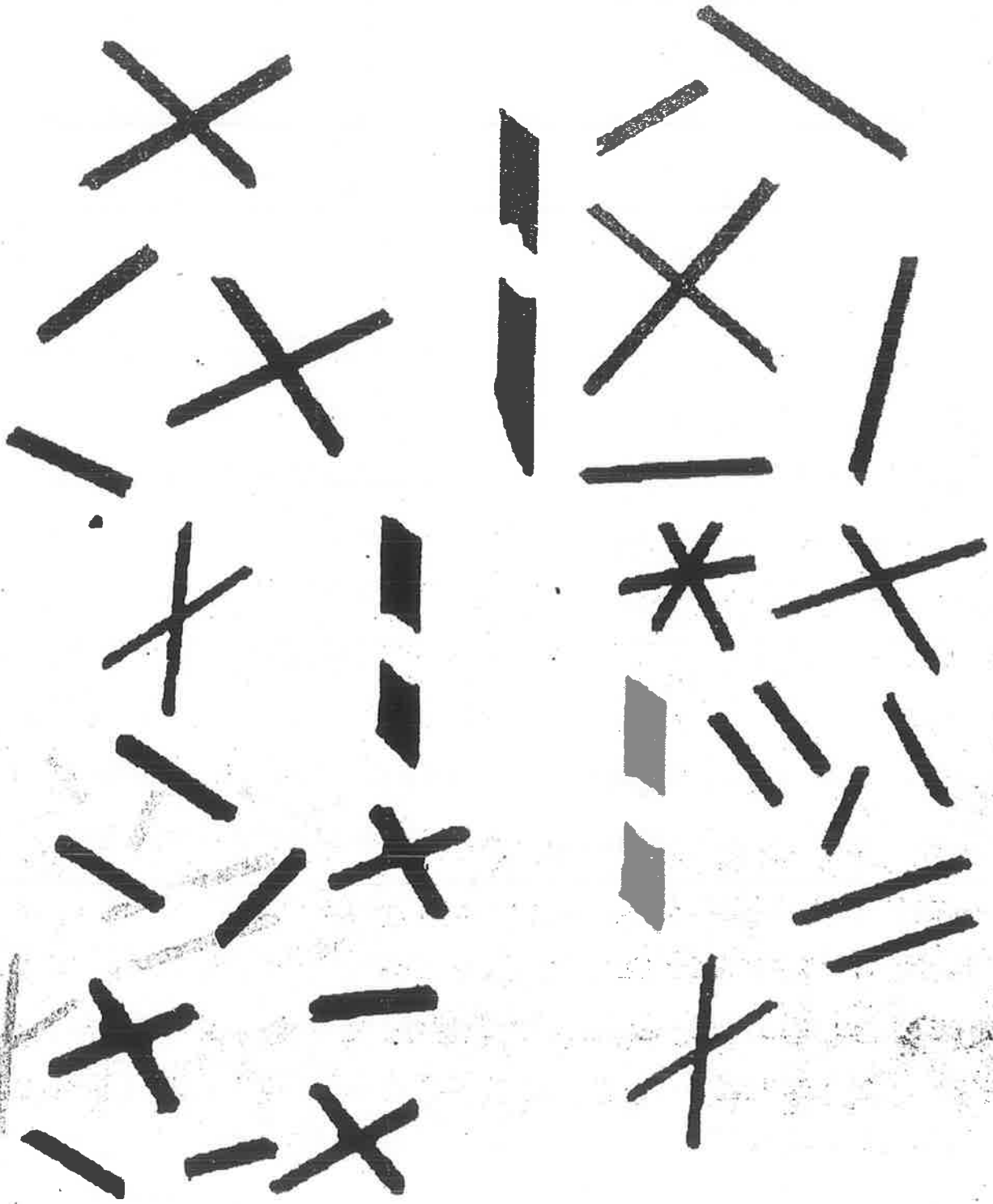
٤- أفحص شكل البلورات تحت الميكروسكوب بواسطة العدسة المكبرة ويظهر لونها بني محمر وهي إما تكون منفردة او في مجموعات ، وظهور هذه البلورات دلالة علي وجود الدم ، شكل رقم(٤) .

الكثافة النوعية للدم Spécial gravity of blood

١- ضع مخلوط من البنزين والكلوروفورم في أنبوبة إختبار ثم اضف الدم ، إذا كانت الكثافة النوعية للدم تشبه الكثافة النوعية لكل من البنزين والكلوروفورم فإن (الدم يوجد بين البنزين والكلوروفورم) ، أما اذا كانت الكثافة النوعية للدم أكثر فإن الدم سوف يغطس في قاع الانبوبة وهنا نضف البنزين حتي تعود الي وسط المخلوط ، وعلي العكس إذا طفت نقطة الدم علي سطح المخلوط ، نضف الكلوروفورم .

٢- ضع جهاز قياس الكثافة النوعية Hydrometer فى المخلوط ثم عين قيمة الكثافة النوعية للدم .

والكثافة النوعية للدم = ١٠٥٨



شكل (٤) : تكوين بلورات الهيم بطريقة تيشمان

تكسير أو هشاشة كرات الدم الحمراء

Osmotic Fragility of red blood Corpliscles

كرات الدم الحمراء لها غلاف غشائي مملوء بالهيموجلوبين وهذا الغلاف أو الغشاء البلازمي شبه منفذ ولهذا فإن المواد الموجودة في المحلول يمكنها أن تمر الي داخل أو إلي خارج كرة الدم الحمراء . انظر شكل (٥)

١- ففي حالة وجود تركيز متعادل Isotonic (٩ , ٠٪ جم كلوريد صوديوم) لايحدث تبادل لأن الضغط الأسموزي لكل من المحلول والخلية متساوي .

٢- أما اذا وضعت الخلية في محلول مخفف Hypotonic من كلوريد الصوديوم (٣ , أو ٥ , أو ٧ , ٠٪) فإنها تمتص الماء من المحلول الملحي وتنتفخ وتصبح دائرية ثم تنفجر لأن الضغط الأسموزي للمحلول الملحي اقل من الضغط الأسموزي لمكونات الخلية.

٣- أما اذا وضعت الخلية في محلول ملحي عالي التركيز Hypertonic (١ أو ١ , ٥ أو ٢٪) فإن الخلية أو الكرية تنكمش وتصبح متجعدة لأن الضغط الأسموزي لهذا المحلول أعلي من الضغط الأسموزي للمكونات الموجودة داخل الكرية ولهذا فإن محلول الخلية يغادرها الي المحلول الملحي الخارجي العالي التركيز .

قياس الهشاشية الاسموزية للخلايا الحمراء

Osmotic Fragility Test of red blood Cells

تمتلئ الخلايا الحمراء بالماء وتتكور وتزيد هشاشيتها إذا وضعت فى محلول ملحى مخفف (Hypotronic) تركيزه أقل من ٩ر٠٪ كلوريد الصوديوم . تتناسب هشاشية الخلايا الحمراء فى المحاليل الملحية المخففة عكسيا مع تركيز المحلول الملحى وطرديا مع سمك الخلايا الحمراء . لذا تقل أو تنعدم إمكانية إنتفاخ الخلايا المكورة (Spherocytes) بسبب دخول الماء إلى داخلها بفعل عدم الإتزان الأسموزى . تقل مقاومة الخلايا الحمراء للضغط الاسموزى الداخلى وتدخل كميات كبيرة من الماء إلى داخلها قبل أن تنفجر فى المحاليل المخففة نسبيا. لذا تزيد مقاومة الخلايا الحمراء للضغط الاسموزى الداخلى وتقل هشاشيتها كلما قل تكورها أو زاد تسطحها .

- تزيد هشاشية الخلايا الحمراء بسبب زيادة تكورها فى بعض الحالات الوراثية (Congential Spherocytosis) وفقر الدم التحللى (Hemolytic Anemia) . كما تقل هشاشية الخلايا الحمراء بسبب تسطحها المفرط كما فى بعض حالات اليرقان أو فقر الدم الناتج عن نقص الحديد وفقر الدم الثلاسيمى أو المنجلى وإحمرار الدم وأمراض الكبد واستئصال الطحال وفقر الدم المميز بوجود خلايا هدفية . وتظل الخلايا الحمراء كما هى فى حالة الثلاسيميا حتى لو وضعت فى ٠,٠٣ ٪ محلول ملحى أو الماء المقطر.

تقاس الهشاشية الاسموزية للخلايا الحمراء باضافة كميات متساوية من الدم إلى عدد من محاليل كلوريد الصوديوم مرتبة تنازليا بناءاً على تركيزها الذى يتراوح بين ٠,٢٤ ٪ - ٠,٦٨ ٪ .. تعتبر الهشاشية الأسموزية للخلايا الحمراء عالية نسبيا إذا تحللت فى محلول ملحى تركيزه أعلى من ٠,٣ ٪ وفيمايلى الخطوات المتبعة لقياس الهشاشية الأسموزية للخلايا الحمراء .

١- يحضر محلول ١٪ كلوريد الصوديوم باذابه ١ جم من الملح النقى بالماء المقطر ويخفف المحلول الناتج إلى ١٠٠ ملل .

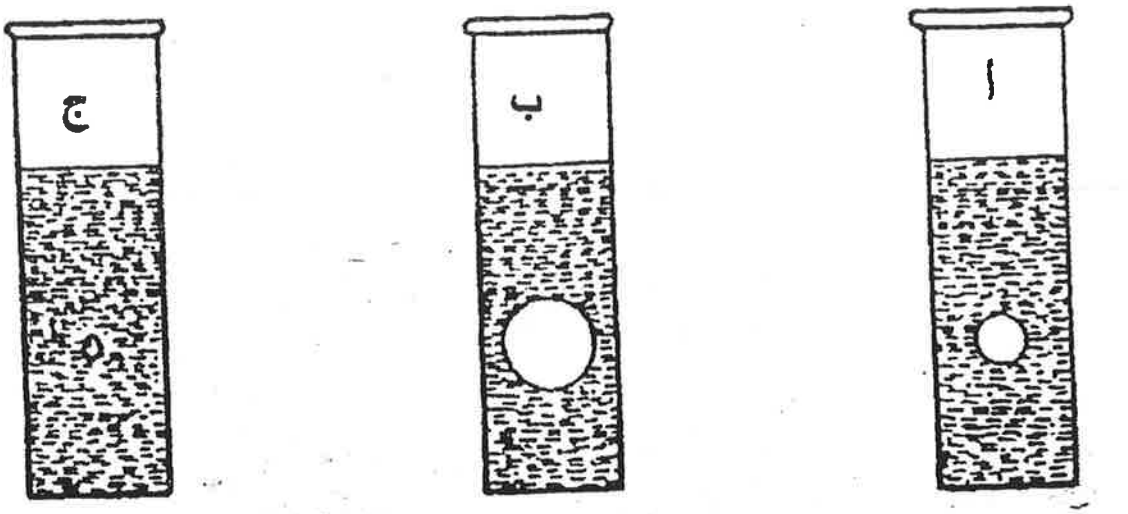
٢- تحضر محاليل كلوريد الصوديوم المخففة فى أنابيب الطرد المركزى كما يلى :-

رقم الأنبوبة	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩	١٠	١١
ملل ماء مقطر	٣,٨	٣,٦	٣,٤	٣,٢	٣,٠٠	٢,٨	٢,٦	٢,٤	٢,٢	٢,٠٠	١,٨
ملل ١٪ NaCl	١,٢	١,٤	١,٦	١,٨	٢,٠٠	٢,٢	٢,٤	٢,٦	٢,٨	٣,٠٠	٣,٢
النسبة المئوية لـ NaCl	٢٤ر٠٪	٢٨ر٠٪	٣٢ر٠٪	٣٦ر٠٪	٤٠ر٠٪	٤٤ر٠٪	٤٨ر٠٪	٥٢ر٠٪	٥٦ر٠٪	٦٠ر٠٪	٦٤ر٠٪

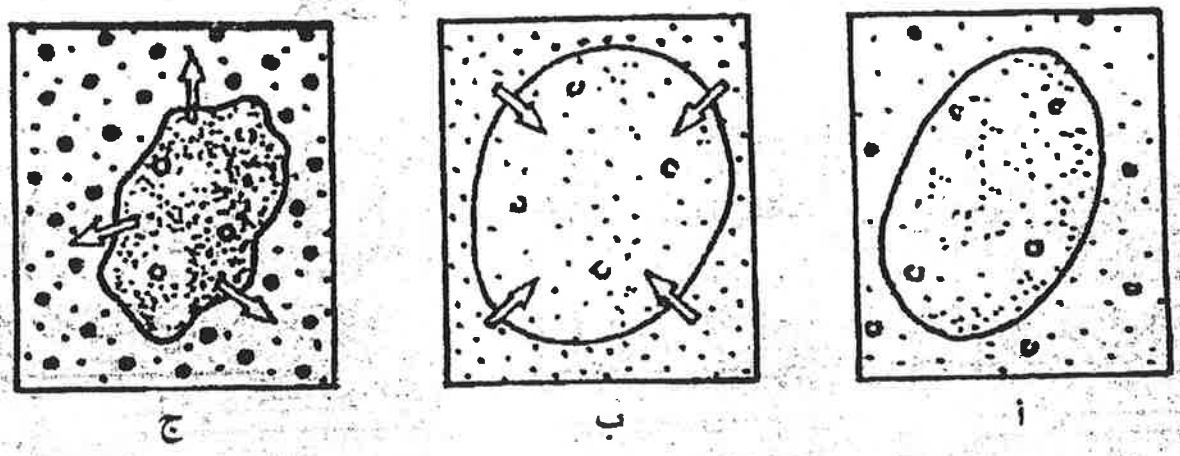
نقلب الأنابيب لمزج محتوياتها فى الماء والمحلول الملحى .

٣- يضاف إلى كل أنبوبة ٠٢ر٠ ملل دم وتمزج جيدا بالتقليب وتترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٣٠ دقيقة حيث ترسب الخلايا الحمراء غير المتحللة. تزيد شفافية محلول الخلايا الناتج كلما زاد تحللها . تعرض العينات للطرد المركزى بسرعة ١٢٠٠ - ١٥٠٠ لفه لمدة ٥ دقائق لزيادة سرعة ترسيب الخلايا الحمراء .

٤- يحدد أعلى تركيز للمحلول الملحى يبدأ فيه تحلل الخلايا الحمراء الذى يتميز بظهور اللون الأحمر فى المحلول الطافى الشفاف . كما يحدد تركيز المحلول الملحى الذى



أسموزية كرات الدم الحمراء فى محاليل ملحية مختلفة التركيز



شكل (٥) : الهشاشية الأسموزية لخلايا الدم الحمراء

يكتمل فيه تحلل الخلايا الحمراء حيث تختفى تماما من المحلول .

٥- يكتب تقرير الهشاشية للخلايا الحمواء كما يلى :

	بتداء التحلل	اكتمال التحلل	معدل الهشاشية
المريض	٠ر٤٨ ٪	٠ر٣٦ ٪	٠ر٤٢ ٪
الطبيعى	٠ر٤٤ ٪	٠ر٣٢ ٪	٠ر٣٨ ٪

٦- تستعمل عينات الدم المسحوبة على الهيبارين أو الخالية من الفيبرينوجين . ويجب عدم استعمال العينات المسحوبة على السترات أو الاكسلات لتجنب زيادة تركيز المحلول الملحى . كما يجب فحص العينات خلال ساعتين فى درجة حرارة الغرفة وخلال ٦ ساعات فى الثلاجة.

٧- يجب مراعاة الدقة التامة فى تحضير المحاليل وتثبيت الرقم الهيدروجسنى بحدود ٧,٤ (تتغير الهشاشية بحوالى ٠,١ ٪ محلول كلوريد الصوديوم عندما يختلف الرقم الهيدروجينى بمقدار ٠,١ بشكل عكسى) لذا يستبدل محلول كلوريد الصوديوم بمنظم الفوسفات الذى يحضر باذابة المركبات التالية فى لترين ماء مقطر ٢٧,٣١ جم من $Na_2H_2PO_4$ و ١٨٠جم كلوريد الصوديوم ٤,٨٦و جم من Na_2HPO_4 فى الماء المقطر .

يقدر تركيز المحلول الناتج بحوالى ١٠ ٪ لذا يجب تخفيفها عشرة مرات قبل استعمالها.

٨- تتناسب هشاشية الخلايا الحمراء طرديا مع درجة الحرارة بحيث تزيد الهشاشية بـ ١٪ محلول كلوريد الصوديوم لكل ٥ درجات حرارة زيادة.

٩- يقاس مدى تحلل الخلايا الحمراء بقراءة طيف الامتصاص الشفاف فى مختلف الأنابيب على موجة ضوئية طولها ٥٤٩ nm . يجب أن يكون قطر أنبوبة القراءة (Cuvette) مناسبا لاكتمال تحلل الخلايا الحمراء على الكثافة الضوئية تمثل الناتج بخط بيانى يربط بين تركيز المحلول الملحى على الخط الأفقى والنسبة المئوية لتحلل الخلايا الحمراء على الخط العمودى . وتعرف النسبة المئوية لتحلل الخلايا الحمراء بالنسبة المئوية للكثافة الضوئية فى أى انبوب إلي الكثافة الضوئية فى أنبوب التحلل الكامل كما يلى :-

النسبة المئوية للتحلل فى الأنبوبة = $\frac{\text{طيف الامتصاص للأنبوب - ١}}{\text{ليف الامتصاص فى أنبوب التحلل الكامل}} \times ١٠٠$

الطريقة Method

١-ضع ١سم٣ من الدم في أنبوبة اختبار ثم اضف ١سم٣ من ٨٥, أو ٩, ٠٪ محلول كلوريد صوديوم .

٢-ضع ١سم٣ من الدم في انبوبة اختبار ثانية ثم اضف ١سم٣ من ٣, أو ٥, أو ٧, ٠٪ محلول كلوريد صوديوم .

٣ضع في الانبوبة الثالثة ١سم٣ من الدم ثم اضف ١سم٣ من ١, أو ١, ٥ او ٢٪ من محلول كلوريد الصوديوم .

رج الأنابيب الثلاثة ولاحظ النتائج :

١- في الأنبوبة الأولي لايحدث تغيير فى الدم أو فى المحلول المتعادل Isotonic Soilution.

٢- في الأنبوبة الثانية تنفجر الكريات الدموية الحمراء ويخرج منها الهيموجلوبين ويتلون المحلول الملحي باللون الأحمر (تحلل الدم) لو وضع فى محلول مخفف Hypotonic Solution.

٣- اما الدم في الانبوبة الثالثة يتحول الي خلايا منكمشة لخروج محتوياتها الي المحلول الملحي عال التركيز (Hyperyonic Solution).

عد وحساب كرات الدم الحمراء

Red blood cells count

١- نظف شريحة العد الهيموسيوميتر Haemocytometer Slide جيدا كما فى شكل رقم(٦)

٢- جهز الماصة ذات الخرزة الحمراء بعد تنظيفها بالماء والكحول والماء المقطر ثم بالمحلول الفسيولوجي ثم جففها جيدا في الهواء . انظر شكل (٦ ، ٧).

٣- سحب الدم من طرف الأصبع بعد مسحة بالكحول ، أو سحب الدم من الوريد وإضافه مادة مانعة للتجلط (السابق ذكرها) إليه للحفاظ علي سيولته مدة طويلة

٤- سحب الدم حتي العلامة ٠,٥ الموجودة علي الماصة .

٥- سحب بالماصة التي بها الدم محلول التخفيف (محلول التخفيف عبارة عن : (كلوريد زئبق ١جم+ كبريتات صوديوم لامائية ٤,٥ جم + كلوريد صوديوم ٢ جم ويكمل بالماء المقطر ٤٠٠سم٣)ويرشح) حتي العلامة ١٠١ فيصبح تخفيف الدم (١:٢٠٠) .

٦- أخلط محتويات الماصة بمسكها بين السبابة والإبهام ولفها علي هيئة 8 لمدة نصف دقيقة وذلك بعد نزع الجزء المطاطي من الماصة الزجاجية .

٧- جهز شريحة الهيموسيتوميتر تحت الميكروسكوب وضع عليها غطاء زجاجي ثم تخلص من نقطة أو نقطتين من الماصة التي بها الدم المخفف ، ثم ضع نقطة واحدة فقط من الماصة علي الشريحة الزجاجية أسفل الغطاء الزجاجي مباشرة وبدون تحريك هذا الغطاء.

٨- انتظر دقيقتان ثم عد كريات الدم الموجودة فى خمس مربعات كبيرة .

٩- تعد كل كريات الدم الموجودة في المربعات الصغيرة ويضاف اليها الكريات الموجودة علي جدار المربع الكبير والموجودة على ضلعين فقط من المربع الكبير علي هيئة حرف L . انظر الشكل (٨) . ويمكن تحليل صورة الدم الكاملة اتوماتيكيا كما فى شكل (٩).

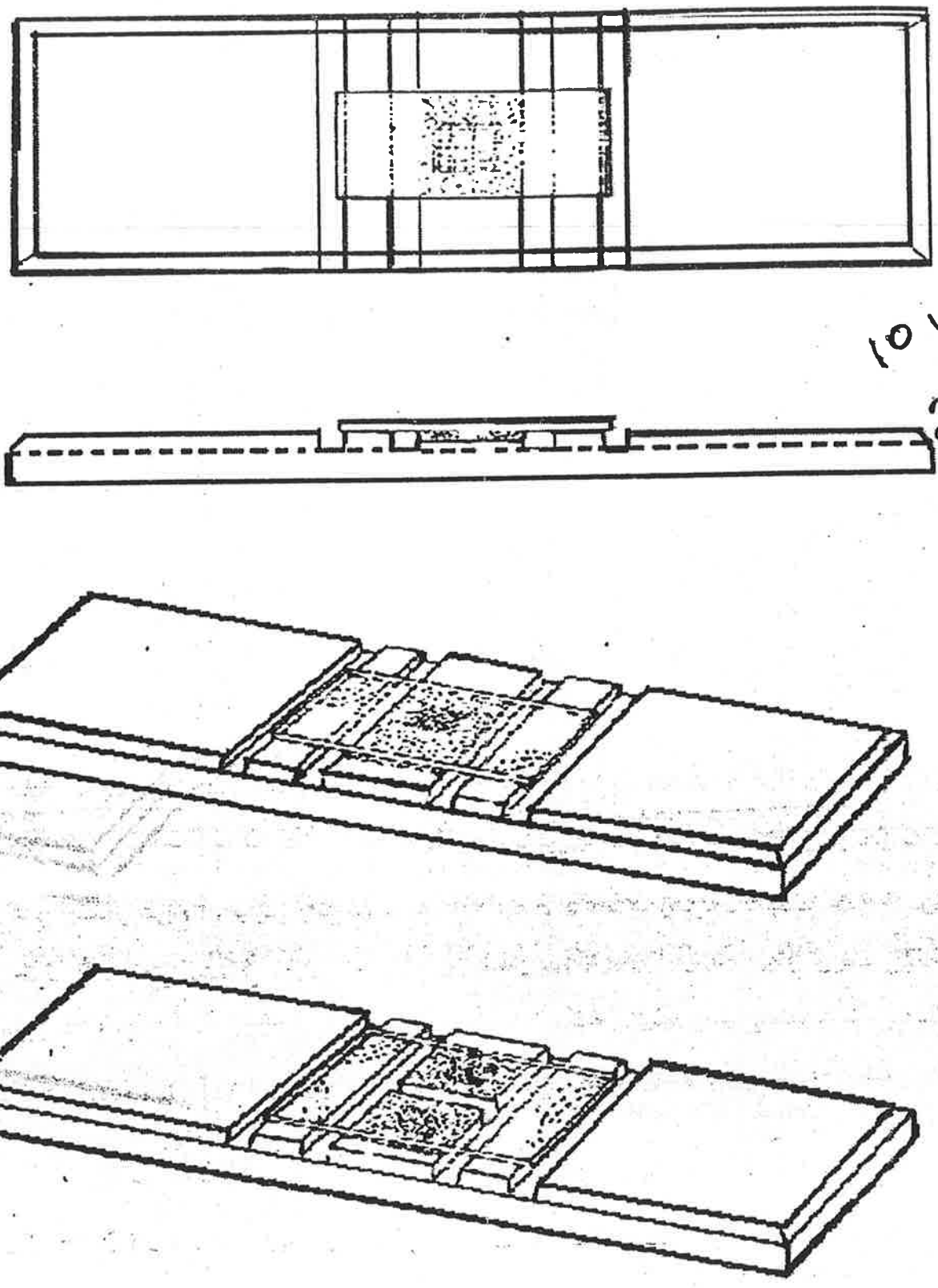
طريقة الحساب : Calculation

١- مساحة سطح المربع الصغير = $\frac{١}{٢٠} \times \frac{١}{٢٠} = \frac{١}{٤٠٠}$ سم٢

٢- حجم المربع الصغير = $\frac{١}{٢٠} \times \frac{١}{٢٠} \times \frac{١}{١٠} = \frac{١}{٤٠٠}$ سم٣

٣- عدد كرات الدم الحمراء في ٥ مربعات كبيرة (٥× ١٦) = ن

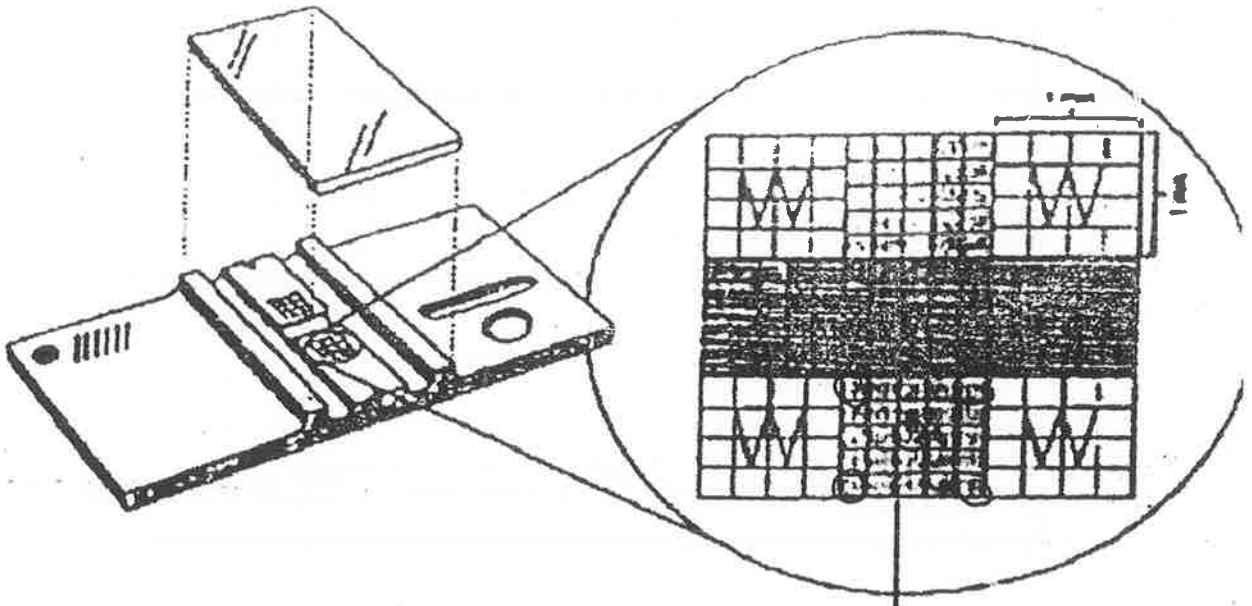
عدد كرات الدم الحمراء في ١ مم٣ من الدم = $\frac{ن \times ٤٠٠ \times ٢٠٠}{٨٠٠}$



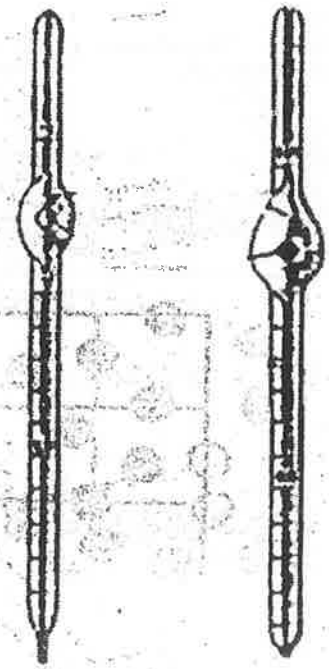
شكل (٦) : شريحة عد الدم

(A) : الشريحة فى الوضع الأفقى (B) : الجزء الأوسط للشريحة

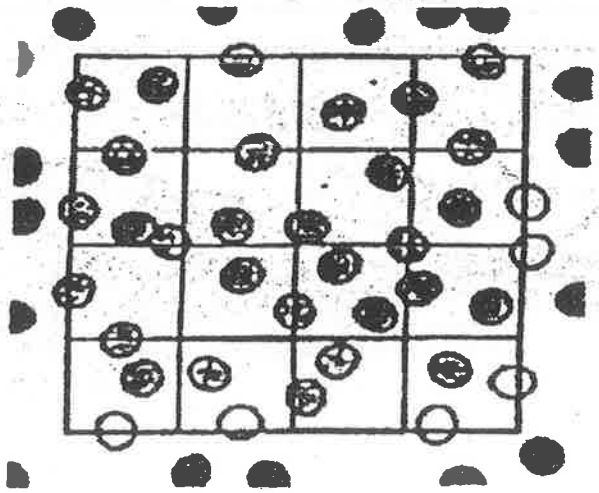
(C) : الشريحة بعد وضع الغطاء (D) : الشريحة بعد وضع الدم المخفف تحت الغطاء



ماصة عد الدم الأحمر

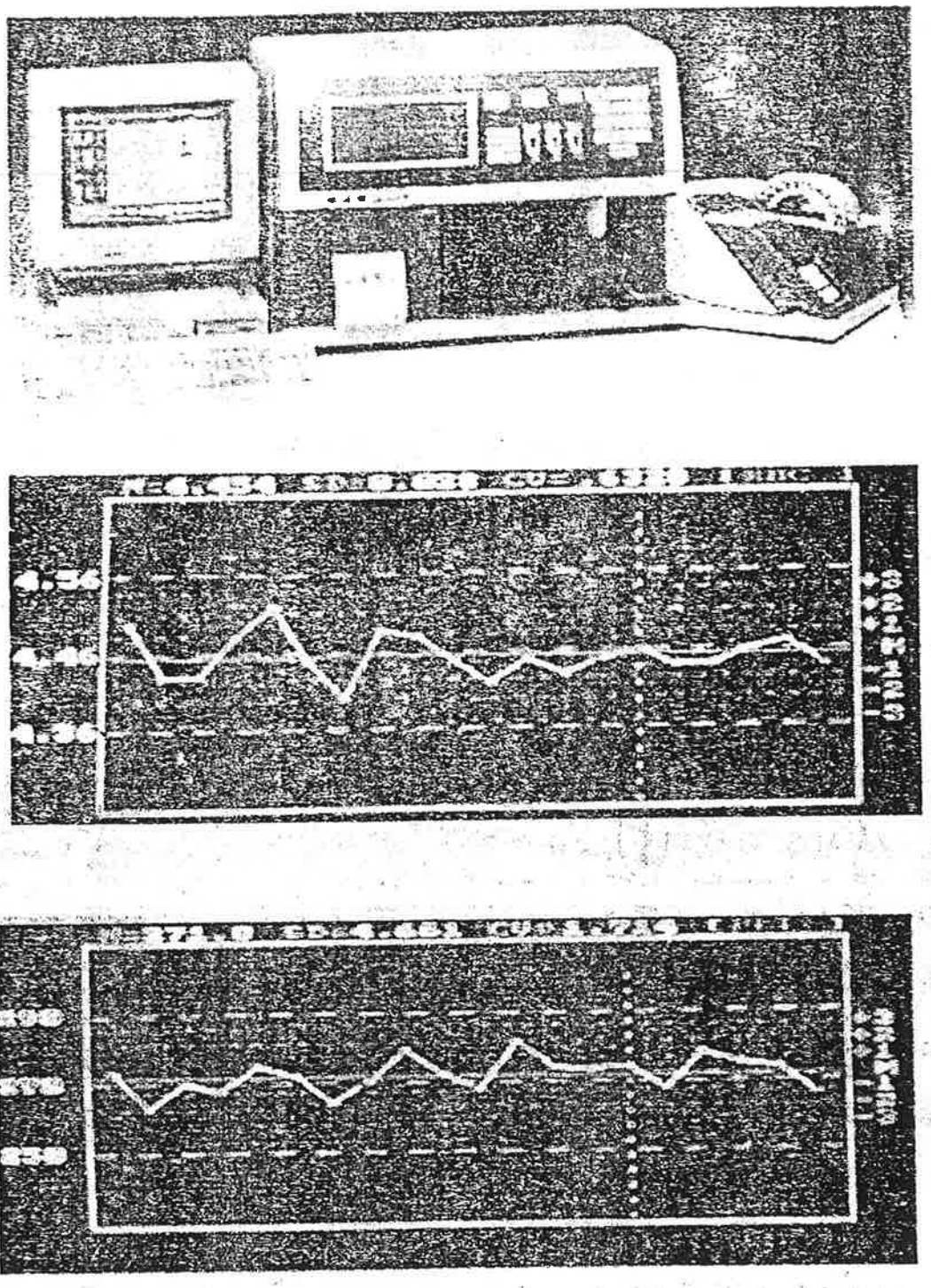


ماصة عد الدم الأبيض



مربع كبير

شكل (٧) : شريحة عد الدم والماصات (ماصة سوما) المستخدمة للتخفيف



شكل (٨) : جهاز تحليل صورة دم كاملة أوتوماتيكياً

حيث ٢٠٠ هي نسبة التخفيف

∴ عدد كرات الدم الحمراء الموجودة = ٪ × ١٠,٠٠٠

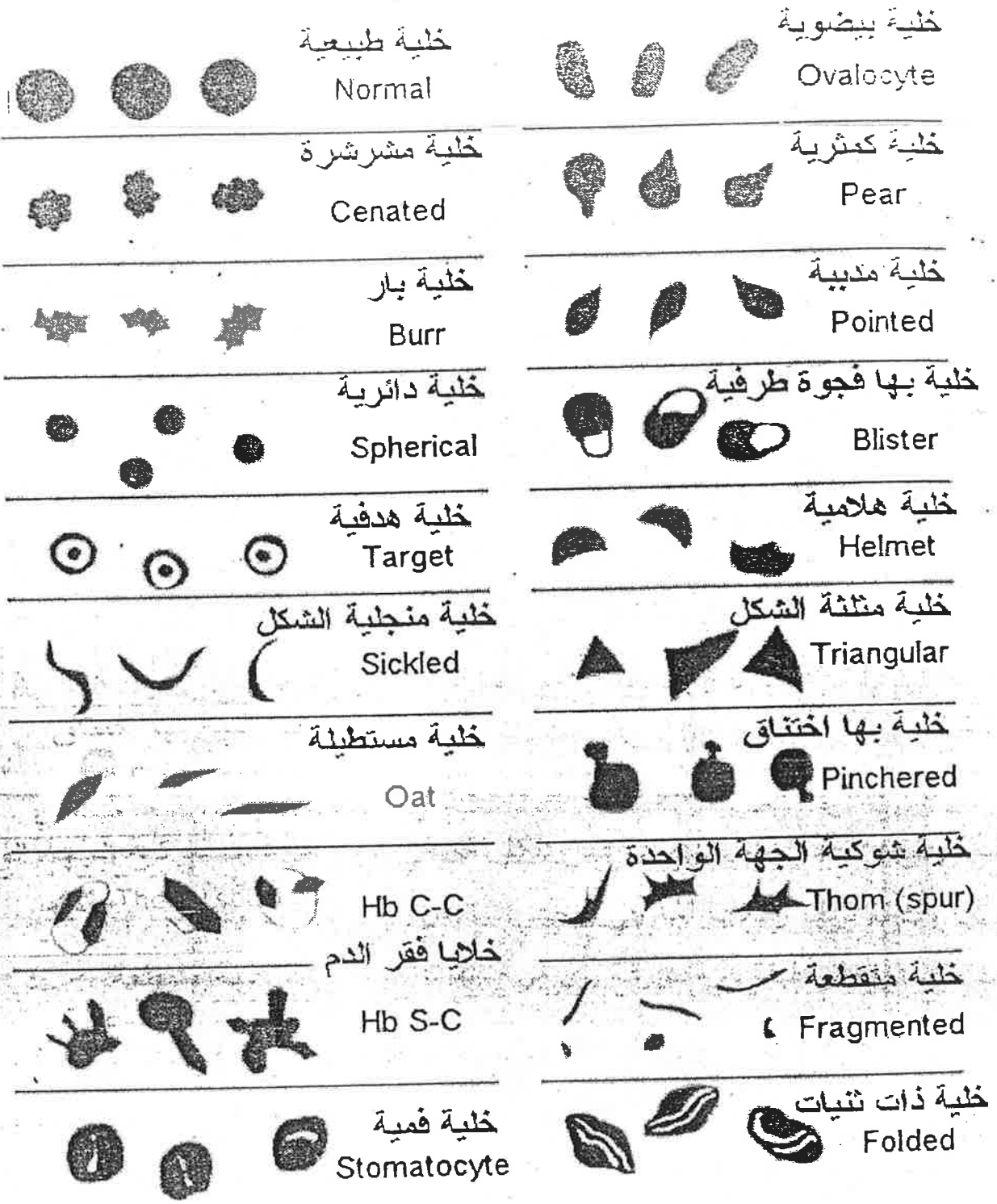
وعدد كرات الدم الحمراء في الذكور تتراوح مابين ٥ - ٦ مليون خلية /مم٣ بينما في الاناث تتراوح مابين ٤- ٥ مليون خلية/مم٣ ، وتزداد هذه النسبة في الاطفال وتقل في حالة الأنيميا أو فقر الدم أو سوء التغذية أو المجاعة أثناء الحروب أو سوء امتصاص الغذاء فى حالة مرض الجسم أو تناول كمية كبيرة من الشاى المغلى قبل امتصاص الطعام .

أشكال خلايا الدم الحمراء
Morphology of Red Blood Cells

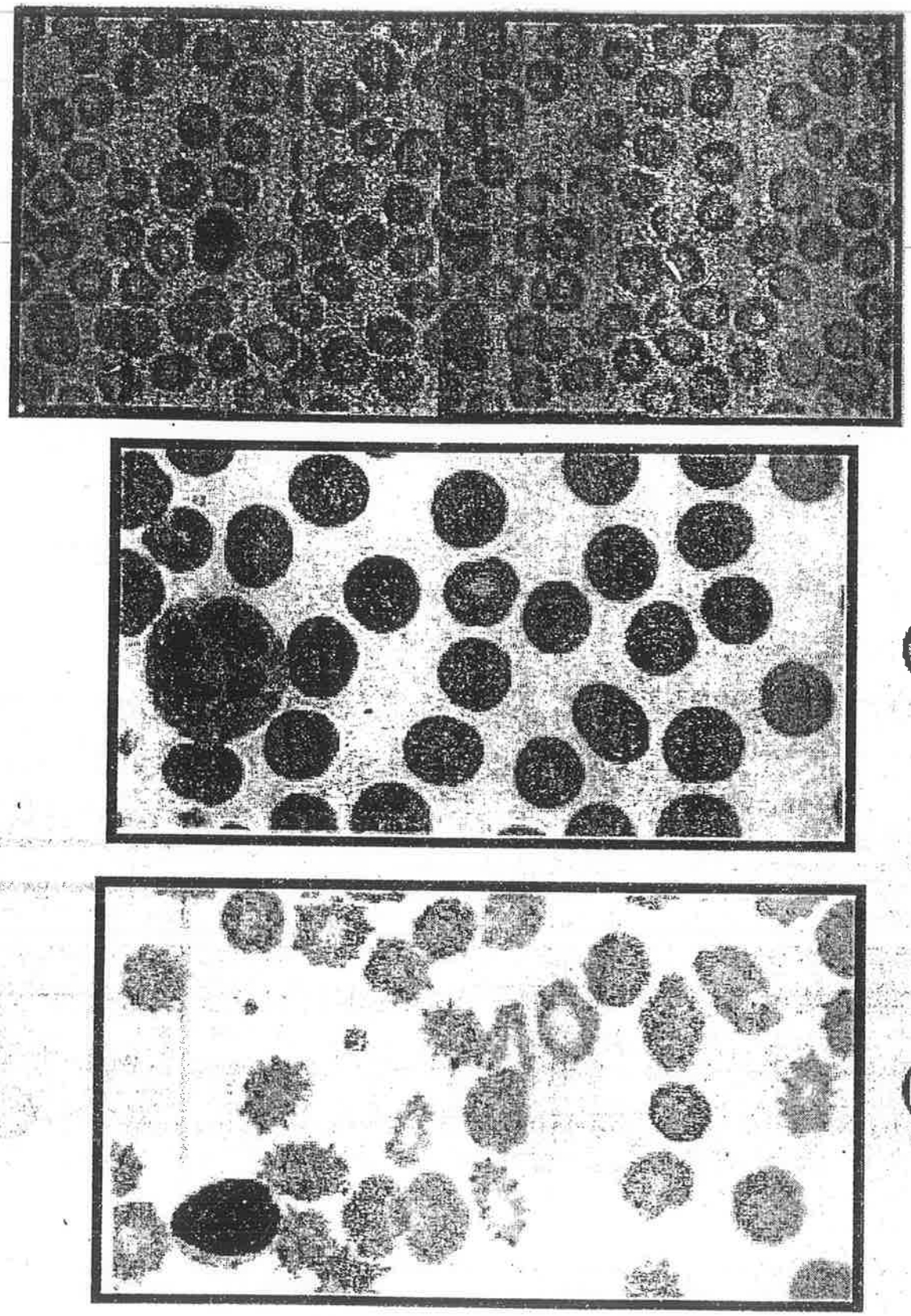
يحتوى الدم على خلايا طبيعية وغير طبيعية كما فى شكل (٩). تكون الخلية الحمراء الطبيعية الناضجة قرصية الشكل ومقعرة من الجانبين ويقدر قطرها بحوالي ٨ ميكرون وسمكها عند الحواف بحوالي ٢ ميكرون وحجمها حوالي ٩٠ ميكرون ، كما في شكل (١٠) .

لاتحتوي الخلية الحمراء الناضجة علي نواة كما يشكل الهيموجلوبين الموجود داخل الخلية الحمراء الناضجة حوالي ٣٣٪ من حجمها ، عند الحاجة للتعرف علي شكل الخلية الحمراء وخصائصها يجب التأكد من حجمها وكثافة لونها وشكلها الخارجي ومحتوياتها عن طريق قياس مؤشراتها(PCV. MCH. MCHC) وفحص طبقة دم مصبوغة بأي من صبغات رومانوسكي والتي تشمل صبغات ليشمان(Leishman) ورايت (Wright) وجيمسا (Gemsa) .

تصنف الخلايا الحمراء بناءا علي حجمها الي خلايا كبيرة (Macrocyte) وطبيعية الحجم (Normocyte) وخلايا صغيرة (Microcyte) وأنواع اخري غير طبيعية ومنها :



شكل (٩) : أشكال الخلايا الحمراء الطبيعية وغير الطبيعية Erythrocytes Shape



شكل (١٠) : أفلام لعينة دم مصبوغة لتوضيح خلايا الدم الحمراء الطبيعية (أ ، ب) أما العينة (ج) فهي لفيلم حضر بعد مرور ١٨ ساعة عند درجة حرارة ٢٠ درجة مئوية

الخلايا الحمراء المسطحة Leptocytosis

تبدو الخلايا الحمراء باهتة اللون (Hypochromic) بسبب قلة سمكها ، وتتميز بتوزيع الهيموجلوبين فيها بشكل حلقي حول مركز الخلية الحمراء الخالي من الهيموجلوبين ، تسمي الخلايا الحمراء المسطحة والمصبوغة في مركزها بالخلايا الهدفية (Target) ويدل وجودها علي عدم اكتمال الهيموجلوبين او وجود هيموجلوبين غير طبيعي مثل Hb-E او Hb-C أو التهاب الكبد (Hepatitis) أو اليرقان الانسدادي او عند استئصال الطحال . تتكون الخلايا الحمراء الهدفية بسبب زيادة تركيز الكوليسترول والدهون الفسفورية في جدار الخلايا الحمراء .

الخلايا الحمراء الشوكية Acanthocytosis = Spine RBCs

تظهر الخلايا الحمراء في هذه الحالة مسننة علي هيئة براعم سطحية غير حادة كما فى شكل (١١) وتنشأ بسبب خلل وراثي في التمثيل الكيميائي للدهون الفسفورية او في حالة تشمع الكبد (Liver Cirrhosis) يشير ظهور الخلايا الحمراء الشوكية إلى استمرار عملية تحلل الخلايا الحمراء، كما فى شكل رقم(١١).

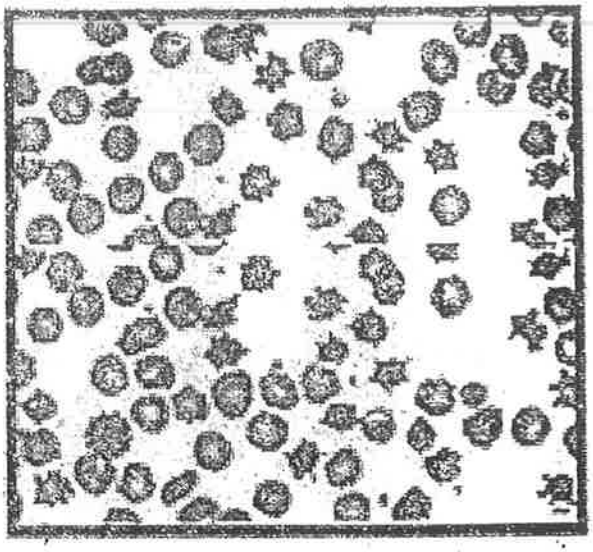
الخلايا الحمراء الفمية Stomatocytosis

تتميز هذه الخلايا الحمراء باستطالة تقعرها المركزي بدل استدارته مما يعطيه شكل الفم في شرائح الدم المصبوغة بصبغة رايت (Wright) او اي من صبغات رومانوسكي ، تظهر هذه الخلايا بشكل مكثف في بعض حالات فقر الدم التحللي الوراثي او عند تعاطي بعض الادوية بشكل مؤقت .كما فى شكل رقم(١٢) .

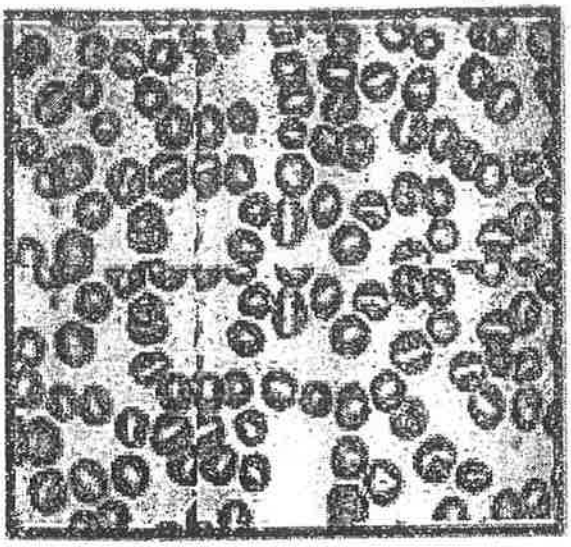
اختلاف حجم الخلايا الحمراء :

تظهر الخلايا الحمراء باحجام متفاوته لأسباب مختلفة كمايلي :

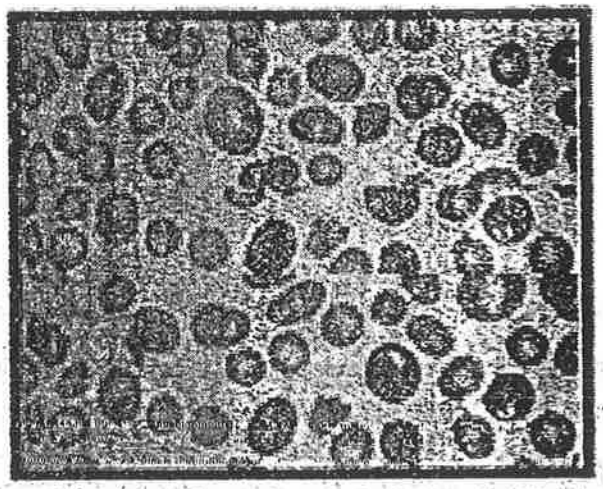
أ - الخلايا الحمراء الكبيرة (Macrocytosis) : يزيد حجم الخلايا الحمراء عن حجمها الطبيعي (٩٨ ميكرون مكعب) بسبب عجز الخلايا الحمراء عن الانقسام نتيجة نقص فيتامين ب١٢ او حامض الفوليك أو بسبب زيادة سرعة تكوينها حيث يكون بعضها



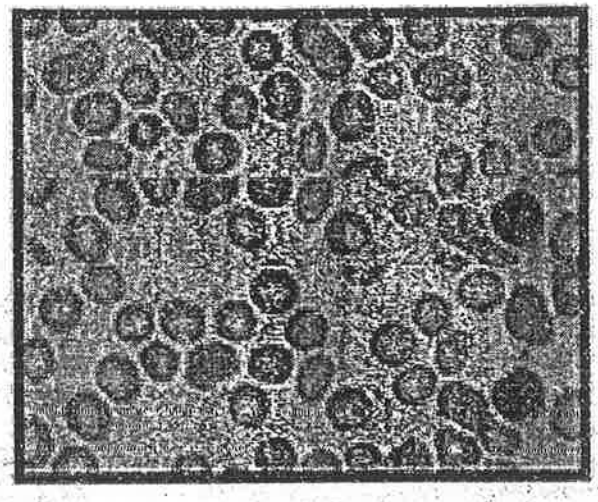
شكل (١١) : الخلايا الشوكية



شكل (١٢) : الخلايا الفمية



شكل (١٣) : الخلايا الكبيرة



شكل (١٤) : الخلايا الصغيرة

أشكال خلايا الدم الحمراء الغير طبيعية (أ)

صغير السن . تظهر هذه الخلايا في فقر الدم الناتج عن عدم نضوج نواة الخلايا الحمراء أو في حالة الكبد الدهنى او فقر الدم التحللي و تسمي الخلايا الحمراء التي يزيد قطرها عن ١٠ ميكرون مكعب بالخلايا الحمراء العملاقة (Giant RBC) التي يقدر حجمها بـ ١٣٠ - ١٥٠ميكرون مكعب - كما فى شكل (١٣) .

ب - الخلايا الحمراء الصغيرة (Microcytosis) : يقل حجم الخلايا الحمراء عن

حجمها الطبسعي (٧٦ ميكرون مكعب) ويدل ذلك على وجود خلل في السيتوبلازم وعملية تكوين الهيموجلوبين ، كما فى شكل (١٤).

جـ - الخلايا الحمراء متعددة الحجم (Anisocytosis) : تتميز هذه الحالة بعدم تجانس حجم الخلايا الحمراء اذ تظهر الخلايا الحمراء الكبيرة والطبيعية والصغيرة بشكل متفاوت ، كما فى شكل (١٥) .

الخلايا المنجلية Sickle cells

تتميز هذه الحالة بوجود نسبة كبيرة من الخلايا الحمراء التي تشبه المنجل وتنشأ لأسباب وراثية ، تحتوي الخلايا الحمراء المنجلية علي الهيموجلوبين المنجلي (Hb-S) وعلي هيموجلوبين Hb - B و Hb-C ووجود نسبة عالية من هذه الخلايا مما تسبب فقر الدم ونقص عدد الخلايا الحمراء الناقلة للأكسجين . انظر شكل (١٦).

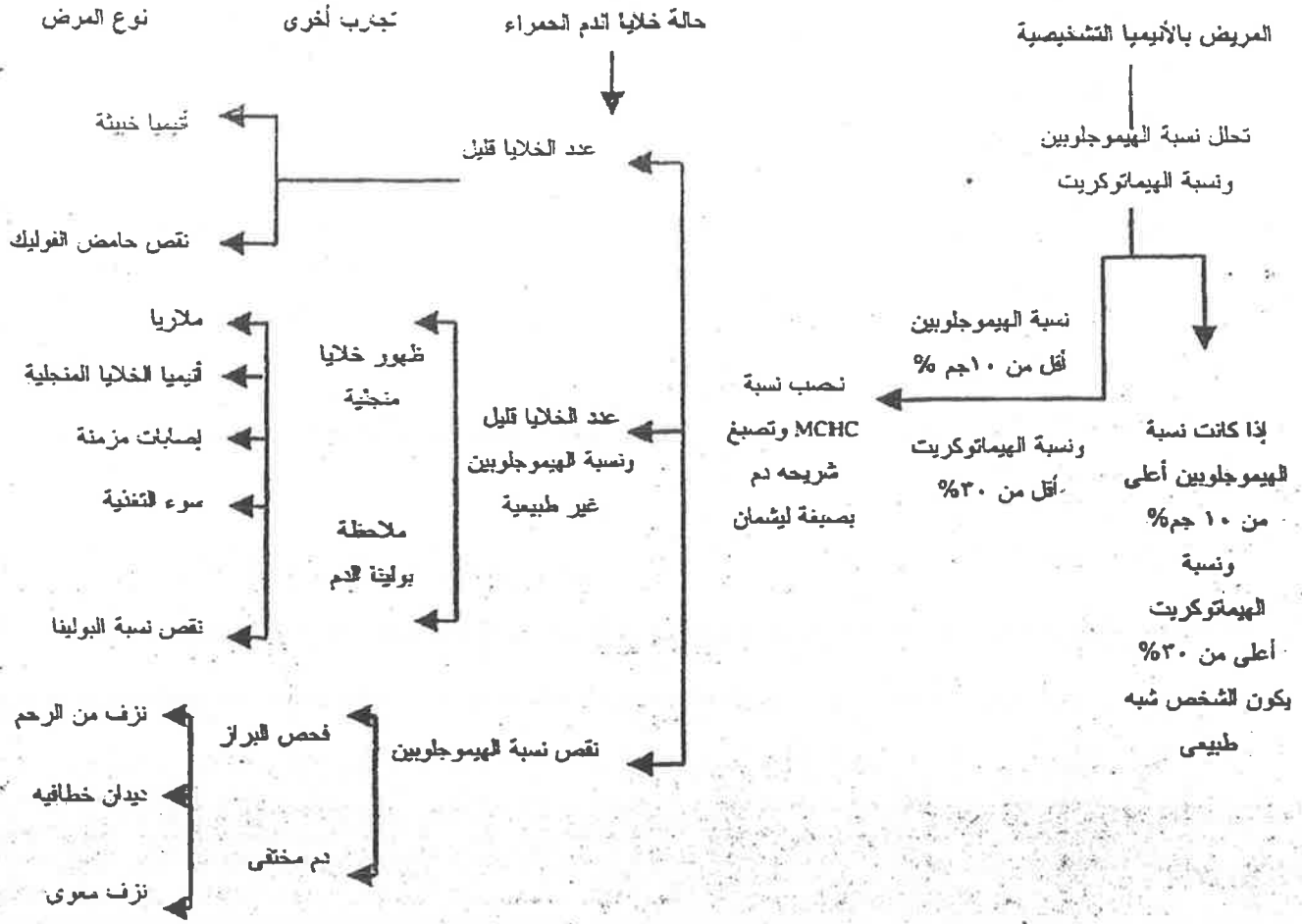
الخلايا الشبكية Reiculocytes

هي آخر مرحلة قبل نضوج الخلية الحمراء وتتميز بوجود سلاسل متشابكة من جزيئات RNA، تظهر شبكة سلاسل RNA زرقاء اللون عندما تصبغ الخلايا الحمراء بأي صبغة من صبغات Brilliant Gresyl or New Methylene Blue ، كما تتميز بأن حجمها اكبر من حجم الخلايا الطبيعية ، كما يدل تكوين الخلايا الشبكية على زيادة سرعة تكوين الخلايا الحمراء ،كما فى شكل (١٧).

تسمي الخلايا الشبكية عندما تظهر جزئيات RNA علي هيئة نقط صغيرة بدلاً من السلاسل بالخلية الحمراء المنقطة Stippled (Diffuse) ، تزيد نسبة الخلايا المنقطة عند وجود خلل في خلايا النخاع العظمي او عند زيادة افراز هرمون الاريثروبويتين (Erythropoieten) ويظهر التنقيط الكثيف في سيتوبلازم الخلايا الحمراء عادة عند التسمم بالرصاص وبعض المواد الثقيلة الأخرى .

الخلايا الحمراء التي تحتوي علي اجسام هوويل جولي Howell Jolly bodies

تظهر اجسام هوويل جولي علي شكل جسيمات كروية حمراء اللون قليلة العدد داخل الخلايا الحمراء المصبوغة باحدي صبغات روماتوسكي وتمثل بقايا النواة ، تحتوي الخلايا الحمراء علي اجسام هوويل جولي في بعض حالات فقر الدم التحللي او فقر الدم الخبيث او بعد استئصال الطحال جراحيا، كما فى شكل(١٨) .



دليـــل فقـــــر الـــدم

الخلايا الحمراء التي تحتوي علي اجسام هينز Heinz Bodies

تظهر أجسام هينز في الخلايا الحمراء بعد إستئصال الطحال وفي فقر الدم التحللي الناتج عن نقص الانزيم النازع لهيدروجين الجلوكوز ومشتقاته وفي حالة الهيموجلوبينوباثيا والثلاسيميا الاساسية ، يمكن الحصول علي خلايا حمراء بأجسام هينز بواسطة الفينيل هيدرازين (Phenyl hydrazine) وصبغة الميثيلين البنفسجى Methye Violet والميثيلين الازرق (Methylene Blue) تظهر اجسام هينز في هذه الحالة في الحقول المجهرية المظلمة علي هيئة جسيمات براقة (١-٢ ميكرون) في جدار الخلايا الحمراء الناضجة ، كما فى شكل (١٩).

الخلايا الحمراء التي تحتوي علي حلقات كابوت Cabot Rings

تظهر حلقات كابوت الحمراء القرمزية اللون بشكل أحادي أو ثنائي مطوية لتكون حلقتين متداخلتين أو مفردة لتكون حلقتين متصلتين في عينات الدم المصبوغة باحدي صبغات رومانوسكي . تظهر الخلايا التي تحتوي علي حلقات كابوت في دم الذين يعانون من فقر الدم الناتج عن نقص فيتامين ب /١٢ او التسمم بالرصاص كما فى شكل(٩).

خلايا النورموبلاست Normoblast

هي الخلايا الحمراء غير الناضجة التي تحتوي علي نواة ، تظهر خلايا النورموبلاست في حالات فقر الدم الحادة وخاصه في الأطفال الذين يعانون من فقر الدم التحللي عند الولادة والذي يسمي ايضا Erythroblastosis لانه يتميز بزيادة عدد خلايا النورموبلاست التي تسمي احيانا Erythroblasts كما فى شكل (٢٠) يصغر حجم نواة النورموبلاست بشكل تدريجي وقد تتجزأ وتظهر النواة صغيرة ومميزة وقريبة من الجدار وكثيفة اللون بالمقارنة مع نواة الخلايا البيضاء في نفس مراحل النمو.

تغيرات تحدث في كريات الدم الحمراء Abnormatities of Red Blood Cells

تتميز الكرية الحمراء الطبيعية بأنها مدورة الشكل ، يملؤها الهيموجلوبين ، يبدو ثلثها المركزي باهتا نظرا لتقعر سطحها ، يبلغ طول قطرها حوالي ٧٠ ميكرون.

ويتغير هذا الشكل نتيجة لاضطرابات ترجع إلى ثلاثة أسباب :

١- اضطراب في تصنيع الدم سواء بوجود فقر دم واضح او بدونه

٢- نقص في تشكيل الهيموجلوبين

٣- تخريب او تغيرات تؤثر علي الكريات الحمراء نتيجة لوجود طفيليات .

وينتج عن هذه الاضطرابات السابقة التغيرات التالية :

- التفاوت في حجم الخلايا وعدم انتظام شكلها .

١- **تفاوت الكريات الحمراء** : وهي صفه غير نوعية Poikilocytosis ، يستعمل هذا التعبير لوصف الحال التي تكون فيها الكريات ذات حجوم مختلفة في نفس الدم مثلا كريات حمراء كبيرة قطرها ٩ ميكرون مع كريات دمويه حمراء صغيرة قطرها ٦ ميكرون ، وتشاهد هذه الحالة في كثير من أنواع فقر الدم (الانيميا) .انظرشكل (٢١)

أ- **الكريات الكبيرة** : عبارة عن كريات دموية حمراء كبيرة الحجم مقاسها ٩-١٠ ميكرون تشاهد في انواع فقر الدم ذي الكريات الكبرية الناجمة عن نقص حمض الفوليك او الفيتامين ب ١٢ وبعض أمراض الكبد وفقر الدم Aplasrtic anaemia.

ب- **الكريات الصغيرة** :وتشاهد في حالات فقر الدم بنقص الحديد والثلاسيميا (نقص فى تركيز هيموجلوبين الخلية وهى حالة مرضية وراثية) اما في حالات انحلال الدم المناعي فتكون الخلية صغيرة نظرا لتكورها ، قطرها حوالي ٥ ميكرون، وتسمي باللغة الانجليزية Microcytosis .

٢- **وجود الخلايا البيضوية الشكل (Elliptocyte)** : وتوجد في فقر الدم الوراثي.كما فى شكل (٢٢) .

نقص تكوين الهيموجلوبين :

أ - **نقص اللون** : وينتج عن احد العاملين التاليين :

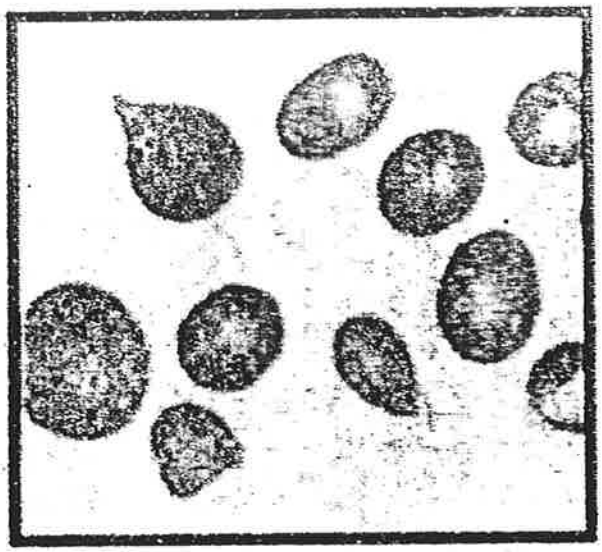
١- نقص تركيز الهيموجلوبين في الكرية الحمراء Hypochromia

٢- اضطراب تشكيل الهيموجلوبين وينتج هذا النوع من نقص الحديد، كما في فقر الدم الحديدي (Sideroblastic) وكما فى مرض الثلاسيميا او بعض الاصابات الجرثومية ، وتسمي هذه الحالة بشكل عام ناقصة اللون (Hypochromia) انظر شكل(٢٣)

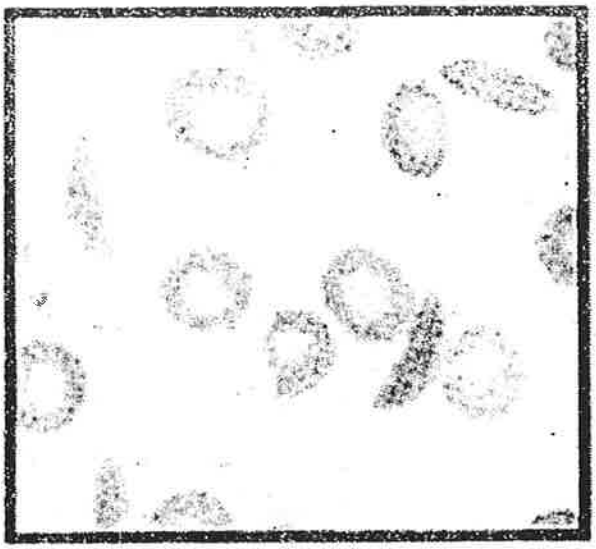
ب - **زيادة اللون Hyperchromia**

تبدو الخلية شديدة الصبغة وكأنها ممتلئة بالهيموجلوبين مع زوال المركز الشاحب وذلك إما بسبب زيادة سمك الكرية او تكورها او كما في كرية المولود ذات الهيموجلوبين الشديد ، وفقر الدم كما فى شكل (٢٤) .

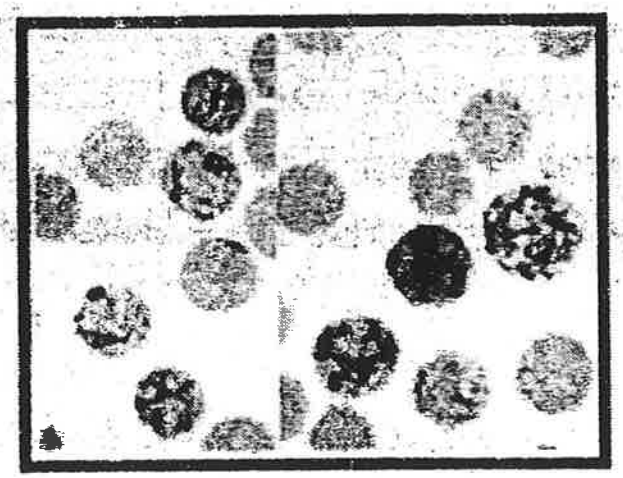
جـ - تفاوت اللون : ظهور بعض الخلايا (بها نسبة عالية من الهيموجلوبين) وفي نفس الوقت تظهر خلايا ناقصة الهيموجلوبين وتظهر في الحالات المرضية التالية :



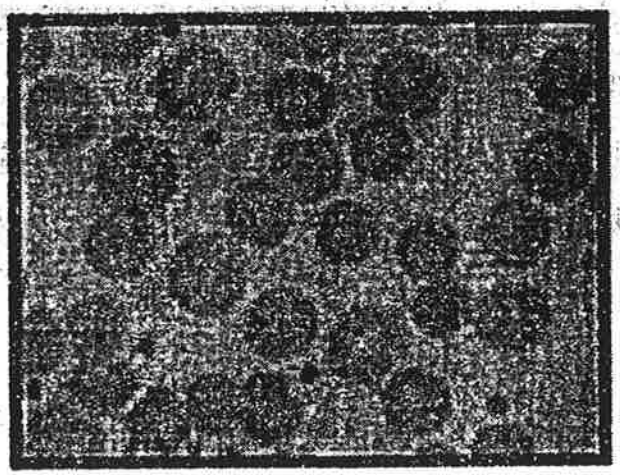
شكل (١٥) : الخلايا متنوعة الحجم



شكل (١٦) : الخلايا المنجلية



شكل (١٧) : الخلايا الشبكية



شكل (١٨) : أجسام هيويل جولى

خلايا الدم الحمراء الغير الطبيعية)

١- فقر الدم بنقص الحديد .
٢- بعد نقل كمية من الدم لي مريض مصاب بفقر الدم ناقص الهيموجلوبين .
٣- فقر الدم الحديدي Iron defeciency anaemia
وتتأثر الكريات الحمراء بعد تشكيلها وتظهر في الأشكال التالية :
أ - الخلايا الحمر الكروية : وتظهر هذه الخلايا أكثر تكورا من الخلايا الحمر الطبيعية وتشاهد هذه الخلايا في الامراض التالية :
١- امراض الدم الانحلالية عند المولود نتيجة لعدم توافق الخلايا الدموية بين دم المولود ودم الأم .
٢- إنجلال الكريات الوراثي .
ب - الخلايا المنشقة (Schistocyts) كما فى شكل (٢٥) وتشاهد في الحالات المرضية التالية:
١- الثلاسيميا ٢ - فقر الدم الانحلالي
٣ - فقر الدم بنقص الحديد ٤- تحت تأثير الحرارة العالية كما في الحروق
جـ- الخلايا الصغيرة المتكمشة (غير المنتظمة) : وتبدو الكرية صغيرة الحجم وذات صبغة شديدة ، وأطرافها غير منتظمة وتشاهد في الحالات التالية :
١- تحت تأثير الأدوية والمواد الكيماوية ٢- نقص نسبة الهيموجلوبين
٣- نقص انزيم (G6PD) ٤- دم المولود خلال الاسابيع الاولي بعد الولادة
د- الكرية الهدفية (Target cells) : عبارة عن خلايا رقيقة ، يوجد في مركزها دائرة صغيرة تحتوى علي نسبة قليلة من الهيموجلوبين ترتكز في وسط الخلية كما فى شكل (٢٦).

وتشاهد فى الأمراض التالية :

١- معظم امراض الكبد ٢- فقر الدم لنقص الحديد
٣- الثلاسيميا ٤- الحروق
٥- بعد استئصال الطحال ٦ - الجفاف عند الاطفال
٧- فقر الدم المنجلي
٨- اللوكيميا (نقص فى عدد كرات الدم الحمراء وزيادة فى عدد كرات الدم البيضاء .

الخلايا المشرشرة Crenated cells

تظهر بعض الاستطالات علي جدار الكرية الحمراء بعد وضع الكريات الحمر في محلول ملحى زائد التركيز ١,٥٪ أو حين ترك الدم لمده تزيد عن ٢٤ ساعة في درجة (٢٠مئوية) قبل اجراء سحب الدم على الشريحة كما فى شكل رقم(٢٧).

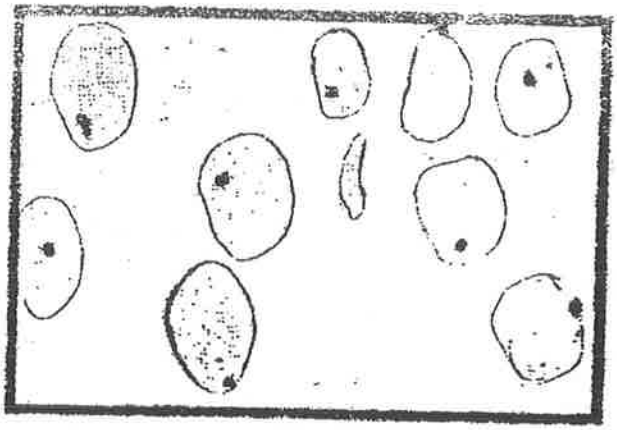
فقر الدم Anaemia

يعرف فقر الدم بأنه نقص فى عدد كريات الدم الحراء ، عجز الدم عن القيام بعملية نقل وتبادل غازات الاكسجين وثاني اكسيد الكربون في الرئات وخلايا الأنسجة ، وتعتمد قدرة الدم علي نقل وتبادل الغازات السابقة علي مدي توفر وصلاحية محتويات خلاياه الحمر من الهيموجلوبين ، لذا يزيد تركيز هيموجلوبين الدم عندما يقل الأكسجين المتوفر في دم الشرايين ، كما يحدث في امراض الرئات وحالات الارتفاع الشديد عن سطح الارض .

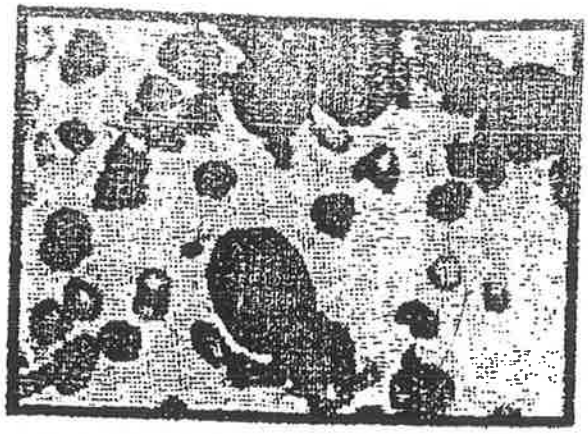
كمايجب التمييز بين فقر الدم الفسيولوجى (Physiological anaenia) وفقر الدم المرضى . يتميز فقر الدم الفسيولوجي بأن كمية الهيموجلوبين الموجودة في حجم معلوم من الدم لاتكفي لنقل حاجة الأنسجة من الاكسجين .

ويمكن تشخيص فقر الدم الفسيولوجي عندما يقل تركيز حديد البلازما في الوقت الذي يبقي فيه تركيز الهيموجلوبين طبيعيا . اما فقر الدم المرضى فيتميز بأن كمية الهيموجلوبين الموجودة في حجم معلوم من الدم اقل من الحد الادني الطبيعي لكمية الهيموجلوبين الموجودة في مثيله من الأفراد ، يمكن تشخيص فقر الدم المرضى عن طريق قياس تركيز الهيموجلوبين ومقارنة النتيجة بالتركيز الطبيعي لمثيله من الافراد.

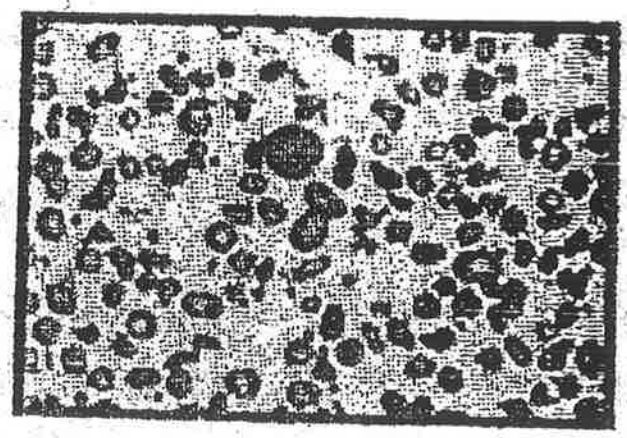
لذا قد تظهر أعراض فقر الدم علي بعض الأفراد عندما يكون تركيز الهيموجلوبين طبيعيا ، كما قد لاتظهر ايه اعراض اكلينيكية لفقر الدم علي بعض الأفراد عندما يكون تركيز الهيموجلوبين اقل من الحد الأدني الطبيعي ، يمكن التعرف علي نوع فقر الدم واسبابه



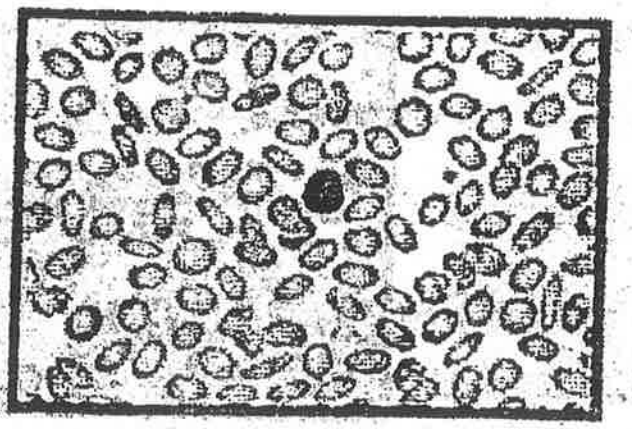
شكل (١٩) : اجسام هينز



شكل (٢٠) : خلايا حمراء غير ناضجة



شكل (٢١) : خلايا متنوعة الشكل



شكل (٢٢) : الخلايا المسطحة البيضوية

أشكال خلايا الدم الحمراء الغير طبيعية (ج)

بدراسة الحالة بشكل جيد ومنظم عن طريق استخدام وسائل معملية بسيطة كدراسة طبقة دم مصبوغة وقياس مؤشرات الخلايا الحمراء (Erythrocyte indices).

التشخيص المعملي لفقر الدم

Laboratory diagnosis for anaemia

تستخدم التجارب المعملية المناسبة للتأكد من تشخيص فقر الدم بعد ظهور اعراضه المرضية حيث يشير نقص قيم الهيموجلوبين أو عدد الخلايا الحمراء او الهيماتوكريت عن حدها الادني الطبيعي الي معاناة المريض من فقر دم ، يمكن تمييز نوع فقر الدم وسبب نشؤوه عن طريق دراسة شريحة دم مصبوغة باحدي صبغات رومانسكي (صبغة ليشمان رايت) وقياس مؤشرات الخلايا الحمراء وعدد الخلايا البيضاء والصفائح الدموية .

يشير تفاوت كثافة اللون في الخلايا الحمراء الكبيرة الحجم وظهور خلايا نورموبلاست وزيادة مؤشر الخلايا الشبكية التى زيادة سرعة تكوين الخلايا الحمراء بسبب زيادة سرعة تحللها او النزيف . كما يشير تجزؤ الخلايا واختلاف شكلها وظهور خلايا منجلية وخلايا مكورة الي تحلل الخلايا الحمراء ، في حين يشير ظهور الخلايا الهدفية (Target cells) الي امكانية معاناة المريض من الهيموجلوبينوباثيا وخاصة Hb-E,Hb-D او الثلاسيميا المتجانسة او من فقر دم الخلايا الحمراء الباهتة (Hypochromic) ، اما ظهور الخلايا الهدفية وعدم ظهور خلايا حمراء صغيرة الحجم فيشير إلى معاناة المريض من احد أمراض الكبد او استئصال الطحال . كما يدل وجود الخلايا الحمراء القاعدية المنقطة وتفاوت كثافة اللون في الخلايا الحمراء الكبيرة الي زيادة سرعة تكوينها كما في فقر الدم التحللي او بسبب النزيف في حين يشير ظهور الحبيبات القاعدية الكبيرة في الخلايا الحمراء الي وجود خلل في تكوين الهيموجلوبين كما في فقر الدم الناتج عن نقص الحديد ، كما يشير ظهور خلايا حمراء بيضاوية كبيرة وزيادة تجزؤ نواة الخلايا متعادلة الصبغ (Neutrophil) الي امكانية وجود فقر الدم الخبيث .

يصنف فقر الدم بناء علي معدل حجم الخلية الحمراء (Pernicious anaemia) ولونها الذي يعبر عنه بمعدل تركيز الهيموجلوبين فيها (MCHC) الي مايلي :

١- فقر دم الخلايا الحمراء الكبيرة Macrocytic anaemia

يتميز فقر دم الخلايا الحمراء الكبيرة بزيادة معدل حجمها عن ٩٠ ميكرون مكعب ونقص معدل تركيز الهيموجلوبين (MCHC) عن ٣١ جم٪ كما يصنف فقر دم الخلايا الحمراء

الكبيرة بناء علي سبب نشوؤه الي فقر دم جذعي (Megaloblastic)وغير جذعي . ينشأ فقر الدم الجذعي بسبب نقص كل من فيتامينات ب١٢ او حامض الفوليك او الاثنين معا ، اما فقر دم الخلايا الحمراء الكبيرة غير الجذعي فينشأ بسبب زيادة سرعة تكوين الخلايا الحمراء وزيادة سرعة قذفها في الدم كما في النزيف الحاد حيث تزيد نسبة الخلايا الشبكية ، او بسبب نقص نشاط الغدة الدرقية او تناول كميات كبيرة من الكحول .

٢- فقر دم الخلايا الحمراء الصغيرة الباهتة

Hypochromic microcytic anaemia

يتميز فقر دم الخلايا الحمراء الصغيرة الباهتة بأن معدل حجم الخلايا الحمراء (MCV) اقل من ٧٦ ميكرون مكعب ومعدل تركيز الهيموجلوبين فيها (MCHC) اقل من ٣١جم٪ ومعدل الهيموجلوبين بها (MCH) اقل من ٢٧ بيكوجرام ، ينشأ فقر دم الخلايا الحمراء الصغيرة الباهتة بسبب خلل في السيتوبلازم ومايرافقه من خلل في تكوين الهيموجلوبين كما في فقر دم نقص الحديد وفقر دم نقص الجلوبين او خلل في التمثيل الكيميائي لاسباب مكتسبة او وراثية.

٣- فقر دم الخلايا الحمراء السوية

Normochromic normocytic anaemia

يتميز فقر دم الخلايا الحمراء الطبيعية بأن معدل حجمها (MCV) حوالي ٧٦-٩٦ ميكرون مكعب ومعدل تركيز الهيموجلوبين فيها (MCHC) اعلي من 30جم٪ وينشأ في بداية النزيف الحاد او زيادة حجم البلازما والتهاب الكبد او تليف الكلي ونقص إفراز هورمون الاريثروبويتين ونقص سرعة تكوين الخلايا الحمراء .

يصنف فقر الدم بناء علي اسباب تكوينه الي ثلاثة انواع رئيسية كما يلي:

١- فقر الدم التحللي (Hemolytic anaemia) وينشأ بسبب زيادة سرعة تحلل الخلايا الحمراء.

٢- فقر الدم الناتج عن خلل في تكوين الخلايا الحمراء (Dyspoietic anaemia)

٣- فقر الدم الناتج عن نقص سرعة تكوين الخلايا الحمراء (Hypoproliferative anaemia) .

فقر الدم التحللي Haemolytic anaemia

ينشأ فقر الدم التحللي بسبب زيادة سرعة تحلل الخلايا الحمراء ويتميز بما يلي:

أ - زيادة مؤشر الخلايا الشبكية الذي يعبر عن سرعة تكوين الخلايا الحمراء وسرعة تحللها . يزيد مؤشر الخلايا الشبكية الي ٣ أو أكثر وتزيد سرعة تكوين الخلايا الحمراء في هذه الحالة الي حوالي ٣-٨ أضعاف سرعة تكوينها الطبيعية.

ب - زيادة تركيز البيليروبين الحر بسبب زيادة سرعة تحلل الخلايا الحمراء وبالتالي تحلل الهيموجلوبين .

جـ - زيادة نشاط انزيم LDH بسبب زيادة سرعة تحلل الخلايا الحمراء.

د - زيادة عدد خلايا النورمويلاست بسبب زيادة سرعة تكوين الخلايا الحمراء.

هـ - زيادة تكور ومن ثم تجزؤ الخلايا الحمراء .

يصنف فقر الدم التحللي بناء علي مواقع تحلل الخلايا الحمراء الي نوعين كما يلي :

١- فقر الدم التحللي داخل الاوعية الدموية Intravascular

تزيد سرعة تحلل الخلايا الحمراء داخل الاوعية الدموية كما تقوم بقايا تحلل الخلايا الحمراء بدور منشط لبعض عوامل تحلل الخلايا الحمراء ، قد يظهر الهيموجلوبين والهيموسيدرين في البول اذا زاد تركيز الهيموجلوبين بين البلازما عن ٣١ملجم٪ ، وهناك عوامل أخرى تسبب فقر الدم التحللى داخل الأوعية الدموية ومنها خلل فى جدار الكريات أو خلل فى المكونات الداخلية بها .

٢- فقر الدم التحللي خارج الاوعية الدموية Extravascular

تتحلل الخلايا الحمراء خارج الاوعية الدموية بسبب التهامها من قبل خلايا الماكروفلج (Macrophage) ووحيدات النواة (Monocyte) والمحببات(Granutocytes) داخل الكبد بشكل سريع بالمقارنة مع سرعة تحلل الخلايا الحمراء المكسوة بالاجسام المضادة IgG فقط. لايزيد تركيز الهيموجلوبين الحر في البلازما بشكل ملحوظ ويبقي تركيزه < ٣٠ملجم/١٠٠مل ، وبالتالي لايظهر في البول .

وهناك أسباب أخرى منها :

أ- وجود أجسام مضادة (خلل فى الجهاز المناعى) .

ب- تضخم فى الطحال وزيادة نشاطه فى تكسير الخلايا الحمراء .

جـ- وجود بعض الكيماويات أو العناصر الثقيلة مثل الرصاص .

د- وجود عوامل أخرى مثل الملاريا وسموم الأفاعى والعقارب .

٣- فقر الدم التحللي السمي Toxic hemolytic anaemia

ينشأ فقر الدم التحللي السمي عند تعرض الانسان لاي من السموم التالية:

أ- السموم الكيميائية Chemical toxins

يعتبر التسمم بالرصاص من عوامل تحلل الخلايا الحمراء ومنع نشوء البروتوبورفيرين لانه يعطل انزيم δ -ALA Dehydrogenase . لذا تتميز هذه الحالة بزيادة سرعة تحلل الخلايا الحمراء وظهور الخلايا الشبكية والسيدروبلاستية وحلقات كابوت واجسام هوويل جولي وزيادة عدد الخلايا البيضاء .

كما تعمل بعض المركبات الكيميائية مثل Nitrobenzene علي تحلل الخلايا الحمراء الخاصة بمن يعاني من نقصG6PD وعلي تحلل الخلايا الحمراء للافراد الطبيعيين عند تعاطيها بشكل مكثف .

ب - السموم الحيوانية :

يحتوي سم الأفاعي Snake Venom علي إنزيم Lecithinase الذي يفصل الحامض الدهني من ذرة الكربون الفا (α) في الليسيثين وينتج عن ذلك Isolecethin الذي يقوم بالعمل بشكل فعال علي تحلل الخلايا الحمراء .

جـ - السموم النباتية :

يعاني بعض المصابين وخاصة الأطفال بنقص او إنعدام إنزيم (G6PD) من التحلل السريع لخلاياهم الحمراء عند تناولهم لبذور الفول .

٤- فقر الدم التحللي الإصابى Infections hemolytic anaemia

يعاني الانسان من فقر دم تحللي عند تعرضه لاي مما يلي :

أ - الاصابة بالملاريا :

يعتبر فقر الدم التحللي من مضاعفات تحلل الخلايا الحمراء الخاصة بالمصابين بطفيل الملاريا بسبب زيادة هشاشيتها الاسموزية والميكانيكية ، كما يساهم علاج الملاريا بواسطة Quinone على زيادة التحلل عن طريق مساعدته في تكوين اجسام مضادة ذاتية تعمل علي تحلل الخلايا الحمراء .

ب - العدوي بالبلهارسيا

حيث يعاني المصابون بهذ الطفيل بفقر دم شديد وحاد او مزمن مما يؤثر علي باقي وظائف الجسم وخاصة الكبد .

جـ - الالتهابات الجرثومية :

يظهر فقر الدم التحللي بنسب متفاوتة في عدد من الإلتهابات الجرثومية المرافقة لحالات الاجهاض (Septic Abortion) وجراحة القناة الصفراوية حيث تتحلل الخلايا الحمراء بشكل سريع وخطير . كما تتحلل الخلايا الحمراء بسبب الأجسام المضادة الذاتية التي تظهر

د- الإصابة الانتانية بمستوليتيكا وبعض الطفيليات الأخرى

و- العدوى بالديدان مثل الاسكارس والأنكلستوما والديان الدبوسية.

فقر الدم الناتج عن خلل في تكوين الخلايا الحمراء
Dyspoietic anaemia

يتميز هذا النوع من فقر الدم بزيادة عدد الخلايا الحمراء التي تموت قبل اكتمال نموها وعدم انتظام حجمها داخل الاوعية الدموية وينقص مؤشر الخلايا الشبكية بسبب تلف الخلايا الحمراء قبل دخولها الدورة الدموية ، كما يدل تجزؤ الخلايا الحمراء واختلاف حجمها علي عدم نضوجها ، يزيد حجم الخلايا الدموية بسبب النمو غير الطبيعي لنواتها ويصغر حجمها عند احتوائها علي هيموجلوبين غير طبيعي ، يمكن التعرف علي الاختلاف الجزئي في حجم الخلايا الحمراء بقياس معدل حجم الخلايا الحمراء (MCV) كما تتميز هذه الحالة بأن نسبة E/G تساوي واحد صحيح او اكثر قليلا . يشير الرمز E الي عدد خلايا Erythroids والرمز G إلي عدد خلايا Granuloid في النخاع العظمي .

تنمو الخلايا الحمراء بشكل غير طبيعي لأحد الأسباب التالية :

١- خلل فى نمو سيتوبلازم الخلية الحمراء :

تتميز الخلايا الحمراء في هذه الحالة بعجز السيتوبلازم عن تكوين الهيموجلوبين بشكل طبيعي لاحد الاسباب التالية :

١- خلل في تكوين الجلوبين Globin

تنشأ هذه الحالة الوراثية بسبب التكوين غير الطبيعي لسلاسل بيتايد جلوبين كما في الهيموجلوبينوباثيا (Hemoglobinopathy) او التباطؤ في تكوينها او انعدامها كما في الثلاسيميا (Thalassemia) . تعتمد حدة اعراض هذه الحالة الممثلة بفقر الدم الذي يتميز بتجزؤ الخلايا الحمراء وتنقيطها وصغر حجمها ونقص لونها ، علي مدي تجانس

العوامل الوراثية ، وفيما يلي بعض الأمثلة على هذا النوع من فقر الدم:

٢- **فقر الدم المنجلي** Sickle cells disease

فقر الدم المنجلي المتجانس وراثيا يعتبر من اخطر حالات فقر الدم التحللي المزمنة ويظهر في مراحل مبكرة من الطفولة وقد يسبب الوفاة قبل سن الثلاثين ويحدث فقر الدم المنجلى لسببين رئيسيين وهما : بطء فى الدورة الدموية وتكسير لخلايا الدم الحمراء . ينتشر فقر الدم المنجلي بين سكان منطقة البحر المتوسط و بين الزنوج اكثر من انتشاره بين بقية الاجناس ، تحتوي الخلايا الحمراء الخاصة بالمصابين بفقر الدم المنجلي علي الهيموجلوبينات Hb-S, Hb-C . يتميز الهيموجلوبين Hb-S عن بقية هيموجلوبين البالغين Hb-A باستبدال الحامض الاميني جلوتاميك الذي ترتيبه السادس في سلسلة البيتايد بيتا (B) بالحامض الاميني الفالين (Valine) . لذا يصنف فقر الدم المنجلي كاحد انواع B-Hemoglobinopathy .

يختلف Hb-S عن Hb-A بشحنته الكهربائية وسرعته في مجري التيار الكهربائي المباشر . يبقي Hb-S ذائبا عند توفر الاكسجين في حين يتبلمر ويتبلور عند غياب الاكسجين فيعطي الخلية الحمراء شكلها المنجلي وتفقد مرونتها وتزيد هشاشيتها الميكانيكية وتتعرض للتحلل السريع وخاصة في الطحال ، يزيد نشاط النسيج المنتج للخلايا الحمراء، لذا يعاني الاطفال المصابون من آلام في ظهر اكفهم واقدامهم (Hand and Foot Syndrome). كما يتضخم الطحال وقد يتليف ويفقد نشاطه مما يعرض المريض للالتهابات الجرثومية .

يسمي فقر الدم المنجلي الناتج عن عدم تجانس عوامله الوراثية (Hb-S-Hb-A) بـ Sickle Cell Trait وهو اكثر انواع الهيموجلوبينوباثيا انتشارا حيث لاتظهر اعراضه في الحالات العادية الا عند نقص الاكسجين وزيادة حامضية الدم عند التحليق بالطائرات أو التهابات الجهاز التنفسي او احتقان عضلة القلب أو التخدير ، تتميز الخلايا الخاصة بالذين يعانون من هذه الحالة بمقاومتها لطفيل Malaria Falcibirum .

تظهر الخلايا الحمراء طبيعية اللون والحجم ويزيد عدد خلايا النورموبلاست والخلايا الشبكية وتظهر الخلايا الهدفية باعداد كبيرة ، كما تظهر اجسام هوويل جولي في الاطفال الكبار والبالغين الذين يعانون من فقر الدم المنجلي بسبب تعطل الطحال او استئصاله .

تعرف البيتاثلاسيميا بأنها فقر الدم الناتج عن نقص او انعدام سلاسل بيتايد الجلوبين بيتا لاسباب وراثية .

يتميز فقر دم كولي بزيادة سرعة تكوين سلاسل البيتايد الفا وجاما مما يساهم في زيادة تركيز هيموجلوبين الولادة Hb-F بسبب عدم او نقص تكوين هيموجلوبين البالغين Hb-A ، لذا يترسب الهيموجلوبين Hb(α 4) في خلايا النورموبلاست وقي الخلايا الحمراء غير الناضجة مما يسبب تحللها واعاقة تكوينها . يعاني المصاب بفقر دم كولي من سرعة تحلل الخلايا الحمراء وتضخم وبروز عظام الخدين والفكين ويظهر المصاب بالشكل المنغولي المرافق لتخلف في النمو البدني . تظهر الخلايا الحمراء في عينات الدم المصبوغة صغيرة الحجم ، باهتة اللون ، مجزأة وباشكال مختلفة ، كما تظهر في عينات الدم الخلايا الهدفية ، وحلقات كابوت واجسام هوويل جولي مع زيادة في نسبة خلايا النورموبلاست .

تتميز هذه الحالة بنقص او انعدام تكوين سلاسل البيتايد الفا لأسباب وراثية وبندرتها وصعوبة تشخيصها وخطورتها وخاصة عند تجانس عواملها الوراثية ، ثم التعرف على هذه الحالة في عدد من الأطفال الذين ولدوا امواتا (Hydrops Fetalis) بعد استبعاد عدم توافق المجموعات الدموية بناء على نظامي Rh-ABO . ولقد لوحظ وجود الهيموجلوبين Hb(β4) وقليل من هيموجلوبين Hb-H(β4) وانعدام هيموجلوبين الولادة في حالة الفاثلاسيميا الاساسية . اما في حالة الفاثلاسيميا الثانوية الناتجة عن عدم تجانس العوامل الوراثية فلوحظ زيادة تركيز هيموجلوبين (β4) في دم الحبل السري للاطفال قبل ولادتهم ووجود الهيموجلوبين Hb-H بكميات كبيرة وغياب هيموجلوبين (β4) في دم البالغين .

٢- خلل في تكوين البروتوبورفيرين Protoporphyrin

تنشأ هذه الحالة بسبب نقص بعض الأحماض الامينية مثل الجلايسين (Glycine) وتتميز بوجود خلايا السيدروبلاست (Sidroblast) في عينات النخاع العظمي . لذا تسمى هذه الحالة بفقر الدم السيدروبلاستي (Sidroblastic anaemia) .

يعرف فقر الدم السيدروبلاستي بأنه مجموعة من الأمراض غير المتجانسة تتميز بوجود فائض من فوسفات الحديديك علي هيئة جسيمات فيرتين (Ferritin) في ميتاكوندريا خلايا النورمويلاست . تتراكم جسيمات الفيرتين في خلايا السيدروبلاست بسبب وجود فائض من الحديد عن حاجة تكوين الهيم بسبب نقص البروتوبورفيرين بشكل اساسي والجلوبين بشكل ثانوي .

تتميز الخلايا الدموية الحمراء بأنها صغيرة الحجم باهتة اللون مع امكانية ظهور خلايا حمراء طبيعية او كبيرة الحجم وزيادة مخزون الحديد الذي يتمثل باشباع ترانسفيرين البلازما بشكل كامل . كما تتميز هذه الحالة بزيادة طفيفة بتركيز البيليروبين وفي افراز اليوروبيلينوجين مما يشير الي عدم نضوج السيدروبلاست الحلقي وبالتالي تحللها في النخاع العظمي ويصنف فقر الدم السيدروبلاستي كما يلي :

فقر دم وراثي Conginital anaemia

يوجد هذا النوع في الذكور عند بلوغهم لانه يرتبط بالعامل الوراثي X ويتجاوب تسبيا للعلاج بفيتامين (B_6) لذا تسمي هذه الحالة بـPyridoxine responsive anaemia . يقدر معدل تركيز الهيموجلوبين في هذه الحالة بحوالي ٦,٥ جم٪ وتتميز بأن الخلايا الحمراء صغيرة وباهتة مع امكانية اختلاف حجمها وشكلها وظهور الخلايا الهدفية والمنقطة والقاعدية . تشكل خلايا السيدروبلاست حوالي ١٠-٤٠٪ من الخلايا الحمراء ذات النواة الموجودة في النخاع العظمي للمصابين . وقد يقل تركيز البروتوبورفيرين خارج الخلايا الحمراء أو يبقي طبيعيا.

ينشأ عن نمو نواة الخلية الحمراء بشكل غير طبيعي فقر دم جذعي (Megaloblastic anaemia) الذي يتميز بزيادة حجم الخلايا الحمراء البيضاوية بشكل ملموس وظهور محببات متعادلة كبيرة الحجم مع زيادة تجزؤ النواة وينقص عدد الخلايا البيضاء والصفائح الدموية ، كما يتميز فقر الدم الجذعي بوجود خلايا حمراء منقطة وقاعدية يحتوي بعضها علي اجسام هوويل جولي ووجود خلايا الميجالوبلاست . يعاني المصاب من فقر الدم الجذعي من تضخم سريع في الانسجة المنتجة للخلايا الدموية في النخاع العظمي مع نقص في سرعة نمو السيتوبلازم ويقل مؤثر الخلايا الشبكية ويعتبر نقص

فيتامين ب١٢ او حامض الفوليك او الاثنين معا سبب نشوء فقر الدم الجذعي .

ب - فقر الدم الخبيث Pernecious anaemia

يسمي فقر الدم الجذعي الناتج عن نقص الفيتامين ب١٢ بسبب عجز الغشاء المخاطي المبطن لجدار المعدة عن افراز العامل الداخلي (Intrinsic Factor) بفقر الدم الخبيث (Pernecious anaemia) ينشأ فقر الدم الخبيث لاسباب وراثية أو مكتسبة وعادة مايصيب البالغين فوق سن الاربعين (٩٠٪) .

يعاني المصاب بفقر الدم الخبيث من كلا الجنسين من اعراض فقر الدم واليرقان واصفرار الجلد والتهاب اللسان بشكل معتدل وآلام مؤقته في البطن وامساك او اسهال وتآكل منتظم للمادة البيضاء الخاصة بالجهاز العصبي المركزي . لذا يشعر المصاب بالنمنمة في الاطراف ويفقد اتزان خطاه ، كما يلتهب الغشاء المخاطي المبطن لجدار المعدة ويسبب نقص افراز العامل الداخلي HCl او انعدامه (Achlorhydria) وقد ينعدم السائل المعدي .

يحتوي مصل المصاب بفقر الدم الخبيث علي نوعين من الجسام المضادة الذاتية ، يظهر احدهما في مصل حوالي ٨٥-٩٠٪ من المصابين ويتفاعل مع الخلايا الجدارية (Parietal Cells) . كما يظهر هذا النوع من الأجسام المضادة الذاتية في مصل المصابين بالاتهاب المزمن لجدار المعدة (Chronic Gastritis) المرافق لفقر دم نقص الحديد وفي مصل المصابين بالتهاب الغدة الدرقية (Thyroiditis) أو عدم كفاءتها (Myxedema). اما النوع الآخر من الاجسام المضادة الذاتية فتظهر في مصل حوالي ٥٥٪ من المصابين بفقر الدم الخبيث ويمنع اتحاد العامل الداخلي مع ب١٢ وفي مصل حوالي ٣٥٪ من المصابين حيث يمنع اتحاد العامل الداخلي مع خلايا اللفائفى المخاطية (Healmucosa) . كما تظهر الاجسام المضادة للعامل الداخلي في مصل حوالي ٣-٦٪ ممن يعانوا من المرض بدون فقر دم خبيث وفي مصل الذين يتعاطون الانسولين . يعتبر انعدام HCl في الافرازات المعدية من أهم خصائص فقر الدم الخبيث عند البالغين .

يشبه فقر الدم الجذعي الناتج عن نقص حامض الفوليك (Folic-Acid) فقر الدم الخبيث في اعراضه ، ويختلف عنه بعدم معاناة المصابين من اية اعراض عصبية .

فقر الدم الكلوي Renal anaemia

ينشأ فقر الدم الكلوي بسبب عجز وحدات العمل الكلوية عن افراز هرمون الاريثروبويتين بسبب تقرحها . تتميز هذه الحالة بزيادة تركيز البولينا في المصل (> ١٠٧ ملجم/١٠٠مل دم) والكريتين > ٥ ملجم/١٠٠ مل دم) ونقص تركيز الهيموجلوبين (< ٩ملجم/١٠٠ملد دم) ونسبة الهيماتوكريت (<٣٠٪) ونقص سرعة تكوين الخلايا الحمراء مع تجزئتها في معظم الحالات . تعمل زيادة تركيز البولينا في الدم علي اعاقة تأثر الانسجة المنتجة للخلايا الحمراء بنشاط الاريثروبويتين .

١- تزيد سرعة امتصاص الحديد وتركيز الترانسفرين في البلازما (Plasma Iron Binding Capacity) ولاتتأثر عملية نشوء الخلايا الحمراء في هذه المرحلة.

٢- نفاذ مخزون الحديد (Iron Depletion) : تتأثر عملية تكوين الخلايا الحمراء في هذه المرحلة بنقص تركيز حديد البلازما ونقص تشبع الترانسفيرين بالحديد (< ١٥٪) كما تقل نسبة خلايا السيدروبلاست في النخاع العظمي ويزيد تركيز بروتوبورفيرين الخلايا الحمراء .

٣- فقر دم نقص الحديد (Iron defecieny anaemia) : تتميز هذه المرحلة عن سابقتها بظهور اعراض فقر الدم ويمكن تشخيصه معمليا ، تظهر الخلايا الحمراء في عينات فقر دم نقص الحديد صغيرة الحجم باهته اللون .

فقر الدم اللامصنع Aplastic anaemia

وهو مرض يتميز بنقص الخلايا الدموية المختلفة (RBCs,WBC and,Platelets) بشكل عام بسبب نقص كتلة وحجم الانسجة المنتجة للخلايا الدموية . قد يحتوي النخاع العظمي الذي يعاني من نقص عدد الخلايا بداخلة علي بعض المواقع الغنية بالخلايا الطبيعية ، يتميز الذين يعانون من فقر الدم اللامصنع (A.A) الحاد بنقص عدد الخلايا البيضاء (<٥٠٠/ملم٣) ونقص عدد الصفائح الدموية (

<٢٠٠٠٠٠/ملم٣) ونقص مؤشر الخلايا الشبكية (<١) أو نقص اي من العوامل السابقة .

تظهر الاعراض الاكلينيكية لفقر الدم اللامصنع بشكل حاد وسريع ومتداخل مما قد يسبب الوفاة السريعة . كما قد تظهر الاعراض بشكل مزمن وتشمل النزيف بسبب نقص عدد الصفائح الدموية والالتهابات بسبب نقص عدد خلايا المحببات المتعادلة وفقر دم مع عدم تضخم الطحال أو أية مضاعفات في الجهاز الليمفاوي .

فقر دم نقص سرعة تكوين الخلايا الحمراء Hypoproliferative anaemia

يتميز فقر دم نقص سرعة تكوين الخلايا الحمراء بنقص مؤشر الخلايا الشبكية (<٢) بدون اي نمو غير طبيعي ملموس في الخلايا الحمراء التي يبقي حجمها طبيعيا او اكبر قليلا، ويبقي بليروبين الدم طبيعيا (١,٠-٤,٠ مجم٪) ونسبة E/G أقل من ١,٠ يصنف فقر دم نقص سرعة تكوين الخلايا الحمراء بناء علي اسبابها كما يلي :

أ- فقر دم نقص الحديد Iron defeciency anaemia

ينفذ مخزون الجسم من الحديد عندما تقل كمية مايحصل عليه من الحديد عن حاجته لتكوين الهيموجلوبين لفترات زمنية طويلة مما يسبب نشوء فقر دم نقص الحديد الذي يتميز بالخلايا الحمراء الصغيرة الحجم الباهتة اللون . يعتبر فقر دم نقص الحديد اكثر انواع فقر الدم انتشارا في الاطفال الرضع (٦-٢٤شهر) ويسمي بفقر الدم الحليبي (Milk anaemia) لان الحليب لايحتوي علي الحديد اللازم للنمو الطبيعي ، يقل او ينعدم امتصاص الحديد من الامعاء عند استئصالها او استئصال جزء منها أو عجزها عن الامتصاص كما في نقص HCl في افرازات المعدة أو نقص الفيتامين ج . أو تناول كميات كبيرة من الشاي من قبل الاطفال حيث يمنع تانين (Tannin) الشاي امتصاص الحديد بسبب إتحاده معه .

يكفي مخزون حديد الجسم في البالغين (١٠٠٠ملجم) لتوفير حاجة الجسم من الحديد لمدة٣-٤ سنوات قبل ان يعاني المريض من أعراض فقر دم نقص الحديد ، تنشأ معظم حالات فقر دم نقص الحديد عند البالغين بسبب النزيف المزمن البطئ في القناة الهضمية والمجاري البولية وبؤرالسل (T.B) النازفة أو بسبب النزف عند النساء اثناء الدورة الشهرية أو التبرع بالدم . يتطور فقر دم نقص الحديد مرورا بالمراحل التالية :

١- مرحلة الاتزان السالب للحديد (Negative Iron Balance) : تزيد في هذه المرحلة حاجة الجسم للحديد عما يتوفر له عن طريق الغذاء فينقص مخزون الحديد في الخلايا . كما تصنف الخلايا الحمراء بناء علي كثافة لونها وبالتالي نسبة تركيز الهيموجلوبين فيها الي خلايا حمراء كثيفة اللون (Hyperchromocyte) وطبيعية اللون (Normochromocyte) وباهتة اللون (Hypochromocyte) .

٢- تزيد سرعة امتصاص الحديد وتركيز الترانسفرين فى البلازما (plasma Iron Binding Capacity) ولا تتأثر عملية تشوه الخلايا الحمراء فى هذه المرحلة .

١- الخلايا الحمراء بيضاوية الشكل Ovalocytosis (Elliptocytosis)

تشكل الخلايا الحمراء البيضاوية حوالي ١٪ من الخلايا الحمراء في الحالات الطبيعية. في حين تصل نسبتها حوالي ١٥٪ في بعض حالات فقر الدم الحاد مثل فقر الدم الخبيث Pernecious anaemia وفقر الدم السرطاني . كما تقدر نسبتها بحوالي ٣٠-٩٠٪ لاسباب وراثية سائدة . كما قد تتخذ بعض الخلايا الحمراء البيضاوية الشكل العصوي .

٢- الخلايا الحمراء كروية الشكل Spherocytosis

تتميز الخلايا الحمراء في هذه الحالة بأنها كثيفة اللون صغيرة الحجم وخالية من التقعر (Hyperchromic microcyte) كما فى شكل (٢٨) تتكون الخلايا الحمراء لاسباب وراثية او مرضية او عند تكتلها لاسباب مصلية كما في حالة فقر الدم التحللي عند الاطفال حديثي الولادة كما تتكون الخلايا الحمراء بعد نقلها للمرضي .

٣- تجزؤ الخلايا الحمراء Fragmentation of RBCs

تتميز الخلايا الحمراء في هذه الحالة بأنها غير كاملة وغير منتظمة الشكل واللون وتنشأ بسبب تهتك الفراغات في جدار خلايا بليستر(Blister) التي تتميز بوجود فراغ في جدارها وبحواف متناهية الدقة كما فى شكل (٢٩) . تنشأ خلايا بليستر او مشتقاتها بسبب تعرض الخلايا الحمراء للتلف عند مرورها في الأوعية الدموية المقفلة جزئيا . تسمي اجزاء الخلايا الحمراء الناتجة عن تهكتك خلايا بليستر بـ Poikilocytes أو Schistocyte وتشمل خلايا Burr Echinocyte التي تتميز بتبرعمها وقدرتها علي

المرور من خلال الأوعية الدموية الضيقة او المقفلة جزئيا بسبب مرونتها . تعتمد مرونة خلايا Burr علي النسبة بين مساحة سطح الخلية وحجمها وعلي طبيعة الهيموجلوبين الموجود بداخلها ونوعية الشحوم في جدارها . تتحلل خلايا Burr عندما تفقد مرونتها . تتحول الخلايا الحمراء الطبيعية الي خلايا Burr بسبب تأثير بعض العوامل الخارجية كالاحماض الدهنية والاحماض الصفراوية والساليسيلات او عوامل داخلية كاستنزاف جزيئات ATP علي اربعة مراحل حيث تتسطح وتتبرعم وتأخذ الشكل البيضاوي ومن ثم الكروي المبرعم . كما تتجزأ الخلايا الحمراء في بعض الحالات المرضية الخاصة بفقر الدم ونقص انزيم Pyruvic kinase وارتفاع تركيز البولينا .. يدل تجزؤ الخلايا الحمراء علي زيادة امكانية تحللها . كما فى شكل (٣٠)

طريقة تعيين نسبة الهيموجلوبين

أولا - طريقة سهلي: شكل (٣٢)

١- ضع حمض الهيدوكلوريك (Hcl) تركيزة $\frac{١}{١٠}$N كمعياري في الأنبوبة المدرجة (١٠-١٠٠) حتي العلامة ١٠ مم بواقع ١٠ درجات لكل تدريج .

٢- اضف الدم الي الانبوبة المدرجة حتي العلامة ٠,٢مم٣، قلب المخلوط جيدا حتي يصبح لونه بني لتكوين الهيماتين الحمضي .

٣- خفف المخلوط بعد دقيقتين بماء مقطر نقطة نقطة مع الخلط المستمر بواسطة ساق زجاجية مصمته حتي يصل اللون او يقارب اللون الذي بجانبه اللون (القياسى) في جهاز سهلي Sahli انظر شكل(٣٠)ثم دون نتائجك التي حصلت عليها بالجرام والنسبة المئوية .

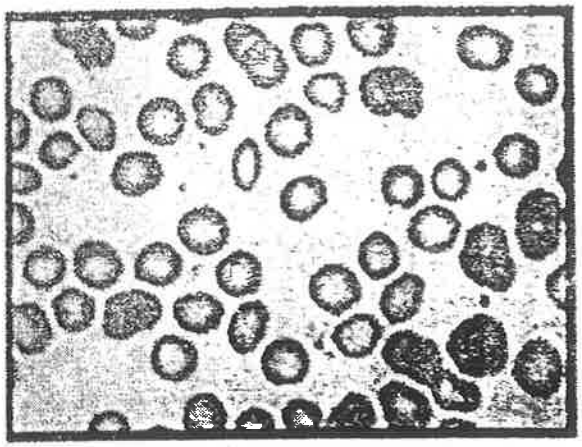
فمثلا ١٠٠٪ تعطي ١٤ جرام/١٠٠سم٣ دم ، وإذا ظهر ٧٠٪ تعطي ١٠,٥جرام/١٠٠سم٣ دم .وهى مدونه على جدارى الأنبوبة.

نسبة الهيموجلوبين في الذكور :

حوالى ١٤-١٦ جم/١٠٠سم/٣ دم بينما في الاناث تكون :

١٢-١٤جم/١٠٠سم٣ دم

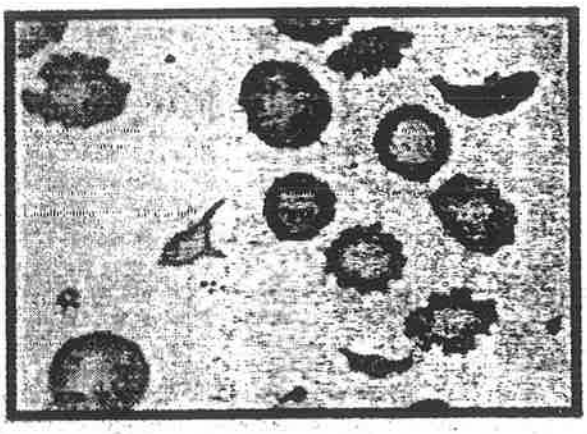
وترتفع هذه النسب في الاطفال وخاصة الاطفال حديثي الولادة وتقل بتقدم السن .



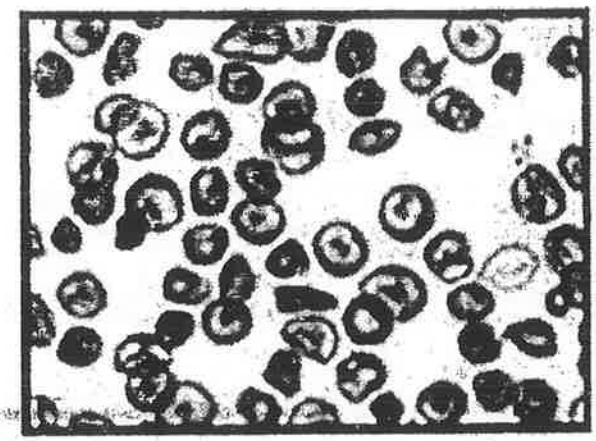
شكل (٢٣) : خلايا حمراء قليلة الهيموجلوبين



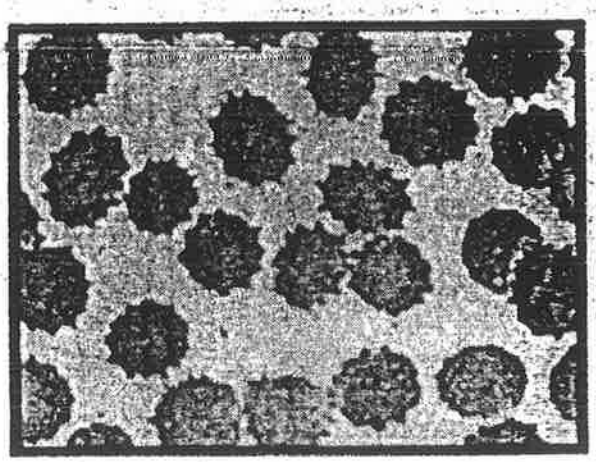
شكل (٢٤) : خلايا زائدة الهيموجلوبين



شكل (٢٥) : خلايا حمراء منشقة



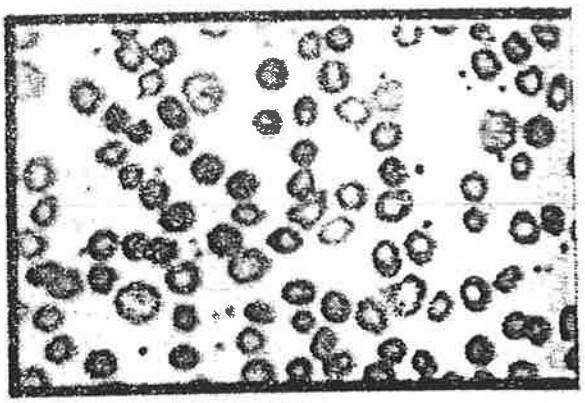
شكل (٢٦) : خلايا هدفية



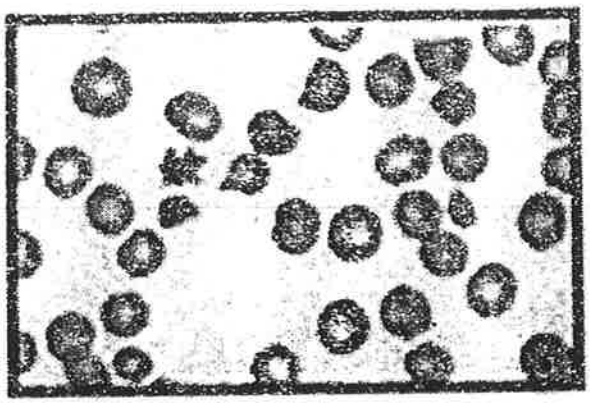
شكل (٢٧) : خلايا حمراء مشرشرة

مكتبة المركزية
Central Library

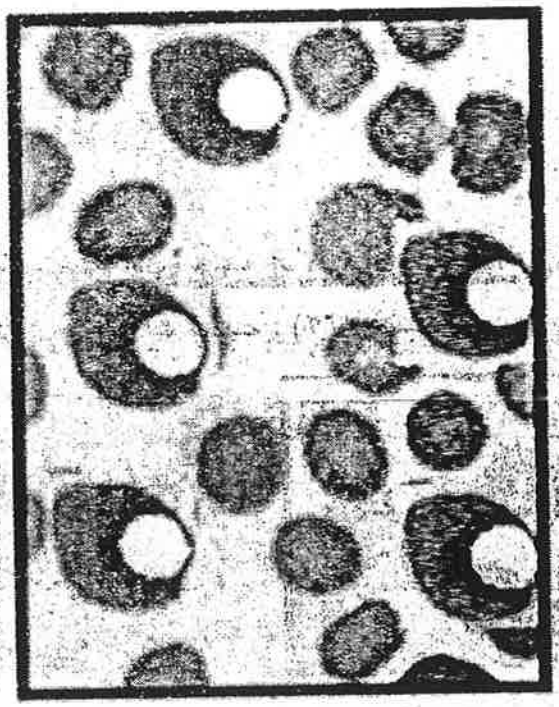
أشكال لخلايا دم حمراء غير طبيعية (د) .



شكل (٢٨) : خلايا حمراء دائرية



شكل (٢٩) : خلايا حمراء متكسرة

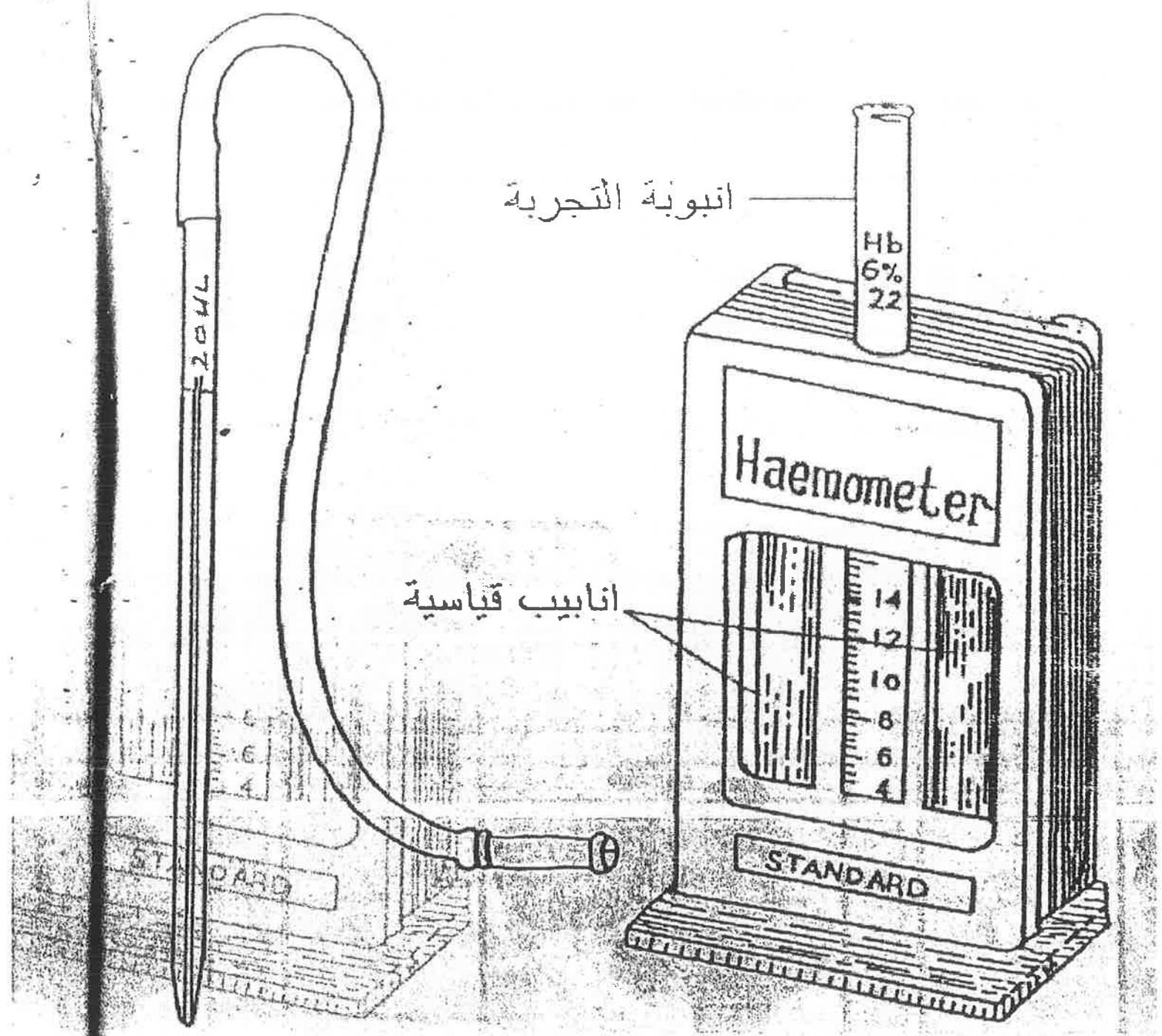


شكل (٣٠) : خلايا حمراء مفرغة من أحد الجوانب



شكل (٣١) : خلايا L.E

أشكال من خلايا دم حمراء غير طبيعية (هـ) .



شكل (٣٢) : جهاز سهلى لقياس نسبة الهيموجلوبين

ثانيا: طريقة الالوان Spectrophotocmetric method شكل (٣٣)

أ - فكرة الدرس العملى Principle

١- عندما يضاف محلول فيرى سيانيد Potassum Ferricanide وسينانيد البوتاسيوم Potassuim cyanide إلى عينة الدم نلاحظ أن فيرى سيا - سيانيد البوتاسيوم يؤكسد الهيموجلوبين إلى ميسيموجلوبين Methemoglobin .

٢- يتفاعل ميسيموجلوبين مع السيانيد لتكوين سيانوميسيوجلوبين الذى يمتص اللون عند طول موجى ٥٤٠ .

ب - طريقة العمل Procedure

١- أضف ٢.ر ملليتر أو ٢٠ ميكروليتر من الدم إلى ٥ ملليتر من الهيموجلوبين فى أنبوبة إختبار .

٢- كرر الخطوة (١) وأضف المحلول القياس بدلا من الدم .

٣- أترك الأنبوبة لمدة ١٠ دقائق

٤- صفر الجهاز بواسطة ماء مقطر.

٥- دون النتائج التى حصلت عليها من قراءة طيف الامتصاص للعينة على الجهاز.

جـ- تحضير المحلول القياسى :

أذب حوالى ٢.٧ر جرام كبريتات الأمونيوم الحديدبك فى ١٠٠ ملليتر ماء مقطر . اضف ٥ ملليتر من حامض الكبريتيك المركز . سخن ثم أضف برمنجانات البوتاسيوم المركز ٥ نقطة حتى يتكون لون ثابت ، وهذا المحلول يحتوى على ١ر مجم حديد لكل ملليتر

الكواشف : Reagents

إذب ١و جرام بيكربونات الصوديوم ، ٢ جرام فيرى سينيد البوتاسيوم . ٥٠ر جرام سيانيد البوتاسيوم فى مقدار من الماء المقطر ثم أكمل بعد الذوبان إلى واحد ليتر . ضع المحلول فى زجاجة بنيه اللون وتوضع فى مكان مظلم .

الحساب : Calculation

أ - قراءة طيف العينة As.

ب- قراءة طيف المحلول القياسى Ast.

∴ تركيز الهيموجلوبين بالعينة = $\frac{\text{قراءة طيف العينة As}}{\text{قراءة طيف المحلول القياسى Ast}} \times Cst$

حيث Cst تركيز المحلول القياسى . ويمكن حساب قيمة الهيموجلوبين من المعادلة الآتية : قراءة طيف العينة × ٣٦٫٨

ويمكن الحصول على تركيز الهيموجلوبين بالجرام لكل ١٠٠ مليليتر من الجدول التالى

١- الطروف المرضية المرتبطة بزيادة الهيموجلوبين :

١- التسمم بأول أوكسيد الكربون . ٢- أمراض القلب . ٣- الجفاف .

٢- الظروف المرضية المرتبطة بنقص الهيموجلوبين

١- كل أنواع الأنيميا (فقر الدم). ٢-النزيف الحاد .

٣- الإصابة بالملاريا - اللشمانيا والترياسوما والفاشيولا والإنتاميبا هستوليتيكا .

٤- التسمم بالرصاص ، البنزول ، البيورين ، الأنبلين .

٥- الأورام الخبيثة ، اللوكيميا ، التهاب نفرونات الكلية.

طريقة تعيين نسبة الهيماتوكريت

Haematocrit Value (Hct) or Packed Cell Volume (PCV)

هيما توكريت تعني فصل الدم بواسطة جهاز الطرد المركزي الي بلازما plasma وكريات دم حمراء فى الطبقة السفلى من الأنيوبة وتسمى Packed Cell Volume حجم الخلايا والخلايا البيضاء تكون مباشرة فوق طبقة كريات الدم الحمراء وتتكون طبقة ثالثة فوق طبقة خلايا الدم البيضاء وتسمى الصفائح الدموية وهى أصغر الطبقات على الأطلاق. شكل(٣٤) .

طريقة حساب نسبة الهيماتوكريت:

١- جهز انابيب هيماتوكريت الشعرية الموجود بها مسبقا مادة مانعة للتجلط (طول الانبوبة ٧سم وقطرها ١مم) .

٢- سد احدي طرفي الانبوبة بواسطة الصلصال (Clay)

٣- ضع الانبوبة الشعرية في جهاز الطرد المركزي لمدة ١٥ دقيقة عند ٣,٠٠٠ لفة في الدقيقة.

