العد التفريقي لخلايا الدم البيضاء

Differential count of white blood cells

المختبر الرابع /المرحلة الرابعة

د.سلمى سعيد عباس

تقسم خلايا الدم البيضاء الئ نوعين استناداً الى وجود او عدم وجود الحبيبات السايتوبلازمية الى:-

١-خلايا الدم البيضاء الحبيبية Granulocyte Leukocyte

تمتاز هذه الخلايا بأحتواءها على حبيبات سايتو بلازمية تختلف في تقبلها للصبغات.ان الوظيفة الأساسية لهذا النوع من الخلايا هو الدفاع عن الجسم بألية الالتهام الخلوي Phagocytosis وتشكل نسبة 70% من المجموع الكلي لخلايا الدم البيضاء وتقسم هذه الخلايا الى ثلاثة أنواع استناداً الى تقبل الحبيبات الصبغات الحامضية والقاعدية الى:-

أ-خلايا الدم البيضاء المتعادلة Neutrophil

تتكون نواتها من ثلاثة الى سبعة فصوص،حبيباتها السايتوبلازمية صغيرة ومتجانسة تتقبل الصبغات الحامضية والقاعدية على حد سواء ،تبلغ نسبتها 40-70% من المجموع الكلي لخلايا الدم البيضاء.

ب-خلايا الدم البيضاء الحامضية Acidophil (Eosinophil)

نواتها تتألف من 2-3 فصوص ،حبيباتها السايتوبلازمية تكون كبيرة الحجم ،غير منتظمة الشكل تتقبل الصبغات الحامضية تبلغ نسبتها 2-4 %من المجموع الكلي لخلايا الدم البيضاء.

ج-خلايا الدم البيض القاعدية Basophil

نواتها تتألف من فصين يكونان على شكل حرف S حبيباتها السايتوبلازمية لها القابلية على الاصطباغ بالصبغات القاعدية فقط ،تبلغ نسبتها 0-1% من المجموع الكلي لخلايا الدم البيضاء.

٢- خلايا الدم البيضاء غير الحبيبية Agranulocyte Leukocyte

تكون خلايا هذا النوع ذات وظائف مختلفة فمنها مِا يقوم بأنتاج الاجسام المضادة Antibodies ،لاتحتوي هذه الخلايا على حبيبات سايتوبلازمية وتشكل نسبة 30% من المجموع الكلي لخلايا الدم البيض.يقسم هذا النوع من الخلايا الى قسمين اعتماداً على شكل النواة الى:-

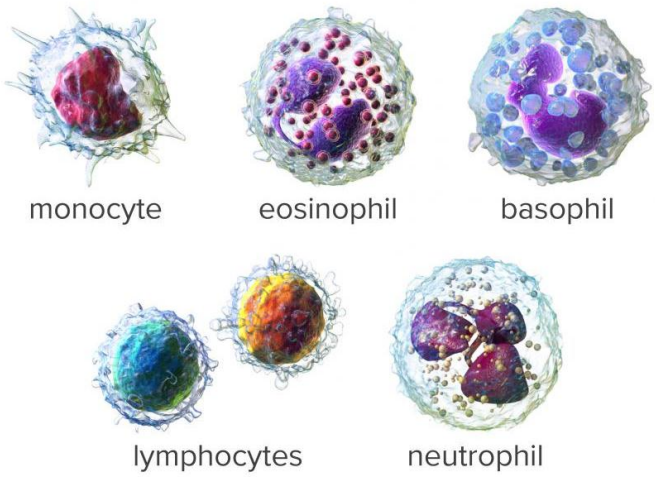
Physiology Lab

أ-خلايا الدم البيضاء اللمفية Lymphocyte

النواة تكون كروية الشكل Rounded كبيرة الحجم تشكل معظم حجم الخلية ماعدا طبقة رقيقة من السايتوبلازم المحيط بها،تبلغ نسبتها 20-25% من المجموع الكلي لخلايا الدم البيضاء. وظيفتها انتاج الاجسام المضادة.

