

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

B.C.

المركز الجامعي عبد الحق بن حمودة
معهد العلوم الطبيعية



جامعة محمد عبد الحميد بن باديس
مكتبة علوم الطبيعة والحياة
المكتبة
رقم التجدد : 219

العنوان :

فقير الدم المنجلي

أنواعه ، أسبابه وطرق علاجه

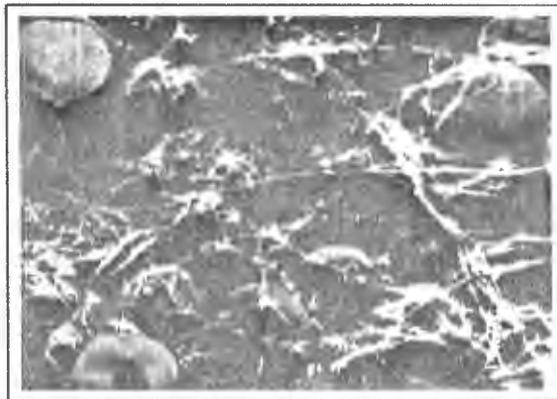
مذكرة تخرج لنيل شهادة الدراسات العليا في الكيمياء الحيوية

تحت إشراف الأستاذ:

إعداد الطالبان :

• حنديس محمد الصادق

• فهيمة بابليدي
• نوال بن غالية



الدفعة الثانية

السنة الامعية 2001-2002

التشكرات

في البداية نشكر الله عزوجل الذي وفقنا وأنار لنا الدرب لإنجاز

هذه المذكرة ، ونتقدم بالشكر الجزيل إلى كل من أمد لنا يد المساعدة

سواء من قريب أو من بعيد ونخص بالذكر الأستاذ المشرف حنديس

محمد الصادق

والدكتور بوحى أحسن والدكتور بوخشم اللدان ساعدانا كثيرا .

كما لا ننسى موظفوا المخبر المركزي بجيجل والطاهير على العون

والدعم الكبيرين وإلى كل من شجعونا

نوال، فهيمة

الإهداء

إليك أيتها الروح الطاهرة والذكرى الطيبة
إليك أيها الحاضر الغائب إليك أيها الراحل بعيدا
إلى روح أبي الطاهرة
إلى من تركتني عندها عهد فصانتها وأمنتها عليا أمانة فحفظتها إلى من كانت
شمعة احترقت لتضيء دربي .
إلى من عبت لي طريق ملؤه الشوك إلى من تعست لأسعد و بكت لأضحك
و تعبت لأرتاح .
إليك أمي حفظك الله ورعاك أهدي ثمرة جهدي طيلة
هذه السنوات بل ثمرة جهدك أنت قبلي .
إلى نجوم حياتي المتلألئة أشقائي
هشام - محمد - عنتر
شقيقاتي : نبيلة وزوجها جمال و شمعة حياتها ناجي
صباح وزوجها نصرالدين
نادية ، ياسمينة ، مفيدة
إلى عمي الوحيد رياض وزوجته نعمة وابنته خولة إلى جدتي المصون .
إلى من تقاسمت معي هذا العمل فهيمة
إلى المتتالية التي هندست إيقاع حياتي وشكلت من أيامي دفتر زاهي الألوان صورهم
تحضرنني ولا مجال لحصرهم :
فضيلة ، صباح ، ثلجة ، كريمة ، سهام ، فيروز
صبرينة ، نصيحة ، رزيقة ، منى ، ليلى ، وداد ...
إلى نور الدين و علي ، حمزة ، باديس ، وفواز
إلى كل من ساعدني من قريب أو من بعيد

نوال

الإهداء



إلى من لبست ثوب الشقاء و تحملت التعب و العناء لتكسوني ثوب السعادة والهناء
نجمة حياتي أُمي الحبيبة
إلى من تُعب لأرتاح و كان لي المفتاح حتى أبلغ أقصى درجات النجاح منار دربي أدي
العزير

إلى سندي في هذه الحياة

أخوتي : عيسى ، عاشور ، عماد

و أخواتي : زهرة ، سعيدة ، ريمة ، زينب

إلى كل الأهل ، جدتي ، و أعمامي زوجاتهم وأولادهم .

خالي زوجيته و أولاده .

إلى كل الصديقات و الزميلات و بالأخص سهام ، صباح ، فضيلة ، أمال ، سورية ،

عزيزة خيرة ، ثلجة ، عائشة ، نصيحة ...

إلى من تقاسمت معي هذا العمل نوال

إلى كل من تعرفت إليهم في الحياة و ساعدوني ولو بكلمة طيبة .

فهيمته



مخطط العمل

الصفحة	الفهرس
	-المقدمة
2	I-عموميات
2	I-1-الدم
2	I-1-1-مكونات الدم
2	I-1-1-1-المكونات اللاخلوية: البلازما
3	I-1-1-2-المكونات الخلوية:-الصفائح الدموية
4	-كريات الدم البيضاء
5	-كريات الدم الحمراء
	I-2-الهيموجلوبين
7	I-2-1-البنية (الهيموجلوبين)
9	I-2-2-التخليق (الهيموجلوبين)
12	I-2-3-الرابطة (الهيموجلوبين).
12	I-2-4-الوظيفة
12	I-2-5-تحليل الهيموجلوبين
13	I-2-6-أنواع الهيموجلوبين
14	II-أنواع فقر الدم.
14	II-1-فقر الدم الذي يتميز بنقص تركيز الحديد
14	II-2-فقر الدم الحال
14	II-3-فقر الدم للجذعات الضخمة.
15	II-4-فقر الدم الناتج عن اضطرابات في تخلي الهيموجلبين
15	II-4-1-الطلاسمية
15	II-4-2-الدريباتوسيتوز
17	II-4-2-1-أسببه
17	II-4-2-2-وراثة
20	II-4-2-3-علاجه
	-جزء العلمي
21	III-الطرق والوسائل
21	III-1-نزع العينات
22	III-2-تقدير المعايير لهيماتولوجية
24	III-3-مؤشرات لايا الدم الحراء
24	III-4-الفصل بواسطة الإلكتروليفوراز
28	IV-النتائج
38	V-المناقشة
	-الخلاصة
	المراجع

قائمة الجداول

28	جدول رقم I
29.....	جدول رقم II
30.....	جدول رقم III
31.....	جدول رقم IV
32.....	جدول رقم V
33	جدول رقم VI
34.....	جدول رقم VII

قائمة الأشكال :

الشكل 1	ص 2
الشكل 2	ص 5
الشكل 3	ص 6
الشكل 4	ص 7
الشكل 6	ص 8
الشكل 7	ص 11
الشكل 8	ص 12
الشكل 9	ص 17
الشكل 10	ص 17

المختصرات

باللغة العربية :

ك.د.ج : الكريات الدموية الحمراء .

باللغة الفرنسية :

- **GR:** globule rouge.
- **GB:** globule blanc
- **LCR:** liquide Cephalo-Rachidien
- **HB:** Hémoglobine
- **Dré :** Drépanocytose
- **Hiéte :** hétérozygote
- **Homo :** homozygote
- **Val :** Acide valine
- **GLV :** Acide Glutamique
- **EDTA :** Éthylène diamine tétra acétique acide
- **VGM:** Volume globulaire moyen
- **CCMH:** Concentration corpusculaire moyenne en liémoglobine
- **Ht :** L'hématocrite.
- **Leu :** leucine
- **Ser :** Serine.
- **Pro :** proline.
- **Phe :** phenilalanine.
- **Thr :** thréonine.
- **Ag :** Antigène.
- **LYMIT :** Lymphocyte.T.
- **LYMB :** lymphocyte B.

مقدمة :

إن فقر الدم الخلايا المنجلية Drépanocytose مرض وراثي ينتقل حسب قوانين الوراثة المنديلية [24] هو ناتج عن حدوث طفرة وراثية على مستوى المورثة المسؤولة عن تخليق الهيموجلوبين مما يؤدي إلى تخليق الهيموجلوبين غير طبيعي (HBS) ، يؤدي إلى تكوين كريات دموية حمراء منجلية الشكل تتخرب بسرعة (ANONYM, 2002) وبالتالي يؤدي إلى أحداث أخطر أنواع فقر الدم خاصة عندما يكون من النوع Drépanocytose-homozygot ، الذي يؤدي إلى الوفاة في أغلب الأحيان أو اعتماد الأشخاص المرضى على عملية نقل الدم المستمرة ، وفي كلا الحالتين فإن الأمر خطير بالنسبة للفرد أو المجتمع ، لذلك ، كان هدفنا من هذه الدراسة هو محاولة التعريف بالمرض وأسبابه ونتائجه وبالتالي الوقاية وتجنب المرض ولبلوغنا هذه الأهداف قمنا بدراسة مخبرية لبعض المؤشرات الهيمولوجية مثل عدد الكريات الحمراء، الهيماتوكريت . تركيز الهيموجلوبين وتطبيق تمنية الإلكتروفرز على دم المرض والتحليل الوراثي لعائلات العينة المرضية من أجل معرفة كيفية انتقال المرض.

الجزء النظري

I عموميات

1 - 1 - الدم :

يعتبر الدم أحد الأشكال الخاصة للنسيج الضام [3] ، فهو عبارة عن نسيج حيوي يتكون من مجموعة متنوعة من الخلايا التي تسبح في سائل لزج هو البلازما ، و تقدر كميته في جسم الإنسان بمعدل 70 مل/كغ أو 8 % من وزن الجسم تقريبا [2] ، وللدم أهمية كبيرة في العضوية وظيفته الأساسية النقل، وعند حدوث نقص في الكتلة الجافة الدموية (تصل إلى ثلثها) تحدث صدمة قاتلة لدى الإنسان [4]

1 - 1 - 1 - مكونات الدم :

يتكون الدم بشكل عام من :

أ - عناصر لا خلوية : المصورة الدموية .

ب - عناصر خلوية : - كريات الدم الحمراء GR

- كريات الدم البيضاء GB

الصفائح الدموية Plaquettes [6]

1 - 1 - 1 - أ - المصورة الدموية Plasma

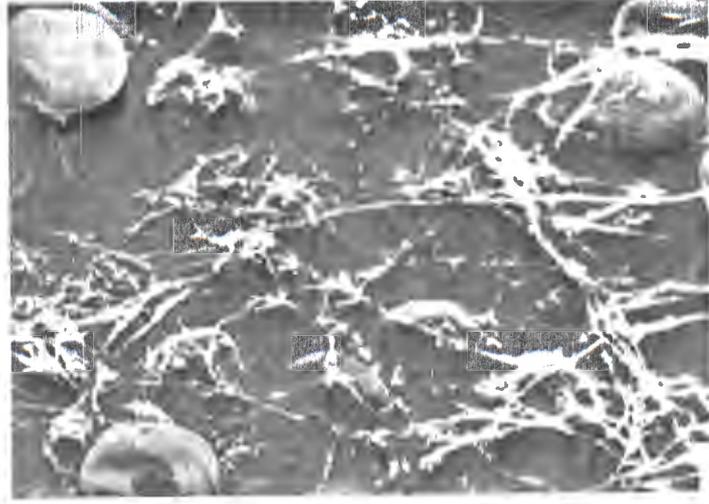
وهي السائل الذي تسبح فيه العناصر الخلوية ، و يبدو على شكل محلول غروي ذو لون أصفر ورمادي فاتح [3] ، ذو طعم مالح ، كثافته تقارب 1.027 ، وتمثل البلازما 55 % من الحجم الكلي للدم [1] ، وتتركب من مجموعة من المواد العضوية وغير العضوية، ويدخل في تركيبها :

- الماء : 90 %

- المواد الصلبة : ثلاثة بروتينات تكون (6 - 8) % من البلازما و هي :

* Serumalbumen (4.5 %) ، Serumglobuline (حوالي 2 %) ،

. Fibrinogene (0.3 %) .



الشكل رقم (٥١) الدم : الكريات الدموية الحمراء والبيضاء والبلازما [6]

- الجليكوز : 0.1 % ، الدسم والمواد الشبيهة بالدسم ، والأحماض الأمينية والأملاح المعدنية ونحصل على هذه المواد من الخلايا .
- النواتج الخلوية : الإنزيمات ، الأجسام المضادة ، و الهرمونات .
- نواتج الفضلات الخلوية النيتروجينية : مثل اليوريا و حامض اليوريك .
- الغازات مثل : CO_2 و O_2 و النيتروجين .

