بررسی گلیکوپروتئین های سطحی پلاکتی به روش فلوسیتومتری در سندرم برنارد سولیر
کریم شمس استجانی

A survey on platelet surface glycoproteins in patients with Bernard-Soulier syndrome by flowcytometry
K. Shams Asanjan

*Abstract
Background: The gold standard diagnosis of the Bernard-Soulier syndrome (BSS), a rare disease, is to prove the absence of Ib/IX surface complex on platelets with the use of aggregometric methods. Flowcytometry is an ideal method in analysis of surface markers on cells.
Objective: The use of flowcytometric analysis in diagnosis of Bernard-Soulier syndrome.
Methods: 15 suspected BSS, 20 healthy persons as control group and 3 ITP patients were selected to be analysed for the presence of GPIba and GPIIia on the surface of platelets with the application of FITC conjugated monoclonal antibodies using flowcytometry.
Findings: All healthy persons in control group and 3 ITP patients showed normal expression of both glycoproteins on platelets using flowcytometry. All 15 suspected BSS patients showed lack of GPIba but a normal expression of GPIIia on platelets.
Conclusion: The application of flowcytometry for diagnosis of BSS is a quick, accurate, and precise method, which together with aggregometric method can be used for diagnosis of BSS.
Keywords: Bernard-Soulier Syndrome, Flowcytometry, Glycoproteins, Diagnosis

چکیده
زمینه: سندرم برنارد سولیر به یک نادری است که کلید تشخیصی آن ابزار عدم حضور کمپلکس غشایی Ib/IX بنا است و پلاکتی غشایی ندارد. 
هدف: مطالعه به منظور بررسی امکان استفاده از روش فلوسیتومتری پلاکت‌ها در تشخیص بیماری برنارد سولیر
مواد و روش ها: در سال 1979 در سازمان انتقال خون ایران 15 بیمار مشکوک به سندرم برنارد سولیر به عنوان گروه آزمایشی و 3 بیمار مشکوک به یک اسهال ناشی از یک ناشی از FCITP به عنوان یک طبقه‌بندی می‌باشند. تجزیه‌های فلوسیتومتری برای بررسی حضور GPIIa و GPIbα انجام شد.
یافته‌ها: به روش فلوسیتومتری در تمام 15 بیمار مشکوک به سندرم برنارد سولیر، نقش در عرضه α را گرفتند و در عرضه یک بیمار مشکوک به FCITP نقش در عرضه β را نداشتند. عرضه طبیعی وجود داشت و در عرضه یک بیمار مشکوک به FCITP نقش در عرضه β را نداشتند.
نتیجه گیری: فلوسیتومتری روشی سریع، دقیق و معنی‌دار است که در تشخیص بیماری سندرم برنارد سولیر استفاده می‌شود.
کلید واژه‌ها: سندرم برنارد سولیر، فلوسیتومتری، گلیکوپروتئین‌ها. تشخیص

Email: Sh.Asengan@gmail.com

* مربی و عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
آدرس بکرشی: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده بهداشت و پیرزشیک، گروه علوم آزمایشگاهی
Page (21)
مقدمه:

ترموسیتوپی از جمله اختلالات شایعی است که همواره به علت بی‌دقتی و موشک‌افشانی نیاز دارد. اغلب این بیماران به ترمودیسپتوپی، های تخریبی همانند پوکسیک ترمودیسپتوپی (ITP) مبتلا هستند. علائم این اختلال های کیفی مادزادی پلاکت است. با این حال، هر چه از سه مدل ساختاری آن‌ها معمولاً همزمان با ترموسیتوپی دیده می‌شود، به‌دیل اندازه بزرگ پلاکت در این اختلال‌ها، در شمارش خون‌دار تعداد پلاکت‌ها به صورت کاذب کاهش یافته گزارش می‌شود. یک تحقیق پلاکت‌های بسیار بزرگ با استخوان را به سوی احتمال وجود یک اختلال چشم‌پیش کیفی پلاکت مانند سندرم پلاندل سولیار، آن‌ویژه مسکینی‌ها، ترموسیتوپی‌ها اهمیت ایمنی به‌کار می‌برند. اکنون، نظریه کف‌اپابسیات این اختلال‌ها به‌طور خاص از این اختلال‌های ایمنی و داخل‌الاجزای کیفیتی گلیکوپروتئین چرم‌ها در اثر ورود نیاز به مورد تمرکز نسبتاً نادر است که معمولاً در ویژه شکنی از توارث آن به صورت اوتومال غلاف بی‌هدش، شده است. این اختلال‌های اساسی در این بیماری مربوط به فسر در کمیکس کشوری گیرنده خون و پلیراند در سطح پلاکت‌های مختلف ممکن است در اثر مواد درون‌بی‌مورد وابسته ITP اتفاق می‌افتد.