ب-خلايا الدم البيضاء الوحيدة النواة Monocyte

النواة كبيرة كروية الشكل ألا أنها تحتوي على تقعر في أحد جوانبها مما يجعلها تتخذ شكلاً كلوياً شبيهاً بحبة الفاصولياء تبلغ نسبتها 5-8% من المجموع الكلي لخلايا الدم البيضاء.وظيفتها التهامية نظراً لأحتواء سايتوبلازمها على الحبيبات الاولية الحاوية على مجموعة من الانزيمات المحللة.



أن خلايا الدم البيض اللمفية في بداية تكوينها تكون غير قادرة على القيام بوظيفتها في أنتاج الاجسام المضادة أي تكون خاملة غير نشطة ولكن تكتسب القدرة على أداء وظيفتها بعد تنشيطها في موقعين في الجسم:

١-الغدة الصعترية Thymus gland

ان الخلايا اللمفية التي يتم تنشيطها بهذه الغدة تسمى T-Lymphocyte وهذه الغدة موجودة في مرحلة الطفولة فقط أما عند البلوغ فأنها تضمحل وتصبح اثرية غير قادرة على اداء وظيفة معينة،لهذا يتم تنشيط الخلايا اللمفية بواسطة الخلايا المنشطة سابقاً.

٢- Bursa gland

يطلق على الخلايا المفية المنشطة بواسطة هذه الغدة (B.Lymphocyte)ان هذه الغدة موجودة في نهاية القناة الهضمية للطيورويوجد ما يماثلها في جسم الانسان من عدد لمفية.

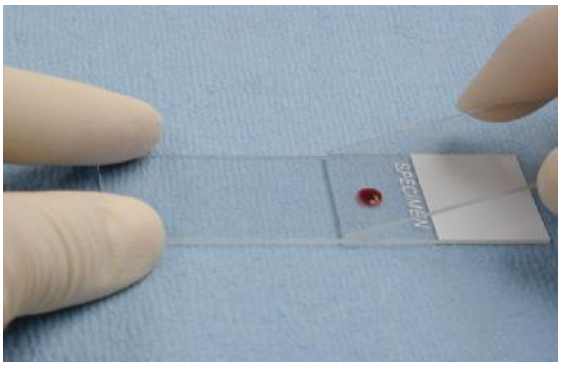
تستخدم مصطلح Leukocytos للتعبير عن الزيادة في العدد الكلي للكريات الدم البيضاء، اما عند حدوث زيادة في احد الانواع فيمكن التعبير عن هذه الحالة بعدة طرق منها ان تطبيق مصطلح الزيادة الى النوع الذي حدثت فيه تلك الزيادة . سنقول مثلاً: Neutrophil Leukocytosis كذلك يمكن التعبير عن الزيادة بأضافة المختصر (Lia) الى نهاية الكلمة فنقول Basophilia، Neutrophilia، Acidophilia. أما الزيادة في كريات الدم غير الحبيبية فنعبر عنها بأضافة المختصر cytosis فتصبح Lymphocytosis,Monocytosis أما النقصان في كريات الدم البيضاء فنطلق عليه مصطلح Leukopenia للتعبير عن النقصان في أي نوع ونستخدم اسم النوع مضافاً اليه مصطلح النقصان فنقول Acidophil Leuko penia او نضيف المختصر Penia الى اسم نوع الخلية فنقول Basopenia ,Acidopenia .

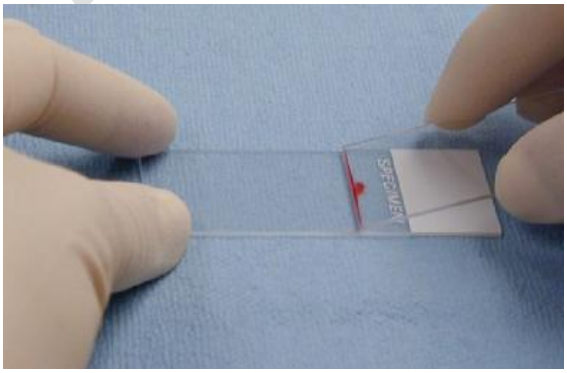
مبدأ التجربة

يعتمد اساس هذه التجربة على اخذ عينة من الدم او قطرة وفرشها على شكل مسحة رقيقة على سلايد وبعد جفافها تصبغ بواسطة صبغة لشمن ثم تحسب بعد ذلك كريات الدم بانواعها المختلفة باستخدام الزيت والعدسة الزيتية ،تتكون صبغة لشمن من صبغتين هما الايوسين والمثيل الازرق حيث تعمل صبغة الايوسين على صبغ انوية الخلايا الحبيبية الحامضية وهي صبغة حامضية اما المثيل الازرق بما انه صبغة قاعدية فيعمل على صبغ الخلايا الحبيبية القاعدية ،يمزج ٠,١٥ غم من صبغة لشمن مع ١٠٠مل من الاسيتون +الكحول المثيلي حيث يعمل الكحول المثيلي على تثبيت مسحة الدم.

