



ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ ΤΡΑΠΕΖΑ ΑΙΜΑΤΟΣ

Ηλία Κούβελα

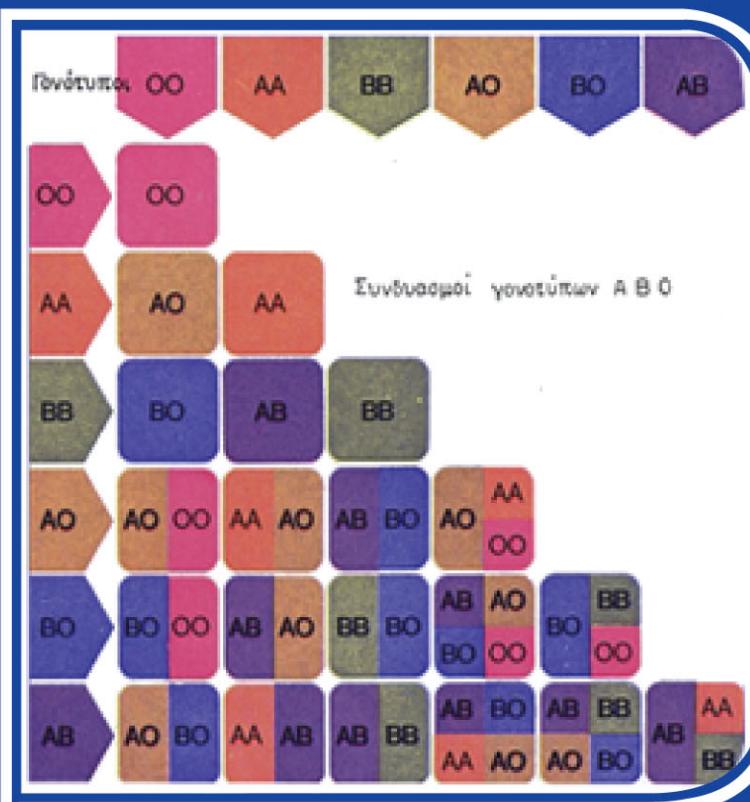
ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ

Δημήτρη Λουκόπουλου

ΥΦΗΓΗΤΟΥ ΠΑΘΟΛΟΠΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

Ειρήνης Κοντοπούλου-Γρίβα

ΕΠΙΜΕΛΗΤΡΙΑΣ Α' ΚΕΝΤΡΟΥ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ Υ.Κ.Υ.





1954

ΙΔΡΥΜΑ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ
ΧΡΥΣΟΥΝ ΜΕΤΑΛΛΙΟΝ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ



ΠΡΟΛΟΓΟΣ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

Ο Ευγένιος Ευγενίδης, ο ιδρυτής και χορηγός του «Ιδρύματος Ευγενίδου», πολύ νωρίς πρόβλεψε και σχημάτισε την πεποίθηση ότι η άρτια κατάρτιση των τεχνικών μας, σε συνδυασμό με την εθνική αγωγή, θα ήταν αναγκαίος και αποφασιστικός παράγοντας της προόδου του Έθνους μας.

Την πεποίθησή του αυτή ο Ευγενίδης εκδήλωσε με τη γενναιόφρονα πράξη ευεργεσίας, να κληροδοτήσει σεβαστό ποσό για τη σύσταση Ιδρύματος που θα είχε σκοπό να συμβάλλει στην τεχνική εκπαίδευση των νέων της Ελλάδας.

Έτσι το Φεβρουάριο του 1956 συστήθηκε το «Ίδρυμα Ευγενίδου», του οποίου τη διοίκηση ανέλαβε η αδελφή του κυρία Μαριάνθη Σίμου, σύμφωνα με την επιθυμία του διαθέτη.

Από το 1956 μέχρι σήμερα η συμβολή του Ιδρύματος στην τεχνική εκπαίδευση πραγματοποιείται με διάφορες δραστηριότητες. Όμως απ' αυτές η σημαντικότερη, που κρίθηκε από την αρχή ως πρώτης ανάγκης, είναι η έκδοση βιβλίων για τους μαθητές των τεχνικών σχολών.

Μέχρι σήμερα εκδόθηκαν εκατοντάδες τόμοι βιβλίων, που έχουν διατεθεί σε πολλά εκατομμύρια τεύχη. Τα βιβλία αυτά κάλυπταν ή καλύπτουν ανάγκες των Κατωτέρων και Μέσων Τεχνικών Σχολών του Υπ. Παιδείας, των Σχολών του Οργανισμού Απασχολήσεως Εργατικού Δυναμικού (ΟΑΕΔ) και των Δημοσίων Σχολών Εμπορικού Ναυτικού.

Μοναδική φροντίδα του Ιδρύματος σ' αυτή την εκδοτική του προσπάθεια ήταν και είναι η ποιότητα των βιβλίων, από άποψη όχι μόνον επιστημονική, παιδαγωγική και γλωσσική, αλλά και από άποψη εμφανίσεως, ώστε το βιβλίο να αγαπηθεί από τους νέους.

Για την επιστημονική και παιδαγωγική ποιότητα των βιβλίων τα κείμενα υποθάλλονται σε πολλές επεξεργασίες και βελτιώνονται πριν από κάθε νέα έκδοση.

Ιδιαίτερη σημασία απέδωσε το Ίδρυμα από την αρχή στην ποιότητα των βιβλίων από γλωσσική άποψη, γιατί πιστεύει ότι και τα τεχνικά βιβλία, όταν είναι γραμμένα σε γλώσσα άρτια και ομοιόμορφη αλλά και κατάλληλη για τη στάθμη των μαθητών, μπορούν να συμβάλλουν στη γλωσσική διαπαιδαγώγηση των μαθητών.

Έτσι με απόφαση που πάρθηκε ήδη από το 1956 όλα τα βιβλία της Βιβλιοθήκης του Τεχνίτη, δηλαδή τα βιβλία για τις Κατώτερες Τεχνικές Σχολές, όπως αργότερα και για τις Σχολές του ΟΑΕΔ, ήταν γραμμένα σε γλώσσα δημοτική με βάση τη γραμματική του Τριανταφυλλίδη, ενώ όλα τα άλλα βιβλία ήταν γραμμένα στην απλή καθαρεύουσα. Η γλωσσική επεξεργασία των βιβλίων γίνεται από φιλολόγους του Ιδρύματος και έτσι εξασφαλίζεται η ενιαία σύνταξη και ορολογία κάθε κατηγορίας βιβλίων.

Η ποιότητα του χαρτιού, το είδος των τυπογραφικών στοιχείων, τα σωστά σχήματα και η καλαίσθητη σελιδοποίηση, το εξώφυλλο και το μέγεθος του βιβλίου, περιλαμβάνονται και αυτά στις φροντίδες του Ιδρύματος.

Το Ίδρυμα θεώρησε ότι είναι υποχρέωσή του, σύμφωνα με το πνεύμα του ιδρυτή του, να θέσει στη διάθεση του Κράτους όλη αυτή την πείρα του των 20 ετών, αναλαμβάνοντας το 1978 και την έκδοση των βιβλίων για τις νέες Τεχνικές και Επαγγελματικές Σχολές και τα νέα Τεχνικά και Επαγγελματικά Λύκεια, σύμφωνα με τα Αναλυτικά Προγράμματα του Π.Ι.

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

Μιχαήλ Αγγελόπουλος, καθηγητής ΕΜΠ. Πρόεδρος.
Αλέξανδρος Σταυρόπουλος, καθηγητής Α.Β.Σ. Πειραιώς. Αντιπροεδρος.
Ιωάννης Τεγόπουλος, καθηγητής ΕΜΠ.
Εξαρχόπουλος Π., πλοιάρχος Λ.Σ., Διευθ. Ναυτ. Εκπ. Υ.Ε.Ν.
Σύμβουλος επί των εκδόσεων του Ιδρύματος **Κων. Μανάφης**, καθηγ. Φιλ.
Σχολής Πλανητικής Αθηνών.
Γραμματέας της Επιτροπής, **Γεώργιος Ανδρεάκος**.

Διατελέσαντα μέλη ή σύμβουλοι της Επιτροπής

Γεώργιος Κακριδής (1955-1959) Καθηγητής ΕΜΠ, Άγγελος Καλογεράς (1957-1970) Καθηγητής ΕΜΠ, Δημήτριος Νιάνιας (1957-1965) Καθηγητής ΕΜΠ, **Μιχαήλ Σπετσιέρης** (1956-1959), **Νικόλαος Βασιώπης** (1960-1967), Θεόδωρος Κουζέλης (1968-1976) Μηχ. Ηλ. ΕΜΠ, **Παναγιώτης Χατζηιωάννου** (1977-1982) Μηχ. Ηλ. ΕΜΠ, **Αλέξανδρος Ι. Παππάς** (1955-1983) Καθηγητής ΕΜΠ, **Χρυσόστομος Καβουνίδης** (1955-1984) Μηχ. Ηλ. ΕΜΠ, **Γεώργιος Ρούσσος** (1970-1987) Χημ.-Μηχ. ΕΜΠ, Δρ. **Θεοδόσιος Παπαθεοδοσίου** (1982-1984) Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσεως ΥΠΕΠΘ, **Ιγνάτιος Χατζηευστρατίου** (1985-1988) Μηχανολόγος, Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσεως ΥΠΕΠΘ, **Γεώργιος Σταματίου** (1988-1990) Ηλεκτρολόγος ΕΜΠ, Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσεως ΥΠΕΠΘ, **Σωτ. Γκλαβάς** (1989-1993), Φιλόλογος, Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσεως ΥΠΕΠΘ.



ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ ΤΡΑΠΕΖΑ ΑΙΜΑΤΟΣ

ΗΛΙΑ ΚΟΥΒΕΛΑ
ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ

ΕΙΡΗΝΗΣ ΚΟΝΤΟΠΟΥΛΟΥ – ΓΡΙΒΑ
ΕΠΙΜΕΛΗΤΡΙΑΣ Α' ΚΕΝΤΡΟΥ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ Υ.Κ.Υ.

ΔΗΜΗΤΡΗ ΛΟΥΚΟΠΟΥΛΟΥ
ΥΦΗΓΗΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

ΑΘΗΝΑ
2001



A' ΕΚΔΟΣΗ 1980

B' ΕΚΔΟΣΗ 1985



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Αιματολογία είναι κλάδος της παθολογίας που καλύπτει τα νοσήματα του αίματος. Το θαυμαστό αυτό βιολογικό υγρό που κυκλοφορεί στα αγγεία μας αποτελείται από πλήθος συστατικών και επιτελεί πολλές λεπτές διεργασίες, που είναι απαραίτητες για την επιβίωση.

Οι διαταραχές των συστατικών του αίματος έχουν αντίκτυπο σε όλο τον οργανισμό και εκδηλώνονται με πολυποίκιλα συμπτώματα και ευρήματα. Επίσης, πολλές διαταραχές άλλων συστημάτων επηρεάζουν τις λειτουργίες του αίματος και επιτείνουν ή επιπλέον την παθολογική κατάσταση. Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις η κατανόηση της παθοφυσιολογίας κάθε νοσήματος και η τελική διάγνωση στηρίζονται στη διαπίστωση των μεταβολών που υφίστανται τα συστατικά του αίματος. Οι μεταβολές μπορεί να είναι ποσοτικές ή ποιοτικές και μπορούν να μετρηθούν με σημαντική ακρίβεια. Έτσι η Αιματολογία γίνεται κλάδος της ιατρικής που στηρίζεται πολύ σε «μετρήσιες» φυσιολογικών παραμέτρων και παρεκκλίσεων και ενώνει την Κλινική σκέψη με το Εργαστήριο.

Το εγχειρίδιο αυτό, γραμμένο σύμφωνα με το αναλυτικό πρόγραμμα του ΚΕΜΕ, έχει σκοπό να δώσει στους σπουδαστές βασικές πληροφορίες για τα συστατικά του αίματος και τις διαταραχές του. Παράλληλα, υποδεικνύει τις αρχές των βασικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται στο Αιματολογικό Εργαστήριο. Πολλές εισαγωγικές γνώσεις έχουν ήδη δοθεί στο βιβλίο της Φυσιολογίας, για το λόγο αυτό η επανάληψή τους εδώ δεν κρίθηκε σκόπιμη.

Οι τεχνικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην Αιματολογία ποικίλλουν ανάλογα με το Εργαστήριο και τις διατιθέμενες συσκευές. Έτσι, για τις περισσότερες από τις μεθόδους αυτές δόθηκαν μόνον οι βασικές αρχές. Οι σημερινοί σπουδαστές θα έχουν την ευκαιρία να εφαρμόσουν κάθε μέθοδο με τις αντίστοιχες τεχνικές λεπτομέρειες, όταν την αναλάβουν υπεύθυνα σε κάποιο Εργαστήριο. Εκείνο που έχει περισσότερη σημασία εδώ είναι να τονισθεί, ότι οι μετρήσεις στην Αιματολογία πρέπει να είναι ακρίβεις και να επαναλαμβάνονται κάθε φορά με την ίδια αξιοπιστία. Διαφορετικά είναι προτιμότερο να μη γίνονται. Αναξιόπιστες μετρήσεις όχι μόνο δεν βοηθούν τη διάγνωση, αλλά επιφέρουν σημαντική σύγχυση και λάθη στην αντιμετώπιση των αρρώστων. Η ακρίβεια των μετρήσεων επιβάλλει καλή γνώση των αρχών κάθε μεθόδου, άψογη καθαριότητα και απόλυτη συμμόρφωση με τις τεχνικές οδηγίες.

Η δυνατότητα αναπληρώσεως του αίματος που μπορεί να λείπει από ορισμένα άτομα, με μετάγγιση αίματος από άλλους ανθρώπους, αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα βήματα προόδου της Ιατρικής στα τελευταία χρόνια. Η ιδέα είναι παλιά, η εφαρμογή της δύναται πέρασε πολλά δύσκολα στάδια τόσο στον επιστημονικό όσο και στον πρακτικό τομέα. Η εξέλιξη επισπεύσθηκε σημαντικά από τις πιεστικές α-

νάγκες του Β' Παγκοσμίου Πολέμου. Σήμερα η μετάγγιση αίματος και των παραγώγων του συμπεριλαμβάνεται στις καθημερινές σχεδόν εργασίες του Νοσοκομείου.

Η αναπλήρωση αίματος είναι αναγκαία σε όλες τις βαριάς μορφής εγχειρήσεις. Είναι αναγκαία ακόμη σε πολλές περιπτώσεις αναιμίας που δεν μπορεί να θεραπευθεί με φάρμακα ή ακατάσχετης αιμορραγίας, όπου η ζωή του ασθενούς κινδυνεύει από την αθρόα απώλεια αίματος. Ο καθορισμός των «ενδεξεων» για τη διενέργεια μεταγγίσεως περιλαμβάνεται στις ευθύνες του ιατρικού προσωπικού. Η μετάγγιση αίματος δεν είναι εύκολη ιατρική πράξη. Το αίμα των διαφόρων ανθρώπων δεν είναι ίδιο το αίμα των διαφόρων ανθρώπων δεν ταιριάζει πάντοτε· κατά συνέπεια, για κάθε άνθρωπο που χρειάζεται αίμα πρέπει να επιλεγεί ο κατάλληλος αιμοδότης. Έπειτα το αίμα δεν είναι μία αναλλοίωτη χημική ένωση, αντίθετα είναι ένα ευαίσθητο βιολογικό υλικό που περιλαμβάνει πλήθος ουσιών με αυστηρά καθορισμένη σύνθεση, πολυποίκιλες λειτουργίες και πολυποίκιλα κύτταρα που ζουν και παράγουν τη δική τους ενέργεια. Τα κύτταρα αυτά επιτελούν μιαν ατέλειωτη σειρά σημαντικών για τον άνθρωπο διεργασιών. Φυσικά, το βιολογικό αυτό σύστημα είναι εξαιρετικά ευαίσθητο· κάθε αλλοίωση της συστάσεως του μπορεί να οδηγήσει όχι μόνο σε μείωση ή αναστολή των σημαντικών του λειτουργιών, αλλά και σε σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες, όχι σπάνια επικλίνουνται για το άτομο στο οποίο μεταγγίζεται. Η μετάγγιση αίματος, κατά συνέπεια, είναι μια σειρά ενέργειών στις οποίες δεν επιτρέπονται λάθη. Ούτε το παραμικρό! Η ανάγκη αυτή οδήγησε στην αναγνώριση, μελέτη και τυποποίηση πολλών φάσεων της αιμοδοσίας.

Η λήψη και συντήρηση του αίματος που θα μεταγγισθεί και ο έλεγχος της συμβατότητας του δότη και του λήπτη της μεταγγίσεως γίνονται σήμερα σύμφωνα με ορισμένους κανόνες, πολλοί από τους οποίους καθορίζονται με ειδικές νομοθεσίες. Στα περισσότερα κράτη υπάρχουν ειδικές Υπηρεσίες Αιμοδοσίας που φροντίζουν για την κάλυψη των αναγκών σε αίμα του πληθυσμού και τη σχολαστική πρηση των λεπτομερειών που εξασφαλίζουν την αποδοτική και ακίνδυνη χρήση των μεταγγίσεων αίματος. Ανάλογη Υπηρεσία και Οργάνωση υπάρχει και στην Ελλάδα και υπάγεται στο Υπουργείο Κοινωνικών Υπηρεσιών.

Το βιβλίο αυτό έχει σκοπό να συνοψίσει τις θεωρητικές αρχές και τις τεχνικές λεπτομέρειες που διέπουν την αιμοδοσία. Όπως είναι ευνόητο, το θέμα είναι τεράστιο και δεν είναι δυνατό να περιληφθεί στις λίγες σελίδες του βιβλίου. Η προσπάθεια των συγγραφέων ήταν να διαλέξουν από τις πολλές και ποικίλες λεπτομέρειες μόνον εκείνες που θεωρούνται αναγκαίες για τον καλά εκπαιδευμένο τεχνικό βοηθό. Η προσωπική εμπειρία, στη συνέχεια, θα συμπληρώσει πολλές από τις πληροφορίες που δεν αναφέρθηκαν. Παρατηρήσεις και υποδείξεις για τη βελτίωση του κειμένου ευχαρίστως θα ληφθούν υπ' ώρη στην επανέκδοση.

Οι συγγραφείς ευχαριστούν θερμά τον Διευθυντή του Α' Κέντρου Αιμοδοσίας του Υ.Κ.Υ. κ. Ιπποκράτη Τσεβρένη για τις χρήσιμες παρατηρήσεις του. Ευχαριστούμε ακόμη το τμήμα εκδόσεων του Ευγενιδείου Ιδρύματος για τη φροντίδα με την οποία περιέβαλε την όλη εργασία.

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

0.1 Λειτουργία και σύνθεση του αίματος.

Το αίμα είναι ένα είδος υγρού ιστού, που υπάρχει μόνο στους πολυκύτταρους οργανισμούς. Ένας μονοκύτταρος οργανισμός βρίσκεται σε άμεση επαφή με το εξωτερικό του περιβάλλον, με το οποίο επικοινωνεί μέσω της κυτταροπλασματικής του μεμβράνης. Έτσι οι απαιτούμενες για τη ζωή του κυττάρου θρεπτικές ουσίες περνούν τη μεμβράνη του κυττάρου, εισέρχονται στο κύτταρο και καταναλώνονται απ' αυτό. Το ίδιο συμβαίνει και με το απαραίτητο για τη ζωή του μονοκύτταρου οργανισμού οξυγόνο. Το οξυγόνο εισέρχεται επίσης στο μονοκύτταρο οργανισμό με διαδικασία απλής διαχύσεως από το εξωτερικό περιβάλλον μέσω της μεμβράνης στο εσωτερικό του κυττάρου. Με την ίδια διαδικασία αποβάλλονται από το κύτταρο προς το εξωτερικό περιβάλλον τα άχρηστα προϊόντα του μεταβολισμού του. Οι λειτουργίες αυτές ενώ γίνονται τόσο απλά σ' ένα μονοκύτταρο οργανισμό, δεν είναι δυνατό να γίνουν το ίδιο απλά στους πολυκύτταρους οργανισμούς. Στους οργανισμούς αυτούς, όπως ξέρομε από τη Φυσιολογία, έχουν αναπτυχθεί το αναπνευστικό, το πεπτικό και το ουροποιητικό σύστημα. Στο αναπνευστικό σύστημα γίνεται η πρόσληψη οξυγόνου και η αποβολή διοξειδίου του άνθρακα. Στο πεπτικό σύστημα γίνεται η πρόσληψη των θρεπτικών ουσιών, στο ουροποιητικό σύστημα γίνεται η αποβολή των άχρηστων προϊόντων του μεταβολισμού.

Το οξυγόνο όμως που προσλαμβάνεται από το αναπνευστικό σύστημα πρέπει να μεταφερθεί από τους πνεύμονες σε όλα τα κύτταρα του σώματος. Επίσης το διοξείδιο του άνθρακα παράγεται από όλα τα κύτταρα του σώματος και πρέπει να μεταφερθεί στους πνεύμονες για ν' αποβληθεί. Επίσης οι διάφορες θρεπτικές ουσίες πρέπει να μεταφερθούν από το έντερο σε όλα τα κύτταρα του σώματος και τα άχρηστα προϊόντα του μεταβολισμού των κυττάρων, από τα κύτταρα αυτά στους νεφρούς για να αποβληθούν. Τις λειτουργίες αυτές της μεταφοράς τις κάνει το αίμα που κυκλοφορεί μέσα στα αγγεία του κυκλοφορικού συστήματος με τη βοήθεια της καρδιάς.

Το αίμα αποτελείται από ένα υγρό, το **πλάσμα**, και από τα έμμορφα συστατικά (κύτταρα) που διακρίνονται σε 3 κατηγορίες, τα **ερυθρά αιμοσφαίρια**, τα **λευκά αιμοσφαίρια** και τα **αιμοπετάλια**.

0.2 Εισαγωγικές γνώσεις στις τεχνικές της αιματολογίας.

α) Λήψη αίματος.

Οι συνηθέστεροι τρόποι για τη λήψη αίματος είναι η φλεβοπαρακέντηση και το τρύπημα του δακτύλου ή και μερικές φορές της φτέρνας. Η φλεβοπαρακέντηση

γίνεται από ειδικούς, αλλά η τεχνική του τρυπήματος του δάκτυλου είναι ακίνδυνη, εύκολη και γίνεται ως εξής:

α) Καθαρίζομε το δάκτυλο με ένα κομμάτι βαμβάκι, που έχει βραχεί με οινόπνευμα, και το αφήνομε να στεγνώσει.

β) Τρυπάμε στο πλάι την άκρη του δάκτυλου με ένα μαχαιράκι μιας χρήσεως. Τη στιγμή του τρυπήματος δεν πρέπει να πιέζομε το δάκτυλο που τρυπάμε.

γ) Σκουπίζομε την πρώτη σταγόνα αίματος και κατόπιν πιέζομε το δάκτυλο σαν να το αρμέγομε, για να βγει αρκετή ποσότητα αίματος.

δ) Όταν πάρομε το ποσό του αίματος που χρειαζόμαστε, σκουπίζομε το δάκτυλο με καθαρό βαμβάκι ή γάζα και ζητάμε από τον εξεταζόμενο να πιέζει το σημείο του τραύματος με ένα βαμβάκι, μέχρι να σταματήσει η μικρή αιμορραγία.

β) Αντιπηκτικά.

Πολλές φορές δε θέλομε να πήξει το αίμα που παίρνομε από έναν ασθενή. Αυτό το πετυχαίνομε αν ανακατέψωμε το αίμα, μόλις το πάρομε, με μιαν αντιπηκτική ουσία. Τα κυριότερα αντιπηκτικά που χρησιμοποιούνται είναι τα εξής:

1) Αντιπηκτικό Wintrobe.

Διαλύομε σε 100 κ. εκ. απεσταγμένου νερού 1,2 g οξαλικού αμμωνίου και 0,8 g οξαλικού καλίου και βάζομε 0,5 κ. εκ. από το διάλυμα αυτό σε κάθε σωλήνα που πρόκειται να βάλομε αίμα. Εξατμίζομε το υγρό σε θερμοκρασία 37° C και είμαστε έτοιμοι για τη λήψη του αίματος. Σε κάθε τέτοιο σωλήνα μπορούμε να βάλομε ως 5 κ. εκ. αίματος.

2) Ηπαρίνη.

Είναι συνηθισμένο αντιπηκτικό φάρμακο, που χορηγείται και σε ασθενείς που εμφανίζουν αυξημένη πηκτικότητα του αίματος.

3) Κιτρικό Νάτριο.

Διαλύομε 3,8 g του άλατος αυτού σε 100 κ. εκ. απεσταγμένου νερού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

Το πλάσμα

Το πλάσμα, όπως είπαμε παραπάνω, ειναι το υγρό μέρος του αίματος. Πρόκειται για ένα πολύ ενδιαφέρον υδατικό διάλυμα, που αποτελείται από νερό, μέσα στο οποίο έχει διαλυθεί ένας μεγάλος αριθμός ουσιών. Το συνολικό ποσό του πλάσματος ενός φυσιολογικού ατόμου αντιπροσωπεύει το 5% του σωματικού βάρους. Δηλαδή ένα άτομο βάρους 70 kg έχει 3,5 λίτρα πλάσματος. Οι ουσίες αυτές είναι ανόργανες ή οργανικές και πολλές από αυτές βρίσκονται στο πλάσμα, γιατί απλώς μεταφέρονται από μια περιοχή του οργανισμού σε κάποια άλλη. Π.χ. με το αίμα μεταφέρονται οι διάφορες θρεπτικές ουσίες από το έντερο σε όλα τα κύτταρα του σώματος.

Επίσης το διοξείδιο του άνθρακα, που παράγεται σε όλα τα κύτταρα του σώματος, πρέπει να μεταφερθεί στους πνεύμονες για να αποβληθεί. Διάφορες άλλες ουσίες που είναι επίσης προϊόντα μεταβολισμού των κυττάρων, πρέπει να μεταφερθούν από τα κύτταρα στους νεφρούς για ν' αποβληθούν. Επίσης το οξυγόνο μεταφέρεται από τους πνεύμονες σε όλα τα κύτταρα των ιστών του σώματος και η μεταφορά αυτή γίνεται με τη βοήθεια του αίματος. Σχεδόν όλες οι ουσίες που μεταφέρονται με το αίμα (εκτός από το οξυγόνο), μεταφέρονται διαλυμένες μέσα στο πλάσμα. Το πώς μεταφέρεται το οξυγόνο θα το εξετάσουμε όταν θα μιλήσουμε για τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Ας μείνομε όμως, για την ώρα, στο πλάσμα.

Λέγαμε λοιπόν ότι το πλάσμα είναι ένα πολύ ενδιαφέρον υδατικό διάλυμα, που περιέχει διαλυμένες σε μεγάλο αριθμό ανόργανες και οργανικές ουσίες. Οι κύριες ανόργανες ουσίες που υπάρχουν στο πλάσμα είναι τα διάφορα άλατα, όπως το χλωριούχο νάτριο, χλωριούχο κάλιο, άλατα φωσφορικού οξέος, όξινο ανθρακικό νάτριο κ.λ.π. Μια από τις πιο σημαντικές λειτουργίες μερικών από αυτά τα άλατα είναι να κρατούν σταθερή την οξύτητα του πλάσματος. Όπως γνωρίζουμε από τη Χημεία, η οξύτητα των υγρών μετριέται σε μονάδες pH. Όταν ένα υγρό έχει pH μέχρι 7 είναι όξινο. Όταν έχει pH πάνω από 7 είναι αλκαλικό. Το πλάσμα, που όπως είπαμε είναι και αυτό ένα υγρό, έχει pH 7,4 δηλαδή είναι λίγο αλκαλικό. Το pH του πλάσματος είναι απαραίτητο να μένει σταθερό στο 7,4. Μια πολύ μικρή μεταβολή του pH του πλάσματος πάνω ή κάτω από το 7,4 μπορεί να προκαλέσει πολύ σημαντικές βλάβες στον οργανισμό. Για το λόγο αυτό υπάρχουν έτοιμοι μηχανισμοί που αντιρροπίζουν κάθε μικρή μεταβολή του pH. Πολύ σημαντικό ρόλο στους μηχανισμούς αυτούς παίζουν και ανόργανα άλατα, όπως το όξινο ανθρακικό νάτριο.

Τα κύρια οργανικά συστατικά του πλάσματος είναι η γλυκόζη, τα διάφορα λίπη, πρωτεΐνες, αμινοξέα, ουρία κ.λ.π. Από τα συστατικά αυτά ιδιαίτερη σημασία έχουν

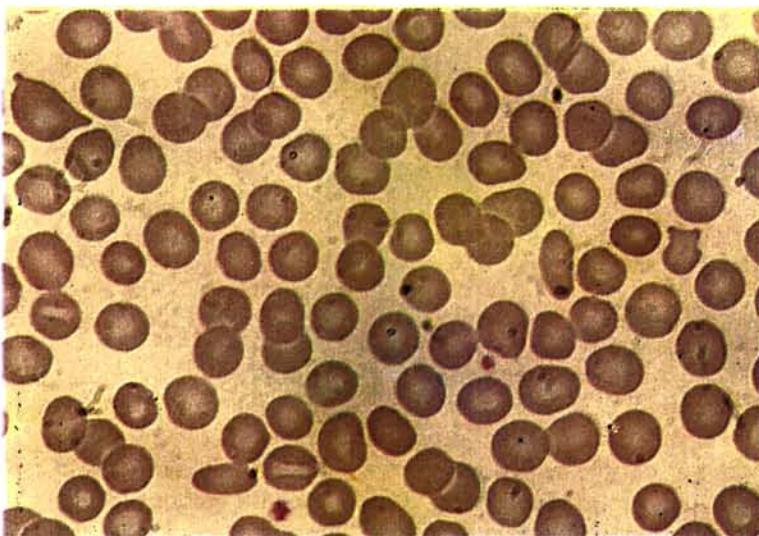
οι πρωτείνες. Αυτές χωρίζονται σε 3 κατηγορίες, τις λευκωματίνες, τις σφαιρίνες και το ινωδογόνο. Οι σφαιρίνες χωρίζονται πάλι στις α_1 , α_2 , β_1 , β_2 και γ σφαιρίνες. Στις γ σφαιρίνες ανήκουν και τα γνωστά από τη φυσιολογία αντισώματα, όπως και οι συγκολλητίνες πρωτεΐνες που και αυτές είναι αντισώματα. Εκτός από το ινωδογόνο στις πρωτείνες του αίματος ανήκουν και οι άλλες ουσίες που έχουν σχέση με τη πήξη του αίματος, όπως είναι η προθρομβίνη (βλέπε Φυσιολογία). Πολλές από τις πρωτείνες χρησιμεύουν επίσης ως μεταφορικό μέσο διαφόρων ουσιών, όπως τοι σιδήρου, τις οποίες προσλαμβάνουν από περιοχές που υπάρχουν οι ουσίες αυτές σε αφθονία και τις μεταφέρουν σε άλλες περιοχές, όπου η παρουσία τους είναι α παραίτητη για τη λειτουργία του οργανισμού. Οι διάφορες πρωτείνες του πλάσμα τος μπορούν να διαχωρισθούν η μία από την άλλη με διάφορες τεχνικές. Η τεχνική που χρησιμοποιείται κυρίως σήμερα είναι η ηλεκτροφόρηση. Η τεχνική αυτή περιγράφεται στο κεφάλαιο της αιμοσφαιρίνης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

Το ερυθρό αιμοσφαίριο

2.1 Μορφολογικές παρατηρήσεις.

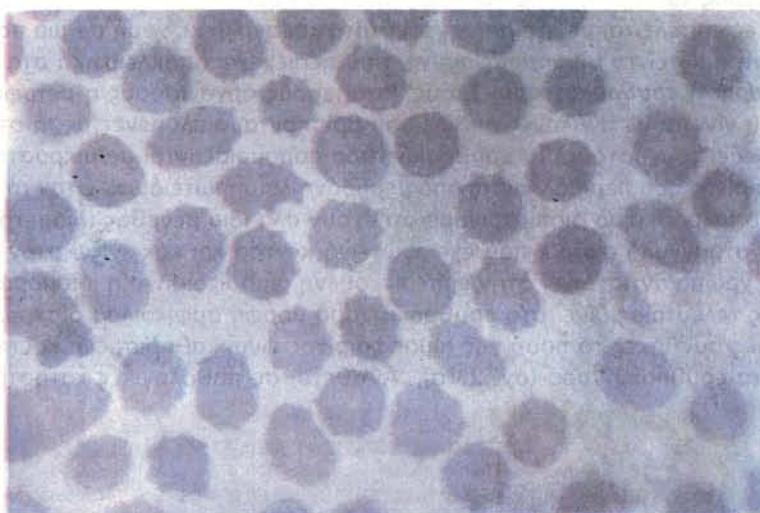
Στους ανώτερους οργανισμούς η μεταφορά του οξυγόνου από τους πνεύμονες στους ιστούς και η μεταφορά του διοξειδίου του άνθρακα από τους ιστούς στους πνεύμονες επιτελείται με εξαιρετική ταχύτητα και ακρίβεια, χάρη σε μια πολύ εξειδικευμένη πρωτεΐνη, την **αιμοσφαιρίνη**, που περιέχεται αποκλειστικά στα **ερυθρά αιμοσφαιρία** ή **ερυθροκύτταρα**. Στους κατώτερους οργανισμούς η μεταφορά του οξυγόνου γίνεται με ανάλογες ουσίες που βρίσκονται διαλυμένες μέσα στο υγρό, που αρδεύει τους ιστούς. Τα ερυθροκύτταρα παρομοιάζονται με μικροσταγονίδια αιμοσφαιρίνης που περιβάλλονται από μεμβράνη λιποπρωτεΐδων. Όταν τα μελετήσομε στο μικροσκόπιο διαπιστώνομε ότι έχουν όλα ίδιο μέγεθος (διάμετρος 7 μικρά) και στρογγυλό σχήμα, που έχει φωτεινό κέντρο και κοκκινίζει στην περιφέρεια. Το χρώμα αντιστοιχεί στην εμπειρεχόμενη αιμοσφαιρίνη· η ιδιόμορφη κατανομή της τελευταίας δίνει στο ερυθροκύτταρο μορφή αμφίκοιλου δίσκου. Σε φυσιολογικές συνθήκες το ποσό της αιμοσφαιρίνης είναι καθορισμένο και παρόμοιο σε όλα τα ερυθροκύτταρα (σχ. 2.1α). Αντίθετα, σε παθολογικές καταστάσεις το



Σχ. 2.1α.

Φυσιολογικά ερυθροκύτταρα. Τα ερυθροκύτταρα είναι ισομεγέθη και στρογγυλά. Το ποσό της αιμοσφαιρίνης που περιέχουν είναι ομοιόμορφο και δίνει στα περισσότερα τη μορφή δακτυλίου (ορθόχρώμα ερυθροκύτταρα, νορμοκύτταρα).

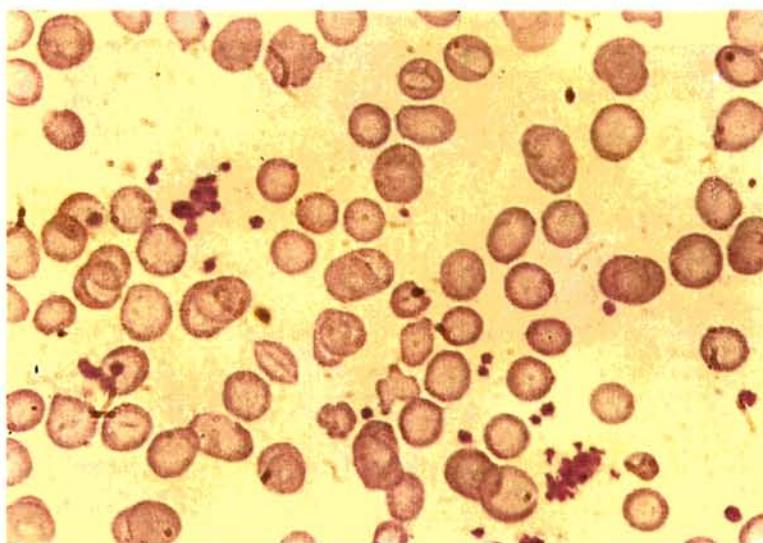
μέγεθος, το ωχημα και το ποσό της αιμοσφαιρίνης των ερυθροκυττάρων μπορεί να παραλλάσσει. Οι αντίστοιχες μεταβολές χαρακτηρίζονται με τους ευνόητους όρους **ανισοκυττάρωση** (μικροκυττάρωση, μακροκυττάρωση), **ποικιλοκυττάρωση** (σφαιροκυττάρωση, λεπτοκυττάρωση, ελλειψοκυττάρωση κ.ά.) και **ανισοχρωμία**, που έρχονται σε αντίθεση με την **ορθο** (νορμο) **κυττάρωση** και **ορθο** (νορμο) **χρωμία** των φυσιολογικών ερυθρών. Ο όρος **υποχρωμία** υποδηλώνει ελλειπή πλήρωση των ερυθροκυττάρων με αιμοσφαιρίνη. Η μελέτη της **μορφολογίας** των **ερυθροκυττάρων** στο μικροσκόπιο γίνεται με άνεση σε λεπτές επιστρώσεις αίματος, μετά κατάλληλη χρώση (σχ. 2.1β έως και 2.1α). Οι διακυμάνσεις μεγέθους και ποσότητας αιμοσφαιρίνης μπορούν ακόμη να εκφρασθούν ποσοτικά με **δείκτες**, που ιππολογίζονται μετά τις κατάλληλες μετρήσεις (επόμενο κεφάλαιο).



Σχ. 2.1β.

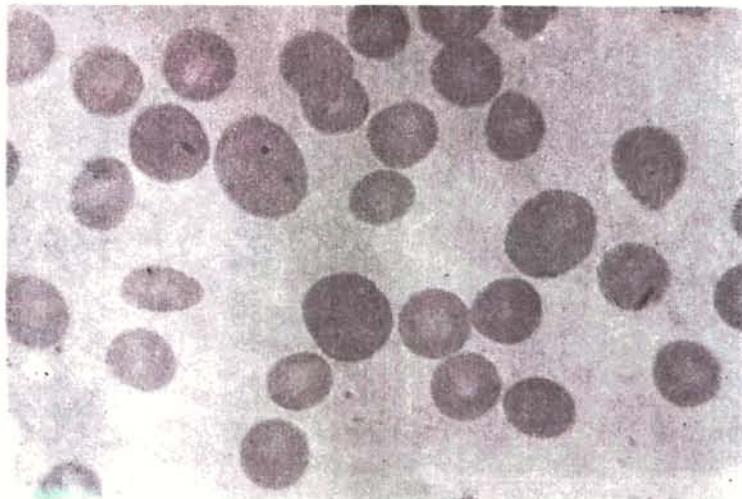
ακό παρασκευασμα. Τα ερυθροκύτταρα έχουν χάσει το γνωστό σχήμα τους, έγιναν σφαιρικά και ανικτησαν πολλαπλές προσεκβολές. Είναι φανερό πως καμιά από τις σημαντικές μορφολογικές μεταβολές που περιγράφηκαν δεν μπορεί να μελετηθεί σε αυτό το παρασκεύασμα. Οφείλεται σε ακάθαρτη αντικειμενοφόρο πλάκα, κακή στερέωση (υγρασία!) και βιαστική χρώση.

Τα ερυθροκύτταρα του ανθρώπου δεν έχουν πυρήνα και δεν πολλαπλασιάζονται. Αποτελούν τις τελικές μορφές των ερυθροβλαστών του μυελού και έχουν μία μόνη συγκεκριμένη αιγοστολή, τη μεταφορά αερίων. Οι ερυθροβλάστες είναι εμπύρηνα κύτταρα, που πολλαπλασιάζονται και ωριμάζουν μέσα στο μυελό των οστών. Η ωριμανση·συνοδεύεται από αθρόα σύνθεση αιμοσφαιρίνης. Όταν η τελευταία γεμίσει σχεδόν το κύτταρο, τότε ο πυρήνας αποβάλλεται και το ερυθρό αιμοσφαιρίο αποδίδεται στο κύκλοφορούμενο αίμα. Η πλήρωση του ερυθροκυττάρου με αιμοσφαιρίνη (το τελευταίο 5% περίπου του συνόλου) συμπληρώνεται στην περιφέρεια· η συνέχιση της συνθέσεως αιμοσφαιρίνης εξασφαλίζεται με ουτίες που αποτελούν υπολείμματα του πυρήνα. Οι τελευταίες παίρνουν τη μορφή



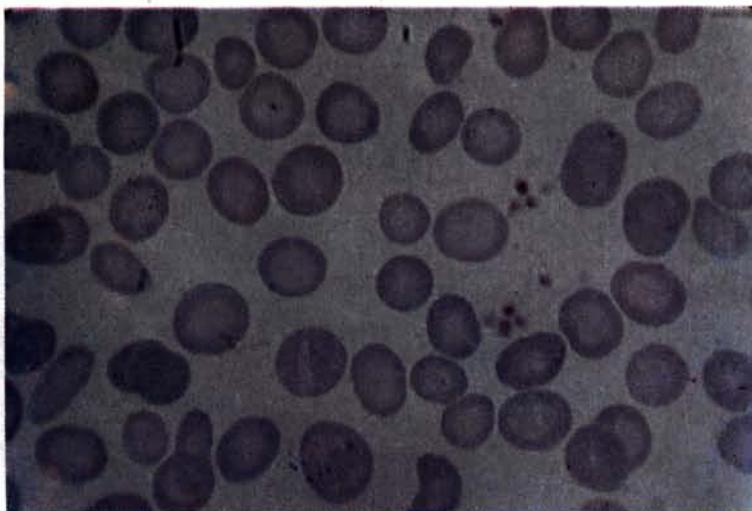
Σχ. 2.1γ.

Υπόχρωμα ερυθροκύτταρα σε σιδηροπενική αναιμία. Η κεντρική διαύγαση είναι ευρύτερη και το μέγεθος των ερυθροκυττάρων άνισο. Πολλά από αυτά είναι μικρότερα από το κανονικό (**υποχρωμία, ανισοκυττάρωση, μικροκυττάρωση**). Τα μικρά βαθύχρωμα σωματίδια είναι αιμοπετάλια (ο αριθμός τους αυξάνεται στις σιδηροπενικές αναιμίες).¹



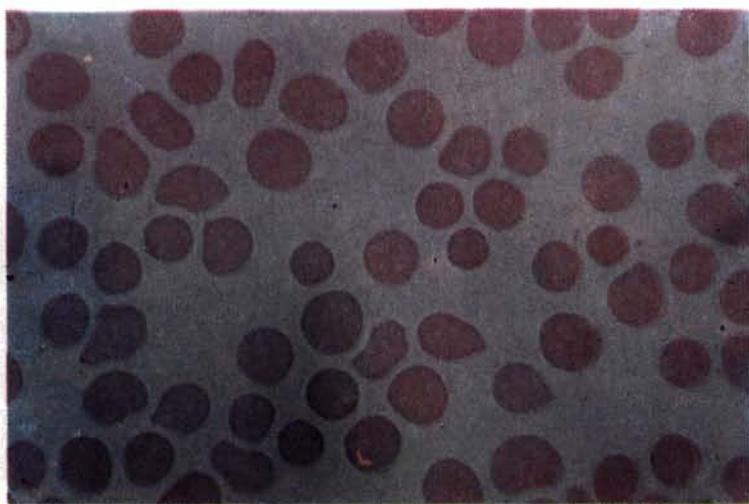
Σχ. 2.1δ.

Μακροκύτταρα. Είναι σαφώς μεγαλύτερα από το κανονικό και μοιάζουν γεμάτα με αιμοσφαιρίνη (παλιότερος χαρακτηρισμός: «υπέρχρωμα ερυθροκύτταρα». Δεν είναι σωστός και δεν πρέπει να χρήσιμοποιείται). Στο παρασκέυασμα σημειώνεται ακόμη ότι τα ερυθροκύτταρα είναι ανισομεγέθη (μακροκυττάρωση, ανισοκυττάρωση). Πρόκειται για μακροκυτταρική αναιμία που απαντάται συνήθως σε έλλειψη βιταμίνης B_{12} ή φυλλικού οξέος.



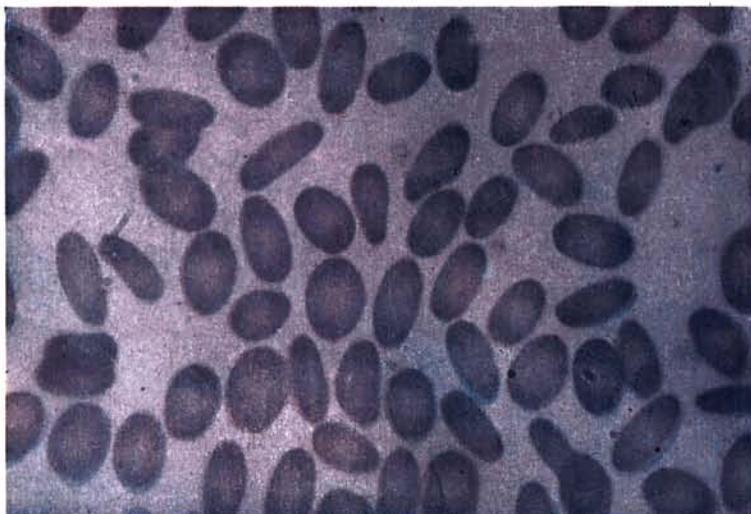
Σχ. 2.1ε.