1 - 1 - 1 - ب - المكونات الخلوية :

1 - 1 - 1 - ب - 1 - الصفائح الدموية Les plaquettes sanguines :

عبارة عن أقراص بروتوبلازمية صغيرة عديمة اللون ، عديمة النواة ، يتراوح قطرها عند الإنسان ما بين (2 - 4 μm) ، وتتواجد بكميات عالية في الدورة الدموية ، حيث يكون عددها غير ثابت إذ يتراوح ما بين (200 - 300) ألف/مم³ من الدم ، تبدو دائرية أو بيضوية الشكل من الجهة السطحية و مغزلية من الجهة الجانبية ، وتتميز كل صفيحة إلى منطقتين الأولى مركزية بها حبيبات كثيرة حمراء بنفسجية اللون و الأخرى في الأطراف غير ملونة و متجانسة و تحتوي الصفائح على بروتين يشبه الأكتوميوزين وهو الترومبوستينين thrombostenine ، و لها عدة أدوار هامة هي :

- إفراز الترومبوبلاستين اللازم لعملية التجلط ، والذي يحول طليعة الخثرين إلى خثرين (Thrombine) و مولد الليفين إلى ليفين .

- الالتصاق بسبب لزوجة أسطحها ، و تشكل سدادة صفيحية دموية ، تغلق الجرح و بذلك تشكل ما يعرف بالخثرة البيضاء ، بحيث تلتصق بالمكروبات فتجمعها في كتل لتسهيل المهمة لخلايا الدم البيضاء .

1 - 1 - 1 - ب - 2 - كريات الدم البيضاء (Les globules blancs) :

كريات الدم البيضاء (GB) عبارة عن أجسام خلوية لا تتواجد في الدم فحسب ، بل توجد في السائل النخاعي الشوكي (LCR) ، و اللمف و العقد اللمفاوية و الأنسجة الدموية وتكثر في مناطق الإلتهابات لأنها قادرة على التسلل من خلال جدران

الأوعية الدموية و تقدر أبعادها بالميكرومتر ، يصل قطرها من (9 - 18µm) عددها عند الإنسان البالغ يقدر بـ (5- 10) ألف /مم³ .

أما عند المرأة الحامل : (10 - 16) ألف /مم³

عند المرأة العادية : (4 - 9) ألف /مم³ [1]

ويزداد عددها في الحالات المرضية أو إصابة الجسم بمكروبات جرثومية هذا وتبقى كريات الدم البيضاء في الدم حوالي 3 إلى 4 أيام ، لكن عمرها قد يصل إلى عام ، وتتكون الكريات البيضاء في نقي العظام والعقد اللمفية ، وبالرغم من وجود أشكال مختلفة منها إلا أنها تؤدي جميعها وظيفة دفاعية ومناعية للجسم من المكروبات ، وتنقسم خلايا الدم البيضاء إلى نوعين حسب وجود أو غياب الحبيبات في الهيولى :

كريات بيضاء محببة Granulocytes: وهي الكريات التي يحتوي السيتوبلازم فيها على حبيبات ذات قدرة على امتصاص أصباغ كيميائية معينة ، وتتميز بأنويتها المفصصة (متعددة الأنوية) وتنشأ هذه الخلايا من نخاع العظام حسب قابلية حبيباتها للأصباغ تنقسم إلى ثلاثة أنواع [2] :

- خلايا متعادلة الصبغ NEUTROPHILES :

تصطبغ حبيباتها التي في السيتوبلازم بمعظم الأصباغ الحامضية والقاعدية .

وهي أكثر الخلايا البيضاء عدداً، نسبتها في جسم الإنسان تتراوح بين (55 - 60 %) من مجموع خلايا الدم البيضاء وتتركب النواة فيها من 3 إلى 5 قطع [2]

خلايا محبة الصبغ الحامضية Eosinophils :

وتصطبغ حبيباتها بالأصباغ الحامضية فتبدو حمراء اللون وتتكون النواة من 2- 3

فصوص ، تبلغ نسبتها في الجسم نحو (1-3) % ويرتفع عددها في الحالات المرضية [1]

خلايا محبة الصبغ القاعدية basophils :

تصطبغ حبيباتها بالأصباغ القاعدية وتبدو زرقاء اللون ، تأخذ النواة فيها حرف S

نسبتها في جسم الإنسان لا تتجاوز 0.5 % إلا أنها تحتفظ بنصف كمية الهيستامين الموجود في الدم [1] .

كريات بيضاء غير محببة Agranylocytes :

في هذه الخلايا يخلو السيتوبلازم من الحبيبات ويبدو رائقا ، وتسمى أحيانا بحيدة السنواة وينشأ هذا النوع من الخلايا في العقدة اللمفاوية المنتشرة في أنحاء الجسم وتتميز هذه الخلايا بنوعين [2] :

الخلايا الكبيرة أو وحيدة النواة : Macrocytes ou monocytes : وهي أكبر الخلايا حجما ، لها القدرة على إلتهاام الأجسام الغريبة (Ag) أو الميكروبات ، وتبلغ نسبتها في جسم الإنسان نحو 7 % .

الخلايا اللمفية lymphocytes : وهي أصغر الخلايا البيضاء حجما ، وللخلية منها نواة كروية كبيرة تشغل الحيز الداخلي لذلك فالسيتوبلازم فيها قليل ولها القدرة على تكوين اجسام مضادة في الجسم ضد الميكروبات والأجسام الغريبة ، وتصل نسبتها في جسم الإنسان من 25 % إلى 30% من مجموع الخلايا البيضاء وهي نوعان :

خلايا لمفية تائية LYMT وهي المسؤولة عن المناعة الخلوية.

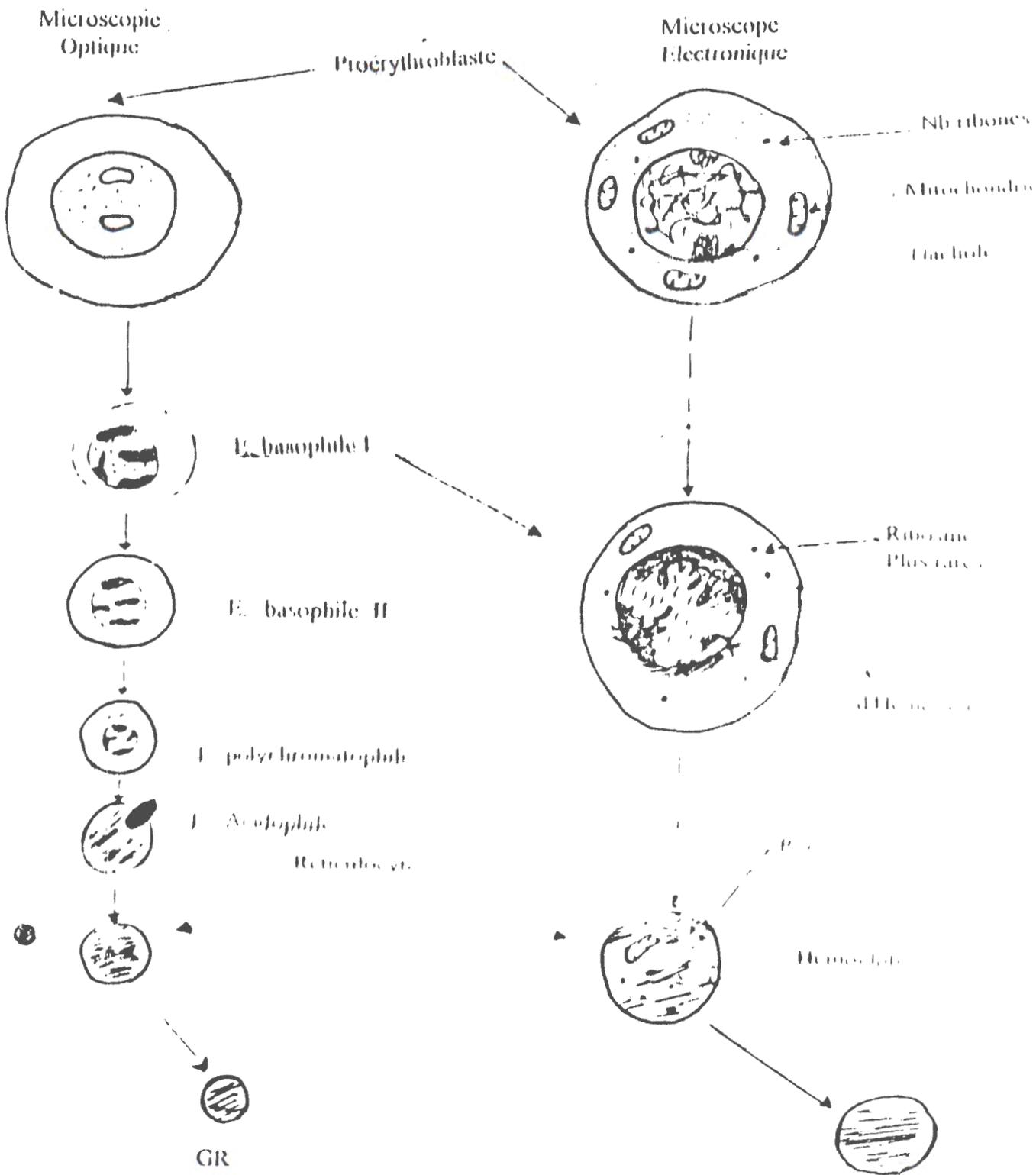
خلايا لمفية بائية LYMB وهي المسؤولة عن المناعة الخلطية [2] .

1-1 ب-3 - كريات الدم الحمراء : Les globules rouges :

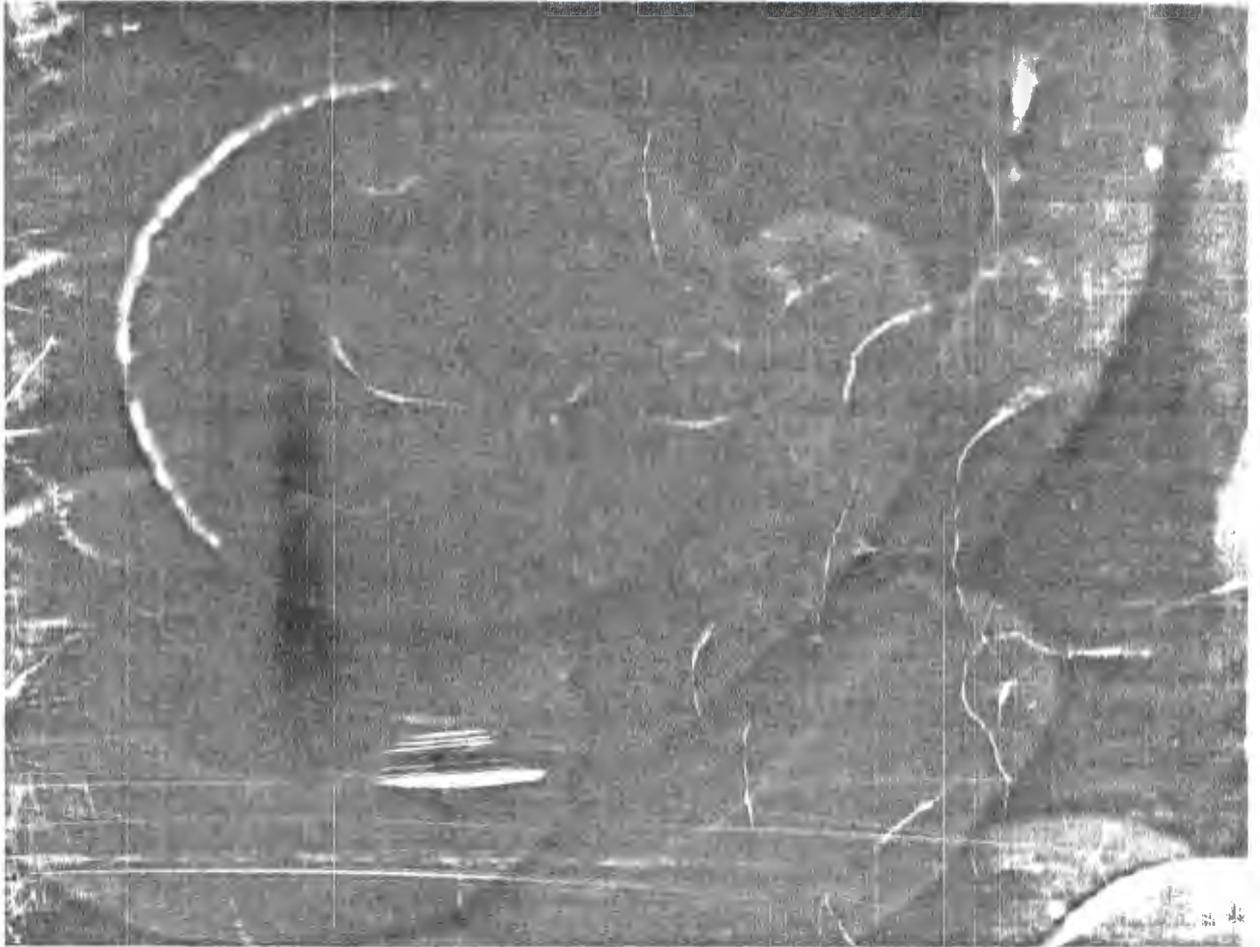
عملية التخليق بالنسبة لكريات الدم الحمراء تكون بأعدادها هائلة وهذا راجع الى التحليل الدائم وتقدر بـ 200 مليار كرية في اليوم ، ويتدخل عوامل التفرقة للخلية الام ، تولد خلايا داخلية في فئة كريات الدم الحمراء منها اثنان معروفة ، والتمايز بعد هذه الخلايا يبدأ بـ [4] :

الخلايا البدئية المتفرقة : Proerythoroblaste : وهي أول خلية معروفة من هذه المجموعة، وتكون دائرة الشكل ، أو قريبة من الشكل البيضوي ، تحتوي على نواة مركزية، ذات كروماتين ذو صبغة حمراء. [4]

L'erythroblaste basophile type 1 : وهي ناتجة عن انقسام الـ PROERYTHROBLASTE ، وتستلك كروماتين كثلي وهيولى معتدلة [4].