ـطريقة العمل:

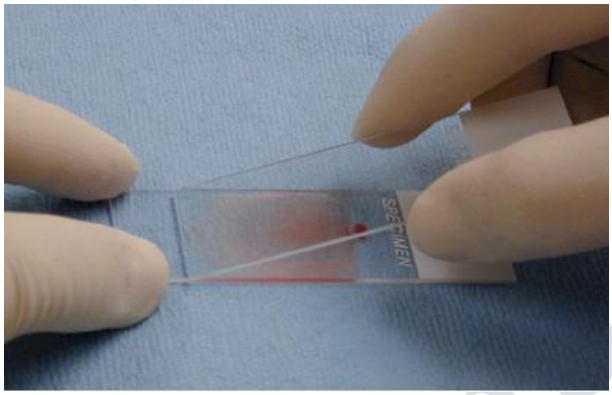
- تنظف الشرائح جيدا قبل استعمالها مباشرة.
- توضع نقطة صغيرة من الدم على بعد ١-٢ سم من أحد أطرافها في منتصف الشريحة
- تفرد نقطة الدم باستعمال شريحة أخرى طرفها أملس ناعم توضع هذه الشريحة فوق الشريحة الأولى بزاوية ٤٥ وْتحرك إلى الوراء حتى تفرد نقطة الدم وتملأ خط التماس بين الشريحتين
- .

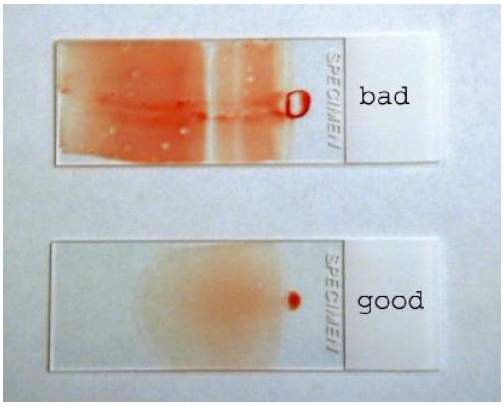




PhysiologyLab

- يفرد الفيلم بسرعة وبخفة إلى الأمام (حافظ على ثبات السرعة و زاوية التماس





مواصفات الفيلم الجديد:

١ .متوسط السمك.
٢ .يملأ ثلثي الشريحة.
٣ .الدم المفرود غير متقطع على الشريحة.

- يترك الفيلم في الهواء بدرجة حرارة الغرفة الاعتيادية ليجف ثم يصبغ بصبغة لشمان

عملية التصبيغ

- صبغة ليشمان Lieshman Stain

تغطى المسحة بصبغة ليشمان ثم تترك لمدة ٢-٣ دقائق يضاف ماء مقطر ضعف كمية الصبغة وبدقة وعناية لمنع الصبغة من ان تطفح عن الشريحة ثم تترك لمدة ٧-١٠ دقائق لتتم عملية التصبيغ .
تغسل الشريحة بالماء وبلطف ، يتم التخلص من الماء الزائد على الشريحة ويترك الفيلم ليجف في الهواء، ستبدو الشريحة بلون وردي برتقالي وعند عدم الحصول على هذا اللون نعرض الشريحة للماء حتى نحصل على اللون الصحيح واذا كان اللون فاتحا تترك الشريحة لفترة اطول حتى تحصل على اللون المطلوب وتنظف الجهة الأخرى من الشريحة لإزالة بقايا الصبغة.

طريقة فحص الأفلام

تفحص المنطقة الوسطى باستخدام العدسة الزيتية حيث توضع نقطة من الزيت على الشريحة ليمكن رؤية الخلايا بوضوح

تعد كريات الدم البيضاء باستخدام العدسة الزيتية في خط يقطع الفيلم بالعرض حتى يتم عد ١٠٠ خلية بيضاء.