Υποχρωμία, ανισοκυττάρωση, μικροκυττάρωση και ποικιλοκυττάρωση. Αποτελούν χαρακτηριστικά της ετερόζυγης β - Μεσογειακής αναιμίας και της σιδηροπενικής αναιμίας. Στην πρώτη η ποικιλοκυττάρωση είναι περισσότερο έντονη.



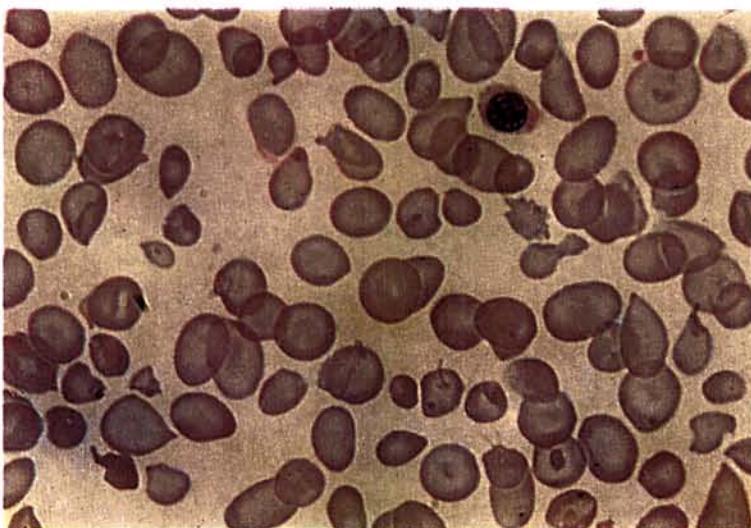
Σχ. 2.1στ.

Σφαιροκυττάρωση. Τα ερυθροκύτταρα είναι μικρότερα από το φυσιολογικό, έχουν χάσει την κεντρική τους διαύγαση και μοιάζουν με σφαίρες. Η σφαιροκυττάρωση είναι χαρακτηριστική μιας συγγενούς αιμολυτικής αναιμίας που ονομάζεται «σφαιροκυτταρικός ίτερος».



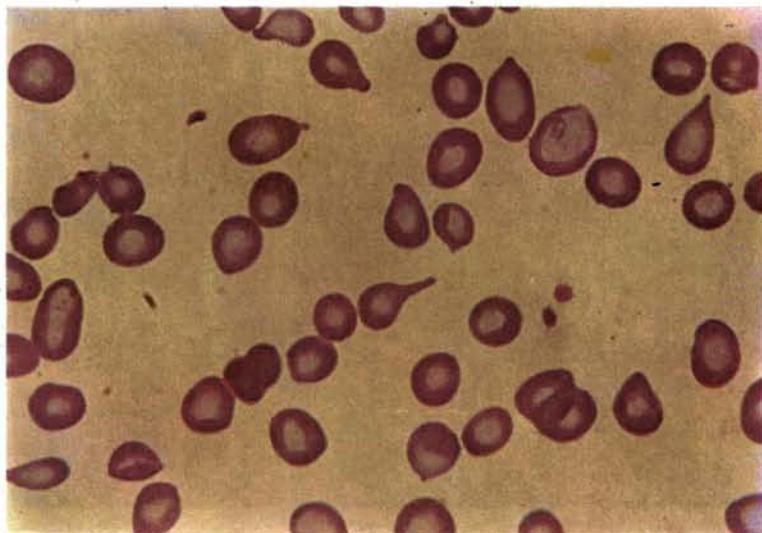
Σχ. 2.1ζ.

Ελλειπτοκυττάρωση. Τα ερυθροκύτταρα έχουν χαρακτηριστικό ελλειπτικό σχήμα. Πρόκειται για ..
γονομική ανωμαλία των σχήματος των ερυθροκυττάρων και δεν αποτελεί παθολογική κατάσταση.



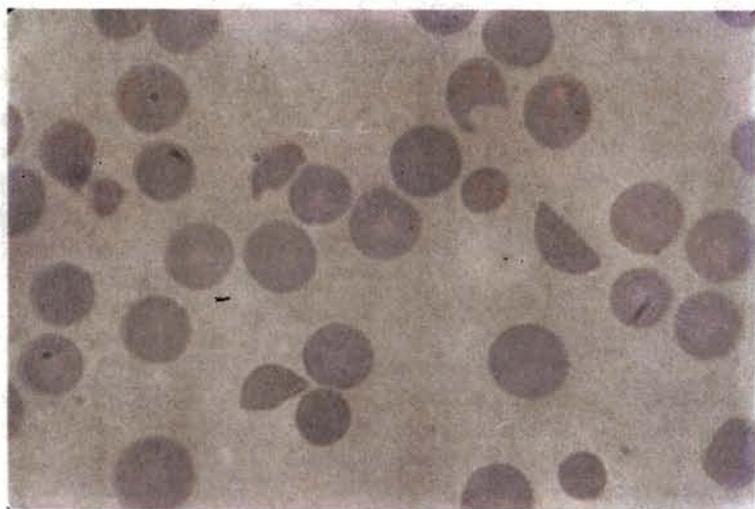
Σχ. 2.1η.

Εντονη ποικιλοκυττάρωση, υποχρωμία και ανισοκυττάρωση σε περίπτωση ομόζυγης β - Μεσογειοκής αναιμίας. Το εμπύρηνο κύτταρο είναι ερυθροβλάστης.



Σχ. 2.10.

Εντονη ποικιλοκυττάρωση, υποχρωμία και ανισοκυττάρωση σε περίπτωση ουδζυνπ Β - Μεσογειακής αναιμίας.



Σχ. 2.11.

Τριγωνικά και οξύαιχμα κύτταρα που εμφανίζονται όταν υπάρχει «ενδαγγειακή αιμόλυση». (Τα ερυθροκύτταρα καταστρέφονται συνήθως για μηχανικούς λόγους μέσα στα αγγεία).



Σχ. 2.1α.

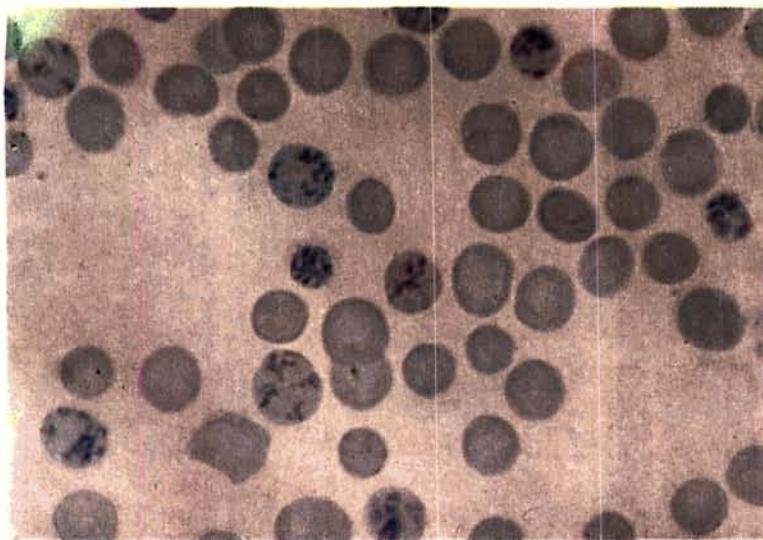
Επειδή το αίμα της βαριάς δρεπανοκυτταρικής αναιμίας (ομόζυγη δρεπανοκυτταρική αιμοσφαιρινοπάθειας S με β - Μεσογειακή αναιμία). Το σχήμα τους είναι χαρακτηριστικό.

δικτύου, όταν τα ερυθροκύτταρα χρωσθούν με ειδική τεχνική. Για το λόγο αυτό τα νεαρά ερυθροκύτταρα ονομάζονται **δικτυοερυθροκύτταρα** ή **δικτυοκύτταρα** ή **ΔΕΚ**. Σε φυσιολογικές συνθήκες περίπου 1% των ερυθροκυττάρων του αίματος είναι δικτυοερυθροκύτταρα. Σε παθολογικές καταστάσεις ο αριθμός των ΔΕΚ διακυμαίνεται. Η αξιόλόγηση των διακυμάνσεων αυτών μπορεί να αποτελέσει σημαντικό διαγνώστικό στοιχείο (σχ. 2.1β).

Η ωρίμανση των ερυθροβλαστών στο μυελό χαρακτηρίζεται από σαφείς μορφολογικές μεταβολές. Οι μεταβολές αυτές μπορούν νά μελετηθούν στο μικροσκόπιο, όταν μία σταγόνα μυελικού πολφού επιστραθεί σε αντικειμενοφόρο πλάκα και χρωματισθεί με τις κατάλληλες χρωστικές. Οι χρωστικές που χρησιμοποιούνται στη μελέτη των κυττάρων του αίματος γενικά αποτελούν μείγματα χρωστικών ουσιών, από τις οποίες άλλες μεν είναι **βασικές** και χρωματίζουν εκλεκτικά («φιλούν») τα δίχινα συστατικά των κυττάρων (**πυρήνας, βασεόφιλα κοκκία**), άλλες δε είναι **διχίνες** και χρωματίζουν τα **βασικά** συστατικά, όπως το **πρωτόπλασμα** και τα **ηωσινόφιλα** κοκκία (**ηωσίνη**, η πιο συνήθης δίχινη χρωστική). Οι μορφολογικές μεταβολές της ωριμάνσεως των ερυθροβλαστών ακολουθούν το γενικό κανόνα, που συνοψίζεται στη συνέχεια και το σχήμα 2.1γ.

Το **άωρο** κύτταρο χαρακτηρίζεται από:

- μεγάλο μέγεθος,
- μεγάλο πυρήνα,
- η χρωματίνη του πυρήνα σχηματίζει λεπτό δίκτυο,
- στα διάκενα του δικτύου διαφαίνονται ένα ή περισσότερα πυρήνια,
- το πρωτόπλασμα είναι ελαφρά βασεόφιλο (χρωματίζεται γαλάζιο).



Σχ. 2.1ιβ.

Δικτυοερυθροκύτταρα. Γίνονται εμφανή μετά ειδική χρώση και μοιάζουν με κοκκία που συνδέονται μεταξύ τους με λεπτά νήματα. Σε φυσιολογικά άτομα αποτελούν το 1% των ερυθροκυττάρων. Εδώ είναι πολύ ηυξημένα (περίπου 15%). Πρόκειται για αιμολυτική αναιμία με-έντονη «ανάπλαση».

Με την ωρίμανση του κυττάρου:

- α) το μέγεθος μικραίνει,
- β) ο πυρήνας μικραίνει περισσότερο,
- γ) το πρωτόπλασμα γίνεται οξύφιλο (χρωματίζεται κοκκινωπό. Η αιμοσφαιρίνη είναι οξύφιλη ουσία για το λόγο αυτό το πρωτόπλασμα των ωρίμων ερυθροβλαστών βάφεται κοκκινωπό με τις συνήθεις «πανοπτικές» χρωστικές).
- δ) η χρωματίνη του πυρήνα γίνεται αδρή και
- ε) τα πυρήνια εξαφανίζονται.

Το σχήμα 2.1ιγ δείχνει τη μορφολογική εξέλιξη του άωρου ερυθροβλάστη μέχρι το ώριμο ερυθροκύτταρο.

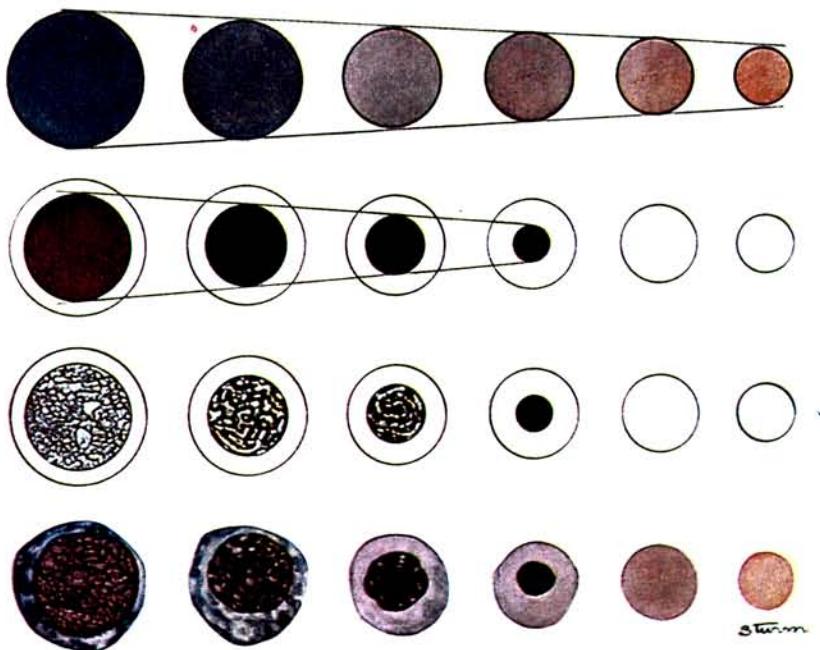
2.2 Μετρήσεις.

α) Ολικός όγκος αίματος.

Υπό κανονικές συνθήκες κάθε άτομο έχει μια καθορισμένη ποσότητα αίματος, που είναι ανάλογη προς το μέγεθος του σώματός του (περίπου 8% του σωματικού βάρους στους ενήλικους).

β) Αιματοκρίτης.

Όπως έχομε ήδη αναφέρει, το αίμα αποτελείται από το πλάσμα και τα έμμορφα (κυτταρικά) συστατικά (κυρίως ερυθροκύτταρα). Ο όγκος των τελευταίων σε σχέ-



Σχ. 2.1η.

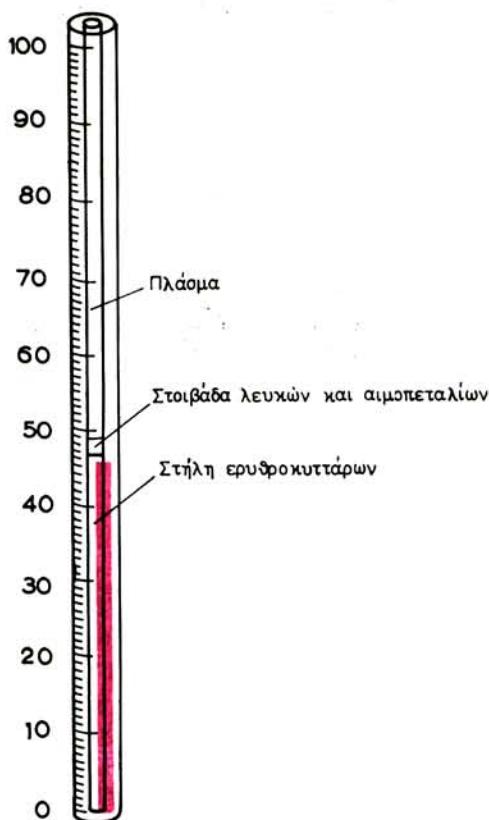
Σχηματική και μορφολογική ωρίμανση του ερυθροβλάστη.

- A. Μέγεθος κυττάρου και χρώμα πρωτοπλάσματος.
- B. Μέγεθος και χρώμα πυρήνα.
- Γ. Δομή πυρηνικής χρωματίνης.
- Δ. Εικόνες ωριμάνσεως ερυθροβλαστών.

ση προς το συνολικό όγκο του αίματος ονομάζεται **αιματοκρίτης**. Ο αιματοκρίτης μπορεί να μετρηθεί όταν ένα δείγμα αίματος τοποθετηθεί μέσα σε ένα στενό σωληνάριο και φυγοκεντρηθεί αρκετά γρήγορα, ώστε τα έμμορφα συστατικά να επιστοιβαχθούν προς τον πυθμένα. Στη συνέχεια, ο όγκος που καταλαμβάνουν τα ερυθροκύτταρα διαβάζεται ως ποσοστό πάνω στο συνολικό όγκο του δείγματος. Υπό κανονικές συνθήκες, η μέση τιμή του αιματοκρίτη σε υγιείς νέους Έλληνες είναι $47 \pm 5\%$. Στις γυναίκες και τα παιδιά ο αιματοκρίτης είναι μικρότερος. Η μέση τιμή για υγιείς νέες Ελληνίδες είναι $42 \pm 5\%$ (πίνακας 1). Μετά καλή φυγοκέντρηση πάνω από τη στοιβάδα του αιματοκρίτη διακρίνεται μία λευκωπή ταινία πάχους περίπου 1 χιλιοστού (1 mm). Η ταινία αυτή σχηματίζεται από τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια. Η επισκόπηση του πλάσματος μας δίνει χρήσιμες πληροφορίες για το σίδηρο και τη χολερευθρίνη, που περιέχονται μέσα σ' αυτό: είναι σχεδόν άχρωμο, όταν υπάρχει **σιδηροπενία** και πολύ κίτρινο, όταν υπάρχει **Ικτερός**.

Τεχνική μετρήσεως του αιματοκρίτη (σχ. 2.2α).

Χρησιμοποιούνται σωληνίσκοι Wintrobe, που χωρούν περίπου 1 ml και έχουν υποδιαιρέσεις από 0 ως 100. Η πλήρωσή τους ως το 100 γίνεται με λεπτή πιπέτα Pasteur, αρχίζοντας πάντοτε από τον πυθμένα για να μη σχηματισθούν φυσαλίδες αέρα. Η φυγοκέντρηση μπορεί να γίνει σε οποιαδήποτε γρήγορη φυγόκεντρο με μεγάλη διάμετρο κεφαλής, που θα εξασφαλίσει καλή επιστοίβαξη των κυττάρων προς τον πυθμένα. Οι συνήθεις συνθήκες είναι 3000 στροφές / λεπτό



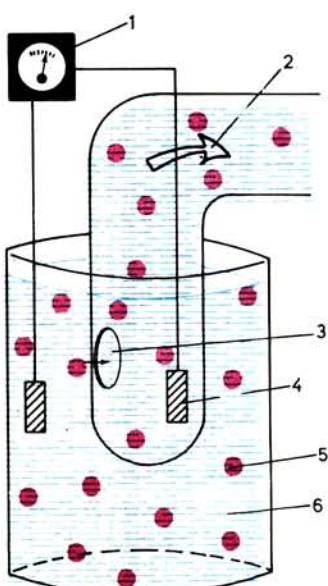
Σχ. 2.2α.
Σωληνίσκος αιματοκρίτη.

επί 30 λεπτά για ακτίνα τουλάχιστον 22.5 cm. Η επαρκής φυγοκέντρηση βεβαιώνεται με την παρατήρηση, ότι η κόκκινη στοιβάδα των ερυθροκυττάρων γίνεται διάφανη (φαινόμενο Κοερκε). Ο όγκος των ερυθροκυττάρων (αιματοκρίτης) διαβάζεται ως ποσοστό στα 100 πάνω στη χαραγμένη κλίμακα. Η μέτρηση του αιματοκρίτη είναι αξιόπιστη τεχνική· το επιτρεπόμενο λάθος δεν πρέπει να ξεπερνά τα 2%. Σε περιπτώσεις μεγάλης λευκοκυτταρώσεως είναι σκόπιμο να σημειώνομε και το ποσοστό της «στήλης των λευκών».

γ) Αριθμός ερυθροκυττάρων.

Η σταθερότητα του αιματοκρίτη στους υγιείς ανθρώπους σημαίνει ότι και ο αριθμός των ερυθροκυττάρων που περιέχονται σε έναν ορισμένο όγκο αίματος είναι σταθερός κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Η παράμετρος αυτή μπορεί να μετρηθεί. Για το σκοπό αυτό ένας ελάχιστος όγκος αίματος μετρημένος με ακρίβεια (συνήθως 20 μl) αραιώνεται σε καθορισμένο όγκο ειδικού διαλύματος. Στη συνέχεια, μια σταγόνα από το εναιώρημα τοποθετείται μέσα σε θάλαμο καθορισμένου όγκου, που έχει κατασκευασθεί πάνω σε ειδική αντικειμενοφόρο πλάκα (Neubauer) και τα ερυθροκύτταρα που εμπεριέχονται καταμετρούνται στο μικροσκόπιο. Ο αριθμός αυτός ανάγεται με υπολογισμό σε ερυθροκύτταρα ανά μl (κυβικό χιλιοστό). Οι φυσιολογικές τιμές της παραμέτρου αυτής για υγιή άτομα δίνονται στον πίνακα 1. Η μέθοδος της αραιώσεως/καταμετρήσεως ερυθροκυττάρων είναι επίπονη και χρειάζεται χρόνο και προσοχή στις λεπτομέρειες για να δώσει αξιόπιστα αποτελέσματα. Το ανεκτό όριο λάθους φθάνει τα $\pm 10\%$.

Στην πράξη σήμερα για την αρίθμηση των ερυθροκυττάρων χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο ειδικές ηλεκτρονικές συσκευές. Αυτές βασίζονται σε διάφορες αρχές της Φυσικής. Μία από τις περισσότερο συνηθισμένες περιγράφεται στη συνέχεια. Ένας σωληνίσκος με μια πολύ μικρή οπή στον πυθμένα (συνήθως 50 - 100 μ) τοποθετείται μέσα σε ένα μεγαλύτερο δοχείο, που περιέχει κατάλληλο διάλυμα ηλεκτρολυτών (π.χ. ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου). Το διάλυμα γεμίζει και το μικρό σωλήνα. Στο εσωτερικό του τελευταίου υπάρχει ένα ηλεκτρόδιο. Ένα άλλο ηλεκτρόδιο βρίσκεται στό εξωτερικό δοχείο (σχ. 2.2β). Αν στα δύο



Σχ. 2.2β.

Οι αρχές της ηλεκτρονικής μετρήσεως των ερυθροκυττάρων ενός εναιωρήματος. Το ερυθροκύτταρο που θα περάσει από την οπή του εσωτερικού σωλήνα θα εκτοπίσει έναν ανάλογο όγκο διαλύματος ηλεκτρολυτών και θα επιφέρει διαταραχή στη σταθερή διαφορά δυναμικού πού εφαρμόζεται στα δύο ηλεκτρόδια. Η μεταβολή αυτή μπορεί να μεταβληθεί και να καταγραφεί.

- 1) Καταμέτρηση των μεταβολών διαφοράς τάσεως.
- 2) Αναρρόφηση που υποχρεώνει τα ερυθροκύτταρα του εναιωρήματος να περάσουν μέσα από την οπή.
- 3) Είσοδος εσωτερικού σωλήνα.
- 4) Εσωτερικό ηλεκτρόδιο.
- 5) Ερυθροκύτταρα σε δυσανάλογη μεγέθυνση.
- 6) Διάλυμα μη ηλεκτρολύτες.

ηλεκτρόδια εφαρμοσθεί μια διαφορά δυναμικού, το ρεύμα που θα περάσει εξαρτάται από την αγωγιμότητα του διαλύματος και τη διατομή της οπής που ενώνει τα δυο διαμερίσματα. Αν συμβεί μέσα από την οπή να περάσει ένα σωματίδιο (π.χ. ερυθροκύτταρο), το ρεύμα που περνά ανάμεσα στα ηλεκτρόδια μεταβάλλεται. Η μεταβολή αυτή μπορεί να καταγραφεί. Για τη μέτρηση των ερυθροκυττάρων παρασκευάζεται με ακρίβεια κατάλληλη αραίωση αίματος (συνήθως 1 : 50.000) μέσα σε ηλεκτρολυτικό διάλυμα και ένας καθορισμένος όγκος από το εναιώρημα διοχετεύεται από το εξωτερικό δοχείο μέσα στο σωληνίσκο. Η διέλευση κάθε ερυθροκυττάρου (όταν η αραίωση είναι κατάλληλη) μέσα από την οπή επικοινωνίας αλλάζει στιγμιαία την αγωγιμότητα και καταγράφεται ως παλμός. Η άθροιση των παλμών ενός ορισμένου όγκου εναιωρήματος ερυθροκυττάρων επιτρέπει τον υπολογισμό του αριθμού των ερυθροκυττάρων ανά μι αίματος. Η μέθοδος είναι ακριβής και το ανεκτό λάθος δεν ξεπερνά τα $\pm 4.0\%$.

δ) Αιμοσφαιρίνη.

Ο αριθμός των ερυθροκυττάρων μέσα σε ένα καθορισμένο όγκο αίματος μπορεί να υπολογισθεί πολύ πιο αξιόπιστα, αν τα ερυθροκύτταρα αυτά αιμολυθούν και η εμπειρεχόμενη αιμοσφαιρίνη μετρηθεί σε κατάλληλο φωτόμετρο. Η μέθοδος αυτή είναι η πιο συνηθισμένη, γιατί είναι εύκολη, γρήγορη, φθηνή και αξιόπιστη. Η καθιερωμένη έκφραση είναι: γραμμάρια αιμοσφαιρίνης ανά 100 κυβικά εκατοστά αίματος (g%). Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες οι μέσες τιμές αιμοσφαιρίνης για τον Ελληνικό πληθυσμό είναι 15.4 ± 1.0 g% στους άνδρες και 13.3 ± 0.7 g% στις γυναίκες. Η μέτρηση γίνεται με διάφορους τρόπους. Σήμερα έχει καθιερωθεί διέθνως η μέθοδος Drabkin, στην οποία η αιμοσφαιρίνη του αιμολύματος μετατρέπεται σε μια σταθερή της ένωση που λέγεται **κυανιομεθαμοσφαιρίνη**.

Τεχνική μετρήσεως αιμοσφαιρίνης.

Έλλυμα Drabkin:

KCN (κυανιούχο κάλιο) 50 mg

$K_3 [Fe_3(CN)_6]$ (σιδηρικυανιούχο κάλιο) 200 mg

$NaHCO_3$ (διπτανθρακικό νάτριο) 1000 mg

Συμπληρώνονται στα 1000 ml με απεσταγμένο νερό.

0.020 ml αίματος (20 μl) αραιώνονται μέσα σε 5.0 ml διαλύματος Drabkin. Μετά πάροδο 30' το χρώμα του αιμολύματος προσδιορίζεται ως **οπτική πυκνότητα** (απορρόφηση φωτός) σε μήκος κύματος φωτός 540 nm και ανάγεται σε g αιμοσφαιρίνης στα 100 ml αίματος με βάση πρότυπη καμπύλη. Η τελευταία παρασκευάζεται εύκολα με κατάλληλες αραιώσεις προτύπων διαλυμάτων, που υπάρχουν στο εμπόριο.

2.3 Αξιολόγηση των μετρήσεων.

Στο κείμενο και τον πίνακα 1 δίνονται οι φυσιολογικές τιμές του αιματοκρίτη του αριθμού ερυθροκυττάρων και της αιμοσφαιρίνης για τον Ελληνικό πληθυσμό. Κάθε σημαντική απομάκρυνση από τις τιμές αυτές αποτελεί παθολογική κατάστα-

ση. Είναι ευνόητο, ότι και οι τρεις παράμετροι (αιματοκρίτης, αριθμός ερυθροκυττάρων και αιμοσφαιρίνη) κινούνται παράλληλα όταν διακυμαίνονται. Αυτό είναι φυσικό, αφού όλες δείχνουν το ίδιο πράγμα ουσιαστικά. Στην πράξη λοιπόν θα μπορούσαμε να μετρούμε μόνο τη μία τιμή για να κρίνομε την αιματολογική εικόνα κάθε ατόμου. Ωστόσο, αυτό δεν πρέπει να γίνεται. Στο Εργαστήριο προτιμούμε να προσδιορίζουμε και τις τρεις παραμέτρους πάντοτε, για δύο λόγους:

— πρώτον, γιατί επιτυγχάνομε καλύτερη αξιοπιστία και αλληλοέλεγχο των αποτελεσμάτων και

— δεύτερον, γιατί γνωρίζοντας και τις τρεις τιμές μπορούμε να υπολογίσουμε τους ερυθροκυτταρικούς **δείκτες**, που βοηθούν σημαντικά στην αξιολόγηση κάθε ασθενούς.

Η μείωση του αιματοκρίτη (ή των άλλων παραμέτρων) ονομάζεται **αναιμία**. Αντίθετα, η αύξηση των παραπάνω τιμών πάνω από τα φυσιολογικά όρια ονομάζεται **ερυθραιμία** ή **ερυθροκυττάρωση**.

Ερυθροκυτταρικοί δείκτες.

Στην περιγραφή της μορφολογίας των ερυθροκυττάρων αναφέραμε ότι κάτω από φυσιολογικές συνθήκες τα ερυθροκύτταρα είναι όλα όμοια μεταξύ τους, με άλλα λόγια έχουν το ίδιο μέγεθος και περιέχουν την ίδια ποσότητα αιμοσφαιρίνης. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να εκφρασθεί ποσοτικά. Έτσι, αν διαιρέσουμε την αιμοσφαιρίνη που περιέχουν τα ερυθροκύτταρα 100 ml αίματος (αιμοσφαιρίνη σε 9%, όπως είδαμε παραπάνω) με το συνολικό αριθμό των ερυθροκυττάρων που περιλαμβάνονται στον ίδιον όγκο αίματος, παίρνομε μία τιμή που αντιπροσωπεύει το ποσό της αιμοσφαιρίνης που βρίσκεται μέσα σε κάθε ερυθροκύτταρο. Η τιμή αυτή ονομάζεται **μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο** και συμβολίζεται με τα ξένα στοιχεία MCH*:

$$MCH = \frac{\text{Hb (g\%)}}{\text{αριθμός ερυθροκυττάρων 100 ml αίματος}}$$

Με την ίδια σκέψη, αν διαιρέσουμε τον όγκο που καταλαμβάνουν τα ερυθροκύτταρα 100 ml αίματος με τον αριθμό των ερυθροκυττάρων που περιλαμβάνονται στον ίδιο όγκο αίματος, παίρνομε μία δεύτερη σημαντική τιμή, που είναι ο μέσος όγκος ενός ερυθροκυττάρου και συμβολίζεται διεθνώς με τα ξένα στοιχεία MCV**:

$$MCV = \frac{\text{Αιματοκρίτης (\%)}}{\text{αριθμός ερυθροκυττάρων σε 100 ml αίματος}}$$

Είναι φανερό, ότι οι αριθμοί αυτοί είναι πάρα πολύ μικροί και δεν θα ασχοληθούμε περισσότερο εδώ με τον τρόπο που γίνεται η διαίρεση. Πολύ απλά, οι τιμές MCH και MCV αντιστοιχούν στους δύο πρώτους αριθμούς που προκύπτουν από τη

* MCH, από το αγγλικό Mean Corpuscular Hemoglobin.

** MCV, από το αγγλικό Mean Corpuscular Volume.

διαιρεση της αιμοσφαιρίνης ή του αιματοκρίτη με τον αριθμό των ερυθροκυττάρων ανά ml, αγνοώντας την υποδιαστολή και τα δεκαδικά ψηφία της διαιρέσεως. Έτσι κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης στα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα είναι:

$$MCH = \frac{\text{αιμοσφαιρίνη (g\%)}}{\text{αριθμός ερυθροκυττάρων / ml}} = \frac{15}{5.000.000}$$

που εμπειρικά γίνεται 30*.

Με τον ίδιο τρόπο, ο μέσος όγκος των φυσιολογικών ερυθροκυττάρων είναι:

$$MCV = \frac{\text{αιματοκρίτης (\%)}}{\text{αριθμός ερυθροκυττάρων / ml}} = \frac{45}{5.000.000}$$

που εμπειρικά γίνεται 90**.

Οι ακριβείς τιμές των παραμέτρων αυτών για τον Ελληνικό πληθυσμό δίνονται στον πίνακα 1. Είναι αξιόλογο, ότι μεταξύ ανδρών και γυναικών δεν υπάρχουν διαφορές.

Οι τιμές MCH και MCV είναι σημαντικές για την Αιματολογία, γιατί αποτελούν «κλειδιά» στην αξιολόγηση των διαφόρων αναιμιών. Ο υπολογισμός τους δεν είναι δύσκολος όταν γίνεται εμπειρικά, όπως προαναφέρθηκε. Έτσι, μια αναιμία μπορεί να είναι **νορμόχρωμη** (ορθόχρωμη), όταν η μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης παραμένει κανονική σε κάθε ερυθροκύτταρο (MCH γύρω στο 30) ή **υπόχρωμη**, όταν τα ερυθροκύτταρα δεν γεμίζουν καλά με αιμοσφαιρίνη (MCH 20 - 25).

Ακόμη μια αναιμία μπορεί να είναι **νορμοκυτταρική** (ορθοκυτταρική), όταν ο μέσος όγκος των ερυθροκυττάρων είναι φυσιολογικός (MCV γύρω στα 90), **μικροκυτταρική**, όταν ο μέσος όγκος των ερυθροκυττάρων μικραίνει κάτω από 80 και **μακροκυτταρική**, όταν ο δείκτης βρεθεί γύρω στα 100 - 110.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Ερυθροκυτταρικές παράμετροι σε υγείες Ελληνες.

	ΑΝΔΡΕΣ (200 άτομα) Μέση τιμή + σταθερή απόκλιση	ΓΥΝΑΙΚΕΣ (200 άτομα) Μέση τιμή + σταθερή απόκλιση
Αιματοκρίτης, %	47.4 ± 3.20	41.2 ± 2.20
Αιμοσφαιρίνη, g%	15.4 ± 1.00	13.3 ± 0.70
Ερυθροκύτταρα, $\times 10^6$ / ml	5.17 ± 0.39	4.49 ± 0.32
Μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο, MCH	29.9 ± 2.60	29.8 ± 1.20
Μέσος όγκος ερυθροκυττάρων, MCV	92.1 ± 5.10	92.1 ± 5.20

* Για την πληρότητα του κειμένου μπορεί να προστεθεί ότι ο αριθμός αυτός αντιστοιχεί σε μμg (εκατομμυριοστά του εκατομμυριοστού του g) αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο, ενώ

** ο αριθμός MCV εκφράζει τον όγκο του ερυθροκυττάρου σε κυβικά μικρά (εκατομμυριοστά του ml).

2.4 Αιμοσφαιρίνη.

Η αιμοσφαιρίνη είναι μια σύνθετη πρωτεΐνη και έχει μοριακό βάρος περίπου 68.000. Τα δύο βασικά της μέρη είναι η **αίμη** και η **σφαιρίνη**.

α) Αίμη.

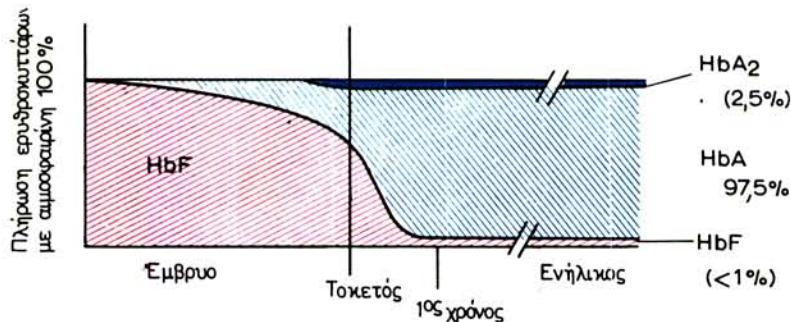
Πρόκειται για οργανική ένωση που παίρνει μορφή δακτυλίου, στο κέντρο του οποίου βρίσκεται ένα άτομο σιδήρου. Κάθε μόριο αιμοσφαιρίνης έχει τέσσερα μόρια αίμης.

β) Σφαιρίνη.

Είναι πρωτεΐνη και αποτελείται από τέσσερις αλύσους αμινοξέων. Τα αμινοξέα είναι μικρές οργανικές ενώσεις, που συνδέονται μεταξύ τους με ειδικούς δεσμούς, και σχηματίζουν μεγάλες σειρές, που ονομάζονται **πολυπεπτιδικές άλυσοι**. Κάθε άλυσος αιμοσφαιρίνης αποτελείται από 150 περίπου αμινοξέα και μπορεί να παρομοιασθεί με ένα νήμα που αναδιπλώνεται μέσα στο χώρο και περιλαμβάνει, σε μια πτυχή του, ένα μόριο αίμης. Στην αιμοσφαιρίνη τα τέσσερα νήματα (= άλυσοι με αίμη) διαπλέκονται μεταξύ τους με τέτοιο τρόπο, ώστε να σχηματίζεται ένα μόριο σχεδόν σφαιρικό. Η γρήγορη σύνδεση του οξυγόνου με το σίδηρο της αίμης στους πνεύμονες και η κανονική απόδοση του οξυγόνου στους ιστούς εξασφαλίζονται χάρη στην ιδιόμορφη κατασκευή του μορίου της αιμοσφαιρίνης. Κάθε ανωμαλία στο μηχανισμό αυτό συνιστά παθολογική κατάσταση.

Όταν εξετάσομε χημικά τις αλύσους της σφαιρίνης διαπιστώνομε πως αυτές είναι όμοιες κατά ζεύγη. Τα ζεύγη αυτά καθορίζονται με μικρά γράμματα από το Ελληνικό αλφάβητο. Έτσι η αιμοσφαιρίνη του ενηλίκου ανθρώπου αποτελείται από δύο «ζεύγη» αλύσων α και δύο ζεύγη αλύσων β και μπορεί να γραφεί σαν $\alpha_2\beta_2$. Στον ενήλικο άνθρωπο περίπου 97.5% της αιμοσφαιρίνης που γεμίζει τα ερυθροκύτταρα έχει τον τύπο $\alpha_2\beta_2$ και ονομάζεται αιμοσφαιρίνη A. Η αιμοσφαιρίνη συμβολίζεται στα βιβλία με τα στοιχεία Hb. Μπορούμε λοιπόν να καθορίσομε ότι $HbA = \alpha_2\beta_2$. Τα υπόλοιπα 2.5% της αιμοσφαιρίνης που γεμίζει τα ερυθροκύτταρα του ενηλίκου ανθρώπου επιπλέονταν την ίδια λειτουργία, έχουν όμως διαφορετική δομή, γιατί αποτελούνται από δύο αλύσους α και δύο άλλες αλύσους, που μοιάζουν αλλά δεν είναι απόλυτα όμοιες με τις αλύσους β και συμβολίζονται ως άλυσοι δ. Ο νέος αυτός τύπος αιμοσφαιρίνης ονομάζεται αιμοσφαιρίνη A_2 . Μπορούμε έτσι να γράψουμε $HbA_2 = \alpha_2\delta_2$.

Στο έμβριο του ανθρώπου η αιμοσφαιρίνη των ερυθροκυττάρων είναι διάφορη από τις HbA και HbA₂, που αναφέρθηκαν παραπάνω. Η εμβριούκη, όπως ονομάζεται, αιμοσφαιρίνη (ή HbF από τη λατινική λέξη *Fetus* που σημαίνει έμβριο) είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για το έμβριο, γιατί εξασφαλίζει καλύτερη οξυγόνωση. Η δομή του μορίου της είναι $HbF = \alpha_2\gamma_2$, με άλλα λόγια αποτελείται και αυτή από δύο αλύσους α και ένα νέο είδος αλύσων, τις αλύσους γ. Η εμβριούκη αιμοσφαιρίνη (HbF) αρχίζει να αντικαθίσταται από αιμοσφαιρίνη του ενηλίκου (HbA) περίπου στο μέσο της εγκυμοσύνης. Τα ερυθροκύτταρα του νεογνού περιέχουν περίπου 70% HbF και 30% HbA (σχ. 2.4). Στη συνέχεια η HbA υποκαθιστά γρήγορα την HbF, έτσι ώστε στον 6 - 12ο μήνα της βρεφικής ζωής τα ερυθροκύτταρα περιέχουν σχεδόν α-



Σχ. 2.4.

Εναλλαγή τύπων αιμοσφαιρίνης από το έμβρυο στον ενήλικο (υπεραπλούστευση)

ποκλειστικά HbA (και HbA₂ που αρχίζει να συντίθεται στο μεταξύ), ενώ η HbF μειώνεται σε ποσοστό μικρότερο από 1%. Το ελάχιστο αυτό ποσοστό εμβρυικής αιμοσφαιρίνης διαπιστώνεται σχεδόν πάντοτε και στο αίμα του ενηλίκου, έχει όμως πολύ μεγάλη σημασία, γιατί αυξάνεται και πάλι σημαντικά σε πολλά αιματολογικά νοσήματα.

2.5 Παθολογία της αιμοσφαιρίνης.

Από τις λεπτομέρειες που αναφέρθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο είναι φανέρω ότι η κανονική λειτουργία της αιμοσφαιρίνης είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο που εξαρτάται σημαντικά από τη σωστή δομή και σύνθεση των αλύσων που την αποτελούν. Οι διαταραχές της δομης ή της συνθέσεως αιμοσφαιρίνης αποτελούν ένα σημαντικό και ενδιαφέρον κεφάλαιο της αιματολογίας. Οι διαταραχές αυτές είναι κληρονομικά νοσήματα, με άλλα λόγια περνούν από τους γονείς στους απογόνους σύμφωνα με τους κλασσικούς νόμους της γενετικής, και αποτελούν συχνά κοινό χαρακτηριστικό διαφόρων ομάδων πληθυσμού. Είδαμε προηγουμένως, ότι κάθε μόριο αιμοσφαιρίνης αποτελείται από δύο ζεύγη αλύσων. Η «πληροφορία» για τη σύνθεση των αλύσων αυτών μεταφέρεται από τους γονείς στους απογόνους μέσα στη χρωματίνη του πυρήνα, που προκύπτει από τη συνένωση του ωαρίου με το σπερματοζωάριο και διασκορπίζεται στη συνέχεια σε όλα τα κύτταρα του νέου ανθρώπου. Η αξιοποίηση της πληροφορίας γίνεται μόνο στα κύτταρα του αιμοποιητικού ιστού, δηλαδή τους ερυθροβλάστες. Στα κύτταρα αυτά η χρωματίνη του πυρήνα «υποδεικνύει» σε ειδικούς συνθετικούς μηχανισμούς του πρωτοπλάσματος «πώς» να συνθέσουν χωριστά κάθε είδος πολυπεπτιδικών αλύσων, και οι τελευταίες συνδέονται κατά ζεύγη και σχηματίζουν σωστά τετραμερή μόρια αιμοσφαιρίνης. Η πληροφορία για τη σύνθεση των αλύσων της αιμοσφαιρίνης ονομάζεται **γόνος**. Κάθε άτομο έχει δύο τουλάχιστον γόνους για κάθε είδος αλύ-

σων. Οι γόνοι αυτοί προέρχονται ο ένας από τον πατέρα και ο άλλος από τη μητέρα του. Έτσι, σε κάθε ερυθροβλάστη υπάρχουν δύο (ή περισσότεροι) γόνοι που κατευθύνουν τη σύνθεση αλύσων α (α - γόνοι), δύο γόνοι που κατευθύνουν τη σύνθεση αλύσων β (β - γόνοι), δύο (ή περισσότεροι) γ - γόνοι κ.ο.κ. Η επιλογή ποιοί γόνοι θα λειτουργήσουν σε κάθε φάση της ζωής και η ρύθμιση της συνθετικής τους δραστηριότητας γίνεται με άλλους πολύπλοκους ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Στον ενήλικο άνθρωπο λειτουργούν αποδοτικά οι α και β γόνοι και, με πολύ μικρότερη απόδοση, οι δ - γόνοι. Στο έμβρυο η σύνθεση της αιμοσφαιρίνης εξασφαλίζεται από τη λειτουργία των α και γ γόνων.

Οι παθήσεις της αιμοσφαιρίνης μπορούν να προκύψουν με δύο μηχανισμούς:

— **Διαταραχή της δομής.**

— **Διαταραχή του ρυθμού συνθέσεως** των αλύσων που συνιστούν το αιμοσφαιρινικό μόριο.

Η πρώτη κατηγορία αποτελεί τις **αιμοσφαιρινοπάθειες**, η δεύτερη είναι γνωστή με τον όρο **Μεσογειακή αναιμία ή θαλασσαιμία**. Οι αιμοσφαιρινοπάθειες ή οι διάφοροι τύποι Μεσογειακής αναιμίας χαρακτηρίζονται ανάλογα με το είδος των αλύσων που αφορούν. Έτσι, στον ενήλικο άνθρωπο απαντώνται βασικά διαταραχές των α και β αλύσων. Όταν η βλάβη αφορά τον έναν από τους δύο γόνους που καθορίζουν τη σύνθεση της αλύσου, τότε η ανωμαλία που προκύπτει είναι **ετερόζυγη** και τα άτομα που την φέρουν ονομάζονταν **ετεροζυγώτες** ή (ετερόζυγοι) **φορείς** της διαταταχής. Οι ετεροζυγώτες των παθήσεων της αιμοσφαιρίνης κατά κανόνα δεν πάσχουν και η διαπίστωση της ανωμαλίας γίνεται μόνο μετά ειδικού αιματολογικού έλεγχο. Αντίθετα, όταν η βλάβη καταλάβει και τους δύο γόνους που καθορίζουν τη σύνθεση μιας αλύσου, τότε η κατάσταση ονομάζεται **ομόζυγη**. Οι **ομοζυγώτες** συνήθως εμφανίζουν κλινικά προβλήματα και σοβαρή αναιμία.