الشكل رقم (02) : les cellules de la lignée erythroblastique



الفصل رقم 03، الكريات الدموية الحمراء [6].

Erythroblaste polychromatophile : وهي خلايا دائرية أو بيضوية ، تحتوي على نواة دائرية الشكل مركزية ، ذات كروماتين معزول ، بمجال محدود ، وسيتوبلازم أزرق مخضر [4] .

ERYthroblaste acidophile : خلايا تتواجد طبيعيا في نقي العظام بنسبة 5 % ، مشبعة بالهيموجلوبين ، تحتوي على نواة دائرية ، ذات كروماتين متجانس يميل إلى البنفسجي [1] Réticulocyte : تكون ذات نواة تحتوي على بعض العضيات (الميتوكوندري ، الريبوزوم وتبقى في النخاع 24 ساعة ، ثم تمر إلى الدم وتتحول إلى كريات دموية حمراء بعد 24 ساعة من ذلك ، إذا كمية Les Réticulocytes في الدم تكون مهمة في إنتاج الكريات الحمراء [4] .

* كريات الدم الحمراء

يحتوي الدم على أعداد كبيرة من كريات الدم الحمراء ، يتراوح عددها عند الإنسان 5 مليار في المليمتر الواحد من الدم ويكون هذا العدد عند الرجل أعلى قليلا مما هو عند المرأة وهي الخلايا الساندة في الدم ، وتتميز بعدة خواص تميزها عن الخلايا الأخرى :

- المرونة
- الالتصاق
- الانحلال
- التراص
- ألوان بالثلويين [3] .

خلايا الدم الحمراء ، خلايا بالغة عديمة النواة، ذات ميتابوليزم محدود ، تدور في الدم ، تقوم بوظائفها على مستوى الشعيرات النسيجية ، ونقل الـ CO_2 ، نحو النخروب الرئوي (Alveolepulmonaire) وهناك ثلاث مكونات أساسية لكي تكون كريات الدم الحمراء حيوية قادرة على القيام بوظائفها وهي [9]

الإغشية :

- الليبيدات (الفوسفوليبيدات $3/2$ ، الكوليسترول $1/4$ وانبيدات العشائية)
البروتينات : تتكون من ثلاث أقسام : البروتينات داخل خلوية - بروتينات الهيكل الخلوي

البروتينات الراسبة [9] Prodamcrag

الانزيمات : وهي عبارة عن بروتينات خارجية أو داخلية أو داخل خلوية ، الأكثر أهمية هي الـ ATPASE (مضخة الصوديوم / بوتاسيوم Na^+/K^+) ، وبروتينات نقل الماء والأيون والجلوكوز مع انزيمات الجليكوليز glycolyse [4] .

الهيموجلوبين : تحتوي كل كرية على 300 مليون وحدة من الهيموجلوبين وهو المسؤول عن نقل الأكسجين و لخلايا الدم الحمراء دورة تستغرق نحو 120 يوم فقط لعدم احتواءها على النواة [13] ، وبعدها تشيخ وتتهدم حيث تلتهمها خلايا معينة في الجهاز الشبكي البطاني المبطن للقنوات الوعائية واللمفية تدعى بالخلايا الملتهمة cellules phagocytaires وهذه الخلايا تتمركز في الكبد والطحال ونخاع العظام وعندما تلتهم هذه الأخيرة الكريات الحمراء ينطلق منها الهيموجلوبين الذي يتحلل إلى جزئين: هيم و جلوبين ، ومن جزيئة الهيم يتحرر الحديد ، أما باقي الهيم فيتحول إلى مركبي البيلفيردين والبيليربين ، ويستعمل الحديد مباشرة في تكوين خلايا دم حمراء جديدة [4] .

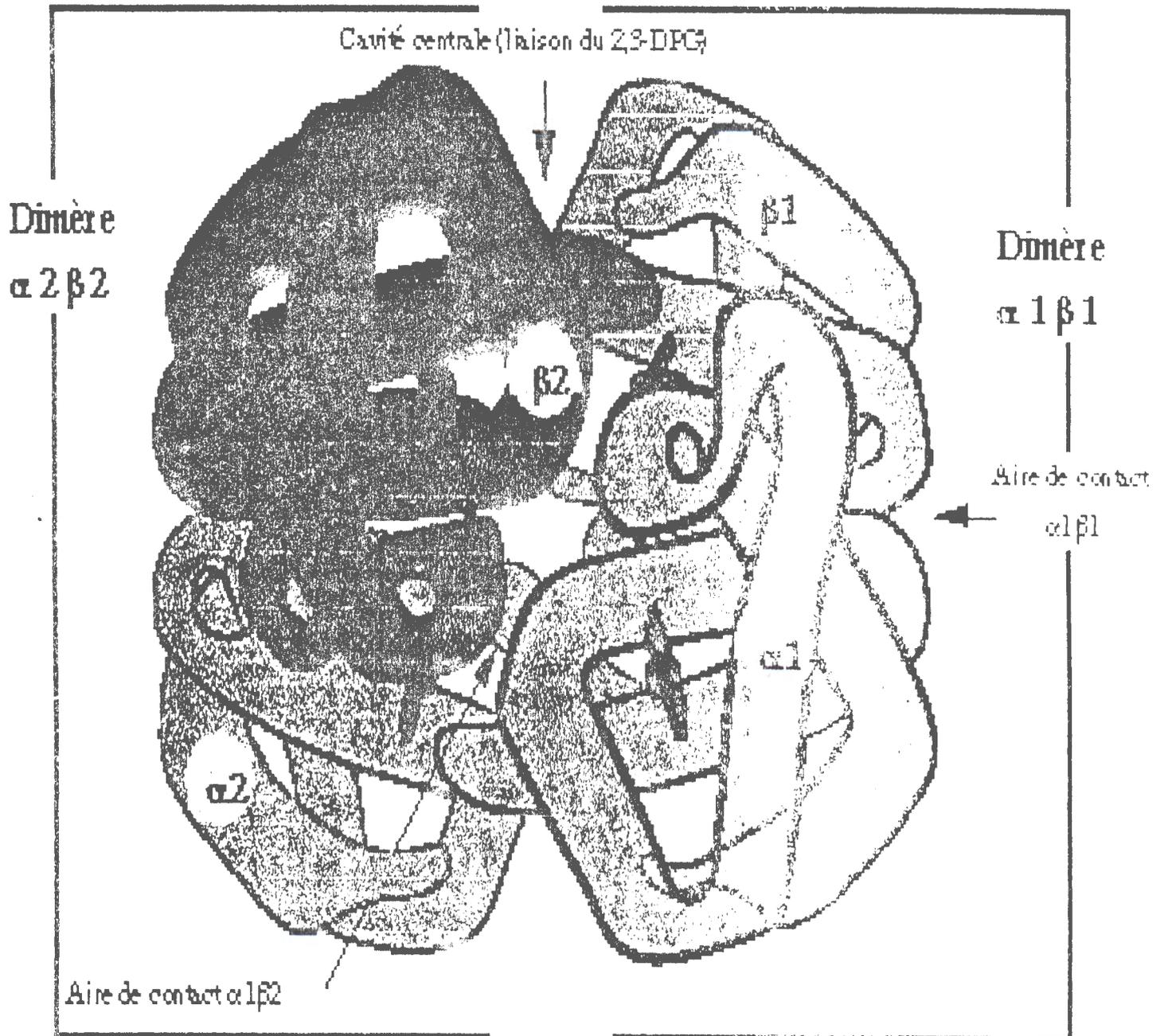
1-2- الهيموجلوبين :

الهيموجلوبين عبارة $hétéroproteine - ferroprotoporphyrinique$ ، جزؤه غير البروتيني هو الهيم ($groupement\ prothétique$) يحمل ذرة الحديد ، كما يحتوي على نواة رباعي البيروول tetrapyrrolique كل جزيئة هيموجلوبين تحتوي على 4 مجموعات من الهيم، وهو يلعب دور الناقل للأكسجين ، أما الجزء البروتيني فهو الجلوبين ، ويحتوي على 4 سلاسل متعددة الببتيد [4]

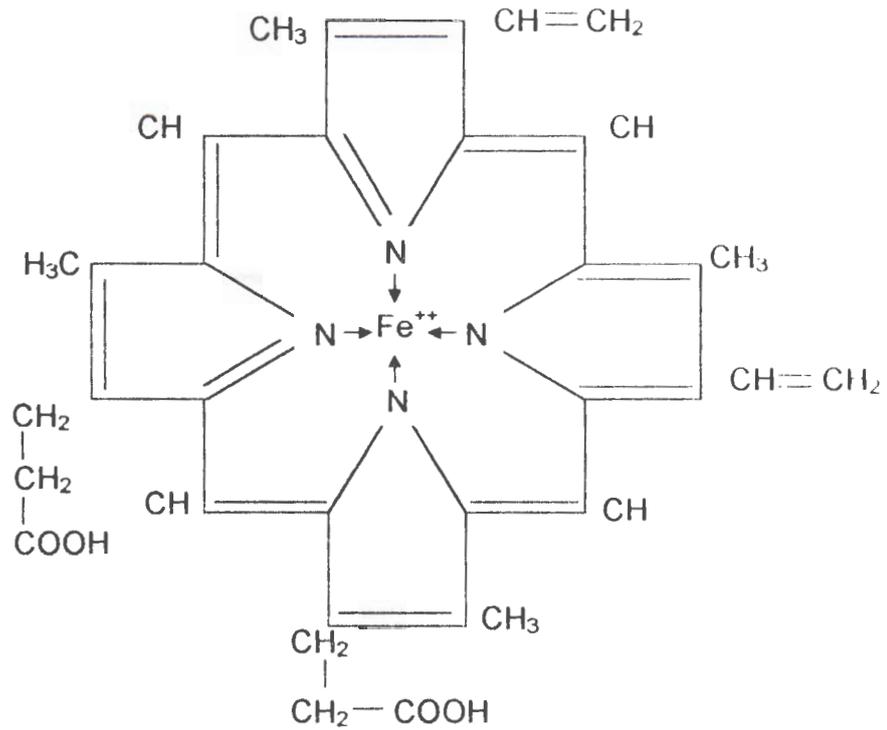
1-2-1- البنية :

1-2-1- أ- الهيم : جزيئة الهيم عبارة عن $ferroprotoporphyrin IX$ ، تنتج عن توضع ذرة الحديد ثنائية التكافؤ (Fe^{++}) في وسط جزيئة $protoporphyrine$ بواسطة 4 روابط تساندية مع القمم الأزوتية وذرة الحديد بإمكانها أن تشكل رابطتين واحدة مع الجلوبين وأخرى مع الأكسجين [13]

تتميز نواة الهيم بقدرتها على امتصاص الطيف الأحمر حوالي (500 nm)



الشكل رقم (04)، بنية الهيموجلوبين [14]



الشكل : رقم 05 بنية الهيم [16]

1-2-1 ب - الجلوبيين : تحتوي كل جزيئة هيموجلوبين على 4 سلاسل من الغلوبين
2 إلى 2 هذه متعددة الببتيد مع 5 أنماط من السلاسل الممكنة و البنية الأولية لها معروفة
حيث :

