

مقاومت گلوبولی و تغییرات آن نسبت به حجم محلول

مقدمه: تست مقاومت گلوبولی در سال ۱۸۸۳ بوسیله هامبرگر^(۱) مطرح گشت و از آن پس روشهای تکامل یافته و مختلفی بوسیله محققین قسمتی هم بوسیله توجه و مشاهدات روز مره ایجاد شده و مورد استفاده قرار گرفته است. اساس این آزمایش بر خاصیت مقاومت نسبی گلبولهای سرخ در محلولهای هیپوتونیک کلرور سدیم است، گلبولهای سرخ انسان در محلولهای هیپوتونیک بعلت فشارهای اسمزی مقداری از آب محیط را جذب کرده به حجم خود میافزایند، این افزایش حجم گلوبولی با مجموعه فشارهای اسمزی مواد کریستالوئیدی و کلئوئیدی محیط نسبت عکس دارد بدینمعنی، بتدریج که از مقدار مجموعه فشارها کاسته میشود به حجم گلبول افزوده میشود و بالعکس.

مطابق کارهای ژرژوگست^(۲) این افزایش حجم در شخص سالم تا حدود ۱۶٪ میباشد، از آن پس بر حسب سن گلبول و مقاومت نسبی آن گلبول شکسته میشود. در آزمایشات عادی حدود حداقل و حداکثر مقاومت متفاوت ولین ۴/۸، ۳/۸ تا ۳/۴، ۲/۴ ذکر شده است چنانکه مشاهده میشود این حدود ثابت نبوده بعلاوه در برخی از بیماریها دستخوش تغییراتی میگردد که از روی آن تا حدودی پی به تشخیص نوع بیماری برده میشود.

در این مقاله نشان داده شده است که مقدار همولیز گلوبولی در حجمهای مختلف محلول نمکی متفاوت است. اصول این آزمایشات بر مقایسه نسبی مقاومت گلوبولی در محلولهای هیپوتونیک کلرور سدیم با غلظتهای معادل ولی در حجهای مختلفه میباشد.

روش: محلول نمک مورد استفاده کلرور سدیم تامپونه بفرمول ترکیبی کلرور سدیم (ClNa) ۹ گرم، فسفات دی سدیک متبلاور ($\text{Po}_4 \text{HNa}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) ۱/۳۶ گرم و فسفات منوسدیک متبلاور ($\text{PO}_4 \text{H}_2 \text{Na} \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) ۲/۴۴ گرم در ۱۰۰ گرم آب مقطر که معادل محلول ۰.۸٪ نمک طعام است استفاده میشود. PH محلول (پس از دیلیوسیون

* دانشجوی سال چهارم دانشکده پزشکی تهران

لازم) حدود $7/4$ و درجه حرارت آزمایشها 22 میباشد. از این محلول معین محلولهای بغلظت $2/2$ و $2/4$ و $2/6$ و $2/8$ و 3 و $3/2$ و $3/4$ و $3/6$ و $3/8$ و 4 و $4/2$ و $4/4$ و $4/6$ و $4/8$ و 5 و $5/2$ گرم در لیتر تهیه و در سه سری لوله آزمایش بترتیب در حجمهای 1 و 5 و 10 سانتیمتر مکعب ریخته میشود.

خون مورد آزمایش خون وریدی بازو که بنسبت چهار، یک با محلول سیترات دوسود 4 ٪ مخلوط شده است. سپس بهر لوله 0.4 م. (میکروسی سی) از این خون اضافه کرده پس از گذشت بیست و پنج دقیقه از مخلوط کردن کامل لوله ها با 4 دور و مدت ده دقیقه سانتریفوژ میشود. چون محصول همولیز در سری اول در یک سی سی و در سری دوم در پنج سی سی و در سری سوم در ده سی سی محیط ریخته میشود، برای مقایسه مقدار همولیز لازم است لوله ها با هم متعادل شوند.

برای این عمل از سری اول از هر لوله 5 سی. سی. از مایع موجود (محلول درون لوله سانتریفوژ شده) با $4/5$ سی. سی. آیمقتر و از سری دوم $2/5$ سی. سی. مایع درون لوله با $2/5$ سی. سی. آیمقتر رادر دوردیف لوله جدید مخلوط می کنیم نتیجه قابل مقایسه بالوله های سری سوم می باشد. برای سنجش مقدار درصد همولیز در هر لوله، از مقدار هموگلوبین آزاد شده و با تقسیم کردن آن بمقدار موجود در لوله شاهد حاوی آیمقتر ضریدر 100 استفاده میشود برای این کار محلولهای دوردیف جدید و مایع درون لوله های سری سوم را بنسبت یک به چهار با محلول سیانومتهموگلوبین^(۱) در سه ردیف لوله دیگر مخلوط کرده و پس از پانزده دقیقه از مخلوط کردن نتیجه قابل اسپکتوفوتومتری میباشد. نتایج گرفته شده در یکی از آزمایشها بتراز زیر است.