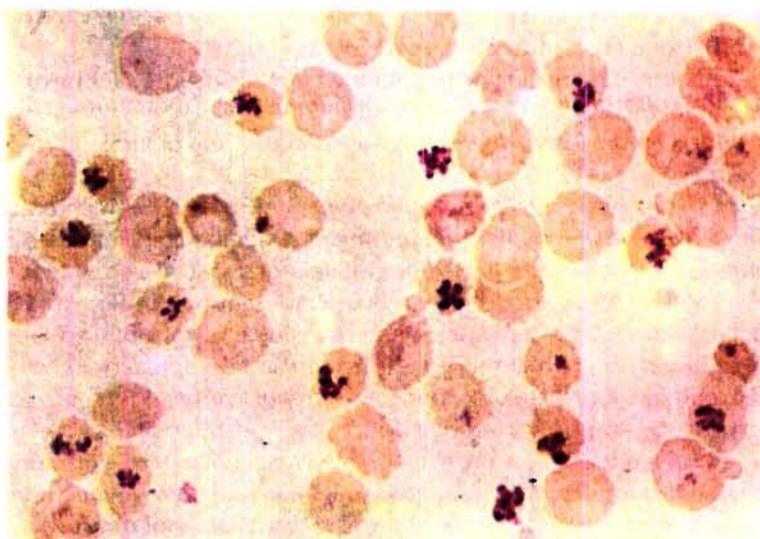
α) Διαταραχή της δομής μιας αιμοσφαιρινικής αλύσου.

Σημαίνει ότι η σειρά των αμινοξέων, που συνδέονται μεταξύ τους για να αποτελέσουν την άλυσο, έχει «λάθη». Τα λάθη οφείλονται σε «μεταλλάξεις» που συμβαίνουν στους γόνους των αντιστοίχων αλύσων, γι' αυτό και κληρονομούνται. Οι μεταλλάξεις δίνουν λανθασμένες πληροφορίες για τη δομή των αλύσων, που χαρακτηρίζονται ως **παραλλαγές** των φυσιολογικών. Το συνηθέστερο λάθος είναι η αντικατάσταση ενός αμινοξέος σε μια ορισμένη θέση από ένα άλλο αμινοξύ, με παραπλήσια ή τελείως διάφορη χημική σύνθεση. Οι συνέπειες της αντικαταστάσεως αυτής για τη σταθερότητα και τη συνέχιση της κανονικής λειτουργίας της αλύσου εξαρτώνται από τη θέση, όπου γίνεται το λάθος, και τις μεταβολές της στερεοδομής της αλύσου, που το λάθος συνεπάγεται. Έτσι διακρίνονται **αθώες** αιμοσφαιρινοπάθειες που δεν έχουν καμία συνέπεια και αποτελούν συνήθως τυχαίο αιματολογικό εύρημα και **παθολογικές** αιμοσφαιρινοπάθειες που εμφανίζουν συμπτώματα και ευρήματα ανάλογα με τη βλάβη του μορίου της αιμοσφαιρίνης.

Οι περισσότερες αιμοσφαιρινοπάθειες χαρακτηρίζονται με κεφαλαία γράμματα του λατινικού αλφαριθμού. Από αυτές ιδιαίτερη σημασία έχουν:

1) Οι **ασταθείς αιμοσφαιρίνες**. Η βλάβη του μορίου (συνήθως αντικατάσταση ενός αμινοξέος) χαλαρώνει τη σύνδεση της αίμης με τη σφαιρινική άλυσο, με αποτέλεσμα την ανώμαλα εύκολη μετουσίωση (καταστροφή) της παθολογικής αιμο-

σφαιρίνης, που κατακρημνίζεται (παύει να είναι διαλυτή) μέσα στο ερυθροκύτταρο και το καταστρέφει. Το τελικό αποτέλεσμα είναι μια **αιμολυτική** αναιμία. Η ενδοκυττάρια κατακρήμνιση της αιμοσφαιρίνης μπορεί να διαπιστωθεί συχνά με τη μορφή **εγκλείστων**, με άλλα λόγια ενδοκυτταρίων κοκκιοειδών μορφωμάτων, που έχουν σημασία για τη διάγνωση. Η τεχνική της διαπιστώσεως θα περιγραφεί στις μεθόδους (σχ. 2.5α).



Σχ. 2.5α.

Ιζήματα αιμοσφαιρίνης μέσα σε ερυθροκύτταρα. Αποκαλύπτονται με ειδική χρωση και αποτελούνται από σωρούς κοκκίνων μέσα στα κύτταρα. Χαρακτηρίζουν τις Μεσογειακές αναιμίες (κυρίως τη μείζονα) και τις αιμοσφαιρινοπάθειες από ασταθείς αιμοσφαιρίνες.

2) Οι **αιμοσφαιρίνες M**. Η βλάβη του μορίου επιφέρει μόνιμη σύνδεση της αιμοσφαιρίνης με το οξυγόνο (οξείδωση). Η νέα αυτή μορφή ονομάζεται **μεθαιμοσφαιρίνη** και λειτουργικά είναι άχρηστη. Όταν η συγκέντρωση της μεθαιμοσφαιρίνης στο αίμα αυξηθει σημαντικά, οι πάσχοντες εμφανίζουν **κυάνωση**.

3) **Αιμοσφαιρίνες με ανώμαλη λειτουργία**. Η βλάβη του μορίου παρεμποδίζει την ευνοεί την απόδοση οξυγόνου στους ιστούς.

4) Η **αιμοσφαιρίνη S**. Αποτελεί την πιο σημαντική παραλλαγή της αιμοσφαιρίνης και είναι ιδιαίτερα συχνή στη Μαύρη Φυλή. Η αιμοσφαιρινοπάθεια S υπάρχει σε αξιόλογη συχνότητα και στην Ελλάδα, ιδιαίτερα μάλιστα σε ορισμένες πεδινές περιοχές. Η διαπίστωσή της έχει σημασία, γιατί οι **ομοζυγώτες** εμφανίζουν βαριά κλινικά συμπτώματα.

Η αιμοσφαιρίνη S διαφέρει από την αιμοσφαιρίνη A σε ένα μόνο αμινοξύ, που εντοπίζεται στην αρχή των αλύσων β, πρόκειται δηλαδή για παραλλαγή των β – αλύσων (βS). Η μικρή αυτή αλλαγή έχει τεράστιο αντίτυπο για το αιμοσφαιρινικό μόριο: μόλις αυτό αποδώσει το οξυγόνο που μεταφέρει, αλλάζει τελείως σχήμα και από σχεδόν σφαιρικό γίνεται ατρακτοειδές. Όταν η μεταβολή αυτή επιτελεσθεί

στα εκατομμύρια μόρια αιμοσφαιρίνης S, που γεμίζουν κάθε παθολογικό ερύθροκύτταρο, τότε αυτά διατάσσονται σε επιμήκεις δεσμίδες, που επιφέρουν διάταση και παραμόρφωση του κυττάρου και το κάνουν να μοιάζει με δρέπανο (**δρεπανοκύτταρο**) (σχ. 2.1α). Τα δρεπανοκύτταρα δεν μπορούν να κυκλοφορήσουν εύκολα στα πολύ μικρά αιμοφόρα αγγεία για λόγους μηχανικούς. Επέρχεται τότε απόφρξη των τριχοειδών και διακοπή της κυκλοφορίας του αιμάτος, που εκδηλώνεται με εντονότατους πόνους στα κόκκαλα και την κοιλιά.

Η ετερόζυγη μορφή της αιμοσφαιρινοπάθειας S είναι αθόρυβη και διαπιστώνεται από την ανεύρεση δύο τύπων αιμοσφαιρίνης στα ερυθροκύτταρα. Τα ποσοστά των δύο αιμοσφαιρινών είναι σχεδόν όμοια. Πρόκειται για τη φυσιολογική αιμοσφαιρίνη A (συντίθεται από α - αλύσους και φυσιολογικές β - αλύσους από τον ένα β - γόνο) και την παθολογική αιμοσφαιρίνη S (που αποτελείται από α - αλύσους και ανώμαλες βS αλύσους από τον άλλο βS - γόνο που έχει υποστεί τη μετάλλαξη): Αντίθετα στην ομόζυγη κατάσταση τα ερυθροκύτταρα γεμίζουν σχεδόν αποκλειστικά με αιμοσφαιρίνη S (α - άλυσοι + ανώμαλες βS - άλυσοι από τους δύο γόνους που έχουν υποστεί την μετάλλαξη).

Η διαπίστωση της αιμοσφαιρινοπάθειας S γίνεται με διάφορες τεχνικές. Από αυτές θα περιγραφούν στις μεθόδους η προκλητή «δρεπάνωση» των ερυθροκυττάρων και ο διαχωρισμός της αιμοσφαιρίνης S με ηλεκτροφόρηση. Η κληρονομική μεταβίβαση της ανωμαλίας θα περιγραφεί σε επόμενο κεφάλαιο.

β) Διαταραχές του ρυθμού συνθέσεως των αλύσων της αιμοσφαιρίνης.

Δημιουργούνται με πολύπλοκους μηχανισμούς και έχουν ως κοινό αποτέλεσμα τη μείωση της συνθέσεως του ενός από τα δύο ζεύγη αλύσων, που συνιστούν το αιμοσφαιρινικό μόριο. Αποτελούν την πολύ ετερογενή ομάδα των Μεσογειακών αναιμιών. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει την α - Μεσογειακή αναιμία, όπου η βλάβη αφορά τη σύνθεση των α - αλύσων και την β - Μεσογειακή αναιμία, στην οποία αναστέλλεται η παραγωγή β - αλύσων. Για τη χώρα μας το κύριο πρόβλημα είναι η β - Μεσογειακή αναιμία και τα περισσότερα από τα στοιχεία που ακολουθούν αφορούν βασικά αυτή τη μορφή.

1) Ετερόζυγη β - Μεσογειακή αναιμία.

Η αναστολή της λειτουργίας του β - γόνου στην ετερόζυγη β - Μεσογειακή αναιμία είναι μερική ή καθολική. Ο β - γόνος, που προέρχεται από τον άλλο γονέα, υπερλειτουργεί για να αντισταθμίσει το έλλειμμα χωρίς όμως να επαρκεί. Έτσι, το συνολικό ποσό των β - αλύσων σε κάθε ερυθροποιητικό κύτταρο είναι μικρότερο από το φυσιολογικό, ενώ οι α - άλυσοι συνεχίζουν να συντίθενται κανονικά. Η διαταραχή αυτή έχει τις ακόλουθες συνέπειες:

Το συνολικό ποσό τελείων μορίων αιμοσφαιρίνης A ($\alpha_2\beta_2$) είναι μικρότερο από το κανονικό. Τα ερυθροκύτταρα φαίνονται πιο άδεια και πιο μικρά στο μικροσκόπιο (υποχρωμία, μικροκυττάρωση) και, εξ αιτίας της κακής τους κατασκευής είναι περισσότερο άνισα και ποικιλόσχημα (ανισοκυττάρωση, ποικιλοκυττάρωση) (σχ. 2.1ε).

— Οι αλλοιώσεις αυτές επιβεβαιώνονται με τους ερυθροκυτταρικούς δείκτες, που αναφέρθηκαν παραπάνω. Έτσι η MCH (μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης ανά ε-

ρυθροκύτταρο) και ο MCV (μέσος όγκος ερυθροκυττάρων) βρίσκονται σαφώς κάτω από τα φυσιολογικά όρια.

— Η μικρή περίσσεια α - αλύσων που δημιουργείται, αποδομείται μέσα στα κύτταρα με ειδικούς μηχανισμούς.

Η διάγνωση της ετερόζυγης β - Μεσογειακής αναιμίας βασίζεται στα παραπάνω μορφολογικά κριτήρια και στη χαρακτηριστική αύξηση της αιμοσφαιρίνης A₂ μέσα στα ερυθροκύτταρα. Η αύξηση της HbA₂ διαπιστώνεται με διάφορες τεχνικές που θα περιγραφούν στη συνέχεια και κυμαίνεται από 3.5 έως 7% (συνήθως). Πρόκειται για σημαντικό διαγνωστικό κριτήριο, γι' αυτό και η μέτρηση πρέπει να γίνεται με αξιοπιστία και ακρίβεια. Σε σπανιότερες περιπτώσεις, η ετερόζυγη β - Μεσογειακή αναιμία χαρακτηρίζεται από μικρή (έως 10%) αύξηση της αιμοσφαιρίνης F ή την παρουσία μικρού ποσοστού (έως 15%) μιας νέας αιμοσφαιρίνης, που ονομάζεται αιμοσφαιρίνη **Πύλος ή Lepore**.

2) Ομόζυγη β - Μεσογειακή αναιμία.

Εδώ η εικόνα είναι βαρύτερη, γιατί οι β - γόνοι λειτουργούν ελάχιστα ή καθόλου.

Έτσι σε κάθε ερυθροκύτταρο δημιουργείται ένα τεράστιο έλλειμμα β - αλύσων και μια σημαντική περίσσεια α - αλύσων με τις ακόλουθες συνέπειες: α) ελλειπής πλήρωση των ερυθροκυττάρων με αιμοσφαιρίνη A (έντονη υποχρωμαία και μορφολογικές αλλοιώσεις των ερυθρών, σχ. 2.1η και 2.1θ) και β) ενδοκυττάρια κατακρήμνιση των α - αλύσων με μορφή κοκκιοειδών ιζημάτων (έγκλειστα σχ. 2.5α), που είναι καταστρεπτικά για τα κύτταρα και επιφέρουν τον πρόωρο θάνατό τους. Ο πάσχων οργανισμός προσπαθεί να διορθώσει τη διαταραχή βάζοντας ξανά σε λειτουργία τη σύνθεση εμβρυικής αιμοσφαιρίνης, η οποία συμπληρώνει κάπως την αιμοσφαιρινική πλήρωση των ερυθροκυττάρων και τα κάνει περισσότερο βιώσιμα. Ο μηχανισμός με τον οποίο γίνεται αυτή η «επαναγωγή» παραμένει αδιευκρίνιστος.

Η διάγνωση της ομόζυγης β - Μεσογειακής αναιμίας βασίζεται στις παραπάνω μορφολογικές παρατηρήσεις και την ανεύρεση υψηλών ποσοστών αιμοσφαιρίνης F (εμβρυικής αιμοσφαιρίνης) στο αιμόλυμα.

3) Ετερόζυγη α - Μεσογειακή αναιμία.

Έχει μικρή σημασία για τη χώρα μας. Η διάγνωση γίνεται με δυσκολία, γιατί η μικρή έλλειψη α - αλύσων αντισταθμίζεται σχεδόν ικανοποιητικά από τον υγιή α - γόνο. Διαγνωστικά κριτήρια είναι η μικρή υποχρωμαία των ερυθρών, τα φυσιολογικά ποσοστά HbF και HbA₂ και η διαπίστωση, ότι πολύ λίγα από αυτά (1στις δεκάδες χιλιάδες) περιέχουν περίσσεια αλύσων β, που γίνεται εμφανής μετά την ενδοκυττάρια κατακρήμνισή της με ειδική (απλή) τεχνική.

4) Αιμοσφαιρινοπάθεια Η.

Αποτελεί βαρύτερη μορφή α - Μεσογειακής αναιμίας, χωρίς να είναι κατά κυριολεξία ομόζυγη και διαπιστώνεται με πολύ μικρή συχνότητα στην Ελλάδα. Εδώ, η μείωση των α - αλύσων είναι σημαντική και τα ερυθροκύτταρα είναι χαρακτηριστικά υπόχρωμα. Από την άλλη πλευρά, μέσα στα ίδια ερυθροκύτταρα δημιουρ-

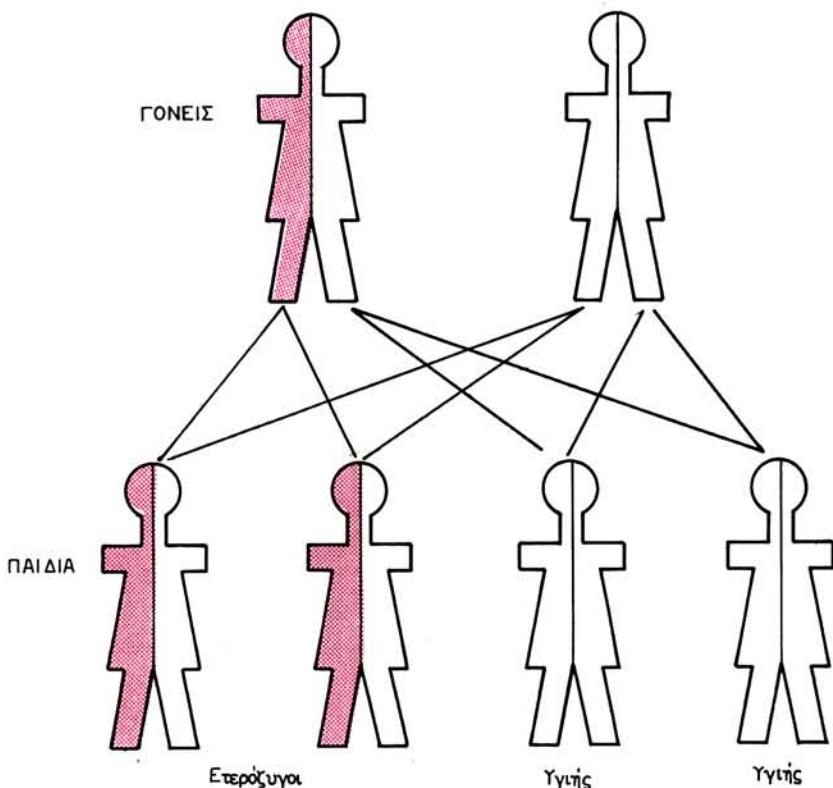
γειται μία σημαντική περίσσεια αλύσων β. Αυτές είναι περισσότερο ευδιάλυτες από τις αλύσους α και δεν καθίζανουν εύκολα μόνες τους. Ωστόσο, η ενδοκυττάρια καθίζηση των αλύσων β στην αιμοσφαιρινοπάθεια Η είναι δυνατή με ειδική απλή τεχνική, που θα περιγραφεί στη συνέχεια και αποτελεί σημαντικό διαγνωστικό κριτήριο. Η περίσσεια των αλύσων β μπορεί ακόμη να διαπιστωθεί με ηλεκτροφόρηση.

5) Μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία.

Πρόκειται για συνδυασμό β - Μεσογειακής αναιμίας και αιμοσφαιρινοπάθειας S. Δεν είναι σπάνια στη χώρα μας. Χαρακτηρίζεται από υποχρωμία και μικροκυτταρώση στα ερυθροκύτταρα, θετική δοκιμασία δρεπανώσεως και παρουσία σημαντικών ποσοστών HbS στο αιμόλυμα.

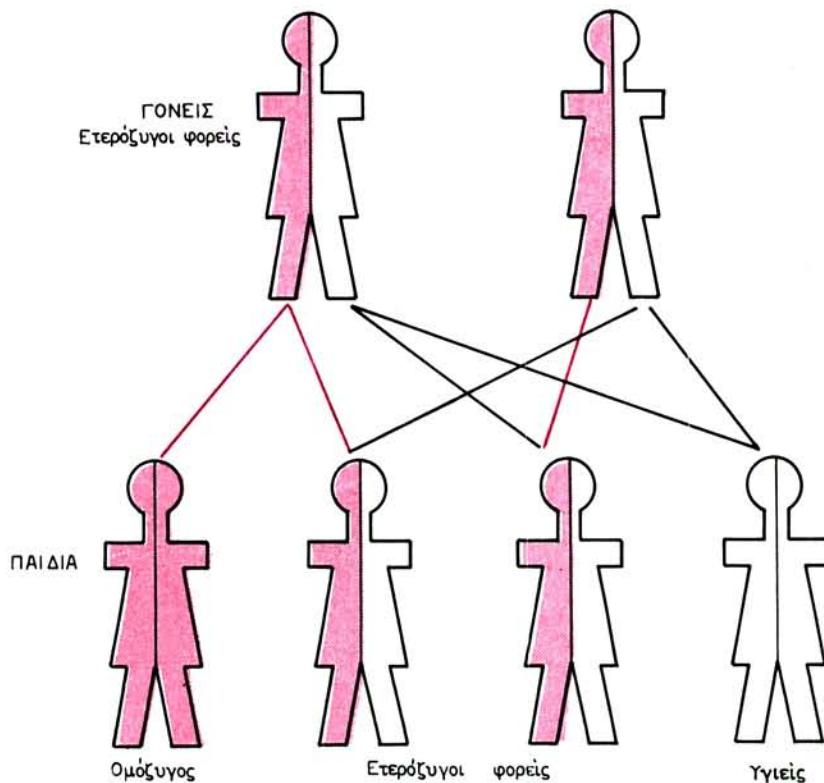
γ) Γενετική μεταβίβαση Μεσογειακής αναιμίας και αιμοσφαιρινοπαθειών.

Ακολουθεί τους κλασσικούς νόμους του Mendel και συνοψίζεται στα σχήματα 2.5β και 2.5γ.



Σχ. 2.5β.

Γάμος μεταξύ ετερόζυγου και υγιούς ατόμου αποδίδει παιδιά υγιή και ετερόζυγα σε ίσες αναλογίες.



Σχ. 2.5γ.

Γάμος μεταξύ ετερόζυγων ατόμων αποδίδει παιδιά υγιή, ετερόζυγα ή ομόζυγα σε αναλογίες 1 : 2 : 1.

2.6 Μέθοδοι μελέτης των παθήσεων της αιμοσφαιρινής.

Είναι πάρα πολλές. Από αυτές θα περιγραφούν εκείνες που αναφέρθηκαν στην παθολογία της αιμοσφαιρινής και θεωρούνται πολύ βασικές.

α) Κυτταρολογικές μέθοδοι.

1) Διαπίστωση ενδοκυτταρίων ιζημάτων αιμοσφαιρίνης (χρώση εγκλείστων).

Χρησιμεύει για τη διάγνωση της ομόζυγης β - Μεσογειακής αναιμίας, όπου οι α - άλυσοι, που βρίσκονται σε περίσσεια, καθιζάνουν μόνες τους μέσα στους ερυθροβλάστες και τα ερυθροκύτταρα.

Αντιδραστήριο: Διάλυμα 1% της χρωστικής ιώδες του μεθυλίου (6B ή 2B του Οίκου Merck) μέσα σε ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου.

Τεχνική: μικρός όγκος αίματος (μερικές σταγόνες) προστίθεται σε ίσο όγκο αντιδραστηρίου σε μικρό σωληνάριο. Παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου επί 30'. Στη συνέχεια, από το εναιώρημα παρασκευάζονται επιστρώσεις σε αντικειμενοφόρες πλάκες, οι οποίες ξηραίνονται στον αέρα. Η παρατήρηση στο μικροσκόπιο γί-

νεται κατά προτίμηση με καταδυτικό φακό (μεγάλη μεγέθυνση, 1000 x). Όταν υπάρχουν έγκλειστα, φαίνονται σαν μικρά ή μεγάλα μωβ κοκκία μέσα στο πρωτόπλαστα (σχ. 2.5α).

2) Κατακρήμνιση ασταθών αλύσων αιμοσφαιρίνης μέσα στα ερυθροκύτταρα.

Χρησιμεύει για τη διαπίστωση ασταθών αιμοσφαιρινών και αλύσων β, όταν αυτές βρίσκονται σε περίσσεια μέσα στα ερυθροκύτταρα (αιμοσφαιρινοπάθεια Η).

Αντιδραστήριο: 1280 mg νιτρώδους νατρίου (NaNO_2) διαλύονται σε 100 ml απεσταγμένου νερού.

Τεχνική: 0,1 ml αίματος επωάζεται με 0,5 ml αντιδραστηρίου για 30' στους 37° C. Στη συνέχεια αφαιρείται λίγο από το υπερκείμενο διάλυμα και τα ερυθροκύτταρα χρωματίζονται με ιώδες του μεθυλίου, όπως περιγράφηκε αμέσως παραπάνω.

3) Δοκιμασία δρεπανώσεως.

Χρησιμεύει για τη διαπίστωση αιμοσφαιρίνης S μέσα στα ερυθροκύτταρα (ετερόζυγη και ομόδυνη αιμοσφαιρινοπάθεια S).

Αντιδραστήριο: Μεταδιθειώδες νάτριο ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$), υδατικό διάλυμα 2%. Παρασκευάζεται αμέσως πριν χρησιμοποιηθεί. Αφαιρεί το οξυγόνο από την αιμοσφαιρίνη.

Τεχνική: Μία σταγόνα αίματος αναμειγνύεται με ίσο όγκο αναγωγικού διαλύματος. Ελάχιστη ποσότητα από το εναιώρημα (όση μπορεί να κρατηθεί στη γωνία μιας καλυπτρίδας) τοποθετείται πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα και αφήνεται να καλυφθεί από την καλυπτρίδα. Το παρασκεύασμα παραμένει σε υγρή ατμόσφαιρα επί 15 λεπτά (μέσα σε τρυβλίο Petri, του οποίου οι επιφάνειες έχουν καλυφθεί με υγρό διηθητικό χαρτί) και εξετάζεται στο μικροσκόπιο με λίγο φωτισμό (χαμηλό πυκνωτή Abbe και μεγέθυνση 250 έως 400 x). Το σχήμα των δρεπανοκυττάρων δεν αφήνει αμφιβολίες για τη διάγνωση (σχ. 2.1α).

β) Βιοχημικές μέθοδοι.

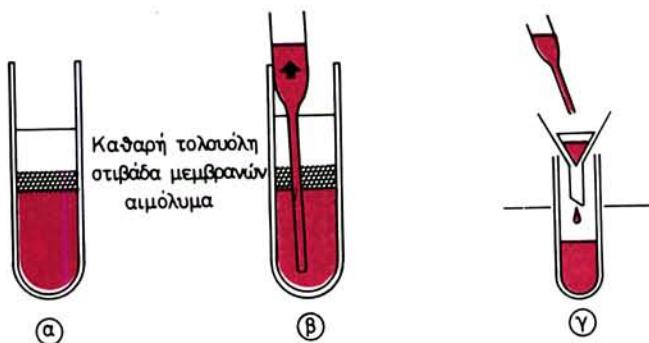
Εκτελούνται στο αιμόλυμα, με άλλα λόγια στο καθαρό διάλυμα της αιμοσφαιρίνης των ερυθροκυττάρων που εξετάζονται.

1) Παρασκευή αιμολύματος.

- Φυγοκέντρηση αίματος σε 2000 στροφές/λεπτό επί 10 λεπτά. Αφαίρεση πλάσματος.
- Έκπλυση ερυθροκυττάρων με ισότονο διάλυμα (0.9%) χλωριούχου νατρίου τρεις φορές.
- Απομάκρυνση υπερκείμενης στοιβάδας λευκών αιμοσφαιρίων με προσεκτική αναρρόφηση.
- Προσθήκη απεσταγμένου νερού σε όγκο ίσο με τον όγκο των ερυθροκυττάρων.
- Ανάμειξη. Παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου επί 30 λεπτά.
- Προσθήκη 1 ml τολουόλης. Έντονη ανακίνηση επί 20 λεπτά.
- Φυγοκέντρηση σε 3000 στροφές/λεπτό επί 30 λεπτά. Οι μεμβράνες των ε-

ρυθροκυττάρων σχηματίζουν συμπαγή λεπτή στοιβάδα πάνω από το διαυγές αιμόλυμα.

— Απόληψη αιμολύματος με πιπέττα Pasteur, που περνούμε «τρυπώντας» τη στοιβάδα των στρωμάτων, και περαιτέρω καθαρισμός του με διήθηση μέσα από χάρτινο ηθμό (π.χ. Whatman 3 mm). Ο ηθμός πρέπει να είναι όσο γίνεται μικρότερος για να απορροφήσει ελάχιστο αιμόλυμα. Για τον ίδιο λόγο ο ηθμός μπορεί να διαβραχεί με ελάχιστο απεσταγμένο νερό, αμέσως πριν από τη διήθηση (σχ. 2.6α).

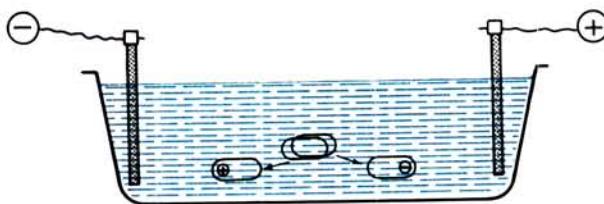


Σχ. 2.6α.

Παρασκευή αιμολύματος: α) Αιμόλυμα μετά καλή φυγοκέντρηση. β) Αναρρόφηση αιμολύματος. γ) Διήθηση αιμολύματος.

2) Ηλεκτροφόρηση.

Στηρίζεται στην ιδιότητα της αιμοσφαιρίνης (και όλων των πρωτεΐνών) να αποκτούν ένα ελάχιστο ηλεκτρικό φορτίο (ιονισμός), όταν βρεθούν σε όξινο ή αλκαλικό περιβάλλον. Η ιδιότητα αυτή οφείλεται στις ελεύθερες αμινικές (NH_2^-) και καρβοξυλικές (- COOH) ομάδες των αμινοξέων που συνθέτουν την αιμοσφαιρινική άλυσο. Όταν μια ιονισμένη σταγόνα αιμοσφαιρίνης βρεθεί μέσα σε ηλεκτρικό πεδίο, τότε θα κινηθεί προς την άνοδο ή την κάθοδο με ταχύτητα ανάλογη προς το φορτίο της (σχ. 2.6β). Οι περισσότερες από τις αιμοσφαιρίνες που αναφέραμε, αποκτούν διαφορετικά φορτία όταν βρεθούν μέσα σε ένα διάλυμα με ορισμένο



Σχ. 2.6β.

Οι αρχές της ηλεκτροφορήσεως. Τα μόρια της αιμοσφαιρίνης ιονίζονται μέσα στο ηλεκτρολυτικό περιβάλλον και κινούνται προς τα ηλεκτρόδια ανάλογα με το φορτίο τους.

pH. Η ιδιότητα αυτή επιτρέπει το διαχωρισμό τους με «ηλεκτροφόρηση». Υπάρχουν πολλές μέθοδοι ηλεκτροφορήσεως, η κάθε μία με τα δικά της πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Οι βασικές διαφορές αφορούν α) το pH μέσα στο οποίο γίνεται η ηλεκτροφόρηση (αλκαλικό ή ύδινο· το μόριο της αιμοσφαιρίνης δεν ιονίζεται σε ουδέτερο pH) και β) το περιβάλλον μέσα στο οποίο θα γίνει η ηλεκτροφόρηση. Στο παράδειγμα που δόθηκε πιο πάνω, το περιβάλλον μέσα στο οποίο κινείται η ιονισμένη σταγόνα αιμοσφαιρίνης είναι το ηλεκτρολυτικό διάλυμα. Ωστόσο, η παρακολούθηση της κινήσεως και, πολύ περισσότερο, του διαχωρισμού διαφόρων τύπων αιμοσφαιρίνης μέσα σ' αυτό, είναι τεχνικά πολύ δύσκολη. Για την επίλυση του προβλήματος, στην πράξη χρησιμοποιούμε διάφορα «υποστρώματα», υλικά δηλαδή που μπορούν να διαβραχούν με το ηλεκτρολυτικό διάλυμα και να χρησιμοποιηθούν ως αγωγοί ηλεκτρικού ρεύματος ανάμεσα στο θετικό και τον αρνητικό πόλο του πεδίου. Η αιμοσφαιρίνη τοποθετείται πάνω ή μέσα στο υπόστρωμα και κινείται σύμφωνα με τις αρχές που περιγράφηκαν. Όταν η κίνηση συμπληρωθεί, τότε «μονιμοποιούμε» την αιμοσφαιρίνη στο υπόστρωμα και μπορούμε να τη μελετήσουμε (σχ. 2.6δ). Τα συνηθισμένα υποστρώματα είναι το διηθητικό χαρτί, οι κόκκοι αμύλου, η πηκτή αμύλου, η πηκτή άγαρ και οι ταινίες οξικής κυτταρίνης. Το σύνθετος pH μέσα στο οποίο γίνεται η ηλεκτροφόρηση είναι αλκαλικό (8.3 - 9.0). Υπάρχουν πολλοί τύποι συσκευών και παραλλαγές συνθηκών. Η μέθοδος που περιγράφεται στη συνέχεια αποτελεί ένα απλό παράδειγμα.

Αντιδραστήρια - Υλικά:

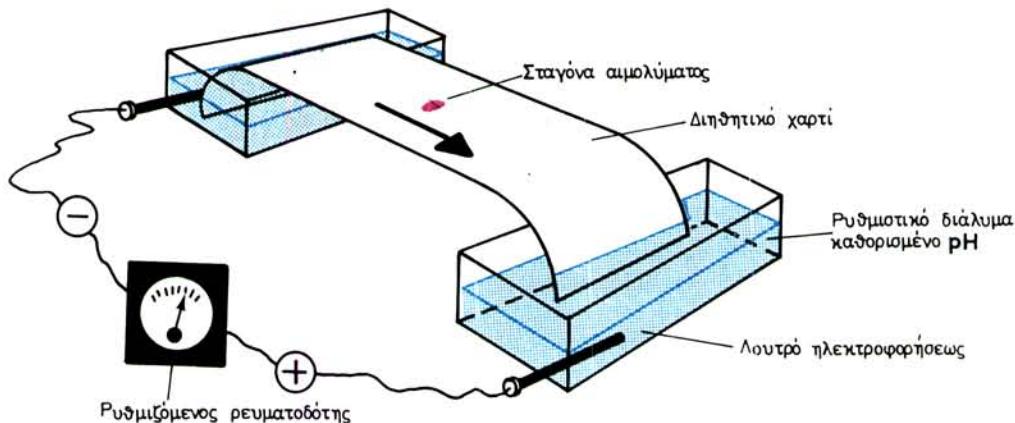
— Ρυθμιστικό διάλυμα. (pH 8,5)	TRIS	3.00 g
	EDTA - Na ₂	0.39 g
	Βορικό οξύ	2.50 g
συμπληρώνεται στα 1000 ml με απεσταγμένο νερό.		

- Χρωστική – υγρό μονιμοποιήσεως. Χρωστική Light - green 500 mg στο ακόλουθο διάλυμα:
Μεθανόλη 50 ml, οξικό οξύ 10 ml
απεσταγμένο νερό 40 ml.

— Ταινίες οξικής κυτταρίνης. Συσκευή ηλεκτροφορήσεως, που περιλαμβάνει τα λουτρά και το ρυθμιζόμενο ρευματοδότη (σχ. 2.6γ):

Τεχνική:

- Οι ταινίες οξικής κυτταρίνης διαβρέχονται επί 10 λεπτά μέσα στο ρυθμιστικό διάλυμα και τοποθετούνται στη γέφυρα του λουτρού.
- Η περίσσεια του διαλύματος κοντά στην κάθοδο αναρροφάται προσεκτικά με διηθητικό χαρτί.
- Μία ελάχιστη ποσότητα αιμολύματος (με συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης περίπου 2 g%) επιστρώνεται σαν γραμμή κοντά στην κάθοδο με τη βοήθεια λεπτής πιπέττας αιμοσφαιρίνης ή ειδικής συσκευής.



Σχ. 2.6γ.
Συσκευή ηλεκτροφορήσεως.

— Αναμονή επί 5 - 10 λεπτά. Η συσκευή καλύπτεται ερμητικά, ώστε να παρεμποδισθεί η συνεχής εξάτμιση.

— Ρευματοδότηση με διαφορά δυναμικού περίπου 200 V. Με τις συνηθισμένες συνθήκες και την τάση αυτή η ένταση του ρεύματος που περνά είναι περίπου 1mA ανά cm πλάτους των ταινιών.

— Μέσα σε λίγη ώρα τα διάφορα αιμοσφαιρινικά κλάσματα διαχωρίζονται εμφανώς πάνω στις ταινίες. Όταν τελειώσει η ηλεκτροφόρηση, τα κλάσματα αυτά μπορούν να μελετηθούν χωρίς άλλη κατεργασία ή να μονιμοποιηθούν και να χρωματισθούν με τη χρωστική που προαναφέρθηκε, ώστε να μελετηθούν με περισσότερες λεπτομέρειες. Όταν επιθυμούμε τον υπολογισμό της αναλογίας κάθε κλάσματος στο αιμόλυμα, μπορούμε α) να διαφανοποιήσουμε την ταινία και να την περάσουμε μέσα από ειδικό φωτόμετρο, β) να ξεπλύνουμε (**έκλουση**) κάθε κλάσμα μέσα σε σταθερό όγκο κατάλληλου υγρού και να φωτομετρήσουμε το έκλουσμα και γ) να χρωματίσουμε τα αιμοσφαιρινικά κλάσματα, να κόψουμε τα αντίστοιχα τμήματα της ταινίας και να τα διαλύσουμε σε οξικό οξύ ή άλλο διαλύτη. Η φωτομέτρηση των διαλυμάτων στη συνέχεια επιτρέπει τον υπολογισμό των ποσοστών.

— Ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Στην ηλεκτροφόρηση ενός αιμολύματος με τις παραπάνω συνθήκες διακρίνομε τα ακόλουθα κλάσματα (σχ. 2.6δ):

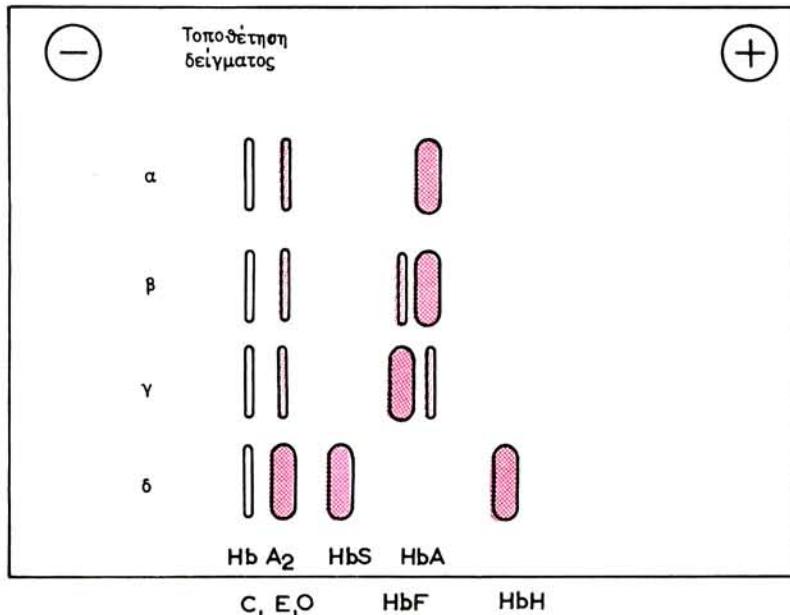
— Αιμοσφαιρίνη A, που αποτελεί το κύριο κλάσμα και κινείται γρήγορα προς την άνοδο.

— Αιμοσφαιρίνη A₂, που αποτελεί τα 2 - 3% και κινείται αργά προς την άνοδο.

— Αιμοσφαιρίνη F. Όταν υπάρχει, κινείται προς την άνοδο λίγο αργότερα από την αιμοσφαιρίνη A.

Στις αιμοσφαιρινοπάθειες και τις Μεσογειακές αναιμίες:

— Οι αιμοσφαιρίνες E, C, O κ.ά. κινούνται ισούψως με την HbA₂.



Σχ. 2.6δ.

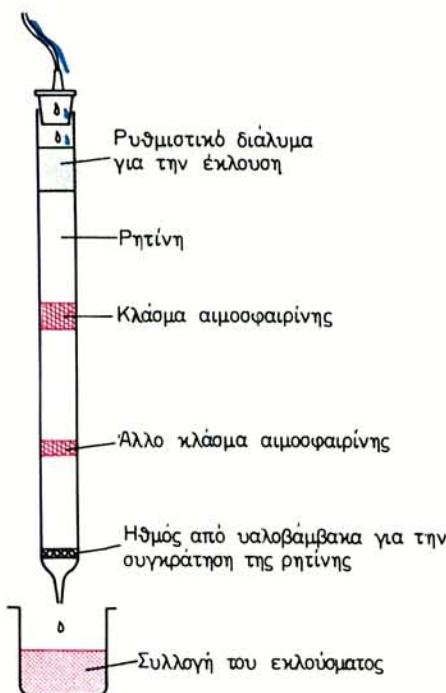
Ηλεκτροφορητική κινητικότητα των διαφόρων τύπων αιμοσφαιρίνης: α) Φυσιολογικό αιμόλυμα. β) Αιμόλυμα που περιέχει ελάχιστη HbF. γ) Αιμόλυμα που περιέχει κυρίως HbF (ομόζυγη β - Μεσογειακή αναιμία). δ) Διάφορες παραλλαγές αιμοσφαιρίνης.

— Οι αιμοσφαιρίνες S και Lepore (Πύλος) κινούνται σε ίση απόσταση ανάμεσα στις HbA και HbA₂ (όπως όμως περιγράφηκε παραπάνω, τα ποσοστά τους είναι διαφορετικά) και

— η αιμοσφαιρίνη H (οι ελεύθερες β - άλυσοι στη «βαρειά» α - Μεσογειακή αναιμία) κινείται ταχύτερα από όλες και βρίσκεται αρκετά εμπρός από την αιμοσφαιρίνη A.

3) Χρωματογραφία.

Στηρίζεται στις ίδιες αρχές με την ηλεκτροφόρηση. Τα ιονισμένα μόρια αιμοσφαιρίνης συνδέονται με σωματίδια αντίθετα ιονισμένων ουσιών (ρητίνες) και απλευθερώνονται («εκλούονται») προοδευτικά ανάλογα με το φορτίο τους (σχ. 2.6ε). Είναι σημαντική μέθοδος με πολλές εφαρμογές, γιατί είναι εξαιρετικά ήπια για τις ευπαθείς πρωτεΐνες. Η χρωματογραφία είναι μέθοδος εκλογής για την απομόνωση και ποσοτικό διαχωρισμό πολλών αιμοσφαιρινικών κλασμάτων και ιδιαίτερα της αιμοσφαιρίνης A₂, της οποίας το ποσοστό είναι σημαντικό κριτήριο για τη διάγνωση της ετερόζυγης β - Μεσογειακής αναιμίας. Η μέθοδος αυτή περιγράφεται με λεπτομέρειες στη συνέχεια.



Σχ. 2.6ε.

Στήλη με ρητίνη χρωματογραφίας. Το αιμόδιλμα τοποθετήθηκε στο πάνω μέρος της στήλης και εκλούεται μέσα από τους κόκκους της ρητίνης με το κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα. Τα αιμοσφαιρινικά κλάσματα χωρίζουν με βάση το φορτίο τους.

— Τεχνική της χρωματογραφίας.

Αντιδραστήρια και υλικό:

A. Διάλυμα TRIS (60.5 g TRIS σε 1000 ml απεσταγμένο νερό)

B. Διάλυμα δισόξινου φωσφορικού νατρίου.

(60.0 g NaH_2PO_4 - ή ανάλογη ποσότητα όταν το άλας είναι ένυδρο — στα 1000 ml απεσταγμένο νερό).

Γ. Πυκνό διάλυμα χρωματογραφίας (Μητρικό).

Διάλυμα A 1000 ml + διάλυμα B 500 ml.

Ρύθμιση pH στο 8.50 με αραίο διάλυμα NaOH (N/10) ή φωσφορικό οξύ (20%).

Δ. Αραίο διάλυμα χρωματογραφίας (Διάλυμα εργασίας).

20 ml μητρικού διαλύματος αραίωνται στα 1000 ml με απεσταγμένο νερό.

Προστίθενται 100 mg κυανιούχο κάλι (KCN. ΠΡΟΣΟΧΗ: ισχυρό δηλητήριο) και το pH ρυθμίζεται και πάλι στο 8.50 με απόλυτη ακρίβεια.

E. Ρητίνη. Χρησιμοποιείται κατά προτίμηση ρητίνη CELLEX - D της εταιρείας BIO - RAD H.P.A. (με ικανότητα συγκρατήσεως περί τα 0.75 mEq / g).

— Προετοιμασία ρητίνης.

20 g ρητίνη εναιωρούνται σε 1 λίτρο απεσταγμένο νερό. Το εναιώρημα παραμένει σε ηρεμία. Μετά 30 λεπτά απομακρύνεται το υπερκείμενο θόλωμα. Η έκ-

πλυση αυτή επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Έπειτα η ρητίνη διηθείται σε ηθμό Buchner.

Η ρητίνη εναιωρείται σε 500 ml μητρικού διαλύματος Γ. Συνεχής ανάδευση επί 24 ώρες. Διήθηση σε ηθμό Buchner.

Η ρητίνη εναιωρείται σε αραιό διάλυμα χρωματογραφίας Δ και εκπλύνεται, όπως αναφέρθηκε στην αρχή, τουλάχιστο τέσσερις φορές. Τελική εναιώρηση ρητίνης σε 200 ml διαλύματος Δ, pH 8.50.

Το εναιώρημα διατηρείται σε ψυγείο 4° C).

— *Προετοιμασία στήλης.*

Με το εναιώρημα της ρητίνης σχηματίζεται στήλη ρητίνης διαμέτρου 1 και ύψους 10 cm. Μέσα από τη ρητίνη διηθείται συνεχώς διάλυμα Δ.

— *Χρωματογραφία.*

Γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.

0.25 ml αιμολύματος αραιώνονται με 2 ml διαλύματος Δ.

1 ml από το αραιωμένο αιμόλυμα επιστοιβάζεται με προσοχή στη ρητίνη και αφήνεται να προσροφηθεί στο ανώτερο στρώμα της. Μετά την προσρόφηση του αιμολύματος η έκλουση της ρητίνης με διάλυμα Δ συνεχίζεται. Η HbA₂ γρήγορα αποχωρίζεται από το κύριο κλάσμα της HbA και εκλούεται μέσα στα 20 πρώτα ml. Τότε έκλουσμα φωτομετρείται στα 418 nm. Η απορρόφηση καθορίζεται σαν OD HbA₂. Παράλληλα 0.1 ml από το αραιωμένο αιμόλυμα διαλύεται σε 20 ml διαλύματος Δ και φωτομετρείται. Η απορρόφηση αντιστοιχεί στην ολική αιμοσφαιρίνη του αιμολύματος.