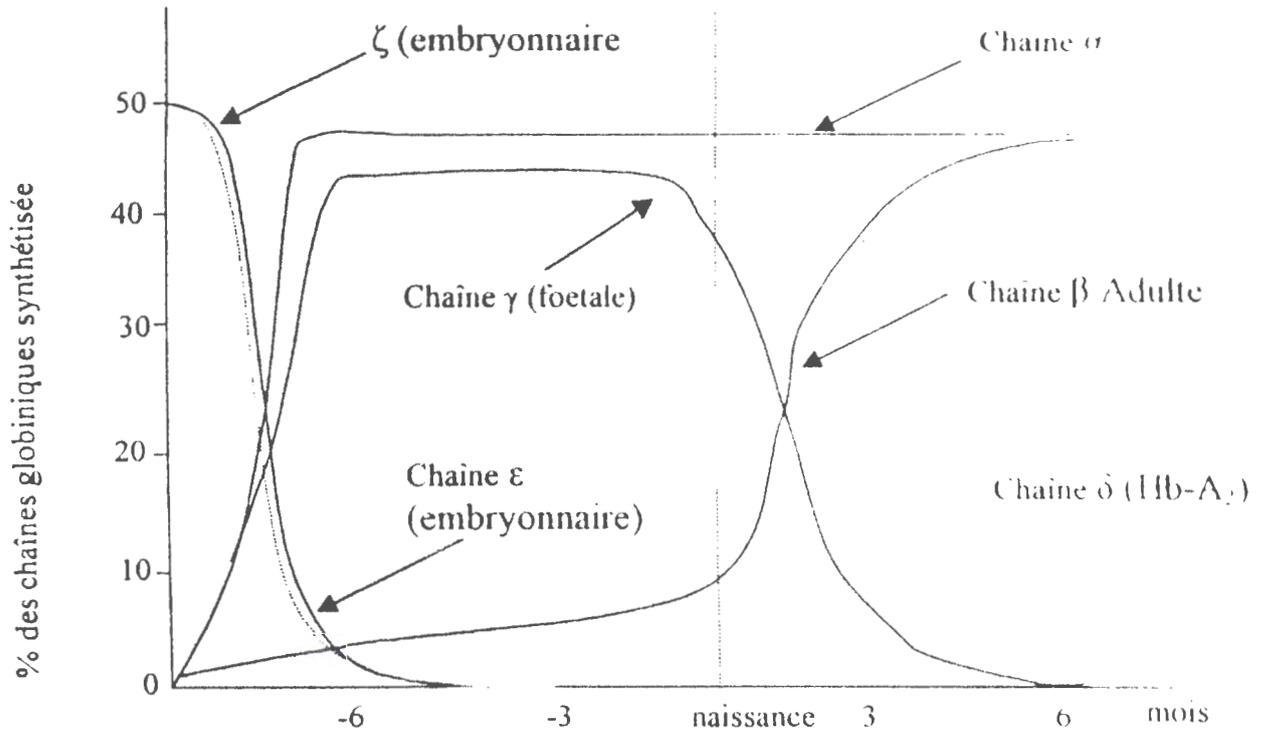
السلسلة α : تحتوي على 141 حمض أميني والنهاية N-terminal هي : val,leu, ser,pro

السلسلة β : تحتوي على 146 حمض أميني والنهاية N-terminal هي : val,his, leu,thr:

السلسلة γ : تحتوي على 146 حمض أميني والنهاية N-terminal هي : his,phe, thr, :
glycocoline

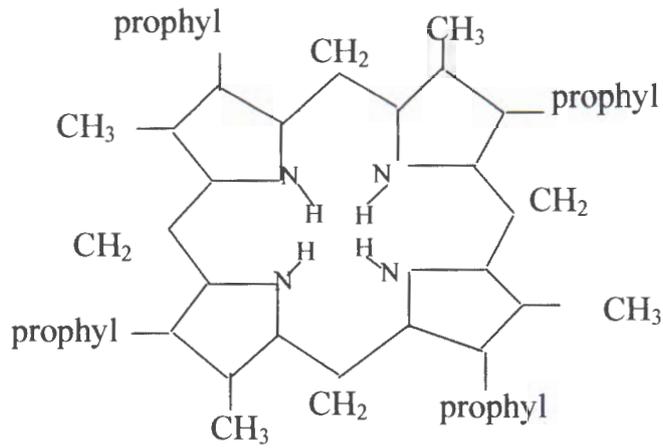
السلسلة δ : تحتوي أيضا على 146 حمض أميني وهي توافق السلسلة β ما عدا بعض الاختلافات.

السلسلة ϵ : وهي نادرة لا توجد إلا في الهيموجلوبين الجنيني من نوع GOWER [15] .

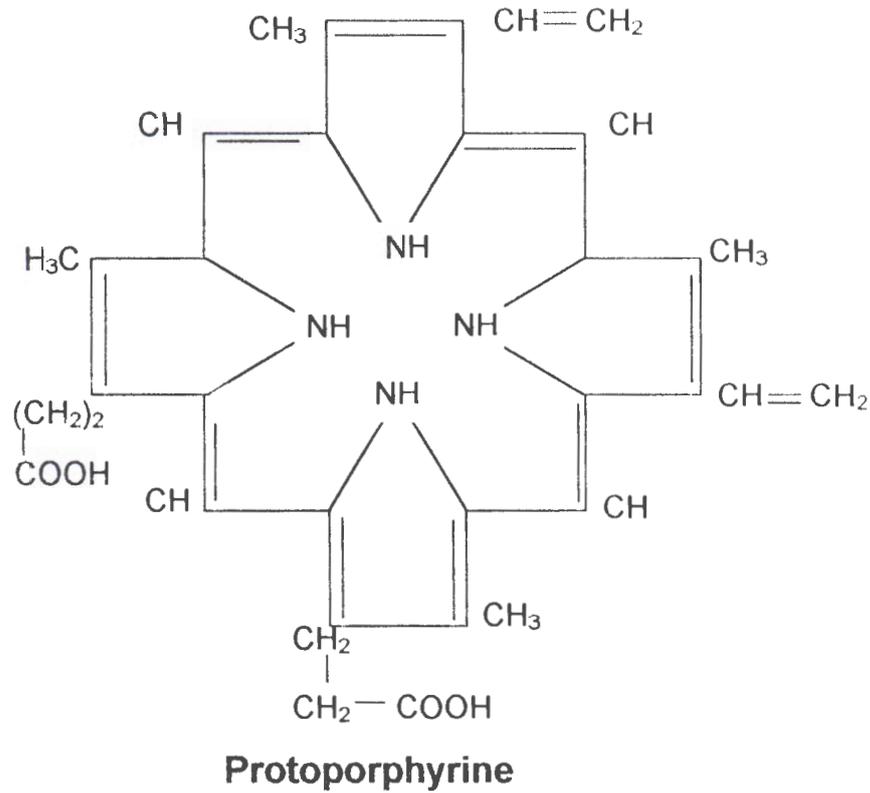


الشكل رقم (6) : تخليق مختلف سلاسل الجلوبين [14]

تحت تأثير انزيم uroporphyrinogène Decarboxylase يتحول uroporphyrinogèneIII إلى
 coproporphyrinogène III ولعملية Oxydation لهذا الأخير نتحصل على
 protoporphyrinogèneIX وذلك بتدخل إنزيم coproporphyrinogène Oxydase [16]



وبندخل انزيم ferrochelatase الذي يوضع ذرة الحديد Fe^{++} ثنائية التكافؤ في مركز نواة رباعي البيروول Protoporphyrine IX وتشكل بذلك جزئية الهيم [11]



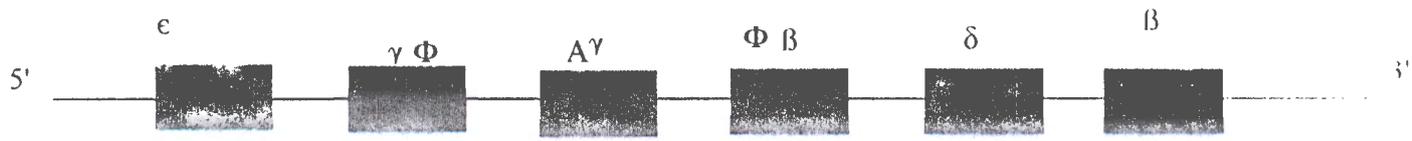
1-2-2-2- الجلوبين :

كل جزئية تخلق وفق المخطط العادي لتركيب البروتين وحببيات الغلوبين تتوضع على الكروموزوم 16 بالنسبة للسلسلة α والكروموزوم 11 بالنسبة للسلسلة β

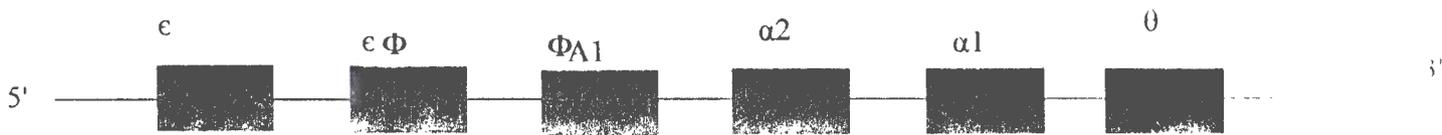
- نسخ الجين للحصول على الـ ARN_m

- تقديم وتجميع الأحماض الأمينية

وتتم هذه العملية في الكريات قبل الحمراء erythroblaste وهي تحتوي على نواة وكذلك في Reticulocyte (وهي عديمة النواة) ، حيث تكون محتوية على ARN أما



الكروموزوم 11



الكروموزوم 16

الشكل رقم (7) : توضيح جينات الجلوبيين على الكروموزوم 11 و 16 [22]

الكريات الحمراء فليس لها القدرة على التركيب [4]

1-2-3 - الرابطة هيم-جلوبين :

كل جزيئية الهيم تثبت تحت وحدة جلوبين في مستوى histidine والرابطة بينهما تشكل جزيئية رباعية الأبعاد (tetramère) تتكون كل جزيئية من : 4 سلاسل جلوبين متجانسة 2 إلى 2 ، 4 هيم ، 4 ذرات حديد ، 4 جزيئات O₂ [4]

1-2-4 - وظائف الهيموجلوبين : تقوم جزيئية الهيموجلوبين بعدة أدوار أهمها:

- نقل الأكسجين إلى الرئتين حيث كل جزيئية هيموجلوبين تثبت 4 جزيئات من الأكسجين حيث تشكل l'oxyhemoglobine

- نقل غاز CO₂ من الأنسجة إلى الرئتين وبذلك يتكون carbo hemoglobine يستعمل الهيموجلوبين كمعدل لإبقاء PH معتدل

1-2-5 هدم (تحلل) الهيموجلوبين Dégradation de l'Hémoglobine :

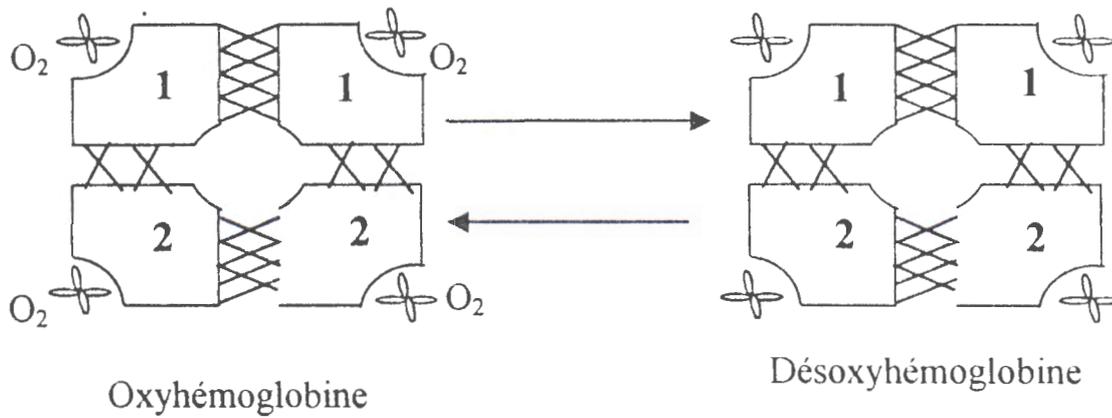
تتم عملية هدم الهيموجلوبين في البالغات الكبيرة (Macrophage) بنخاع العظم، حل جزيئية الهيم بأكسدة جسر من α - Méthine ، وتتشكل مادة cholestérobine verde hemoglobine وتحرر أيونات الحديد والتي يعاد استعمالها في تركيب كريات الدم الحمراء الجديدة ، تشكيل مادة البيليفردين بعد تحلل النواة رباعية البيروكس، وهي عبارة عن مادة صفراوية خضراء.

تحول Biliverdine إلى Bilirubine والذي ينقل من طرف الألبومين وفي حالة تشبع الألبومين ينقل من طرف Haptoglobine ، أين يكون استهلاكها في جميع الحالات مسببا لحالة فرط في التحلل hyperhémolyse.

- البيليريبيين الغير مرتبط مع الألبومين يعتبر سام للدماغ عند المواليد الجدد وهو المسؤول عن حالة اليرقان الجزئي .

البيليريبيين الغير مترافق يلتقط بفضل بروتين غشائين للخلايا الكبدية التي تضمن الوظائف الداخلية والخارجية للكبد.

- عند الكريات الحمراء البيليريبيين يكون مترافق مع Glycuronyl هذا بفضل انزيم Glycuronyl transferase.



\otimes = hème ; O_2 = Oxygène 2.3 ; DPG = 2.3 diphosphglycérate.