Physiology Lab

ألية عمل بعض أنواع خلايا الدم البيض:-

اولاً-خلايا الدم البيض المتعادلة Neutrophil Function

تعتبر الخلايا المحبة للتعادل من الخلايا الدفاعية المهمة في الجسم ضد عوامل مرضية مختلفة وخاصة الاصابات الحادة ،تدعى هذه الخلايا بخلايا متعددة الاشكال النووية Polymorphonuclear تقوم هذه الخلايا بالوظيفة الدفاعية عن الجسم بطريقة الالتهام الخلوي Phagocytosis وتتضمن هذه العملية ثلاث خطوات مهمة هي:-

١-الحركة Movement اي حركة الخلايا داخل الوعاء الدموي او خارجه وهي حركة اميبية تتم بواسطة تكوين الاقدام الكاذبة.

٢-الجذب الكيميائي Chemotaxsis اي قدرة الخلايا على الحركة الهادفة اتجاه العامل المرضي وتدعى Purposeful motion وتتم أما عن طريق انتاج مواد كيميائية من العامل المرضي نفسه كأن تكون مخلفات العمليات الايضية فتتعرف عليها الخلايا الدفاعية او تفرز المواد من قبل الخلايا الدفاعية فتنجذب باتجاه العامل المرضي.كما يوجد على سطحها مستقبلات قادرة على تحديد المكون الكيميائي في جزيئات العامل المرضي مثل انترلوكين٨(IL8) والانترفيرون كاما حيث تستخدمها لتحديد طريقة هجرتها.

٣-الالتهام الخلوي Phagocytosis عند اقتراب الخلية البيضاء من العامل المرضي تلتصق به ومن ثم يحاط العامل المرضي بغشاء الخلية البيضاء عن طريق مد الاقدام الكاذبة بعدها تنفصل الخلية المرضية المحاطة بغشاء الخلية البيضاء على شكل فجوة غذائية داخل الخلية البيضاء لتبدأ بفرز الجسيمات المحللة داخل الفجوة فتعمل على تحليل العوامل المرضية،ومن هذه العوامل المحلله Opsonins التي تعمل كمضادات بكتيرية وفطرية Anti bacteria Antifungal, كما ان القدرة القاتلة للخلايا المحبة للتعادل تعتمد على وجود بعض الانزيمات مثل Myeloperoxidase.

ثانياً: وظيفة الخلايا وحيدة النواة Monocyte Function

تقوم هذه الخلايا بوظيفة الالتهام،تحتوي على انزيم Lipase بكميات كافية لذلك فأنها تهاجم الخلايا المرضية التي تحتوي اغلفتها على كمية كبيرة من الدهون مثل Mycobacterium tuberculosis ،تقضي هذه الخلايا في الدم فترة تقدر ب24 ساعة ومن ثم تهاجر بشكل عشوائي الى الانسجة الرابطة المحيطة وعندها تسمى بالملتهمات الكبيرة Macrophages.تتضمن ألية او ميكانيكية عملها قتل وتحطيم الخلايا المرضية المحاطة بالاجسام المضادة،اذ ان أغشيتها تحتوي على مستقبلات للاجسام المضادة IgG,Fe حيث تساعد هذه الاجسام الخلايا البيض على الارتباط بالخلايا المرضية ،كما تشترك الخلية وحيدة النواة في المناعة الخلوية كقاتل Killer حيث تنشط بواسطة الخلايا اللمفية ثم تلتهم الأجسام الغريبة،لذلك فلها دور في المناعة السرطانية ،كذلك لخلايا وحيدة النواة القدرة على انتاج بعض المركبات المهمة التي لها دور مهم في المناعة مثل Complement interferon,transferrin progens وغيرها.