٤- إخرج الانبوبة ثم أجرى القياسات عليها ولاحظ انفصال الدم الي طبقتين ، إحداهما علوية وهي البلازما والاخري سفلية وهي الكريات المراد معرفة حجمها.

$$\text{طريقة الحساب :نسبة هيماتكوريت} = \frac{\text{طول عمود الكريات}}{\text{طول عمود الدم}} \times ١٠٠$$

Table 1 : Shows the concentration of haemoglobin (gm %) against the absorbance (A)

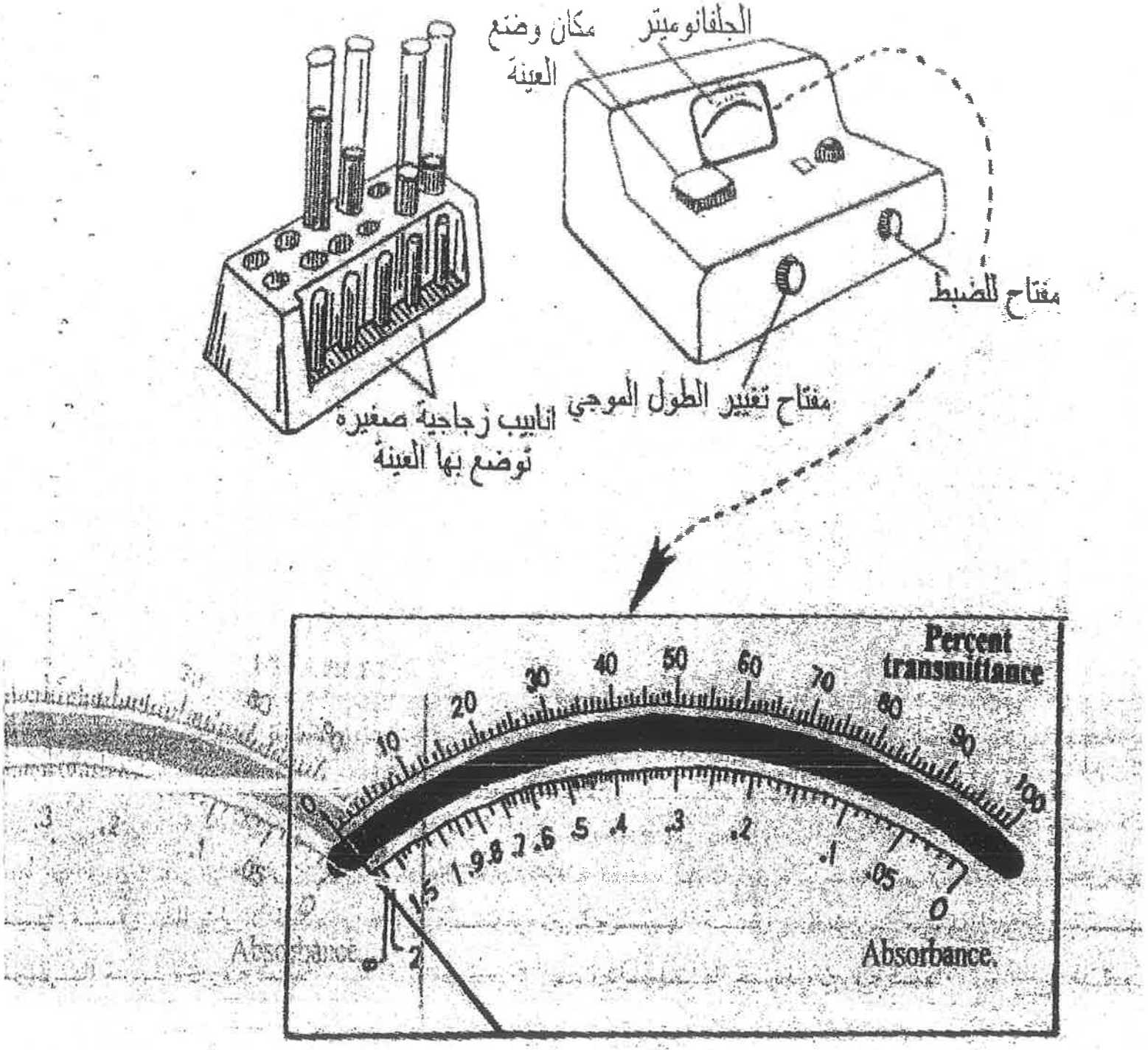
(A)	Hb g%	(A)	Hb g%	(A)	Hb g%	(A)	Hb g%
0.100	3.7	0.230	8.5	0.360	13.2	0.495	18.2
0.105	3.9	0.235	6.6	0.365	13.4	0.500	18.4
0.110	4.0	0.240	8.8	0.370	13.6	0.505	18.6
0.115	4.2	0.245	9.0	0.375	13.8	0.510	18.8
0.120	4.4	0.250	9.2	0.380	14.0	0.515	18.9
0.125	4.6	0.255	9.4	0.385	14.2	0.520	19.1
0.130	4.8	0.260	9.6	0.390	14.3	0.525	19.3
0.135	5.0	0.265	9.7	0.395	14.5	0.530	19.5
0.140	5.1	0.270	9.9	0.400	14.7	0.535	19.7
0.145	5.3	0.275	10.1	0.405	14.9	0.540	19.9
0.150	5.5	0.280	10.3	0.410	15.1	0.545	20.0
0.155	5.7	0.285	10.5	0.420	15.5	0.550	20.2
0.160	5.9	0.290	10.7	0.425	15.6	0.555	20.4
0.165	6.1	0.295	10.9	0.430	15.8	0.560	20.6
0.170	6.3	0.300	11.0	0.435	16.0	0.565	20.8
0.175	6.4	0.305	11.2	0.440	16.2	0.570	21.0
0.180	6.6	0.310	11.4	0.445	16.4	0.575	21.1
0.185	6.8	0.315	11.6	0.450	16.6	0.580	21.3
0.190	7.0	0.320	11.8	0.455	16.7	0.585	21.5
0.195	7.2	0.325	12.0	0.460	16.9	0.590	21.7
0.200	7.4	0.330	12.1	0.465	17.1	0.595	21.9
0.205	7.5	0.335	12.3	0.470	17.3	0.600	22.1
0.210	7.7	0.340	12.5	0.475	17.5	0.605	22.3
0.215	7.9	0.345	12.7	0.480	17.7	0.610	22.5
0.220	8.1	0.350	12.9	0.485	17.8	0.615	22.7
0.225	8.3	0.355	13.1	0.490	18.0	0.620	22.9

أهمية استخدام الهيماتوكريت

١- الهيماتوكريت مهمة في تعيين نسبة كريات الدم ونسبة الهيموجلوبين وبقسمة الهيماتوكريت علي ٣ يعطينا نسبة الهيموجلوبين وبقسمة الهيموجلوبين على ٣ تعطينا عدد كرات الدم الحمراء .

٢- يمكن تحديد عدد كرات الدم البيضاء من الطبقة المتكونة فوق طبقة كمرات الدم الحمراء فكل ١ مم من فوق يساوي ١٠,٠٠٠ وبعد ذلك كل ١ مم يساوي ٢٠٠ كرة بيضاء لكل مم٣ .

ونسبة الهيماتوكريت فى الذكر والأنثى تتراوح ما بين ٤٢ - ٤٥٪



شكل (٣٣) : جهاز قياس ألوان الطيف سبكتروفوتوميتر

مؤشرات كريات الدم الحمراء Erythrocytes Indices

١- متوسط حجم الكرية Mean Corpuscular Volume

$$MCV = \frac{Hct \times 10}{R.B.Cs\ count} = \frac{45 \times 10}{5.5} = 81\ \mu^3$$

وهى = $\frac{\text{نسبة الهيماتوكريت} \times ١٠}{\text{عدد كرات الدم الحمراء بالمليون}} = \frac{٤٥ \times ١٠}{٥ر٥}$ = ٨١ ميكرو مكعب

والحالة المرضية المسماه من زيادة هذا الفحص تسمى Macrocytosis هي عبارة عن ظهور كريات دموية حمراء كبيرة الحجم .

وتحدث في الامراض التالية :

١- فقر الدم المترافق مع ضخامة (الكريات) Megaloblastic anaemia

٢- نقص حمض الفوليك كما فى الحمل ، الرضاعة ، ، أمراض سوء الإمتصاص

٣- نقص فيتامين ب١٢: (سوء الامتصاص ، وجود جراثيم ادت الي استنزاف فيتامين ب١٢

٤- فقر الدم كبير الخلايا Megalobastic Changes

ويظهر فى :

أ - الكبد الدهنى ب - استعمال بعض الادوية السامة للخلايا

جـ - زيادة عدد الخلايا الشبكية في الدم .

وهي تزيد في حالة نشاط نخاع العظم وتقل في حالة نقص الحديد والنحاس

٢- متوسط الهيموجلوبين الموجود بالخلية الحمراء :

2. Mean Corpuscular Haemoglobin (MCH)

$$MCH = \frac{Hb\% \times 10}{R.B.Cs\ countr}$$

وهي = $\frac{\text{نسبة الهيموجلوبين} \times ١٠}{\text{عدد كرات الدم الحمراء بالمليون}} = \frac{١٤ \times ١٠}{٥ر٥}$ = ٢٥ ميكروميكروجرام

٣- وهي متوسط تركيز الهيموجلوبين في خلية الدم الحمراء أو هى نسبة وزن الهيموجلوبين إلى الحجم الذى تشغله من الخلية الحمراء :

3. Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC)

$$MCHC = \frac{Hb \times 10}{Hct} = \frac{14 \times 100}{45} = 31\%$$

و تقل فى حالة الانيميا

الحالات المرضية التي تنقص عن القيمة الطبيعية تسمي نقص الحديد Hypochromia وتحدث في الامراض الآتية :

١- فقر الدم مع نقص الحديد ٢- النزف المزمن

٣- سوء الامتصاص ٤- استئصال الطحال

٥- الاطفال اثناء النمو والحوامل وذلك عند زيادة الطلب علي الحديد

٦- فقر الدم بسبب نقص الهيموجلوبين رغم وجود مخزون من الحديد بشكل طبيعي او زائد يكون متوسط تركيز الخضاب الهيموجلوبين طبيعيا في حالات دموية كثيرة جدا مثل النزوف الحادة ، فقر الدم العرضي (الحمل والرضاعة ، قصور الكلي، كثرة الدهون حول الكبد ، تشمع الكبد ، بعض امراض الغدد الصماء) .

٤- متوسط محتوي الهيموجلوبين النسبي لكل كرية دم حمراء

4. Colour Index (CI)

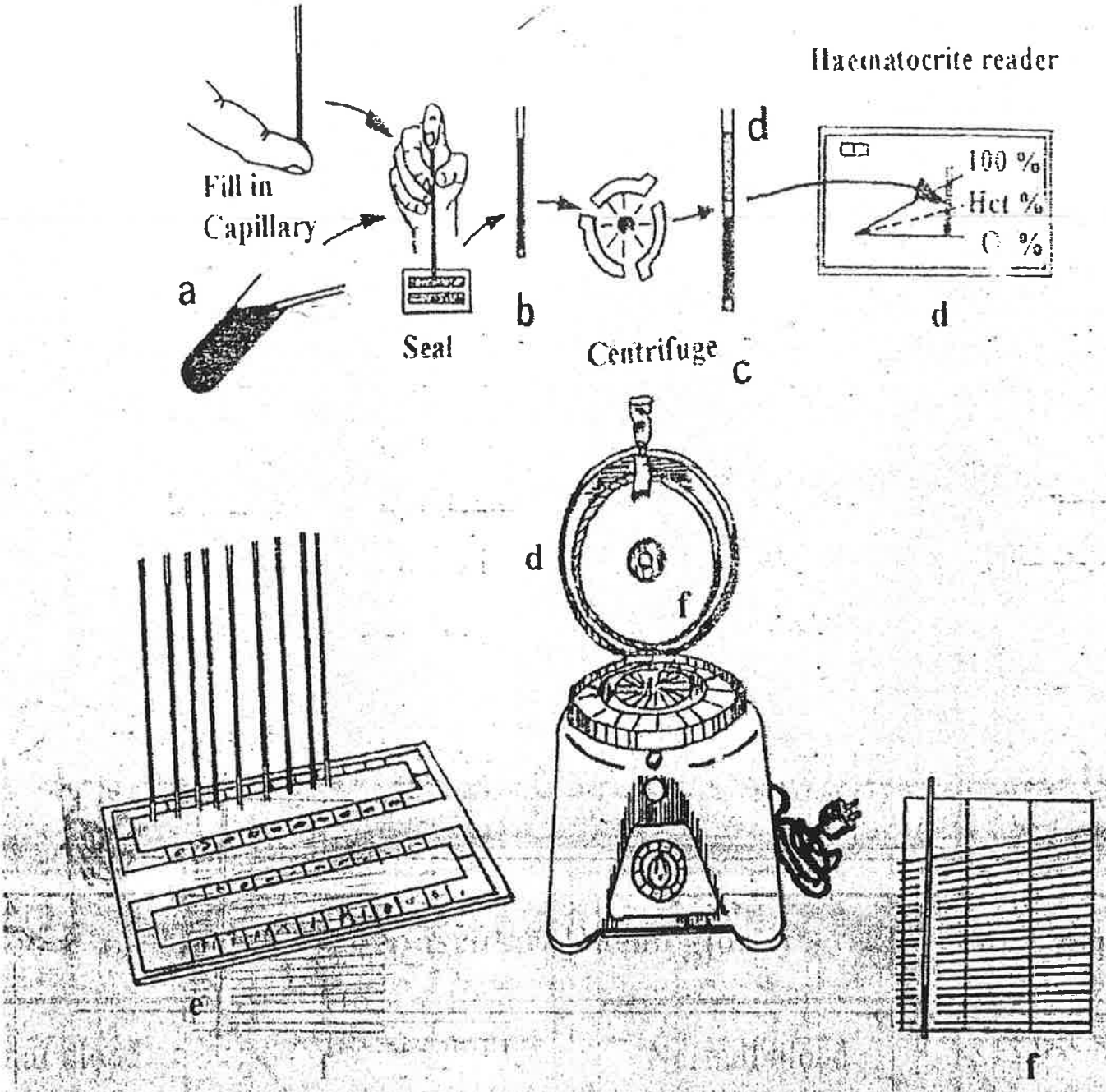
$$CI = \frac{Hb\%}{R.B.Cs\%} = \frac{100\%}{100\%} = 1.0 \quad or = \frac{85}{100} = 0.85$$

وهذه النسبة تقل فى حالة الانيميا الناتجة عن التغذية وتزيد في حالة الانيميا الخبيثة .

النسبة الطبيعية هي من ٨٥٪ - ١

جدول (٢) : يوضح أنواع الأنيميا الثلاث

	MCV fl	MCH pg	MCHC g%
Normal blood	84 - 95	28 - 32	33 - 38
Macrocytic	95 - 160	30 - 52	31 - 38
Microcytic	72 - 79	22 - 26	31 - 38
Hypochromic	50 - 71	14 -21	21 29



شكل (٣٤) : طريقة تعيين نسبة الهيماتوكريت

(a) سحب الدم في الأنبوبة الشعرية (b) سد الأنبوبة بواسطة الصلصال (c) وضع الأنبوبة الشعرية في جهاز الطرد المركزي (d) حساب نسبة الهيماتوكريت (e) عينة الصلصال وبها الأنابيب الشعرية (f) مسطرة لقياس نسبة الهيماتوكريت.

الخلايا الدموية البيضاء
White Blood Cells(W.B.Cs) or Leucocytes

تتميز الخلايا البيضاء عن الخلايا الحمراء بقلة عددها وكبر حجمها ونقص وزنها ويقدر قطر الخلية البيضاء بحوالي ١٥-٢٨ ميكرون ، كما تحتفظ الخلايا البيضاء بالنواة والسيتوبلازم عند نضوجها .

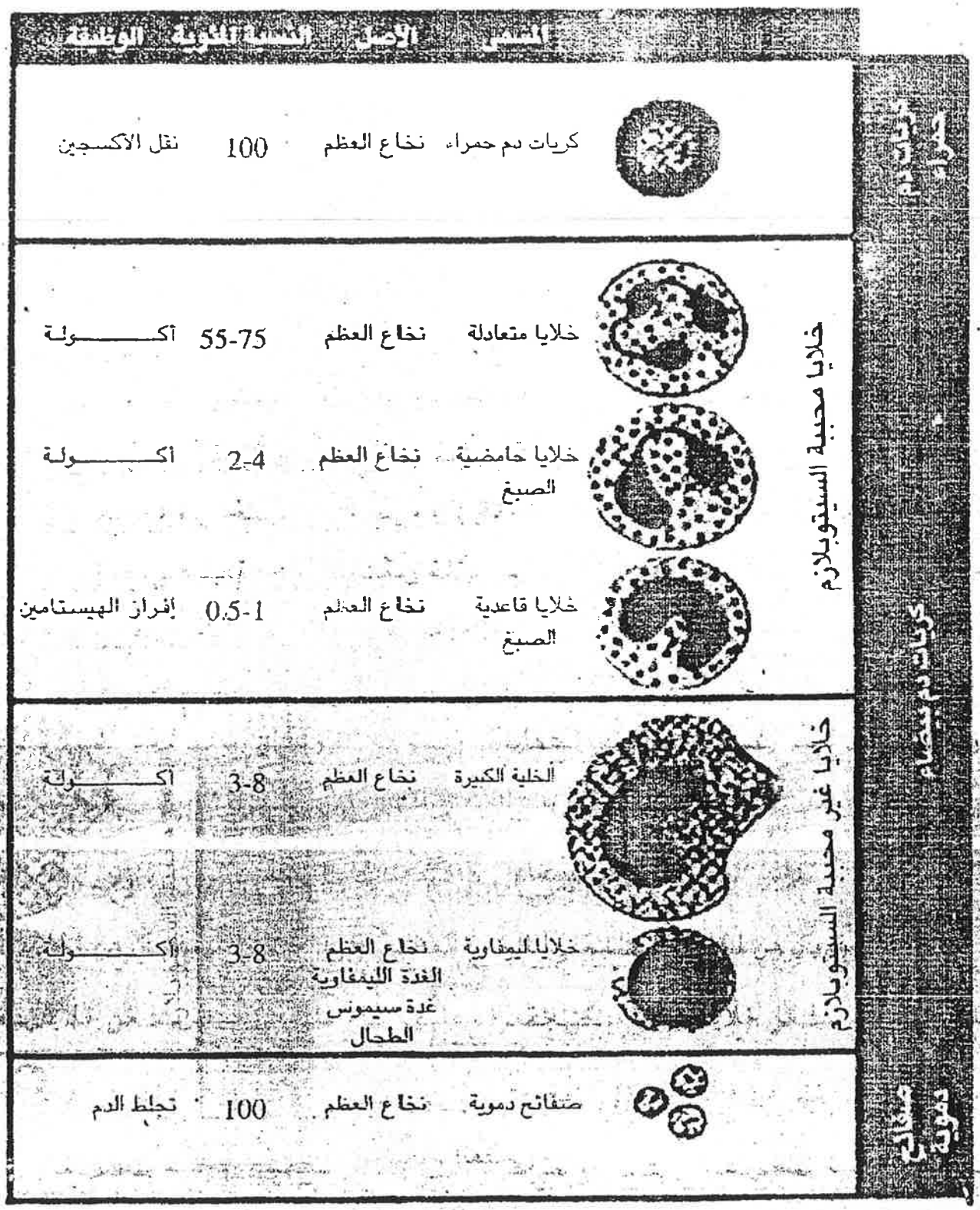
تصنف الخلايا البيضاء بناء علي امكانية وجود حبيبيات في السيتوبلازم كما يلي:

١- خلايا بيضاء محببة (Granulocytes) وتشمل المتعادلة (Neutrophils) والحامضية (Eosinophils) والقاعدية (Basophils) . تتميز النواة في الخلايا المحببة بأنها مجزأة ومتعددة الاشكال . لذا يشار للخلايا البيضاء المحببة بـ Polymorphonuclears . كما تشير اسماء الخلايا المحببة الي لون السيتوبلازم عندما تشاهد مصبوغة باحدي صبغات رومانوسكي (ليشمان أو جيمسا).

٢- خلايا بيضاء غير محببة (Agranulocytes) وتشمل الخلايا الليمفاوية (Lymphocytes) وأحادية النواة (Monocytes) كما تتميز نواة الخلايا البيضاء غير المحببة بأنها متماسكة وغير مجزأة وتتخذ شكلاً ثابتًا ومميزاً . لذا يشار للخلايا البيضاء غير المحببة بـ Mononuclears .

تكوين الخلايا الدموية البيضاء Leucopoiesis

تتكون الخلايا البيضاء في النخاع العظمي وفي الجهاز الليمفاوي من الخلايا البدائية في انظر شكل (٣٥) التي يمكن التعرف عليها بناء علي مايحيط بها من خلايا بيضاء ناضجة بقدر قطر الخلية البدائية بحوالي ٢٠-٣٠ ميكرون وهو اكبر من قطر الخلايا البيضاء الناضجة ، وفي مايلي مراحل تطور الخلايا البيضاء المحببة بشكل عام والمتعادلة بشكل خاص .



شكل (٣٥) : خلايا دم (الحمراء والبيضاء المختلفة)

أ- الخلية البدائية (Granulocytes Stem Cells) : تسمى هذه الخلية بخلية Myeloblast أو Granulobast وتشبه غيرها من الخلايا البدائية وتشكل حوالى ١ . ر من خلايا النخاع العظمى المواة . تعتبر خلية Myeloblastمسؤولة عن تكوين المحببات الحامضية والقاعدية .

ب - خلية البروميليوسايت المتعادلة (Neutrophilic Promyelocyte) : تختلف البروماييلوسايت عن خلية الماييلوبلاست (Myeloblast) بأن خيوط الكروماتين فى نواة البروماييلوسايت أكبر قطرا وأشد كثافة ونواتها غير مميزة وستوبلازمها أكثر إنساعاً من سيتوبلازم الماييلوبلاست واقل زرقة. يحتوى السيتوبلازم على عدد من الحبيبات القاعدية الداكنة غير المميزة. كما تظهر حبيبات السيتوبلازم حمراء اللون أو مزيجا من الحبيبات الحمراء والزرقاء مما يدل على عدم اكتمال النمو بشكل كاف لتحديد طبيعة الخلية . تشكل خلايا البروماييلوسايت حوالى ١-٥٪ من خلايا النخاع العظمى المنواة. لاتظهر خلايا البروماييلوسايت في دم الإنسان الطبيعى . .

جـ - خلية الماييلوسايت المتعادلة (Neutrophilic Myelocyte) : تتميز خلية الماييلوسايت بوجود حبيبات حمراء خفيفة اللون أو وردية فى السيتوبلازم المجاور للنواة التى قد تكون كروية أو بيضاوية أو نصف كروية مسطحة باتجاه مركز الخلية بسبب ضغط المركبات البروتينية المكونة فى السنتروسوم (Centrosome)كما أن خيوط كروماتين نواة النويات داخل النواة . لاتظهر منها فى نواة خلية البروماييلوسايت . لذا لاتظهر النويات داخل النواة. لاتظهر خلايا الماييلوسايت فى دم الإنسان الطبيعى بل فى بعض الحالات المرضية التى تتميز بزيادة سرعة تكوين الخلايا البيضاء المحببة في النخاع العظمى كما فى سرطان الدم. تشكل خلايا الماييلوسايت حوالى ٢-١٠٪ من الخلايا المنواة الموجودة فى النخاع العظمى الطبيعى .

د- خلية الميتاماييلوسايت المتعالدة (Neutrophilic Metamelocyte) : تسمى هذه الخلايا بـ Juvenille Neutrophisوتختلف نواتها عن نواة الماييلوسايت بوجود تجويف فى أحد سطوحها يقل حجمه عن نصف حجم النواة مكورة مما يجعل سطوحها المتقابلة غير متوازية.

تقدر النسبة المئولية لخلايا الميتاييلوسايت بحوالى ٥ - ١٥٪ من الخلايا الحمراء المنواة فى النخاع العظمى الطبيعى وقد تظهر أحيانا فى دم الإنسان الطبيعى .

هـ- المحببات المتعادلة الشريطية(Staf - Band Neurophils) : تتميز هذه الخلايا بنواتها الشريطية المجروفة. يقدر حجم التجويف بأكبر من نصف حجم النواة مكورة . لذا تظهر بعض سطوح النواة التقابلة ، وفى معظم الحالات على هيئة عصا مقوسة تحمل جسيمات كثيفة من الكتل الكروماتينية ، كما يظهر لون اليستوبلازم ورديا ويحتوى على حبيبات صغيرة منتظمة التوزيع وعديمة اللون احيانا . تشكل المحببات الشريطية حوالى ١٠ - ٤٠٪ من الخلايا المنواة فى النخاع العظمى الطبيعى وحوالى صفر - ٥٪ من نسبة الخلايا البيضاء فى الدم الطبيعى .

و - المحببات المتعادلة المجزءة النواة (Segmented Neutrophils) : تتميز هذه الخلايا بأن نواتها مجزءة إلى حوالى ٢ - ٥ كتل نووية متصلة مع بعضها بخيوط كروماتينية يحتوي السيتوبلازم على حبيبات وردية أو عديمة اللون. يقدر حجم المحببات مجزأة النواة بحوالى ضعف حجم الخلية الحمراء الناضجة . يصعب التفريق بين المحببات مجزأة النواة والشريطية فى طبقات الدم السميكة بسبب تراكم أجزاء النواة فوق بعضها وتصنف مجزءة عند الشك فى هويتها تشكل المحببات مجزأة النواة حوالى ١٠ - ٣٠٪ من الخلايا المنواة فى النخاع العظمى وحوالى ٥٠٪ - ٧٠٪ من الخلايا البيضا فى الدم الطبيعى .

طريقة عد وحساب خلايا الدم البيضاء: Calculation of W.B.CS

١- اسحب الدم في الماصة ذات الخرزة البيضاء حتي العلامة ٠,٥ ثم اسحب محلول التخفيف (حمض الخليك الثلجي ١سم٣ + ١سم٣ من ١٪ صبغة جنتانا + ٩٨سم٣ من الماء المقطر) حتي العلامة ١١ ، إخلط جيدا علي هيئة حرف 8 ، تخلص من نقطة أو نقطتين من الماصة (محلول التخفيف) انظر شكل (٦ ، ٧ ، ٨) .

٢- ضع نقطة واحدة من الدم علي شريحة العد وانتظر دقيقتين .

٣- عد الكريات البيضاء الموجودة في الاركان الاربعة (اكمل ركن يتكون من ١٦ مربع كبير غير مقسمين الي مربعات صغيرة . انظر شكل (٦)

طريقة الحساب: Calculation

١- مساحة المربع الكبير = $\frac{١}{٤} \times \frac{١}{٤} = \frac{١}{١٦}$ سم^{٢}

٢- حجم المربع الكبير = $\frac{١}{٤} \times \frac{١}{٤} \times \frac{١}{١٠} = \frac{١}{١٦٠}$ سم^{٢}

٣- نسبة التخفيف (١:٢٠)

٤- عدد خلايا الدم البيضاء في ٤ × ١٦ = ن

عدد خلايا الدم البيضاء في ١ مم٣ من الدم =

$$= ٢٠ \times ١٦٠ \times \frac{ن}{٦٤} = ٥٠ \times ن$$

عدد خلايا الدم البيضاء فى الذكر والأنثى تتراوح ما بين ٤ - ١١ ألف خلية لكل مم٣ وهى تقل فى حالات نقص المناعة وتزيد زيادة ملحوظة فى حالة اللوكيميا.

أشكال الخلايا الدموية البيضاء المختلفة

الكريات الدموية البيضاء ليست كلها متماثلة ، فتوجد فيها خمسة انماط رئيسية تختلف في الحجم وشكل النواة ولون الحبيبات في السيتوبلازم وملامح أخرى تميزها، انظر شكل (٣٥) وقد تكون نسبة كل نمط من الخلايا الدموية البيضاء ذات أهمية تشخيصية وتسمي نسبه كل نوع الكسر العددي لأنواع الكريات الدموية البيضاء و التعداد التفريقي Differentlal Count. للكريات الدموية البيضاء وفيما يلي وصفا لهذه الصفات :

١- الخلايا متعادلة الصبغ Neutrophil

- النسبة الطبيعية ٤٠٪-٧٠٪ - الحجم : مستديرة

- السيتوبلازم: لونها بنفسجي محمر ويحتوي علي حبيبات صغيرة Granules

- النواة : تحتوي علي عدة فصوص(٣-٥) مرتبطة بخيوط من الكروماتين . يظهر الكروماتين ككتلة واحدة منتظمة بنفسجية اللون قاتمة وكلما زاد عمر الخلية ، كلما ازداد عدد الفصوص في النواة

- تزداد بشكل طبيعي في الحالات التالية :

١- في الجَهَدْ العضلي الشديد ٢- في الشهور الأخيرة من الحمل

٣- اثناء الولادة ٤- فى الاطفال حديثي الولادة

يمكن الاستدلال عليه بعمل مسحة على شريحة زجاجية كالاتى

١- سحب الدم من الوريد ووضعه فى أنبوبة بطبقة بها مادة مانعة للتجلط EDTA.

٢- ضع نقطة من الدم على شريحة زجاجية نظيفة.

٣- أفرد نقطة على الشريحة بواسطة شريحة أخرى .

٤- جفف الشريحة فى الهواء .

٥- أضف عدد ٥ نقط من صبغة ليشمان وتركيبها ٣رجرام صبغة + ١٠٠ مل محول ميثيلى تذاب عند ٥٠ م لمدة ١٥ دقيقة ، وترشح قبل الاستخدام . انظر شكل (٣٦ ، ٣٧)

٦- أضف ١٠ نقاط من المحلول المنظم Buffer Solution .

٢ر جرام ثنائى هيدروجين الصوديوم الفوسفاتية اللامائية NaH_2PO_4، ٢ر١٧ ثنائى بوتاسيوم هيدروجين الفوسفات اللامائية N_2HPO_4) تذاب فى مقدار معين من الماء المقطر ثم تكمل الى واحد لتر.

٧- أخلط جيداً بالنضف فى الخليط بواسطة ماصة زجاجية ثم أترك الشريحة لمدة ١٠ دقائق .

٨- أغسل الشريحة بالمحلول المنظم.

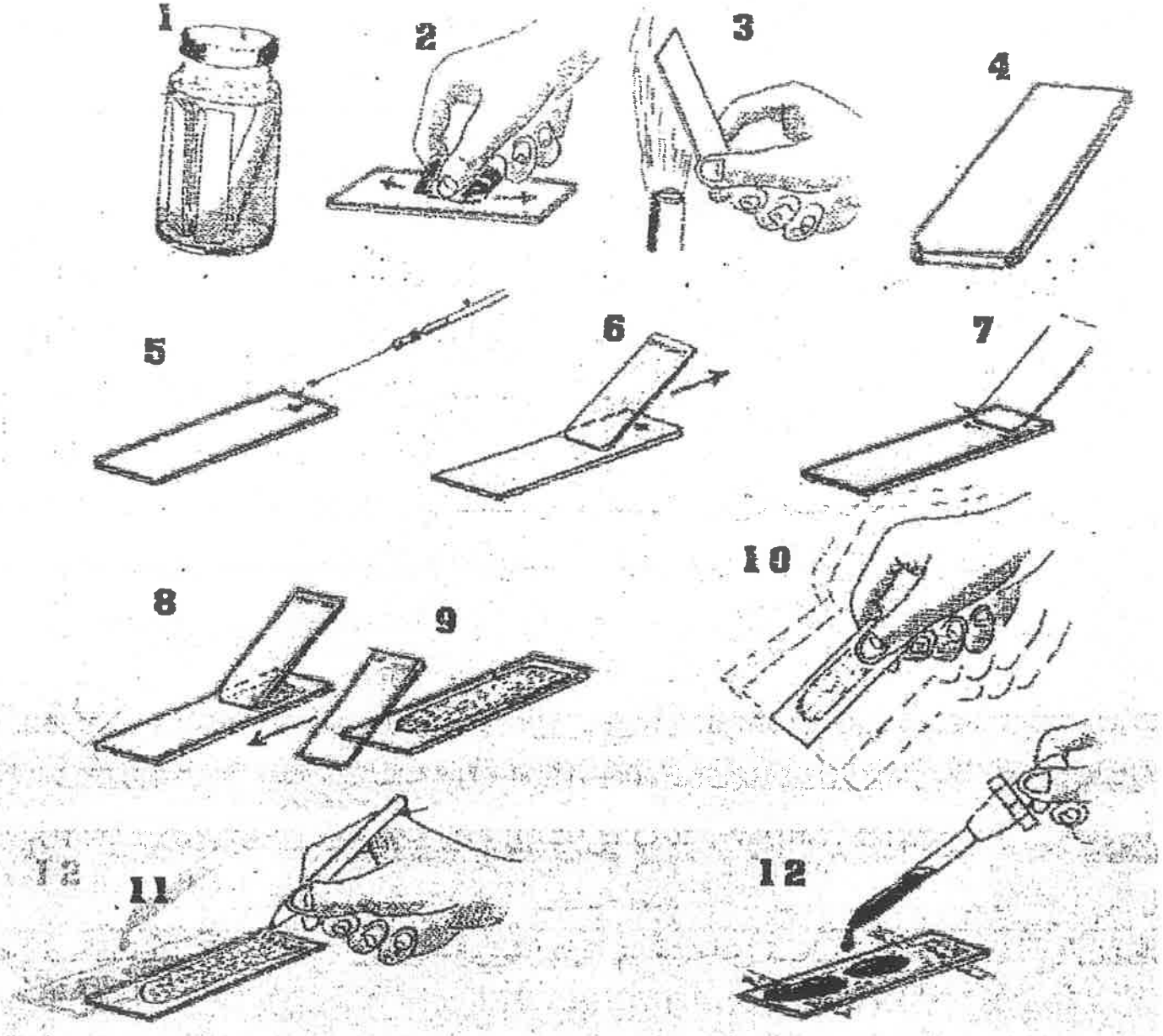
٩- أترك الشريحة بالمحلول المنظم.

١٠- أفحص الشريحة تحت الميكرسوسكوب .

١١- يمكن وضع نقطة من زيت DPX على الشريحة لتوضيح الخلايا .

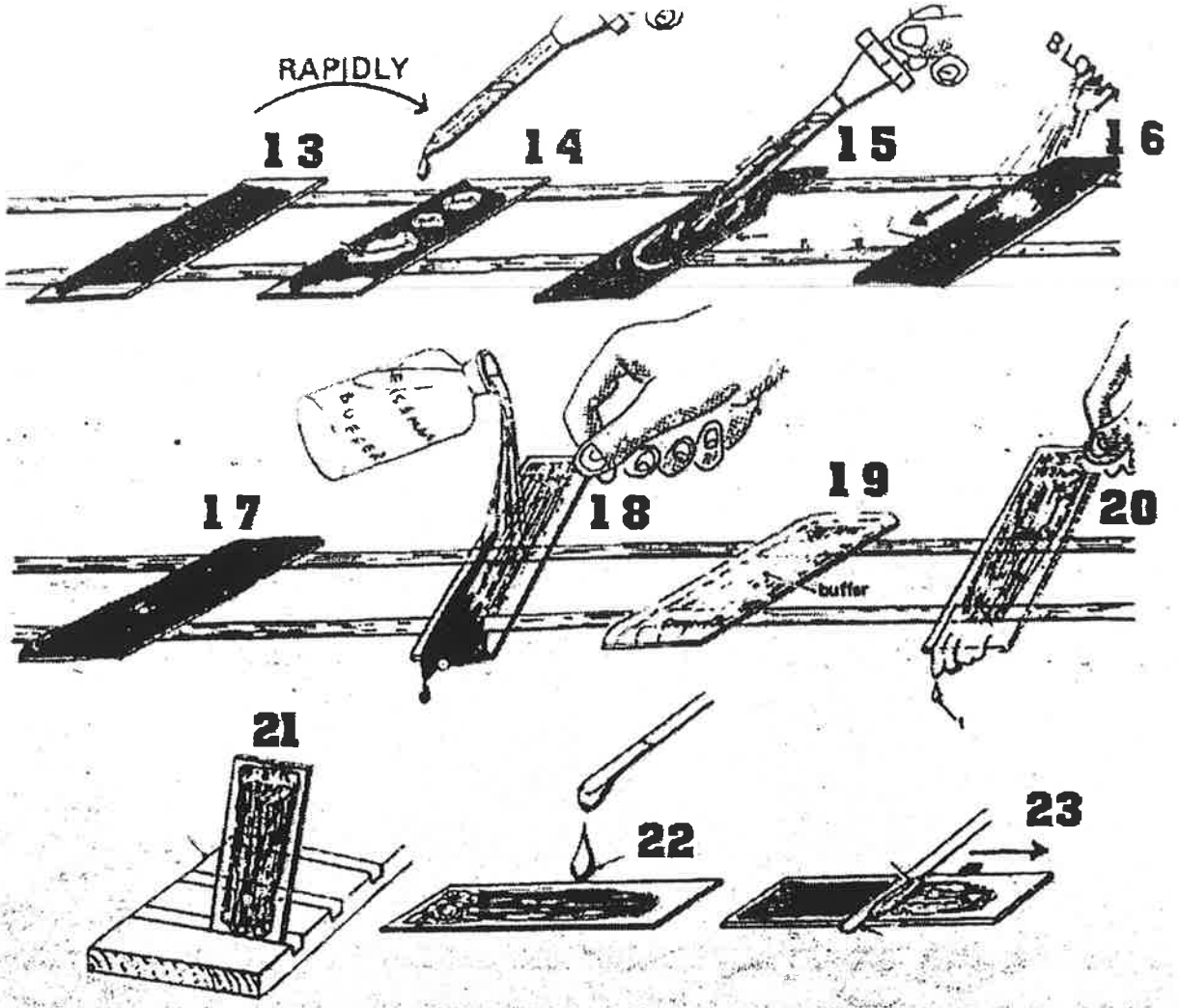
١٢- ضع غطاء زجاجى على الشريحة.

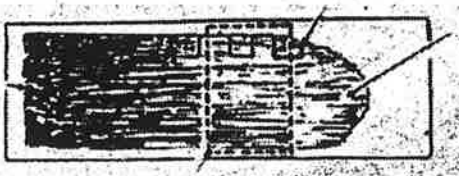
١٣- أفحص الشريحة مرة أخرى تحت الميكرسكوب .



شكل (٣٦) : طريقة ليشمان لصبغ فيلم الدم (رقم١)

(١) زجاجة بها شرائح (٢) تنظيف الشريحة (٣) تجفيف الشريحة على اللهب (٤) تحضير الشريحة (٥) وضع نقطة من الدم على الشريحة(٦،٧،٨،٩) عمل مسحة من الدم (١٠) تجفيف الشريحة التي بها فيلم الدم في الهواء (١١) كتابة اسم الشخص على الشريحة (١٢) وضع صبغة ليشمان.





شكل (٣٧) : طريقة ليشمان لصبغ فيلم الدم (رقم ٢).

(١٣) غمر الشريحة بالدم (١٤) إضافة نقط من المحلول المنظم مكافئ لعدد نقط الدم
(١٥) خلط لدم بالمحلول المنظم بواسطة ماصة (باستير) (١٦) تحريك الشريحة
(١٧) وضع الشريحة على مكان مستو (١٨) غسل الشريحة بواسطة المحلول المنظم
(١٩،٢٠،٢١) التخلص من المحلول المنظم الزائد
(٢٢) وضع نقطة زيت (PDX) على مسحة الدم (٢٣) توزيع الزيت .

- تزداد بشكل مرضي في الحالات التالية :

١- الاتهابات البكتيرية وخصوصا المكورات Cocci

٢- وهن العضلات ، الرضوض ، الحروق ، التسممات .

٣- امراض النقرس الحاد

٤- ابيضاض الدم ٥- التدخين الشديد

٦- النزوف الحاد ٧- التهاب الزائدة الدودية

٢- **الخلايا الليمفاوية** Lymphocytes

١- **الخلية الليمفاوية الصغيرة** Small lymphocyle

الحجم : النواة بحجم كرية حمراء تقريبا ٧-١٠ مكيرون وشكلها مستدير .

النواة : كبيرة تشغل معظم الخلية ، والكروماتين بنفسجي قاتم وكثيف مائل الي الزرقة . لايوجد حبيبات بالسيتوبلازم ويتلون بلون أزرق .

ب- **الخلية الليمفاوية الكبيرة** Large Lymphocyte

الحجم : اكبر من الليمفاوية الصغيرة (١٢-١٥ ميكرون)

الشكل : مستديرة او غير منتظمة .

النواة : مستديرة او بيضوية وقد تقع في جانب من الخلية

السيتوبلازم : غزير وأزرق باهت ، ولاتحتوي علي حبيبات

القيمة الطبيعية لوجودها : ٢٠٪-٤٠٪.

- **تزداد في الحالات المرضية التالية بـ:**

١- الالتهابات الجرثومية : مثل (البروسيلات)

٢- وجود بعض الطفيليات الاولية مثل Protozoa أو داء التوكسوبلازما (Toxoplasmosis)

٣- الإبيضاض الليمفاوي ٤- الاورام Myelomatosis .

٥- زيادة نشاط الغدة الدرقية ٦- قصور نشاط الغدة النخامية .

٧- وهن أو ضعف العضلات

٣- اسم خلية وحيدات النوي Monocytes

- الحجم : أكبر الكريات البيضاء ١٦-٢٢ ميكرون
- الشكل : غير منتظم
- النواة : متباينة ، لها غالبا شكل الكلية واحيانًا علي شكل سماعة التليفون والكروماتين مرتب في خيوط باهته (بنفسجية)
- الحبيبات : تظهر احياناً ولكن بشكل ضئيل ولونها أحمر في العادة .
- السيتوبلازم : يظهر احيانا به (٤-٦) فقاعات كبيرة (فراغات)
- النسبة الطبيعية ٤ - ٨ ٪ .

تزداد في بـ :

١- الريكتسيا Ricketsia

٢- الاصابات ببعض الجراثيم مثل (الدرن والبروسيلا)

٣- الاصابة ببعض الأوليات (اللاريا، Malaria ، الداء الأسود.

٤- داء المثقبات (Trypanosoma) ٥- ابيضاض الدم بالوحيدات

٤- الخلية قاعدية الصبغ Basophil

- الحجم : ١٠-١٢ ميكرون ، والشكل مستدير.
- الحبيبات : كبيرة جدا ، مستديرة وبنفسجية قاتمة ولكنها أقل تراصًا من حبيبات حامضية الصبغ ، ويصعب رؤيتها لانها تكون مغطاه بالحبيبات
- الفجوات : توجد احيانا فجوات صغيرة عديمة اللون في السيتوبلازم .
- النسبة الطبيعية : ٠,٥ : ١٪

- تزداد في الحالات المرضية التالية :

١- ابيضاض الدم أحياناً (سرطان الدم) أو اللوكيميا

٢- في دور النقاهة ، بعد الإصابة في كثير من الصابات البكتيرية

٣- مرض هودجكن (سرطان الأوعية الليمفاوية)

٤- بعد استئصال الطحال ٥- الجدري Smallpox

٥- **الخلايا البلازمية** Plasma cells

في الحالة الطبيعية لاتوجد خلايا المصورة (البلازما) (في دم الشخص المفحوص ووجودها من ضمن السحبة الدموية يعني ذلك وجود احد هذه الامراض :

- ابيضاض الدم بالخلايا البلازمية .
- الحصبة الالمانية .
- التفاعلات المصلية .
- الخناق (Chickenpox) .
- النسبة الطبيعية ١-٢٪ .

٦- **الخلايا حامضية الصبغ** Eosinophils

- الحجم : تقريبا نفس حجم العدلة ١٠-١٢ ميكرون .
- الحبيبات : كبيرة ومستديرة وحمراء و برتقالية وعديدة .
- النواة : تظهر عادة ومكونة من فصين واحيانا تظهر تالفه ومتناثرة الحبيبات .
- النسبة الطبيعية : ٢-٤٪ .

تزداد في :

١- الحساسية (Allergy) لكثير من الاطعمة والادوية

٢- الإصابة بالطفيليات

٣- الإصابة ببعض امراض الجلد (الجرب ، الإكزيما الحساسة)

٤- بعد الإصابة باستئصال الطحال .

٥- الاصابة ببعض الامراض الرئوية (مثل الربو ، الالتهاب الرئوى .

٦- الاورام الخبيثة و إبيضاض الدم .

توزيع الخلايا البيضاء

Distribution of White Blood Cells

يحتوي جسم الانسان الطبيعي علي حوالي ١٨ بليون خلية بيضاء حبيبية (Granulocytes) في كل كجم من وزنه وعلي حوالي ٧٠٠ بليون في كل لتر من دمه ، يقدر عدد المحببات في النخاع العظمي بحوالي ٢٥ ضعف عددها في الدم . تحتاج خلية المايلو بلاست حوالى احد عشر يوما لاكتمال نضوجها وخروجها من النخاع العظمي الي

الدورة الدموية بمعدل ١,٦ بليون خلية كل يوم أو مايعادل حوالي 2.5 ضعف عددها في الدم .

يوجد حوالي نصف محتويات الدم من الخلايا البيضاء المحببة متراكمًا علي جدران الاوعية الدموية بشكل شبه مستقر ويسمي (Marginal Granulocytic Pool) . كما يوجد النصف الآخر متحركا مع تيارات الدم ويمثل العدد الكلي للخلايا البيضاء Total Leucocytic Count ويسمي Circulating Granulocytic Pool تخرج المحببات من الاوعية الدموية عن طريق الغدد اللعابية والقصبات الهوائية والقناة الهضمية والمسالك البولية وبقية سوائل الجسم بمعدل صفر الي ١٠ خلايا/ملم٣ .

يعتمد العدد الكلي للخلايا البيضاء(TLC) علي امكانية إنطلاقها من النخاع العظمي وانتقالها من مقرها الملاصق لجدران الأوعية الدموية تحت تأثير بعض العوامل الفسيولوجية أو المرضية .

يبقي العدد الكلي للخلايا البيضاء ثابتا تقريبا لفترات طويلة في بعض الأشخاص وقد يختلف بمعدل ١٠٠٪ في البعض الآخر بشكل دوري ، يرتبط العدد الكلي للخلايا البيضاء بالدورة الشهرية للنساء وبدورة زمنية تقدر بحوالي ١٤-٢٣ يوما عند الرجال ، كما يختلف العدد الكلي للخلايا البيضاء باختلاف ساعات النهار بشكل دوري حيث يكون في أدنى مستوياته في ساعات الصباح الباكر وفي اعلي مستوياته في ساعات بعد الظهر ، كما يزيد العدد الكلي للخلايا البيضاء خلال او بعد الإجهاد العضلي أو التوتر العاطفي أو حالات القلق والاضطراب النفسي ، لذا يتضاعف العدد الكلي للخلايا البيضاء في عينة الطفل الخائف اذا قورن بعددها عند سحب دم نفس الطفل المتعاون أو المتزن . يسمي اختلاف العدد الكلي للخلايا البيضاء لأي من الاسباب السابقة بالاختلاف الفسيولوجي ويسمي إختلاف عددها لاسباب مرضية بالاختلاف المرضي .

يعتمد العدد الكلي للخلايا البيضاء علي العدد المطلق لكل نوع منها والذي يعبر عنه بعدد الخلايا في وحده الحجم (ملم٣ / لتر) .

تشكل المحببات المتعادلة معظم الخلايا البيضاء في الساعات الاولي بعد الولادة . تبدأ المحببات بالتناقص والخلايا الليمفاوية بالتزايد في نهاية الاسبوع الاول بعد الولادة حتي تشكل الخلايا الليمفاوية حوالي ٦٠٪ من الخلايا البيضاء في سن ٥-٧ سنوات ، تعود المحببات للتزايد والخلايا الليمفاوية للتناقص بشكل تدريجي حتي تشكل المحببات معظم الخلايا البيضاء في دم البالغين وحتي نهاية العمر .

يعتمد العدد النسبي (٪) والعدد المطلق لاي من الخلايا الدموية البيضاء علي العوامل التالية :

أ - الجهاز العصبي المركزي

ب - تركيز ايون الهيدروجين : تتناسب حامضية الدم طرديا مع العدد الكلى للمحببات وعكسيا مع العدد الكلى للخلايا الليمفاوية . يزيد العدد الكلى للمحببات المتعادلة بشكل خاص في دم مرضي السكر بسبب إرتفاع حامضية الدم . كما يقل العدد الكلى للمحببات وكذلك عمرها ويزيد العدد الكلى للخلايا الليمفاوية عند تناقص حامضية الدم في مرض التيتانوس .

جـ - تركيز بعض الهرمونات : تعمل هرمونات الغدة النخامية (ACTH) وهرمونات الغدة الكظرية أو فوق الكلوية علي نقص العدد الكلى للخلايا الليمفاوية وزيادة تحللها في العقد الليمفاوية والطحال وغدة الثيموس عن طريق تعطيل DNA نواتها ، كما تعمل هذه الهورمونات علي انقاص العدد الكلى للمحببات الحامضية .

زيادة عدد الخلايا متعادلة الصبغ (نيوتروفيليا): Neutrophilia

تعرف النيوتروفيليا بأنها زيادة العدد الكلى للمحببات المتعادلة عن ٨٠٠٠/مم٣ لاسباب مرضية اهمها الالتهابات الجرثومية Streptococci و Pneumococci و Staphylococci) تشكل المحببات المتعادلة حوالي ٦٠٪ من خلايا الدم البيضاء في الإنسان الطبيعي موزعة بناء علي عدد اجزاء نواتها.

نقص عدد الخلايا متعادلة الصبغ (نيوتروبينيا): Neutropenia

تعرف النيوتروبينيا بنقص العدد الكلى للمحببات المتعادلة في الدم عن الحد الادني الطبيعي (<٢٠٠٠/ملم٣) وتتميز بخطورتها بالمقارنة مع النيوتروفيليا . يقل عدد المحببات المتعادلة عن الحد الادني الطبيعي بسبب نقص سرعة تكوين المحببات المتعادلة في النخاع العظمي او زيادة سرعة تحللها بالمقارنة مع سرعة نشوؤها ،. وفيما يلي اسباب نقص عدد المحببات المتعادلة في الدم :

١- بعض الالتهابات الناتجة عن الفيروسات والتيفوئيد والسل والملاريا ، تتميز هذه الحالة بكونها مؤقته وتزول بزوال العامل المسبب .

٢- العوامل الكيميائية : تعمل بعض المركبات الكيميائية والسموم الحيوانية والنباتية علي انقاص عدد المحببات المتعادلة بتعطيل بعض انزيمات الايض ، كما تعمل بعض الادوية السرطانية مثل Nitrogen Mustard, علي منع انقسام ونمو الخلايا البيضاء عن طريق منافسة حامض الفوليك ، كما قد تتحلل الخلايا البيضاء .

٣- التعرض للاشعاعات : تتلف الاشعاعات كروموسومات ونواة الخلية وسيتوبلازمها باحداث تفاعلات كيميائية غير طبيعية وتعمل علي منع تدفق الدم بشكل منتظم بسبب تلف اوعيته كما ينتج عن التعرض للاشعة نقص سرعة انقسام الخلايا الدموية الجذعية .

٤- تضخم الطحال (Spleenomegaly): يقل العدد الكلي للخلايا البيضاء عند تضخم الطحال (٢٠٠٠-٤٠٠٠/ملم٣) وتشكل المحببات المتعادلة اقل من نصفها . يعود العدد الكلى لمختلف الخلايا الدموية البيضاء الي الوضع الطبيعي عند استئصال الطحال .

٥- نقص كتلة النخاع العظمي المنتجه للمحببات المتعادلة بسبب استبدال بعضها بنسيج آخر كما في سرطان الدم الليمفاوي .

زيادة الخلايا حامضية الصبغ (ايوسنيوفيليا) : Eosinophilia

تتميز هذه الحالة بزيادة العدد الكلى للمحببات الحامضية عن ٥٠٠/ملم٣ عند عدها بشرائح العد ، تعتبر العوامل المسببة للحساسية (Altergic Factors) مسؤولة عن معظم حالات الزيادة في عدد المحببات الحامضية ، تنشأ المحببات الحامضية في النخاع العظمي وتنتقل عن طريق الدم لتستقر في الانسجة احيانا .

يعتبر الهيستامين (Histamine)او المركب الناتج من تفاعل الأنتيجين مع أجسامه المضادة في تفاعلات الحساسية مسؤولا عن زيادة سرعة تكوين المحببات الحامضية في النخاع العظمي وتحررها منه ، وفيما يلي اهم حالات الحساسية الملازمة لزيادة عدد المحببات الحامضية

١- بعض الأمراض الجلدية : تتناسب اعراض الحساسية الجلدية طرديا مع العدد الكلى للمحببات الحامضية في الدم .

٢- الإصابة ببعض الطفيليات : يزيد العدد الكلى للمحببات الحامضية بشكل حاد اذا غزت طفيليات الامعاء بقية الأنسجة الحيوية .

٣- بعض الالتهابات الجرثومية : يزيد العدد الكلى للمحببات الحامضية في بعض اللالتهابات الجرثومية المصحوبة باعراض الحساسية الجلدية كالحمي القرمزية (Scarler fever) او تقرحات جلدية كما في الحمي المتموجة (Brucellosis). ويعود العدد الكلى للمحببات الحامضية الي قيمته الطبيعية عند زيادة العدد المطلق للمحببات المتعادلة بعد التهاب تقرحات الاصابة بطفيل (Echinococcus). وتراكم الصديد فيها .

٤- الحساسية المعوية : ترتبط هذه الحالة بالحساسية للطعام وفقر الدم الجذعي ، يصاحب اسهال الحساسية المعوية احيانا وجود اعداد كبيرة من المحببات الحامضية في مخاط البراز.

٥- استئصال الطحال : يزيد العدد المطلق للمحببات الحامضية عند استئصال الطحال ويقل عددها عند حقن الحيوانات بخلاصة الطحال كما يحدث عند تضخمه .

تتميز زيادة عدد الخلايا البيضاء في الالتهابات بزيادة عدد المحببات المتعادلة تتناسب حدة هذه الظاهرة طرديا مع حدة الالتهاب وينخفض عددها تدريجيا ويزيد عدد وحدات النواة عندما يبدأ الألتهاب بالانحسار ودرجة الحرارة بالانخفاض ، كما تشير زيادة عدد الخلايا الميفاوية والحبيبات الحامضية الي التقدم في العلاج والتماثل للشفاء .

وفيما يلي أهم اسباب ارتفاع العدد المطلق للمحببات المتعادلة :

١- الالتهابات الشاملة (Systemic infection)وهي الالتهابات الناتجة عن عدد من الجراثيم والفيروسات والفطريات ينقص عدد المحببات المتعادلة قبل زيادته في الالتهابات الحادة بسبب استنزاف معظمها في بداية الالتهابات قبل ان يتمكن النخاع العظمي من سد حاجة الجسم منها ،وقد تعطل بعض الالتهابات قدرة النخاع العظمي على تكوين واطلاق الخلايا البيضاء بشكل عام والمحببات المتعادلة بشكل خاص مما يسبب نقص عددها المطلق كما في حمي التيفود والسل مالم تكن مصحوبة بالتهابات اخرى .

٢- الالتهابات الموضعية (Localized Infection) : تتميز حالات الالتهاب الموضعي بتراكم الخلايا الصديدية في الموقع المصاب كما في التهاب الزائدة الدودية (Appendicitis)واللوز (Tonsillitis) وانابيب فالوب (Salpingitis) والاذن الوسطي (Otitis) يعتمد تأثير الالتهاب الصديدي الموضعي علي مقدار ضغطه الداخلي اكثر من اعتماده علي حجم المنطقة المصابة .

٣- بعض حالات التسمم : تصنف عوامل التسمم الي عوامل داخلية واخري خارجية كما يلي:

أ - عوامل التسمم الداخلية (Endotoxins) مثل زيادة تركيز بولينا الدم وحمي النفاس والنقرس (Gout) وحامضية الدم في مرض السكر والحروق .

تزيد سرعة تكوين المحببات المتعادلة بسبب تأثير المركبات الكيميائية الملازمة

للحالات السابقة علي النخاع العظمي ، كما تساهم البروتينات المحترقة وتشنجات حمي النفاس في زيادة سرعة تكوين وانطلاق المحببات المتعادلة

ب - عوامل التسمم الخارجية (Exotoxin) مثل بعض العلاجات والسموم المعدنية كالرصاص والزئبق وكلورات البوتاسيوم .

٤- بعض حالات النزيف وتهتك الأنسجة : يزيد العدد الكلى للخلايا البيضاء بشكل عام والمحببات المتعادلة بشكل خاص في التقرحات القابلة للتليف كما في الحروق والعمليات الجراحية وتهتك الانسجة . تتميز الامراض السرطانية بزيادة عدد المحببات المتعادلة لانها تكون مصحوبة بالتليف والنزيف وانسداد الاوعية الدموية .. لذا يمكن تمييز اليرقان الإنسدادي الناتج عن ورم سرطاني في قمة البنكرياس عن اليرقان الانسدادي الناتج عن حصي المرارة بزيادة العدد الكلى للمحببات المتعادلة .

٥- الحساسية العلاجية : يزيد العدد الكلى للمحببات عند تعاطي بعض الادوية والفسفور والبنزين وخلاصة الكبد عن طريق الوريد .

نقص عدد الخلايا حامضية الصبغ Eosinopenia

هذه الحالة تتميز بنقص العدد الكلى للمحببات الحامضية عن ٠,٥/ملم٣ عند عدها وتظهر مرافقة للالتهابات الجرثومية الحادة حيث يزيد العدد الكلى للمحببات المتعادلة ، يقل العدد الكلى للمحببات الحامضية عن ٠,٣/ملم٣ عند زيادة هورمونات قشرة الغدة الكظرية تشير زيادة العدد الكلى للمحببات الحامضية في الصدمات غير المصحوبة بالنزيف بعد العمليات الجراحية الي عدم كفاءة قشرة الغدة الكضرية أو فوق الكلوية .. كما ينقص العدد الكلى للمحببات الحامضية عند العلاج بالصدمات الكهربائية وفي حالة حمي النفاس والمخاض ، كما يشير عدم نقص العدد الكلى للمحببات الحامضية بعد حقنه هرومون (ACTH) الي عدم فعالية الغدة الكظرية .

زيادة عدد الخلايا قاعدية الصبغ Basophilia

هذه الحالة بزيادة تتميز العدد النسبي للمحببات القاعدية عن 1٪ كما في سرطان الدم واحمرار الدم الحقيقي الأساسي وبعد علاج الاشعة وفقر الدم التحللى واستئصال الطحال . نظرا لقلة العدد الكلى للمحببات القاعدية فمن النادر ملاحظة تناقص عددها الذي يسبق نقص العدد المطلق للمحببات الحامضية في حالة زيادة العدد الكلى للمحببات المتعادلة ، زيادة تركيز هورمون ACTH ويعمل علي نقص العدد الكلى للمحببات القاعدية .

زيادة عدد الخلايا الليمفاوية Lymphocytosis

تتميز هذه الحالة بزيادة العدد الكلى للخلايا الليمفاوية في دم الانسان عن (٤٥٪) في البالغين وعن(٥٠٪) في الاطفال . تزيد الخلايا الليمفاوية بشكل نسبي عند نقص العدد الكلى للمحببات المتعادلة لإسباب مختلفة ، كما يزيد العدد الكلى للخلايا الليمفاوية في بعض حالات الإلتهاب الجرثومي الحاد وخاصه في مرحلة الشفاء وفي سرطان الدم الليمفاوي (Lymphocytic Leukemia) يقل العدد النسبي للخلايا الليمفاوية عند زيادة العدد الكلى للمحببات المتعادلة ويقل عددها النسبي والكلى عند الاصابة بجرثومة السل النشيطة ومرض هودجكين ونقص بروتين جاما جلوبيولين في الاطفال الذين يعانون من الاسهال وارتفاع درجة الحرارة ونقص القدرة علي مقاومة الالتهاب كما يقل العدد الكلى للخلايا الليمفاوية عند حقن الجسم بـ ACTH.

زيادة عدد وحيدات النواة Monocytosis

تتميز هذه الحالة بزيادة العدد الكلى لوحيدات النواة وقد تصل نسبتها المئوية الي حوالي ١٥-٣٠٪ عند الاصابة بجرثومة السل النشيط . تشكل نسبة وحيدات النواة الي الخلايا الليمفاوية (M/L) مؤشرا لمتابعة علاج السل النشيط اذ تزيد هذه النسبة عن الثلث عند المصابين بجرثومة السل النشيط وتقل عن الثلث في الانسان الطبيعي او عند توقف جرثومة

السل عن الانتشار بسبب خمولها . كما يزيد العدد الكلى لوحيدات النواة في الامراض الفطرية (Mycostatic) والفيروسية والتيفوائيد والامراض الناتجة عن طفيليات وحيدة الخلية كما تزيد بشكل نسبي ومطلق في سرطان الدم .

وتكون خلايا الدم الليمفاوية حوالي ٢٠-٤٠٪ من خلايا الدم البيضاء وتزيد نسبتها عند الاطفال وحوالي ٥-١٥٪ من الخلايا المنواة في النخاع العظمي الطبيعي ، يتفاوت حجم الخلايا الليمفاوية بشكل ملحوظ وحجمها الطبيعي اكبر من حجم الخلية الحمراء الطبيعية الناضجة بقليل ونواتها كروية أو شبة كروية تحتوي علي كتل كروماتينية سطحية اشد كثافة عن غيرها ، تملأ نواة الخلايا الليمفاوية الصغيرة معظم حيز الخلية وبها تقعر صغير قرب سطحها ويحيط بها شريط ازرق ضيق من السيتوبلازم لونه باهت مقابل تقعر النواة .

يتناسب عمر الخلية اللميفاوية طرديا مع مساحة السيتوبلازم وعكسيا مع كثافة لونه ، يحتوي السيتوبلازم في حوالي ثلث الخلايا الليمفاوية علي عدد من الحبيبات الآزورية الحمراء (Azurophilic Granules) مبعثرة بشكل غير منتظم عند زيادة العدد الكلى للخلايا الليمفاوية . تستخدم النسبة بين عدد الخلايا الليمفاوية الصغيرة الي الكبيرة في تشخيص بعض الحالات المرضية . تزيد نسبة الخلايا الليمفاوية الكبيرة في طبقات الدم الخفيفة بالمقارنة مع الطبقات السميكة مما يدل علي سهولة تسطح الخلايا الليمفاوية وتعرج جدارها الخارجي تحت تأثير الخلايا المجاورة . تقوم الخلايا الليمفاوية الصغيرة بدورها بشكل فعال لان لها القدرة علي التحول الي الخلايا الليمفاوية الكبيرة او متوسطة الحجم او الي خلايا بلازمية (Plasmocyte) تقوم خلايا الدم الليمفاوية بتكوين وافراز الاجسام المضادة بشكل رئيسي بالاضافه الي دورها كخلية تموين (Trophocyte) فتقوم بتكوين البروتينات الصغيرة والانزيمات والمركبات المعدنية المعقدة وتوزعها علي مختلف الانسجة .

أ - أنسجة ليمفاوية اساسية وتشمل غدة الثيموس والنخاع العظمي حيث تنقسم الخلايا الليمفاوية لتكوين خلايا جديدة بعيدا عن تأثير الأنتيجينات .

ب - أنسجة ليمفاوية ثانوية وتشمل العقد الليمفاوية والطحال وبعض اجزاء القناة الهضمية حيث تقوم الخلايا الليمفاوية بتكوين الاجسام المضادة . تصنف الخلايا

الليمفاوية بناء علي مصدرها ودورها الحيوي الي خلايا (B) Bone marrow وخلايا T (Thymus) .

تعتبر الخلايا الليمفاوية β اساس نشوء الخلايا البلازمية المسؤولة عن تكوين وافراز جلوبين المناعة (Ig) وتصنف بناء علي ذلك . ويفترض وجود ١٨ نوع من الخلايا الليمفاوية β في الانسان الطبيعي البالغ يتميز كل منها بقدرته علي تكوين وافراز IgG متخصص بشكل فعال بأحد الانتيجينات وهذا يفسر توفر IgG في غشاؤها الخلوي . تحمل حوالي ١٠-١٥٪ من الخلايا الليمفاوية الدموية في غشائها الخلوي الأجسام المناعية IgM, IgD كما توجد الخلايا الليمفاوية المكونة للاجسام المناعية IgG, IgE في اغشية القناة الهضمية والجهاز التنفسي .

تقوم المحببات المتعادلة بدور التهامي (Phagocytes) للأجسام الغريبة كالجراثيم بمساعدة حبيبات السيتوبلازم الغنية بالجلايكوجين وانزيم الفسفوتيز القلوي (Alkaline Phosphatase) يقوم انزيم الفسفوتيز القلوي بدور اللايسوزم(Lysozomes)في المحببات المتعادلة الناضجة في حين يقوم انزيم البروكسيد Peroxidase بهذا الدور في المحببات المتعادلة غير الناضجة . يبدأ الجلايكوجين والفسفوتيز القلوي بالتكوين والتراكم في مراحل التطور الاولي حتي مرحلة النضوج . تختفي هذه المركبات من حبيبات المحببات المتعادلة في سرطان الدم بسبب نقص تركيز الخارصين Zn .

عد الصفيحات الدموية The Platelets Count

الأدوات المستخدمة :

١- المصات التي تستخدم في تعداد الخلايا الدموية البيضاء

٢- شريحة العد (نيوباور المعدل) ومرفقه حسب الرسم السابق لعداد تيوباوركما في شكل (٦ ,٧).

٣- محلول التخفيف : أوكزالات الأمونيوم Ammoium Oxalate ويحفظ عند درجة حرارة + ٤م بعد ترشيحه او يحفظ خارج الثلاجة اذا اضيف الي كل لتر مامقداره ٥سم٣ من محلول الفورمالين ذي النسبة ١٠٪ .

٤- الماصة الاتوماتيكية Automatic Pipettes ذو الحجم ٢٠٠ ميكرون .

٥- انابيب مناسبة للتخفيف وماصه عادية .

طريقة العد :

املأ الانبوب الخاص بعد الخلايا الدموية البيضاء إلى إشارة 0.5واكمل بواسطة محلول أوكسالات الامونيوم ١٪) الي الاشارة 1 بدون زيادة ولانقصان بسرعة ثم قم بمزج المحلول بالدم بسرعة ايضا لئلا تتشكل علقات من الصفائح الدموية .

يمكن ان تجري عملية السحب بطريقة اخري وهي طريقة الانبوب وهي كالاتي:

١- إسحب من المحلول المخفف بمقدار ١,٩ بواسطة الماصة العادية ثم ضعهم في انبوب خاص .

٢- إسحب من العينة الدموية مقدار (٠,١) او ١٠٠ ميكرون بواسطة الماصة الاتوماتيكية وهنا تكون نسبة التخفيف ١:٢٠ امزج بشكل جيد وبسرعة

٣- قم بالصاق غطاء الشريحة علي شريحة العد (Chamber)

٤- أسكب أول ثلاث نقاط من الماصة في الخارج (لأن نسبة التخفيف تكون غير ثابتة او قليلة) اذا كنت تستعمل ماصه العد أو أضف نقطة من التخفيف في الطريقة الثانية الي الشريحة المغطاة بغطاء الشريحة ، ويجب ان تملأ هذه النقطة القسم الاول من حجرة العد.

٥- **كيفية الحساب :** أحسب الصفائح الدموية التي عدت في الخمس المربعات ×١٠×٥×٢٠ . أى عدد الصفائح الدموية التي عدت في الخمس المربعات × ١٠ حيث ان الرقم ٥ يمثل عدد المربعات التي تعد فيها الصفائح الدموية . ٥٠ مربعات صغيرة من ٢٥ مربع صغير الموجود في المربع الكلي ، وأما الرقم (١٠) عمق الشريحة ١,٠ منسوبا الي (الواحد مللم٣(١,٠ --> ١٠ ، أما الرقم(٢٠) نسبة تخفيف العينة ١,٠ ملم -٩,١مم وهي ١:٢٠ .

قم بعد الصفائح الدموية الموجودة في العينة ثم ضربها في العدد ١٠٠٠ فتحصل علي عدد الصفائح الدموية .

تساهم الصفائح الدموية في عملية تجلط الدم بتكوين سد بسبب قدرتها على :

١- نقل البروتينات وخاصة الفيبرينوجين وعوامل التجلط الاخري

٢- الالتصاق بالكولاجين وغشاء الاوعية الدموية

٣- التكتل مع بعضها وافراز الثرومبين

٤- مساعدة الجلطة الدموية علي الضمور .

يعتمد التصاق الصفائح الدموية بالكولاجين علي عدد المجموعات الامينية الحرة فيه، تلتصق الصفائح الدموية بالكولاجين عندما يتكون مركب معقد من انزيم Lycosye Transferase الموجود في جدار الصفائح الدموية والجلاكتوز هيدروكسي لايسين (Galactose Hydroxy Lysine) الموجود في الكولاجين .

تنشط الصفائح الدموية عند تعرضها لكولاجين جدران الاوعية الدموية او للثرومبين المتوفر من تفاعلات تجلط الدم او الاثنين معا وتفقد اشكالها اذ تتكور وتمتد منها بروزات مؤقته . يرافق ذلك حدوث عدة تقلصات في مركزها تعمل علي افراز محتويات حبيبات الفا (α -granules) بشكل يتناسب مع مستوي التنشيط، كما يتعرض الغشاء الكربوهيدرائى البروتيني لبعض التفاعلات المسؤولة عن تكوين مراكز استقبال بروتينات البلازما الكربوهيدرائى والفيبرينوجين وعامل التجلط ، تعمل البروتينات النشوية والكالسيوم التي تحيط بالصفائح علي التصاقها ببعضها وبجدران الاوعية الدموية لتكوين سد الصفائح . كما تفرز الصفائح الدموية عند تنشيطها محتويات غشائها الدهني البروتيني المماثلة بحامض Arachidonic A بمساعدة انزيم الفوسفولايبيز(Phospholipase) يتحلل حامض الاراكيدونيك بفضل انزيم Cyclooxgenase الي احد عوامل تكتل الصفائح الذي يسمي ثرومبوكسين (Thromboxane) يعمل الاسبرين علي تعطيل انزيم السيكلوكسجينز . ينشط ايون الكالسيوم جميع العوامل المكتلة للصفائح الدموية كما يساهم ايون الكالسيوم في انجاز عمل الصفائح الدموية وخاصه زيادة سرعة التقلصات المركزية وافراز حبيباتها .

نقص عدد الصفائح الدموية Thrombocytopenia

يقل العدد الكلى للصفائح الدموية ويزيد زمن النزيف (Bleeding Time) لأي من الأسباب التالية :

١- نقص سرعة تكوين الصفائح الدموية في النخاع العظمي لأسباب وراثية أو بسبب خمول الأنسجة المنتجة لها بعد تعرضها لبعض الاشعاعات او العوامل الكيميائية والكحول والمبيدات الحشرية والكلورامفنيكول (Chloramphenicol) او بسبب ضمورها عندما يجاورها ورم سرطاني كما في سرطان الدم .

٢- تحلل الصفائح الدموية بسبب تعرضها لسم الاقاعي او تلفها بالاضافه الي مضاعفات الولادة او الالتهابات Immune Thrombocytopenia(ITP) التي تعتبر اهم اسباب نقص عدد الصفائح الدموية او اسباب مصلية ويرمز لها بـ (ITP) .

٣- عدم انتظام توزيعها او زيادة تخفيفها بسبب تجمعها في الطحال او انخفاض درجة الحرارة او عند نقل دم قديم .

٤- ابيضاد الدم ، فرط نشاط الطحال .

٥- بعد النزف الشديد ونقل الدم المتكرر .

زيادة عدد الصفائح الدموية Thrombocytosis

يزيد العدد الكلى للصفائح الدموية لاسباب ذاتية وتوصف بالزيادة الاساسية مثل Thrombocythemia التي تظهر كمضاعفات لبعض حالات المرض النخاعي المتشعب، كما قد يزيد عددها كمضاعفات لبعض الحالات المرضية كنقص الحديد والالتهابات البكتيرية والأورام واستئصال الطحال والاختناق ، النزف الحاد وبعد إجراء العمليات الجراحية وبعد الكسور .

خلايا اللوبس اريثريماتوسس Lupus Erythrymatuses (L.E Cells)

تعرف هذه الخلايا بأنها خلايا التهامية من المحببات المتعادلة في معظم الاحيان وقد تكون من وحيدات النواة وفي بعض الحالات تحتوي بداخلها علي كتلة كروية من البروتين النووي الناتج من تفاعل النوية الخلايا الدموية مع اجسامها المضادة (Anti nuclear Globulin) والتي تعرف بعامل خلايا اللوبس اريثريماتوس (L.E factor) تظهر خلايا L.E. Cells. في عينات الدم المصبوغة باحدي صبغات رومانوسكي وبداخلها كرة بروتين نووي متجانسة في تركيبها لونها أحمر قرمزي باهت او وردي . نظرا لضخامة حجم كرة البروتين النووي فإنها تضغط نواة الخلية المحببة باتجاه جدارها . تسمي وحيدة النواة التي تحتوي بداخلها علي كرة البروتين النووي خلية تارت (Tart Cell) .

شروط تشكلها :

لاتتشكل خلية L.E الا اذا توفرت ثلاثة عناصر رئيسية علي الاقل :

١- وجود العامل L.E في مصل المريض (Plasma)

٢- وجود نواه ميته وتكون عادة نواه كريه بيضاء متعادلة .

٣- وجود خليه بالغة وتكون عادة كريه بيضاء متعادلة .

فاذا وجد العامل L.E يتماس مع نواه كريه متعادلة تفاعل معها وحللها وغير من معالمها واحالها الي كتلة متجانسة وشفافه وبنفسجية اللون ثم يأتي دور الخلية البالغة فتبتلعها وتكون خلية L.E قد تشكلت . تبدو هذه الخلية إذا تلونت بأحد ملونات رومانوفسكي تحت المجهر خلية بيضاء متعادلة كبيرة الحجم ، فصوصها مندفعة نحو جانب من جوانبها ومملوءه بجسم كروي بنفسجي اللون ومتجانس القوام ويحتل معظم حجمها الا من قسم بسيط تظهر منه السيتوبلازم الاصلي وكذلك يوجد عدة عوامل أخرى تؤثر في تشكل الخلية وقد تمنع تكونها نذكر منها :

١- المواد المانعة للتجلط : هي عبارة عن مواد تعمل علي عدم وجود هذه الخلايا ولكن أقراص الهيبارين ١٠ وحدات عالمية لكل ١سم٣ من الدم حيث ان ١سم٣ من الهيبارين يحتوي علي ٥,٠٠٠ وحده دولية من الهيارين ، وتؤخذ العينة كالتالي : ١سم٣ هيارين يجمع عليه ٩سم٣ من المصل . وهذا المقدار كاف لمنع تخلط ٥سم٢

من الدم وهو المقدار الذي يجري عليه الاختبار .

٢- مركبات القشرة الكظرية : تبين الاحصاءات ان اختبار L.E يكون سلبيا عندالاشخاص الذين يتم معالجتهم بأخذ مركبات معالجة الذئبة الحمامية .

قراءة المسحة الدموية الموجودة علي الشريحة الزجاجية:

هي عبارة عن خلية متعادلة بيضاء كبيرة الحجم بما أنها ابتلعت نواة خلية متعادلة أخري وأكبر من بقية المتعادلات لذا يمكن تميزها بسهولة تحت المجهر علي التكبير البسيط.

اما اذا نظرنا اليها بالعدسة الزيتية الكبيرة فأننا نجد فيها الصفات التي سبق ذكرها ولعل أهمها تجانس الكتلة المبتلعة واندفاع فصوص الخلية البالغة التي هي متعادلة كبيرة والاختيار لايثبت الا اذا وجد بضع خلايا من الخلايا النموذجية من (L.E) تتوفر فيها هذه الصفات .

١- املأ ثلاثة أرباع أنبوبة شعرية بها هيبارين بدم من أصبع المريض ، وتقفل الأنبوبة من إحدى طرفيها بالصلصال أو على اللهب .

٢- توضع فى جهاز الطرد المركزى لمدة ١٥ دقيقة عند ١٠٠٠ لفة/ دقيقة.

٣- تحفظ الأنبوبة بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين وفى ٣٧ م° لمدة نصف ساعة . لايزيد عدد خلايا L.E.Cells إذا زاد زمن الحضانة .

٤- تدار الأنبوبة مرة أخرى فى جهاز الطرد المركزى وتقطع الأنبوبة الشعرية فى موضع يبعد ٢ ملم عن طبقة الخلايا البيضاء داخل الخلايا الحمراء المكدسة .

٥- توضع طبقة الخلايا البيضاء بعد فصلها عما ينبغى من بلازما على سطح شريحة زجاجية نظيفة تفرش لصبغها بصبغة رايت Wright .

٦- لاحظ الشكل L.E.Cells .

صورة دم كاملة

Complete Blood Count (CBC)

Red Blood Corpuscles (R.B.Cs) ..... adult male (5-5.5 million cells/mm^3)
adult female (4-5 millions cells/mm^3)

Haemoglobin (Hb) ..... adult male (14 - 16 gm / dl)
adult female (12 - 14 gm / dl).

White Blood Corpuscles (W.B.Cs) ..... 4 - 11, 000 cells / mm3.

Haematocrite (Hct) or Paked cell volume PCV ..... 40 - 52 %

M.C.V. ..... 78 u

M.C.H. ..... 28 uug

M.C.H.C ..... 31 %

Color Index (C.I) ..... 0.8 - 1.0

Blood Platelets ..... (150.000 - 400.000 cells / mm^3)

Reticulocytes count ..... 0.2 - 2%

White Blood Cells Differential

Neutrophile ..... staff (1 - 5 segmented (40-70)

Monocytes ..... 2 - 10%

Lymphocytes ..... 20 - 45%

Basophil ..... 0 - 1%

Eosinophil (Acidophil) ..... 1 - 6%

L.E. Cell ..... Absent or Present

Parasites .....

Types of abnormalities of R.B.Cs or W.B.Cs .....

Comment .....

قيـاس زمـن تجـلط الـدم

Blood Clotting or Coagulation Time (C.T)

يتـجلط الدم عند تعـرضـه للهـواء بعـد خروجـه من الأوعـيـة الدمـوية ، يعـرف زمن التجلط (C.T) بأنه الوقت اللازم لاكتـمال تجلط الدم عند تعرضه لاي سطح غـريب خارج الدورة الدمـوية ويعبر عن كفـاءة مختلف عـوامل التجلط مـجتـمعـة ، يقاس زمن التـجلط لعـينات الدم المأخوذة عن طريق ثقب الجلد او المسحوبة من الاوردة حيث تستخدم الأنابيب الشعرية او المخبرية كما يلي :

١- قياس زمن تجلط الدم المأخوذ من ثقب الجلد Skin Puncture

يبدأ التوقيت لقياس زمن التجلط بهذه الطريقة كما فى شكل (٣٨) بعد احداث جرح قياسي في الجلد وظهور الدم باستخدام الادوات التالية :

أ - الشرائح الزجاجية : توضع نقطة دم مناسبة علي سطح شريحة زجاجية نظيفة وجافة ، يتم الكشف عن ظهور خيط فيبرين كل ٣٠ ثانية من بداية التوقيت وذلك بادخال رأس إبره أو مثقب للجد(Lancent) الي مركز نقطة الدم بحيث يبقي ملامسا لسطح الشريحة ورفعه بعد ذلك عموديا فوق سطح الدم بحوالي ١-٢ملم ، يشير امتداد خيط الفيبرين بين سطح الدم ورأس الابرة او المثقب الي اكتمال تجلط الدم وبالتالي نهاية زمن التجلط تعاني هذه الطريقة كغيرها من التجارب التي تعتمد علي الدم المأخوذ من ثقب الجلد من امكانية تلوث الدم بعصير الانسلجة الغني بالثرومبوبلاستين الذي يعمل علي زيادة سرعة التجلط ونقص زمنه ، كما لايمكن التحكم بدرجة الحرارة ومساحة سطح التماس بين الدم والزجاج ، كما تعاني من امكانية جفاف العينة بسبب تعرضها للتيارات الهوائية ، يقدر زمن التجلط للدم الطبيعي في هذه الحالة بـ ١-٣ دقائق .

ب - الانابيب الشعرية : تملأ ثلاثة أرباع انبوبة شعرية خالية من الهيبارين بالدم المأخوذ من شكة الجلد (او من فتحة الحقنة) . يعتبر دخول الدم في الانبوبة الشعرية بداية التوقيت لزمن التجلط . توضع الانبوبة الشعرية في راحة اليد المقفلة للسيطرة علي

درجة الحرارة (٣٧م°) علي ان يتم الكشف عن حركة الدم داخل الانبوبة الشعرية كل ٣٠ ثانية من بداية التوقيت وذلك بامالته عن الوضع الافقي ، يشير توقف الدم عن الحركة داخل الانبوبة الشعرية عندما تكون بوضع عمودي الي اكتمال تجلط الدم الذي يمكن التأكد منه بكسر الانبوبة الشعرية في منطقة الدم وفصل اجزائها عن بعضها مسافة ١ مم ، يؤكد ظهور خيط الفيبرين بين اجزاء الأنبوبة الشعرية اكتمال تجلط الدم . تتميز هذه الطريقة بامكانية التحكم بدرجة الحرارة وتثبيت سطح التماس بين الدم والزجاج ومنع تعرض الدم للجفاف بفعل التيارات الهوائية . يقدر زمن تجلط الدم الطبيعي عند قياسه بهذه الطريقة بـ ١-٥ دقائق ، كما فى شكل (٣٨) .

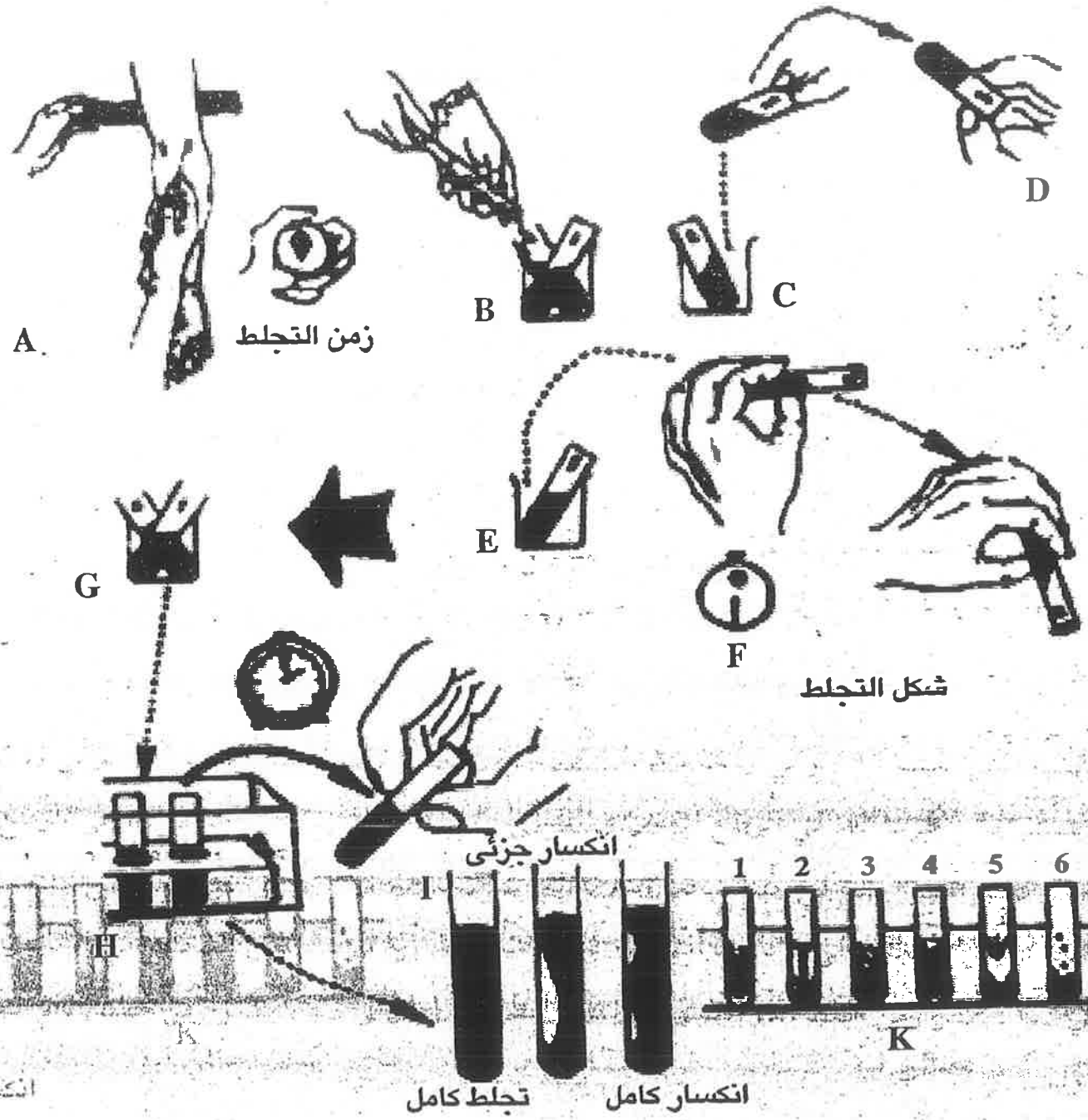
٢- قياس زمن تجلط الدم المأخوذ من الاوردة Vein Puncture

يسحب حوالي ٢ ملليتر دم من الوريد وتوزع بالتساوى علي ثلاثة أنابيب زجاجية يقدر قطرها بحوالي ١٠ ملم موجودة في حمام مائي بدرجة ٣٧م° لما لايقل عن ٥ دقائق ، ثم الكشف عن اكتمال تجلط الدم في كل ٣٠ ثانية من بداية التوقيت بحيث يكون الزمن بين وقت الكشف لاي انبوبة والانبوبة التي تليها ١٠ ثواني وذلك بامالة الأنبوبة تدريجيا حتي الوضع العمودي المقلوب . يشير عدم تحرك الدم في الوضع العمودي المقلوب الي اكتمال تجلط الدم ونهاية زمن التجلط . يعتبر ظهور الدم في حقنة سحب الدم بداية التوقيت لقياس زمن التجلط الذي يساوي معدل زمن التجلط في الانابيب الثلاثة اذا كانت متقاربة او معدل اقرب زمنين لتجلط الدم . يقدر زمن تجلط الدم الطبيعي بهذه الطريقة بحوالي ٥-١١ دقيقة كما فى شكل رقم(٣٩) .

ملاحظات هامة :

١- يرتفع زمن التجلط عمليا عند إنعدام او نقص أى عامل من عوامل التجلط .

٢- يقياس زمن التجلط في ظروف قياسية ثابتة وخاصة درجة الحرارة اذ يجب ان تكون ٣٧م° لان سرعة تجلط الدم تتناسب طرديا مع درجة الحرارة وتقدر في ٣٧م° بحوالي ضعفي سرعته في ٢٠م° .



شكل (٣٨) : طريقة تعيين زمن التجلط المأخود من الأوردة(A)

(A) : سحب الدم مع حساب الوقت (B) : وضع الدم فى انبوبتان مع حساب زمن التجلط فى درجة حرارة الغرفة (C) : لاحظ تجلط الدم (G-H) : تكرر خطوات من A-H فى درجة حرارة الغرفة.

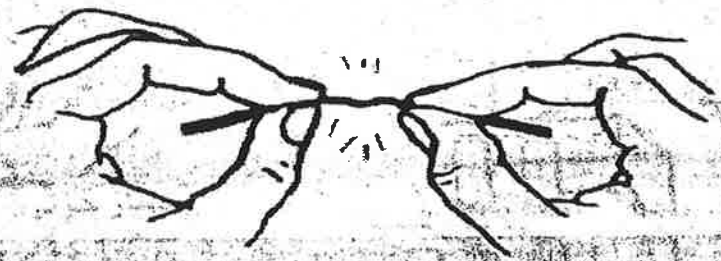
(K) : رقم (١، ٣) يوضح نقص صفيحات الدم (٢) يوضح نقص الفيبرينوجين (٤) يوضح بروتين بلازما الدم الغير طبيعى (٥، ٦) يوضح حالة الهيموفيليا .



أخذ الدم من الأصبع بواسطة أنبوبة شعرية



محاولة كسر جزء من الأنبوبة كل نصف دقيقة



محاولة كسر جزء من الأنبوبة عند تجلط الدم



أضبط الساعة

احسب الوقت من بداية التجربة

ظهور خيط الدم بعد كسر الأنبوبة الشعرية

شكل (٣٩) : قياس زمن تجلط الدم المأخوذ من الأوردة

٣- يجب قياس زمن التجلط لجميع عينات الدم في انابيب ثابته الابعاد بـ (حوالي ١١٠×١٠مم) واستخدام حجم ثابت من الدم في جميع العينات وذلك لتثبيت سطح التماس بين العينة والزجاج .

٤- يلاحظ اكتمال التجلط ونهاية الوقت بشكل جيد وذلك بامالة الانبوبة بزاوية ٩٠-١٥٠ لان التجلط يبدأ في الدم الملامس للزجاج اولا ويتبعه الدم الملامس للهواء ومركز العينة علي التوالي .

٥- زمن التجلط في الإنسان يتراوح ما بين ٣ - ٤ دقيقة .

أهمية زمن التجلط :

١- يحسب زمن التجلط قبل العمليات الجراحية وخاصة اللوز في الاطفال .

٢- يزيد زمن التجلط في الامراض المرتبطة بفقد أو نقص مكونات التجلط الاساسية (الكالسيوم والبروثرومبين) .

قياس زمن النزف Bleeding Time (B.T.)

زمن النزف (B.T.) يعرف بأنه الزمن اللازم لتوقف الدم عن الخروج من جرح قياسي في الجلد بظروف قياسية ثابتة ، يتوقف الدم عن الخروج عندما تقفل فتحات الشعيرات الدموية بمساعدة الصفائح الدموية .انظر شكل(٤٠ ، ٤١). يعبر زمن النزف عن كفاءة الصفائح الدموية التي تتمثل بقدرتها علي التكتل مع بعضها وعلي الالتصاق بجدران الشعيرات الدموية والمساعدة علي تجلط الدم وضمور الجلطة .

يعتبر قياس زمن النزف من اهم التجارب المعملية اللازمة لاجراء العمليات الجراحية ،

يقاس زمن النزف من مواقع الجلد المختلفة كما يلي:

١- **اطراف الاصابع** : يقاس زمن النزف من اي جرح قياسي في أطراف الأصابع بالتقاط الدم من الجرح بمسه دون مسحه بورقة ترشيح مرة كل ٣٠ ثانية من احداث الثقب ، يعتبر عدم التقاط ورقة الترشيح لاي اثر للدم نهاية زمن النزف ، يجب عدم الاعتماد علي اطراف الاصابع لقياس زمن النزف لانه اقل من زمن النزف الحقيقي .

بسبب الطبيعة المطاطية للجلد السميك الخاص باطراف الاصابع والتي تزيد إمكانية إقفال الجرح .

٢- **مقدمة الساعد:** يتميز قياس زمن النزف من مقدمة الساعد بامكانية توفير ظروف قياسية ثابتة وعدم التلوث وبالتالي دقة النتيجة ويقاس زمن النزف من مقدمة الساعد كما يلي :

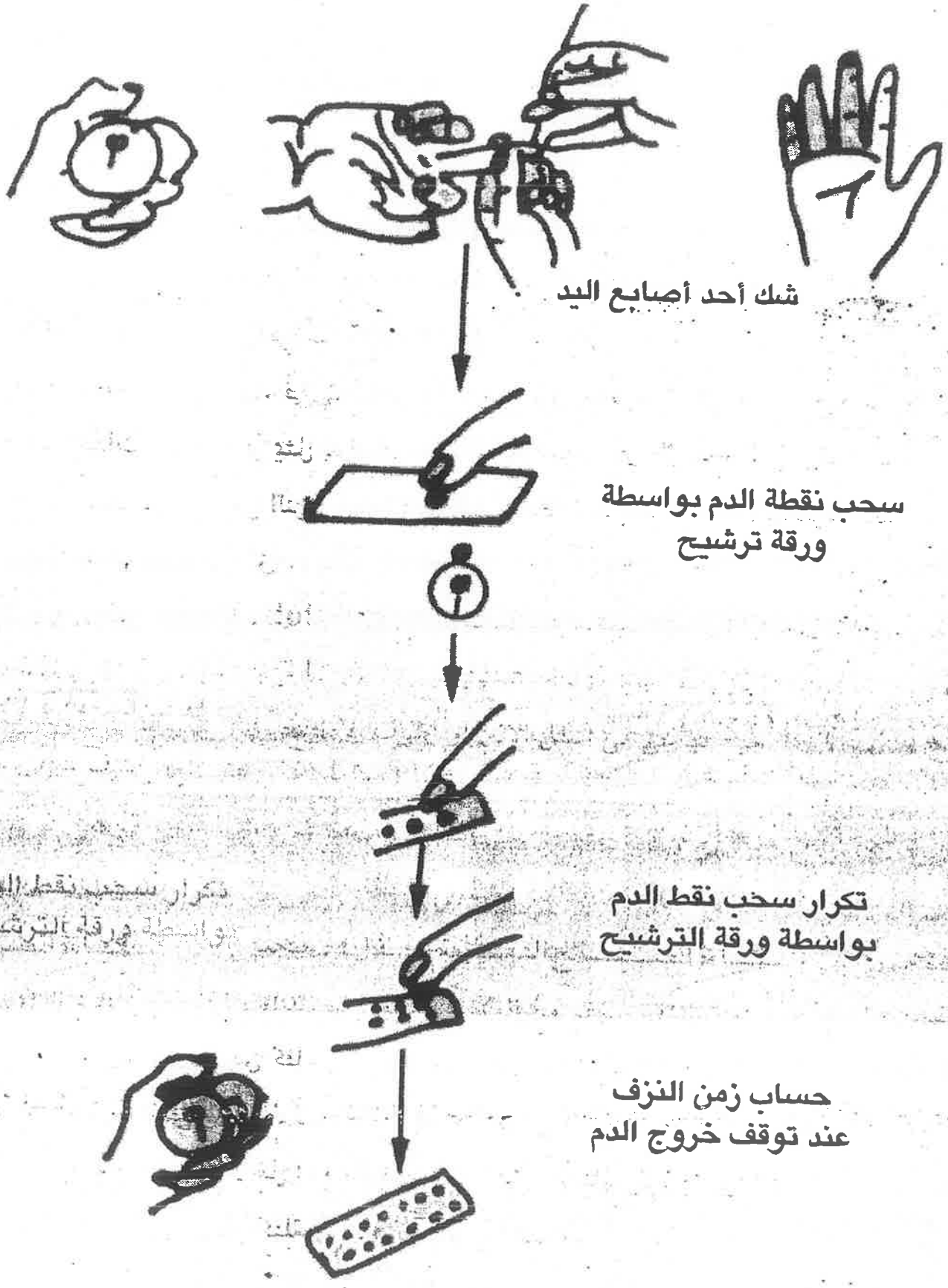
يربط ذراع المريض بحزام ضاغط فوق المرفق ويعرض لضغط ٤٠ ملم زئبق أثناء أجراء التجربة ، ينظف الجلد في مقدمة الساعد اسفل المرفق بالكحول . يتم احداث جرحين قياسيين علي مسافة 1سم من بعضهما بحيث يسبق احدهما الاخر بدقيقة واحدة ، يلتقط الدم في كل جرح بمسه بورقة ترشيح كل ٣٠ ثانية مرة واحدة من وقت احداث الجرح الذي يمثل بداية التوقيت حتي لايظهر اي اثر للدم علي ورقة الترشيح حيث ينتهي زمن النزف، يقدر زمن النزف الطبيعي بناءا علي التجربة السابقة بحوالي ١-٦ دقائق .

٣- **اسفل الاذن (Ear lobe)** : يقاس زمن النزف من اسفل الاذن بدل اطراف الأصابع، يتميز الجزء الاسفل من الاذن برقة الجلد ووفرة الشعيرات الدموية ، يقدر زمن النزف الطبيعي عند قياسه من جرح قياسي في اسفل الاذن او اطراف الاصابع بـ ١-٣ دقائق .

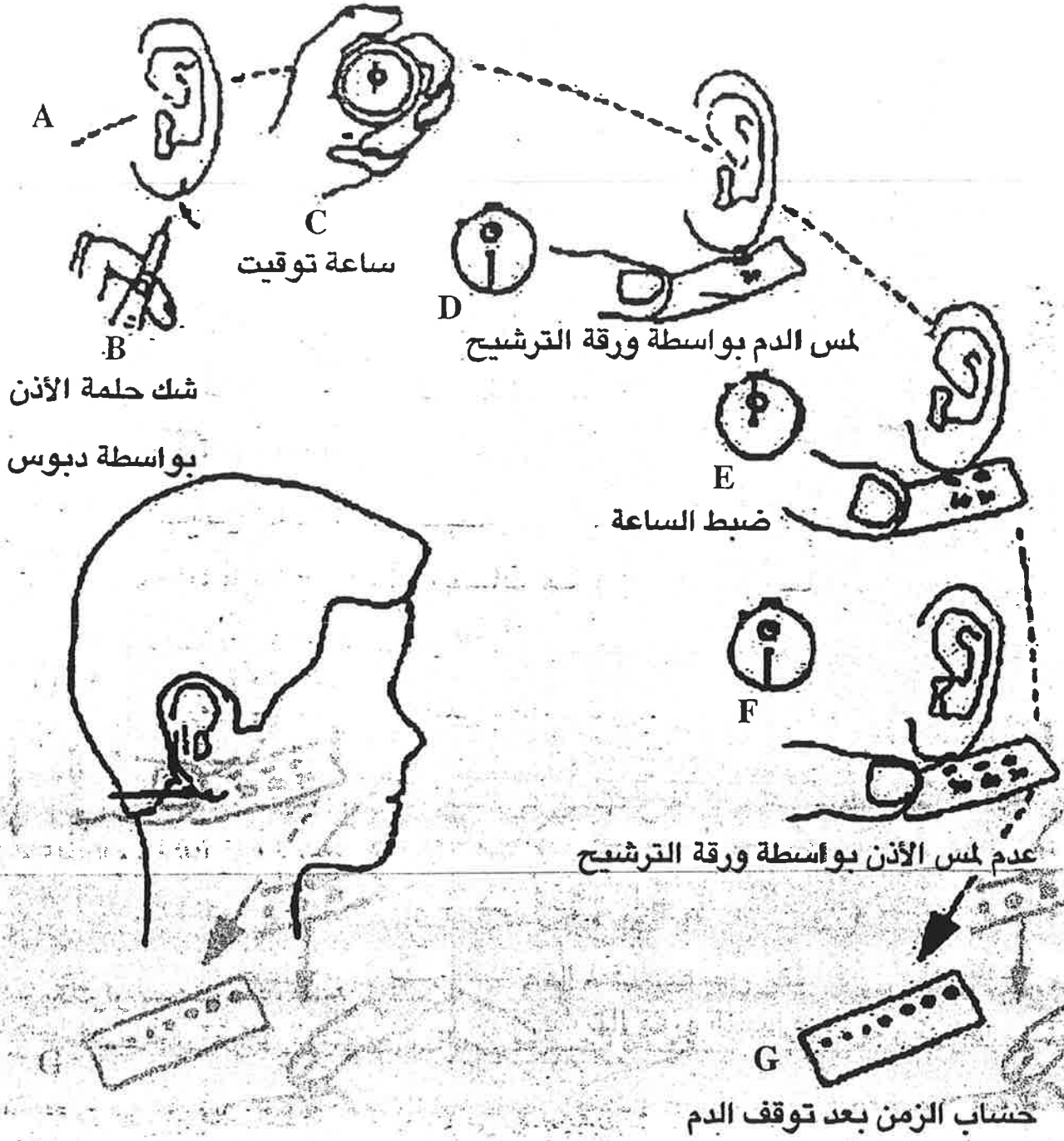
ملاحظات هامة :

١- يزيد زمن النزف عندما تقل كفاءة الصفائح الدموية او يقل عددها (Thrombocytopenia) يزيد زمن النزف بالرغم من العدد الطبيعي للصفائح الدموية بسبب نقص كفاءتها عند زيادة تركيز بولينا الدم او تعاطي الاسبرين.

٢- أن زيادة زمن التجلط لايعنى بالضرورة زيادة زمن النزف علما بان زيادة زمن النزف تؤخر تجلط الدم داخل الأوعية الدموية . لذا قد ينزف الجرح مرة اخري بعد توقف النزيف بسبب تحلل كتلة الصفائح وبقاء الدم متميعا .



شكل (٤٠) : حساب زمن نزف الدم المأخوذ من اليد .



شكل (٤١) : حساب زمن النزف بطريقة Duck

قياس زمن ونشاط البروثرومبين

Prothrombin Time (P.T.) and Activity

يعرف زمن البروثرومبين بانه الزمن اللازم لتجلط البلازما (المجموعة علي اكسلات اوسترات الصوديوم) بعد استعادتها لايونات الكالسيوم بوجود ثرومبوبلاستين البلازما.

يقاس زمن البروثرومبين (P.T) بالخطوات التالية:

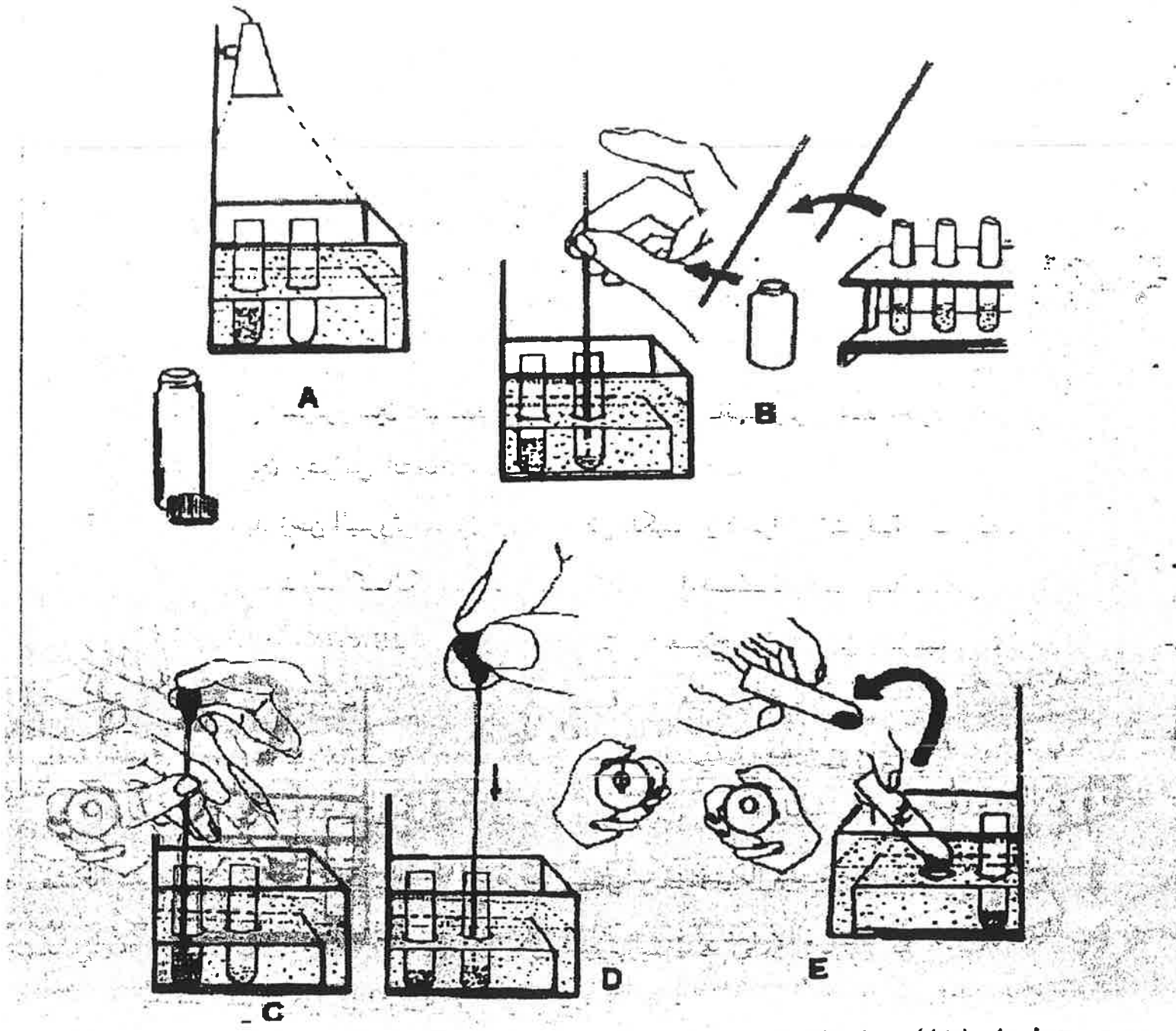
١- يمزج دم المريض بمانع التجلط ١,٠ مول اكسلات الصوديوم في انبوبة طرد مركزي بنسبة ٩سم دم الي 1 سم مانع تجلط وتعرض العينة لقوة الطرد المركزي لفصل البلازما) يجب اجراء التجربة قبل مرور ٤٥ دقيقة علي سحب الدم في الظروف العادية.

٢- يوضع في انبوبة اختبار ١,٠ مللي من محلول الثرومبوبلاستين (Thromboplastin) ويضاف لها ١,٠ مللي من البلازما وتمزج مع بعضها وتوضع في حمام مائي (٣٧م°) مدة دقيقة واحدة ، يضاف لمزيج البلازما والثرومبوبلاستين ١,٠ مللي محلول كلوريد الكالسيوم (٠,٠٢٥ مول) في بداية التوقيت ويتم الكشف عن تجلط البلازما بعد مرور ١٠ ثوان علي بداية التوقيت وذلك بامالة الانبوبة امام مصدر ضوئي جيد ، يعتبر ظهور الجلطة وتوقف العينة عن الانسياب علي جدار الانبوب نهاية زمن البروثرومبين ، انظر شكل (٤٢)

٣- تعاد التجربة علي عينة البلازما بنفس الخطوات بحيث يتم الكشف عن تجلط البلازما بعد مرور وقت يقل عن زمن البروثرومبين في الانبوبة الأولي بعده ثواني ، يعتمد معدل زمن البرثرومين في الانبوبتين في التقرير .

٤- يجب قياس زمن البروثرومبين بنفس الطريقة لعينة دم طبيعية او عينة بلازما قياسية مع كل مجموعة من العينات كضابط (Control) للنتائج .

٥- يمكن التعبير عن نتيجة التجربة كما يلي :



شكل (٤٢) : طريقة تعيين زمن البروثرومبين Prothrombine

(A) : وضع الأنبوبة التى بها كلوريد كالسيوم فى حمام مائى ٣٧ م° (B) : وضع المصل فى الأنبوبة الثانية (C) : إضافة كلوريد الكالسيوم من الأنبوبة الأولى إلى عينة المصل فى الأنبوبة الثانية (D) : إضافة مادة الثرومبوبلاستين ثم توضع الأنبوبة فى حمام مائى ٣٧ م° (E) : ملاحظة تجلط الدم بضبط ساعة التوقيت .

أ - زمن البروثرومبين بالثواني العينة المريض والعينة القياسية :

Patient prothrombin Time.. Seconds
Control Prothrombin Time.. Seconds

ب - مؤثر البروثرومبين (Prothrombin Index) الذي يساوي :

$$\frac{\text{Control p.T.}}{\text{Patient P.T.}} \times 100$$

جـ - نسبة البروثرومبين Prothrombin Ratio وتساوي

$$\frac{\text{Patient P.T.}}{\text{Control P.T}}$$

ملاحظات هامة :

١- يقدر زمن البرثرومبين الطبيعي بحوالي ١٠-١٤ ثانية ويزيد عند وجود نقص في البروثرومبين وعوامل التجلط X,VII,V

٢- كما يزيد زمن البروثرومبين في أمراض الكبد والامراض النازفة وعند العلاج بمميعات الدم كالكومارين Commarin ومشتقاتها كالوفارين Dicumerol(Wafarin) و Heparin والعلاج بالاسبرين وجميع الحالات المسئولة عن عدم توفر لفيتامين K في الكبد.

٣- يقاس زمن البروثرومبين للتحكم بجرعات مميعات الدم بحيث يبقي زمن البروثرومبين بحدود ٢-٢,٥ ضعف الزمن الطبيعي.

٤- يراعي ان تكون البلازما خالية من الصفائح لذا يفضل ان تفصل عن الخلايا الدموية والصفائح بتعريضها لقوة طرد مركزي بسرعة ٢٥٠٠ لفة لمدة ٢٠ دقيقة

قياس الزمن الجزئى للثرومبوبلاستين
Partial Thromboplastin Time (PPT)

تعتبر التفاعلات اللازمة لتكوين عامل التجلط XI الذي يسمي بعامل التماس النشيط Activated contract factor والتفاعلات اللازمة لتكوين عامل الصفائح المكون من الدهون الفوسفورية الذي يساعد علي تكتل الصفائح من ابطأ التفاعلات الخاصة بتجلط الدم لذا فانها تستغرق وقتا بالمقارنة مع غيرها .

يبرز اي تأخير في عملية التجلط عند تسريع التفاعلات السابقة او تجاوزها ويمكن الكشف عنه بخطوة واحدة تتمثل باعادة ايون الكالسيوم . تساعد حضانة البلازما مع الكاولين Kaolin علي زيادة سرعة تنشيط العامل XI .

تحضر عينات البلازما المستخدمة في قياس الزمن الجزئي للثرومبوبلاستين بمزج الدم مع محلول ٣,٨٪ سترات الصوديوم بنسبة ١:٩ علي التوالي وتعرض عينة الدم للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ لفة لمدة ١٥ دقيقة ، تحفظ العينات في درجة ٤م° لفحصها خلال ساعتين .

يمكن قياس الزمن الجزئي للثرومبوبلاستين بالخطوات التالية :

١- يمزج حجم من الدهون الفسفورية بحجم مساو من كلوريد الكالسيوم ويحفظ المزيج بدرجة ٣٧م° .

٢- يوضع في إنبوب تفاعلات مصلية ١,٠ ملل من البلازما ويضاف لها ١,٠ ملل معلق من الكاولين المتجانس ويحفظ الانبوب بمحتوياته في حمام مائي بدرجة ٣٧م° لمدة ٥ دقائق .

٣- يضاف بعد فترة الحضانة ٢,٠ ملل من مزيج الشحوم الفسفورية والكالسيوم بعد تدفئته وتنطلق ساعة توقيت لقياس الزمن اللازم لتجلط الدم .

يمكن قياس الزمن الجزئي لنشاط الثرومبوبلاستين لاربعة عينات في نفس الوقت اذا توفرت ساعات التوقيت بحيث يكون الزمن بين اي عينتين يساوي دقيقتين .

ويعتبر اختبار زمن الثرمبوبلاستين الجزئى احسن التجارب التى تجرى (كاختبار وحيد) لاستقصاء أى خلل فى عملية التجلط. فهو يتغير فى نقص العوامل .(X ، XI ، XII) (I. II. V. VIII. IX) يحدث تطاول فى زمن الثرمبوبلاستين الجزئى اذا حدث نقص متوسط الشدة (٣٠٪ أو أكثر) فى هذه العوامل.

القيمة الطبيعية :

١- اذا وضع منشط اثناط التجربه ٣٠ - ٤٥ ثانيه.

٢- بدون منشط ٦٠ - ١٠٠ ثانيه.

يزداد فى : يتطاول زمن الثرمبوبلاستين الجزئى فى الحالات التالية :

١- جميع الحالات التى يزداد فيها زمن البروثرومبين.

٢- الحالات التى ينقص فيها العامل الثامن والتاسع (الناعور).

٣- الأمراض التى تؤدى الى نقص فى الطريق الداخلى.

علماً بأن زمن الثرمبوبلاستين الجزئى هو الاختبار المفضل فى تقييم ومتابعة المعالجة بالهيبارين.

ملاحظات هامه :

اذا اجرى الاختباران معا (زمن البروثرومبين وزمن الثرمبوبلاستين الجزئى) فيمكن استنتاج الآتى :

١- اذا كان زمن البروثرومبين طبيعيا وزمن الثرمبوبلاستين متطاول فهذا يعنى نقص فى أحد العوامل (VIII, IX, XI , XII)

٢- اذا كان زمن الثرمبوبلاستين طبيعى وزمن البروثرومبين متطاول دل على نقص العامل VII.

بينما يكون زمن الثرمبوبلاستين الجزئى يكون طبيعيا فى الحالات التالية :

- نقص فى الصفيحات.
- خلل فى وظيفة الصفيحات.

يقدر الزمن الجزئي للثرومبوبلاستين بـ (٣٥ - ٤٥) ثانية ويستخدم للكشف عن نقص اي من عوامل التجلط V,VII,IX,X وللدلالة علي وجود اي من موانع التجلط ولايعتبر حساسا بما فيه الكفاية للكشف عن XI,XII وغير فعال في الكشف عن نقص الصفائح الدموية .

تشير زيادة زمن الثرومبوبلاستين الجزئي عن الحد مالاعلي الطبيعي بسبعة ثوان الي وجود حالة مرضية .

لوكيميا الدم Leukemia أو سرطان الدم Blood cancer

وهو مرض يمتاز بتكاثر شديد وغير طبيعي في أعداد الخلايا الدموية البيضاء وتظهر في الدورة الدموية باعداد هائلة تتراوح مابين ٥٠-٥٠٠ الف خلية/ملم٣ ، وتكون الخلايا خفيفة وليس لها قدره على النضوج بشكل عام . ويتميز النخاع العظمى الخاص بالمصابين بسرطان الدم بزيادة كتلة الخلايا والأنسجة النخاعية المتأثرة وإستيدال الخلايا المنتجة الطبيعية بالأنسجة المتورمة مما يجعل لون النخاع العظمى رماديًا .

وتتضخم الغدد الليمفاوية فى جميع أنحاء الجسم بسبب تغلغل الخلايا السرطانية فيها وخاصة فى سرطان الدم الليمفاوى . لذا تتضخم اللوز وتتقرح لتصبح عرضة للإلتهابات. كما يتضخم الطحال ويشغل حيزاً كبيراً من تجويف البطن والصدر وقد تتورم اللثة وتتقرح وتنزف بسبب تغلغل خلايا الدم السرطانية فيها ويقل نشاط القلب وقد يتوقف فجأة بسبب فقر الدم الحاد ، كما تقل مقاومة الجسم ومناعته للإلتهابات الجرثومية لعدم توفر الخلايا الدموية الطبيعية فتنتشر الإلتهابات الجرثومية الصديدية والنزف بسبب نقص عدد الصفائح الدموية وعوامل التجلط . كما يزيد فقر الدم والنزف وموت الخلايا والأنسجة بسبب العلاجات الكيميائية والإشعاعية .

يصاب الإنسان بأى أنواع سرطان الدم فى أى عمر ، وتصاب الذكور بسرطان الدم أكثر من الإناث ولا تعرف أسباب لسرطان الدم بشكل قطعى وقد يكون العمل فى أقسام الأشعة سبب لذلك وربما تساهم العوامل الوراثية فى إمكانية الإصابة بسرطان الدم .

ويقسم سرطان الدم الى :

١- سرطان الدم الحاد (Acute Leukemia)

٢- سرطان الدم المزمن (Chronic leukemia)

١- سرطان الدم الحاد Acute Leukemia

التشخيص المعملى :

١- عدد الخلايا الدموية الحمراء : قليل وشكلها طبيعي في النهاية وفي المراحل الأخيرة من المرض صغيرة بسبب النزيف وقله الهيموجلوبين .

٢- **الخلايا الشبكية** : تزداد

الهيموجلوبين : قليل قد يصل الي (٣-٨مجم٪)

الصفائح الدموية : قليلة

٣- كريات الدم البيضاء - يزيد عددها عن ٥٠,٠٠٠-١٠٠,٠٠٠/ملم٣ ويكون معظمها Megaloblast .

٢- سرطان الدم المزمن : Chronic leukemia

التشخيص المعملى :

١- **الهيموجلوبين** : معتدل ٨-١٠ جم ٪

٢- **الكريات الدموية الحمراء** : قليلة ، وفي البداية تكون طبيعية ثم تصغر بالحجم ومحتوي الهيموجلوبين

٣- **الصفائح الدموية** : تقل في المرحلة المتقدمة

خلايا الدم البيضاء : يزيد عددها عن ١٠٠,٠٠٠-٥٠٠,٠٠٠/ملم٣

سرعة ترسيب كرات الدم الحمراء

Erythrocyte Sedimentation Rate (E.S.R.)

سرعة الترسيب هي مقياس للتغيرات في الحالة الغروية للدم الناتجة من الاصابة ببعض الأمراض في وقت محدد ، وهناك عدة عوامل تؤثر في سرعة الترسيب وهي :

١- **عوامل طبيعية** : وهي عدد وحجم وشكل كرات الدم .

٢- **عوامل كيميائية** : وهي بروتينات البلازما التي تؤدي إلي زيادة سرعة الترسيب والليبيدات ومنها الكوليسترول الذي يؤدي بدورة الي زيادة سرعة الترسيب وغسل

- وتنظيف أنابيب سرعة الترسيب فى محلول قلوى أو قاعدى .

٣- **عوامل فسيولوجية** : ومنها الجنس والسن والحمل والتمارين الرياضية

٤- **عوامل تكنيكية** : ومنها نوع المادة المانعة للتجلط - زمن عينة الدم طول وقطر الانبوبة المستخدمة لقياس سرعة الترسيب ، وضع الأنبوبة ، درجة حرارة الغرفة والتي يجب أن تكون (٢٠-٢٥م°) .

٥- **عوامل اخري** : بعد العمليات الجراحية ، استعمال بعض العقاقير Salicylates التي تؤدي الي تقليل سرعة الترسيب ، وكذلك الكورتيزول ، وبعض هرمونات الغدة النخامية.

وهناك بعض الظروف المرضية التي تؤدي الي زيادة سرعة الترسيب ومنها التهاب الجلد، والانيميا الحادة ، جلطة الشريان التاجي ، الروماتيزم الحمي ، أو أية التهابات داخل الجسم ، كما تقل سرعة الترسيب في الظروف الآتية : امراض الحساسية - وانيميا الخلايا المنجلية .

طريقة تعيين سرعة الترسيب

طريقة ويسترجرين Westergren's وهذا الجهاز يتكون من ماصات ترسيب اتساعها ٢,٥ مم ومدرجة من أعلى الي اسفل 0-200mm الجزء العلوي مثبت في قائم معدني ، انظر شكل (٤٣ ، ٤٤)

الطريقة :

١- اضف ١,٦ سم من الدم إلى ٤ ,سم من محلول سترات الصوديوم تركيز ٣,٨ ٪.

٢- إسحب الدم بواسطة ماصة الترسيب حتي العلامة(Zero) . ثم ضع الماصة رأسياً في الحامل المعدني .

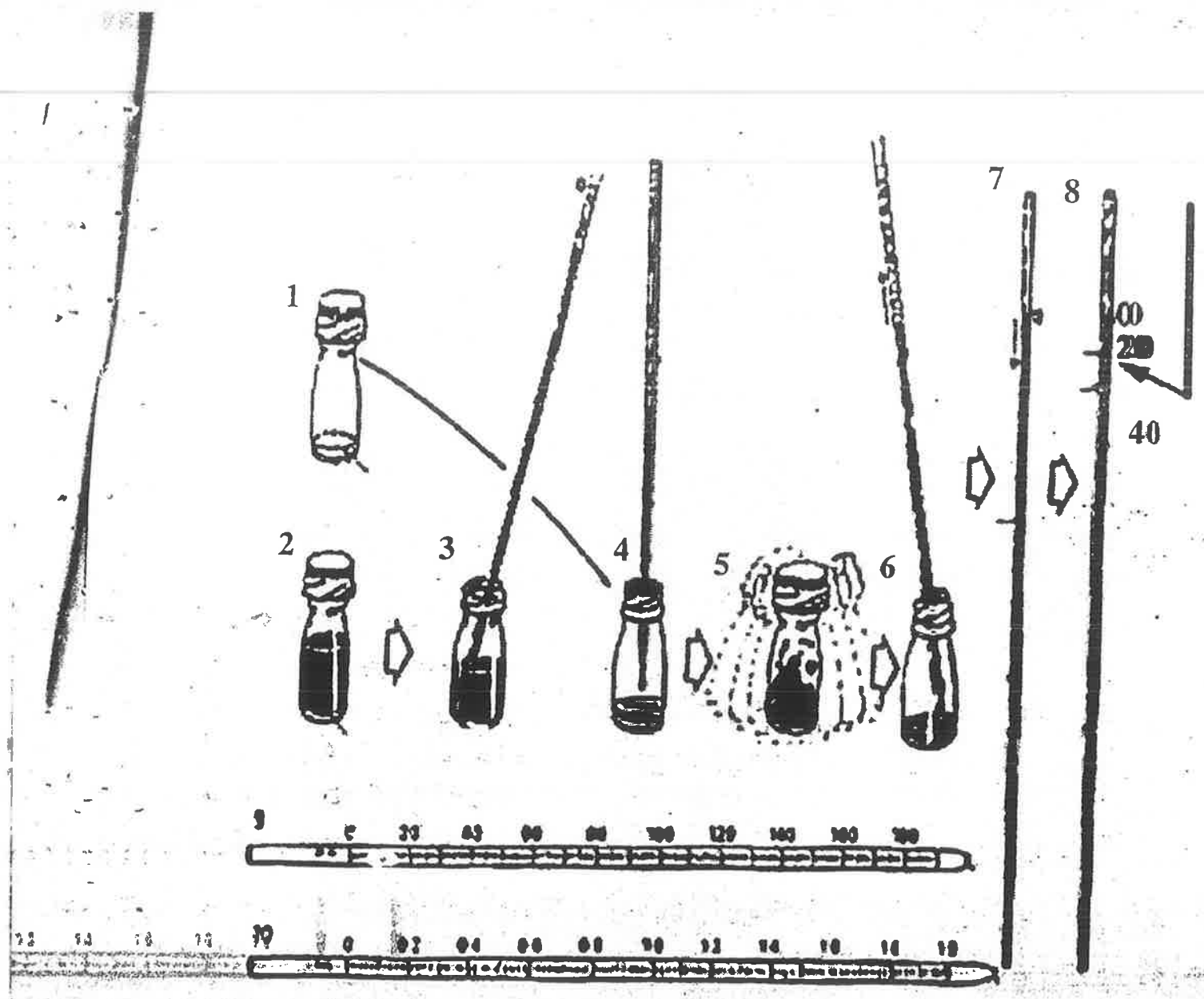
طريقة الحساب :

١- قراءة الساعة الأولى = ... مم .

٢- قراءة الساعة الثانية = ... مم .