الشكل رقم (08) الرابطة الهيم الجلوبينية [2-2] Fig. 5
(ZITOUN et al; 195

قسم كبير من البيليريبين يذهب إلى المعى ثم يتحول إلى مادة urobiline، يتخلص منها عن طريق اليوريا، ذات اللون الأصفر أو إلى مادة stercobiline والذي يتخلص منها مع الفضلات [4]

1-2-6- أنواع الهيموجلوبين :

توجد 3 أنواع من الهيموجلوبين العادي HBA، HBA₂، HBF، ويكمن الاختلاف فيما بينها في بنية سلسلة الجلوبيين، حيث أن مختلف هذه الأنواع تحتوي على سلسلتين من نوع α ، والتي ترتبط بسلسلتين من نوع β أو δ

❖ HBA : يمثل (95-99) % من مجموع الهيموجلوبين البالغ ، أين يحتوي على سلسلتين α وسلسلتين β .

❖ HBA₂ : من 2 إلى 3 % ويحتوي على سلسلتين من نوع α ، ترتبط مع سلسلتين من نوع δ .

❖ HBF : (الهيموجلوبين الجنيني)، يمثل من 0 إلى 2 % يحتوي على سلسلتين من نوع α تكون مرتبطة بسلسلتين من نوع β [10].

II - فقر الدم وأنواعه :

فقر الدم حالة مرضية تتدنى فيها كمية الهيموجلوبين في الدم بشكل غير طبيعي ، مما يقلل من قدرة الدم على حمل الأكسجين ، يشعر الأشخاص المصابون بالوهن والتعب وباضطراب في التنفس بالإضافة إلى نبض سريع وشحوب في الوجه وهناك الكثير من أنواع فقر الدم ونذكر أهمها:

II - 1 - فقر الدم الذي يتميز بنقص تركيز الحديد :

تكون فيه خلايا الدم الحمراء أصغر من الطبيعة وباهتة اللون ، أسبابه العادية هي اتباع نظام غذائي غير كاف (خاصة عند المرأة الحامل) ، وقصور في امتصاص الحديد ، وفقدان متكرر للدم ، أثناء حدوث نزيف دموي أو طمث قوي أو مرض في القناة المعوية . [18] .

II - 2 - فقر الدم الحال :

ويتميز بقصر عمر الخلايا الحمراء عن معدلها الطبيعي، وعدم تمكنها من البقاء مع الدم الجاري بسبب تفاعلات الأجسام المضادة أو بسبب كون كريات الدم الحمراء نفسها ضعيفة بشكل عادي [12]

II - 3 - فقر الدم للجذعات الضخمة Mégaloblastique:

ويتميز بكون خلايا الدم الحمراء أكبر من حجمها الطبيعي ، وهذا يعود إلى نقص غذائي في الفيتامين B_{12} ، وحمض الفوليك ، ويعود سبب الإصابة بهذه الأنيميا الجينية إلى عدم قدرة المريض على امتصاص الفيتامين B_{12} من المعى وهو الفيتامين الضروري لتشكيل خلايا الدم الحمراء [13]



II - 4 - فقر الدم الناتج عن اضطراب في تذبذب الهيموجلوبين :

ويحدث هذا الخلل سواء في الجزء الغير بروتيني (الهيم) وأهم الأمراض التي تنتج عن هذا الخلل هي :

les pigments - les ictères hémolytiques - physiopathologie de la formation biliaires... إلخ [11]

وقد يصيب الجزء البروتيني (الجلوبين) بحيث يمكن أن يكون :

كمي : quantitatif :

وذلك بحدوث خطأ في تركيب إحدى سلاسل الغلوبين ، وهذا ما ينتج عنه مرض الطلاسيمية *thalassemie* ويسمى *thalassa-lamer* لأن الحالات الأولى من هذا المرض ظهرت في البحر الأبيض المتوسط ، وسببها يعود إلى خلل وراثي ناتج عن غياب أو نقصان سلاسل الغلوبين :

- غياب أو انخفاض في كمية السلسلة α ، ينتج ما يعرف بـ α *thalassémie*

-- غياب أو انخفاض في كمية السلسلة β ، وينتج ما يعرف بـ β *thalassémie*

حيث أن هذا الخلل في كمية تخليق السلاسل البيبتيدية راجع إلى غياب تشكيل الـ ARN_m وإذا تشكلت كمية قليلة من الـ ARN ورافقتها ترجمة بعض متعددات البيبتيد الموافق نرسمز للسلاسل بـ α^+ أو β^+ وإذا كان هناك غياب تام للـ ARN_m نرسمز لها بـ α^0 أو β^0 [15]

أو قد ينتج عن طفرة وراثية :

الهيموجلوبين المريض الناتج عن طفرة وراثية على مستوى سلسلة بيبتيدية ، تكون خواصه الفيزيوكيميائية (*physico-chimique*) مختلفة عن خواص الهيموجلوبين العادي ، وينقسم الهيموجلوبين المريض إلى عدة أنواع ، ويمكن التمييز (الفصل) بينها بواسطة الاليكتروفوراز ومن بينها J , O , D,E,C .. إلخ [9]

بالإضافة إلى الهيموجلوبين (HBS) وهو الذي يسبب فقر الدم المنجلي : *Drépanocytose* والذي هو محور دراستنا :

II - 4 - 1 - فقر الدم المنجلي : *Drépanocytose* :

هو مرض نوعي (QUALITATIF) ، ناتج عن تحلل دموي مزمن (hémolytique chronique) ، يصيب كريات الدم الحمراء، بسبب حدوث طفرة وراثية في الجلوبين (الجزء البروتيني الهيموجلوبين) ونطلق عليه Hbs وهو ما يؤدي إلى تخريب كريات الدم الحمراء والتي تأخذ شكل منجلي forme faucille حيث عرف هذا المرض منذ الزمن القديم بفضل الطب الإفريقي إلا أنه لم يدرس قبل القرن العشرين بحيث: [Anonym2002] عام 1910 : لاحظ على طلابه الجمايكيين بعد فحصه لعينات من دسهم ، وجود كريات حمراء غير عادية ، منجلية الشكل ، ولكن بعد ذلك تم اكتشاف علاقة العائلة بهذا الخلل (أن يكون وراثي) .

عام 1924 : هناك اكتشاف أكثر أهمية ، قدم من طرف GILLESPIE و HALP ، ويتمثل في كون الخلل المورفولوجي الخلوي لا يظهر إلا عند انخفاض نسبة الأكسجين .

عام 1949 : عن طريق WELLS, SINGER, STAMFANLING ، اتضحت الرؤية أكثر وهذا بإجراء مقارنة بين Hbs و HbA للبالغ السليم باستعمال جهاز الالكتروفوراز

- عام 1956 - 1959 : التحلل الجزيئي ثم على يد العالم INGRAM ، إذ قام بإظهار اختلاف الشحنات الموجبة بواسطة الالكتروفوراز ، وبذلك تم التعرف على الموضوع المتغير في السلسلة β وهو استبدال الحمض الأميني glu بـ val

- عام 1960 : ثم اتبأت أن هذا التغيير في الحمض الأميني ناتج عن استبدال في الشفرة رقم 6 : الأدينين A بـ الثيمين T : GAG GTG [23]

- مرض الـ drepanocytose هو الأكثر شيوعا ، وينتشر في أفريقيا السوداء ، حيث تتراوح نسبة المرضى بين (1 - 45) شخص في كل مئة حسب اختلاف المناطق [7]. يوجد أيضا في أمريكا الشمالية (USA) ، أمريكا الجنوبية (خاصة البرازيل) وفي بلدان المغرب العربي ، اليونان ، ويوجد حاليا في كل من فرنسا ، بريطانيا البرتغال ، بلجيكا ، الأراضي المنخفضة و في ألمانيا . . . إلخ [24]

سبب المرض :

لما ندرس المرض وراثيا نلاحظ أن الخلل يكمن في حدوث طفرة وراثية في

احدى القواعد الأزوتية للجين β .

هذه الطفرة تتميز باستبدال الحمض الأميني رقم 6 في سلسلة الجلوبيين من نوع β . وهو

Glu الحمض الأميني Val [8] .

سبب هذا الاستبدال في الحمض الأميني هو تغير في ثلاثية النيكليوتيدات : GLU له شفرة

GAG تستبدل في هذه الأخيرة القاعدة الأزوتية A بـ T إلى GAG ← GTG والتي

تعبّر عن الحمض الأميني VAL [13] .

هذا التغير في السلسلة يؤدي إلى تشويه بنية كريات الدم الحمراء والتي تصبح منجلية

الشكل وهذا التشوه يسبب صعوبة دوران كريات الدم الحمراء داخل الأوعية الدموية،

سما يؤدي إلى اعاقه الدوران الطبيعي .

مدة حياة الكريات الحمراء المنجلية الشكل لا تتعدى 10 - 20 يوم على خلاف العادية

والتي تعيش لمدة 120 يوم ، وهذا ما يؤدي إلى تحفيز نقي العظام على تخليق كريات

حمراء جديدة كل 10 أو 20 يوم مما يجعله غير قادرة على توفير الكمية الكافية من

كريات الدم الحمراء [13]

وراثة المرض

ينقسم مرض الـ Drépanocytose إلى نوعين حسب نوع الآليات التي تدخل في

تكوين الهيموجلوبين هذه الآليات تنتقل من الآباء إلى الأبناء ، إذن هذا المرض يكون

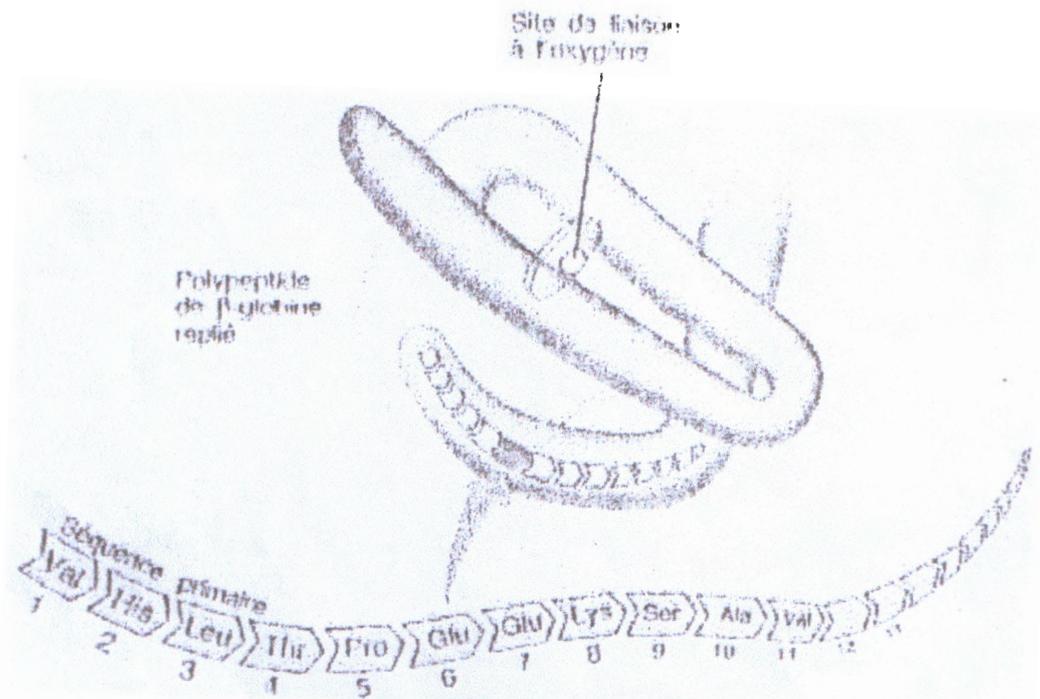
وراثي . حسب الوراثة المنديلية ويوجد منه نوعين :

فقر الدم المنجلي متجانس الزيغوت Dré-homozyzote :

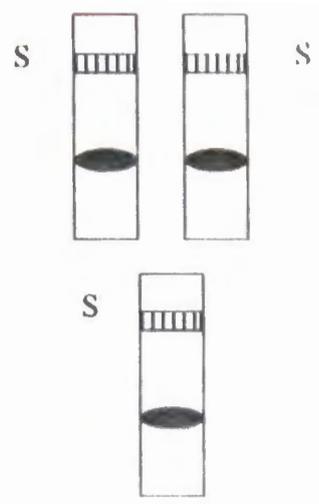
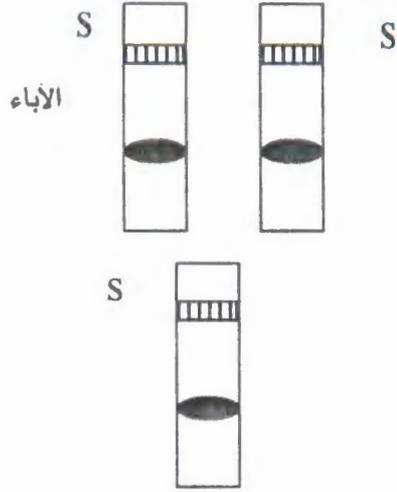
العلامات العيادية لهذا المرض تظهر في الشهور أو الأعوام الأولى من الحياة