Ο υπολογισμός του ποσοστού της HbA₂ γίνεται με τον τύπο:

$$\text{HbA}_2 (\%) = \frac{\text{OD HbA}_2 \times 10}{\text{OD ολικής αιμοσφαιρίνης}}$$

Φυσιολογικές τιμές: 1.8 - 3.0% (2.45 ± 0.32%).

4) Μέτρηση εμβρυικής αιμοσφαιρίνης HbF.

Στηρίζεται στην ιδιότητα της HbF να αντέχει στην επίδραση αλκαλικών διαλυμάτων καλύτερα από τις άλλες αιμοσφαιρίνες, που καταστρέφονται εύκολα.

Αντιδραστήρια.

A. Σιδηρικυανιούχο κάλιο [K₃Fe₃ (CN)₆] 200 mg

Κυανιούχο κάλιο (KCN) 200 mg

Συμπληρώνονται στα 1000 ml με απεσταγμένο νερό.

B. Καυστικό νάτριο (NaOH) 1.2 N. Παρασκευάζεται με ανάλογη αραίωση προτυπωμένης φύσιγγας διαλύματος NaOH (υπάρχει στο εμπόριο).

Γ. Κεκορεσμένο διάλυμα θειικού αμμωνίου.

- Τεχνική μετρήσεως.
- 0,4 ml αιμολύματος αραιώνονται στα 8.0 ml με διάλυμα A.
- Σε 2.8 ml του αραιωμένου αιμολύματος προστίθενται 0.2 ml διαλύματος B και αναμειγνύονται αμέσως καλά. Συγχρόνως αρχίζει η χρονομέτρηση.
- Μετά 2 λεπτά ακριβώς προστίθενται 2 σταγόνες διαλύματος Γ.
- Καλή ανάμειξη. Παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου επί 5 λεπτά.
- Η μετουσιωμένη αιμοσφαιρίνη κατακρημνίζεται.
- Διήθηση με απλό διηθητικό ηθμό.
- Φωτομέτρηση του διηθήματος σε μήκος κύματος φωτός 540 nm. Η ένδειξη OD_α αντιστοιχεί στη μη μετουσιωμένη αιμοσφαιρίνη.
- Οι ίδιες ενέργειες επαναλαμβάνονται σε δεύτερο σωληνάριο, όπου αντί του καυστικού νατρίου (B) προστίθεται αντίστοιχη ποσότητα νερού. Η φωτομετρική ένδειξη καθορίζεται ως OD_β και αντιστοιχεί στο σύνολο της αιμοσφαιρίνης του αιμολύματος.

Υπολογισμός ποσοστού εμβρυικής αιμοσφαιρίνης (HbF).

$$\text{HbF (\%)} = \frac{\text{OD}_\alpha \times 10}{\text{OD}_\beta}$$

2.7 Ανασκόπηση της φυσιοπαθολογίας του ερυθροκυττάρου.

Στο κεφάλαιο αυτό επιχειρείται περιληπτικά η συμπλήρωση των κενών που δημιουργήθηκαν στην ανάλυση που προηγήθηκε, με σκοπό ο αναγνώστης να αποκτήσει μια γενική θεώρηση της φυσιολογικής ερυθροποιήσεως και των διαταραχών της. Οι διάφορες φάσεις θα δοθούν μάλλον επιγραμματικά και θα τονισθούν μόνο τα σημεία που θεωρούνται σημαντικά για το σκοπό της εκδόσεως.

α) Παραγωγή ερυθροκυττάρων.

Γίνεται στο μυελό των οστών με πολλαπλασιασμό/ωρίμανση των ερυθροβλαστών. Οι ώριμοι ερυθροβλάστες γεμίζουν με αιμοσφαιρίνη που συνθέτουν και, αφού αποβάλουν τον πυρήνα τους, βγαίνουν στο κυκλοφορούμενο αίμα ως **δικτυοερυθροκύτταρα**. Η μέτρηση των δικτυοερυθροκυττάρων του αίματος (λέγονται και **δικτυοκύτταρα** ή ΔΕΚ) δίνει σημαντικές πληροφορίες για την αναγέννηση του ερυθροκυτταρικού πληθυσμού. Κάτω από κανονικές συνθήκες το 1% των ερυθροκυττάρων που κυκλοφορούν, δηλαδή 50.000 ερυθροκύτταρα ανά ml, είναι δικτυοερυθροκύτταρα. Αυτό μπορεί να καταδειχθεί με ειδική χρώση, που περιγράφεται στο τέλος του κεφαλαίου. Τα ΔΕΚ μετατρέπονται σε ώριμα ερυθροκύτταρα (παύουν να έχουν δίκτυο) μετά μία περίπου ημέρα.

Η ρύθμιση της ερυθροποιήσεως γίνεται με την ορμόνη **ερυθροποιητίνη**. Για τον κανονικό πολλαπλασιασμό των ερυθροβλαστών είναι απαραίτητες διάφορες ουσίες, από τις οποίες δύο βιταμίνες (η βιταμίνη B₁₂ και το φυλλικό οξύ) είναι σημαντικές και αναντικατάστατες. Η έλλειψή τους επιφέρει μείωση της παραγωγής ερυθροκυττάρων και σοβαρή αναιμία, που είναι χαρακτηριστικά μακροκυτταρική.

Η πλήρωση των ερυθροκυττάρων με αιμοσφαιρίνη αρχίζει στο στάδιο του ε-

ρυθροβλάστη που ωριμάζει και συμπληρώνεται στο δίκτυο ερυθροκύτταρο. Μέσα στο διάστημα αυτό (περίπου 3 - 4 ημέρες) κάθε ερυθροκύτταρο γεμίζει με 30 περίπου μικρομικρογραμμάρια αιμοσφαιρίνης.

Η πλήρωση του ερυθροκυττάρου με αιμοσφαιρίνη εξαρτάται από την κανονική σύνθεση αλύσων σφαιρίνης και αίμης. Για την επαρκή σύνθεση αίμης απαραίτητο συστατικό είναι ο σίδηρος. Κάθε διαταραχή στο ρυθμό συνθέσεως αιμοσφαιρίνης επιφέρει αναιμία, που είναι χαρακτηριστικά υπόχρωμη και μικροκυτταρική. Οι διαταραχές συνθέσεως της σφαιρίνης περιγράφηκαν με λεπτομέρειες. Από τις υπόλοιπες σημαντική και συχνή είναι η σιδηροπενική αναιμία (αναιμία από έλλειψη σιδήρου).

β) Μεταβολισμός σιδήρου.

Το ανθρώπινο σώμα περιέχει 4 περίπου γραμμάρια σιδήρου, από τα οποία 2.5 g αποτελούν συστατικό της αιμοσφαιρίνης. Η ποσότητα αυτή διατηρείται σταθερή με εξαιρετική ακρίβεια, γιατί ο οργανισμός έχει την ικανότητα να απορροφά από τις τροφές μόνο το σίδηρο που χρειάζεται για να αναπληρώσει το σίδηρο που χάνει (κύτταρα δέρματος, αίμα, έμμηνος ροή). Ο σίδηρος που απορροφάται από το έντερο μεταφέρεται μέσα στο πλάσμα προς το μυελό των οστών και άλλα σημεία του οργανισμού, όπου αποθηκεύεται. Η μέτρηση του σιδήρου του πλάσματος είναι αξιόπιστη και χρήσιμη πληροφορία. Όταν το ποσό του σιδήρου που προσλαμβάνεται είναι μικρότερο από εκείνο που χρειάζεται για την κάλυψη εκείνου που χάνεται (μείωση απορροφήσεως ή αύξηση απωλειών - αιμορραγίες), τότε δημιουργείται σιδηροπενία και σιδηροπενική αναιμία.

γ) Μεμβράνη ερυθροκυττάρων - Μεταβολισμός.

Τα ερυθροκύτταρα που κυκλοφορούν παρομοιάζονται με σακκίδια γεμάτα αιμοσφαιρίνη. Η μεμβράνη των ερυθροκυττάρων είναι ανθεκτική σε διάφορους παράγοντες, όπως η μηχανική καταστροφή κατά την κυκλοφορία και η επίδραση οξειδωτικών ουσιών. Η ακεραιότητα της μεμβράνης διατηρείται με τη βοήθεια πολλών βιοχημικών «προστατευτικών» μηχανισμών. Με παρόμοιους άλλωστε μηχανισμούς διατηρείται ακέραια και λειτουργική η αιμοσφαιρίνη που γεμίζει τα ερυθροκύτταρα. Οι «προστατευτικοί» μηχανισμοί είναι κατά βάση αναγωγικοί, παρεμποδίζουν με άλλα λόγια την ανεπιθύμητη οξείδωση. Η λειτουργία τους εξασφαλίζεται με ενέργεια, που παράγεται με ενδοκυττάρια καύση γλυκόζης. Το γλυκολυτικό σύστημα των ερυθροκυττάρων είναι πολύπλοκο και περιλαμβάνει σειρά ενζύμων και παραπλεύρων μηχανισμών. Ορισμένα από τα ένζυμα αυτά έχουν σημαντικό ρόλο για την κανονική μεταφορά και απόδοση οξυγόνου.

Αποδεικνύεται λοιπόν, ότι τα ερυθροκύτταρα δεν είναι αδρανή σακκίδια που μεταφέρουν αιμοσφαιρίνη. Το καθένα από αυτά είναι ένα μικρό εργαστήριο που εξασφαλίζει με καταπληκτική ακρίβεια την επιβίωσή του και την αποδοτική λειτουργία της πρωτεΐνης που μεταφέρει. Με τους προστατευτικούς μηχανισμούς που διαθέτουν, τα ερυθροκύτταρα μπορούν να παραμείνουν στην κυκλοφορία περίπου 120 ημέρες. Στη συνέχεια, τα γηρασμένα ερυθροκύτταρα αποσύρονται και αποδο-

μούνται σε ειδικές θέσεις του οργανισμού. Τα συστατικά τους επαναχρησιμοποιούνται.

δ) Θάνατος ερυθροκυττάρων.

Κάθε διαταραχή των μηχανισμών επιβιώσεως επιφέρει πρόωρο θάνατο των ερυθροκυττάρων, που στην ιατρική χαρακτηρίζεται ως **αιμολυτική αναιμία**. Έτσι, συνοπτικά, αιμολυτικές αναιμίες μπορούν να προκύψουν με τους ακόλουθους μηχανισμούς:

- Κακή κατασκευή μεμβρανών (παράδειγμα ο σφαιροκυτταρικός ίκτερος κ.ά.).
- Υπέρμετρη οξείδωση μεμβρανών (έλλειψη βιταμίνης E στο νεογνό).
- Υπέρμετρη μηχανική καταστροφή (μηχανικές βαλβίδες καρδιάς, μικροαγγειοπάθειες).
- Έλλειψη ή κακή λειτουργία ενός από τα ένζυμα που εξασφαλίζουν τη σωστή γλυκόλυση (συνεπάγεται ενδοκυττάρια κατακρίμνιση αιμοσφαιρίνης και αθρόα αιμόλυση).

ε) Μέτρηση δικτυοερυθροκυττάρων (ΔΕΚ) περιφερικού αίματος.

Αντιδραστήριο.

Χρησιμοποιείται συνήθως έτοιμο διάλυμα της χρωστικής New Methylene Blue (MERCK, No 52030) ή διάλυμα «στίλβοντας κυανού του κρεσυλίου», που παρασκευάζεται ως εξής:

Brilliant cresyl blue (MERCK No 51010)	0.5 g
Οξαλικό κάλιο	1.6 g
Απεσταγμένο νερό στα	100.0 ml
Το διάλυμα διηθείται πριν χρησιμοποιηθεί.	

Τεχνική:

- Δύο σταγόνες χρωστικής προστίθενται μέσα σε δύο σταγόνες αίματος μέσα σε σωληνάριο.
- Καλή ανάμειξη, παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου επί 20 λεπτά.
- Επαναιώρηση και επίστρωση μιας σταγόνας του εναιωρήματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα.
- Παρατήρηση και μέτρηση ΔΕΚ στο μικροσκόπιο με μεγάλη μεγέθυνση (800 - 1000 x). Υπολογισμός ποσοστού ΔΕΚ στα 100 ερυθροκύτταρα, αφού μετρηθούν τουλάχιστον 1000 ερυθροκύτταρα.

2.8 Ταχύτητα καθίζησεως των ερυθρών (ΤΚΕ).

Όταν ένα δείγμα αίματος (με το κατάλληλο αντιπηκτικό) αφεθεί σε ηρεμία, σε λίγη ώρα τα ερυθροκύτταρα ως βαρύτερα θα καθίζανουν. Όμως η καθίζηση αυτή δεν εξαρτάται μόνο από το μεγαλύτερο ειδικό βάρος των ερυθροκυττάρων σε σχέση με το πλάσμα. Στο φαινόμενο παίζουν ρόλο και άλλοι παράγοντες, όπως τα ηλεκτρικά φορτία που αναπτύσσονται και οι πρωτείνες του περιβάλλοντος πλάσματος. Η ταχυτητα, με την οποία τα ερυθροκύτταρα κυθίζανουν αποτελεί παραμέτρο που μπορεί να μετρηθεί. Κάτω από πρότυπες συνθήκες, που θα περιγραφούν στην τεχνική, η στήλη των ερυθροκυττάρων στο φυσιολογικό άνθρωπο κα-

τεβαίνει περίπου 10 mm σε μία ώρα και άλλα τόσα στη δεύτερη. Το φαινόμενο είναι ενδιαφέρον γιατί σε πολλές παθολογικές καταστάσεις η ταχύτητα καθίζεται των ερυθρών μπορεί να αυξηθεί λίγο ή σημαντικά. Η παρατήρηση αυτή είναι εξαιρετικά χρήσιμη στο κλινικό εργαστήριο, αρκεί να γίνει σωστά. Η αύξηση της TKE δεν υποστηρίζει μία συγκεκριμένη διάγνωση, με άλλα λόγια είναι φαινόμενο «μη ειδικό». Ωστόσο, η διαπίστωσή της υποδηλώνει παθολογική κατάσταση και δίνει την ένδειξη για περισσότερη έρευνα. Καταστάσεις που συνοδεύονται από μέτρια αύξηση της TKE (έως 30 - 50 mm/ώρα) είναι οι ακόλουθες:

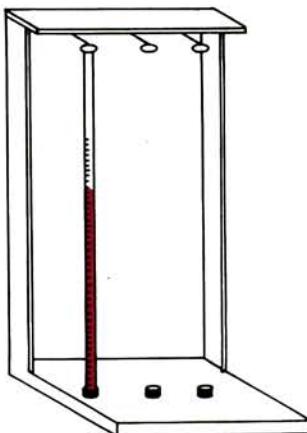
- οξείες φλεγμονές (λοιμώδη νοσήματα, πυώδεις συλλογές),
- οξείς ρευματισμοί των άρθρων,
- ρευματοειδής αρθρίτιδα και άλλα νοσήματα του κολλαγόνου,
- σημαντική αύξηση της TKE στο διάχυτο ερυθηματώδη λύκο,
- χρόνιες λοιμώξεις (φυματίωση),
- νεοπλάσματα.

Καταστάσεις που συνοδεύονται από μεγάλη αύξηση της TKE (έως 100 mm / ώρα) είναι διάφορα νεοπλάσματα και διαταραχές των πρωτεϊνών του ορού (παραπρωτεΐναιμίες σε πολλαπλό μυέλωμα κ.ά. νοσήματα).

— *Τεχνική* (μέθοδος Westergren: υπάρχουν και άλλες παραπλήσιες παραλλαγές):

Ως αντιπηκτικό χρησιμοποιείται διάλυμα 3.8% κιτρικού νατρίου.

2.0 ml αίμα αναμειγνύεται με 0.5 ml αντιπηκτικού και αναρροφούνται μέσα σε μία πιπέττα Westergren, που είναι ένας σωληνίσκος διαμέτρου περίπου 1 mm και μήκους 30 cm. Η πιπέττα πωματίζεται με πλαστελίνη ή ειδικό πώμα και τοποθετείται κάθετα σε σταύρο. Μετά μία και δύο ώρες σημειώνεται (πάνω στη βαθμολογημένη κλίμακα της πιπέττας) το ύψος της στήλης των ερυθροκυττάρων. Η αυστηρά κάθετη τοποθέτηση της πιπέττας Westergren και η απόλυτη καθαριότητά της είναι απαραίτητες προϋποθέσεις για την αξιοπιστία των μετρήσεων (σχ. 2.8).



Σχ. 2.8.

Μέτρηση της TKE σε σωληνίσκο Westergren.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

Τα λευκά αιμοσφαίρια

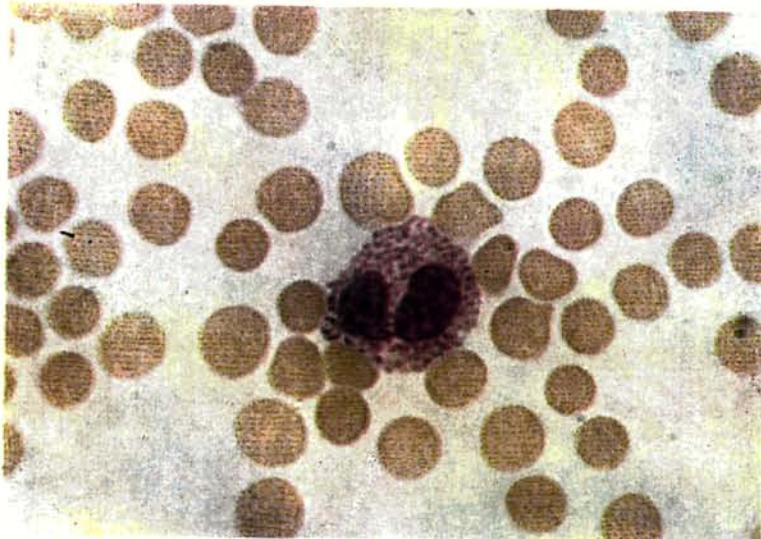
3.1 Γενικά.

Όπως είπαμε, τα λευκά αιμοσφαίρια είναι μία από τις 3 κατηγορίες κυττάρων του αίματος. Αυτά είναι πολύ λιγότερα από τα ερυθρά (4000 ως 11.000 ανά κυβικό χιλιοστό αίματος) και διακρίνονται σε 3 κατηγορίες, τα **κοκκιοκύτταρα** ή **πολυμορφοπύρηνα**, τα **λευφοκύτταρα** και τα μεγάλα **μονοπύρηνα**.

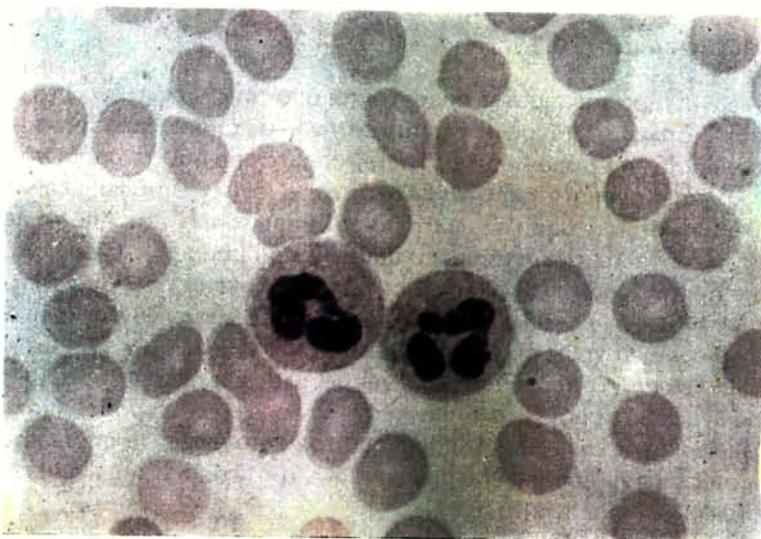
3.2 Κοκκιοκύτταρα ή πολυμορφοπύρηνα.

Τα κοκκιοκύτταρα, όπως και τα ερυθρά αιμοσφαίρια, παράγονται στον ερυθρό μυελό των οστών από ένα αρχικό κύτταρο, που λέγεται **μυελοβλάστη**. Η διαδικασία που περνά η μυελοβλάστη για να γίνει κοκκιοκύτταρο ονομάζεται **ωρίμανση**. Η μυελοβλάστη είναι ένα μεγάλο κύτταρο με μεγάλο πυρήνα και πρωτόπλασμα, που βάφεται με μπλε βασικές χρωστικές (βλέπε παρακάτω). Όσο το κύτταρο αυτό ωριμάζει γίνεται μικρότερο, ο πυρήνας του επίσης μικραίνει και σπάει σε κομμάτια, και το πρωτόπλασμα βάφεται όλο και περισσότερο με όξινες κόκκινες χρωστικές. Ένα άλλο κύριο χαρακτηριστικό της ωριμάνσεως είναι ότι στο πρωτόπλασμα εμφανίζονται κοκκία. Αναλόγως με το είδος των κοκκίνων που θα εμφανισθούν, έχουμε τρεις πορείες ωριμάνσεως και την παραγωγή τριών κατηγοριών κοκκιοκυττάρων λευκών αιμοσφαιρίων, τα **ηωσινόφιλα** (σχ. 3.2α), τα **ουδετερόφιλα** (σχ. 3.2β) και τα **βασεόφιλα** (σχ. 3.2γ). Τα ηωσινόφιλα έχουν κοκκία μεγάλα, που βάφονται με την όξινη, κόκκινη προς το πορτοκαλί χρωστική, που λέγεται **ηωσίνη**. Τα βασεόφιλα έχουν κοκκία μπλε και βάφονται με μπλε βασική χρωστική. Τα ουδετερόφιλα έχουν μικρά κοκκία, που δεν βάφονται έντονα ούτε από τη μια ούτε από την άλλη χρωστική. Ο πυρήνας των ώριμων πλέον κοκκιοκυττάρων είναι σπασμένος σε 2 ή περισσότερα κομμάτια που ονομάζονται **λοβοί** και γι' αυτό ονομάζονται και **πολυμορφοπύρηνα**. Τους περισσότερους λοβούς έχει ο πυρήνας των ουδετεροφίλων. Τα στάδια ωριμάνσεως των κοκκιοκυττάρων φαίνονται στο σχήμα 3.2β, όπου δείχνεται όλη η πορεία της ωριμάνσεως, από τη μυελοβλάστη μέχρι τα ώριμα κοκκιοκύτταρα του αίματος.

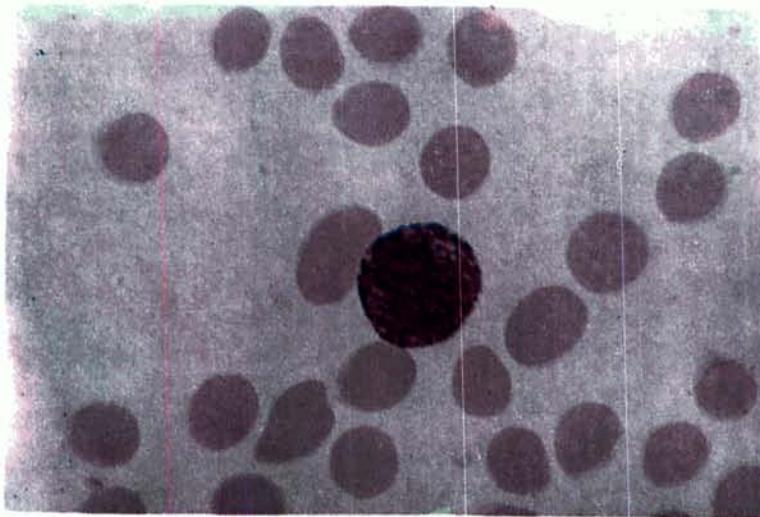
Τα ουδετερόφιλα του αίματος ζουν μόνο μερικές ώρες, γιατί αποτελούν ένα από τους κύριους μηχανισμούς άμυνας του οργανισμού κατά των μικροβίων, τα οποία καταστρέφουν με αποτέλεσμα να καταστρέφονται και πολλά κοκκιοκύτταρα. Έτσι από τον ερυθρό μυελό των οστών παράγονται περί τα 100 δισεκατομμύρια ουδετερόφιλα την ημέρα για να είναι δυνατόν να εξισορροπείται η συνεχής καταστρο-



Σχ. 3.2α.
Ηωσινόφιλο λευκό αιμοσφαίριο.



Σχ. 3.2β.
Ουδετερόφιλο λευκό αιμοσφαίριο.



Σχ. 3.2γ.
Βασεόφιλο λευκό αιμοσφαίριο.

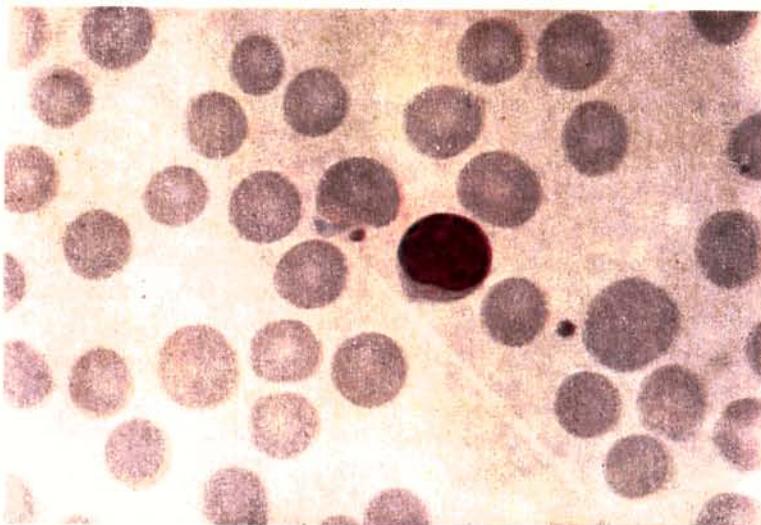
φή τους. Σε περίπτωση προσβολής του οργανισμού από μικρόβια ο ερυθρός μυελός παράγει και απέλευθερώνει στο αίμα πολύ περισσότερα ουδετερόφιλα. Αυτά διαπερνούν το τοίχωμα των τριχοειδών αγγείων στην περιοχή της προσβολής και καταστρέφουν τα μικρόβια με **φαγοκυττάρωση**.

3.3 Λεμφοκύτταρα (σχ. 3.3).

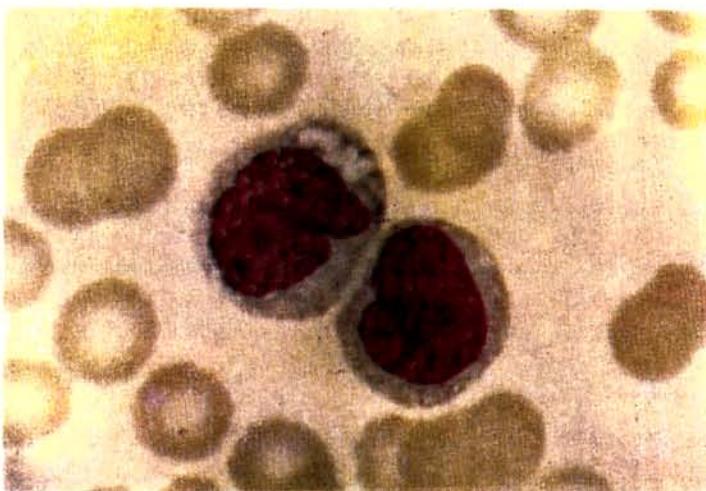
Τα λεμφοκύτταρα του αίματος προέρχονται από τους λεμφαδένες, το μυελό των οστών και το σπλήνα. Η ωρίμανση μιας κατηγορίας από τα κύτταρα αυτά απαιτεί και την παρουσία του θύμου αδένα. Το αρχικό κύτταρο από το οποίο προέρχονται τα λεμφοκύτταρα ονομάζεται **λεμφοβλάστη** και είναι μεγάλο σφαιρικό κύτταρο με βασεόφιλο (βάφεται με βασική χρωστική) μπλε πρωτόπλασμα. Από τη λεμφοβλάστη παράγονται τα λεμφοκύτταρα του αίματος, που μπορεί να έχουν διάφορα μεγέθη και σχήματα, όπως φαίνεται στο σχήμα 3.3. Το πρωτοπλασμά τους είναι γαλάζιο και συνήθως δεν έχει κοκκία. Σπάνια μπορεί να εμφανίζονται κοκκία, που βάφονται με μια ειδική χρωστική, που λέγεται αζούρ (γαλάζιο) και γι' αυτό λέγονται **αζουρόφιλα** κοκκία. Ο πυρήνας τους είναι μεγάλος και σφαιρικός και μερικές φορές (μικρά λεμφοκύτταρα) καταλαμβάνει σχεδόν όλο το κύτταρο. Η κύρια λειτουργία των λεμφοκυττάρων είναι ότι παράγουν τα **αντισώματα**, τα οποία είναι από τις κύριες ουσίες που χρησιμοποιεί ο οργανισμός για την άμυνά του εναντίον των μικροβίων (βλέπε Φυσιολογία).

3.4 Μεγάλα μονοπύρηνα ή μονοκύτταρα (σχ. 3.4).

Τα μεγάλα μονοπύρηνα παράγονται και αυτά στον ερυθρό μυελό των οστών από ένα κύτταρο που λέγεται **μονοβλάστη**, που σπάνια είναι δυνατό να το δούμε.



Σχ. 3.3.
Λεμφοκύτταρο.



Σχ. 3.4.
Μεγάλο μονοπύρηνο.

. Τα μονοκύτταρα είναι μεγάλα κύτταρα με ποικίλο σχήμα και πυρήνα που είναι στρογγυλός ή μοιάζει με νεφρό ή και πολλές φορές είναι κομμένος σε λοβούς (σχ. 3.4). Τα κύτταρα αυτά χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερη «επιθετικότητα». Εμφανίζουν δηλαδή έντονη αμοιβαδοειδή κίνηση, φαγοκυττάρωση και ασφαλώς συμμετέχουν, με τρόπο που δεν είναι γνωστός ακόμη, στην παραγωγή αντισωμάτων.

3.5 Λευκοκυτταρικός τύπος.

Πολλές φορές μας ενδιάφέρει να ξέρομε όχι μόνο τον αριθμό του συνόλου των λευκών αιμοσφαιρίων, αλλά και την εκατοστιαία αναλογία των διαφόρων μορφών. Είπαμε π.χ. ότι στις μικροβιακές λοιμώξεις αυξάνει ο αριθμός των ουδετεροφίλων. Μια τέτοια ειδική μεταβολή δεν είναι δυνατό να την καταλάβουμε μετρώντας μόνο τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων. Αν όμως μπορέσουμε να βρούμε πόσα κύτταρα από κάθε κατηγορία αντιστοιχούν σε 100 λευκά αιμοσφαίρια, τότε μπορούμε να διαπιστώσουμε ποια από τις κατηγορίες έχει μεταβληθεί. Η εκατοστιαία αυτή αναλογία των διαφόρων μορφών λευκών αιμοσφαιρίων ονομάζεται **λευκοκυτταρικός τύπος**. Ο λευκοκυτταρικός τύπος, για ένα φυσιολογικό άτομο, είναι ο εξής:

Ουδετερόφιλα	50 - 70%
Ηωσινόφιλα	1 - 4%
Βασεόφιλα	0.5 - 1%
Λεμφοκύτταρα	20 - 40%
Μονοκύτταρα	2 - 8%

3.6 Λευχαιμίες.

Ονομάζομε λευχαιμίες τις παθολογικές εκείνες καταστάσεις, που χαρακτηρίζονται από άσκοπο πολλαπλασιασμό των κυττάρων της λευκής σειράς. Ανάλογα με το είδος των κυττάρων που εμφανίζουν την παθολογική αυτή κατάσταση, οι λευχαιμίες διακρίνονται σε **μυελογενείς**, όπου η παθολογική βλάβη εμφανίζεται στα κύτταρα της μυελογενούς σειράς, και σε **λεμφογενείς**, όπου η βλάβη εμφανίζεται στα κύτταρα της λεμφογενούς σειράς.

Και οι δύο αυτές κατηγορίες διακρίνονται σε οξείες και χρόνιες. Στις χρόνιες τα κύτταρα που εμφανίζονται σε μεγάλους αριθμούς είναι τα ώριμα, ενώ στις οξείες επικρατούν τα άωρα κύτταρα. Έτσι, ενώ στις χρόνιες ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος είναι πάντα αυξημένος, στις οξείες είναι δυνατό να μην έχουμε αυξήση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων στο αίμα, αλλά σημαντικότατη αυξήση των άωρων κυττάρων (μυελοβλαστών ή λεμφοβλαστών) στο μυελό των οστών.

3.7 Μετρήσεις που αφορούν τα λευκά αιμοσφαίρια.

a) Μέτρηση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων.

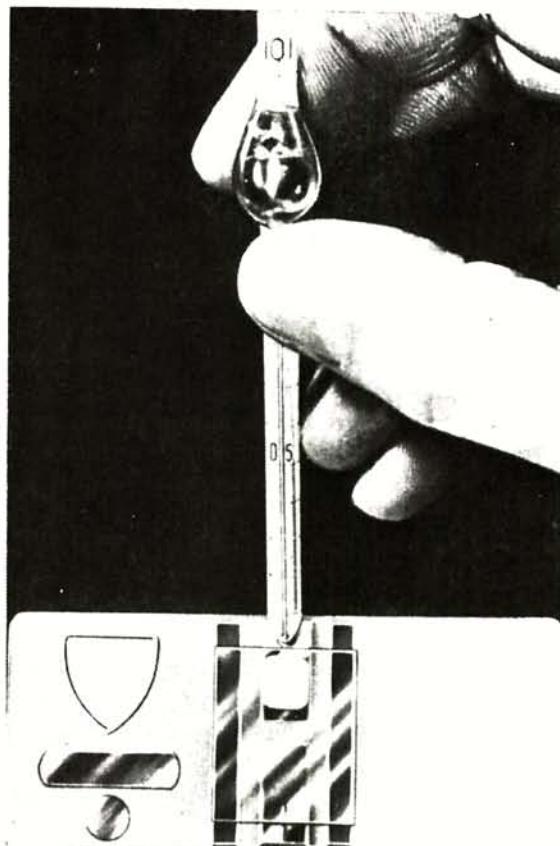
Για τη μέτρηση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων χρησιμοποιούνται ή οι αυτόματες τεχνικές ή η τεχνική με το αιμοκυτόμετρο. Οι αυτόματες τεχνικές είναι ασφαλώς οι ακριβέστερες και έχουν περιγραφεί στη μέτρηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Εδώ θα περιγράψουμε την τεχνική του **αιμοκυτόμετρου**. Η τεχνική αυτή απαιτεί την ύπαρξη των εξης αντιδραστηρίων και οργάνων:

1) Υγρό αραιώσεως του αίματος.

Το υγρό αραιώσεως που συνήθως χρησιμοποιούμε είναι 2% διάλυμα οξικού οξέος, μέσα στο οποίο έχουμε προσθέσει τη χρωστική ιώδες της γεντιανής.

2) Σιφώνιο (πιπέττα) του Thoma για λευκά αιμοσφαίρια (σχ. 3.7α).

Το σιφώνιο ή πιπέττα του Thoma αποτελείται από ένα τριχοειδές σωληνάριο, που καταλήγει στο άνω μέρος σε μια κοιλότητα. Το τριχοειδές τμήμα του σιφωνίου χωράει 1 κυβικό χιλιοστό υγρού και έχει στη μέση μια υποδιαίρεση για το 0.5 κυβικό χιλιοστό. Η κοιλότητα χωράει 10 κυβικά χιλιοστά υγρού. Δηλαδή αν γεμίσουμε το σιφώνιο μέχρι την υποδιαίρεση 0.5, θα έχουμε 0.5 κυβικά χιλιοστά υγρού, αν γεμίσουμε ολόκληρο το σιφώνιο τριχοειδές, δηλαδή και την κοιλότητα, θα έχουμε πάρει 11 κυβικά χιλιοστά υγρού.



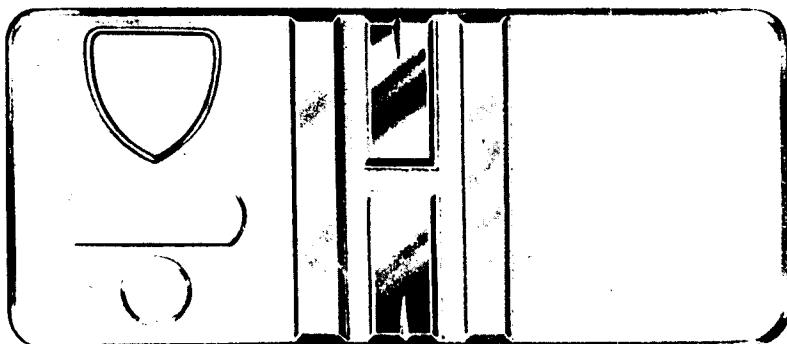
Σχ. 3.7α.

Σιφώνιο (πιπέττα) του Thoma με αιμοκυτόμετρο του Neubauer.

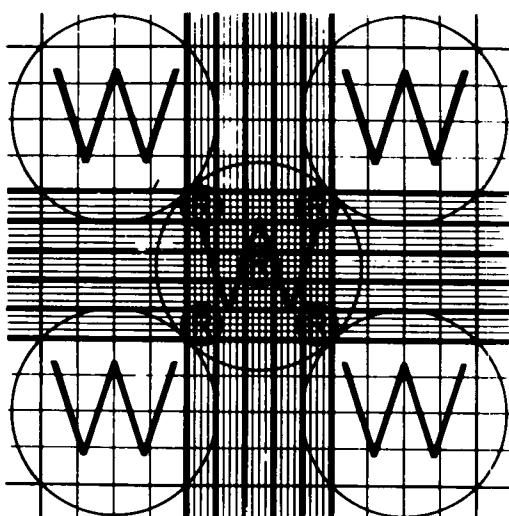
3) Αιμοκυτόμετρο του Neubauer (σχ. 3.7β).

Το αιμοκυτόμετρο του Neubauer αποτελείται από μια τετράγωνη γυάλινη πλά-

κα. Στη μέση περίπου της πλάκας υπάρχουν τρία αυλάκια, που σχηματίζουν ένα Η. Το άνω και κάτω μισό του Η αυτού περιέχει δύο επιφάνειες, που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση των λευκών αιμοσφαιρίων. Αν δούμε τις επιφάνειες αυτές με το μικροσκόπιο, θα δούμε ότι φέρουν γραμμώσεις. Οι γραμμώσεις αυτές σχηματίζουν στις γωνίες 4 μεγάλα τετράγωνα, που στο σχήμα σημειώνονται με το γράμμα W. Τα γωνιακά αυτά τετράγωνα χρησιμεύουν για τη μέτρηση των λευκων αιμοσφαιρίων. Η πλευρά καθενός από τα τετράγωνα αυτά έχει μήκος 1 χιλιοστού, άρα η συνολική επιφάνεια έχει εμβαδόν 4.1 τετραγωνικά χιλιοστά (σχ. 3.7γ). Για διευκόλυνση στη μέτρηση η επιφάνεια καθενός από τα τετράγωνα χωρίζεται σε 16 μικρότερα.



Σχ. 3.7β.
Αιμοκυτόμετρο του Neubauer.



Σχ. 3.7γ.
Γραμμωτή περιοχή του αιμοκυτόμετρου. Τα γωνιακά μεγάλα τετράγωνα που σημειώνονται με το σύμβολο W χρησιμεύουν για τη μέτρηση των λευκών αιμοσφαιρίων.

Εξωτερικά από τα δύο κατακόρυφα αυλάκια του Η υπάρχουν δύο ανυψωμένες επιφάνειες ύψους 0.1 mm. Έτσι αν τοποθετήσουμε μια μικρή λεπτή γυάλινη πλάκα (καλυπτρίδα) πάνω στις δύο αυτές επιφάνειες (σχ. 3.7a), τότε μεταξύ της επιφάνειας που χρησιμοποιούμε για μέτρηση και της καλυπτρίδας δημιουργείται ένας μικρός χώρος ύψους 0.1 χιλιοστού.

4) Μικροσκόπιο.

Έχοντας λοιπόν τα παραπάνω, δηλαδή υγρό και συσκευές, μπορούμε να προχωρήσουμε στη μέτρηση των λευκών αιμοσφαιρίων, ως εξής:

— Γεμίζομε το σιφώνιο του Thoma μέχρι την υποδιαίρεση 0.5 με αίμα, στο οποίο έχουμε βάλει αντιπηκτικό ή με σταγόνα αίματος που παίρνομε από την άκρη του δακτύλου τρυπώντας το με μαχαιρίδιο, όπως περιγράψαμε παραπάνω. Κατόπιν σκουπίζομε την εξωτερική επιφάνεια του σιφωνίου με καθαρό βαμβάκι έτσι, ώστε να μη μείνει απέξω ούτε ίχνος αίματος.

— Γεμίζομε ολόκληρο το σιφώνιο, μαζί και τη φούσκα, με υγρό αραιώσεως. Όταν αναρροφούμε και το αίμα και το υγρό αραιώσεως, προσέχομε πολύ να μην πάρομε καθόλου αέρα. Με την αναρρόφηση του υγρού αραιώσεως, το πρώτο πράγμα που θα συμβεί είναι το αίμα, που υπάρχει στο τριχοειδές τμήμα, να φύγει από το τριχοειδές και να μπει στη φούσκα. Το υπόλοιπο τμήμα της φούσκας θα γεμίσει με υγρό αραιώσεως. Αν θυμηθούμε ότι η φούσκα χωράει 10 κυβικά χιλιοστά και βάλαμε μέσα 0.5 κυβικό χιλιοστό αίματος, είναι φανερό ότι τα υπόλοιπα 9.5 κυβικά χιλιοστά θα είναι υγρό αραιώσεως· έτσι δηλαδή έχομε αραίωση του αίματος 0.5 στα 10 ή απλούστερα 1 στα 20.

— Πετάμε την πρώτη σταγόνα και τοποθετούμε στο αιμοκυτόμετρο τη δεύτερη, όπως δείχνει το σχήμα 3.7a.

— Μετράμε με το μικροσκόπιο (αντικειμενικός φακός 10x) τα κύτταρα που υπάρχουν στα τέσσερα μεγάλα τετράγωνα, στις τέσσερις γωνίες του αιμοκυτόμετρου. Στο σημείο αυτό δημιουργείται το ερώτημα, πώς ξεχωρίζομε τα ερυθρά από τα λευκά αιμοσφαιρία, όταν μάλιστα τα ερυθρά είναι πολύ περισσότερα. Η απάντηση είναι απλή. Με το υγρό αραιώσεως που χρησιμοποιούμε για τη μέτρηση των λευκών αιμοσφαιρίων, καταστρέφομε όλα τα κύτταρα του αίματος. Όπως είναι όμως γνωστό, τα λευκά αιμοσφαιρία έχουν πυρήνες, ενώ τα ερυθρά δεν έχουν. Οι πυρήνες δεν καταστρέφονται και αυτούς ακριβώς μετράμε.

Ας δούμε τώρα πώς υπολογίζομε τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων κατά κυβικό χιλιοστό αίματος:

— Όπως ήδη εξηγήσαμε, η αραίωση του αίματος κατά τη μέτρηση είναι 1 στα 20.

— Η επιφάνεια καθενός από τα τέσσερα τετράγωνα είναι ένα (1) τετραγωνικό χιλιοστό, άρα η συνολική επιφάνεια και των τεσσάρων τετραγώνων μαζί είναι 4 τετραγωνικά χιλιοστά.

— Το ύψος του αιμοκυτόμετρου είναι 0.1 χιλιοστό του μέτρου.

— Αν πολλαπλασιάσουμε την επιφάνεια επί το ύψος ($0.1 \times 4 = 0.4$ κυβικά χιλιοστά) βρίσκομε το συνολικό όγκο του υγρού που χρησιμοποιήσαμε για να κάνομε τη μέτρηση.

— Αν λοιπόν π.χ. στον όγκο που μετρήσαμε, δηλαδή στα 0.4 κυβικά χιλιοστά, βρήκαμε 100 λευκά αιμοσφαίρια, τότε στο 1 κυβικό χιλιοστό υγρού θα έχομε $100/0.4 = 250$ λευκά αιμοσφαίρια.

— Το υγρό όμως που χρησιμοποιήσαμε για να μετρήσουμε τα λευκά αιμοσφαίρια είναι αραιωμένο αίμα και μάλιστα σε αναλογία 1:20. Πρέπει λοιπόν να πολλαπλασιάσουμε επί την αραίωση 20 για να βρούμε πόσα λευκά αιμοσφαίρια έχομε όχι στο αραιωμένο, αλλά στο πλήρες αίμα. Δηλαδή στο παράδειγμά μας να πολλαπλασιάσουμε το 250 επί το 20, οπότε θα βρούμε 5000 λευκά αιμοσφαίρια ανά κυβικό χιλιοστό αίματος.