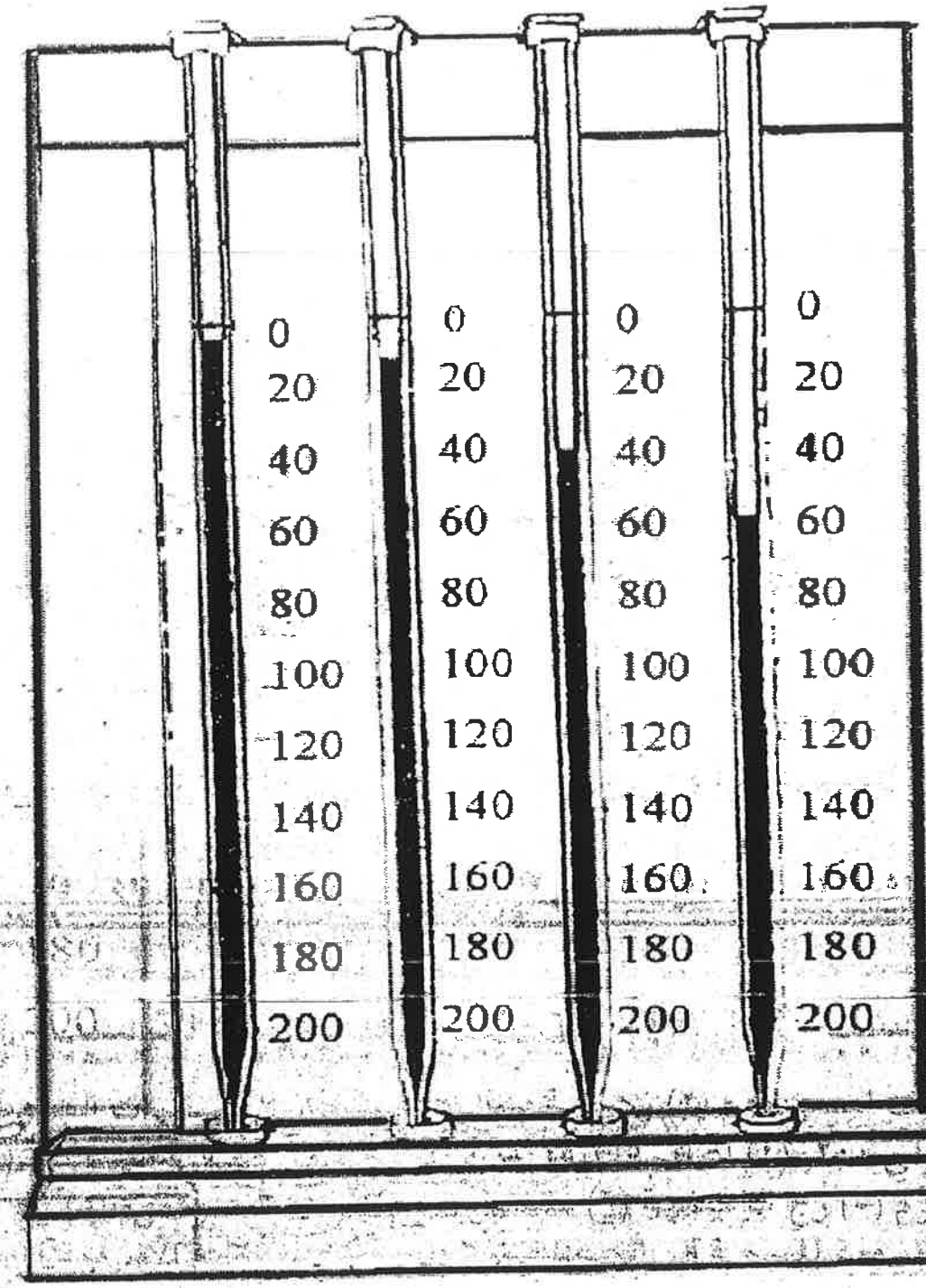
$$\text{متوسط سرعة الترسيب} = \frac{\text{قراءة الساعة الأولى} + \text{قراءة الساعة الثانية}}{٢}$$

وسرعة الترسيب تختلف من الذكور الي الاناث . ففى الذكور يصل حتى ١٥ سم والإناث تصل إلى ١٩ مم.



شكل (٤٣) : التحضير لتعيين سرعة الترسيب

(١) زجاجة بها (١/٢ مل) ٣,٨٪ سترات الصوديوم (٢) زجاجة بها (١/٢ مل) الدم (٣) الماصة المدرجة من صفر إلى ٢٠٠ (٤) أضف ١٫٥ مل من الدم إلى ١/٢ مل من سترات الصوديوم (٥) رج الزجاجة (٦) سحب من سترات الدم فى الأنبوبة المدرجة (٧) وضع الأنبوبة المدرجة فى الجهاز (٨) حساب سرعة الترسيب ، البلازما (٩) أنبوبة وستر جرين (١٠) الماصة المستخدمة فى التخفيف .



شكل (٤٤) : طريقة تعيين سرعة الترسيب Sedimentation rate

جهاز وسترجرين

يزداد هذا الفحص بصورة واضحة في الامراض التالية :

١- الالتهابات الدرنية (T.B.) ٢- الاورام الخبيثة ،و سرطان اقولون ، سرطان الدم
٣- الالتهابات المفصلية ٤- الحمي الرئوية الحادة

ويزداد بصورة معقولة فى :

١- الالتهابات الجرثومية ٢- نقص الألبيومين
٣- فقر الدم ٤- الطمث عند النساء ٥- الحمل

إحتمال الخطأ فى التجربة :

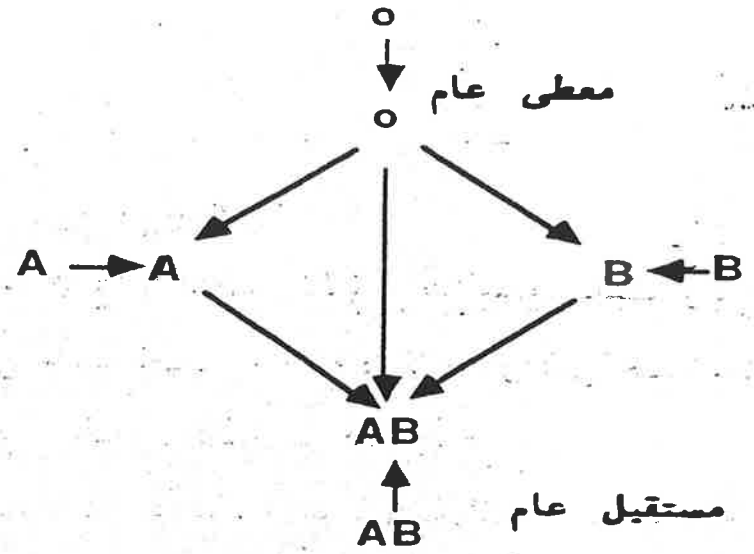
١- الزمن يجب اجراء الاختبار خلال ساعتين من سحب العينة فقط او اذا حفظ في درجة حرارة ٤م لمدة ٦ساعات .
٢- درجة الحرارة : تعتمد سرعة تنقل الكريات الدموية الحمراء علي درجة حرارة الغرفة التي يجري فيها الاختيار (المناسبة لهذا الفحص ١٨-٢٥م°).
٣- التلوث : يجب تجنب تلوث الانابيب بمواد التنظيف اثناء تنظيف الانابيب وعدم تلوث جلد المريض اثناء سحب العينة .
٤- وجود جلطه دموية في العينة يفقد الاختبار قيمته
٥- لايجوز إستعمال حجم نسبي خاطئ بين المادة المانعة للتجلط (سترات الصوديوم) وبين الدم .
٦- لايجوز إستعمال الأنابيب وهي غير نظيفة
٧- لايجوز وضع الأنبوب أثناء الفحص بوضع غير الوضع العمودي .
٨- لايجوز أن يكون هناك مكان للفقاقيع في عمود الدم .
٩- التوقيت الغير دقيق يؤدي إلى إختبار خاطئ ويجب تحديد الوقت بساعة واحدة بالضبط

فصائل الدم Blood Groups

قد يتسبب النزيف المستمر في موت الانسان لذا فانه يتعين القيام بعملية نقل دم البدمن شخص آخر وهذا يتطلب توافق بين فصيلة دم الاثنين (المعطي والمستقبل) اي الذي يؤخذ منه الدم والذي سينقل اليه الدم ، لأن الجهل بهذه الفصائل قد تكون له عواقب وخيمة والسبب في ذلك انه من بين المواد الموجودة في الدم توجد مادتان في كرات الدم الحمراء من الانتيجينات Antigens ومادتان اخريتان في البلازما من الاجسام المضادة Antibodies ويرمز الي نوعي الانتيجينات بالحرفين الكبيرين A,B بينما يشار الي نوعي الجسام المضادة بالحرفين الصغيرين a,b, وينتمي دم اي شخص الي احدي الفصائل الاربعة التالية :

الفصيلة A تحتوي علي الانتيجين A ، الجسم المضاد b
الفصيلة B تحتوي علي الانتيجين B الجسم المضاد a

الفصيلة Aβ تحتوي علي الانتيجنين AB ، ولاتوجد بها اجسام مضادة
الفصيلة 0 ليس بها انتيجينات وتحتوي علي الجسمين المضادين (a,b)
وعند مزجل أو نقل دم به الأنتيجين (A) إلى دم به الجسم المضاد (a) يحدث تجلط أو تجمع الدم ، أى تلتصق كريات الدم مع بعضها البعض وتكسر وتعجز الكلى عن التجلط منه ، كذلك تحدث عملية التجلط أو الألتصاق عندما يخرج دم به الأنتيجين (A) مع دم يحتوى على الجسم المضاد (b) .



فصيلة الدم	مصل فصيلة B (مضاد B)	مصل فصيلة B (مضاد A)
A	-	+
B	+	-
AB	+	+
O	-	-

ويمكن إيضاح ذلك بصورة أفضل على الوجة التالى :

فصيلة الدم	الانتيجات في كرات الدم الحمراء	الاجسام المضادة في المصل
A	A	b
B	B	a
AB	B.A	لايوجد
O	لايوجد	a.b

وعلي العكس من ذلك فإنه لايحدث تلزن دموى أو التصاق لكريات الدم عندما يمزج دم يحتوى على الأنتيجين (A) بدم يحتوى على الجسم المضاد (b) أو بدم لايحتوى على أجسام مضادة مثل الدم من الفصيلة AB.

كذلك لايحدث تجمع أو التصاق لكريات الدم عندما يخلط أو يمزج دم به الأنتيجين Bمع دم يحتوى على الجسم المضاد (a)أو مع دم لايحتوى على أجسام مضادة مثل الدم من الفصيلة (AB) ويلخص الجدولين الآتيين كل هذا الشرح .

فصيلة الدم	المستقبل			
	Ab	Ba	AB	O a.b
A	−	+	−	+
B	+	−	−	+
AB	+	+	−	+
O	−	−	−	+

+ = يحدث الالتصاق او التلزن الدموي . − = لايحدث التصاق او تلزن دموي

لتحديد فصيلة الدم تستخدم شريحة زجاجية نظيفة وتوضع عليها نقطتان متباعدتان من الدم المراد معرفة فصيلته ، ثم يضاف الي احداها مضاد (A) والاخري مضاد (B) .

فإذا حدث تلزن (تجمع كرات الدم الحمراء) مع مضاد A كانت الفصيلة A .

وإذا حدث تلزن مع مضاد (B) كانت الفصيلة (B) .

وعند حدوث تلزن مع مضاد (A) ومضاد (B) التلزن .

وكانت الفصيلة (AB) أما إذا لم يحدث تلزن كانت الفصيلة (O) .

عـــامـــل ريسيس Rhesus factor (Rh)

لوحظ ان عملية الالتصاق او التلزن الدموي قد تحدث اثناء بعض عمليات نقل الدم علي الرغم من التأكد من فصائل الدم في كل من المعطي والمستقبل وأخذها في الاعتبار ، واكتشف ان سبب ذلك هو وجود انتيجين آخر عرف لأول مرة في القردة من فصيلة رسيس (Rhesus) ولذا سمي بعامل رسيس ويوصف الشخص الذي يحتوي دمه علي هذا الانتيجين بموجب العامل ويشار اليه بالرمز Rh^+ ويمثل حوالي ٨٥٪ من تعداد الأفراد بينما الشخص الذي يخلو دمه من هذا العامل فيسمى سالب العامل ويشار اليه بالرمز Rh^- وهم حوالي ١٥٪ من تعداد الافراد) .

بينما تعتبر مجموعات الدم (ABO) مهمة جداً فى عمليات نقل الدم، فإن المجموعة (Rh) هى المسئولة عن وفاه بعض الأطفال قبل أو بعد الولادة مباشرة نتيجة إنفجار كرات الدم الحمراء لهؤلاء الأطفال كما أن معظم حالات إنفجار خلايا الدم الحمراء الجينى "Erythroblastosis Fetalis" تحدث فى الأطفـال الذين يكونون غالبًا موجبين للفاعل (Rh) .

وكذلك يكون آباؤهم موجبى العامل ولكن أمهاتهم يكن سالبات لهذا العامل ويسبب الجنين الموجب للعامل (Rh) ، والمتكون فى رحم أم سالبة لهذا العامل تكوين أجسام مضادة (ant-Rh) فى دورة دم الأم وقد تكتسب هذه الأجسام المعتادة وخاصة نتيجة لتعدد الحمل المتعاقب لأجنه موجبة للعامل Rh تركيزا كمافيا لمهاجمة خلايا الدم الحمراء فى الجنين، ويسبب التفاعل بين هذه الأجسام المضادة في الأم والخلايا الحمراء فى طفلها الذى لم يولد بعد إنفجار الخلايا الحمراء والأنيميا وهذا يؤدى إلى إجهاض الجنين قبل الولادة أو وفاة الطفل حديث الولادة ويمكن إنقاذ هؤلاء الأطفال عقب الولادة مباشرة وذلك بإجراء عملية نقل دم كلى سريع لاحلال دم مناسب محل الدم الذى إنفجرت فيه الخلايا الحمراء .

وفي حالة نقل دم شخص موجب العامل الي شخص سالب العامل ، فان ذلك يحفز دم المستقبل علي توليد اجسام مضادة ولاتشكل هذه العملية خطورة تذكر في المرة الأولي لحدوثها ولكن اذا تكررت بعد ذلك ينتج عنها تلزن دموي خطير .

ملحوظة : العوامل التي تؤدي الي تكسير (تحلل) كرات الدم الحمراء :

١- محلول ملحي تركيزة ٠,٣ ٪ أو ٠,٤٥ ٪ .

٢- الرج العنيف او التبريد في الفريزر أو أقل

٣- انزيم الفوسفوليبيز الموجود في سم الثعابين .

٤- الاحماض والقلويات القوية .

٥- املاح الصفراء ، الصابون ، مذيبات الدهون

٦- النيترات ، وفوق اكسيد الهيدروجين .

تشخيص طفيليات الدم

Diagnosis of blood parasites

آ- التربيانوسوما Trypanosoma

تعيش التربيانوسوما أساسًا وتتكاثر فى دم الإنسان .

التشخيص المعملى : Laboratory diagnosis

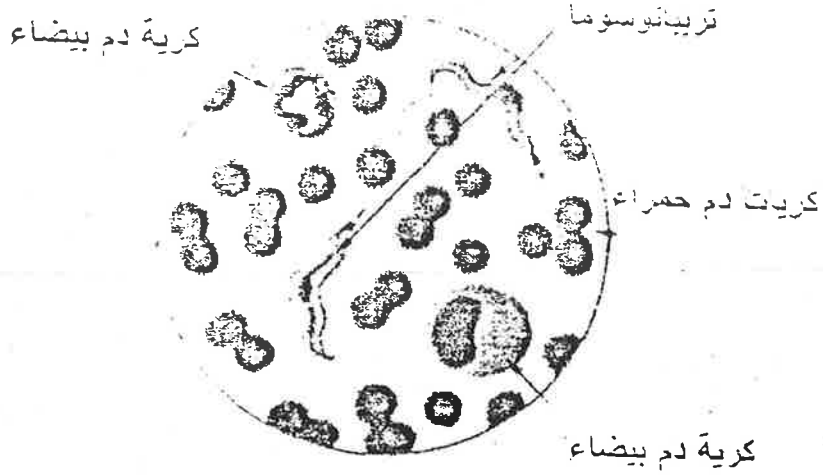
تفحص عينات من الدم الطازج بعد صبغها بصبغة رايت Wright (٩ر٠ جم من الصبغة الطبقة تذاب فى ٥٠ ملل من الميثانول وترك لمدة ٣ أسابيع وترشح الصبغة قبل إستخدامها وتحفظ فى مكان مظلم) أو جيمسا Giemsa والتعرف على أطوار هذه الطفيليات وهناك نوعان من التربيانوسوما التى تصيب الإنسان وهى :

١- تربيانوسوما روديسينى Trypanosoma Rhodesiense

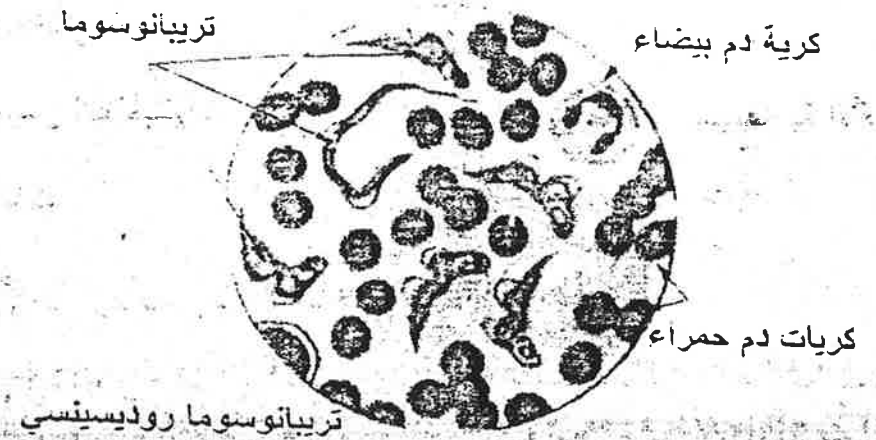
وهى المسبب لمرض النوم الحاد Acute Sleeping Sickness

٢- تربيانوسوما جامبينى Trypanosoma Gambiense

وتنقله ذبابة (تسى تسى) Tse tse Fly . تستخدم شرائح زجاجية نظيفة ومعقمة ويوضع عليها نقطة دم ويعمل منها مسحة رقيقة Thin Smear أو نسخة كثيفة Thick smear وتصبغ بإحدى الصبغات السابق ذكرها كما فى شكل (٤٥) .



تريبانوسوما جمبيانزي



تريبانوسوما روديسينسي

شكل (٤٥) : يوضح طفيليات الدم (التريبانوسوما)



شكل (٤٦) : يوضح طفيليات الدم (الليشمانيا)

طريقة العدوى : Mode of Infection :

التعرض لذبابه تسى تسى Tesetse من جنس جلوسينا Glossina التى تنقل المريض عن طريقب العض (اللدغ) حيث تسبح مع الدم إلى معدة الحشرة حيث تمر بعد ١٠ إنقسامات حتى تنتقل إلى الإنسان .

علامات الإصابة : Symptoms

النوم المستمر والعميق ، وتضخم العقد الليمفاوية إرتفاع غير منتظم فى درجة الحرارة وظهور بثور بالجلد .

الوقايه : Protection القضاء على ذبابة تسى تسى Tse Tse

ب- الليشمانيا Leishmania

تعيش الطفليليات من جنس الليشمانيا فى الخلايا الليمفاوية الآكلة الكبيرة فى كثير من الثدييات .

التشخيص : Laboratory Diagnosis

أ- الكشف عن الطور السوطى للطفيل فى عينات الدم المصبوغة بصيغة رايت Wright أو جيمسا Geimsa على مسحة (فيلم) رقيقة أو مسحة كثيفة كما فى شكل (٤٦)

ب- يمكن التعرف على اللشمانيا عن طريق زرع الدم .

علامات الإصابة : Symptoms

تضخم الكبد والطحال ، قرحة بالأمعاء إرتفاع درجة الحرارة ، زيادة عدد خلايا الدم البيضاء ، وتؤدى كذلك إلى فقر الدم (الأنيميا) وذلك لتأثيرها الضار على نخاع العظام المسئول عن تكوين الدم ، وظهور حراشيف على الجليد أو تآكل .

طريقة العدوى Mode of Infection

عندما تمص ذبابة الرمل أى دم عائل مصاب فإن الليشمانيا تنتقل إلى الدم ثم

تجويف المعدة ثم المرىء ومنها إلى البلعوم ثم إلى تجويف الفم حيث تنتقل الليشماتيا إلى شخص آخر عندما يتعرض لذبابة الرمل .

الوقاية Protection

القضاء على ذبابة الرمل وأطورها قبل تكاثرها .

جـ- الملاريا Malaria

توجد أربعة أنواع من البلازموديوم تسبب داء الملاريا وهم :

بلازموديوم فيفاكى Plasmodim Vivax

بلازموديوم فالسيبارم P. Fulciporum

بلازموديوم ملارى P. Malarie

بلازموديوم أوفالى P. Ovale

التشخيص المعملى Laboratory Diagnosis

أولا : سحب الدم من الوريد أو من أصابع اليد وهى السبابة وعمل مساحات والدم طازج أو وضع الدم فى أنبوبة زجاجية جافة وبها مادة مانعة للتجلط وهى EDTA .

ثانيا : صبغ مسحة الدم الموجودة على الشريحة بعد تجفيفها وتستخدم صبغة جيمسا Geimsa Stain فى هذه الحالة إذا كانت مسحة الدم خفيفة أى رقيقة أنظر شكل (٤٧) .

أ- تثبت المسحة بواسطة الميثانول لمدة دقيقة .

ب- إغمس الشريحة فى صبغة جيمسا وتخفف بالمحلول المنظم (١ : ١٠) له أس أيدروجينى (PH) يكافىء ٢ر٧ لمدة ٢٠ دقيقة .

جـ- تخلص من المحلول المنظم و الصبغة .

د- فحص الشريحة بواسطة العدسة الزيتية للتعرف على الطفيل داخل كرات الدم الحمراء ، انظر شكل (٤٧).

تحضير صبغة فيلد Feild's Stain

١- أوزن ٢٫٥ جراء من صبغة فيلد (A) وذوبها فى ١٠٠ مل ماء ثم رشح .

٢- حضر صبغة فيلد B (Feild's stain) بنفس طريقة تحضير فيلد A

د- الفيلاريا Filaria **أو مرض الفيل** Elephantiasis

طريقة العدوى Modet of infection

عندما تلدغ بعوضة الأنوفليس المصابة إنسانا سليمًا فإنها تحقن فيه العديد من الحيوانات البيوغية (البلازموديوم) التى تمر مباشرة إلى تيار الدم ثم تتجه إلى الكبد حيث يتكاثر في خلايا الكبد وتصبح خطره على صحة الإنسان .

علامات الأصابة Symptoms

١- تكوين جلطة بالجهاز الليمفاوى لتكاثر عددها .

٢- تليف العقد الليمفاوية وتكوين خراريج . ٣- إسهال .

٤- إنسداد فى الجهاز الليمفاوى بالصدر . ٥- تورم شديد وملحوظ بالأرجل .

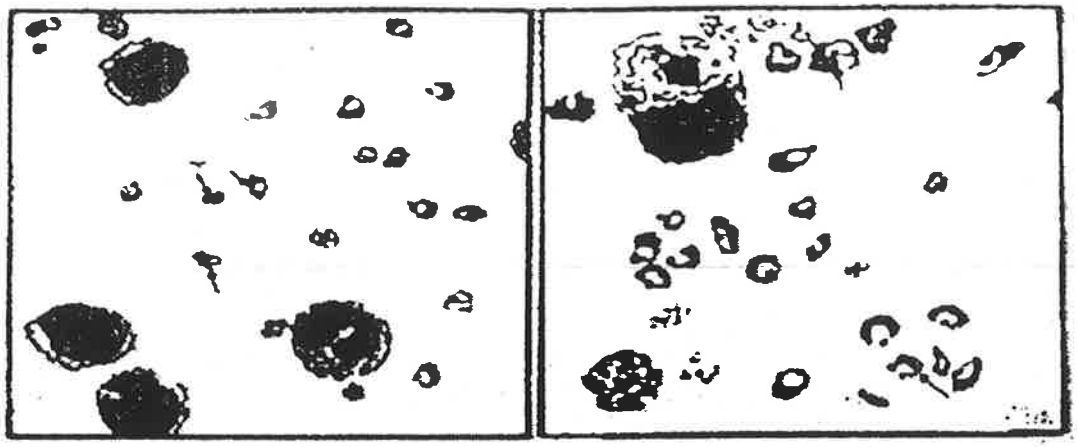
الكشف عن وجود الفيلاريا بالدم

١- ضع فى أنبوبة حوالى ٤-٥ مل من الدم الطازج وأضف إليه $\frac{١}{٢}$ ملليلتر سترات صوديوم (٣٫٨ جرام٪) .

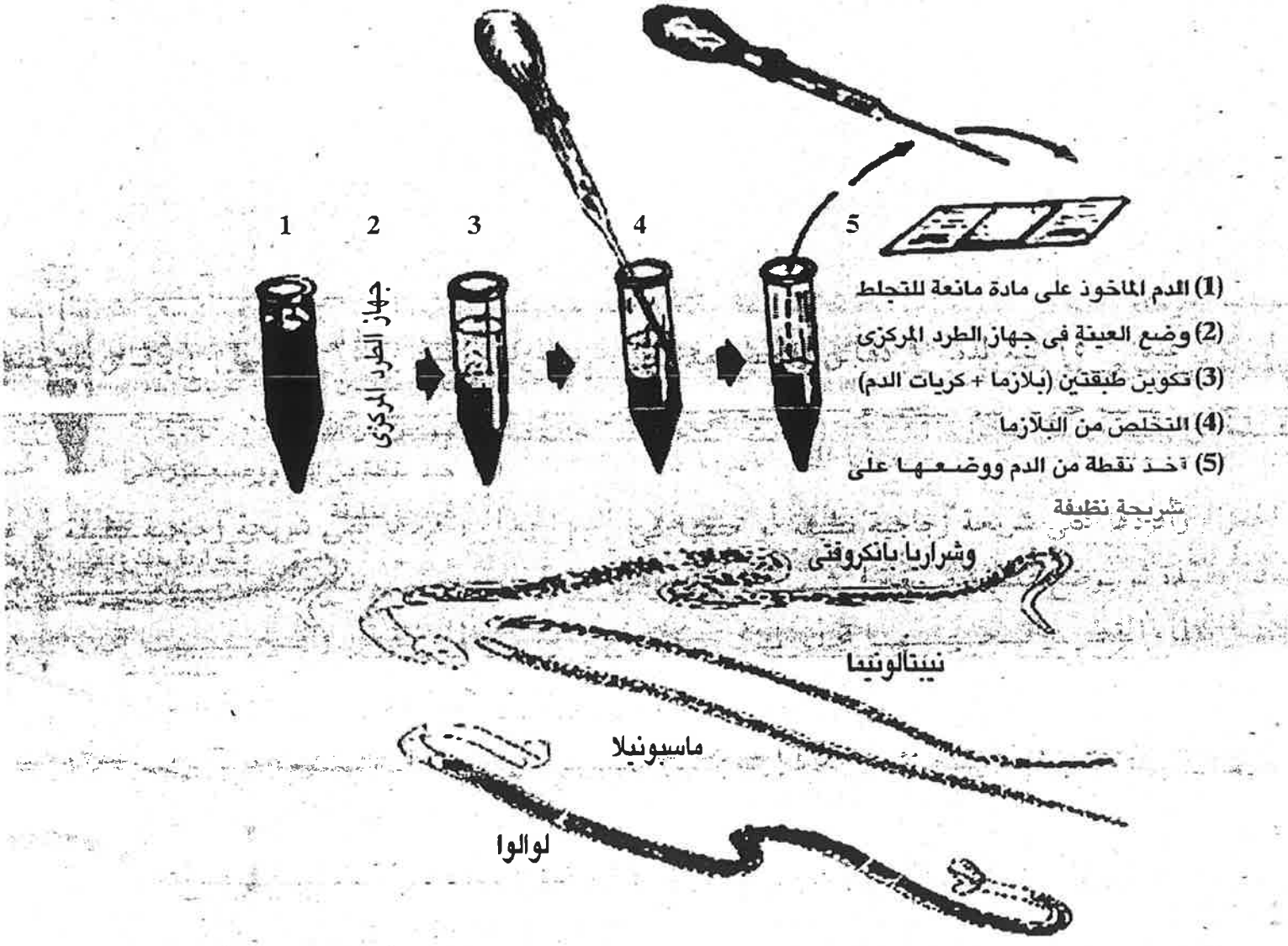
٢- دور الأنبوبة فى جهاز الطرد المركزى عند ١٥٠٠ لفة لمدة ١٠ دقائق ولاحظ بعد ذلك وجود ثلاث طبقات الأولى البلازما - الثانية خلايا الدم البيضاء - الثالثة هى طبقة خلايا الدم الحمراء .

٣- خذ نقطة من طبقة خلايا الدم الحمراء وأفردها على شريحة زجاجية نظيفة أو جففها فى الهواء أو فوق اللهب من مسافة بعيدة ثم يوضع عليها صبغة ليشمان Leishman Stain لمدة ١٠ دقائق ثم تغسل بالماء المقطر وأفحصها تحت الميكروسكوب للتعرف على وجود الميكروفيلاريا أو عدمها .

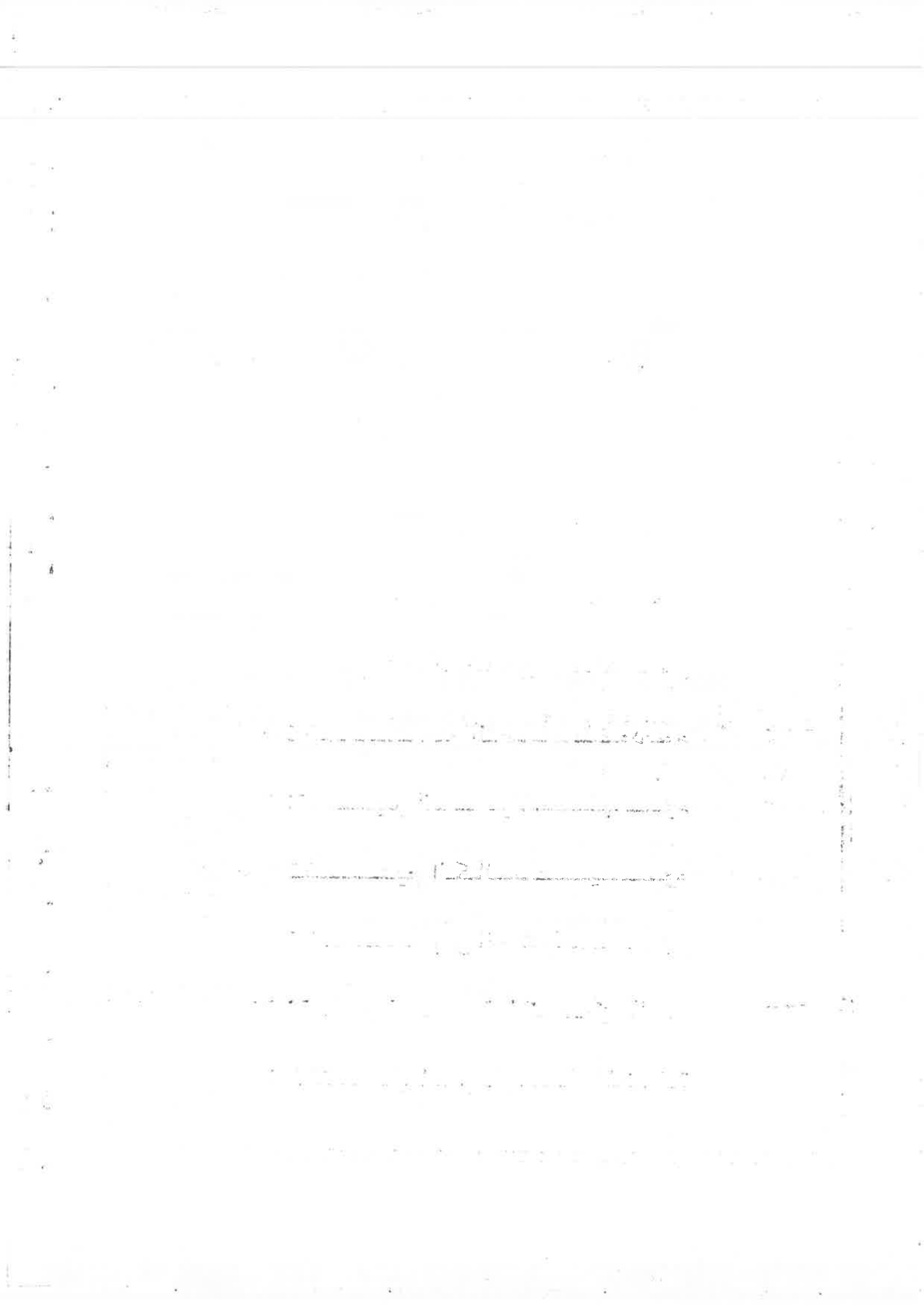
٤- خذ نقطة من طبقة خلايا الدم البيضاء ونقطة من خلايا الدم الحمراء وأفردها على شريحة زجاجية نظيفة وجففها فى الهواء أو فوق اللهب من مسافة بعيدة ثم يوضع عليها صبغة ليشمان لمدة ١٠ دقائق ثم تغسل بالماء المقطر ثم تفحص تحت الميكروسكوب. انظر شكل (٤٨).



شكل (٤٧) : الملاريا



شكل (٤٨) : أنواع الفيلاريا



الباب الثانى

كيمياء الدم Blood Chemistry

- إختبارات للكشف عن وظائف الكبد
- إختبارات للكشف عن وظائف القلب
- إختبارات للكشف عن وظائف الكلى
- تقدير الصوديوم
- تقدير البوتاسيوم
- تقديم الكالسيوم
- تقدير الجلوكوز
- تقدير نسبة الكحول بالدم
- الأنتيجينات والأجسام المضادة

كيمياء الدم Blood Chemistry

تحضير البلازما أو المصل Plasma or Serum

١- خذ أنبوبة طرد مركزى وضع فيها عينة الدم بالاضافه الي المادة المانعة للتجلط التي سبق ذكرها في علم الدم في بداية الكتاب وامزجها جيدا وبعد ١٠ دقائق ضعها في جهاز الطرد المركزي بسرعة ٤٠٠٠ لفة/دقيقة لمده ٥ دقائق .

٢- يتم ايقاف جهاز الطرد المركزي تدريجيا حتي لايحدث اختلاط البلازما Plasma بالخلايا التى تكونت اسفل الانبوبة .

٣- تسحب البلازما في انبوبة منفصلة وإذا كان هناك احمرار للبلازما يتم وضعها مرة اخري في جهاز الطرد المركزي لترسب الدم الذي لون البلازما واللون الطبيعي لبلازما الدم هو أصفر باهت . انظر شكل (٤٩)

وللحصول علي المصل Serum الهام والمفيد خاصة في تقدير الانزيمات يتبع الأتى :

١- يوضع في انبوبة الطرد المركزي كمية من الدم وتترك لمدة ٣٠ دقيقة ثم يتم لها الدوران لمدة ١٠ دقائق في جهاز الطرد المركزى وتدار على ٥ دقائق بسرعة ٥٠٠٠ لفة / دقيقة فتكون طبقتان ، العليا منها هي المصل (السيرم) والسفلي هي خلايا الدم ، ويفصل السيرم في انبوبة منفصلة لاجزاء التحاليل اللازمة والمطلوبة من المعمل ، كما فى شكل (٤٩).

ملحوظة : Note

في حالة طلب تقدير تركيز السكر في الدم . توضع فلوريدات الصوديوم المانعة للتجلط الي عينة الدم لوقف عملية الانشطار السكري Glycolysis .الذى يقلل من قيمة تركيز السكر بالدم .

شكل (٤٩) : فصل مكونات الدم (المصل أو البلازما والكريات)

الاحتياطات Precautions الواجب تذكرها او اتخاذها قبل واثناء تعيين او تقدير اي عينة (دم و بول او براز او سائل منوي) او كيمياء الدم في المعمل :

١- التأكد من وجود انابيب الاختبار والسنتريفيوج Centrifuge
٢- التأكد من وجود السرنجات البلاستيكية التي ترمي بعد الاستخدام مباشرة
٣- التأكد من وجود المطهر (الكحول) وتركيزه (٧٠٪) والرباط الضاغط (الترونكيه)
٤- التأكد من وجودالمادة المانعة للتجلط
٥- تحضير المحاليل اللازمة لعد الدم ، السائل المنوي ، سرعة الترسيب .
٦- التأكد من وجود جهاز قياس الطيف Spectrophotometer والأجهزة الأخري وهي صالحة للإستخدام .
٧- التأكد من وجود الكواشف الاضافية اللازمة لـ Kits .
٨- بعض الكواشف تحتوي علي مواد حافظة وسامة ومهيجة حارقة مثل نيتريت الصوديوم وأزيد الصوديوم ، الفينول ، هيدروكسيد الصوديوم ، فأعمل علي تداولها بحذر شديد .
٩- لاينصح باستخدام الفم عند استخدام الماصة . ويفضل استخدام مضخة تركب على الماصة الزجاجية. (Pipette pump).
١٠- يجب المحافظة على الكواشف Reagents بعيدا عن التلوث بجميع انواعه
١١- يجب اخراج الكواشف من الثلاجة (٢-٨م°) الي درجة حرارة الغرفة (٢٠ - ٢٥م°) قبل الاستخدام ثم ترد مرة اخرى الي الثلاجة بعد الاستخدام .
١٢- تبقي شدة اللون ثابته لمدة معينة تبدأ من ١٥ دقيقة كمافي حامض اليوريك وحتي ساعة كما في تقدير البروتين ولذلك يجب أن تتم عملية قياس طيف الامتصاص لكل من العينة والمحلول القياسي ضمن هذه الفترة الزمنية .
١٣- يجب الإبقاء علي العبوات التي تحتوي علي المادة الإنزيمية محكمة القفل ما أمكن ذلك.
١٤- تختلف الصناديق (Kits) في استخدام الكواشف المستخدمة ولذلك ينصح باستخدام تعليمات الصندوق والخاص بالعرض نفسه .
١٥- يجب استخدام الماء المقطر قليل الايونات عند تحضير الكواشف أو تخفيف العينات .

١٦- يفضل الحصول علي المصل او البلازما من عينات الدم التي تم جمعها من الأشخاص الصائمين اي في الصباح وذلك للابتعاد عن المصل الدهني .

١٧- يفضل اجراء التجربة بالسرعة الممكنة ولايجوز تأخير التقدير من ٢-٣ ساعات . كما يؤثر ضوء الشمس المباشر علي نسبة تركيز العينة في الدم .

١٨- يجب ان تكون العينات خالية من اي تميؤ دموي لان ذلك يعطي نتائج عالية خاطئة .

١٩- تستخدم عينات البول الطازج وأفضلها بول الصباح في حالة إختبار الحمل وإذا كان البول معكر يجب سنترته في جهاز الطرد المركزي كما فى شكل (٥٠) وأخذ عينة من اعلي البول (السائل الرائق).

٢٠- ينصح بعدم اخذ كواشف عن صناديق مختلفة

٢١- يجب استخدام اعواد خشبية او بلاستيكية مختلفة في اختيار الحمل وفصائل الدم . وترمى بعد الاستخدام فى مكان آمن .

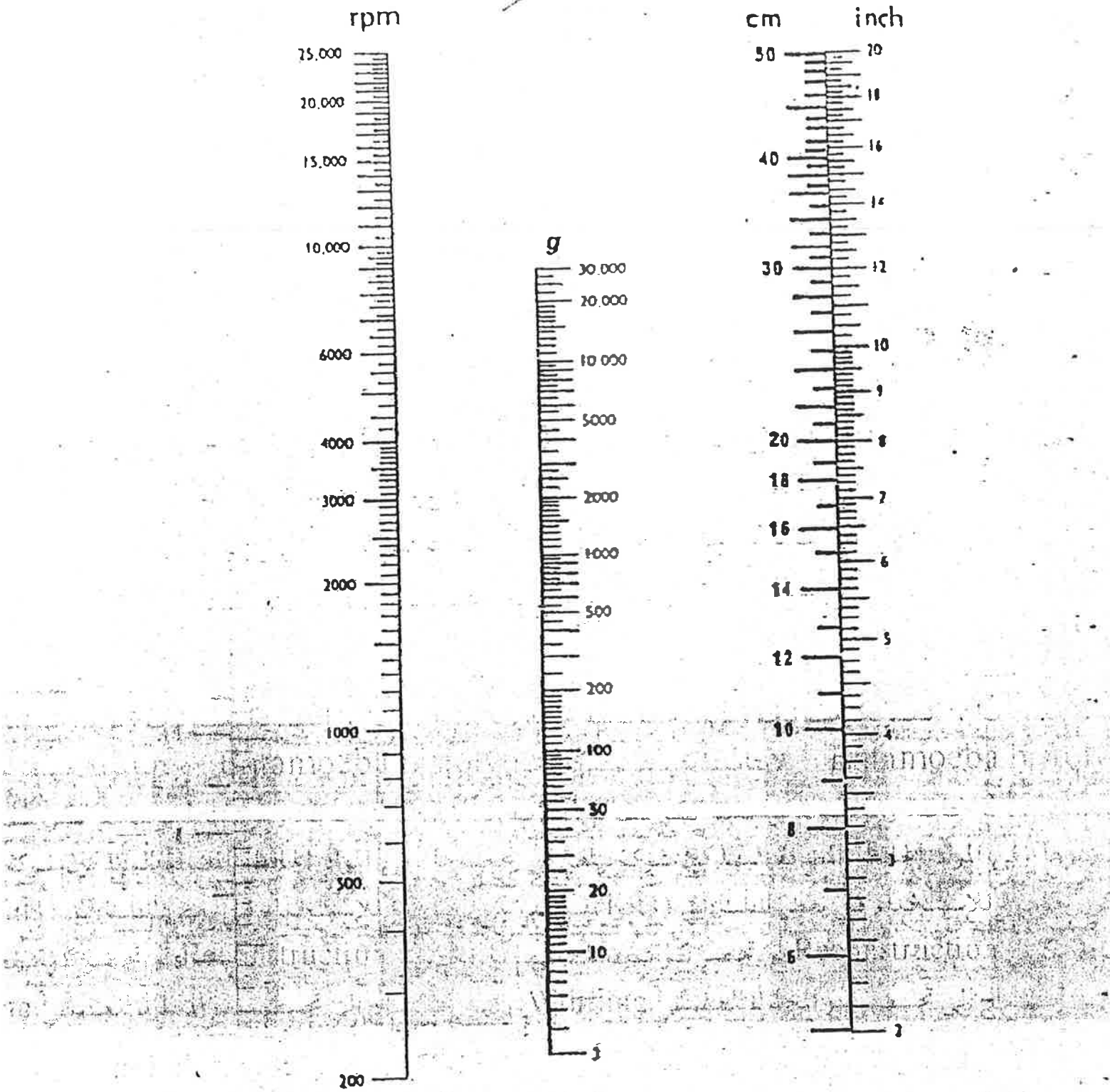
٢٢- يسأل المريض عن الادوية التي يستخدمها حتي لاتؤثر علي نتائج التجربة .

٢٣- يجب جمع السائل المنوي في محتوي نظيف وجاف لأن نقطة واحدة من الماء قد تدمر أو تقتل جميع الحيوانات المنوية .

٢٤- يفضل فحص عينات البراز مباشرة فور وصولها الي المعمل حتي تختفي الطفيليات (الأولي) وخاصه الجارديا Giardia ، التريكومونات Trichomonces ، لانتاميتا هيستوليتيكا Entamoeba histolytica

٢٥-يجب قراءة ورقة التعليمات Pamphlet الخاصة والمرفقة داخل علبة الكواشف (Kits) فهذه الكواشف تختلف في تحضيرها وفي المواد الحافظة المضافة اليها بين شركة وأخري في كما أن هذه الكواشف قد تكون جاهزة للاستخدام في بعض الصناديق (Kits) وقد تكون منفصلة وتحتاج الي إعادة تكوين Reconstruction أو تحضير كواشف اضافيه Additional reagents وقد تحتاج الي تحضير المحلول العملي Working solution اتبع تعليمات الشركة المنتجة في كيفية استخدام او تحضير هذه الكواشف في اي تجربة .

٢٦- عدم استخدام اي كاشف في الصندوق (Kit) اذا ظهرت به بلورات او تكون راسب او ظهور نمو فطري داخل العبوة .



شكل (٥٠): يوضح طريقة حساب سرعة جهاز الطرد المركزى

'High-spun' plasma	1200–1500 g (for 15 min).
Packing of red cells	2000–2300 g (for 30 min).

إختبارات للكشف عن وظائف الكبد
Liver marker pannels

يعتبر الكبد أضخم غدة فى الجهاز الهضمى ، وهو موجود تحت الحجاب الحاجز من الجهة اليمنى ومتدإلى الجهة اليسرى حيث تصل إلى مكان التقاء الأضلاع مع عظمة القص . انظر شكل (٥١) والكبد بشكله الخارجى وله سطح أملس من جهة الحجاب الحاجز وذو فجوات سطحية من جهة الأحشاء ، هذه الفجوات أتت من ملامسة الكبد لبعض الأعضاء مثل المعدة والأثنى عشر والمعى الغليظ والكلية اليمنى . وينقسم الكبد على العموم إلى فصين : أيمن وأيسر و تقدر كمية الدم التى تمر فى الكبد بحوالى ١٥٠٠ سم٣ فى الدقيقة.

كما أن طوله بفصيه يبلغ حوالى ٢٦ - ٣٠ سنتميتراً وأما سمكه فيصل وخاصة في الفص الأيمن إلى ٦ - ٩ سنتمترات . أما الوزن الإجمالى للكبد فيصل إلى الكيلو والنصف ولون أحمر بنى قاتم وأنسجته في غاية الطراوة . ويترواح وزنه ما بين ١٢٠٠ - ١٥٠٠جرام ويمثل $\frac{١}{١٥}$ من وزن الجسم .

وأما بالنسبة لوظائف الكبد الكثيرة فيمكن القول بأن غدة الكبد تشكل مختبراً فى غاية التعقيد والدقة حيث تقوم بمهمات كثيرة منها :

١- خلق وتركيب البروتين الدم و٧٥ - ٩٠٪ من Globulin ،α و٥٪ من Prothrombin, Fibrinogen وكذلك β- Globulin

٢- خلق وتركيب المواد المعقدة مثل Glycoprotein , Lipoprotein , Transferine, Seruloplasmine وغيرها من المواد المركبة الضرورية للجسم

كما يسهر الكبد على خلق البروتينات النووية (أى البروتين) الموجود فى نواة الخلايا الحية) ودثر الحوامض النووية وتنظيم أيض الأحماض الأمينية فى الجسم الحيوانى .

٣- وفى الكبد وبكثافة كبيرة يحصل التحول الغذائى للمواد النشوية حيث يحفظ السكر الزائد بشكل كليكوجين Glycogen وهكذا يحافظ على معدل عام للجليكوجين

Glycogen فى الدم تحت تأثير تحول الجلاكتوز والفركتوز إلى جليكوجين وإعادة تركيب الجليكوجين من الجلوكوز الزائد . كل هذه التفاعلات والتحولات تحصل فى الخلية الكبدية .

٤- ويلعب الكبد دوراً كبيراً فى التحول الغذائى للمواد الدهنية إذ أنه يصنع مادة الصفراء (المرارة) الأحماض الدهنية والكوليسترول ومركباته والدهون الفوسفورية والمركبات البروتودهنية .

٥- ويلعب الكبد دوراً هامًا فى تمثيل الأمينات مثل Histamin Seratonin Catecholamin وفى تحويل معظم الهرمونات (والأندروجين والجليكوكورتيكوستروييد).

٦- وإن من أهم وظائف الكبد هو المحافظة على نظام تخثر وتجمد الدم ومنع حدوث النزيف أو ارتفاع وقت تجمد الدم ، وذلك بسبب تكوين عناصر التخثر.

٧- وأخيراً ومن وظائف الكبد القضاء على المواد السامة التى تدخل الجسم عن طريق الأمعاء ثم إلى مجرى الدم. كذلك القضاء على المواد السامة الناتجة عن التحول الغذائى فى الخلية الحية . أما كيفية القضاء على السموم فتعود إما إلى مواد أقل ضرراً للجسم أو عديمة الضرر له وإما إلى إفرازها خارج الجسم عن طريق الجلد والكليتين والرئتين .

وعند ملاحظة خلل فى هذه الوظائف تجرى التجارب الآتية للتأكد من وظائف الكبد.

١- تقدير نشاط انزيم جلوتاميك - بيروفيك واكسالواستيك ترانس امينيز

Determination of Glutamic-Pyruvic and Oxaloacetic Transaminase activity.

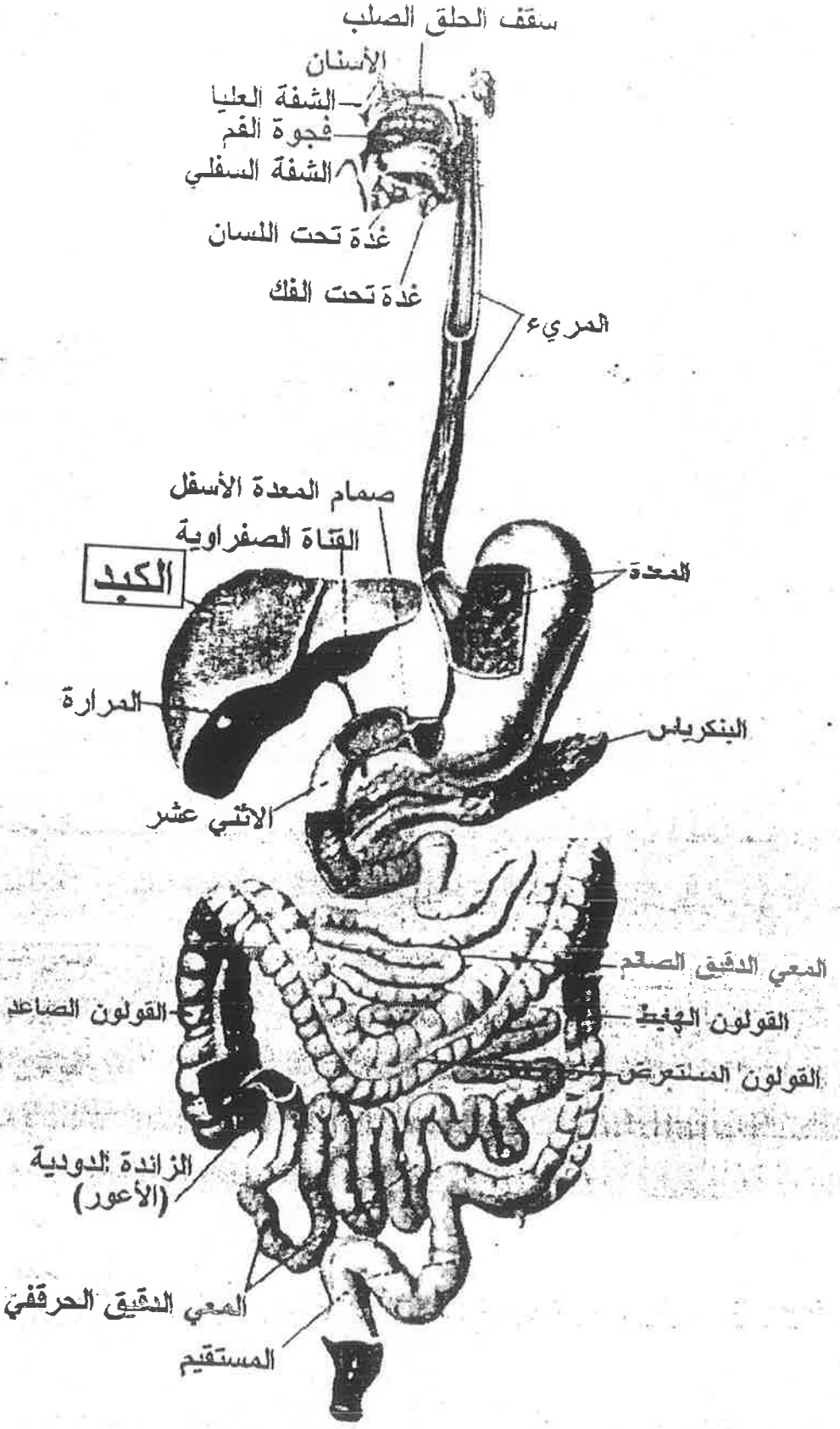
من أهم انزيمات نقل مجموعة الأمين اثنان هما :

١- انزيم الاسبارتات امينوترانسفيريز:

Aspartic Aminotransferase=Aspartate Transaminase(AST)

أو ماكان يعرف باسم جلوتامات - اوكسالواسيتات ترانس أمينيز

Glutamic Oxaloacetic Transaminase(GOT)



شكل (٥١) : يوضح موضع الكبد

٢- الالانين امينوترانسفيريز :

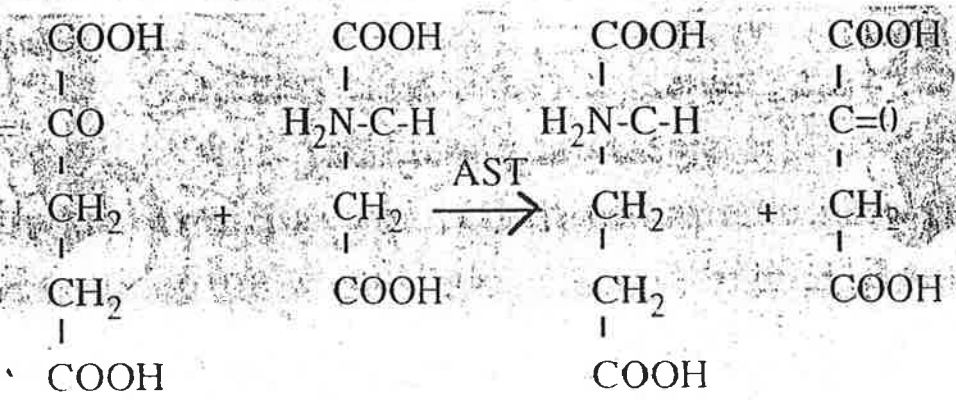
Alanine Aminotransferase Transaminase (GPT)

أو ما يعرف بانزيمات الترانس امينيزات علي مجموعة من الانزيمات التي تحفز علي تبادل مجموعة الأمين من الاحماض الامينية الي الاحماض- غير الأمينية- ، ويطلق علي هذه الانزيمات في الوقت الحاضر « امينوتر انسفيريزات = Aminotransferrases ومختصرها العلمي هو ALT,AST لهذين الانزيمين ، وعلي كل حال ، كان يطلق عليها في الماضي اسم ترانس امينيزات ومختصرها القديم هو GPT,GOT

وتحتوي الخلايا الحيوانية علي عدد متنوع من الإمينوترانسفيرات ، ويوجد انزيم في سيتوبلازم وميتوكوندريا الخلايا ، وفي حالات اصابة الانسجة بتلف خفيف، يكون الانزيم الأكثر انتشارا في البلازما هو الإنزيم الموجود في السيتوبلازم مع إحتمال وجود انزيم الميتوكوندريا ، أما في حالة التلف الشديد للانسجة ، فيكون الإنزيم الميتوكوندراي هو السائد بشكل كبير في المصل.

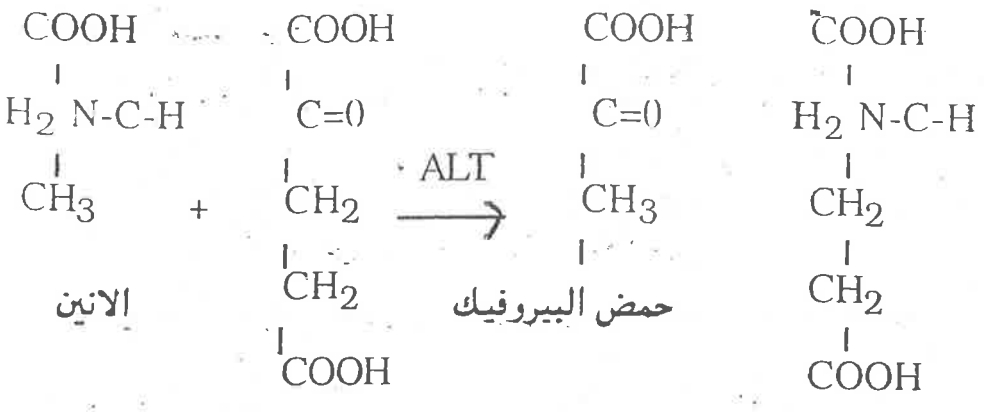
يتحول جلوتاميك اوكسالوجلوتاريك بحيث يكون الحمض الاول هو مستقبل لمجموعة الامين ، بينما يكون الحمض الثاني هو الناتج في جميع تفاعلات كل مجموعة الامين .

فمثلا : يحفز انزيم الاسبارتات امينوترانسفيريز(GOT,AST) في حدوث التفاعل التالي:



اوكسالواستيك L- جلوتاميك L- اسبارتيك اوكسالوجلوتاميك

اما انزيم الانين أمينوارانسفيريز (GPT=ALT) فانه يحفز علي التفاعل التالي:



توجد انزيمات ترانس امينيزات بشكل واسع في الأنسجة الحيوانية . اما انزيمي ALT-AST فيوجدان في بلازما بني البشر ، المرارة ، سوائل النخاع الشوكي ، اللعاب ولكن لاتوجد في البول الا في حالات الفشل الكلوي .

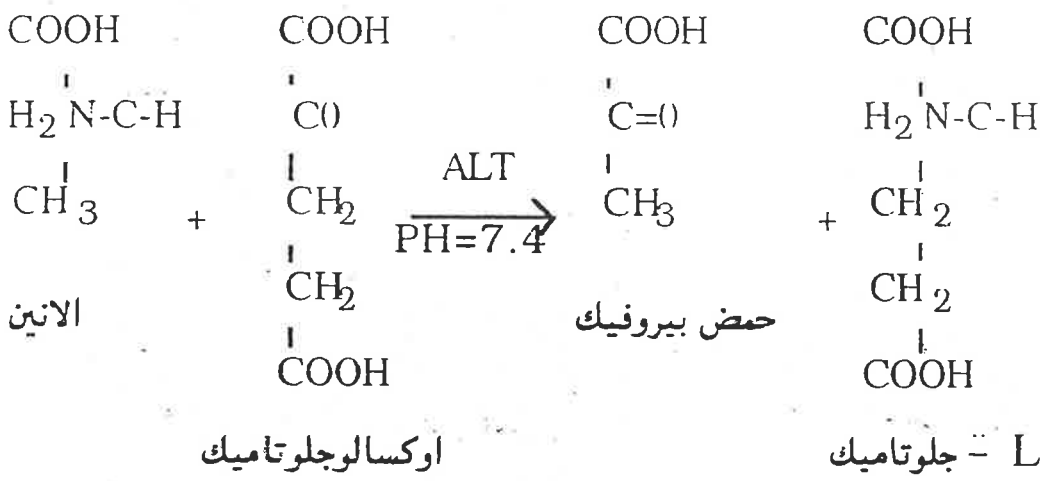
فكرة الدرس العملي Method principle

يحفز انزيم جلوتامات - بيروفات ترانس امينيز GPT(ALT) علي نقل مجموعة الامين من حمض الانين الي حمض الاوكسالوجلوتاريك في محلول درجة حموضته (PH) = ٧,٤ ثم يتم تحويل حمض البيروفيك المتحرر الي حمض اللاكتيك بالاختزال بالمرافق الانزيمي المختزل (NADH+H+) وبمساعدة انزيم لاكتات ديهيدروجينيز (LDH) وايكون طيف الامتصاص لمعدل استهلاك المرافق الانزيمي (NADH+H) الملون يتناسب تناسبا طرديا مع درجة نشاط انزيم ALT او GPT) الموجودة في العينة .

مبدأ التفاعل الكيميائي Reaction principle

١- نقل مجموعة الأمين :

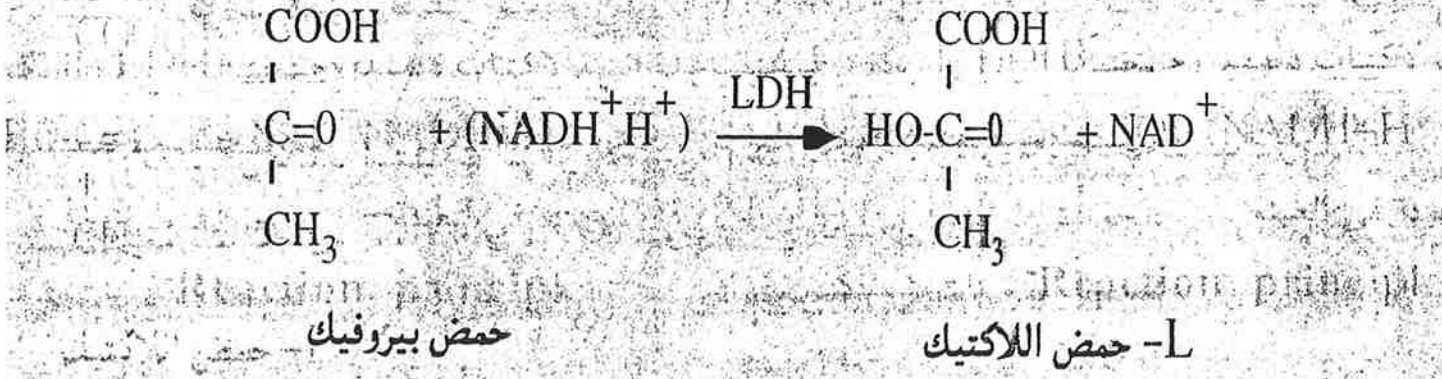
يتم نقل هذا التفاعل في وجودانزيم جلوتامات - بيروفات ترانس امينيز GPT(ALT) .



ويدل معدل تكوين حمض البيروفيك في هذا التفاعل علي درجة نشاط انزيم ALT أو GPT في العينة المستخدمة

٢- اختزال حمض البيروفيك :

يتم ذلك باستخدام المرافق الانزيمي المختزل ($NADH^+H^+$) وبمساعدة انزيم لاكتات ديهيدروجينيز (LDH) .



ويدل معدل التغير في طيف الامتصاص للمرافق الانزيمي علي معدل تكوين حمض البيروفيك المتحرر وبالتالي يتناسب تناسبا طرديا مع درجة نشاط الانزيم .

الكواشف Reagents

كاشف رقم (١) :- صوديوم ثنائى القاعدة

Na_2HPO_4	١١ر٨ حجم / لتر
- بوتاسيوم أحادى القاعدة	
KH_2Po_4	١١ر٨ حجم / لتر
- ألفا كيتو جلوتاريك	٢٩٢ر حم / لتر
- الانين	١٧ر٨٢ حم / لتر
كاشف رقم (٢) : ٢ ، ٤ راى نيتروفينيل هيدرازين	١٩٩ر حجم / لتر
كاشف رقم (٣) : هيدروكسيد صوديوم (0.4N)	١٦ جم / لتر

استقرار الكواشف Reagents stability

تبقي الكواشف مستقرة ، مالم تفتح العبوات ، حتي التاريخ المثبت علي ملصق الصندوق واذا ماتم حفظ محتويات الصندوق في الثلاجة (٢-٨م°) . لا يوجد كاشف يحمل ولكن R_1 , R_2 منفصلين

العينات Specimens

المصل(السيرم)فقط ، ويفضل تقدير نشاط هذا الانزيم بعد سحب عينة الدم مباشرة ، أما إذا حفظت العينة في الثلاجة عند ٢-٨م° فان الانزيم يفقد ١٠٪ من نشاطه خلال ٣ أيام ، أما إذا تركت العينة عند درجة حرارة الغرفة (٢٠-٢٥م°) فانه يفقد ١٧٪ من درجة نشاطه أثناء ٣ أيام.

ظروف التجربة Essay conditions

الطول الموجي Wave length ..... ٥٤٦ نانومتر

درجة الحرارة Temperature ..... ٢٥م° ، ٣٠م° ، ٣٧م° ويفضل ٣٠م°

القياسات Measurments ..... ضد البلانك المصفر للجهاز

طريقة العمل Procedure

ضع الكاشف العملي والعينة وانابيب الاختبار لمدة ١٠ دقائق عند ٣٠م°

المادة	العينة Sample	البلانك Blank
كاشف رقم ١ (R1)	٠,٥ مل (0.5 ml)	٠,٥ مل (0.5 ml)
لمصل Serum	٠,١ مل (0.1 ml)	-
ماء مقطر	-	٠,١ مل
	اخلط جيدا + حمام مائي ٣٧م لمدة ٣٠ دقيقة	
كاشف رقم ٢ R2	٠,٥ مل (0.5ml)	٠,٥ مل (0.5ml)
	اخلط جيدا + حمام مائي ٢٥م لمدة ٢٠ دقيقة	
هيدروكسيد صوديوم NaoH 0.4 N/L.	٥ مل	٥ مل

انتظر خمس دقائق وخذ قراءة امتصاص اللون في الجهاز ضد البلانك Blank

الحساب Calculation

يمكن حساب نشاط الانزيم من الجدول الآتي :

Obtain the activity of SGPT(ALT) from the table of values below

A_S	U/L	A_S	U/L
0.025	4	.275	48
050	8	0.300	52
075	12	325	57
.100	17	350	62
125	21	375	67
150	25	0.400	72
175	29	425	77
0.200	34	450	83
225	39	475	88
250	43	0.500	94

Obtain the activity of SGOT (AST) from the table of values below:

A_S	U/L	A_S	U/L
0.020	7	0.100	36
030	10	110	41
040	13	120	47
0.050	16	0.130	52
060	19	140	59
070	23	150	67
080	27	160	76
0.090	31	0.170	89

- قراءة إمتصاص العينة فى الجهاز = AS
- تركيز العينة فى الدم = U/L

العلاقة التناسبية بين طيف الامتصاص وتركيز المرافق الانزيمي :

إذا كان معدل التغير في طيف الامتصاص في بداية التجربة اكبر من ١٦ . ٠ وجب اعادة التجربة مع تخفيف العينة (١+٩) بمحلول ملحي فسيولوجي (٩جم٪ من كلوريد الصوديوم) ، ثم تضرب قيمة درجة النشاط المحسوبة بمعامل التخفيف(×١٠).

القيم الطبيعية Normal Values

وفيما يلي القيم الطبيعية لنشاط انزيم ALT أو GPT (مقدرة بالوحدات الدولية/لتر U/L) وعند درجات الحرارة المختلفة :

الفئة	٢٥م°	٣٠م°	٣٧م°
الرجال	٦-٢٤	٨-٣٢	١٠-٤٠
النساء	٦-١٩	٦-٢٥	١٠-٣٠

الاهمية المرضية - Clinical Significance

أ- بعد ضعف عضلة القلب :

يرتفع مستوي نشاط انزيم AST في المصل كماهو متوقع من ارتفاع تركيزه في عضلة القلب ، بحيث تصبح مستوياته غير طبيعية بعد مرور ٤-٦ ساعات من بداية الآلام الصدرية، تصل القيم الي اعلي مستوي لها بعد مرور ٢٤-٣٦ ساعة ثم تقل تدريجيا حتي تصل الي الحدود الطبيعية في اليوم الرابع او الخامس شريطة عدم حدوث تلف جديد ، قد تصل المستويات لأعلى من ١٠-١٥ مرة من القيم الطبيعية في حالات ضعف القلب ، والقيم العليا من النشاطية تتناسب تناسبا طرديا مع درجة التلف الذي اصاب القلب ، وعلي ايه حال ، فان الزيادة الطفيفة في مستويات نشاط هذا الانزيم لاتعني بالضرورة التكهن بقرب حدوث المرض أو الازمة القلبية .

تبقي مستويات انزيم ALT ضمن الحدود الطبيعية او تزداد زيادة هامشية Marginal increase والسبب في ذلك ان نشاط انزيم ALT في عضلة القلب ماهو الا جزء بسيط من كمية انزيم ALT

ب- التهاب الكبد الفيروسي :

في حالات الكبد الفيروسي وامراض الكبد الأخري التي يصحبها بعض درجات التحر الكبدي Hepatic Necrosis ترتفع مستويات كل من الانزيمين ، وحتي قبل ظهور الاعراض المرضية ، قد تصل مستويات ALT,AST أكثر من ١٠٠ مرة عن الحدود الطبيعية ، الا ان ٣٠ - ٥٠ مرة هي الشائعة ، وتصبح نسبة AST-ALT اكبر من الوحدة (لاحظ في حالة ضعف عضلة القلب تكون النسبة اقل من الوحدة ، ويكون هذا الوضع في المراحل المتأخرة من هذا المرض او اثناء دور النقاهة Recovery Phase اما في حالة مرض الخلايا البرانشيمية الكبدية فتظهر القيم القصوي لنشاط الترانس امينيزات مابين اليوم السابع والثاني عشر ، ثم يقل النشاط تدريجيا حتي يصل الي مستواه الطبيعى في بداية الاسبوع الثالث الي الاسبوع الخامس .

أما في حالة التسمم الكبدي Toxic Hapatitis فانها تشبه التهاب الكبد الوبائي حيث

يكون مصحوب بارتفاع نشاطات AST,ALT في الحالات الحادة ، وقد يصل الارتفاع الي ٢٠ مرة اعلي من القيم الطبيعية . تدل مستويات نشاط الامينوترانسفيريزات المشاهدة في مرض تليف الكبد Hepatic Cirrhosis علي مقدار التليف الحادث ، وهو يتراوح مابين ٤ - ٥ مرات أكثر من الحد الطبيعي ويكون نشاط AST اكبر من نشاط ALT .

٣- تليف العضلات والالتهابات الجلدية

Muscle Dystrophy and Dermatomyositis

يزداد نشاط انزيم AST واحيانا ALT في حالات مرض تلف العضلات المتزايد Progressive Muscle Dystrophy والالتهابات الجلدية بمستويات قد تصل الي ٨ مرات أعلى من الحدود الطبيعية ، وتكون مستوياتها ضمن الحدود الطبيعية في حالات أخري من أمراض العضلات وخاصه تلك التي لها مصدر عصبي Neurogenic أما في حالة مرض إنسداد الأوعية الدموية الرئوية Pulmonary Emboli فانه يرفع مستوي AST من ٢-٣ اضعاف الحدود الطبيعية ، اما ارتفاع ٢-٥ وحدات عن الحد الطبيعي فيكون في حالات التهاب البنكرياس Pancreatitis وسحق العضلات Crushed Muscle Injuries والغانغرينا Gangarene التميؤات الدموية Hemolytic Disease ،. كما يزداد ارتفاع مستوي نشاط هذين الانزيمين من ٥ : ١٠ مرات في حالة الامراض السرطانية الكبدية سواء الأولية او المنتشرة مع كون AST اعلي من ALT كما يزداد نشاط هذين الانزيمين ALT,AST بعد تناول الخمور ، وفي حالات الهذيان الناجمة عن السكر وبعد تناول بعض الادوية الطبية العلاجية مثل المنومات او المخدرات او المهدئات والسلسيلات الامبيسيلين.

٤- تقدير نشاط جاما جلوتاميل ترانسفيريز

4. Gamma Glutamyl Transferase (γ GT) activity

العينات Samples

يجب ان تكون العينات المراد تقديرها يجب أن تكون في صورة مصل Serum

ظروف التجربة Eassy conditions

- الطول الموجي Wavelength..... ٤٠٥ نانومتر
- درجة الحرارة Temperature..... ٢٠- ٢٥م
- القياسات Measurement s ..... ضد الهواء أو ماء مقطر

٥٤٦ نانومتر بدون اضافه العامل المسرع والقلوي (فهلنج ب) .

يمكن حساب البيليروبين غير المباشر وذلك بطرح البيليروبين المباشر من البيليروبين الكلي .

الكواشف Reagents

أنظر ورقة التعليمات الخاصة والمرفقة داخل الصندوق ، فهذه الكواشف تختلف في طريقة تحضيرها وفي المواد الحافظة المضافة لها بين شركة واخري ، كما ان هذه الكواشف قد تكون جاهزة للاستعمال في بعض الصناديق ، وقد تكون منفصلة وتحتاج الي اعادة التكوين Reconstitution أي تحضير الكاشف العملي Working solution اتبع تعليمات الشركة المنتجة في كيفية استخدام او تحضير الكواشف في هذه التجربة حسب تعليمات الشركة .

العينات Specimen

١- المصل أو بلازما الدم الخالي من التميؤ الدموي تحفظ العينات في الظلام لحين الاستخدام.

٢- يفضل الحصول علي المصل من عينات الدم التي تم جمعها من المرضي الصائمين اي في الصباح وذلك للابتعاد عن المصل الدهني Lipemic Sera كذلك يجب تجنب التميؤ الدموي لانه يسبب الحصول علي نتائج منخفضة .

٣- يجب اجراء التجربة بالسرعة الممكنة ولايجوز تأخير التقدير عن ٢-٤ ساعات بعد حدوث الجلطة ، بسبب ضوء الشمس المباشر نقصا في كميات البيليروبين قد تصل الي ٥٠٪ في خلال ساعة وخاصه اذا حفظ المصل في انابيب شعرية .

٤- يمكن حفظ عينات المصل في الظلام داخل الثلاجة لمدة اسبوع ، ولمدة ٣ شهور اذا تم تجميدها .

ظروف التجربة Eassy Conditions

الطول الموجي Wavelength ..... ٥٤٦ نانومتر للبيليروبين المباشر

الطول الموجي Wavelength ..... ٥٧٨ نانومتر للبيليروبين الكلي

المسار الضوئي Cuvette ..... ١ سم

درجة الحرارة Temperature ٢٠-٢٥م

القياسات Measurement ..... ضد عينة الكاشف الخالي (RB) ويكتفي بعينة بلانك (B) واحدة

طريقة العمل Manual procedure

	البليروبين الكلى		البليروبين المباشر	
	العينة	البلانك	العينة	البلانك
١- كاشف (١)	٢ر ملليلتر	٢ر ملليلتر	٢ر ملليلتر	٢ر ملليلتر
٢- كاشف (٢)	قطرة واحدة . ٥٠ ميكروليتر	—	قطره واحدة (٥٠ ميكروميتر)	—
٣- كاشف (٣)	١ ملليلتر	٢ر ملليلتر	—	—
٤- المصل	٢ر ملليلتر	—	٢ر ملليلتر	٢ر ملليلتر
محلول ملحى فسيولوجى	١ ملليلتر		٢ ملليلتر	٢ ملليلتر
٥- كاشف (٤)	١ ملليتر			
	رج الأنابيب وأتركها لمدة ٥ دقائق عند درجة حرارة الغرفة : ٢٠ - ٢٥م		رج الأنابيب وأتركها لمدة ٥ دقائق عند درجة حرارة الغرفة : ٢ - ٢٥م	

- رج الانابيب واتركها لمدة ٥ دقائق في درجة حرارة الغرفة .
- صفر المطياف باستخدام البلانك Blank وقس طيف الامتصاص عند طول موجي ٥٦٤ Blank
تانومتر .

نتائج التجربة Experimental results

طيف الامتصاص للبيليروبين الكلي (At) = ...

طيف الامتصاص للبيليروبين الباشر (Ad) = ...

خطوات الحساب Calculations

بالتعويض في العلاقة التالية يحسب البيلروبين الكلي :

تركيز البيلروبين الكلي (Ct) = $A_t \times$ ١٠٫٨ ..... (١)

= .... ملجم/١٠٠ مل

بالتعويض في العلاقة التالية يحسب البيلروبين المباشر :

تركيز البيلروبين المباشر (Cd) = Ad × ١٤٫٤ ..... (٢)

= ..... ملجم /١٠٠مل

بالتعويض في العلاقة التالية يحسب البيلروبين غير المباشر

تركيز البيليروبين غير المباشر (C1) = Cd-Ct .....(٣)

= .... ملجم/١٠٠ مل

العلاقة التناسبية بين طيف الامتصاص وتركيز البيليروبين Linearity

تبقي العلاقة بين طيف الامتصاص وتركيز البيليروبين خطية طردية حتي تركيز ٢٠ ملجم/ ١٠٠ مل من البيلروبين الكلي . وفي حالة زيادة التركيز عن هذا الحد تؤخذ كميات من المصل اقل ، مثل ١٠٠ ميكرولتر او ٥٠ ميكرولتر وتعاد التجربة .

الحدود الطبيعية Normal Values

تتراوح قيم البيلروبين في الاطفال حديثي الولادة والبالغين كماهو موضح في الجدول

السن	ملجم / ١٠٠ مل دم
حتي يوم	٢-٥
حتي يومان	٥-١٠
من ٣-٦ ايام	٣-٧
<u>الاطفال بعد شهر والبالغين</u>	
المباشر	صفر - ٠,٢
غير المباشر	٠,٢ - ٠,٨
الكلي	٠,٢ - ١,٠ واحيانا حتي ١,٥ ملجم-١٠/ مل

ملاحظات هامة Important Notes

١- يمكن عدم اجراء عينة البلانك ، وفي هذه الحالة يصفر الجهاز باستخدام الماء المقطر ولكن بطرح من قيم طيف الامتصاص المقاس للعينة ٠١٥ر . مثال -

تركيز البيلروبين الكلي $(C_t) = (A_t - ٠١٥,٠) \times ١٠,٥$

٢- يمكن تحضير الكاشف العملى Working Solution ذلك لاستعماله في المعمل الواحد كما يلي : امزج ١٠ مل من حمض السلفانليك مع ٢,٥ مل من كاشف نيترات الصوديوم ، رج للتجانس ويستخدم ٢٠ مل من هذا الكاشف العملي وهذا الكاشف العملي صالح لمدة ساعتين فقط عند درجة حرارة الغرفة . وفي هذه الحالة يصبح معامل التحويل هو ١٠ر٣ للبيلروبين الكلي ، ١٣ر٧ للبيلروبين المباشر . أي أن :

تركيز البيلروبين الكلي $= A_t (C_t) \times$ ٣ر١٢

تركيز البيلروبين المباشر $A_d = (C_d) \times$ ١٣ر٧

٣- تجب المحافظة علي محلول حمض السلفانليك بعيدا عن التلوث وبقاء زجاجته محكمة القفل ، يعتبر حمض الهيدروكلوريك الموجودة في عبوة هذا الكاشف مادة حارقة ، وعند ملامسته للجلد ، تغسل المنطقة بكميات كبيرة من الماء .

٤- يجب ابقاء عبوة نيترتيت الصوديوم محكمة القفل لابعاد المركب عن الرطوبة والتأكسد ويعاد تكوين هذا الكاشف باذابة محتويات عبوة واحدة مع ١٥ مل ماء مقطر ، ويحفظ المحلول داخل الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨م°

الأهمية المرضية Clinical Significance

يعتبر البيليروبين من نواتج تكسر الهيموجلوبين الموجود داخل كرات الدم الحمراءالهام لحمل الأكسجين المفيد للجسم حيث يطرد من الجسم عن طريق المرارة ، بعض البيلروبين يكون مرتبطا مع حمض الجلوكورونيك في خلايا الكبد ، وهذا المتراكب يكون قطبيا يذوب في الماء ويطلق عليه اسم البيليروبين الذي يتفاعل مباشرة مع (Direct-Reacting) تترك كميات صغيرة من هذا المتراكب الخلايا الكبدية وتدخل

الدورة الدموية العامة ، تصنع كميات صغيرة من البيليروبين في الطحال Spleen وتنتقل منه الي الكبد عن طريق الدورة الدموية العامة ، ويتم هذا النقل عن طريق تكوين متراكب من البيلروبين والالبيومين لكي يذوب في الدم ، ويطلق عليه اسم البيلروبين غير المباشر (هذا المتراكب غير قطبي وشحيح الذوبان في الماء وبالتالي فانه سوف يتفاعل بطريقة غير مباشرة Indirect-Reacting .

اسباب زيادة البيليروبين في الدم Hyperbilirubinemia

١- زيادة البيليروبين غير المباشر :

أ - التميؤ الدموي : امراض الهيموجلوبين ، عدم تكور الكريات الحمراء ، نقص انزيم جلوكوز ٦ - فوسفاتيز ، المناعة التلقائية و عمليات نقل الدم

ب - تكسر كريات الدم الحمراء بسبب النزيف داخل الانسجة الطرية والتجويفات ، أو قلة تكون كريات الدم الحمراء ، أو الانيميا الخبيثة

جـ - نقص الإمتصاص فى الخلايا الكبدية وعدم قدرتها علي التراكب : بسبب التهاب الكبد الفيروسي أو نقص الانزيمات الوراثية أو عدم نضوج الكيد عند الاطفال حديثي الولادة .

٢- زيادة البيليروبين المباشر :

أ - تلف الكبد الداخلي : التهاب الكبد الفيروسي ، التهاب الكبد الكحولى (تناول الكحولات) ، التليف بأمراض القنوات المرارية : تليف المرارة ، زيادة افراز الصفراء ، ضمور المرارة .

ب - انسداد القناة الكبدية المرارية الخارجية : الحصوات ، سرطان الحويصلة المرارية والقنوات المرارية و البنكرياس ، ضيق القنوات المرارية الناجم عن التهاب او عملية جراحية خاطئة .

٦- تقدير البروتين الكلي في المصل

6. Determination of total serum protein

الكواشف Reagents

أنظر ورقة التعليمات الخاصة والمرفقة داخل الصندوق الذي تستخدمه ، فهذه الكواشف تختلف في طريقة تحضيرها وفي المواد الحافظة المضافة اليها بين شركة واخري ، كما ان هذه الكواشف قد تكون جاهزة للاستخدام في بعض الصناديق، وقد تكون منفصلة وتحتاج الي اعادة التكوين Reconstitution اي تحضير الكاشف العملي Working solution إتبع تعليمات الشركة المنتجة في كيفية إستخدام أو تحضير هذه الكواشف .

الكاشف (١):

- صوديوم بوتاسيوم طرطرات ٩٠ جم / لتر
- هيدروكسيد صوديوم ٨٠ جم / لتر
- أيوديد البوتاسيوم ٥٠ جم / لتر

الكاشف (٢):

- كبريتات نحاس ٣٠٠ جم / لتر

الكاشف العمل Working Solution

أضف محتويات الكاشف رقم (١) إلى ١٠ مل من الكاشف رقم (٢) وأكمل المحلول حتى ١٠٠ مل من الماء المقطر .

إستقرار الكواشف وتعليمات الحفظ

جميع الكواشف مستقرة ، مالم تفتح العبوات ، حتي التاريخ المثبت علي ملصق الصندوق ، اذا تم حفظ العينات في الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨ مْ ، كما يجب المحافظة علي هذه الكواشف بعيدا عن التلوث بجميع انواعه .

العينات Specimen

مصل أو بلازما الدم ويبقي البروتين الكلي مستقرا في المصل لمدة شهر اذا حفظت العينات في الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨ مْ ، ويبقي مستقرا لمدة اسبوع اذا ماتركت العينات عند درجة حرارة الغرفة (٢٠-٢٥مْ).

ظـــروف التجـربـة :

الطول الموجي Wavelength ..... ٢٤٦٥ نانومتر (٥٣٠-٥٧٠).

المسار الضوئي Cuvette ..... ١ سم

درجة الحرارة Temperature..... ٢٠ - ٢٥°م

القياسات Measurement ..... ضد عينة الكاشف الخالية من

ويكتفي بعمل عينة بلانك وقياسي واحدة لكل مجموعة .

خطـوات العمـل Manual procedure

المحلول Solution	العينة او النموذج Sample(s)	المحلول القياسي Standard(St)	البلانيك Blank
كاشف بيوريت	٢,٥ مل	٢,٥ مل	٢,٥مل
المصل Serum	٠,١ مل	-	-
البروتين القياسي	—	٠,١ مل	-
مـــاء مـــقطر	—	—	١مل

أخلط جيدا وضع في حمام مائي عند ٣٧مه لمدة ١٠ دقائق

- صفر الجهاز بواسطة البلانك (B)
- قس طيف الامتصاص لكل من عينة المصل (S) والمحلول القياسي (St)

ملاحظات هامة :

١- بعض الصناديق (Kits) تطلب مضاعفة الحجوم المستخدمة . لذلك اتبع تعليمات الصندوق المستخدم .

٢- تبقى شدة اللون ثابتة ومستقرة لمدة ٣٠ دقيقة . لذلك يجب اخذ قراءة طيف الامتصاص لكل من العينة والمحلول القياسي ضمن هذه الفترة الزمنية .

٣- إذا زادت قراءة المطياف للعينة عن ٠,٧٠٠ وجب تخفيفها بنسبة (١:١) بمحلول فسيولوجي (٩ر٠جم٪ كلوريد صوديوم) ويعاد التقدير . تضرب القيمة المحسوبة بمعامل التخفيف وذلك للحصول علي تركيز البروتين الكلي في العينة الأصلية .

نتائج التجربة Experimental results

طيف الامتصاص للمحلول القياسي (Ast) = ...

طيف الامتصاص لعينة المصل او البلازما (As) = ...

خطوات الحساب Calculations

بالتعويض في العلاقة التالية نجد أن تركيز البروتين الكلي :-

$$\text{تركيز البروتين الكلى (Cs)} = \frac{A_s}{A_{st}} \times C_{St}$$

حيث C_{St} تركيز المحلول القياسى

او استعمال الجدول الآتى:-

As	g/100ml	As	(g/100ml)
0.200	3.8	0.400	7.6
0.210	4.0	0.410	7.8
0.220	4.2	420	8.0
0.230	4.4	430	8.2
0.240	4.6	440	8.4
0.250	4.8	450	8.6
0.260	4.9	460	8.7
0.270	5.1	470	8.9
0.280	5.3	480	9.1
0.290	5.5	490	9.2
0.300	5.7	0.500	9.5
0.310	5.9	510	9.7
0.320	6.1	520	9.9
0.330	6.3	530	10.1
0.340	6.5	540	10.2
0.350	6.7	550	10.5
0.360	6.8	560	10.6
0.370	7.0	570	..10.8
0.380	7.2	580	11.0
0.390	7.4	590	11.2
		0.600	11.4

ويمكن استخدام الجدول السابق في حالة عدم وجود المحلول القياسي في العلبة (kit) حيث (Cst)هو تركيز المحلول القياسي .

العلاقة التناسبية بين طيف الإمتصاص وتركيز البروتين Linearity

العلاقة بين طيف الامتصاص وتركيز البروتين الكلي تبقى خطية طردية حتي تركيز بروتين ١٢جم/ ١٠٠مل واذا زاد تركيز البروتين في العينات عن هذا الحد وجب تخفيفها كالآتي : خذ ١ مل من عينة المصل او البلازما ، واضف اليه ١ مل من محلول ملحي فسيولوجي (٩ ,جم كلوريد صوديوم/ ١٠٠مل ماء) وللحصول علي تركيز البروتين الكلي تضرب النتائج المحسوبة بمعامل التخفيف (٢×).

الحدود الطبيعية **Normal values**

١- يعتمد تركيز البروتين الكلي علي العمر ، وحالة الجسم من حيث الإسترخاء أو العمل وعلي تناول الأدوية ، وفيما يلي القيم المتوقعة عند الأفراد الأصحاء طبقا لاعمارهم .

الفئة	تركيز البروتين الكلي	
	حجم/ ١٠٠مل	حجم/ لتر
الرضع	٥-٧,٥	٥٤-٧٥
الاطفال	٦-٨	٦٠-٨٠
البالغين	٦-٨	٦٠-٨٠

٢- يرتفع تركيز البروتين الكلي عند البالغين أثناء المشي أو العمل بمقدار ٢ ,١جم/ ١٠٠مل زيادة عماهو عليه في حالة الاسترخاء .

٣- في عينات البلازما ، يزيد الفيبرينوجين من كمية البروتين الكلي بمقدار ٠,٢ - ٠,٤ جم/١٠٠مل عما هو عليه في عينات المصل لنفس الشخص .

٤- اذا كان المريض تحت العلاج (يتناول ادوية) وجب اخذ ذلك بعين الإعتبار ، لأن بعض الادوية وخاصة الهرمونات تؤثر بشكل كبير علي مستوى البروتين الكلى .

الاهمية المرضية Clinical significane

١- كل بروتينات البلازما لها وظائف متخصصة، فقد تكون البروتينات انزيمات أو أجسام مضادة أو عوامل تجلط الدم ، أو بروتينات ناقلة ، أو نواتج ايضية حيوية ، أو هرمونات ، أو ليبوبروتينات وتلعب بروتينات البلازما العديد من الوظائف ، فهي تلعب دوراً هاماً في التغذية لأنها تكون جزءا من الاحماض الامينية في الجسم . اي ان البروتينات هي مخزن الاحماض الامينية .، فاذا احتاج الجسم اليها قام بتكسيرها واصطنع احماضا امينية ليعاد بنائها في بروتينات جديدة ، او يمكن نزع مجموعة الامين منها لتكوين الاحماض الكيتونية التي يتم حرقها للحصول علي الطاقة او تحويلها الي كربوهيدرات ودهون .

٢- هناك وظيفة أخري هامة للبروتينات هي الوظيفة الكيموحيوية ، وبما ان بروتينات البلازما عبارة عن جزيئات كبيرة غروانية فهي غير قادرة علي الانتشار من الاغشية شبه المنفذة كماهو الحال للمذيبات البلازمية الاخري . تحتجز البروتينات في الانظمة الغشائية ولها ضغط اسموزي غرواني colloidal osmotic pressure والذي بدوره يحافظ علي حجم الدم ، ومحتوي الماء ، وسوائل مابين الخلايا، وتعمل الالبيومينات للمحافظة علي الضغط الاسموزي او علي الضغط الانكوتي للدم Oncotic Blood Pressure فاذا قل تركيز الالبيومين الي حدوده الدنيا يترك الماء الأوعية الدموية علي درجة حموضة الدم فالبروتينات مواد امفوتيرية (مترددة) تعمل كمنظمات تقلل من الارتفاع المفاجئ في قيم PH للدم .

٣- علي الرغم من وجود البروتينات مجتمعه ، فان بروتينات البلازما المتنوعة ليس مصدرها واحد ، فالالبيومينات ومعظم ، B- جلوبيولينات بما فيها بروتينات

التجلط والنقل فهي تصطنع داخل الكبد ، وهي اما مضادات الاجسام (جلوبيولينات المناعة ، وجاما جلوبيولين) أو تصنع وتفرز من الخلايا الليمفاوية الموجودة في البلازما ، ونخاع العظام والطحال .

٤- في الحالات المرضية يتغير كل من مستوي البروتين الكلي ، ونسب البروتينات المميزة لكل شخص علي حده ، ولايعتمد بعضها علي بعض . ففي حالات الجفاف Dehydration تزداد البروتينات بنسبة ١٠-١٥٪ ، وهذه الزيادة لكل انواع البروتينات ، ينتج الجفاف إما من نقص تناول الماء أو من زيادة فقدان الماء كما يحدث في حالات التقيؤ الشديد والاسهال والبول السكري ، وبما أن الكمية المطلقة لبروتينات المصل ثابته، ففى حالات الجفاف ، يزداد تركيزها الذي يزداد نتيجة لنقص حجم الماء المذيب ، أما في حالات امراض النخاع المتعدد Multiple Myeloma فان تركيز البروتين الكلي قد يصل الي ١جم/١٠٠مل وترجع هذه الزيادة الي وجود زياده في مستويات بروتينات النخاع الصناعية Myeloma Monoconal Immunogen أو بارا بروتين أما كميات البروتينات الاخري فتبقي ثابتة .

٥- يصاحب نقص بروتينات الدم Hypoproteinemia التي تميز المستويات المنخفضة للبروتين الكلي ٦,٠جم/١٠٠مل حالات مرضية . ففي حالة ظهور اعراض اصابة النيفرونات الكلوية ، تفقد كميات كبيرة من الالبيومين عن طريق البول نتيجة لتسرب الالبيومين من خلال الكلية التالفة ، أما في حالة ظهور اعراض عدم وشح الاملاح Salt-Retention فيبقي الماء لتخفيف الاملاح التي تم حجزها ، مما يسبب تخفيفا لجميع البروتينات الأخري .

٦- تفقد كميات كبيرة من البروتينات اثناء الحروق ، النزف الحاد ، او الجروح المفتوحة ، وبما أن الجسم يستعيد الماء بسرعة اكبر من البروتينات مما يؤدي الي قلة تركيزها ، كما تؤدي قلة تناول البروتينات لفترات زمنية طويلة الي قلة امتصاصها من تجويف المعى وهذا بالتالي يؤدي الي تدني مستويات البروتينات في المصل كماهو الحال

في حالات الإسهال وسوء الإمتصاص ، والجوع البروتيني Kwashiork of Disease، وفي مثل هذه الحالات ، تقل المواد الخام الاولية في الكبد ، بحيث لايستطيع تعويض بروتينات المصل التي استهلكت نتيجة التلف من حيث اصطناعها من الأحماض الأمينية .

٧- عند دراسة بروتينات المصل لمريض ، يجري فحص البروتين الكلي أولاً Total Protein ، يليه تقدير الألبيومين Albumin، واخيرا تقدير الجلوبيولينات Globulin ، وتؤدي الهرمونات المصطنعة داخل الجسم مثل : الاندروجينات ، هرمونات قشرة الكظر، والكورتيكوتروبينات ، وهرمون النمو، والبروجسترون ، الانسولين ، والثيروكسين الي زيادة إصطناع البروتينات وبالتالي زيادة مستويات بروتينات المصل بينما تؤدي هرمونات الاستروجينات بما فيها اقراص منع الحمل الي تقليل مستوي بروتينات المصل ويبدو ذلك واضحا اثناء فترة الحمل عند النساء ، بينما يزداد تركيز بروتينات النقل مثل الترانسفيرين والجلوبيولين المرتبط مع الثيروكسين اثناء الحمل او اثناء العلاج بهرمون الاستروجين .

٨- تؤدي بعض الادوية الي نقص مستويات بروتينات المصل مثل دواء الريفامايسين Rifamycin الذي يمنع اصطناع البروتينات . اما دواء ثلاثي ميثادايون Trimethadion فهو يقلل مستوي البروتينات عن طريق فقدها مع البول . كذلك يؤدي تناول الادوية المسهلة لفترات زمنية طويلة إلى نقص بروتينات المصل لما تسببه من سوء إمتصاص ، وكذلك تعتبر بعض الادوية سببا من اسباب زيادة مستويات بروتينات المصل .

٧- تقدير نشاط انزيم الفوسفاتيز القاعدي
7. Determination of Alkaline phosphatase activity

١- يوجد هذا الانزيم في بعض أنسجة الجسم ، وبشكل خاص في اغشية الخلايا ، كما يوجد بمستويات عالية في خلايا جدران الامعاء ، الانابيب الكلوية، العظام (الخلايا البانية للعظم (Osteoblasts) و الكبد و المشيمة ، ومع أن الطبيعة الوظيفية

الدقيقة الايضية لهذا الانزيم غير مفهومة وواضحة حتي الآن ، الا ان هذا الانزيم يسهل عمليات نقل النواتج الايضية عبر اغشية الخلايا ، كما يصاحب نقل الليبيدات وعمليات التكلس عند إصطناع العظم .

٢- يرجع وجود هذا الانزيم في مصل الإنسان البالغ إلي الكبد أو القنوات المرارية أو سوائل الامعاء ، كما يمكن وجود كميات صغيرة مصدرها العظام . أما وجود هذا الانزيم في البول فيمكن أن يكون مصدره الانسجة الكلوية وليس انزيمات المصل التي تطردها الكلي. يسهل تحلل انزيم الفوسفاتيز القاعدي الموجود في المصل عند ٥٦م ، ولكنه مستقر عند درجات الحرارة الادني (وأكثر صور ايزوانزيمات هذا الانزيم استقرارا هي الصورة الموجودة في المشيمة) ، يظهر المصل المحفوظ عند درجة حرارة الغرفة زيادة في النشاط تصل إلى ١٪ اذا بقي الانزيم لمدة ٦ ساعات ، ٣-٦٪ اذا بقي الانزيم لمدة يوم او اربعة ايام ، كذلك تزداد درجة نشاط هذا الانزيم اذا حفظ في الثلاجة بمقدار ٢٪ لكل يوم ، اما المصل المجمد لا تقل درجة نشاطه الا انها تعود بعد تذويب التجمد .

فكرة الدرس العملي Method Principle

تساعد انزيمات الفوسفاتيز علي تميؤ استرات الفوسفات ، ويختلف الفوسفاتيز الحمضي عن الفوسفاتيز القاعدي في درجة الحموضة التي تظهر نشاط كل منهما ، يظهر نشاط انزيم الفوسفاتيز الحمضي عند PH المثلى = ٤,٨ ، بينما تظهر نشاط انزيم الفوسفاتيز القاعدي عند PH المثلى = ٩,٨٠ .

الكواشف Reagents

أنظر ورقة التعليمات الخاصة والمرفقة داخل الصندوق الذي تستخدمه ، تختلف هذه الكواشف في طريقة تحضيرها وفي المواد الحافظة المضافة اليها بين شركة واخري ، ولكن معظم الصناديق المستخدمة لاتختلف كثيرا فيما بينها

- **كاشف المحلول المنظم** PH = ٩,٨ :

- ثنائي ايثانول امين ، كلوريد المغنسيوم ، ازيد الصوديوم

- **مادة الهدف** Substrate

بارا-نيتروفينيل فوسفات P-NPP اما علي هيئة أقراص يصلح كل قرص لعمل تجربة واحدة ، او علي هيئة كمية معلومة من مسحوق متجمد داخل عبوة يصلح عند اعادة ذابته لتجربة واحدة او عدة تجارب .

تحضير الكاشف العملي Reconstitution of Working solution

انظر ورقة التعليمات الخاصة بتحضير الكاشف العملي ، وعادة ما يكون :

أ- مادة الهدف substate (اقراصاً) ، فانه يذاب القرص في ٢,٥مل(او ٣,٠مل) من المحلول المنظم .

ب - مادة الهدف (مسحوقاً) ، فانه يذاب محتويات العبوة في كمية معلومة من المحلول المنظم وذلك طبقا للتعليمات المكتوبة في الورقة .

جـ - يبقي الكاشف العملي مستقرا بعد اعادة تكوينه (او تحضيره) لمدة ٤ أسابيع اذا تم حفظه في الثلاجة (٢-٨م°) ولمدة اسبوع واحد اذا ترك عند درجة حرارة الغرفة (٢٠-٢٥م°).

العينات Specimens

يستخدم المصل أوبلازما الدم فى تقدير نشاط هذا الانزيم بعد سحب عينة الدم مباشرة ، يبقي نشاط هذا الانزيم مستقرا لمدة اسبوع إذا تم حفظ العينة في الثلاجة عند ٢-٨م° حيث يفقد هذا الانزيم ١٠٪ من درجة نشاطه خلال ٢-٣ أيام اذا بقيت العينة عند درجة حرارة الغرفة أو حفظت في الثلاجة لمدة شهر عند ٢٥م° .

مانعات التجلط العادية Na_2-EDTA ، الاكسالات ، السترات والفلوريدات) تقلل من ٥٠-٩٠٪ من درجة نشاط هذا الانزيم .

بعض الأدوية تزيد من درجة نشاط هذا الانزيم . لذلك ينصح بسؤال المريض عن الادوية التي يتناولها إستعدادا لتفسير النتائج .

ظروف التجربة **Essday conditions**

- الطول الموجي Wavelength ..... ٤٠٥ نانومتر
- درجة الحرارة Temperature ..... ٢٥م° ، ٣٠م° ، ٣٧م°
- القياسات ضد الهواء Measurements

طريقة العمل **Manual procedure**

١- يوضع الكاشف العملي ، والعينة ، وأنابيب الإختبار ، وانبوبة الجهاز Cuvette ١٠ دقائق في الحضانه عند درجة حرارة ٣٠م° ، ويجب المحافظة علي هذه الدرجة ثابته ضمن +٥ ,م° طيلة فترة التجربة

٢- إنقل بالماصة ١مل من الكاشف العملي وضعها في أنبوبة الإختبار

٣- إنقل بالماصة الميكرولترية ٢٠ ميكرولتر من العينة وأضفها الي انبوبة الاختبار ، رج ثم انقل المزيج الي أنبوبة الجهاز .

٤- صفر الجهاز ضد الهواء ، ثم اقرأ طيف الإمتصاص للعينة بعد مرور دقيقة على اكثر تقدير ، شغل ساعة الايقاف ، وسجل قراءة طيف الامتصاص بعد مرور ١، ٢، ٣ دقائق إذا زاد طيف إمتصاص العينة أكثر من ٠٢٥ . خفف العينة (١رمل سيرم + ٩رمل (٩رجم كلوريد صوديوم ٪) ثم تضرب النتيجة المحسوبة بمعامل التخفيف (×٥) حسب تعليمات الشركة المصنعة لل (Kits) .

طريقة الحساب **Calculation**

نشاط الانزيم U/L = متوسط قراءة طيف الإمتصاص للعينة في الدقيقة × ٢٧٥

الحدود الطبيعية **Normal values**

فيما يلي الحدود الطبيعية المتوقعة لانزيم الفوسفاتيز القاعدي بالوحدات الاولية/لتر

الفئة	٢٥م°	٣٠م°	٣٧م°
الرجال	٦٠-٢٠٠	٧٠-٢٢٠	٨٥-١١٠
النساء	٥٠-١٩٠	٤٠-٢٣٠	٦٥-٣٠٦
الاطفال	٢٥٠-٣٠٠	٣٥٠-٤٠٠	٤٥٠-٦٠٠

ملاحظـــات وتحـذيـــرات :

١- يحتـوي المحلول المنظم علي ازيد الصـوديوم NaN_3 كـمـادة حـافظة ، فـلاتبـتلع هذا المحلول، وتجنب مـلامسته للجلد والاغـشية المخاطية(الفم) ، فـاذا حدث ذلك ، اغسل بكميات كبيرة من الماء .

٢- اثناء التفاعل ينتج P- نتيروفينول وهي مادة سامه اذا ما استنشقت او تم ابتلاعها او امتصاصها من قبل الجلد ، فإذا سقط مزيج التفاعل علي الجلد او لامس الاغشية المخاطية (الفم) ، فاغسل بكميات كبيرة من الماء .

٣- معامل درجة الحرارة : لتحويل النشاط الانزيمي المقاس عند ٣٠م° الي درجة حرارة ٢٥م° اضرب بالمعامل ٧٦ ، ولتحويله عند ٣٧م° اضرب بالمعامل ١,٩٨ وهذه المعاملات تقريبية ولاينصح باستخدامها .

الاهمية المرضية Clinical significance

١- يستخدم تقدير إنزيم الفوسفاتيز القاعدي للتشخيص المرضي في حالتين هما : امراض الكبد الصفراوية Hepatobilary - Disease ، وامراض العظم التي يصحبها زيادة في نشاط التعظم (بناء العظام) ، وكان يعتقد ان انزيم الفوسفاتيز القاعدي الذي يصل الي الكبد من الانسجة الاخري كالعظام يكون في الأصل مقرونا بالمرارة ، وأن إرتفاع

نشاط هذا الانزيم في المصل في حالة أمراض الكبد المرارية ماهو الا نتيجة لفشل طرد هذا الانزيم عن طريق المرارة) وبعضا من هذا الانزيم الزائد يدخل الدورة الدموية ليرفع مستوي نشاطه في المصل . ويكون هذا الارتفاع واضحا وحادا في حالة الإنسدادات الكبدية الخارجية Extrahepatic Obstructions مثل تكوين الحصوة أو سرطان رأس البنكرياس .

٢- يكون مستوى نشاط هذا الانزيم مرتفعا كثيرا كلما كان الانسداد تاما ، ويصل نشاط هذا الانزيم في المصل إلى ١٠-١٢ مرة أكثر من نشاطه الطبيعي ، ثم يعود مرة ثانية الي مستواه الطبيعي عند ازالة الانسداد بالجراحة ، اما في حالة الانسدادات الكبدية الداخلية Intrahepatic Obstructions التي تمنع انسياب المرارة مثل الخلايا السرطانية المهاجمة فانه يرفع مستوي انزيمي ALP بمقدار ٢,٥ مرة عن الحد الطبيعي . أما الأمراض الكبدية الأخري وخاصه التي تصيب الخلايا البرانشيمية (مثل التهاب الكبد الوبائي) فإنها ترفع نشاط هذا الانزيم بدرجة معتدلة تعتدم علي ركود المرارة Bilary Stasis .

٣- ومن بين امراض العظم ، فان اعلي مستوي لنشاط انزيم الفوسفاتيز القاعدي يصاحب مرض باجت Paget's Disease Ostetitis Deformation او تشوه العظام الناجم من فعل الخلايا البانية للعظام التي تحاول اعادة بناء العظم الذي تم امتصاصه نتيجة لعدم التحكم في عملية نشاط الخلايا البانية اثناء البناء ، حيث يصل مستوي نشاط هذا الانزيم ١٠-٢٥ مرة عن الحد الطبيعي ، كذلك يكون ارتفاع مستوي نشاط هذا الانزيم معتدلا في حالة لين العظام Osteomalacia ، اما في حالة مرض الكساح Rickets فان مستوي نشاط هذا الانزيم قد يصل ٢-٤ مرات عند الحد الطبيعي ، ثم

يقل هذا المستوي تدريجيا عند معالجة المريض بفيتامين -D .

٤- ويشاهد زيادة قليلة في درجة نشاط هذا الانزيم في حالة فرط افراز الغدة الجاردرقية الإبتـــدائي والثـــانوي Primary & Secondary Hyperparathyrodism، يؤدي سرطان العظام الي زيادة عالية في مستوي نشاط هذا الانزيم ، وكذلك هناك زيادة مؤقته (ليست دائمة) في حالة الشفاء من كسور العظام ويؤدي النمو الحيوي للعظام الي رفع مستوي انزيم الفوسفاتيز القاعدي وهذا يفسر ارتفاع مستواه عند الأطفال الي حد ١,٥-٢,٥مرة اعلي مماهو عند البالغين الاسوياء ، وكذلك يزداد نشاط هذا الانزيم بمقدار ٢-٣ مرات عند الإناث الحوامل بعد الشهر الثالث ، وهذه الزيادة ناتجة عن نشاط المشيمة .

٥- يصاحب فشل القلب الحشوى Congestive Heart Failure وقرحة القولون Ulcerative Colitis والاصابة البكتيرية المعوية الارتفاع في درجة نشاط انزيم الفوسفاتيز القاعدي .

٨- تقدير الدهون الكلية 8. Determination of total lipids

١- تعتبر الدهون الكلية مؤثر هام لتحديد طبيعة القلب والكبد وبصفة عامه يعكس المستوي العالي من الدهون الكلية عن وجود مرض في الكبد والزيادة العالية في مستوي الدهون قد تترسب تحت الجلد او تذهب الي الدم وتسبب تصلب الشرايين Atherosclerosis وقد تذهب الي الكبد وتسبب الكبد الدهني Fatty Liver .

٢- ونتيجة لوجود علاقة سببيه بين امراض تصلب الشرايين (ترسب المواد الدهنية في جدر الشرايين مما ينتج عنه في نهاية الأمر تصلب الأوعية وقله وصول الأكسجين إلي الخلايا وهذه النتيجة هي العامل الفعال في معظم أمراض القلب وعدم انتظام دقاته (ضرباته) ولذلك يفضل استخدام الدهون غير المشبعة في إعداد الطعام حيث يؤدي

الي تدني مستوي الدهون والكوليستيرول والجليسريدات الثلاثية .

الكواشف Reagents

١- الكاشف الأول (R1) وهو الدهون القياسية Standard lipids وتركيزها حوالي ٨جم/لتر .

٢- الكاشف الثاني (R2) وهي الكواشف اللونية Colour reagents

- حمض الفوسفوريك Phosphoric acid ١٤ مول/لتر
- فانيلين Vanilin ١٣ مللى مول/لتر

ظروف التجربة Essay conditions

١- الطول الموجي Wavelenglh..... ٥٢٥ نانوميتر

درجة الحرارة Temperature.. حمام مائي به ماء يغلي

تصفير الجهاز القياسات Measurements ..... ضد عينة الكاشف الخالية Blank

خطوات العمل Procedure

١- جهز ثلاث انابيب اختبار نظيفة جيدا إحداها للـ B بلانك ، والثانية لعينة المصل Sample (S) والثالثة للمحلول القياسي Standard(St) .

المادة	Blank(B)	Sample(S)	Standard
الكاشف R1	–	–	١,٠ مل
العينة Sample	–	١,٠ مل	–
حامض الكبريتيك المركز	–	٣,٠ مل	٣,٠ مل

٢- غطى الأنابيب بقطعة من القطن.

اخلط جيدا وضع الانابيب في حمام مائي درجة حرارته ١٠٠م° لمدة ١٠ دقائق

الكاشف	Blank(B	Sample(S)	Standard
الكاشف رقم R2	١ , مل من حامض الكبريتك المركز H_2SO_4 ٣ مل	١ , من المحلول السابق ٣ مل	١ , من المحلول السابق ٣مل

٢- اخلط كل أنبوبة علي حدى

٤- صفر الجهاز باستخدام البلانك B ثم قس طيف الإمتصاص لكل من المحلول القياسي St وعينة المصل (S).

خطوات الحساب Calculation

$$\text{تركيز الدهون الكلية} = \frac{A_s}{A_{st}} \times Cst$$

حيث As = هي طيف إمتصاص العينة

Ast = طيف امتصاص المحلول القياسي.

Cst = تركيز الدهون الكلية القياسية في الدم وهى تساوى ٨ جم/لتر

الحدود الطبيعية للدهون الكلية Nomral values

هي تتراوح ما بين ٤ - ٨ جم/لتر (٤٠٠ - ٨٠٠ مجم/١٠٠ مل دم)

٩- تقدير الكوليستيرول الكلى في المصل

9 - Determination of total cholesterol in serum

العينات Specimen

يستخدم المصل ، او بلازما الدم ، يجب فصل المصل باكبر سرعة ممكنة بعد جمع العينة مباشرة ، كما يجب اخذ العينة من المريض بعد ١٢-١٦ساعة وذلك لتقليل العكارة ، وعلي أية حال ، فان تأثير تناول الطعام علي مستوي الكوليستيرول لايزيد عن ٣٪ .

يبقي الكوليستيرول ثابتا في المصل لمدة ٥-٧ ساعات عند درجة حرارة الغرفة ،

واكثر من ٦ شهور عند حفظ العينة عند - ٢٠م° ولعدة سنوات عند حفظها عند درجة حرارة - ٧٠م°.

ظروف التجربة Essay conditions

الطول الموجي Wavelength ..... ٥٠٠ نانومتر(٤٩٢-٥٥٠)

درجة الحرارة Temperature..... ٢٠ -٢٥م° او ٣٧م°

القياسات Measurements ضد عينة الكاشف الخالية(بلانك) .

خطوات العمل Manual Procedure

الكواشف Reagents

كاشف (١) : أستيك أنهيدريد Acetic anhdride (٦٢٠ مل)

حامض الخليك الثلجى Glacial acetic acid (٣٨٠ مل) .

كاشف (٢) : كولستيرول Cholesterol (٢٠٠ مجم).

حامض خليك ثلجى (١٠٠ مل) .

خطوات العمل Procedure

المادة	العينة Sample	المحاليل القياسية	البلانك Blank
الكاشف ١	٢ر٥ مل	٢ر٥ مل	٢ر٥ مل
الكاشف ٢	-	١٠ ميكروليتر 10ul=0.01ml	-
المصل Serum	١٠٠ميكروليتر 10ul=0.01ml	-	-
ماء مقطر	-	-	١٠٠ميكروليتر
حامض الكبريتك المركز	٥ر مل	٥ر مل	٥ر مل

أخلط جيدا وأترك الأنابيب لمدة ٥ دقائق في حمام مائي عند ٢٥-٣٠م او ١٠ دقائق عند ٣٧م

طريقة الحساب **Calculation**

$$\frac{\text{قراءة طيف امتصاص العينة}}{\text{قراءة طيف امتصاص القياس}} \times \text{تركيز القياسى} = \frac{A_s}{A_{st}} \times Cst$$

حيث Cst = ٢٠٠ مجم/١٠٠ مللي دم

الحدود الطبيعية للكوليستيرول الكلي في الجسم **Normal values**

١- يتراوح المدي الطبيعي للكوليستيرول الكلي في المصل عند حديثي الولادة مابين ٤٥-١٠٠ملجم/مل ، ثم يتضاعف هذا الحد خلال بضعة أيام من الحياة ، بعد مرور شهر من الولادة تصل قيم الكوليستيرول الي الحد الطبيعي ١٠٠-١٢٠مل جم/١٠٠ملم وتبقي ثابتة حتي عمر ٢٠ سنة .

٢- تدل التقارير الطبية ان الكوليستيرول يقل عند الإناث أثناء فترة التبويض (فترة الحيض) ويزداد اثناء الصدمات العاطفية الحادة ، كما يتغير عند بعض الأفراد من يوم لآخر ، كما يتغير مع فصول السنة وخاصة عند المراهقين من الذكور .

٣- يتغير الحد الطبيعي للكوليستيرول الكلي في المصل عند البالغين بتغير العمر الجنسي والطعام والتغيرات الفصلية فهي أعلي في الخريف والشتاء منها في الربيع والصيف .

قيم الكوليسترول الكلي مجم/١٠٠مل دم

العمر بالسنة	الذكور Males	الاناث Females
٥-١٩	١٢٥-١٩١	١٣١-٢٠٨
٢٠-٣٠	١١٨-١٨٠	١٢١-٢٠٠
٣٠-٤٠	١٤٧-٢٠٠	١٣٩-٢١٨
٤٠-٥٠	١٥٠-٢٠٠	١٦٣-٢٢٠
فوق ٥٠	١٦٠-٢٢٠	١٦٧-٢٣٠

٤- فيما يلي الحد المسموح به وذلك للابتعاد عن عامل فرط الكوليستيرول

مرتفع : زيادة عن ٢٦٠ ملجم/١٠٠مل

مرغوب به : مابين ١٤٠-٢٠٠ملجم/١٠٠مل

الأهمية المرضية Clinical significance

يتأثر كوليسترول المصل بعده عوامل متنوعة ، أولها مستوي كوليسترول البلازما ، وتركيز الليبوبروتينات . وبالتالي فان العوامل التي تتحكم بافراز الليبوبروتينات في البلازما وعوامل ازالة الليبيدات او الليبوبروتينات من البلازما وتعتبر الليبوبروتينات عالية الكثافة HDL من أغني الليبوبروتينات بالكوليستيرول ، وبناءً عليه فإن إرتفاع أو إنخفاض مستوي الكوليستيرول في البلازما يمكن إرجاعه لهذين النوعين من الليبوبروتينات .

بصفة عامة ، تعكس المستويات العالية من كوليسترول البلازما المستويات العالية من LDL وهذه بدورها ناجمة من عيوب وراثية Inherited defects أو وجود مرض في نظام الغدد الصماء ، أو وجود مرض في الكبد ، أو وجود مرض في الكلي. كذلك تعكس المستويات المنخفضة من كوليستيرول البلازما في مستويات LDL، HDL قصوراً في وظائف الكبد Impairment of liver Functions وتؤثر العديد من الهرمونات بشكل واضح علي مستويات الكوليسترول في البلازما .

وهناك علاقة تناسبية عكسية بين مستويات الثيروكسين والكوليستيرول فقد وجد ان نقص افراز الغدة الدرقية Hypothyrodism يسبب زيادة وجود الكوليستيرول Hypercholesterolemia الي درجة كانت فيه قياسات كوليستيرول المصل تستخدم في تشخيص وعلاج مرض الغدة الدرقية بشكل روتيني ، وبقي الحال إلي أن تم تطوير تجارب متخصصة لتقدير الثيروكسين . اما في حالة فرط افراز الغدة الدرقية

Hyperthyrodism فإن مستويات الكوليسترول تكون في حالتها الدنيا ، وبالتالي يزداد مستوي الكوليستيرول عند النساء اللواتي انقطعت عنهن الدورة الشهرية Postmenopausal و يكون المستوي اكبر من مستواه قبل انقطاع الدورة الشهرية Premenopausal وقد يصل الي بنفس المستوي عند الرجال في نفس العمر ، وقد تتعرض النساء بعد سن اليأس أو ما يسمى الآن سن الحياة الي مخاطر الاصابة بمرض تصلب الشرايين .

إن تأثير هرمونات الاستروجينات علي مستوي الكوليسترول قد أوحت للأطباء بإعطائها للرجال المصابين بمرض زيادة الكولسترول وقد أدت الي نقصان LDL وظهور اعراض جانبية غير مستحبة .

صاحب الحمل زيادة معتدلة بمستوي الكوليستيرول ، وقد ينجم ذلك عن تغير في وظائف بعض الغدد الصماء ويمكن إعتبار هذا التغير من التغيرات الوظيفية الحيوية ، لأن قيم الكوليستيرول تعود إلي وضعها الطبيعي بعد الولادة ، ويؤدي التهاب الكبد المبكر Early Hepatitis الي زيادة كوليستيرول المصل وكلما زادت حدة الالتهاب كلما قلت هذه المستويات وذلك لنقص التصنيع نتيجة لتلف الخلايا الكبدية . وفي حالة إنسداد القنوات المرارية بالحصوات أو انسداد القنوات الكبدية Obstructed bile canaliculi and ducts ، يقل طرد الكوليستيرول إلي الامعاء الدقيقة عبر الحويصلة المرارية مما يؤدي إلي زيادة الحمل غير الطبيعي لليبوبروتينات في البلازما ويؤدي ذلك إلي فرط الكوليستيرول في الدم .

وفي حالة ظهور أعراض إصابة النفرونات الكلوية Nephrotic syndrome تظهر زيادة في ليبيدات المصل ، وتكون هذه الزيادة كبيرة بحيث تجعل المصل ذو مظهر حليبي او دهني

Chylous وترجع اكثر هذه الزيادة الي وجود الليبوبروتينات شديدة أنخفاض الكثافة VLDL والليبوبروتينات منخفضة الكثافة LDL والليبوبروتينات عالية الكثافة HDL كما يوجد ارتفاع في مستوي الفوسفوليبيدات والجليسريد الثلاثي .

يصاحب مرض السكر (نقص الانسولين) فرط الكوليستيرول ، وكلما قل التحكم بهذا المرض كلما زاد ارتفاع مستوي الليبيدات . كما ان علاج مرض السكر إلى المعدل الطبيعى يؤدي الي عودة الكوليستيرول عند بعض الافراد .

نتيجة لوجود علاقة سببية بين امراض تصلب الشرايين (ترسب المواد الدهنية وخاصه الكوليستيرول في داخل جدران الشرايين) مما ينتج عنه في نهاية الامر تصلب الشرايين وقلة وصول الاكسجين والدم الي الخلايا ، وهذه النتيجة هي العامل الفعال في معظم امراض القلب وعدم انتظام دقاته(ضرباته) وهما مرضان مسئولان عن ٥٠٪ من الوفيات ، كما أن استبدال الدهون المشبعة بالزيوت غير المشبعة في اعداد الطعام يؤدي الي تدني مستوي الكوليستيرول والجليسريد الثلاثي . الا ان تقدير الكوليستيرول الكلي في الدم يبقي هو التشخيص الهام في الاستدلال علي فرط الليبوبروتينات Hyperlipoproteinmia.

١٠ - تقدير الجليسريدات الثلاثية في المصل

10 - Determination of triglycerides in Serum

الكواشف Reagents

انظر ورقة التعليمات الخاصة والمرفقة داخل الصندوق الذي تستخدمه في المعمل

استقرار الكواشف وتعليمات الحفظ

Reagent stability and storage Instru

الكواشف مستقرة حتي التاريخ المثبت علي الصندوق اذا تم حفظها في الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨م° حسب تعليمات الشركة .

الكاشف (١): المحلول القياسى ويتكون من جليسرول ٢٫٢٩ ملى مول / لتر وهو يساوى ٢جم/لتر الجليسراين الثلاثى .

الكاشف (٢): وهو المحلول المنظم Buffer ويتكون من :

- Tris Buffer ٥٠ ملى مول / لتر .
- باراكلوروفينول ٤ر٥ ملى مول / لتر .
- ماغنيسيوم ٢ ملى مول / لتر .

الكاشف (٣): ويتكون من :

- أمينو انتى بيرين Amino antpyridin ٤ر ملي مول .
- ليبيازLipase أكبر من ١٠٠ر٠٠٠ وحدة / لتر .
- جلسروكينيز Glycerokinase أكبر من ٢٠٠ وحدة/ لتر .
- جليسرو ٣- فوسفات Glycero-3-phosphate أكبر من ٢٠٠ وحدة / لتر .
- أكسيديز - Oxidase أكبر من ٢٠٠ وحدة / لتر.
- بير أكسيديز Peroxidase أكبر من ٢٠٠٠ وحدة / لتر.
- ATP ٨ر ملي مول / لتر.

مظاهر فساداو عدم صلاحية الكواشف :

١- تدل التكوينات العفنية الهوائية (سواء الحمراء أو الحمراء المسودة) ، والنمو العفيفي المرئي بالعين المجردة او العكارة علي ان المحلول المنظم في تجربة الجليسريد الثلاثي اصبح غير صالح للاستعمال ويجب التخلص منه .

٢- اذا لوحظ وجود الرطوبة قبل اعادة تكوين الكاشف الأنزيمي ، فان ذلك دلالة علي عدم صلاحية هذا الكاشف للاستعمال .

٣- اذا ظهرت عكاره او نمو عفني داخل عبوة محلول الجليسريد الثلاثي القياسي ، دل ذلك علي عدم صلاحية هذا المحلول القياسي للاستعمال .

العينات Specemen

يستخدم المصل او بلازما الدم (مستوي الجليسريد الثلاثي في البلازما اعلي منه في

المصل ويحتمل أن يكون ذلك لاحتجاز الكايلوميكرونات والليبوبروتينات اثناء عملية التجلط ، وكذلك نتيجة لحدوث عملية التحلل الدهني Lipolysis اثناء تكوين الجلطة ولمعظم اغراض التحليل الكيميائي يمكن استخدام المصل او البلازما .

وقد يؤثر تناول الوجبات الغذائية Postprandially على كمية فى المصل فتزداد هذه القيم اذا كانت الوجبة الغذائية كربوهيدراتية نقية ، ولإعطاء تفسير مقبول ومعتمد ، يجب جمع العينات من المرضي بعد صوم ١٢ ساعة .

بعد جمع العينات من المرضي الصائمين تترك للتجلط ، ثم توضع في جهاز الطرد المركزي للحصول علي المصل وذلك بعد مرور ساعتين من جمع العينة ، ويجب خلو انابيب الجمع من جليسرول كمادة تشحيمية .

ظروف التجربة Eassy conditions

الطول الموجي Wavetength... ٥٠٠ نانومتر(٤٩٢-٥٥٠)

درجة الحرارة Temperature.... ٢٠-٢٥م°(او ٣٧م°)

القياسات Measurements... ضد الكاشف الخالى علي ان تعمل تجربة بلانك واحدة لكل قياس

خطوات العمل Procedure

تحضير الكاشف العملي :

اضف محتويات عبوة واحدة من الكاشف (رقم٣) إلى ٢٥ مل من المحلول (رقم٣) رج للتجانس . أترك المزيج لمدة ١٥ دقيقة قبل الاستعمال وذلك عند درجة حرارة الغرفة . هذا المحلول مستقر لمدة ٣ اسابيع اذا حفظ بالثلاجة ٢-٨ م° او لمدة ٣ ايام اذا ترك معرضا لدرجة حرارة الغرفة ٢٥-٢٥ م° كذلك يجب حفظ هذا الكاشف العملي بعيدا عن الضوء المباشر .

خطـوات التجـربـة Test procedure

المادة	العينة Sample	المحلول القياسية	البلانك Blank
الكاشف العملى (١) (محلول٢ +محلول٣)	١ مل	١ مل	١ مل
المصل Serum	١٠ميكروليتر 10ul=0.01ml	–	–
المحلول القياسى	–	١٠ ميكروليتر 10ul=0.01m	–

- رج الانابيب جيدا ثم احفظها عند ٢٠-٢٥مه لمدة ١٠ دقائق أو ٥ دقائق عند ٣٧م°.
- صفر الجهاز بواسطة البلانك B ثم قس طيف الامتصاص لكل من العينة S القياس عند ٥٤٦ نانوميتر .

ملاحظـات هـامة : Notes

١- تظهر العينات الدهنية عادة عكارة عند إضافة مزيج الكاشف العملي، ويؤدي ذلك الي نتائج مرتفعة وكاذبة ، وتحتوي بعض الصناديق التي تستخدم هذه الطريقة اللونية علي مادة تمنع ظهور هذه العكارة الليبيدية .

٢- في هذه الطريقة قد تم إستخدام ٠,١مل من محلول الكاشف الانزيمي ، وفي بعض الصناديق الاخري قد تستخدم مضاعفة هذه الحجوم مرتين .

٣- شدة اللون المتكون تبقي ثابتة لمدة ٣٠-٦٠ دقيقة ، لذلك يجب أن تتم قراءة طيف الإمتصاص خلال هذه الفترة الزمنية .

نـاتـج التجـربـة Experimental Results

قراءة طيف الإمتصاص للمحلول القياسي (Ast) = ...

قراءة طيف الإمتصاص لمحلول العينة (As) = ...