وهذا حين يستبدل الهيموجلوبين الجنيني HbF بـ HbS ، لكن في بعض الحالات يكون

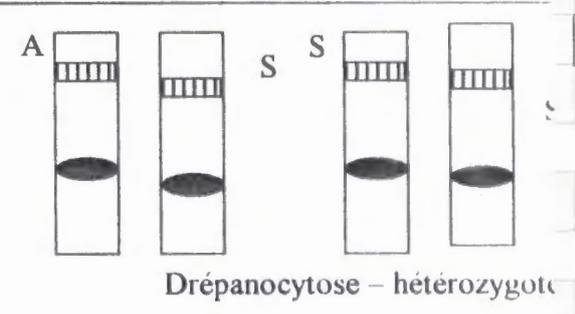
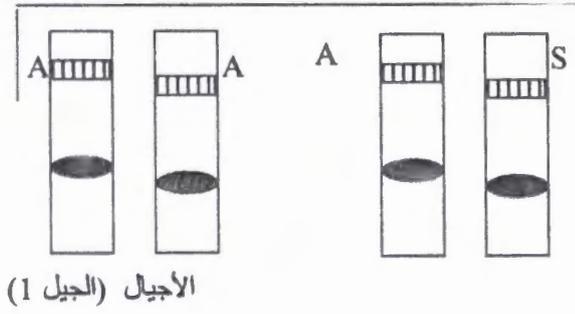
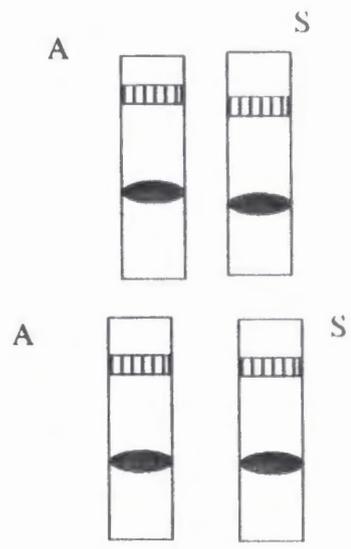
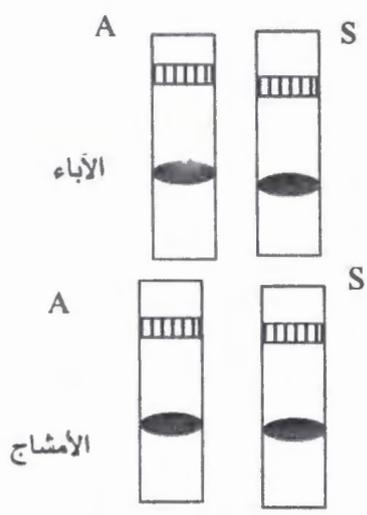
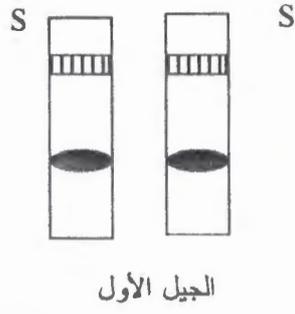
ظهورها متأخر بعد 4 إلى 5 سنوات ، أعراض هذا المرض تتميز بـ 3 مراحل [24]



Dans l'hémoglobine propre à l'anémie falciforme, Glu en position 6 est remplacé par Val



Drépanocytose - Homozygote



الشكل رقم 10 النقل الوراثي فقر الدم المنجلي متجانس الزيغوت وغير متجانس الزيغوت [17]

الإنوار الثابتة Les phases stationnaires :

عياديا : signes cliniques : يكون المرض ثابت ويتغير مع الزمن من حالة إلى أخرى وأهم العلامات التي تظهر على المرضى هي :

زيادة حجم الطحال splénomégalie ، وتتم في الشهور الأولى من الحياة لكن هذه الزيادة لا تستمر بزيادة عمر المريض في حين فإن حجم الطحال يتناقص بشكل سريع [19] الكبد ، عموما يزداد حجمه بصورة مذهلة ، حيث أن هذه الزيادة المفاجئة تسبب أحيانا نوبات من الألم les crises douloureuse ، حيث انطلاقا من السن 12 - 14 عام يصبح نمو وزن الأطفال المصابون بـ Dré-homo أدنى من المتوسط ، حيث يصابون بالنفخة [24]

بيولوجيا signes biologiques :

فقر الدم متجانس الزيغوت يتميز بنسبة HB تتراوح ما بين 7-9 غ/ل والكريات الحمراء تتراوح بين 200 - 600 ألف/مم³ ، حجم الخلايا يكون عادي أو متوسط [22] وعند أخذ مسحة من دم المصاب بـ Dré-homo ، يلاحظ زيادة في الخلايا البيضاء من نوع Neutrophiles polynucliaires ويمكن أن تصل إلى 30 ألف /مم³ ، بدون الإصابة بعدوى بكتيرية .

الالكتروفوراز لا يوضح إلا الـ HBS ، وهذا يدل على غياب الـ HBA [5]

التعقيدات الحادة les complications aiguës

أهم التعقيدات الحادة الملاحظة عند مرضى الـ Dré-homo هي :

نوبات الألم les crises douloureuse : وهي أهم عوارض المرض، وترتبط بالتشوه

الشكلي لكريات الدم الحمراء falciformation [23]

العدوى les infections : إضافة إلى نوبات الألم يمكن الإشارة إلى أن مرضى الـ Dré

تصبح لديهم قابلية الإصابة بأمراض أخرى خطيرة ناتجة عن عدوة بكتيرية مثل

selmonelles ، pneumococcs [19]

اشتداد المرض *l'aggravation de l'anémie Dré-homo* : عند مرضى ، النسبة المتوسطة للـ Hb هي 8 غ/دسل وهو ذو كفاءة ضعيفة للـ O₂ ، بينما في الحالة الطبيعية يوفر للانسجة الكمية الكافية من O₂ وتنظيم وظيفي مرض ، واشتداد المرض يكون بظهور : LES crises sequestrations : وتكون مرتبطة بعدوى "Intercurrente" ، والتي تبدأ

بصورة مشتدة بالحمى (fièvre) الأم عامة مع اصفرار شديد في الوجه [25]

ضمور كريات الدم الحمراء Erythroblastopénie : وهي حالة تميز جميع أنواع فقر الدم الناتج عن تحلل دموي مزمن ، فطري أو مكتسب ، ويسبب هذه الحالة المرضية Virus [19] B19

حوادث انسداد الأوعية الخطيرة les crises vaso-occlusifs graves : تشكل سلسلة من التعقيدات تتميز بعجز عضوي، ناتج عن انسداد الأوعية بسبب الشكل المنجلي للكريات الدم الحمراء [23]

زيادة مادة البيليريبين : l'hyperbilirubinémie

والذي ينتج عنه اصفرار في الوجه [19] .

التعقيدات المزمنة les complications chroniques

تظهر بكثرة عند المراهقين والبالغين أكثر منه عند الأطفال هي :

جروح في الساق : نصف مرضى الـ Dré المصابون بهذه الجروح هم كبار السن ، وهي تسبب آلام مزمنة وإعاقة وظيفية مثل تصلب المفاصل [12] .

ثقب (نخر) النخاع : microse osseuses : الخصر والكثف هما المفصلين الأساسيين لحدوث الثقوب وهي أيضا تسبب آلام وإعاقة وظيفية [19] . [24] .

فقر الدم المنجلي غير متجانس الزيغوت : dré-hétérozygote

عند مرضى dré-hété ، لا يميز أية أعراض لكنهم يتميزون بحملهم للمرض وهو أقل خطورة من dré-hom [2002] . [Anonyme 2002]

عياديا : المرضى يبدون في حالة صحية جيدة ، إذ لا تبدوا عليهم أية أعراض مرضية سواء تحلل دموي أو نوبات من الألم الحادة ، لكن لديهم القدرة على نقل المرض [17] .

بيولوجيا : باستعمال الهجرة الشاردية بواسطة الإلكترورا فوراز يبين وجود HBS HBA1
ويكون HBA1 هو الغالب في معظم الحالات بنسبة 55 إلى 60 % بينما نسبة HBS
تتراوح بين 40 إلى 45 % بالإضافة إلى نسبة ضئيلة من HBA2 من 2 إلى 3 % .
يوجد أيضاً نوع آخر يجمع بين مرض drépanocytose ومرض الطلاسمي وهو يدعى
: B- thalasso-drépanocytose

وهو مرض ينتشر عادة في أوساط سكان البحر المتوسط وإفريقيا الوسطى حيث يظهر
خاصة عند السكان السود من بين أعراضه :

الأعراض العيادية : في هذه الحالة نلاحظ تحلل دموي مصاحب بـ 70% من حالات
splénomégale نوبات من الألم أيضاً أضرار (الأم) في الأحشاء .

الأعراض البيولوجية : حيث يظهر الإلكترورا فوراز 60 إلى 90% HBS ومن 10 إلى 30 %
HBF

العلاج traitement :

حاليا لا يوجد علاج محدد لفقر الدم المنجلي وهو غير ضروري في حالة dré-hété
لكن مرضى dré-homo يمكن مساعدتهم بالنقل الفوري للدم وفي الحالات الجد خطيرة
تستعمل طريقة تطعيم النخاع greffe de moelle [Anonyme 2002] .

الجزء العلمي

!!! - الطرق والوسائل : Matériel et méthode

III - 1 - نزع العينات : Prélèvements des échantillon

قمنا بهذه الدراسة على مستوى المستشفى المركزي لولاية جيجل ، وقد أخذنا 20 عينة من المرضى بمختلف الأعمار .

حيث دامت هذه الدراسة مدة (3 أشهر : ماي - جويلية : 2002) والعينات أخذت من مصلحة الهيماتولوجيا service d'hématologie ، وهذا بعد معاينة المرضى والتي تظهر عليهم الأعراض التالية :

١- تضخم الكبد ، تضخم الطحال

٢- الام في النخاع العظمي والأحشاء وإلى مستوى الصدر

٣- اليرقان ictère .

٤- أصفرار الوجه وضعف عام . . . إلخ

ونأخذ العينات من الوريد la vienne وبعدها نضعها في محلول يعرف

بـ (E D T A) éthylène diamine tétra acetique acide .

حيث نضع حجم واحد من المخثر مع 9 أحجام من الدم ، وتقسم العينة إلى قسمين :

القسم الأول: يستعمل لتقدير المؤشرات ليماتولوجيا (الـ HB و عدد ك، د، ح

الهيماتوكريت) ، (CCMH, VGM) et les indices hématologiques ، وذلك

باستعمال جهاز Coulter counter models أو استعمال الطرق اليدوية

(Méthode manuel)

القسم الثاني : لفصل ك . د . ح بواسطة الالكتروفوراز .

III 2 - تقدير المعايير الهيماتولوجية Les paramètres hématologiques :

للدم معايير هامة ، تعد قيمتها دلالات هامة ومؤشرات أساسية لسلامة الكائن الحي وأهم المعايير التي تتبعها لتشخيص مرضى الـ drépa هي العدد الكلي لكريات الدم الحمراء وكمية الهيموجلوبين والهيماتوكريت .

III 2 - أ - حساب ك ، د ، ج : Numération des GR

لعدم خلايا الدم الحمراء تستعمل الطريقة اليدوية باستخدام ماصة خاصة وشريحة زجاجية مدرجة تسمى hemocytometer و نستعمل المجهر الضوئي للعد .

1 - نحضر محلول متساوي التوثر لتحقيق الدم وهو عبارة عن كلوريد صوديوم مذاب في ماء مقطر .

2 - نسحب بواسطة الماصة دم غير متجلط ، ثم نكمل بالمحلول المتساوي التوثر حتى علامة 101 ، ثم تغلق نهايتي الماصة بواسطة الإبهام والسبابة وترج الماصة لمزج الدم بالمحلول المتساوي التوثر .

3 - نضع قطرة من الدم المخفف عند حافة الغطاء الزجاجي الموضوع على الشريحة ونترك الشريحة 2 إلى 3 دقائق لكي تترسب خلايا الدم الحمراء ثم نضعها تحت المجهر لكي تفحص .

4 - نبدأ الفحص بالقوة الصغرى لمعرفة توزيع خلايا الدم الحمراء ولعدها نستخدم العدسة الكبرى ونعد في الخمس مربعات الكبيرة ، حيث نجرى العدة في 80 مربع صغير (لأن كل مربع كبير يحتوي على 16 مربع صغير) ، وبذلك نحسب عدد ك، د، ح في كل من (1-3) مم من الدم .