مواد و روش‌ها:

با بررسی سوابق بیماران مراجعه کننده به بخش ادغام آزمایشگاه سامان انتقال خون در سال 1379 از بین بیماران بیش از 10 نفر در سال 1379 بین بیمارانی که آزمایش‌ها با انتقال خون انجام شد که امکان مشکوک بود، انتخاب شدند. 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارای ظاهره‌های استثنایی بودند در دستگاه تجربه مشابه آزمایش‌ها صورت گرفتند. انتخاب 20 فرد سالم که دارا
منظر مطلق شدن بلاکت ها هم زد که شد این
سوپراسیون در عرض جنگ ساخت جهت جلوگیری از
امتحال اختلال در انتخاب
مورد ایمونوتیپیوگراف قرار گرفت.
جهت ایمونوتیپیوگراف به PRP یونیت مشخص بر آکیموز، بویورا، خون ریزی از
بینی، لنفا و یا مخاط بویورا، افراد گروه شاهد فاقد هرهونه
عامت بالینی یا سابقه تمایل به خون ریزی بویورا و
پلاکت های آنها از نظر ریخته خاصیت تعداد و محدوده
طبیعی بود. آزمون های اگریگاتور بر روی 11 بیمار
شکوفه به سندروم بردنیر انگلیس 20 بود، ولی
انجام این آزمون ها بر روی 20 نفر به دلیل مسائل
نتیجه می‌رسد. در نهایت برای انجام تحقیق بیماران
شکوفه به سندروم بردنیر از انتخاب شده فرا خوانده
شدند و مطالعه های شماری پلاکتی و فلورسیمتری،
نشان دهنده درختش شناسی بلاکت ها و انرژی‌های
اگریگاتور بر روی پلاکت های آنها از نظر میزان
انجام (CD61) (GPIIIa) و (CD42b) (GPIb) عرضه
بیماری عادت شاهد و نیز بیماران مبتلا به NITP
مورد بررسی مشابه قرار گرفت.

برای تهیه یک نیز از بالاتر (PRP) از هر قد
5 میلی لیتر خون در ضمن انعقاد اسید سیتراتی دکستروز
گرفته شد و حاکم به طور یک ساعت بود (ACD)
10 دقیقه به دور G¼ 0.15 در دمای 22 درجه سانتی گراد
سانتی فوتز و سپس محلول روبی حذف شد. بعد از
یک بار دیگر تمر مخلوط می‌شد. به همین
شرايط 1 میلی لیتر بافر تریس به هر لوله افزوده
و به خونی با فاکس سمت مطبق داده شد. سپس این
FAKScalibur یا دستگاه فلورسیمتری جمعیت
(Forward Side Scatter) FSC بلاکت ها در
به طور مشترک برای هر سه نمونه انتخاب و
میزان فلورسیمتری پلاکت ها در پلاکت
کناری 90 درجه
Sh (Sid Scatter) SSC در شدت حداکثر تعداد و قدرت فلورسیمتری برای هر نمونه
5000 50 در نظر گرفته شد که عدم وجود
مبتلا به NITP افرادی داشت. سپس 2 میلی لیتر بافر
به لوله افزوده شد. سپس 2 میلی لیتر بافر

فلورسسانس در لوله مربوط به عضله CD42b نشان‌گر عدم حضور این گلیکوپروتئین بود.

یافته‌ها:

تمام 15 یکمار مشکوک به بیماری سولور دارای علائم بالینی مشتمل بر اکسوز، پورپورا، خون ریزی از بینی، لثه‌ها و مخاط بودند. میانگین سنی این بیماران در زمان تشخیص 14 سال بود و نفر مذكر و 7 نفر مؤنث بودند و 13 نفر از این بیماران با یکدیگر رابطه خویشاوندی داشتند. در نتیجه، CD61 و CD42b در افراد غروه شاهد به ترتیب با میانگین 87/8 و 9/8 درصد طبیعی بود (شکل شماره 1). در سه بیمار مبتلا به نیز میزان عرضه این دو گلیکوپروتئین طبیعی بود. در ارژیاپی بیماران مشکوک به بیماری سولور نقص در عرضه CD42b با میانگین عرضه 50/7 درصد مشاهده شد. میزان عرضه CD61 در تمام افراد این گروه با میانگین 67/6 درصد بود (شکل شماره 2).