طريقة الحساب Calculation

بالتعويض بالعلاقة التالية تحسب تركيز الجليسريد الثلاثي في عينة المصل :

$$\text{تركيز الجليسريد الثلاثى Cs} = \text{Cst} \times \frac{\text{As}}{\text{Ast}}$$

= ملجم/١٠٠مل

حيث أن Cst = ٢٠٠ هي تركيز المحلول القياسى.

يمكن حساب أي من LDL أو HDL كما يلى :

$$\text{LDL Cholesterol} = \text{Total Cholesterol} - \frac{\text{Triglycericles}}{5} - \text{HDL Cholesterol}$$

العلاقة التناسبية بين التركيز وطيف الامتصاص Linearity

تستمر العلاقة خطية حتي تركيز الجليسريد الثلاثي ١٠٠٠ملجم/١٠٠مل ، اما العينات التي يزيد تركيز الجليسريد الثلاثي بها اكثر من ذلك ، فيجب تخفيفها بنسبة ١مل من عينة المصل (او البلازما) و٤مل من المحلول الملحي (الفسيولوجي) وعند حساب التركيز يضرب تركيز الجليسريد الثلاثي المحسوب بمعامل التخفيف (×٥) .

الحدود الطبيعية للجليسريد الثلاثي Normal values or Limits

١- يوجد إختلاف علي الحدود الطبيعية للجليسريد الثلاثي في المصل ، ولكن فيما يلي حدودا مقترحة يمكن اعتبارها مقبولة وهي تعتمد علي العمر والجنس .

العمر بالسنه	الذكور	الإناث
	حجم /١٠٠مل دم	حجم/١٠٠مل دم
من يوم – ٢٠ يوم	١٤٠	١٤٠
٢١ – ٣٠ سنه	١٦٠	١٠٠
٣١ – ٤٠ سنه	١٧٠	١١٠
٤١ – ٥٠ سنه	١٨٠	١١٥
٥١ – فيمافوق	١٩٠	١٢٠

٢- فيما يلي الحدود التي ينصح بها حتي لايصل الامر لمرحلة فرط الجليسريد الثلاثي في الدم:

- قابل للإصابة اذا زاد عن ١٥٠ملجم/١٠٠مل
- مصاب اذا زاد عن ٢٠٠ملجم/١٠٠مل دم

وينصح للاصحاء

بالنسبة للرجال يجب أن يكون معدل الجليسريد الثلاثى من ٦٠-١٤٠ملجم/١٠٠مل دم ، اما للاناث فهي ٤٠-١٢٠ملجم/١٠٠مل دم

الاهمية المرضية Clinical Significance

وجود كل من الجليسريد الثلاثي والكوليسترول في البلازما بنسب مرتفعه تعتبر كعوامل مخاطرة في تسبب مرض تصلب الشرايين Atherosclerosis قد يكون زياده الليبيدات في الدم Hyperlipidemia سمه وراثية أو صفة ثانوية ناجمة عن فوضي متنوعة أو أمراض مختلفة بما فيها مرض السكر ، والتهاب النفرونات الكلوية ، إنسداد قنوات الحويصلة المرارية ، والتغيرات الايضية التي تصاحب اضطراب الغدد الصماء أو ربما تتغير مستويات الجليسريد الثلاثي والكوليستيرول في البلازما كل علي حده ، ولذلك يتعين لتقييم زيادة الليبيدات في الدم تعيين كل من هذين الليبيدين كل واحدة منهما علي حدة.

فيما يلي بعض الظروف الشائعة التي تسبب ارتفاع مستوي الجليسريد الثلاثي:

١- تناول الكربوهيدات بكميات كبيرة (سعرات حرارية زائدة) ولان الكبد يحول الكربوهيدرات الزائدة الي دهون (جليسرين ثلاثي) لتخزينها ، فإن تقليل تناول السكريات الزائدة سيؤدي بالتالي الي عودة الجليسريد الثلاثي الي حدوده الطبيعية .

٢- تناول الكحولات والمشروبات الروحية : اذا تم الامتناع عن تناول المشروبات الكحولية مع الغذاء ، فان ذلك سيؤدي الي جعل الجليسريد الثلاثي ضمن الحدود الطبيعية .

٣- تصلب الشرايين وأمراض القلب التاجية وضربات القلب ، وهو ناتج عن تصلب الشرايين الكبيرة .

٤- مرض السكر ، التهاب النيفرونات الكلوية ، نقص افراز الغدة الدرقية وجميعها أمراض يصحبها إرتفاع لمستوي الليبيدات في المصل .

٥- الارتفاع الناجم عن تناول طعام يحتوي علي نسبة عالية من الدهون المشبعة (السمن) المسكرات بأنواعها.

يقل الجليسريد الثلاثي في الحالات التالية :

١- نقص الليبوبروتينات

٢- سوء التغذية ، سوء الامتصاص وأمراض الكبد Liver dseases

١١- تقدير نشاط انزيم الاميليز

11 . Determination of Amylase activity

المقدمة Introduction

تعتبر مجموعة انزيمات الاميليزات من انزيمات التميؤ Hydrolyses التي لها القدرة علي تكسير السكريات العديدة مثل النشاء والجلايكوجين . تتكون هذه السكريات العديدة من وحدات D- جلوكوز متصلة بروابط جلوكوزيدية ، يتميأ كل من الاميللوز(سلسلة خطية) والامايلوبكتين والجلايكوجين (سلاسل متفرعة) ولكن بدرجات متفاوتة ، يفصل انزيم الاميليز هذه السلاسل عند الروابط في اماكن مختلفة مكونا المالتوز وبعضا من الجلوكوز والديكسترين (في حالة الأميلوز) .

ويمكن التميز بين نوعين من انزيمات الاميليزات :

١- أميليزات ومصدرها النبات والبكتريا وعادة ماتسمي بالاميليزات الخارجية Exo-Amylases وهذه الانزيمات تعمل علي الطرف المختزل لسلسلة السكر العديد ، وبالتالي تفصل قطعة مكونة من وحدتي جلوكوز(مالتوز) في كل مرة.

٢- اميليزات ومصدرها حيواني وعادة ماتسمي بالاميليزات الداخلية Endo-Amylases وهي توجد في خلايا الانسجة ، وتهاجم الروابط الجلوكوزيدية بطريقة عشوائية ، في اي مكان من سلاسل السكر العديد ، وبالتالي تحدث تكسرا في جزيئاتها بسرعة وتحولها الي وحدات صغيرة مثل الديكسترين(١٠ وحدات من الجلوكوز) والملتوز والجلوكوز ، وحيث ان الجلوكوز والمالتوز من السكريات المختزلة ، فان مسار تفاعل التميؤ يصاحبه زيادة في تركيز السكريات المختزلة القابلة للذوبان فى الماء .

- تتفاعل سلاسل النشا المستقيمة (الاميلوز في الوضع الحلزوني) مع جزيئات اليود لتكوين من اليود والاميلوز ذو لون أزرق غامق . أما الديكسترين والمالتوز فليست لها القدرة علي الإتحاد مع اليود ، ويحدث تغير في شدة اللون اذ يخف اللون الازرق ثم يتحول الي اللون البنفسجي واخيرا الي اللون الاحمر ثم يزول لون اليود عندما يصبح طول السلسلة ست وحدات من الجلوكوز (وهذه هى فكرة تقدير نشاط الاميليز باستخدام اليود) .

هذا الانزيم مستقر تماما ، ومايفقده من نشاط اذا بقي عند درجة حرارة الغرفة (٢٠-٢٥مْ) ولمدة اسبوع مهملا . اما اذا تم حفظه في الثلاجة ٢-٨مْ فتبقي درجة نشاطة عاليه لمدة شهرين باستثناء الهيبارين ، فان جميع مضادات التجلط تثبط فعالية انزيم الاميليز وهذه المثبطات هي : السترات، EDTA الإكسالات ، ونتيجة لذلك يجب ان يتم تقدير نشاط هذا الانزيم في البلازما باضافه الهيبارين فقط .

يوجد انزيم الأميليز في الجسم البشري في عدد من الأعضاء والانسجة ، وأعلي تركيز له يوجد في البنكرياس حيث يتم إصطناعه في خلاياه ، ومن ثم يفرز الي القناه الهضمية لهضم النشويات ، تفرز الغدد اللعابية إنزيم الأميليز وذلك لبدء تميؤ النشويات مادام الطعام في الفم وأحيانا يسمي الانزيم اللعابي باسم بتالين Ptylene وينتهي عمله في الوسط الحمضي للمعدة ، أما في القناة الهضمية (الأمعاء) فيقوم إنزيم المالتيز المعوي بزيادة تميؤ المالتوز الي الجلوكوز ، يتم هدم معظم الأميليز بأنزيم التربسين وذلك في الجزء السفلي من الأمعاء مع بقاء جزء صغير نشيط يطرد مع البراز ، لقد وجدت فعاليات ضعيفة لإنزيم الأميليز في المستخلصات الكبدية وأنابيب فالوب والعضلات المتشعبة والخلايا الدهنية .

مصدر إنزيم الأميليز في المصل أو البول هو البنكرياس والغدد اللعابية ، ولايتلاشي هذا الإنزيم بعد أستئصال البنكرياس Pancreatomy لان النشاط المتبقي قد يكون مصدره الغدد اللعابية او الكبد وربما المصل نفسه .

توجد سبعة ايزوانزيمات لانزيم الأميليز : ثلاثة منها تظهر في البول ، وهناك الأميليزات الضخمة Macro-amylases التي توجد في مصل بعض الافراد ، وهذه الصوره النادرة قد تكون متراكبات من الاميليزات العادية IgA ، ١٨٠٠٠٠ Immunoglobulin من بروتينات البلازما ذات الكتل الجزئية العالية ، ولان حجمها كبير (٢٠٠٠٠٠٠ وحدة كيلو دالتون) فانها لاترشح من الكبيبات الكلوية وبالتالي تبقي في المصل . ويسبب وجودها زيادة في نشاط إنزيم الاميليز بما يساوي ٦-٨ مرات الحدود الطبيعية مع عدم وجود اعراض مرضية لها .

الكواشف Reagents

انظر ورقة التعليمات الخاصة والمرفقة داخل الصندوق الذي تستخدمه

تحضير الكاشف العملي Reconstitution of working solution

عند اعادة تكوين أو تحضير الكاشف العملي ، اتبع التعليمات المكتوبة في ورقة الصندوق Kit المستخدم . وهذه التعليمات لاتتعدي اذابة محتويات عبوة واحدة من الكاشف الانزيمي ومادة الهدف (عادة عبوة رقم ٢) في حجم معلوم من المحلول المنظم (عبوة رقم١) .

استقرار الكواشف Reagents stability

تبقي الكواشف مستقرة مالم تفتح العبوات ، حتي التاريخ المثبت علي ملصق الصندوق اما الكاشف العملي ، فيبقي مستقرا لمدة ٣ أسابيع من تاريخ إعادة تكوينه أو تحضيره وذلك اذا تم حفظه في الثلاجة (٢-٨م°) ولمدة ٥ أيام إذا ترك عند درجة حرارة الغرفة (٢٠-٢٥م°).

الكواشف Reagents

الكاشف (١): منظم الفوسفات ١٦ ملل مول/لتر عند اس بدروجيتى (٧)

نشا ٦٥٠مجم / لتر

الكاشف (٢): نشا $\left(\frac{١\,N}{٥٠}\right)$

كواشف اضافية : حمض الخليك ٥٪ .

العينات Specimen

يستخدم المصل او بلازما الدم او البول، فى تقدير نشاط هذا الانزيم بعد سحب عينة الدم مباشرة ، يحتفظ هذا الانزيم بنشاطه دون فقدان إذا تم حفظ العينة لمدة ٥ ايام فى الثلاجة عند (٢-٨ م°).

يمكن حفظ عينات البول إلى مدة ١٠ ايام في الثلاجة دون ان يؤثر ذلك علي درجة نشاط هذا الانزيم ، وعند تقدير نشاط هذا الانزيم في البول تخفف العينة (١+٢) بمحلول ملحي (فسيولوجي) ثم تضرب النتائج المحسوبة بمعامل التخفيف(×٣).

ظروف التجربة Essay conditions

الطول الموجي ..... Wavelength ٤٠٥ نانومتر

درجة الحرارة ..... Temperature ٢٥م° ، ٣٠م° ، ٣٧م°

القياسات Measurements ضد الهواء، وفي هذه الحالة يزداد طيف الامتصاص مع مرور الوقت .

خطوات التجربة

	العينة s	Control	البلانك
كاشف (١)	٠ر٥ مل	٠ر٥ مل	٢ر٥ مل
٥٪ حامض الخليك	–	٥ مل	٥ مل

رج جيداً ثم ضع الأنابيب فى حمام مائى درجة حرارته ٣٧م° لمدة ٥ دقائق .

العينة	٢٠ ميكروليتر	٢٠ ميكروليتر	°
المحلول الضابط			
الكاشف (٢)	٥٠ ميكروليتر	٥٠ ميكروليتر	٥٠ ميكروليتر
٥٪ حامض الخليك			٥ ملل

خطوات الحساب Calculations

$$\text{نشاط الانزيم} = \frac{\text{قراءة طيف العينة الظابطه} - \text{قراءة طيف العينة}}{\text{قراءة طيف البلانك}} \times \text{ن}$$

حيث ن = ٦٠٠ وحده

نشاط الإنزيم = ... وحدة / ١٠٠ مل دم

هناك طريقة أخرى للحساب

نشاط الإنزيم = متوسط قراءه طيف إمتصاص العينه .

× ٤٨٢٤٠ عند ٣٧م°

× ٤٩٣٩ عند ٣٠ م°

× ٥٢٥٦ عند ٢٥م°

القيم الطبيعية

فيما يلي القيم الطبيعية لنشاط انزيم الأميليز مقدرة بالوحدات الدولية/لتر عند درجات الحرارة المختلفة .

نوع العينة	٢٥م°	٣٠م°	٣٧م°
المصل او البلازما	٤٠	٤٠	٤٠
البول (عشوائي)	١٩٠	١٩٠	١٩٠
بول ٢٤ ساعة	١١٠	١١٠	١١٠

الاهمية المرضية Clinical significance

يزداد نشاط هذا الانزيم في الحالات المرضية التالية :

١- **الإلتهاب الحاد للبنكرياس وانسداد القنوات البنكرياسية** : فاذا وصل نشاط انزيم الأميليز إلى ١٨٥ وحده دولية/لتر دل ذلك على التهاب البنكرياس اما إذا وصل الي ١٨٥٠ وحدة دولية/لتر ، دل ذلك علي التهاب البنكرياس الناجم عن تكوين الحصي في الحويصلة المرارية Gall-Stones وفي حالة الالتهاب الحاد للبنكرياس يكون هناك ارتفاع مؤقت او عابر في درجة نشاط هذا الانزيم قد يصل الي ٣٧٠٠وحدة دولية/لتر .ويحدث هذا الوضع في خلال ٦-٨ ساعات من بداية الالتهاب وتبقي هذه المستويات مرتفعة لمدة ٣ ايام يعود بعدها فجأة الي الحدود الطبيعية ، ولكن ربما تستمر زيادة الأميليز في البول (التبول الأميليزي) Amylasuria ولعده ايام بينما يكون نشاط هذا الانزيم في المصل ضمن الحدود الطبيعية، تكون قيم نشاط انزيم الاميليز في حالة التهاب البنكرياس المزمن اقل منها في حالة الالتهاب الحاد للبنكرياس باستثناء فترات النوبات .

٢- الأمراض الباطنية : مثل قرحة المعدة والاثني عشر ، وانسداد الامعاء ، التهاب الغشاء البريتوني ، وبعض العمليات الجراحية في البطن والأمراض الكلوية .

٣- تناول بعض الأدوية : مثل المورفين ، الكودين ، وهذه الادوية تسبب تقلصات عابرة للجهاز العضلي في الاثني عشر والعضلات العاصرة ، وبالتالي تسبب عدم انسياب المرارة والعصارة البنكرياسية إلي الأمعاء .

٤- النكاف والنكاف البكتيري : اللذان يمنعان افراز انزيم الاميليز اللعابي مما يسببان ارتفاعا معتدلا في أميليز المصل ، يقل نشاط انزيم الاميليز في المصل في حاله خراج الكبد ، التلف الشديد للخلايا الكبدية، تليف الكبد ، سرطان الكبد ، سرطان القنوات المرارية ، التهاب المرارة ، أما في حالة مرض اليرقان (الصفراوية) والحصوات المرارية فانهما لايسببان أي إرتفاع في درجة نشاط هذا الانزيم .

١٢- تقدير الحديد في المصل 12- Determination of Iron in serum

فكرة الدرس العملي Method principle

ترسب بروتينات المصل بواسطة كاشف يحتوي علي حمض الهيدروكلوريك وحمض الثيوجلايكوليك ، وحمض ثلاثي كلورواستيك لترسيب البروتين حيث يتم تفاعل الحديد المتحرر مع محلول ثنائي الصوديوم باثوفينانثرين سلفونات في محلول منظم ويقاس طيف الامتصاص للون المتراكب عند ٥٣٥ نانومتر .

الكواشف Reagents

١- كاشف مرسب البروتين Protein precipitant : أذب ٢٥ جم من ثلاثي كلوروحمض الخليك، ٢١,٥مل من حمض الهيدوكلوريك HCL الذي كثافته ١,١٨ جم/مل وتركيزه ٣٦٪ كتلة ، في ماء مقطر أو منزوع منه الأيونات ، رج للتجانس ثم اكمل بالماء الي العلامة .

٢- كاشف مولد اللون Chromogen reagent : اذب في دورق حجمي سعه ٢٥٠مل (٦٨جم من أسيتات الصوديوم المائية $2H_3OCH_2$-COON) جرام واحد من ملح باتوفينا نثرين سلفونات ثنائية الصوديوم في الماء المقطر واكمل بالماء المقطر قليل الايونات الي العلامة .

٣- محلول الحديد القياسي التخزيني Stock iron standard ـ ١,٠جم/لتر زن ١,٠ جم من الحديد النقي ، ثم ضعه في دورق مخروطي سعة ١٢٥مل به ٢٥مل من حمض الهيدوكلوريك الذي تركيزه ٦ مولار ثم سخن محتويات الدورق بهدوء مع التحريك علي سخان كهربائي ، بعد ذوبان الحديد انقل محتويات الدورق المخروطي كميا الي دورق حجمي سعه واحد لتر ، ثم اكمل بالماء المقطر قليل الايونات الي العلامة ، رج للتجانس ، هذا المحلول مستقر الي مالانهاية اذا تم احكام غلق الزجاجة .

٤- محلول الحديد القياسي العملي (٢٠٠ ميكروجرام/١٠٠مل دم) : انقل بالماصة ١,٠مل من محلول الحديد القياسي التخزيني (استخدم ماصة سعة ١,٠مل) الي دورق عياري سعه ٥٠٠مل ، اكمل بالماء المقطر قليل الايونات الي العلامة . رج للتجانس، ويحضر هذا المحلول طازجا وقبل التجربة ، فالمحلول مستقر لمدة ساعتين .

العينات Specimens

يستخدم المصل او بلازما الدم حيث يبقي المصل مستقرا لمدة سبعة ايام اذا تم حفظ العينة في الثلاجة عند ١-٨م ولمدة اربعة ايام عند درجة حرارة الغرفة .

ظروف التجربة Essay conditions

الطول الموجي Wavelength..... ٥٣٥ او ٥٤٠ نانومتر

درجة الحرارة Temperature..... ٢٠-٢٥ م°

القياسات Measurements ضد عينة الكشف الخالي (RB) ويكتفي بعمل عينة بلانك واحدة

أولا - نزع البروتين Sample deproteinization

المحلول Solution	العينة Sample(s)	العينة القياسية Standard(St)	البلانك Blank	محلول Solution
ماء مقطر	–	–	٢مل	
الحديد القياسي	–	٢ مل	–	
المصل Serum	٢مل	–	–	
حامض الترايكلورواستيك Trichloroacetic acid	٢مل	٢مل	٢مل	

- رج جيدا ثم ضع الانابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة ٥ دقائق عند سرعة ٥٠٠٠ لفة/دقيقة لمدة ١٠ دقائق .

ثانيا - خطوات التجربة Test procedure

المحلول Solution	العينة Sample(s)	العينة Standard(St)	البلانك Blank
الجزء الرائق من الانابيب الثلاث السابقة	٢ مل	٢ مل	٢ مل
مولد اللون	٢مل	٢مل	٢مل

- رج الانابيب واتركها عند درجة حرارة الغرفة ٢٠-٢٥°م لمدة ٥ دقائق.
- صفر المطياف باستخدام عينة البلانك (B) ثم قس طيف الإمتصاص لكل من المحلول القياسي St وعينة المصل او البلاما(S) .

ملاحظة هامة : Notes

تبقي شدة اللون مستقرة لمدة ١٠-٦٠ دقيقة بعد الرج ، ولذلك يجب قراءة الامتصاص خلال هذه الفترة الزمنية

نتائج التجربة Experimental results

- طيف الامتصاص للمحلول القياسي (Ast) = ...
- طيف الامتصاص لمحلول العينة (As) = ...

تركيز الحديد فى العينة $Cs = \frac{As}{Ast} \times Cst$

= ميكروجرام/١٠٠ملليتر

حيث Cst هي تركيز المحلول القياسي وهى تساوى ٢٠٠ ميكروجرام/١٠٠مل دم

العلاقة التناسبية بين طيف الامتصاص وتركيز الحديد Linearity

تبقي العلاقة بين طيف الامتصاص وتركيز الحديد خطية طردية حتي تركيز ١٠٠ ميكروجرام / ١٠٠ مل دم واذا زاد تركيز الحديد في العينات عن هذا الحد ، يجب تخفيف العينات (١:١) وتعاد خطوات التقدير من جديد ، تضرب النتائج المحسوبة بمعامل التخفيف × ٢ .

الحدود الطبيعية Normal values

يصل مستوي الحديد في بلازما او مصل الاطفال حديثي الولادة الي ١٠٠ ميكروجرام/ ١٠٠ مل وتهبط بشكل فجائي خلال ساعات الي ٥٠ ميكروجرام / ١٠٠ ملليتر ، ثم تزداد تدريجيا الي الحدود الطبيعية عند البالغين بعد مرور ثلاثة أسابيع من الولادة ، وتتراوح الحدود الطبيعية عند الذكور البالغين مابين ٧٠-١٦٠ ميكروجرام / ١٠٠ ملل دم ، اما عند الاناث فهي تتراوح مابين ٦٠-١٤٠ ميكروجرام / ١٠٠ ملل دم، ويصل مستواه عند كبار السن مابين ٥٠ - ٩٠ ميكروجرام / ١٠٠ ملل دم .

الأهمية المرضية Clinical significance

لوحظ تغيرات في مستوي حديد المصل وقدرة الحديد علي الارتباط في العديد من الحالات ، ويزداد مستوي حديد المصل في الحالات التالية :

١- الحالات التي يزداد بها تكسير كريات الدم الحمراء مثل الانيميا الناتجة عن التحلل الدموي .

٢- نقص إستخدام الحديد مثل نقص تكون الدم في حالة التسمم بالرصاص ، أو نقص فيتامين ب ٦.

٣- زيادة إفراز الحديد من مخازنه ، مثل افراز الفيرتين Ferritin في مرض تليف الكبد .

٤- وجود عيوب في عملية تخزين الحديد مثل الأنيميا الخبيثة

٥- وجود معدلات امتصاص عالية للحديد مثل مرض الصبغات الدموية مرض الرئة الناجم عن استنشاق دقائق الحديد .

يقل مستوي الحديد في المصل في الحالات التالية :

١- نقص الحديد الكلي في الجسم : وهو من عيوب امتصاص الحديد الغذائي ، زيادة نقص الحديد المصاحب لمرض التهاب النفرونات الكلوية ، زيادة الطلب علي أستهلاك الحديد في الجسم (اثناء الحمل) .

٢- نقص مستويات الحديد : نقص افراز الحديد من مخازنه ، العدوي ، الدمامل البكتيرية

٣- زيادة قدرة الارتباط مع حديد المصل : زيادة افراز البروتين الذي يتحد مع الحديد أو زيادة اطلاق الفيرتين كماهو الحال في إلتهاب الخلايا الكبدية .

٤- نقص القدرة الكلية للحديد المرتبط : نقص الفيرتين ، التليف، ومرض التهاب النيفرونات الكلوية

١٣- تقدير السعة الكلية لارتباط الحديد في المصل

13 : Determinatgion of total iron binding capacity in the serum (TIBC)

العينة Sample

هي عبارة عن المصل Serum أو البلازما Plasma

الكواشف Reagents

١- الكاشف الاول Iron R1 تركيزه ٥ مجم/لتر او ٥٠٠ ميكروجرام/ ١٠٠ملل.

٢- الكاشف الثاني R2 هيدروكس كربونات الماغنسيوم تركيزه ١٧٠مجم / ١٠٠ ملل .

ظروف التجربة Essay conditions

١- الطول الموجي Wavelength..... ٥٩٥ نانومتر

٣- درجة الحرارة Temperature . . . . . ٢٠-٢٥م°

٤- القياسات Measurements ..... ضد الماء المقطر

طريقة العمل Procedure

١- ضع في أنبوبة اختبار ٠,٥ مل من المصل .

٢- أضف من المحلول رقم R1 حوالي ١ مل .

٣- أخلط جيدا وأترك الانبوبة لمدة من ٥-٣٠ دقيقة في درجة حرارة ٢٠-٢٥م° .

٤- أضف حوالي ١٨٠ مجم من هيدروكس كربونات الماغنسيوم واترك الانبوبة مره اخري في درجة حرارة ٢٠-٢٥م° لمدة من ٣٠-٦٠ دقيقة .

٥- ضع الانبوبة في جهاز الطرد المركزي لمدة ١٠ دقائق عند ٣٠٠٠ لفة/دقيقة .

طريقة الحساب Calculation

$$\text{TIBC} = \frac{\text{طيف الامتصاص للعينة}}{\text{طيف الأمتصاص للمحلول القياسى}} \times ٠,٥$$

القيمة الطبيعية Normal value

تصل القيمة الطبيعية في المصل من ٠,٢٥٩-٠,٣٨٨ مجم٪ :

(0.259-0.388mg%)

ويمكن حساب Unsaturated binding capacity (UBC)

UBC= TIBC - Serum iron concentration

Table (4) Results frequently found with liver function tests in various liver disorders

تجارب للكشف عن مرض الصفراء بالكبد

Common Laboratory Tests	Types of Jaundice						
	Prehepatic			Intraphepatic			Obstruction (Cholestasis)
	HDN	Hemolytic	Acute injury	Chronic injury	Cholestasis	Cirrhosis	Obstruction (Cholestasis)
Bilirubin-total	↑↑↑	↑	↑↑	→↑	↑↑↑	↑	↑↑↑
Bilirubin -	→	→	↑↑	→↑	↑↑↑	↑	↑↑↑
esterified	0	0	↑↑↑	↑	↑↑↑	↑	↑↑↑
Urine bilirubin	0	↑	↑	↑	→↑	→↑	↓↓
Urine Urobilinogen	0	↑↑↑	↓	↓	↓	→↑	↓↓
Albumin			→	↓	→	↓↓	→
γ-globulin			↑	↑↑	→	↑↑	
Prothrombin time			↑↑	↑	↑	→	↑
ALP			↑	↑	↑↑	→	↑↑↑
AST			↑↑↑↑	↑	↑↑	↑	↑↑
ALT			↑↑↑↑	↑	↑	→↑	↑

ALP — الفوسفاتيز الكلوى

AST — أسبرتات أمينو ترانس فيريز

ALT — آلانين أمينو تراتس فيريز

Type of Jaundice — أنواع الصفراء (الالتهاب الكبدى)

Prehepatic — بداية المرض بالكبد

Interahepatic — وجود المرض بالكبد

Extrahepatic — بعد إصابة الكبد

HDN = Hemolytic disease of the newborn

↑ ارتفاع بسيط

↑↑ ارتفاع متوسط

↑↑↑ ارتفاع عالى

→ ارتفاع محتمل

إختبارات للكشف عن وظائف القلب
Cardiac markers panel

من السهل وصف القلب من الناحية التشريحية، ومن السهل أيضًا تعداد كثير من وظائفة، ولكن ما زالت هناك بعض الوظائف غير واضحة كما يرى الكثيرون، .

القلب تشريحيا مضخة تستقبل الدم الوراد من أعضاء الجسم المختلفة لتدفعة إلى الرئتين لتنقيته عن طريق التنفس من ثانى أكسيد الكربون الناتج عن مختلف عمليات الجسم الحيوية ثم لاستخلاص الأكسجين من الهواء الذى نستنشقة لتعويض الدم ما نفذه من أكسجين لازم للعمليات الحيوية المختلفة.

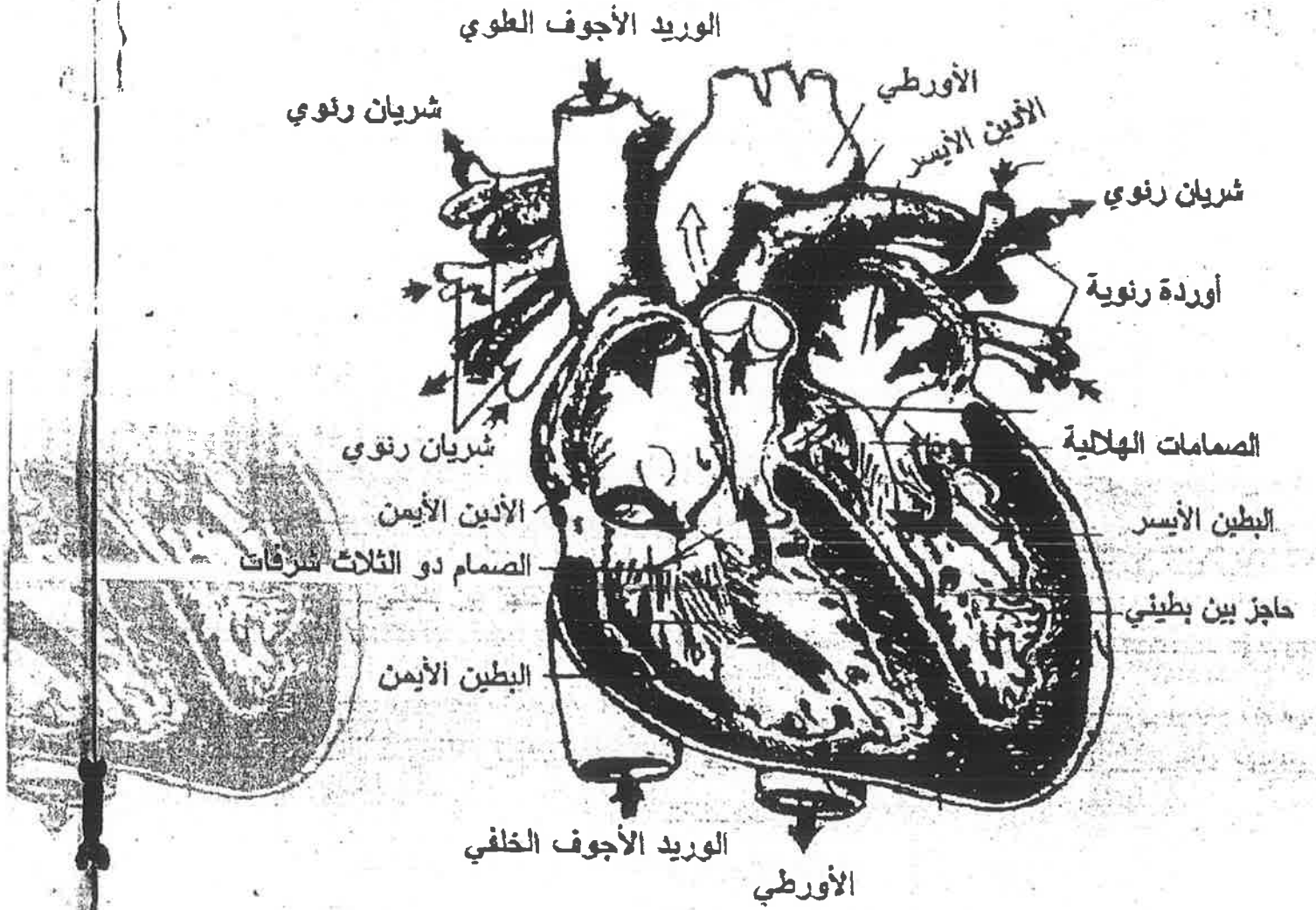
يقع القلب فى منطقة الصدر فى الجهة اليسرى وتغطى بغشاء النامور Pericardium الذى يسهل على القلب حركته وآداءه لوظائفه داخل هذا الغشاء. ويتكون القلب من أربعة حجرات هى أذينين وبطينين كما فى شكل (٥٢) وقد يصاب القلب بأمراض مختلفة قد تؤثر على كفاءته وظائفه المختلفة. فيسرع القلب عند المجهود الجسمانى مربع الأنفعالات ويبطىء عند النوم والراحة كما تتأثر نظم القلب بالأنفعال والتوتر النفسى وعسر الهضم ويمكن الكشف والتأكد من وظائف القلب بالتجارب الآتيه :-

١- تقدير نشاط انزيم كرياتين فوسفوكينيز
1. Determination of creatine phospho-kinase activity

مقدمة Introduction

١- يطلق علي انزيم كرياتين فوسفوكينيز CPK اسما آخر هو كرياتين كينيز CK وهذا الانزيم يحفز التفاعل الذي يتم فيه فسفرة الكرياتين من قبل ادينوزين ثلاثي الفوسفات ATP .

٢- قيمة PH المثلي للتفاعل الطردي والتفاعل العكسي هي ٩,٠ ، ٦,٨ علي الترتيب ، ويعتمد موضع الاتزان للتفاعل علي قيمة PH فعند قيم PH = ٧,٠ فان فوسفات الكرياتين لها القدرة علي فسفرة ادينوزين ثنائي الفوسفات ADP اكثر من قدرة ادينوزين ثلاثي الفوسفات علي فسفرة الكرياتين ، وهذا يساعد علي حدوث التفاعل العكسى .



شكل (٥٢) : يوضح تركيب القلب

٣- تحتاج جميع انزيمات الكينيزات الي كاتيون المغنسيوم للتنشيط ، والتركيز الامثل لكاتيون المغنسيوم محدود جدا ، لأن الزيادة منه تعمل كمثبط ، كذلك فمعظم كاتيونات الفلزات الثقيلة مثل Zn^{2+} .. Cu^{2+} تثبط فعالية هذه الانزيمات . وحتي انيونات الكلوريد CL لها القدرة علي تثبيط فعالية هذا الانزيم ، ويجب ان تبقي تراكيز هذه الأيونات قليلة عند فعالية هذا الإنزيم .

٤- هذا الإنزيم غير مستقر ، ويفقد نشاطه تماما نتيجة لأكسدة مجموعة (-SH) او عند تكوين الرابطة (-S-S)

الأهمية المرضية Clinical significance

تكون فعالية انزيم الكرياتين كينيز اكبر مايمكن في العضلات المخططة Streated muscles والدماغ ، انسجة القلب ، وتحتوي هذه الانسجة علي ٢٠٠٠ ، ٧٥٠ ، ٣٦٠ وحدة/جم من البروتين علي الترتيب ، اما الكلي والحجاب الحاجز فتحتوي علي نشاط انزيمي أقل من ١٢-٢٠ وحدة/جم بروتين علي الترتيب . اما الكبد والخلايا الكروية الحمراء فهي خالية تماما من نشاط هذا الانزيم .

وقد اثبتت تجارب تقدير نشاط انزيم الكرياتين كينيز انه اداة مفيدة وحساسة جداً وهي أهم من غيرها من القياسات في مرض العضلات الهيكلية ، ومفيد جداً في تشخيص وهن عضلة القلب وحوادث الاوعية المخ شوكية Cerebrovascular Accedents

اولا- التلف العضلي :

أ - يزداد نشاط انزيم الكرياتين كينيز في المصل بشكل كبير في جميع انواع التلف العضلي (تسمم العضلات وتفتتها) حيث يصل الي مستوي ٥٠ مرة اكبر من الحد الطبيعي، كذلك تصل فعالية هذا الانزيم الي حدودها القصوي عند الاطفال الرضع والاطفال من سن ٧-١٠سنوات .

ب - يقل نشاط هذا الانزيم بشكل مميز كلما تقدم الانسان في العمر كذلك كلما قلت كتلة العضلات العاملة ، وهى حوالي ٥٠-٨٠٪ من النساء بعد الولادة .

٢- تلف عضلة القلب : بعد تلف عضلة القلب ، يزداد نشاط انزيم الكرياتين كينيز خلال ٤-٦ ساعات حيث يزداد الشعور بالالام الصدرية ، ويصل الي القيمة القصوي مابين ١٨-٣٠ساعة ، ثم يعود سريعا الي حدوده الطبيعية في اليوم الثالث . وقد يصل الإرتفاع ٧-١٢مرة اكبر من الحدود الطبيعية ويكون الكشف المبكر علي نشاط هذا الإنزيم هو الأكثر حساسية لمعرفة ضعف عضلة القلب وخلال ٣٦-٦٠ ساعة من الشعور بالذبحة الصدرية تختفي الايزوانزيمات حتي ولو كان التلف حادا .

٣- أمراض الكبد : بما ان الكبد لايحتوي علي انزيم الكرياتين كينيز الا قليلا ، فان المصل لايحتوي علي اي نشاط لهذا الانزيم الذي يظهر تأثيرة علي الكبد .

٤- الامراض المخ شوكية : يزداد نشاط هذا الانزيم عند المرضي المصابون بالامراض المخ شوكية الحادة ، او فقر الدم الناجم عن طريق ضيق الشرايين التي تغذي الدماغ Cerebral Ischemia كما يزداد قبل واثناء الهيجان النفسي (مثل الاحباط او الاكتئاب) .

هناك زيادة معتدلة في نشاط هذا الانزيم في حالات مرض نقص اقراز الغدة الدرقية، ضعف الاوعية الدموية الرئوية ، تشنج العضلات عند الاطفال ، وبصفة عامة فان الرضوض والكدمات والكسور والعمليات الجراحية وحتي التمارين البدنية العنيفة تسبب ارتفاعا في نشاط هذا الانزيم قد تستمر لمدة اسبوع او اكثر .

في الاطفال حديثي الولادة ، تزداد فعالية هذا الانزيم بسرعة خلال الـ ٢٤ ساعة الأولي من الولادة وتستمر هذه الزيادة لمدة سنه ، كذلك فان قياس نشاط هذا الانزيم في السائل الامينوسي (المشيمة) له قيمة في تشخيص احتمالات موت الجنين في الرحم .

و حيث ان تقدير نشاط انزيم الكرياتين كينيز ليست منتظمة وليس لها طبيعة متخصصة وقاطعة ، فقد ظهرت زيادة في مستوي نشاط هذا الانزيم عند مرضي الاورام الدماغية ، والافراد الذين عندهم صرع ، ومرضي تلف شرايين الدماغ .

العينات Specimen

يستخدم مصل أبو بلازما الدم ، وتحتوي عينات المصل أو البلازما علي أسيتيل

سستيين N-Acetyl Cysteine كمادة منشطة لانزيم الكرياتين كينيز ، لذلك يجب عدم حفظ عينات المصل لفترات اطول من ٢٤ ساعة عند درجة حرارة الغرفة ولمدة اسبوع اذا تم حفظ العينة في الثلاجة عند ٢-٨م حيث تقل درجة نشاط هذا الانزيم بمقدار ٢٪ في كلتا الحالتين .

الكاشف الأول : منظم (Buffer)

- خلاف - اميدازول Amidazol acetate	١٠٠ ملى مول / لتر
- جلوكوز glucose	٢٠ ملى مول / لتر
- EDTA	٢ ملى مول / لتر
- خلات الماغنسيوم	١٠ ملى مول / لتر

الكاشف الثانى : انزيمات :

مساعد الانزيمات

ظروف التجربة Essay conditions

١- الطول الموجي Wavelength ..... ٣٤٠ نانومتر

٢- درجة الحرارة Temperature ..... ٢٥م ، ٣٠م ، ٣٧م

٣- القياسات Measurements..... ضد الهواء ويلاحظ زيادة طيف الامتصاص مع مرور الوقت .

طريقة العمل Manual procedure

١- ضع الكاشف العملي والعينة وأنابيب الاختبار وأنبوبة الجهاز Cuvette لمدة ١٠ دقائق في حضانة درجة حرارتها ٣٠مه ، ويجب المحافظة علي درجة الحرارة ثابتة ضمن +٥ م ه طيلة فترة التجربة .

٢- انقل بالماصة ٢,٥ مل من الكاشف العملي وضعها في انبوبة الاختبار الجافة والنظيفة

٣- انقل بالماصة الميكرولترية ١٠٠ ميكرولتر من العينة وضعها في الانبوبة ، رج للتجانس .

٤- صفر الجهاز ضد الهواء ، ثم قس طيف الامتصاص للعينة خلال دقيقة واحدة ، ثم ابدأ بتشغيل ساعة الايقاف ثم سجل قراءة طيف الامتصاص للعينة بعد مرور ١، ٢، ٣ دقائق.

طريقة الحساب Calculation

متوسط القراءه ثلاث دقائق × ٤ر٢٠٦ = ... نشاط الانزيم (U/L)

العلاقة التناسبية بين طيف الامتصاص وتركيز المرافق الانزيمي المختزل $NADPH^+H^+$

اذا زاد معدل التغير في طيف الامتصاص في بداية التجربة عن ٠٢٥ر وجب اعادة التجربة بعد تجفيف العينة (١+٩) بمحلول ملحي فسيولوجي (٩ جم كلوريد صوديوم) ثم تضرب القيمة المحسوبة بمعامل التخفيف ١٠) .

القيم الطبيعية Normal Values

فيما يلي القيم الطبيعية لنشاط انزيم الكرياتين كينيز مقدرة بالوحدات الدولية /لتر (Iu/L) عند درجات الحرارة المختلفة .

الفئة	٢٥م°	٣٠م°	٣٧م°
الرجال	٣٨	٥٥	٩٨
النساء	٣٠	٥١	٧٠

٢- تقدير ديهيدروجنيز (نازع الهيدروجين) للاكتات ديهيدوجنيز

2. Lactate dehydrogenase (LDH)

الكواشف المستخدمة Reagents

١- الكاشف الأول (R1) البيروفات منظم الفوسفات Phosphate buffer P1+ 7.5

٢- الكاشف الثاني (R2) الإنزيم المختزل NADH ٦ر ملى مول / لتر

٣- الكاشف الثالث (R3) الكاشف اللوني ١٨ر٠ ملى مول / لتر(٢ ٤ وابى نيروفينل هيدرازين) تركيزه ١ ملى مول / لتر .

٤- الكواشف الإضافية هي هيدروكسيد الصديوم NaoH تركيز 0.4N (١٦ جم/لتر).

خطوات العمل Manual procedure

١- ضع في أنبوبة إختبار ١٠٠ ميكروليتر من المصل المخفف ٦:١

٢- أضف ١ مل من الزجاجة R2 الموضوعة سابقًا في حمام مائي درجة حرارته ٣٧°م

٣- أخلط جيداً وضع الانبوبة في الحماء المائي لمدة ٣٠ دقيقة

٤- أضف ١ مل من الكاشف رقم R3

٥- أترك الأنبوبة ٢٠ دقيقة في درجة حرارة الغرفة ٢٠-٢٥°م

٦- أضف ١٠ مل من هيدروكسيد الصوديوم تركيز 0.4N

٧- تقارن القراءة السابقة بالمنحي القياسي الآتى :

Standard Curve

رقم الانبوبة	١	٢	٣	٤	٥	٦
الكاشف R1	١	٠,٨	٠,٦	٠,٤	٠,٢	١,مل
ماء مقطر	٠,١	٠,٣	٠,٥	٠,٧	٠,٩	امل
الكاشف R3	١	١	١	١	١	١مل
اخلط جيدا وانتظر في درجة حرارة الغرفة ٣٠ دقيقة						
NaoH. 0.4N	١٠	١٠	١٠	١٠	١٠	١٠مل
اخلط جيدا وانتظر في درجة حرارة الغرفة ٣٠ دقيقة						
تركيز LDH ، U/L	zero	٢٨٠	٦٤٠	١٠٤٠	١٥٣٠	٢٠٠٠

وتقاس عند الطول الموجي ٤٠٠-٥٥٠ نانومتروبصفر الجهاز بواسطة الماء المقطر.

طريقة الحساب Calculation

قارن قراءة العينة بالمنحي القياسي الذي تم عمله

الحدود الطبيعية Normal value for LDH

أصغر من ٢٠٠٠ وحدة مل (LDH<2000 u/m1)

الأهمية المرضية Clinical significance

١- تستخدم LDH للكشف عن وظائف القلب ومدي كفاءة عضلاته

٢- يرتفع معدل نشاط هذا الانزيم بعد حدوث جلطه مباشرة ثم يأخذ في الهبوط بعد مرور ٣ ساعات علي صرف هذه الجلطة .

وهناك إختبارات أخري للكشف عن وظائف القلب منها :

أ - جلوتاميك او كسالو اسيتيك ترانس أمبينز

ب - الجليسرايد الثلاثي Triglycerides

جـ - الدهون الكلية Total lipids

د - الكوليسترول الكلى Total Cholesterol

هـ- الكوليسترول عالى الكثافة HDL-c

و- الكوليسترول منخفض الكثافة LDL-c

وقد سبق شرح بعضها فى وظائف الكبد بالاضافة الى

1- CK-MB

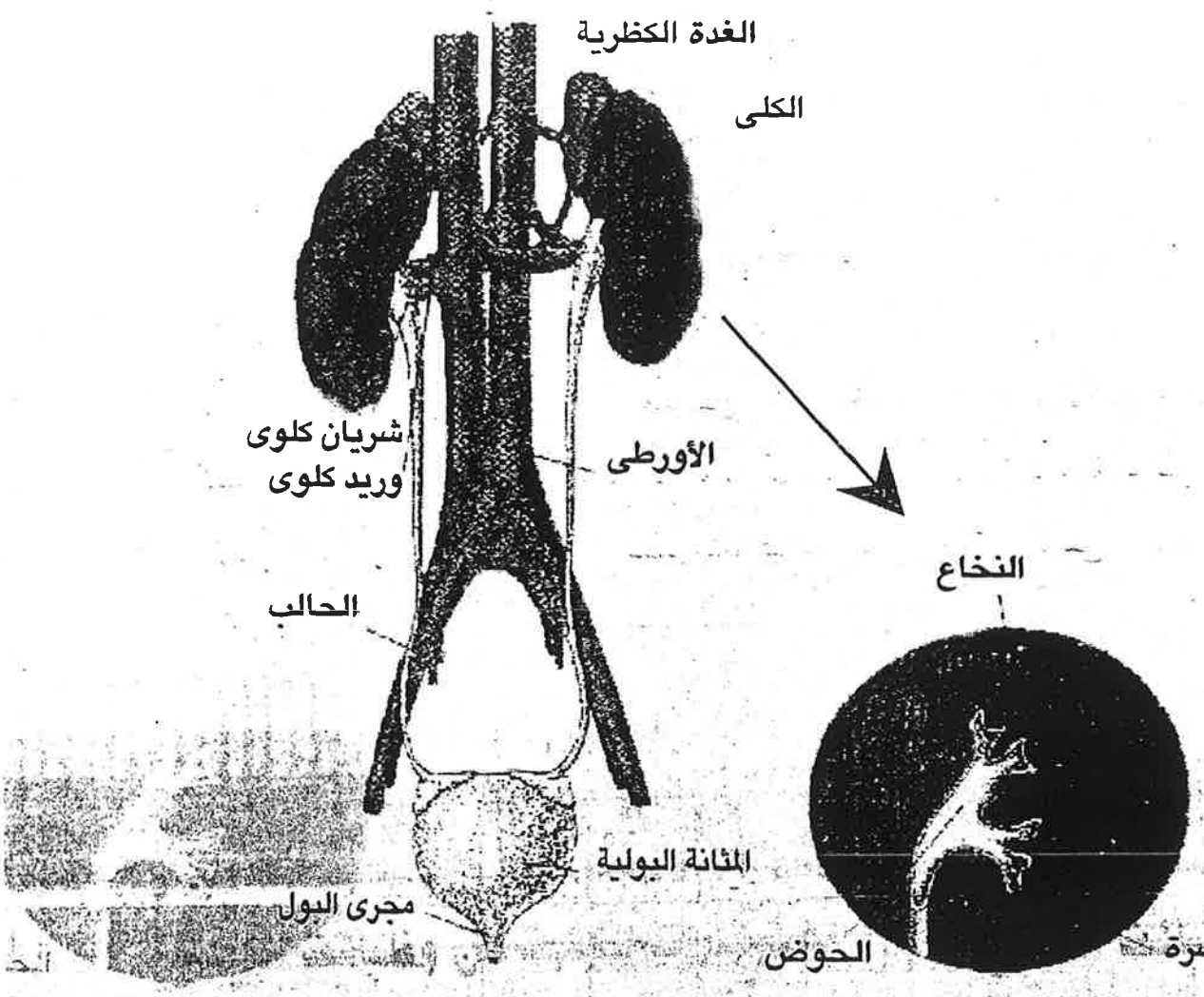
ميوجلوبين 2- Myoglobin

تروبونين 3- Traponin I , T and C

إختبارات للكشف عن وظائف الكلى

Kidney markers panel

للإنسان كليتان تقعان خلف الغشاء البريتونى فى الجهة الخلفية من البطن على جانبى العمود الفقرى، بين القصيتين الثانية عشر الصدرية والثالثة القطنية، والكلية اليمنى منخفضة قليلا من اليسرى، تزن كل كلية من ١٢٥ - ١٧٠ جرامًا فى الرجل البالغ ومن ١١٥ - ١٥٥ جرامًا فى المرأة البالغة، وهى تشبه حبة الفاصوليا وطولها ١٢سم وعرضها ٧ سم وسمكها ٢٫٥سم. انظر شكل (٥٣) وتحتوى كل كليه على ١٫٢٥٠٠٠٠ وحده فرديه وهى خاصة بترشيح الدم وتكوين البول تسمى النفرونات وتقوم الكلى بعدد وظائف هى:



شكل (٥٣) : يوضح تركيب الكلى

١ - ترشيح الدم وتنقيته من المواد الاخراجية مثل البولينا وحمض البوليك، الكرياتين بالاضافة إلى بعض الأملاح المعدنية والماء .

٢ - تنظيم الضغط الاسموزى للدم .

٣ - تنظيم ميزان الحموضة والقلوية لسوائل الجسم .

٤ - تصنع هرمون إريثر وبويتين وهو الهرمون المنشط لتكاثر كريات الدم الحمراء فى نخاع العظم .

٥ - تنظيم حجم سوائل الجسم بواسطة الدور الذى يقوم به الهرمون المضاد لإدوار الميول ADH وهرمونات قشرة الكظر.

تبدأ وظائف الكلى فى التدهور بعد سن الأربعين مع بداية التقلص فى حجمها وقد تفقد وظائفها نتيجة إرتفاع ضغط الدم، تصلب الشرايين ، التهاب الكلى الميكروبيي المزمن، السكر ، داء النقرس، الحصوات، عيب خلقى بحوض الكلى ، تليف الحالبين، الأورام تضخم البروستاتا وضيق عنق المثانة .

ويبدأ الفشل الكلوى بقصور فى وظائف الكلى التى تتدهور تدريجيا حتى يصاب المريض بالمرحلة الأخيرة للفشل الكلوى ويمكن الاستدلال على وظائف الكلى باجراء التجارب الآتية:

١- تقدير بولينا الدم 1. Determination blood urea

الكواشف Reacents

انظر ورقة التعليمات الخاصة والمرفقة داخل الصندوق (Kit) الذي تستخدمه ، فهذه الكواشف تختلف في طريقة تحضيرها وفي المواد الحافظة المضافة اليها بين شركة واخري ، كما ان هذه الكواشف قد تكون جاهزة للاستعمال في بعض الصناديق ، وقد تكون منفصلة وتحتاج اعادة تكوين Reconstitution اي تحضير الكاشف العملي Working solution في صناديق اخري . اتبع تعليمات الشركة المنتجة في كيفية استخدام هذه الكواشف الخاصة بهذه التجربة .

الكاشف (الأول) : انزيم اليورياز R1 (urease) > 30000 u/L (R1)

الكاشف (الثانى) : المحلول المنظم R2 (Phosphate buffer (PH8.3)

الكاشف (الثالث) R3

Na.hypochloride 45 mmol/L هيبوكلوريد الصوديوم ٤٥ مللى مول / لتر .

Na.hydroxide 1 mmol/L هيبوكلوريد الصوديوم ١ مللى مول / لتر .

تحضير المحاليل Working Solution(WR)

١- تذاب محتويات العبوة رقم ٢ في ١٢٥ مل ماء مقطر ويسمي الكاشف العملي رقم ١٠٠٠ ومدة الثبات ٤ أيام عند ٢٠-٢٥م أو < ٣ أسابيع عند ٢-٨م

٢- تخفف محتويات العبوة رقم ٣ حتي ١٠٠ مل بماء مقطر (١جم من المحلول + ٤ حجوم من الماء) ومدة الثبات ٣ أشهر عند ٢-٨م

استقرار الكواشف وتعليمات الحفظ

Reagent's stability & storage instruct

الكواشف مستقرة ، مالم تفتح العبوات ، حتي التاريخ المثبت علي ملصق العلبة (Kit) اذا تم حفظ الصندوق في الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨م فان الكاشف الانزيمي مستقر لمدة ٦ اسابيع ولمدة ١٠ ايام إذا تم حفظه عند درجة حرارة ٢٠-٢٥م.

مظاهر فساد الكواشف :

ظهور عكارة واضحة للعين ، ظهور نمو عفني واضح ، زوال اللون ، تكوين بلورات للعين لاتذوب عند الرج .

العينات Specimen

١- يفضل إستخدام المصل في هذه التجربة .

٢- يمكن إستخدام البلازما شريطة أن يكون مانعه التجلط لايحتوي علي كاتيونات الامونيوم أو انيونات الفلوريد ، ولذلك يمكن إستخدام أملاح الصوديوم أو البوتاسيوم أو لهيبارين أو EDTA أو الأكسالات .

٣- يمكن تقدير اليوريا في البول وبنفس هذه الطريقة وذلك بعد تخفيفه كالاتي : ضع ١٠

ملّ من البول الطازج في دورق عياري سعته ١٠٠مل وأكمل بالماء المقطر الي العلامة ، رج للتجانس ، معامل التخفيف هنا (١ : ١٠٠) .

٤- يبقي المصل أو البلازما مستقر لمدة ٣ ايام إذا تم حفظ العينات في الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨مْ ولمدة ٢٤ ساعة عند درجة حرارة الغرفة ٢٠-٢٥مْ ولمدة ٢-٣ شهور اذا تم تجميدها .

ظروف التجربة Essay conditions

١- الطول الموجي Wavelength..... ٦٣٠ نانومتر

٢- درجة الحرارة Temperature .....٢٥مْ، ٣٠مْ ، ٣٧مْ

٣- القياسات Measurements ..... ضد الكاشف الخالي(RB) ويكتفي بعمل عينة بلانك وعينه قياسي واحدة .

طريقة العمل Manual procedure

المحلول Solution	العينة Sample(s)	العينة Standard(St)	البلاتيك Blank
الكاشف العملي WR1	١ مل	١ مل	١ مل
ماء مقطر	–	–	١٠ميكروليتر 10ul (0.01ml)
اليوريا القياسي	–	١٠ميكروليتر 10ul (0.01ml)	–
المصل	10ul(0.01ml)	–	–
اخلط جيدا لمدة ثلاث دقائق ثم اضف			
الكاشف العملى WR2	١ مل	١ مل	١ مل

- صفر الجهاز بواسطة البلانك (B)
- ثم قس طيف الامتصاص لكل من العينة(S) والقياسى (St)

نتائج التجربة Experimental results

قراءة طيف الامتصاص للمحلول القياسي (Ast) = ...

قراءة طيف الامتصاص لمحلول العينة (As) = ...

خطوات الحساب Calculation

١- بالتعويض في العلاقة التالية نجد تركيز اليوريا في المصل أو البلازما

تركيز اليوريا فى المصل (Cs) = $\frac{As}{Ast} \times Cst$

= ..... ملجم/١٠٠مل دم

حيث Cst = ٥٠ ملجم/١٠٠مل وهى تركيز المحلول القياسى

٢- بالتعويض في العلاقة التالية نجد أن :

تركيز اليوريا فى البول (Cs) = $\frac{AS}{Ast} \times 100$

= ملجم/١٠٠مل

خيث(Cst) = تركيز المحلول القياسي في العلبة (kit) المستخدم ، وهذا التركيز يختلف من صندوق لاخر ، لذلك إستخدم فقط التركيز الذي يوجد داخل الـ(Kit)

العلاقة التناسبية بين طيف الإمتصاص وتركيز اليوريا Linearity

تبقي العلاقة بين تركيز اليوريا وطيف الامتصاص خطية طردية حتي تركيز يوريا ٢٠٠ ملجم/١٠٠مل في عينات المصل او البلازما ، وحتي ٤٠٠جم/لتر في عينات البول ، فاذا زاد تركيز اليوريا في المصل او البلازما عن هذا الحد يجب تخفيف العينة بالماء المقطر(١+١) وتعاد التجربة من جديد ، ويتم حساب اليوريا في هذه الحالة بضرب التركيز المحسوب بمعامل التخفيف (×٢) .

الحدود الطبيعية Normal values

١- يتراوح تركيز اليوريا في المصل أو البلازما مابين ١٥-٥٠ملجم/١٠٠مل وقد تكون بعض القيم أعلي من ذلك عند بعض الأفراد الذين يتناولون أغذية عالية بالبروتين

٢- ينصح بأن يكون تركيز اليوريا مابين ١٥-٣٠ ملجم/١٠٠مل للأفراد الأصحاء وذلك أثناء العمل أو المشي ، ويعتمد ذلك علي العادات الغذائية ونوع الأطعمة الشائعة في المكان الواحد .

٣- يتراوح تركيز اليوريا في البول مابين ٢٥-٤٠ جم/٢٤ ساعة

الاهمية المرضية Clinical significance

تصنع اليوريا في الكبد من الأمونيا الناتجة عن نزع مجموعة الأمين من الأحماض الأمينية وذلك لطرد النيتروجين الزائد عن حاجة الجسم .

تعتبر اليوريا الناتج النهائي لعمليات أيض البروتينات وتطرد عن طريق الكلي ويختلف تركيز اليوريا في الدم فهي تتناسب طرديا مع كمية البروتينات الغذائية المتناولة وعكسيا مع معدل طردها في البول .

يرتفع تركيز اليوريا في الدم تحت الظروف التالية :

١- عدم كفاءة الكلي Renal insuficiency : الفشل الكلوي الحاد إنسداد المسالك البولية الناجم عن الحصوات ، تضخم البروستاتا ، أو الأورام السرطانية .

٢- زيادة أيض النيتروجين : الذي يصاحب نقصان سريان الدم إلي الكلي ، او فشل وظائف الكلي ، الجفاف ، النزيف المعوي الذي يصاحبه زيادة في إمتصاص البروتينات من دم النزيف بالاضافه الي قلة انسياب الدم الكلي .

٣- نقص انسياب الدم الكلوي الناجم عن الصدمات ، عدم كفاءة الغدة الكظرية ، احتقان عضلة القلب الناجم عن الصدمات ، عدم كفاءة الغدة الكظرية .

٤- المضادات الحيوية التي تقلل من وظائف الكلي وهى المركبات التي تقلل من ادرار البول وهي كذلك تقلل من حجم الدم وقلة انسيابه الي الكلي

يقل تركيز اليوريا في الدم تحت الظروف التالية :

١- الفشل الكبدي .

٢- التهاب النفرونات الكلوية غير المصاحب بقلة كفاءة الكلي .

٣- ضعف الصحة العام والوهن مع سوء التغذية وسوء الإمتصاص أو نقص البروتينات في الوجبة الغذائية

٢- تقدير الكرياتين في المصل

2. Determination of creatine and creatinine in serum

فكرة الدرس العملي Method principle

تعتبر فوسفات الكرياتين مخزونا عالي الطاقة يتم تحوله بسرعة الي جزيئات (ATP) في العضلات وغيرها من الانسجة ، يصنع الكرياتين في الكبد والبنكرياس من

ثلاثة احماض امينية (الارجنين ، الجليسين و الميثيونين) ، بعد الإصطناع ينتشر الكرياتين في الدورة الدموية ، وبالتالي يذهب لجميع انواع الخلايا وخاصه العضلات حيث يتم فسفرته، يصل تركيز الكرياتين وفوسفات الكرياتين الي نحو ٤٠٠ ملجم/١٠٠جم من العضلات الطازجة ، وكلا هذين المركبين يتم تحويلهما الي الكرياتنين بمعدل ٢٪ يوميا ، يعتبر الكرياتنين ناتج نفاياتي مشتق من الكرياتين ويطرد عن طريق البول .

تقدير الكرياتنين Determination of creatinine

يقدر هذا المركب في البلازما او المصل باستخدام تفاعل العالم جاف (Jaffe reaction) حيث ينتج مزيج متنازح له لون احمر من بكريت الكرياتين Creatinine picrate وذلك بعد اضافه محلول قلوي من البكرات (Picrate) .

الكواشف Reagents

محلول حمض البكريك ٠,٠٤مول/لتر :

أذب ٤,٦٥جم من حمض البكريك النقي Analar في ٢٥٠مل ماء مقطر درجة حرارته ٨٠م° ، برد المحلول لدرجة حرارة الغرفة باستخدام ماء الصنبور ، أضف ٣-٥ مل من دليل الفينولفتالين ، وابدأ باضافه محلول ١٠,٠ مولار من هيدروكسيد الصوديوم حتي يظهر لون أحمر أو أرجواني لمدة ٣٠ ثانية ، خفف الماء المقطر الي ان يصبح حجم المحلول ٥٠٠ مل بالضبط .

محلول هيدروكسيد الصوديم ٠,٧٥ مولار :

أذب ١٥,٠جم من هيدروكسيد الصوديوم في ماء بارد ، ثم خفف المحلول الي ان يصبح الحجم ٥٠٠ مل (امول من هيدوكسيد الصوديوم يكافئ ٤٠ جم/لتر)

محلول الكرياتنين القياسي التخزيني (١ ملجم/مل) :

أذب ١٠,٠ جم من الكرياتنين النقي في ١٠٠ مل من حمض الهيدروكلوريك الذي تركيزه ١٠,٠ مولار ، إحتفظ بهذا المحلول في الثلاجة عند ٢-٨م°.

محلول الكرياتينين القياسي العملي (ملجم/١٠٠مل) :

انقل بالماصة ٢,٠مل من محلول الكرياتنين القياسي وضعها في دورق عياري سعه ١٠٠مل ، اضف ٠,٥٠مل من الكلوروفورم كمادة حافظة ، ثم اكمل الي العلامة ١٠٠ بالماء المقطر .

محلول حمض الكبريتيك (٠٣٣, مولا) :

ضع في دورق حجمي ذي سعه ١٠٠مل حوالي ٥٠, مل ماء مقطر ، انقل بالماصة ٢, مل من حمض الكبريتيك المركز (٩٨٪ كثافة ١,٨٢ جم/مل) وضعها في الدورق ، رج ثم اكمل الي العلامة بالماء المقطر ، رج التجانس .

محلول تنجستات الصوديوم (٥جم/١٠٠مل) :

زن ٥, جم من تنجستات الصوديوم النقية Analar وضعها في دورق سعة ١٠٠مل اذب بالماء المقطر مع الرج ، ثم اكمل بالماء المقطر الي العلامة .

العينات Specimen

يمكن تقدير الكرياتنين والكرياتين في جميع السوائل الحيوية ، ومنها البلازما والمصل والسائل الامنواتي Amniotic fluid والبول وتفضل البلازما والمصل عن الدم الكلي ، لان كميات لابأس بها من الكرومزجينات غير الكرياتينية توجد في كريات الدم الحمراء .

يبقي الكرياتين والكرياتنين مستقران في العينات لعدة ايام اذا تم حفظها في الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨مْ وذلك بعد تعديل درجة الحموضة (pH=7.0) للمحافظة علي وضع الاتزان .

ظروف التجربة Essay conditions

١- الطول الموجي Wavelength ..... ٥٠٠ نانومتر(أو ٥٠٥ نانومتر)

٢- درجة الحرارة Temperature ..... ٢٠-٢٥مْ

٣- القياسات Measurements ..... ضد عينة الكاشف الخالي RB

ويكتفي بعمل عينة بلانك B

نزع البروتين Sample Deproteinization

١- خذ انبوبة اختبار وضع بها ١,٠مل من المصل او البلازما او البول المخفف (١مل بول + ٤٩ مل ماء ملحي) .

٢- انقل بالماصة ١,٠مل من محلول تنجستات الصوديوم وضعه في الانبوبة.

٣- انقل بالماصة ١,٠مل من محلول حمض البكريك وضعها في الانبوبة.

٤- انقل بالماصة ١,٠مل ماء مقطر وضعه في الانبوبة.

المحلول	العينة S	القياس ST	البلانك B
المصل	١ مللى	-	-
تنجستات الصوديوم ١٠٪	١ مللى	١ مللى	١ مللى
حمض الكبريتيك	١ مللى	١ مللى	١ مللى
ماء مقطر	١ مللى	١ مللى	١ مللى

ثم تدور فى جهاز الطرد المركزى لمدة ١٠ دقائق عند ٥٠٠٠ لفه / دقيقة .
رج المزيج ، ورشح ، ويلاحظ هنا أن عينة المصل أو البلازما قد تم تخفيفها بمقدار أربع مرات . أي أن معامل التخفيف هو (٤×) ، أما عينات البول التي لم يتم تخفيفها ٥٠ مرة قد اعيد تخفيفها ايضا ٤ مرات وبالتالي يكون معامل التخفيف لعينات البول هو (٥٠×).

طريقة العمل Manual procedure

١- خذ ثلاثة انابيب اختبار وعلم بلانك (B) المحلول القياسي(St) والعينة(S) ، عينة المصل او البلازما او البول المخفف .

٢- قم بالاضافات التالية لكل انبوبة علي الترتيب .

المحلول Solution	البلانك (B) مل	القياسي (St) مل	العينة (S) مل
ماء مقطر	٤,٠	٣ر٥	٣,٥
كرياتينين قياسي عملي	-	٠,٥	-
رشيح البلازما او المصل او البول المخفف	-	-	٠,٥
حمض اليكريك ٠,٠٤ مولار	١,٠	١,٠	١,٠
هيدوكسيد الصوديوم	١,٠	١,٠	١,٠

٣- رج الانابيب واتركها لمدة ١٥ دقيقة عند درجة الغرزفة ٢٠-٢٥م

٤- صفر الجهاز باستخدام عينة البلانك B ثم قس طيف الامتصاص لكل من المحلول القياسي ST وعينة المصل او البول المخفف S .

تقدير الكرياتنين الكلى :

١- خذ ثلاثة انابيب اختبار وعلمها B بلانك ، St قياسي ، S عينة المصل او البلازما او البول المخفف .

٢- قم بالاضافات التالية لكل انبوبة من الانابيب الثلاثة علي الترتيب .

٣- رج الانابيب الثلاثة ، ثم ضعها في حمام درجة حرارته ١٠٠م ولمدة ساعة

٤- برد الانابيب علي ماء الصنبور حتي تصل الي درجة حرارة الغرفة

٥- ضع في كل انبوبة من الانابيب الثلاثة ، ١,٠ مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ، رج الانابيب، ثم اتركها لمدة ١٥ دقيقة عند درجة حرارة ٢٠-٢٥م

المحلول	العينة S	القياس St	البلانك B
المصل أو البلازما أو البول	٠,٥ مل	-	-
محلول الكرياتينين القياسى	-	٠,٥ مل	
حمض الكبرتيك	١,٠ مل	١,٠ مل	١,٠ مل
ماء مقطر	٣,٥	٣,٥	٣,٥ مل

٦- صفر المطياف باستخدام عينة البلانك B ، ثم قس طيف الإمتصاص لكل من المحلول القياسي ST والعينة S

نتائج التجربة Experimental results

تقدير الكرياتنين المباشر Determination of Direct Creatinine

طيف الامتصاص للمحلول القياسي (Ast) = ...

طيف الامتصاص لمحلول عينة المصل او البلازما او البول المخفف ...(As)=

تقدير الكرياتنين الكلي Determination of total creatinine

طيف الامتصاص للمحلول القياسي (Ast) = ...

طيف الامتصاص لمحلول العينة (As) = ...

خطوات الحساب Calculations

١- بالتعويض في العلاقة التالية نجد تركيز الكرياتنين المباشر

١ - تركيز الكرياتينين المباشر Cd = $\frac{As}{Ast}$ × ٢ × ٤

= , , , , , , ملجم / ١٠٠ مل

٢ - بالتعويض في العلاقة التالية نجد تركيز الكرياتنين الكلي :

تركيز الكرياتينين المباشر Ct = $\frac{As}{Ast}$ × ٢ × ٤

= , , , , ملجم / ١٠٠ مل

٣ - بالتعويض في العلاقة التالية نجد تركيز الكرياتنين المكافئ للكرياتين :

تركيز الكرياتنين المكافئ للكرياتين= Cd - Ct =

= , , , , ملجم / ١٠٠ مل

٤ - تركيز الكرياتين = تركيز الكرياتنين المكافئ للكرياتين × ١,١٦

= , , , , , , , × ١,١٦

= , , , , , , ملجم / ١٠٠ مل

٥ - لحساب تركيز الكرياتين في البول ، تضرب العلاقة ١، ٢ بمعامل تخفيف عينة البول (٥٠) ، وتكمل الحسابات في العلاقات ٣، ٤ كما للمصل او البلازما .

الحدود الطبيعية Normal values

يوضح الجدول التالي القيم الطبيعية لكل من الكرياتين والكريانين في عينات المصل أو البلازما والبول عن الرجال والنساء .

نوع العينة	الرجال	النساء
١- المصل او البلازما :		
- الكرياتينين	٠,٩ - ١,٥ ملجم٪	٠,٨ - ١,٢ ملجم
- الكرياتينين	٦ - ١٢ ملجم٪	٠,٥ - ١ ملجم٪
٢- البول :		
- الكرياتينين	١ - ٢ ملجم/يوم	٠,٨ - ١,٨ ملجم/يوم
- الكرياتينين	حتى ٤٠ ملجم/يوم	حتي ٨ ملجم/يوم

تقيم تصفيه الكلى Creatinine clearance

= تركيز كرياتينين البول (مجم ٪) × كمية بول ٢٤ ساعة / تركيز كرياتينين المصل (مجم ٪) × ١٤٤٠ = ... مل / دقيقة

حيث = ١٤٤٠ = ٢٤ ساعة × ٦٠ دقيقة .

الحدود الطبيعية Normal Valvues

الذكور Men	الاناث Women
٨٠ - ١٥٠ مل/ دقيقة	٩٠ - ١٦٠ مل/دقيقة
١,٥٠ - ٢,٣٠ مل/ثانية	١,٥٠ - ٢,٦٥ مل/ثانية

تحذيرات Precautions

١- بعض المعامل تستخدم المعامل ١,٢٥ بدلا من المعامل ١,١٦ ، ذلك لان التفاعل المكتوب تحت العينات والخاص بتحويل الكرياتين الي الكرياتينين غير تام .

٢- اللون الناتج في هذه الطريقة مستقر نسبيا ، الا ان اللون الذي ينشأ عن المواد غير الكرياتينية يزيد من شدته مع الزمن ، لذلك يجب ان تتم قراءة طيف الامتصاص لكل من المحلول القياسي والعينة ضمن فترة زمنية مقدارها ٢٠ دقيقة .

٣- تؤثر كل من درجة الحموضة PH ودرجة الحرارة علي شدة اللون ، ولكن طالما تجري عينة المحلول القياسي متزامنة مع العينة المراد تقدير الكرياتنين فيها ، فان هذه المؤثرات ستكون قليلة التأثير علي النتائج المقاسة .

٤- بعض الطرق يعتمد قياس معدل ظهور اللون بشكل يمكن قياسه وبالتالي يمكن التغلب علي تداخل المواد غير الكرياتينية في المصل لانها تكون اللون بمعدل ابطأ من الكرياتينين مما يسمح بالتقليل من تداخلها ، ولكن هذه الطريق تستخدم كميات بحدود ١٠٠ ميكرولتر وتتم خلال ٣ دقائق .

الأهمية المرضية Clinical Significance

بطرد الكرياتيين من البلازما بالترشيح من الكبيبات الكلوية ولايعاد امتصاص اي جزء منه ذو قيمة من قبل الانابيب الكلوية ، وعندما يزداد تركيزه في البلازما عن الحد الطبيعي ، تستطيع الكلي طرد الكرياتينين من خلال الانابيب الكلوية ، وبالتالي لايزداد الكرياتينين في المصل او البلازما ، الا اذا حصل فشل في وظائف الكلي، وفي حالة وجود انسياب دموي طبيعي في الكلي فان زيادة قيم الكرياتيين عن ٢-٤ملجم/١٠٠مل يدل علي تلف كلوي حاد .

لاحظ ان تقدير اليوريا والكرياتيين هو الذي له اهمية مرضية ، ففي حالة الامراض الكلوية، فان ارتفاع مستويات اليوريا في المصل هي الاكثر بروزا من الكرياتيين ، اما في حالات عدم ترشيح اليوريا نتيجة لاسباب قبل كلوية (كالنزيف الحاد في الامعاء) فان مستويات اليوريا تتضاعف علي نيتروجين غير بروتيني NPN نتيجة لانسداد المسالك البولية ، وسوف يسبب ارتفاعا متوافقا في نسب كل من اليوريا والكرياتينين .

تمتاز تقديرات الكرياتيين عن تقديرات اليوريا بصفة واحدة وهي: انها لاتتأثر بتناول الأطعمة عالية البروتين كماهو الحال في مستويات اليوريا ، كذلك ليس لتقدير الكرياتينين في البول أيه قيمة او دلالة مرضية يستدل بها علي فشل وظائف الكلي مالم تكن جزءا من تجربة خلوص الكرياتينين Creatinine clearance test ولان طرد الكرياتيين عند فرد معين كمية ثابتة ، لذلك بقدر مستوي الكرياتيين في بول ٢٤ ساعة .

يشكل كرياتين المصل جزءا صغيرا من النيتروجين غير البروتيني ، ولايحدث به اي تغير ذو قيمة قد يصاحب امراض الكلي ، يؤدي التلف الشديد للعضلات الي ارتفاع مستوي الكرياتين في المصل والبول (التبول الكرياتينيني = Creatininuria) .

جدول (٥): التغيرات البيوكيميائية في مرضى الفشل الكلوى

	ARF	CRF	AGN	NS
Blood Urea nitrogen	↑	↑	↑	NL
Serum creatinine	↑	↑	↑	NL
Serum Potassium	↑	↑	↑ or NL	↑ or NL
Serum Phosphate	↑	↑	↑ or NL	NL
Serum Calcium	↑	↑	NL	↑
Serum urie acid	↑	↑	NL	NL
Acidosis	P	P	Abs	Abs
Proteinuria	↑ or NL	↑	↑	↑↑↑↑
Haematuria	P	↑	↑↑	↑

ARF = فشل كلوى حاد

CRF = فشل كلوى مزمن

AGN = التهاب نفرونات الكلي الحاد

NS = علامات التهاب النفرونات

↑ = زائد

P = موجود

Abs = لا يوجد

NL = عادى

مؤشرات الفحص البولى

Table (6) : Urinary diagnostic indices

Index	Prerenal	ARF
UNa mEq / L	< 20	> 40
Ucr (mg/dL) Pcr (mg/dL)	> 40	< 20
Uosm mOsm / Kg H_2O	< 350	> 500
Renal failure index (RFI) $RFI = \frac{U_{Na}}{U_{Cr} / P_{Cr}}$	< 1	> 1
Fractional excretion of fitered sodium (Fe_{Na}) $RFI = \frac{U_{Na}}{U_{Cr} / P_{Cr}}$	< 1	> 1
Urine specifici gravity	> 1.010	= 1.010

Conversion to SI units as follows :

Sodium ——> mEq/LX 1 = mmol / L

Creatinine ——> mg/dL x 88.4 = μ mol / L

U_{Na} =صوديوم البول U_{Cr} =كـــــرياتينين البـــــول

U_{OSM} =اسموزية البول R_{FI} =مؤشر الفشل الكلوى

P_{cr} = كرياتينين البلازما P_{Na} =صـــــوديوم البـــــلازمـــــا

Fe_{Na} =الافراز الجزئى للصوديوم المرش

٣- تقدير الصوديوم بمطياف اللهب

3. Determination of sodium by flame photometry

فكرة الدرس العملى Method Principle

يمكن تقدير الكميات القليلة من الصوديوم باستخدام اللهب عند طول موجي ٥٨٩ نانومتر. يتم ترذيذ العينة في لهب غازي ، حيث تحصل الاثارة تحت ظروف متحكم بها في كل عينة. كذلك يمكن الحصول علي نتائج قابلة للاستعادة ويعتمد عليها ، يمكن فصل طيف الاتبعاث المرغوب فيه اما باستخدام مرشح او مرشحات ضوئية تمنع التداخل او باستخدام وسائل ذات ترتيب مناسب للفتحات : مثل المنشور او التضييق ، تقاس شدة الضوء بعد ذلك باستخدام خلية كهروضوئية متصلة بجلفانومتر متحرك او بمقياس جهد او أي وسيلة اخري ، وتتناسب شدة الضوء المقاس عند طول موجي ٥٨٩ نانومتر تناسبا طرديا مع تركيز الصوديوم في العينة المرذذة .

ربما يكون المنحني القياسي (التركيز علي المحور السيني ، وانحراف الجلفانومتر او الفولتميتر علي المحو الصادي) مستقيما .

الاجهزة Apparatus

مطياف اللهب Flame photometer

افضل اجهزة مطياف اللهب المستخدمة لتقدير الصوديوم تعطي ٠,١ ملجم/لتر او (١٠٠ ملجم/مل) .

الزجاجيات Glass wares

تغسل جميع الادوات الزجاجية (الماصات + الدوارق الحجمية ، اوعية الحفظ) بمحلول من حمض النيتريك المخفف (١+٥) ، يليها بماء مقطر قليل الايونات Deionized water وذلك لتقليل اخطاء التلوث أو تستخدم أدوات لأول مرة .

الكواشف Reagents

محلول كلوريد الصوديوم القياسي التخزيني (١٠٠٠ ملجم/لتر):

اذب ٢,٥٤٢ جم من كلوريد الصوديوم النقي Analar في دورق حجمي سعة ١ لتر) ، خفف بالماء المقطر قليل الايونات الي العلامة ، رج للتجانس. تركيز كاتيون

الصوديوم Na^{++}في هذا المحلول = ١ ملجم/مل .

تحضير المحاليل القياسية لرسم المنحنى :

خذ خمسة دوارق عيارية سعة ١٠٠مل ، وضع فيها ٢،٤،٦،٨،١٠ مل من محلول كلوريد الصوديوم القياسي التخزيني . اكمل بالماء المقطر قليل الايونات الي العلامة ، رج للتجانس ، تركيز كاتيون الصوديوم في هذه المحاليل هو ٠,٢٠ ، ٠,٤٠ ، ٠,٦٠ ، ٠,٨٠ ، ١,٠٠ ملجم/مل علي الترتيب .

العينات Specimen

المصل او البلازما او البول . ولكن المصل هو الاكثر استخداما ، ولكن يمكن استخدام البلازما اذا كان مانع للتجلط هو هيبارين الليثيوم او الامونيوم ، اما عينات البول فيجب استخدام بول ٢٤ ساعة .

تخفيف العينات Sample dilution

خذ الماصة ١,٠٠ مل من عينة المصل (او البلازما) وضعها في دورق حجمي سعته ١٠٠مل اكمل بالماء المقطر الخالي من الايونات الي العلامة . رج للتجانس ، تخفيف العينة في هذه الحالة (١٠٠) مرة .

يتراوح تركيز الصوديوم في مصل او بلازما بني البشر الطبيعيين مابين ١٣٤-١٤٨ مللى مول/لتر وهذه القيم تعادل :

١٣٤مللى مول/لتر = [٣٠٨٤ملجم/لتر = ٣,٠٨٤ ملجم/مل]

١٤٨مللى مول/لتر = [٣٤٠٤ملجم/لتر = ٣,٤٠ ملجم/مل]

وعند تخفيف العينة (١٠٠) مرة يصبح تركيز الصوديوم فيها مابين ٠,٣١ -٠,٣٤ ملجم/مل وهي ضمن المحاليل القياسية المستخدمة في معايرة الجهاز ورسم المنحني القياسي.

طريقة العمل Manual procedure

١- ضع مطياف اللهب في منطقة بعيدة عن ضوء الشمس المباشر ، وبعيدا عن الضوء وتيارات الهواء والغبار ، ودخان السجائر ، كما تجب العناية بالجهاز بعيدا عن الملوثات الناجمة عن الفلين ، اوراق الترشيح ، العرق، الصابون او المنظفات .

٢- اتبع تعليمات الشركة الصانعة للجهاز من حيث استخدام الطول الموجي ، المرشحات الضوئية المناسبة ، الخلية الكهروضوئية ، تعديل اتساع فتحة التضييق ، الحساسية ، نسب الهواء والوقود ، خطوات التسخين ، ارتفاع اللهب ، طريقة استعمال الجهاز .

٣- ابدأ بتزذيذ المحلول القياسي الاكبر تركيزا (١٠,٠ ملجم/مل) واجعل انحراف

الجلفانومتر عند قراءة ١٠٠ ، ثم رذذ الماء المقطر حتي ينضبط الجهاز .

٤- ابدأ بترذيذ المحاليل المحضرة ابتداءاً من الاقل حتي الاكبر ، ثم في عينة المصل (او البلازما) المخففة ، وسجل في كل مرة انحراف الجلفانومتر .

٥- ارسم المنحني القياسي ، ومنه اوجد تركيز كاتيون الصوديوم في عينة المصل او البلازما او البول .

تركيز الصوديوم (ملجم / مل)	قراءه الجلفانوميتر
ماء مقطر	صفر
٠,٠٢٠	.....
٠,٠٤٠	.....
٠,٠٦٠	.....
٠,٠٨٠	.....
٠,١٠٠	.....
عينة المصل أو البلازما أو البول	

خطوات الحساب Calculations

من رسم المنحني القياسي أوجد تركيز الصوديوم

تركيز الصوديوم (Na^+) في العينة المخففة = ... ملجم

تركيز كاتيون الصوديوم في العينة الاصلية = ١٠٠٠ تركيز الصوديوم في العينة المخففة

الأهمية المرضية Clinical significance

يعتبر كاتيون الصوديوم هو الكاتيون الرئيسي في السوائل مابين الخلايا ، وهو يلعب دوراً حيوياً هامًا في المحافظة علي التوزيع الطبيعي للماء والضغط الاسموزي في مختلف السوائل ، يحتوي الغذاء الطبيعي اليومي مابين ٨-١٥جم من كلوريد الصوديوم ، ويتم امتصاص هذه الكمية من القناة الهضمية ، يطرد الزائد من كلوريد الصوديوم من قبل الكلي التي تعتبر المنظم النهائي لمحتوي الجسم من الصوديوم .

الصوديوم مادة ذالت عتبة كلوية (المستوي في المصل الذي اذا قل عنه يمكن ان يوجد في رشح الكبيبات ويعاد امتصاصه تماما من قبل الانابيب الكلوية) تتراوح مابين ٢٥٣-٣٠٠ملجم/١٠٠مل دم يرشح الصوديوم من قبل الكبيبات ، ولكن ٨٠-٩٥٪ منه يعاد امتصاصه من قبل الانابيب الكلوية القريبة ، وكميات اضافية من قبل الانابيب الكلوية البعيدة ، يتم التحكم في اعادة الإمتصاص بعض هرمونات قشرة الكظر مثل هرمون الالدوستيرون الذي يحفز الانابيب الكلوية علي اعادة امتصاص الصوديوم بشكل مباشر ولكنه يقلل اعادة امتصاص كاتيون البوتاسيوم أو عملية تبادل Na^+ ، H^+ في الانابيب الكلوية هي عملية ميكانيكية هامة في جعل البول حمضيا .

يصاحب نقص الصوديوم في المصل Hyponatremia بعض الحالات التالية :

١- غزارة البول الشديد كماهو الحال في مرضي السكر وإختلال وظيفة الغدة الكظرية.

٢- مرض اديسون الناجم عن نقص هرمون الالدوستيرون.

٣- الاسهال حيث تفقد كميات كبيرة من الصوديوم مع البراز نتيجة لعدم امتصاص الصوديوم الغذائي والصوديوم الموجود في العصارة البنكرياسية .

٤- امراض الانابيب الكلوية نتيجة قصور في اعادة امتصاص صوديوم المصل او نتيجة عملية تبادل Na^+ ، H^+

يصاحب زيادة الصوديوم Hypernatremia الحالات التالية:

١- مرض كوشنج (زيادة إفراز السيتروئيدات نتيجة لوجود ورم أو تكاثر الأنسجة بشكل غير سوى Hyperplasia لخلايا غده الكظر حيث يزداد هرمون افراز الكورتيكويد المعدني Mineralcorticoid وبالتالي زيادة امتصاص الصوديوم من قبل الانابيب الكلوية.

٢- الجفاف الحاد والناجم عن نقص الماء مما يؤدي الي زيادة صوديوم المصل.

٣- بعض اصابات الرأس .

٤- غيبوبة السكر الناجم عن الانسولين (الهيبوجلاسيما) والذي يعتقد بان طرد الجلوكوز الزائد من المصل يؤدي الي اعادة نقل الصوديوم الخلوي الي سائل مابين الخلايا وذلك للمحافظة علي الضغط الأسموزي متساو بين الغرفتين .

٥- زيادة تناول املاح الصوديوم كدواء علاجي .

القيم الطبيعية Normal values

تتراوح قيم الصوديوم الطبيعية في المصل مابين ١٣٠ إلى ١٤٠ملجم/١٠٠مل دم ولايوجد اتفاق علي القيمة الطبيعية للصوديوم في البول ، ويرجع عدم الاتفاق جزئيا الي التأثير الكبير لصوديوم الاطعمة الغذائية اليومية ، وتتراوح قيم الصوديوم في البول مابين ٢٠-٢٦٥٠ملجم/يوم ، يصل تركيز الصوديوم في سوائل النخاع الشوكي الي ماهو موجود في المصل ، وتحتوي كريات الدم الحمراء على ١٠٪ من الصوديوم الموجود في المصل .

طريقة أخرى لقياس الصوديوم فى الدم

تحضير المحاليل

الكاشف رقم (١) :Filtrate Reagent

هو محلول مكون من ١٩ مل / مول من خلات اليورانيل Urinay acetate و٢١٠ ملليمول. حفظ الماغنيسيوم فى ميثانول حمضى . (ثابت حتى التاريخ المدون على العلبة فى درجة حرارة الغرفة).

(٢) المحلول الحمضى Acid Reagent (٣ر مول من محلول حمض الخليك) يحفظ عند ٥م° Stock

(٣) محول إظهار اللون (التخزينى) Color Reagent : كريستالات فيروسيانيد البوتاسيوم .(يحفظ عند ٢٥°م).

(٤) محلول إظهار اللون (العملى) Working Color Reagent : تملأ زجاجة المحلول التخزينى حتى العلامة بالماء المقطر .. ويضاف الماء قليلاً قليلاً مع الرج حتى تذوب البلورات ثم يكمل إلى ١٠٠ مللى.

(٥) المرجع القياسى للصوديوم Sodium Reference Standard: (١٥٠ مل مكافئ/لتر) وهو محلول كلوريد صوديوم مخزون. (ويحفظ فى درجة حرارة الغرفة).

* فى أنابيب سنتر ڤيوج مقعرة نضع الآتى :

	العنية S	المحلول القياسى St	البلانك B
الكاشف ١	٢ر٥ مل	٢ر٥ مل	٢ر٥ مل
العينة	٥٠ ميكرومتر 50 µL	–	–
المحلول القياسي	–	٥٠ ميكرومير 50 µL	–
ماء مقطر	–	–	٥٠ ميكرو ميتر ماء 50 µL

توضع فى السنتر فيوج عند ٣٠٠٠ لفة / دقيقة لمدة ١٠ دقائق وتخرج بحرص ولا ترج

* ترقم أنابيب اختبار مطابقة للمجموعة السابقة ويوضع بها الأتى :

الكاشف	العينة S	المحلول القياسى ST	البلانك B
الكاشف رقم ٢	٢ر٥ مل	٢ر٥ مل	٢ر٥ مل
المحلول الرائق	١٠٠ ميكروليتر 100 µL	١٠٠ ميكروليتر 100 µL	١٠٠ ميكروليتر 100µL
	غطى الأنبوبة وقلب برج الأنبوبة عكسيًا		
الكاشف رقم ٤	٣ مل	٣ مل	٣ مل
	وتقرأ النتائج خلال ساعتين		

الحساب : Calculation

١- يضبط جهاز قياس الطيف عند ٥٥٠ نانومتر (والمدى المقبول يكون ٥٤٠-٥٥٠ نانومتر).

يصفر الجهاز بواسطة الـ Blank

قراءة طيف امتصاص العينة As = ----------

قراءة طيف إمتصاص المحلول القياسى Ast = ----------

تركيز الصوديوم = $\frac{As}{Ast}$ x Cst

وهو يساوى ١٥٠ ملى مكافىء / لتر.

٤- تقدير بوتاسيوم المصل بمطياف اللهب

4- Determination of serum Potassium by flame photometry

فكرة الدرس العملي Method prencible

تقدير الكميات الصغيرة من كاتيون البوتاسيوم بطريقة مطياف اللهب وذلك عند طول موجي ٧٦٨ نانومتر ، وذلك طبقا لما جاء تحت تقدير الصوديوم . ان اقل تركيز يمكن تقديره هو ١٠٠٠, ملجم/مل .

الأجهزة Apparatus

انظر تقدير الصوديوم بمطياف اللهب

الكواشف Reagents

١- محلول كلوريد البوتاسيوم القياسي التخزيني (١٠٠٠ملجم/لتر)

اذب ١,٩٠٧جم من كلوريد البوتاسيوم النقي Analar الذي سبق تجفيفه عند ١١٠م في دورق حجمي ذي سعه ١ لتر ، خفف بالماء المقطر قليل الايونات رج للتجانس .

تركيز كاتيون البوتاسيوم k^+ في هذا المحلول = ١ملجم/مل ماء

تحضير المحاليل القياسية لرسم المنحنى :

خذ خمسة دوارق عيارية ذات سعه ١٠٠مل ، وانقل اليها ١، ٢، ٣، ٤، ٥ مل من محلول كلوريد البوتاسيوم القياسي التخزيني . أكمل بالماء المقطر قليل الايونات الي العلامة ./ رج للتجانس . تركيز كاتيون البوتاسيوم في هذه المحاليل هو ١٠. ٢٠. ٣٠ ، ٤٠ ، ٥٠ ملجم/مل علي الترتيب .

العينات Specimen

١- المصل او البلازما ، ويجب ان تكون العينات خالية من أى تحلل دموي ، لان تحرر البوتاسيوم من الكريات الحمراء يزيد من تركيز بوتاسيوم المصل وبالتالي يعطي نتائج عالية خاطئة .

٢- دلت التجارب علي ان مستويات بوتاسيوم البلازما اقل بمقدار ٤ر - ٧ر٢ملجم/ ١٠٠مل عما هو عليه في المصل ، ويعتقد ان المستويات الاعلي في المصل ناجم عن تحرر البوتاسيوم من الصفيحات الدموية المحتجزة اثناء عملية التجلط .

٣- يجب الابتعاد عن فتح قبضة اليد واغلاقها قبل وخز الوريد ، لان هذا الجهد العضلي قد يؤدي الي زيادة بوتاسيوم البلازما بحدود ١٠-٢٠٪ .

٤- يجب ترك العينة للتجلط ، ولكن بعد جمع العينات يجب عدم تأخير فصل البلازما او المصل عن كريات الدم الحمراء .

تخفيف العينات Sample dilution

انقل بالماصة ٥ر٢مل من عينة المصل او البلازما الي دورق حجمي سعه ٢٥مل ، اكمل بالماء المقطر الخالي من الايونات . رج للتجانس ، تخفف العينة في هذه الحالة (١٠x) مرات .

تركيز البوتاسيوم (ملجم / مل)	قراءة الجلفانومتر
١٠ر-	----------
٢٠ر-	----------
٣٠ر-	----------
٤٠ر-	----------
٥٠ر-	----------
عينة الدم أو المصل أو البول	----------

خطوات الحساب Calculations

من المنحني القياسي الذي تم رسمه أوجد تركيز البوتاسيوم في العينة

تركيز كاتيون البوتاسيوم K^+ في العينة المخففة = ... ملجم/مل

تركيز كاتيون البوتاسيوم في العينة الاصلية = ١٠٠ × تركيز البوتاسيوم في العينة .

= ------ ملجم / مل

القيم الطبيعية Normal values

تتراوح قيم البوتاسيوم في المصل عند الافراد الاصحاء مابين ٣٫٥ - ٥٫٣ مللى مول/مل أو (١٣٫٧-٢٠٫٧ملجم/١٠٠مل) مع انخفاض مستوياته في البلازما ، تكون مستويات البوتاسيوم عند الاطفال حديثي الولادة اعلي منها عند البالغين فهي تتراوح مابين ١٦-٢٤ ملجم/١٠٠مل . تتراوح مستويات البوتاسيوم في البول مابين ٨٠-٢٧٠ ملجم/يوم لدي الافراد الذين يتناولون معدلات غذائية معتدلة وبمعدل ١٥٦ملجم/يوم .

ملاحظات وتحذيرات Precautions and notes

يجب تخفيف العينات للأسباب التالية :

١- لتعديل تركيز الكاتيونات المراد تقديرها بحيث تكون شدة الطيف المنبعث متناسبة طرفيا مع التركيز ضمن حدود الحساسية المثلي وصحة الجهاز .

٢- لتخفيف تركيز البروتينات في العينة وبالتالي تقليل لزوجة المصل او البلازما مما يساعد علي الانسياب المنتظم اثناء الترذيذ ، وعدم انسداد المرذذ Atomizer

٣- يجب استخدام الماء المقطر قليل الايونات Deiocnized عند تحضير الكواشف او تخفيف العينات ، الماء قليل الايونات لاتزيد فيه تركيز الايونات عن ١٠ جزء بالمليون ppm.

٤- يجب حفظ المحاليل القياسية بعدم تحضيرها في أوعية من البولى ثيلين القابلة للضغط Squeeze bottles وذلك لالغاء تسرب الايونات من الاوعية الزجاجية الي هذه المحاليل القياسية ، كما يجب ابقاء الاوعية مليئة لان هذا النوع يتنفس Breathes اي لايمنع هروب بخار الماء منها مما يتسبب عنه زيادة بطيئة في تركيز المحاليل القياسية ، كذلك يجب رج المحلول بشدة وذلك قبل الاستخدام من اجل إذابة الاملاح المترسبة علي الجدران .

٥- تعتمد صحة النتائج علي اتباع تعليمات الشركة المنتجة للجهاز ، وخاصه التعليمات الخاصة بحجم اللهب ، معدل ادخال العينات ، وتؤدي التغيرات في هذه الارشادات الثلاثة الي تغيرات في درجة حرارة اللهب وحساسية الجهاز .

٦- يجب العناية بالموقد والمرذذ بين الفترة والاخري ، كما يجب تنظيفهما بالماء قليل الايونات عند رذ المحلول القياسي والعينة وبعد الانتهاء من الاستخدام ، وذلك لمنع او لإزالة وضع ترسيب البروتينات والاملاح المرسبة ، ويؤدى الكسل في اداء هذا العمل الي عدم الانسياب المنتظم للعينات الي اللهب وبالتالي زيادة الاخطاء .

٧- يجب ضبط الوقود والعامل المؤكسد (الهواء) الواردين الي الموقد ، وخاصه في الاجهزة البسيطة ، فاي تغيير في معدل الانسياب او احد هذين المكونين يؤدي الي درجات حرارة مختلفة للهب وحجمه ويؤثر علي حساسية الجهاز والحصول علي نتائج غير صحيحة .

٨- في بداية استخدام الجهاز ، يجب ترذيذ محلول قياسي يحتوي علي كاتيون الليثيوم لمدة ٢-٥ دقائق وذلك لتهيئة الموقد وغرفة المرذذ للاتزان الحراري الضروري للحصول علي نتائج معتمدة ، ان ترذيذ الماء يؤدي الي هبوط درجة حرارة الموقد والمرذذ .

٩- حيث ان اسطوانات غاز (البيوتان ومعه البروبان) اثقل من الهواء ، لذا فانه قد يتجمع في الجيوب السفلية في المعمل اذا كان هناك تسرب من الاسطوانة لذلك يجب العناية بتهوية المعمل حتي لايحدث انفجار كذلك تحتوي الاسطوانة علي كميات من الهيدروكربونات الاخري الثقيلة وتزداد نسب هذه المركبات كما اقتربت الاسطوانة من الانتهاء وبالتالي تؤدي الي التغير في صفات اللهب ، لذلك يجب تغيير الاسطوانة قبل انتهائها تماما .

الأهمية المرضية Clinical significance

يعتبر كاتيون البوتاسيوم هو الكاتيون الرئيسي للسوائل الخلوية ، حيث يصل تركيزه في خلايا الانسجة الي ٥٨٦ملجم/١٠٠مل ، وفي كريات الدم الحمراء الي ٤١٠ ملجم/١٠٠مل ، وهذا التركيز اكبر بمقدار ٢٣ مرة من تركيز البوتاسيوم في سوائل بين الخلايا، ويعتقد بأن هذه الفروق في التركيز بين السائل الخلوي وغير الخلوي هو للمحافظة علي عملية النقل النشط التي تستخدم الطاقة التأكسدية في الخلايا بالاضافه الي ان نفاذيه اغشية الخلايا للبوتاسيوم منخفضة جدا ، لم يلاحظ حتي الان اي ازاحة سريعة للبوتاسيوم سواء الي داخل أو خارج الخلية ، ولكن هناك بعض التحركات لكاتيونات البوتاسيوم من داخل الخلية الي المصل قد ينسف كل قيم التقدير الخاصة بالبوتاسيوم اذا لم يتم فصل المصل عن الخلايا بعد جمع العينات مباشرة .

يفي الغذاء الطبيعي باحتياجات الجسم من البوتاسيوم والتي تتراوح مابين ٣,١٧-٧,٨٢ جم/يوم ، بعد امتصاص البوتاسيوم من الامعاء يطرد جزء منه عن طريق ترشيح البلازما غير الكبيبات الكلوية ، ويعاد امتصاصه تماما من قبل الانابيب الكلوية القريبة حيث يدخل جزء صغير منه كريات الدم الحمراء وخلايا الأنسجة ، بينما يطرد الزائد

منة عبر الكلي ، ويعتقد بأن هذه العملية تحمي الجسم من ارتفاع البوتاسيوم في المصل والتي قد تسبب تغيرات خطيرة في هياج العضلات وخاصة عضلات التنفس ووظيفة عضلة القلب ، وتبدو هذه الاعراض عند تركيز بوتاسيوم ٢٩ ملجم/١٠٠مل . اما مستويات ٣٩ ملجم/١٠٠مل فهي قاتلة .

يصاحب نقص بوتاسيوم المصل Hypokalemia بعض الحالات التالية :

١- نقص البوتاسيوم الناجم عن فقدانه مع البراز(الاسهال لفترات طويلة او التقيؤ لفترات زمنية طويلة) .

٢- زيادة هرمون الالدوستيرون الذي يقلل من اعادة امتصاص البوتاسيوم . وقد ثبت عمليا ان المرضي ذوي تركيز بوتاسيوم اقل من ١١,٧ملجم/١٠٠مل ويتناولون طعامهم بانتظام يكون لديهم فرط في هرمون الالدوستيرون .

٣- زيادة القلوية Alkalosis هناك هجرة لكاتيون البوتاسيوم الي داخل الخلية يعادله هجرة كاتيونات الهيدروجين H^+ الي سائل مابين الخلايا ، وتؤدي زيادة القلوية الي نقص بوتاسيوم المصل .

يصاحب زيادة بوتاسيوم المصل Hyperkalemia الحالات التالية :

١- قلة البول ، انحباس البول ، انسداد المسالك البولية ، الفشل الكلوي الناجم عن الصدمات والذي يؤدي الي قلة ازالة البوتاسيوم من المصل .

٢- ارتفاع حموضة الانابيب الكلوية يعطل تبادل N^+ و H^+ ولذلك يساعد علي الاحتفاظ ببوتاسيوم المصل .

٣- في حالة الفشل الكلوي فان احد الاغراض الهامة لعملية الغسيل الكلوي هو ازالة تراكمات البوتاسيوم من البلازما .

طريقة أخرى لتقدير البوتاسيوم فى الدم
بواسطة جهاز قياس الألوان Spectrophotomater

الكواشف:

رقم (١) : ثلاثى كلور حمض الخليك (٣ر مول).

رقم (٢) : صودوم رباعى فينيل البورات (١ر مول).

رقم (٣) : هيدروكسيد الصوديوم (١٥ر مول).

رقم (٤) : المحلول القياسى للبوتاسيوم تركيز (٥ ملى مول / لتر).

العينة (Sample): يستخدم المصل أو البلازما أو البول .

تحضير المحلول العملى:

أخلط حجمين متساويين من كاشف رقم (٢) وكاشف رقم (٣) وتترك ١٠ دقائق قبل الاستخدام . ومدة الثبات ٣٠ يوم فى درجة حرارة الغرفة (١٥ - ٢٥°) و ٦٠ يوم عند درجة ٢ - ٨°م.

ترقم أنابيب الطرد المركزى تبعًا للـ blank والمحلول القياسى وأرقام العينات .

الكاشف reagent	العينة Sample	المحلول القياسى ST	البلانك B
العينة	١٠٠ ميكروليتر	–	–
الكاشف رقم (١)	١ مللتر	–	
ترج جيداً ثم توضع فى جهاز الطرد المركزى عند ١٥٠٠ لمدة ٥ دقائق ثم فى أنابيب مرقمة جديدة ينقل الآتى			
الكاشف العملى	٢ مللتر	٢ مللتر	٢ مللتر
السائل الرائق Supernaterent (من أنبوبة الطرد المركزى)	٢٠٠ ميكروليتر	٢٠٠ ميكروليتر	

ترج جيداً . ثم تقرأ عند ٥٧٨ نانومتر .

طريقة الحساب

الطول الموجى ٥٧٨ - ٥٨٠

يصفر الجهاز بواسطة عين الـ Blank

قراءة طيف امتصاص العنية As =.....

قراءة طيف المحلول القياسى Ast =.....

∴ تركيز البوتاسيوم بالدم = $\frac{As}{Ast}$ x Cst

حيث Cst = ٥ مللى مكافىء / لتر .

٥- تقدير حمض اليوريك (البوليك) في مصل الدم

5. Enzymatic Determination of uric acid in blood serum

العينات Specimen

يستخدم المصل او بلازما الدم او البول

١- بعد جمع العينات تترك حتي حدث التجلط ، ثم توضع في جهاز الطرد المركزي مباشرة عندها ويدار الجهاز عند ٥٠٠٠ لفة / دقيقة لمدة ٥-١٠دقائق ، ثم يفصل المصل .

٢- حمض اليوريك في المصل مستقر لمدة ٤٨-٧٢ساعة عند درجة حرارة الغرفة (٢٠-٢٥مـ) ولمدة ٣-٧ ايام عند حفظه في الثلاجة عند درجة حرارة ٤-٦مْ ، ولمدة ٦-١٢شهرا عند درجة حرارة -٢٠مْ.

٣- اذا تعذر تقدير حمض اليوريك في العينة ، وجب تجميدها منعا للنمو البكتيري ولمنع تأثير انزيم اليوريكيز الذي تفرزه البكتريا .

٤- يتلف حمض اليوريك في المصل اذا ترك ملامسا لكريات الدم الحمراء او اذا حدث تلوث بكتيرى للمصل .

٥- اذا احتوت عينة البول علي عكارة ، وجب تسخين العينة الي درجة حرارة ٦٠مْ لمدة ١٠ دقائق وذلك لاذابة رواسب اليورات ، ثم تخفف العينة بنسبة (١-٩).

ظـروف التجـربـة Essay conditions

الطول الموجي Wavelength .... ٥٢٠ نانومتر (٥١٠-٥٣٠)

درجة الحرارة Temperatures ..... ٢٠-٢٥مْ ، او ٣٧مْ

القيـاسات Measurements .... ضد الكاشف الخالي RB يكتفي بعـينة بلانك وعـينة قياسية واحدة

الكـواشـف Reagents

١- المحلول المنظم Buffer solution

آ- منظم الفوسفات ٣٠ مللى مول / لتر (pH = 7)

ب- ٣ ، ٥ ثنائى كلورو - ٢ - هيدروكسى بنزين حمض السلفونيك سلفونيليك ٤ مللى مول / لتر

٢- الكاشف الإنزيمى Enzyme Reagent

آ- ٤ - فينازون ٣ر مللى مول / لتر

ب- بروكسيديز > ١٠٠٠ وحدة / لتر

جـ- يوريكينيز ≤ ٢٠٠ وحدة / لتر

٣- المحلول القياسى Standard Solution

١٠ مجم / ١٠٠ مل دم

طريقة العمل Manual procedure

١- خذ ثلاثة انابيب وعلمها بلانك(B) والمحلول القياسي(St) ، عينة المصل او البلازما او البول (S)

المحلول	العينة S	القياس St	البلانك B
الكاشف الإنزيمى	١ مللى	١ مللى	١ مللى
المحلول القياسى	-	٢٠ ميكروليتر	-
المصل	٢٠ ميكروليتر	-	-

توضع الأنابيب فى حمام مائى درجة حرارته ٢٠ - ٢٥مْ ثم غدة خمس دقائق .

٢- صفر المطياف Specrtophotometer باستخدام عينة البلانك (B) ثم سجل طيف الامتصاص لكل من المحلول القياسي (St) ومحلول عينة المصل (S) او البلازما او البول المخفف .

ملاحظات هامة :

١- تبقي شدة اللون ثابتة لمدة ١٥ دقيقة ، لذلك يجب ان تتم عملية قياس طيف الامتصاص لكل من المحلول القياسي والعينة ضمن هذه الفترة الزمنية .

٢- ينصح باستخدام درجة حرارة الغرفة عند استخدام الطرق اليدوية .

٣- يقدر حمض اليوريك في البول باتباع الطريقة التالية :

خذ ٠,٥مل من عينة البول الطازج وضعها في دورق ذي سعة ٠,٥٠مل ، واكمل بالماء المقطر الي العلامة . رج للتجانس . ثم اجر الخطوات السابقة من ١-٦) معامل التخفيف هنا (١٠) .

نتائج التجربة Experimenta results

طيف الامتصاص للمحلول القياسي (Ast) = ...

طيف الامتصاص لمحلول عينة المصل او البلازما (As) = ...

طيف الامتصاص لعينة البول المخفف (Aus) = ...

خطوات الحساب Calculations

بالتعويض في العلاقة التالية نجد تركيز حمض اليوريك في عينة البول

$$\text{تركيز حمض اليوريك في عينة البولى (Cus)} = \frac{As \times Cst}{Ast}$$

= ..... ملجم/ ١٠٠مل

حيث (Cs^{+}) تركيز المحلول القياسي في العينة (Kit) المستخدم وهي تساوي ١مجم

تركيز حمض اليوريك فى عينة البول

$$(Cus) = \frac{As \times Cst}{Ast}$$

حيث Cst هى تركيز المحلول القياسى وتساوى ١١٠

العلاقة التناسبية بين طيف الامتصاص وتركيز حمض اليوريك Linearity

تبقي العلاقة بين طيف الامتصاص وتركيز حمض اليوريك خطية طردية حتي تركيز حمض يوريك ٢٠ ملجم/١٠٠مل واذا زاد تركيز حمض اليوريك في المصل عن هذا الحد ، وجب تخفيف عينة المصل وذلك بأخذ ٠,١مل من المصل ، يضاف اليها ٠,١مل من محلول ملحى فسيولوجي (٩ ,جم من كلوريد الصوديوم٪) ، ثم يضرب التركيز المحسوب بمعامل التخفيف (× ٢) .

تخفف عينات البول قبل اجراء التجربة بنسبة ١:٩ (١ مل يود + ١ مل محلول فسيولوجى) وعند حساب تركيز حمض اليوريك في عينة البول الاصلية وذلك بضرب التركيز المحسوب بمعامل التخفيف (× ١٠) .

الحدود الطبيعية Normal values

١- تركيز حمض اليوريك في المصل او البلازما :

السن	الذكور (ملجم/١٠٠مل)	الاناث (ملجم/١٠٠مل)
يوم - ٥٠ سنة	٤-٧	٣-٦,٥٠
فوق ٥٠ سنة	٤-٨	٣-٧,٥

٢- تركيز حمض اليوريك في البول :

الغذاء العادي ← ٢٠٠-٧٠٠ ملجم/يوم

غذاء قليل البروتين ← حتي ٤٠٠ ملجم/يوم

غذاء غني البروتين ← حتي ١,٠٠جم/يوم

الأهمية المرضية Clinical Significance

يعتبر حمض اليوريك ناتج نفاياتي مشتق من البيورينات الغذائية او التي تصطنع داخل جسم الكائن الحي . وقد دلت التجارب ان الشخص البالغ يحتوي علي ١,١جم من حمض اليوريك ، توجد سدس هذه الكمية (٢٦٧,جم) في الدم . اما الكمية الباقية فهي داخل الخلايا ، يطرد نصف كمية حمض اليوريك الكلية (٥٥,جم) يوميا عن طريق البول او التكسير من قبل البكتيريا الموجودة في الامعاء .

يرشح حمض اليوريك الموجود في البلازما من قبل الكبيبات الكلوية ثم يعاد امتصاص ٩٠٪ منه من قبل الانابيب الكلوية . يعتبر هذا الحمض نهاية لأيض البيورينات عند الانسان والقرود .

يتأثر حمض اليوريك في المصل بالعوامل الخارجية والداخلية ، ويزداد مستوي حمض اليوريك في المصل في الحالات التالية :

١- مرض النقرس (Gout) : وهو مرض ناجم عن عيب جيني أيضي ، يمتاز بزيادة حمض اليوريك في المصل او البلازما وترسيب هذا الحمض في الخلايا ، وفي أحد مراحل هذا المرض يظهر فرط حمض اليوريك في الدم Hyperuricemia وأعراضه هى آلام فى المفاصل والأصابع .

٢- اللوكيميا Leukemia والبوليسيثيميا Polycythema ، والعديد من الامراض السرطانية الخبيثة مثل الانيميا الدموية Acquired hemolytic anaemia

٣- تسمم الحمل Poisonous of pregnancy

٤- عدم كفاءة الكلي ، مثل الفشل الكلوي الحاد ، ونقص الاخراج البولي

٥- تناول وجبات غذائية غنية بالبروتينات النووية مثل الكبد والكلي

٦- الكثير من الامراض مثل : مرض دون Down's disease ، مرض تخزين الجلايكوجين.

٧- تناول الادوية المضادة للوكيميا Antileukemia، ومدرات البول

ويقل مستوي حمض اليوريك في المصل في الحالات التالية :

التهاب الكبد الحاد ، الانيميا الناجمة عن نقص حمض الفوليك والجرعة العالية من السلسلات .

يدل وجود حمض اليوريك في البول علي تكسر الاحماض النووية الداخلية وعلي تناول كميات كبيرة من البيورينات الغذائية ، ويرجع زيادة حمض اليوريك في الدم الي قلة اخراج هذا الحمض مع البول .

تقدير بعض القياسات الاخري في مصل الدم

١- تقدير الجلوكوز 1. Determination of blood Glucosse

الكواشف Reagents

الكاشف الأول R1 - منظم الفوسفات Phosphate buffer (100 mmol/L)

- فينول Phenol (10 mmol/L)

الكاشف الثاني R2 - جلوكوز اكسيديز 10 mmol / L

- بيروكسيديز 600 U/L

- ٤ أمينو انتى بريدين 270 umol / L

الكاشف الثالث (R3) : المحلول القياسى ويحضر كالتالى ١ جرام من الجلوكوز النقى الجاف تذاب فى محول مشبع من حمض البنزويك ورج حتى يذوب الجلوكوز

الكاشف العملى Working Solution

عبوه R2 + عبوة R1 مدة الثبات ٣ شهور عند ٢-٨م

إستقرار الكواشف وتعليمات الحفظ

Reagent stability and storage instructions

جميع الكواشف مستقرة ، مالم تفتح العبوات ، حتي التاريخ المثبت علي ملصق الصندوق وذلك اذا تم حفظها في الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨مْ . اما اذا تم فتح العبوات فان الكاشف الانزيمي يبقي مستقرا لمدة ٥-٦ اسابيع اذا حفظ في الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨مْ ولمدة اسبوعين اذا بقي عند درجة حرارة الغرفة ١٥-٢٥مْ

العينات (مصل أو بلازما الدم) Specimen

١- عند سحب عينة الدم وتركها لكي ينجلط الدم بدون طرد مركزي وعند درجة حرارة الغرفة فان متوسط معدل النقص في تركيز جلوكوز المصل يصل الي ٧٪ لكل ساعة، ولكن في المصل الذي تم فصله عن بقية الدم ، فان تركيز الجلوكوز يبقي ثابت لمدة ٨ ساعات عند درجة حرارة الغرفة (٢٠-٢٥مْ) ولمدة ٧٢ ساعة اذا تم حفظ المصل في الثلاجة عند درجة حرارة ٢-٨مْ شريطة ان يتم الفصل بعد نصف ساعة من جمع العينة .

٢- يقل استقرار المصل اذا تعرض للتلوث البكتيرى ، ويزداد مقدار النقص اذا امتدت فترة الحفظ . كذلك فان البلازما التي تم فصلها عن الخلايا بعد طرد مركزي متوسط السرعة تحتوي علي كريات الدم البيضاء وهذه الاخيرة لها قدرة علي أيض الجلوكوز

٣- اذا اردت منع التحلل الجلوكوزي والعمل علي استقرار الجلوكوز لمدة ٢٤ ساعة ، اضف فلوريد الصوديوم لمنع التحلط لانه يرسب الكالسيوم (CaF_2) وبالتالي يحدث التحلط بعد مرور عدة ساعات . وينصح باستخدام مزيج من انيون الفلوريد وانيون الاكسالات (٢,٥ملجم فلوريد صوديوم + ٢ ملجم اكسالات الصوديوم) مع مراعاة ان التركيز العالي لانيون الفلوريد يمنع النشاط الانزيمي لكثير من الانزيمات .

٤- يكون الجلوكوز مستقرا لمدة ٥ أيام وعند درجة حرارة الغرفة (٢٠-٢٥مْ) اذا تمت عملية نزع البروتين والطرد المركزي لعينات الدم بعد الجمع مباشرة .

ظـروف التجـربة Essay conditions

١- الطول الموجي Wavelength..... ٥٠٠ نانومتر

٢- درجة الحرارة Temperature..... ٢٠ - ٢٥م ، ٣٧ °

٣- القيـاسات Measurements ..... ضد الكاشف الخالي RB ويكتـفي بعمل عينة بلانك B واحدة وعينة قياسي St لكل تجربة .

نتائج التجربة Experimental results

طيف الامتصاص للمحلول القياسي (Ast) = ...

طيف الامتصاص لمحلول عينة المصل او البلازما (As) = ...

طـريقـة العمـل Procedure

المحلول Solution	العينة Sample(s)	العينة القياسية Standard(St	البلانيك Blank (B)
الكاشف العملي Working solution	١ مللى	١ مللى	١ مللى
المصل Serum	١٠ميكروليتر 10uL(0.01ml)	–	
الجلوكوز القياسي	–	١٠ميكروليتر 10U/L 0.01ml	جلوكوز –
الماء المقطر	–	–	١٠ميكروليتر 10UL 0.01ml

صفر الجهاز بواسطة البلانك وقس طيف الامتصاص لكل من العينة(S)المحلول القياسي(St)

خطوات الحساب Calculations

بالتعويض في العلاقة التالية نجد تركيز الجلوكوز في عينة المصل هى :

$$\frac{As}{Ast} \times Cst = Cs$$ = ... ملجم/١٠٠مل دم

حيث (Cst) تركيز المحلول القياسي في العينة (Kit) المستخدم وهي تساوي ١٠٠ مجم

الحدود الطبيعية Normal values

يتراوح تركيز الجلوكوز في مصل (أو بلازما) الاشخاص الاصحاء الصائمين مابين ٧٠-١٠٠ ملجم/١٠٠مل دم وبعد الاكل بساعتين قد يصل الي ١٤٠ملجم/١٠٠مل دم. في حالة الصيام . يكون تركيز الجلوكوز في دم الشرايين والشعيرات الدموية اكبر بمقدار ٥ ملجم/١٠٠مل من دم الاوردة .

الاهمية المرضية Clinical significance

١- تعتبر الكربوهيدرات المصدر الرئيسي للغذاء والطاقة ، وتبعا للعادات الغذائية فان ٥٠-٩٠٪ من الكربوهيدرات المتناولة في الغذاء مصدرها : الحبوب ، الخضروات ، والبقولات Legumes والامثلة النموذجية هي : الارز ، القمح و الذرة ، البطاطا، البطاطس وهناك مصادر اخري هامة هي : السكروز (الذي مصدره البنجر ، القصب) اللاكتوز (مصدره الحليب ومنتجات الألبان) ، الجلوكوز (مصدره الفواكه ، العنب، عسل النحل) الفركتوز (الفواكه ، عسل النحل) تحتوي منتجات اللحوم والاغذية البحرية مثل الاسماك علي اقل من ١٪ جليكوجين ، وبالتالي فهي لاتسهم بقدر كاف من تناول الكربوهيدرات ، كذلك يحتوي الكبد الطازج علي حوالي ٦٪ من وزنه جليكوجين ، ولكن هذا المحتوي يقل بسرعة ويصل الي ١٪ مع مرور الزمن اذا حفظ الكبد عند درجة حرارة الغرفة .

٢- علي الرغم من ان الاستخدام الرئيسي للكربوهيدرات هو الحصول علي الطاقة، الا ان جزءا صغيرا منها يخزن في الجسم ، ويبلغ متوسط مخزون الفرد البالغ بمقدار ٣٧٠جم وهذه الكمية مخزونة بشكل رئيسي علي هيئة جليكوجين في الكبد والعضلات ، وحيث ان الجرام الواحد من الكربوهيدرات يعطي ٤ سعر حراري ، فان

مجموع مخزون الجسم من الكربوهيدرات لايعطي الا ١٤٨٠ سعرا وهو نصف مايتطلبه الجسم من السعرات الحرارية اليومية ، وعندما يزيد الفرد من تناول السعرات الحرارية عن الحاجة اليومية ، تتحول الزيادة من الكربوهيدرات الي دهون تخزن في الخلايا الدهنية ، وهذا العمل يزيد من قدرة التخزين للغذاء ، لان الجرام الواحد من الدهون يعطي ٩ سعرات حرارية وهي اكثر من ضعف مايعطيه الجرام الواحد من الكربوهيدرات .

٣- المرض الاكثر شيوعا والناجم عن ايض الكربوهيدرات هو مرض السكر Diabetis millitus والذي يمتاز بقلة الانسولين او قله فعاليته ، يؤدي نقص الانسولين الي قلة قدرة الجلوكوز علي اعاقة آيض البروتينات واللبيدات وبالتالي الي التغير في آيض الدهون مما يؤدي الي ارتفاع الحموضة Acidosis والغيبوبة السكرية . اما العواقب الاخري والبعيدة المدي فهي فرط الكوليستيرول في الدم ، تصلب الشرايين ، وامراض الكلي .

٤- يتيح التشخيص المبكر لمرض السكر الي التحكم به وربما تأخير او التقليل من مضاعفات هذا المرض . ان فرط انتاج الانسولين او زيادة تعاطيه كدواء يؤدي الي نقص الجلوكوز في الدم ، وفي الحالات الحادة يؤدي الى نقص تركيز الجلوكوز الهيبوجلايسيميا (Hypoglycemia) ومايليها من تشنج عضلي وفقدان الوعي او مايسمي بصدمة الانسولين Insulin shock ، ان لتقدير الجلوكوز في هذه الحالة درجة عاليه من الاهمية .

٥- لقد كان للتقدم الحضارى أثره السيء على مرضى السكر حيث أن جسم الإنسان بعملياته الكيميائية الداخلية وانفعالاته العصبية قد هُيىء فى الأصل ليعيش فى حضن

الطبيعة فى حركة دائبة سعيًا وراء الرزق ، ومستكفيًا بالقليل من الأغذية التى معظمها نباتى ، ومتمتعًا بقلة الإنفعالات . وللأسف فإن هذا الجسم لم يتكيف بعد (كيميائيًا وانفعاليًا) إلا قليلا ، وذلك بعد أن داهمته عناصر الحضارة العصرية بإيقاعها السريع والمولدة للتوتر العصبى من ناحية ، ومن ناحية أخرى تترهل أجسام القادرين ماديًا من جراء الإفراط فى تناول المأكولات والحلويات التى لا ينتهى الإغراء والتفنن فى صنعها وترويجها ، كما أن انتشار وسائل الراحة قلل من حركة عضلات الجسم النشيطة التى هى عامل هام للتخلص من فائض مخزون الدهون والنشويات . والنتيجة أن أغلب الأجسام أصبحت لا تقوى على مواجهة مؤثرات الحضارة العصرية ، واختلت كيميائيًا ، ويتولد عن هذا عدوها الأول وهو مرض السكر وتصلب الشرايين المرتبطان ببعضهما ارتباطًا وثيقًا .

٦- قد ازداد وعى هذه المجتمعات بكل هذه الأضرار الصحية وما تجلبه من العلل . ولذلك أصبح هم الإنسان فى هذه المجتمعات هو كيفية معادلة هذه العوامل الضارة اعتماداً على ٣ أسس رئيسية بقدر المستطاع :

١- مراعاة التغذية القليلة و الصحية ، وإنقاص الوزن .

٢- الرياضة البدنية .

٣- الاسترخاء الذهنى والنفسى .

العوامل المسببة لمرض السكر

١- عوامل فسيولوجية طبيعية ، مثل مرحلة البلوغ وأثناء الحمل ومع تقدم السن.

٢- السمنة ، وهذه وحدها من أهم العوامل التى تؤدى إلى إزدياد المقاومة ضد عمل الإنسولين وإبطال مفعوله ، وبالتالى تهىء لظهور أعراض مرض السكر عند ذوى الاستعداد .

٣- زيادة تعاطى أو إفراز الهرمونات المضادة لعمل الإنسولين بإفراط داخل الجسم ، وعلى رأسها هرمون الكورتيزون .

٤- الصيام المستمر .

٥- حالات الفشل الكلوى والفشل الكبدى ، التى يصاحبها تراكم مواد ضارة فى الجسم بسبب صعوبة التخلص منها ، وتؤثر فيما يبدو على حيوية مستقبلات الإنسولين الموجودة على جدار الخلايا.

٦- حموضة الدم الكيتونية ، بسبب تراكم ما يسمى بالمواد الكيتونية مثل الأسيتون ومشتقاته ، وهى تحدث فى حالات ما يعرف بغيبوبة مرض السكر - وفيها يضطر إلى إعطاء جرعات متتابعة من الإنسولين فى العلاج ، بسبب فقد تأثيره ، حتى يعود المريض إلي حالته الطبيعية .

٧- تكون أجسام مضادة لمستقبلات الإنسولين فى بعض أمراض انتكاس المناعة (المناعة الذاتية).

تنظيم معدل الجلوكوز في الدم

Regulation of blood glucose level

في حالات الصوم ، تتم المحافظة علي مستوي الجلوكوز في الدم عن طريق سحب مخزون الجليكوجين من الكبد وكميات قليلة من الكلي، فكلا الكبد والكلى يحتوي علي كميات قليلة انزيم جلوكوز ٦-فوسفاتيز المتخصص والضروري لعملية تحويل الجلوكوز ٦- فوسفات الي الجلوكوز ، وعلي الرغم من ان العضلات الهيكلية تختزن الجليكوجين الا انها تفتقر الي هذا الانزيم ، وبالتالي لاتستطيع المساهمة في المحافظة علي جلوكوز الدم ، وعند زيادة مستوي الجلوكوز في الدم عن طريق امتصاص الكربوهيدرات من الأمعاء (بعد الوجبة الغذائية) يستبدل تحلل الجلايكوجين بعملية بناء الجلايكوجين في الكبد والعضلات.