و النسب الطبيعية هي :

عند الرجال : 4.5 - 5.5 مليون /مم³ أو 13-16 غ/دل

عند المرأة : 4.2 - 5 مليون /مم³ أو 12-13 غ/دل

عند الأطفال : 4.2 - 5.2 مليون /مم² أو 10-12 غ/دل

عند المولودين الجدد : 5 - 6 مليون /مم² أو 16-21.5 غ/دل

III-2-ب - كمية الهيموجلوبين : Dosage d'HB

توجد عدة طرق يدوية لتعيين كمية الهيموجلوبين منها : طريقة Cyanmethemoglobine وهي الطريقة المختارة لحساب نسبة الـ HB .
نأخذ 10 مل من الدم و يمزج مع 2.5 من المذيب (diluant Solution de drablin) وتحت تأثير Ferricyanure de potassium يتحول الحديد ثنائي التكافؤ (Fe^{++}) إلى الحديد ثلاثي التكافؤ Fe^{+++} ونحصل على methemoglobine . حيث يتحول ferricyanure de K إلى cyanure de K لتشكيل cyanumethemoglobine بطول موجة 540nm شدة التلوين تتناسب مع تركيز الـ HB والنتائج نعبر عليها بـ 100 غ/مل والنسب الطبيعية هي كالتالي:

☞ الرجل : 14 - 16 غ/100 مل

☞ المرأة : 12-14 غ/100 مل

☞ الأطفال : 10-12 غ/100 مل

☞ المولود الجديد : 18-24 غ/100مل

III-2-ج : الهيماتوكريت : L'hématocrite

تعتبر قيمة الهيماتوكريت عن النسبة بين حجم خلايا الدم الحمراء وحجم الدم الكلي .
نأخذ عددا من أنابيب الهيماتوكريت وهي أنابيب شعرية مفتوحة الطرفين .
- نضع الدم بكل أنبوبة (بحيث يكون الدم غير متجلط).
- وبعدها نقفل طرفها الآخر الخالي من الدم بواسطة عجينة خاصة .
- باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة 1500 دورة/د ، وذلك لمدة 5 دقائق نتحصل على طبقتين : طبقة سميكة في النصف الأسفل من الأنبوبة تتكون من خلايا الدم الحمراء

○ طبقة أخرى سميكة في النصف العلوي تتكون من البلازما .

○ بين الطبقتين توجد طبقة رقيقة رمادية اللون تتكون من خلايا الدم

البيضاء والصفائح الدموية.

وأخيرا نعين النسبة المئوية لكريات الدم الحمراء

بالنسبة إلى الدم الكلي .

والنسب الطبيعية هي :

عند الرجال : 5 ± 45 %

عند المرأة : 5 ± 42 %

الرضيع : 37 %

المولود الجديد : 55 %

III-3- مؤشرات خلايا الدم الحمراء les indice crythorocytaire

1- متوسط حجم خلية الدم الحمراء : VGM

$$VGM = \frac{HT(\%)}{N^{br} de Gr} \times 10.(M^3) = 85 \text{ م}^3$$

2- التركيز المتوسط لهيموجلوبين خلية الدم الحمراء : CCMH

$$CCMH = \frac{HB}{H'(\%)} \times 100 = 34 \%$$

III 5- الفصل بواسطة الالكتروفوراز : Séparation par l'électropharase

يعتمد على هجرة الـ HB حسب الشحنة الكهربائية لكريات الدم الحمراء في

حقل كهربائي على مستوى شريط L'acétate de cellulose .

الأدوات المستعملة : Les matériels

وحدة كهربائية : Power unit – unité électrique - والتي تقوم ببرمجتها على

فرق كمون يقدر بـ 350 فولط لمدة 20 دقيقة .

CUVE من نوع Vortex

ماصة من نوع Epondorf

حامل (Portoir) Helena

Un applicateur

Un support Helena -

شريط Band d'acétate de cellulose Helena

المواد المتفاعلة : Les réactifs

Barbitol buffer : (ph = 8) Tompon ويتم تحضيره بحجم يقدر بـ 10.3 من

18.3 + NaCl من حمض الباربيتيريك (AB) في 1000 مم من الماء المقطر .

Rouge ponceau (يحضر بـ 5 أحجام من Ponceau في 1000 مم من

الماء المقطر

- محلول الميتانول . المنقى solution de méthanol pur

- حمض الأستيك AC-acetitique

- Solution clarifiante

- محلول فيزيولوجي solution physiologique

- ماء مقطر Eau distillée

- Hymolysat .

طريقة العمل Méthode de travail

1 - فصل كريات الدم الحمراء عن البلازما :

نضع الأنابيب الحاوية على دم المرضى والمرقمة من 1 إلى 8 في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة /دقيقة خلال 5 دقائق ونتخلص بعدها من البلازما ،نغسل ك،د،ح بالمحلول الفيزيولوجي (9 % Nacl) ثم نعيد ك ،ح إلى جهاز الطرد المركزي في نفس الشروط المذكورة سابقا ، ثم نسكب المعلق والكريات الحمراء تغسل ، وتكرر العملية عدة مرات حتى نحصل على ك د ح نقية وصافية.

2- نغمر شريط L'acétate في محلول Tompom لمدة 5 دقائق (حيث كلما طالت المدة كانت شدة الامتصاص جيدة ، ونحصل على هجرة واضحة للـ HB) ثم نترك الشريط يجف .

3- تحضير الهيموليزا : Préparation de l'hémolysât :

نمزج حجم من الدم (50µl) من 3 أحجام من Réactif hemolysont (150µl) ، ونترك الخليط لمدة 5 دقائق وهذه المدة تسمح بانفجار ك ،د،ح وبالتالي تحرر الهيموجلوبين .

نضع كمية قليلة من محلول الهيموليزا في الحامل Les portoirs Helena (1-8) ، نضع عموديا على الحامل آلة لأجل ضخ العينات ، وفي نفس الوقت نضع شريط L'acétate de cellulose على الحامل ،نضع العينات المحمولة بواسطة الآلة على الشريط وبعد انتقال العينات على شريط السيليلوز والتي تظهر مصطفة في شكل مستقيم ، ونضع الشريط بشكل معكوس في الالكتروفوراز حسب شروط معينة 350 فولط لمدة 20 دقيقة .

التلوين : Coloration :

بعد الهجرة نأخذ الشريط السيليلوزي ونضعه في المحلول الملون (Rouge ponceau) لمدة 15 دقيقة .

إزالة التلوين : Décoloration

لأجل إزالة التلوين نسحب شريط من محلول التلوين ونضعه في محلول مزيل للتلوين وهذا لمدة 15 دقيقة ، ونكرر العملية 3 مرات حتى نتأكد من زوال الملون تماما من الشريط .

وبعدها نضع الشريط في محلول من الميثانول لمدة 4 دقائق ثم نضعه في محلول الـ Clarifiante لمدة (5-10) دقائق وذلك لجعل الشريط شفاف.

بعد تجفيف الشريط بوضعه في حاضنة بدرجة حرارة :50-60م° خلال 12 دقيقة ، ثم ننظفها جيدا بواسطة القطن حتى نسهل عملية القراءة .

القراءة : بمختلف أنواع الـ HB تحدد بمساعدة جهاز Densimetre ذو الموجة الطويلة nm520 والذي يعطي النسبة المئوية الدقيقة لكل نوع من الـ HB .

النساج

بعد الاطلاع على نتائج الالكتروفورا للهيموغلوبين نصنفها إلى 4 جداول كالآتي :

جدول رقم (1) :

1- حالات بـ HB عادي :

المنطقة	الالكترفوراز electrophrase	Ht %	HB غ/دل	الجنس	رقم العينة	
المنطقة المرضى	المرض	نوع الـ Hb	16	3.6	أنثى	1
	/	HB=100%	24	8.3	أنثى	2
	/	HB=100%	33	12.7	ذكر	3
	/	HB=100%	40	13	ذكر	4
	/	HB=100%	43	14.2	أنثى	5
	/	HB=100%	25	8.6	أنثى	5
		% 180	60.4 غ/دل		المجموع	
		% 30	10.06		المعدل	

جدول رقم (II.)

2 حالات فقر الدم الوراثي متجانس الزيغوت : Drépanocytose homozygote :

electro	CCMH%	VGM M ³	Ht %	Hb g/dl	GRMm ³	العمر	الجنس	رقم العينة
Hbs=100%	33.63	91.6	11	3.7	1.216.10 ⁶	6	أنثى	01
Hbs=100%	32.27	85	23	7.1	2.7.10 ⁶ ..	19	أنثى	02
Hbs=100%	35	95.29	20	7.0	2.1.10 ⁶	23	أنثى	03
Hbs=100%	32.4	95.4	21	6.8	2.2.10 ⁶	13	ذكر	04
	133.3	367.29	75	24.6	8.2.10 ⁶	61	المجموع	
	33.32	91.82	18.7	6.15	2.05.10 ⁶	15.25	المعدل	

جدول رقم (10)

حالات فقر الدم الوراثي: Dré -hétérozygote:

نتائج الإليكتروفوراز	CCMH%	VGM μ^3	Ht%	Hb g/dl	GR/mm 3	العمر	الجنس	رقم العينة
A ¹ =57,61% S=28,8% A ₂ =13,59%	35	92	33	11,5	3,6.10 ⁶	28	أنثى	01
A ¹ =58,3% S=41,7%	32.55	94	47	15.3	5.10 ⁶	38	أنثى	02
A ¹ =60% S= 38% A ₂ =2%	32.9	90.5	38	12.5	4,2.10 ⁶	41	ذكر	03
A=20% S=10% F=69%	33	89	24	8	2,7.10 ⁶	3 أيام	أنثى	04
A ¹ =64% S=34% F=2%	38	83	20	7.7	2,4.10 ⁶	15	ذكر	05
A ¹ =8% S=92%	32.6	91.6 6	22	7.2	2,4.10 ⁶	32	ذكر	06
A ¹ =49% S=50% A ₂ =1%	32	82	28	9	3,4.10 ⁶	30	ذكر	07
A ¹ =39% S=54% A ₂ =3,6%	31	86	19	5.9	2,2.10 ⁶	6	ذكر	08
	267.05	708. 16	231	77.1	25,9.10 ⁶	190 و 3 أيام		المجموع
	33.38	88.5 ₂	28.8	9.63	3,2.10 ⁶	23 سنة و 270 يوم		المعدل

جدول رقم (IV)

- حالات : thalasso-drépahocytose :

نتائج الإليكتروفوراز	CCMH %	VGM μ^3	Ht%	Hbg/dl	GR/mm ³	العمر	الجنس	رقم العينة
f=21.5% S=78.5%	28.57	69.24	21	6	2.65.10 ⁶	46	انثى	01
f=33.6% S=66,4%	28.5	75	21	6	2.8.10 ⁶	38	انثى	02
f=25.5% S= 74.5%	28.80	69.44	25	7.2	3,6.10 ⁶	41	ذكر	03
f=45.6% S=54.4%	29	71.8	23	6.7	3,2.10 ⁶	3 أيام	انثى	04
/	114.87	285.4 8	90	25.9	12,25.10 ⁶	190 و 3 أيام		المجموع
/	28.71	71.37	22.5	6.47	3,2.10 ⁶	23 سنة و 270 يوم		المعدل

الانتقال الوراثي : عن طريق تحقيق مع العائلات استطعنا إثبات الانتقال الوراثي

وقد تم هذا التحقيق بعد ظهور نتائج الالكتروفوراز للهيموجلوبين و النتائج

المتحصل عليها مدونة في الجداول (1) (2) (3)

العائلة 1 dré-homozygote:

المريضة هي البنت (المنطقة - الطاهير):

النتيجة	العمر	العائلة	
Dré-hété: A1=60% S=38% A2=2%	41 سنة	الأب	الوالدين
Dré-hété: A1=58.3% S=41.7%	38 سنة	الأم	
Dré-hété: A1=64% S=34% A1=2%	15 سنة	الابن	عدد الأبناء (04)
Dré-homozygote s=100%	13 سنة	الابن	
Hba = 100%	7 سنوات	البنت	
Dré-homozygote s=100%	6 سنوات	البنت	

العائلة 2 dré-homozygote:

المريضة هي الأم عمرها 28 سنة (المنطقة : الطاهير)

النتيجة	العمر	العائلة	
HBA=100%	38 سنة	الأب	الأبوين
Dré-hété: A1=75.61% S=28.8% A2=13.59%	28 سنة	الأم	
HBA=100%	9 سنوات	البنت (1)	عدد الأبناء (03)
HBA= 100%	7 سنوات	البنت (2)	
Dré-hété: A1=20% S=10% A2=69%	3 أيام	البنت (3)	

thalassemie drépanocytose : (3) العائلة

المريض هو الابن (المنطقة : الميلية)

النتيجة	العمر	العائلة	
Dré-hété: A1=49% S=50% A2=1%	30 سنة	الأب	الأبوين
Dré-hété: A1=60% S=40%	26 سنة	الأم	
Thlasso- drep f=33.6% S=66.4%	5 سنوات	البنيت (1)	عدد الاناث (02)
Thlassémique hemozygote f=100%	3 سنوات	البنيت (2)	

تحليل النتائج

مقارنة بالحالة الطبيعية : من الجداول نلاحظ

1 عدد الكريات الحمراء

1-1 Dré-hétérozygote : بمقارنة نتائج الجدول رقم III مع القيم الطبيعية نلاحظ

انخفاض عدد كريات الدم الحمراء بدرجات متفاوتة

عند الأنثى : معدل ك.د.ج 4.3 /ملم³ بينما المعدل الطبيعي عند الأنثى يتراوح بين 4.2 إلى 5.5 مليون /ملم³ إذن فالمعدل عند المريضات كان منخفض مقارنة بالعادي .