— Όλα τα παραπάνω συνοψίζονται στον εξής απλό υπολογισμό: Πολλαπλασιάζομε τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων που μετρήσαμε και στα τέσσερα τετράγωνα επί τον αριθμό 50. Αν δηλαδή μετρήσουμε 100 κύτταρα, όπως στο παράδειγμά μας, θα έχομε $100 \times 50 = 5000$ λευκά αιμοσφαίρια σε 1 κυβικό χιλιοστό αίματος.

β) Μέτρηση λευκοκυτταρικού τύπου.

Όπως είχαμε ήδη πει πολλές φορές, δεν μας αρκεί η απλή μέτρηση των λευκών αιμοσφαιρίων, αλλά απαιτείται και η ανεύρεση του λευκοκυτταρικού τύπου. Για το σκοπό αυτό απαιτείται να γίνουν τρία πράγματα:

- Η δημιουργία λεπτής στοιβάδας αίματος σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα.
- Το χρωμάτισμα της στοιβάδας.
- Η μέτρηση 100 - 120 λευκών αιμοσφαιρίων και η διαπίστωση σε ποια κατηγορία ανήκουν το καθένα από αυτά.

Η δημιουργία της λεπτής στοιβάδας γίνεται ως εξής:

Τοποθετείται σταγόνα αίματος, διαμέτρου 2 περίπου χιλιοστών, στο ένα άκρο μιας αντικειμενοφόρου πλάκας.

Μια δεύτερη αντικειμενοφόρος πλάκα τοποθετείται με γωνία 40° επάνω στην πρώτη πλάκα, στο σημείο που υπάρχει η σταγόνα (σχ. 3.7δ).

Το αίμα απλώνεται επάνω στην άκρη της δεύτερης αντικειμενοφόρου πλάκας, που τη σπρώχνομε γρήγορα και σταθερά, με κατεύθυνση που δείχνει το σχήμα.

Έτσι δημιουργείται μια λεπτή στοιβάδα αίματος πάνω στην πρώτη αντικειμενοφόρο πλάκα, όπως δείχνει το σχήμα 3.7γ.

Το χρωμάτισμα της λεπτής αυτής στοιβάδας μπορεί να γίνει με διάφορες τεχνικές, αλλά συνήθως χρησιμοποιείται η χρωστική May Grünwald - Giemsa.

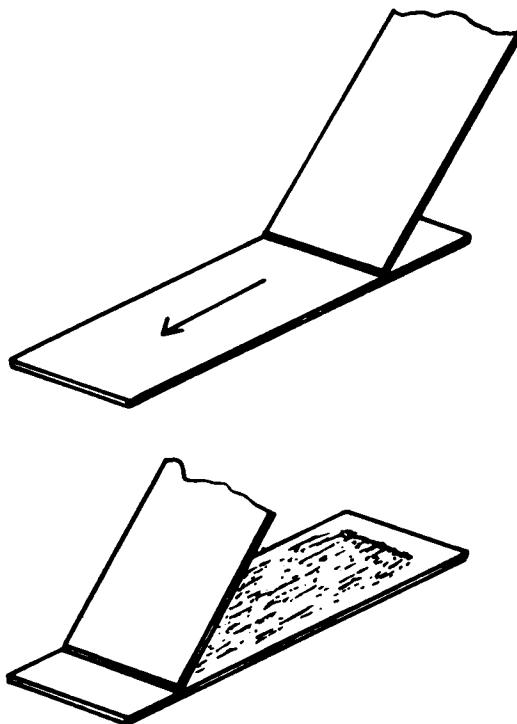
1) Χρώση May Grünwald - Giemsa.

Αντιδραστήρια:

— Ρυθμιστικό διάλυμα: 6.63 g δισδίνιο φωσφορικό κάλιο και 2.56 g μονόδινο φωσφορικό νάτριο διαλύονται σε ένα λίτρο απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα αυτό φυλάγεται στο ψυγείο και όταν θέλομε να το χρησιμοποιήσουμε διαλύομε 100 κ. εκ. από το διάλυμα αυτό με 900 κ. εκ. απεσταγμένο νερό.

— Διάλυμα χρωστικής May - Grünwald: Αποτελείται από ίσα μέρη χρωστικής και ρυθμιστικού διαλύματος.

— Διάλυμα χρωστικής Giemsa: Παρασκευάζεται από 13 σταγόνες χρωστικής α-



Σχ. 3.76.
Παρασκευή λεπτής στοιβάδας αίματος.

να 10 κ. εκ. ρυθμιστικού διαλύματος ή 2.8 κ. εκ. χρωστικής σε 100 κ. εκ. ρυθμιστικού διαλύματος.

Μέθοδος:

- Καλύπτομε την πλάκα με τη λεπτή στοιβάδα αίματος για 5 λεπτά με μεθανόλη.
- Αναστρέφομε την πλάκα και απορρίπτομε τη μεθανόλη.
- Καλύπτομε την πλάκα για 4 λεπτά με χρωστική May Grünwald.
- Απομακρύνομε τη χρωστική με αναστροφή.
- Καλύπτομε την πλάκα για 30 λεπτά με διάλυμα χρωστικής Giemsa.
- Απορρίπτομε τη χρωστική και πλένομε την πλάκα με νερό της βρύσης.
- Στέγνώνομε σε θερμοκρασία δωματίου και μικροσκοπούμε.

Η μικροσκόπηση.

Η μικροσκόπηση για τον υπολογισμό του λευκοκυτταρικού τύπου γίνεται με καταδυτικό φακό. Δηλαδή βάζομε πάνω στο παρασκεύασμά μας μια σταγόνα κεδρέλαιο και βουτάμε τον ειδικό αντικειμενικό φακό του μικροσκοπίου μας μέσα

στη σταγόνα. Κατόπιν μετακινούμε το παρασκεύασμα και κάθε λευκό αιμοσφαίριο που συναντάμε το σημειώνομε, αφού συγχρόνως από τη μορφολογία του διαπιστώσομε και σε ποια κατηγορία ανήκει. Το πώς αναγνωρίζομε τις διάφορες μορφές των λευκών αιμοσφαιρίων, το έχομε ήδη περιγράψει σε προηγούμενο κεφάλαιο. Όταν θα έχομε μετρήσει ένα ικανοποιητικό αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων 100 - 200, υπολογίζομε την εκατοστιαία αναλογία για την κάθε μορφή, που ονομάζεται **Λευκοκυτταρικός τύπος**.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

Πήξη του αίματος

4.1 Γενικά.

Στο μάθημα της Φυσιολογίας έχουν ήδη αναφερθεί οι μηχανισμοί με τους οποίους σταματά μια αιμορραγία. Θα τους επαναλάβουμε και εδώ. Θα μπορούσαμε να πουμε κάπως σχηματικά ότι οι μηχανισμοί που συμμετέχουν στην αιμόσταση είναι δύο: α) ένας βιοχημικός, όπου πρόκειται για μια σειρά από χημικές ενζυμικές αντιδράσεις, που οδηγούν στη δημιουργία του θρόμβου, και β) ένας αγγειακός, που προκαλεί συστολή των αγγείων, με σκοπό την επιβράδυνση της απώλειας αίματος.

Η πρώτη θεωρία για την ερμηνεία της βιοχημικής φάσεως διατυπώθηκε από τον Morawity. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, όταν καταστραφεί κάπου ένα αγγείο, τότε τα αιμοπετάλια που έρχονται σε επαφή με την ανώμαλη αυτή επιφάνεια καταστρέφονται και απελευθερώνεται από αυτά θρομβοπλαστίνη. Η θρομβοπλαστίνη είναι ένζυμο που μαζί με το ασβέστιο του πλάσματος επιδρά σε μια πρωτεΐνη του πλάσματος, που λέγεται **προθρομβίνη** και τη μετατρέπει σε **θρομβίνη**. Η θρομβίνη είναι επίσης ένζυμο που επιδρά στο ινωδογόνο του πλάσματος και το μετατρέπει σε ινώδες. Το ινώδες είναι πρωτεΐνη, που το μόριό της είναι μακρύ. Τα μόρια λοιπόν του ινώδους συμπλέκονται μεταξύ τους και σχηματίζουν ένα πλέγμα, που αποτελεί το σκελετό του θρόμβου.

Σήμερα ξέρομε ότι η διαδικασία που περιγράψαμε παραπάνω είναι πολύ πιο πολύπλοκη και γίνεται βασικά σε τρεις φάσεις:

1. Σχηματισμός της θρομβοπλαστίνης από ενδοαγγειακούς και εξωαγγειακούς μηχανισμούς.

2. Μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη.

3. Μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες.

Συγχρόνως υπάρχουν και μηχανισμοί, που δρουν ανασταλτικά στην πήξη του αίματος. Μέχρι σήμερα έχουν ανακαλυφθεί τουλάχιστον 13 παράγοντες, που συμμετέχουν στους μηχανισμούς αυτούς. Στους παράγοντες αυτούς είχαν δοθεί από διάφορους ερευνητές διαφορετικά ονόματα, με αποτέλεσμα να δημιουργηθεί για πολύ καιρό μεγάλη σύγχυση. Σήμερα όμως έχει αποφασισθεί όλοι οι παράγοντες να ονομάζονται για την ώρα με λατινικούς άριθμούς, από το I μέχρι το XIII. Έτσι π.χ. το ινωδογόνο έχει το νούμερο XI, η προθρομβίνη το II, η θρομβοπλαστίνη το III κλπ. Στους παράγοντες αυτούς πρέπει να προστεθεί και η **σεροτονίνη**, η οποία απελευθερώνεται επίσης από τα καταστρεφόμενα αιμοπετάλια και προκαλεί έντο-

πισμένη συστολή των αγγείων, στο σημείο της απελευθερώσεώς της. Σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις οι μηχανισμοί που περιγράψαμε παραπάνω εμφανίζουν σημαντικές διαταραχές. Άλλες φορές πάλι αναγκαζόμαστε να κάνουμε θεραπείες με αντιπηκτικά φάρμακα.

Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις είμαστε υποχρεωμένοι να χρησιμοποιούμε τεχνικές, με τις οποίες μετράμε τους αιμοστατικούς μηχανισμούς. Μερικές από αυτές τις τεχνικές θα περιγράψουμε παρακάτω.

4.2 Μετρήσεις.

α) Χρόνος πήξεως.

Πάνω σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα τοποθετούμε μια σταγόνα αίματος και μετράμε με ένα χρονόμετρο το χρόνο που πέρνα μέχρι να πήξει. Η μέθοδος αυτή όπως και άλλες παρόμοιες γίνεται με ειδικό όργανο, που λέγεται **Ιναδόμετρο**. Με το όργανο αυτό η μέτρηση του χρόνου πήξεως γίνεται αυτόμata και το αίμα ή το πλάσμα τοποθετείται μέσα σε υδατόλουτρο, που η θερμοκρασία του διατηρείται στους 37° C βαθμούς.

β) Μέτρηση χρόνου προθρομβίνης.

Με την τεχνική αυτή μετράμε το ποσό της προθρομβίνης του πλάσματος, στις περιπτώσεις εκείνες που κάνουμε θεραπεία με αντιπηκτικά, τα οποία προκαλούν ελάττωση της προθρομβίνης. Και αυτή η μέτρηση γίνεται σήμερα με ειδικό όργανο, που λέγεται **πηξιδόμετρο** (coagulizer).

γ) Μέτρηση χρόνου ροής.

Με τη μέθοδο αυτή μετράμε το χρόνο που διαρκεί μία αιμορραγία, η οποία προκαλείται μετά από μια σταθερή μικρή τομή. Η τομή αυτή μπορεί να γίνει σε διάφορες περιοχές, συνήθως όμως χρησιμοποιούμε το λοβίσιο του αυτιού. Η διάρκεια της αιμορραγίας ελέγχεται με ένα διηθητικό χαρτί, που το ακουμπάμε κάθε μισό λεπτό στο σημείο της τομής. Όταν διακοπεί η αιμορραγία, το διηθητικό χαρτί παύει να παίρνει ρίμα από το σημείο της τομής.

δ) Μέτρηση αιμοπεταλίων.

Η μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων γίνεται με το γνωστό όργανο Coulter, που έχει ήδη περιγραφεί στο κεφάλαιο της μετρήσεως των ερυθρών αιμοσφαιρίων.



**ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ
ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ
ΤΡΑΠΕΖΑ ΑΙΜΑΤΟΣ**





ΤΟ ΑΙΜΑ

0.1 Ανασκόπηση συστάσεως και λειτουργιών.

Η σημασία του αίματος ως θαυμαστού «ποταμού της ζωής» αναφέρεται σε όλες της ιστορίες και παραδόσεις του κόσμου. Η απώλειά του συνδέθηκε πάντοτε με την τραγωδία και το θάνατο. Αυτό οφείλεται στις βασικές του ιδιότητες που είναι αναντικατάστατα απαραίτητες για την ζωή.

Το αίμα επιτελεί τις ακόλουθες βασικές λειτουργίες:

— Μεταφέρει το οξυγόνο από τους πνεύμονες στους ιστούς. Το οξυγόνο είναι στοιχείο απαραίτητο για την καύση (οξείδωση) των διαφόρων θρεπτικών ουσιών και την παραγωγή της θερμότητας και ενέργειας που χρειάζεται κάθε οργανισμός. Η μεταφορά του οξυγόνου και η απόδοσή του στους ιστούς γίνεται με τη βοήθεια μιας εξειδικευμένης σιδηρούχου κόκκινης πρωτεΐνης, που ονομάζεται **αιμοσφαιρίνη**. Η αιμοσφαιρίνη δεν είναι διαλυμένη μέσα στο αίμα, αλλά περιέχεται σε μικρά «σακκίδια» που ονομάζονται **ερυθροκύτταρα** ή **ερυθρά αιμοσφαιρία**. Τα ερυθροκύτταρα εναιωρούνται μέσα στο **πλάσμα**, που αποτελεί υδατικό διάλυμα ενός πλήθους ουσιών με αυστηρά καθορισμένη σύνθεση.

Το αίμα ακόμη:

— Μεταφέρει από τους ιστούς το διοξείδιο του άνθρακα, που παράγεται από τις καύσεις, στους πνεύμονες από όπου αυτό αποβάλλεται.

— Παραλαμβάνει από το έντερο διάφορα χρήσιμα συστατικά που περιέχονται στις τροφές και τα μοιράζει στα όργανα από τα οποία θα χρησιμοποιηθούν. Παράδειγμα το σάκχαρο που τροφοδοτεί τις καύσεις σε όλους τους ιστούς ή αποθηκεύεται τα αμινοξέα, που τροφοδοτούν επίσης τις καύσεις, αποτελούν όμως και τα δομικά υλικά για την ανασύνθεση των λευκωμάτων του οργανισμού και τα μέταλλα, που χρησιμοποιούνται σαν προσθετικές ομάδες, εντελώς απαραίτητες για την λειτουργία ορισμένων πρωτεϊνών.

— Παραλαμβάνει από τους ιστούς διάφορα άχρηστα και συχνά τοξικά προϊόντα του μεταβολισμού και τα μεταφέρει στα σημεία από τα οποία θα απεκκριθούν ή θα έσουδετερωθούν. Παράδειγμα η ουρία, που παράγεται από τον καταβολισμό των λευκωμάτων και αποβάλλεται από τους νεφρούς μέσα στα ούρα.

— Μεταφέρει χρήσιμες ουσίες από τα όργανα παραγωγής στα σημεία, όπου αυτές θα χρησιμοποιηθούν. Παράδειγμα η **κορπιζόνη** (օρμόνη), που συντίθεται στα επινεφρίδια και σκορπίζει για να χρησιμοποιηθεί σε όλα σχεδόν τα κύτταρα του οργανισμού.

— Συμβάλλει στην ομοιογενή κατανομή της θερμότητας σε όλο τό σώμα και στη διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας.

— Συμμετέχει στην άμυνα του οργανισμού εναντίον διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών και άλλων τοξικών ουσιών. Η λειτουργία αυτή επιτελείται με τα **λευκοκύτταρα**, που «φαγοκυτταρώνουν» τους βλαπτικούς παράγοντες και τα **αντισώματα** που τους «αδρανοποιούν» με χημική αντίδραση. Τόσο τα λευκοκύτταρα όσο και τα αντισώματα περιέχονται σταθερά στο αίμα όλων των ανωτέρων ζώων.

Οι παραπάνω μεταφορικές λειτουργίες του αίματος εξασφαλίζονται με την κυκλοφορία του. Η κυκλοφορία του αίματος περιγράφηκε εδώ και τρεις αιώνες από τον άγγλο γιατρό Harvey και χωρίζεται στα ακόλουθα δύο τμήματα:

— **Μεγάλη κυκλοφορία:** Αρχίζει από τον **αριστερό κόλπο** της καρδιάς, όπου το αίμα έρχεται φορτωμένο οξυγόνο από τους πνεύμονες: συνεχίζεται στην **αριστερή κοιλία** της καρδιάς, που λειτουργεί σαν πιεστική αντλία και στέλνει το αίμα στις **αρτηρίες**, που διακλαδώνονται ολοένα και περισσότερο στο σώμα για να μεταπέσουν στα τριχοειδή των ιστών. Έπειτα το αίμα συλλέγεται στις **φλέβες**, που βαθμιαία συγκεντρώνονται στην **άνω** και την **κάτω κοιλιή φλέβα**, οι οποίες ξαναφέρνουν το αποξυγονωμένο αίμα στους πνεύμονες.

— **Μικρή κυκλοφορία:** Αρχίζει από το **δεξιό κόλπο** της καρδιάς, όπου επιστρέφει το αίμα της μεγάλης κυκλοφορίας, συνεχίζεται στη **δεξιά κοιλία**, από όπου το αίμα στέλνεται στους πνεύμονες για να οξυγονωθεί και τελειώνει στον αριστερό κόλπο, όπως περιγράφηκε παραπάνω.

Προϋπόθεση για την κανονική κυκλοφορία του αίματος είναι η ακεραιότητα των αγγείων. Αν κάποιο από αυτά τρωθεί έτσι, ώστε να διακοπεί η συνέχεια, τότε το αίμα θα ξεφύγει προς τα έξω με συνέπεια την **αιμορραγία**. Ωστόσο, σε όλους τους ζώντες οργανισμούς υπάρχει ένα προστατευτικό σύστημα. Πρόκειται για την ιδιότητα του αίματος να πήζει, όταν υπάρχουν ειδικές συνθήκες και να αναστέλλει την αθρόα του απώλεια αποφράσσοντας μόνο του το σημείο της διαρροής. Η ιδιότητα αυτή γίνεται πιο θαυμαστή, όταν κανείς αναλογισθεί, ότι το φαινόμενο της πήξεως

ΠΙΝΑΚΑΣ 0.1.1 Σύσταση του αίματος στον δύνθραπτο

Συνολικό αίμα	8% του βάρους του σώματος (περίπου 5,5 kg στον υγιή ενήλικο)
Εμμορφα συστατικά	45% του όγκου του αίματος
Ερυθροκύτταρα (4.500.000 – 5.500.000/ μ l)	
Λευκοκύτταρα (5.000 – 10.000/ μ l)	
Πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα	περίπου 55 – 65%
Πολυμορφοπύρηνα ηωσινόφιλα	περίπου 1 – 3%
Πολυμορφοπύρηνα βασεόφιλα	περίπου 0 – 1%
Λεμφοκύτταρα	περίπου 25 – 35%
Μονοπύρηνα	περίπου 3 – 7%
Αιμοπετάλια (200.000 – 400.000/ μ l)	
Πλάσμα.	
Πρωτεΐνες (περίπου 7 g%)	
Λευκωματίνη (συγκρατεί νερό μέσα στο πλάσμα)	55%
Σφαιρίνες (περιλαμβάνουν τα αντισώματα)	38%
Ινωδογόνο (βασική πρωτεΐνη συστήματος πήξεως)	7%
Νερό (περίπου 91,5 g%)	
Μεταφερόμενες ουσίες και άλλα συστατικά (περίπου 1,5%) (άλατα, λίπη, ένζυμα, ορμόνες, υδατάνθρακες)	

περιορίζεται αυστηρά στην περιοχή όπου χρειάζεται και δεν επεκτείνεται ανεξέλεγκτα μέσα σε όλο το αγγειακό σύστημα. Ο μηχανισμός της πήξεως εξασφαλίζεται χάρη στους **παράγοντες πήξεως** και τα **αιμοπετάλια**, που βρίσκονται σε αδρανή μορφή μέσα στο αίμα. Οι παράγοντες πήξεως είναι πρωτείνες, ενώ τα αιμοπετάλια είναι μικρά κομμάτια πρωτοπλάσματος των **μεγακαρυοκυττάρων** του μυελού των οστών.

Η σύσταση του αίματος του ανθρώπου συνοψίζεται στον Πίνακα 0.1.1. Στον ίδιο πίνακα δίνονται και οι φυσιολογικές τιμές των βασικών συστατικών.

Η ανασκόπηση αυτή οδηγεί στο ακόλουθο συμπέρασμα:

Κάθε ένα από τα συστατικά του αίματος επιτελεί με εξαιρετική απόδοση μια ειδική λειτουργία. Η ελάττωση ή η έλλειψη ενός συστατικού επιφέρει αναστολή της αντίστοιχης λειτουργίας με ποικίλες συνέπειες για τον οργανισμό. Στον Πίνακα 0.1.2 συνοψίζονται οι παθολογικές καταστάσεις που προκύπτουν όταν ένα ή περισσότερα συστατικά του αίματος μειωθούν ή παύσουν να υπάρχουν:

ΠΙΝΑΚΑΣ 0.1.2

**Οι κυριότερες συνέπειες της ελλείψεως ή σημαντικής μειώσεως
ενός συστατικού του αίματος**

Συστατικό που εμφανίζει μείωση ή λείπει εντελώς	Συνέπειες
Πλήρες αίμα	Βαριές αιμοδυναμικές διαταραχές–Καταπληξία Αδυναμία οξυγονώσεως ιστών – Ανοξία
Πλάσμα	Βαριές αιμοδυναμικές διαταραχές – Καταπληξία
Λευκωματίνη πλάσματος	Το νερό δεν συγκρατείται μέσα στο πλάσμα αλλά διαφεύγει στους ιστούς (οιδίματα)
Σφαιρίνες πλάσματος (περιλαμβάνουν τα αντισώματα)	Το άτομο προσβάλλεται εύκολα από λοιμώξεις
Ινωδογόνο	Διαταραχή μηχανισμού πήξεως
Λοιποί παράγοντες πήξεως	Αιμορραγική διάθεση
Ερυθροκύτταρα	Αναιμία – Ανοξία
Ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα	Ουδετεροπενία – Το άτομο προσβάλλεται εύκολα από διάφορα μικρόβια
Αιμοπετάλια	Θρομβοπενία – Εύκολες και βαριές αιμορραγίες

Είναι φανερό ότι πρόκειται για βαριές καταστάσεις που συχνά γίνονται επικίνδυνες ακόμη και για τη ζωή των ασθενών.

Η Ιατρική, χωρίς αμφιβολία, προσπαθεί να διευκρινίσει και να θεραπεύσει τις παθήσεις αυτές. Οπωσδήποτε, σε πολλές περιπτώσεις, δεν υπάρχει περιθώριο αναμονής. Τότε, μόνη λύση είναι η αναπλήρωση του συστατικού που λείπει ή έχει

μειωθεί επικίνδυνα, ώστε οι κίνδυνοι που επικρέμανται να αποτραπούν.

Η αναπλήρωση αυτή γίνεται με τη **μετάγγιση αίματος**, το οποίο περιέχει όλα τα συστατικά που προαναφέρθηκαν, ή με τη **μετάγγιση** διαφόρων **παραγώγων**, που περιέχουν εκλεκτικά τον παράγοντα του αίματος που λείπει από τον ασθενή.

Όπως είναι ευνόητο η πιο σημαντική και συχνή ανάγκη αναπληρώσεως του αίματος δημιουργείται στις βαριές αναιμίες και μάλιστα εκείνες που αναπτύσσονται γρήγορα όπως π.χ. μετά από μεγάλες αιμορραγίες. Στις περιπτώσεις αυτές η επείγουσα φροντίδα είναι να αναπληρωθούν τα ερυθροκύτταρα που είναι απόλυτα αναγκαία για την οξυγόνωση του ασθενή. Κατά συνέπεια, η μετάγγιση αίματος ή ερυθροκυττάρων κατέχει εξέχουσα θέση στον τομέα της αιμοδοσίας και θα περιγραφεί με λεπτομέρειες στα κεφάλαια που ακολουθούν.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

1.1 Η σημασία της συμβατότητας.

Οι πρώτες προσπάθειες μεταγγίσεως αίματος ήταν, χωρίς αμφιβολία, εμπειρικές. Έτσι, ήδη από τον 16ο αιώνα αναφέρονται μεταγγίσεις αίματος από ζώα σε ανθρώπους ή από ανθρώπους σε ανθρώπους σε ποσότητες μικρές ή μεγάλες, ανάλογες με αυτές που χορηγούνται σήμερα. Ωστόσο, το αποτέλεσμα σε ελάχιστες μόνο περιπτώσεις ήταν ευνοϊκό. Τις περισσότερες φορές η μετάγγιση αίματος είχε σαν επακόλουθο μιαν έντονη αντίδραση στο δέκτη που χαρακτηρίζοταν από αίσθημα συσφίξεως στο στήθος, οσφυαλγία, αιματουρία, ανουρία, ταχεία επιδείνωση της καταστάσεως και θάνατο. Ήταν φανερό, ότι στις περιπτώσεις αυτές ο δέκτης οργανισμός δεν δεχόταν εύκολα το αίμα του δότη, ή, με άλλα λόγια, ότι το αίμα του δότη δεν ταίριαζε με το αίμα του δέκτη. Το φαινόμενο αυτό έχει παρατηρηθεί και σε άλλες προσπάθειες μεταμοσχεύσεως ιστών από άνθρωπο ή ζώο σε άλλο άνθρωπο («απόρριψη» του μοσχεύματος) και υποδηλώνει ότι κάθε οργανισμός έχει την ιδιότητα να αναγνωρίζει τα κύτταρα των ξένων οργανισμών και να αντιδρά σ' αυτά. Με τον ίδιο προφανώς μηχανισμό ο οργανισμός αναγνωρίζει και δεν αντιδρά καθόλου με τα δικά του κύτταρα.

Η αναγνώριση γίνεται με βάση ορισμένα συστατικά του κάθε είδους κυττάρων που βρίσκονται στην επιφάνειά τους (πάνω στην μεμβράνη τους) και ονομάζονται **αντιγόνα**. Πρόκειται για σύνθετες πρωτεΐνες (γλυκοπρωτεΐνες, λιποπρωτεΐνες), πολλές από τις οποίες έχουν σήμερα απομονωθεί σε διαλυτή μορφή και έχουν μελετηθεί με κάθε λεπτομέρεια. Τα διάφορα αντιγόνα είναι πάρα πολλά και ποικίλα και οι συνδυασμοί τους αναρίθμητοι. Τα κύτταρα κάθε οργανισμού χαρακτηρίζονται από ένα τέτοιο συνδυασμό.

Όταν κύτταρα από ένα άτομο (δότη) εισέλθουν σε ένα άλλο (δέκτη) υπάρχουν δύο πιθανότητες:

1) Ο δέκτης έχει στα κύτταρά του αντιγόνα ίδια με εκείνα που υπάρχουν στα κύτταρα του δότη. Τότε δεν σημειώνεται καμία αντίδραση, γιατί ο δέκτης δεν αναγνωρίζει τα ξένα κύτταρα.

2) Τα αντιγόνα των κυττάρων του δότη είναι διαφορετικά από τα αντιγόνα των κυττάρων του δέκτη. Τότε ο δέκτης οργανισμός αναγνωρίζει τα ξένα κύτταρα και παράγει ουσίες με τις οποίες προσπαθεί να τα καταστρέψει. Οι ουσίες αυτές ονομάζονται **αντισώματα** και κάθε μία από αυτές αναγνωρίζει και συνδέεται απόλυτα ειδικά με το αντιγόνο εναντίον του οποίου συντέθηκε. Τα αντισώματα είναι και αυτά πρωτεΐνες (κατατάσσονται στην ομάδα των **γ-σφαιρινών**) και παράγονται από

ειδικά για το σκοπό αυτό κύτταρα του μυελού των οστών, του σπλήνα και των λεμφαδένων (**πλασματοκύτταρα**). Η **ειδικότητα** των αντισωμάτων, η ιδιότητα δηλαδή να αναγνωρίζουν ένα και μόνο είδος αντιγόνων οφείλεται στην επακριβώς καθορισμένη δομή τους, που τα κάνει να συνδέονται με το αντίστοιχό τους αντιγόνο ακριβώς όπως ένα κλειδί ταιριάζει στην αντίστοιχη κλειδαριά και μόνο σ' αυτή.

Η παραγωγή αντισωμάτων ως απάντηση στην πρώτη είσοδο ξένων αντιγόνων στο δέκτη οργανισμό ονομάζεται **πρωτογενής ανοσολογική αντίδραση**. Η σύνδεση των αντισωμάτων με τα αντίστοιχα αντιγόνα ακολουθείται από την ενεργοποίηση μιας σειράς διεργασιών, που απολήγουν στην καταστροφή των ξένων κυττάρων. Η αντίδραση όμως δεν τελειώνει εδώ. Στο αίμα του δέκτη μπορεί να περισσέψουν αντισώματα που θα παραμείνουν ελεύθερα για αρκετό διάστημα μη βρίσκοντας ξένο αντιγόνο για να συνδεθούν. Ακόμα, ο αμυντικός μηχανισμός του δέκτη έχει μάθει πια να αναγνωρίζει εύκολα τα ξένα αντιγόνα που προκάλεσαν την πρωτογενή αντίδραση και είναι σε θέση να συνθέσει ταχύτατα άφθονα ειδικά αντισώματα, όταν τα ξένα αντιγόνα επανεισαχθούν. Έτσι η **δευτερογενής ανοσολογική αντίδραση** είναι πολύ πιο βίαια και ακολουθείται από αθρόα καταστροφή των ξένων αντιγόνων/κυττάρων.

Η πρωτογενής ανοσολογική αντίδραση απολήγει στην **ανοσοποίηση** του δέκτη προς τα αντίστοιχα αντιγόνα. Όταν τα αντιγόνα αυτά βρίσκονται πάνω σε κύτταρα που προέρχονται από το ίδιο είδος (π.χ. ερυθροκύτταρα ανθρώπου σε άλλον άνθρωπο) τότε μιλούμε για **αλλο-ανοσοποίηση**. Παλαιότερα, την ίδια έννοια είχε και ο όρος **ισο-ανοσοποίηση**, αυτός όμως σήμερα χρησιμοποιείται με πιο ειδική σημασία στον τομέα των μεταμοσχεύσεων και πρέπει να αποφεύγεται όταν μιλούμε για μεταγγίσεις αίματος. Ακόμα εδώ δεν πρέπει να χρησιμοποιείται ο όρος **ευαισθητοποίηση**, που πρέπει να περιορισθεί στην έννοια της προσκολλήσεως αντισωμάτων πάνω στα ερυθροκύτταρα.

Μεταφέροντας τώρα τις γενικές αυτές γνώσεις ανοσολογίας στα ερυθροκύτταρα θα εξετάσουμε διαδοχικά τα ακόλουθα θέματα:

- Τα αντιγόνα.
- Τα αντισώματα.
- Την αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος στον άνθρωπο.
- Την αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος, όπως αυτή διαπιστώνεται στο εργαστήριο.

1.2 Ερυθροκυτταρικά αντιγόνα.

Αποτελούν ποικιλόσχημες προσεκβολές της κυτταρικής μεμβράνης και μπορούν να παρομοιασθούν με ραβδία ή αγκάθια ή ο, τιδήποτε άλλα μορφώματα που προεξέχουν πάνω στα ερυθροκύτταρα. Η σύνδεση αντιγόνων/αντισωμάτων εξασφαλίζεται με την τέλεια εφαρμογή της στρεοδομής τους.

Τα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα είναι πολλά και ποικίλα και κατατάσσονται σε ομάδες που ονομάζονται **συστήματα**. Ο αριθμός των αντιγόνων ποικίλει από σύστημα σε σύστημα. Έτσι ορισμένα συστήματα αντιπροσωπεύονται με ένα περίπου εκατομμύριο αντιγόνα σε κάθε ερυθροκύτταρο, ενώ άλλα διαθέτουν μερικές μόνο χιλιάδες μόρια. Τα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα αποτελούν ενώσεις σταχχάρων και πρωτεΐνών με τα λιπίδια της μεμβράνης. Η ειδικότητά τους οφείλεται στην ε-

πακριβώς καθορισμένη χημική τους δομή. Η δομή αυτή κληρονομείται με κάθε λεπτομέρεια από τους γονείς στους απογόνους. Κατά συνέπεια, ένα παιδί δεν μπορεί να έχει παρά τα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα που χαρακτηρίζουν τους γονείς του κι αυτό είναι τόσο **απόλυτο και θεμελιώδες**, ώστε η παρουσία ενός **νέου** αντιγόνου σε ένα παιδί είναι περίεργη και βάζει σε αμφιβολία ακόμη και τη γενετική του προέλευση.

Η επακριβής μεταβίβαση της «πληροφορίας» για τη δομή των ερυθροκυτταρικών αντιγόνων από τους γονείς στους απογόνους (**κληρονομικότητα** των ομάδων αίματος) εξασφαλίζεται με την εγγραφή της σε ειδικές περιοχές της πυρηνικής ουσίας των κυττάρων τους. Οι περιοχές αυτές ονομάζονται **τόποι**, ενώ το μήνυμα αυτό καθαυτό αποτελεί το **γόνο** (ή γονύλλιο) της αντίστοιχης ουσίας. Τα κύτταρα κάθε ανθρώπου διαθέτουν δύο γόνους (ή δύο ομάδες γόνων) για κάθε πρωτεΐνη τους. Ο ένας από αυτούς προέρχεται από τον πατέρα και ο άλλος από την μητέρα του απόμου. Η μεταβίβασή τους γίνεται με την πυρηνική ουσία που περιέχεται στο σπερματοζάριο (του πατέρα) και το ωάριο (της μητέρας) που συνενώνονται και δίνουν το πρώτο **σωματικό** κύτταρο του θυγατρικού οργανισμού. Είναι γνωστό πώς στη συνέχεια το πρώτο αυτό κύτταρο πολλαπλασιάζεται και «διαφοροποιείται» δίνοντας όλα τα είδη κυττάρων που συνθέτουν το ανθρώπινο σώμα. Έτσι θεωρητικά κάθε κύτταρο διαθέτει πληροφορίες (γόνους) για τη σύνθεση όλων των πρωτεΐνών του σώματος, στην πραγματικότητα όμως επιλέγει και συνθέτει μόνο τις ουσίες τις οποίες χρειάζεται, ανάλογα με τη διαφοροποίησή του.

Όπως είναι ευνόητο, οι γόνοι των ερυθροκυτταρικών αντιγόνων «εκφράζονται» κατά βάση στα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος και ειδικότερα στους **ερυθροβλάστες** του μυελού, που αποτελούν τις μητρικές μορφές των ερυθροκυττάρων του αίματος.

Η τεράστια ποικιλία των αντιγόνων υποδηλώνει αντίστοιχη ποικιλία των γόνων που καθορίζουν την σύνθεσή τους. Ωστόσο σε κάθε ζεύγος **τόπων** της πυρηνικής ουσίας κάθε ερυθροβλάστη (του πατρικού **τόπου** και του αντίστοιχου μητρικού τόπου) δεν «ταιριάζουν» παρά λίγοι μόνο γόνοι. Οι γόνοι αυτοί ονομάζονται **άλληλοι** και εναλλάσσονται μόνο μεταξύ τους δίνοντας την πληροφορία για τη σύνθεση μιας ομάδας «σχετικών» ερυθροκυτταρικών αντιγόνων, που αποτελεί ένα **σύστημα**.

Όταν οι γόνοι που καταλαμβάνουν τον πατρικό και τον αντίστοιχο μητρικό **τόπο** της πυρηνικής χρωματίνης ενός κυττάρου (**άλληλοι** γόνοι) είναι απόλυτα όμοιοι, τότε το κύτταρο χαρακτηρίζεται ως **ομόζυγο** για τους γόνους αυτούς: όταν οι άλληλοι γόνοι είναι ανόμοιοι, το κύτταρο είναι **ετερόζυγο**.

Κάθε ερυθροβλάστης διαθέτει πολλά **συστήματα** ερυθροκυτταρικών αντιγόνων που χαρακτηρίζονται με διάφορα σύμβολα. Τα σπουδαιότερα συστήματα είναι το σύστημα ABO και το σύστημα Rhesus. Αυτά θα αναφερθούν με λεπτομέρειες στη συνέχεια. Για πολλά άλλα συστήματα που έχουν επίσης σημασία στις μεταγγίσεις αίματος (σύστημα Kell, Duffy, Kidd κλπ.) θα δοθούν μόνο γενικές χρήσιμες πληροφορίες. Σε μια απλουστευμένη θεώρηση, η σημασία κάθε συστήματος ερυθροκυτταρικών αντιγόνων στην επιτυχία μιας μεταγγίσεως καθορίζεται από την **αντιγονική του δύναμη**, με άλλα λόγια από την ένταση της **ανοσολογικής αντιδράσεως**, η οποία ακολουθεί την είσοδο των αντιγόνων αυτών σε ένα δέκτη που δεν τα αναγνωρίζει ως δικά του.

1.3 Αντί-ερυθροκυτταρικά αντισώματα.

Ανήκουν στις γ-σφαιρίνες όπως όλα τα αντισώματα. Όπως είναι γνωστό, ο ορός του ανθρώπου περιέχει διάφορες πρωτεΐνες, οι οποίες μπορούν να διαχωρίσθούν με διάφορες τεχνικές. Από αυτές εύχρηστη και αξιόπιστη είναι η **ηλεκτροφόρηση**. Όταν τα διάφορα λευκώματα βρεθούν μέσα σε αλκαλικό ρυθμιστικό διάλυμα* οι ελεύθερες αμινικές (NH_2-) και καρβοξυλικές ($-COOH$) ομάδες των αμινοξέων που τα συνιστούν ιονίζονται και κάθε μόριο λευκώματος αποκτά ένα ορισμένο ηλεκτρικό φορτίο. Έτσι, όταν στο διάλυμα αυτό εφαρμοσθεί ένα ηλεκτρικό πεδίο, τότε τα διάφορα (ιονισμένα) λευκώματα κινούνται προς το θετικό ή τον αρνητικό πόλο του ανάλογα με το φορτίο τους. Με τον τρόπο αυτό διαχωρίζονται 5 μεγάλες ομάδες λευκωμάτων: οι λευκωματίνες, που προχωρούν γρήγορα προς το θετικό πόλο, οι α_1 -σφαιρίνες, οι α_2 -σφαιρίνες και οι β -σφαιρίνες που ακολουθούν κατά σειρά, και οι γ-σφαιρίνες που βραδυπορούν. Η συγκέντρωση των πρωτεΐνων του ορού είναι 7 περίπου g ανά 100 ml. Από αυτά, 15% περίπου ή 1,2 g ανά 100 ml ορού είναι γ-σφαιρίνες. Οι γ-σφαιρίνες ονομάζονται και **ανοσοσφαιρίνες**, γιατί άποτελούν το σύνολο των αντισωμάτων του οργανισμού. Το καθιερωμένο σύμβολο για τις ανοσοσφαιρίνες είναι Ig από την ξενική λέξη *immmuno-globulins*. Όπως είναι ευνόητο, τα αντί-ερυθροκυτταρικά αντισώματα αποτελούν ένα ελάχιστο μόνο ποσοστό στο σύνολο των ανοσοσφαιρινών. Οι ανοσοσφαιρίνες του ορού του ανθρώπου μπορούν να μελετηθούν με πολλές άλλες τεχνικές και διαχωρίζονται σε υποομάδες με βάση τις ποικίλες φυσικοχημικές τους ιδιότητες. Από τις τελευταίες, σημαντική για το θέμα των μεταγγίσεων είναι το μοριακό βάρος. Τα αντί-ερυθροκυτταρικά αντισώματα υπάγονται σε δύο βασικές υποομάδες ανοσοσφαιρινών:

- α) τις IgG, που έχουν μοριακό βάρος γύρω στις 300,000 και
- β) τις IgM, που έχουν μοριακό βάρος γύρω στο 1,000,000.

Τα αντισώματα, που αναπτύσσονται όταν σε ένα άτομο μεταγγισθούν ερυθροκύτταρα με «ξένα» αντιγόνα, ονομάζονται **άνοσα αλλο-αντισώματα** και ανήκουν κατά βάση στις G-ανοσοσφαιρίνες (IgG).

Σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν παραπάνω η ανάπτυξη (επικτήτων, ανόσων) αντί-ερυθροκυτταρικών αντισωμάτων προϋποθέτει είσοδο ερυθροκυττάρων με ξένα για το δέκτη αντιγόνα. Ωστόσο, ο ορός πολλών ανθρώπων περιέχει αντισώματα που αναγνωρίζουν και αντιδρούν με διάφορα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα χωρίς να έχει προηγηθεί η αντίστοιχη ανοσοποίηση. Τα αντισώματα αυτά ονομάζονται **φυσικά αντί-ερυθροκυτταρικά αντισώματα** και ανήκουν, κατά μεγάλη πλειονότητα, στις ανοσοσφαιρίνες M (IgM). Τα αντισώματα που αναγνωρίζουν τα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα A και B αποτελούν αντιπροσωπευτικό παράδειγμα. Όμως ο ορός **φυσικά** αντισώματα δεν ανταποκρίνεται στην πραγματικότητα. Αντί-A και αντί-B αντισώματα δεν διαπιστώνονται στον ορό των νεογνών, αρχίζουν να εμφανίζονται στην ηλικία των 3-6 μηνών και έπειτα αυξάνονται προοδευτικά μέχρι την ηλικία των 10 ετών. Αυτό υποδηλώνει ότι και η δική τους σύνθεση αποτελεί ανοσολογική απάντηση σε ένα αντίστοιχο αντιγόνο, που όμως δεν είναι ερυθροκυτταρικό.

* Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και σε άξινο περιβάλλον, δεν αξιοποιείται όμως στη συνήθη μεθοδολογία μελέτης των πρωτεΐνων.

γικό. Πραγματικά, στη φύση υπάρχουν ουσίες που έχουν δομή απόλυτα όμοια με τη δομή των ερυθροκυτταρικών αντιγόνων. Βρίσκονται μέσα σε συνθησισμένα βακτηρίδια που εποικίζουν το πεπτικό σύστημα ή σε διάφορες κοινές τροφές και έρχονται από νωρίς σε επαφή με τον οργανισμό του νεογνού. Όταν αυτός τις αναγνωρίσει σαν «ξένες» (προφανώς γιατί δεν έχει παρόμοια αντιγόνα στα δικά του ερυθροκύτταρα) τότε αντιδρά και συνθέτει τα ειδικά γι' αυτές αντισώματα. Η αντίδραση αυτή είναι **διασταυρωμένη** ανοσολογική απάντηση.

Αν, αργότερα στή ζωή, ο ίδιος οργανισμός ερεθισθεί και πάλι με το ίδιο αντιγόνο (π.χ. από λάθος μετάγγιση ερυθροκυττάρων) η νέα αντίδραση θα έχει ως συνέπεια τη σύνθεση **ανδσων αντισωμάτων** (IgG) που προστίθενται στα ήδη υπάρχοντα **φυσικά** (IgM).

1.4 Η αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος στην κυκλοφορία.

Η συνάντηση ερυθροκυττάρων με ορισμένα αντιγόνα και των ειδικών γι' αυτά αντισωμάτων στην κυκλοφορία ενός ανθρώπου ακολουθείται από άμεση **αναγνώριση** και **αντίδραση**, που απολήγει στην καταστροφή των {ξένων} ερυθροκυττάρων. Για την αντίδραση αυτή έχει καθιερωθεί διεθνώς ο όρος *in vivo*, που υποδηλώνει ότι επιτελείται σε ζώντες οργανισμούς. Η καταστροφή των ερυθροκυττάρων δεν είναι άμεση συνέπεια της συνδέσεως των αντισωμάτων πάνω σ' αυτά. Η σύνδεση περιορίζεται απλά στο να «επισημάνει» τα ξένα ερυθροκύτταρα και να ενεργοποιήσει τους μηχανισμούς που θα επιφέρουν την λύση τους (αιμόλυση). Οι μηχανισμοί αυτοί είναι δύο:

α) **Φαγοκυττάρωση** των επισημασμένων ερυθροκυττάρων από τα μονοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα του αίματος. Πάνω στα κύτταρα αυτά υπάρχουν «υποδοχείς αντισωμάτων» που συνδέονται με τα αντι-ερυθροκυτταρικά αντισώματα συμπαρασύροντας τα ερυθροκύτταρα που έχουν ήδη συνδεθεί στην άλλη άκρη τους. Έτσι, τα **ευαισθητοποιημένα ερυθροκύτταρα** έρχονται γύρω από ένα μονοπύρηνο ή ουδετερόφιλο πολυμορφοπύρηνο και σχηματίζουν **ρόδακες**. Στη συνέχεια, τα λευκοκύτταρα φαγοκυτταρώνουν τα ευαισθητοποιημένα ερυθροκύτταρα και τα διαλύουν (ενδοκυττάρια πέψη). Όταν η επισήμανση των ερυθροκυττάρων-στόχων γίνει από ένα ισχυρό αντίσωμα, η φαγοκυττάρωσή τους από τα μονοπύρηνα διαρκεί λίγα μόνο λεπτά.