تشترك بعض الهرمونات في عملية تنظيم تركيز الجلوكوز في الدم وهذه الهرمونات هي:

١- الانسولين Insulin ينشط عملية بناء الجليكوجين من الكربوهيدرات والدهون ، ويؤدي بالتالي الي نقص جلوكوزر الدم ، كما انه يزيد من نفاذية اغشية الخلايا ويساعد علي دخول الجلوكوز داخلها ، وفي حالة نقص الانسولين ، يزيد مستوي الجلوكوز في دم الفرد الصائم عن الحد الطبيعي مسببا مايسمى الهيبرجلايسيميا - زيادة جلوكوز الدم Hyperglycemia ويظهر جسم الكائن الحي عدم القدرة علي ايض الكربوهيدرات ، كذلك فان الاورام السرطانية في خلايا لانجرهانس تزيد من افراز الانسولين مما يؤدي الي قلته وبالتالي انخفاض مستوي الجلوكوز في الدم .

٢- هرمون النمو Growth hormone - وهرمون الادرينوكورتيكوتروفيك ACTH وكلاهما له فعل مضاد للانسولين وبالتالي يزيدان من تركيز الجلوكوز في الدم ..

٣- هيدروكورتيزون و١١- اوكسي ستيرويد تفرز من غدة الكظر وتحفز تحلل الجليكوجين وهذه الاحدي عشرة اوكسي ستيرويدات مضادة لفعل الانسولين وعادة ماتسمي هرمونات مولدة مرض السكر . ففي حالة مرض كوشينج هناك زيادة في افراز الاستيرويدات نتيجة لوجود ورم او تكاثر الانسجة بشكل غير سوي Hyperplasia لخلايا غدة الكظر ، وبالتالي يزداد جلوكوز الدم ، وعلي عكس ذلك ، في مرض اديسون يكون هناك نقص في افراز هرمونات غدة الكظر ، وبالتالي يكون نقص في جلوكوز الدم .

٤- الابينفرين Epinephrine يفرز من نخاع غدة الكظر ، يحفز علي تحلل الجليكوجين مما يؤدي الي زيادة مستوي الجلوكوز في الدم ، كذلك يؤدي الاجهاد العاطفي والبدني الي زيادة انتاج الابينفرين وزيادة في مستوي جلوكوز الدم من اجل الحصول علي الطاقة ، وعند اصابة خلايا النخاع بالسرطان فانها تزيد من افراز

الابينفرين والنورابينفرين وبالتالي تتكون حالة الهيبرجلاسيميا Hypoglycemia وتستمر طالما بقيت مخازن الجلايكوجين الكبدية متاحة .

٥- الجلوكاجون Glucagon يفرز من خلايا الفا (α) البنكرياسية ، يزيد من تركيز الجلوكوز في الدم عن طريق تحلل الجليكوجين الكبدي ، والجلوكاجون ليس له تأثير علي جلايكوجين العضلات . وقد دلت التجارب علي قلة ارتفاع مستويات حمض اللاكتيك والبيروفيك في العضلات بعد تناول جرعة من الجلوكاجون .

٦- الثيروكسين Thyroxine يفرز من الغدة الدرقية ويزيد من تحلل الجليكوجين ، يظهر عند الافراد المصابون بفرط افراز الغدة الدرقية سكر معتدل مع اختفاء جليكوجين الكبد تماما ، كما ان الثيروكسين يزيد من معدل امتصاص الجلوكوز من الامعاء .

تجربة التحمل الجلوكوزى Glucose Tolerance Test (GTT)

تعريف التحمل الجلوكوزى

يعرف التحامل الجلوكوزى بانه قدرة الكائن الحي علي التخلص او طرد الجلوكوز المتناول سواء من الغذاء أو الفم او الوريد .

عندما يعطي شخص ما جلوكوز سواء عن طريق الفم او الوريد ، يرتفع تركيز الجلوكوز في الدم عن مستوي الصيام وهو ٧٠-١٠٠ملجم/١٠٠مل الي ١٤٠ملجم/١٠٠مل خلال ساعتين وفي الانسان الطبيعي السوي، (يقل معدل دخول الجلوكوز الي الدم بينما يزداد معدل التخلص او الطرد بواسطة العديد من الانسجة بحيث يؤدي ذلك الي بداية هبوط تركيز الجلوكوز في الدم) وترجع زيادة معدل ازالة الجلوكوز من الدم الي الاسباب التالية:

١- معدل دخول الجلوكوز الي الخلايا يتناسب طرديا مع تركيز الجلوكوز في السوائل الخارجية للانسجة الخلوية .

٢- زيادة افراز الانسولين من البنكرياس ، فيزداد تكوين الجلايكوجين في العضلات كما يزداد الانحلال الجلوكوزي Glycolysis وبالتالي يزداد تركيز حمض البيروفيك او اللاكتيك في الدم .

٣- زيادة معامل التنفس يصل الي الوحدة مشيرا بذلك الي كبر الاكسدة الهوائية للكربوهيدرات بصفة عامة و في نهاية الساعة الثانية ، يعود تركيز الجلوكوز في الدم الي مستوياته الطبيعية ، وربما يستمر في الهبوط الي دون مستوي الصيام الاولي وذلك نتيجة لاستمرار تأثير الانسولين . كذلك يبدأ نقص التأثير المحفز لافراز الانسولين من جزر لانجرهانس حتي يعود الي أقل قيمة . واثناء تجربة التحمل الجلوكوزي عن طريق الفم وفي الانسان الصائم ، فان تركيز الجلوكوز في الدم لايزيد عن حد العتبة الكلور High threshold(١٨٠ ملجم/ ١٠٠مل دم) ولا يظهر الجلوكوز في البول .

٤- وفي حالة مرضي السكر الناجم عن نقص الانسولين ، فان تركيز الجلوكوز في الدم للشخص الصائم يكون مرتفعا ، وبعد الوجبة الكربوهيدراتية ، يزداد مستوي الجلوكوز ارتفاعا ، وغالبا مايفوق حد العتبة الكلوية ، وبالتالي يظهر الجلوكوز في البول ، وحيث ان هناك نقص في الاستجابة لافراز الانسولين ، فان هبوط الجلوكوز في الدم سيكون بطيئا .

٥- فى حالة الأشخاص الذين لديهم فرط في افراز الانسولين Hyperinsulinism فإن مستوي الكربوهيدرات في دمهم غالبا مايكون اقل من الطبيعي ، ولكن بعد فترة قصيرة من تناول الوجبة الجلوكوزية ووصول الجلوكوز الي الحد الاقصي يبدأ بعدها هبوط تركيز الجلوكوز في الدم، ونظرا لفرط الاستجابة للانسولين مما يجعله يصل الي حدود ٤٠ ملجم/ ١٠٠مل ، فتظهر الاعراض التي تحدث للجهاز العصبي المركزي (اعراض الهيبوجلاسيميا) وهى الاغماء ، الوهن ، الدوخة ، التشنج تتبعها الغيبوبة فاذا لم تعالج فانها قد تؤدي الي الموت .

التشخيص المعملى لمرضى السكر Laboratory diagnosis

يتم التشخيص لمرض السكر اذا تم الكشف عن وجود الجلوكوز و الاجساء الكيتونية في البول ، وفي حالات السكر الخفيف مثل البول السكري الخفيف او السكر المؤقت ، تظهر الاعراض المرضية للسكر فجأة وتختفي بسرعة. وفي مثل هذه الحالات لابد من اللجوء إلى التشخيص المعملي وذلك بتقدير كمية الجلوكوز في الدم وإجراء تجربة التحمل الجلوكوزي الفموية .

الكشف عن البول السكري Glucosuria

١- تعتبر تجربة بندكت هي الطريقة التقليدية للكشف عن المواد المختزلة(الجلوكوز) في البول كما سيأتى شرحه فى باب تحليل البول .

٢- يمكن استخدام شرائط الكلينزتكس Clinistix Strips وهي شرائط مشبعة بمزيج انزيمي حيث يتحول الي اللون الارجواني عندما تغمر الورقة في البول المحتوي علي الجلوكوز ، فلايوجد في البول مركبات تعطي مع مثل هذه الاوراق نتائج ايجابية سوي الجلوكوز ، ولذلك فهي طريقة سريعة ومتخصصة ووصفية للتعرف علي وجود الجلوكوز .

وعند استخدام طريقة بندكت او حبوب الكينزتست ، يجب علينا بعد اجراء تجارب اخرى بعد للتعرف علي المواد المختزلة غير الجلوكوز ، فالمواد المختزلة الاخري التي توجد في البول هي اللاكتوز حيث يوجد في بول النساء الحوامل وحاجته وفي الاشهر الثلاثة الأخيرة من الحمل او اثناء فترة الرضاعة والبنتوزات والجالاكتوز والفركتوز.

أصفر (سلبى)، اخضر مصفر (+)، أخضر (++)، أخضر غامق (+++)، أزرق (++++)

وهناك أنواع أحدث من الشرائط مثل "دياستيكس Diastix" . "جلوكوتست Glucostest" حيث يقارن اللون بعد غمسها للهواء لمدة نصف دقيقة.

وبعض الشرائط كذلك فحص البول للمواد المختزلة مثل حامض الأسكوربيك "فيتامين ج"

والأسبرين والساليسيلات بمقارنة اللون كذلك وهذه المواد قد تكون السبب فى نتائج مغلوطة لفحص البول للسكر.

وكذلك بنفس الطريقة يمكن فحص البول للآسيتون أو الأحماض الكيتونية بواسطة شرائط مثل "كيتوستيكس Ketositx" نغمس فى البول وتعرض ربع دقيقة للهواء ثم يقارن اللون بدرجات اللون البنفسجى على العلبة فى حالة وجود الآسيتون وهناك أشرطة خاصة للكشف علي السكر والآسيتون معاً مثل "الجلوكوتر" بعد تعريضها للهواء لمدة دقيقة، "كيتودياستكس Ketositx" بعد ربع دقيقة للآسيتون ونصف دقيقة للسكر وهذه الشرائط خاصة تفيد مرضى السكر غير المستقر والمعرضون للإصابة بحموضة الدم والغيبوبة السكرية .. وأثنا الحمل وبعد التعرض لحادث أو لعملية جراحية.

ورغم أهميتن تحليل البول فى تشخيص مرض البول السكرى ومتابعته إلا أنه ليس كافياً ولا مؤكداً لتشخيص المرض .. فهناك أسباب عديدة قد تؤدى الى ظهور السكر فى البول فى غير مرضى السكر.. مثل :

- **البول السكرى البرىء Innocent diabetes**

ونقصد بهذا التعبير ظهور اسكر فى البول رغم عدم ارتفاع نسبته فى الدم أحياناً انخفاضها .. وهذا المريض ليس لديه مشاكل مع الأنسولين فسكر الدم طبيعى ولكن مصفاو الكلى هى السبب ولهذا فهو يسمى "ديابيت الكلى أو السكر الكلوى Renal Diabetes" .. وهو كثيراً ما يضلل البعض فى التشخيص ولكن مجرد إجراء تحليل للدم يكشف ستره .. وهو ليست له أضرار صحية كبيرة إلا أنه قد يتحول بعد مدة من الزمن الى بول سكرى حقيقى .. ولذلك نوصى بمتابعة تحليل الدم .. وعادة ما يحدث هذا المرض بين من يوجد فى أفراد عائلاتهم مرضى بداء السكرى .. ولذلك ننصح أولئك الأشخاص بإقلال الكربوهيدات ومتابعة الفحوص الدورية.

سرعة امتصاص الجلوكوز من القناة الهضمية مثل بعد استئصال جزء من المعدة وفى مرضى الغدة الدرقية "الجويتر" وتليف الكبد .. وفى بعض الأشخاص العاديين.

حالات الضغوط النفسية مثل : القلق والخوف والتوتر الشديد أو المرضية مثل : زيادة نشاط الغدة الكظرية "الجاركلوية" فى إفراز الأدرينالين وهو أحد الهرمونات المضادة للأنسولين كلها تؤدى الى رفع سكر الدم وظهوره فى البول .. والأمراض المعدية الشديدة كالإلتهاب الرئوى والحميات قد يواكبها ظهور السكر فى البول وهذا ناتج من أضرار الحمى تفسها على الجسم ويزول بزوال السبب.

وجود سكريات أخرى فى البول مثل الركتوز أو الجالاكتوز أو البنتوز أو سكر اللبن "اللاكتوز" والذى غالباً ما يظهر فى بول المرضعات وفى أواخر الحمل، بعض سكر اللبن لا يفرز مع اللبن بل يمتص الى الدم وتفرزه الكلى مع البول وهو يعطى نتائج موجبة مع محلول فهلنج أو بندكت ولكن تكشفه شرائط تحليل البول للسكر وكذلك تحليل الدم .. وكذلك وجود مواة مختزلة مثل فيتامين (ج) والأسبرين والأحماض الأمينية وعقار الكلورال هيدرات .. ولكن شرائط تحليل البول للسكر تكشف سترها..

قد يظهر السكر في بول الحامل فى أواخر الحمل (١٠٪ من الحالات) وهذا لا يستدعى القلق.

وتتركز أهمية تحليل البول للسكر بدرجة أكبر فى متابعة المرضى وسير العلاج .. بواسطة المريض نفسه .. إلا أنه كذلك يتأثر بعوامل مختلفة إذ يقل إفراز الكلى للسكر مع تقدم المرض .. بينما يزيد خروج السكر فى البول أثناء الحمل .. فقد تكون نتيجة فحص البول سلبية بينما يكون مستواه مرتفعاً بالدم أو العكس! ومن هنا جاء الاهتمام بتدريب المريض على فحص الدم للسكر للحفاظ علي نسبته طوال اليوم.

الحالات التى تؤدى الى ظهور الجلوكوز فى البول (الجلوكوزوريا)

١- **الجلوكوزوريا الهرمونية :** وفى هذه الحالة يرجع سبب الجلوكوزوريا الي اضطرابات هرمونية بالجسم.

أ- الجلوكوزوريا الناتجة عن زيادة الادرينالين Adrenaline glucosuria

ب- الجلوكوزوريا الناشئة عن زيادة افراز الثيروكسين

جـ- الجلوكوزوريا الناشئة عن زيادة افراز الجلوكاجون.

د- الجلوكوزوريا الناتجة عن زيادة افراز هرمونات الفص الأمامى للغدة النخامية.

هـ- الجلوكوزوريا الناتجة عن زيادة افراز هرمونات قشرة الغدة الكظرية.

٢- الجلوكوزوريا الهضمية : Alimentatry glucosuria

إذا تناول شخص ما كمية كبيرة من الجلوكوز أو من المواد السكرية الحلوة فإن هذا يؤدى الى زيادة سكر الدم بحيث يرتفع مستواه عن مستوى العتبة الكلوية، وبذلك يظهر الجلوكوز فى البول، وفى مثل هذه الأحوال يكون ظهور الجلوكوزبالبول ظهوراً مؤقتاً.

٣- الجلوكوزوريا الناشئة عن زيادة تحول الجليكوجين الى جلوكوز :

Increased glycogenolysis

فى جميع الحالات التى ينتج عنها زيادة تحلل الجليكوجين الي جلوكوز، يظهر الجلوكوز فى البول، ومن الأمثلة على ذلك حالات الإسفكسيا والخدير بالأثير أو الكلوروفورم .. الخ.

٤- الجلوكوزوريا الكلوية : Renal glucosria

وفى مثل هذه الحالات يظهر الجلوكوز فقط بين الوجبات وتسمى الجلوكوزوريا الكلوية أحيانا باسم البول السكرى المستآنس أو الحميد begnine diabetes رفى حالات الجلوكوزوريا الكلوية لا يكون هناك ضرر بالجسم كما أن الشخص لا يحتاج للعلاج بالأنسيولين.

الكشف عن الاجسام الكيتونية في البول Acetonuria

توجد الاجسام الكيتونية بصفة دائمة في الدم وتفرز في البول بكميات قليلة حتي عند الاصحاء ، ويمكن الكشف عنها بتجربة النيتروبروسيد ، او باستخدام حبوب الاسيتست Acetest ، يمكن وجود الكيتون في البول لدي الافراد الاصحاء الذين يصومون لفترات طويلة او الذين يتقيأون بشكل متكرر او الذين يتناولون طعاما يحتوي علي كميات قليلة من الكربوهيدرات ويكون عالي الدسم ، وبناءا عليه توجد الاجسام الكيتونية في البول .

من الممسارات الشائعة فحص البول المجموع طيلة الليل وذلك فى حالات الجلوكوز الخفيف أو المعتدل ، وفى حالة جمع البول لمدة ساعتين بعد الوجبة الكربوهيدراتية فإن تعيين الجلوكوز بهذه الطريقة يشمل جميع الأشخاص الذين يشكون من عتبة كلوية منخفضة .

وللتمييز بين هؤلاء الاشخاص والذين عندهم مرض السكر ، لابد من اجراء تجربة التحمل الجلوكوزي الفموية .

يجري اختبارالتحمل الجلوكوزي علي الأفراد لمعرفة ما اذا كانوا اصحاء او مرضي بالسكر (أول مرة) أو لديهم الاستعداد لان يكونوا مرضي سكر Potentially diabetic ويجري هذا الاختبار في الحالات التالية :

١- الاشخاص الذين يظهر الجلوكوز في بولهم ولكن مستوي الجلوكوز في دمهم لايتجاوز الحدود الطبيعية ، وبالتالي فهم يعانون من اعراض مرض السكر . اي ان لدي مثل هؤلاء الاشخاص مايسمي بالسكر الكلوي Renal diabetes وهو مرض جيني يتصف بانخفاض الي ١٤٠ملجم/١٠٠مل .

٢- الاشخاص الذين يتوارثون مرض السكر ، ولكن مستوي الجلوكوز في دمهم وهم صائمون ضمن الحدود الطبيعية ، وعادة مايطلق عليهم الاشخاص المؤهلون لان يكونوا مرضي بالسكر Potentially diabetic .

٣- الاشخاص الذين يظهر الجلوكوز في بولهم اثناء الحمل (السيدات) او امراض الكبد او الالتهابات الكبدية المختلفة .

٤- الاشخاص الذين يعانون من امراض الكلي بدون سبب واضح .

طريقة العمل Procedure

١- يجب ان يأتي المريض او الشخص المراد اجراء هذا الفحص عليه صائما طيلة الليل (٨-١٢ساعة) قبل البدء في التجربة ، ويفضل ان يتناول هذا الشخص طعامه اليومي العادي لمدة ثلاثة ايام قبل الصوم . او ان يوضع هذا الشخص علي نظام غذائي بحيث يتناول (١) جرام من الكربوهيدرات لكل كيلوجرام من وزنه كل يوم ولمدة ٣ ايام قبل البدء في الصوم ، فاذا كان معدل تناول الكربوهيدرات قليلا قبل

اجراء التجربة ، كان منحني تجربة التحمل الجلوكوزي كاذبا .

٢- علي المريض أن يبقي هادئا مستريحا ، فعليه الراحة لمدة نصف ساعة قبل البدء في اجراء التجربة .

٣- تؤخذ عينة من دم المريض وهو في حالة الصيام Fasting blood كما تؤخذ عينة من البول Urine sample وذلك لتقدير الجلوكوز بهما .

٤- يعطي المريض كمية من الجلوكوز كما يلي :

أ- في حالة البالغين : اما بمعدل ١جم/كجم من وزن المريض او ١٠٠جم جلوكوز .

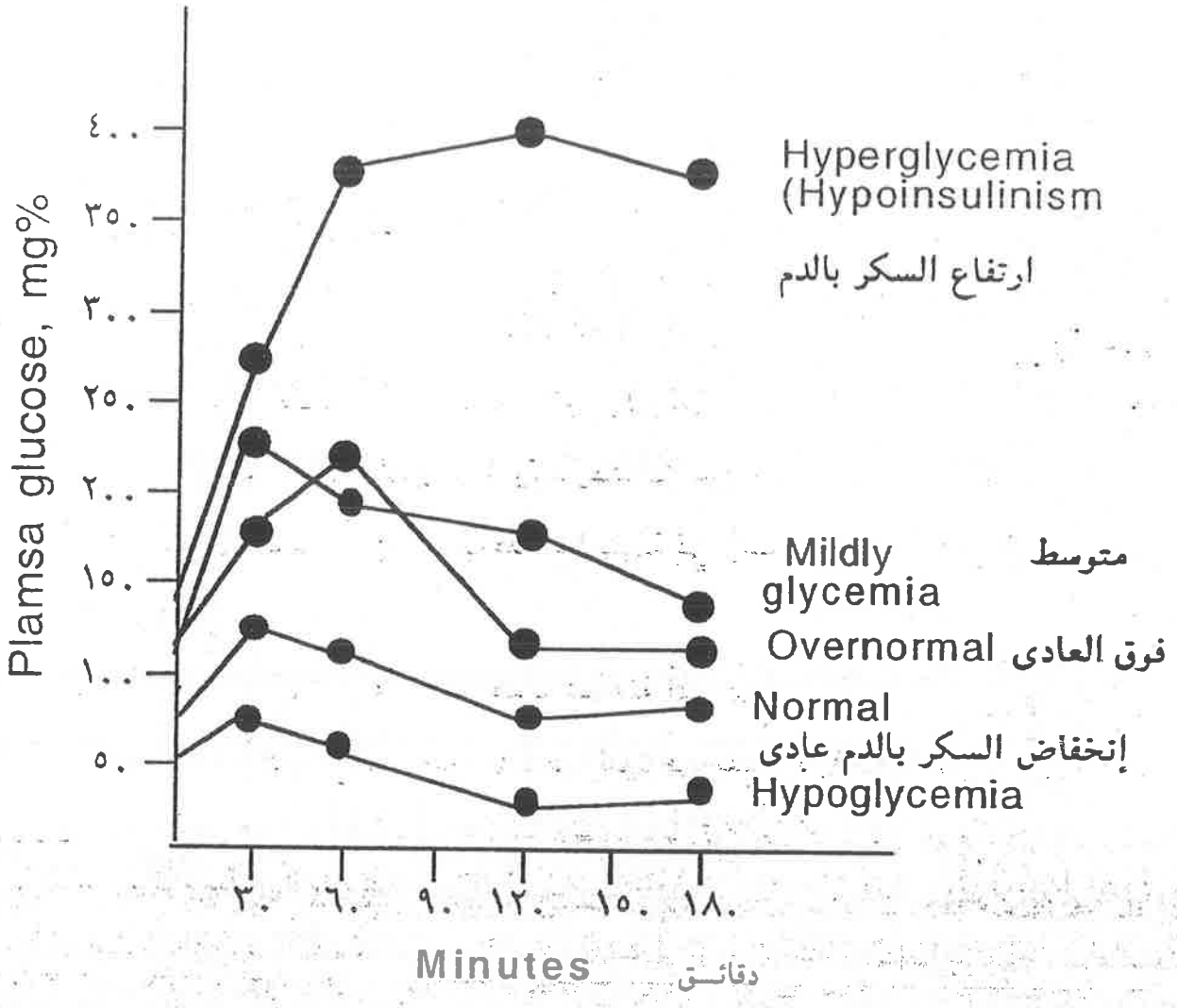
ب - في حالة الاطفال : فهي بمعدل ٢جم/كجم من وزن الطفل ، وتذاب الوجبة في ٢٠٠ مل ماء لكي يشربها (وقد يضاف اليها بعضا من عصير الليمون لتحسين الطعم) وربما تذاب هذه الكمية في زجاجة من المياه الغازية حتي لايتقيأ المريض .

٥- تؤخذ عينات من دم المريض كل نصف ساعة أي بعد " ٣٠ ، ٦٠ ، ٩٠ ، ١٢٠ ، ١٥٠ ، ١٨٠ دقيقة ، كذلك تجمع عينات البول في نفس الاوقات المذكورة .

٦- يتم تعيين الجلوكوز في عينات الدم باستخدام طريقة الجلوكوزاكسيديز . اما عينات البول فيمكن استخدام الشرائط Strips

٧- يرسم منحني لبيان العلاقة بين تركيز الجلوكوز في الدم (علي المحور الصادي) والزمن علي المحور السيني ، ويقارن هذا المنحني بمنحنيات معروفة .انظر الرسم في الصفحة التالية .

٨- تركيز الجلوكوز في البلازما الذي يظهر عنده الجلوكوز في البول يسمي بحد العتبة الكلوية High threshold وعادة يساوي ١٨٠ملجم/١٠٠مل ، بعض الافراد يظهرون حدود قمة منخفضة Low threshold وبالتالي يطردون الجلوكوز في البول مع وجود منحني جلوكوزي عادي (لاحظ ان تقدير الجلوكوز شبه الكمي في عينات البول هو معرفة حدود العتبة الكلوية) .



Blood Glucose Tolerance Curve **منحنى سكر الدم**

Calculations خطوات الحساب

طيف امتصاص العينة As

طيف امتصاص المحلول القياسى Ast

تركيز المحلول القياسى Cst

بالتعويض في العلاقة التالية احسب تركيز الجلوكوز في عينات الدم

$$\text{تركيز الجلوكوز (Cs)} = \frac{As}{Ast} \times Cst$$

$$= \text{تركيز القياس} \times \frac{\text{طيف إمتصاص العينة (As)}}{\text{طيف إمتصاص القياس (Ast)}} = \text{ملجم/١٠٠مل} \ldots\ldots$$

حيث (Cst) هى تركيز المحلول القياسي وهي تساوي ١٠٠ مجم ٪.

١- ارسم منحني بين الزمن ، علي المحور السيني ، وتركيز الجلوكوز علي المحور الصادي باستخدام أوراق رسم بياني .

٢- اكتب تقريرا عن حالة المنحني ، ورأيك اذا كان الشخص مريضا ام سليمًا او مؤهلا لان يكون مريضا بالسكر ، وبين حد العتبة الكلوية لهذا الشخص .

وفيما يلي بعض خواص منحنيات تجربة التحمل الجلوكوزي لمرضي السكر :

نوع المنحني	مستوي الصيام ملجم/١٠٠مل	اقصي ارتفاع ووقته ملجم/١٠٠مل	وقت العودة الي مستوي الصيام	السكر في عينة البول
الطبيعي	٧٠ - ١٢٠	اقل من ١٨٠ خلال ساعة	ساعتين	غائب من كل العينات
مرض السكر	١٢٠-١٣٠	اقل من ١٨٠ خلال ساعة	٢,٥ ساعة	غائب من كل العينات
السكرالمعتدل	١٣٠-١٥٠	٢٣٠ - ٢٧٠ ملجم في خلال ساعة	٣-٣,٥ ساعة	يوجد في منتصف المنحني
السكر الحاد	اعلي من ١٨٠	٤٠٠ - ٤٥٠ ملجم في خلال ساعة	٤-٥ ساعات	يوجد في كل العينات
السكر الكلوي	٧٠-١٠٠	اقل من ١٨٠ ملجم وفى خلال ساعة	في اقل من ساعتين	يوجد في وسط المنحني

ملاحظات هامة :

أ- يعتبر زمن ثلاث ساعات لتجربة التحمل الجلوكوزي كافيه لتشخيص الحالة المرضية ، ولكن اذا كان هناك شك في وجود إنخفاض السكر تؤخذ عينات عند ٤،٥ ساعات .

ب - المرضي الذين لديهم قلة في إفراز الغدة Adrenal insufficiency أو لديهم عيب في جزر لانجرهانز البنكرياسية ، يظهرون هبوطا في مستوي جلوكوز الصيام ، ويكون منحني التسامح الجلوكوزي لمدة ٣ ساعات عاديا ، ولكن يستمر هبوط قيم الجلوكوز اثناء الساعة الرابعة والخامسة Hypoglycemic كذلك هناك بعض المرضي تظهر عندهم الهيبوجلاسيميا خلال هذه الفترة الزمنية نتيجة لافراز انسولين متأخر .

جـ - في حالة المرضي المحتمل اصابتهم بالسكر Potentially diabetic مثل الافراد الذين لهم اقرباء مصابون بالسكر، يمكن ان تكون تجربة التحمل الجلوكوزي عادية عندهم ، ولكن اعطاءهم جرعة من الكورتيزون تظهر عندهم قيما غير عادية ، وتتلخص الطريقة باعطاء الشخص (٠،٥ملجم) كورتيزون قبل بدء التجربة مرتين الاولي قبل ٥ - ٨ ساعاتوالثانية قبل ساعتين من بداية التجربة ، وتكون التجربة ايجابية اي مؤهل للاصابة بالسكر اذا كان مستوي الجلوكوز في دمهم عند حد ١٦٠ملجم/١٠٠مل او اكثر بعد مرور ساعتين .

العينة	تركيز الجلوكوز (ملجم/١٠٠مل)	
	الاصحاء	مرضي السكر
الدم الوريدي	من ٨٠ - ٩٠	من ١٢٠ - ١٤٠
دم الشعيرات الدموية	من ١١٠ - ١٢٠	من ١٣٠ - ١٤٠
البلازما (او المصل)	من ١٢٠ - ١٣٠	من ١٤٥ - ١٦٠

وفى حالة القراءات الوسطية ، فانها تستدعي مزيدات من فحص المريض ، ويشمل ذلك التاريخ المرضي ، ومايظهر من نتائج تجربة التحمل الجلوكوزي ، ومن الضروري اعادة الفحص مرة اخري في فترة زمنية متباعدة .

في حالة كبار السن ، والمصابين بالامراض القلبية (الذين يتناولون علاجا لعضلة القلب وذوي الامراض السرطانية ويتناولون العلاج) ربما يزيد تركيز الجلوكوز في الدم عن الحدود المذكورة بدون ان يكون بالتالي مريض بالسكر .

(ح) خلل وراثى أولى يصيب تركيب المستقبلات ، وهو نادر الحدوث .

(ط) خلل وراثى يصيب تخزين السكر فى العضلات مما يؤدى إلى تراكمه فى الدم ، وهو أحدث اكتشاف فى هذا المجال .

أنـــواع مرضـــى السكـــر

● النوع الأول Type I

ونقصد به مرضى السكر الذين يعتمدون على الأنسولين فى علاجهم .. وقديماً كان يسمى هذا النوع "سكر الصغار" لأنه عادة ما تظهر أعراضه قبل سن الخامسة عشر ويتميز بنقص الأنسولين الشديد ولهذا فهو لا يستجيب للعلاج بالأقراص ولا ينفعه سوى الأنسولين.. كما أن المرض غالباً ما يبدأ شديداً ويكون غير مستقر ذو أعراض واضحة وتزيد معه احتمال حدوث المضاعفات كحموضة الدم والغيبوبة السكرية .. ويرجع السبب فى حدوثه للإصابة ببعض أنواع الفيروسات (فى الغالب).

وهذا النوع يمثل ٥٪ فقط من مرضى السكر.

● النوع الثانى Type II

ونقصد به مرضى السكر الذين يعتمدون على الأنسولين فى علاجهم .. وقديماً كان

يسمى "سكر الكبار" لأنه عادة ما يبدز بعد الأربعين .. وعادة ما يكون المرض بصورة ضعيفة أو متوسطة الشدة .. وغالباً ما يكفى تنظيم الغذاء وحده لعلاج الحالة .. وهو الى حد ما لا يستجيب للأنسولين كعلاج بينما يستجيب سريعاً لأقراص الفم وتكون احتمالات حدوث الغيبوبة السكرية والمضاعفات أقل من النوع الأول.

وفى هؤلاء لعب الوراثة والسمنة دوراً هاماً فى إحداث المرض فمعظم المرضى يتصفون بالسمنة كما يكثر حدوثه بين أفراد العائلة الواحدة .. وعادة ما تكون نسبة الأنسولين مرتفعة بدم المريض مما يدل على أن الجسم غير قادر على الاستفادة بالأنسولين وذلك بسبب صعوبة ما يشكل جزىء الأنسولين نفسه والذى لا يناسب شكل أماكن استقباله بالخلايا .. أو بسبب نقص عدد هذه الأماكن المعدة لاستقباله "مستقبلات الأنسولين"..

أو لوجود أجسام مضادة لهذه المستقبلات تحرم الأنسولين وتنافسه على الوصول اليها ..

أو لوجود مواد مضادة للأنسولين نفسه كالهرمونات السابق ذكرها فلا يستطيع الإتيان بوظائفه.

وهذا النوع يمثل الأغلبية ٧٥ - ٨٠٪ من مرضى السكر.

وهناك نوع آخر يصيب الشباب ما بين سن ١٥ - ٤٠ سنه ويمثل ١٥ - ٢٠٪ من الحالات.

وقديماً كان يسمى "النوع غير المصنف" ونقصد به مرضى السكر الذين لا يعتمدون على الأنسولين فى علاجهم من الشباب وهذا المرض غالباً ما يورث بصفة سائدة أى أن وجود عامل وراثى من أحد الأبوين يكفى لإظهاره فى الأطفال.

والمريض هنا أقل عرضه لتغيرات الأوعية الدموية الدقيقة.

وقد قسم علماء انجلترا خطوات ظهور مرض السكر الى أربعة :

● السكر الكامن أو حالة ما قبل السكر :

ونقصد به الأفراد المعرضون وراثياً بسبب إصابة كلا الأبوين أو حدهما مع قريب للآخر.. أو إصابة توأم للشخص بالسكر .. ونقصد به كذلك المرأة التى تلد طفلاً ثقيل الوزن عن الطبيعى.

وهذا الشخص يكون طبيعياً تماماً لا يشكو أعراض وحتى فحوصات الدم والبول له لا تظهر أى خلاف عن الطبيعى .. إلا أن فحص قاع العين قد يبين بداية حدوث تغيرات بالأوعية الدموية الدقيقة.

● السكر المستتر أو المختفى :

وهو حالة استعداد للسكر، ورغم أنه مثل سابقه لا يشكو أعراض وسكر الدم طبيعى .. إلا أنه تحت الضغط غير العادى سواء المرضى أو النفسى أو المفتعل بإعطاء الجلوكوز والكورتيزون وعمل منحنى السكر بالدم .. فإننا نجد مؤشرات مرض السكر بدأت فى الظهور .. كما أمكن حديثاً اكتشاف هذه الحالة بواسطة تحليل دهنيات الدم.

● السكر الكيميائى :

لا توجد أعراض كذلك .. وسكر الدم يكون طبيعيا .. ولكنه يرتفع تحت الضغط باستعمال الجلوكوز فقط .. كما توجد تغيرات الأوعية الدموية.

● السكر الإكلينيكى أو الواضح :

هو حالة مرض السكر المعروف .. حيث تظهر الأعراض .. وتغيرات الأوعية المعوية .. ويرتفع سكر الدم .. ويظهر السكر فى البول .. وقد تحدث المضاعفات أيضا.

الفرق بين الشخص العادى والشخص المريض بالبول السكرى

الشخص الطبيعى	مريض البول السكرى
١-لا تظهر به حالة الهيبوجليسيما ويتراوح سكر الدم فى حالة الصيام بين ٧٠ - ١٠٠ مجم	- تظهر به حالة الهيبرجليسيما ويكون مستوى سكر الدم فى حالة الصيام أعلى من ١٢٠ مجم
٢- لا يظهر الجلوكوز فى البول	- يظهر الجلوكوز فى البول
٣- حجم البول الطبيعى (١,٢٥ - ١,٥ لتر) / ٢٤ ساعة	- يزداد حجم البول (قد يصل الى ٤ لتر) / ٢٤ ساعة
٤- البنكرياس طبيعى	- المرض سببه البنكرياس الذى لا يفرز الانسيولين
٥- مستوى الإنسيولين بالجسم طبيعى	- مستوى الإنسولين بالجسم أقل من الطبيعى
٦- كمية الجليكوجين بالكبد طبيعية	-كمية الجليكوجين بالكبد أقل من الطبيعى
٧- الأس الأيدروجينى للدم طبيعى	- يميل الدم للحموضة نظراً لوجود الأجسام الكيتونية
٨- لا تظهر الأجسام الكيتونية فى البول	- تظهر الأجسام الكيتونية فى البول.
٩- لا تظهر رائحة الاسيتون من قم أبو بول الشخص	- قد تفوح رائحة الاسيتون من قم وبول المريض
١٠- التحلل الجليكوجينى أقل	- التحلل الجليكوجينى أكثر
١١- لا يظهر نقص فى وزن الشخص	- يلاحظ نقص مستمر فى وزن الشخص

١٢- لا يتعرض للغيبوبة السكرية	- معرض للغيبوبة السكرية
١٣- أكثر مقاومة للاصابة بالأمراض	- أقل مقاومة للإصابة بالأمراض، حيث أن زيادة مستوى السكر بالجسم، يخلق جوا ملائماً لتكاثف البكتريا ومن هنا كان مريض البول السكرى أكثر تعرضا للتلوث عند الاصابة بالجروح.
١٤- تحول السكريات الى دهون فى الحدود الطبيعية	- أقل من المستوى الطبيعى
١٥- مستوى الكولستيرول فى الدم فى الحدود الطبيعية	- مستوى الكولستيرول فى الدم أعلى من الطبيعى (هيبركوليستروليميا)
١٦- أقل تعرضا لتصلب الشرايين	- أكثر تعرضاً لتصلب الشرايين
١٧- لا تظهر بالدم زيادة فى الدهون	- يظهر بالدم زيادة فى الدهون (ليبيميا)
١٨- عند عمل الرسم البيانى لتحلل السكر يحتاج الدم الى ساعتين ليعود مستوى السكر به الى ما كان عليه وقت الصيام كذلك يزداد مستوى السكر بالدم بعد اعطاء الوجبة عند ١٧٠ مجم.	- يحتاج الى أكثر من ساعتين، ويزداد مستوى السكر بالدم بعد أعطاء الوجبه حتى أنه يصل الي ٥٠ مجم٪ أو اكثر حسب الحالة.

ما هو الفرق بين البول السكرى والجلوكوزويا الكلوية ؟

البول السكرى	الجلوكوزوريا الكلوية
١-تقل كمية النسولين بالجسم عن المعتاد تبعاً للحالة	- كمية الآنسولين بالجسم عادية.
٢- كمية الجلوكوز بالدم فى حالة الصيام أعلى من المعتاد	- كمية الجلوكوز بالدم في حالة الصيام أقل من المعتاد
٣- يعالج بالأنسولين	- لا يعالج بالأنسيولين
٤- يتراوح الحد الأعلى لمستوى السكر بالدم عند إجراء المنحنى البيانى لسكر الدم بين ٢٠٠ - ٥٠٠ مجم٪	- يتراوح الحد الأعلى فى هذه الحالة بين ١٤٠ - ١٦٠ كجم٪
٥- مستوى العتبة الكلوية قد يكون طبيعياً (أعلى من ١٨٠ مجم٪)	- مستوى العتبة الكلوية أقل من المعتاد (١٣٠ - ١٤٠ مجم٪) بدلا من (١٨٠ مجم٪)
٦- يحتاج الشخص الى أكثر من ساعتين لكى يعود الدم الى مستواه عند الصيام وذلك طبقاً للمنحنى البيانى لسكر الدم	- يحتاج الشخص الى أقل من ساعتين
٧- يتأثر تمثيل المواد الدهنية والبروتينية ويؤدى ذلك الى ظهور الأجسام الكيتونية بالبول والدم هذا بالإضافة الى زيادة كمية الدهون بالدم	- لا يتأثر تمثيل المواد البروتينية والدهنية ولذلك لا تظهر الأجسام الكيتونية فى الدم والبول
٨- الخطأ يكمن بالبنكرياس	- الخطأ يكمن فى الكلية
٩- تظهر على المريض أعراض البول السكرى السابق	- لا تظهر على المريض أعراض البول السكرى

الهيموجلوبين المتحد بالجلوكوز (جلوكو هيموجلوبين) أو الهيموجلوبين السكرى
Glycosylated Haemoglobin (Hb A_1c)

ويتكون من ترسيب وحدات من الجلوكوز على المجموعات الأمينية الحرة لجزىء الهيموجلوبين ويعكس الحالة التى عليها سكر الدم فى الشهرين أو الثلاثة أشهر لسابقة حيث يرتبط الهيموجلوبين بعمر خلايا الدم الحمراء الذى يصل الى أربعة شهر وهو مفيد جداً لمعرفة مدى تقدم الحالة أو الاستجابة للعلاج وعودته الى المعدل الطبيعى (بنسبة ٦-٨٪ من هيموجلوبين الدم) وهى تعنى أنه أمكن السيطرة على المرض فى الثلاثة شهور السابقة.

العلاقة بين الهيموجلوبين المتحد بالجلوكوز (جلوكو هيموجلوبين) أو الهيموجلوبين السكرى ومعدل السكر بالدم

Relationship Between HbA_1c and Average Blood Glucose			
% HbA_1c	HbA_1c Levels	Average Blood mg/dL	mmol/L
14.0		360	20
13.5			
13.0	Seriously	330	18.3
12.5	Elevated		
12.0	Levels	300	16.7
11.5			
11.0		270	15
10.5			
10.0		240	13.3
9.5	Elevated		
9.0	Levels	210	11.7
8.5			
8.0	Slightly	180	10
7.5	Elevated		
7.0	Levels	150	8.3
6.5			
6.0		120	6.7
5.5	Non-diabetic		
5.0	Levels	90	5
4.5			
4.0		60	3.3

علاقة مرض السكر بأجهزة الجسم

أولا : تأثير السكر على الجهاز المناعى للجسم

تؤدى الإصابة بمرض السكر إلى تقليل كفاءة الجهاز المناعى للجسم تجاه الميكروبات بأنواعها البكتيرية والفيروسية والفطرية والخمائر ، وتنشأ عن ذلك تهيئة الفرصة لهذه الميكروبات لمهاجمة الجلد وإحداث أمراض عديدة منها :

١- الأمراض البكتيرية :

ومنها الدمامل أو الخراريج وتسببها بعض أنواع من البكتيريا وتساعد على ظهورها عامل عديدة منها وجود حكة لعدم النظافة .

٢- الفطريات (التينيا) :

تكرر ظهور تينيا الفخذين أو القدمين أو البطين قد يكون أحد علامات الإصابة بالسكر أو الإستعداد للإصابة به .

٣- الحكة أو الهرش :

وجود مرض السكر يؤدى إلى الحكة أو الهرش .

٤- الخمائر :

وهى أنواع من الفطريات تصيب ثنيات الجلد مثل الفخذين والأبطين وثنيات البطن عند الأشخاص ذوى البدانة .

ثانيا : تأثير مرض السكر على الأوعية الدموية

يؤثر السكر أول ما يؤثر علي الشعيرات الدموية الدقيقة الموجوده فى كافة أنسجة الجسم بما فيها الجلد وخاصة أوردة وشرايين الساقين ، ويؤدى ذلك إلى تصلب الشرايين التى تتسبب فى الذبحه الصدريه أو ضيق التنفس ، مما يسبب نقص الدم فى الساقين وبالتالى

يؤدى إلى برودة في جلد أصابع القدمين وتذداد هذه الظاهرة تدريجيًا حتى يفقد المريض الإحساس بالألم وقد ينتهى الأمر بظهور قرحة أو غرغرينا فى الأصابع لا علاج لها سوى البتر .

ثالثا : أثر مرض السكر على الجهاز العصبى

قد يؤدى مرض السكر إلى التهاب أعصاب الأطراف ويظهر بذلك إلتهاب فى القدمين فى صورة الم أو تنميل أو شلل جزئى لبعض عضلات الأطراف مما يؤدى إلى فقد الرحساس بالبروده أو السخونة الشديدة أو الحك الشديد. وكذلك تلتهب الأعصاب الطرفية فى نسبة كبيرة من مرضى السكر نتيجه نقص فيتامين ب١٢ . الأعصاب الطرفية منها العصب الفخذى والعصب الأوسط (كف اليد) والعصب الوركى وقد تحدث إلتهابات الأعصاب الحسية وهى إحساس باللسع فى الجلد وتنميل وحرقان فى أصابع اليدين أو القدمين .

رابعا : السكر والجهاز الهضمى

لقد ثبت أن هناك علاقة وثيقة بين أمراض الكبد وزيادة نسبة السكر بالدم فنجد أن بعض مرضى تليف الكبد تذداد نسبة السكر عندهم وهنا يصعب التفرقة بين السكر الناشىء عن مرض الكبد وبين السكر الناتج عن خلل الأنسولين . وللسكر أسباب عديدة إلا أنا يمكن القول بأن له نوعين :

١- نوع يصيب الصغار دون سن الخامسة عشرة ، ويتميز بنقص أو إنعدام الأنسولين الموجود عندهم والذى تفرزه خلاليا الفا فى جزر لانجرهانز فى البنكرياس وهؤلاء المرضى يعالجون مدى الحياة بالإنسولين .

٢- نوع يصيب الكبار ما بعد سن الأربعين ، وهنا نرى أن السكر ينتج إما عن نقص

للأنسولين أو إختلال فى وظائفه فى الجسم مثل خلايا القلب والعضلات والكبد ويساعد على تكوين الجليكوجين فى الكبد والعضلات والذى يستعمله الكبد فى أيض المواد النشوية لإنتاج الطاقة ، كما أن الأنسولين يرفع من تكوين المواد الدهنية والبروتينية و يقلل من تكسيرها كما يقلل من تكوين الأسيتون بالدم .

وأغلب هذه التفاعلات تحدث فى الكبد ، فإذا اختلت هذه الوظائف نتج عنها زيادة فى نسبة السكر بالدم ، وقلة الجليكوجين بالكبد والعضلات ، فيشعر المريض بالإجهاد عند عمل أى مجهود أكثر من العادى بالإضافة إلى نقص الطاقة اللازمة لحيوية جسم المريض ، وقد تقل نسبة تكوين الدهنيات والبروتينات مما يؤدى إلى نقص نسبة الوزن ، وقد يزيد تحلل الدهنيات مما يزيد نسبة دهنيات الدم فتسبب تصلب الشرايين .

ومن الطبيعى نلاحظ أن زيادة نسبة السكر بالدم تؤدى إلى زيادة الضغط الأسموزى مما يؤثر على مركز العطش فنجد المريض يشكو من زيادة نسبة البول فى نفس الوقت الذى يشكو فيه من العطش . وقد يؤدى زيادة نسبة السكر فى الكبد فى تضخم الكبد .

خامسًا : السكر والقلب

لعل القلب والدورة الدموية هما أكثر أجزاء الجسم تأثراً بمرض السكر حتى أصبحت أمراض القلب وشرايينه من المضاعفات المصاحبة لمرض السكر ، ولأن القلب عضو من أعضاء الجسم فإنه يعتمد إعتماداً رئيسيًا فى غذائه على السكر فى الدم ، ويحوله بمساعدة الأنسولين وغيره من الإنزيمات إلى طاقة يستخدمها فى الإنقباض وفى دفع الدم فى الشرايين ، فإذا ما نقص الأنسولين لن تستطيع كل أعضاء الجسم بما فيها القلب أن تستخلص الطاقة من السكر وتقل فاعليتها وكفاءتها .

غير أن السكر له اثاراً أخرى على القلب والشرايين تكاد تنفصل وتستقل تمامًا عن

دورة فى نقص الطاقة . فالسكر يحدث ضيقًا فى الشرايين الفرعية فى الأطراف مثل اليدين والقدمين وبذلك يقل الدم الواصل إليها فتبرد الأطراف ويصفر لونها وتصبح القدمان أقل مقاومة للإصابات والإلتهابات بحيث يستغرق التئام أى جرح وقتًا طويلاً.

والسكر يعمل على زيادة نسبة الدهون بالدم مثل الكوليسترول والترای جليسريد كما يقلل من حيوية الخلايا بالشرايين ومقاومتها وبذلك يساعد على ترسيب الدهون فى جدرانها وإختمالات تصلب الشرايين وعندما تزداد درجة التصلب قد يسد الشريان كلية وبذلك يتوقف وصول الدم تمامًا إلى أحد الأعضاء .

وتتنوع أعراض تصلب الشرايين حسب العضو المصاب فمثلا إذا أصاب التصلب الخفيف الشرايين التاجيه للقلب تبدأ الأعراض بالذبحة الصدرية ، عندئذ يصبح التصلب مؤثراً ومنع الزيادة فى الدم الواصل فتظهر أعراض نقص الدم الذى يحتاجه القلب على صورة ألم فى وسط الصدر قد ينتشر إلى الذراع والكتف الأيسر وقد يصاحب ذلك عرق غزير ويزول الألم سريعًا إذا إمتنع المريض عن الحركة أو زال إنقباضه .

سادسا: السكر وإعراض الصدر

تكون إصابة الشخص بإلتهاب رئوى ميكروبى أو فيروسى بالطبع إذا كان المريض مصابًا بالسكر وينتج الإلتهاب الرئوى الميكروبى أو الفيروسى عن ضعف مقاومة الجهاز التنفسى عندما يتعرض الإنسان لجو متقلب بعد إصابته بنزلة برد أو إنفلونزا .

سابعا: السكر وقاع العين

مرض السكر يوثر على شبكية العين ويحدث تغيرات معينة فى قاع العين بعد مرور عشرة أعوام على حدوث الإصابة بالمرض . وفى حالة إهمال علاج مرض السكر فإن الشخص يصاب بالكتاراكتا وإرتفاع ضغط العين مما يسبب ألما شديداً للمريض ، وقد يؤدى إلى نزيف بالعين وتهتك الشبكية ثم العمى .

ثامنا : السكر والأذن

إرتفاع نسبة السكر تؤدى إلى إلتهاب أولى لأعصاب السمع ثم إلتهاب ثانوى نتيجه للتأثير الذى يحدثه السكر فى الأعوية الدموية للعصب السمعى . ومرض البول السكرى قد يصاحب بضعف تدريجى بأعصاب وخلايا السمع فى الأذنين وأحيانا قد تحدث أعراض تشبه إلى حد كبير مرض وضعف بالسمع ودوار وإحساس بوجود ضغط على الأذنين .

تاسعا : السكر والجهاز التناسلى

ثبت أن ٤٠-٦٠٪ من مرض السكر يشكون من ضعف جنسى يشكل أو بأخر وأول الأعراض التى تظهر هى نقص متوسط أو بسيط فى قوه الإنتصابات ثم يبدأ حدوث تكرار عدم الإنتصاب أو عدم الإستجابة السريعة المعتادة للتأثيرات المثيرة للجنس فى الرجل والسبب هو حدوث إلتهاب مزمن فى الأعصاب فى الجسم كله بما فيه أعصاب الإنتصاب (الأعصاب جارسمبتاوية (Parasympathytic Nervous System) والأعصاب المغذية للعضو التناسلى وأعصاب الفخذين (السمبتاوى) ويمكن إعتبار البطء فى الوصول إلى الذروة نتيجة مباشرة لحدوث إلتهاب فى أعصاب الحوض والأوعية الدموية الموصلة للأعضاء التناسلية. وقد لوحظ قابلية الجهاز التناسلى فى المرأة المصابة بالسكر للتعرض للإتهابات الميكروبية والفطرية المهبلية مما يشجع على نمو الميكروبات الفطرية

عاشرا : السكر واثره على الجهاز البولى والكلى

السكر يؤدى إلى تصلب الشعريات الدموية فى جسيمات ملبيجى والإلتهابات الميكروبيه فى حوض الكلى والمسالك البولية وكل هذا يؤدى إلى ظهور الزلال فى البول ، التورم الغضروفى وإرتفاع ضغط الدم والقصور فى وظائف الكلى مع حدوث فشل كلوى حاد .

حادى عشر : السكر واثره على الفم والاسنان

تمتد مضاعفات مرض السكر إلى الفم والأسنان فتظهر أعراض ومتاعب وآلام من أهمها : إلتهاب اللثة وتورمها ونزفها المستمر ، وتسوسها إلى جانب تعرض الأسنان للتحرك أو التخلل (البيوريا) أو تكوين خراريج حول نهايات جذور بعض الأسنان وهذه الخراريج تصنع بؤراً تنتقل منها العدوى إلى باقى أجزاء الجسم .

٣- تقدير نسبه الكحول فى الدم

3- Determination of blood alcohol

١- فكرة الدرس العملي Principle يتفاعل الكحول مع مساعد الانزيم NAD في وجود Alcohol dehydrogenase (ADH) ويتكون الدهيد CHO_3CH بالاضافه الي (H^+)

٢- العينة Sample : الدم Blood ، المصل Serum ، أو البول Urine

٣- الكواشف Reagents : جميع الكواشف مستقرة مالم تفتح العبوات :

أ - الكاشف الأول (R1) (منظم) ويتكون من

- بيروفوسفات Pyrophosphate ٧٥ ملى مول / لتر
- سيليمبكربنازيد ٧٥ ملى مول / لتر
- جلسرين ٧٥ ملى مول / لتر

(PH 8.7) جليسين Glycine (21mmol/L)

ب - الكاشف الثاني (R2) عبارة عن NAD

جـ - الكاشف الثالث (R3) عبارة عن الكحول النازع للهيدروجين Alcohol Dehydrogenase (ADH) :

د - المحاليل الاضافية وغير موجودة مع العبوات الجاهزة Kits

أ- حامض بيركلوريك (Perchloric) 0.33mol/L

ب - محلول قياسى يحتوي علي تركيزات مختلفة :

1- 0.5mg ethanol/ml
2- 1.0 mg .. ..
3- 2.0 .. ..
4- 3.0 .. ..

ظروف التجربة Essay conditions

- الطول الموجي Wavelength..... ٣٤٠ ، ٣٦٥
- درجة الحرارة Temperature ..... ٢٥ أو ٣٧م°
- القياسات Measurements ..... ضد عينة الكاشف الخالية البلانك Blank

خطوات العمل Procedure

اولا - تحضير عينة الدم والمحلول القياسي

المادة	العينة Sample	المحلول القياسي
حامض بيركلوريك	٤ مل	٤ مل
المحاليل القياسية	٠,٥ مل	٠,١ ، ٠,٢ ، ٠,٣ ، ٠,٤
الدم	٠,٥ مل	-

ثم توضع الانابيب (القياسية + عينة الدم في جهاز الطرد المركزي لمدة ٥ دقائق/ ٣٠٠٠ لفة في الدقيقة

المحلول	العينة	المحلول القياسى	البلانك Blank
محلول رقم١(R1)	٤,٨ مل	٤,٨ مل	٤,٨
محلول رقم٢(R2)	١, مل	١, مل	١, مل
المحلول القياسي المخفف ٥..،٢،١،٣	–	١, مل	–
السائل الرائق Supernatant	١, مل اخلط ثم اضف	١, مل	–
المحلول رقم٣(R3)	٠٢, مل	٠٢, مل	٠٢, مل

اخلط الانابيب جيدا ثم ضعهم في حمام مائي درجة حرارته ٢٥م° لمدة ٧٠ دقيقة أو عند ٣٧م° لمدة ٢٥ دقيقة

نتائج التجربة Results

خذ قراءة طيف الامتصاص لعينة المصل Serum او Blood أو البول Urine ضد عينة البلانك Blank

تركيز المحاليل القياسية ١مجم / مل	قراءة طيف الامتصاص
١	.....
٢	.....
٣	.....
٤	.....
عينه الدم	.....

خطوات الحساب Calculation

١- ارسم طيف الامتصاص لكل محلول قياسي من الاربعة محاليل (١، ٢، ٣، ٤ مجم ايثانول/مل) ضد كل تركيز من تركيزات الكحول .

٢- تركيز كحول الدم المراد قياسه يمكن الحصول عليه من المنحي الذي حصلنا عليه Calibration curve

ملحوظة Note

١- يجب الا يزيد طيف الامتصاص لعينة البلانك Blank عن ١, ٠ اذا قيست ضد الماء Against water .

٢- يفضل رسم Calibration curve لكل مجموعة عينات وتكرر باستمرار .

٣- القيمة الطبيعية لكحول الدم تكون اقل من ١, جرام/لتر) طبقا للشركة المصنعة .

٤- الكشف عن الكالسيوم فى الدم (المصل البلازما أو البول)

4-Determination of Calcium in Serum, Plasma or Urine

الكواشف Reagents

١- كاشف اللون Total Calcium - Colour reagent

أ - ٧,٥ مجم ٪ (أوثو كريزو ميثالين كمبليسكون O-Crseophthalein Complexone.

ب - ٢٥ جم ٪ (٨ هيدروكسى كينون مذابة فى حمض الهيدروليك المخفف).

٢- الكاشف القاعدى Total Calcium - Base Reagent

٢٥ جم محلول من ٢ أمينو ٢- ميثيل - - بروبانول + محلول سيانيد البوتاسيوم ٥٠ جم٪.

٣- محلول الكالسيوم القياسى Total Calcim Standard

تركيزه ١٠ مجم ٪

تحضير المحلول العملى Working Solution

يضاف جزء من الكاشف رقم ١ إلى جزء من الكاشف رقم ٢ وتترك ١٥ دقيقة قبل الاستخدام . وهذا المحلول ثابت لمدة ٧ أيام فى درجة حرارة الغرفة (١٥ - ٢٥ م°) أو ٢٤ يوم إذا حفظت فى الثلاجة عند ٢ - ٨ م°.

طريقة العمل Procedure

الكاشف	العينة S	المحلول القياسى ST	البلانك B
Sample	٠١ر ملى	-	-
المحلول القياسى	-	٠١ر ملى	-
الكاشف اللونى	٥ر ملى	٥ر ملى	٥ر ملى
الكاشف القاعدى	٥ر ملى	٥ر ملى	٥ر ملى

الطول الموجى Wavelergth ..... ٥٥٠ نانومتر

درجة الحرارة Temperature ..... درجة حرارة الغرفة

القياسات Measurements ضد عينه البلانك .

طريقة الحساب Calculation

قراءه طيف إمتصاص العينه ..... As = ...

قراءه طيف إمتصاص المحلول القياسى Ast = ...

تركيز الكالسيوم فى المصل أو البلازما أو البول .

قراءة طيف إمتصاص العينة / قراءة طيف إمتصاص القياس × تركيز القياس

$$\frac{As}{Ast} \times Cst =$$

حيث Cst = ١٠ مجم ٪

القيم الطبيعية للكالسيوم

المصل أو السيرم من ٢ر٩ - ١١ مجم ٪

البول من ١٠٠ - ٢٤٠ مجم ٪

الأهمية الفسيولوجية :

يتم إمتصاص الكالسيوم من الأمعاء الدقيقة منها يصل إلى الدم ويستعمل الكالسيوم فى تكوين العظام والأسنان ويدخل فى عملية تجلط الدم وأن هرمون الغدة الجار درقية (Parathyroid gland) له تأثير على مستوى الكالسيوم فى البلازما . فإن زيادة هرمون الباراثورمون (Parathormone) تسبب زيادة فى عمليات الهدم Catabolism وإذابة جزء من نسيج العظام ومن ثم يؤدى ذلك إلى إرتفاع ملحوظ فى مستوى الكالسيوم فى البلازما. وحدوث التشنجات وتقلص Twiching فى العضلات بسبب خلل فى تمثيل الكالسيوم وإنخفاض قيمته فى الدم كما ينخفض الكالسيوم بصفة ثانوية فى حالات الاسهال الشديدة وعند حدوث نقص فى نشاط الغدة جار الدرقية وكذلك عند وجود نقص فى فيتامين د (Vit D) .

الانتجينات والأجسام المضادة

Antigens and Abtibodies

أولا - الانتيجين (مولدالضد) Antigen

١- هي مادة كيميائية بسيطة او معقدة غريبة عن الجسم لها القدرة عند دخولها في

الجسم علي تنبيه الجهاز المناعي لتكوين أجسام مضادة نوعية له تتفاعل معه في خارج الجسم أو داخله .

٢- يتركب الانتيجين كيميائيا من مواد بروتينية معقدة التركيب أو احماض امينية متعددة ذات وزن جزيء لايقل عن ٥٠٠٠-١٠,٠٠٠ دالتون

٣- توجد انواع مختلفة من الانتيجين :

أ - انتيجينات ذاتية Auto antigens وهي ذاتية الاصل حيث يقوم الجهاز المناعي بتكوين اجسام مضادة لهذه الانتيجينات .

ب - انتيجينات متجانسة Hemo-antigen وهي التي تتفاعل او تتعادل مع الاجسام المضادة له .

جـ - أنتيجينات متماثلة Isoantigens وهي انتيجينات تحت السيطرة الوراثية توجد في كرات الدم الحمراء عند الانسان وهي مسئولة عن تحديد فصيلة الدم A,B,AB,O .

٤- يتم عادة دخول الانتيجين للجسم عن طريق الوريد Intravenous او العضلات Intramuscular أو الغشاء البريتونى Intraperitoneal.

ثانيا - الاجسام المضادة Antibodies

١- وهي بروتينات جميعها من نوع الجلوبيولين لها القدرة علي التفاعل بصورة نوعية مع الانتيجين ويطلق عليها أيضًا الجلوبيولينات المناعية .

٢- يتركب الجسم المناعي من اربع سلاسل ببتيدية :

أ - اثنتان متماثلتان ثقيلتان (Heavy chains)

ب - اثنتان متماثلتان خفيفتان (Light chains)

تكون السلاسل الخفيفة مايقرب من ١٠٠ حمض أميني .

أنواع الاجسام المضادة (الجلوبيولينات المناعية) الهامة

توجد خمسة أنواع رئيسية تختلف عن بعضها فى تركيب السلسلة الثقيلة اطلقت علي هذه الاصناف اسماء أحرف اغريقية نسبة الي نوع المنطقة الثابتة في السلسلة الثقيلة فيها .

نوع الجلوبيولين المناعى (Ig) Immunoglobulin		السلسلة الثقيلة الاسم	الرمز
جـ	(IgG)	جاما	(γ)
أ	(IgA)	الفا	(α)
م	(IgM)	ميو	(μ)
د	(IgD)	دلتا	(d)
ي	(IgE)	ابسلون	(E)

ولقد وجد ان الاصناف Classes يمكن تقسيمها الي دون الصنف Subclasses وذلك بالنسبة الي بعض الصفات الموجودة علي السلسلة الثقيلة فمثلا الصنف IgG عرف منه اربعة انواع دون الصنف وهي (IgG1,IgG2,IgG3,IgG4) وجميع الاصناف توجد في مصول جميع الاشخاص الطبيعيين ، وهذا يقودنا الي تعريفين مهمين :

محددات التماثل النمطي Isotypes

وهي عبارة عن مختلف الاصناف ودون الاصناف للجلوبيولين المناعي والتي توجد في مصول جميع الأفراد الطبيعيين للنوع الواحد .

محددات التغاير النمطي Allotypes

وهي فروقات في السلسلة الثقيلة او السلسلة الخفيفة للجلوبيولين موجودة فقط في اشخاص طبيعيين معينين وليس عند الجميع وهي تحت السيطرة الوراثية .

اصناف الجلوبيولين المناعي Ig

١- IgG : يوجد في الامصال الوقائية ، ويضم النوع IgG كل الاجسام المضادة للبكتريا وسمومها والفيروسات ، ولهذا النوع القدرة علي المرور من خلال المشيمة ، وهو يوجد في المصل نسبة ٧٥-٨٠٪ (١٠٠٠-١٥٠٠ ملجم لكل ١٠٠ مل) ، وتبلغ مدة بقائه في الجسم ٤٦ يوما « متوسط حياته ، او فترة نصف العمر ٢٣ يوما) والوزن الجزئى ١٥٠٫٠٠٠ كيلو دالتون . وهو يعتبر من الاجسام المضادة المتأخرة لذلك فهو المسؤول عن تثبيت المتممة ، اما خارج الجسم فيقوم بتفاعلات عديدة مع الانتجين مثل التلازن والترسيب وتثبيت المتمم والبلعمة .

٢- IgM : وهو اكبر اجزاء الجاما جلوبيولين ووزنه الجزئى ٩٠٠٫٠٠٠ تركيزه في مصل الدم ٥-١٠٪ ويحتوي مصل الانسان الطبيعي علي ٧٠-٢٠٠ ملجم لكل ١٠٠ مل ، وهو المسؤول عن حماية الجهاز الدوري ، اما خارج الجسم فهو فعال جدا في عملية التلازن اليكتيري ، وهو يوجد أكثر بـ ٢٠ مرة من الصنف G كذلك يكون هذا الصنف فعال في تثبيت المتمم (المسرع للتفاعل) .

٣- IgA : يوجد في كل الافرازات المخاطية ويؤثر علي الجراثيم التي لاتدخل الدم ووزنه الجزئى ١٧٠٫٠٠٠ وهو ينقسم الي نوعين :

أ - نوع يوجد في المصل ونسبته ١٠-١٥٪ (١٠٠-٣٠٠ ملجم/١٠٠مل) وليس له القدرة علي تثبيت المتممة ويفرز بواسطة الخلايا البلازمية .

ب - النوع الافرازي ويوجد في الدموع واللعاب والافرازات الانفية وفي البول ويفرز هذا النوع بواسطة الخلايا الكأسية Goblet cells للأغشية المخاطية ربما أن تركيز هذا النوع في الافرازات اعلي منه في المصل فإن فائدته هي الوقاية الموضعية للسطوح المخاطية أكثر من فعاليته لوقاية الجسم .

٤- IgE : يوجد في الانسجة والجلد وهو المسئول عن انواع الحساسية المختلفة ووزنه الجزيئى ١٩٠٫٠٠٠ ، وتكاد تكون نسبة هذا النوع منعدمة في المصل العادي ، ماعدا في الاشخاص الزائدي الحساسية، ومتوسط بقائه في الجسم يومين فقط ، علما بان اكثر الانسجة حساسية لهذا النوع هي انسجة الجهاز التنفسي .

٥- IgD : ان المعروف عن هذا الصنف قليل ووزنه الجزيئى ١٨٠٫٠٠٠ ويعتبر هذا النوع ثانويا بالنسبة للأصناف الاخري ، ونصف عمرة قصير في الانسان حوالي ٣ أيام نتيجة تعرضها للانزيمات المحللة للبروتينات ووظيفتها غير معروفة .

فحوصات خاصة بالأمراض التناسلية

(الزهـرى Syphilis)

داء الزهرى هو مـرض جنس يصـيب الانسـان (الذكـر والانثي) وتسـبـبـه بكتـريا Treponema pallidum وهـو يـري بـواسطـة المجـــهـــر ذو الحـــقل المظـلم Dark field microscope ويعتبر داء الزهري من الأمراض التي يعتمد تشخيصها علي الفحوصات المصلية Serodiagnosis والفحوصات تعتمد علي مبدأ التفاعل بين الانتجين والجسم المضاد Antigen-Antibody reaction تجري هذه الفحوصات علي مصل أو بلازما الدم.

وينتقل بواسطة الاتصال الجنسي بصورة عامة ونادرا ما ينتقل عن طريق التقبيل او بواسطة استعمال ادوات الشرب والبابب واحيانا اثناء تبادل التدخين ، وفي بعض الاحيان يصيب المشتغلين بالمستشفيات كالأطباء والممرضات وخاصة فى أصابع اليدين وكما أن الزهري قد ينتقل الي الجنين في الام المصابة ويسمي الزهري الوراثي .

علامات ظهور الزهري Syphilis هي حروق علي الجلد والعينين والعظام ثم تقيح (قرح) وتظهر بعد سنتين من الاصابة بالطور الابتدائى الميكروبى المعدى وقد تصيب القرحة منطقة الحشفة وخلالة القضيب او جسمه عند الذكر والشفة الصغيرة والكبيرة وعنق الرحم في الإناث وهذه القرح تكون مؤلمة عند اللمس وقد تنزف أو لاتنزف وقد يصيب الأنسجة المغلفة أو الغطاء للجسم ومكوناتها (العظام - المفاصل ، العضلات) وأحيانا الأعضاء الداخلية كالكبد والجهاز الهضمى والرقبة والجهاز الدورى والجهاز العصبى

العاهات التى يتركها مرض الزهرى بعد الشفاء :

هى عبارة عن الندب والتشوهات التى تصيب مناطق الجسم المختلفة مثل إنثقاب جسر الأنف وسقف الفم وتشوه فى تركيب الأسنان وظهور بعض الثقوب السمراء والبيضاء على حدقة العين وقد ترى وجه الطفل شبيها لوجه الكلب نتيجة لتضخم الفك الأسفلى وضمور عظام الأنف. قد تصيب الشفتين واللسان ومنطقه الثدى خاصة عند المرأة وقد تظهر

على أصابع اليدين .

وهناك حالات نادرة يصاب بها الجنين حين مرورة بقناه الرحم والمهبل أثناء الولادة وقد يمتلأ جسم الطفل بحلزون الزهرى ويموت بالأشهر الأولى فيولد ميتا لا تكون الفحوصات موجبة إلا بعد حوالى خمسة عشر يومًا وأحيانا قد تمتد إلى أربعة أسابيع ويظهر الميكروب تحت الميكروسكوب على شكل حلزون يشبه اللولب سكريه اللمعان أو فضى اللون .

الدور المتأخر غير المعدى

تشخيص مرض الزهري في المعمل Laboratory diagnosis

١- بواسطة استخدام المجهر المظلم Dark field microscope حيث يظهر الزهري علي شكل حلزونى في الدور المبكر الأولى والثانوي .

٢- بالفحوصات السيرولوجية Serodiagnosis (فحص الدم) ومنها :.

أ - فحص الزهري الجنسي Venereal Disease of Research Laboratory (VDRL)

ب - فحص Rapid plasma Reagin (RPR)

أولا - فحص VDRL

وهو تفاعل بين الانتيجين Cardiolipin والجسم المضاد الغير نوعي Reagin، ففي الحالات السليمة (السلبية) تبقي جسيمات الانتيجين منتشرة في المصل العادي ، أما في الحالات الايجابية (المصابة) فتتحد مع الاجسام المضادة لتشكل تجمعات مرئية بالعين المجردة وباستخدام الميكروسكوب الضوئي وهذا الاختبار يستعمل استعمالا مبدئيا كاختبار سريع في المعامل .

طريقة الفحص Laboratory examination

١- يحضر المصل او البلازما ويوضع في حمام مائي درجة حرارته ٥٦م° لمدة ٣٠ دقيقة .

٢- مستحلب الانتيجين Antigen emulsion حيث يتم تحضيره كما هو مذكور فى النشرة الموجودة داخل الصندوق إن لم يكن محضرا جاهزا للاستعمال .

خطوات التجربة Procedure

١- ضع كمية معينة من المصل في انبوبة اختبار .

٢- أضف اليه نسبة معينة من مستحلب الانتيجين .

٣- حرك الخليط جيدا لمدة خمس دقائق .

٤- ضع الانبوبة في جهاز الطرد المركزي Centrifuge لمدة عشر دقائق وبسرعة ٢٠٠٠ دورة في الدقيقة .

٥- بعد اخراج الانبوبة تهز لمدة دقيقة واحدة .

٦- أقر النتيجة وذلك حسب ظهور تجمعات (تلازن) أو عدمها .

النتيجة Result

أ - ايجابية (مصابة) في حالة حدوث تجمعات (تلازن) .

ب - سلبية (سليمة) في حالة عدم حدوث تجمعات أو تلازن .

ثانيا - فحص Rapid Plasma Reagin (RPR)

طريقة الفحص المعملي :

١- تحضر الشريحة الخاصة بهذا الفحص وبها دائرتان

٢- توضع نقطة واحدة من المصل علي كلا الدائرتين .

٣- نضع نقطة واحدة من الانتجين في الدائرة الأولى فقط .

٤- تمزج كل من النقطتين علي حده مزجا جيدا بعود بلاستيك او خشب ويرمي

٥- تحرك الشريحة بما عليها

٦- تقرأ النتيجة حسب ظهور تجمع (تلازن) أو عدمه . أي تقارن الدائرة الأولى مع الثانية (Control) .

النتيجة Result

١- ايجابية (مرضية) اذا حدث تجمع (تلازن) .

٢- سلبية (سليمة) اذا لم يحدث تجمع (تلازن) .

ملحوظة :

تختلف طريقة الفحوصات حسب الشركة الصانعة وتكون النتيجة متشابهة او واحدة .

السيلان Gonorrhoea

السيلان مرض ينقل عن طريق الجماع (تناسلى) ونادراً ما ينقل عن طريق إستعمال ملابس المصاب الداخلية .

الشكل : مكورات على شكل حبه الفاصوليا وهى سالبة الجرام .

مدة الحضانه : من ١ - ١٠ أيام .

علامات ظهور المرض Symptoms

١ - خروج مواد على شكل سائل مخاطى لونه أبيض مصفر لإحتوائه على الصديد أو قد يكون عديم اللون نظراً لكثافة السائل المخاطى يصعب التبول .

٢ - صعوبة التبول (Dysuria) .

٣ - حكة داخلية (Itching).

٤ - حرقان أثناء التبول (Durning micturition).

٥ - كثرة التبول (Frequency of micturition) .

٦ - أحمرار وتورم فتحة مجرى البول الخارجية .

٧ - ظهور خيوط صديدية ومخاطيه بالتبول .

٨ - ظهور خلايا طلائيه كثيره بالبول .

التشخيص Diagnosis

بواسطة فحص القيح الخارج من فتحه البول معمليا والتأكد من وجود الميكروب وذلك بمشاهدة مكورات مزدوجة والتى تكون بشكل الكليتين وموجوده داخل الكريات البيضاء متعددة النواه وذلك بعد صبغ مسحه الدم بواسطة صبغة المثيل الأزرق .

مضاعفات مرض السيلان :

أولا : عند الرجل

١ - إلتهاب المفاصل .

٢ - إلتهاب حدقة وملتحمه العين .

٣ - تسمم الدم .

٤ - إلتهاب الشرج ويحدث عند المنحرفين جنسيا نتيجة اللواط .

٥ - حدوث خراج داخلى فى مجرى البول .

٦ - إلتهاب غدة كوبر Cowperitis gland

٧ - أنتصاب مؤلم للذكر (القضيب) .

٨ - إلتهاب البروستاتا Prostitis .

٩ - إلتهاب الحويصلة المنوية Seminal vesiculitis .

١٠- إلتهاب البربخ Epididymitis .

١١- الشعور بالانحلال وقشعريره بالجسم وارتفاع درجة الحرارة من ٣٩ - ٤٠م وعدم القدره على التبول .

ثانيا: عند المرأة

١ - إلتهاب المجرى البول المزمن . ٢ - إلتهاب عنق الرحم .

٣ - حرقة مؤلمة عند التبول . ٤ - إلتهاب المخرج Proctitis.

تكون المرأة معرضة لإلتهاب المخرج أكثر من الرجل بحكم تشريح الجهاز التناسلى لها وكذلك عندما تنام المرأة المصابة بالسيلان يسيل منها تقيح إلى المخرج ويصيبه كذلك الاتصال الجنسى الشاذ حيث يصيب المخرج فيحمر ويتورم وتخرج منه افرازات صديدية .

٥ - إلتهاب قناة فالوب Salipingitis حيث ينقل الميكروب من عنق الرحم إلى قناه فالوب مباشرة ومنه إلى المبيض وهنا تظهر الام شديدة بأسفل البطن ولها أعراض تشبه التهاب الزائدة الدودية وترتفع درجة الحرارة من ٣٩ - ٤٠ درجة مئوية . وقد تضطرب الدورة الشهرية (الطمث) وقد يؤدى هذا المرض إلى العقم حيث تتصلب قناه فالوب وتنسد ولا يسمح بمرور البويضة .

٦ - إلتهاب المبيض Overitis حيث يمتد الإلتهاب إلى المبيض من قناه فالوب .

الإيـــدز AIDS

يعـرف الايدز (AIDS) Acquired Immuno Defficiency Syndrome بأنه فـيروس مدمر لنوعا معينا من الخلايا الليمفاوية Lymphatic cells وهي الخلايا الليمفاوية المعاونة T-Helper lymphocytes التى تعتبر الدفاع الرئيسي في هيكل المناعة الخلوية .

وعـرف هذا المرض لأول مرة في الولايات المتحدة عـام ١٩٨١ وقد قـام فـريق من الأطباء الامريكان بعزل هذا الفيروس وكذلك قام فريق من الاطباء الفرنسيون في معهد باستـير بعـزل الفـيروس من الفـيروسات المنعكسة Retrovirus من مـريض من الشواذ جنسيا وكان يعاني من تضخم في العقد الليمفاوية ، ومازالت الابحاث جارية حتي الآن لعزل هذا الفيروس والقضاء عليه .

طريقة العدوى لمرض الايدز Mode of infection

ينتقل فيروس الايدز بأحد الوسائل التالية :

١- العلاقات الجنسية بين الشواذ (رجل ورجل) وبين الاسوياء(رجل وامرأة)

٢- بواسطة نقل الدم .

٣- من الأم الي الجنين عن طريق الانتقال المشيمي او الي طفلها حديث الولادة اثناء مروره في قناة الولادة او اثناء الرضاعة .

٤- عن طريق تبادل اللعاب اثناء التقبيل .

٥- عن طريق تعاطي المخدرات بحقن ملوثة .

٦- الوشم بادوات ملوثة بفيروس الايدز.

فترة الحضانة : لاتعرف فترة حضانة لمرض الايدز بدقة حتي الآن ولكن تشير الابحاث إلى أنها فترة طويلة تمتد من سته شهور الي ست سنوات بمتوسط حوالي ٢٨-٢٩ شهرا

الأعراض والمظاهر المرضية :

١- شعور شديد بالارهاق يستمر لاسابيع طويله بدون اي سبب واضح .

٢- فقد سريع في الوزن يتعدي ٥ كجم في خلال شهرين .

٣- تضخم في العقد الليمفاوية في جانبي الرقبة وتحت الابطين وكذلك تضخم الكبد والطحال (Spleem)

٤- ارتفاع مستمر في درجة الحرارة وتصبب العرق بغزارة خاصه بالليل .

٥- اسهال شديد ومزمن . (Chronic diarshea)

٦- اصابة الجهاز العصبي المركزي وتكون النتيجة الخمول والاكتئاب .

٧- ضيق في التنفس واللثة وسعال مستمر .

٨- التهاب اللسان وتجويف الفم والبلعوم والمرئ بفطر الكانديدا Candida .

٩- زيادة في سمك الغشاء المخاطي للفم وابيضاضه .

١٠- نقص عدد الكرات الليمفاوية بالدم وكذلك عدد الصفائح الدموية .

١١- نقص شديد بخلايا (T) الليمفاوية المعاونة .

١٢- زيادة مستوي الجلوبيولينات المناعية .

١٣- ظهور انواع مختلفة من الطفح الجلدي والاصابات المختلفة بالجلد مثل التهاب الجلد الدهني والتهاب بصيلات الشعر الميكروبية .

١٤- نقص عدد كرات الدم الحمراء .

١٥- قصور استجابة الخلايا الليمفاوية للمثيرات .

١٦ - ظهور فيروس الهربس (Herpes) بكثره على جلد المريض .

الفحص المعملي Laboratory diagnosis

أولا - الاحتياطات الواجب اتباعها Precautions

١- ممنوع التدخين او الاكل او الشرب او شفط السوائل في المعمل اثناء اجراء هذا الاختبار.

٢- ارتداء قفازات عند لمس مريض الايدز وترمي بعد ذلك .

٣- ترمي كل الادوات التي تستخدم لكل مريض.

٤- تؤخذ عينة الدم من الوريد وتحلل مباشرة بعد فصل المصل منها .

ثانيا - طريقة العمل Procedure تجرى هذه الطريقة .

١- ضع ٢ نقطة من المحلول المنظم Buffer المحضر سابقا او جاهز يأتي مع علب الـKits للكشف عن الايدز .

٢- اضف نقطة (قطرة) واحدة من المصل (السيرم) بواسطة ماصة أو ترمي بعد ذلك (Elisa).

٣- اضف ٢ نقطة من المحلول المنظم .

٤- اضف ٢ نقطة من محلول الغسيل .

٥- اضف ٢ نقطة من Gold conjugate reagent

٦- اضف ٢ نقطة من محلول الغسيل .

٧- اقرأ النتيجة Result في الجهاز أى جهاز خلال دقيقتان .

النتيجة Result

١- سلبية (سليمة) ظهور نقطة حمراء واحدة علي الشريحة .

٢- ايجابية (مصابة) ظهور عدد ٢ نقطة حمراء .

التيفوئيد و الباراتيفوئيد

يستخدم اختبار فيدال (Widal test) لتشخيص مرض التفوئيد والبارا تيفوئيد اللذان تسببهما جرثومة السالمونيلا Salmonella وأحسن وقت لسحب عينة الدم من اجل الحصول علي نتيجة سليمة هو بعد الاسبوع الاول وقبل نهاية الاسبوع الثاني من بداية ظهور ارتفاع في حرارة جسم المريض .

طريقة انتقال العدوى Mode of infection

١- تنتقل الاصابة بهذا المرض نتيجة تناول اطعمة ومشروبات ملوثة ببكتريا السالمونيلا

Salmonella وتنتقل الميكروبات من الامعاء الي الجهاز الليمفاوي Lymphatic system ثم الي تيار الدم Blood stream .

٢- تحدث التهابات مختلفة في النسيج الضام الذي يكسو العظام وتعمل علي تقرح Ulceration المعدة والكلي والتهابات شديدة في القنوات الصفراوية والمرارية Bile ducts وكذلك عضلة القلب Heart muscle وعندها تظهر علامات المرض الشديدة وترتفع درجة حرارة الجسم .

الفحص المعملي Laboratory diagnosis

١- يعتمد هذا الفحص علي وجود اجسام مضادة من مصل المريض لانتيجينات السالموئيل 0-Antigens والانتيجينات الهدبية H-Antigens .

٢- يمكن حدوث نتائج ايجابية كاذبة في فحص فيدال False positive widal result نتيجة الاصابة بامراض مختلفة مثل (السرطان) .

٣- الاشخاص المحصنين عن طريق لقاح التيفوئيد ومشتقاته يتفاعل معهم انتجين الاسواط (H-Antigens) وانتيجينا الاجسام (0.Antigens)

٤- العلاج المبكر بالمضادات الحيوية كالامبسلين والكلورامفينكول قد يجعل الاختبار سلبيا

طريقة الفحص Procedure

١- تجمع عينة الدم من الوريد (٥-١٠سم) طازجة بدون اضافه اي مادة مانعة للتجلط ويفصل المصل (السيرم) بواسطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge ويمكن الاحتفاظ به في درجة ٢-٨م لحين الاستخدام .

٢- يجب ان تكون العينة خالية من اي تحلل او عكاره Turbidity (زلال او دهون ثقيلة مرئية) .

٣- تعمل عدة تخفيفات متسلسلة للاجسام المضادة الموجودة في عينة مصل المريض

باستخدام محلول ملحي معقم Sterile saline solution تركيزه ٩, جم كلوريد صوديوم / ١٠٠مل ماء مقطر

٤- يضاف الأنتيجين الفاحص .

المواد المستخدمة Provided materials

يستخدم لهذا الاختبار أربعة انواع من الانتيجات الكاشفة وهي :

Salmonella Typhyi — A — H-Antigen, O. Antigen

Salmonella paratyphi — A — O-Antigen, H- Antigen

Salmonella paratyphi — B — O-Antigen

Salmonella paratyphi — C — O-Antigen, H-Antigen

طريقة اجراء التجربة بطريقة الانبوب (لاختبار فيدال:

Widal (Test Tube Method)

١- ترقم ٧ انابيب من ١-٧ ويضاف اليها المحلول الملحي (٨٥, ٪) حسب ماهو مبين في الجدول.

٢- ثم يضاف مصل المريض بالمقادير المبينه (ثم تجري عملية التخفيف المتتالي عن طريق النقل).

	1	2	3	4	5	6	7
0.85% Nacl محلول ملحي	.9	.5	.5	.5	.5	.5	.5
Pt. Serum مصل المريض المخفف	.1	.5	.5	.5	.5	.5	.5
Antigen الانتيجين	.5	.5	.5	.5	.5	.5	.5
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	.1:640	1:1280

٣- ثم يضاف الانتجين الفاحص المخفف (١:٢٠) بالفورمالين والمحلول الملحي

٤- ضع في الحمام المائي :

Salmonella - (0-Ag) لمدة (١٦-١٨ ساعة) علي درجة حرارة ٥٠ مئوية

Salmonella- (H-Ag) لمدة ساعة واحدة علي درجة حرارة ٥٠ مئوية

النتائج : Results

تسجل النتائج كما هو مدون بالجدول السابق .

التوكسوبلازما Toxoplasma

١- التوكسوبلازما Toxoplasma هو مرض طفيلي يصيب الانسان والحيوان وتكمن خطورته علي الأم الحامل والجنين اذا اصاب الأم، والطفيل يسمى Toxoplasma Qondii وهو طفيل اولي له المقدرة علي المعيشة في احشاء الثدييات وفي الانسان (في العضلات والدماغ) .

٢- ليس لهذا المرض مناعة دائمه فقد يصاب بها العائل مرة اخري

٣- القطط والكلاب وسيلة لنقل هذا المرض للحوامل .

الفحص المعملي Laboratory diagnosis

١- يستخدم المصل (السيرم) في هذا الاختبار .

٢- يجب ان تكون عينات المصل غير متحلله او ملوثة بالبكتريا.

٣- يمكن حفظ العينات لمدة ٢-٣ ايام.

٤- كما يمكن حفظ العينات لفترة اطول حيث تجمد في درجة (-١٢٠م°).

خطوات العمل Procedure

١- تستخدم عينة المصل في حمام مائي درجة حرارته ٥٦م° لمدة ٣٠ دقيقة للتخلص من المكمل Complement من عينات الدم

٢- يخفف المصل (١:٦٤)حسب تعليمات الشركة المصنعة .

٣- جهز طبق اجراء التخفيفات وكل عينة لها اربعة حفر في طبق المعايرة .

٤- اضف ٧٥ ميكروليتر من الBuffer الي كل حفره من الحفر .

٥- اضف ٢٥ ميكروليتر من عينه المصل الي الحفرة A .

٦- اعمل تخفيف من الحفرة (A) (١:٤٠) إلى الحفرة B(١:١٦) .

٧- خذ ٢٥ ميكروليتر من الحفرة B(١:١٦) الي الحفرة C(١:٦٤) .

٨- امزج المكونات وتخلص من ٢٥ ميكروليتر .

٩- اضف Test cell الي الصف D .

١٠- اضف Control الي الصف C .

١١- امزج طبق المعايرة جيدا بالماء ثم اقرأ بعد ساعة من فترة الحضانة في درجة حرارة الغرفة، ويمكن ترك طبق المعايرة طول الليل Over night

القراءة والنتيجة Results

١- سلبية (سليمة) في حالة عدم حدوث اي تجلط لكرات الدم الحمراء وتكون علي شكل حلقة (Ring) مترسبه في وسط الحفره مع وضوح في اطراف الحلقة

٢- بينما تكون النتيجة ايجابية (مصابة) في حالة حدوث تجلط لكرات الدم الحمراء والاجسام المضادة مما يؤدي الي وجود حلقة خفيفه محاطة بالتجلط في الاطراف المحيطة بمركز الحفرة.

الالتهاب الكبدى الفيروسى

Hepatitis-C.Virus (HCV)

الفحص المعملي Laboratory diagnosis

يتم التعرف علي وجود الاجسام المضادة Antibodies الي Hepatitis C-virus في مصل Serum أو بلازما Plasma الإنسان المصاب بالتهاب الكبد بواسطة Radio immuno Assay(RIA) او باستخدام جهاز الفحص المناعي الانزيمي Enzyme linked immuno Sorbent Assay (ELISA)

طريقة اليرقان المصلي بواسطة ELISA

ملاحظات هامة :

١- اخرج مواد الفحص من الثلاجة قبل البدء بالعمل حتى تصبح فى درجة حرارة الغرفة وهي من ١٨-٢٥م .

٢- صنع العينات قبل الفحص فى جهاز الطرد المركزي .

طريقة العمل :

١- اقتح المغلف الموضوع فيه Plate وخذ منه المطلوب من Strips ثم اغلقه .

٢- اضف ١٠٠ ميكروليتر من كل عينه مراد فحصها مباشرة للحجر ، ثم اضف ١٠٠ ميكرون من Control السالب في A1، ١٠٠ ميكروليتر من Control الموجب في A2 واذا كان عدد العينات اكثر من ٢٤ يفضل ان يكون عدد Control اكثر من حجرة لكل Control ايضا يجب اضافه عينة control موجبة واخري سالبة معروفة

٣- غطي Strips باللاصق .

٤- ضع العينات في الحاضنة الخاصة برطوبة اكثر من ٨٠٪ بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ساعة

٥- اغسل كل حجرة ٤ مرات بواسطة جهاز الغسيل الخاص وبسائل Phosphate Buffer

٦- اضف ١٠٠ ميكروليتر من Conjugate لكل عينة بما فيها Control

٧- غطي Strips بلاصق جديد وضعهم في الحاضنة ايضا لمدة ساعة بدرجة حرارة ٣٧°

٨- اغسل كل حجرة ٤ مرات كما في السابق رقم ٥

خلال الخطوتين ٧، ٨ نحضر Substrate (خذ حبة O.P.D. وذوبها بـ٢,٥ سم٣ من الماء المقطر اضف ١٠٠ ميكروليتر من سائل Urea Peroxide لكل حبة O.P.D. والذي يجب ان لايكون له لون وضعهم في الظلام) .

٩- اضف ١٠٠ ميكروليتر من Substrate لكل حجرة وضعه في مكان بعيد عن الضوء بدرجة حرارة ٢٠-٢٥مه لمدة ٣٠ ثانية .

١٠-اوقف التفاعل باضافة ١٠٠ ميكروليتر من حامض الكبريتيك بتركيز ٢ مول (لكل حجرة واقرأ النتائج علي الجهاز الخاص «صفر الجهاز علي الهواء واقرأ الامتصاص باستعمال طول موجى ٤٦٢نانومتر .

يمكن قراءة النتائج مبدئيا بالعين المجردة خلال ساعتين من الخطوة رقم ١٠

بالنسبة لقراءة النتائج هنالك جهاز الكمبيوتر لعمل الحسابات التالية :

$$\frac{\text{معدل امتصاص control الموجب + معدل إمتصاص السالب}}{٢}$$

هذا الناتج يسمى Cut off وهو الحد الفاصل بين النتائج الموجبة . فكل عينة أعلي من Cut off تكون موجبة والأقل تكون سالبة .

يمكن قبول الفحص او اعتماده بناءا علي المعادلات التالية :

- معدل امتصاص Control السالب أقل من ٤ .
- حاصل طرح معدل امتصاص Control الموجب ناقص معدل امتصاص Control السالب أكبر من ١,٠

يمكن قبول Control او رفضه حسب المعادلات التالية :

١- Control السالب اقل من Cut off .

٢- Control الموجب اكبر من Cut off .

٣- Control الموجب اقل من حاصل طرح ١,٥ معدل الموجب ناقص ٠,٥ معدل السالب.

٤- Control الموجب اكبر من ١,٤ معدل السالب .

الفحص التأكيدي لوجود انتيجين فيروس اليرقان المصلي بواسطة جهاز ELISA

١- اضف ١٠٠ ميكروليتر من كل عينة موجبة الانتجين في حجرتين متلاصقتين وتسمي Sc.Sn على Strip اليرقان العادي متضمنا الـ Controls السالب والموجب .

٢- غطي العينات وضعها في درجة حرارة الغرفة ٢٠-٢٥م لمدة ١٦-٢٤ساعة

٣- في اليوم الثاني اغسل العينات ٤ مرات بالجهاز وبسائل Phosphate Buffer

٤- أضف ١٥٠ ميكروليتر من سائل Confirmatory Control لكل حجرة Sc وكذلك حجرة Controls

٥- أضف أيضًا ١٥٠ ميكروليتر من سائل Confirmatory Neutralizing في درجة حرارة حجرة Sn .

٦- غطي Strips باللاصق وضعهم بالحضانة لمدة ساعة بدرجة حرارة ٣٧م.

٧- أغسل ٤ مرات واضف Conjugate ١٠٠ ميكروليتر لكل حجرة بما فيها Controls وغطي باللاصق وضعه في الحضانة لمدة ساعة أخري بدرجة حرارة ٣٧م.

٨- خلال الحضانة أذب حبة O.P.D. بـ ٥ ,٢ سم٣ ماء مقطر وأضف ١٠٠ ميكروليتر من سائل Urea Peroxide لكل حبة O.P.D. مذابة فيكون هذا سائل Substrate .

٩- اضف ١٠٠ ميكروليتر من سائل Substrate لكل حجرة وضعه في مكان مظلم لمدة ١٠ دقائق بدرجة حرارة ٢٠-٢٥م.

١٠- اقرأ الامتصاص بطول موجه ٤٩٢ ثم اعدهم للمكان المظلم لمدة ٢٠ دقيقة اخري .

١١- اوقف التفاعل باضافه ١٠٠ ميكروليتر من حامض الكبريتيك بتركيز ٢ مول لكل حجرة واقرأ النتائج مرة اخري .

النتـائـج :

العينة ستكون موجبه حقيقي اذا كانت تخضع لهذه المعادلة :

0.5 (N+Sc) اقل من او تساوي 0.5(N+P) and SN اكبر من او يساوي SC ،

طـريقـة أخـرى

تجري هذه الطريقة بواسطة الـ Kits التي تحتوي علي :

١- أدوات التجربة Test devices

٢- محلول منظم Buffer solution ويحتوي علي ازيد الصوديوم (Sodium azide)

٣- محلول الغسيل يحتوي علي ازيد الصوديوم كمادة حافظة Preservative .

٤- Protein A.Gold congugate يحتوي علي أزيد الصوديوم Na . azide

٥- ماصات ناقلة للكواشف Reagent.

خـطوات العمـل Procedures

١- انقل نقطتين من المحلول المنظم إلي device

٢- اضف نقطة واحدة من المصل (السيرم) بواسطة ماصة وترمي مباشرة .

٣- اغمس نقطتين من المحلول المنظم الي device .

٤- اغمس نقطتين من محلول الغسيل الي device .

٥- اغمس Protein A Gold conjugate في الجهاز .

٦- اضف نقطتين من محلول الغسيل Wash soln.

٧- اقرأ النتيجة خلال ١٠ دقائق .

١- النتيجة سلبية(سليمة) يتكوين حلقة حمراء واحدة وسط الدائرة .

٢- النتيجة ايجابية(مريضة) تتكون حلقتان حمراء في وسط الدائرة .

الاختبارات المصلية لأمراض الروماتويد Rheumatoid arthritis

توجد ثلاث فحوص للكشف عن هذا المرض :

أ - فحص Rheumatoid factor (R.F.) latex

ب - فحص C-Reactive protein CRP

جـ - فحص Anti - Streptolysin O (ASO)

أولا- الكشف عن عامل التهاب المفاصل :

Rheumatoid factor (RF)and Rheumatoid Arthritis factor (RA)

مبدأ الفحص Principle

ان العامل الروماتيزمي عباره عن بروتين Macroglobulin يتواجد في ٨٥-٩٥٪ من المصابين بالتهاب المفاصل الروماتيزمي ويكشف عن هذا العامل بواسطة تفاعل التجلط (التلازن) حيث ان الانتيجين عبارة عن جزيئات من لاتكس (Latex) مغطاه ببروتين Immuno gammoglobulin الذي يتحد مع العامل الروماتيزميRF ويمكن رؤيته بالعين المجردة .

وبالاضافه الي ذلك فان عدد من المرضي المصابين بالذئبة الحمراء (Lupus Erethromatosis) والتهاب الكبد الفيروس وبعض الافراد المصابين بامراض في الانسجة العضلية وكذلك بعض المرضي المصابين بالتهابات مزمنة يظهر من العامل الروياتيزمي في امصالهم .

والأساس ان تكون نتيجة هذا الاختبار سلبية (سليمة) في امصال الافراد العاديين ، بينما تكون ايجابية في التهاب المفاصل ، ومرضي السفلس (Syphilis) بينما تكون النتيجة سلبية في حالات مرض النقرس Gout والتهاب العظام (Osteoartheritis).

المواد المستخدمة Materials provided

١- لاتكس كاشف الجلبيولين Latex globulin reagent وهو عبارة عن جزيئات من البوليسترين مغطاه بواسطة الجلبيوبين Globulin .

٢- ضع نقطة واحدة من المصل المخفف علي شريحة خاصه بهذا الاختبار ثم اضف نقطة واحدة من Latex-globulin في جزء واحد من الشريحة .

٣- امزج وانشر الخليط باستعمال عود خشبي او بلاستيكي نظيف .

٤- تعامل مع رقم ٢، ٣ في المواد المستخدمة مع Serum control الايجابي السلبي ولكن بدون تخفيف المصل باستخدام عيدان منفصله لكل منها عند التحريك والمزج .

٥- حرك الشريحة جيدا ولاحظ حدوث اي تلزن (تخثر) او تجمع خلال دقيقتان من الزمن .

النتيجة Result

١- التفاعل السلبي هو بقاء المعلق متجانسا وعدم ظهور تجلط (تلزن) ويجب مقارنة النتيجة بسالب المادةالضابطة Negative control

٢- التفاعل الايجابي : يظهر تخثر سريع خلال دقيقة تقارن بواسطة المادة الضابطة الموجبة Positive control .

٣- التفاعل الايجابي الضعيف : ظهور تجمع ضعيف وصغير بعد مرور دقيقتين.

ملاحظة Note

في حالة ظهور تجمع (تلزن) او تخثر علي الشريحة . اي أن النتيجة ايجابية تكتب النتيجة كالتالى :

R.F. Positive (+)

R.A. Positive (-)

وهنا يتطلب عمل فحص المعايرة لتقدير نسبة الاصابة وذلك عن طريق تخفيف مصل

المريض عدة تخفيفات واعادة الفحص مرة ثانية علي الشريحة لكل تخفيف لمعرفة أعلي معايرة للمريض R.F. Titration

١ : ٢٠ ١ : ٤٠ ١ : ٨٠ ١ : ١٦٠ ١ : ٣٢٠

حيث يعتبر هذا الاختبار من اهم الوسائل المخبرية للتفريق بين الالتهابات المفصلية والحمي المفصلية حيث يكون الاختبار سلبيا في الأخيرة

ثانيا - اختبار البروتين المتفاعل C-Reactive protein

فكرة الفحص Principle

يعتمد هذا الفحص علي حدوث تفاعل التخثر (التلازن) او التجمع Anglutination بين البروتين CRP كانتيجين والاجسام المضادة والمغطاة علي السطح .

جزيئات اللاتكس (Latex)

١- اختبار الشريحة السريع Slide agglutination test تعتبر هذه الطريقة سريعة وحساسة ويمكن قياس نسبة الـ CRP في المصل ٣, ملجم/لتر والتي تعادل ٦ ملجم/لتر في العينة المخففة ١:٢٠ ,

٢- توضع المصل Serum في درجة حرارة ٥٦مْ ولمدة ٣٠ دقيقة حيث ان المصل الذي لايوضع في درجة ٥٦مْ قد يعطي نتائج ايجابية خاطئة .

المواد المستخدمة Materials provided

١- العامل الاول CRP Latex reagent

٢- مصل انسان ايجابي CRP positive control serum (human)

٣- مصل انسان سلبي CRP negative control serum (human)

٤- Glycine-saline buffer dilluent يحل بواسطة الماء المقطر بنسبة ١:٢٠

خطوات العمل Procedure

١- حضر الشريحة الخاصة والتي تحتوي علي ثلاث مربعات 0.05ml serum

٢- يخفف المصل بنسبة (١:٢٠) (0.0sml + 0.950ml buffer)

٣- ضع نقطة واحدة من المصل المخفف علي نقطة من Latex globulin في المكان المخطط علي الشريحة .

٤- امزج وانشر الخليط باستخدام عود خشبي نظيف

٥- عامل Control sera (الايجابي السلبي) بنفس الطريقة ولكن بدون تخفيف مصل الControl

٦- حرك الشريحة ولاحظ حدوث تخثر او تجمع خلال دقيقتين .

النتائج Result

١- التفاعل السلبي : بقاء المعلق متجانسا Homogeneous وعدم ظهور تخثر مقارنة مع مصل الـ Negative control .

٢- التفاعل الايجابي : ظهور تخثر او تلزن (تجمع) سريع خلال دقيقة او اكثر مقارنة مع Positive control

٣- التفاعل الايجابي الضعيف وهو عبارة عن ظهور تجمع ضعيف

اهمية التشخيص Diagnostic value

يظهر هذا الاختبار ايجابيا في الحالات التالية :

١- التهابات اللوزتين والامراض الصدرية كالسل .

٢- الحمي الروماتيزمية الحادة . ٣- التهاب حاد في عضلة القلب .

٤- التهاب المفاصل الحاد . ٥- بعض الامراض الخبيثة Cancer .

٦- التهاب الكبد الوبائي وتشحم الكبد . ٧- نسبة عالية من الدهون .

٨- التهابات المثانة ٩- التهاب الحلق

ثالثا - اختبارات Anti-Strep tolysin O (ASO)

فكرة الفحص Principle

١- تلعب بعض انواع من البكتريا Streptococci دوراً كبيراً فى تحلل كرات الدم

الحمراء وتكون النتيجة التهابات اللوزرتين والتهابات تقرونات الكلي والحمي الروماتيزمية .

٢- في حالة وجود اجسام مضادة لانزيم Streptolysin 0 في مصل المريض فان كريات الدم الحمراء لاتتحلل بينما في حالة وجود الاجسام المضادة للانزيم فان كريات الدم الحمراء تتحلل

خطوات العمل والفحص المعملي Laboratory diagnosis

أولا - المواد المستخدمة Materials provided

أ - العامل الأول Latex R1 وهو عبارة عن محلول معلق من الجزيئات الموجودة بـ Streptolysin O .

ب - العامل الثاني R2 مصل ايجابي Positive serum

جـ - العامل الثالث R3 مصل سلبي Negative serum

د - العامل الرابع R4 محلول التخفيف Glycine-Saline buffer

١- يجب استخراج هذه الكواشف من الثلاجة قبيل الاستعداد لعمل الفحص لتأخذ درجة حرارة الغرفة ٢٠-٢٥م وتحرك جيدا منعا من حدوث تعكر ورواسب .

٢- يفضل بعد سحب الدم وفصل المصل Serum بدون اضافه اي مادة مانعة للتجلط Anti coagulant أن توضع في حمام مائي درجة حرارته ٥٦م لمدة ٣٠ دقيقة لتعطيل المواد المتممة Complement والتي تتواجد في مصل المريض .

٣- يلاحظ تخفيف المصل بالنسبة المطلوبة حسب متطلبات الشركات الصانعة للكواشف ليصبح التخفيف الجديد في الحجرة رقم ٢ يساوي ١:١٠٠ ثم يمزج جيدا .

٤- ينقل من الحجرة رقم ٢ مايعادل ٥٠ ميكروليتر الي الحجرة رقم ٣ ليصبح التخفيف ١ :٢٠٠ ثم يمزج جيدا .

٥- ينقل من الحجرة رقم ٣ مايعادل ٥٠ ميكروليتر الي الحجرة رقم ٤ ليصبح التخفيف ١:٤٠٠ ثم يمزج جيدا .

٦- ينقل من الحجرة رقم ٤ مايعادل ٥٠ ميكروليتر الي الحجرة رقم ٥ ليصبح التخفيف حوالي ١:٨٠٠ ثم يمزج جيدا .

٧- ينقل من الحجرة رقم ٥ مايعادل ٥٠ ميكروليتر الي الحجرة رقم ٦ ليصبح التخفيف ١:١٦٠٠ ثم يمزج جيدا

٨- يضاف علي كل حجره من الحجرات الست السابقة نقطة (٥٠ ميكروليتر) من R1 وتحرك جيدا .

٩- تحرك الشريحة ويلاحظ التلازن (التخثر) Agglutination خلال دقيقتان فيكون حساب المعايرة Titer بوحده Iu/L بالطريقة الثانية .

$$\frac{\text{آخر تخفيف لأعلى نتيجة} \times ٢٠٠}{٥٠}$$

خطوات العمل Procedure

١- يتم تخفيف المصل Serum او المصول Seraالمراد اجراء الفحص عليها بنسبة ١:٥٠ (٠,١ مل من المصل + ٤,٩ مل من المحلول المنظم Buffer المرافق للمواد الكاشفة.

٢- ضع علي الشريحة المعدة لهذا الفحص نقطة من كل مايأتي حسب الترتيب كل في مكانه .

٣- ضع نقطة واحدة من المصل الايجابي R2 او مايعادل ٣٠ ميكرولتر

٤- ضع نقطة واحدة من المصل السلبي R3 او مايعادل ٥٠ ميكروليتر

٥- ضع نقطة واحدة من المصل المجفف ١:٥٠ فى المربعين .

٦- امزج جيدا العامل R1 قبل الاستعمال واضف مايعادل 50ul بجانب نقطة من نقاط المصل الموجودة علي الشريحة .

٧- حرك وامزج جيدا كل نقطة بواسطة عود خشبي او بلاستيك (يستخدم عود منفصل لكل نقطه) .

٨- حرك الشريحة ولاحظ وجود اي تخثر يحدث خلال دقيقتان فقط ولايتظر الي اي تخثر بعد هذا التوقيت .

النتائج Result

١- التفاعل الايجابي (تجلط (التخثر) يدل علي وجود ASO

٢- التفاعل السلبي (محلول متجانس) يدل علي اختفاء ASO

٣- تقارن النتائج المفحوصة بالمصول الايجابية والسلبية لاعطاء نتائج دقيقة

٤- تعتبر النتيجة طبيعية اذا كانت اقل من ٢٠٠ وحدة دولية/ملليتر

٥- اذا كانت نتيجة المعايرة عالية جدا فهذا يدل علي أن العدوي حديثة

٦- في حالة ان النتيجة ايجابية بمعني ان المعايره اعلى من ٢٠٠ وحدة دولية / ملليلتر 2001 U/ml يجب القيام باختبار التقدير الكمي بعمل تخفيفات مضاعفة لعينة المريض (المصل) باستخدام محلول التخفيف R4

الأهمية التشخيصية Diagnostic value

يرتفع ASO في الحالات التالية :

١- الحمي الروماتزمية الحادة .

٢- التهاب الكبد والكلي الحاد (الفشل الكلوي) .

٣- التهاب اللوزتين الحاد .

٤- حالات التهاب العظام .

٥- في المرضي المصابين بارتفاع الكوليسترول والسل.

٦- كبار السن.

إختبار الحمل عند قدماء المصريين

كان قدماء المصريين يستدلون على الحمل عند النساء بإضافة بول المرأة المتزوجة حديثاً إلي حبوب القمح والشعير ، فإذا نبتت حبوب القمح أو الشعير دل ذلك على حدوث الحمل أى نتيجة موجبه أما إذا لم تنبت كل من حبوب القمح أو الشعير دل ذلك على عدم حدوث الحمل و إذا نبتت حبوب القمح فقط كانت المرأة حامل فى أنثى أما إذا نبتت حبوب الشعير فقط دل ذلك على أن المرأة حامل في ذكر .

دلالات الأورام

Tumor Markers

هى عباره عن مواد بروتينيه وانزيميه وبيوكيميائيه تحدث بواسطة الخلايا السرطانية نتيجة تكاثر الخلايا السرطانية مما ينتج عنه ما يسمى بالسرطان وهو يؤدى الى تدمير الأنسجة ثم تزداد وتندفع فى مجرى الدم.

Tumor markers panel

1- Alpha - Fetaprotein (AFP)

١- الفافيتوبروتين (AFP)

وهو يحدث فى النسيج الحي لكل من الكبد، المبايض والخوض وزيادة معدله بالدم يدل على سرطان هذه الأعضاء المذكورة.

- المعدل الطبيعى بالدم حوالى ٥ مانوجرام/مل (5 ng/ml)

2- Beta-sub-unit human chorionic gonado tropin (Beta-HCG)

وهو يحدث فى خلايا المشيمه (placenta) وأثناء الحمل Pregnancy وزيادة معدله فى الدم يدل على سرطان أعضاء وأماكن الحمل.

- المعدل الطبيعى بالدم أقل من ٢,٥ وحدة دولية/لتر (les tnak 2.0 U/L)

3- Cancer - Antigen 15.3 (CA 15,3)

ينتج بواسطة خلايا فى الثدى (breast) وزيادة معدله فى الدم يدل على سرطان الثدى (Breast Cancer)

- ومعدله الطبيعي بالدم أقل من ٤٠ وحده/لتر (less than 40 U/mL)

4- Cancer - Antigen 19.9 (CA 19.9)

وهو يساعد على تشخيص سرطان البنكرياس وزياده معدله بالدم يدل على سرطان البنكرياس pancreas cancer

- ومعدله الطبيعى بالدم أقل من ٤٠ وحده/مل (less than 40 U/mL)

5- Cancer - Antigen (CA 27.29)

وهو مؤشر لسرطان الثدى (Breast carcinoma) وحوالى ٨٠٪ من الناس المصابون بسرطان الثدى لديهم CA27.29

- ومعدله الطبيعى بالدم حوالى ٣٨ وحده/مل (38 U/mL)

6- Cancer - Antigen 125 (CA 125)

وهو موجود بخلايا المبيض (ovary) وزياده معدله بالدم يؤدى الى سرطان المبيض (ovarian cancer) خاصة أثناء الحمل.

- ومعدله الطبيعى بالدم أقل من ٣٥ وحده/لتر (less than 35 U/L)

7- Cancer embryonic - Antigen (CEA)

وهو مؤشر بحدوث سرطان فى الكبد، الأمعاء، البنكرياس، المعده، الرئه، البروستاتا، الثدى، الغده الدرقيه.

- ومعدله الطبيعى بالدم حوالى ٥ مانوجرام/مل (5 ng/ml)

8- Prostate specific Antigen (PSA)

يستخدم للتعرف على وجود سرطان لغده البروستاتا أم لا وزياده معدله مرتبط بسرطان غده البروستاتا ويزداد معدله أيضا بعد عملية القذف.

- ومعدله الطبيعى بالدم أقل من ٤ مانوجرام/مل (less than 4 ng/ml)

الباب الثالث

تحليل البراز Stool Analysis

- فحص البراز للتحرى عن طفيليات القناة الهضمية
- فحص البراز للكشف عن الأوليات Protozoa
- فحص البراز للتحرى عن بويضات الديدان المختلفة
- فحص البراز للتحرى عن الدم المختفى

تحليـــل البـــراز Stool analysis

جمـع العـينة Collection of sample

١- تجمع عينات البراز الطازجة في الكؤوس المشمعة ذات الاغطية المحكمة .

٢- يراعي تحـذير المريض من تلوث العـينة بأية قطرات من البـول او المواد المطهـرة لأن ذلك سيؤدي الي قتل الأطوار النشطة من الأوليات وقد يظهر حديد وأملاح ودم .

٣- يراعي ان تجـمع العـينات من المرضي قـبل اعطائهم جـرعـات من كـبـريات البـاريوم لاغـراض فـحـصـهم بالاشـعـة لان هذه المادة الكيـمـاوية تقلل من فـرص العـثـور علي الطفـيليـات الأوليـة لمدة تزيد على أسـبـوع بعـد إسـتـخـدام كـبـريات البـاريوم . ومن الملاحظ أن تناول الأدوية وخـصـوصـا المضـادات الحـيـوية التي تحـتـوي علي الزيت المعدني والبزموت بالاضافـه الي مضادات الملاريا والاسـهال تؤثر علي فرص العـثور علي الاطوار الطفيلية في البراز لمدة قد تصل الي عده اسابيع .

٤- تحفظ العينة الاصلية التي جمعت في الثلاجة عند ٤م حتي يتم تشخيص مابها من طفيليات ليتسني عمل تحضيرات مختلفة اذا لزم الأمر .

ومن الجدير بالذكر أن هذا العدد من العينات هو المقترح جمعه وفحصه قبل أن يمكن اعتبار النتيجة سلبية ، كما أنه يفضل ان تجمع هذا العينات خلال ثلاثة أيام ومن المستحسن أن تجمع يوما بعد يوم إن كان ذلك ممكنا لزيادة فرص العثور علي الطفيل المسبب للمرض وتقدير مدي استفحاله بدقة اذ ان بعض الطفيليات لاتظهر بنفس الاعداد يوميا.

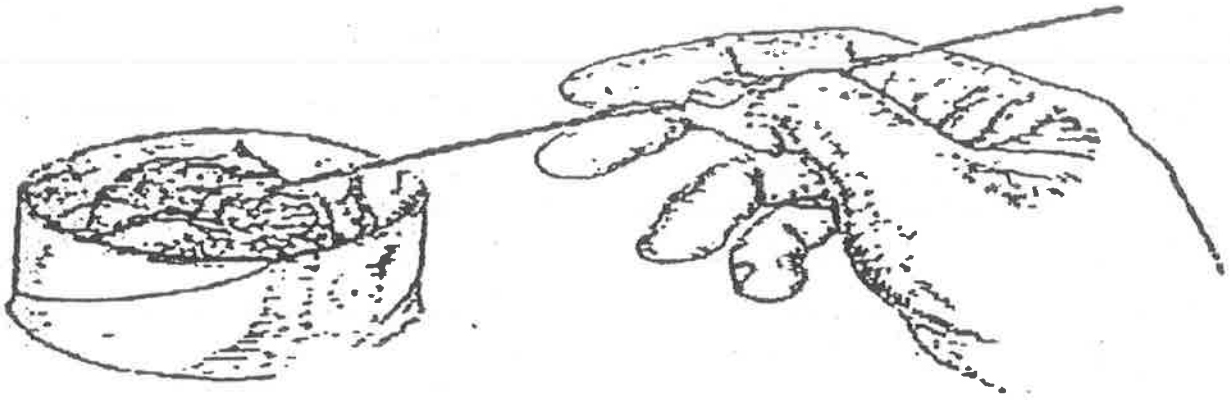
فحص عينات البراز للكشف عن وجود طفيليات بالقناه الهضمية

١- فحص العينات بالعين المجردة :

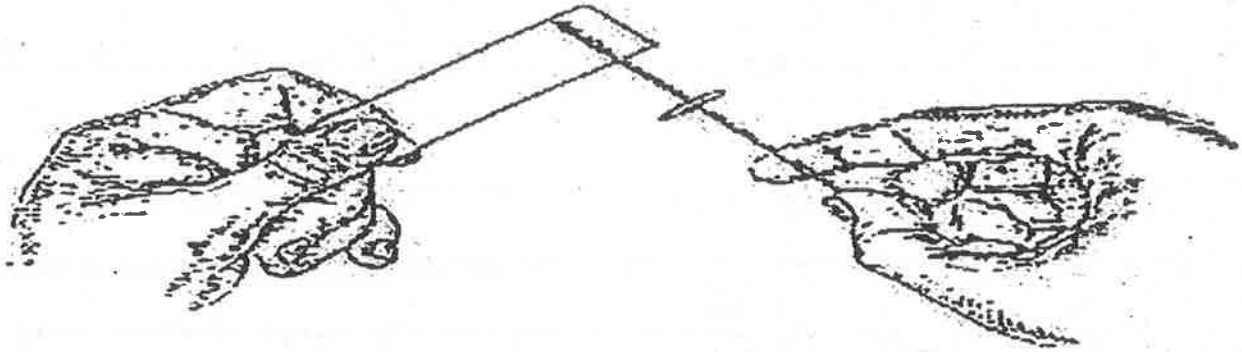
ومن اهم الملاحظات التي يجب تدوينها حول عينة البراز الطازجة مايلي :

أ - قوام العينة Consistency

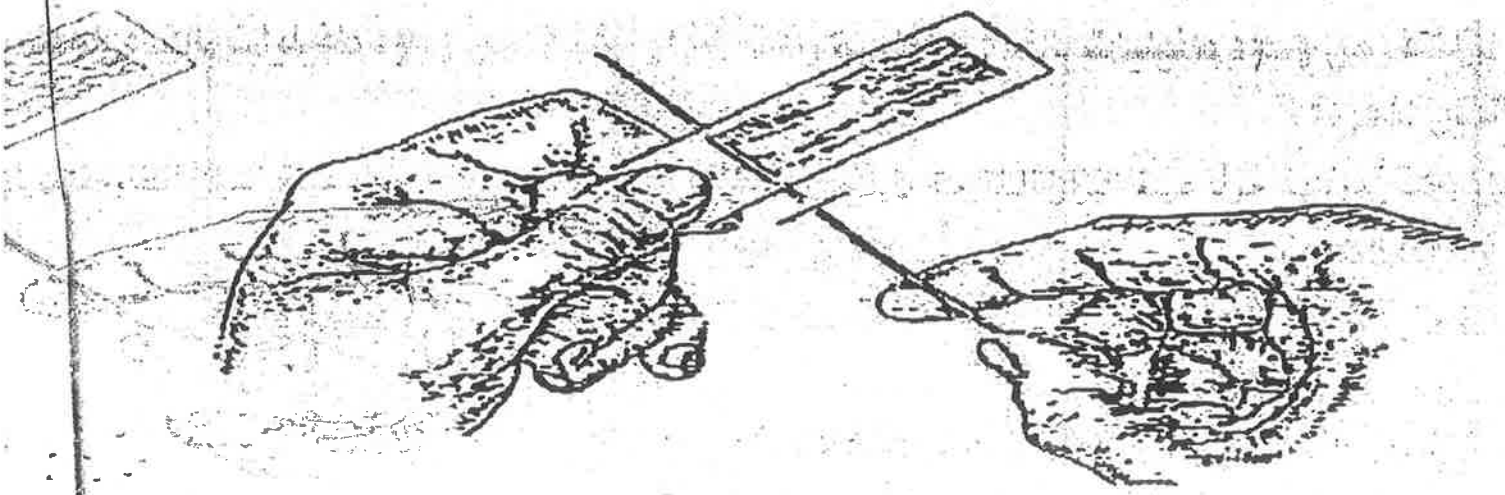
وهى إما إن تكون متماسكة Solid، أو لينه Semi solid او مائية Liquid لان ذلك سوف يساعد علي تحديد اشكال الكائنات التي توجد في العينة ، فالاطوار المختلفة النشطة للأوليات توجد في العينات اللينة او شبه لينة ، بينما توجد الاطوار المتحوصلة فى العينات المتماسكة أكثر من غيرها أنظر شكل (٥٤)



١ - يلاحظ حالة البراز ثم يخلط



٢ - أخذ جزء من البراز وفرده على شريحة بها نقطتين من المحلول الملحى



٣ - عمل مسحة من البراز

شكل (٥٤) : تُحضير عينة من البراز للفحص الميكروسكوبى

ب - **اللون** Colour: لون البراز الطبيعي يكون بني مصفر . وقد يحتوى علي بقع دم او مخاط او الياف وقد يتغير لونه فمثلاً مركبات الحديد تعطي لونا اسودا ومركبات الباريوم التي تعطي للمريض اثناء الكشف بالاشعة تعطي لونا ابيض او مائلا الي الصفرة وقد تكون العينات غامقة اللون اشارة الي وجود نزيف في اعلي القناة الهضمية بينما يدل احتواء البراز علي دم حيث يكون (واضح الاحمرار) علي نزيف في الاجزاء النهائية من القناة الهضمية . واذا كان الدم في حالة لينه او مائية القوام يدل علي الاصابة بالدوستناريا الامينية وقد يكون اللون أبيض فى بعض أجزائه خاصة فى الأطفال الرضع وذلك نتيجة عدم هضم الدهون .

ج - وجود مخاط Mucus .

د - وجود اجزاء من الديدان الكاملة علي سطح عينة البراز .

هـ - وجود الياف ومواد غذائية غير مهضومة .

٢- التحضيرات المجهرية المباشرة للعينات وفحصها :

أولا بإستخدام المحلول الملحي Soline solution

١- تمزج كمية قليلة من البراز (العينة) مع نقطة من المحلول الملحي أو المحلول الفسيولوجي(Physiological Saline 0.85g NaCl %) بواسطة عود خشبي علي شريحة زجاجية .

٢- يجب ان يتكون مزيج متجانس بعد عمليات الخلط ثم يوضع علي المزيج غطاء الشريحة المناسب .

٣- يراعي ان يختار جزء مناسب من العينة كالذي يحتوي علي الدم او المخاط لأن ذلك يزيد من فرصة وجود الاطوار الطفيلية .

٤- تفحص جميع اجزاء العينة تحت الميكروسكوب بشكل منتظم باستخدام العدسة الشيئية (X10) ثم عدسة ذات قوة اكبر (X40) .

٥- يجب الا تستخدم العدسات الزيتية عند فحص التحضيرات الرطبة الا اذا لصق غطاء الشريحة بمادة لاصقة (كندا بلسم).

ثانيا : بإستخدام ازرق الميثلين للاطوار الغذائية النشطة للأوليات :

يستخدم ازرق الميثلين Methylene blue كصبغة حيوية Vital Stain لصبغ الاطوار الغذائية النشطة للأوليات ، ولهذا الغرض يستخدم محلول مخفف (0.06%) من هذه الصبغة تحضر من محلول منظم يوضح طريقة التحضير (Low PH) لان ذلك يعمل علي اعطاء تفاصيل دقيقة لنواه الكائن . وفي العادة تحضر صبغة ازرق الميثيلين في محلول حامض الخليك ذي اس هيدروجيني (PH=3.6) ويجب ان يتم فحص التحضير خلال زمن لايزيد عن ٣٠ دقيقة .

ثالثا : باستخدام محلول اليود (Iodine Solution) :

يحضر اليود بأضافة ١ جرام يود إلى ٢ جرام بوتاسيوم وفى ١٠٠مل ماء فقط تجهز باستخدام محلول يود مخفف حيث يعمل هذا المحلول علي تأكيد صحة التشخيص المبدئي عن طريق التحضيرات المباشرة ، فاليود يوضح الأنوية والجليكوجين والتراكيب الخيطية وغيرها من مكونات سيتوبلازم الاطوار المتحوصلة للأوليات وهذه التحضيرات غير فعالة للتحري عن الاطوار الغذائية لأن اليود يقتلها .