شکل 1- هیستوگرام میزان فلورسسانس جمعیت بلاکت های مجاور شده با آنتی‌بادی های متصول به FITC به غروه شاهد (به ترتیب از چپ به راست بلاکت های انکوبه شده با آنتی IgG متصول به FITC به عنوان کنترل، بلاکت های انکوبه شده با آنتی CD61 متصول به FITC و بلاکت های انکوبه شده با آنتی CD42b متصول به FITC)

شکل 2- هیستوگرام میزان فلورسسانس جمعیت بلاکت های مجاور شده با آنتی‌بادی های متصول به FITC به غروه سولور به ترتیب از چپ به راست بلاکت های انکوبه شده با آنتی IgG متصول به FITC به عنوان کنترل، بلاکت های انکوبه شده با آنتی CD61 متصول به FITC و بلاکت های انکوبه شده با آنتی CD42b متصول به FITC
پاسخ آزمون‌های اگریگورتیک در تمام افراد گروه شاهد و بیماران مبتلا به ITP معنی‌دار بود و این در 11 بیمار مبتلا به پناند تولید که امکان انجام آزمایش‌های اگریگورتیک سمس شد کننده تجربه در بازخوری‌های آلاینده را داشته است. 

در یکی از افراد گروه مورد به دلیل میلیارتی احساسی امکان انجام آزمایش‌های اگریگورتیک می‌باشد. 

در شمارش خونی پلاکت‌های گروه مورد استفاده از دستگاه شمارشگر خونکا، داده‌های ثبت‌شده در 1300 تا 8000 در میکرولتر منجر به کاهش خون می‌باشد. 

شمارش شمارشگر خونکا، داده‌های ثبت‌شده با دستگاه شمارشگر خونکا در 8/6 تا 14/35 فنومیتر منجر به کاهش خونی در گروه‌های سایر افراد است. 

پیشنهاد گونه ناهنجاری جدایی می‌شود.

بحث و نتیجه گیری: 

در این مطالعه با استفاده از فلوسیومتری جدایانه به FITC بر روی بندی مایع مولکولار منحل ی به حضور غلیکوپروتئین Ib و CD61 و CD42b تعیین شده که شمارش خونکا در بین 4/6 تا 14/35 فنومیتر می‌باشد. 

در گروه شاهد حضور ضعیف‌تر این خاصیت این گلیکوپروتئین‌ها مشاهده شد که این افت‌ها با تأثیر گروه اولدن و نیز ارتباط با تریکلیوز پلاکت‌های گونه ناهنجاری ریختن شناسی باعث شد. 

در این مطالعه به دلیل فنی در این گروه موارد مشکوک به پناند سواری امکان تشخیص قطعی پیماری انسان به استفاده از روش فلوسیومتری اهمیت دارد.

خلاصه: 

این مطالعه به دلیل فنی در این گروه موارد مشکوک به پناند سواری امکان تشخیص قطعی پیماری انسان به استفاده از روش فلوسیومتری اهمیت دارد.


اندازه بسیار بزرگ وجود دارد روش مطمئن تری نسبت به روش شمارش دستگاهی است.
نتایج این تحقیق نشان می دهد که دلیل مزایایی
نظر سرعت، دقت و نیاز به نمونه خون کمتر، روش
فلوئوسيمتری در تشخیص بیماری برنارد سولیر از
کارآمدی بیلیتی برخورد است و می توان از اندازه گیری
گلیکوپروتئین (CD42b) Ib به روش فلوئوسيمتری به
نتیجه در حضور نمونه کنترل بیمار برای تشخیص قطعی
بیماری برنارد سولیر استفاده کرد. همچنین پیشنهاد
می شود امکان استفاده از این روش در سایر بیماری های
خون ریزی و هدنه با نقش در گلیکوپروتئین های سطحی
پلاکت نظیر ترومیستین گلاندز مورد مطالعه قرار گیرد.

**مراجع:**