شماره لوله ها										
۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	
$4/4$	$4/2$	$4/0$	$3/8$	$3/6$	$3/4$	$3/2$	$3/0$	$2/8$	$2/6$	غلظت نمک بر حسب گرم در لیتر
۰	۰	۲	۱۵	۳۵	۷۵	۸۰	۹۶	۱۰۰	۱۰۰	سری اول
۰	۱	۲۰	۷۰	۹۶/۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	سری دوم
۰	۳	۷۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	سری سوم

نسبت درصد
همولیز در
لوله های

نتیجه: با بررسی لوله‌های سری اول چنین استنباط می‌گردد که گلوبولهای سرخ که در محلول‌های ایزوتونیک در مقابل همولیز مقاومت داشتند بتدریج که غلظت محیط گلبول کم می‌شود بعلت جذب آب برحجمشان افزوده می‌گردد. در محلول $1/4$ گرم در لیتر گلوبولهای سرخیکه دارای مقاومت کمتری میباشند شروع به همولیز مینمایند. این مرحله را در اصطلاح شروع همولیز یا حداقل مقاومت گلوبولی مینامند. از این پس بتدریج که غلظت محیط کمتر میشود گلوبولهای بیشتری که مقاومتشان در آن حد است شکسته می‌شوند. تا اینکه در این آزمایش در غلظت $2/8$ گرم در لیتر تمام گلوبولها شکسته شده و این غلظت را خاتمه همولیز یا حداکثر مقاومت گلوبولی مینامند. دامنه این آزمایش $2/8 - 1/4$ گرم در لیتر یعنی معادل $1/3$ گرم درصد میباشد.

در لوله‌های سری دوم همولیز از غلظت $2/4$ گرم در لیتر شروع و در غلظت $3/4$ گرم در لیتر کامل گشته است. در لوله‌های سری سوم همولیز از غلظت $2/4$ گرم در لیتر شروع و در $3/8$ گرم در لیتر کامل گشته است.

بحث

اگر مقاومت گلوبولهای مختلفه متنوع ولی ثابت باشد و بالنتیجه در غلظت‌های متفاوت (مطابق لوله‌های سری اول) همولیز شوند میبایستی در لوله‌های سری دوم و سوم نیز که محتوی همان محلولها و خون بوده است بیک نسبت همولیز شوند. چون عاملی را که گلبول در مقابلش مقاومت میکند نمکهای هیپوتونیک با غلظتهای متفاوت ذکر شده است و این شرایط در لوله‌های مشابه سری‌های مذکور وجود داشته است. پس علت ایجاد این اختلاف فاحش چیست؟

از آزمایشهای متعددی که انجام گرفته است نتیجه میشود که گلوبولهای سرخ در محیط هیپوتونیک بعات اختلاف در فشارهای اسمزی مقداری آب جذب می‌کنند و این جذب تا زمانی ادامه دارد که بر طبق قوانین اسمز در حجم جدید گوچه، کریستالوئیدهای (ایجاد کننده فشار اسمزی کریستالوئیدی) و سواد کلوئیدی (ایجاد کننده فشار انکوتیک) درون آن فشاری معادل فشار خارج بسازند یعنی متعادل شوند. در غلظتهای بالا (4 الی 7 گرم در لیتر) مقدار آب

جذب شده فقط باعث افزایش حجم گلبول شده و تغییری در آن بوجود نمی‌آورد. شروع همولیز حدیست که برخی از گلبولها با وجود جذب آب به حد امکان نتوانسته‌اند تعادل اسمزی بین خود و محیط خارج ایجاد کنند و با جذب بیش از آن گلبول ترکیده و محتویات خود را به محیط بیرون میریزد. ریختن این مواد سوجد فشار باعث افزایش فشار محیط و بالنتیجه کم شدن گرادیان اسمزی و متوقف شدن جذب آب بدرون گلبول و حتی بازگشت آب از گویچه های درحال تقسیم بمحیط میشود. نتیجه این اعمال محیطی بوجود می‌آورد که بهتر است آنرا حد کریتیک بنامیم.

در لوله بعدی که محیط کمی رقیقتر و گرادیان بیشتر است با دلایل مذکور تعداد بیشتری گلبول باید همولیز شوند تا آن حد کریتیک را ایجاد کنند. بدین نحو میتوان تاخاتمه همولیز لوله‌ها را تقسیر کرد. و اما در سری‌های دوم و سوم بعلت اینکه حجم محیط بطور نسبی بیشتر است مقدار گرادیان ثابت بوده و برای تغییر گرادیان و ایجاد همان حد کریتیک لازم است

بر طبق رابطه $C = \frac{M}{V}$ (C غلظت حد کریتیک، V حجم محیط، M محصول همولیز، ایجاد کننده فشار) تعداد بیشتری گلبول همولیز شود تجربه فوق دلیلی است بر نه این بیان.

بنابراین گلبولهای سرخ دارای دامنه مقاومت ماکزیمم و مینیمم طبیعی بسیار کمتری را از آنچه که در آزمایشات روتین بدست می‌آید دارا میباشند.

شاید بکمک و با در نظر گرفتن حدود طبیعی مقاومت گلبولی و انجام تستی در حداقل محیط لازم برای این حدود بتوان بهتر و بیشتر از این تست جهت تشخیص لابراتواری استفاده کرد.