β) **Αιμόλυση** των ευαισθητοποιημένων ερυθροκυττάρων με ενζυματική αντίδραση. Μέσα στον ορό του ανθρώπου υπάρχει μια ομάδα πρωτεΐνων που ονομάζεται **συμπλήρωμα**. Οι ουσίες αυτές δεν εμφανίζουν καμία δράση κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, «ενεργοποιούνται» όμως όταν επισυμβεί αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος. Τότε η πρώτη από τις πρωτεΐνες αυτές επιδρά σε μια δεύτερη, η δεύτερη στην τρίτη κ.ο.κ μέχρι την τελευταία (ή 9η κατά σειρά) που αποτελεί ένα ισχυρότατο κυτταρολυτικό ένζυμο. Το **ενεργοποιημένο ένζυμο δημιουργεί** οπές στη μεμβράνη των ερυθροκυττάρων που έχουν ευαισθητοποιηθεί με το αντίσωμα και σε λίγη ώρα το περιεχόμενό τους (αιμοσφαιρίνη) διαχέεται στο πλάσμα (αιμόλυση). Οι συνέπειες της αθρόας καταστροφής ερυθροκυττάρων με τους ανοσολογικούς αυτούς μηχανισμούς είναι βαρύτατες και θα περιγραφούν στο κεφάλαιο **ων κλινικών εφαρμογών**.

1.5 Η αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος στο σωληνάριο (*in vitro*).

Για αυτή έχει καθιερωθεί ο όρος *in vitro*, που υποδηλώνει την εκτέλεσή της στο (γυάλινο) σωληνάριο. Είναι εξαιρετικά χρήσιμη στον τομέα των μεταγγίσεων γιατί επιτρέπει την πρόβλεψη μιας πιθανής αντιδράσεως αντι-ερυθροκυτταρικών αντισωμάτων του δέκτη με τα (ξένα) ερυθροκυτταρικά αντιγόνα του δότη. Είναι ακόμη πολύ χρήσιμη στην επιστημονική μελέτη του φαινομένου, γιατί μπορεί να εκτελεσθεί με πολλές παραλλαγές τεχνικών συνθηκών.

Στην ουσία, η αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος *in vitro* δεν είναι διαφορετική από εκείνη που επιτελείται *in vivo*. Το αντίσωμα πλησιάζει το ερυθροκύτταρο στόχο και συνδέεται με τα ειδικά αντιγόνα του. Η σύνδεση αυτή είναι φυσικοχημική αντίδραση. Βασίζεται στην έλξη που δημιουργείται, όταν δύο «ταιριαστά» μόρια πλησιάσουν πολύ (**δυνάμεις συνοχής**) και μπορεί να «καναστραφεί».

Όταν σε εναιώρημα ερυθροκυττάρων μέσα σε ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου* (9g NaCl στα 1000 ml αποσταγμένο νερό) προστεθούν άφθονα αντίστοιχα αντι-ερυθροκυτταρικά αντισώματα, τότε πολλά από αυτά θα συνδεθούν με το ένα τους άκρο προς ένα ερυθροκύτταρο και με το άλλο τους άκρο προς ένα άλλο ερυθροκύτταρο. Έτσι σχηματίζονται «γέφυρες» ανάμεσα σε πολλά ερυθροκύτταρα, που **συγκολλούνται** μεταξύ τους και σχηματίζουν **κροκίδες** (σχ. 1.5).

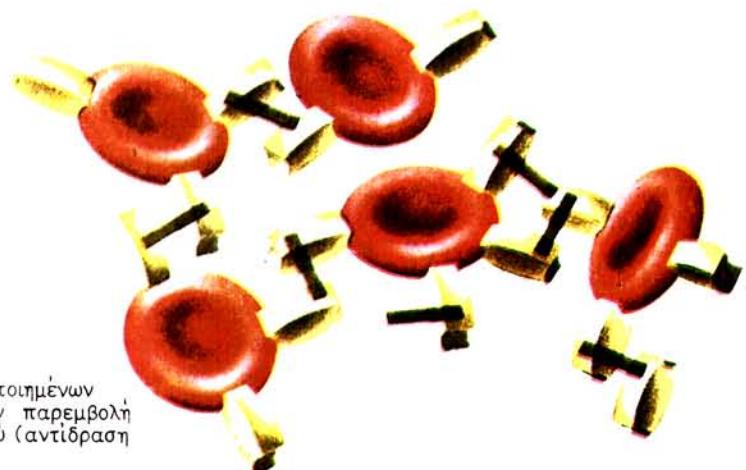
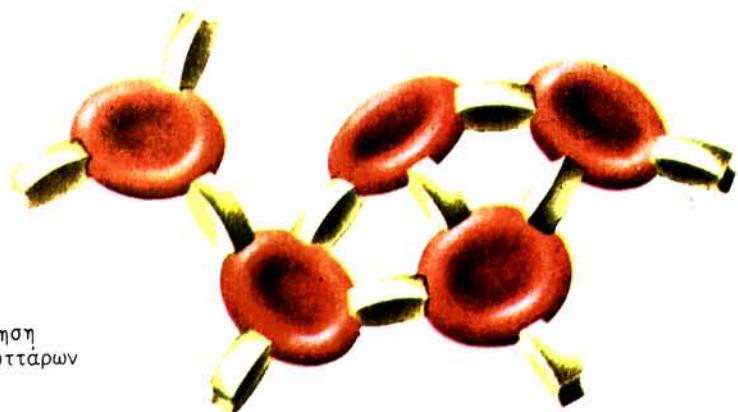
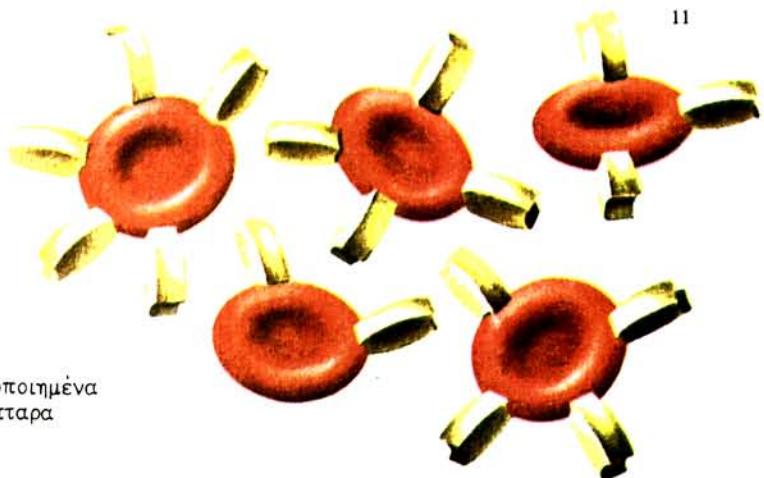
Όταν στην αντίδραση *in vitro* εξασφαλισθούν οι σωστές αναλογίες αντιγόνου-αντισώματος καθώς και η παρουσία συμπληρώματος, τότε η συγκόλληση των ευαισθητοποιημένων ερυθροκυττάρων ακολουθείται από αιμόλυση. Τα αντισώματα χαρακτηρίζονται ως **αιμολυσίνες**. Οπωσδήποτε, στη μεθοδολογία της αιμοδοσίας αξιοποιείται βασικά η ερυθροκυτταρική συγκόλληση. Στην περίπτωση αυτή τα αντισώματα καθορίζονται ως **συγκολλητίνες** και για την ακρίβεια, ως **αλλοσυγκολλητίνες** (ο όρος ισο-συγκολλητίνες σήμερα έχει άλλη σημασία και δεν πρέπει να χρησιμοποιείται).

Τα **φυσικά** αντισώματα επιφέρουν συνήθως εύκολα τη συγκόλληση των ερυθροκυττάρων, με τα οποία συνδέονται, όταν αυτά εναιωρούνται μέσα σε ισότονο χλωριονατριούχο διάλυμα. Η αντίδραση αυτή ευνοείται σε χαμηλές θερμοκρασίες, στην πράξη όμως γίνεται αξιόπιστα σε θερμοκρασία δωματίου. Υπενθυμίζεται ότι τα φυσικά αντισώματα είναι κατά βάση ανοσοσφαιρίνες M (IgM).

Αντίθετα τα περισσότερα **άνοσα** (επίκτητα) αντισώματα δεν δίνουν εμφανή συγκόλληση των ερυθροκυττάρων, με τα οποία συνδέονται, μέσα στο διάλυμα του χλωριούχου νατρίου. Τα αντισώματα αυτά ονομάζονται **ατελή** αντισώματα, σε αντίθεση με τα φυσικά αντισώματα που χαρακτηρίζονται και ως **πλήρη** αντισώματα. Οι όροι αυτοί δεν κυριολεκτούν. Οπωσδήποτε τα **ατελή** αντισώματα είναι βασικώς **άνοσα**, ανήκουν στις ανοσοσφαιρίνες G (IgG) και συνδέονται με τα αντιγόνα τους ευκολότερα στη θερμοκρασία του σώματος. Για τον λόγο αυτό ονομάζονται και **θερμά αντισώματα**.

Η συγκόλληση *in vitro* ερυθροκυττάρων ευαισθητοποιημένων με ατελή αντισώματα μπορεί να ευνοηθεί με την επιλογή καταλλήλων συνθηκών. Αυτό επιζητείται στην πράξη, γιατί το φαινόμενο της συγκολλήσεως αποτελεί εξαιρετικά α

* Μέσα σε αυτό τα ερυθροκύτταρα διατηρουν τον αληθινό τους όγκο (δεν συρρικνώνονται ούτε διογκώνονται).



Σχ. 1.5α.
Σχηματογράφηση της αντιδράσεως αντιγόνου-αντισώματος *in vitro*.

πλή, ταχεία και αξιόπιστη μέθοδο. Οι ακόλουθες τεχνικές έχουν καθιερωθεί:

1) Συγκόλληση ευαισθητοποιημένων ερυθροκυττάρων μέσα σε ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου μετά από προσθήκη λευκωματίνης. Στην περίπτωση αυτή φαίνεται ότι το λεύκωμα ευνοεί το σχηματισμό «γεφυρών» από αντισώματα ανά μεσα στα ερυθροκύτταρα και η συγκόλληση γίνεται σαφής.

2) Συγκόλληση ερυθροκυττάρων μετά από κατεργασία τους με πρωτεολυτικό ένζυμα. Οι πρώτες παρατηρήσεις ήταν εμπειρικές: η κατεργασία ερυθροκυττάρων με θρυψίνη, παπαΐνη κ.ά. ένζυμα επιπέδει το σχηματισμό κροκίδων, όταν στο ενιώρημα προστεθούν τα ανάλογα αντισώματα. Σήμερα είναι γνωστό ότι η κατεργασία αυτή «αποκαλύπτει» καλύτερα τα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα και ευνοεί τη σύνδεσή τους με τα ειδικά αντισώματα.

3) Συγκόλληση ευαισθητοποιημένων ερυθροκυττάρων με την παρεμβολή αντι-γ-σφαιρινικού ορού. Στην περίπτωση αυτή τα (ατελή) αντισώματα συνδέονται με τα ειδικά γι' αυτά ερυθροκυτταρικά αντιγόνα, δεν επιφέρουν όμως συγκόλληση των ερυθροκυττάρων, πιθανώς γιατί οι δυνάμεις συνοχής που αναπτύσσονται μεταξύ τους δεν είναι επαρκώς έντονες. Όμως τα αντι-ερυθροκυτταρικά αντισώματα είναι γ-σφαιρίνες ανθρώπου. Κατά συνέπεια μπορούν να αναγνωρίσθούν και να δεσμευθούν από τα ειδικά γι' αυτές αντι-γ-σφαιρινικά αντισώματα. Η παραγωγή των τελευταίων δεν έχει δυσκολίες: γίνεται με ενέσεις γ-σφαιρινών ανθρώπου (IgG και IgM και, σε ειδικές περιπτώσεις, μόνο IgG ή IgM ή συμπλήρωμα που μπορεί να συμμετέχει στην αντίδραση) σε πειραματόζωα (κουνέλια). Όταν τώρα, μέσα σε ένα ενιώρημα που περιέχει ευαισθητοποιημένα ερυθροκύτταρα, προστεθούν αντι-γ-σφαιρινικά αντισώματα, τότε αυτά σχηματίζουν «γέφυρες» ανάμεσι στα αντι-ερυθροκυτταρικά αντισώματα, συμπαρασύρουν όμως συνάμα τα ερυθροκύτταρα που είναι προσκολλημένα σ' αυτά και σχηματίζουν κροκίδες (συγκόλληση). Η αντίδραση αυτή ονομάζεται και αντίδραση Coombs, από το όνομα του ερευνητή ο οποίος την εισήγαγε, έχει δε θεμελιώδη σημασία στην αιμοδοσία.

Οι τεχνικές μέθοδοι θα διοθούν με λεπτομέρειες στα αντίστοιχα κεφάλαια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ABO ΚΑΙ ΆΛΛΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

2.1 Σύστημα ABO.

Το σύστημα ABO περιέγραψε το 1900 ο Landsteiner. Αποτελεί το πιο σημαντικό σύστημα για τις μεταγγίσεις αίματος και διαπιστώνται όχι μόνο στα ερυθροκύτταρα, αλλά και σε πολλά άλλα κύτταρα του οργανισμού.

Η μεγάλη σημασία του οφείλεται στο ότι οι αλλο-συγκολλητίνες ABO εμφανίζονται πολύ νωρίς στον ορό, χωρίς να έχει προηγηθεί μετάγγιση, είναι δηλαδή **φυσικά αντισώματα**. Κατά συνέπεια, οι συγκολλητίνες αυτές μπορούν να αναγνωρίσουν αμέσως τα ερυθροκύτταρα που φέρουν τα ειδικά αντιγόνα, είναι μάλιστα αρκετά ισχυρά αντισώματα, ώστε η αντίδραση να συνοδεύεται από σοβαρές συνέπειες. Στατιστικά έχει υπολογισθεί ότι με την κατανομή των ομάδων αίματος που υπάρχει στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό το $\frac{1}{3}$ των μεταγγίσεων θα είναι οπωσδήποτε ισούμβατες αν δεν ληφθεί υπόψη το σύστημα ABO.

2.2 Αντιγόνα ABO.

Υπάρχουν δύο βασικά ερυθροκυτταρικά αντιγόνα: Το A και το B. Τα ερυθροκύτταρα ενός πληθυσμού μπορεί να είναι A ή B ή A και B ή τίποτε (O). Αντίστοιχα στον ορό των ατόμων αυτών υπάρχουν **φυσικά αντισώματα** που αναγνωρίζουν ως ξένο το «άλλο» αντιγόνο, είναι δηλαδή αντίστοιχα αντι-B, αντι-A, τίποτε (O) ή αντι-B και αντι-A. Τα αντισώματα ABO είναι σφαιρίνες IgM και *in vitro*, δρουν καλύτερα σε απλό διάλυμα χλωριούχου νατρίου και χαμηλή θερμοκρασία. Έτσι, σύμφωνα με δύσα προαναφέρθηκαν, στο Εργαστήριο η προσθήκη ορού αντι-A και/ή αντι-B ισεις εναιώρημα ερυθροκυττάρων μέσα σε ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου θα δώσει τις ακόλουθες αντιδράσεις συγκολλήσεως (Πίνακας 2.1.1).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1.1
Τα ερυθροκυτταρικά αντιγόνα ABO

Ερυθροκύτταρα που συγκολλούνται με ορό		Χαρακτηρίζονται ως
αντι-A	αντι-B	
+	-	A
-	+	B
+	+	AB
-	-	O

Αντίστροφα η προσθήκη ερυθροκυπτάρων γνωστής ομάδας σε άγνωστο ορό επιτρέπει το χαρακτηρισμό του με τον ακόλουθο τρόπο (Πίνακας 2.1.2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1.2
Τα αντισώματα του συστήματος ABO

Η συγκόλληση διαπι- στώνεται όταν τα ερυθρο- κύτταρα είναι ομάδας		Ο ορός περιέχει αντισώματα	Ο ορός προέρχεται από άτομο ομάδας
A	B		
+	-	αντι-Α	B
-	+	αντι-Β	A
+	+	αντι-Α και αντι-Β	O
-	-	τίποτε	AB

Ο καθορισμός τών ομάδων αίματος είναι βασική προϋπόθεση στην αιμοδοσία και πρέπει να γίνεται πάντοτε τόσο με την **άμεση** μέθοδο (**άγνωστα** ερυθροκύτταρα ελέγχονται με **γνωστό** αντιορό) όσο και με την **ανάστροφη** μέθοδο (**άγνωστος** ορός ελέγχεται με **γνωστά** ερυθροκύτταρα). Οι τεχνικές θα δοθούν στη συνέχεια. Οπωσδήποτε δεν υπάρχει αιμφιβολία ότι κάθε άτομο μπορεί να δεχθεί αίμα της ομάδας του. Στην περίπτωση αυτή η μετάγγιση ονομάζεται **συμβατή**. Συμβατή θεωρητικά είναι και η μετάγγιση ερυθροκυττάρων ομάδας O σε άτομα όλων των ομάδων. Στην περίπτωση αυτή τα αντισώματα αντι-Α ή αντι-Β που ενδέχομένως βρίσκονται στον ορό του δέκτη (όταν αυτός δεν ανήκει στην ομάδα AB) δεν μπορούν να αναγνωρίσουν **κανένα** αντιγόνο ABO πάνω στα ξένα ερυθροκύτταρα και κατά συνέπεια αυτά γίνονται καλά ανεκτά*. Έτσι η ομάδα O έχει χαρακτηρισθεί ως **παγκόσμιος δότης**. Στην πράξη όμως οι ανεξέλεγκτες μεταγγίσεις αίματος O σε άτομα με άλλες ομάδες ABO δεν είναι ασφαλείς και αποφεύγονται. Αυτό ισχύει εξ ίσου και για τα άτομα ομάδας AB που θεωρητικά μπορούν να πάρουν αίμα από όλες τις άλλες ομάδες ABO. Αντίθετα η μετάγγιση αίματος A σε άτομο ομάδος B ή αντίστροφα είναι σαφώς **ασύμβατη** και ακολουθείται από την αναγνώριση των μεταγγιζόμενων ερυθρών από τις συγκολλητίνες του δέκτη και την άμεση καταστροφή τους με βαρύτατες συνέπειες γι' αυτόν.

Ο Πίνακας 2.1.3 συνοψίζει τις δυνατότητες συμβατών μεταγγίσεων όσον αφορά το σύστημα ABO.

Η παρουσίαση αυτή των ομάδων ABO είναι υπεραπλουστευμένη μέχρις εδώ. Στην καθημερινή πράξη υπάρχουν και άλλες λεπτομέρειες, στις οποίες πρέπει να δοθεί προσοχή. Οι λεπτομέρειες αυτές αφορούν την ισχύ και την ειδικότητα των συγκολλητινών, την ισχύ και τη γενετική των αντιγόνων και τη σχέση (βιοχημική και βιολογική) των αντιγόνων αυτών με άλλα σημαντικά ερυθροκυτταρικά συστήματα.

* Οι συγκολλητίνες αντι-Α/αντι-Β που βρίσκονται στο μεταγγιζόμενο αίμα αραιώνονται πολύ και δεν αντιδρουν με τα ερυθροκύτταρα του δέκτη. Ο κανόνας αυτός έχει επικινδυνες εξαιρέσεις (**επικίνδυνος δότης**).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1.3
Δυνατότητες ABO – συμβατών μετανγίσεων

Δότης	μπορεί να δώσει αίμα σε	Δέκτη	Δέκτης	μπορεί να πάρει αίμα από	Δότη
A		A, AB	A		A, O
B		B, AB	B		B, O
AB		AB	AB		A, B, AB, O
O		A, B, AB, O	O		μόνο O

2.3 Άλλοσυγκολλητίνες ABO.

2.3.1 Η συγκέντρωσή τους στον ορό.

Εμφανίζονται στον ορό περί τον 3-6 μήνα της βρεφικής ζωής, όπως αναφέρθηκε, και αυξάνονται στις μέγιστες συγκεντρώσεις περί το δέκατο έτος της ηλικίας. Η συγκέντρωση των άλλοσυγκολλητίνων καθορίζεται με τον **τίτλο** τους, με άλλα λόγια τη μεγαλύτερη αραίωση του ορού με την οποία μπορεί να επιτευχθεί συγκόλληση των αντίστοιχων ερυθροκυττάρων κάτω από σταθερές συνθήκες (πρβλ. μιεθοδολογία). Ο τίτλος των φυσικών συγκολλητίνων αντί-Α είναι συνήθως υψηλός από τον τίτλο των αντί-Β στα διάφορα άτομα. Το ίδιο ισχύει και για τον ήλιο αντί Α σε σύγκριση με τον τίτλο αντί-Β στους ορούς ατόμων ομάδας Ο, όπου ο ήλιος αποτελεί τα αντισώματα συνυπάρχουν. Ο συνήθης τίτλος για τις συγκολλητίνες αντί Α είναι 1/256, ενώ για τις συγκολλητίνες αντί-Β είναι 1/64.

Μετά την παιδική ηλικία ο τίτλος των συγκολλητίνων ABO μειώνεται προσδευτικά με την ηλικία, έτσι ώστε δεν είναι απίθανο (και επιβάλλει ιδιαίτερη προσοχή) ο ιρός ενός ηλικιωμένου ατόμου στην ανάστροφη αντίδραση να έρχεται σε αντίφαση με τα αποτελέσματα της άμεσης συγκολλήσεως.

Η έλλειψη συγκολλητίνων ABO παρατηρείται επίσης σε άτομα που πάσχουν από συγγενή ή επίκτητη υπο-γ-σφαιριναιμία και **σπανιότατα** σε φυσιολογικά άτομα.

Όπως είναι ευνόητο η ισχύς των φυσικών συγκολλητίνων ABO αυξάνεται όταν τις αυτές προστεθούν και άνοσες συγκολλητίνες. Ανοσοποίηση με αντιγόνα Α και Β μπορεί να προκληθεί με τους ακόλουθους μηχανισμούς:

α) Ασύμβατη μετάγγιση.

β) Ασύμβατη κύηση. Ερυθροκύτταρα του εμβρύου μπορούν να περάσουν κάτω από ορισμένες συνθήκες στην κυκλοφορία της μητέρας. Όταν αυτά διαθέτουν αντιγόνα ABO «ξένα» για τη μητέρα, αυτή αντιδρά και παράγει ανάλογα αντισώματα.

γ) Ενέσεις εμβολίων που περιέχουν ίχνη πεψίνης χοίρου (εμπεριέχεται στα θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των μικροβίων). Παραδείγματα το τοξινοειδές της διφθερίτιδας και το τοξινοειδές του τετάνου. Αυξάνεται ο τίτλος αντί-Α.

δ) Αντιγριππικά εμβόλια. Αυξάνεται ο τίτλος αντί-Α.

ε) Αντιτεανικός ορός από άλογο. Αυξάνεται κατά βάση ο τίτλος αντί-Α. Στις περιπτώσεις γ, δ και ε φαίνεται ότι η πεψίνη χοίρου και άλλες χημικές ουσίες που εμπεριέχονται στα αντίστοιχα βιολογικά υλικά έχουν χημική δομή όμοια με το αντιγόνο Α και προκαλούν **διασταυρωμένη** ανοσολογική αντίδραση.

2.3.2 Ουσίες που αναγνωρίζουν αντιγόνα ABO φυτικής ή ζωικής προελεύσεως.

Ιδιότητες συγκολλητινών αντι-Α και αντι-Β έχουν και ορισμένα ζωικά ή φυτικά παράγωγα. Αυτά χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη μεθοδολογία της αιμοδοσίας όχι μόνο ως υποκατάστατα των φυσικών συγκολλητινών στην τυποποίηση άγνωστων ερυθροκυττάρων, αλλά κυρίως στη διάκριση σημαντικών υποομάδων και κατηγοριών. Από τα παράγωγα αυτά αξιόλογα είναι τα ακόλουθα:

- α) **Ουσία αντι-Α** από αδένες ή αυγά φιδιών (*Helix pomatia*, *Helix hortensis* κ.ά.).
- β) **Ουσία αντι-Β** από το μύκητα *Fomes fomentarius*.

γ) **Ουσία αντι-Α**, από τους σπόρους του φασολιού *Dolichos biflorus*. Η ουσία αυτή και άλλα φυτικά εκχυλίσματα που αναγνωρίζουν ερυθροκυτταρικά αντιγόνα ονομάζονται **λεκτίνες**. Το ιδιαίτερο ενδιαφέρον της λεκτίνης αυτής είναι ότι αναγνωρίζει τα Α αντιγόνα (Α ή AB) στα 80% μόνο των ατόμων που εξετάζονται, ενώ δεν επιφέρει καμία συγκόλληση στα ερυθροκύτταρα των υποομάδων 20%. Αυτό υποδηλώνει μικρές διαφορές ανάμεσα στα διάφορα αντιγόνα Α και επιτρέπει το διαχωρισμό της ομάδας A_1 (των ερυθροκυττάρων που συγκολλούνται με τη λεκτίνη του *Dolichos biflorus*) και της ομάδας A_2 (των ερυθροκυττάρων που δεν συγκολλούνται με τη λεκτίνη αυτή). Τα αντιγόνα A_1 και A_2 θα εξετασθούν και πάλι στη συνέχεια.

δ) **Ουσία αντι-Η.** Εκχυλίζεται κυρίως από ένα άλλο είδος φασολιού (*Ulex europeus*). Έχει την πολύ ενδιαφέρουσα ιδιότητα να επιφέρει έντονη συγκόλληση των ερυθροκυττάρων Ο και A_2 (A_2 , A_2B) και ελάχιστη ή καμία συγκόλληση των ερυθροκυττάρων A_1 , A_1B και Β. Βρίσκει σημαντική εφαρμογή στο Εργαστήριο. Προφανώς αναγνωρίζει ένα άλλο αντιγόνο που βρίσκεται πάνω στα αντίστοιχα ερυθροκύτταρα και ονομάζεται Η. Το αντιγόνο αυτό θα εξετασθεί και πάλι στη συνέχεια.

2.3.3 Συγκολλητίνες αντι-Α, και αντι-Η στον ορό.

Ο ορός διαφόρων ατόμων περιέχει σε ορισμένες περιπτώσεις συγκολλητίνες που αναγνωρίζουν μερικά μόνο αντιγόνα του συστήματος ABO. Από αυτές σημαντικές για την αιμοδοσία είναι οι ακόλουθες δύο:

α) Συγκολλητίνες αντι-Α:

Αναγνωρίζουν το αντιγόνο A_1 στο 80% μόνο του Α-πληθυσμού (Α ή AB). Βρίσκονται μέσα στον ορό των ατόμων Β σε μίγμα με συγκολλητίνες αντι-Α που αναγνωρίζουν το σύνολο (100%) των αντιγόνων Α («γενικές» αντι-Α συγκολλητίνες). Η απομόνωσή τους γίνεται με τη **μέθοδο της προσροφήσεως**. Όταν ερυθροκύτταρα ομάδας A_2 (εκείνα που δεν συγκολλούνται με τις αντι- A_1 συγκολλητίνες) προστεθούν σε ορό ατόμου ομάδας Β, οι εμπειριεχόμενες αντι-Α «γενικές» συγκολλητίνες **προσροφούνται** πάνω στα αντιγόνα A_2 και **εξουδετερώνονται**, και στον ορό απομένουν μόνο τα αντισώματα αντι- A_1 .

Πολύ σπάνια αντι-Α,-συγκολλητίνες διαπιστώνονται στον ορό ατόμων A_2 ή A_2B , έχουν όμως (ευτυχώς) θεωρητικό μάλλον παρά πρακτικό ενδιαφέρον, γιατί δεν φαίνεται να αντιδρούν, όταν στα άτομα αυτά μεταγγισθεί αίμα A_1 .

β) Συγκολλητίνες αντι-Η:

Πολύ σπάνια στον οπόιο ορισμένων ατόμων (κυρίως Α, ή A_1B) διαπιστώνεται

ένα **ψυχρό αντίσωμα** (δρα καλύτερα σε χαμηλή θερμοκρασία), που αναγνωρίζει και επιφέρει σαφή συγκόλληση των ερυθροκυττάρων ή A_2 ή A_2B . Το αντίσωμα αυτό παρεμβαίνει ανεπιθύμητα στον καθορισμό των αιμάτων αίματος, δεν φαίνεται όμως να έχει κλινική σημασία. Αντίθετα, οι συγκολλήσεις αντί-Η που διαπιστώνονται στους σπανιότατους τύπους «Βομβάη» μπορούν να πρωκαλέσουν αιμολυτικές αντιδράσεις *in vivo*. Ο τύπος «Βομβάη» θα αναλυθεί περισσότερο στην παράγραφο 2.5.

2.4 Άλλες ιδιότητες των αντιγόνων ABO.

2.4.1 Υποομάδες του αντιγόνου A.

Στο προηγούμενο κεφάλαιο δόθηκαν ενδείξεις ότι όλα τα αντιγόνα A δεν είναι απόλυτα όμοια μεταξύ τους. Υπάρχουν συγκολλητίνες αντί-Α που αναγνωρίζουν μόνο μια ομάδα αντιγόνων A· το ίδιο γίνεται και με την λεκτίνη του *Dolichos biflorus*. Η ομάδα αυτή χαρακτηρίσθηκε ήδη ως αντιγόνο A₁. Τα υπόλοιπα (όσα δεν αναγνωρίζονται) αποτελούν την ομάδα των αντιγόνων A₂. Οι διαφορές των αντιγόνων A₁ (και A₁B) και A₂ (και A₂B) δεν φαίνεται να είναι σημαντικές. Η μελέτη των αντιδράσεων συγκολλήσεως κάτω από ποικίλες τεχνικές συνθήκες στο Εργαστήριο υποστηρίζει ότι οι διαφορές είναι λίγο ποιοτικές και περισσότερο ποσοτικές. Πραγματικά, όταν οι σχέσεις αντιγόνων/αντισωμάτων παραλλάξουν, πολλές από τις διαφορές των αντιγόνων A₁ - A₂ αμβλύνονται. Έτσι, π.χ. η προσρόφηση ορού ατόμου B (περιέχει συγκολλητίνες αντί-Α + αντί-Α₁) με μεγάλο αριθμό ερυθροκυττάρων A₂ έχει ως συνέπεια την εξουδετέρωση όλων ανεξαιρέτως (και όχι μόνο των αντί-Α-γενικών) των αντί-Α-συγκολλητινών (παράγρ. 2.3.3α). Πρόκειται κατά συνέπεια για ποσοτική διαφορά στην «έκφραση» του ίδιου αντιγόνου. Οπωσδήποτε, το πιο σημαντικό είναι ότι σε ορισμένες περιπτώσεις τα ερυθροκύτταρα A₂ δεν αναγνωρίζονται εύκολα από τις συγκολλητίνες αντί-Α. Αυτό αποκτά τεράστια σημασία στον καθορισμό των ομάδων αίματος, γιατί ένα άτομο ομάδας A₂ μπορεί να εκληφθεί σαν O ή ένα άτομο A₂B να εκληφθεί σαν B. Το λάθος μπορεί να αποφευχθεί με τη χρησιμοποίηση ισχυροτέρων αντί-ορών.

Με λεπτομερέστερες μελέτες σήμερα έχουν αναγνωρισθεί και άλλες, περισσότερο «αδύνατες» υποομάδες A. Η σειρά είναι A₁, A-ενδιάμεσο, A₂, A₃ και A₀ ή A₋. Παρόμοια σειρά εμφανίζεται και στην ομάδα AB. Το ενδιαφέρον των υποομάδων αυτών είναι ικαδημαϊκό, εκτός από την πιθανότητα να διαφύγουν στον καθορισμό των ομάδων αίματος και τα ερυθροκύτταρα να εκληφθούν σαν O (ή B). Ο Πίνακας 2.4.1 συνοψίζει τις ορολογικές αντιδράσεις ερυθροκυττάρων A με διάφορους αντιορούς.

2.4.2 Υποομάδες του αντιγόνου B.

Υποομάδες του αντιγόνου B ανάλογες με αυτές που περιγράφηκαν για το αντιγόνο A δεν έχουν διαπιστωθεί. Σε σπάνιες περιπτώσεις έχουν αναφερθεί «ασθενή» B-αντιγόνα.

2.4.3 Διακυμάνσεις των αντιγόνων A και B στα ερυθροκύτταρα.

Τα αντιγόνα A και B διαπιστώνονται σε ερυθροκύτταρα εμβρύων 5-6 εβδομάδων. Ωστόσο, η ολοκληρωτική έκφρασή τους συμπληρώνεται στην παιδική ηλικία.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.4.1
Υποομάδες αντιγόνου Α

Υποομάδα	Έλεγχος ερυθροκυττάρων με ορό				με λεκτίνη
	αντι-Α	αντι-AB	αντι-Α ₁	αντι-Α ₁	
A ₁	+	+	+	+	+
A-ενδιάμεσο	+	+	±	+	
A ₂	+	+	-	-	
A ₃	+*	+*	-	-	
A ₀	-	+	-	-	

* Μικρές ομάδες συγκολλημένων ερυθροκυττάρων ανάμεσα σε πολλά ελεύθερα κύτταρα.

Το αντιγόνο Α γίνεται ασθενέστερο σε πολλά ερυθροκύτταρα ατόμων που πασχουν από οξεία λευχαιμία, έτσι ώστε στην αντίδραση συγκολλήσεως δίνεται η εντύπωση ότι πρόκειται για μίγμα ερυθροκυττάρων Α και Ο.

Ανάλογη διακύμανση για το αντιγόνο Β δεν έχει περιγραφεί. Οπωσδήποτε είναι ενδιαφέρον ότι σε ορισμένες περιπτώσεις καρκίνου του παχέος εντέρου επί α τόμων A₁, τα ερυθροκύτταρα **προσροφούν** στην επιφάνειά τους μια διαλυτή ουσία με δομή αντιγόνου Β και μπορούν να συγκολλήθουν όχι μόνο από ορό αντι-Α₁, αλλά και από διάφορους ορούς αντι-Β. Η ουσία αυτή είναι πολυσακχαρίτης βακτηριδιακής προελεύσεως.

2.4.4 Κληρονομικότητα των αντιγόνων ABO.

Οι γόνοι που καθορίζουν την σύνθεση των αντιγόνων ABO μεταδίδονται από τους γονείς στους απογόνους σύμφωνα με τους βασικούς κανόνες της γενετικής. Υπάρχουν τρεις αντίστοιχοι γόνοι: Α, Β και Ο. Από αυτούς οι δύο πρώτοι κατευθύνουν τη σύνθεση των αντιγόνων Α και Β, ενώ ο τελευταίος δεν παράγει τίποτε και ονομάζεται **άμφοφος**. Κάθε άτομο παίρνει έναν τέτοιο γόνο από τον πατέρα του και έναν άλλο από τη μητέρα του. Κατά συνέπεια υπάρχουν οι ακόλουθοι **γονότυποι** (συνδυασμοί γόνων).

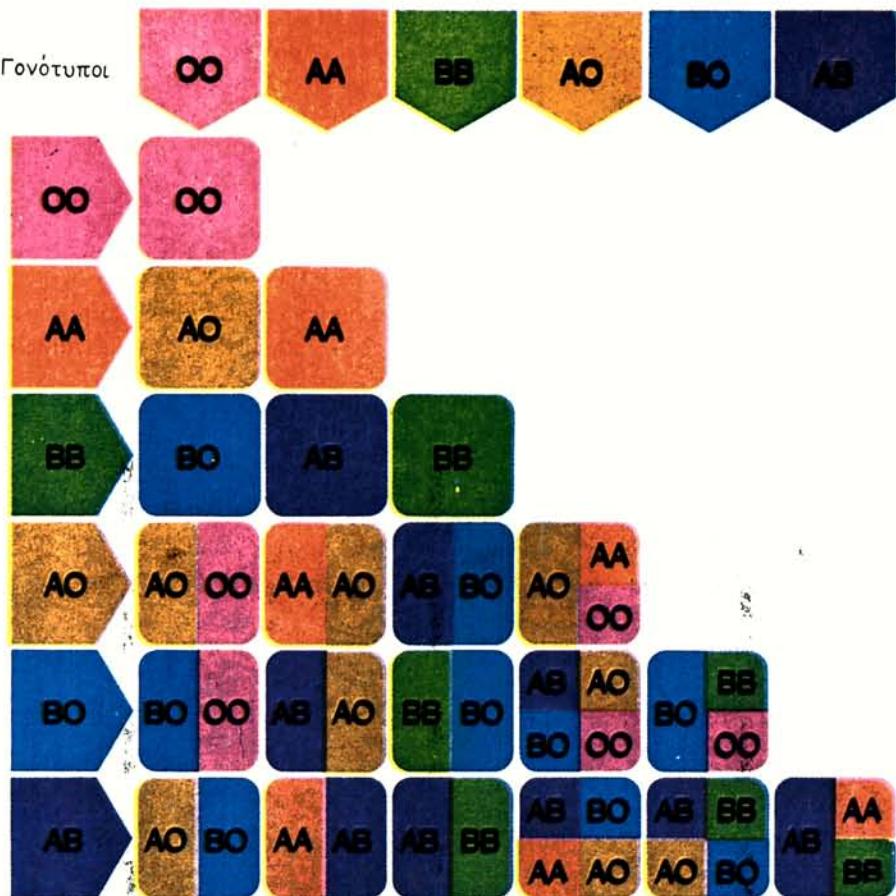
AA, AO, BA, BO, AB, OO

Οι γόνοι Α και Β είναι **επικρατούντες**, υπερισχύουν δηλαδή του γόνου Ο, όταν συνυπάρχουν με αυτόν και καλύπτουν πλήρως τη σύνθεση του αντίστοιχου αντιγόνου. Σε περίπτωση συνυπάρξεως των γόνων Α και Β στο ίδιο άτομο, τότε εκφράζονται κανονικά και τα δύο αντιγόνα (**συνεπικρατούντες** γόνοι). Κατά συνέπεια, οι παραπάνω γονότυποι δίνουν τους ακόλουθους **φαινοτύπους**:

$$\begin{array}{ll}
 AA, AO & = \text{A} \\
 BB, BO & = \text{B} \\
 AB & = \text{AB} \\
 OO & = \text{O}
 \end{array}$$

Οι γονότυποι AO και BO χαρακτηρίζονται ως **ετεροζυγώτες** αντιθέτα, οι γονότυποι AA, BB και OO είναι **ομόζυγοι** (ομοζυγώτες). Σύμφωνα με τη γενετική ορολογία ο γονότυπος AB καθορίζεται ως **διπλός ετεροζυγώτης**. Οι γόνοι του συστήματος ABO είναι **αυτόσωμοι**, με άλλα λόγια κληρονομούνται ανεξάρτητα από το φύλο.

Οι συνδυασμοί που μπορούν να προκύψουν από το γάμο ατόμων διαφόρων ομάδων αίματος σχηματοποιούνται στο σχήμα 2.4a.



Σχ. 2.4a.

Σινδυασμοί γονοτύπων ABO

2.4.5 Κατανομή των αντιγόνων ABO στον πληθυσμό.

Η ακρίβεια των νόμων της κληρονομικότητας, τους οποίους, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ακολουθεί πιστά η κληρονομική μεταβίβαση των αντιγόνων ABO, μας πληροφορεί ότι η συχνότητα κάθε αντιγόνου σ' ένα κλειστό πληθυσμό δεν μπορεί να μεταβληθεί από γενιά σε γενιά. Η σταθερότητα αυτή είναι τόσο χαρακτηριστική, ώστε χρησιμοποιείται στην ανθρωπολογία ως διακριτικό γνώρισμα διαφόρων πληθυσμών. Βασικό δεδομένο ποντούμεα πιπτό είναι ότι το αντιγόνο B είναι σι

χνό στους λαούς της Ανατολής και ελαττώνεται προοδευτικά στη Δυτική Ευρώπη και τους λευκούς κάτοικους των ΗΠΑ.

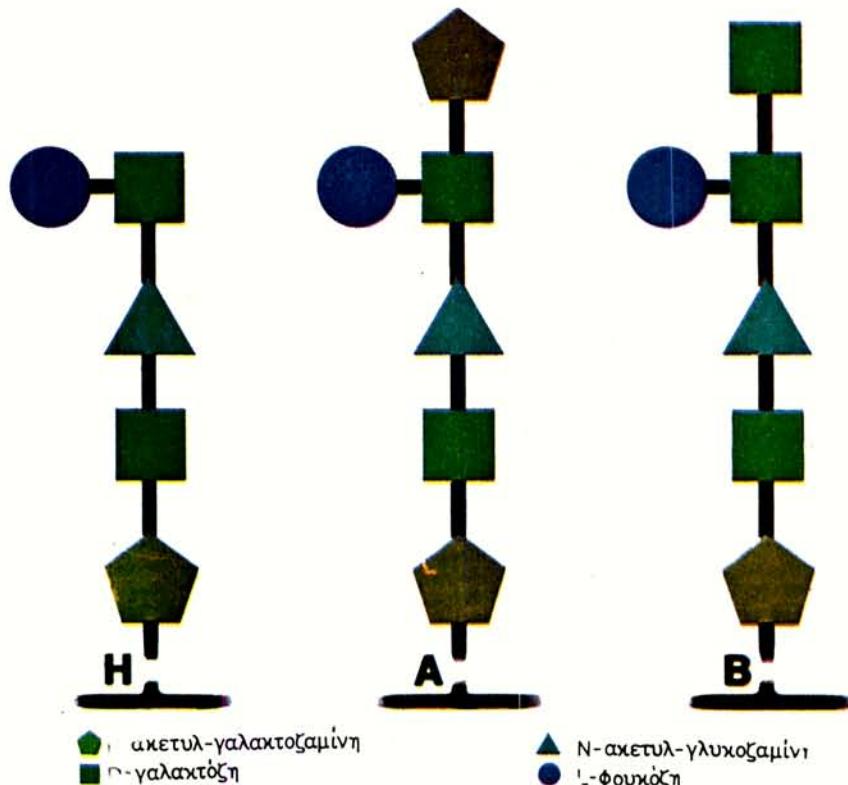
Η κατανομή των ομάδων αίματος στην Ελλάδα είναι περίπου η ακόλουθη:

- A 40%
- B 14%
- AB 4%
- O 42%

Τα ποσοστά αυτά έχουν βεβαιωθεί σε επανειλημμένες έρευνες και δεν φαίνεται να διαφέρουν αισθητά από περιοχή σε περιοχή. Είναι αξιόλογο, ότι η κατανομή των ομάδων αίματος στον Ελληνικό πληθυσμό διαφέρει σημαντικά από τις αντίστοιχες κατανομές στους Σλαύους, τους Βούλγαρους και τους Τούρκους. Αυτό αποτελεί σημαντικότατη απόδειξη ότι ο ελληνικός πληθυσμός δεν ομοιογενοποιήθηκε με τους γείτονες ούτε στη Βυζαντινή εποχή ούτε και στα χρόνια της Τουρκοκρατίας.

2.4.6 Δομή και σύνθεση των αντιγόνων ABO.

Πολλές από τις πληροφορίες που δόθηκαν παραπάνω και πολλά χρήσιμα στοιχεία για τις σχέσεις των αντιγόνων ABO και άλλων ομάδων αίματος γίνονται εύκο-



λα κατανοητά, όταν ληφθεί υπόψη η χημική δομή και η σύνθεσή τους. Αναφέρθηκε ότι τα αντιγόνα ABO είναι γλυκοπρωτεΐνες. Το βασικό **πρόδρομο** υλικό τους είναι πρωτεΐνες της μεμβράνης στην άκρη των οποίων προστίθενται διάφορα μόρια σακχάρων. Η χημεία των ουσιών αυτών φαίνεται σχηματοποιημένη στο σχήμα 2.4β. Πάνω στην πρόδρομη ουσία προστίθενται σταθερά πέντε μόρια σακχάρου. Αυτά έχουν αντιγονικές ιδιότητες, μπορούν δηλαδή νά δημιουργήσουν αντισώματα όταν ενεθούν σ' ένα οργανισμό που δεν τα έχει. Το αντιγόνο που συνιστούν ονομάζεται αντιγόνο H και αναγνωρίζεται από μια ουσία φυτικής προελεύσεως που περιγράφηκε προηγουμένως (παράγρ. 2.3.2), τη λεκτίνη αντι-H. Ουσιαστικά όλοι οι άνθρωποι έχουν το αντιγόνο H· οι εξαιρέσεις είναι ελάχιστες και θα αναφερθούν στην επόμενη παράγραφο (2.5).

Η προσθήκη ενός μορίου N-ακετυλογαλακτοζαμίνης πάνω στο προτελευταίο σάκχαρο του αντιγόνου H δίνει σ' αυτό αντιγονική ειδικότητα A, ενώ η προσθήκη, στην ίδια θέση, ενός μορίου γαλακτόζης δημιουργεί το αντιγόνο B. Εδώ οι γόνοι A και B «εκφράζονται» με τη μορφή ενός ενζύμου (τρανσφεράση), που επιλέγει και συνδέει στην κατάλληλη θέση τα ειδικά σάκχαρα. Όταν ο αντίστοιχος γόνος είναι **άμορφος** (ανενεργής) τότε στην προτελευταία γαλακτοζαμίνη δεν συνδέεται τίποτε και το αντιγόνο H παραμένει «γυμνό». Κατά μία απλουστευμένη εξήγηση, η «μερική επικάλυψη» του αντιγόνου H με τα ανάλογα σάκχαρα έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία των «αδύνατων» αντιγονικών υποομάδων. Έτσι η λεκτίνη αντι-H αναγνωρίζει έντονα τα ερυθροκύτταρα O, λιγότερο έντονα τα ερυθροκύτταρα A₂ και A₂B και σχεδόν καθόλου τα ερυθροκύτταρα A₁ και A₁B.