٣- طريقة تركيز الطفيليات في العينة :

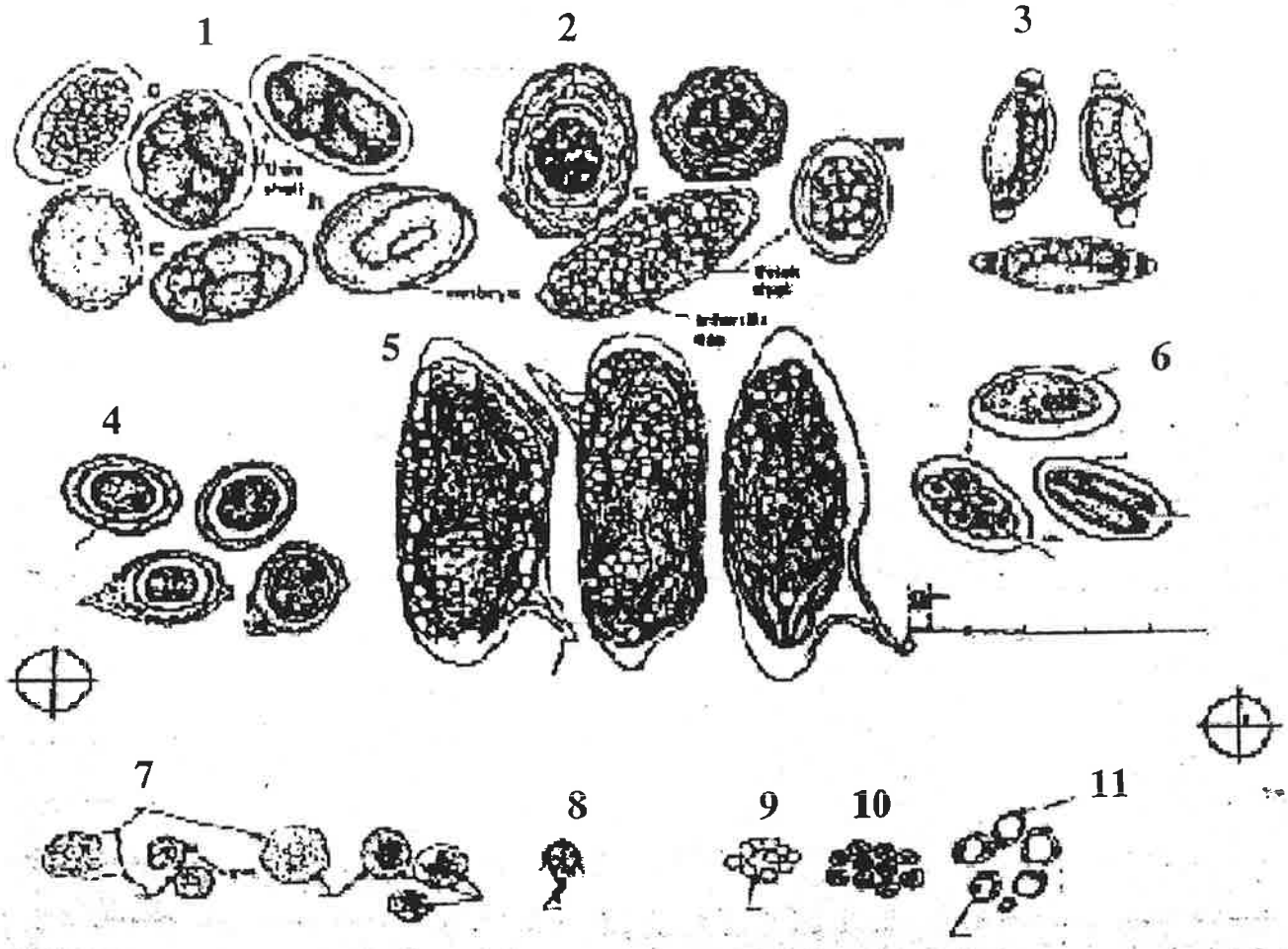
يعتمد تركيز الطفيليات علي احد مبدئين : مبدأ الطفو علي السطح (Floatation) ومبدأ الترسيب في قاع انبوب الاختبار Sedimentation اما طريقة التركيز بالطفو فانها تسمح بفصل حويصلات الاوليات وبيض بعض الديدان من بقايا مكونات البراز من خلال استخدام سائل كثافته النوعية Specific Gravity عالية مثل كبريتات الزنك حيث تطفو هذه الاطوار الطفيلية علي سطح السائل بينما تترسب بقايا مكونات البراز في اسفل الانبوبة . أما طريقة التركيز بالترسيب سواء باستخدام قوة الجاذبية Gravity او بطريقة الطرد المركزي Centrifugation فهي تركز العينات في أسفل الانبوبة بعد التخلص من كثير من مكونات البراز الاخري . ولهذه الطريقة عدة مميزات علي طريقة التركيب بالطفو ، فهي تسمح بتركيز مختلف الاطوار الطفيلية المتوقع وجودها في البراز من اطوار الاوليات وبيض الديدان ويرقاتها . بينما يصعب تركيز بعض بويضات الديدان الكبيرة ذات الكثافة العالية وكذلك بويضات الديدان المفلطحة والشريطية ذات الاغطية (Operculated) بطريقة الطفو. انظر شكل(٥٥ ، ٥٦)

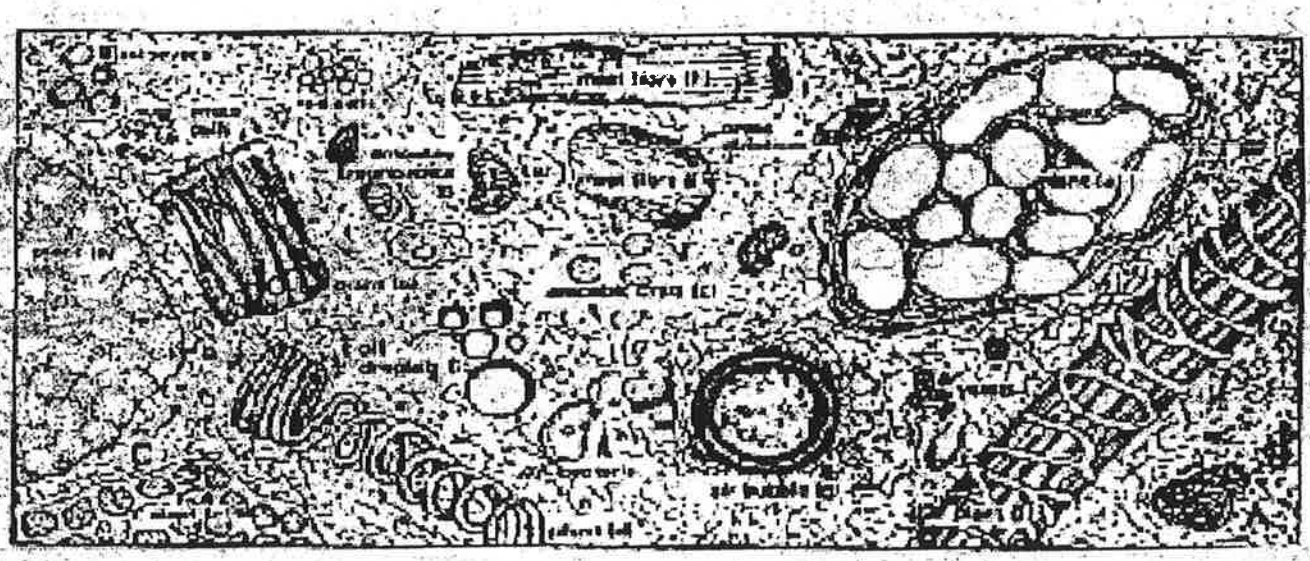
التركيز بالترسيب :

ويمكن اجراؤها علي عينات البراز الطازجة او المحفوظة بمثبت شكل أنظر (٥٧)

طريقة الفورمالين - ايثر (Formalin-Ether Technique) وهي الطريقة المتبعة حاليا وتتلخص فيما يلي :

١- يمزج حوالى نصف معلقة بوضع جزء من عينة البراز الطازج في ١٠ مل من محلول الفورمالين تركيز ١٥٪ ويترك المزيج لمدة ١/٢ ساعة حتي يتم تثبيت العينات بالفورمالين . اما اذا كانت العينة محفوظة في محلول Poly Vinl Alcohol(PVC) فيؤخذ حوالي ٥مل من مزيج العينة المحفوظة ويضاف اليه ٥مل محلول ملحي فسيولوجي (أو ماء عادي) ويمزج جيدا.

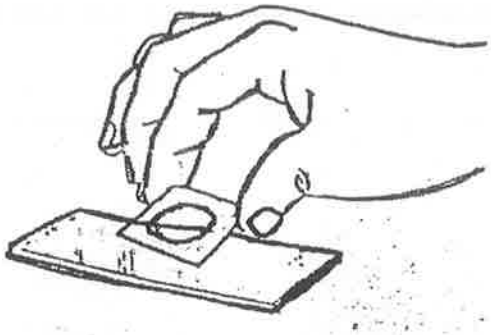


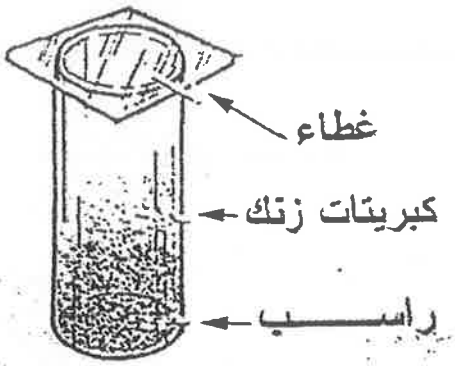


شكل (٥٥) : بويضات الديدان المختلفة

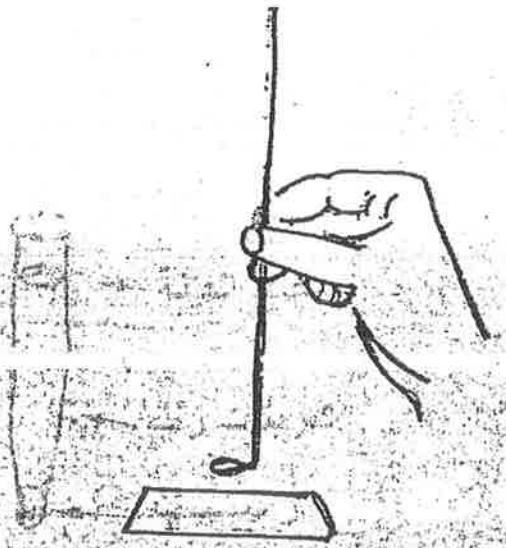
١ – بويضة الانكلستوما ٢ – بويضة الأسكارس ٣ – الترايكوموناس
٤ – بويضة التينيا ٥ – بويضة البلهارسيا ٦ – بويضة الديدان
الدبوسية ٧ – الانتاميباهستوليتكا ٨ – الجيارديا ٩ – خلايا الدم
الحمراء (أ) والبيضاء (ب) ١٠ – أشياء أخرى ١١ – فقاعات هوائية

أ





ب





(أ) الطريقة اليدوية

(ب) تكوين الطبقة العليا بواسطة جهاز الطرد المركزي

شكل (٥٦) : فحص البراز بواسطة طريقة الطفو



شكل (٥٧) : طريقة الفورمالين ايثير لفحص البراز

(١) مكونات الأنبوبة بعد الطرد المركزى (٢) تقليب الجزء العلوى (٣) التخلص من الجزء العلوى (٤) أخذ جزء من الراسب للفحص.

٢- تحضر انبوبة طرد مركزي (Centrifuge Tube) سعتها ١٠مل ويوضع فوقها قمع زجاجي أو بلاستيكي يوضع فيه طبقتان من قماش الضمادات (الشاش) تصفي عينة البراز المثبتة من خلال هذا القماش بوضعها عليه للتخلص من الألياف النباتية والشوائب الكبيرة الحجم الموجودة في عينة البراز.

٣- يزال القمع ومابه ويضاف للانبوبة كمية من محلول ملحي فسيولوجي (او ماء عادى) او فورمالين ١٠٪) كافيه لملئ الانبوب تقريبا ، ثم توضع الانبوبة في جهاز الطرد المركزي ويدار الجهاز لمدة دقيقتين علي سرعة منخفضة (١٥٠٠ دورة/دقيقة تقريبا) .

٤- يتخلص من جميع مافي الانبوبة عدا الجزء المترسب في القاع حيث يضاف اليه كمية من المحلول الملحي أو الماء العادى أو الفورمالين ١٠٪) مرة ثانية حتي تمتلئ الانبوبة تقريبا . تمزج مكونات الانبوبة جيدا ثم توضع في جهاز الطرد المركزي في الخطوة(٣) اعلاه . تكرر هذه الخطوة حتي يصبح السائل الطافي رائقا

٥- يتخلص من السائل الطافي الناتج ثم يضاف ٧مل من ١٠٪ فورمالين الي الجزء المترسب وتمزج المكونات جيدا بواسطة هزاز الانابيب (Tube Shaker) لمدة ٣٠ ثانية، ثم توضع الانبوبة في جهاز الطرد المركزي كما في الخطوة(٣) .

٦- تميز مكونات الانبوبة في هذه المرحلة الي اربع طبقات : الراسب الذي يحتوي علي الاطوار بعد تركيزها ، ثم طبقة من الفورمالين يليها طبقة من الشوائب الصلبة الموجودة في البراز والتي تظهر بشكل حلقة سميكة تفصل بين طبقة الفورمالين وطبقة الإيثير وهي الطبقة الرابعة الطافية علي السطح ، يستخدم عود خشبي طويل حيث يحرك حول طبقة الشوائب بشكل حلقي ليحررها ويسهل عملية التخلص من الطبقات الثلاثة العليا بامالة الانبوبة جيدا حتي لايتبقي فية سوي الراسب وبعض قطرات من سائل الفورمالين .

٧- يعمل تحضير رطب من الراسب باستعمال التحضيرات الملحية كما يمكن صبغ العينة عند فحصها .

فحص الدم المختفى في البراز: (Occult Blood) تستخدم طريقة الأورثوتوليدين

وهو للكشف عن الدم المختفي في البراز حيث يكشف عن فقدان الدم المرتبط ببعض الامراض مثل سرطان القولون والمستقيم ، وعادة ماتعني النتيجة الايجابية للفحص وجود دم بشكل اكثر من الطبيعي وفي هذه الحالة يجب ان تتم متابعة الحالة طبيا اما النتيجة السلبية فهي تعني عادة عدم وجود دم زائد عن الطبيعي وظاهر في عينة البراز التي تم فحصها ، تعتمد دقة الفحص علي حالة المريض في وقت اعطاء العينة وعلي بعض العوامل التي قد تكون قد اثرت علي العينة مما يؤثر علي نتيجة الفحص .شكل (٥٨)

ولاجراء الفحص تستخدم مادة صمغ الجوابك (Gum Guaiac) وهي مادة طبيعية مستخلصه من نوع خاص من الاخشاب حيث تتم اكسدة هذه المادة باستعمال ثاني اكسيد الهيدروجين (H_2O_2) وينتج بعد الاكسدة مركب ازرق اللون ويقوم الهيموجلوبين الموجود في عينة البراز نتيجة تكسر كريات الدم الحمراء بالمساعدة في عملية الاكسدة التى تقوم بتحضير مادة موجودة في (Gum Guaiac) وتدعي (Alpha Guaiaconic Acid) لتتأكسد بوجود (H_2O_2) لتعطي مركبا ازرق اللون.

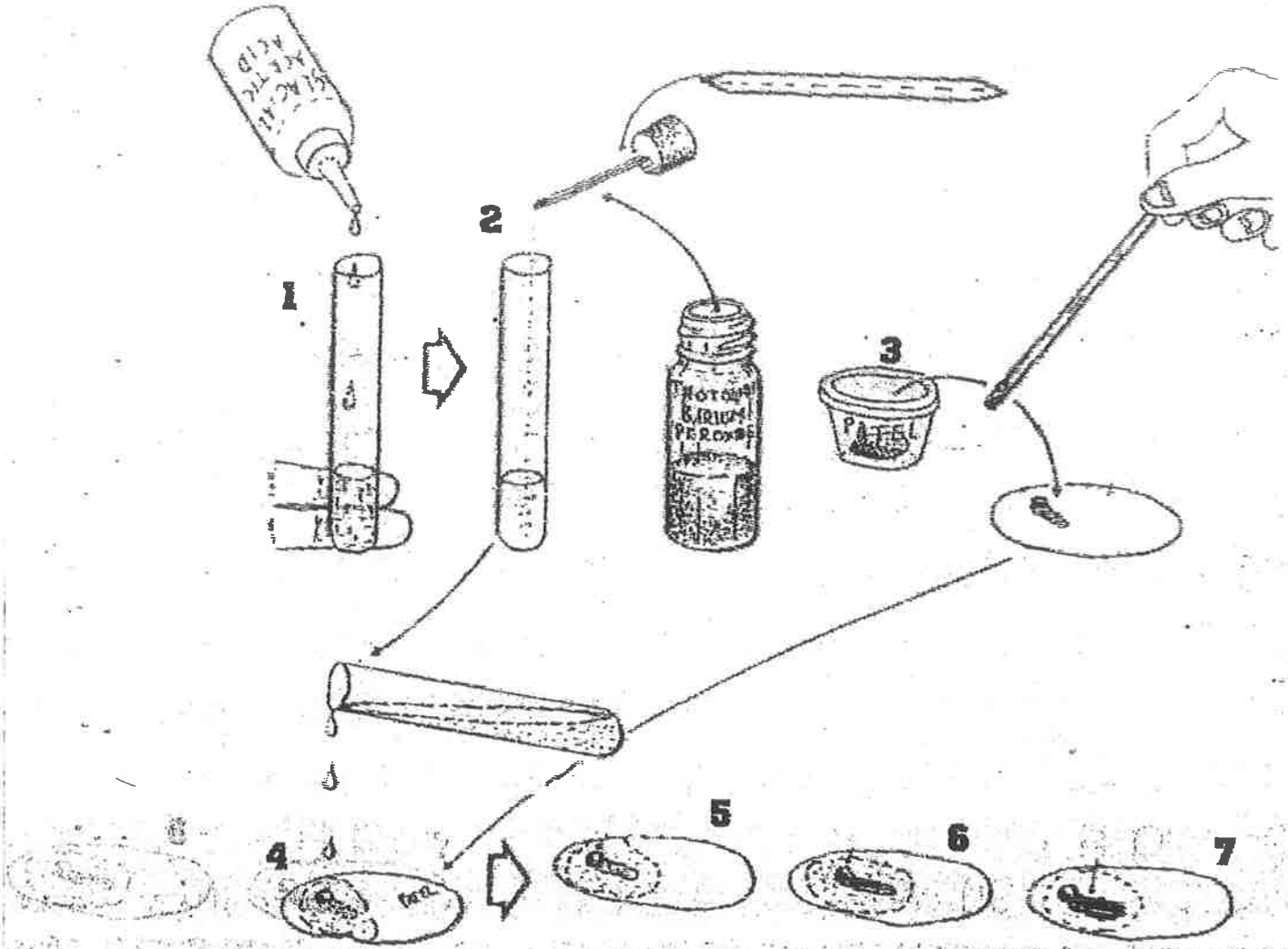
$$\text{Guaiac} + \text{HB} \xrightarrow{H_2O_2} \text{blue colour compound}$$

وهكذا فان الفحص يتم بوضع كمية بسيطة من صمغ الجوابك علي ورقة ترشيح ثم بوضع عليها كمية بسيطة من عينة البراز المراد فحصها ويتم التفاعل باضافه بضع نقاط من ٣٪ (H_2O_2) واذا كان هناك دم مختفى في عينة البراز فسوف يتكون لون ازرق علي ورقة الترشيح (يتم تحضير ٣٪ H_2O_2 باستعمال الايثانول).

الأهمية التشخيصية : Diagnosis Significance

إن أهمية هذا الفحص هو الكشف عن كل الطفيليات الموجودة في الجهاز الهضمي والتي تؤدى إلى نزف كميات صغيرة من الدم . حيث انه من المعروف ان الانسان الطبيعي يطرح في البراز حوالي ٢مل دم يوميا ، مع ملاحظة بعض الحيثيات التالية :

١- مركبات الحديد ، واللحوم ، وبعض الخضروات قد تعطي نتائج ايجابية كاذبة .



شكل (٥٨) : فحص البراز للكشف عن الدم المختفي

١- إضافة حامض الخليك الثلجي ٢- إضافة ٢٠٠ مجم من بودرة أوتوتوليدين وبيروسيد الباريوم في أنبوبة إختبار ٣- أخذ عينة من البراز ووضعها على ورقة الترشيح ٤- أضف محتويات رقم (٢) إلى رقم (٣) ولاحظ اللون خلال ٣٠ ثانية ٥- لا يتغير اللون (سالب) ٦- ظهور لون أخضر (موجب +) ٧- ظهور لون أزرق مخضر (موجب ++).

٢- إستخدام كمية كبيرة من فيتامين "ج" قد تعطي نتائج سلبية كاذبة .

٣- الاختبارات المستعملة تختلف حساسيتها . فالاكثر حساسية قد تعطي نتائج ايجابية كاذبة والاقل حساسية قد تعطس نتائج سلبية كاذبة .

٤- وجود الدم المختفى في البراز وخاصه في عينات متتالية يجب ان يؤخذ فى الاعتبار لوجود قرحة بالمعدة أو الأمعاء .

جمع العينة : Simple Collection

يجب عدم جمع العينة خلال فترة الدودة الشهرية او عند وجود نزيف او دم في البول، وبما ان نزيف الامعاء قد لايكون دائما بل متقطعا فيجب جمع ثلاث عينات للفحص خلال ثلاث مرات مختلفة ولزيادة الفرص في العثور علي الدم المختفى فان عينات منفصلة يجب ان تؤخذ من منطقتين مختلفتين من كل عينة براز خاصه من المناطق الغامقة اللون او المتغيرة اللون من عينة البراز .

المواد التي قد تؤثر علي نتيجة الفحص :

- بعض الادوية التي تؤخذ عن طريق الفم مثل الاسبرين (مركبات السلسلات)، وهذه الادوية قد تسبب تهتكات معوية قد ينتج عنها نزف خفي ويجب وقف اعطاء مثل هذه الادوية من قبل الطبيب لمدة يومين وخلال مدة الفحص .
- فيتامين C اذا كان زائدا الي ٢٥٠ مجم في اليوم بسبب نتائج سلبية كاذبة .

وعند الفحص الميكروسكوبى لعينة البراز يمكن للفاحص رؤية اجزاء من الطعام غير المهضوم Undigested food خلايا صديدية Pus cells ،كرات دم حمراء R.B.Cs وبكتريا بالاضافه الي انتاميبا هيستوليتكا Entamoeba histolytica، بويضات البلهارسيا .Bilharzia Ova .

فحص طفيليات القناة الهضمية

١- الاسكارس (الديدان الحبلية) Ascaris

الديدان الحبلية هى ديدان حبلية بيضاء اللون يصل طول الذكر فيها إلى ١٥ سم ولأنثى إلى ٤٠ سم وهى توجد ملتصقه بواسطة الشفاة الثلاث بجوار الأمعاء.

التشخيص : تشاهد بويضات دودة الاسكارس المخصبة والغير مخصبة في عينات البراز يمكن مشاهدتها وهي خارجه من فتحة الشرج إذا أخذت عينة وفحصت تحت الميكروسكوب هي تعتبر اكبر دودة حبلية تتطفل في امعان الانسان أنظر شكل (٥٩).

أوصاف للبويضات تحت الميكروسكوب

- تكون ذات لون بني مصفر (Yellow-Brown) و ذات طبقة قشرية مغلقة من الخارج
- دائرية او بيضوية الشكل و تحوي بداخلها علي جسيمات صلبة محببة .
- بينما تكون البيوضات الغير مخصبة داكنة اللون أنظر شكل (٥٥).

كيفيـــة العـدوى Mode of Infection

غالبا ماتكون الاصابة نتيجة ابتلاع بويضات الاسكارس الناضجة مع الخضار النيئة المزروعة في التربة المخصبة بفضلات الحيوان أو الانسان المصاب . كذلك من المياه الملوثة والتربة حيث تنتقل مباشرة الي الفم عن طريق اليد الملوثة .

علامات الإصابة Intection symptoms

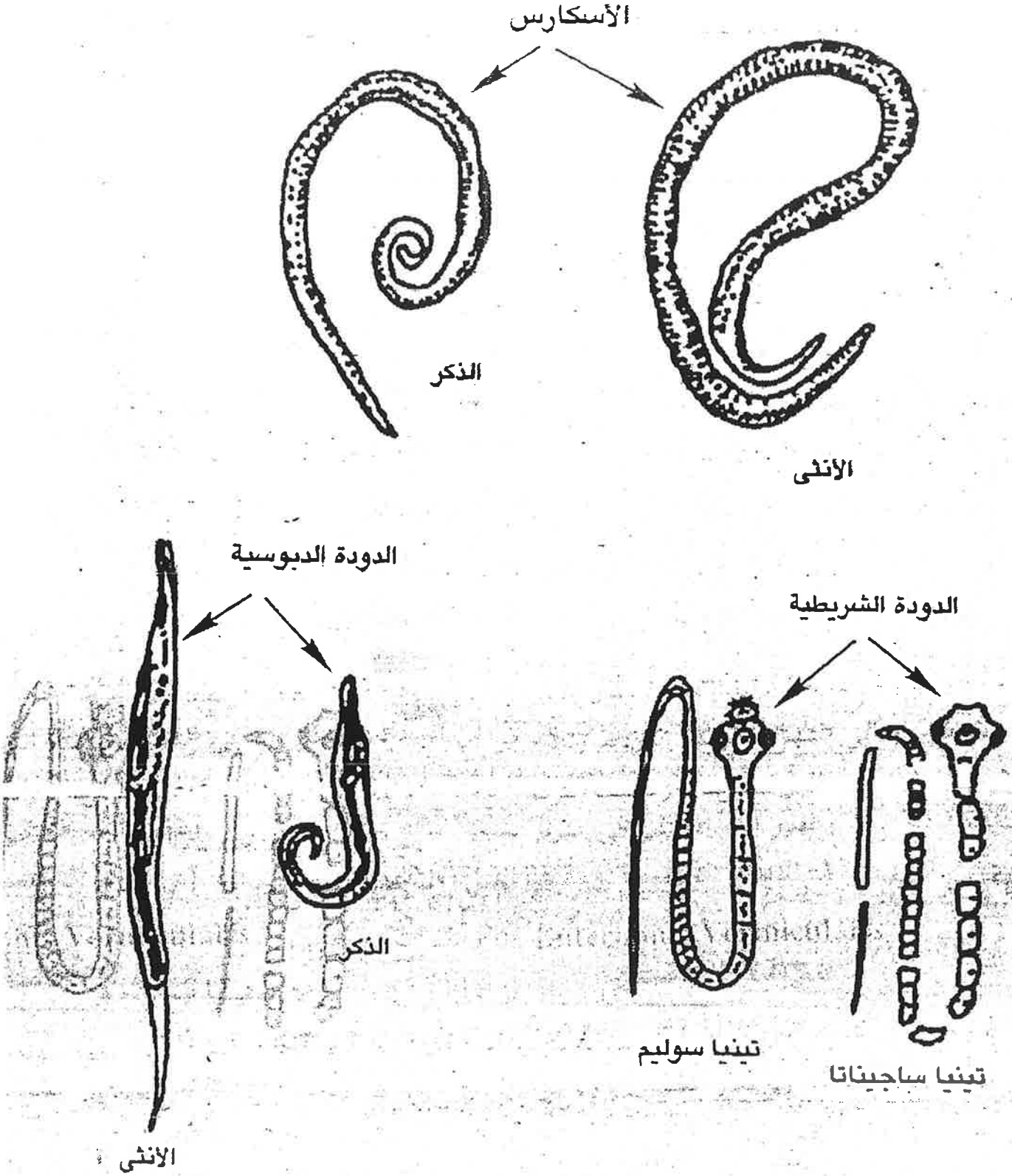
ظهور طفح جلدي واسهال وآلام في الرأس وفي البطن، عصبية شديدة وانحطاط في القوي الجسدية والعقلية وقد يصاب المرء بالسعال عند آخذ عينه من دم المريض فى هذا الوقت فيظهر ارتفاع بأعداد الكريات البيضاء حامضية الصبغة Eosinophile والجدير بالذكر ان هذه الديدان قد تؤدي الي انسداد الامعاء أو الي التهاب الزائدة الدودية ونادرا ما قد تثقب الامعاء وتؤدي الي التهاب الاحشاء (الغشاء البريتونى) . وتسبب النزف وظهور الدم المختفى فى البراز .

٢- الديدان الدبوسية أو دقيقة الذيل (القاعدية)

Enterobius Vermicularis

طـريقـة الفحـــص :

إن الدورة الدبوسيـة هى دودة صغـيـرة الحجم يصل انثـاها إلى ٩ أو ١٢ مم وذكـرها يتـراوح طوله بين ٣ - ٤ سم وهى تعـيش فى الأمـعـاد الدقـيـقـة وبجدار القسم الأول من القولون أنظر شكل (٥٩) وعند المساء أو فى ساعات الليل تخرج الدوره الناجمة لتضع حوالى ١٢,٠٠٠ بويضة حول حواف فتحة الشرج .



شكل (٥٩) : فحص طفيليات القناة الهضمية (أ) .

كيفية العدوى : Mode of infection

تنتقل العدوى من إنسان مصاب عن طريق وضع البويضات على الجلد حول الشرج وهذه البويضات إما أن ينقلها المريض إلى نفسه (عدوى ذاتية) حيث توجد هذه البويضات تحت الأظافر أو ينقلها إلى الغير ، كما أن العدوى الذاتية قد تنتقل بعد فقص البويضات ودخول الديدان إلى القولون مرة أخرى عن طريقة فتحة الشرج .

الوقاية :

ترتكز الوقاية على إتباعها حول النظام العام من غسيل اليدين بعد الدخول إلى المرحاض وقص الأظافر وغسل الخضار والفاكهة جيداً .

وتستخدم طريقة الفحص هذه للتحري عن وجود الديدان الدبوسية (Entrobious Vermecularis) التي تهاجر نحو شرج الشخص المصاب ليلا ثم تضع بويضاتها حول منطقة الشرج (anus) مما يجعل فرصة العثور علي هذه البويضات في عينات البراز ضئيلة جدا ، ويستخدم لهذه الطريقة شريطا لاصقا من السيليولوز او السيلوفان العادي كما ان هناك عدة شركات تجارية لبيع هذه الاشرطة مصنعة باشكال تسهل استخدامها في جمع العينات من منطقة الشرج وفحصها للتحري عن بويضات الديدان الدبوسية .

ويراعي ان تجمع العينات لهذا الغرض في الصباح كما يراعي فحص مالايقل عن اربع عينات متتالية سلبية قبل اعتبار المريض حاليا من الاصابة .

التشخيص :

تفحص العينة بالميكروسكوب للبحث عن البويضات وهى بيضاوية الشكل شفافة عديمة اللون وبها كتلة حبيبية .

علامات المرض :

ظهور هرش حول الشرج او المخرج خاصه عند المساء أو في الليل بسبب زحف الديدان علي جلد المخرج وتركها لمواد سامه عليه ، كما يسبب الطفيل الام طفيفة في البطن غثيان فقد الشهية واسهال من حين لاخر .

٣- الديدان الشريطية Taenia

ويوجد نوعان يصيبان الإنسان هم : تينيا ساجيناتا Taenia Saginata وتسمى تينيا البقر وتينيا سوليم وهى تينيا الخنزير يتركب رأسى وعنق وجسم مؤلف من أجزاء صغيرة .

التشخيص المعملي Laboratory diagnosis

يفحص البراز للتعرف علي وجود الاسلات الحبلي ، أو عند وجود كرات الدم البيضاء من نوع حامضية التفاعل (Eosinophil) .

الأوصاف العامة للبيض والدودة :

تكون بويضات هاتين الدودتين الشريطتين متماثلة ويمكن ان توجد في البراز ، كما يمكن ان توجد البويضات حول الشرج والبيض مدور ولونه مصفر قاتم والبيض لايطفو في محلول ملحي ولون الدودة بيضاء وطولها ٣ - ٥ امتار وبها ١٠٠٠-٢٠٠٠ قطعة - أنظر شكل (٦١) .

كيفية العدوى Mode of infection

تنتقل العدوي الي الانسان عن طريق تناول لحوم الابقار والجاموس والغنم والماعز المصابة بيرقات الدودة اثر تناولها علفا ملوثا ببراز مريض وتنتقل اليرقات الي المعدة ومنها الي الامعاء الدقيقة حيث تعيش فيها بامتصاصها للمواد الغذائية .

وتتم الاصابة من خلال تناول اللحم المصاب غير المطبوخ جيدا وفي حالة وجودها في امعاء الانسان تسبب عسر هضم، وفقر دم واضطرابات معوية شديدة .

علامات الاصابة Symptoms

يشكو الإنسان المصاب من إنحطاط عام ودوار أو إنخفاض للشهية وإسهال من وقت لآخر وظهور آلام فى البطن شبيهه بنوبات إلتهاب الزائده الدودية .

الديدان الشريطية القزمية Hymenolepis Nana

أو الشريطية القزمة Dwarf tapeworm

التشخيص : Laboratory dncegnos's المعمل توجد في عينات البراز المرسلة الي المعمل وكثيرا ماتشاهد عند الاطفال ويبلغ طول الدودة البالغة من ٢,٥-٤سم ونصف

قطرها ملم واحد ، ويمكن للدودة ان تتواجد باعداد كبيرة جدا (١٠٠٠-٨٠٠٠ دودة) وهي مدورة وشفافة وتحتوي علي كتلة مدورة (الجنين) ذات ستة فصوص منتظمة بشكل المروحة وتري غالبا حبيبات في المركز وزوائد قطبية - انظر شكل(٦٠).

كيفية العدوي : Mode of infection

عن طريق بلع الطعام الملوث او الأيدى الغير نظيفة .

علامات المرض Symptoms

آلام في الرأس والبطن مع غثيان وقئ وانعدام الشهية وسيلان للعاب من الفم اثناء الليل ، كما يصاب المريض بتوتر في الاعصاب واسهال مع ظهور مخاط في البراز .

الوقاية Protection

تعتمد الوقاية على عدم تناول اللحوم النية أو الغير مطهية جيداً .

٤- الدودة الشعرية الذيل Trichuris Trichura

تشخص من عينات البراز مجهريا وبالعين المجردة وهي برميلية الشكل وتحتوى على كتلة حبيبية متجانسة .

وتسمي بالديدان السوطية (Whip Worm) وتقطن في امعاء الانسان والزائدة الدودية والاعور والمعي ويبلغ طولها ٣-٥سم انظر شكل (٦٠)

الاصابة Mode of Infection

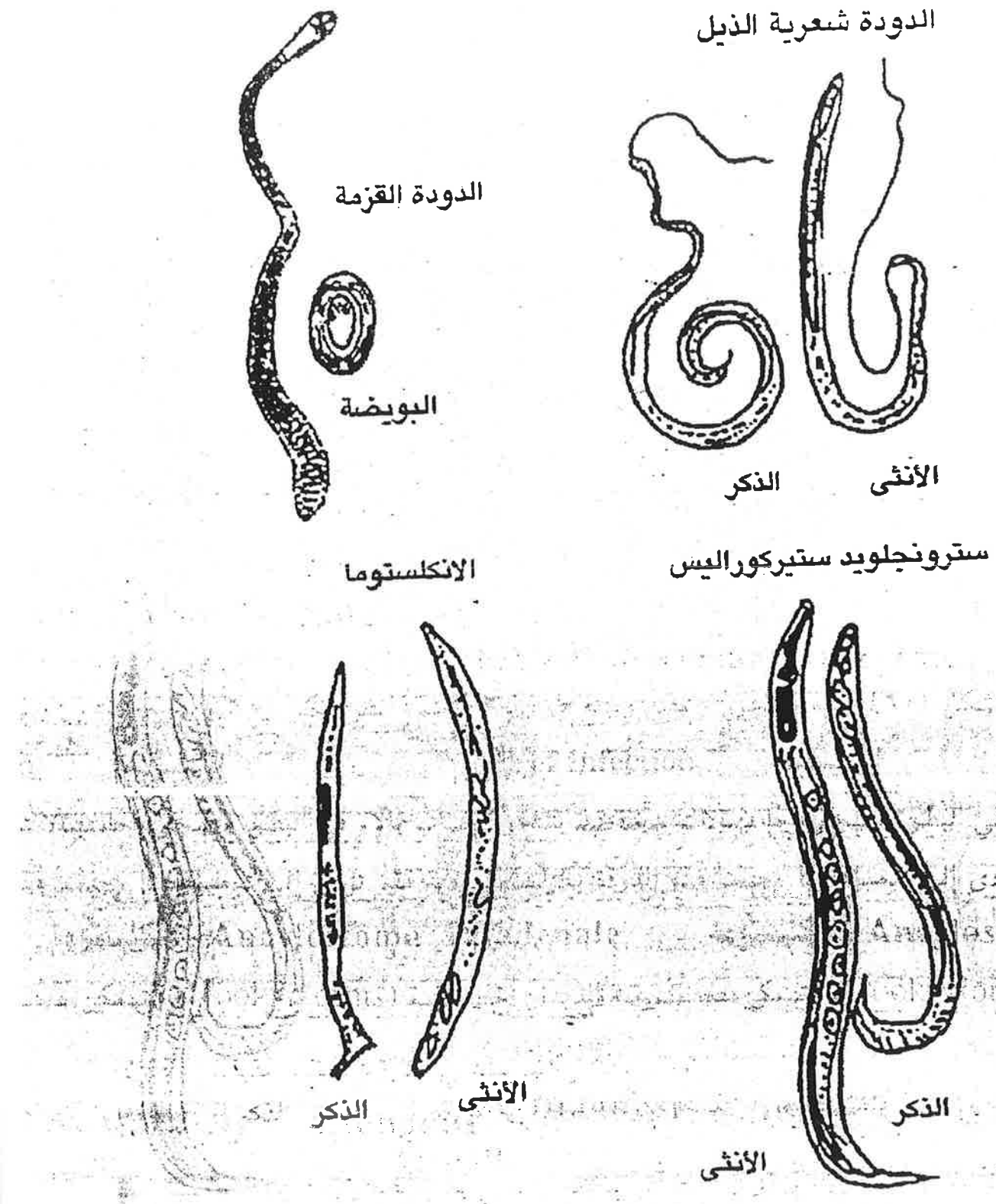
في الحالات الشديدة قد يشكو المصاب بالام في البطن مصحوبه باسهالات مخاطية مدمه إذا وجدت هذه الدودة بالزائدة الدودية فقد تؤدى إلي تدميرها

٥- الانكلستوما Ancylostoma Duodenale

وهي من مجموعة الديدان الخطافية (Hook Worms) وتسكن هذه الدودة في الامعاء الدقيقة للانسان والاثني عشر أنظر شكل (٦٠)

التشخيص Diagnosis

تشخص عن طريق فحص البراز ، والفحص بالعين المجردة يعتبر هاما وذلك لاحتمالية وجود الديدان البالغة والتي يمكن وصفها فهى ذات لون رمادي ابيض واسطوانية وغالبا



شكل (٦٠) : فحص طفيليات القناة الهضمية (ب) .

ماتكون مدمه بسبب وجودالدم ونهايتها الامامية منحنية بعيدة عن المحور علي شكل الكلاب أو الخطاف وكذلك الفحص المجهري يعتمد احيانا علي دراسة محتويات الاثني عشر عن طريق ادخال انبوبة خاصه وسحب محتوياته ومشاهده البيوض او الديدان البالغة شكل (٥٥).

كيفية العدوى Mode of infection

تكون اليرقات الناضجة في التربة الرطبة ، فإذا مالمس جلد الانسان هذه التربة الملونة ، تدخل اليرقات الي الدم وتنتقل بواسطته الي الرئتين -> الحنجرة --> البلعوم --> المعدة --> الاثنى عشر --> الامعاء ، ويعيش الذكور في امعاء الانسان حوالي خمس سنوات ، اما الاناث فتعيش حتي خمسة عشر سنه .

وتوجد هناك فحوصات غير مباشرة قد تفيد في التشخيص منها :

أ- فحص الدم المختفي (Occult Blood) وغالبا ماتكون النتيجة ايجابية .

ب - فحص الدم لمعرفة وجود حالة فقر دم وكذلك تعداد للخلايا الحامضية .

٦- الدودة الخيطية

Strongyloids stercoralis (the thread - worm)

التشخيص المعمل : Laboratory diagnosis

تشخص بوجود بويضات هذه الدوده فى براز الشخص المصاب بها فى حالة الإسهال أو وجود يرقه هذه الدودة أنظر شكل (٦٠).

طريقة العدوى : Mode of infection

تتم العدوى عن طريق الخضروات التى تؤخذ من الأراضي واستعمالها بدون غسلها جيداً .

علامات الإصابة : Symptoms

يشكو المريض من إلتهاب فى الجلد وحكة وكحة وفقد الشهية والام فى البطن وإسهال .

الوقاية : Protection

تتم الوقاية بغسل الأشياء التى يتناولها الشخص جيداً وعدم ملامسة التربة الرطبة .

بويضة بلهارسيا المستقيم Schistosoma

البلهارسيا داء يفتك بالامعاء والكلي وبعض الاعضاء الأخري بواسطة أنواع معينه من الشستوسوما .

تشخيص المرض : Laboratory diagnosis

يقتصر التشخيص علي وجود البويضيات فى البراز تحت المجهر حيث يعثر علي بويضات الشستوسوما أنظر شكل (٥٥) .

كيفية العدوي Mode of infection

تنتقل العدوي الي الانسان عن طريق دخول اليرقة الموجودة في الماء والمعروفة باسم السركاريا الي الاوعية الدموية بواسطة ثقبها للجلد ثم الوريد البابي وتتلاقي الانثي مع الذكر التي يحيضها ويحملها الي الكبد ويسير بها ضد تيار الدم إلى القولون فى المستقيم وهناك تضع الانثي بويضاتها حيث ان هذه البويضات تفرز مادة محللة للانسجة المحيطة ثم الامعاء وتخرج مع البراز إلى المياه العذبة .

علامات المرض Symptoms

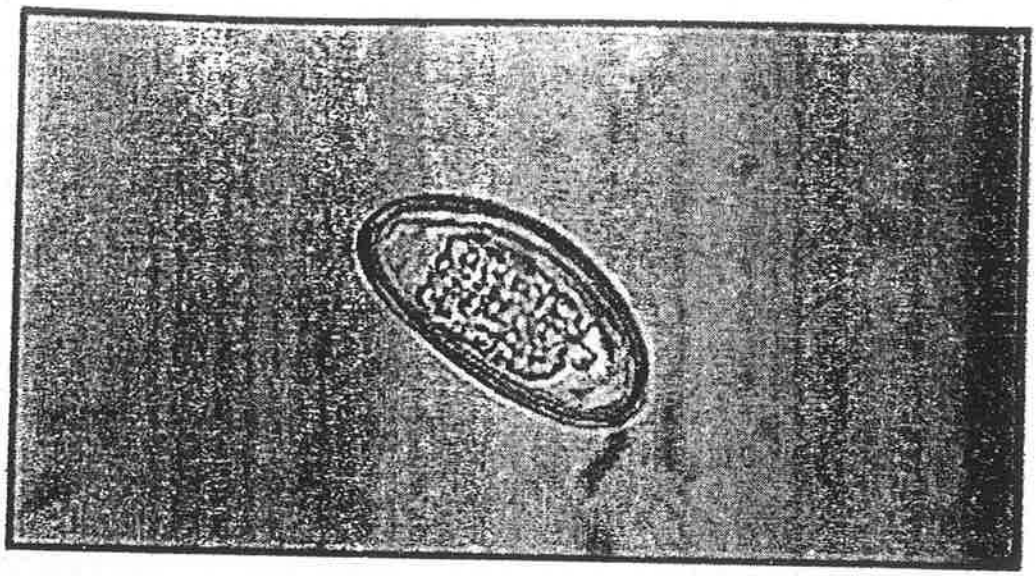
١- ارتفاع درجة الحرارة.
٢ -إرتفاع الضغط الدموى فى الوريد
٣- شعور المريض بالصداع والام في البطن والرأس وينتابه الاسهال وانعدام الشهية
٤ -وجود كميات من الدم فى البراز
٥ - تضخم فى الكبد والطحاب والتهاب الكلى والمثانة البولية والغدد الليمفاوية
٦ - إرتفاع معدل الكرات البيضاء الحامضية الصبغ Eosinophil واضطرابات الأمعاء .

الاصابة Mode of infection

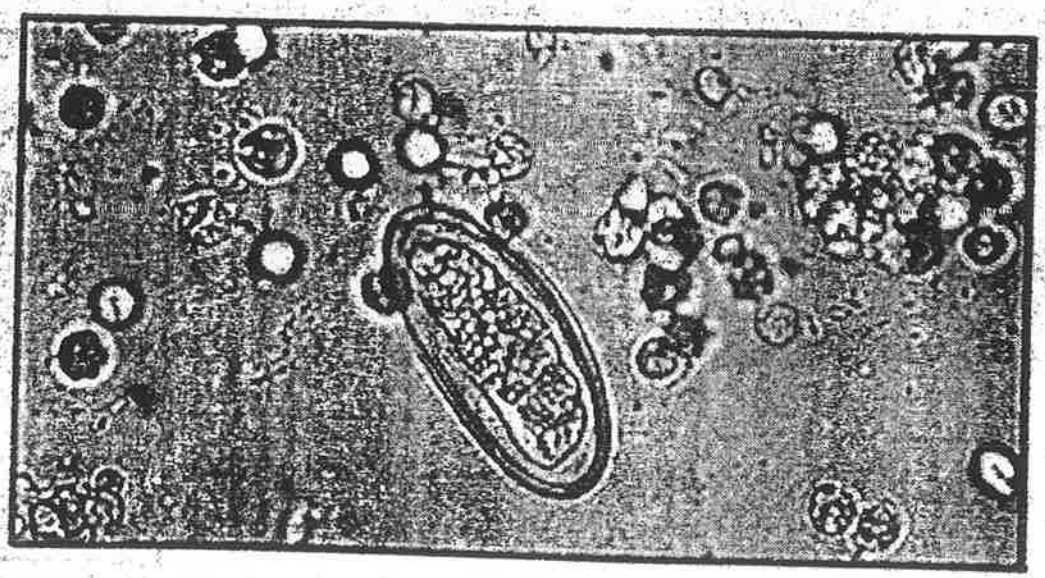
اهم مايشير الي الاصابة هو مرض فقر الدم ، اما اهم ماميز الاصابة فهو وجود حكة عند مدخل اليرقة الي سطح الجلد خاصة القدمين المكشوفين والطفح الجلدي ، وكذلك التهابات في الشعب الهوائية ، آلام في الرأس وضعف عام وفقد الشهية ، وقد تسبب هذه الديدان فقر الدم ونقصا في كمية الحديد الموجودة في الدم وفي الكريات الحمراء .

الوقاية : Protection

١ -عدم النزول إلى المياة الملوثة أو أستخدام مائها .
٢ -منع وصول مخلفات الأنسان أو الحيوان إلى المياة النقية .
٣ -القضاء على القواقع .
٤ -نشر الوعى الصحى .



عينة لا تحتوى على صديد



عينة تحتوى على صديد

شكل (٦١) : بويضات الدودة الدبوسية

فحص البراز للكشف عن الأوليات Protozoa

١- يجب فحص البراز بحالته الطازجة بحيث لايزيد عن ساعة واحدة لان الأوليات سرعان ماتتوقف عن حركتها. أنظر شكل (٦٢) .

٢- اذا وصل الي المعمل عدد كبير من نماذج البراز في نفس الوقت فيبدأ بفحص النماذج الاكثر ليونه والمحتوية علي المخاط والدم وذلك باخذ جزء من البراز الخارجي حيث يظهر المخاط .

٣- يفحص في محلول كلوريد الصوديوم مع تدفئته قليلا اذا كان درجة الحرارة منخفضة او يفحص مباشرة اذا كان البراز في حالته السائلة وتستعمل العدسة الشيئية (٤٠×) .

٤- اذا اضيفت قطرة من الايوزين Eosin فى محلول ملحي ٢٠جم/لتر فان العينة كلها تتلون باستثناء الحيوانات الاولية Protozo الآتية التي تبقي عديمة اللون وبذلك يمكن التعرف عليها بسهولة وهي:

١- انتاميبا هستوليتيكا Entamoeba histolytica

٢- جياردیا لاميليا Giardia lamblia

٣- المشعرة البشرية (ترايكوماناس هومينس) Trichomonas hominis

أولا- انتاميبا هستوليتكا Entamoeba histolytica

التشخيص المعملى Laboratory diagnosis

يفحص البراز للتعرف على الطور المتحوصل cyst أو الطول المتحرك Trophozoit .

طريقة العدوى Mode of infection

إن السبب لداء الدوسنتاريا الأميبية يرجع إلى دخول الإنتاميبا هستوليتكا جسم الإنسان والتى تعيش عادة فى القولون (الامعاء الغليظة) وتتغذى على الفضلات وأحيانًا تهاجم جدار الأمعاء وتتغذى على كرات الدم الحمراء .

الحركة : Movement

تتحرك في اتجاه واحد ، تصدر عنها أرجل كاذبه تندفع بها الي الامام وهي رمادية مبقعة بالاخضر المصفر التي يمكن ان تحتوي علي فجوات والنواة لاتري في الاشكال المتحركة ولكن عندما تلون بالمحلول اليودي فانها تري بوضوح ، ويبدو لها غشاء حبيبي وجسيم نووي مركزي صغير كثيف (نقطة سوداء) ويمكن ان يوجد في البراز السائل أو الاسهالي وبه فجوات تحتوي علي كريات حمراء مهضومة قليلا او كثيرا (١ الي ٢٠ من مختلف الاحجام) مما يدل علي التهامها للكريات الحمراء وهي تعيش في الامعاء الغليظة للانسان وتسبب الاسهال والتهاب الزائدة الدودية وتضخم الكبد وتسبب ضعف عام وهزال نتيجة فقر الدم وتسبب كذلك الام في الرأس وارتفاع في درجة حرارة الجسم ويكثر الاسهال ذو الرائحة الكريهة ويصبح مصحوبا بالدم. وتوجد أشياء أخرى طبيعية فى البراز كما فى شكل (٦١).

التشخيص المعملى : Laboratory diagnosis

تفحص عينة البراز بحالتها الطازجة بعد تدفئتها للتعرف علي الحويصلة Cyst او الطور المتحوصل أو التروفوزويت Trophozoite الطور المتحرك انظر شكل(٦٢)

ثانيا - الجارديا لامبيليا Giardia Lamblia

المواصفات للجاردي في الحالة الثابتة Cyst والطور النشط (Trophozoite)

تعتبر من اطول السوائط المعوية التي تصيب الانسان وغالبا ماتتواجد في الجزء العلوي من الامعاء الدقيقة وهي اما ان تتحرك للامام باهتزازات في اتجاه معين واحيانا تدور تري في البراز في حالته السائلة فقط وبها نواتان بيضاويتان كبيرتان يمكن رؤيتهما بوضوح ، انظر شكل(٦٢).

الفحص المعملى : Laboratory dnagnosis

أجمع عينات البراز وأعمل تحضير رطب باستخدام المحلول الملحي أواليود وأفحص التحضير تحت الميكروسكوب) .

المواصفات الخاصة في الحالة الكيسية Cyst

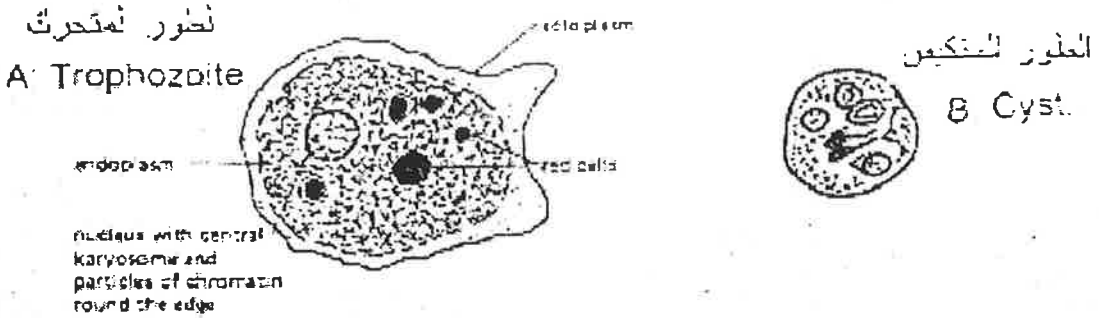
وهي بيضاوية أحد قطبيها أكثر استداره من الآخر وبها ٢-٤ أنوية بيضاوية ويكون البراز مائيا او شبه صلب ويعتبر طور الحويصلة الكيسية هو الطور المعدي

علامات الإصابة : Mode of infection

بعد عدة أشهر من الاصابة تظهر كركره فى الأمعاء الام طفيفه بالبطن ، إسهال ، وتتكرر مرات البراز إلى خمسة أو سته مرات فى اليوم ويظهر معه مخاط ودم ذو لون أحمر فاقع.

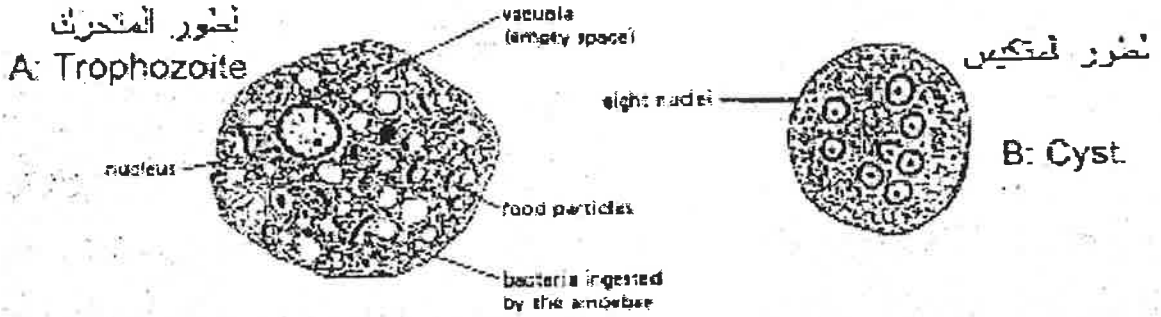
Entamoeba Histollytica

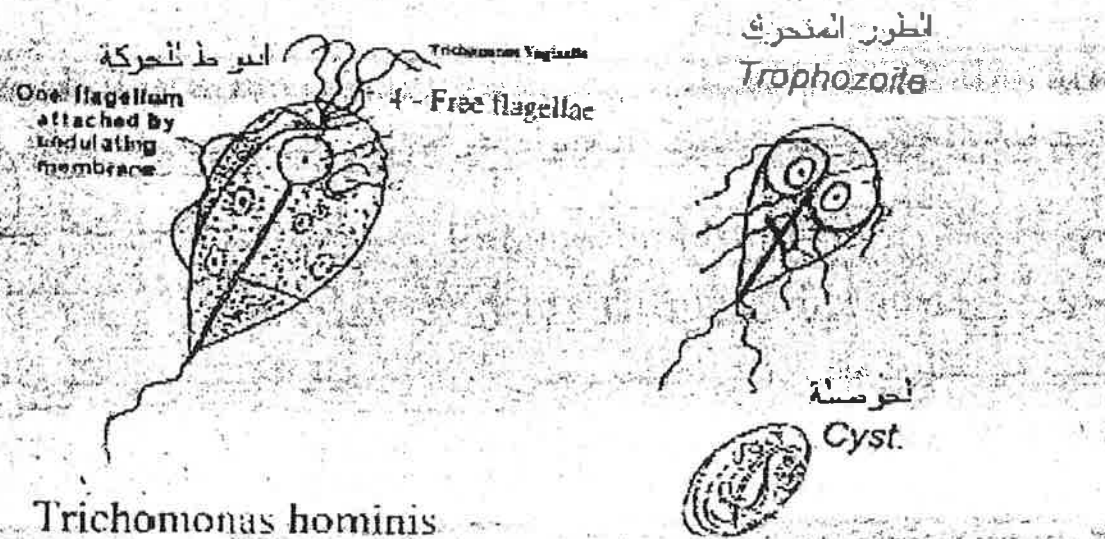
انتاميبا هستوليتكا



Entamoeba coli

الأميبا القولونية





Trichomonas hominis

المشعرات البشرية

Giardia Cyst

الجارديا في الحالة الكيسية

شكل(٦٢) : فحص البراز للكشف عن الطفيليات الأولية

علامات الإصابة المزمنة :

إذا لم يعالج المريض من هذا الداء فإن الدوسنتاريا تصبح مزمنة وأهم عوارضها ضعف عام، فقر دوم ، آلام فى الرأس ، إنحطاط عام ، كركره فى الأمعاء ، براز متقطع غير جامد .

ضعف عام وهزال ونقص الوزن والام في البطن وذلك عند بمهاجمة الطفيل جدار الامعاء وحدوث التهابات بها وهذا الطفيل ضار وله تأثير سام علي الانسجة ويسبب اضطرابات في الامعاء ويسبب ايضا ارتخاء في الجسم وتوتر في الاعصاب والام طفيفه في أعلي البطن يسببه اسهال وقد تظهر علامات الحساسية علي الجلد من بثور او بقع كبيرة حمراء اللون .

أنتقال العدوى :

تنتقل العدوى عن طريق الفم فقط عند شرب المياه الملوثة أو الخضار أو الفاكهه الملوثة، حيث تدخل هذه الحيوانات إلى الاثنى عشر وتتعلق بها .

الوقاية : Protection

تقتصر الوقاية على عدم تناول المياه الملوثة وكذلك المحافظة على أصول النظافة وخاصة عند الأطفال

ثالثا - المشعرة البشرية Trichomonas hominis

يظهر هذا الطفيل علي شكل حبة الكمثري بنهاية امامية عريضة ونهاية خلفية مدببة رفيعة ويحتوي علي نواه محتوية علي حبيبات كروماتينية - شكل رقم(٦٢).

الحركة : Movement

ذو حركة موجهة نشطة وكأنها تهتز وتدور في كل الاتجاهات بواسطة ٤ اسواط وهذا الطفيل له تأثير سام وضار علي انسجة الجسم وخاصة الحويصلة لهذا الطفيل والطور المعدي هو الطور النشط .

التشخيص المعملى : Laboratory diagnosis

يتم تحضير شريحة من عينة البراز باستخدام المحلول الملحي بطريقة التحضير الرطب وتشاهد تحت المجهر ويتواجد فى عينات البراز فى الحالة السائلة (Diarrhoae) ولم تثبت أعراض مرض لهذا الطفيل بشكل واضح.

Stool examination report تقـــرير عن فحـص البراز

Macroscopic examination	الفحص بمجرد النظر
Colour	اللون
Odour	الرائحة
Consistency	القواء
Reactions	التفاعل
Blood	الدم
Mucus	المخاط
Parasites	الطفيليات
Microscopic examination	**الفحص بالميكرسكوب**
R.B.Cs	كرات الدم الحمراء
Pus cells	خلايا صديدية
Undigested material	مواد غير مهضومة
Parasites	الطفيليات
Parasitic ova	البويضات
Parasitic cysts	الطفيليات الكيسية
Occult blood	الدم المختفى
Comment	التعليق

الباب الرابع

■ تحليل السائل المنوى Semen Analysis

- عَـــدُ الحـــيـــوانات المنوية
- أشكال الحـــيـــوانات المنوية
- مدلولات فحص السائل المنوى
- فـــحص البـــروســـتـــاتا

■ إختـبـــار الحَـمـــل Pregnancy Test

السـائل المنـوى Seminal Fluid

يعتبر السائل المنوي من الفحوص الهامة للرجال الذين مر حوالي سنه أو أكثر علي زواجهم من غير انجاب ، ويتكون السائل المنوي من بلازما السائل والحيوانات المنوية ، توفر البلازما الغذاء لما تحتويه علي نسبة عالية من الفركتوز ووسط أسموزي مناسب ووسيلة نقل للحيوانات المنوية ، كما قد تساهم في تنشيط الحيوانات المنوية.

تساهم الأعضاء التالية (شكل ٦٣)في نشوء وتكوين السائل المنوي :

١- **الخصيتين Testes** : وهى تعتبر مصدر الحيوانات المنوية وهى تشكل حوالي ٥٪ من حجم السائل المنوي ، تخزن الحيوانات المنوية في الاوعية المنوية المصدرة Vasa diferentia حتي القذف . تفقد الحيوانات المنوية حيويتها ونشاطها عندما تكون مخزونة بسبب زيادة حامضية السائل ونتيجة نقص الاكسجين في الحويصلات المنوية وتبقي الحيوانات حية حوالي شهرين كما فى شكل (٦٤ ، ٦٥) .

٢- **الحويصلات المنوية Seminal Vesicles** : تعتبر الحويصلات المنوية مصدرا لحوالي ٦٠٪ من حجم السائل المنوي . يتميز السائل المفرز من الحويصلات المنوية بأنه لزج متعادل او قليل القلوية واصفر يميل الي اللون القاتم في بعض الاحيان ، كما تفرز الحويصلات المنوية في السائل المنوي حاجته من الفركتوز الذي يمثل الغذاء الاساسي للحيوان المنوي بالاضافه الي الفيبرينوجين المسؤول عن تجلط السائل المنوي بعد القذف .

٣- **البروستاتا Prostate** : توفر البروستات حوالي ٢٠٪ من حجم السائل المنوي، يتميز افراز البروستات بانه سائل حليبي حامضي قليلا (٦,٥) بسبب زيادة تركيز حامض السيتريك الايون السالب الاساسي في السائل المنوي ، كما تفرز البروستات

في السائل المنوي كميات كبيرة من الانزيمات الهاضمة للبروتين واللازمة لتجلط فيبرينوجين السائل وتحللها بالاضافة الي انزيم . Acid phosphotase

٤- غدد لتر Littre وكوبرCowber: تعتبر مسؤولة عن تكوين ١٠-١٥٪ من حجم السائل المنوي .

جمع العينة Semen Collection :

يجمع السائل المنوي بعد التوقف عن الإتصال الجنسي لمدة ٤ أيام ، ويجب تجنب زيادة زمن التوقف كي لايفقد السائل المنوي خصائصه وخاصة نشاط الحيوانات المنوية يفضل أن تجمع عينة السائل المنوي في المعمل عن طريق الاستنماء اليدوي Masturbation لدراسة تجلط العينة وتميعها ، يجب ان تنقل العينة الي المعمل اذا جمعت خارجه خلال ربع ساعة وفي درجة حرارة ٣٧°م.

خطوات فحص السائل المنوى بالمعمل

١- **الفحص الظاهري :** تتميز عينة السائل المنوي الطبيعي الطازجة بشدة لزوجتها وعدم شفافيتها (اللون الحليبي الابيض) وتجلطها بعد القذف مباشرة وتميعها خلال ١٠-٢٠ دقيقة ، كما يقدر الرقم الهيدروجيني للسائل المنوي الطبيعي بـ ٧,٢ ويقل عن ٧ عند زيادة نسبة افراز غدة البروستات نتيجة خلل وراثي يتميز بعدم تكوين الاوعية المنوية المصدرة والحويصلات المنوية في الخصيتين .

٢- **اللزوجة Viscosity :** يتم التأكد من لزوجة السائل المنوي أثناء نقله الي أنبوبة قياس الحجم المدرجة إذ يتميز السائل المنوي الطبيعي بانتقاله نقطة نقطة. تلعب لزوجة السائل المنوي دورا حيويا في نشاط الحيوانات المنوية .

٣- **التجلط Coagulation:** يتجلط السائل المنوي الطبيعي ويتميع علي ثلاثة مراحل، تتكون الجلطة في المرحلة الاولي بفعل انزيمات التجلط التي تفرزها غدة البروستاتا علي الفيبرينوجين ، تبدأ الجلطة بالتميع في المرحلة الثانية بفعل انزيمات

التحلل والتي تفرزها غدة البروستات تتحلل بقايا الفيبرين الي أحماض أمينية وأمونيا في المرحلة الثالثة بفعل عدة انزيمات هاضمة للبروتين مثل Pepsin و Aminopeptidase

٤- لا يتجلط السائل المنوي في حالة عدم وجود الخويصلات المنوية لاسباب وراثية لعدم وجود الفيبرينوجين ، يكتمل تميع جلطة السائل المنوي خلال ٣٠ دقيقة ويجب التفريق بين شدة اللزوجة وتأخر تميع الجلطة .

٥- **الحجم**: يقدر حجم السائل المنوي الطبيعي بـ ١,٥-٥ ملل ومن الملاحظات غير المتوقعة زيادة حجم السائل المنوي عند الذكور غير القادرين علي الاخصاب ولكن الانقطاع عن ممارسة الجنس لفترة طويلة يؤدي الي زيادة كمية السائل المنوي .

طريقة عد الحيوانات المنوية :

يتم عد الحيوانات بعد تخفيف عينات السائل المنوي المتميعة نسبة ١:٢٠ بواسطة الماصة (Thoma) الخاصة بعد الخلايا الدموية البيضاء ، يستخدم محلول بيكربونات الصوديوم والفورمالين لتخفيف العينات ، يتم عد الحيوانات المنوية الموجودة في مساحة اربع اركان كل ركن به ١٦ مربع كبير بعد استقرارها فوق مربعات شريحة العد خلال دقيقتين ، يحسب عدد الحيوانات المنوية في كل ١ ملل من السائل المنوي كما يلي :

$$4W \times 50000$$

حيث أن W تشير الي عدد الاركان الموجودة علي شريحة العد

عند عدم التمكن من تخفيف عينة السائل المنوي بسبب شدة لزوجته تخفف العينة بنسبة ١:١ بمحلول اليفير Alevaire المحلل للمخاط قبل تخفيفها بماصات سوما وتضرب النتيجة النهائية في (×٢) تقدر نسبة الخطأ المسموح بحوالي ٢٠٪ من العدد الكلي .

يقدر العدد الطبيعي للحيوانات المنوية بحوالي ٤٠-١٢٠ مليون/١مل يعتبر نقص عدد الحيوانات المنوية عن ٢٠ مليون/ ملل امراً غير طبيعي .

محلول تخفيف السائل المنوي :

- ٥٪ بيكربونات الصوديوم والفورمالين ٤٠٪ .

- يذاب ٥ جرام من بيكربونات الصوديوم ، ١ جرام من الفورمالين (٤٠٪) في الماء المقطر حتي ١٠٠مل

نشاط الحيوانات المنوية

يتم التأكد من نشاط الحيوانات المنوية بوضع نقطة صغيرة من السائل المنوي المتميع علي شرحية زجاجية بدرجة حرارة الجسم ، ويتم استعراض نشاط حوالي ٢٠٠ حيوان منوي موزعة في عدة حقول مجهرية كبيرة (٤٠) يراعي تعديل وضع العدسة الشيئية للكشف عن الحيوانات المنوية غير الفعالة في طبقات السائل المنوي ، تصنف الحيوانات المنوية بناءا علي نشاطها الي ثلاثة مجموعات كما يلي :

١- الحيوانات المنوية النشيطة (Active) : وتتميز بسرعة انتقالها من موقع الي آخر بحركات سهمية مستقيمة .

٢- الحيوانات المنوية الكسولة (Sluggish) : وتتميز بحركات موضعية او حول نفسها

٣- حيوانات منوية ميتة (Dead): وهي الحيوانات المنوية الثابتة في مواقعها بدون اي حركة .

تزيد نسبة الحيوانات المنوية النشيطة بعد ساعة من القذف عن ٨٠٪ من حيوانات السائل المنوي الطبيعي ، ويعتبر النشاط المنوي غير طبيعي عندما تقل النسبة المئوية للحيوانات النشيطة بعد مضي ٣ ساعات عن ٦٠٪ يتضاءل النشاط المنوي بنسبة ٥٪/ساعة بعد مضي ٤ ساعات علي القذف .

أشكال الحيوانات المنوية

تحضر طبقات السائل المنوي المصبوغة بصبغة رايت (Write Stain) كما سبق وصفها في عد الدم علي شرائح زجاجية يتم الكشف علي حوالي ٢٠٠ مليون حيوان منوي ويصنف كل منها الي طبيعي وغير طبيعي باستخدام العدسات الزيتية ، يجب ان تزيد نسبة الحيوانات المنوية الطبيعية عن ٦٠٪ في السائل المنوي الطبيعي ، كما يجب ان تصنف الحيوانات المنوية غير الطبيعية بناءا علي طبيعة الخلل في شكلها. أنظر شكل (٦٥)

مدلولات فحص السائل المنوى

Interpretation of Semind Fluid Examination

يعتبر فحص السائل المنوي من أهم الاستقصاءات التي تجري للرجل أثناء التحري عن مشكلة العقم و ٨٠٪ من حجم هذا السائل يأتي من البروستاتا Prostate والحويصلة المنوية (Seminal vesicle) والـ ٢٠٪ الباقية تأتي من الخصية (Testis) والبربخ (Epididymis) وتنزل في اول القذف وبالتالي فيجب مراعاة التعليمات التالية عند جمع عينة السائل المنوي للفحص المخبري :

١- يجب ان يكون الوعاء نظيفا وليس به أية اثار لمادة كيميائية (قلوية او حامضية) أو ماء.

٢- يجب جمع العينة كلها وعدم طرح اي نقطة خارج وعاء الجمع .

٣- يجب ان يمتنع الرجل عن الجماع لمدة ٤ أيام علي الأقل .

٤- يجب فحص العينة في خلال الساعة الاولي من القذف .

٥- يجب غسل اي وعاء تم جمع العينة فيه قبل الاستعمال بالماء العادي وتجفيفه جيدا .

يعتبر السائل المنوي غير طبيعي وبالتالي قد يكون هو السبب في حالة العقم عند الرجل ، اذا وجدت المعطيات التالية :

١- حجم السائل المنوي اقل من ١ ملل او احيانا اكثر ٦ ملل .

٢- اذا لم يتم التجلط في مدي ٣٠ دقيقة .

٣- اذا كانت (pH) للسائل المنوي اقل من ٧ .

٤- اذا كان التعداد اقل من المستوي الطبيعي بكثير .

٥- اذا قل العدد عن النسبة الطبيعية (كلما قل عن ٤٠ مليون قلت فرصة الاخصاب)

٦- كلما تناقصت نسبة النطاف المتحركة (النشيطة) (motile) عن ٦٠٪ كلما قلت فرصة الاخصاب .

٧- كلما ازدادت نسبة الحيوانات المنوية ذات المظهر والشكل الغير الطبيعي كلما ازدادت فرصة العقم .

العوامل التي تؤثر في تكوين الحيوانات المنوية :

١- الهرمون منبة لحويصلة حراف Follicle Stimulating Hormone .

٢- الهرمون منبة للخلايا البنية Leutilizing

٣- هرمون التستيرون ٤- هرمون النمو ٥- هرمون الثيروكسين

٦- درجة حرارة : درجة الحرارة العالية (٤٢-٤٤مْ) لمدة ٣٠ دقيقة تقلل من عدد الحيوانات المنوية .

٧- الغذاء الغير كامل او الغير متزن يؤدي الي نقص في عدد الحيوانات المنوية ..

٨- الاشعاع يقلل من فرص تكوين الحيوانات المنوية

٩- عوامل اخري ومنها نقص الاكسجين والبكتريا وبعض الموادالكيميائية والسموم.

يمكن معرفة الحيوانات الميتة التي تكون نسبتها في الغالب ٣٥٪ والبعض الآخر نجده بطئ الحركة ويلتصق بحواف الغطاء الزجاجي .كما ان الوقت الذي يبقي فيه الحيوان المنوي نشطا له أهمية كبيرة في عملية الإخصاب ولذلك يجب حفظ الشريحة التي يفحص عليها السائل المنوي في درجة ٣٧مْ اي في درجة حرارة الجسم وتفحص كل ساعة لمدة ثلاث ساعات وقيد عدد الحيوانات المنوية الحية ، وكذلك الميتة كما توضع العينة الأصلية في حضانة Incubator في درجة ٣٧مْ ثم نأخذ عينه من السائل المنوي كل ساعة لفحصه وبيان مايحتويه من الحيوانات الميتة الحية .

ولبيان الاجزاء المختلفة الملونة للحيوان المنوي يجب عمل الآتي :

أ - تحضير مسحه رقيقة من السائل المنوي علي شريحة .

ب - تثبيت المسحة بصبغة شودن . ويمكن معرفة الحيوانات المنوية التى ماتت بعد التحقيق من المتية أصلاً قبل التخفيف توجد على هيئة غير مستقيمة أى مات وهو يتحرك أما الحالة الثانية فإن هيئة الحيوان المنوى تكون مستقيما.

١- اغمس الشريحة لمدة دقيقة واحدة في محلول يحتوي علي حجمين من محلول كلوريد الزئبق وحجم واحد من الكحول المطلق . .

٢- ثم تغمس الشريحة لمدة نصف ساعة في كحول ٥٠٪

٣- وبعد ذلك تغمس الشريحة لمدة نصف دقيقة في مزيج يحتوي علي ثلاثة سم٣ من الماء المقطر ونقطتين من اليود ثم تغسل الشريحة بماء الحنفية .

جـ - طريقة الصبغة :

١- أغمس الشريحة لمدة نصف دقيقة في محلول مائي من الايوسين (١٪) .

٢- ثم اغمس الشريحة لمدة دقيقة في خليط من ٣سم٣ من الكحول (٥٠٪) ونقطتين من حامض الهيدوكلوريك المركز (Hcl) .

٣- أغسل الشريحة بماء مقطر.

٤- اغسل الشريحة في محلول Hematoxlin هيماتوكسلين لمدة ٢,٥ دقيقة.

٥- اغمس الشريحة في خليط يحتوي علي ٣سم٣ من الماء المقطر وعدد ٢ نقطة من حامض الخليك الثلجي لمدة دقيقة واحدة .

٦- اغسل الشريحة بالماء المقطر ثم جففها .

ومن فحص الشريحة المصبوغة بالطريقة الموضحة عاليه يمكن بيان النسبة المئوية للحيوانات المئوية الغير طبيعية بالنسبة للعدد الكلي لهذه الحيوانات ولهذا الفحص اهمية كبيرة في تقنين السائل المنوي وصلاحيته للإخصاب .

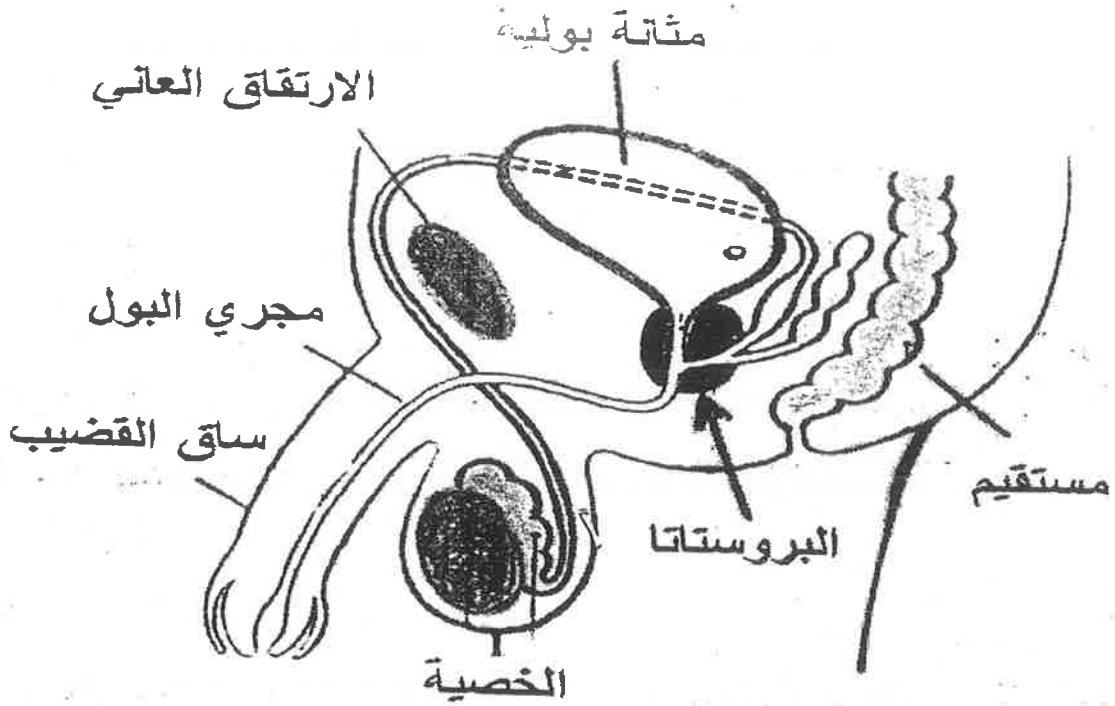
فحص غدة البروستاتا

أولا – تؤخذ عينة بول قبل اجراء فحص البروستاتا وتحليلها .

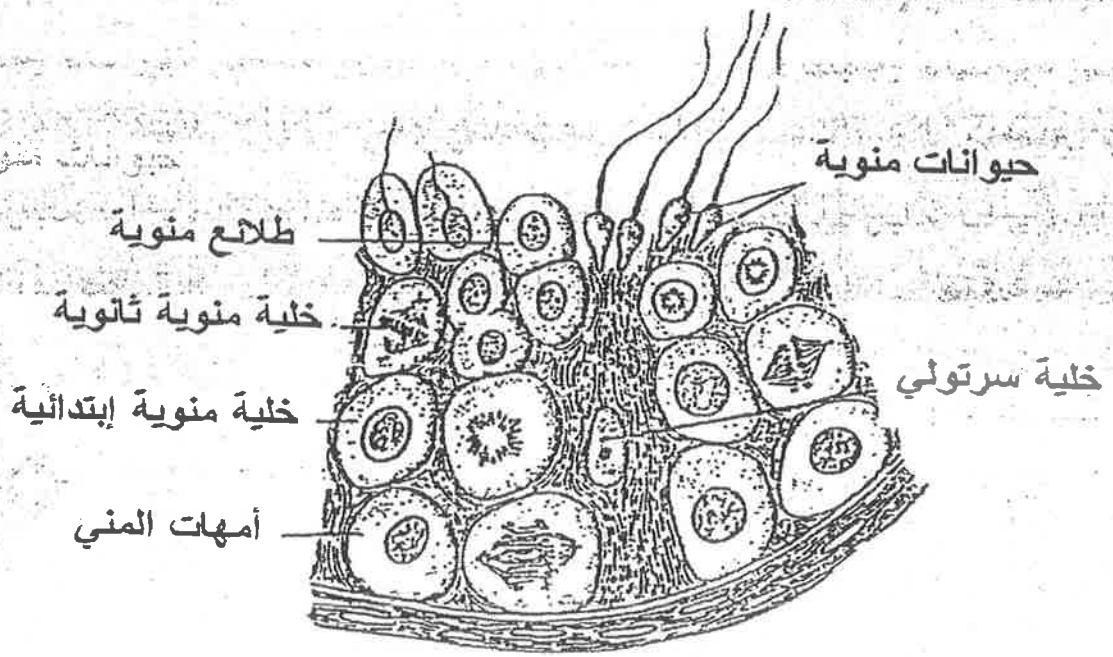
ثانيا – تدلك غدة البروستاتا ويحلل افرازها.

ثالثا – تؤخذ عينة بول بعد التدليك ويجري لها تحليل بول كامل.

رابعا – قارن نتيجة تحليل البول قبل وبعد تدليك غدة البروتستاتا .

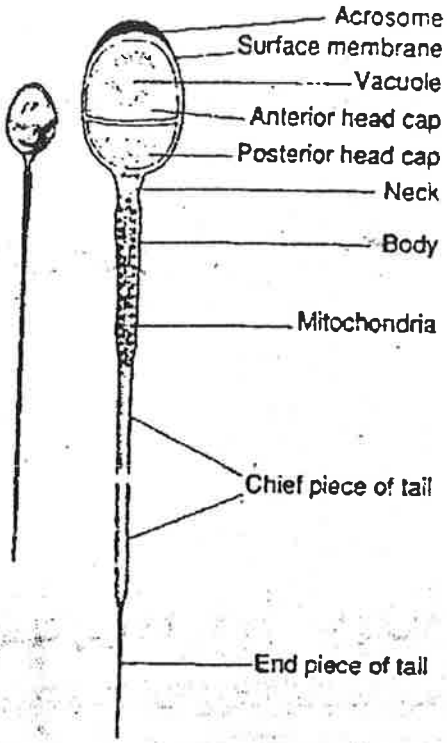


شكل (٦٣) : يوضح موضع غدة البروستاتا prostste gland

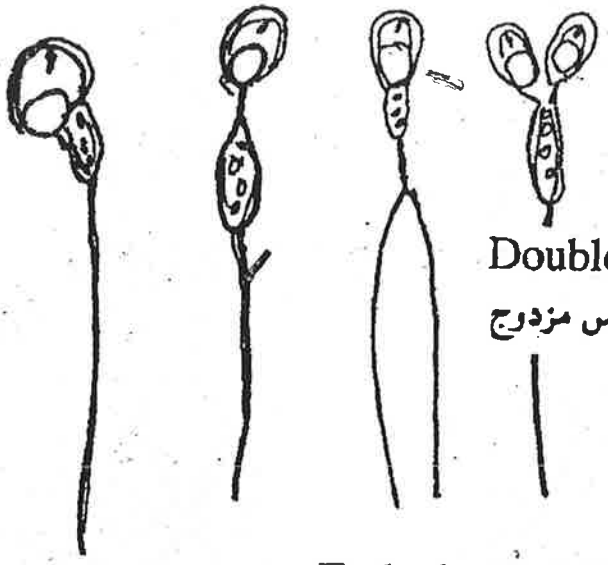


شكل (٦٤) تكوين الحيوانات المنوية

Normal Sperms
اشكال الحيوانات المنوية السليمة



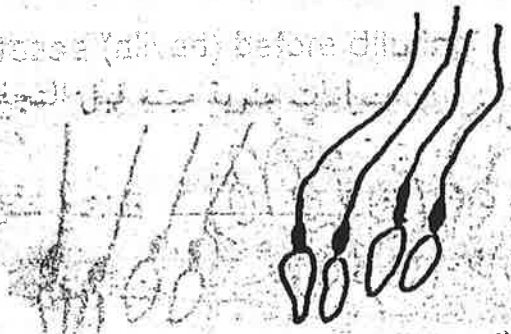
Abnormal sperms
اشكال الحيوانات المنوية الغير طبيعية



Large head
رأس كبيرة

Forked tail
ذيل مشقوق

Double head
رأس مزدوج



Spermatozoa (dead) after diluting.
حيوانات منوية ماتت بعد التجفيف

Spermatozoa (alived) before diluting.
حيوانات منوية ميته قبل التجفيف



Spermatozoa
- الحيوانات المنوية

شكل (٦٥): الحيوانات المنوية Spermatozoa

Evaluation of Semen تحليل السائل المنوى

Volume	الحجم	(2.5 - 5.50 ml)
Colour	اللون	(Grayish white)
Odour	الرائحة	(Seminal)
Reaction	التفاعل	(Alkalinal)
Consistency	القوام	(Coagulated)
Liquefies after	السيولة	(15 minutes)
Count:	**العـــد**	
Sperm count/ml.	عدد الحيوانات المنوية	(75-100 milion)
Dead sperms	عدد الحيوانات الميتة	%
Abnormal forms	عدد الحيوانات الغير طبيعية	% (up to 20 %)
Types of abnormalities	أنواع الحيوانات المنوية الغير طبيعية	
Viability:	**الحيويـة (الحـركة)**	
After collection	بعد جمع السائل المنوى	(85%)
After one hour	بعد جمع السائل المنوى بساعة	(75%)
After two hours	بعد جمع السائل المنوى بساعتين	(65%)
After three hours	بعد جمع السائل المنوى بثلاث ساعات	(55%)
Microscopic and stained smears :	**الفحـص الميكروسكـوبى**	
R.B.Cs	كرات الدم الحمراء	/HP.F.
Pus ceels	الصديد	/HP.F
Parasities	الطفيليات	
Sermen Fructolysis :	**تقيـيـم فركتـوز السـائل المنـوى**	
Initial fructose	الفركتوز المبدئى	mg%
After one hour	بعد ساعة	mg%
After two hour	بعد ساعتين	mg%
Fructolysis (mean)	بعد ثلاث ساعات	% (95 - 250 mg%)
Comment	**التعليـق**	

فحص افراز البروستاتا

Exmamination of prostatic discharge

Prostatic discharge	إفراز البروستاتا
Wet Film	
Pus cells	خلايا صديدية
R.B.Cs.	كارت الدم الحمراء
Epithelial cells	خلايا ظلانية
Tricomonas	طفيل الترايكوموناس
Bilharzia ova	بويضة البلهارسية
Urine analysis	فحص البول
1. Before discharge	١- قبل الإفراز
Aspect	القوام
Pus cells	الصديد
R.B.Cs.	كرات الدم الحمراء
Epithelial cells	الخلايا الطلانة
Tricomonas	الترايكوموناس
Bilharzia ova	بويضة البلهارسيا
Albumin	الألبومين
Sperms	الحيوانات المنوية
2. After discharge	٢- بعد الإفراز
Aspect	القوام
Pus cells	الصديد
R.B.Cs.	كرات الدم الحمراء
Epithelial cells	الخلايا الطلانة
Albumin	الألبومين
Sperms	الحيوانات المنوية
Comment	التعليق

إختبار الحمل Pregnancy Test

فكرة الدرس العملى Method Principle

١- تعتمد إختبارات الحمل على وجود الهرمون البشرى كرونيك جونادوتروبين Human Chronic Gonadotropin (HCG) فى البول أو مصل المرأة الحامل وذلك باستخدام تفاعل لاتكس المانع للتلزن Latex agglutination inhibition .

٢- يبدأ الكشف عن هذا الهرمون بعد إنقطاع الطمث عند المرأة إذ أنه كما هو معروف علميًا أن انقطاع الدورة الشهرية تعتبر من أهم علامات الحمل عند المرأة وعندها تبدأ المشيمة (Placenta) بإفراز هذا الهرمون HCG وذلك بعد ٥ - ٧ أيام من انقطاع الدورة الشهرية.

٣- تتلازن جسيمات لاتكس Latex المغطاة بهرمون (HCG) فى وجود مضادات الأجسام وعندما يكون هرمون (HCG) موجود بالبول أو الدم فإنه يتعامل مع مضادات الأجسام ولا يحدث تلازن (نتيجة إجابية). أما إذا كان هرمون (HCG) غير موجود بالبول أو بالدم ، يحدث التلازن (نتيجة سلبية) .

الكواشف Reagents

١- مضاد المصل Anti - Serum أو Anti - HCG

٢- كاشف لاتكس Latex Reagent

المواد المطلوبة لإجراء هذا الإختبار

١- شرائح زجاجية Slids .

٢- قطارات بلاستيكية ترمى بعد الإستعمال .

٣- عصى بلاستيكية للتقليب .

ملاحظات هامة :

١- يفضل بول الصباح الطازج لأنه أكثر تركيزاً .

٢- ينصح بفحص البول مباشرة أو خلال فترة قصيرة من إحضاره إلى المعمل .
وفى حالة تأخر فحصه يجب وضعه فى الثلاجة (٢ - ٨م) لأقصى مدة (١-٣) ساعات كحد أقصى.

٣- يجب أن لا يستعمل البول المدمم (البول الذى يتواجد به كريات دم حمراء) .

٤- يتجنب البول الذى يحتوى على نسبة عالية من البروتين ولذا وجب ترشيح البول أو سنترته فى جهاز الطرد المركزى .

٥- يجب أن لا يستعمل البول الذى يحتوى على الجراثيم .

٦- يجب أن تجرى التجربة فى حدود درجة حرارة المعمل (٢٠ - ٢٥ م°) حيث أن إنخفاض درجة الحرارة تؤخر التفاعل .

٧- بعد الإنتهاء من التجربة ، تعاد الكواشف إلى الثلاجة .

طريقة العمل Procedure

١- ترك الكواشف خارج الثلاجة فترة من الزمن كافية لتصل لدرجة حرارة الغرفة .

٢- ضع على الشريحة الزجاجية النظيفة الجافة قطرة من واحدة من البول .

٣- ضع على قطرة البول قطره أخرى من مضاد الهرمون Anti-HCG ثم أخلط جيداً باستخدام عود من البلاستيك وذلك لمدة ١٠ ثوان .

٤- ضع على الشريحة قطرة واحدة من كاشف لاتكس Latex واخلط المزيج لمدة ٤-٥ ثوان حتى نحصل على مزيج متجانس منظم .

النتائج Results

١- **إختبار إيجابى Positive :** عندما لا يحدث تلزن Agglutination خلال دقيقتين .

٢- **إختبار سلبى Negative** عندما يحدث تلزن (تجمع) خلال دقيقتين و إذا كان تركيز (HCG) فى البول قليلاً ، وكانت النتائج غير واضحة ، فإنه يلزم استخدام تجربة الأنبوبة . تتميز هذه الطريقة بحساسيتها .

الطريقة

١- ضع حجم قليل من البول فى أنبوبة .

٢- أضف إلى البول (Anti HCG) .

إذا كان البول يحتوى على الهرمون ، فسوف يوقف التفاعل بين Hcg المغطى للخلايا الحمراء مع الأجساء المضادة ويحدث ترسيب قوى للخلايا الحمراء فى الأنبوبة تظهر على شكل حلقة واضحة من الراسب . يرتفع مستوى HCG فى الحالات التالية :

١- ١٠٪ من أورام المبيض .

٢- التوائم المتعددة .

وينقص مستوى HCG فى الحالات التالية :

١- الإجهاضات الحتمية .

٢- الحمل خارج الرحم .

يجب أن يؤخذ فى الإعتبار

١- يمكن أن يظهر الـ HCG فى بول المرأة التى إنقطع عنها الحيض (سن اليأس) أحيانًا كنتيجة للتداخل مع (HCG) القادم من الغدة النخامية .

٢- قد توجد مستويات عالية من هرمون (HCG) فى بول الإناث المصابات بالسرطان الذى يصيب الأغشية المبطنة لجدار الرحم ، أو عند وجود كتل غير طبيعية تشتمل على أنسجة جنينية تتكون بالرحم أو وجود ورم بالمبيض. وفى هذه الظروف يزداد إفراز هرمون (HCG) وتعطى التجربة نتائج إيجابية (حمل كاذب).

قيم هرمون (HCG) فى الدم

١- يصل معدل هرمون HCG إلى ١٠٠ وحدة دولية / ١٠٠ ملليتر بعد مضى شهر من إنقطاع الدورة الشهرية .

٢- ويصل الحد الأقصى إلى ١٠٫٠٠٠ وحدة دولية/ ١٠٠ ملليتر ويبقى لغاية ٥٠-٨٠ يوم

٣- يعود معدل الهرمون حتى يصل إلى ١٠٠٠ وحدة دولية / ١٠٠ ملليمتر ويبقى كذلك حتى نهاية فترة الحمل حيث يختفى قبل ٣-٤ أيام من موعد الولادة .

الباب الخامس

تحليل البول Urine Analysis

- الخواص الطبيعية
- الخواص الكيميائية
- الفحص الميكروسكوبى لرواسب البول
- الحصى البولية وتحليلها
- بعض السموم التى يكشف عنها فى البول

البـــول Urine

توجد كليتان في الجانب الظهرى للجسم وتحتوى كل كلية على ١,٢٥٠,٠٠٠ وحدة ترشيح الدم (النفرون). ويتم تكون البول بعد ٣ مراحل وهي الترشيح الجمعى Glomerular filteration، إعادة الامتصاص الإنبوبى Tubular reabsorption الافراز الانبوبى Tubular secretion انظر شكل (٦٦).

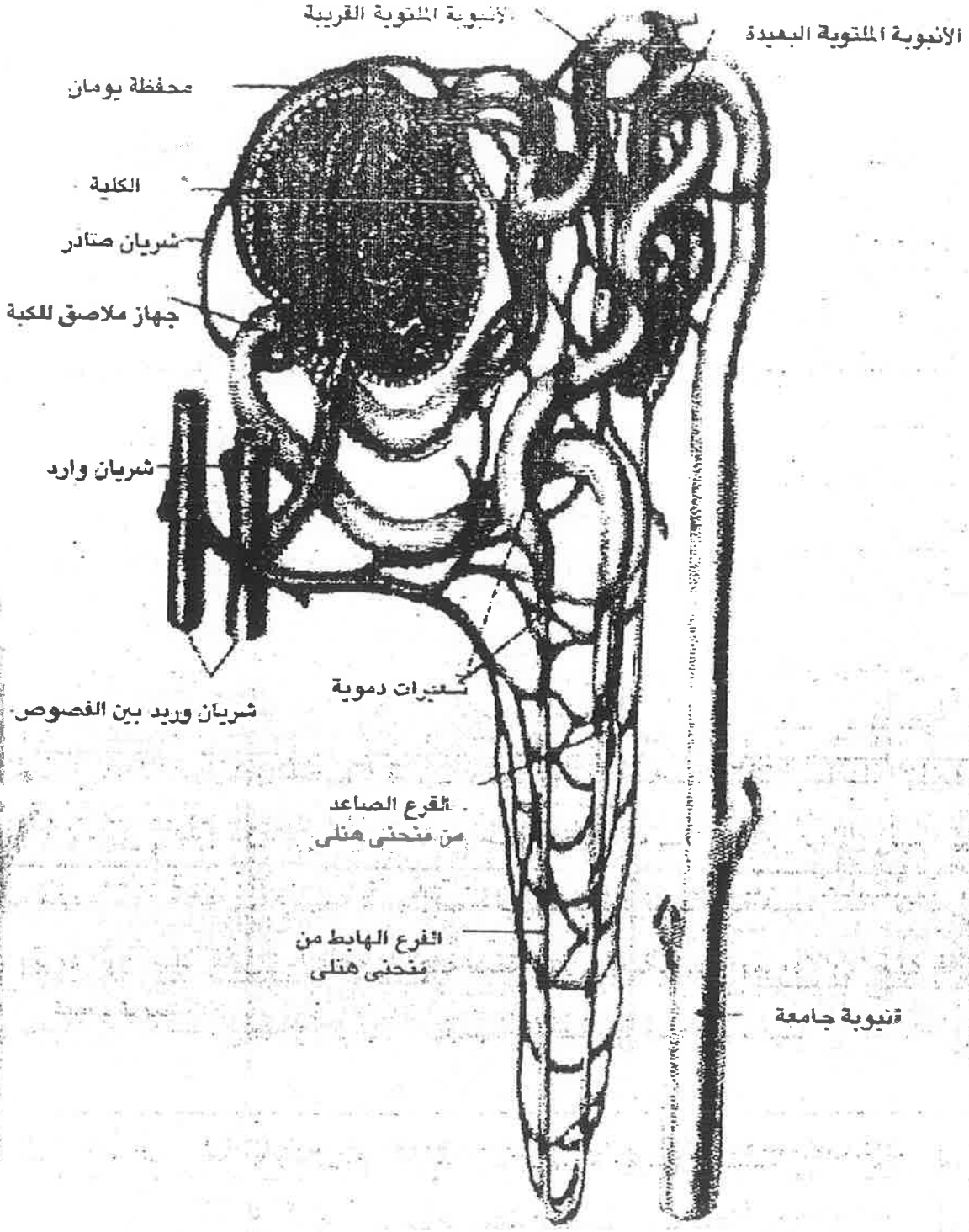
يعتبر البول مرآه لجسم الشخص السليم وكذلك المريض

Urine is amirror to your body

جمع البول Urine Collection

قبل أن نبدأ بدراسة أي تحليل أو اختبار يجب أن نعرف الطريقة الصحيحة لجمع البول كى تكون نتائجنا سليمة حتى لا تحدث أخطاء لا ندرى مصدرها نتيجة لتخمر البول وحدوث تغيرات كيميائية به وان نعرف ما يجب اتباعه عندما يطلب منا أى نوع من التحليل. فى كثير من الحالات تكفى أى عينه من البول لكافه الإختبارات الكشفية إلا أن العينه الأولى فى الصباح هى أكثر العينات مطمئنة للبحث لأنها تتجمع فى المثانة أثناء الليل ولذا فهى أكثر العينات تركيزاً للعناصر المختلفة.

أما فى العينات التى يطلب فيها التحليل الكلى فيجب العناية بجمع بول ٢٤ ساعة نظراً لتغير كميات البول فى فترات الليل والنهار وتغير نسبه العناصر فيه بين فترة وأخرى. فقد تكون كمية البول كبيرة فى حالة أخذ عينه من البول عقب شرب السوائل أو بعد تناول وجبات معينه من الطعام أو الفاكهة أو الأدوية. وقد تكون مركزة عقب فترة لا يتناول فيها الشخص الماء أو بعد مجهود جسمانى عنيف وخاصة فى فصل الصيف - كما أن بعض الوجبات كالسكريات والنشويات قد تؤثر فى النتيجة المطلوب تقديرها مثل تقدير السكر فى البول. لذلك كان من الواجب عند تقدير أى كمية مطلوب تحليلها من تلك العناصر العناية بجمع بول ٢٤ ساعة والامتناع عن الأدوية التى يتعاطاها الشخص لمدة كافيه قبل جمع البول كما يجب أن يكون الشخص طبيعيا في مأكله ومشربه بقدر الإمكان حتى تكون النتيجة مطابقة للحاله الطبيعية له ومعبرة عن حالته الحقيقية.



شكل (٦٦) : تركيب الوحدة البولية (النفرون)

طريقه جمع وحفظ البول Collection and preservation of urine

كثيراً ما يتطلب تحليل بول ٢٤ ساعة لإيجاد كميات العناصر المكونة له وفى هذه الحالة يترك بول الصباح ثم يجمع البول طول النهار والليل حتى صباح اليوم التالى فى زجاجة بها المادة الحافظة ثم يخلط جيدا وتؤخذ منه عينة للتحليل المطلوب ويوضع بول صباح اليوم التالى فى زجاجة بمفردها بدون المادة الحافظة ثم يفحص ميكروسكوبيا.

المواد الحافظة Preservatives

قبل الشروع فى جمع البول ينظف الوعاء الذى سيجمع به البول جيدا ثم يوضع به المقدار الأتى من هذه المواد الحافظة وأهمها :

الثيمول (Thymol)	مقدار يتراوح من ٥ الي ١٠ سم تقريباً
حامض الهيدروكلوريك Hcl	٢-٥ سم تقريباً
حامض اليوريك Uric acid	من ٣ - ٥ جرام تقريباً
الكلوروفورم Chloroform	٣-٦ سم تقريباً

وقبل البدئ فى التحليل يجب التأكد من نظافة الأنابيب والآدوات التى ستستعمل كما يجب إعداد هذه الآدوات كأنابيب الاختبار وأنابيب السنترفيوج والماصات والكئوس والمخابر ومقياس الكثافة والميكروسكوب والسنتروفيوج والأقماع والحوامل وغير ذلك مما سيتطلبه العمل حتى لا يكون عدم استكمالها مضيعه للوقت والارتباك أثناء عمل كشف بالتحاليل المطلوبة وقبل البدء فى العمل.

وأهم الأشياء التى تطلب منا معرفتها عند تحليل البول هى الخواص الطبيعية والكيميائية.

الخواص الطبيعية Physical Properties

وتشمل الآتى :

الحجم	Volume	الكثافة	Sp.Gravity
المظهر	Aspects	الرواسب	Sediments
المواد الصلبة	Solids	التفاعل	Reaction
الرائحة	Odour	اللون	Colour

الخواص الكيميائية Chemical Properties

وتشمل الآتى :

السكر	Sugar	البروتين	Protein
اليوروبيلينوجين	Urobilinogen	والانديكان	Indican
أملاح الصفراء	Bile Salts	الصفراء	Bile
الكلوريدات	Chlorides	البولينا	Urea
البيليروبين	Bilirubin	الأستون	Acetone
حمض اليوريك	Uric Acid	النيتريت	Nitrite

أولا : الخواص الطبيعية

١- حجم البول Urine Volume

يتراوح حجم البول فى ٢٤ ساعة بين ٧٥٠ - ١٥٠٠ سم^{٣} يختلف تبعا لفصول السنة، فمثلا في فصل الصيف تكون الكمية أقل نظراً لتخلص الجسم من كمية كبيرة من الماء عن طريق الجلد بواسطة العرق - كما تسبب بعض الأمراض نقصا فى كمية البول كأمراض القلب والرئتين والإسهال والقىء.

أما فى الشتاء فتزداد كمياته تبعا لكثرة السوائل الدافئة التى يتعاطاها الإنسان ويتخلص منها الجسم عن طريق التبول وكذلك تقل نسبة العرق الذى يفرزه الإنسان فى الشتاء ويتخلص من السوائل عن طريق التبول كما تزيد كمية البول تبعا لبعض الأدوية التى يتعاطاها المريض فبعضها يسبب إدراد البول (الكورتيزونات) كما أن بعض الأمراض قد تسبب كثرة التبول كما هو الحال فى مرضى السكر وبعض أمراض الجهاز العصبى وأمراض الكلى ودور النقاهة فى الأمراض المزمنة مثل الملاريا.

ويقاس البول بوضعه فى مخبار مدرج ويلاحظ عند القراءة وضعه على سطح مستو ثم نقرأ الحد الأدنى مع ملاحظة وضع مستوى النظر فى مستوى سطح البول.

٢- الكثافة النوعية Specific gravity

يتراوح الكثافة النوعية للبول بين ١٠١٥ - ١٠٢٥ وهي تختلف اختلافا كبيراً حتي في الأحوال العادية وربما تصل ١٠٠٣ عقب الإفراط فى شرب السوائل وربما الى ١٠٤٠ عقب العرق وعلى العموم فإن الكثافة النوعية عادة تتناسب عكسيا مع حجم البول فى كثير من الأحيان.

أما فى حالات البول السكرى فان حجم البول أكثر من المعتاد بينما تكون الكثافة النوعية عالية وتعين الكثافة النوعية للبول بواسطة ميزان الكثافة Urinometer وهو ذو ساق مدرجة بحيث يبين الكثافة النوعية للبول فى درجة حرارة ١٥° مئوية. وحيث أن جو مصر على مدار السنة حار فيجب اجراء تصحيح له. ومثال ذلك : نقيس حرارة الغرفة، فلو فرض مثلا إن كثافة البول كانت ١٠٢٠ ودرجة حرارة الغرفة ١٨° مئوية مثلا، فتكون الكثافة ١٠٢١ فى درجة ١٥° مئوية. أى أننا نضيف عدد واحد من ألف (١٠٠٠) لكل ٣ درجات زيادة فى درجة الحرارة ويطرح ١٠٠٠ لكل ٣ درجات نقص فى درجة الحرارة.

مثـــال :

١- إذا كانت درجة حرارة البول ٢٤° م والكثافة النوعية له تساوى ١٠١٨

$$\therefore \text{الكثافة النوعية} = \frac{٢٤ - ١٥}{٣} + ١٠١٨ = ٣ + ١٠١٨ = ١٠٢١$$

٢- إذا كانت درجة حرارة البول ٣° م والكثافة النوعية ١٠٢٢

$$\therefore \text{الكثافة النوعية المصححة تساوى} = ١٠٢٢ - \frac{١٥ - ٣}{٣} = ١٠١٨$$

كما يجب أن نختبر مقياس الكثافة وذلك بوضعه فى مخبار به ماء مقطر فإذا كان المقياس مضبوطا يجب أن يكون صفر التدرج عند سطح الماء المقطر.

وإذا كان البول يحتوى على كمية كبيرة من الرغوة يجب التخلص منها بإضافة بضع نقط من الأثير على البول أو امتصاصها بورقة ترشيح.

كما يجب أن يكون ميزان الكثافة عائما فى البول، وغير ملامس لجدار المخبار عند

تقدير الكثافة كما يجب أن يكون مستوى النظر فى مستوى سطح البول وقراءة الحد الأدنى كما سبق ذكره.

كما يمكن قياس الكثافة النوعية بواسطة استخدام الشريط Urine strips وذلك بغمس الشريط فى البول لمدة ٢ ثانية ومضاهاه اللون الذى ظهر، وتغير بلون الشريطن الأصلى وذلك فى خلال نصف دقيقة من غمسه فى البول.

تزداد الكثافة النوعية فى الأمراض التالية :

١- الزيادة فى البروتينات ٢- زيادة معدل السكر فى الدم

٣- فى جميع الحالات المؤدية الى الجفاف Dehydration

وتقل الكثافة النوعية فى القصور الكلوى المزمن

المواد الصلبة Total Solids

ويمكن تقديرها بطريقة تقريبية وذلك باستعمال معامل لونج Long's coefficient وذلك بضرب العددين الأخيرين لكثافة البول بعد التصحيح × ٢,٦٦ فينتج موجوع المواد الصلبة فى اللتر من البول فمثلا لو كانت كثافة البول ١٠١٨ ضرب ١٨ × ٢,٦٦ = ٤٧,٨٨ جم فى اللتر.

٣-التفاعل Reaction أو الأس الآيدروجينى (PH)

أ- يمكن الكشف عنه بورق عباد الشمس الأزرق أو الأحمر إذا احمرت ورقة عباد الشمس الزرقاء بعد غمسها فى البول كان حمضيا وإذا ازرقت الورقة الحمراء كان قلويا ولو ظلت كل منهما على لونها كان متعادلا.

ب- يمكن الكشف عن التفاعل أو الاس الايدروجينى (PH) بواسطة الشرائط بوضع الشريط فى البول ثم ملاحظة التغير فى اللون خلال دقيقة واحدة.

ج- وتفاعل بول ٢٤ ساعة يكون حمضيا فى الحالات العادية - وتتوقف درجة الحموضة على نوع الغذاء، فالتغذية باللحوم تجعل البول حمضيا والخضروات تجعله قلويا - كما يتغير التفاعل فى الأحوال المرضية. فمثلا فى حالة زيادة نسبة الحموضة acidosis يكون البول حمضيا وفى حال زيادة نسبة القلوية Alkalosis المصحوب بتخمر النشادر فى المثانة يكون البول شديد القلوية.

د- وإذا كان البول قلويا فربما تكون هذه القلوية ناتجة من وجود نشادر فى البول نتيجة من تحلل البولينا ويمكن معرفتها بواسطة الشم كما يمكن التخلص منها بواسطة الغلى.

متوسط درجة الحموضة للبول هى ٦,٠ وفى حالة الصيام تكون PH ما بين ٥,٠ - ٦,٥، وفى حالة العينات العشوائية تتراوح ما بين ٤,٨ - ٧,٨ والبول الليلى بصفة عامة أكثر حموضة من البول أثناء النهار، كما أن البول الليلى أكثر تركيزاً ولهذا فأن أفضل العينات الخاصة بالفحص العام والفحص الخاص عن العناصر عادة ما يؤخذ فى الصباح الباكر.

هـ- أن أيض الدهون يؤدى إلى إنتاج أحماض أكثر من أيض الكربوهيدرات. وكذلك فالجوع وما يتبعه من استخدام الدهون المخزونة يؤدى الى إنتاج الأجسام الكيتونية والبول الحمضى. وفى حالة معالجة الالتهابات فى المسالك البولية فأن الأدوية المستخدمة قد تنتج عادة الأحماض، مما يؤدى الى انخفاض قيمة (PH) للبول وكذلك فأن البكتريا التى تصيب الجهاز البولى لها القدرة على تغيير قيمة (PH) فى كلا الاتجاهين ويتوقف ذلك على النواتج النهائية للمركبات اليكتيرية. فالبكتريا التى تنتج الامونيا تعطى بولا قاعديا ولكن بعض البكتريا قد تجعل البول حمضيا.

يحتوى البول الحمضى على الفوسفات الأحادية، وبعض الأحماض العضوية وبعض الأجسام الكيتونية وغاز ثانى أكسيد الكربون. ويحتوى البول القاعدى على أملاح الفوسفات الثنائية، وكربونات الصوديوم أو البوتاسيوم الهيدروجينية.

ملاحظات وخلاصة :

١- قد يحتوى البول على الكريات الدموية الحمراء فيقال عندئذ أن التبول دموى (Haematuria) وقد يحتوى البول على الهيموجلوبين فقط فيقال أن التبول (Haemoglobinuria) أو هيموجلوبينى.

٢- يحدث التبول الدموى عند الاصابة بالالتهابات الحادة التى تصيب الكلية ووجود تخدش فى الأوعية الدموية وفى المجارى البولية.

يحدث التبول الدموى فى حالات انحلال الدم (Blood Haemolysis)كما فى الإصابة باليرقان الانحلالى أو التسمم ببعض الأملاح المعدنية السامة، أو وجود بويضة البلهارسيا أو مرض الصفراء.

٤- اللون : Colour

أ-لون بول الأصحاء أصفر كهرمانى Amber yellow. إذا كان لون البول باهتا كان ذلك ناتجا من قلة المواد الملونة أو من زيادة كمية البول عن الحد الطبيعى ويكون ذلك ناتجا من الإفراط فى شرب الماء أو السوائل أو فى بعض الأمراض العصبية ومرض السكر وأمراض الكلى، أما إذا كان لون البول أصفر داكن أو يميل الى الحمرة فهذا مرجعه إلى وجود مواد ملونه فى المأكل والمشرب أو يكون مركزا وذلك ناتجا من الإجهاد الجسمانى.

ب- وفى بعض الأحيان يكون لون البول أحمر أو برتقالى نتيجة تعاطى بعض الأدوية مثل المدرات (كاربوريت) وفى هذه الحالة يتحول لون البول إلى اللون الأصفر باضافة حامض إليه ثم يعود إلى اللون الأحمر باضافة مادة قلوية إليه. وقد يكون اللون أحمر أو مائلا إلى الحمرة إذا كان ناشئا من وجود دم به أو من مادة الآنيلين المستعملة فى صنع الحلوى والدم أما أن يكون موجودا فى البول على هيئة كريات دم حمراء أو موجوده به الصبغات الدموية Blood Pigments بدون وجود كريات الدم. وقد يكون لون البول أبيض مثل اللبن وهذا ناشىء من وجود مواد دهنية عالقة به كما هو الحال فى مرض الفلاريا أو من وجود خلايا صديدية بكثرة وذلك فى أمراض الجهاز البولى أو وجود أملاح الاكسلات.

جـ- وإذا كان لون البول شديد الاصفرار أو مائلا إلى الخضرة فهذا ناتج من وجود صبغيات صفراوية Bile Pigments كما فى حالات اليرقان (الالتهاب الكبدى) أو يكون اللون أخضر داكن مائلا إلى السواد كما هو الحال فى بول المرضى الذين يتعرضون لمادة الفينول وفى هذه الحالة يتحول لون البول الى اللون الآحمر باضافة مادة قلوية إليه.

د- وأحيانا يكون لون البول أخضر Dirty green مع وجود طبقة زرقاء على السطح

ورواسب زرقاء وهذا يحدث أحيانا فى بول المرضى المصابون بالكوليرا أو التيفوس. وقد يكون لون البول ازرقا عقب تناول الأزرق المثيلى وفى هذه الحالة يتحول إلى اللون البنفسجى باضافة مادة قلوية إليه. أما فى حالات التسمم بحامض الفينيك فيكون لون البول مائلا الى السواد.

٥- الرائحة : Odour

يمتاز البول الطبيعى برائحة عطيرة مميزة ، أما إذا كان البول غير طبيعى فتكون رائحته عادة كريهة نشادرية نتيجة لتخمر البكتريا وقد تكون الرائحة الكريهة نتيجة لوجود خلايا صديدية.

٦- القوام : Aspects

أ- البول الطبيعى رائق (Clear)

ب- البول الغير طبيعى يكون معكر Turbid لما يحتويه من خلايا صديد pus cells، بكتريا ، كرات دم حمراء، خلايا طلائيه، وأسطوانات casts

الخواص الكيميائية للبول
Chemical Properties of Urine

أهم ما يتطلبه التحليل للفحص المعملى للبول هو الكشف عن الزلال وتقدير كميته وكذلك السكر وتقدير كميته والأسيتون - والانديكان - والصفراء - وأملاح الصفراء - وحامض اليوليك - والبولينا - والكلوريدات والكالسيوم - وغير ذلك من المواد البولية الباثولوجية الهامة.

١- الزلال Albumin

١- يجب أن يراعى قبل الكشف عن الزلال أن يكون البول حمضيا رائقا غير مركز (حمض التفاعل) أما إذا كان البول قلويا أو متعادلا يجب إضافة قليل من حامض الخليك المخفف حتى يصير حمضيا لورقة عباد الشمس (أى يتغير لون ورقة عباد الشمس من اللون الأزرق إلى اللون الأحمر).

٢- إذا كان البول غير دائق يجب ترشيحه بورق ترشيح وإذا تصادف وظل غير رائق رغم ترشيحه يجب إعادة ترشيحه بعد إضافة قليل من مسحوق كربونات الباريوم أو بودرة الثلج (Barium Carbonat. or Talc Powder)

الكشف عن الزلال : للكشف عن الزلال فى البول طرق عديدة منها :

أ) طريقة الغليان Heat coagulation test

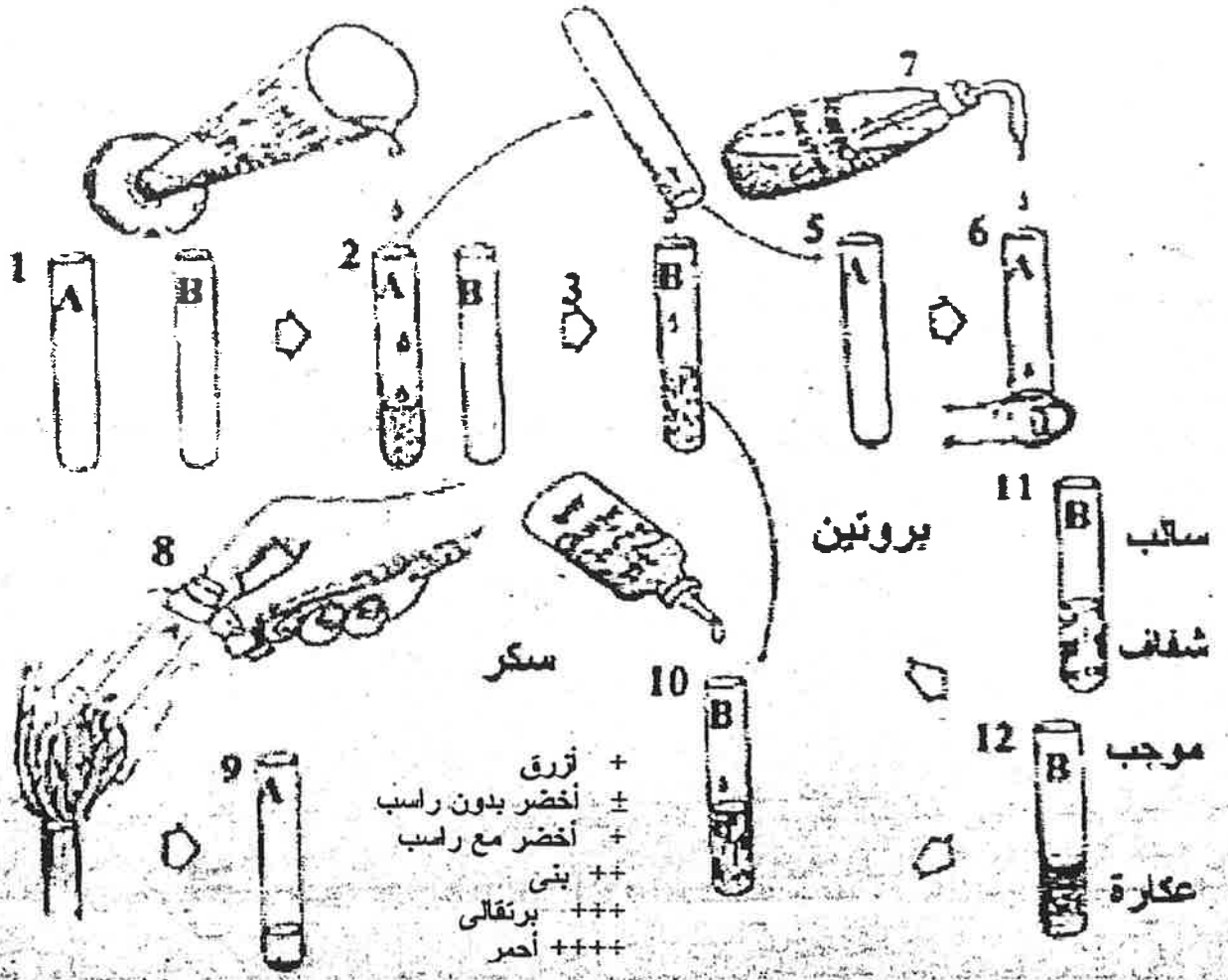
تملأ ثلاث أرباع أنبوبة الاختبار بالبول المراد فحصه ثم يغلى الجزء العلوى منه، انظر شكل (٦٧)، فإذا ظهرت عتامة فأما تكون ناتجة من وجود زلال أو فوسفات أو كربونات ولمعرفة حقيقتها يضاف إلى محتويات الأنبوبة من ٣-٤ نقط من حامض الخليك (١٠٪) فإذا زالت العتامة كانت فوسفات. أما إذا زالت مع وجود فقاقيع أو فوران أثناء إضافة حامض الخليك كانت العتامة عبارة عن كربونات. أما إذا بقيت رغم إضافة حامض الخليك أو زادت العتامة كان ذلك دليل على ان البول إيجابى للزلال (Albuminuria).

ب) طريقة الاختبار بحامض الخليك - النيتريك (Heller's test)

يوضع فى أنبوبة اختبار حوالى ٣ سم تقريبا من حامض الخليك وذلك بواسطة ماصة مدرجة ثم يضاف إليها مقدار مماثل من البول ببطء على جدار الأنبوبة لكى لا يختلط البول بالحامض أى يكون هناك اختلاط سطحى بسيط ويكون فى الأنبوبة طبقتان ظاهرتان من الحامض والبول. فإذا كان البول يحتوى على زلال ظهرت حلقة بيضاء بين الحد الفاصل وبين الحامض والبول.

وإذا كان البول يحتوى على أثار بسيطة من الزلال فأن الحلقة البيضاء لا تظهر إلا بعد بضع دقائق مع وضع حامض النتريك ويمكن تميز الحلقة البيضاء بسهولة إذا وضعت ورقة سواء خلف الأنبوبة وربما ظهرت حلقات أخرى ملونه ولكنها ليست راجعه إلى وجود الزلال وقد يرجع وجودها للعوامل الآتية :

١- قد تكون الحلقات الملونة ناتجة من وجود إنديكان أو صفراء وفى هذه الحالة يعاد الفحص باستعمال حامض الخليك + سلفات مانيزيا (جزء من حامض الخليك + ٥ أجزاء من محلول مشبع من سلفات المانيزيا).



شكل (٦٧): طريقة الكشف عن الزلال (طريقة الغليان) والسكر فى البول

(١) جهز أنبوبتان نظيفتان (A، B) (٢) املئ الأنبوبة (A) حتى ثلثها بالبول (٣) بول المريض (٤) أضف جزء من محتويات الأنبوبة (A) إلى الأنبوبة (B) ½ (٥) يتبقى ½ سم فى الأنبوبة (A) (٦) أضف ٥سم من محلول بندكت إلى الأنبوبة (A) (٧) محلول بندكت (٨) سخن ثم أغلى على اللهب (٩) لاحظ ظهور لون أزرق – أخضر – بنى – برتقالى – أحمر ثم يتحول إلى راسب (١٠) املئ الأنبوبة (B) بجزء من حمض سلفونوسلسليك (٢٠%) وسخن حتى الغليان (١١) سالب لعدم تكون عكارة (١٢) موجب لوجود عكارة أو تخثر البروتين.

٢- إذا كان المريض يتعاطى بعض الأدوية فتظهر الحلقة البيضاء نتيجة لترسيب بعض المواد الناتجة وتذوب العتامه فى الكحول وإذا كانت زلال تبقى بدون ذوبان.

٣- اذا كان البول مركز جدا ظهرت حلقة بيضاء نتيجة لوجود حامض بوليك أو بولينا ولهذا السبب يخفف البول بنسبة ١ : ١٠ بالماء المقطر وفى هذه الحالة لا تظهر الحلقة البيضاء إلا اذا كان البول محتويا على الزلال.

٤- قد تظهر حلقة بيضاء ناتجة من حفظ البول بمادة الثيمول وتنشأ من ترسيب مادة (النتروز وثايمول Nitrosothymol) بعد إضافة حامض النيتريك للبول ويمكن التخلص منها بواسطة خلط البول بالبترول الأثيرى Petroleum ether قبل الاختبار ثم فصل طبقة البترول الأثيرى عن البول ثم أجراء الاختبار على البول بعد ذلك.

٥- ويمكن الكشف عن الزلال بطريقة أخرى وذلك بترسيب الزلال باضافة بعض نقط من محلول حامض السلسليك أو محلول ثالث كلورو الخليك على مقدار ٣ سم تقريبا من البول فإذا تعكر البول كان ايجابيا للزلال وقد يترسب فى الحال اذا كانت كمية الزلال كبيرة فى البول.

٦- باستخدام شرائط البول Urine Strips

ملاحظات : Notes

- كمية البروتين المفرزة فى البول فى الإنسان السوى تتراوح بين ٥٠ - ١٠٠ ملجم، ٤٠٪ منها البيومين (٢٠٪) والفا جلوبولين (٢٠٪) وبيتا وجلوبولين (٢٠٪) الفا، ويمكن تحديد نسبة هذه البروتينات بواسطة الفصل الكهربائى Electrophoresis

أ) وتكون زيادة الالبيومين ملحوظة فى :

(١) التهاب الكلية المزمن Chronic kidney inflamation

(٢) الوقوف والمشى لمدة طويلة Standing or walking for long time inflamation

(٣) الحمل : Pregnancy

ب) وتكون زيادة الالبيومين متوسطة فى :

(١) تصلب الكلية فى المراحل المتقدمة Nephrosclerosis

(٢) قصور القلب (٣) التهاب الكلية الحاد.

تقدير كمية الزلال فى البول

Quantitative Estimation of albumin

الأنبوبة المستعملة لتقدير كمية الزلال فى البول مدرجه من أسفلها وعند منتصفها تقريبا علامة u أي الحرف الأول من كلمة Urine

وقرب فوهتها علامة أخرى R أى Reagent أى المحلول الذى يضاف الى البول لترسيب الزلال وقبل الشروع فى تقدير كمية الزلال يجب مراعاة الآتى :

١- أن يكون البول حمضى التفاعل فإذا كان قلويا يضاف إليه حامض الخليك المخفف (أقل كمية ممكنة حتى يصير حمضيا).

٢-أن يكون رائقا، فإذا كان غير رائق أ، به رواسب وجب ترشيحه.

إلا تزيد الكثافة النوعية عن ١٠٠٨ إذا كانت عالية يؤخذ من البول مقدار معلوم ويوضع فى مخبار به مقياس الكثافة ثم يضاف اليه ماء مقطر حتى نحصل على كثافة ١٠٠٨ تقريباً ثم يرفع من البول المخفف وتقرأ الكمية بعد إضافة الماء الى البول ومنها يمكن معرفة عدد مرات التخفيف.

فمثلا لو أخذنا مقدار ٥٠ سم^{٣} من البول وكان قراءة الكمية بعد التخفيف ١٥٠ أى أضيف مقدار ١٠٠ سم^{٣} من الماء فتكون نسبة التخفيف هى ١ إلى ٣ أى أنها كانت فى الأصل ٥٠ سم^{٣} وأصبحت الكمية فى النهاية ١٥٠ سم^{٣} أى أنها أصبحت ثلاثة أمثال حجمها الأول لذا يجب بعد قراءة كمية الزلال أن نضرب العدد فى ٣ (أى العدد الناتج من قراءة كمية الزلال × عدد مرات التخفيف).

الطريقة: The method

١- يوضع البول فى معيار البروتين حتى العلامة.

٢-يضاف اليه المحلول حتى العلامة يغلق المعيار بسدادته ويخلط البول والمحلول عن طريق التحريك عدة مرات. يغطى المعيار بغطائه الخاص ويترك لمدة ٢٤ ساعة وافقا بدون حركة حتى يترسب البروتين. تقرأ كمية البروتين مباشرة على المعيار المدرج ويكون التمييز جرام بروتين لكل لتر من البول.

بروتين البنس - جونز: (Bence-Jones-Protein (B.J.P

١-يتم تصفية البول عن طريق الفلتره أو الطرد المركزى حتى يصبح صافيا.

٢- يوضع حوالى ١٠ مل من البول فى أنبوب ويضاف اليها ٥ نقاط من ١٠٪ من حامض الخليك (١٠ نقاط من ٥٪ حامض الخليك) ويخلط جيدا.

٣- يوضع الأنبوب فى حمام مائى ويسخن حتى درجة الحرارة ٤٥°م. سوف يكون الـ (B.J.P) غمامه حليبيه.

٤- ترفع درجة الحرارة الى ٦٠° م وبذلك يتحول الـ (B.J.P) الي راسب لزج يلتصق بجدران الأنبوب. بعد ذلك ترفع درجة الحرارة الى درجة الغليان الـ (B.J.P) ذائبا.

٥- اذا تبقى بعض البروتينات الأخرى غير ذائبة يتم فلترة البول وهو بدرجة الغليان (دون تبريد).

٦- يعاد تبريد البول المفلتر فيعود الـ B.J.P الى الترسيب مرة ثانية وهكذا اذا رفعت درجة حرارته الى ٤٥° م - ٦٠° م يعود للترسيب.

تزداد كمية البروتين فى هذا الاختبار فتيجة:

١- الأمراض السرطانية

٢- أمراض الكلى

٣- أورام المجارى البولية.

٤- أمراض الكلى المصحوبة بوجود صديد (وجود الصديد فى البول)

الكشف عن السكر فى البول

للكشف عن السكر فى البول عدة طرق أهمها :

١) طريقة فهلنج	٢) طريقة بندكت	٣) بالفينايل هيدرازين
Fehling	Benedict	Phyenyl hydrazine

طريقة فهلنج Fehling's method

المحاليل المستعملة، محلول فهلنج (١) ويحضر بإذابة ٢٨ . ٦١ جرام كبريتات النحاس

فى قليل منالماء المقطر ثم يوضع فى دورق معيارى سعته لتر ويكمل بالماء المقطر الى العلامة لتر ويضاف ٥ ,١ سم حامض كبريتيك الى المحلول. فهلنج (٢) ويحضر بإذابة ٣٦٠ جرام من ملح روشل Rochelle salt وتركيبة الكيماوى (صوديوم بوتاسيوم طرطرات) Soduim Potassuim Tartarate فى ٦٠٠ سم^{٣} من الماء المقطر ويضاف اليها ١٤٠ جرام صودا كاوية ويكمل الى لتر بالماء المقطر.