Physiology Lab

ثالثاً: وظيفة خلايا الدم البيض الحمضة Acidophil Function

بعد ثلاثة ايام من انتاجها تهاجر نخاع العظم وتدخل في مجرى الدم وتبقى فيه من 3-4 ساعات ،بعدها تهاجر الى الانسجة المحيطة الملائمة لها حيث تكمل دورة حياتها بعد 8-12 يوم ،وظيفتها الدفاعية تتم عندما تنجذب بأتجاه المنطقة المصابة بواسطة افراز سلسلة من العوامل الكيميائية الجاذبة للخلايا الحامضية مثل Eosinophil chemotaxis factors(ECF),Complement fragments,antigen stimulated Leukocytes,Anaphylaxia. كما تعمل هذه الخلايا على افراز الهستامين الموسع للاوعية الدموية مما يسهل عملية تسرب الخلايا الحامضية من الاوعية ،كما تشترك في تفاعلات الحساسية حيث تعمل على التهام المركبات الناتجة من التفاعلات المناعية بين الاجسام المضادة والمستضدات .

رابعاً :وظيفة خلايا الدم البيض القاعدية Basophil Function

تشترك في تفاعلات الحساسية،اذ تقوم بانتاج الهستامين واحياناً الهيبارين كما تسهل عملية ارتباط الجسم المناعي IgE مع الجسم الضد.

الزيادة في عدد كريات الدم البيضاء Leukocytosis

هناك توازن في عملية أنتاج خلايا الدم البيضاء حيث تتساوى خلايا المهاجرة مع تلك التي تدخل مجرى الدم.ولكن عند التعرض لحالات مرضية معينة يحدث اخلال في عملية الموازنة فنلاحظ حدوث زيادة في عدد خلايا الدم البيضاء والتي يطلق عليها Leukocytosis ان هذه الزيادة بالطبع ستكون في احدى أنواع خلايا الدم البيضاء وحسب العامل المرضي الذي أحدث الاصابة ويمكن تلخيص تلك الحالات كالأتي:-

١-الزيادة في خلايا الدم البيض العدلة Neutrophil Leukocytosis(Neutrophilia)

تحدث هذه الزيادة عند:-

أ-الأصابة البكتيرية Streptococci,Staphylococci .

ب_تحطم الانسجة،الحروق،الاصابات السرطانية.

ج-بعد حدوث النزف الداخلي.

٢-الزيادة في عدد خلايا الدم البيض الحمضة Eosinophil Leukocytosis (Eosinophilia) تحدث هذه الحالة عند:-

أ-الحساسية:الأكزمة،التحسس للأغذية والأدوية.

ب-الأصابات الطفيلية:البلهارزيا، طفيليات الأمعاء،الأكياس المائية.

ج-الأصابات الرئوية.

Physiology Lab

٣-الزيادة في عدد خلايا الدم البيض القعدة Basophil Leukocytosis (Basophilia)

وتحدث عند:

أ-بعض الأصابات مثل Polycythemia.

ب-الأصابات بمرض Myelosclerosis.

ج-الأصابات بمرض الجدري وجدري الدجاج.

٤-الزيادة في عدد خلايا الدم البيض وحيدة النواة Monocytosis وتحدث عند:

أ-الأصابة بمرض حبة بغداد.

ب-الأصابة بمرض الباراتيفوئيد.

ج-التدرن الرئوي. والامراض المزمنة مثل الامراض الفطرية والسل.
د-تناول او حقن المركبات الكورتيزونية.وتشمع الكبد وفقر الدم التحللي.

٥-الزياد في عدد خلايا الدم البيض اللمفية Lymhocytosis وتحدث عند بعض الأصابات المزمنة مثل:

أ-التدرن الرئوي .

ب-السفلس Syphilis.

ج-التهاب الكبد.

النقصان في عدد خلايا الدم البيضاء Leukopenia

هناك حالات مرضية أخرى يحدث فيها نقصان في عدد خلايا الدم البيضاء ويطلق على هذه الحالة Leukopenia اذ تحدث لبعض انواع خلايا الدم البيضاء وهي كالاتي:-

١-النقصان في عدد خلايا الدم البيضاء العدلة Neutropenia

وتحدث عند الاصابة بالحمى،الارتجاف،الاصابة بالكنكرين Gengrenous،النقصان في عوامل النمو مثل فيتامين B12.

٢-النقصان في عدد خلايا الدم البيض الحمضة Eosinopenia

يحدث عند حقن او زيادة افراز هرمون ACTH.

٣-النقصان في عدد خلايا الدم البيض اللمفية Lymphopenia

شائعة عند حدوث الأجهاد او حقن هرمون قشرة الغدة الكظرية.

Physiology Lab

Physiology Lab