2.5 Το σύστημα H/h. Ο τύπος «Βομβάη».

Υπάρχουν σπάνιες περιπτώσεις, όπου η επικάλυψη των ερυθροκυττάρων με τις ομάδες των πέντε σακχάρων που συνιστούν το αντιγόνο H δεν γίνεται. Πρόκειται προφανώς για αδράνεια του αντίστοιχου γόνου που χαρακτηρίζεται τώρα ως h. Η διαπίστωση των ετεροζυγωτών Hh είναι αδύνατη γιατί ο λειτουργικός γόνος H αντισταθμίζει το έλλειμμα. Το φαινόμενο αποκτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον στις έξαιρετικά σπάνιες περιπτώσεις όπου και οι δύο γόνοι είναι h (hh). Τα ερυθροκύτταρα hh δεν, διαθέτουν το αντιγόνο H, ούτε όμως και τα αντιγόνα A και B, που αναπτύσσονται πάνω σ' αυτό. Κατά συνέπεια δεν αναγνωρίζονται με κανένα αντιορό ή λεκτίνη. Τουναντίον, τα άτομα hh αναγνωρίζονται σάν «ξένες» διάφορες ζωικές ή φυτικές ουσίες που έχουν δομή αντιγόνων A ή B ή H και δημιουργούν από τα πρώτα χρόνια της ζωής «φυσικά» αντισώματα, που, στη συνέχεια, συγκολλούν κάθε ερυθροκύτταρο που έχει τα αντίστοιχα αντιγόνα, δηλαδή όλα — πρακτικά — τα ερυθροκύτταρα. Τα άτομα hh καθορίζουν τον τύπο «Βομβάη», από την πόλη όπου περιγράφηκε για πρώτη φορά το σπάνιο αυτό φαινόμενο. Σύμφωνα με τις παραπάνω ιδιότητες, στα άτομα τύπου «Βομβάη» δεν μπορεί να γίνει μετάγγιση παρά με αίμα τύπου «Βομβάη». Ο τύπος «Βομβάη» συμβολίζεται και ως O_h*.

2.6 Διαλυτές ουσίες A, B και H στον ορό και τις εκκρίσεις.

Ο ορός πολλών ατόμων περιέχει ίχνη των αντιγόνων A και B (όχι όμως H) που

* Σε δύο μοναδικές περιπτώσεις με ακαδημαϊκό ενδιαφέρον έχουν περιγραφεί άτομα χωρίς αντιγόνο H (τουλάχιστον σε ανιχνεύσιμη ποσότητα), αλλά με ίχνη ουσιών A και B. Τα άτομα αυτά χαρακτηρίσθηκαν αντίστοιχα ως A_h και B_h.

χαρακτηρίζουν τα ερυθροκύτταρά τους. Η ποσότητά τους είναι πολύ μικρή και μόνο σε σπανιότατες εξαιρέσεις δημιουργεί προβλήματα στην αιμοδοσία.

Περισσότερο ενδιαφέρον έχει το φαινόμενο ότι τα ίδια αντιγόνα (Η και Α ή Β) απεκκρίνονται στο σάλιο και άλλες εκκρίσεις διαφόρων ατόμων. Η ιδιότητα αυτή μεταδίδεται κληρονομικά και καθορίζεται από το γόνο Se. Περίπου 80% του πληθυσμού είναι **εκκριτικοί** (SeSe ή Sese τύποι)· οι υπόλοιποι χαρακτηρίζονται ως **μη εκκριτικοί** και είναι εξ ορισμού ομοζυγώτες sese.

2.7 Σχέση των αντιγόνων ABO με άλλα αντιγονικά συστήματα.

2.7.1 To σύστημα Lewis.

Οι σχέσεις μεταξύ των γόνων A, B, H και Se/se γίνονται περισσότερο περίπλοκες με την εισαγωγή ενός τρίτου συστήματος. Πρόκειται για το σύστημα Lewis που εμφανίζει τις ακόλουθες σημαντικές ιδιομορφίες:

- Τα αντιγόνα πρώτα σχηματίζονται σε διαλυτή μορφή μέσα στο πλάσμα και έπειτα προσκολλούνται στα ερυθροκύτταρα.
- Η τελική μορφή του αντιγόνου που ανιχνεύεται επηρεάζεται τόσο από άλλους ερυθροκυτταρικούς γόνους (A, B, H) όσο και από την ιδιότητα του ατόμου να απεκκρίνει τις ουσίες A, B, H στο σάλιο και στις άλλες εκκρίσεις (γόνος Se).

Το σύστημα Lewis είναι σχετικά πολύπλοκο και η σημασία του για την αιμοδοσία είναι περιορισμένη. Οπωσδήποτε στον ορό διαφόρων ατόμων υπάρχουν, σε ορισμένες περιπτώσεις, αντι-Lewis **φυσικά** αντισώματα που μπορούν να επιφέρουν αιμόλυση όταν γίνει μετάγγιση ερυθροκυττάρων με τους αντίστοιχους αντιγονικούς συνδυασμούς.

Η σύνθεση του αντιγόνου Lewis καθορίζεται από τον γόνο Le. Ο άμορφος (λειτουργικά αδρανής) άλληλος του είναι ο γόνος le. Ένα άτομο μπορεί να είναι Lewis-Θετικό (LeLe ή Lele' ο γόνος Le επικρατεί) ή Lewis-αρνητικό (lele).

Στα Lewis θετικά άτομα το πλάσμα περιέχει την ουσία Le^a που προσφοράται στα ερυθροκύτταρα και τους προσδίνει αντιγονική ιδιότητα L^a. Όμως αυτή δεν παραμένει σταθερή. Στις περισσότερες περιπτώσεις η σύγχρονη παρουσία του γόνου H έχει ως αποτέλεσμα την μετατροπή του αντιγόνου Le^a σε αντιγόνο Le^b. Είναι εξαιρετικά ενδιαφέρον ότι η ρύθμιση της μετατροπής αυτής γίνεται από τον «άσχετο» γόνο Se. Όταν τα Lewis-θετικά—H-θετικά άτομα ανήκουν στον εκκριτικό τύπο (sese) δεν γίνεται η μετατροπή του αντιγόνου Le^a σε αντιγόνο Le^b. Οπως είναι ευνόητο, η παρουσία του γόνου Se επιφέρει επίσης την απέκκριση όλων των παραπάνω αντιγονικών ουσιών στο σάλιο και σε άλλες εκκρίσεις. Η αλληλεπίδραση των γόνων Le—Se— και ABH συνοψίζεται στον Πίνακα 2.7.1.

2.7.2 Σύστημα II.

Τα ερυθροκύτταρα όλων σχεδόν των ενηλίκων ατόμων εμφανίζουν ένα **κοινό** αντιγόνο που ονομάζεται I. Αντίθετα, τα ερυθροκύτταρα του εμβρύου και του νεογονού εμφανίζουν ελάχιστο αντιγόνο I, ενώ είναι πλούσια σε ένα άλλο αντιγόνο που καθορίζεται ως i. Με την πρόοδο της ηλικίας το αντιγόνο i μειώνεται ενώ τς παντιγόνο I αυξάνεται. Αυτό υποδηλώνει ότι με την πρόοδο της ηλικίας τα ερυθρο-

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.7.1
Η αλληλεπίδραση των συστημάτων *Le/le*, *Se/se* και *ABH*

Γόνοι	Ερυθροκυτταρικά αντιγόνα		Συμβολισμός του ατόμου	Αντιγόνα εκκρίσεων
	Lewis	Λοιπά		
Le, Se, ABH	$Le^a \rightarrow Le^b$	A/B/O*	A/B/O, $Le(a- b+)$	A/B, H, Le^b
Le, se, ABH	Le^a	A/B/O	A/B/O, $Le(a+ b-)$	τίποτε
Le, Se, hh	Le^a	O _h	«Βομβάη», $Le(a+ b-)$	Le^a
Le, se, hh	Le^a	O _h	«Βομβάη», $Le(a+ b-)$	τίποτε
le, Se, ABH	τίποτε	A/B/O	A/B, $Le(a- b-)$	A/B, H
le, se, ABH	τίποτε	A/B/O	A/B, $Le(a- b-)$	τίποτε

* Σε πολλά ατόμα O ή A₂, η μετατροπή $Le^a \rightarrow Le^b$ δεν είναι πλήρης, οπότε διαπιστούνται και τα δύο αντιγόνα τόσο στα ερυθροκύτταρα [$Le(a + b +)$] όσο και στις εκκρίσεις (Le^a και Le^b)

κύτταρα αποκτούν την ιδιότητα να επικαλύπτουν την πρόδρομη ουσία i και να την μεταβάλλουν σε ουσία I. Η έλλειψη του αντιγόνου I (με παραμονή του αντιγόνου i) στους ενηλίκους είναι πολύ σπάνια. Στις περιπτώσεις αυτές ο ορός μπορεί να περιέχει συγκολλητίνες αντι-I. Οπωσδήποτε, το αντίσωμα αυτό αιχάντεται σε πολύ υψηλά, επίπεδα σε συνδυασμό με διάφορες παθολογικές καταστάσεις (π.χ. πνευμονίες από μυκόπλασμα) και δημιουργεί σημαντικές δυσκολίες στην προετοιμασία του αίματος για μετάγγιση. Η συγκολλητίνη αντι-I είναι ισχυρό ψυχρό αντίσωμα (IgM) και συγκολλά τελικά όλα τα ερυθροκύτταρα με τα οποία ελέγχεται ή συνδέει πάνω σ' αυτά συμπλήρωμα και δίνει ψευδείς αντιδράσεις Coombs με τον αντίστοιχο αντι-g-σφαιρινικό – αντι-συμπληρωματικό ορό.

Συγκολλητίνες αντι-i εμφανίζονται σπανιότατα σε παθολογικές καταστάσεις (δικτυοσάρκωμα, λοιμώδης μονοπυρήνωση) και δεν έχουν (γνωστή) κλινική σημασία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ RHESUS ΚΑΙ ΆΛΛΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

3.1 Τα αντιγόνα Rhesus.

Το 1939 ο Levine και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι στον ορό μιας γυναίκας της οποίας το νεογνό είχε εμφανίσει βαρύ αιμολυτικό ίκτερο, υπήρχαν αντισώματα που αναγνώριζαν και επέφεραν συγκόλληση των ερυθροκυττάρων του. Ένα χρόνο αργότερα στο εργαστήριο του Landsteiner, διαπιστώθηκε ότι το αντίσωμα που δημιουργείται όταν γίνει ένεση ερυθροκυττάρων του πιθήκου Macacus Rhesus σε κουνέλια (αντι-Rhesus αντίσωμα), έχει την ιδιότητα να αναγνωρίζει και να συγκολλά και τα ερυθροκύτταρα ενός μεγάλου ποσοστού ανθρώπων. Αυτό σημαίνει ότι τα ερυθροκύτταρα των πιθήκων Macacus Rhesus και τα ερυθροκύτταρα πολλών ανθρώπων έχουν ένα «κοινό» αντιγόνο. Το αντιγόνο αυτό ονομάσθηκε αντιγόνο Rhesus ή Rh και τα άτομα που το φέρουν άτομα Rhesus-θετικά. Κατ' αναλογία τα ερυθροκύτταρα που δεν συγκολλούνται με τον ορό αντι-Rhesus θεωρούνται ότι δεν φέρουν το αντιγόνο Rhesus και ονομάζονται άτομα Rhesus-αρνητικά. Στη λευκή φυλή (κάτοικοι Ευρώπης- Αμερικής) τα 85% του πληθυσμού είναι Rhesus-θετικοί. Το ενδιαφέρον του αντιγονικού αυτού συστήματος είναι ότι το αντίσωμα αντι-Rhesus δεν υπάρχει από μόνο του στον ορό των Rhesus-αρνητικών ατόμων, όπως συμβαίνει με τα αντισώματα του συστήματος ABO, που υπάρχουν από μόνα τους («φυσικά» αντισώματα) όταν τα ερυθροκύτταρα ενός ατόμου δεν διαθέτουν το αντίστοιχο αντιγόνο. Σε αντιδιαστολή, τα αντισώματα Rhesus είναι «επίκτητα» και εμφανίζονται στον ορό των Rhesus-αρνητικών ατόμων μόνο όταν αυτά «ευαισθητοποιηθούν» μετά από «ασύμβαση» μετάγγιση ή (ασύμβαση) κύηση. Οι μηχανισμοί της ευαισθητοποίησεως θα αναφερθούν αργότερα. Εδώ πρέπει να προστεθεί ότι το σύστημα Rhesus απέκτησε γρήγορα τεράστια σημασία τόσο στον τομέα των μεταγγίσεων όσο και στην κατανόηση/αντιμετώπιση μιας σειράς σοβαρών προβλημάτων της κυήσεως και της ιατρικής των νεογνών.

Ωστόσο, το σύστημα Rhesus (+) και Rhesus (-) δεν είναι τόσο απλό. Με λεπτότερες τεχνικές και προσεκτική ανάλυση του μρχανισμού πολλών, όχι τέλεια συμβατών, μεταγγίσεων αποκαλύφθηκε ότι το συστήμα Rhesus απαρτίζεται από μια σειρά υπο-αντιγόνα, από τα οποία το κυριότερο σήμερα καθορίζεται ως αντιγόνο D. Έτσι, μπορούμε να πούμε ότι υπάρχουν άτομα D-θετικά και άτομα D-αρνητικά και ότι τα τελευταία αποκτούν αντι-D αντισώματα όταν «ευαισθητοποιηθούν» με D-θετικά ερυθροκύτταρα. Είναι σξισμένωτο μάλιστα, ότι η «ανοσοποιητική ικανότητα» του αντιγόνου D, με άλλα λόγια η πιθανότητα ευαισθητοποιήσεως ενός ατόμου D-αρνητικού από μετάγγιση ερυθροκυττάρων D-θετικών.

είναι πολύ υψηλή και κυμαίνεται από 50 ως 75%. Στην καθημερινή πράξη το D είναι το μόνο αντιγόνο στο οποίο ελέγχονται τα ερυθροκύπταρα, όταν γίνεται ο «καθορισμός της ομάδας» ενός ατόμου. Έτσι, ο χαρακτηρισμός D-θετικό αντιστοιχεί στο Rhesus-θετικό άτομο.

Τα υπόλοιπα αντιγόνα του συστήματος Rhesus αιναζητούνται μόνο σε συγκεκριμένες περιπτώσεις. Κατά καιρούς πήραν διάφορα ονόματα και χαρακτηρισμούς (Πίνακας 3.1.1) Σήμερα έχει καθιερωθεί η ονοματολογία της τρίτης στήλης του πίνακα. Σύμφωνα με αυτή το σύστημα Rhesus αποτελείται από 5 αντιγόνα που συμβολίζονται με τα γράμματα C, D, E, c και e. Για τα αντιγόνα αυτά έχουν βρεθεί τα αντιστοιχα αντισώματα. Τα ερυθροκύπταρα κάθε ατόμου χαρακτηρίζονται υποχρεωτικά από δύο αντιγόνα C (CC ή Cc ή cc), δύο αντιγόνα E (EE ή Ee ή ee) και, φυσικά, το αντιγόνο D. Έτσι δημιουργούνται οι 13 συνδυασμοί που αναφέρονται στον Πίνακα 3.1.1. Η αναγνώριση των αντιγόνων γίνεται με κατάλληλους αντιορούς που έχουν ληφθεί από διάφορα «ευαισθητοποιημένα» άτομα. Σημειώνομε ότι το αντιγόνο d δεν αναφέρεται πουθενά, γιατί μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί αντι-d ορός. Έτσι ένα άτομο είναι D ή τίποτα.

Όπως τονίσθηκε παραπάνω, στην καθημερινή πράξη (προετοιμασία μεταγγίσεων) ελέγχεται βασικά μόνο το αντιγόνο D, γιατί αυτό έχει και μεγαλύτερη συ-

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.1.1
Τα αντιγόνα του συστήματος Rhesus

Ονοματολογία Wiener	Ονοματολογία Rosenfield	Ονοματολογία Fisher-Race	Αντίδραση με γνωστούς αντιορούς				
			αντι-D	αντι-C	αντι-E	αντi-c	αντi-e
Rh ₊ rh	Rh: 1, 2, -3, 4, 5	CcDee	+	+	0	+	+
Rh ₊ Rh ₋	Rh: 1,2, -3, -4, 5	CCDee	+	+	0	0	+
Rh ₊ Rh ₀	Rh: 1, 2, 3, 4, 5	CcDDee	+	+	+	+	+
Rh ₀	Rh: 1, -2, -3, 4, 5	ccDee	+	0	0	+	+
Rh ₂ rh	Rh: 1, -2, 3, 4, 5	ccDEe	+	0	+	+	+
Rh ₂ Rh ₂	Rh: 1, -2, 3, 4, -5	ccDEE	+	0	+	+	0
Rh ₂ Rh ₋	Rh: 1, 2, 3, -4, 5	CCDEe	+	+	+	0	+
Rh ₂ Rh ₂	Rh: 1, 2, 3, 4, -5	CcDEE	+	+	+	+	0
Rh ₂ Rh ₂	Rh: 1, 2, 3, -4, -5	CCDEE	+	+	+	0	0
rh	Rh: -1, -2, -3, 4, 5	ccee	0	0	0	+	+
rh'rh	Rh: -1, 2, -3, 4, 5	Ccee	0	+	0	+	+
rh''rh	Rh: -1, -2, 3, 4, 5	ccEe	0	0	+	+	+
rh _y rh	Rh: -1, 2, 3, 4, 5	CcEe	0	+	+	+	+

χνότητα (για τη λευκή φυλή) και μεγαλύτερη αντιγονικότητα σε σχέση με τα υπό-
λοιπα.

3.1.1 Οι γόνοι του συστήματος Rhesus. Κληρονομικότητα.

Όπως περιγράφαμε στο πρώτο κεφάλαιο, τα αντιγόνα του συστήματος Rhesus είναι σύνθετες πρωτεΐνες με αυστηρά καθορισμένη δομή που βρίσκονται στην ε-πιφάνεια (εξωτερική όψη της μεμβράνης) των ερυθροκυττάρων. Η «πληροφορία» για τη δομή κάθε αντιγόνου μεταβιβάζεται κληρονομικά από τους γονείς στους αιτιογόνους, γιατί είναι «γραμμένη» πάνω σε ειδικές περιοχές της χρωματίνης των ε-ιυθροβλαστών, που λέγονται **γόνοι**. Για την ερμηνεία της κληρονομικής μεταβιβάσ-
τεως των γόνων του συστήματος Rhesus προτάθηκαν κατά καιρούς διάφορες α-
πόψεις και θεωρίες. Από αυτές γενικά αποδεκτή σήμερα είναι η άποψη των Fisher
και Race η οποία συνοπτικά, είναι η εξης:

-- Κάθε ερυθροβλάστης διαθέτει δύο γόνους για το σύστημα Rhesus: ο ένας α-
πό αυτούς προέρχεται από τον πατέρα και ο άλλος από τη μητέρα του ατόμου που
εξετάζεται.

-- Κάθε γόνος περιέχει την πληροφορία για την δομή ενός αντιγόνου C (C ή c)
και ενός αντιγόνου E (E ή e): ο ίδιος γόνος περιέχει ή δεν περιέχει την πληροφορία
για τη δομή του αντιγόνου D (D ή τίποτε).

Εδώ ο μαθητής πρέπει να προσέξει ότι σε πολλά βιβλία η απουσία της πληρο-
φορίας για τη δομή του γόνου D συμβολίζεται ως γόνος d, παρά το γεγονός ότι το
αντίστοιχο αντιγόνο δεν έχει διαπιστωθεί. Σύμφωνα με την άποψη αυτή η πληρο-
φορία d υπάρχει στο σύστημα Rhesus, αλλά δεν «εκφράζεται», με άλλα λόγια δεν
κατευθύνει τη σύνθεση του αντίστοιχου αντιγόνου. Έτσι, ένα άτομο Rhesus-
αρνητικό έχει υποχρεωτικά δύο γόνους (όχι αντιγόνα) d, ενώ ένα άτομο Rhesus-
θετικό έχει τους γόνους D/d ή DD.

-- Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες οι πληροφορίες που περιέχονται σε ένα
γόνο μεταβιβάζονται όλες μαζί (en bloc) από τους γονείς στους απογόνους. Κατά συνέπεια οι γόνοι του συστήματος Rhesus είναι οι εξής (δυνατοί συνδυασμοί): CDe, cde, cDE, cDe, Cde, cdE και CDE. Οι γόνοι αυτοί απαντούν με διαφορετικές
συχνότητες στις διάφορες φυλές.

-- Οι γόνοι του συστήματος Rhesus κληρονομούνται κατά «συνεπικρατούντα»
χαρακτήρα. Η έκφραση αυτή σημαίνει ότι όλα τα αντιγόνα τους **μπορούν** να διαπι-
στωθούν, αρκεί να υπάρχουν οι κατάλληλοι αντιοροί. Τα σύμβολα c και e δεν απο-
τελούν υπολειπόμενους χαρακτήρες.

-- Όταν οι δύο γόνοι Rhesus ενός ατόμου είναι απόλυτα όμοιοι, το άτομο καθο-
ρίζεται ως «ομοιζυγώτης» (για το γόνο Rhesus). Όταν η ομοιότητα αφορά μια ή
δύο μόνο από τις τρεις συνολικά πληροφορίες που περιέχει κάθε γόνος, τότε το
άτομο είναι ομόζυγο μόνο γι' αυτές (π.χ. cc ή EE, cE/cE, Ce/Ce, ce/ce και
CE/CE). Ο ορισμός δεν ισχύει απόλυτα στην περίπτωση του αντιγόνου D: ένα άτο-
μο Rhesus-αρνητικό είναι υποχρεωτικά ομόζυγο για την έλλειψη της πληροφορίας
στη σύνθεση του αντιγόνου D και στους δύο Rhesus/γόνους του (d/d). Αντίθετα,
ένα άτομο Rhesus-θετικό μπορεί να είναι τόσο ομόζυγο (D/D) όσο και ετερόζυγο
(D/d) για την πληροφορία D.

3.1.2 Φαινότυπος και Γονότυπος.

Τα αντιγόνα του συστήματος Rhesus που μπορουν να διαπιστωθούν με τη χρή-

ση αντιορών για όλες τις «ειδικότητες» σε ένα άτομο αποτελούν το **φαινότυπό** του. Όπως είναι ευνόητο, ο φαινότυπος μπορεί να προέλθει από διάφορους συνδυασμούς γόνων Rhesus. Ο καθορισμός των συνδυασμών συνιστά το **γονότυπο** ιου αιμάτου που εξετάζεται. Οι μελέτες αυτές είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για τη διευκρίνιση διαφόρων αιμολυτικών καταστάσεων σε νεογάνα καθώς και για τον αποκλεισμό της πατρότητας. Η σημασία τους για την αιμοδοσία είναι μικρή. Αντίθετα μις μεταγγίσεις αιμάτος παίρνουν μεγάλη σημασία οι ποικιλίες του αντιγόνου D και οι συνδυασμοί των άλλων αντιγόνων Rhesus.

3.1.3 Ποικιλίες του αντιγόνου D – Το αντιγόνο D^u.

Ως D^u χαρακτηρίζονται τα ερυθροκύτταρα τα οποία, ενώ φέρουν το αντιγόνο D δεν εμφανίζουν ταχεία και σαφή συγκόλληση με τους ορούς αντι-D στις συνήθεις εξετάσεις του αιμάτου. Ο φαινότυπος D^u μπορεί να προέλθει από ένα γόνο D που εκφράζεται ανεπαρκώς (ασθενή αντιγόνα) ή από συνδυασμούς που «εξασθενίζουν» τους συνήθεις γόνους D. Το φαινόμενο στην πρώτη περίπτωση εμφανίζει κληρονομική μεταβίβαση.

Το αντιγόνο D^u έχει μεγάλη σημασία στην αιμοδοσία. Άν η παρουσία του αντιγόνου D στα ερυθροκύτταρα ενός αιμάτου δεν ανιχνευθεί, το άτομο αυτό χαρακτηρίζεται ως Rhesus-αρνητικό και μπορεί να δεχθεί αίμα από άτομα τόσο Rhesus-αρνητικά όσο και από άτομα Rhesus-θετικά*. Αντίθετα, όταν το λάθος γίνει στα κύτταρα ενός δότη που μεταγγίζονται σε άτομο Rhesus(D)-αρνητικό, τότε το τελευταίο κινδυνεύει να ευαισθητοποιηθεί και να παρουσιάσει σοβαρότατες αντιδράσεις σε μια επόμενη μετάγγιση αιμάτος D(+) (απίθανο) ή D^u (πιθανό). Η πιθανότητα υπάρξεως αντιγόνου D^u πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και κατά την κύηση (παράγρ. 3.2.1). Κατά συνέπεια, όλοι οι αιμοδότες πρέπει να ελέγχονται για το αντιγόνο D^u πριν χαρακτηρισθούν τελικά ως Rhesus(D)-αρνητικοί.

3.1.4 Υποομάδες D.

Τα τελευταία χρόνια αναφέρθηκε ότι το αντιγόνο D δεν είναι ενιαίο, αλλά αποτελεί «μωσαϊκό» περισσοτέρων αντιγονικών τμημάτων (Rh^A, Rh^B, Rh^C και Rh^D)**. Στα φυσιολογικά άτομα διαπιστώνονται όλα τα παραπάνω τμήματα. Αντίθετα, σε ορισμένες εξαιρέσεις, ένα ή περισσότερα Rh-τμήματα λείπουν. Με τους συνήθεις αντι-D ορούς τα άτομα αυτά καθορίζονται ως Rhesus-θετικά, ενώ στην πραγματικότητα είναι αρνητικά για το τμήμα του D που λείπει. Κατά συνέπεια, η μετάγγιση σ' αυτά αιμάτος με ερυθροκύτταρα που περιέχουν **δλα** τα τμήματα D κινδυνεύει να προκαλέσει ευαισθητοποίηση και παραγωγή αντισωμάτων που αντιδρούν με το τμήμα D το οποίο δεν έχουν, με τις ανάλογες κλινικές συνέπειες.

3.1.5 Συνδυασμοί αντιγόνων Rhesus.

Όταν οι πληροφορίες για τη σύνθεση ορισμένων αντιγόνων Rhesus βρίσκονται κοντά και πάνω στο ίδιο χρωμόσωμα (καθορισμένο τμήμα της πυρηνικής χρωματί-

* Στιγμ πράξη προτιμαται, στα D^u-άτομα να μεταγγίζομε αιμα D(Rhesus)-αρνητικό.

** Σύμφωνα με την ονοματολογία του Wiener (Πίνακας 3.1.1) το αντιγόνο D συμβολίζεται και ως Rh

νης κάθε κυττάρου), μπορούν να παράγουν όχι μόνο ειδικά για αυτές αντιγόνα, αλλά και «σύνθετα» αντιγόνα, τελείως διαφορετικά από όσα ήδη αναφέρθηκαν. Έτσι, η γειτνίαση των γόνων c και e κάνει το κύτταρο να συνθέτει τα ομώνυμα αντιγόνα, προκαλεί όμως και την παραγωγή ενός νέου αντιγόνου που αποτελεί σύμπλεγμα των δύο προηγουμένων (ce) και ονομάζεται f. Παρόμοια σύνθετα αντιγόνα είναι τα Ce, cE και CE. Τα αντιγόνα αυτά αναγνωρίσθηκαν με τα αντίστοιχα αντιτύματα (αντιορούς) που δημιουργήθηκαν όταν σε άτομα «αρνητικά» για το ένα ή το άλλο είδος συνδυασμών, έγινε μετάγγιση αίματος που περιείχε ερυθροκύτταρα με «θετικούς» αντίστοιχους συνδυασμούς.

Η σημασία των συνθέτων αντιγόνων είναι ότι μπορεί, σε σπάνιες αλλά υπαρκτές περιπτώσεις, να προκαλέσουν προβλήματα συμβατότητας. Με άλλα λόγια να καταλήξουν σε ασύμβατη μετάγγιση.

Στην ομάδα των συνθέτων αντιγόνων ανήκει και το αντιγόνο G.

3.1.6 Απουσία των αντιγόνων Rhesus.

Υπάρχουν σπάνιες περιπτώσεις απόμων των οποίων τα ερυθροκύτταρα δεν εμφανίζουν ένα ή περισσότερα αντιγόνα του συστήματος Rhesus. Αντιπροσωπευτική είναι η περίπτωση D—/D—, όπου στα ερυθροκύτταρα διαπιστώνεται το αντιγόνο D όχι όμως και τα αντιγόνα C, c, E και e. Η ακραία περίπτωση απουσίας των αντιγόνων Rhesus είναι η πλήρης έλλειψη τους από τα ερυθροκύτταρα. Παράδειγμα αποτελεί το σύνδρομο Rh-null (Rhesus-μηδέν).

3.1.7 Το σύνδρομο Rh-null (Rhesus-μηδέν).

Αποτελεί, αναμφισβήτητα, σπάνια αλλά ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα περίπτωση, για την παθογένεια της οποίας προτείνονται δυο μηχανισμοί:

- Πλήρης έλλειψη των γόνων του συστήματος Rhesus από την πυρηνική χρωματίνη.

Παρουσία των γόνων Rhesus στην πυρηνική χρωματίνη, αλλά πλήρης αδρανοποίησή τους από συνυπάρχοντα ισχυρό «ρυθμιστικό» γόνο που αναστέλλει την «έκφρασή» τους.

Τα ερυθροκύτταρα Rh-null εμφανίζουν σημαντικές διαταραχές της μεμβράνης τους.

3.1.8 Το αντιγόνο LW.

Για την πληρότητα της αναφοράς θα πρέπει να προστεθεί ότι οι λεπτομερείς έρευνες που ακολούθησαν την πρώτη περιγραφή του αντιγόνου Rhesus, έδειξαν ότι το ερυθροκυτταρικό αντιγόνο των πιθήκων δεν είναι ακριβώς όμοιο με το αντιγόνο D (που ονομάσθηκε Rhesus). Το αντιγόνο των πιθήκων διαπιστώνεται με κατάλληλους αντιορούς σχεδόν σε όλους τους ανθρώπους και ονομάζεται τώρα **αντιγόνο LW** (προς τιμή των Landsteiner και Wiener). Η διαπίστωσή του είναι πολύ πιο εύκολη όταν συνυπάρχει το αντιγόνο D. Το φαινόμενο μάλιστα αυτό εξηγεί και την αρχική σύγχυση.

3.2 Αντισώματα Rhesus.

3.2.1 Μηχανισμοί ευαισθητοποιήσεως:

Τα περισσότερα αντι-Rhesus αντισώματα είναι αποτέλεσμα ευαισθητοποιή-

σεως διαφόρων ατόμων μετά ασύμβατη μετάγγιση ή κύηση. Ο μηχανισμός της ευαισθητοποίησεως μετά μετάγγιση είναι φανερός: Όταν τα ερυθροκύτταρα του δότη (του αίματος που χορηγείται) φέρουν αντιγόνα που δεν υπάρχουν στα ερυθροκύτταρα του δέκτη (του ατόμου που παίρνει το αίμα), τότε ο οργανισμός του τελευταίου αναγνωρίζει τα ξένα αντιγόνα και παράγει τα αντίστοιχα αντισώματα. Έτσι, σε περίπτωση νέας μεταγγίσεως με τα ίδια (ξένα) αντιγόνα, ο δέκτης θα καταστρέψει ταχύτατα τα μεταγγιζόμενα ερυθροκύτταρα και θα υποστεί πάρα πολύ έντονη «αντίδραση» με σοβαρό κλινικό αντίκτυπο. Κατά συνέπεια, πριν από κάθε μετάγγιση σε άτομα αρνητικά για ένα αντιγόνο Rhesus, επιβάλλεται η αναζήτηση των αντίστοιχων αντισωμάτων στον ορό του. Οι κατάλληλες τεχνικές θα αναφερθούν στη μεθοδολογία (κεφ. 5).

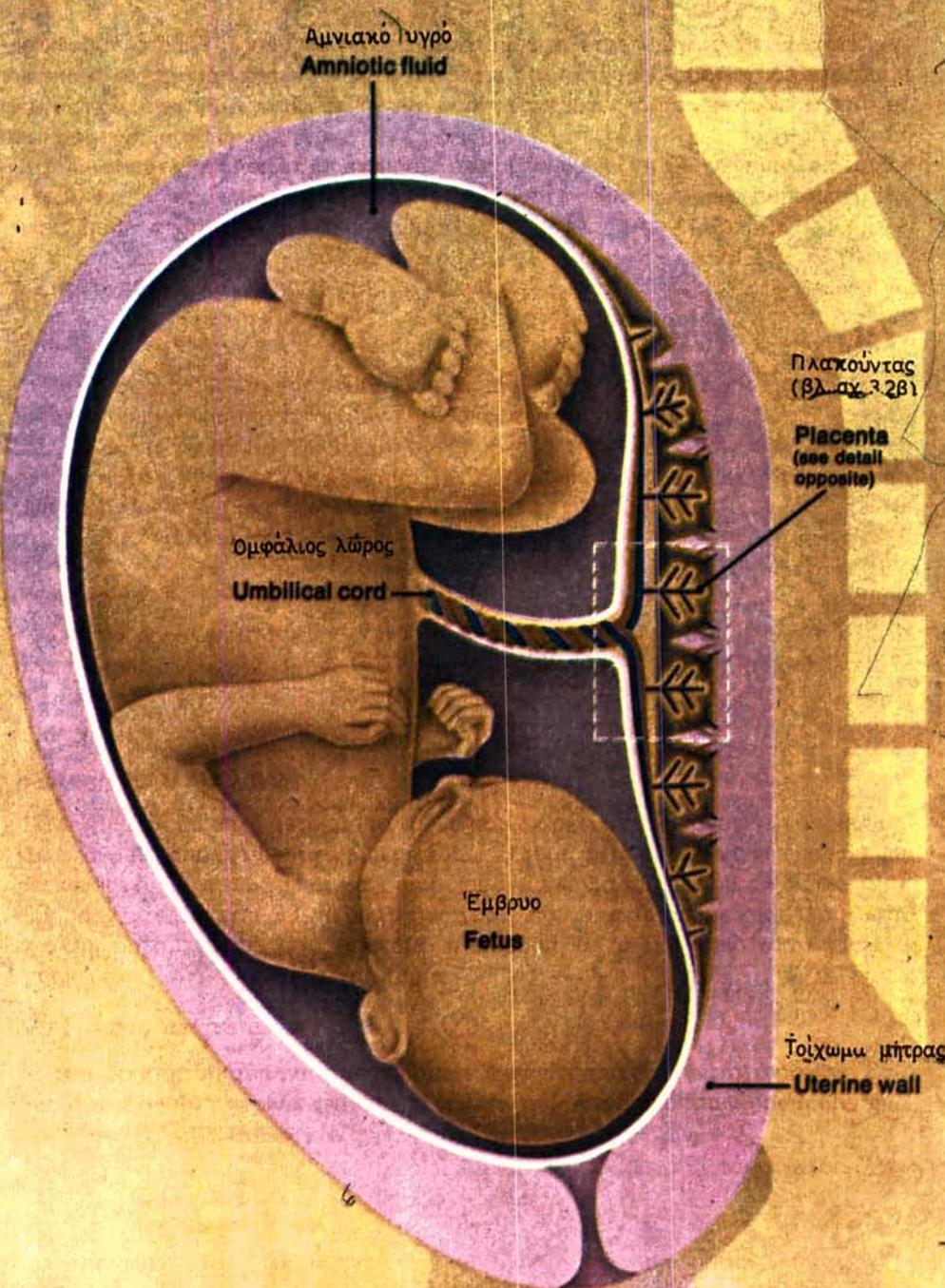
Η ευαισθητοποίηση με την εγκυμοσύνη αποτελεί πολύ ενδιαφέρον φαινόμενο. Κατά τη διάρκεια της κυήσεως η κυκλοφορία της μητέρας είναι σαφώς χωρισμένη από την κυκλοφορία του εμβρύου. Το αίμα της μητέρας φθάνει άφθονο στον πλακούντα, και το οξυγόνο και οι θρεπτικές ουσίες περνούν μέσα από τις μεμβράνες του χορίου για να παραληφθούν από το αίμα του εμβρύου. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες τα ερυθροκύτταρα της μητέρας δεν περνούν στο αίμα του εμβρύου και τα ερυθροκύτταρα του εμβρύου δεν περνούν στο αίμα της μητέρας. Έτσι, μια μητέρα Rhesus-αρνητική μπορεί να κυοφορήσει χωρίς προβλήματα ένα έμβρυο με ερυθροκύτταρα Rhesus-θετικά (ο γόνος D από τον πατέρα του εμβρύου). Ωστόσο αυτό, κατά κανόνα, ισχύει μόνο για την πρώτη κύηση. Κατά τον τοκετό (ή και σε περίπτωση διακοπής της κυήσεως) ο «εμβρυοπλακουντικός» φραγμός διασπάται και μερικά εμβρυικά Rhesus-θετικά ερυθροκύτταρα περνούν στην κυκλοφορία της μητέρας. Η «εισβολή» αυτή είναι αρκετή για να ευαισθητοποιήσει τη μητέρα, ή οποία παράγει (και αποκτά ετοιμότητα για εύκολη παραγωγή) αντι-Rhesus αντισώματα. Φυσικά αυτά είναι αβλαβή για τα ερυθροκύτταρα της μητέρας, αφού τα τελευταία δεν έχουν τα αντίστοιχα αντιγόνα. Ωστόσο, σε μια ενδεχόμενη δεύτερη κύηση τα αντι-Rhesus αντισώματα της μητέρας περνούν εύκολα στην κυκλοφορία του εμβρύου και επιφέρουν ανεπανόρθωτες βλάβες σε αυτό καταστρέφοντας τα δικά του ερυθροκύτταρα [σχ. 3.2(a) ως (e)]. Με παρόμοιο μηχανισμό είναι ευνόητο ότι μετάγγιση αίματος σε μητέρα Rhesus-αρνητική ευαισθητοποιημένη από προηγούμενη κύηση με ερυθροκύτταρα Rhesus-θετικά θα απολήξει σε έντονη και καταστροφική αντίδραση. Κατά συνέπεια, η παρακολούθηση της κυήσεως σε Rhesus-αρνητικές μητέρες επιβάλλει την αναζήτηση αντισωμάτων αντι-Rhesus στον ορό.

Η ευαισθητοποίηση των Rhesus-αρνητικών ατόμων σήμερα είναι δυνατό σε πολλές περιπτώσεις να αποτραπεί με τη χορήγηση, **στον κατάλληλο χρόνο**, έτοιμων αντισωμάτων Rhesus.

3.2.2 Ιδιότητες των αντισωμάτων Rhesus.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα αντισώματα αντι-Rhesus είναι «επίκτητα» και μάλιστα με γνωστό αντιγονικό ερεθισμό. Πρόκειται για ανοσοσφαιρίνες IgG, που συγκολλούν τα αντίστοιχα ερυθροκύτταρα χωρίς να επιφέρουν άμεση αιμόλυση (στο σωληνάριο).

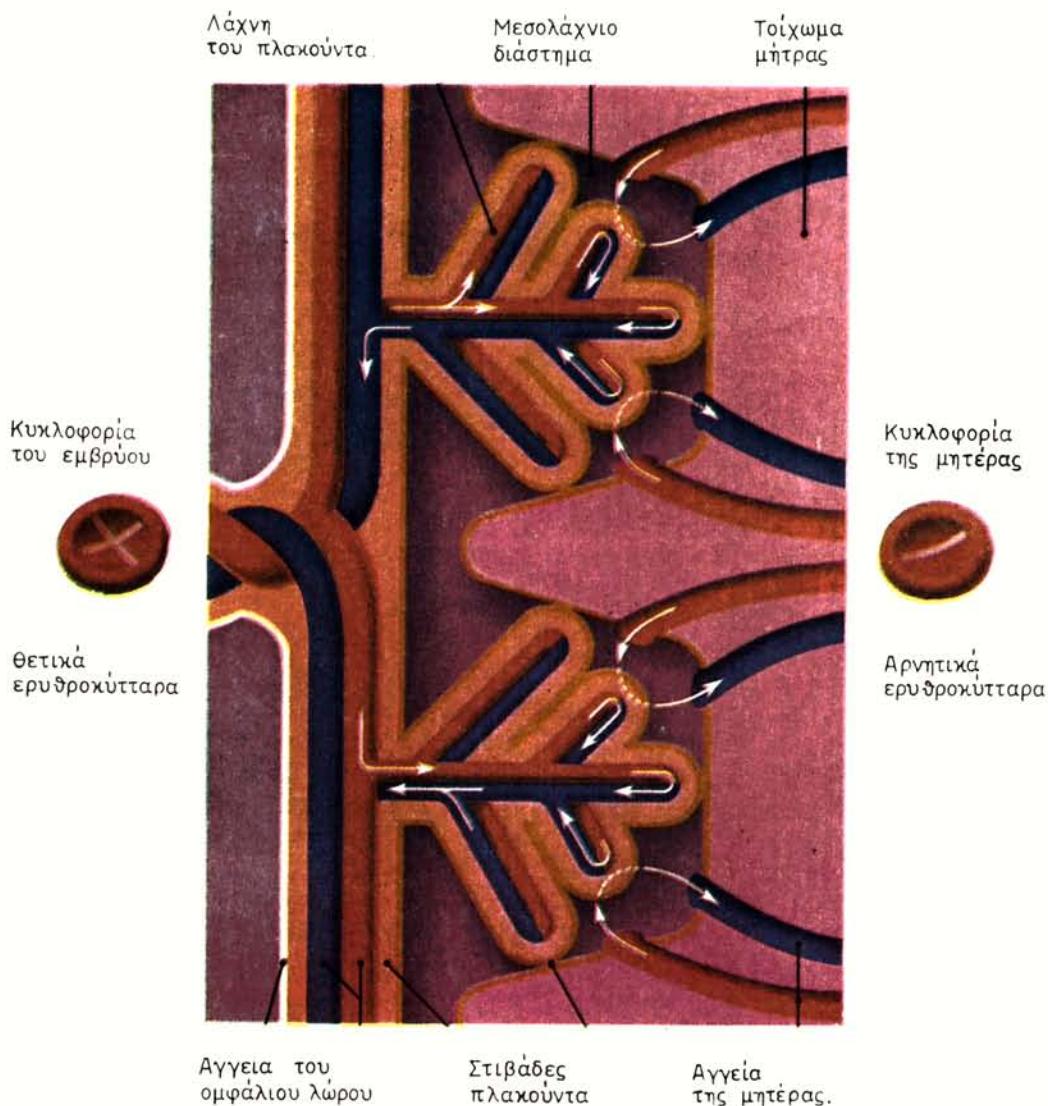
Τα αντισώματα Rhesus ανιχνεύονται καλύτερα με τη μέθοδο του αντισφαιρινι-



VIII

Σχ. 3.2 (α.)

Το έμβρυο και η μητέρα έχουν χωριστές κυκλοφορίες αίματος.



Σχ. 3.2 (β.)

Μεγέθυνση του τετραγώνου του σχήματος 3.2α.

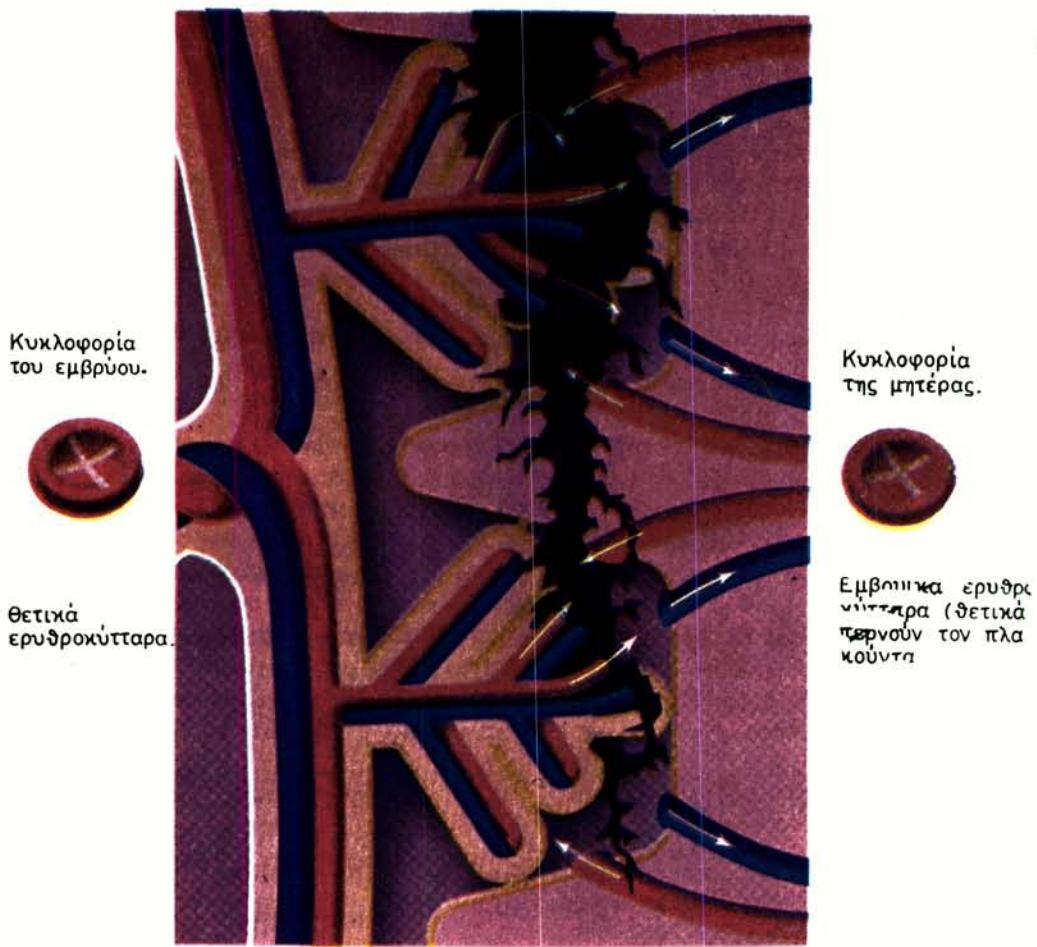
Τα ερυθροκύτταρα του εμβρύου δεν περνούν στην κυκλοφορία της μητέρας και μόνο οι θρηπτικές ουσίες και το οξυγόνο που προσάγονται με τα αγγεία της μητέρας μέσα από τις λάχνες του πλακούντα προς την κυκλοφορία του εμβρύου.