طريقة الاستعمال Procedure

يؤخذ من البول المراد فحصه ٥ر سم^{٣} فى أنبوبة اختبار ويوضع فى أنبوبة أخرى ٥ سم^{٣} من محلول فهلنج ١ ,٢ (٢,٥ سم من محلول فهلنج ١ + ٢,٥ من محلول فهلنج ٢) ثم تغلى فى أنبوبة على حده ثم تخلط محتويات الأنبوبتين ويترك المخلوط لمدة ثلاث دقائق فإذا ظهر لون أو راسب أحمر أو أصفر دل على ذلك على وجود مواد مختزله ومن بينها السكر فإذا كانت نسبة المواد المختزلة (السكر) أقل من ٥ جرام فى اللتر ظهر راسب اخضر (انظر شكل ٦٧).

تقدير كمية السكر فى البول

يمكن تقدير الجلوكوز كميا بإستخدام الشرائط Strips فكل تفاعل أو اللون المميز على الـ Strips له تركيز للجلوكوز ويقدر بـ g/l

٢- محلول بندكت للكشف عن السكر Benedict Method

يحضر المحلول بإذابة ١٠٠ جم من كربونات الصودا الجافة ، ١٧٣ جرام من سترات الصودا فى حوالي ٥٠٠ سم^{٣} من الماء المقطر وتغلى على النار حتى يتم ذوبان هذان الملحان ثم يضاف إلى هذا المحلول ١٧,٣ جرام كبريتات نحاس مذابة فى حوالي ١٠٠ سم^{٣} من الماء المقطر ثم يكمل الحجم إلى لتر بالماء المقطر ويبرد ويوضع فى زجاجة ذات سدادة من الفلين.

لإجراء الاختبار يتبع الآتى :

يؤخذ ٥ سم^{٣} من هذا المحلول فى أنبوبة اختبار ويضاف اليها $\frac{١}{٢}$ سم من البول المراد اختباره ويغلى الخليط لمدة دقيقتين ثم يبرد فإذا بقى لون المحلول الأزرق كما هو لم يتغير دل ذلك

على خلو البول من السكر أما إذا تغير اللون الأزرق وهو لون – المحلول الأصلى الى اللون الأخضر أو الأصفر أو الأحمر دل ذلك على وجود مواد مختزله مثل فيتامين ج وبعاض من مجموعة فيتامين ب وكذلك السكر بأنواعة حيث أن كل هذه المواد تختزل كبريتات النحاس الموجودة فى محلول بندكت وتحوله إلى أكسيد النحاسوز وهو الذى يسبب الألوان السابقة الذكر فإذا كانت كميتة بسيطة أعطى لونا أخضر وإذا كان بكميات متوسطة أعطى لونا أصفر وإذا كان بكميات كبيرة أكتسب المحلول لونا أحمر يترسب أكسيد النحاسوز فى قاع الأنبوبة.

طريقة الاستعمال Procedure

أنقل بالماصة ٠,٥ مل من محلول بندكت الى أنبوبة اختبار حافظة نظيفة. أضيف الى الأنبوبة ٠,٤ مل من البول الطازج ورج للتجانس.

ضع الأنبوبة فى حمام مائى يغلى لمدة ٣ دقائق أو على اللهب المباشر.

اخرج الأنبوبة من الحمام المائى وافحصها مباشرة.

بالاستعانة بالجدول التالى، سجل الرقم الذى يدل على وجود المواد المختزلة :

تركيز الجلوكوز التقديرى جم/١٠٠ مل	التقدير	المظهر
صفر – ٠,١٠	صفر	أزرق الى اخضر ولكن بدون راسب
٠,٣	+ ١	أخضر مع وجود راسب أصفر
١,٠	+ ٢	أخضر زيتونى
١,٥	+ ٣	بنى – برتقالى
٢,٠ أو أكثر	+ ٤	أحمر طوبى

ملاحظة هامة : Notes

يحتوى البول على العديد من المواد المختزلة غير السكريات. وأهم العوام لالمختزلة هى تناول كميات كبيرة من حمض الاسكوربيك فى الغذاء، كما أنه يوجد فى كثير منالمستحضرات المضادة للبكتريا (Anti-Biotic) التى تؤخذ فى العضل أو الوريد وفى كلتا الحالتين، تظهر تراكيز عالية من حمض الاسكوربيك فى البول، التى تساهم بدرجة كبيرة فى نسبة العوامل المختزلة.

محلول بندكت لتقدير كمية السكر فى البول
Quantitative Benedict Solution

التحضر:

يحضر المحلول السابق الذكر بإذابة ١٠٠ جم من كربونات الصودا الجافة أو ٢٠٠ جم من كربونات الصودا المتبلورة وكذلك ٢٠٠ جم سترات الصودا أو - جرام من ثيوسيانات البوتاسيوم فى حوالى ٥٠٠ سم^{٣} من الماء المقطر مضافا اليها ٥ سم^{٣} من محلول سيانور الحديد (٥٪) كما تذاب ١٨ جم من سلفات النحاس المتبلورة فى حوالى ٢٠٠ سم^{٣} من الماء المقطر ثم يضاف هذا المحلول إلى المحلول السابق الذكر فى قنينة عيارية ويكمل الحجم إلى لتر (١٠٠٠ سم^{٣}) ثم يرشح بورق الترشيح إذا لزم الأمر ويوضع فى زجاجة ذات غطاء من الفلين.

طريقة الاستعمال

يؤخذ ٢٥ سم^{٣} من المحلول السابق الذكر ويضاف اليها حوالى ٥ جم من كربونات الصودا مع إضافة حوالي ٥ سم^{٣} من الماء المقطر مع وضع بعضا من قطع الخزف أو الزجاج فى الغلاية وذلك لمنع غليان المحلول فجأة لتوزيع الحرارة فى الخليط توزيعا عادلا ويشخن هذا الخليط ويضاف اليه البول نقطة نقطة من سحاحة حتى يتحول اللون الأزرق إلى اللون الأبيض وبذلك يكون التفاعل قد تم. ثم يحسب حجم البول الذى استعملناه حتي تم التفاعل.

وحيث أن ٢٥ سم٣ من محلول بندكت تستخدم للكشف عن كمية تعادل ٠.٠٥

جرام من السكر. فتكون كمية البول التى استخدمت فى التفاعل تحتوى على ٥ . . . سكر.
فلو فرض أن هذه الكمية هى عبارة عن ٣ سم٣ فان ٣ سم٣ من البول تحتوى على ٥ . . .
جرام سكر.

١٠٠ سم٣ من البول تحتوى على $\frac{0.05 \times 100}{3} = \frac{5}{3} = 1\frac{2}{3}$ جرام سكر / ١٠٠ سم٣

بول ١٠٠٠ سم٣ من البول (لتر) يحتوى على $\frac{0.05 \times 1000}{3} = \frac{2}{3} = 16\frac{2}{3}$ جم/لتر

وإذا أردنا تقدير كمية السكر فى بول ٢٤ ساعة فتكون العملية الحسابية كالأتى :

$$\frac{\text{حجم البول المفرز} \times ٢٤ \text{ ساعة} \times ٥ . . .}{٣} = \text{كمية السكر بالجرامات فى بول ٢٤ ساعة}$$

ملاحظات هامة :

البول الطبيعى لا يحتوى على جلوكوز (Glucose) وأكثر المواد المختزلة شيوعا فى البول هى الجلوكوز ولكن سكاكر أخرى قد توجد أحيانا فى البول وتختزل كاشف بندكت.

يوجد أيضا اللاكتوز (Lactose) فى بول النساء الحوامل أو النساء المرضعات والفراكتوز (Galactose) والفركتوز (Fructose) فى أمراض وراثية.

بالاضافة الى هذه السكاكر قد توجد مواد أخرى أحيانا فى البول بتركيز يكفى لاختزال كاشف بندكت ومن هذه المواد حامض الاسكوربيك والكريايتين والبيورات وبعض الأدوية كالساليسيلات والبنسلين والستربتومايسين والايزونيازيد وحمض البارا-أمينوسالسيليك ... الخ.

أعراض الاصابة بمرض السكر البولى :

١- تكرار التبول (زيادة عدد مرات التبول).

٢- العطش الشديد.

٣- الرغبة الشديدة فى تناول السكريات.

٤- حدوث الغيبوبة السكرية (Coma) ويكون سببها زيادة مستوى السكر فى الدم.

أسباب زيادة الجلوكوز فى البول :

١- تكرار العلاج بالكورتيزونات.

٢- فرض افراز الهرمونات الرافعة للسكر.

٣- فرط نشاط الغدة النخامية والغدة الدراقية أو الكذرية.

٤- بعض أمراض الكلية مثل التسمم بالرصاص والزئبق، التتراسيلكين.

٥- التهاب الكلى الحادة.

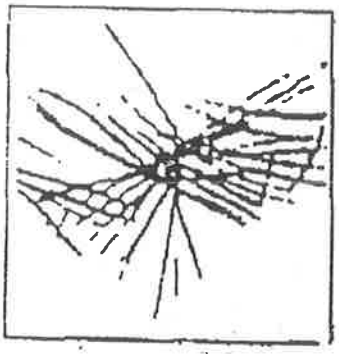
٤- اختبار الفينايل هيدرازين Phenylhydrazine Test

هذا الاختبار أدق بكثير من الاختبارات السابقة الذكر المستخدمة للكشف عن السكر حيث لا يعطى تفاعلا ايجابيا ألا اذا كان البول يحتوي على سكر كما يبين فى الوقت نفسه نوع - السكر الموجود كسكر العنب Glucose أو سكر اللبن Lactose الموجود فى بول الحوامل أو سكر الشعير Maltose.

ولإجراء التجربة :

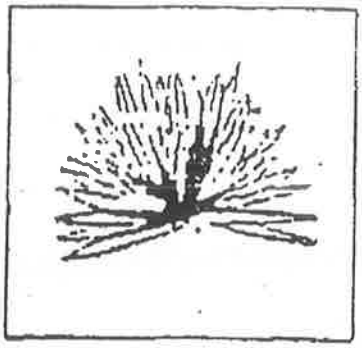
نأخذ قليلا من مسحوق Phenylhydrazine Hydrochloride ويضاف اليه قليل من مسحوق خلات الصوديوم الجافة أو جزئين من مسحوق الفينايل هيدرازين وثلاثة أجزاء من خلات الصوديوم المتبلورة.

ويؤخذ من هذا الخليط حوالى ٢ . جم ويضاف إلى ١٠ سم٣ من البول موضوع فى انبوبة اختبار ثم يضاف اليه ١ سم٣ من حامض الخليك الثلجى Glacial acetic acid ثم ترة الأنبوبة جيداً حتى يذوب الملح ثم يرشح ويبخر الراشح فى حمام مائى لمدة ثلاثين دقيقة حتى يبقى من المحلول كمية بسيطة ثم تترك لتبرد وبذلك تظهر بلورات السكر المختلفة فى النوع والشكل ويمكن التعرف عليها ميكروسكوبيا. وتكون البلورات الناتجة من البول المحتوى على جلوكز على هيئة إبر صغيرة صفراء على شكل مروحة أو صليب ولا تذوب من الماء البارد أو الساخن وتسمى بالـ Glucosazone أما بللورات السكر الشعير Maltosazone فهى على هيئة صفائح عريضة لونها أخضر وتذوب فى الماء الساخن وبللورات سكر اللبن Lactosazone تكون على هيئة بللورات غير منتظمة من الإبر الدقيقة وتذوب فى الماء الساخن.



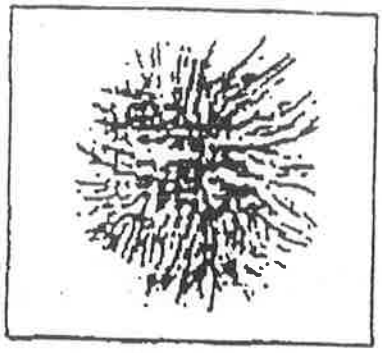
Glucosazone

سكر العنب



Lactosazone

سكر الشعير



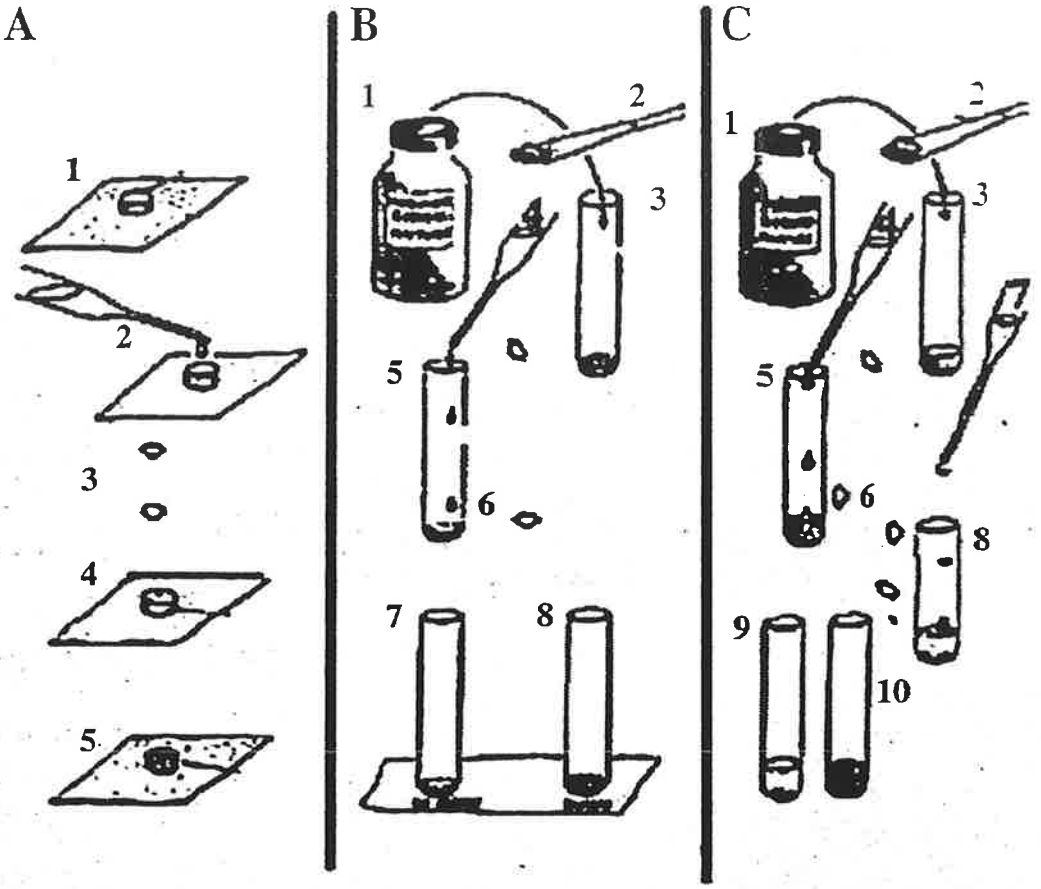
Maltosazone

سكر اللبن

الكشف عن الأسيتون فى البول :

تذاب بعضا من بلورات نيتروبروسيد الصوديوم فى ٢ سم^{٣} من الماء، ثم يؤخذ حوالى ٣ سم^{٣} من البول المراد الكشف عن الأسيتون فيه ويضاف إليه نقطة أو اثنين من محلول الصودا أو البوتاسا الكاوية حتى يصير تفاعل البول قلويا ثم يضاف إليه ثلاث أو أربع نقط من محلول نيتروبروسيد الصوديوم السابق الذكر وكذلك بعضا من نقنط حامض الخليك المركز فإذا ظهر لون أحمر قرمزى أو أحمر بنفسجى دل ذلك على وجود أسيتون فى البول (انظر شكل ٦٨).

اختبار Legal's Test يؤخذ ٢ سم^{٣} من البول المراد اختباره ويضاف إليه بعض النقط منمحلول نيتروبروسيد الصوديوم المحضر طازجا ثم يضاف إليه حوالى جرام من بلورات سلفات النوشادر وتكرر هذه العملية حتى التشبع ويخلط جيدا ثم يوضع ببطء على جدار انبوبة تحتوى على ٢ سم٣ من محلول النوشادر القوى ويترك لمدة خمس دقائق فإذا ظهرت حلقة بنفسجى أو أحمر قرمزى فى الحد الفاصل بين النوشادر والبول دل ذلك على وجود أسيتون (Acetonuria) ويظهر الأستون فى البول عندما يصل معدل السكر فى الدم الى أعلى من ٤٠٠ مجم / ١٠٠ مل دم.



شكل (٦٨) : طريقة الكشف عن الأسيتون فى البول

A : (١) ورقة ترشيح وعليها قرص الأسيتون (٢) أضف نقطة من اليود (٣) انتظر ٣٠ ثانية (٤) سالب لعدم تغيير لون القرص (٥) موجب وتلون القرص باللون الأرجوانى.

B : (١) كاشف روثر (٢) ملعقة (٣) أنبوبة اختبار بها كاشف روثر (٤) إضافة البول (٥) البول مع الكاشف (٦) إقرأ النتيجة بعد دقيقة واحدة (٧) سالبة لعدم ظهور أى لون (٨) موجبة لظهور لون أرجوانى.

C : (١) كاشف روثر (٢، ٣، ٤، ٥، ٦) كما فى (B) (٨) إضافة ١/٣ الحجم أمونيا (٩) سالب لعدم ظهور لون (١٠) موجب لظهور لون أرجوانى.

يظهر الأسيتون عند :

١- اخوامل كثيرات التقيؤ.

٢- بعض حالات التسمم.

٣- التمارين الرياضية العنيفة والتعرض للبرد بشكل كبير.

٤- عدم تناول الطعام لفترة طويلة Starvation.

الكشف عن الصبغات الصفروايـة فى البول Bile Pigments

توجد طريقتان للكشف عن الصبغات الصفراوية فى البول وهم :

أ- طريقة حامض النتريك :

يرشح البول المراد الكشف عن الصبغات الصفراوية فيه بورقة ترشيح ثم تفرد الورقة ويتقط عليها نقطة من حامض النتريك المركز فإذا ظهر مكان النقطة حلقة خضراء أو زرقاء. دل ذلك على وجود صبغات صفراوية (انظر شكل ٦٩).

ب- طريقة اليود :

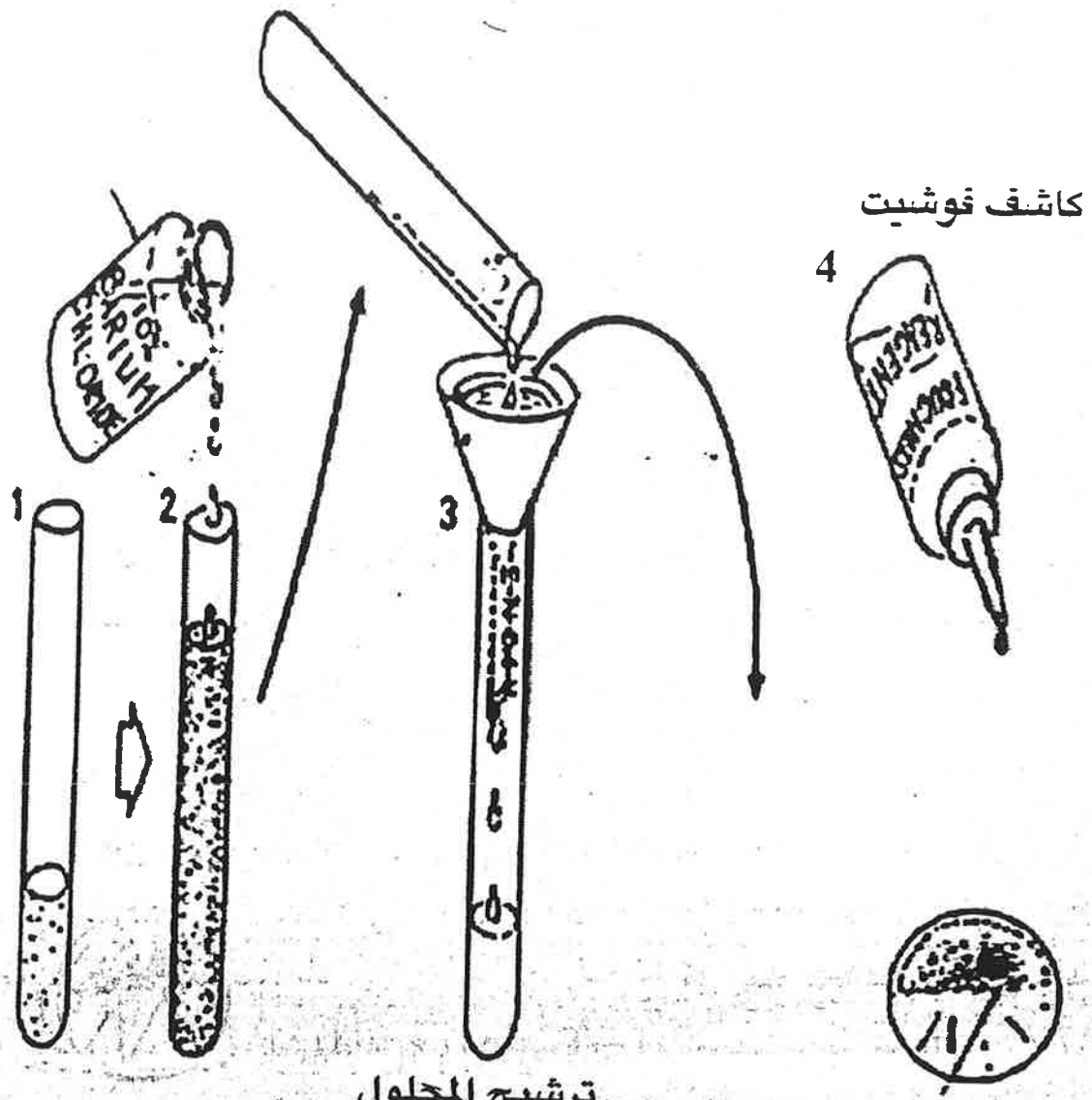
يوضع فى أنبوبة اختبار حوالى ٥ سم^{3} من البول ثم يضاف اليه حوالى ٥ نقط من محلول اليود (١٠٪ مذاب فى كحول) بأحتراس حتى لا يختلط البول باليود فإذا ظهرت حلقة خضراء فى الحد الفاصل بين البول واليود دل ذلك على وجود صبغات صفراوية.

٣- اختبار التسمين (Ultsmenn Test)

ضع ١٠ سم^{3} من البول المراد اختباره فى إنبوبة وأضف اليه ٣-٤سم٣ من محلول بوتاسا كاوية (٢٥٪) وحوالى ١ سم من حامض الهيدروكلوريك المركز فإذا ظهر لون أخضر فى المحلول دل ذلك على وجود صبغات صفراوية.

الكشف عن أملاح الصفراء : اختبار هاي (Hay's Test)

تضع بعضا من البول فى أناء واسع الفوهة بشرط أن يكون البول المستعمل قد وضع فى ثلاجة لمدة ثلاث ساعات على الأقل ثم نرش على سطح البول قليلا من زهر الكبريت فاذا غاص زهر الكبريت فى البول وترسب فى قاع الإناء دل ذلك على أملاح الصفراء هذا مع العلم أنه اذا غاص زهر الكبريت فى الحال عقب وضعه دل ذلك على أن كمية أملاح الصفراء فى البول المختبر حوالى ٠,٠١٪ أو أكثر وإذا غاص زهر الكبريت بعد هز الإناء



شكل (٦٩) : طريقة فوشت للكشف عن أصباغ الصفراء فى البول

(١) ملىء الأنبوبة إلى ثلثها بالبول (٢) إضافة ١٠٪ كلوريد باريوم

(٣) رشح المخلوط (٤) اضف كاشف فوشت إلى ورقة ترشيح

(٤) موجبة لظهور لون أزرق

الموجود به البول كانت نسبة أملاح الصفراء حوالى ٠,٠٠٠٢٥ ٪ أو أكثر وإذا بقى زهر الكبريت عائما على سطح البول ولم يترسب دل ذلك على عدم وجود أملاح الصفراء.

الكشف عن البيليروبين واليوروبيلينوجين

Bilirubin and Urobilinogen

يفرز كل منهما فى البول ويتحول اليوروبيلينوجين الموجود فى البول إلى يوروبيلين بعد خروج البول من الجسم ببضع ساعات.

وتزداد كمية اليوروبيلين فى البول اذا كانت كمية البيليروبين زائدة نتيجة تكسير الكرات الحمراء فى حالات الأنيميا الخبيثة والملاريا وكذلك فى حالة توقف خلايا الكبد عن القيام بوظيفتها ومن ذلك يتضح أهمية هذا الاختبار ككاشف عن وظائف الكبد (انظر شكل ٧٠ ، ٧١ ، ٧٢ ، ٧٣).

ويجرى هذا الاختبار كالآتى :

يؤخذ ١٠ جم من البول فى أنبوبة اختبار ويضاف اليها بعض نقط من محلول Lugol ثم يضاف اليه ١٠ سم من محلول كحولى مركز من خلات الزنك ثم يخلط ويرشح ويختبر الراشح بوضعه فى أشعة الشمس مع وضع ورقة سوداء خلف الانبوبة فإذا ظهر لون اشعاعى اخضر Green fluorescence دل ذلك على وجود اليوروبيلين.

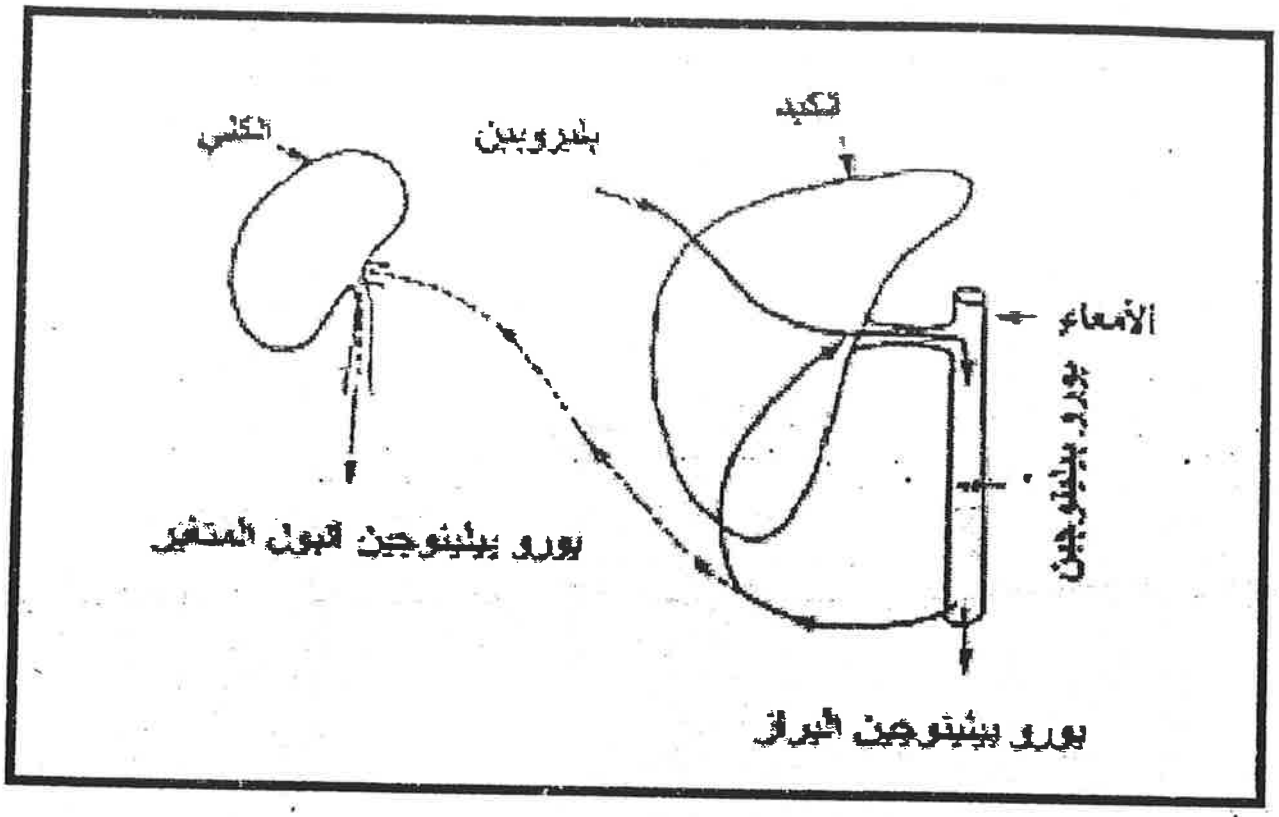
ملاحظة

يجب التخلص من الصبغات الصفراوية اذا كانت موجودة فى البول قبل إجراء التجربة سالف الذكر وذلك باضافة حوالى $\frac{١}{٥}$ حجم كمية البول المستعمل من Calcium Chloride

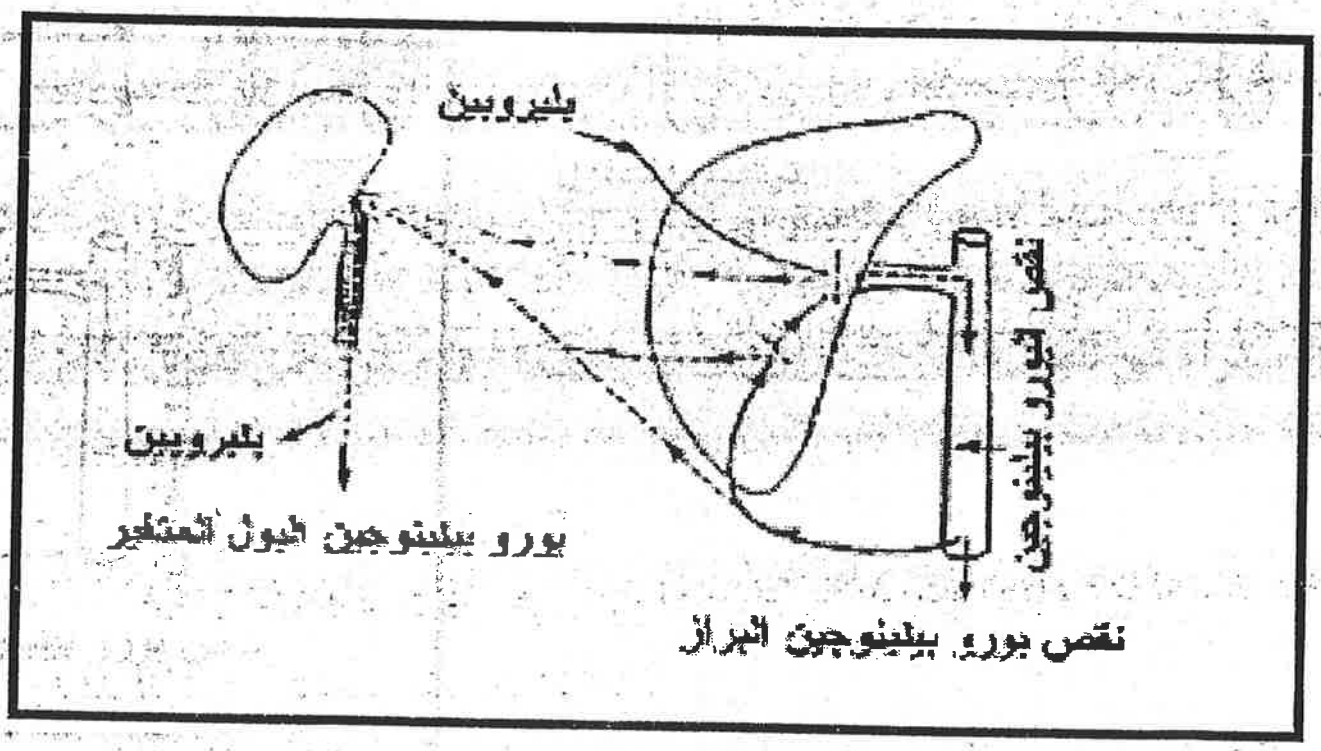
تجربة فوشيت : (Fouchets Test)

تعتمد هذه التجربة على ظهور لون أخضر نتيجة للتفاعل الحادث بين البيليروبين وكاشف فوشيت، وتتلخص هذه الطريقة كما يلى :

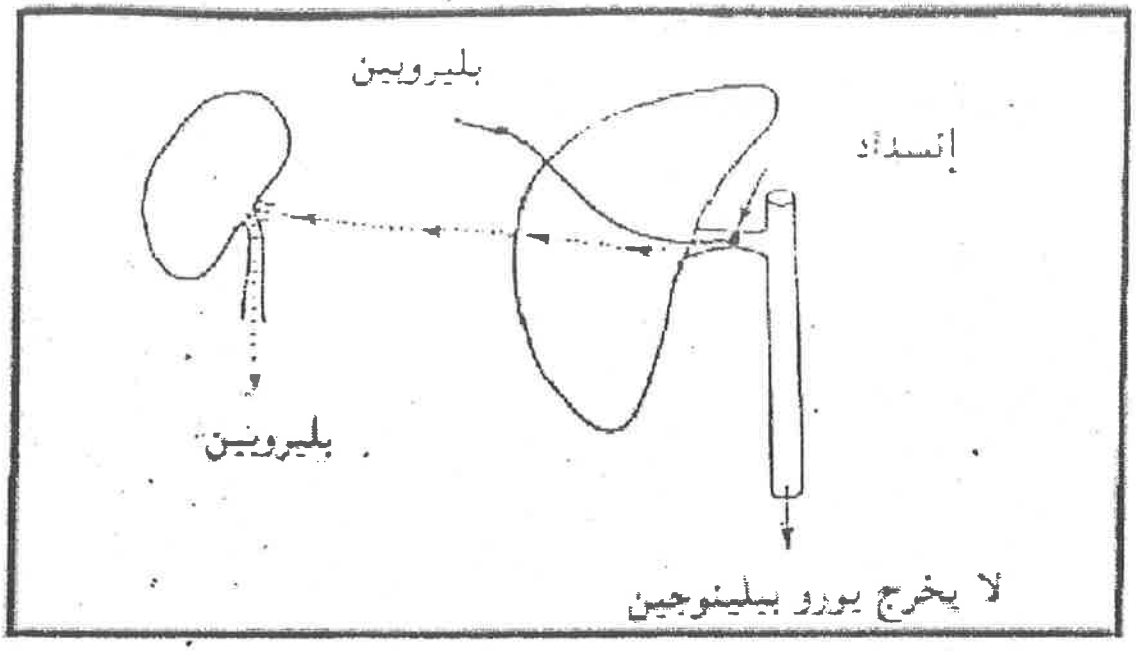
١- خذ شريطة من ورق ترشيح سميك، وأغمسها بمحلول مشبع من كلوريد الباريوم ثم اتركها لتجف.



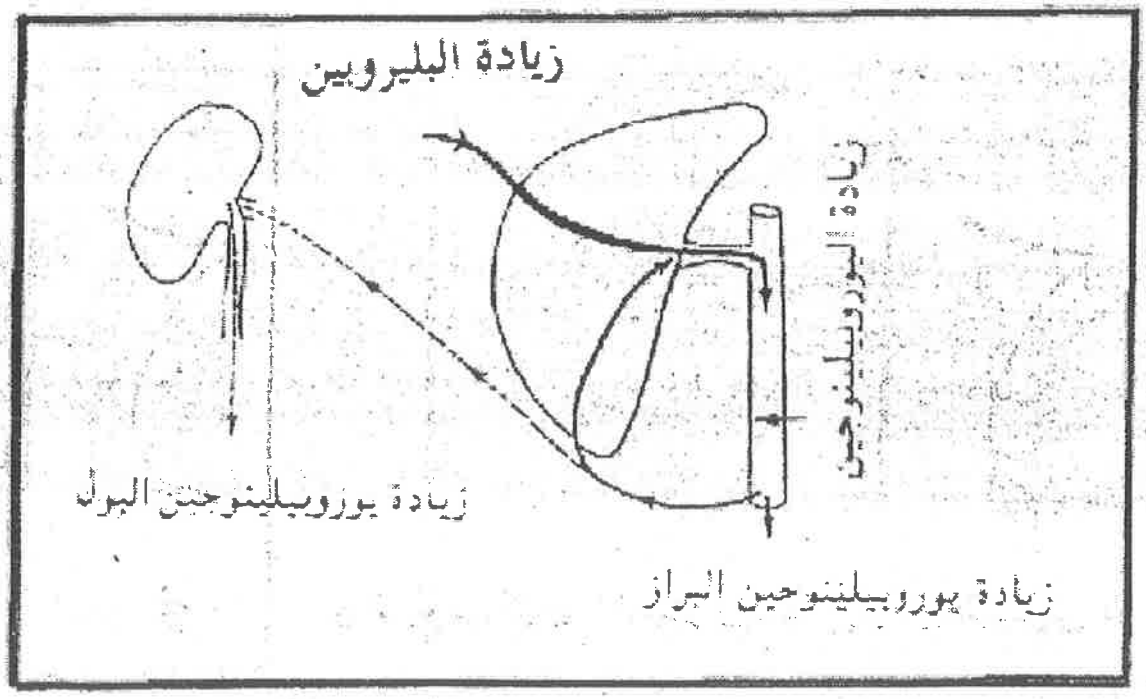
شكل (٢٠) : المسار الطبيعي للبليروبين واليوروبيلينوجين



شكل (٢١) : مسار البيليروبين في حالة الالتهاب الكبدي



شكل (٧٢) : مسار البيلروبين في حالة الالتهاب الكبدي الإنسدادي



شكل (٧٣) : مسار البيلروبين في حالة الالتهاب الكبدي النزيفي

٢- خذ الشريطة التى سبق غمسها فى كلوريد الباريوم واغمسها لمنتصفها (منتصف الطول) فى عينة البول. يكون كلوريد الباريوم عند غمره فى البول فوسفات الباريوم التى لها القدرة على امتزاز البيليروبين وتركيزه على سطح شريطة ورقة الترشيح.

اخرج شريطة الورقة من عينة البول، ثم أضف عليها بعض قطرات من كاشف فوشيت ، وذلك على الحد الفاصل بين الجزء المبتل والجزء الجاف من هذه الشريطة. فاذا ظهر لون أخضر، دل على وجود البلروبين فى البول، وتتغير شدة اللون مع كمية البلروبين. عادة ما تسجل الإستجابة اللونية من صفر الى + ٤.

تحضير المحاليل :

أولا : تحضير محلول مشبع من كلوريد الباريوم :

اذب ٣٨.٢ جم من كلوريد الباريوم المائى ($BaCl_2.2H_2O$) فى ١٠٠ مل ماء مقطر. رج للتجانس، فاذا لم تذب الكمية سخن المحلول ليساعد على الذوبان، ثم اتركه ليبرد.

ثانياً : تحضير كاشف فوشيت :

اذب ١.٠ من كلوريد الحديد $FeCl_3.6H_2O$، ٢٥.٠ جم من ثلاثى كلور وحامض الخليك ($CCl_3.COOH$) فى ١٠٠ مل ماء مقطر. رج للتجانس.

طريقة ارلخ (Ehrlich)

يحضر محلول ارلخ بإذابة ١٠ جرام من بارادايميثيل امينوبنز الديهيد paradimethyl aminobenzaldehyde في ٧٥ سم من حامض الكبريتيك المركز و٧٥ سم من الماء المقطر.

طريقة الاختبار

ضع ١٠ سم من البول فى انبوبة اختبار ويلاحظ أن يكون البول فى هذه الحالة فى درجة حرارة المعمل ثم أضف اليه ١.٠ سم من محلول ارلخ السابق الذكر. اترك الانبوبة لمدة ٥ دقائق فإذا ظهر لون أحمر دل ذلك على أن كمية اليوروبيلن فى البول أكثر من المعتاد أما اذا ظهر لون أحمر خفيف دل ذلك على أن كمية اليوربيلين Urobilin عادية ويلاحظ

عند قراءة هذه الألوان وضع ورقة بيضاء خلف الأنابيب.

أما اذا لم يظهر لون فأننا نترك الأنابيب لمدة أكثر من ٥ دقائق فإذا لم يظهر لون وجب تسخين الانبوبة قبل تدوين النتيجة حيث أنه اذا كان بالبول يوربيلن وجد ظهوره عند التسخين.

اختبار الانديكان (Indican Test)

يوجد لانديكان فى البول الطبيعى وهو نتيجة تكسير التربتوفان Tryptophan إلى إندول Indole فى الامعاء وتمتص هذه المادة السامة ثم تتحول الى مادة أخرى أكثر سمية توجد فى الكبد حيث تتحد مع الكبريتات وتتعادل مع بيكربونات البوتاسيوم إلى اندوكسيل البوتاسيوم Potassium indoxyl وأخيراً تتحول الى الانديكان Indican وتظهر فى البول. وزيادتها Indicanuria مرتبطاً عادة بأيض الاحماض الامينية.

طريقة أوبرماير (Obermeyer method) Ferrichloride

تحضير المحلول : يحضر باذابة ٣ جرام من كلوريد الحديديك فى لترين حامض الهيدروكلوريك المركز.

الطريقة الأولى : خذ ٢٠ سم من البول وأضعف اليه من ٥ سم الى ١٠ سم من محلول خلات الرصاص ١٠٪ ثم رشح الخليط ثم خذ من الراشح ٥ سم وأضف اليه كمية مساوية له من محلول Obermeyer سالفة الذكر اخلط محتويات الأنبوبة جيدا وأضف اليها ٥ سم من الكلوروفورم واخلطها ثانية فإذا ظهر لون أزرق فى طبقة الكلوروفورم دل ذلك على وجود الانديكان. أما اذا تلونت طبقة الكلوروفورم باللون الأحمر كان هذا دليلا على إن المريض يتعاطي أدوية بها يود.

الطريقة الثانية : يؤخذ ٥ سم من البول فى أنبوبة اختبار وأضف اليها ٥ سم من محلول أوبرماير واضف الى هذا الخليط حوالى ١٥ نقطة من الكلوروفورم وأخلط محتويات الانبوبة جيدا فإذا - تلونت طبقة الكوروفورم باللون الأزرق دل ذلك على وجود الانديكان كما أنها اذا تلونت باللون الأحمر دل ذلك على أن المريض يتعاطى أدوية بها اللون الأحمر كما سبق الذكر.

طريقة جاف : Jaffe

يؤخذ حوالى ٢ سم من البول ويضاف اليه كمية مساوية من حامض الهيدروكلوريك المركز ثم يخلط ويضاف اليه من ١٠ الى ١٥ نقطة من الكلوروفورم ثم يضاف الى هذا الخليط محلول مركز من تحت كلوريد الكالسيوم Calcium hypochloride حديث التحضير نقطة نقطة مع رج الانبوبة عقب وضع النقطة فإذا ظهر لون أزرق دل ذلك على وجود انديكان ويمكن استخدام محلول برمنجات البوتاسيوم (٠,٥ ٪) بدلا من محلول هيبوكلوريد الكالسيوم وفى هذه الحالة يضاف ٥ نقط من محلول برمنجات البوتاسيوم الى ١٠ سم من البول.

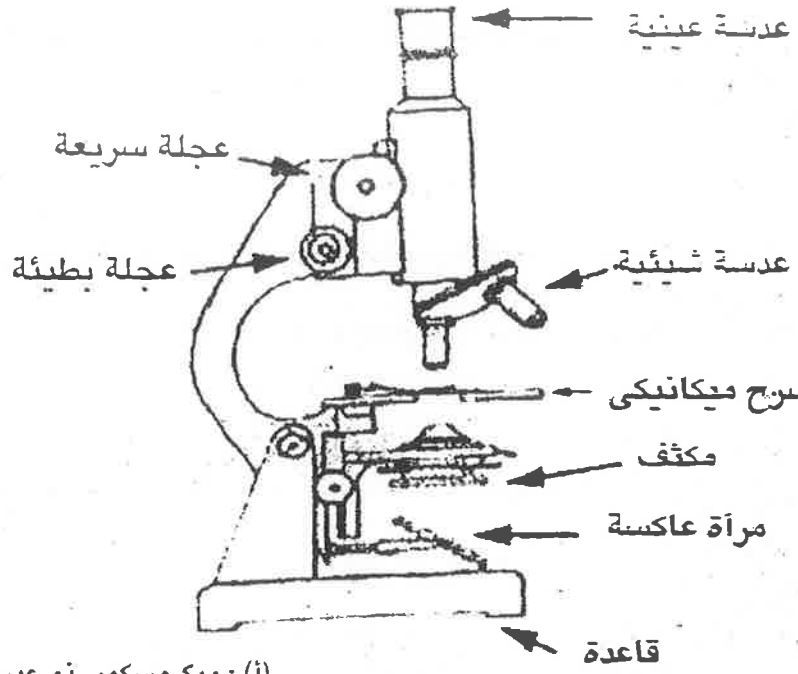
اختبار جول Golle

يؤخذ ١٠ سم من البول ويضاف اليه ٢ سم من محلول خلات الرصاص (٢٥٪) ثم تخلط محتويات الانبوبة وترشح ويضاف الى الراشح ٠,٥ سم من محلول كحولى من الثيمول (١٠٪) ثم أضف اليه ١٠ سم من محلول أوبرماير و٤ سم من الكلوروفورم وأخلط محتويات الانبوبة جيدا فرذا ظهر لون بنفسجى فى طبقة الكلوروفورم دل ذلك على وجود أنديكان (Indicanuria) وجود الانديكان فى البول مرتبط بالأمعاء ويوجد طبيعيا فى بول.

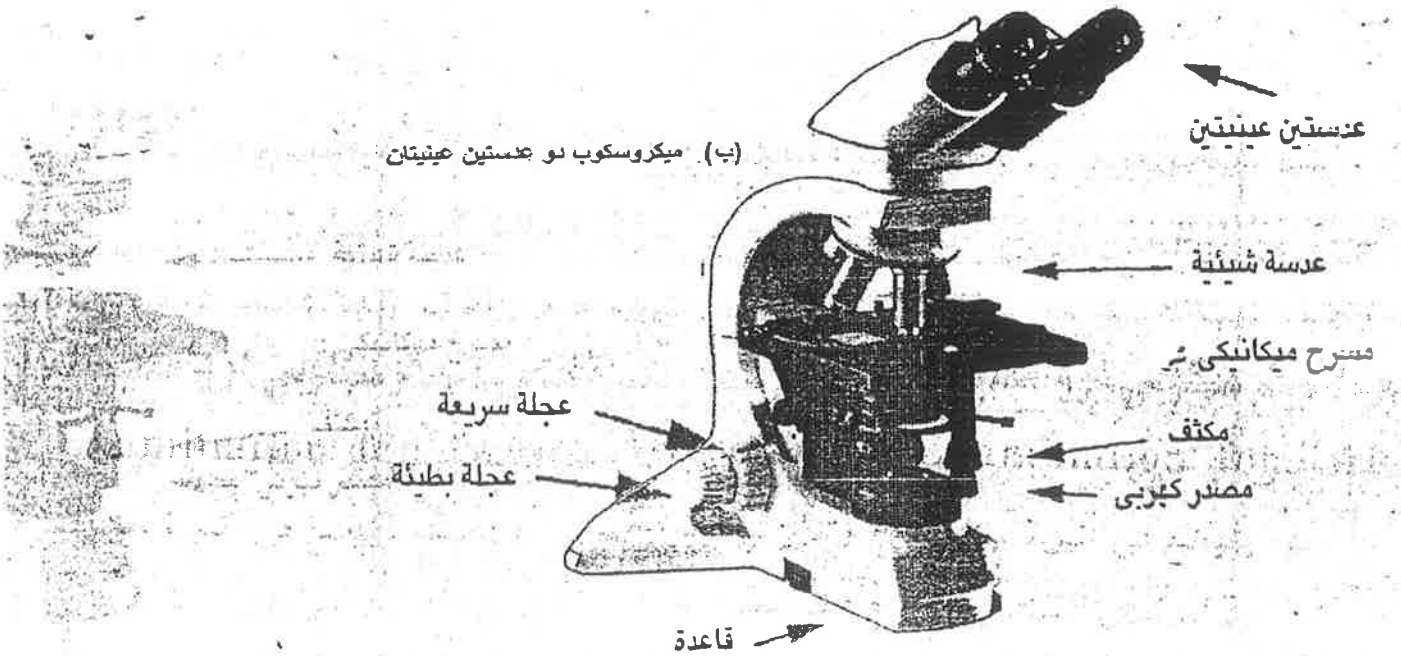
الفحص الميكرسكوبى لرواسب البول

Microscopic Examination for Urinary Sediments

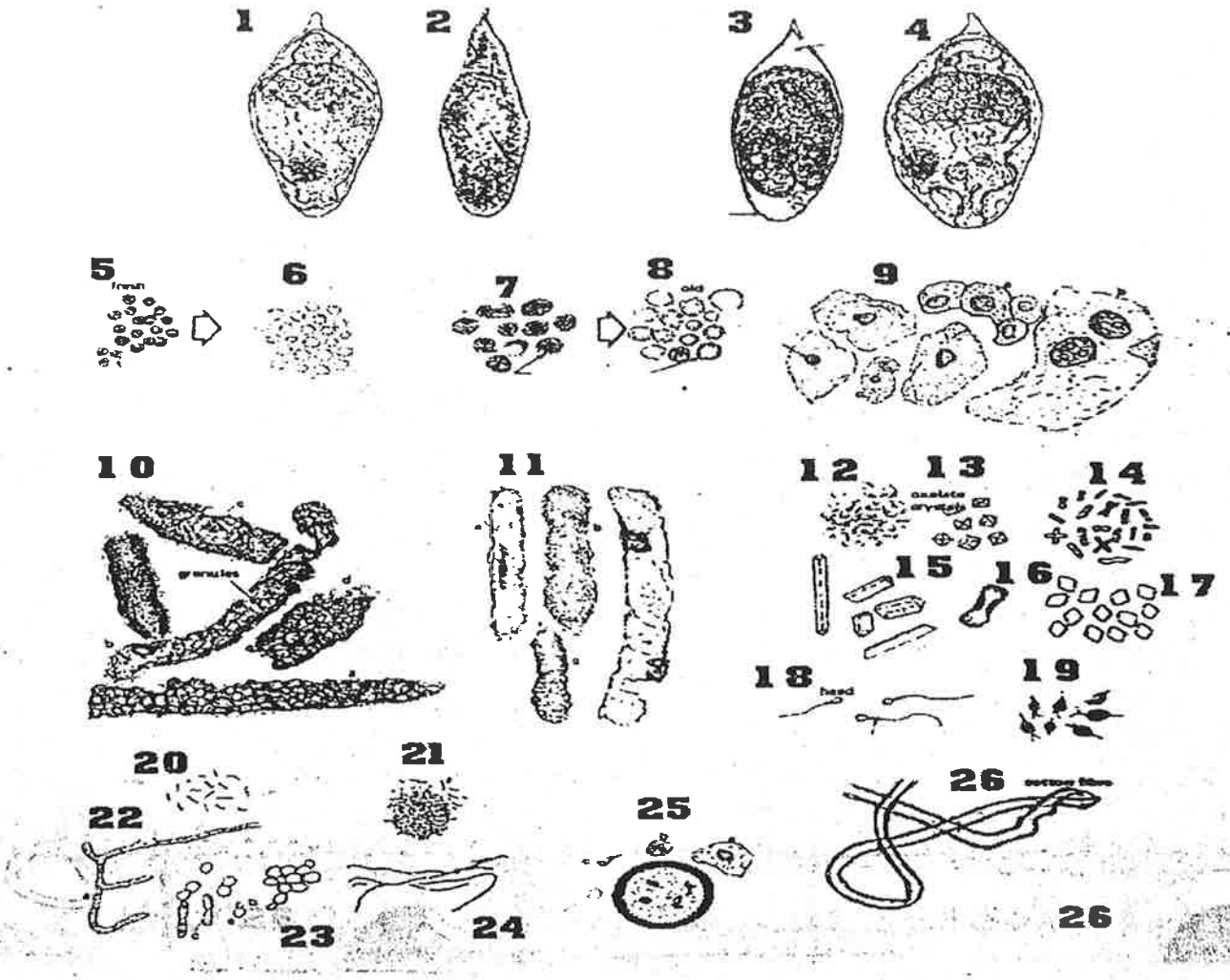
يؤخذ من البول حوالى ١٥ سم^{3} وتوضع فى أنبوبة سنترفيوج وتدار لمدة تتراوح من ١ الى ٥ دقائق ثم توضع فى جهاز الطرد المركزى السنتريفيوج على سرعة ١٠٠٠ - ١٥٠٠٠ دورة/دقيقة ثم يصفى السائل الرائق ويؤخذ جزء من الراسب بواسطة قطارة على شيرحة زجاجية ثم يغطى بغطاء زجاجى رقيق Cover glass وتفحص أولا بالعدسة الصغيرة لبيان المجال الميكروسكوبى ثم بالعدسة الدقيقة، انظر شكل (٧٤) لبيان تفاصيل الرواسب الموجودة بالبول (كما فى شكل ٧٥)



(أ) : ميكروسكوب ذو عدسة عينية واحدة



شكل (٧٤) : يبين تركيب الميكروسكوب



شكل (٧٥) : يوضح رواسب البول

(١،٢) بويضة البلهارسيا الطازجة (٣،٤) بويضة البلهارسيا الميتة (٥،٦) خلايا الدم الحمراء (٧،٨) الخلايا الصديدية (٩) الخلايا الطلائية (١٠) الاسطوانات الحبيبية (١١) الاسطوانات الشفافة (١٢) اليورات الرملية (١٣،١٦) اكسيلات الكالسيوم (١٤) أملاح كربونات الكالسيوم (١٥) الفوسفات الثلاثية (١٧) أملاح حمض اليوريك (١٨) الحيوانات المنوية (١٩) التريكوموناس (٢٠،٢١،٢٢،٢٣،٢٤) البكتيريا والفطريات (٢٥) فقاعة هوائية (٢٦) الباف.

١- الخلايا الدموية الحمراء	Red blood cells
٢- الخلايا الصديدية	Pus cells
٣- الخلايا الطلائية	Epithelial cells
٤- الاسطوانات	Casts
٥- البلورات	Crystals
٦- البكتريا	Bacteria
٧- الفطريات (الكانديدا)	Fungi (Candida)
٨- الطفيليات الحيوانية	Animal Parasites
٩- بويضة البلهارسيا	Bilharzia Ova
١٠- الحيوانات المنوية	Sperms
١١- المخاط	Mucus
١٢- الألياف	Fibers

أولا : الخلايا الدموية الحمراء

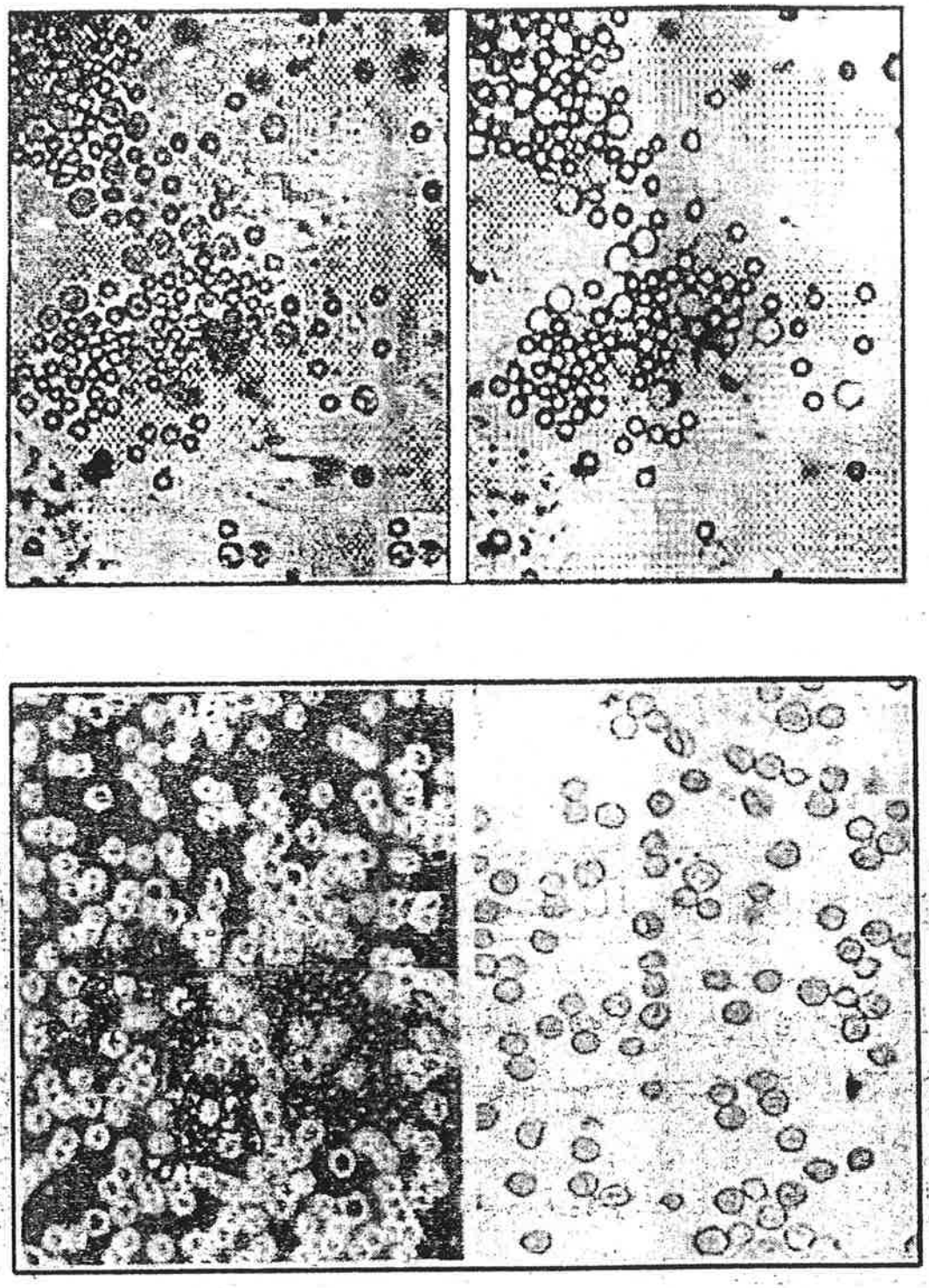
Erythrocytes or Red blood corpuscles (R.B.Cs)

وهى عبارة عن اقراص شاحبة عاكسة للضوء. لا يوجد بها انوية تظهر فى العينة الطازجة شاحبة اللون وتظهر شفافه أو شاحبة فى العينة المركزة، وقد تظهر صغيرة ومنتفخه فى البول الحامض وتكثر هذه الخلايا فى أمراض النزف الحاد Haematuria وخصوصاً في الكلى والمجارى البولية وتكثر أيضا فى مرض الالتهاب الكلوى الحاد Nephritis، وكذلك يدل وجودها على وجود الحصى فى الكلية حيث تنزل مع البول وأثناء نزولها تخدش المجرى البولى، مما يؤدى الى ظهور الخلايا فى البول كما أن بويضة البلهارسيا تؤدى الى ظهور خلايا الدم الحمراء.

كما تظهر فى حالات الاورام وحالات التسمم بالادوية والتهاب الزائدة الدودية احيانا، وتلف الانسجة الكلوية بسبب بعدم وصول الدم اليها وبعد الالتهابات الجرثومية. وقد يحتوى البول الطبيعى فى بعض الاحيان على ١-٣ من خلايا الدم الحمراء فى الفسحة الواحدة High power field (HPF) انظر الشكل رقم (٧٦).

ملاحظة هام :

يمكن مشاهدة الخلايا الدموية الحمراء .R.B.Cs بكثرة فى بول النساء إذا كانت عينة البول قد أوخذت فى أثناء الدورة الطمثية (الشهرية).



شكل (٧٦) : الخلايا الدموية الحمراء Red Blood Cells

ثانياً : الخلايا الدموية البيضاء :

Leucocytes or white blood cells (W.B.Cs) or cell

أكثر الأنواع تواجداً فى البول Leucocytes وقد تجد صعوبة فى تميزها أحياناً عن الخلايا الطلائية المختلفة بسبب التحويرات التى تحدث على شكل الخلايا قبل الفحص.

تحتوى الخلايا الدموية البيضاء على انوية مقسمة وهى عادمة محببة وحجمها أكبر من كريه الدم الحمراء بمرة ونصف تقريباً وبعض الـ Neutrophil تظهر عادة أكبر من خلايا الدم البيضاء العادية.

والإنسان الطبيعى لا يتواجد فى بوله أى عدد من الخلايا الدموية البيضاء وتكثر فى بول الأشخاص المصابون فى معظم أمراض الكلي والمجارى البولية والحصى الكلوية يمكن ظهورها مرافقاً أحياناً لوجود الخلايا الطلائية وكما يدل وجودها بأعداد كبيرة وخصوصا Pus cell إلى وجود الالتهاب بدرجة حادة وانفجار ورم صديدى فى الكلى أو المجارى البولية مما يستدعى زراعة البول جرثومياً، إذا وجد الصديد بأعداد أكثر من ١٥ وحدة لكل فسحه من الميروسكوب انظر شكل رقم (٧٧).

ملاحظة هامة :

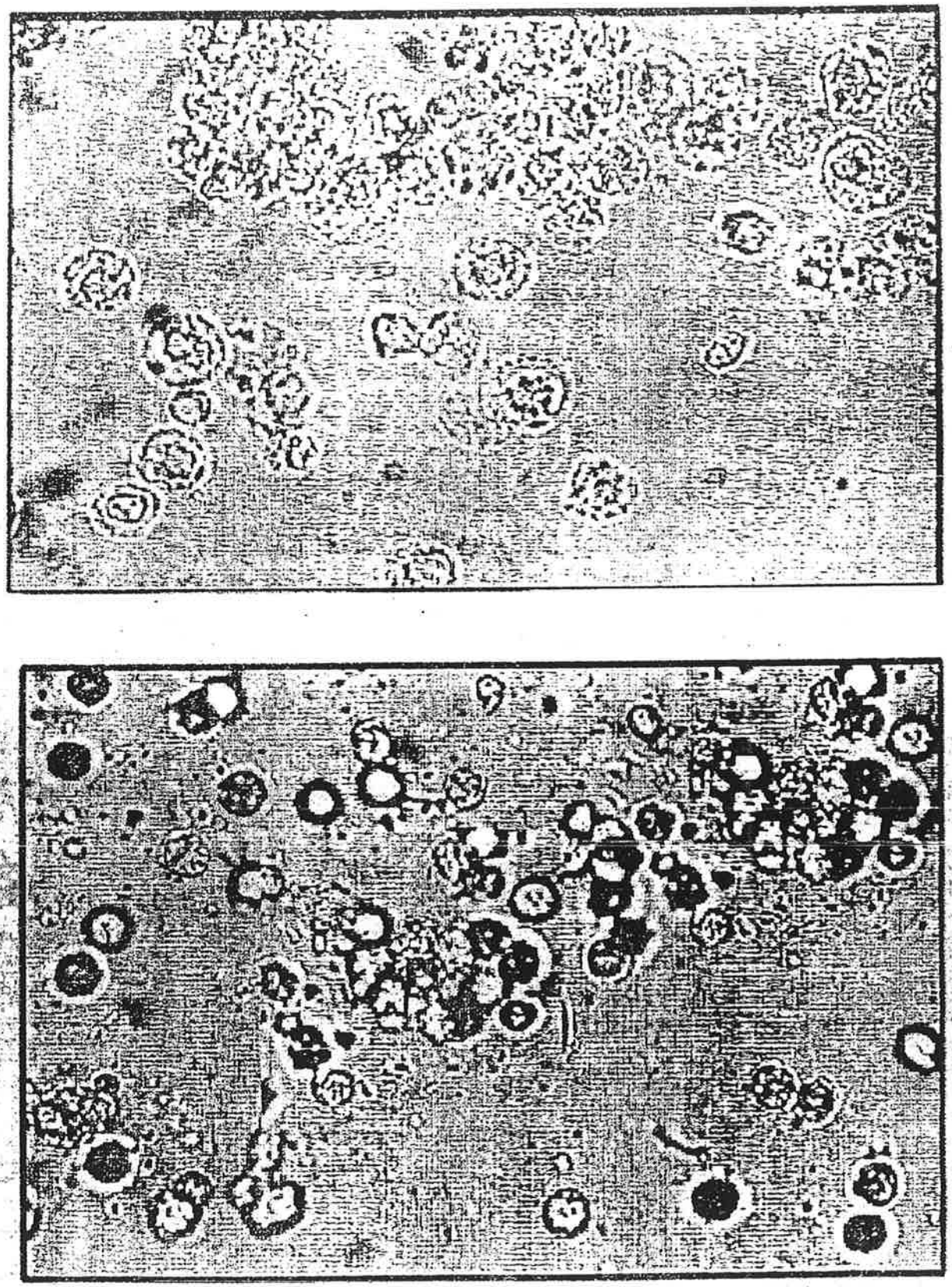
١- أن وجود الكثير من الخلايا الدموية البيضاء أو الخلايا الصديدية يدل فى العادة على التهاب فى المجارى البولية.

٢- يجب فحص عينة البول التى يشك فيها بوجود الخلايا البيضاء بكثرة بفحصها خلال ساعتين من اخذ النموذج البولى لأن الخلايا الدموية البيضاء تتحلل وتتلاشى فى الوسط القاعدى بنسبة ٢٠ - ٥٠٪ من عددها وكذلك تنتفخ الخلايا البيضاء ويصبح السيتوبلازم داخلها غير مستقر فى البول المخفف.

٣- يمكن مشاهدة الخلايا الدموية البيضاء أو الصديدية Rus Cells بكثرة فى بول النساء إذا اخذت عينة البول أثناء الدورة الشهرية.

ملحوظة :

من المهم ذكر العناصر المختلفة الموجودة فى كل فسحة (الشيئية × ٤٠) والمثابرة على استعمال نفس الطريقة للتعبير عن المقادير دائما، فمثلا يمكن كتابة التقرير من الخلايا الدموية الحمراء والخلايا الدموية البيضاء على النحو التالى :



شكل (٧٧) : الخلايا الدموية البيضاء (الصديد)

١- صفر ← ١٠ كريات دموية حمراء / ساحة HPF وتكتب فى التقرير بضع كريات دموية حمراء (صفر - ١٠) / ساحة (HPF)

٢- ١٠←٣٠ كرية حمراء/ساحة وتكتب فى التقرير عدد متوسط من الكريات الدموية الحمراء ١٠-٣٠ / ساحة.

٣- اكثر من ٣٠ كرية دموية حراء/ساحة وتكتب فى التقرير كريات دموية حمراء كثيرة (أكثر من ٣/ساحة).

ويمكن الرمز لها بكلمة Moderate ويعنى هذا المصطلح أن الحقل الميكروسكوبى أو الساحة الميكروسكوبية مملوءة بالخلايا.

٤- الحقول الميكروسكوبية المملوءة أكثر ولا نتمكن من عدها يطلق عليها مصطلح Numerous

٥- الحقول الميكروسكوبية المملؤة بشكل كامل واحيانان تظهر على شكل كتل كثيرة ويطلق عليها مصطلح Abundant أو Packed

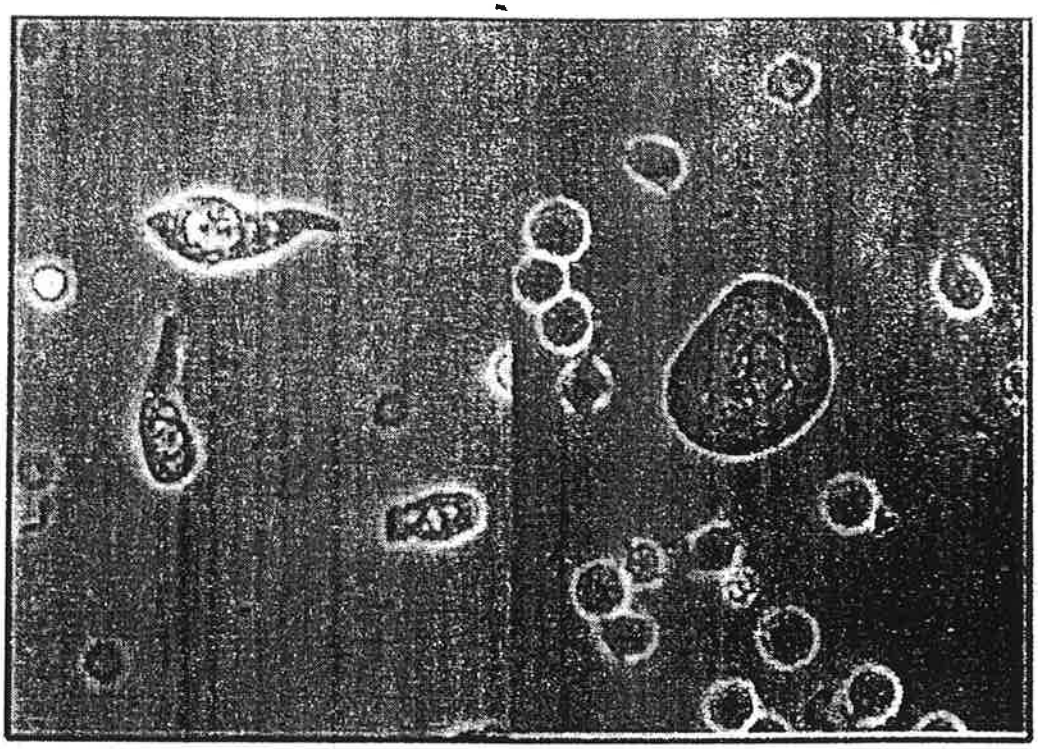
الخلايا الطلائية Epithelial Cells

الخلايا الطلائية Epithelial Cell : وهى عبارة عن خلايا كبيرة مستطيله هى محاصيل تساقط الخلايا من الاعضاء البولية وهى من الكلى، مجرى البول، الحالب، المثانة والمجرى التناسلى.

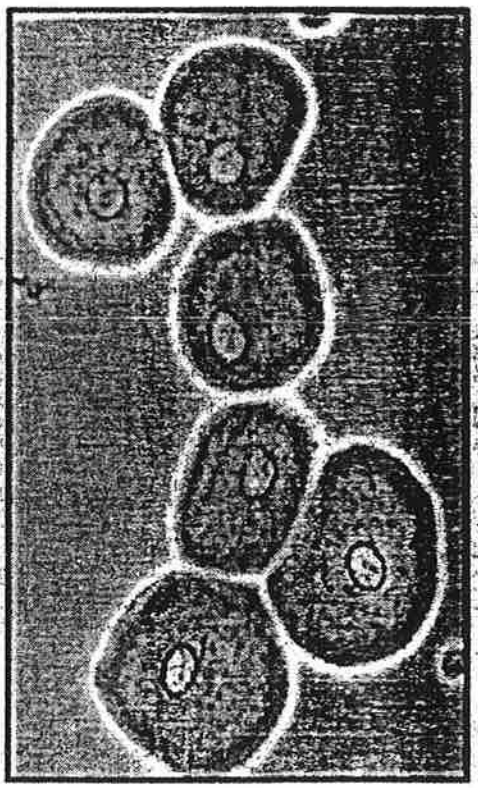
أ- الخلايا الطلائية (المثانية) Transitional epithelial cell يتراوح شكلها ما بين المنبسط والمربع العمودى واماكن تواجدها فى المثانة شكل (٧٨).

ب- الخلايا الطلائية الكلوية Renal tubular epithelial cells : دائرية الشكل وهى أكبر قليلا من كريات الدم البيضاء تحتوى على نواه واحدة كبيرة وتوجد فى الكلية وتظهر فى الالتهابات المختلفة وتظهر احيانا فى بول النساء. أنظر شكل (٧٩) واحيانا تكون النواة كاسرة للضوء ومرئية بوضوح وهذه الخلايا تكون مرافقة دائما لوجود البروتين فى البول.

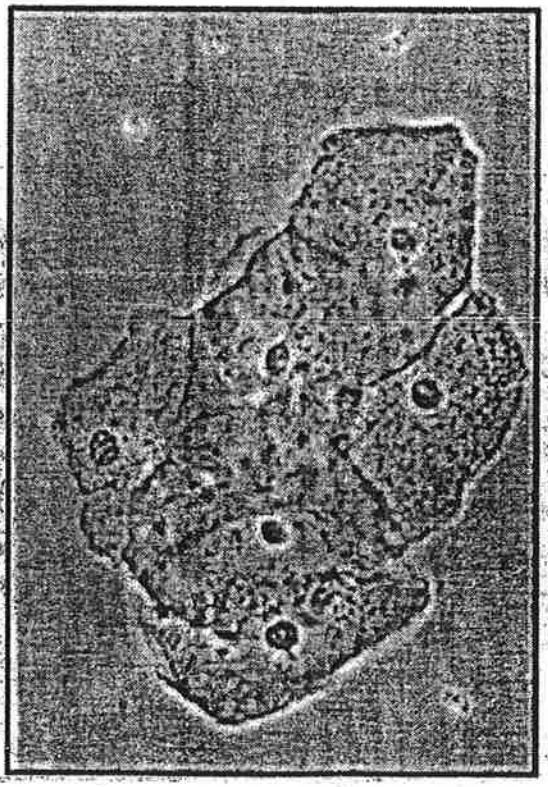
جـ- الخلايا الطلائية الحوضية (الحالب) Ureter epithelial cells عبارة عن خلايا بيضاوية متوسطة الحجم ذات نواه متميزة إذا وجد كثير منها مع الكريات الدموية البيضاء. واما إذا وجدت دون مرافقة الخلايا العمودية البيضاء ولو بعدد قليل فتكون اساسها حوضية. انظر شكل (٨٠).



شكل (٧٨) : الخلايا الطلائية الحالبية



شكل (٧٩) : الخلايا الطلائية الكلوية



شكل (٨٠) : الخلايا الطلائية الحرشفية

أنواع الخلايا الطلائية

ملاحظة هامة :

وجود الخلايا الظلانية بشكل كبير وملحوظ يدل علي تآكل الكلى والتهاب المجارى البولية.

الاسطوانات Casts

توجد الاسطوانات (شكل ٨١) فى البول الذى يحتوى على زلال أو بروتين بكميات كبيرة أو قليلة وربما يوجد في البول الذى لا يحتوى على زلال إطلاقا، وللاسطوانات فائدة تشخيصية كبيرة. حيث توجد اسطوانات فى حالات التهاب الكلى وربما تظهر فى بعض الأحيان فى بول المرضى أصحاء الكلى وربما تظهر الاسطوانات فى حالات بول المرضى المصابون باليرقان أو حالات الأنيميا الحادة أو المزمنة وفى حالات الأمراض العصبية.

وكثيرا ما توجد الاسطوانات المحببة فى حالات التهاب الكلى. أما فى بعض حالات مرضى المسالك البولية الغير مصحوبة بالتهابات فيوجد قليل من الاسطوانات الهلالية أو الشفافة (Hyaline casts) ويمكن تقسيم الاسطوانات الى نوعين، اسطوانات حقيقية واسطوانات كاذبة والأولى وهى الاسطوانات الحقيقية تبين التهاب الكلى Nephritis بينما الأخيرة لا تبين ذلك.

توجد عدة عوامل توثر فى ظهور الأسطوانات :

١-قلة اندفاع البول ٢- زيادة حموضة البول

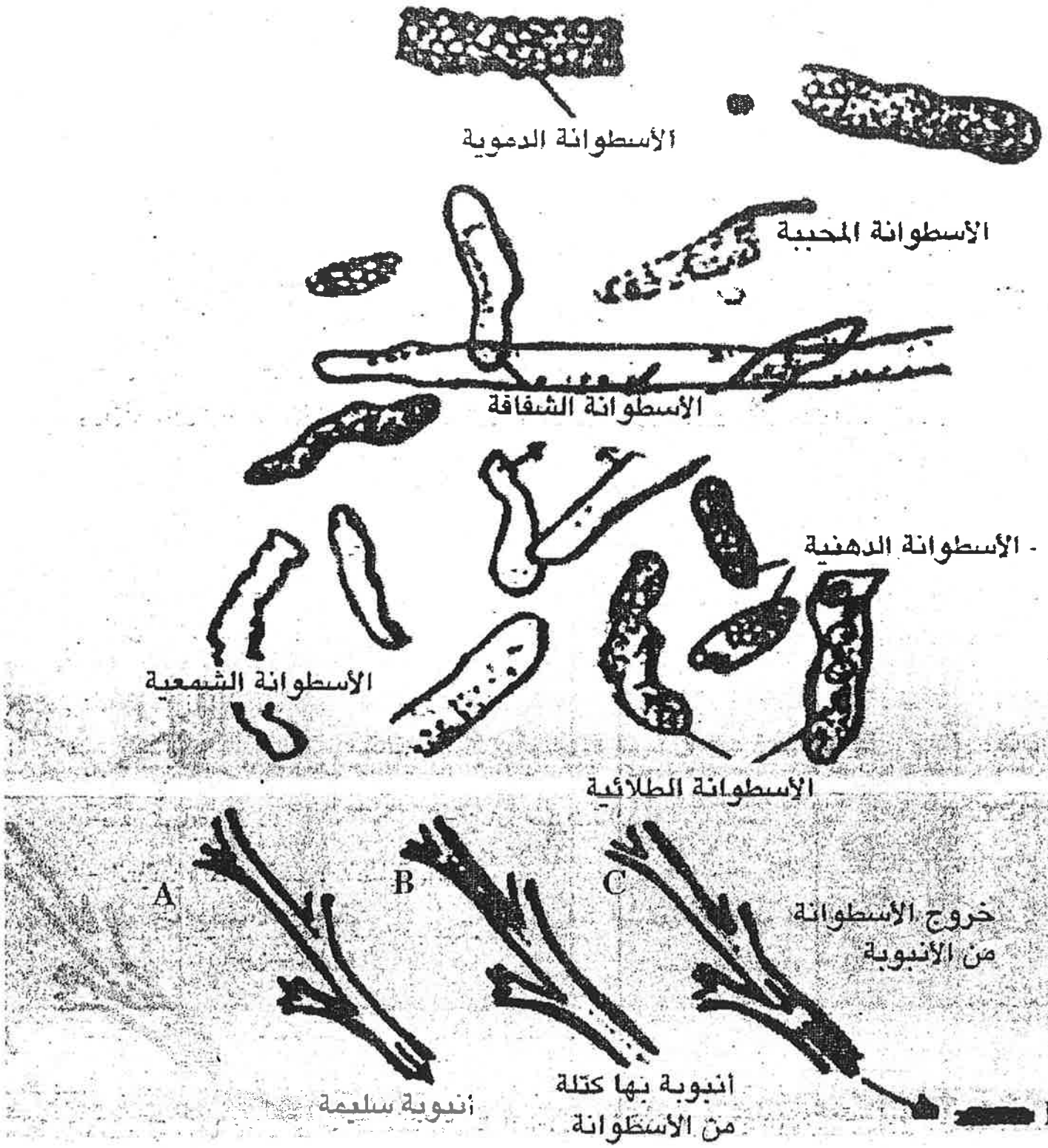
٣- التركيز العالى للمواد الصلبة بالبول.

٤- وجود مركبات بروتينية غير طبيعية.

أنواع الاسطوانات :

١-الاسطوانات الشفافة Hyaline casts

وهذه الخلايا ذات لون باهت وشفافة وبرما تتكون عليها بعض الخلايا الصديدية أو الدموية وربما تتراكم على هذه الاسطوانات بعض الاسطوانات الدهنية ولكى تظهر الاسطوانات بصورة واضحة فى الميكروسكوب توضع نقطة من محلول اليود أو يوديد البوتاسيوم على الشريحة فتتكون الاسطوانات وتتكون من بروتين اصله جيلاتين، كما فى شكل (٨٢).



شكل (٨١) : الأسطوانات

٢- الاسطوانات الدموية Blood casts

وظهور هذا النوع من الاسطوانات يبين شدة انتشار التراكمات فى الأنيبيبات البولية Acute diffuse nephritis congestion أو التراكمات فى الكلية Congestion of the kidney أو نزيف كلوى وشكل هذه الاسطوانات غير منظم وحوافها مستديرة، انظر شكل (٨٣).

٣- الأسطوانات الصديدية Pus casts

وربما توجد هذه الاسطوانات كما فى شكل (٨٤) متراصه وغير محددة وفى بعض الاحيان تحتوى على كرات دهنية Fat globules وهى دلالة على الفشل الكلوى Renal Failure

٤- الأسطوانات المحببة Granular casts

هذه الاسطوانات محددة ولها حواف معينة مستديرة من جانب ومستقيمة فى الجانب الآخر وفى بعض الاحيان تكون عريضة من جانب وضيقة من الجانب الآخر والمادة المحببة تتكون من الزلال والخلايا الغشائية والمواد الدهنية أو بقايا خلايا دموية بيضاء أو حمراء. وربما تكون الحبيبات دقيقة فى طرفيها وغليظة فى الوسط أو بالعكس. أنظر شكل (٨٥) وهى توجد ببول الأشخاص الذين يمارسون الرياضة بصورة عنيفة كما توجد فى بول المرضى الذين يعانون من التهاب الكلي.

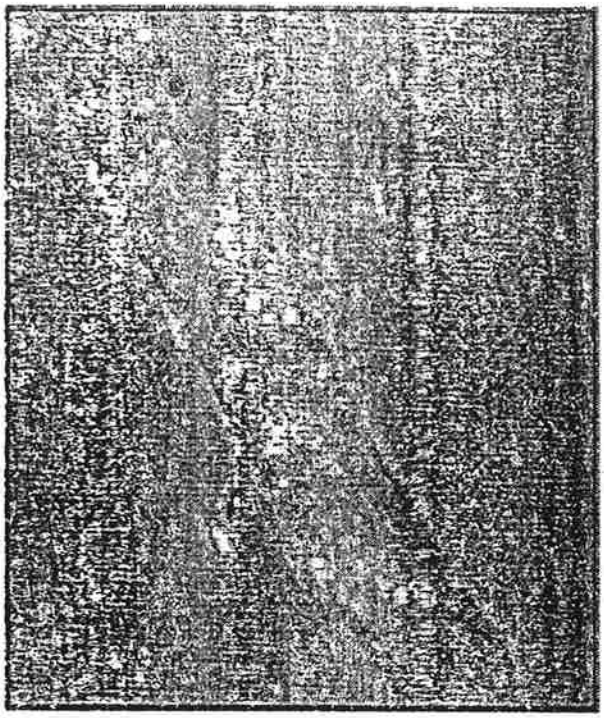
٥- اسطوانات طلائية Epithelial casts

فى كثير من الاحيان لا تظهر الاسطوانات بمفردها وانما تظهرا مختلطة بعضها مع بعض فربما تكون الخلايا الغشائية مختلطة مع الاسطوانات الدهنية والمحببة وربما تكون الاسطوانات خليط من اسطوانات شمعية ودهنية أو اسطوانات محببة ودهنية وشمعية أو اسطوانات دموية وشمعية، كما فى شكل (٨٦).

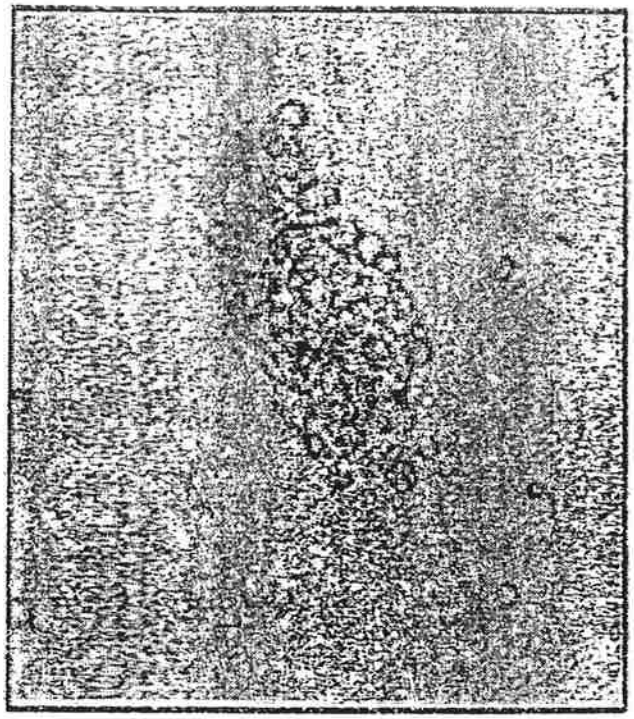
يختلف حجم هذه السطوانات باختلاف الأمكنة الآتية منها. وربما تتكون خلية غشائية أو خليتين على الاسطوانة وفى بعض الاحيان نجد الاسطوانة مغطاة تماما بالخلايا الغشائية ولون هذه الاسطوانة غالبا أصفر، وهى تظهر فى بول المرضى الذين يتعرضون للفيروسات والمواد السامة التى تؤدى الى التهاب النفرونات.

٦- الاسطوانات الشمعية Waxy casts

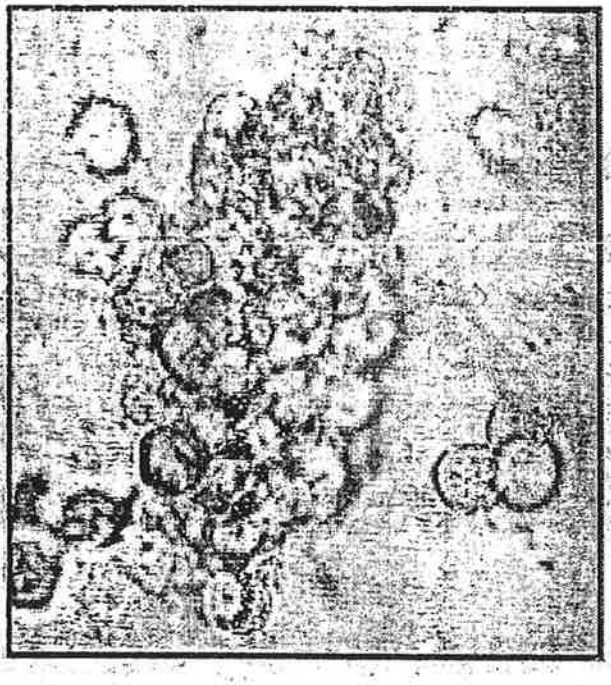
تتميز هذه الخلايا بحواف شمعية غير منتظمة ذات لون أصفر لامع وسهلة الكسر، وتظهر هذه الاسطوانات فى الحالات المزمنة فى أمراض الكلى وليس فى الحالات الحادة



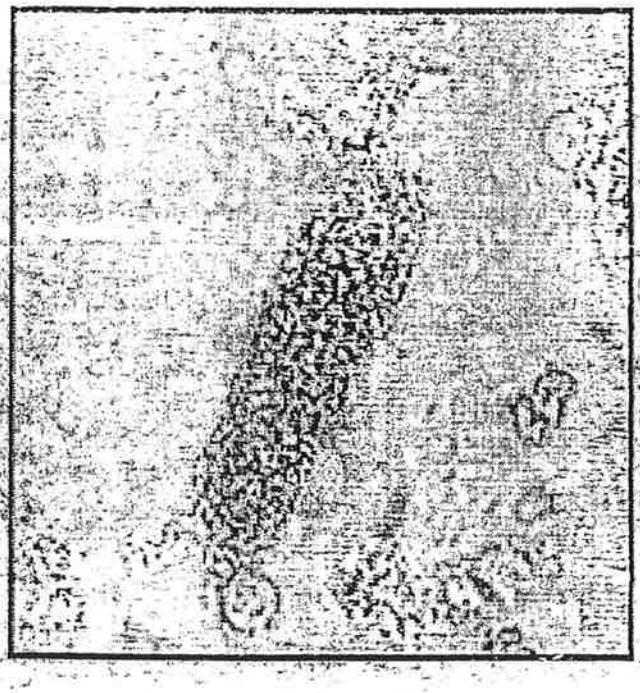
شكل (٨٢) : الأسطوانات الشفافة



شكل (٨٣) : الأسطوانات الدموية الحمراء



شكل (٨٤) : الأسطوانات الصديدية



شكل (٨٥) : الأسطوانات المحببة

أنواع الأسطوانات المختلفة (أ)

وفى كثير من الاحيان تكون هذه الاسطوانات كبيرة الحجم ومتكسرة الى قطع كثيرة. أنظر شكل (٨٧).

٧- الأسطوانات الدهنية Fatty casts

وهذا النوع من الاسطوانات يكون موجود فى التهاب النفروتات والسموم وهذه عبارة عن كرات دهنية كبيرة الحجم براقة، أنظر الشكل (٨٨).

٨- اسطوانات كاذبة False casts

لا علاقة لهذه الاسطوانات بأمراض الكلى. وهى عبارة عن تجمع بعض المواد على خيوط أو اسطوانات مخاطية وفى بعض الاحيان يوجد فى البول اسطوانات بولينا وهذه تظهر فى بول الأطفال مكونة تجمعات حمراء ونادرا ما توجد فى بول الكبار.

٩- أشباه الاسطوانات Cylindroids

وبجانب الاسطوانات السابقة الذكر ربما تظهر اسطوانات مخاطية أو أشباه الاسطوانات بين الاسطوانات الحقيقية وربما كان هذا النوع من الاسطوانات يحتوى على دهنيات.

١٠- الأسطوانات البكترية Bacterial casts

وهى تظهر فى البول الذى يترك لمدة اثنا عشرة ساعة أو أكثر فى مكان دافىء حيث تتكون كثير من البكتريا وتختلف كثيرا فى الحجم.

١١- الأسطوانات الفيبرينية Fibren casts

وتوجد فى حالات النزيف وهى كبيرة الحجم نوعا ما ولونها أصفر أو أصفر داكن ولها حواف مميزة.

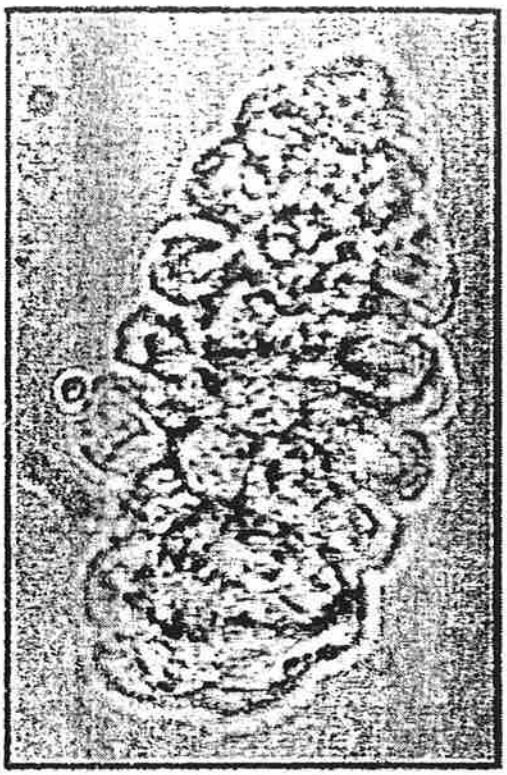
أهمية وجود الأسطوانات فى البول

غالبا ما توجد الأسطوانات الشفافه Hyaline casts فى بول الأصحاء بعد مجهود جسمانى وغالبا ما يوجد هذا النوع من الاسطوانات فى حالات اليرقان Jaundince بدون وجود زلال فى البول.

أما وجود الاسطوانات المحبيه فيبين عملية انحلال حاد فى الأنابيب الغشائية

Severe degenerative process in the tubular epithelian

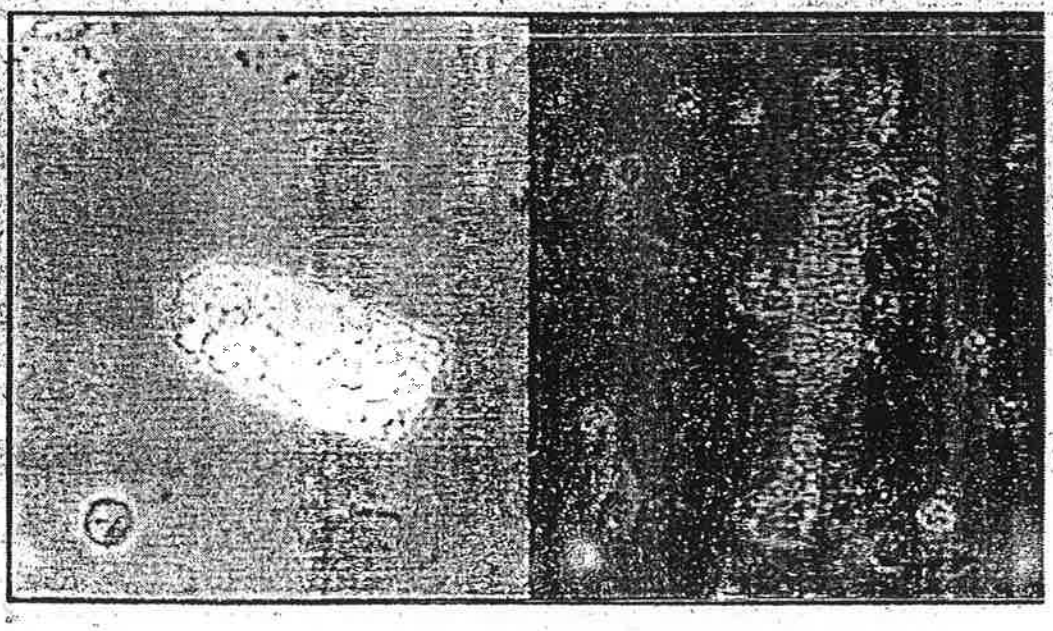
أما الاسطوانات الغشائية Epithelial casts فوجودها فى البول بكميات قليلة ليس له أهمية زما اذا كانت موجود بكميات كبيرة فيكون دليلا على وجود فشل كلوى Renal degeneration. وتوجد الاسطوانات الدهنية فى البول فى الحالات الاخيرة من الالتهاب



شكل (٨٦) : الأسطوانات الطلائية



شكل (٨٧) : الأسطوانات الشمعية



شكل (٨٨) : الأسطوانات الدهنية

أنواع الأسطوانات (ب) .

الكلوى الحاد acute nephritis وتوجد الاسطوانات الشمعية آذا حدث فى الكلى تغيرات مرضية لمدة طويلة وبالاختصار فإن الاسطوانات المحببة والغشائية والدهنية تبين جميعها تغيرات مرضية بالقنوات الغشائية للكلية.

الرواسب البلورية Crystals

١-بلورات حامض البوليك (اليوريك) Uric acid crystals

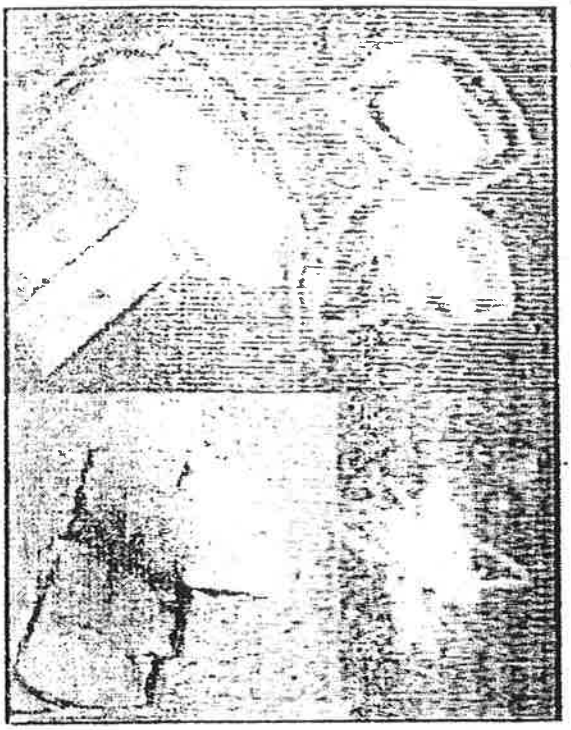
وهذا النوع من البلورات على شكل منشورات رباعية Rhombic prisms أو منشورات وردية Prismatic rosettes ويكون لون البول فى هذه الحالة أحمر داكن ووجود بلورات حامض البوليك فى البول لا يستلزم اصابة الانسان بمرض كما أن وجوده لا يكون علامة على زيادة حامض ا لبوليك فى البول وتزيد بلورات حامض البوليك زيادة كبيرة فى حالات مرض النقرس gout وحالات التهاب الكلى المزمن Chronic nephritis أنظر الشكل (٨٩).

٢-البوليتات (اليورات) Urates

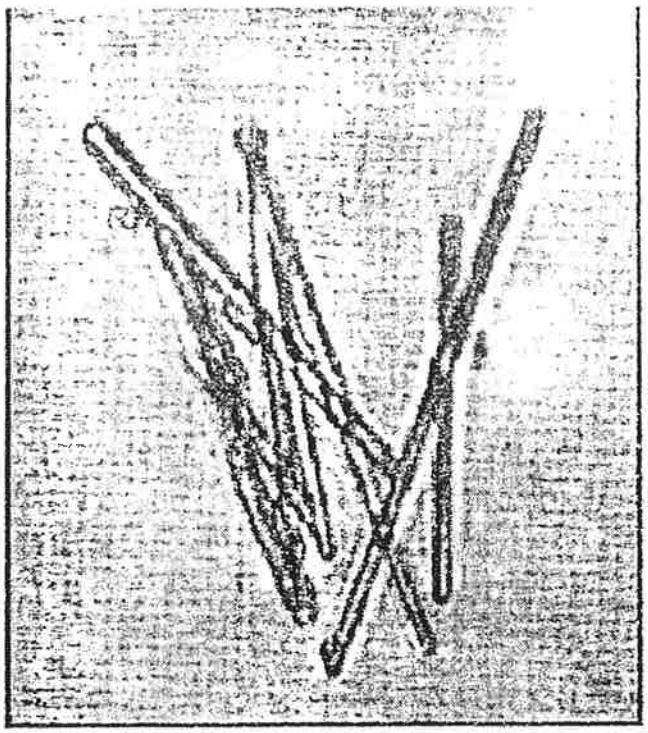
وربما تظهر هذه البلورات على شكل يورات البوتاسيوم والمغنسيوم والكالسيوم والنوشادر. واليورات الثلاث الاولى موجودة فى البول الحمضى اما الاخيرة وهى بلورات النوشادر فموجودة فى البول المتعادل والحمضى والقلوى والمتعادل ويورات الصوديوم وثنائى يورات الامونيوم. أنظر الشكل (٩٠-٩١).

٣-بلورات اكسلات الكالسيوم Calcium oxalate Crystals

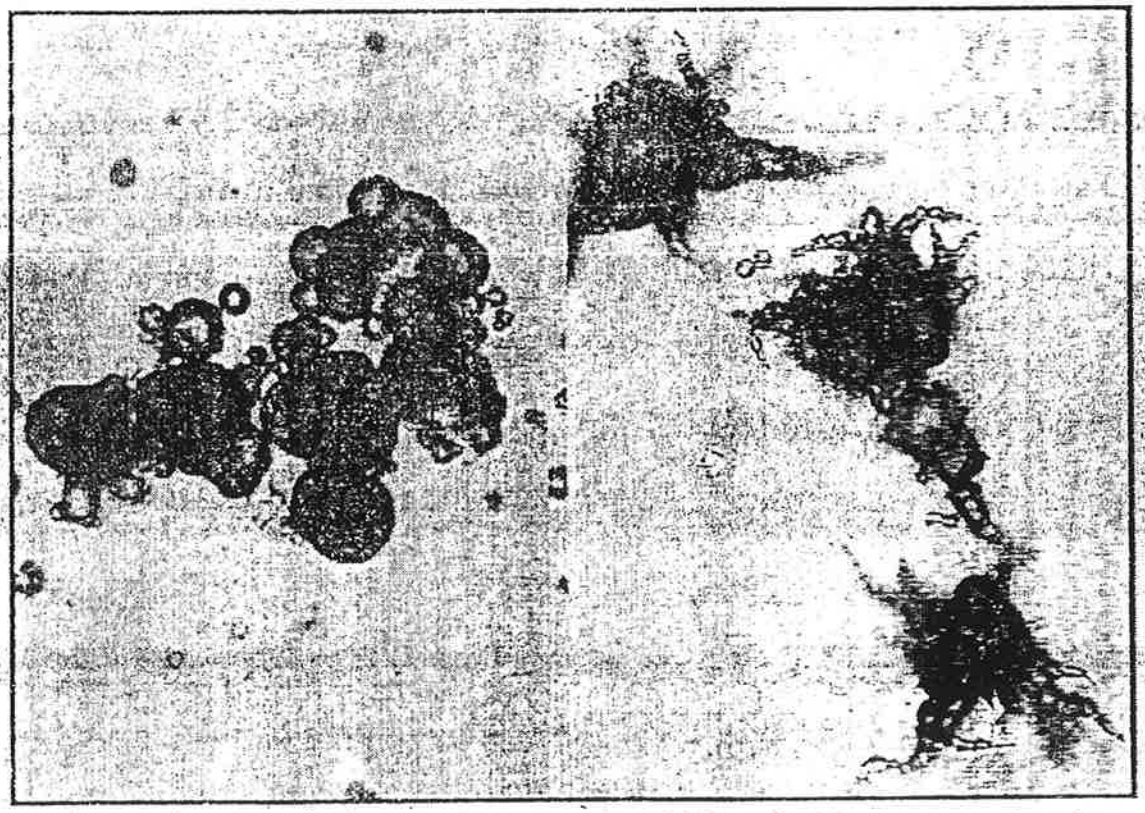
وهى فى الغالب علي شكل ظرف الخطاب أو على شكل دمبل وتوجد اما فى البول القلوى أو الحمضى أو المتعادل وغالبا ما يكون فى البول الحمضى وتوجد بكميات قليلة فى بول الاصحاء وتوجد بكميات كثيرة فى بعض الحالات كمرضى البول السكرى وامراض الكبد والقلب والرئتين أو فى بول المرضى الذين يأكلون الطماطم أو الخرشوف أو البرتقال أو السفرجل بكميات كثيرة أو المانجو أو السبانخ. أنظر الشكل (٩٢).



شكل (٨٩) : بلورات حامض البوليك



شكل (٩٠) : بلورات يورات الصوديوم



شكل (٩١) : بلورات ثنائى يورات الامونيوم
أشكال البلورات المختلفة التى توجد فى البول (أ)

٤-السيستين Cysteine

يظهر على شكل بلورات سداسية مسطحه عديمة اللون وتظهر فى البول الحامضى سريعة تتكل بالجراثيم. انظر شكل (٩٣).

٥-التيروسين Tyrosine

تظهر على شكل بلورات ابرية صفراء أو عديمة اللون وأحيانا يمكن ظهورها على شكل حزم وتظهر فى البول الحامضى ويكون ظهورها على شكل صفيحات سداسية انظر شكل (٩٤).

٦-الليوسين Leucine

تظهر بلورات الليوسين الكروية أو الابرية الصرفاء أو نوع عديمة اللون فى البول الحامضى وتذوب فى الكحول والقلويات الساخنة وقليلة الذوبان فى الماء الساخن وتظهر على شكل صفائح سداسية عندما تكون كفيه انظرشكل (٩٥).

٧-بلورات الكوليستيرول Cholesterol

وتظهر بلورات الكوليستيرول فى البول الحامضى والبول المتعادل أيضا وتظهر على شكل بلورات عديمة اللون واحد زواياها مشطوفه وتذوب فى إحدى المحاليل التالية: الكحول الساخنة، الاثير، الكلوروفورم. انظر شكل (٩٦).

٨-اليورات الرملية Amorphous Urates

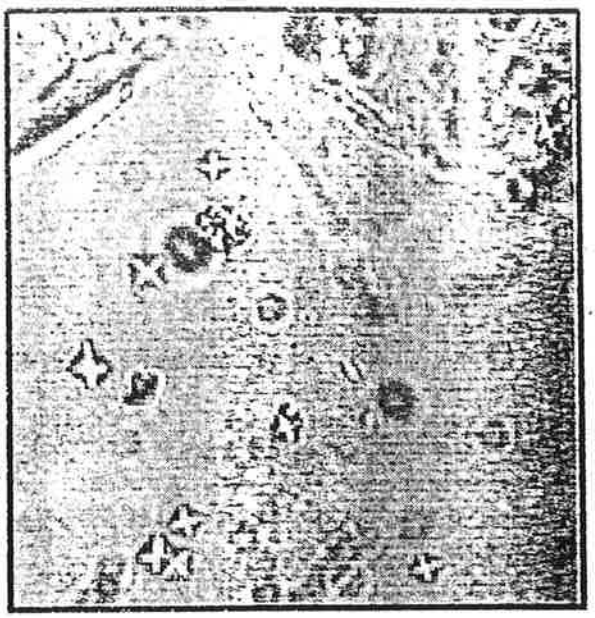
وهى تظهر فى البول الحامضى على شكل حبيبات صغيرة غير منتظمة صفراء أو حمراء اللون كما فى شكل (٩٧).

٩-الفوسفات الثلاثية Triple phosphate

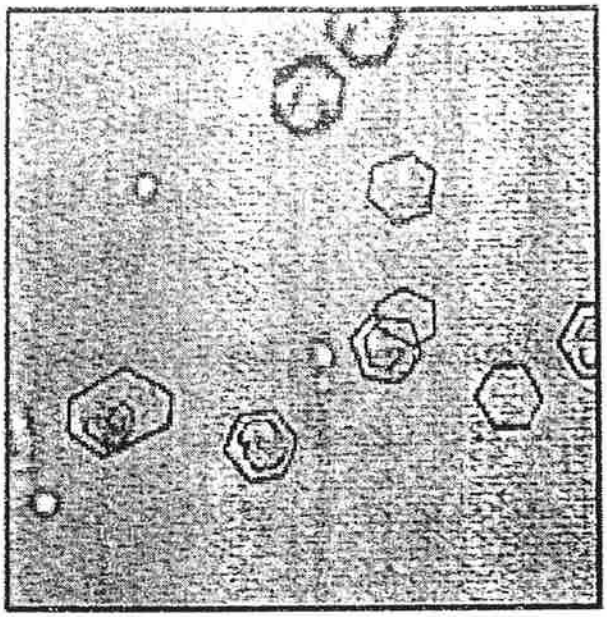
وهى تتكون من الامونيوم والمغنسيوم والفوسفات (Ammonium Magnesium Phosphate) وتوجد فى البول القلوى أو البول الذى يبقى فى المثانه مدة طويلة كما هو الحال فى المرضى المصابون بتضخم فى البروستاتا. أنظر شكل (٩٨).

١٠- بلورات كربونات الكالسيوم Calcium carbonate Crystals

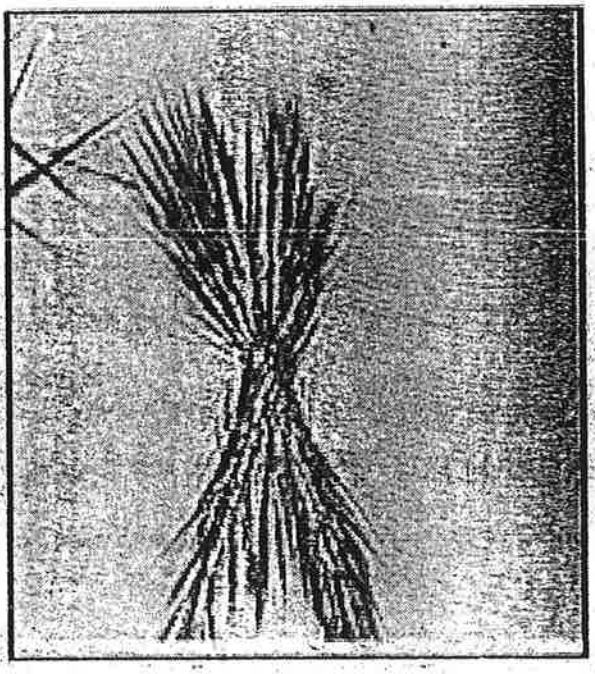
غالبا ما توجد هذه البلورات فى البول القلوى وربما توجد فى البول المتعادل أو



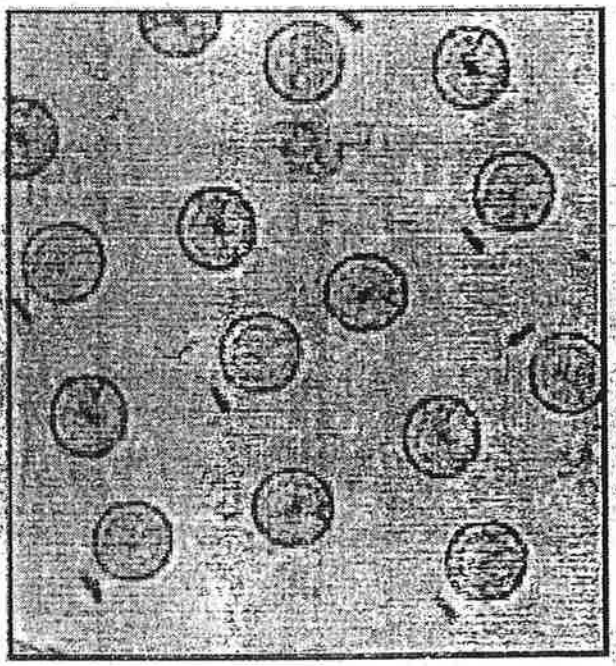
شكل (٩٢) : بلورات اكسالات الكالسيوم



شكل (٩٣) : بلورات السيستين



شكل (٩٤) : بلورات التيروسين



شكل (٩٥) : بلورات الليوسين

أشكال البلورات المختلفة التى توجد فى البول (ب).

الحمضى نوعا ما وهى على شكل الدمبل Dumbbell ويمكن تمييزها عن بلورات أكسلات الجير بأنها تذوب فى حامض الخليك مع تكوين ثانى أكسيد الكربون بينما بللورات اكسلات الجير لا تتأثر بحامض الخليك. انظر شكل (٩٩).

١١- بلورات فوسفات الكالسيوم Calcium phosphate Crystals

وهذه توجد فى البول أما فى حالة متجانسة أو على شكل حبيبات أو بللورات وشكلها كالنجمة وكالورده وتوجد فى البول الذى يبقى مدة طويلة فى المثانة. أنظر الشكل (١٠٠).

١٢- الفوسفات الرملية Amorphous phosphate

توجد فى البول القلوى وتعتمد على نوع الغذاء وهى تذوب فى حمض الخليك وهى توجد فى بول الاصحاء وشكلها يشبه املاح البورات الرملية انظر شكل (١٠١).

١٣- البليروبين Bilirubin

وتظهر فى بول الاشخاص المصابون بداء اليرقان نتيجة تكسير الكريات الدموية الحمراء ويظهر فى البول الحامضى ولون هذه البلورات بنية اللون ابرية الشكل وغير منتظمة وعلى شكل مكعبات وتذوب فى الاحماض والكلوروفورم والاسيتون انظر شكل (١٠٢).

١٤- البلورات الناتجة من العلاج بأشعة إكس X-ray crystals

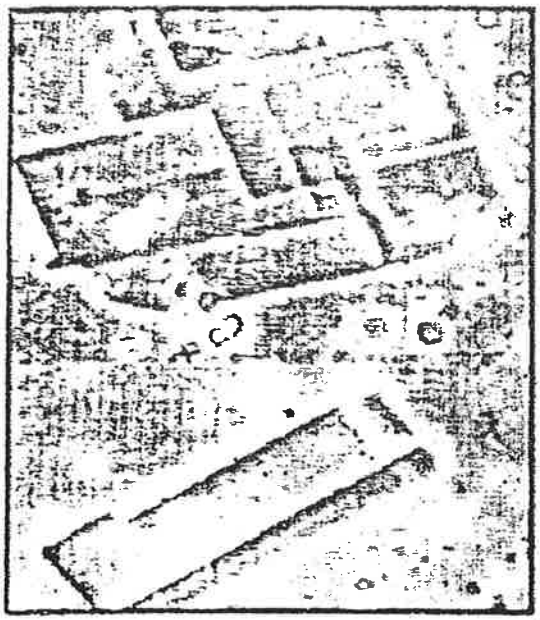
وتظهر هذه البلورات كما فى شكل (١٠٣) فى بول الأفراد اللذين يعالجون بأشعة اكس أو التى تستخدم فى الكشف عن حصوات الكلى أو أى أمراض أخرى بالجسم.

١٥- السلفوناميد ومشتقاتها Sulfanomid

تظهر فى الوسط الحامضى والمتعادل وهى غير منتظمة الشكل Sulfadiazine وتظهر هذه البلورات فى البول الحامضى كما تظهر فى حالات التسمم بالادوية شكل (١٠٤).

أ- السلفاديازول Sulfadiazole

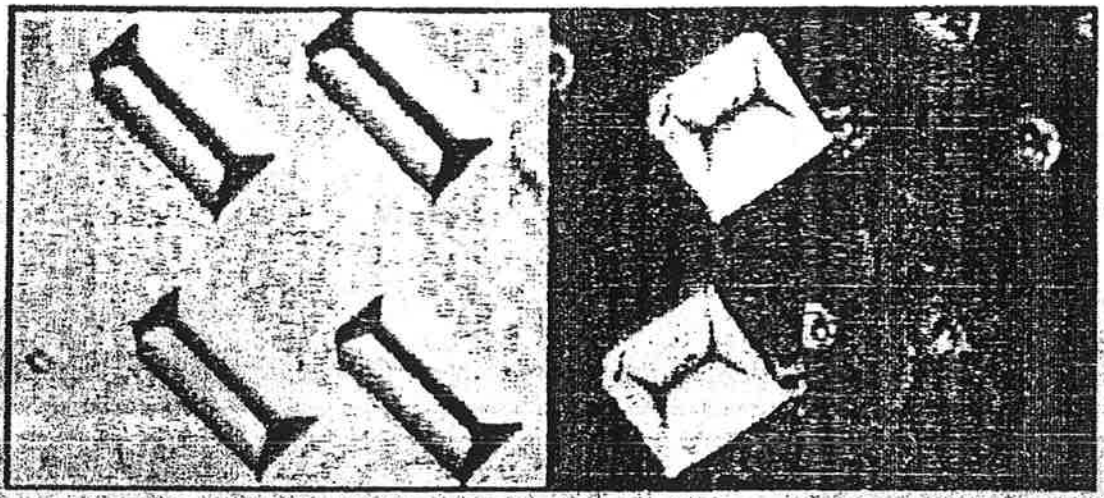
وتكون أحيانا ظهورها مرافقاً لظهور بلورات حامض اليوريك Uric Acid ويكون شكلها دائرى وتظهر فى البول الحامضى.



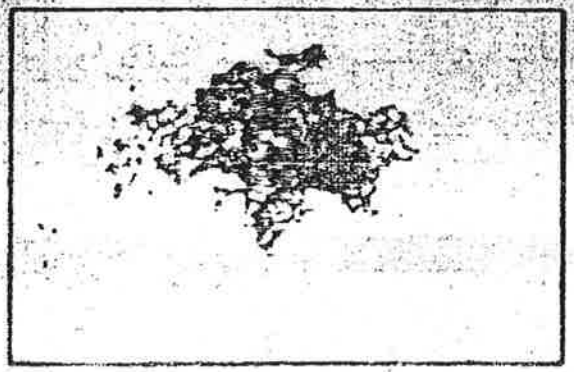
شكل (٩٦) : بلورات الكوليستيرول



شكل (٩٧) : أملاح اليورات الرملية



شكل (٩٨) : بلورات الفوسفات الثلاثية



شكل (٩٩) : بلورات كربونات الكالسيوم



شكل (١٠٠) : بلورات فوسفات الكالسيوم

أشكال البلورات المختلفة التى توجد فى البول (ج)

ب- السلفا ميثيل ديازول Sulfamethyl diazole

لون هذه الخبيبات اخضر وشكلها شبه الدائرى واحيانا مثل العصى وتظهر فى الوسط الحامضى.

١٦- أملاح حامض الهيبوريك Hippuric acid Crystals

يظهر حامض الهيبوريك على هيئة بلورات ابرية ومناشير رباعية السطوح وهى نادرة الوجود وعديمة اللون وهى غير مقسمة فى الدخل ويظهر فى البول الحامضى والمتعادل والقاعدى وتذوب فى الماء والقلويات والكبد هو المكان لتكوين هذه المادة. انظر شكل (١٠٥).

البكتريا Bacteria

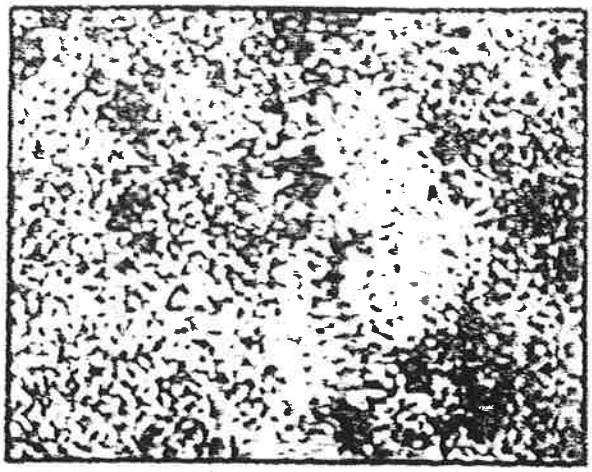
قد تظهر نتيجة لاصابة مجرى البول بإلتهاب أو نتيجة تلوث العينة بسبب تركها فى الهواء لمدة طويلة، ولا يمكن تميز هاتين الحالتين من الرواسب ومع ذلك فإن وجود الكريات الدموية البيضاء بشكل كبير قد يعنى إصابة المجارى البولية بالتهاب. ويمكن تميز البكتريا العصوية Bacill أو المكورات بشكل اسهل من البكتريا الدائرية Cocci والتى قد يخطىء الفاحص بينها وبين البلورات الرملية Amorphous انظرشكل (١٠٦).

الفطريات Fungi

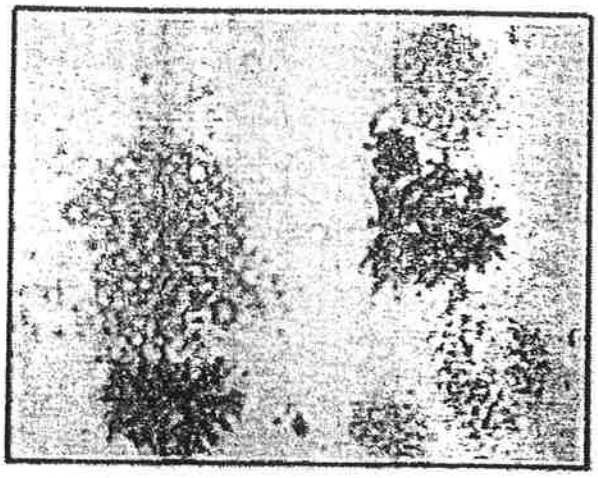
اشكالها بيضاوية اكثر منها دائرية وأحجامها مختلفة وينبغى عدم الخلط بينها وبين الخلايا الدموية الحمراء ويرى بعضها على شكل تبرعم وحتى لا يخطىء الفاحص بينها وبين الخلايا الدموية الحمراء يجب اضافه Acetic acid الذي يحظم الخلايا الدموية الحمراء وتبقى الخمائر، والكانديدا Candida من أشهر الخمائر وجوداً فى البول ووجودها فى كميات كبيرة قد يعنى وجود التهابات مهبلية شكل (١٠٧).

الحيوانات المنوية Spermatozoa

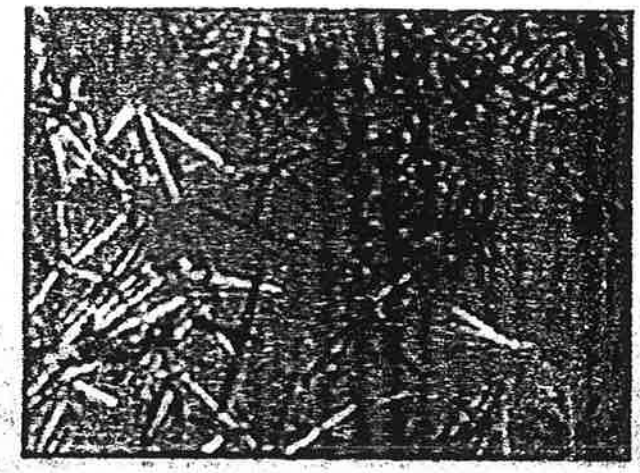
لها أجسام بيضاوية وذيل دقيق وطويل وقد تكون متحركة أو غير متحركة وتظهر فى البول بعد الاستمناء أو وجود التهابات فى الخصية أو البروستاتا شكل (١٠٨).



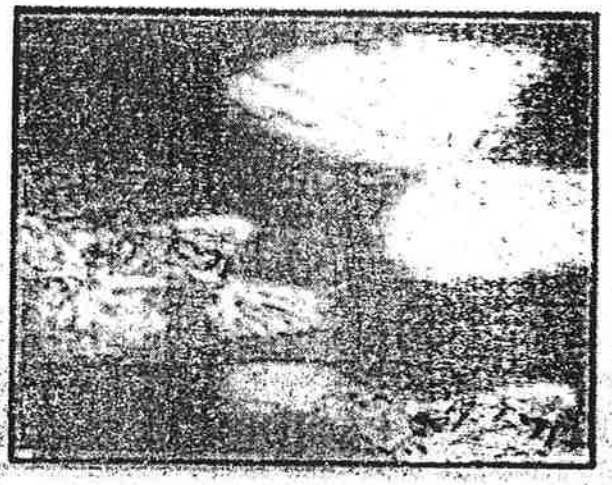
شكل (١٠١) : أملاح الفوسفات الرملية



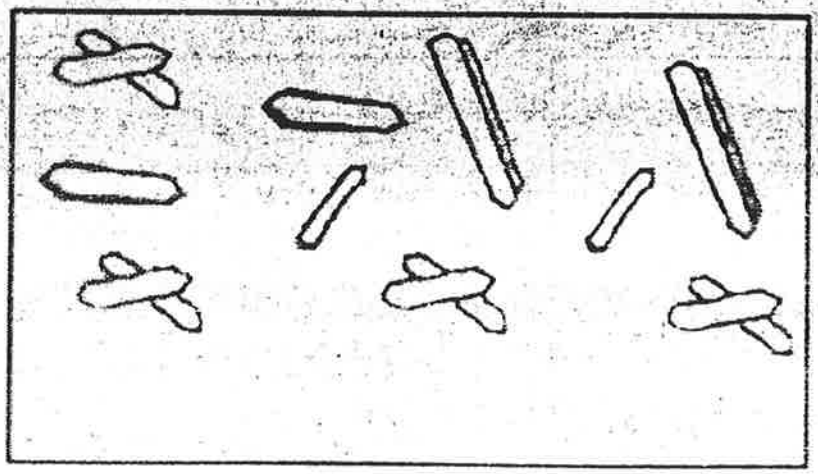
شكل (١٠٢) : بلورات البليروبين



شكل (١٠٣) : بلورات بعد العلاج بأشعة X

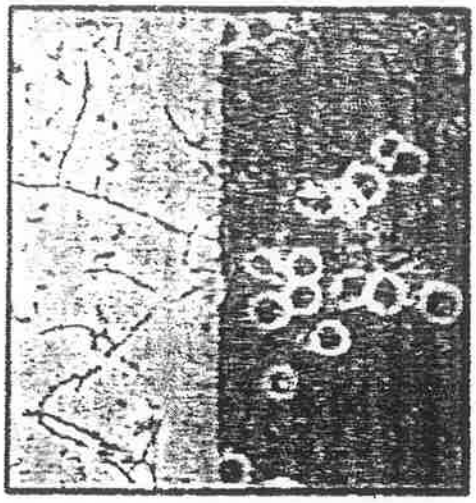


شكل (١٠٤) : بلورات بعد العلاج بالسلفاديازين

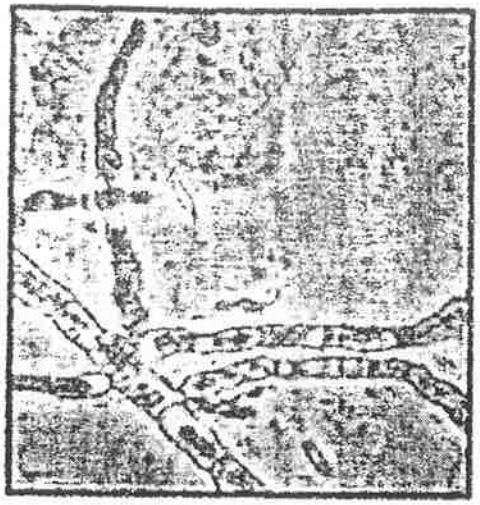


شكل (١٠٥) : بلورات حامض الهيبوريك

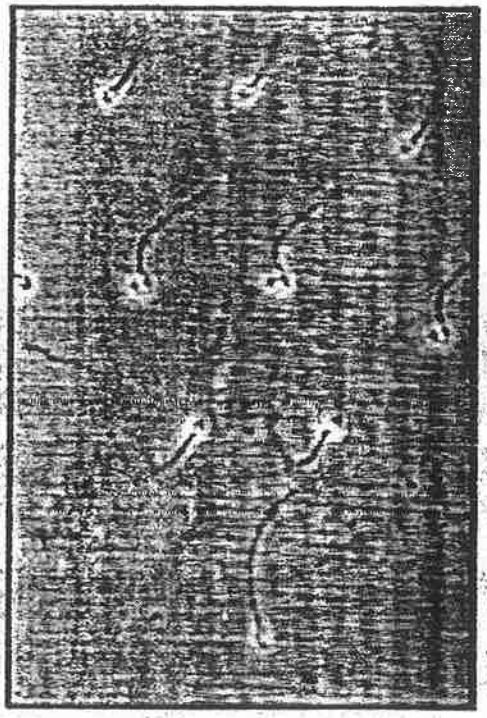
بعض البلورات التى توجد فى البول (د) .