• عند الذكور : 3.1 مليون /ملم³ بينما العادي يكون 4.5 إلى 5.5 مليون /ملم³

إذن فهو منخفض

• عند الأطفال : 2.2 مليون /ملم³ بينما العادي يكون 4.2 إلى 5.2 مليون /ملم³

إذن فهو منخفض

• عند المولودة الجديدة : 2.7 مليون /ملم³ بينما العادي يكون 5 إلى 6 وبالتالي

فهو منخفض جدا.

2-1 Dré-homozygote بمقارنة نتائج الجدول رقم II بالقيم الطبيعية نلاحظ :

عند الأنثى : المعدل كان 2.4 مليون /ملم³ إذن فهو منخفض جدا مقارنة العادي وهو 4.2 مليون /ملم³

عند الرجال : المعدل كان 2.2 مليون /ملم³ إذن فهو منخفض جدا مقارنة العادي وهو 4.5 إلى 5.5 مليون /ملم³

عند الأطفال : المعدل كان 1.2 مليون /ملم³ وهو بعيدا جدا من المعدل الطبيعي الذي يصل إلى 5.5 مليون /ملم² .

3-1 thalasso-dré بمقارنة نتائج الجدول رقم IV بالقيم الطبيعية نلاحظ

عند الأنثى: 2.65 مليون /ملم³ هو أيضا منخفض جدا مقارنة بالعادي 4.2 مليون /ملم³

عند الرجال : المعدل كان 3.6 مليون /ملم³ إذن فهو منخفض جدا مقارنة العادي وهو 4.5 إلى 5.5 مليون /ملم³

عند الأطفال : المعدل كان 3 مليون /ملم³ وهو بعيدا جدا من المعدل الطبيعي الذي يصل إلى 5.5 مليون /ملم² .

2-تركيز الهيموجلوبين :

1-2-Dré-hétérozygote: من الجدول رقم (III) نلاحظ بأن معدل تركيز الهيموجلوبين كان 9.63 غ/دل وهذه القيمة منخفضة مقارنة بالحالة الطبيعية والذي كان المعدل يصل 10.06 غ/دل (جدول رقم 1)

2-2-Dré-homozygote : من الجدول رقم (II) يصل المعدل إلى 6.16 غ/دل وهي قيمة منخفضة مقارنة بالحالة الطبيعية والمتمثلة في 10.06 غ/دل (جدول رقم 1)

2-3-Dré-thaloso : من الجدول رقم (IV) كان المعدل 6.47 غ/دل وهي قيمة منخفضة مقارنة بالحالة الطبيعية .

3-الهيماتوكريت :

1-3-Dré-hérozygote : من الجدول رقم (III) كانت النسبة 28.8 % بينما العادية كانت 30 % (جدول رقم 1) إذن فهي منخفضة بفارق 1.2 %

2-3-Dré-homozygote : من الجدول رقم (II) كانت النسبة 18.75 % بينما العادية كانت 30 % (الجدول رقم 1) إذن فهي منخفضة بفارق 11.25 %

3-3-Dréthalasso : من الجدول رقم (IV) كانت النسبة 22.5 % بينما العادية كانت 30 % إذن فهي منخفضة بفارق 7.5 %

4 الالكتروفوريز :

1-4-Dré-hétesozygote : كان المرض لديهم مزيج من HBS و HBA بقيم متفاوتة .

2-4-Dré-homozygote : كان المرض لديهم 100 % HBS

3-4 Thalasso-dre : كان المرض لديهم مزيج من HBS و HBF وهي

أيضا بقیم متفاوتة .

VGM-5 و CCMH :

من الجداول رقم II، III نلاحظ بأن قیم VGM, CCMH كانت منخفضة مقارنة بالحالة الطبيعية .

المنافسة

إن النتائج التي تحصلنا عليها والمدونة في الجداول من 1 إلى 4 تبين مرض فقر الدم المنجلي (Animé drépanocytose) يرافقه تغيرات واضحة على مستوى العديد من المؤشرات الهيماتولوجية بحيث وجدنا انخفاض واضح في عدد كريات الدم الحمراء ، في جميع أنواع الحالات المرضية ويتراوح هذا الانخفاض بمقدار و (dré-homozygote=2.82) و

(dré-hétérozygote=1.27) . (thalasso- dréhé=. 1.81)

وهذا يفسر بالتحلل الكبير لكريات الدم الحمراء ذات الشكل المنجلي وانخفاض مدة حياتها داخل الجسم [13] . بالإضافة إلى ذلك وجدنا انخفاض واضح مدة حياتها في تركيز الهيموجلوبين وخاصة بالنسبة للحالات المرضية dré- homozygote (7.85) ، thalasso-dré (7.53) ، هذا الانخفاض في تركيز الهيموجلوبين ناتج عن الانخفاض في عدد كريات الدم الحمراء .

زيادة على ذلك لا حظنا من خلال نتائجنا انخفاض في الهيماتوكريت بالنسبة لأفراد العينة المرضية مقارنة بالحالة الطبيعية وهذا الانخفاض ناتج بالدرجة الأولى عن انخفاض نسبة عدد الكريات الحمراء ولأن نسبة الهيماتوكريت هي عبارة عن النسبة بين حجم خلايا الدم الحمراء وحجم الدم الكلي .

انخفاض نسبة عدد الكريات الحمراء وتركيز الهيموجلوبين والهيماتوكريت كان سببا في انخفاض نسب مؤشرات خلايا الدم الحمراء والمتمثلة في CCMH و VGM مقارنة بالنسب الطبيعية.

إن نتائج الفصل بالاكترافوريز المطبقة على دم العينة المرضية بينت بأن مرضى dré- homozygote كان لديهم 100% HBS و dré-hétérozygote كان لديهم مزيج HBS و HBA بينما مرضى thalasso-dré كان لديهم مزيج من HBS ، HBF بنسب متفاوتة

إن التحليل الوراثي لعائلات العينة المرضية لكل من الآباء بين بأن
drépanosytose (فقر الدم المنجلي) مرض وراثي ويخضع في انتقاله إلى
قوانين الوراثة المنديلية [24] .

الخلاصة :

إن فقر الدم المنجلي Drépanocytose مرض وراثي يكون مصحوبا بانخفاض واضح وكبير في عدد كريات الدم الحمراء في جميع أنواعه المرضية وذلك لأن الكريات الحمراء تصبح مدة حياتها قصيرة جدا (40 يوما بدل 120 يوم) ، وهذا الإنخفاض يؤدي إلى انخفاض كل المؤشرات الأخرى مثل : تركيز الهيموجلوبين ، الهيماتوكريت ، CCMH ، VGM .
بالإضافة إلى ذلك فإن نتائج الإلكتروفوريز المطبق على دم العينة المرضية بينت بأن المرض به ثلاث أنواع هي :

Dré-hétérozygote لديهم مزيج مختلط من HBS HBA و dré- homozygote لديهم 100 % بينما النوع الثالث و هو THALASSO- Drép كان لديهم مزيج من : HBS ، HBA ، HBF بنسب مختلفة .
بينما التحليل الوراثي لعائلات العينة المرضية وضحت نتائجها بأن هذا المرض الوراثي ينتقل حسب قوانين مندل للوراثة الكلاسيكية ، لذلك يجب على كل شخص يحمل الجين المريض (HBS) تجنب الزواج مع مريضة حاملة لنفس الجين .

أ - المراجع باللغة العربية :

- 1- خليفى التهامى : مذكرة بعنوان الدم 1998 - 1999 جامعة قسنطينة
- 3- كمال الشرفاوى غزالى : الفيسيولوجيا ، علم وظائف الأعضاء 1995 - الإسكندرية .
- 4- مذكرة بعنوان : فقر الدم المتعلق بالـ VB₁₂ وحمض الفوليك

ب - باللغة الفرنسية :

5. BELHANI MERIAM «hématologie » S4 chimiques- Tome 1.
6. BRUN ANSLIME « le corps humain, anatomie, biologie santé » AVRIL 1997 en CEE.P 19-30
7. DIEU SAERT-P-1996 «guide pratique des analyses médicales »edition Gamma P 45-50
8. BERNARD.E. « Passarge Atlas de poche génétique »1997 lucon.
9. FLAMARION «biologie » éditions médicales grandes fonctions-paris 1994.
10. AUCLERC.G « Mini encyclopédie de l'hémoglobine »
11. SCHAPIRA.G « élément de biochimie humaine physiologie et sémiologie »-paris-1970. edition Hadier P 10-11
12. HERRARA « dossiers médicaux chirurgicaux hématologie » -1985-.
13. BOREL.J.P « biochimie pour le clinicien ».
14. LAIB ESSAID « aide mémoire :intété de l'électrophores d'HB dans le diagnostique des hémoglobinopathies »2000-P29-35
15. LONGPIE-G « les anémies-1994 ». edition Berti P13
16. LOUISOT « biochimie général et médical »-1989.
17. MANUEL MERCH « le diagnostic et thérapeutique » 1992. edition Berti P 70
18. OMS « guide pour la lute contre les carences nutritionnelles »1994.edition M. kaza 30-34
19. ORSIGNE « l'hématologie pédiatrique »1989.
20. HALMADIG ROSE MARIE « précis de sémiologie » 1990.edition stosk P17-18
21. ZITOUNI.R-ABERDON-SAMANA.M « manuel d'hématologie »4^{ème} édition 1993. edition Berti P 5 -6
22. HARISSON.T. « principes de médecines interne »1993. ed R.H Heptenstall P 81.

23. FILE A :anémie falciforme htm

24. http : www.inzoinserm.fr/hémoglobine

25. unité de recherche médicale de constantine « journal algérien de médecin » volume III, N° 4, juillet – Août 1993

26. ANONYME 2002.



تناولنا من خلال الدراسة تشخيص مرض فقر الدم، المنجلي و ذلك بتقدير المؤشرات الهيماتولوجية ، و الهجرة الشاردية بواسطة الإلكتروفوريز للهيموجلوبين ، و لتنفيذ هذه الدراسة تطلب منا الحصول على عينات لمجموعتين من الأشخاص احدهما مريضة والأخرى شاهدة ، حيث تم أخذ الدم من الأشخاص و معايرته للكشف عن مرض الدريبانوسيتوز ، من خلال الإضطرابات التي تحدث على مستوى الكريات الحمراء و تتمثل الأعراض البيولوجية ————— لـ Drépanocytose في انخفاض نسبة الهيموغلوبين و الكريات الحمراء ، ووجودها بنسب متفاوتة حسب نوع المرض: dré-homozygote ، thalasso-drépano dréhétérozygote و التي تعتبر المؤشرات الأكثر أهمية في تحديد المرض.

Résumé :

A travers cette étude , nous avons vu la diagnostique de la maladie de drépanocytose, en évaluant les deux signes : l'hématologie et l'immigration des ions au moyen de l'électrophorase du l'HB , cette étude s'exécute sur notre demande , pour avoir deux échantillons aux deux groupages de personnes , L'une est malade , l'autre est une observatrice , après cela il y'a eu une prise de sang des personnes En vu de l'analyser pour découvrir la maladie drépanocytose, à travers les perturbation qui se forment au niveau des globules rouges .Les symptômes biologiques du drépanocytose se représentent par la diminution du pourcentage de l'HB et les globules rouges l'existence de l'HBS constitue en pourcentage excessif selon le type de maladie thalasso -Dré, Dré-homo, Dré-hété elles constituent les signes les plus importants pour situer (déterminer) la maladie .

Summery :

With through this study, we saw the diagnostic of the disease of Dré and this by evaluating the two signs hymathology and immigration of the ions by means of eletrophorase of HB , this study carry out on our request , to have two samples with groupings of people, one is sick and other is observant , after that it have been a blood test of the people in seen to analyse it to discover the Dre disease through the disturbance which are formed on the level of the red globules. The biological symptoms of dré are represented by the reduction in the percentage of HB and the red globules, existence of HBS constitutes expressed as a: Dré- hété, dré-homo, they constitutes the most significant signs to locate (to determine) the disease .