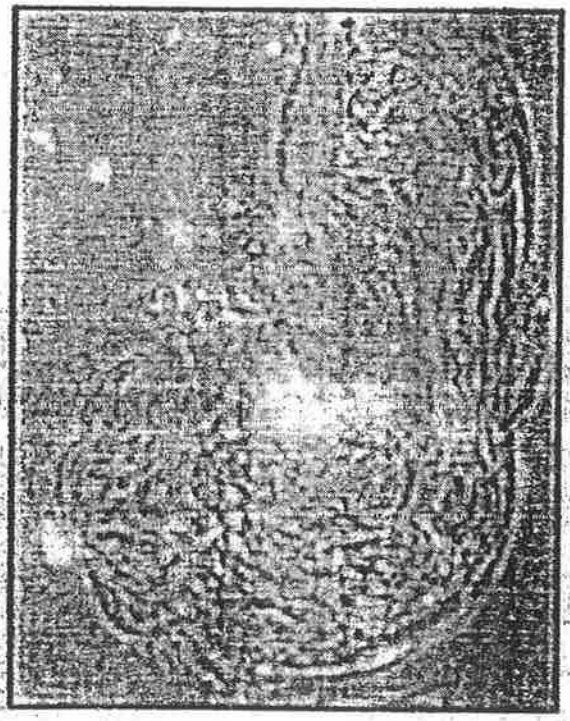
شكل (١٠٦) : البكتريا



شكل (١٠٧) : الكانديدا



شكل (١٠٨) : حيوانات منوية



شكل (١٠٩) : مخاط

أشكال أخرى توجد فى البول

المخاط Mucus

يظهر المخاط فى البول نتيجة إفرازات زائدة من غدة كوبر فى الرجل ونتيجة التهابات فى المجرى البولى للانثى ويكون فى بول النساء اعلى منه فى بول الرجال شكل (١٠٩) ، وهناك أشياء أخرى توجد فى البول ولكنها طبيعية ومنها قطع من الزجاج شكل (١١٠)، فقاقيع هوائية شكل (١١١)، والياف من الملابس الداخلية شكل (١١٢).

بلهارسيا البول Schistosma haematobium

هذا الطفيل يصيب الإنسان ويعيش فى المجارى البولية (الكلى أو الحالب أو المثانة).

الفحص المعملى Laboratory Diagnosis

فحص البول للتعرف على وجود بويضة البلهارسيا ذات الشوكية الطرفية الامامية انظر شكل (١١٣) ، (١١٦).

طريقة العدوى Mode of infection

يصاب الإنسان بهذا الطفيل عن طريق استحمامه أو خوضة فى الماء الملوث بالسركاريات التى تخترق الجلد بواسطة الانزيمات الهاضمة التى تفرزها الغدد الثاقبة فيها وتستغرق عملية الاختراق هذه حوالى ١٠ - ١٥ دقيقة حتى تصل الى الاوعية الليمفاوية والاوعية الدموية ومنها الى القلب فالرئتين ثم تصل الى الكبد.

علامات الاصابة Symptoms

الهزال والضعف العام وفقد الشهية ونقص الوزن التهاب الكبد ثم تليفه.

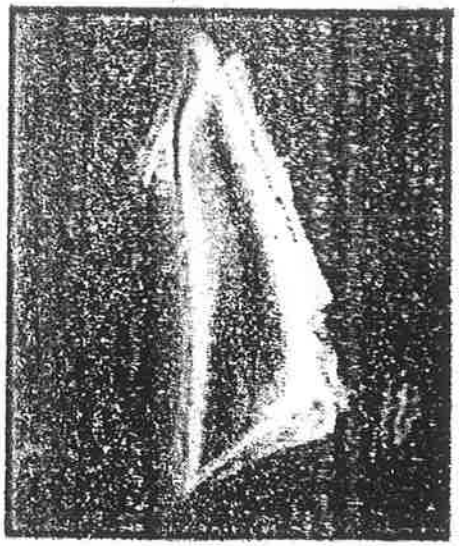
الوقاية Protection

١- تجنب الاستحمام فى الماء الملوث الذى يحتوى على السكاريات (مياه الترع والقنوات والمصارف).

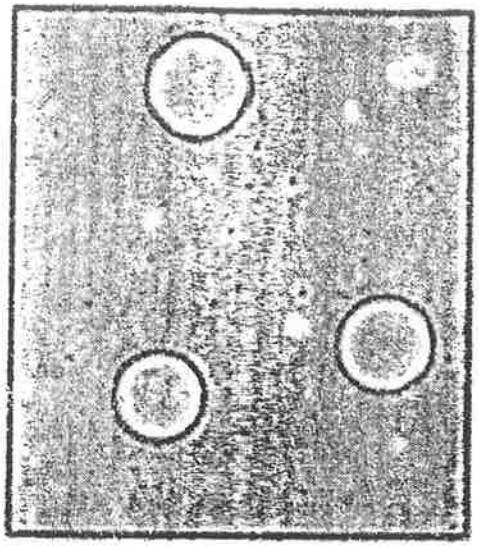
٢- القضاء على القواقع والسركاريا فى مواطنها من ناحية والديدان فى الدم بالحقن من ناحية أخرى.

٣- علاج المرض. ٤- الوعى الاجتماعى. ٥- الوعى الصحى.

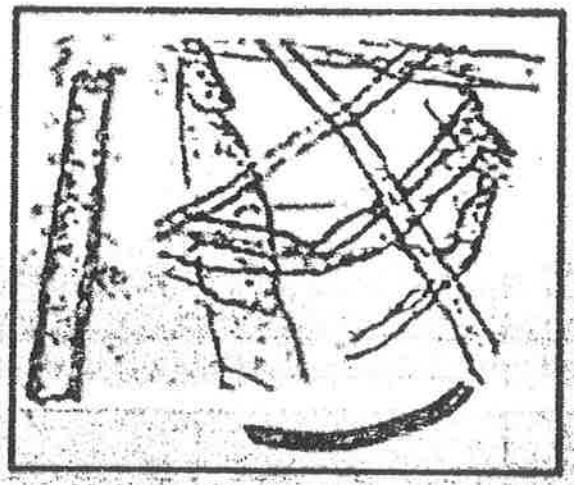
يكون ظهورها مرافقاً لظهور الخلايا الدموية الحمراء والسبب في ذلك أثناء نزول البويضة فى المجرى البولى فإن الشوكه الموجودة فى مقدمة هذه البويضة تجرح أو تخدش المجرى البولى للشخص المصاب مما يؤدى الى نزول الخلايا الدموية الحمراء.



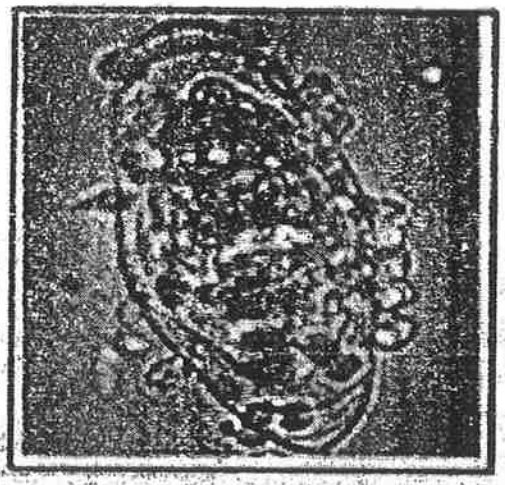
شكل (١١٠) : قطعة زجاجية



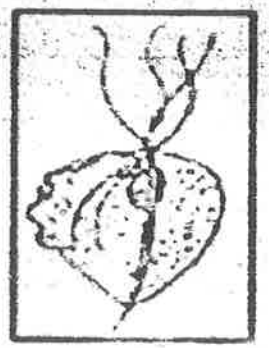
شكل (١١١) : فقاقيع هوائية



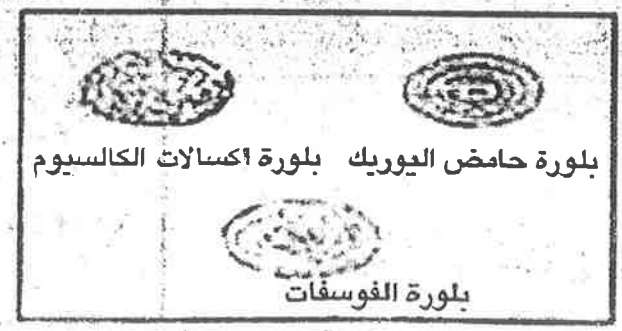
شكل (١١٢) : ألياف من الملابس الداخلية



شكل (١١٣) : بويضة البلهارسيا



شكل (١١٤) : تريكوموناس فاجينياليس



شكل (١١٥) : الحصى البولية

بعض الأشكال التى توجد فى البول

الطفيليات Parasites ومن امثلتها :

تريكوموناس فاجينياليس : Trichomonas vaginalis

هذا الطفيل يوجد فى سوائل المهبل وافرازاته والبول عند النساء وفى غدة البروستاتا وافرازاتها عند الرجال وكذلك يتميز الطفيل بوجود اسواط امامية تخرج من أمام النواه وهناك تجويف فموى وغشاء متموج وقلم محورى Axostyle يمتد على طول محور الخلية ويظهر خارجاً من الجهة الخلفية بوضوح، ولا يوجد لهذا الطفيل طور متحوصل وهو من أهم الطفيليات التى تصيب المجرين البول والتناسلى للإنسان حيث يسبب التهابات فى مهبل الانثى أو فى المجرى البولى التناسلى للذكر شكل (١١٤).

من ناحية الإصابة : فانه ينتقل من خلال اللقاءات الجنسية، حيث يعتبر الرجل ناقلا والمرأة المصابة المستودع المرضى.

التشخيص المعملى : Laboratory diagnosis

يمكن جمع عينات من الذكر والانثى على النحو التالى :

من الاناث : الافرازات المهبلية، الكشطات المهبلية، البول أحيانا.

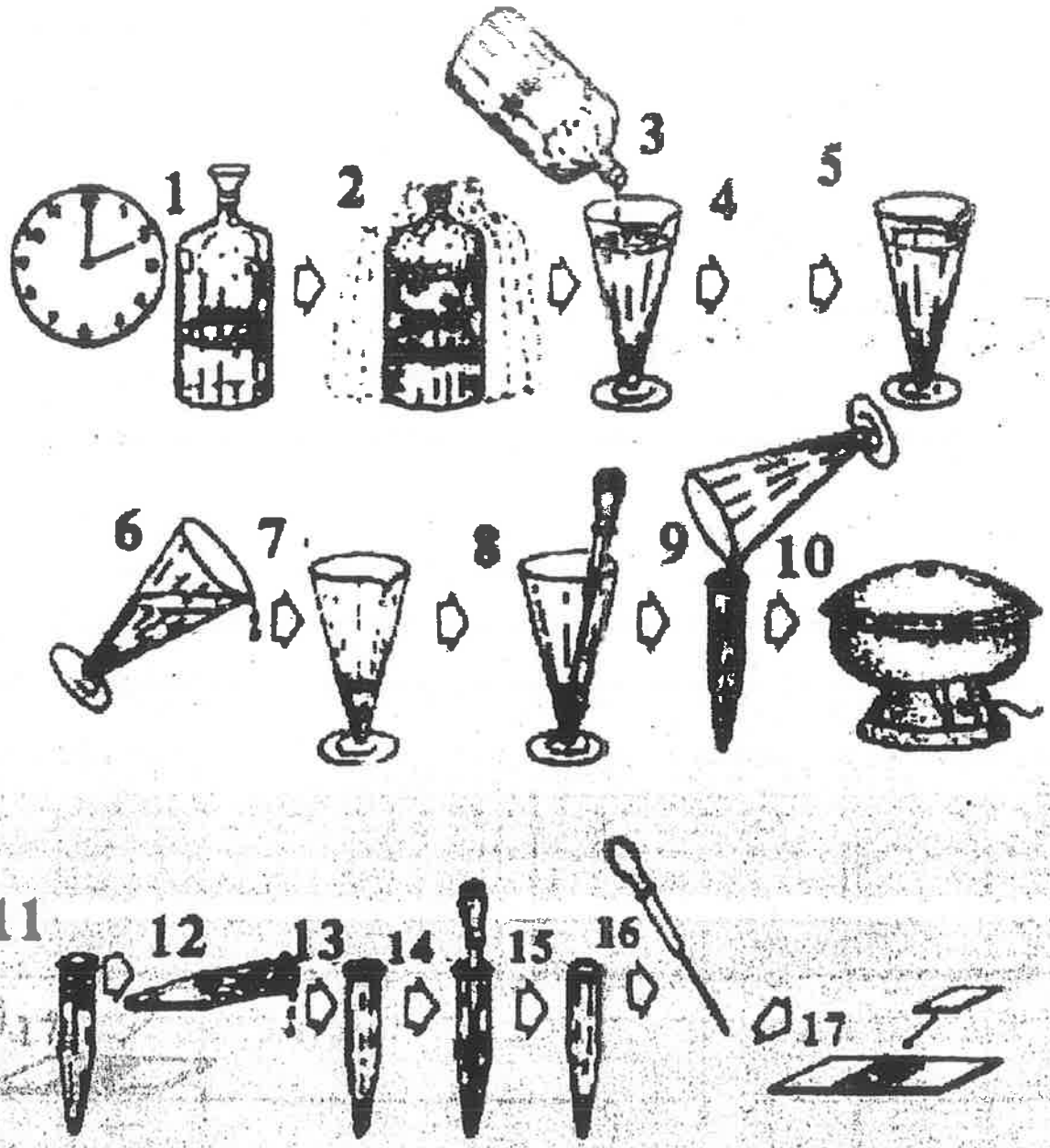
من الذكور : البول غالبا، افرازات البروستاتا وذلك عن طريق عمل شرائح بطريقة التحضير الرطب مع محلول محلى ومشاهدة اطوار النشاط والحركة تحت المجهر.

ويتم التعرف على هذا الطفيل كما يلى :

أ- بعد جمع بنات البول توضع فى انبوبة طرد مركزى مناسبة وتدار الانبوبة فى جهاز الطرد المركزي بسرعة ١٥٠٠ دورة فى الدقيقة لمدة ٥ دقائق.

ب- يتم التخلص من السائل العلوى وتؤخذ نقطة من الراسب الرطب وتوضع علي شريحة زجاجية يضاف اليها نقطة من محلول ملحى تركيزه ٨٥ ٠٠ ٪ وتمزج النقطتان جيداً على الشريحة، ثم ستغطى بغطاء شريحة وتفحص تحت المجهر بحيث تستخدم عدسة قوتها ١٠ ٪ أو ١٦ ٪ وبإضاءة ضعيفة، وعندئذ يسهل التعرف على تريكوموناس فاجينياليس حيث يتميز بشكله الكمثرى وبحركة اسواطه النشطة والتى يبلغ طولها قرابة ١٢ ميكرون.

جـ- تتم معالجة العينة المأخوذة من افرازات المهبل أو المجرين البولى والتناسلى بنفس الطريقة التى ذكرت للعينات المأخوذة من رواسب البول.



شكل (١١٦): طريقة التحرى عن وجود بويضة بلهارسيا البول

(١) زجاجة بها بول (٢) رج الزجاجة (٣) وضح البول فى كأس وتركه لمدة نصف ساعة (٤) توضع العينة فى الثلاجة (٥) تكوين راسب (٦) التخلص من الجزء العلوى (٧) ملاحظة الراسب (٨) أخذ جزء من الراسب (٩) وضع البول فى أنبوبة سنترفيوج (١٠) جهاز الطرد المركزى (١١) إخراج الأنبوبة من جهاز الطرد المركزى (١٢) التخلص من الجزء العلوى (١٣) رج الأنبوبة (١٤، ١٥) أخذ جزء من الراسب ووضعه على شريحة نظيفة (١٧) وضع غطاء الشريحة.

د- عندما تضعف حركة الطفيل يمكن فحصه باستخدام عدسة ذات قوة أكبر من الأولى للتعرف على التفاصيل الدقيقة له، كما يمكن عمل تحضيرات دائمة وصبغها بصبغه جيمسا للتأكد من صحة التشخيص.

الحصى البولى Urinary calculi

وهى توجد فى القناة البولية سواء فى الكلية اليسرى أو اليمنى أو الاثنان معاً، أو توجد فى المجرى البولى أو توجد فى المثانه البولية والحصوة تتكون من مواد طبيعية تفرز فى البول متحدة مع كمية معينة من مادة البروتين (بروتين الدم) والمواد الموجودة فى الحصى هى حامض اليوريك والكالسيوم والماغنسيوم والاكسيلات والفوسفات والكربونات والسيسيتين شكل (١١٥).

العوامل التى تؤدى الى تكوين الحصوات :

١- زيادة تناول الخضروات والفواكه التى تحتوى على الاملاح (الطماطم ، الفراولة، والمانجو).

٢- زيادة تناول فيتامين جـ بكميات كبيرة.

٣- زيادة افراز الغدة جار الدرقية Hyperparathyroidism لهرمون الباراثورمون.

٤- التركيب الغير طبيعى للكلى والحالب والمثانة البولية ومجرى البول.

٥- تناول كميات قليلة من الماء فى خلال ٢٤ ساعة.

بعض السموم التى يمكن الاستدلال عليها فى البول

١- الكشف عن المورفين فى البول :

اضف نقطة من البول الى مخلوط من حامض الكبريتيك المركز (٣ سم٣) ومحلول الفورمالين ٤٪ (١ /٢سم).

النتيجة ظهور لون قرمزى يتغير الى بنفسجى وأخيراً يتحول الى لون أزرق، يدل ذلك على وجود المورفين فى البول.

٢- تحليل الزرنيخ

التحليل المعملى : Laboratory analysis

يمكن الاستدلال على الزرنيخ بطرق كثيرة من التحاليل والاختبارات ولكن أهمها الثلاث الآتية :

(١) اختبار رانش :

هو اختبار نوعى حساس يستعمل فى الكشف عن الزرنيخ ومعظم المعادن السامة الاخرى ويرجع اهميته الى :

١- انه اختبار مبدئى سريع وحساس.

٢- يمكن به الاستدلال على كميات بسيطة فى معظم المعادن السامة الشائعة كالزرنيخ والانتيمون والزئبق والفضة والبزمزت.

٣- له أهميته الخاصة فى الكشف عن السم فى الغذاء والقى وغسيل المعدة والبول والبراز واجزاء من القناة الهضمية وكذلك من الكبد والكلى بعد اعدادها لذلك.

ويجرى الاختبار :

يغلى صفيحة نحاسية حمراء أو سلك نحاسي فى حامض الكلوريدريك المخفف ١ : ٣ لبضع دقائق للتأكد من خلول الحامض والنحاس والاوعية من الزرنيخ وذلك بأن يبقى النحاس لامعا، ثم يضاف الى المحلو وهو يغلى ما يراد فحصه. ويستمر الغليان مدة نصف ساعة فإذا احتفظ النحاس بلمعته دل على عدم وجود الزرنيخ أو غيره - فاذا اكتسى النحاس بطبقة ملونة من راسب دل على نوعها - فهذا الراسب رمادى أو رصاصى أو أسود فى حالة وجود الانتيمون أو القصدير وأسود مع البزموت وفضى لامع يشبه المرآه مع الزئبق أو الفضة. ويمكن تميز هذه الرواسب كلها وتقسيمها الى مجموعيت احداهما متصاعدة والاخرى غير متصاعدة. وذلك يأخذ صفيحة النحاس وغسلها وتجفيفها وقصها الى شرائط دقيقة ثم وضعها فى انبوبة تصعيد وتسخينها مائلة بزاوية ٤٥° م على لهب صغير. وفى هذه الحالة يتأكسد الراسب المتكون من الزرنيخ والنحاس بتسخينه فى الهواء الى ثالث

اكسيد الزرنيخ الذى يتصاعد ثم يترسب فى بللورات على الاجزاء الباردة من الانبوبة ولا يتصاعد إلا راسب الزرنيخ والزئبق والانتيمون، أما راسب الفضة والبزموت والقصدير فلا يتصاعد من على النحاس.

ويميز الراسب المتصاعد تحت عدسة المجهر الصغيرة فيعرف الزرنيخ بوجود عدد كبير من البللورات البراقة ذات اشكال رباعية وثمانية - أما الزئبق فيعرف بوجود حبيبات سوداء من الزئبق ويعرف الانتيمون براسبه غير المتبلور.

ويمكن الحصول على هذه البللورات من كمية قدرها $\frac{١}{٤}$ ملليجرام. وحساسية هذا الاختبار ١ : ٢٥٠٠٠٠.

وعند اجراء هذا الاختبار يراعى ما يلى :

١- عدم استعمال صفيحة كبيرة من النحاس حتى تترسب كمية الزرنيخ مهما كانت ضئيلة لان اتساع السطح لا يساعد على وضوح الراسب.

يجب التمهل وعدم الاسراع فى اخراج النحاسة لاعطاء الفرصة الكافية للترسيب اذا كانت الكمية ضئيلة أو الحامض شديد التخفيف.

٣- يراعى أن تكون انبوبة التصعيد والنحاس جافتين والا فلا تظهر زوايا البللورات بوضوح.

٤- تراعى زاوية الميل فى الانبوبة اثناء التسخين ليبقى جزءاً منها بارداً لترسيب البللورات.

٥- بالتعفن تتحول السموم العدنية الى كبريتيدات غير ذائبة ولذا لا تعطى نتيجة ايجابية مع الاختبار - وهذه النتيجة ايضا تحدث فى حالة وجود الزرنيخ فى مركب عضوى - الفرسان مثلا.

٦- تعطى الزرنيخات نتيجة ايجابية اذا كان تركيزها كبير الى حد ما وبطء.

(٢) اختبار **مارش** :

اختبار نوعى كى يلزم لاجرائه اتلاف المواد العضوية من الانسجة أو العينات الاخرى وذلك بأكسدتها اما بالطريقة الجافه بواسطة تسخينها مع اكسيد المانيزيا ونترات

المائيا و ما يتعرضها لغاز الكلور المتولد من تفاعل حامض الكلورودريك المخفف مع كلورات البوتاسيوم أو باستعمال خليط من حامض الكبريتيك المركز وحامض الازوتيك.

ولاجراء الاختبار:

يزود جهاز خاص يوضع فى الدورق الزجاجى منه كمية من الزنك المحبب مع حامض الكبريتيك المخفف ١ : ٨ وبعض كبريتات الكاديوم لمساعدة التفاعل ويحاط الدورق من الخارج بماء به ثلج. وتحكم اماكن ارتباطات الجهاز بالكلوديون قبل بدء التجربة لمنع تسرب الغاز.

يترك التفاعل حتى يتم طرد الهواء من الجهاز ويحل محله غاز الايدروجين الناتج من التفاعل ولتأكد من ذلك يشعل هذا الغاز عند فوهة الانبوبة ثم يترك لمدة ١٥ دقيقة للتأكد من خروج كل الهواء الموجود. ثم يوقد اللهب تحت الجزء المتسع من الانبوبة لتسخينها بينما يبقى الجزء الضيق منها بارداً بوضع قطعة مبلله من القطن عليه. يترك الجهاز والتفاعل بضعة دقائق للتأكد من خلوه منالشوائب ببقاء الانبوبة خالية من أى راسب ثم تضاف العينة المراد اختبارها (بعد اتلاف المواد العضوية كما سبق) عن طريق القمع ويترك التفاعل حوالى نصف الى ساعة. ففى حالة وجود الزرنيخ أو الانتيمون يتحد مع غاز الايدروجين مكونا غاز الارسين أو الاستيبين وكلاهما غاز سريع التحلل بالحرارة الى زرنيخ أو انتيمون يترسبان داخل الانبوبة وايدروجين يخرج من الانبوبة ويحترق عند الفواهة.

ويمكن بهذا الاختبار تقدير كمية من الزرنيخ أو الانتيمون باستعمال وزن معروف من النسيج أو العينة ثم توزن الانبوبة قبل وبعد الاختبار والفرق بين الوزنين يكون وزن الزرنيخ المترسب ويمكن تقدير الكمية ايضا بمقارنة المرآة فى الانبوبة بعدد من الانابيب المتماثلة المحتوية على كميات متساوية سبق تحضيرها وعندئذ تعتبر الكمية مساوية للكمية التى انتجت الانبوبة المماثلة. وهذا الاختبار شديد الحساسية ودقيق يمكن به تقدير $\frac{١}{٥٥}$ من الملليجرام.

ويفرق بين المرآة المتكونة فى حالة الزرنيخ والانتيمون بما يلى:

١- يترسب الزرنيخ خلف اللهب ناحية اطراف الانبوبة بينما يترسب الانتيمون على جانب اللهب.

٢- راسب الزرنيخ رمادى أو أسود ولامع بينما الراسب فى حالة الانتيمون اسود غير لامع.

٣- بتصعيد الراسب فى نفس الانبوبة تظهر البللورات المربعة أو المثمنة فى حالة الزرنيخ والراسب الابيض الغير متبلور فى حالة الانتيمون.

٤- إذا مرر تيار من غاز الأيدروجين على الراسب فى الانبوبة تكون راسب غير متصاعة برتقالى اللون فى حالة الانتيمون وراسب متصاعة اصفر اللون يترسب على الاجزاء الباردة منها فى حالة الزرنيخ - فاذا مرر فيها بعد ذلك غاز حامض الايدروكلوريك يتحول كبريتيد الانتيمون المتكون الى كلوريد ذائب بينما يبقى كبريتيد الزرنيخ بغير تغير.

٥- يذوب الراسب (الناتج عن الزرنيخ) فى محلول مسحوق التبييض Bleaching Powder بينما لا يذوب راسب الانتيمون ويجب ملاحظة أن المرآة الناشئة عن الانتيمون تتأثر الرطوبة والضوء ولذا يجب حفظ الانابيب المستعملة للمقارنة محكمة القفل بعيداً عن الضوء.

(٣) اختبار جوتزيت :

يجرى الاختبار فى جهاز خاص وهو مبنى على نفس فكرة اختبار مارش اذ يعرض الزرنيخ للايدروجين فى الزجاجة الخاصة ليكون غاز الارسين الذى يمرر على ورقة ترشيح مبللة بكلوريد أو بروميد الزئبق فيكون راسب اصفر الى برتقالى أو بنى كما يمكن استعمال ورقة مشبعة بفترات الفضة - ويزداد اللون ظهوراً بازدياد كمية الزرنيخ ولذلك يمكن تقدير الكمية بمقارنة اللون الناتج بالوان عدد من الاوراق - المحضرة من كميات معرفة من الزرنيخ وحساسية هذا الاختبار ١٠٠٠ جم

ويمكن تقدير الكمية الموجودة فى الزرنيخ عيارياً بتمرير الغاز المتصاعد من التفاعل فى محلول كلوريد الزئبق ثم يؤخذ الراسب المتكون ويذاب فى أول كلوريد اليود وحامض الكلوردريك ومعايرة اليود الذى ينطلق من التفاعل الاخير باستعمال محلول معيارى من يودات البوتاسيوم.

Testing the urine for drugs :

INH - Isonicotinicaird hydrazide

PAS = Paraaminosalicytic acid

الكواشف المطلوبة :

١- سيانيد البوتاسيوم ٢- كلوريد الحديديك ٣- كلورامين T

خطوات الكشف عن INH

١- جهاز انبوبتان.

٢- ضع فى الاولى جرام واحد من سيانيد البوتاسيوم.

٣- ضع فى الانبوبة الثانية واحد جرام من الكلورامين T

٤- اضف الماء حتى علامة ١٠ سم ثم رج الانابيب للذوبان هنا يكون تركيز السيانيد البوتاسيوم ١٠٪

٥- حضر طبق بها حجوات (١٢).

٦- ضع فى كل حجرة ٤ نقط من الانبوبة رقم ١ بواسطة ماصة ياسينر اضف ٤ نقط من محلول سيانيد البوتاسيوم ١٠٪

٧- اضف ٩ نقط من الانبوبة رقم ٢

ودون ملاحظاتك

أ- اذا لم يتغير اللون الاصفر تكون النتيجة سلبية.

ب- اذا تكون لون احمر Red Color خلال دقيقة واحدة دل ذلك على تعاطى الشخص لهذا المركب قبل ١٢ ساعة من التحليل.

ت- إذا تكون لون احمر غامق Rink Color دل ذلك على تعاطى الشخص لهذا المركب قبل اجراء التحليل بحوالى ١٢ - ٢٤ ساعة.

RAS

١- تقطع ورقة الترشيح الى اشطرة طول الشريط ٥ سم وعرضه ١٠ سم.

٢- ذوب كل جرام من كلوريد الحديديك فى ٢٥ سم ماء.

٣- اغمس الشرائط فى المحلول السابق حتى يتحول الى اللون الاصفر.

٤- اغمس احد الاشرطة في البول.

اذا تحول لون الشريط الاصفر الى اللون البنفسجي أو الارجواني دل ذلك على وجود PAS ، اما اذا لم يتغير لون الشريط دل ذلك على عدم وجود PAS

تقرير عن فحص البول Urine analysis report

Macroscopic examination	الفحص بالعين المجردة
Colour	اللون
Volume	الحجم
Aspect	القوام
Reaction	التفاعل
Specific gravity	الكثافة النوعية
Sugar (Glucose)	السكر
Acetone	الاسيتون
Protein (Albumin)	البروتين
Urobilinogen	اليوروبيلينوجين
Nitrites	النيتريت
Bilirubin	البيليروبين
Odour	الرائحة
Microscopic examination	**الفحص الميكروسكوبى**
Erythrocytes (Red blood cells)	كرات الدم الحمراء
Leucocytes or pus cells	كرات الدم البيضاء (الصديد)
Crystals	الاملاح المعدنية
Ova	البويضات
Parasites	الطفيليات
Epithelial cells	الخلايا الطلائية
Casts	الاسطوانات
Bacteria	البكتريا
Spermatozoa	الحيوانات المنوية
Other things	اشياء اخرى
Recommendation	توصية

جدول رقم (٨) : جدول تخطيطى للتعرف على مكونات الحصى البولية

تسخين مسحوق الحصاة فى رقائق البلاتين	تحترق	بدون توهج أو ببريق	المسحوق يعطى اختبار الميوركسيد	عند معالجة المسحوق بـ هيدروكسيد البوتاسيوم يعطى	تفاعل قوى مع الامونيا	يورات الامونيو	حامض اليوريك أو حامض البوليك
					تفاعل غير ملحوظ مع الامونيا		
			لا يعطى اختبار الميروكسيد. يذوب المسحوق فى حامض النيتريك بدون فوران. الراسب الاصفر المجفف يصبح برتقالى مع لون احمر فلزى جميل مع التدفئة.			زانثين	
		يتوهج	لهب ازرق باهت، يحترق لفترة قصيرة. رائحة كبريت شديدة الحدة. يذوب المسحوق فى الامونيا، وانفصال صفائح سداسية الاوج مع التبخر التلقائى للمونيا، يعطى المحلول الامونيوم نتيجة ايجابية مع اختبار النيتروبروسيد			سيستين	
			لهب اصفر، باهت مستمر يعطى رائحة الصمغ مع الاحتراق، يذوب المسحوق فى كل من الكحول والاثير لانها تحتوى على كمية كبيرة من الدهن.			يوروستيليث	
			لهب أصفر مستمر. رائحة الريش المحروق. لا يذوب فى أى من الكحول والاثير يذوب في هيدروكسيد البوتاسيوم مع التسخين. يترسب بحامض الخليك مع تكوين كبريتيد الهيدروجين.			فيبرين	
		عند معالجة المسحوق بـ HCL	يعطى فوران			اكسالات كالسيوم	
			لا يفور	يسخن المسحوق باعتدال	يندى المسحوق بقليل من KOH هيدروكسيد البوتاسيوم	لا يوجد امونيا أو على الأقل، مقدار ضئيل فقط من الامونيا. المسحقو يذوب فى حامض الخليك أو الـ HCl هذا المحلول يعطى راسب غير متبلر مع الامونيا ونتيجة إيجابية مع اختبار الموليبدات.	(فوسفات الماغنسيو والكاسيوم)
	لا تحترق					يوجد أمونيا بكثرة. المسحوق يذوب فى كل من حامض الخليك والـ HCl هذا المحلول يعطى راسب بللورى مع الامونيا وايجابى مع اختبار الموليبدات	"الفوسفات الثلاثى

الباب السادس

تحليل الهرمونات

Hormonal Diagnosis

- وظائف الهرومونات
- الطبيعة الكيميائية للهرمونات
  - البرولاكتين
  - هرمونات النمو.
  - هرمونات الغدة الدرقية.
  - هرمونات الغدةالكظرية.
  - هرمونات التكاثر.
  - هرمونات البنكرياس.
  - هرمونات الغدة جار الدرقية.
  - الأميلين
  - س ببتيد-١
  - التستوستيرون
  - الريسستين
  - الاديبونكتن

الهـــرمونـــات

وظائف الهرمونات :

١- التكاثر :

من خلال تكوين خلايا التكاثر الجنسية (البيوضة فى المرأة والحيوان المنوى فى الرجل) والتحكم التطورات التشريحية والوظيفية والسلوكية الضرورية للتكاثر الجنسى.

٢- النمو والتطور:

يقوم هرمون النمو فى إكتمال نمو العظام، وهرمونات الغدد الدرقية فى إكتمال نمو الجهاز العصبى المركزى.

٣- الحفاظ على البيئة الداخلية :

تحافظ الهرمونات على تركيب ووظيفة خلايا الجسم، من خلال تنظيم حجم وأملاح سوائل الجسم وضغط الدم ومعدل ضربات القلب والتوازن الحامضى القاعدى ودرجة حرارة الجسم وكتلة العظم والعضلات والدهون.

٤- إنتاج واستخدام وتخزين الطاقة :

يقوم هرمون الإنسولين بدور هام فى أيض (التمثيل الغذائى) المواد السكرية لإنتاج وتخزين الطاقة، وتحريك إستخدام الأحماض الأمينية والأحماض الدهنية عند اللزوم للحفاظ على معدل الجلوكوز فى الدم لحماية الجهاز العصبى المركزى. كما يتضح دور هرمونات الغدة الدرقية فى تنظيمي معدل إستهلاك الأوكسجين فيما يعرف بمعدل الأيض القاعدى.

الطبيعة الكيميائية للهرمونات:

تقسم الهرمونات حسب التركيب الكيميائى الى قسمين أساسيين هما :

١- الهرمونات الببتيدية (البروتينية) أو مشتقات الأحماض الأمينية، وهى تتضمن على سبيل المثال :

(أ) هرمونات بروتينية (متعددة الببتيدات المعقدة) مثل هرمون الغدة النخامية الليوتينى، الوهرمون المحفز المنسلى المشيمى الذى تفرزه المشيمة للحفاظ على إستمرار الحمل.

(ب) هرمونات بروتينية (متعددة الببتيدات متوسطة الحجم) مثل الإنسولين والجلوكاجون.

(ج) هرمونات بروتينية (متعددة الببتيدات صغيرة الحجم) مثل الهرمون المفرز للمنشط الدرقي.

(د) هرمونات مكونة من إثنين من الببتيدات فقط، مثل هرمونات الغدة الدرقية "ت٣" ، "ت٤".

(هـ) هرمونات مشتقة من حمض أميني واحد، مثل هرمونات الأدرينالين والنور أدرينالين.

٢- الهرمونات الأستيرويدية : وهى من مشتقات الكولسترول مثل هرمونات الأنوثة، وهرمونات الذكورة، وهرمون الكورتيزول.

خصائص الهرمونات

١- توجد الهرمونات في الدم بتركيزات صغيرة.

٢- توجد مستقبلات خاصة لكل هرمون فى أنسجة الجسم التى يؤثر فيها الهرمون، وهذه المستقبلات تتعرف على الهرمون وتتحد به، وبغير ذلك لا يستطيع الهرمون القيام بوظيفته. وتعتبر هذه هى الطريقة الأساسية لآلية عمل الهرمونات.

طرق قياس الهرمونات

بدأ قياس الهرمونات بالطريقة البيولوجية منذ زمن طويل. وتعتمد هذه الطريقة على مدى إستجابة النسيج المستهدف لحقن الهرمون.

١- البرولاكتين

يفرز هرمون البرولاكتين من خلايا متخصصة فى الفص الأمامى للغدة النخامية. وتتحكم مادة الدوبامين في إفراز البرولاكتين، وهى المثبط الأساسى لإفرازه، كما توجد عوامل أخرى تساعد على إطلاق سراح البرولاكتين من الغدة النخامية أهمها الهرمون المطلق لسراح الثيروتربين.

ويزيد إفراز البرولاكتين أثناء النوم وخلال فترة الحمل ثم الرضاعة فى السيدات، كما يزيد عند التعرض للضغوط العصبية وأثناء الجماع. هناك بعض الأدوية تؤدى إلى زيادة إفراز هرمون البرولاكتين مثل الأدوية المهدئة، وأدوية علاج الفصام، وأدوية علاج إرتفاع الضغط ، والأدوية المضادة للقيء. وبعض أدوية الدرن، والأدوية التى تحتوى على هرمون

الأنوية (الأستروجين) مثل أقراص منع الحمل. لذا يجب عند قياس هرمون البرولاكتين فى الدم. التأكد من عدم تعاطى هذه الأدوية، حتى نتمكن من إكتشاف السبب المرضى وراء زيادة البرولاكتين، والذى يؤدى إلى العقم فى السيدات والضعف الجنسى فى الرجال.

ويعتبر البرولاكتين العامل المهم فى بدء وإستمرار إدرار اللبن فى السيدات بعد الولادة، وتبدأ الزيادة فى معدل البرولاكتين أثناء الحمل وذلك لإعداد الثدى للرضاعة. وقد تلعب هرمونات أخرى دوراً فى إعداد الثدى للرضاعة مثل الكورتيزول والهرمونات الدرقية والإنسولين والهرمون اللبنى المشيمى.

أهمية قياس البرولاكتين فى الدم :

١- تشخيص ورم الغدة النخامية المفرزة للبرولاكتين. وفى هذه الحالات يلاحظ حدوث إرتفاع حاد فى معدل البرولاكتين بالدم قد يصل إلى أكثر من مائة ضعف المعدل الطبيعى. وأهم أعراض هذا الورم، الصداع وإضطراب مجال الرؤية نتيجة الضغط على التصالب البصرى (Optic Chiasma) وفى السيدات، يحدث إضطراب فى الطمث وأحيانا إنقطاع الطمث، وكذلك العقم ونزول لبنية من الثدى ونقص الرغبة الجنسية. أما فى الرجال، فيحدث أيضا نقص فى الرغبة الجنسية مصحوبا بالعنة والعقم.

٢- تشخيص الإضطراب الوظيفى للخلايا المفرزة للبرولاكتين فى الفص الأمامى للغدة النخامية، والذى يصاحبه فى السيدات إضطراب فى الدورة الطمثية أو إنقطاعها، مع نزول إفرازات من الثدى عند الضغط عليه.

٣- يرتفع معدل البرولاكتين فى حالات ضعف الغدة الدرقية الأولى، والناتج عن نقص هرمونات الغدة الدرقية. ويرجع سبب ذلك إلى زيادة الهرمون المطلق لسراح هرمون الثيروتروبين مما يؤدى إلى زيادة هرمون البرولاكتين. يزيد معدل البرولاكتين فى حالات الضعف الجنسى عند الرجال، ويتطلب علاج هذه الحالات أدوية مشابهات الدوبامين.

٤- يرتفع معدل البرولاكتين أيضا عند الإصابة بنزيف المخ وجلطة المخ، حيث إن هذه الإصابة تعترض مرور مادة الدوبامين وهى المادة المثبطة لإفراز البرولاكتين.

٥- يزيد أيضا معدل البرولاكتين فى مرض الفشل الكلوى المزمن.

والمعدل الطبيعى لمستوى البرولاكتين فى الدم لا يتجاوز فى حالة السيدات ٢٠ ميكروجراماً فى اللتر أو (١,٢ - ٢٢,٧ نانوجرام/مل)، وفى حالة الرجال ١٠ ميكروجرامات فى اللتر أ، (٢,٥ - ١٦,٢ نانوجرام/مل).

٢- هرمون النمو

يفرز هرمون النمو من الفص الأمامى للغدة النخامية ويتحكم فى إفراز هرمون النمو إثنان من هرمونات الغدة تحت المهاد. الأول هو الهرمون المطلق لسراح هرمون النمو، والثانى هو هرمون السوماتوستاتين. وفى حين يتحكم الهرمون الأول فى تخليق هرمون النمو، فإن الثانى يحدد توقيت وكمية نبضات إفرازه. ويبدأ ظهور هرمون النمو فى الجنين عند نهاية الثلث الأول من فترة الحمل ويزيد معدله بعد ذلك حتى يصل إلى أقصى حد له عند الأسبوع العشرين من الحمل. ويتأثر إفراز هرمون النمو بمرحلة النمو، حيث يزيد مثلا أثناء البلوغ، كما يتأثر بالحالة الغذائية والضغط العصبى والنشاط البدنى. كذلك يزداد إفراز هرمون النمو أثناء النوم.

ويزداد هرمون النمو أيضا فى فترات الصيام، وفى حالات فقدان الشهية العصبى وحالات نقص الجلوكوز فى الدم، وكذلك فى حالات زيادة المجهود البدنى والضغط النفسى.

وتؤدى زيادة هرمون النمو إلى زيادة عامل النمو المشابه للإنسولين الذى يعتبر الوسيط المهم فى عمل هرمون النمو. ويتمثل عمل هرمون النمو فى زيادة تخليق البروتينات، وزيادة الكثافة العظيمة للعمود الفقرى، إذ انه من الهرمونات التى تبنى أنسجة الجسم. وتنخفض إفراز هرمون النمو العمر فى الرجال والسيدات.

نقص إفراز هرمون النمو

يؤدى نقص هرمون النمو فى الأطفال الى تأخر معدل النمول ونقص الطول أى قصر القامة. وتشمل أعراض نقص هرمون النمو فى الكبار ضعف قوة العضلات، ونقص الجهد العضلى، والإحساس بإنحطاط النشاط البدنى والنفسى مثل قلة الطاقة البدنية والإضطراب العاطفى والميل إلى العزلة وقلة النشاط الجنسى.

كما يؤدى نفس الهرمون فى الكبار إلى زيادة الوزن وتراكم الدهون فى منطقة البطن

خاصة فى الرجال، بالإضافة إلى نفس كثافة العظام. كذلك يزداد معدل الكولسترول منخفض الكثافة، مما يفضى إلى زيادة نسبة التعرض للإصابة بأمراض القلب والشرايين.

زيادة إفراز هرمون النمو

إذا حدثت زيادة فى هرمون النمو قبل البلوغ، فإنها تؤدى إلى مرض العملقة (Gigantism) نتيجة زيادة النمو الطولى. أما إذا حدثت الزيادة فى الكبار بعد البلوغ، فإنها تؤدى الى مرض تضخم النهايات المعرف باسم "أكروميجالى". ومن أهم أعراضه ظهور تغيرات فى الوجه مثل الشفاة الغليظة وزيادة إنشاءات الأنف الشفوى وتضخم وإنثناءات بفروة الرأس، وتضخم الأحبال الصوتية، مما يؤدى إلى حدوث تغيرات فى الصوت وتضخم بالآيدى والأرجل. ومن مضاعفات هذا المرض ظهور مرض السكر وتأثر وظائف الرئتين، وزيادة ضغط الدم، وإضطراب عضل القلب.

كيفية قياس هرمون النمو

يمكن قياس هرمون النمو فى الدم بطريقة المعايرة المناعية الإشعاعية، أو المعايرة المناعية الإنزيمية، أو المعايرة المناعية الوميضية الضوئية. ويتم قياس الهرمون فى الصباح والشخص صائم، لأن معدل الهرمون يتأثر بالطعام. وأهم هذه الطرق هى القياس قبل وبعد الحقن بالإنسولين المائى فى الوريد (١٠. وحدة إنسولين لكل كيلو جرام من وزن الطفل أو البالغ) وذلك بمعدل كل نصف ساعة على مدار ساعتين بعد الحقن، ثم قياس معدل كل من جلوكوز الدم وهرمون النمو فى هذه العينات. ويمكن تشخيص نقص هرمون النمو إذ لم يزد هرمون النمو بمقدار ٥ نانوجرام فى الملليلتر عند حدوث نقص فى جلوكوز الدم (أقل من ٥٠ ملليجراماً/المليلتر من الدم).

المعدل الطبيعى لهرمون النمو بالدم (١٠ ميكرو وحدة دولية/مل).

٣- هرمونات الغدة الدرقية

أنواعها ووظيفتها

تقع الغدة الدرقية بمقدمة الرقبة، وتزن من ١٥ الى ٢٠ كيلو جراماً، وتتكون هذه الغدة من قصين متصلين من أسفل ببرزخ. والفص الأيمن أكبر حجماً من الفص الأيسر.

وتتكون الغدة الدرقية من حويصلات تقوم بإفراز هرمونات الغدة الدرقية، وهى :

هرمون الثيروكسين أو رباعى يوديد الثيرونين، وهو يعرف بهرمون "T4".

هرمون ثلاثى يوديد الثيرونين، وهو يعرف بهرمون "T3" ويعتبر هرمون "T3" أكثر فعالية من هرمون "T4".

وتوجد معظم هذه الهرمونات فى الدم متحدة مع بروتينات خاصة فى الدم يتم تصنيعها فى الكبد. وتشمل هذه البروتينات الجلوبيولين المتحد بالثيروكسين، والترانس ثيريتين، والزلال. والجلوبيولين هو البروتين الأكثر إتحاداً مع هرمونات "T4" ، "T3" (حوالى ٧٥ الى ٨٠ فى المائة). وعلى هذا فإن هرمونات الغدة الدرقية توجد فى الدم على شكلين : الأول متحد مع البروتين الحامل له، والثانى يمضى حراً طليقاً فى الدم. ويمكن التقدير الكمى لهذه الهرمونات عن طريق المعايرة المناعية الإشعاعية أو الإنزيمية أو الوميضية. وكذلك يمكن قياس كل من "T4" أو "T3" الكلى والحر. وفى الشخص الطبيعى يمثل الـ "T4" الطليق (الحر) حوالى ٠,٠٢ فى المائة من إجمالى هرمونات الغدة الدرقية، بينما تصل نسبة الـ "T3" الطليق الى حوالى ٠,٣ فى المائة والهرمونات الحرة غير المتحدة مع البروتينات تكون متاحة لأنسجة الجسم، حيث تقوم بتنظيم عملية التمثيل الغذائى وتوليد الطاقة داخل الخلايا والتخلص من النواتج غير المرغوبة، بينما يتعتبر الجزء المتحد مع البروتينات كمخزون لهذه البروتينات.

تقييم وظائف الغدة الدرقية

يتم تقييم وظائف الغدة الدرقية بالقياسات المعملية الآتية :

١- قياس مستوى هرمون "T4" الكلى (أى الطليق + المتحد بالبروتينات) فى الدم.

٢- قياس مستوى هرمون "T3" الكلى فى الدم.

٣- قياس مستوى الهرمون المنشط للغدة الدرقية (TSH) فى الدم.

وهذه التحليلات الثلاثة تكفى لتشخيص إضطرابات الغدة الدرقية فى معظم الحالات. إذ يستخدم قياس متسوى هرمونات "T3" ، "T4" فى الدم فى التشخيص قصور الغدة الدرقية أو زيادة نشاطها. أما تحليل الهرمون المنشط للغدة الدرقية فى الدم،

فإنه يستخدم فى تأكيد التشخيص السابق، كما أنه يستخدم فى تحديد نوع القصور : هل هو قصور أولى أصاب الغدة الدرقية، أم قصور ثانى ناتج عن خلل فى محور الغدة تحت المهاد / الغدة النخامية.

ويمكن إستخدام إختبار التنشيط بالهرمون المطلق لسراح الهرمون المنشط للغدة الدرقية لتشخيص إضطرابات الغدة الدرقية الناتجة عن زيادة نشاطها، وذلك للتفريق بين الحالات الناشئة عن وجود أجسام مضادة للهرمون المنشط الغدة الدرقية، والحالات التى لا تصاحبها أجسام مضادة.

وهناك تحليلان مهمان آخران نلجأ اليهما فى ظروف خاصة :

١- قياس مستوى هرمون "T4" الحر (الطليق)

٢- قياس مستوى هرمون "T3" الحر (الطليق)

وكيلا التحليلين يفيدان فى تقييم وظائف الغدة الدرقية فى المرضى المصابين بأمراض الكبد وأمراض الكلى وسوء التغذية، والحالات التى تتعاطى أقراص منع الحمل وحالات الحمل والرضاعة.

إذ إن معدل البروتينات الحاملة لهرمونات الغدة الدرقية يتغير فى هذه الحالات، مما قد يترتب عليه تشخيصاً خاطئاً إذا قمنا بإستخدام تحاليل مستوى الهرمونات "T4"، "T3" الكلية وليس الحرة أو الطليقة. وقد تطورت الطرق المعملية لقياس "T4" الحر و "T3" الحر باستخدام طرق المناعة الإشعاعية غير المباشرة، مما ترتب عليه الإستغناء عن بعض الطرق القديمة غير المباشرة مثل قياس مقدار ما يأخذه الراتنج "T3" أو قياس مؤشر الثيروكسين الحر - وهى طرق أقل دقة من طرق قياس الهرمونات الحرة بإستخدام المناعة الإشعاعية.

وقياس الهرمون المنشط الدرقى (TSH) مهم فى تشخيص حالات التسمم الدرقى. ففى هذه الحالات يقل هذا الهرمون بصورة كبيرة جداً فى الدم، بينما يزداد معدله بدرجة ملحوظة فى حالات قصور الغدة الدرقية.

أما قياس هرمونات الغدة الدرقية "T3" و "T4" معا، فإنه ضرورى لتشخيص

إضطرابات الغدة الدرقية. فمثلا هناك حالات يزداد فيها الهرميون معا مثل حالات التسمم الدرقى. وفى نفس الوقت هناك حالات يزداد فيها الهرمون "T4" وحدة، مثل حالات زيادة النشاط الدرقى الصاحبة لزيادة هرمون "T4" وحدة نتيجة قصور فى تحوله الى "T3" وكذلك عند استخدام بعض الأدوية التى تسبب زيادة هرمون "T4" وحدة مثل عقار الأندرال المستخدم فى علاج إرتفاع ضغط الدم، كما تحدث حالات تسمم درقى نتيجة لزيادة هرون "T3" وحدة.

وجدير بالذكر أن حالات نقص الهرمونين معا تشير الى وجود قصور درقى حاد. أما نقص هرمون "T4" مع إستمرار المعدل الطبيعى لهرمون "T3"، فإنه يحدث فى حالات القصور الخفيف للغدة الدرقية، وعند نقص تعاطى اليود أو عند تناول أدوية الصداع.

أما نقص هرمون "T3" مع بقاء هرمون "T4" بمعدله الطبيعى، فإنه يحدث فى بعض الأمراض مثل القصور الكبدى أو الكلوى، أو حالات سوء التغذية، أو أحيانا بعد العمليات الجراحية أو عند تعاطى بعض الأدوية.

المعدل الطبيعى T3 بالدم : (٩٠ - ١٩٠ نانو جرام٪) أو (١,٣٨ - ٢,٩٢ نانو مول/لتر)

المعدل الطبيعى T4 بالدم : (٦١ - ١١٤ نانو مول/ليتر)

نانو مول / ليتر = ٠,٠١٥٣٦ × نانو جرام٪

٤- هرمونات الغدة الكظرية

(أ) الكورتيزون

يتراوح معدل إفراز قشرة الغدة الكظرية من هرمون الكورتيزول بين ١٥ ، ٢٥ ملليجراماً يومياً، ومن هرمون الألدوسترون بين ٠,٠٥ و ٠,٢ ملليجرام يوميا. ويتبع إفراز هرمون الكورتيزول النظام النهارى الليلى، حيث يكون معدل الإفراز فى الصباح ضعف معدله فى المساء.

ويزداد معدل الكورتيزول فى الدم عند التعرض للإجهاد، وذلك لأن التوتر ينشط محور الغدة تحت المهاد - النخامية - الكظرية. كما يزداد معدل هذا الهرمون عند التعرض

للإصابات الحادة. الحروق، إجراء الجراحات الكبرى، الحمى، هبوط ضغط الدم، نقص سكر الدم، النشاط البدنى، البرودة، وكذلك تدخين السجائر.

أما هرمون الألدوستيرون فإن إفرازه يخضع لعدة عوامل أهمها درجة تركيز أيون البوتاسيوم وإنزيم الرينين الذى تفرزه الكلى حسب معدل ضغط الدم. إذ كلما زاد معدل البوتاسيوم فى الدم قل إفراز الألدوستيرون والعكس صحيح.

وظيفته

١- يقوم الكورتيزول بتثبيط إنزيم تخليق النشا الحيوانى فى الكبد (جليكوجين)، كما يعمل على زيادة إنتاج الجلوكوز من الكبد. وكذلك ينشط عملية تصنيع الجلوكوز من مصادر غير سكرية أو كربوهيدراتية فى الجسم، وفى نفس الوقت يقلل من إستخدام الجلوكوز بواسطة الأنسجة الطرفية مما يزيد نسبتة الجلوكوز فى الدم. وإذا أعطى الكورتيزول لمدة طويلة، فإنه يعمل على إعادة توزيع الدهون فى الجسم، ويشمل ذلك ترسيب الدهون فى مناطق ظهر العنق والعظم الترقوى والعلوى والمنصف الأمامى والمساريقا، بينما لا تترسب الدهون فى الأطراف.

٢- تؤدى زيادة الكورتيزول إلى تثبيط الجهاز المناعى. لذلك يستخدم الكورتيزول فى علاج أمراض المناعة ضد الذاتية وفى نقل الأعضاء. كما يعمل هذا الهرمون على تثبيط حركة الخلايا والسوائل داخل الأوعية الدموية، والتى تصاحب عملية الإلتهاب الموضعى. ويعمل الكورتيزول أيضا على الحد من تكوين البروستاجلاندين، ولذلك يستخدم فى علاج حالات الإلتهابات الحادة فى المفاصل.

٣- يقلل الكورتيزول من عملية تكون عظام جديدة، كما ينشط الخلايا الهادمة للعظام فيساعد على حدوث ترقق (هشاشة) العظام.

٤- تؤدى زيادة الكورتيزول الى ارتفاع ضغط الدم، لذلك يعانى المصابون بنقص فى الكورتيزول من هبوط ضغط الدم.

٥- تؤدى زيادة الكورتيزول فى الجسم الى اضطرابات فى المزاج وتؤثر على درجة الإستيعاب والنوم. ويصاب عادة المرضى بداء كوشينج الناتج عن زيادة إفراز الكورتيزول بالإكتئاب.

٦- يؤدى إستخدام الكورتيزول ومشتقاته لمدة طويلة للإصابة بقرحة المعدة.

(ب) الالدوسترون

يتحكم هرمون الألدوسترون فى عملية إخراج أو إمتصاص عنصرى الصوديوم والبوتاسيوم من الكليتين. ويحفز الألدوسترون النقل النشيط للصوديوم وإفراز البوتاسيوم فى الأنسجة الرئيسية المستهدفة، وبذلك يحافظ على بقاء ضغط الدم فى حدود معدلاته الطبيعية. كما يحفظ الألدوسترون على بقاء عنصر البوتاسيوم فى الدم فى إطار معدله الطبيعى. وإذا حدثت زيادة فى إفراز الألدوسترون فإنها تؤدى إلى زيادة الصوديوم ونقص البوتاسيوم بالدم، مما يؤدى الى إصابة المريض بإرتفاع فى ضغط الدم وضعف بعضلات الجسم.

ثانياً : هرمونات نخاع (لُبّ) الغدة الكظرية

يحاط نخاع الغدة الكظرية بالقشرة ويبلغ إجمالى وزن نخاع الغدتين الكظريتين اليمنى واليسرى حوالى جرام واحد، وهو ما يمثل ١٠ فى المائة من إجمالى وزن الغدة الكظرية هرمونات الآدرينالين والنورادرينالين والدوبامين، وتعرف جميعاً بإسم الكاتيكولامينات. ويمكن تقييم وظيفة نخاع الغدة الكظرية بقياس معدل هرمونات الأدرينالين أو النورأدرينالين فى الدم أو فى البول، وقياس الكاتيكو لامينات الكلية فى البول. أو قياس حمض فانيل مندليك في البول والذى يمثل الناتج النهائى لعملية التمثيل الأيضى لهرمونات نخاع الغدة الكظرية.

أهم التأثيرات الفسيولوجية لهرمونات نخاع الغدة الكظرية

١- إنقباض الأوعية الدموية وإرتفاع ضغط الدم وزيادة سرعة ضربات وإنقباض القلب.
٢- إرتخاء العضلات الناعمة (اللاارادية) مما يقلل من حركة الأمعاء وإنقباض المثانة.
٣- زيادة إفراز العرق، وتسهيل إنتقال الماء والأيونات عبر أسطح الأغشية المخاطية المبطنة للأمعاء والحويصلة الصفراوية والقصبة الهوائية.
٤- تنشيط إفراز المخاط من الغشاء المخاطى المبطن للمعدة والشعب الهوائية بالرئتين.
٥- زيادة عدد الصفائح الدموية وزيادة تجمعها مما يؤدى الى زيادة تجلط الدم.
٦- زيادة إستثمار مخزون الطاقة من دهون الجسم أو سكر النشا فى الكبد، وتنشيط تكوين الجلوكوز من الجليوكوجين، وتشجيع عملية تكسير الدهون.

أهمية قياس هرمون النورأدرينالين ومشتقاته

يمكن إستخدام هرمون النورأدرينالين فى تشخيص إنخفاض ضغط الدم المصاحب لوضع الوقوف، حيث تؤخذ عينة دم من المريض بعد نصف ساعة من رقاده أو إستلقائه، ثم تؤخذ عينة دم أخرى بعد وقوفه لمدة ٥ دقائق. ففى هذه الحالة يتضاعف معدل النورأدرينالين فى الوضع واقفاً عند الأصحاء، بينما يشير إنخفاض إفراز النورأدرينالين عند الوقوف مع إنخفاض ضغط الدم الى وجود إضطراب فى الجهاز العصبى السمبثاوى.

المعدل الطبيعى هرمون الأدرينالين بالدم : من ٠ - ٨٠ بيكو جرام/مل

المعدل الطبيعى هرمون الأدرينالين بالبول خلال ٢٤ ساعة : من ٠ وحتى ٢٠ ميكروجرام٪

المعدل الطبيعى هرمون النورأدرينالين بالدم : من ٠ - ٦٠٠ كوجرام/مل

المعدل الطبيعى هرمون النورأدرينالين بالبول خلال ٢٤ ساعة : من ٠ وحتى ٩٠ يكروجرام٪

٥- هرمونات المبيض

أهمية قياس هرمونات المبيض

١- قياس الهرمونات المحفزة المنسلية (الجونادوتروبينات) فى الدم :

وهو مهم جداً فى حالات إنقطاع الطمث وعدم التبويض، وذلك للتفريق ما بين الحالات الناتجة عن قصور فى الحور تحت المهاد والفص الأمامى للغدة النخامية، والحالات التى بها قصور أولى فى المبيض. إذ أن الحالات الأخيرة يصاحبها ارتفاع ملحوظ فى معدل الهرمونات المحفزة المنسلية، أما الحالات الأولى فيصاحبها نقص فى إفراز هذه الهرمونات وهو ما يعرف بالقصور الثانوى للمبيض. هذا وقد أشرنا من قبل فى الجزء الخاص بهرمونات الفص الأمامى للغدة النخامية إلى أهمية قياس الهرمونات المحفزة المنسلية فى تشخيص التبويض، وحدوث التكيس المبيضى المتعدد، وحالات سن اليأس المبكرة.

٢- قياس هرمون الأستراديول

يستخدم هذا القياس فى تقييم النمو الحويصلى داخل المبيض، وخاصة عند إستخدام الأدوية المنشطة للتبويض. وهو تحليل مهم فى مجال برامج الإخصاب خارج الرحم وهو ما

يعرف "بأطفال الأنابيب"، حيث لا يسمح بزيادة معدل هذا الهرمون على ٤٠٠٠ بيكرجرام في المللیلتر من الدم، منعاً لحدوث متلازمة التنشيط المبيضى، وهى حالةتصاحبها مضاعفات خطيرة مثل إضطراب أملاح الدم وإستسقاء البطن.

كما يمكن إستخدام قياس هرمون الأستراديول فى تشخيص أحد الأورام الخبيثة فى المبيض والتى تقوم بإفراز هذا الهرمون، وهو ما يعرف بورم الخلايا المبيضية ذات الغشاء المحبب.

٣- قياس هرمون البروجسترون

يستخدم قياس هذا الهرمون فى النصف الثانى من الدورة الطمثية للتأكد من حدوث التبويض. كما يستخدم في تقييم وظيفة الجسم الأصفر أثناء الطور الليوتينى للدورة الطمثية، حيث يتم القياس فى اليوم ٢١ من بداية الدورة - وهو اليوم الذى يصل فيه إفراز البروجسترون الى أعلى قيمة له. وفى هذه الحالة فإنه إذا زادت قيمة البروجسترون فى الدم على ١٠ نانوجرام فى المللیلتر، كما ذلك دليلا على أداء الجسم الأصفر لوظيفته بطريقة طبيعية، أما إذا قلت عن ٥ نانوجرام فى المللیلتر، فمعني ذلك أن هناك خللا فى الطور الليوتينى، وإذا تراوحت القيمة بين ٥ ، ١٠ نانوجرام فى المللیلتر، فإن ذلك يشير الى احتمال وجود خلل فى وظيفة الجسم الأصفر. وعموماً يمكن قياس البروجسترون فى ٣ عينات دم متتالية في الأيام ٢١ ، ٢٣ ، ٢٥ من الدورة الطمثية، فإذا زاد مجموع قيمة البروجسترون فى العينات الثلاث على ١٠ نانو جرام فى المللیلتر، فإن ذلك يدل على سلامة وظيفة الجسم الأصفر، أما إذا قل المجموع عن ذلك فإنه يعتبر مؤشرا على وجود خلل فى وظيفة الجسم الأصفر. ومن المعروف أن هذا الخلل يصاحبه نزيف متقطع من الرحم، كما يصاحبه إجهاض متكرر فى بداية الحمل.

٦- هرمونات البنكرياس

(أ) الأنسولين

وهو بروتين مكون من ٥١ حمضاً أمينيا، ووزنة الجزيئى حوالى ٦٠٠٠ دالتون. ويتكون جزىء الإنسولين من سلسلتين (السلسلة "أ" ؛ والسلسلة "ب") متصلتين ببعضهما

عن طريق ٢ كوبرى، ويحتويان على ذرتين من عنصر الكبريت. ويفرز الإنسولين على شكل - بروإنسولين، وهو يختلف عن الإنسولين فى إحتوائه على ما يسمى بـ "سى ببتايد" وهى التى تصل السلسلة "أ" بالسلسلة "ب".

ويتحلل البروإنسولين بواسطة التحليل الإنزيمى الى الإنسولين بعد إنفصال الـ "سى ببتايد" وتتساوى كمية الـ "سى ببتايد" مع كمية الإنسولين المفرز. لذا فإن قياس "سى ببتايد" فى الدم يمكن أن يعبر عن حجم إفراز الإنسولين الخاص بالمريض نفسه، حتى ولو كان يتعاطى إنسولين خارجيا لعلاج مرض السكرويقاس بالدم بعد تعاطى الجلوكاجون.

أهم وظائف الإنسولين

(١) العمل على نقل الجلوكوز والأحماض الأمينية والأحماض الدهنية من الدم الى خلايا الجسم عبر الغشاء الخلوى للخلية، وتشجيع أكسدة الجلوكوز داخل الخلية، وذلك عن طريق تنشيط بعض الإنزيمات التى تشارك فى تحويل الجلوكوز الى حمض البروفيك.

(٢) تنشيط عملية تحويل الجلوكوز الى جليكوجين (النشا الحيوانى) خاصة فى الكبد والعضلات.

(٣) الحد من عملية تحويل الجليكوجين الى جلوكوز.

(٤) تقليل عملية تحويل المركبات غير الكربوهيدراتية مثل الأحماض الأمينية والدهنية الى جلوكوز.

(٥) تحفيز عملية تكوين المواد الدهنية والتقليل فى نفس الوقت من عملية هدم هذه المواد.

(٦) المساعدة على تخليق وتكوين المواد البروتينية، والتقليل أيضا من تكسير وهدم هذه المواد.

مضادات الانسولين :

تشمل مضادات الإنسولين بعض الهرمونات مثل الجلوكاجون، والكلورتيزول، وهرمون النمو، والأدرينالين، والبرولاكتين، وهرمون الثيروكسين (هرمون الغدة الدرقية) وكذلك الاستروجينات.

كما تشمل مضادات الإنسولين الأجسام المضادة الإنسولين الأجسام المضادة

للإنسولين، وكذلك زيادة الأحماض الدهنية الحرة. وينتج عن عمل هذه المضادات، الإقلال من عملية أكسدة الجلوكوز وحدوث مقاومة لعمل الإنسولين داخل خلايا الجسم. وقد تنشأ مقاومة لعلم الإنسولين فى النوع الأول من مرض السكر (الذى يعتمد على الإنسولين فى العلاج) نتيجة عيوب فى مستقبلات الإنسولين بالإضافة الى عمل مضادات الإنسولين.

(ب) الجلوكاجون

وهو هرمون ذو طبيعة بروتينية، ويفرز بواسطة خلايا ألفا من البنكرياس. ومن أهم وظائفه زيادة تحويل الجليكوجين (النشا الحيوانى) فى الكبد الى جلوكوز، وزيادة تحويل الأحماض الأمينية الى جلوكوز، كما ينشط عملية تحلل الدهون وتحويلها الى أجسام كيتونية.

٧- هرمونات الغدة الجاردرقية

هرمون الغدة الجاردرقية (الهرمون الجاردرقى)

تتكون الغدد الجاردرقية من ٤ غدد، ويتراوح وزنها الكلى بين ١٢٠ و ١٤٠ ملليجراما، وتقع بجوار الغدة الدرقية. وتحتوى الغدد الجاردرقية على عدة أنواع من الخلايا، أهمها الخلايا الرئيسية التى تقوم بإفراز هرمون الغدة الجاردرقية، وخلايا شاحبة اللون بالصبغة الحمضية، وبعض الخلايا الدهنية الكبيرة المنتشرة فى نسيج الغدد.

وتقوم الخلايا الرئيسية فى الغدد الجاردرقية بثلاث مهام : الأولى فى الإفراز السريع لهرمون الغدة الجاردرقية لأية تغيرات فى مستوى الكالسيوم بالدم. والمهمة الثانية هى التخليق الكيميائى لهرمون الغدة الجاردرقية. والمهمة الثالثة هى تخزين كميات كبيرة من هرمون الغدة الجاردرقية.

ويتكون هرمون الغدة الجاردرقية من ٨٤ حمضا أمينيا، وهو عبارة عن سلسلة واحدة متعددة الببتيدات. ويبلغ وزنه الجزئى ٩٥٠٠ دالتون. ويتكون هذا الهرمون بعد إنفصاله عن الهرمون الجاردرقى الأولى قبل إفرازه من الغدد الجاردرقية والهرمون الجاردرقى الأولى يحتوى على ١٠٩ أحماض أمينية، ووزنه الجزيئى ١١٥٠٠ دالتون. ويمثل جزء النهاية الأمينية ١-٣٤ الجزء الفعال من الهرمون الجاردرقى. ويتحكم عنصر الكالسيوم فى إفراز

الهرمون الجاردرقى، حيث يؤدى نقص الكالسيوم فى الدم آلى زيادة إفراز الهرمون الجاردرقى، بينما تؤدى زيادة هذا العنصرن فى الدم الى تقليل طفيف فى إفراز الهرمون.

وظائف الهرمون الجاردرقى

١- تحريك كالسيوم العظم عن طريق تنشيط الخلايا الهادمة للعظام وتثبيط الخلايا البناءة للعظام وتنشيط الإنزيم الذى يحلل غراء العظم (الكولاجين).

٢- زيادة إعادة إمتصاص الكالسيوم من الأنابيب البولية بالكلى.

٣- زيادة إمتصاص الكالسيوم من الأمعاء، وذلك عن طريق زيادة تحويل فيتامين "د" غير الفعال إلى فيتامين "د" الفعال الذى ينشط عملية إمتصاص الكا لسيوم.

٤- تقليل إعادة إمتصاص الفوسفور من الأنابيب البولية بالكلى.

هرمون الكالسيوتونين

يفرز هذا الهرمون بواسطة "خلايا سى" الموجودة فى الغدة الدرقية ويتكون من ٣٢ حمضاً أمينيا. ويزداد إفراز هذا الهرمون عند التسريب (الحقن ببطء) الوريدى للكالسيوم، وكذلك عند تناول الكالسيوم بالفم. كما يؤدى إرتفاع معدل بعض هرمونات الجهاز الهضمى الى زيادة إفراز الكالسيوتونين مثل الجلوكاجون والجاسترين. وربما تلعب هذه الهرمونات دوراً فسيولوجيا فى تنظيم زيادة الكالسيوم بعد الأكل.

ومن أهم وظائف الكالسيوتونين:

١- تثبيط عمل الخلايا الهامة للعظام، وبذلك يقلل من هدم العظام.

٢- تقليل معدل الكالسيوم بالدم، ولكن ذلك تعقبه زيادة تعويضية فى معدل الهرمون الجاردرقى للحفاظ على ثبات معدل الكالسيوم فى الدم.

٣- تقليل إمتصاص الكالسيوم فى الأمعاء.

٤- زيادة إخراج الكالسيوم والفوسفور فى البول.

أهمية قياس الهرمون الجاردرقى في الدم

يمكن قياس الهرمون الجاردرقى الفعال فى» لدم بطريقة المعايرة بالنظائر المشعة، خاصة الهرمون الجار الدرقى ذا النهاية الأمينية والهرمون الدرقى ذا النهاية الحمضية.

وترجع أهمية قياس الهرمون الجاردرقى فى الدم آلى دوره الى تشخيص حالات زيادة الهرمون الجاردرقى الأولى والمصحوبة بزيادة فى كالسيوم الدم. وكذلك يمكن إستخدام هذا التحليل أيضا فى التفريق التشخيصى بين حالات زيادة كالسيوم الدم الناتجة عن زيادة الهرمون الجاردرقى الأولى، وبين الحالات الناتجة عن الأمراض السرطانية، حيث يزداد معدل الهرمون فى الحالات الأولى، بينما لا يتغير فى الحالات الثانية. كذلك نلجأ الى قياس الهرمون الجاردرقى فى الدم لتشخيص حالات نقص هذا الهرمون، والتى يصاحبها نقص فى كالسيوم الدم وزيادة فوسفور الدم. وفى هذه الحالات الأخيرة فإن الهرمون الجاردرقى يكون مستواه منعدماً تقريباً فى الدم، أما الحالاتّ التى تسمى النقص الكاذب للهرمون فتنتج عن مقاومة أعضاء الجسم المعنية لتأثير الهرمون، ولا يتأثر فيها مستوى الهرمون فى الدم.

الهرمونات وعلاقتها بالسكرى

1- Plasma amylin and amylin like peptide

هرمون الأميلين والأميلين شبيه ببيتيد-١

يفرز من خلايا بيتا من البنكرياس فعلى الرغم من أن وظيفته غير معروفة ألا أن له تأثير خاقض للسكر للمرضى فوق سن ٤٥ سنه

(Normal. Rang 2.6-13.6 pmol/L.

2- C-Peptide

ويتحلل البروإنسولين بواسطة التحليل الإنزيمى إلى الأنسولين بعد إنفصال الـ "سى ببتايد" وتتساوى كمية الـ "سى ببتايد" مع كمية الأنسولين المفرز. لذا فإن قياس "سى ببتايد" فى الدم يمكن أن يعبر عن حجم إفراز الإنسولين الخاص بالمريض نفسه، حتى ولو كان يتعاطى إنسولين خارجياً لعلاج مرض السكر ويقاس بالدم بعد تعاطى الجلوكاجون

المعدل الطبيعى بالدم للشخص الصائم

أ- فى النوع الأول للسكر : أصغر من ٣ . . نانوجرام/ليتر

ب- فى النوع الثانى للسكر : يصل الى ٦ . . نانو جرام/ليتر

3- Leptin

الليبتين عبارة عن ١٤٦ حامض أميني

- يفرز من الخلايا الدهنية وهو ينظم عملية الغذاء وانتاج الطاقة وتنظيم وزن الجسم. كما أنه يتضح أن Leptin له تأثير على وظائف الغدة النخامية والدرقية والكظرية والتناسلية.
- زيادة افراز الليبتين يؤدى الى انخفاض معدل السكر بالدم.

المعدل الطبيعى لليبتين بالدم :

الذكر ٣ ٨ ÷ ٨ ١ ميكروجرام/لتر

الأنثى ٤ ٧ ÷ ٧ ٣ ميكروجرام/لتر

- يقل إفراز الليبتين مع زيادة فترة الصيام.
- ينظم الليبتين معدل الأنسولين.
- زيادة معدل الليبتين بالدم يؤدى الى حمض البول السكرى.
- يقل معدل الليبتين بالدم فى الأشخاص الذين عانون من مقاومة الأنسولين.
- يزداد معدل الليبتين بالدم فى الأشخاص الذين يعانون السمنة.

هرمون التستوستيرون Testosterone

يفرز هرمون التستوسيترون من الخصية ومن أهم وظائفه هو تنظيم إفراز الهرمونات المحفزة المنسلية وكذلك يكون مسئولا عن بدء إستمرار تكوين الحيوانات المنويج وتحديد الجنس الذكرى ودفع معظم النضوج الجنسى عند البلوغ والتحكم فى النشاط الجنسى وقوة الإنتصاب فى الرجال.

١- يقاس معدل إفراز التستوسيترون فى الدم وهو يزداد بزيادة ذات مغزى عندما يكون البلوغ سيصيح طبيعياً.

٢- يقاس معدل إفراز هرمون التستوسيترون فى الدم أيضا لتقييم وظيفة القنوات الناقلة للمنى والنطفة من خلايا لايدج بالخصية.

٣- يقاس معدل إفراز هرمون التستوسيترون لمعرفة أية إضطرابات في وظيفة الخصية (عيوب خلقية) أو عيوب مكتسبة نتيجة الإصابة مثلا بالتهاب فيروس فى الخصية أو التعرض للإصابة أو للأشعاع أو بعض السموم البيئية.

٤- يقاس معدل إفراز هرمون التستوسيترون لمعرفة وجود أورام بالخصية.

٥- يقاس معدل إفراز هرمون التستوسيترون لمعرفة الإختلالات بالغدة النخامية وهو حدوث نقص منفرد فى الهرمون المحفز المفلس، أو زيادة هرمون البرولاكتين فى الدم.

Normal value

Males = 6.06 ng/ml (2.5 - 13.5 ng/ml)

Females = 0.46 ng/ml (0.1 - 1.1 ng/ml)

هرمون الريسستين Resistin

١- الريسستين ينتج بواسطة الخلايا الدهنية.

٢- الريستين يشجع الأنسجة المقاومة للأنسولين.

٣- يزداد تركيزه فى الأشخاص الذين يتمتعون بالسمنة.

٤- معدله فى الدم.

٥- الريسستين مفتاح لظهور الأنسولين.

٦- الريسستين يتكون من ١٠ كيلو دالتون وأصله بروتينى

المعدل الطبيعى (١٢,٣٩ + ٢ نانوجرام٪)

هرمون أديبونكتين Adiponectin

١- هرمون أديبونكتين أصله بروتين.

٢- الأديبونكتين يفرز من الخلايا الدهنية (الدهن الحشوى وتحت الجلد)

٣- الأديبونكتين يشجع وظائف الأنسولين فى تخفيض معدل السكر بالدم وخاصة سكر الصائم بعد سن ٤٠ م (النوع الثانى).

٤- زيادة هرمون الأديبونكتين يؤدى الى ظهرر مرض القلب للشرايين.

٥- الأديبونكتين مرتبط بالسمنة.

٦- يرفع الأديبونكتين حساسية الأنسولين بالجسم.

٧- معدل الأديبونكتين بالدم هو :

الذكور (٧,٢ + ٤,٦ ميكروجرام/مل)

الإناث (٧,٩ + ١٣,٥ ميكروجرام/مل)

جدول (٩) يوضح إختبارات للكشف عن وظائف الكبد، الكلى، القلب

Table (9) The liver, kidney and heart function tests

No	Liver markers panel	No	Kidney markers panel
1	Serum alkaline phosphatase	1	Serum creatinine
2	Serum bilirubin	2	Serum creatinine clearance
3	Serum amylase	3	Serum urea
4	Serum arginase	4	Serum uric acid
5	Serum triglycerides	5	Urine analysis
6	Serum total proteins	6	Sodium (Na)
7	Serum albumin	7	Potassium (k)
8	Serum cholesterol		
9	Serum phospholipid	**No**	**Heart markers panel**
10	Serum Total lipids	1	Serum LDH
11	glutamic pyruvic Transaminase (SGPT or ALT	2	Serum CPK
12	Serum glutamic oxaloacetic Transaminase (SGOT) or AST	3	Serum total lipids
13	Galactose tolerance test	4	Serum cholesterol
14	Levulose tolerance test	5	Serum GOT
15	Serum prothrombin time	6	Serum Triglycerides
16	Serum ammonia	7	Serum CK-MB
17	Determination of thymol turbidity	8	Serum Troponin-I, T and C
18	Determination of fecal fat	9	Serum calcium
19	Urine analysis for billirubin and urobilinogen		
20	Stool analysis for urobilinogen and stercolbilinogen		

الباب السابع

النسب الطبيعية لعدد من القيم الدموية
Haematology والفسيولوجية أو البيولوجية
فى مصل أو بلازما الدم
Blood Chemistry

قيـــم الـــدم

القيم الطبيعية للمكونات الدموية (Haematology)

١- خلايا الدم الحمراء R.B.Cs

فى الرجال	٥- ٥,٥	مليون خلية/مم^3
فى النساء	٤-٥,٤	مليون خلية/مم^3
لأطفال حديثى الولادة	٥-٦	مليون خلية/مم^3
الأطفال سن ٣ شهور	٤-٥	مليون خلية/مم^3
الأطفال من سن ٤-٦ سنوات	٥٠-٥,٥	مليون خلية/مم^3
الأطفال من سن ١٠-١٢ سنوات	٤,٩ - ٥,٤	مليون خلية/مم^3

٢- الهيموجلوبين Hb.

فى الرجال	١٥-١٦	جم/١٠٠ مل دم
فى النساء	١٤-١٥	جم/١٠٠ مل دم
لأطفال حديثى الولادة	١٦,٥ - ١٧	جم/١٠٠ مل دم
الأطفال سن ٣ شهور	١١,٢ - ١٢	جم/١٠٠ مل دم
الأطفال من سن ٣-٦ سنوات	١٣ - ١٣,٤	جم/١٠٠ مل دم
الأطفال من سن ١٠-١٢ سنوات	١٣-١٤	جم/١٠٠ مل دم

٣- حجم الخلايا الحمراء (Hct PCV)

فى الرجال	٤٥٪
فى النساء	٤٢٪
لأطفال حديثى الولادة	٥٤٪
الأطفال سن ٣ شهور	٣٨٪
الأطفال من سن ٣-٦ سنوات	٤٠٪
الأطفال من سن ١٠-١٢ سنوات	٣١٪

٤- متوسط حجم الخلايا الحمراء MCV

فى الرجال	٨٦ فلوميتر (fl)
فى النساء	١٠٦ فلوميتر (fl)

لأطفال حديثي الولادة	٩٥ فلوميتر (fl)
الأطفال سن ٣ شهور	٧٨ فلوميتر (fl)
الأطفال من س ٣-٦ سنوات	٨٤ فلوميتر (fl)
الأطفال من سن ١٠-١٢ سنوات	٨٥ فلوميتر (fl)

٥- متوسط هيموجلوبين الخلية MCH

البالغين	٧٢-٣٠ بيكو جرام (pg)
فى الأطفال سن ٣ شهور	٢٥-٣٠ بيكو جرام (pg)
فى الأطفال ١ سنه	٢٣ - ٣١ بيكو جرام (pg)
الأطفال من سن ٣-٦ سنوات	٢٤ - ٣٠ بيكو جرام (pg)
الأطفال من سن ١٠-١٢ سنوات	٢٤ - ٣٠ بيكو جرام (pg)

٦- متوسط تركيز هيموجلوبين الخلية MCHC

البالغين والأطفال	٣٠-٣٥ جم٪

٧- الخلايا الشبكية Reticulocyte

في البالغين	٠,٢ - ٢٪
فى الأطفال	٢-٦٪

٨- حجم الدم Blood Volume

أ- حجم الخلايا الحمراء

فى الرجال	٢٥-٣٥ مل/كجم
فى النساء	٢٠-٣٠ مل/كجم

ب- حجم البلازما Plasma Volume ٤٠-٤٥ مل/كجم

حـ- حجم الدم الكلى Total Blood Volume ٦٠-٨٠ مل/كجم

٩- عمر الخلية الدموية الحمراء ٩٠-١٥٠ يوم

١٠- خلايا الدم البيضاء W.B.Cs

البالغين	٤-١١ × $١٠^{٣}$ خلية/مم^{٣}
فى الأطفال حديثي الولادة	١٠-٢٧×$١٠^{٣}$ خلية مم^{٣}
فى الأطفال عمر سنة	١ - ١٨ × $١٠^{٣}$ خلية/مم^{٣}
الأطفال من سن ٤-٧ سنوات	٥-١٥ × $١٠^{٣}$ خلية/مم^{٣}
الأطفال من سن ٨-١٢ سنوات	٥-١٣ × $١٠^{٣}$ خلية/مم^{٣}

١١- تميز خلايا الدم البيضاء W.B.Cs Differentials

أ- البالغين Adults

الخلايا المتعادلة	٤٠ - ٧٠٪
الخلايا الليمفاوية	٢٠ - ٤٠٪
الخلايا الكبيرة	٢ - ١٠٪
الخلايا القاعدية الصبغ	< ١٪
الخلايا الحامضية الصبغ	١ - ٦٪
الخلايا المتعادلة	٤٠ - ٧٠٪

ب- الأطفال سن ٣ سنوات Infants

الخلايا المتعادلة	٣٠ - ٦٠٪
الخلايا الليمفاوية	٣٥ - ٤٥٪
الخلايا الكبيرة	٣ - ١٠٪
الخلايا القاعدية الصبغ	١ - ٦٪
الخلايا الحامضية الصبغ	< ١٪

جـ- الأطفال ٦ سنوات

الخلايا المتعادلة	٣٥ - ٦٥٪
الخلايا الليمفاوية	٢٥ - ٤٨٪
الخلايا الكبيرة	٤ - ١٠٪
الخلايا القاعدية الصبغ	٢ - ٦٪
الخلايا الحامضية الصبغ	< ١٪

١٢- الصفائح الدموية Platelets ١٥٠,٠٠٠ - ٤٠٠,٠٠٠ صفيحة/مم٣

١٣- زمن النزف ٢-٧ دقائق

١٤- زمن التجلط ٢,٥ - ٩,٥ دقائق

١٥- زمن البروثرومبين ١٠ - ١٤ ثانية

جدول (١٠) القيم الطبيعية لعدد من المكونات الفسيولوجية أو البيولوجية فى مصل Serum أو بلازما Plasma الدم فى الإنسان

إسم المكون Compound	القيمة Value
١- الأميليز Amylase	٨٠ - ١٨٠ وحدة دولية (سوموجى)
٢- البروتين الكلى Total Protein	٨٠ - ١٨٠ وحدة دولية (سوموجى)
٣- الفوسفات الغير عضوى Inorganic phosphate	٦-٨ جم/١٠٠ مللى ليتر ٦-٩ جم/١٠٠ مللى ليتر
٤- أنزيم الفوسفاتيز القاعدى Alkaline phosphate	٤٠-١١ وحدة أرمسترونج/١٠٠ مللى
٥- أنزيم الفوسفاتيز القاعدى Acid phosphatase	١٠١ - ٣٠٦ وحدة دولية/١٠٠ مللى ليتر
٦- الجلوكوز Glucose ما قبل السكرى (المستتر أو المخفى) IFG IGF	٧٠ - ٩٨ مجم/١٠٠ مللى ليتر ١٠٠ - ١٢٥ مجم/١٠٠ مللى ليتر ١٤٠ - ٢٠٠ مجم/١٠٠ مللى ليتر
٧- الدهون الكلية Total lipids	٤٠٠ - ٨٠٠ مجم/١٠٠ مللى ليتر
٨- الترايجليسريدات Triglycerides	٦٠ - ١٤٠ مجم/١٠٠ مللى ليتر
٩- الكوليسترول Cholesterol	١٤٠ - ٢٠٠ مجم/١٠٠ مللى ليتر
١٠- الفوسفوليبيدات Phospholipides	١٥٠ - ١٨٠ مجم/١٠٠ مللى ليتر
١١- الكرياتينين Creatinine	٠,٦ - ٢ مجم/١٠٠ مللى ليتر
١٢- الألبيومين Albumin	٤-٥ مجم/١٠٠ مللى ليتر
١٣- اليوريا Urea	٢٠ - ٥٠ مجم/١٠٠ مللى ليتر
١٤- الصوديوم Sodium	١٣٤ - ١٦٠ مللى مكافىء/لتر
١٥- البوتاسيوم Potassium	٣-٧ مللى مكافىء/لتر
١٦- الكالسيوم Calcium	٨,٨ - ١٠,٢ مجم٪
١٧- حامض اليوريك Uric acid	٢-٧ مجم/١٠٠ مللى لتر
١٨- الحديد Iron	١١٥ - ١٢٥ ميكروجرام/١٠٠ مللى
١٩- قوة الارتباط والسعة الكلية للحديد	٢٥٠ - ٢٨٠ مجم/١٠٠ مللى لتر
٢٠ - كلوريد Chloride	٣٤٨ - ٣٨٠ مجم٪
٢١- جلوتاميك بيروفيك ترانس أمينيز Glutamic pyruvic transaminase (GPT) or ALT	٢ - ١٥ وحدة دولية/لتر ٢-١٥ U/L

تابع : القيم الطبيعية لعدد من المكونات الفسيولوجية أو البيولوجية فى مصل Serum أو بلازما Plasma الدم فى الإنسان

إسم المكون Compound	القيمة Value
٢٢- جلوتاميك أوكاسالو اسنيك ترانس أمينز Glutamic oxaloacetic transaminase GOT or AST	٢-١٠ وحدة دولية/ليتر
٢٣- بروﻻكتين Prolactin	٣٠ نانو جرام/مللى لتر
٢٤- ثيروكسين Thyroxine	٥-١٢ ميكروجرام/١٠٠ مللى
٢٥- T3	
٢٦- تستستيرون Testesteron	٣٥٠ - ٨٠٠ نانوجرام/١٠٠ مللى
٢٧- الهرمون المنبه للغدة الدرقية Thyroid stimulating hormone	٢-٦ ميكروليتر/مللى
٢٨- هرمون النمو Growht hormone	أقل من ٥ نانوجرام/ملى
٢٩- البيليروبين الكلى Total billirubin	٠,٦ - ١ مجم/١٠٠ مل
٣٠- البيليروبين المباشر Direct	٠,٢٥ مجم/١٠٠ مل
٣١- البيليروبين الغير مباشر Indirect	٠,٧٥ مجم/١٠٠ مل
٣٢- جاما جلوتاميك ترانس أمينز	٢٤,٧ وحدة/لتر (الأنثى) ٤-٢٥ وحدة/لتر (الذكر)
٣٣- النحاس Cupper	٧٠ - ١٤٠ ميكروجرام ٪ (الذكر) ٨٠ - ١٥٠ ميكروجرام ٪ (أنثى)
٣٤- LDH	١٤٠-٢٨٠ وحدة/لتر
٣٥- ماغنسيوم Magnesium	١,٦ - ٢,٥ مجم٪
٣٦- ASO	≤ ٢٠٠ وحدة/مل دم
٣٧- C.R. Protein	≤ ٥ وحدات/مل دم

١٦- الهشاشية الأسموزية لخلايا الدم الحمراء عند ٢٠° م

(الأس الهيدروجيني ٧,٤)

كلوريد الصوديوم NaCl (حجم/لتر٢)	نسبة التحلل ٪ قبل التحضين	نسبة التحلل ٪ بعد التحضين لمدة ٢٤ ساعة عند ٣٧° م
٢	١٠٠	٩٥ - ١٠٠٪
٣	٩٧ - ١٠٠٪	٨٥ - ١٠٠٪
٣,٥	٩٠ - ٩٩٪	٧٥ - ١٠٠٪
٤	٥٠ - ٩٥٪	٦٥ - ١٠٠٪
٤,٥	٥ - ٤٥٪	٥٥ - ٩٥٪
٥	صفر - ٦	٤٠ - ٨٥٪
٥,٥	صفر	١٥ - ٧٠٪
٦	صفر	صفر - ٧٠٪
٦,٥	صفر	صفر - ١٠٪
٧	صفر	صفر
٧,٥	صفر	صفر
٨	صفر	صفر
٨,٥	صفر	صفر

جدول (١١): يبين الاوزان الذرية لبعض العناصر

Table (11). Shows the relative atomic weights based on the atomic mass.

Element	Symbol	Atomic number	Atomic weight
Aluminum	Al	13	26.9815
Antimony	Sb	51	121.75
Argon	Ar	18	39.948
Arsenic	As	33	74.9216
Barium	Ba	56	137.34
Beryllium	Be	4	9.0122
Bismuth	Bi	83	208.980
Boron	B	5	10.811
Bromine	Br	35	79.909
Cadmium	Cd	48	112.40
Calcium	Ca	20	40.08
Carbon	C	6	12.01115
Cerium	Ce	58	140.12
Chlorine	Cl	17	35.453
Chromium	Cr	24	51.996
Cobalt	Co	27	58.9332
Copper	Cu	29	63.54
Europium	Eu	63	151.96
Fluorine	F	9	18.9984
Gadolinium	Gd	64	157.25
Gallium	Ga	31	69.72
Germanium	Ge	32	72.59
Gold	Au	79	196.967
Helium	He	2	4.0026
Hydrogen	H	1	1.00797
Iodine	I	53	126.9044
Iron	Fe	26	55.847
Lead	Pb	82	207.19
Lithium	Li	3	6.939

Table (12). Relative molecular masses of some substances (RMM)

Substance	Symbol	RMM
Acetic acid	CH_3COOH	60.08
Ammonium carbonate	$(NH_4)_2CO_3$	96.09
Ammonium chloride	$(NH_4)Cl$	53.50
Ammonium molybdate	$(NH_4)_2MoO_4$	196.03
Ammonium nitrate	$(NH_4)NO_3$	80.05
Ammonium oxalate	$(NH_4)_2C_2O_2H_2O$	142.12
Barium chloride	$BaCl_2$	208.27
Barium hydroxide	$Ba(OH)_2SH_2O$	315.51
Boric acid (boracic acid)	H_3BO_3	61.48
Calcium chloride	$CaCl_2$	110.98
Copper II sulphate (Cupric)	$CuSO_4$	159.61
	$CuSO_2\ 5H_2O$	249.69
Hydrochloric acid	HCl	36.47
Iron III chloride	FeC_3	162.22
(Ferric chloride)	$FeCl_3\ 6H_2O$	270.32
Lead nitrate	$Pb(NO_3)_2$	331.23
Lithium carbonate	Li_2CO_3	73.89
Magnesium chloride	$MgCl_2\ 6H_2O$	203.33
Mercury II chloride	$HgCl_2$	271.52
(Mercuric chloride)		
Molybdic acid	H_2MoO_4	161.97
	$H_2MoO_4\ H_2O$	179.98
Nitric acid	HNO_3	63.02
Phosphoric acid	H_3PO_4	98.00

Potassium carbonate	K_2CO_3	138.20
	K_2CO_3 1.5H_2O	165.24
Potassium chloride	KCl	74.55
Potassium cyanide	KCN	65.11
Potassium dichromate	$K_2Cr_2O_7$	294.21
Potassium ferricyanide	$K_3Fe(CN)_6$	329.25
Potassium ferrocyanide	$K_4Fe(CN)_6$ $3H_2O$	422.39
Potassium hydrogen phosphate	K_2HPO_4	174.18
Potassium dihydrogen phosphate	KH_2PO_4	422.39
Potassium hydroxide	KOH	56.10
Potassium hypochloride	KCIO	90.55
Potassium iodate	KIO_3	214.02
Potassium iodide	KI	166.02
Potassium nitrate	KNO_3	101.10
Potassium nitrite	KNO_2	85.10
Potassium oxalate	$K_2C_2O_4$ H_2O	184.23
Potassium permanganate	$KMnO_4$	158.03
Potassium phosphate	K_3PO_4	212.27
Potassium sulphate	K_2SO_4	174.26
Potassium tartrate	$K_2C_4H_4O_6$ $\frac{1}{2}H_2O$	235.27
Potassium thiocyanate	KSCN	97.18
Silver nitrate	$AgNO_3$	169.89
Sodium azide	NaN_3	65.02
Sodium barbital (Sodium diethyl barbiturate)	$NaC_8H_{11}N_2O_3$	206.18
Sodium benzoate	$NaC_7H_5O_2$	144.11
Sodium carbonate	Na_2CO_3	106.00
	Na_2CO_3 H_2O	124.02
Sodium chlorate	$NaClO_4$	106.45

Sodium chloride	NaCl	58.45
Sodium chromate	Na_2CrO_4	162.00
Sodium citrate	$Na_3C_6H_5O_7\ 2H_2O$	294.12
Sodium cyanide	NaCN	49.02
Sodium dithionite	$Na_2S_2O_4\ 2H_2O$	210.16
Sodium ferricyanide	$Na_3Fe(CN)_6\ H_2O$	298.97
Sodium ferrocyanide	$Na_4Fe(CN)_6\ 10H_2O$	484.11
Sodium fluoride	NaF	42.00
Sodium bicarbonate	$NaHCO_3$	84.02
Sodium hydroxide	NaOH	40.01
Sodium metabisulphite	$Na_2S_2O_5$	190.13
Sodium molybdate	$Na_2MoO_4\ 2H_2O$	241.98
Sodium nitrate	$NaNO_3$	85.01
Sodium nitrite	$NaNO_2$	69.01
Sodium nitroprusside	$Na_2\ (NO)Fe(CN)_5\ 2H_2O$	297.97
Sodium oxalate	$Na_2S_2O_4$	134.01
Sodium perchlorate	$NaClO_4\ H_2O$	140.47
Sodium phosphate	$Na_3PO_4\ 12H_2O$	380.16
Sodium sulphate	Na_2SO_4	142.06
Glauber's salt	$Na_2SO_4\ 10H_2O$	322.22
Sodium sulphite	Na_2SO_3	126.06
Sodium thiosulphate	$Na_2S_2O_3\ 5H_2O$	248.21
Sodium tungstate	$Na_2WO_4\ 2H_2O$	329.95
Sulphuric acid	H_2SO_4	98.08
Zinc acetate	$Zn(C_2H_3O_2)_2\ 2H_2O$	219.50
Zinc chloride	$ZnCl_2$	136.29

Mole per liter solutions of some concentrated acids

Acetic acid, glacial, 99.6 % w/w:	Approx. 17.50 mol / L
Hydrochloric acid, 1.16, 32 % w/w:	Approx. 10.20 mol / L
Hydrochloric acid, 1.18, 36 % w/w:	Approx. 11.65 mol / L
Nitric acid, 1.42, 70 % w/w:	Approx. 15.80 mol / L
Sulphuric acid, 1.84, 97 % w/w:.	Approx. 18.00 mol / L

To make approx. 1 mol / L solution from concentrated acids

Concentrated acids	ml diluted to 1 liter
Acetic acid, glacial, 99.6 % w/w:	57 ml
Hydrochloric acid, 32 % w/w:	98 ml
Hydrochloric acid, 36 % w/w:	86 ml
Nitric acid, 70 % w/w:	63 ml
Sulphuric acid, 97 % w/w:	56 ml

Preparation of certain reagents, anticoagulants and preservative solutions

Acid-citrate-dextrose (ACD) Solution NIH-A

Trisodium citrate, dihydrate (75 m mol/L)	22 g
Citric acid, monohydrate (42 m mol/L)	8 g
Dextrose (139 m mol/L)	25 g
Water	to 1L

Sterilized the solution by autoclaving at 126°C for 30 min. Its pH is 5.4. For use, add 10 volumes of blood to 1.5 volumes of solution.

Alsever's solution

Dextrose (114 m mol/L)	20.5 g
Trisodium citrate, dihydrate (27 m mol/L)	8.0 g
Sodium chloride (72 m mol/L)	4.2 g
Water	to 1L

Adjust the pH to 6.1 with citric acid (c 0.5 g) and then sterilized the solution by micropore filtration (0.22 m) or by autoclaving at 126°C for 30 min. For use, add 4 volumes of blood to 1 volume of solution.

Citrate-phosphate-dextrose (CPD) solution, pH 6.9

Trisodium citrate, dihydrate (102 m mol/L)	30 g
Sodium dihydrogen phosphate, monohydrate (1.03 m mol/L)	0.15 g
Dextrose (11 m mol/L)	2 g
Water	to 1L

Sterilize the solution by autoclaving at 126 C for 30 min. After cooling to c 20 C, it should have a brown tinge and its pH should be 6.9. For use in cell survival studies add 1 volume of blood to 2 volumes of solution.

Citrate-phosphate-dextrose (CPD) solution, pH 5.6 – 5.8

Trisodium citrate, dihydrate (89 m mol/L)	26.30 g
Citric acid, monohydrate (17 m mol/L)	3.27 g
Sodium dihydrogen phosphate monohydrate (16 m mol/L)	2.22 g
Dextrose (142 m mol/L)	25.50 g
Water	to 1L

Sterilize the solution by autoclaving at 126°C for 30 min. For use as an anticoagulant preservative, add 7 volumes of blood to 1 volume of solution.

Low ionic strenght solution

Sodium chloride (NaCl) (30.8 m mol/L)	1.8 g
Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4) (1.5 m mol/L)	0.21 g
Glycine (NH_2CH_2COOH) (240 m mol/L)	0.18 g
Water	to 1L
Trisodium citrate ($Na_3C_6H_5O_7$ $2H_2O$), (109 m mol)	1

Dissolve 32 g in 1L of water. Distribute convenient volumes 9e.g. 10 ml) into small bottles and sterilize by autoclaving at 126°C for 30 min.

Water

For most purposes still-prepared distilled water or deionized water is equally suitable. Throughout this text this is implied when "water" is referred to. When doubly distilled or glass-distilled water is required this has been specially indicated, and when tap-water is satisfactory or indicated, this, too, has been stated.

Buffers*

Barbitone buffer, pH 7.4

Sodium diethyl barbiturate ($C_8H_{11}O_3N_2Na$) (57 mmol/L)	11.74 g
Hydrochloric acid (HCl) (100 mmol/L)	430 ml

Barbitone buffered saline, pH 7.4

NaCl	5.67 g
Barbitone buffer, pH 7.4	11

Before use. dilute with an equal volume of 9 g L NaCl.

Barbitone buffered saline pH 9.5

Sodium diethyl barbiturate ($C_8H_{11}O_3N_2Na$) (98 mmol/L)	20.2 g
Hydrochloric acid (HCl) (100 mmol/L)	20 ml
NaCl	5.67g

Before use, dilute the buffer with an equal volume of 9 g/l NaCl.

Barbitone bovine serum albumin (BSA) buffer pH 9.8

Sodium diethyl barbiturate ($C_8H_{11}O_3N_2Na$) (54 mmol/L)	10.3 g
NaCl (102 mmol/L)	6.0 g
Sodium azide (31 mmol/L)	2.0 g
Bovine serum albumin (Sigma)	5.0 g
Water	to 1L

Dissolve the reagents in 900 ml water. Adjust the pH to 9.8 with 5 mol/L HCl. Make up the volume to 11 with water. Store at 4°C.

Citrate-saline buffer

Trisodium citrate ($Na_3C_6H_5O_7$ $2H_2O$) (5 mmol/L)	1.5 g
NaCl (96 mmol/L)	5.6 g
Barbitone buffer, pH 7.4	200 ml
Water	800 ml

Glycine buffer, pH 3.0

Glycine (NH_2CH_2COOH) (82 mmol/ L)	6.15 g
NaCl (82 mmol/L)	4.80 g
Water	820 ml
0.1 mol, 1HCl	180 ml

Hepes buffer, pH 6.5

4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine-ethane sulphonic acid (100 mmol/23.83 g

Dissolve in c 100 ml of water. Add a sufficient volume of 1 mol/L NaOH (c 1ml) to adjust the pH to 6.5. If the buffer is intended for use with Romanowesky staining, then add 25 ml of dimethyl sulphoxide (DMSO). Make up the volume to 1L with water.

Imidazole-buffered saline, pH 7.4

Imidazole (50 mmol/L)	3.40 g
NaCl (100 mmol/L)	5.85 g

Dissolve in c 500 ml of water. Add 18.6 ml of 1 mol/L HCl and make up the volume to 1 L with water. Store at room temperature (18 – 25 °C).

Phosphate buffer, iso-osmotic

(A) $NaH_2PO_4 2H_2O$ (150mmol/L) 23.4 g/L

(B) NaH_2PO_4 (150mmol/l) 21.3 g/L

pH	Solution A	Solution B
7.0	32 ml	68 ml
7.2	24 ml	76 ml
7.4	18 ml	82 ml
7.6	13 ml	87 ml
7.7	9.5 ml	90.5 ml

Normal human serum has an osmolarity of 289 ± 1 mmol. Hen ry recommended slightly different concentrations of the stock solution, namely: 25.05 g/L $NaH_2PO_4 2H_2O$ and 19.92 g/L Na_2HPO_4 for an iso-osmotic buffer.[5]

Phosphate buffered saline

Equal volumes of iso-osmotic phosphate buffer and 9 g/L NaCl. For serological tests use a pH 7.0 buffer.

Phosphate buffer, Sorensen's

66 mmol/L stock solutions:

A) KH_2PO_4	9.1 g/L
B) Na_2HPO_4	9.5 g/L or
$Na_2HPO_4.2H_2O$	11.9 g/L

100 mmol/L and 150 mmol/L stock solutions may be similarly prepared, To obtain a solution of the required pH, add A and B in the indicated proportions:

pH	A	B
5.4	97.0	3.0
6.5	95.0	5.0
5.8	92.2	7.8
6.0	88.0	12.0
6.2	81.0	19.0
6.4	73.0	27.0
6.6	63.0	37.0
6.8	50.8	49.2
7.0	38.9	61.1
7.2	28.0	72.0
7.4	19.2	80.8
7.6	13.0	87.0
7.8	8.5	19.5
8.0	5.5	94.5

This buffer is not iso-osmotic normal plasma (see above).

Tris-HCl buffer (200 mmol/L)

Tris (hydroxymethyl)aminomethane* (24.23 g/L) 250 ml

To obtain a solution of the required pH add the appropriate volume of 1 ml mol/L HCl and then make up the volume to 1 L with water.

7.2	44.5 ml
7.4	42.0 ml
7.6:1	39.0 ml
7.8	33.5 ml
8.0	28.0 ml
8.2	23.0 ml
8.4	17.5 ml
8.6	13.0 ml
8.8	9.0 ml
9.0	5.0 ml

100 mmol/L, 150 mmol/ L and 750 mmol/L stock soultions may be similarly prepared with an apprpriate weight of tris and volume of acid.

Tris-HCl bovine serum albumin (BSA) buffer pH 7.6, 20 mmol/L

Tris (hydroxymethyl)aminomethane (20 mmol/L) 2.24 g

EDTA, disodium salt (10 mmom/L) 3.72 g

NaCl (100 mmol/L) 5.85 g

Sodium azide (3 mmom/L) 0.2 g

Dissolve the reagents in c 800 ml of water. Adjust the pH 7.6 with 10 mol/L HCl. Add 10 g of bovine serum albumin (Sigma) and make up to 1 L with water.

Other buffers which the buffer with an equal described under the appropriate tests.

SI Units

Prefix	Symbol	Function
Femto	f	10^{-15}
Pico	p	10^{-12}
Nano	n	10^{-9}
Micro	μ	10^{-6}
Mili	m	10^{-3}
* Centi	c	10^{-2}
Deci	d	10^{-1}
Deca	da	10
Hecto	h	10^{2}
Kilo	k	10^{3}
Mega	M	10^{6}
Giga	G	10^{9}
Tera	T	10^{12}

Use not recommended

Mass

1 kg = 10^3 g (1000 g)
1 mg = 10^{-3} g (0.001 g)
1 μg = 10^{-6} g (0.000001 g)
1 ng = 10^{-9} g (0.000000001 g)
1 pg = 10^{-12} g (0.000000000001 g)
1 kg = 1000 g
1 g = 1000 mg
1 g = 1000000 μg
1 g = 1000000000 ng
1 g = 1000000000000 pg
1 mg = 0.001 g
1 mg = 1000 μg
1 kg = 2.205 lb

Amount of substance

1 mmol = 10^{-3} mol (0.001 mol)
1 µmol = 10^{-6} mol (0.000001 mol)
1 nmol = 10^{-9} mol
1 mol = 1000 mmol
1 mol = 1000000 µmol
1 mol = 1000000000 nmol
1 mmol = 1000 µmol
1 mmol = 1000000 nmol
1 µmol = 1000 nmol

Pressure

Approx. conversion :

$$\frac{\text{Mm Hg X 2}}{15} = \text{kPa}$$

lb / sq inch X 6.895 = kPa

Length

1 dm = 10^{-1} m (0.1 m)
1 cm = 10^{-2} m (0.01 m)
1 mm = 10^{-3} m (0.001 m)
1 µm = 10^{-6} m (0.000001 m)
1 nm = 10^{-9} m (0.000000001 m)
1 km = 1000 m (10^{3} m)
1 m = 10 dm
1 m = 100 cm
1 m = 1000 mm
1 m = 1000000 µm
1 m = 1000000000 nm
1 cm = 10 mm
1 cm = 10000 µm
1 mm = 1000 µm

1 m = 3.281 feet
1 km = 0.62137 mile
1 inch = 2. 54 cm

Volume

1 dl = 10^{-1} (0.1 L)
1 cl = 10^{-2} (0.01 L)
1 ml = 10^{-3} (0.001 L)
1 µl = 10^{-6} (0.000001 L or 1 mm^3)
1 nl = 10^{-9} (0.000000001 L)
1 pl = 10^{-12} (0.000000000001 L)
1 L = 10 dL
1 L = 1000 ml
1 L = 1000000 µL
1 L = 1000000000 nL
1 dL = 100 cm^3, formerly 100 ml
1 ml = 1000 µL
1 pint = 0.568 L
1 L = 1.760 pints
1 L = 0.22 gallons

Temperature conversion

To convert °C to °F: Multiply by 9, divided by 5, and add 32.

To convert °F to °C: subtract 32, multiply by 5, and divided by 9

0 °C = 32 F
10 °C = 52 °F
20 °C = 68 °F
30 °C = 86 °F
36.9 °C = 98.4 °F
40 °C = 104 °F
50 °C = 122 °F
100 °C = 212 °F

المراجع

Reference

REFERENCES

Abbott Examination of urinary sediments Abbott Laboratories North Chicago. 1961.

Abdel Rehem. F. Haematology (Theory and practice). Published by Dar El Sakafa - Oman Jordan) 1991.

Al Yazachi. Essentials of Dermatology and venereology. Baghdad, Iraqe 1987.

Barzilai, N.; Wang, Z.; Massilon, D., Vuguin, P. Hawkins, M. and Rassetti, L. (1997) Leptin selectivity decreases visceral adiposity and Enhances

J. Clin. Invest: 100: 3105 3110.

Beaver PC, Jung RC, Cupp EW: Clinical Parasitology, 9th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1984.

Bernadette. F. Rodak Diagnostic Haematology. W.B. Saunders Company., 1995.

Bessman JD, Williams LJ. Gardner FH: Improved classification of anemias by MCV and RDW. Am J Clin Pathol 1983; 80:322.

Biesemier KW, Parks D, Gertis C, et al: Viral hepatitis serology at the University of North Carolina Hospitals: Update. Bull Lab Med 1994, 134.

Bottieger LE, Svedberg CA: Normal erythrocyte sedimentation rate and age, Br Med J 1967; 2:85.

Bradley, M., Schumann, G. B., Ward, P.C.J. Examination of Urine Henry J.B., ed. Philadelphia, W.B. Saunders Co.1979.

Brich, D.F.; Fairly, K.F.; Becker, G.J.; and Kincaid-Smith, P.A Colour Atlas of Urine Microscope. 1994.

Burgess, H.J. and Eastman C. J. (2004) Early versus late bedtime phase shift the human dim hight melatonin rhylhm despite a fixed morning lights on

Neurosci, lett 356(2): 115 118.

Carl. A.B., Edward. R.A,: Clinical Chemistry. second edition. W.B. saunders Company philadiphia, London, Toronto, Tokyo. 1994.

Cartwright GE: Diagnostic Laboratory Hematology, 4th edition, New York, Grune & Stratton. 1968.

Cynthia C.C., Ruth L.K. and Barbara J.B.: Laboratory tests and diagnostic procedures. W.R. Saunders Company 1993.

D.N. Baron, J.T. Whicher and K.E. Lee. A new short Textbook of

Chemical pathology English Language Book Society, Edward Arnold.1989.
Dallman PR: Blood and blood-forming tissues. In Rudolph AM, Hoffman JI (eds): Pediatrics, 19th ed. Norwalk, CT. and Los Altos, CA, Appleton & Lange. 1991.
David L. Williams, D.L. and Vicent Marks Scientific Foundations of Biochemistry in Clinical Practice. Second edition. Butter worth Helnemann 1994.
David P. Bryan, R., Peter, C.: Clinical haematology in Medical practice. Fourth ed. The English Language Society. And Blackwell Scientific publication. Oxford 1978.
Davis, B.G.; Bishop, M.L.; and Mass, D. Clinical Laboratory Science: Strategies for Practice. J.B. Lippincot company. Philadelphia, London, Mexico City. New York St. Louis, Sydney.1989.
Degawa Yamauchi; M. (2002) Serum resistin is significantly elevated in

Diabetes 51(2) A: 405 1660p.
Delagrange, P. and Jockers, R. (2003) Metatonin and energy homeostasis: perepheral
Minerva Endocrinot. 28(4): 313 320.
Donald Heynemen Medical Parasitology. 1976.
Dsggs, L.W.; Strum, D.; and Bell, A. The Morphology of Human Blood Cells. 1985.
Eastham, R.D. Great Britain. John Wright & Sons Ltd. A laboratory guide to clinical diagnosis 1976.
Easthan. D. A laboratory guide to clinical diagnosis. Great Britain, John Wright & Sons Ltd.1976.
Edward K. Markel, Marietta voge and David T. John. Medical Parasitology. 7th edition. W.B. Saunders. Philadelphia - London - Toronto – Tokoy.1986.
Edwin et.al. Laboratory Diagnosis of Infections Diseases Principles and Practice. 1985.
Ernest B, Marchall A. Lichtman Barvy S. Coller and Thomas. J. Kpps Mc Grow Willams Hematology fifth edition.. Hill, Inc. (New York, London, Montreal, New Delhi , Sydney Tokyo Tomto 1995.
Ernest J wetz, Joseph L. Melnick and **A. Adelberg. Medical Microbiology (18 ed.).** Librairie du Libanon. Appleton Longe. 1989.

Fleck S.L., Moody A.H.: Diagnostic Techniques in Medical Parastology. wright, London, Boston and Syney 1988.
Free. D.H. Free, H.M. Urine analysis in clinical Laboratory practice, Cleveland. CRC Inc. 1975
Frogzi. A Colour Atlas of the Urinary Sediments. 1994.
G.B. Fogazzi, P. passerini, C. ponticelli and E. Ritz. The Urinary Sediments, An Integrated view Chapman & Hall Medical 1993.
Gamal M.O., Mahmoud M., Osman, K. EL. And Mohamed A.B. Principle of Immunity. Dar El Sakafa, Oman (Jordan) 1996.
Garcia LS, Bruckner DA: Diagnostic Medical Parasitology, 2nd ed. Washington DC, American Socieity foir Microbiology, 1993.
Gedulin B. and Young A. (1999) Effect of amylin on intestinal glucose

Diabetologia 43(1): 50 56.
George A McDonald, James Paul and Bruce Cruickshank. Atlas of Hematology Churchill Living stone - Edinburgh London, Melbourne and New York 1988.
Haque W.A. Shimonura. I. Matsuzawa V., and Garg A. (2002): adiponectin and leptin levels in patients with lipodystrophies.
J. Clin. Endocrinol. Metabol. 87(5): 2395 2400.
Harold Varley, Practical Clinical Biochemistry. Fourth edition CBS publishers And Distributors New Delhi 1988.
Hartman H.B., Tyler, K., and Lazar M.A. (2002) Mechanisms regulating of resistin
J. Biol. Chem.. 277(22): 19754 19761.
Heckner. F, Lehmann H.P. Kao, Y.S. Practical Microscopic Hematology. 3rd edtion Urban & Schwar Zenberg and Munchen – Wien – Baltimore. 1988.

Hekmat A.F. Human Physiology. Published by Dar El Sakafa, Oman (Jordan) 1990.
Holst. J.J. and Binderup M. (2002 resistin and adiponectin
Ugeskr. Laeger, 164(16): 2173 2171.
Imargawa, A., Funahashi; T. and Nakamura T. (2002) Elevated serum adiponectin in patients with type 1
Diabetes care; 25(a): 1665 1670.

International Committee for Standardization in Haematology (ICSH): Recommendation for measurement of erythrocyte sedimentation rate of human blood. Am J Clin Pathol 1977; 68:505.

International Committee for Standardization in Haematology (ICSH): Expert Panel on Blood Cell Sizing : Recommendation for reference method for determination of packed cell volume of blood. J Clin Pathol 1980; 33:1.

Jee O.H., dicole, M. and Deborah L. (2002 Endogeneous Sex hormones and the development of type 2
Diabetescare 25: 55 60.

John A. Koepke. Practical laboratory hematology. Churchill Livingstone-New York, Edinburgh, London, Melbourne, Tokyo. 1988.

John Bernard Henery W.B. Clinical Diagnosis and Management by laboratory methods nintenth edition Saunders Company. 1996.

King, M. A Medical Laboratory for Development Country. Oxford University press. 1983.

Kuboto N., Terauch; Y. and Noda T. (2002) Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal
J. Biol. Chem.., 277: 25863 25866

Levy, J.R. Davenport B., Clor. J.N. and stevensiw, W., (2002) Lipid metabolism and resistin
Am. J..Physiol. 282(3), E 626 633.

Mangle, C.E. Haematology: Principles and Practice. 1990.

Mary, E.Wedding, . and Sally, A.Toenjes . Medical Laboratory Procedures. Jaypee brothers New Delhi - India. 1998.

Mayne, P.D. Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Sex edition Edward Arnold, London, Boston, Philadelphia 1971.

McClatchey. Clinical Laboratory Medicine. 1997.

McTerman. C.L. (2002) Resistin, central obesity, and type 2 diabetes Lancet, 35a(93): 46 47.

Melvin DM, Brooke MM: Laboratory Procedures for the Diagnosis of Intestinal Parasites, 3rd ed. (DHEW Publication [CDC] 82-8282). Atlanta, Laboratory Training and Consultation Division, Centers for Disease Control, 1982.

Mendez , Gonzalez, V. King Martinez, A. and Sanchez, H. (2002) Plasma leptin and cholesterol saturation of bile correlated in obese

J. Nutr. 132: 2195 2198.
Milan, G. Granzotto, M. and Vettor R. (2002) Resistin and adiponectin expre
Obes Res. 10(11): 1095=1098.
Monica, C.B. Laboratory Manual for Tropical Countries. 1986.
Mukherjee, K.L. Medical Laboratory Technology (A procedure Manual for Routine Diagnostic Tests. Volume 1). Tata Mc Graw Hill. Publishing company limited New Delhi, New York, Tokyo and Toronto. 1989.
Murray, R.K.; Granner, D.K.; Mayes, P.A.; and Rodwell, V.W. Harper's Physiological Chemistry. 1996.
Nassar. F.G., Ekab A, Abdel maged. El and Arson, Aseries of scientific essential methods published by Dar El Mostakble Oman 1994.
Nawata H., Yanaset, Goto, K. Okabe, T. and Ashida K. (2002):

Mech Ageing 123(8): 1101 1108.
Nursing diagnosis Carbett, J.V. Laboratory Tests and Diagnostic Procedures. 1996.

Pasman, W. Z.; Wensterterp plantenga, M.S. and Saris, W.H. (1998): The effect of exercise traning on leptin
Am. J. physiol. 274: 280 286.
Patrick *et.al.* Manual of Clinical Microbiology. 1995.
Peters A.L.; Davidson M.B.; Schriger D.L. and Hasselblad (1996 clinical approach for the diagnesis of diabetes mellitus and analysis using glylosylated
J. Am. Med. Assoc., 276: 1246 1252.
Power L.W.: Diagnostic Haematology. Clinical and Technical principles. The C.V. Mosby Company. 1989.
Richard *et al.* Clinical Haematology (9th ed.). 1985
Richard Zorab. Illustrated Textbook of Clinical Chemistry. 1990.
Robert S. Hiliman, Kenneth A.: Auet. Hematology in Clinical Practice. A Guide to Diagnosis and Management. McGraw. Hill. Inc. New York. Toronto and Tokyo 1995.
Sagawa, N.; Yura, S.; Itoh, H.; Mise, H.; Kajui, K. and Korita, D., (2002): leptin in pregnancy and lactating women placenta, 5: 80 80
Salem, F.S. Practical Notes in Veterinary Clinical Pathology. 1985.
Sentinelli F., Romeo S., Arca M. and Baroni, M.G. (2002) Human resistin

gene obesity, and type 2
Diabetes 51(3): 860 862.
Sherlock S., Dooley. J.: Diseases of the liver and biliary system. Oxford/Blackwell scientific publication 1993.
Shirlyn B. Mckenzie. Text book of Hematology. Second Editions Williams & Wilkins - Awaverly Company 1996.
Shuldiner A.R., Yang R. and Gong D.W. (2001) Resistin, obesity and he emerging role of the adipocyte
N. Engl. J. Med. 345(18): 1345 1346.
Sima, A.A., Grunberger, G. and Wahren, I. (2001) Proinsulin
Int. J. Exp. Diabetes Res., 2(2): 145 151.
Simson E (ed): Proceedings of the Technicon H*1 Hematology Symposium. Tarrytown, NY, Technicon Instruments Inc, 1986.
Sir joh V. Dacie and S.M. Lewis. Practical haematology Six edition Churchill Livingstone. 1986.
Sister L. Graff, A Handbook of Routine Urinalysis J.B. Lippimcott company.. 1989.
Smith C.A. Andrews C.M., J.K. Carllard, Hall. D.E and Walker, A.K. A: color atlas of comparative diagnostic and experimental hematology. Huntigdon Research Center Ltd. U.K. 1994.
Smith JR, Landwa SA: Smoker's polycythemia. N Engl J Med 1978; 298: 6.
Soh. R. (2000) Contribution of abnormalities of thyroid hormones to type 2
Sox HC Jr, Liang MH The erythrocyte sedimentation rate – guidelines for rational use. Ann Intern Med 1986: 104:515.
Stefan N., and Stumvoll M. (2002) Adiponectin rol in metabolism and
Horm. Metab. Res. 34(a): 969 974.
T. Miung chu. Biochemical Markers for cancer, Edited by Marcel Derker Inc. New York and Basal 1982.
Thomas C. Cheng. The biology of animal parasitology. W.B. Saunders Company Philadelphia and London 1984.
Tietz W.N.: Fundamentals of Clinical Chemistry. Third ediction. W.B. Saunders Company. 1987.
Tietz, N.W., ed. Fundamentals of Clinical chemistry Philadelphia and

W.B. Saunders Co.1976.
Tietz, N.W.; Finley, P.R.; and Fruden, E.L. Clinical Guide to Laboratory Tests. W.B. saundurs company. 1990.
Travers, E.M. Clinical Laboratory Management. 1998.
Travis, R.C.; Allen, D.S., fentiman, I.S. and Key T7 (2004) Melatonin and

J. Natl. Cancer Inst. 96(6): 475 482.

Tudor J. (2001) Adiponectin
Natr. Med. 7: 947 953.
Urouhart, C.M., Armour. J., Duncan J.L., Dunn A.M., Jennings F.W.: Veterinary Parasitology. English Language Book Society Longman. 1992.
Visvervara GS: Parasite culture: Leishmania spp. And Trypanosoma cruzi. In Isenberg HD (ed): Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1992.
Visvevara GS: Parasite culture: Trichomonas vaginalis. In Isenberg HD (ed): Clinical Microbiology Handbook. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1992b
Vozarova, B. Stefan, N. and Tataranni, P.A. (2002) Low plasma adiponectin
Diabetes 51(10): 2964 2967.
Walmsley, R.N. and White, G.I A Guide to Diagnostic Clinical Chemistry. 3rd edition Oxford (Black well scientific publications) London, and Boston. 1993.
Weyer, G. Funahashi, T. and Tataranni P.A. (2002) Hypo-adiponectinemia in obesity and type 2 diabetes. Close association with

J. Clin. Endocrinol Metab. 86(5): 1930 1935.
Williams WJ, Morris MW, Nelson DA: Examination of the blood. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, et al (eds): Williams Hematology, 5th ed. New York, McGraw-Hill, 1995, p 8.
Wollesen F., Bergland L. and Berne, C. (2002) Insulin resistance and atherosclerosis
Metabolism. 51(8): 941 948.
Yamamoto, Y., Hirose, H. and Saruta T. (2002) Correlation of adiponectin with insulin resistance index a

Zdrojewicz Z. and Kesik S. (2001) Dehydroepiandrosterone

Wiad Lek, 54(11-12): 693-704.
Zdrojewicz, Z. and Cisko B. (200[illegible] Dehydroepiandrosterone

Posteyp Hig Med. Dosw. 55:61: 835-854.
Zeigler Z, Murphy S, Gardner FH: Microscopic platelet size and morphology in various hematologic disorders. Blood 1978 51: 479.
Zlonis M: The mystique of the erythrocyte sedimentation rate – a reappraisal of one of the oldest laboratory tests still in use. Clin Lab Med 1993; 13:787.

مكتبة كلمات

أستاخ

عادي و ملون

قرطاسية - هدايا
كبس هويات
سبايرول
تجليد



لصاحبها : حمزة نعيم
هاتف : ٠٧٧٠١٠١٧٢٢٨ / ٠٧٨١١١٠٥٠٨٨

حمزة نعيم



سامراء / شارع القادسية التجاري