κού ορού ή με ερυθροκύτταρα κατεργασμένα με ένζυμα. Οι τεχνικές θα αναφερθούν στο κεφάλαιο 5.

Τα αντισώματα Rhесus διαπιστώνονται στον ορό των ευαισθητοποιημένων ατόμων για πολλά χρόνια μετά τον αντιγονικό ερεθισμό. Νέος αντιγονικός ερεθισμός προκαλεί ταχεία «δευτερογενή» αντίδραση, ακόμα και όταν κάθε ένδειξη της αρχικής ευαισθητοποίησεως έχει εκλείψει από τον ορό του ατόμου που εξετάζεται.

Τα αντισώματα συγκολλούν εξ ίσου έντονα τα ερυθροκύτταρα των D ομοιόγυνων και D ετεροζύγων ατόμων, δηλαδή δεν εμφανίζουν «φαινόμενο δύ

ισωρ). Αντίθετα, το φαινόμενο δόσεως παρατηρείται συχνά με τα αντισώματα αντι-E, αντι-c και αντι-e.



Σχ. 3.2()

Εμβρυικά, θετικά για ένα αντιγόνο ερυθροκύτταρα περνούν από τα ρηγματα του πλακούντα στην κυκλοφορία της μητέρας και επιφέρουν «αλληλοευαισθητοποίηση».

3.3 Άλλα συστήματα ομάδων αίματος.

Εκτός από τα αντιγόνα των συστημάτων ABO και Rhesus, τα ερυθροκύτταρα του ανθρώπου εμφανίζουν ένα σημαντικό αριθμό (περίπου 300) άλλων ερυθροκυτταρικών αντιγόνων. Τα αντιγόνα αυτά κατατάσσονται σε διάφορα συστήματα και μπορούν να δημιουργήσουν προβλήματα στην αιμοδοσία. Στην καθημερινή ιράξη περισσότερο σημαντικά αποδεικνύονται τα αντιγόνα Lewis, Kell, P, Duffy, Kidd, MNSS και Lutheran.

Ο γενικός κανόνας είναι ότι η μετάγγιση ενός ατόμου «αρνητικού» για ένα αντιγόνο με «θετικά» (για το αντιγόνο αυτό) ερυθροκύτταρα ακολουθείται από ανα-



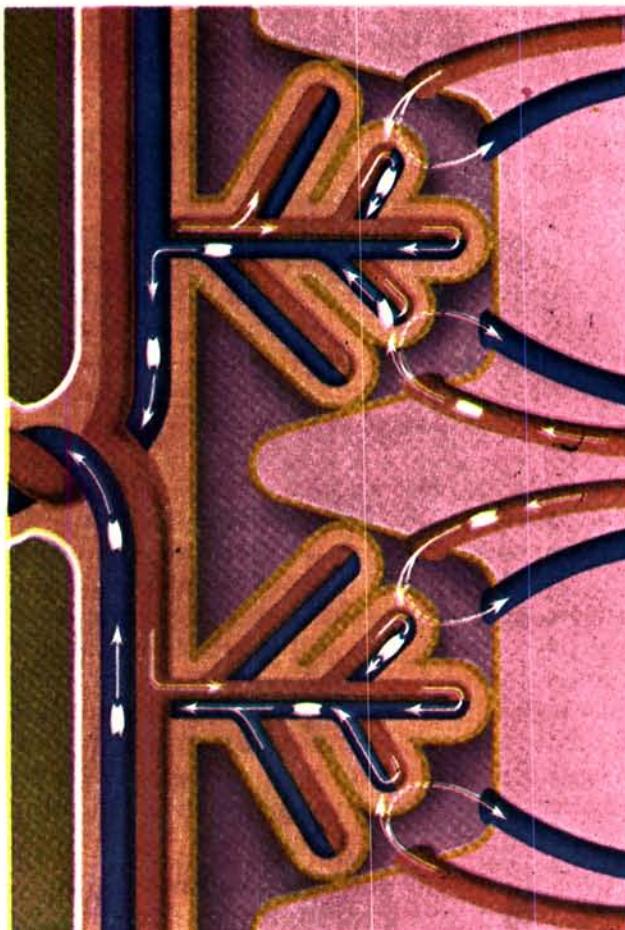
Σχ. 3.2 (δ.)

Είσοδος μητρικών αντισωμάτων στην κυκλοφορία του εμβρύου.

Κυκλοφορία τδύ εμβρύου.



Τα μητρικά αντισώματα προσκολλούνται στα ασύμβατα εμβρυικά ενυδροχυτάρα.



Κυκλοφορία της μητέρας



Μητρικά αντισώματα που έχουν δημιουργηθεί από προηγούμενη αλλοανοσοποίηση περνούν τον πλασιούντα.

Σχ. 3.2(ε)

Εικόδος μητρικών αντισωμάτων στην κυκλοφορία του εμβρύου (μεγέθυνση του τετραγώνου του σχήματος 3.2δ).

νιαριση και παραγωγή αντιστοίχων αντισωμάτων που είναι έτοιμα να εξουδετερώσουν τα «ξένα» ερυθροκύτταρα, αν η μετάγγιση επαναληθεύει. Ανάλογες «ευαισθητοποιήσεις» στα παραπάνω αντιγόνα διαπιστώνονται στην εγκυμοσύνη.

3.3.1 Σύστημα Kell.

Αντιπροσωπεύεται από τα αντιγονικά ζεύγη K (λέγεται και Kell) και k (αρχικά περιγράφηκε ως Cellano), K_p^a / K_p^b και Js^a / Js^b . Ένα άτομο μπορεί να είναι ομόγο για το ένα ή το άλλο αντιγόνο κάθε ζεύγους ή ετερόζυγο, οπότε στα ερυθροκύτταρα του διαπιστώνονται και τα δύο αντιγόνα κάθε ζεύγους.

Πρακτική σημασία έχουν τα αντιγόνα Kell και Cellano. Το αντιγόνο Kell είναι το οχυρότερο μετά το αντιγόνο D αντιγόνο του συστήματος Rhesus. Κατά συνέπεια φρεσκεί να αποφεύγεται συστηματικά η μετάγγιση αίματος Ke I(+) (και μάλιστα οι ε

πανειλημμένες μεταγγίσεις) σε άτομα ομόζυγα κ (Cellano). Η συχνότητα K(+) στον ελληνικό πληθυσμό είναι 9% και η συχνότητα των ομοζυγωτών κ είναι 91%.

3.3.2 Σύστημα P.

Το σύστημα αυτό είναι πολύπλοκο και αντιπροσωπεύεται από τα αντιγόνα P₁ και P₂. Τα ερυθροκύπταρα που δεν έχουν αντιγόνα P χαρακτηρίζονται με το σύμβολο ι. Τα αντισώματα του συστήματος P αντιδρούν καλύτερα στη θερμοκρασία των 4°C, δηλαδή είναι ψυχρά αντισώματα και για το λόγο αυτό η σημασία τους στην αιμοδοσία είναι περιορισμένη.

3.3.3 Σύστημα Duffy.

Περιλαμβάνει τα αντιγόνα Fy^a και Fy^b. Οι δυνατοί συνδυασμοί και οι αντίστοιχες συχνότητες για το λευκό πληθυσμό είναι:

Fy^a χωρίς Fy^b. Συμβολίζεται ως Fy (a+ b-), συχνότητα 17%.

Fy^a και Fy^b. Συμβολίζεται ως Fy (a+ b+), συχνότητα 49%.

Fy^b χωρίς Fy^a. Συμβολίζεται ως Fy (a- b+), συχνότητα 34%.

Κανένα αντιγόνο Fy. Συμβολίζεται ως Fy (a- b-) και είναι πολύ σπάνιο.

Τα αντισώματα αντι-Fy^a και αντι-Fy^b είναι συχνά αίτια αιμολυτικών αντιδράσεων σε επανειλημμένες μεταγγίσεις.

3.3.4 Σύστημα Kidd.

Περιλαμβάνει τα αντιγόνα Jk^a και Jk^b. Η απουσία των αντιγόνων αυτών συμβολίζεται ως Jk. Η συχνότητα των δυνατών συνδυασμών (φαινότυποι) στον ελληνικό πληθυσμό είναι η ακόλουθη:

Jk (a+ b-)	28%
Jk (a+ b+)	49%
Jk (a- b+)	23%
Jk (a- b-)	σπάνιο.

Τα αντισώματα του συστήματος Kidd μπορούν να προκαλέσουν αιμολυτικές αντιδράσεις.

3.3.5 Σύστημα MNSSs.

Τα αντίστοιχα αντισώματα είναι ψυχρά και η σημασία του συστήματος περιορίζεται.

3.3.6 Σύστημα Lutheran.

Περιλαμβάνει τα αντιγόνα Lu^a και Lu^b και η σημασία του στην αιμοδοσία είναι περιορισμένη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΤΡΑΠΕΖΑ ΑΙΜΑΤΟΣ – ΑΙΜΟΔΟΣΙΑ

4.1 Γενικά.

Σε πολλά άτομα η σκέψη της προσφοράς αίματος προκαλεί φόβο. Για να αποκτήθει η εμπιστοσύνη αυτών των ατόμων και να πεισθούν ότι η διαδικασία της αιμοληψίας είναι ακίνδυνη και ανώδυνη, είναι αναγκαίο ο χώρος της Τράπεζας Αίματος να είναι συμπαθής και ευπαρουσίαστος. Το προσωπικό πρέπει να έχει επαγγελματική κατάρτιση και να εμπνέει εμπιστοσύνη, ταυτόχρονα όμως πρέπει να φέρεται φιλικά και με κατανόηση.

4.2 Αίθουσα αιμοληψίας.

Η αίθουσα αιμοληψίας πρέπει:

- Να είναι ήσυχη, καθαρή και να αερίζεται καλά.
- Να είναι ευρύχωρη ώστε να αποφεύγεται ο συνωστισμός.
- Να διαθέτει ειδικά κρεβάτια αιμοληψίας, με μηχανισμό αλλαγής της γωνίας κλίσεως του κρεβατιού, ώστε να αντιμετωπίζονται λιποθυμικές καταστάσεις κατά τη διάρκεια της αιμοληψίας (χαμηλά το κεφάλι, ψηλότερα τα πόδια) (σχ. 4.2α).
- Εκτός από το αναγκαίο υλικό που χρειάζεται για την αιμοληψία, στην αίθουσα πρέπει να διατίθενται όλα τα μέσα για την άμεση αντιμετώπιση ανεπιθυμήτων αντιδράσεων των αιμοδοτών (λιποθυμία κ.ά.)

4.3 Επιλογή αιμοδότη.

Κατά την ημέρα της αιμοληψίας λαμβάνεται λεπτομερές ιστορικό του δότη και γίνεται σύντομη κλινική εξέταση, για να διαπιστωθεί αν η αφαίμαξη έχει πιθανότητα να βλάψει το δότη ή αν η χορήγηση του αίματος αυτού μπορεί να είναι βλαπτική για το δέκτη. Τα στοιχεία αυτά καταγράφονται σε ειδικό έντυπο (Υπόδειγμα Α).

4.3.1 Προϋποθέσεις για προσφορά αίματος (Πίνακας 4.3.1).

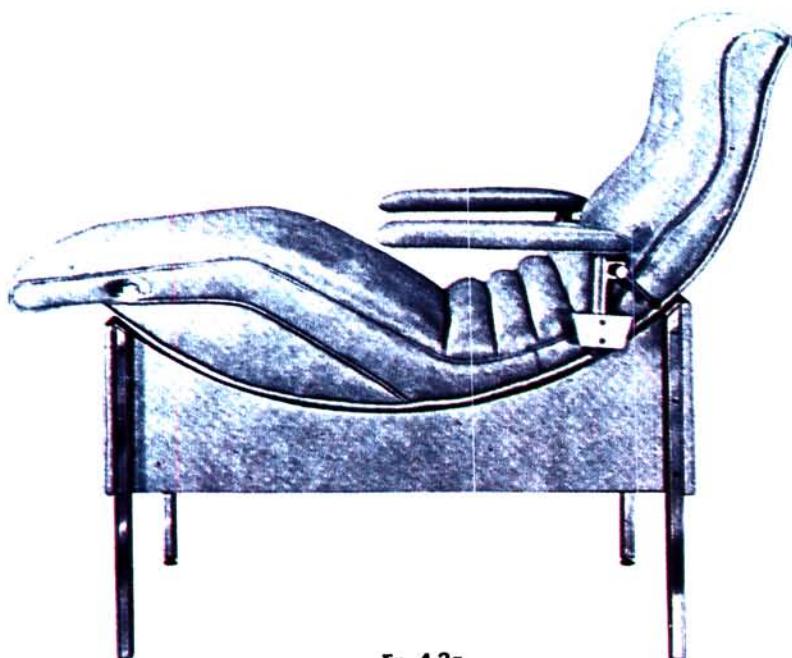
- Ο αιμοδότης δεν πρέπει να είναι μικρότερος των 19 ή μεγαλύτερος των 60 ετών.
- Μεταξύ δύο αφαιμάξεων πρέπει να μεσολαβεί διάστημα τουλάχιστον 8 εβδομάδων.
- Οι έγκυες δεν επιτρέπεται να δώσουν αίμα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και επί 6 μήνες μετά τον τοκετό.

ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ Α**ΦΥΛΛΟ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΔΟΤΗ**

Όνοματεπώνυμο

Ηλικία Ύψος cm Βάρος kg

	δχι	ναι
Είναι η πρώτη φορά που δίνετε αιμα;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Έχετε προβλήματα υγείας;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Είχατε προβλήματα υγείας στο προηγούμενο εξάμηνο;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Είχατε προβλήματα υγείας παλιότερα;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Είχατε ποτέ: Ίκτερο	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> πότε;
Σύφιλη	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ελονοσία	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Φυματίωση	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ρευματοειδή αρθρίτιδα	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Καρδιοπάθεια	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Προκάρδιοις πόνους	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Υπέρταση	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Σπασμούς (ως ενήλικος)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Λιποθυμίες	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Παθήσεις του στομάχου:		
έλκος	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
άλλες εγχειρήσεις	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Παθήσεις των νεφρών	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Διαβήτη	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Αλλεργία	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Αναιμία	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Άλλα νοσήματα	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Μήπως μέσα στο χρόνο που πέρασε είσαστε έγκυος;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
έχετε υποστεί βελονισμό ή τατουάζ ή τρυπήσατε τα αυτιά για σκουλαρήκια;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Σας έκαναν μετάγγιση αίματος και πότε;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
κάνατε ενέσεις;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Εμβολιασθήκατε; ποιο εμβόλιο; πότε;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ποια φάρμακα πήρατε μέσα στο προηγούμενο τρίμηνο:	
Ποιες χωρες επισκεφθήκατε τα προηγούμενα τρία χρόνια;	



Σχ. 4.2α.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.3.1
Προϋποθέσεις αιμοδοσίας

ΗΛΙΚΙΑ	19 έως 60 ετών
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	Ανδρες >41% Γυναικες >38%
ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ	Συστολική 100 ως 180 mmHg Διαστολική <100 mmHg
ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ ΜΕΤΑΞΥ ΔΥΟ ΑΦΑΙΜΑΞΕΩΝ: Μεγαλύτερο από 8 εβδομάδες	
Η ΑΙΜΟΔΟΣΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΕΤΑΙ ΟΤΑΝ ΣΤΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΦΕΡΕΤΑΙ:	
<ul style="list-style-type: none"> – Ηπατίτιδα 6 μήνες πριν από την αιμοδοσία – Ελονοσία 3 χρόνια πριν από την αιμοδοσία – Χρόνια νοσήματα (φυματίωση, καρδιοπάθεια, βαρύς σακχαρώδης διαβήτης) – Πρόσφατη εκτεταμένη χειρουργική επέμβαση – Εμβόλια 24 ώρες πριν από την αιμοδοσία (τέτανος, τυφοειδής, χολέρα, γρίπη κ.ά.) 2 εβδομάδες πριν από την αιμοδοσία (ιλαρά, κίτρινος πυρετός κ.ά.) – Κύηση 	

- Αποκλείονται ασθενείς με ενεργή φυματίωση, σακχαρώδη διαβήτη, ρευματική καρδιοπάθεια ή στεφανιαία νόσο. Επίσης ασθενείς που υποβλήθηκαν σε εκτεταμένη χειρουργική επέμβαση τους τελευταίους 6 μήνες αποκλείονται προσωρινά από αιμοδότες.
- **Εμβόλια:** Η αιμοδοσία είναι δυνατή 24 ώρες μετά τα ακόλουθα εμβόλια (εφ' όσον ο δότης δεν έχει συμπτώματα):
τετάνου, τυφοειδούς πυρετού και παρατύφων, χολέρας, διφθερίτιδας, γρίπης, πολυομυελίτιδας (Salk) και πανώλους.
Μετά από εμβόλιο ιλαράς, παρωτίτιδας, κίτρινου πυρετού και πολυομυελίτιδας από το στόμα (Sabin) η αιμοδοσία μπορεί να γίνει μόνο μετά 2 εβδομάδες.
- Σε περίπτωση που ο αιμοδότης παίρνει φάρμακα για τη δυνατότητα πραγματοποιήσεως της αιμοληψίας θα αποφασίσει ο γιατρός.
- Ο γιατρός θα αποφασίσει επίσης σε περίπτωση αλλεργικού αιμοδότη.
- Ο αιμοδότης δεν πρέπει να έχει κάνει εξαγωγή δοντιού τις τελευταίες 72 ώρες.
- Αν ο αιμοδότης αναφέρει λιποθυμία σε δύο προηγούμενες αιμοληψίες αποκλείεται οριστικά από αιμοδότης.
- **Ελονοσία:** 'Ατομα που επισκέφθηκαν περιοχές όπου ενδημεί η ελονοσία μπορούν να δώσουν αίμα εφ' όσον έχουν παραμείνει ασυμπτωματικά:
α) για 3 χρόνια μετά από προσβολή ελονοσίας,
β) για 3 χρόνια μετά τη λήψη ανθελονοσιακών φαρμάκων (όταν δεν αναφέρουν προσβολή από τη νόσο),
γ) για 6 μήνες αν δηλώσουν ότι δεν έλαβαν ανθελονοσιακά φάρμακα και, φυσικά δεν προσβλήθηκαν από ελονοσία.
- **Ηπατίτιδα:** Αποκλείονται από αιμοδότες:
α) άτομα που στους τελευταίους 6 μήνες νόσησαν από ηπατίτιδα ή τους έχει γίνει μετάγγιση αίματος ή παραγώγων αίματος. Ακόμη, αποκλείονται τα άτομα που βρίσκονται σε στενή επαφή με άλλα που νόσησαν από ηπατίτιδα, τα ίδια που έχουν κάνει τατουάζ ή έχουν τρυπήσει τα αυτιά τους,
β) άτομα για τα οποία υπάρχει μεγάλη υποψία ότι προηγούμενη αιμοδοσία τους προκάλεσε μεταμεταγγιστική ηπατίτιδα,
γ) τρόφιμοι ασύλων ή φυλακών,
δ) άτομα στα οποία έχει διαπιστωθεί θετικό Αυστραλιανό αντιγόνο (HB_s Ag) και, τέλος,
ε) τα άτομα που εργάζονται σε περιβάλλον με αυξημένο κίνδυνο ηπατίτιδας (π.χ. τεχνητός νεφρός).

4.3.2 Κλινική εξέταση αιμοδότη.

Βάρος: Αιμοδότης που είναι πάνω από 50 kg μπορεί να δώσει 450 ± 45 ml αίματος. Αιμοδότες με βάρος μικρότερο από 50 kg μπορούν να δώσουν μικρότερη ποσότητα αίματος, πλην όμως ο όγκος του αίματος που θα ληφθεί πρέπει να είναι τουλάχιστον το 90% του ποσού που ενδείκνυται για το αντιπηκτικό της φιάλης αιμοληψίας. Αιμοδότης που αναφέρει αυξημένη πρόσφατη απώλεια βάρους πρέπει να ελέγχεται λεπτομερώς.

- **Θερμοκρασία:** Να μην είναι ανώτερη από 37,5°C στο στόμα.
- **Σφυγμός:** Πρέπει να είναι ρύθμικός και οι σφυγμοί να κυμαίνονται από 50-100/λεπτό.
- **Αρτηριακή πίεση:** Η συστολική πρέπει να είναι μεταξύ 100-180 mm Hg και η διαστολική να μην υπερβαίνει τα 100 mm στήλης υδραργύρου.
- **Δέρμα:** Στο σημείο της φλεβοκεντήσεως το δέρμα πρέπει να μην έχει αλλοιώσεις ή στίγματα από ενέσεις.
- **Γενική εμφάνιση:** Αν ο αιμοδότης φαίνεται δίρρωστος, είναι υπερβολικά ανήσυχος ή είναι κάτω από την επίδραση φαρμάκου ή οινοπνεύματος είναι προτιμότερο να αποκλεισθεί, τουλάχιστον προσωρινά.
- **Αιματοκρίτης και αιμοσφαιρίνη:** Προτιμότερος θεωρείται ο προσδιορισμός της στάθμης της αιμοσφαιρίνης, που δεν πρέπει να είναι μικρότερη από 12,5 g% για τις γυναίκες και 13,5 g% για τους άνδρες. Οι αντίστοιχες τιμές του αιματοκρίτη είναι 38% και 41%.

Όταν ο αιμοδότης κριθεί κατάλληλος, το ονοματεπώνυμο και μερικά ακόμη στοιχεία του καταγράφονται σε ειδικό έντυπο και με αυτό οδηγείται στην αίθουσα αιμοληψίας.

4.4 Τεχνικές αιμοδοσίας.

4.4.1 Διαδικασία αιμοληψίας.

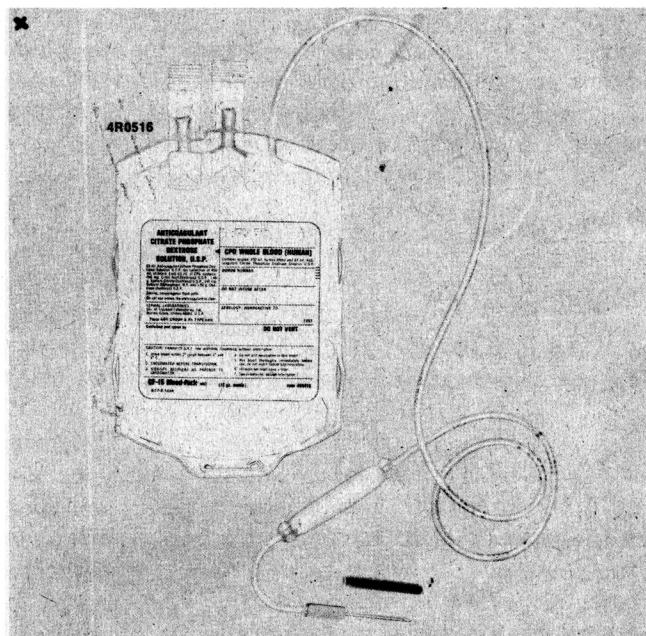
Από τον υπεύθυνο για την αιμοληψία επιβεβαιώνεται το ονοματεπώνυμο του αιμοδότη που είναι γραμμένο στο έντυπο και μετά επικολλάται πάνω σ' αυτό τανία που αποτελείται από 6 τουλάχιστον αυτοκόλλητες ετικέττες με τον ίδιο αριθμό. Οι ετικέττες αυτές αποκόπτονται και επικολλούνται με μεγάλη προσοχή στη φιάλη ή τον ασκό αιμοληψίας και τα φιαλίδια και σωληνάρια που τη συνοδεύουν. Ευνόητο είναι ότι για κανένα λόγο οι αριθμοί δεν μπορεί να είναι διαφορετικοί στο αυτό άτομο. **ΑΠΡΟΣΕΞΙΑ** κατά τη διάρκεια της διαδικασίας αυτής, μπορεί να γίνει αιτία **ΜΟΙΡΑΙΟΥ ΛΑΘΟΥΣ**.

4.4.2 Φιάλες συλλογής αίματος.

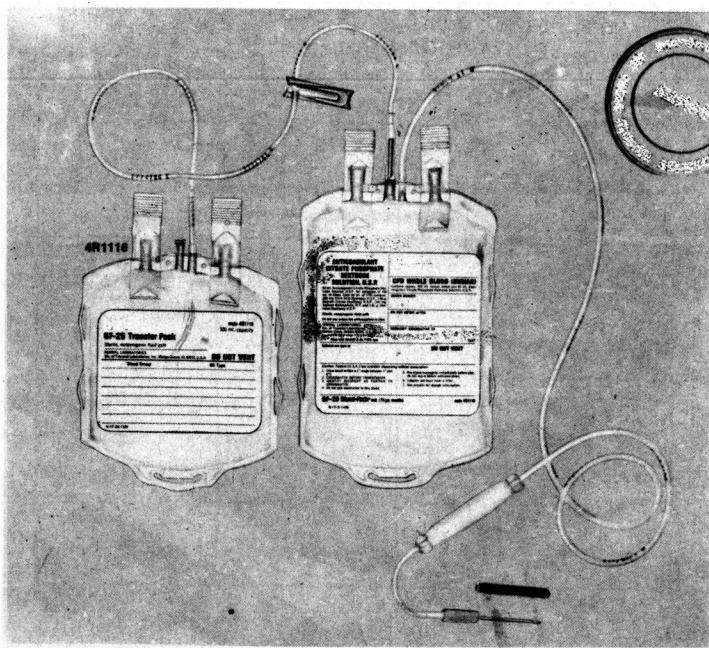
Η συλλογή του αίματος γίνεται σε φιάλες ή πλαστικούς ασκούς που περιέχουν ως αντιπηκτικό συντηρητικό διάλυμα ACD (κιτρικό νάτριο-κιτρικό οξύ-δεξτρόζη) ή CPD (κιτρικό νάτριο-κιτρικό οξύ-φωσφορικό νάτριο-δεξτρόζη) σε καθορισμένες αναλογίες (Πίνακας 4.4.1). Οι φιάλες ή οι ασκοί αιμοληψίας πρέπει να είναι αποστειρωμένοι και ελεύθεροι πυρετογόνων ουσιών. Η τελευταία προϋπόθεση είναι ιδιαίτερα σημαντική για τους ασκούς, γιατί κατά την κατεργασία του πλαστικού δημιουργούνται ισχυρές πυρετογόνες ουσίες. Η ροή του αίματος προς τις φιάλες υποβοηθείται με τη δημιουργία κενού αέρα μέσα σ' αυτές. Η ροή του αίματος μέσα στους ασκούς γίνεται με τη βοήθεια της βαρύτητας. Οι φιάλες αιμοληψίας τείνουν να υποκατασταθούν από τους πλαστικούς ασκούς τελευταία, γιατί αυτοί είναι περισσότερο ασφαλείς, αποθηκεύονται εύκολα και, κυρίως, μπορούν να συνδεθούν με κλειστό κύκλωμα πρός βοηθητικούς ασκούς, μέσα στους οποίους διαχωρίζονται τα διάφορα συστατικά του αίματος. Παραδείγματα απλού, διπλού και τριπλού ασκού αιμοληψίας δίνονται στα σχήματα 4.4α, 4.4β και 4.4γ. Όταν η αιμοληψία γίνεται σε φιάλη το ελαστικό πώμα αποστειρώνεται με βάμμα ιωδίου 3%. Έπειτα, α-

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.4.1
Σύνθεση αντιπηκτικών διαλυμάτων

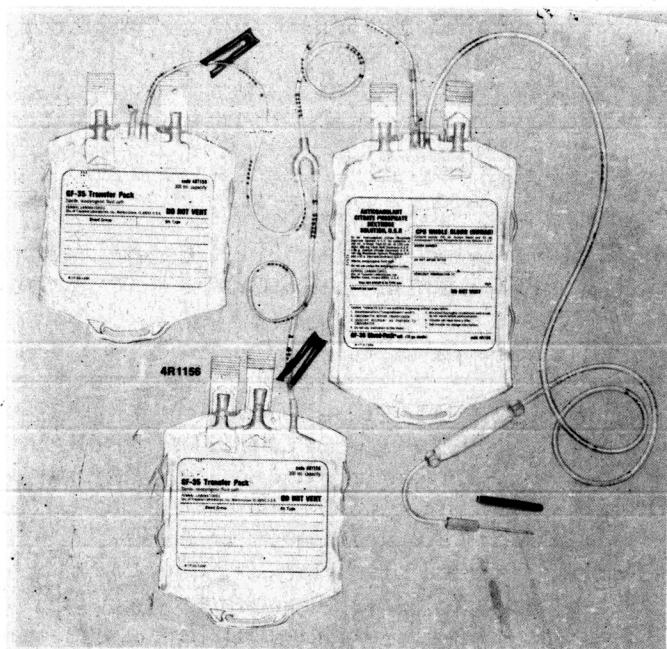
	ACD	CPD
Για 100 ml αίματος απαιτούνται	15 ml	14 ml
Σύνθεση στα 1000 ml νερού		
Κιτρικό τρινάτριο Tri-sodium citrate [Na ₃ (C ₆ H ₅ O ₇)]	22,0 g	26,3 g
Φωσφορικό μονοβασικό νάτριο Monobasic sodium phosphate [NaH ₂ PO ₄]	—	2,22 g
Κιτρικό οξύ Citric acid [C ₆ H ₈ O ₇]	8,0 g	3,27 g
Δεξτρόζη [C ₆ H ₁₂ O ₆]	24,5 g	25,50 g



Σχ. 4.4a.
Απλός ασκός αιμοδοσίας.



Σχ. 4.4β.
Διπλός ασκός αιμοδοσίας.



Σχ. 4.4γ.
Τριπλός ασκός αιμοδοσίας.

πό τη συσκευή αιμοληψίας (τον πλαστικό σωλήνα που θα ενώσει τη φλέβα του αιμοδότη με τη φιάλη ή τον ασκό αιμοληψίας) αποκαλύπτεται η βελόνα που προορίζεται για τη φιάλη και εισάγεται στο προκαθορισμένο σημείο του πώματος με όσο το δυνατό άσηπτες συνθήκες. Φυσικά, ο σωλήνας είναι ερμητικά κλειστός (με το κατάλληλο κλείστρο) ώστε το κενό της φιάλης να διατηρηθεί. Στους ασκούς αιμοληψίας η συσκευή είναι σταθερά προσαρτημένη από το εργοστάσιο κατασκευής.

4.4.3 Φλεβοπαρακέντηση. Συλλογή αίματος.

Στο βραχίόνα του αιμοδότη εφαρμόζεται πιεστικός επίδεσμος και επιλέγεται η κατάλληλη φλέβα. Σκοπός του επιδέσμου είναι να αποφράξει τη φλεβική, όχι όμως και την αρτηριακή ροή στο βραχίόνα.

Κατά συνέπεια, ο πιεστικός επίδεσμος δεν πρέπει να πιέζει περισσότερο από την αρτηριακή πίεση. Αυτό ελέγχεται με την ψηλάφηση του σφυγμού. Αν χρησιμοποιηθεί σφυγμομανόμετρο η πίεση που πρέπει να ασκηθεί είναι περίπου 60 mm στήλης υδραργύρου. Στα παχύσαρκα άτομα για να αποκλεισθεί η φλεβική ροή συχνά χρειάζεται πίεση 80 ή 90 mmHg. Η χαλαρή πίεση του επιδέσμου ευθύνεται για πολλές ατελείς αιμοληψίες.

Τα χέρια του ατόμου που θα κάνει την αιμοληψία πρέπει να είναι πλυμμένα επιμελώς. Όταν η φιάλη ή ο ασκός αιμοληψίας ετοιμασθούν για άμεση χρήση η περιοχή της φλεβοκεντήσεως προετοιμάζεται με τις ακόλουθες λεπτομέρειες:

— Καθαρισμός του δέρματος.

Διάλυμα πράσινου σαπουνιού επαλείφεται με βαμβάκι σε επιφάνεια 4 x 6 cm περίπου. Έπειτα, το δέρμα τρίβεται με δύναμη επί ένα λεπτό.

Το σαπούνι, η διαλυμένη ακαθαρσία και το λίπος απομακρύνονται με διάλυμα 10% άκετόνης σε 70% αιθυλική ή ισοπροπυλική αλκοόλη.

— Απολύμανση του δέρματος.

Μετά τον καθαρισμό το δέρμα απολυμαίνεται με διάλυμα ιωδίου 3% σε 70% οινόπνευμα, το οποίο αφήνεται να στεγνώσει.

Το βάμμα ιωδίου αφαιρείται με διάλυμα 10% άκετόνη σε 70% οινόπνευμα.

Η περιοχή καλύπτεται με αποστειρωμένη γάζα μέχρις ότου φλεβοκεντηθεί.

Αιμοληψία.

Ο πιεστικός επίδεσμος που είχε λυθεί κατά την προετοιμασία της περιοχής φλεβοκεντήσεως εφαρμόζεται και πάλι, ενώ από τον αιμοδότη ζητείται να σφίξει τη γροθιά του αρκετές φορές, ώστε να διαταθούν οι φλέβες του βραχίονα. Στη συνέχεια αφαιρείται το κάλυμμα από τη βελόνα φλεβοκεντήσεως και η τελευταία εισιγενεται καλά μέσα στη φλέβα. Στην επιτυχία της φλεβοκεντήσεως βοηθεί η έλξη (τράβηγμα) του δέρματος και των ιστών που βρίσκονται αμέσως πάνω από την ψηλαγιφτή φλέβα με τον αντίχειρα του αιμολήπτη, ώστε η φλέβα να ακινητοποιηθεί.

Μόλις το αίμα εμφανισθεί στο σωλήνα της συσκευής, χαλαρώνομε βαθμιαία το κλείστρο της συσκευής οπότε το αίμα αρχίζει να ρέει μέσα στη φιάλη ή τον ασκό. Κατά τη διάρκεια της αιμοληψίας ο βραχίονας του αιμοδότη ελέγχεται κατ' επανά-

ληψη για την καλή κατάσταση του πιεστικού επιδέσμου και τη θέση της βελόνας. Η ροή του αίματος πρέπει να είναι συνεχής και ταχεία.

Συχνά, η διακοπή της ροής του αίματος μπορεί να αποκατασταθεί με σωστή επανατοποθέτηση του πιεστικού επιδέσμου.

Κατά τη διάρκεια της αιμοληψίας η φιάλη ή ο ασκός πρέπει να ανακινούνται σε συχνά διαστήματα (εφ' όσον δεν υπάρχει αυτόματος ανακινητήρας) για να επιτυγχάνεται ανάμιξη του αίματος με το αντιπηκτικό και να αποφεύγεται ο σχηματισμός θρόμβων.

Η ποσότητα του αίματος κρίνεται από τον όγκο που αυτό καταλαμβάνει στις φιάλες (να συνυπολογισθεί και ο όγκος του φαντιπηκτικού) ή από το βάρος του στους ασκούς (που μπορούν εύκολα να ζυγισθούν).

Όταν η αιμοληψία συμπληρωθεί, ο σωλήνας ροής κλείνεται ερμητικά με το κλείστρο και η βελόνα αφαιρείται από τη φιάλη. Η βελόνα της φλέβας παραμένει στη θέση της. Στη συνέχεια γίνονται διαδοχικά οι ακόλουθες ενέργειες:

- Η βελόνα (της φιάλης) εισάγεται στο αποστειρωμένο συνοδό φιαλίδιο, που περιέχει το ίδιο, όπως και η φιάλη, αντιπηκτικό.
- Η ροή του αίματος αποκαθίσταται με χαλάρωμα του κλείστρου, οπότε το φιαλίδιο γεμίζει αίμα. Προσοχή στην ανακίνηση.
- Ο σωλήνας κλείνεται και πάλι με το κλείστρο και η βελόνα της φλέβας αφαιρείται. Το αίμα που υπάρχει μέσα στη συσκευή αιμοληψίας μεταφέρεται στο ένα ή περισσότερα συνοδά σωληνάρια που δεν περιέχουν αντιπηκτικό (για να ληφθεί ορός).

Όταν τελειώσει η αιμοληψία η φιάλη αίματος με το συνοδό φιαλίδιο τοποθετείται στο ειδικό ψυγείο.

Αν για τεχνικούς λόγους επέλθει διακοπή της αιμοληψίας, η επαναχρησιμοποίηση της ίδιας συσκευής αιμοληψίας απαγορεύεται κατά την επανάληψη της φλεβοκεντήσεως του ατόμου.

4.4.4 Φροντίδα για τον αιμοδότη.

Μετά την αφαίρεση της βελόνας, στη θέση παρακεντήσεως εφαρμόζεται τολύπιο βάμβακα και συνιστάται στον αιμοδότη να κρατήσει το χέρι τεντωμένο προς τα επάνω πιέζοντας με δύναμη το τολύπιο. Όταν σταματήσει η ροή του αίματος εφαρμόζεται επίδεσμος. Ο αιμοδότης μετά την αιμοληψία πρέπει να μείνει ξαπλωμένος επί 10 λεπτά κάτω από τη στενή παρακολούθηση του προσωπικου. Εφ' όσον η γενική του κατάσταση είναι καλή, μετά 10 λεπτά επιτρέπεται να σηκωθεί και να περάσει στην αιθουσα ανανήψεως, όπου όμως **δεν αφήνεται μόνος**.

Στον αιμοδότη πρέπει να δοθούν μερικές οδηγίες όπως:

- Να μην καπνίσει επί μισή ώρα.
- Να πάρει τα αναψυκτικά και την τροφή που του προσφέρονται στην αιθουσα.
- Να μην φύγει πριν του το επιτρέψει το υπεύθυνο προσωπικό.
- Να πιει περισσότερα υγρά κατά τις αμέσως επόμενες ώρες.
- Να λάβει ένα καλό γεύμα εκείνη την ημέρα και να προσπαθήσει να μην πιει οινοπνευματώδη ποτά.
- Αν παρουσιάσει αιμορραγία από το σημείο της φλεβοκεντήσεως να σηκώσει το χέρι ψηλά και να εφαρμόσει πίεση.

- Αν δεν αισθάνεται καλά να ξαπλώσει ή να καθήσει με το κεφάλι ανάμεσα στα γόνατα.
- Αν τα συμπτώματα επιμένουν να επιστρέψει στην Υπηρεσία Αιμοδοσίας ή να επισκεφθεί γιατρό.
- Εφ' όσον αισθάνεται καλά, μισή ώρα μετά την αιμοληψία μπορεί να έπαναλάβει όλες του τις δραστηριότητες εκτός αν η δουλειά του είναι ιδιαίτερα κοπιαστική.
- Ο επίδεσμος από το σημείο της φλεβοκεντήσεως μπορεί να αφαιρεθεί λίγες ώρες αργότερα.

4.4.5 Ανεπιθύμητες αντιδράσεις του αιμοδότη.

Οι περισσότεροι αιμοδότες ανέχονται την αφαίρεση 400 ως 450 ml αίματος χωρίς παρενέργειες. Οπωσδήποτε, μερικά άτομα παρουσιάζουν ανεπιθύμητες αντιδράσεις. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν αδυναμία, εφίδρωση, ζάλη, αίσθημα παλμών, ναυτία, απώλεια συνειδήσεως, σπασμούς, απώλεια ούρων και κοπράνων. Το δέρμα είναι ψυχρό, διαπιστώνεται πτώση της πιέσεως (συστολική 50-60 mm Hg) ή και αδυναμία ανιχνεύσεως της πιέσεως.

Όταν εμφανισθούν τα πρώτα ανεπιθύμητα συμπτώματα, η αιμοληψία πρέπει να διακοπεί. Αμέσως μετά γίνεται αλλαγή της κλίσεως του κρεβατιού (χαμηλά το κεφάλι, ψηλότερα τα πόδια) και χαλάρωση των ρούχων του αιμοδότη. Εξασφαλίζεται ακόμη επαρκής αερισμός και τοποθετούνται ψυχρά επιθέματα. Όταν τα συμπτώματα επιμένουν επιβάλλεται ιατρική παρακολούθηση και αντιμετώπιση.

4.4.6 Συντήρηση του αίματος.

Ιδεώδης τρόπος συντηρήσεως του αίματος δεν υπάρχει. Όλες οι μέθοδοι συντηρήσεως απαιτούν την προσθήκη χημικών ουσιών, οι οποίες διατηρούν ως ένα βαθμό ορισμένα από τα στοιχεία του αίματος, έχουν όμως πολύ περιορισμένες δυνατότητες ή μπορούν να αποδειχθούν ακόμη και βλαβερές για πολλά άλλα πολύτιμα στοιχεία του αίματος.

Η επιβίωση των ερυθρών που μεταγγίζονται και η σωστή επιτέλεση του έργου τους (μεταφορά οξυγόνου) χρειάζεται ενέργεια, την οποία προσπορίζονται κυρίως με τη γλυκόλυση.

Ειδικότερα, για τη διατήρηση της ακεραιότητας και της ελαστικότητας της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων σημαντικό ρόλο παίζει η ένωση **τριφωσφορική αδενοσίνη** (ATP), ενώ για τη φυσιολογική ταχεία και αναστρέψιμη πρόσληψη του οξυγόνου στους πνεύμονες και την απόδοσή του στους ιστούς την κύρια θέση κατέχει το **2,3-διφωσφο-γλυκερινικό οξύ** (2,3DPG). Και οι δύο αυτές ενώσεις αποτελούν παράγωγα της ενδοερυθροκυτταρικής γλυκολύσεως. Η μείωσή τους στο αίμα που συντηρείται ελαπτώνει σημαντικά τόσο την επιβίωση όσο και τη λειτουργικότητα των ερυθροκυττάρων του. Η δεξτρόζη (γλυκόζη) και οι άλλες ουσίες που προστίθενται για τη συντήρηση του αίματος αποσκοπούν βασικά στο να διατηρήσουν τις δύο παραπάνω ενώσεις σε ικανοποιητικά επίπεδα. Επίπεδα ATP στα 7.0% περίπου του φυσιολογικού εξασφαλίζουν την επιβίωση του 70% τουλάχιστον των μεταγγίζομένων ερυθροκυττάρων 24 ώρες μετά τη χορήγηση του αίματος. Εξ άλλου, η σημαντική μείωση του 2,3DPG στο συντηρημένο αίμα το κάνει άχρηστο για τη με-

ταφορά οξυγόνου αμέσως μετά τη μετάγγιση. Ευτυχώς, το φαινόμενο είναι αναστρέψιμο και σε λίγες ώρες (ή μέρες) η λειτουργικότητα αυτή αποκαθίσταται, ακριβώς γιατί μέσα στην κυκλοφορία του δέκτη εξασφαλίζεται και πάλι η κανονική παραγωγή 2,3DPG.

Το συντηρητικό-αντιπηκτικό διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα μέχρι τώρα στην αιμοδοσία είναι το ACD, ένα διάλυμα δεξτρόξης και κιτρικού οξέος/κιτρικού νατρίου (Πίνακας 4.4.1). Αυτό υποκαθίσταται, ολοένα και περισσότερο τα τελευταία χρόνια από το διάλυμα CPD (δεξτρόξη-φωσφορικό νάτριο-κιτρικό οξύ/κιτρικό νάτριο) που εξασφαλίζει καλύτερο pH. Από τα παραπάνω συστατικά το μεν μίγμα κιτρικού νατρίου/κιτρικού οξέος παρεμποδίζει την πήξη του αίματος και μειώνει το pH, ενώ η γλυκόζη παράγει την απαιτούμενη ενέργεια στα ερυθροκύταρα.

Με τα συντηρητικά διαλύματα το αίμα διατηρείται επί 21 ημέρες στους 4°C. Όταν ως συντηρητικό χρησιμοποιείται το ACD, το ATP του αίματος μειώνεται μόνο κατά 10% μετά πάροδο 2 εβδομάδων, ενώ το 2,3DPG μειώνεται σχεδόν κατά 90% μέσα στο ίδιο χρονικό διάστημα. Το επίπεδο του DPG μπορεί να διατηρηθεί σε υψηλότερα επίπεδα αν το pH αυξηθεί προς το ουδέτερο. Αυτό επιτυγχάνεται με το διάλυμα CPD, το οποίο περιέχει φωσφορικό νάτριο και έχει υψηλότερο pH (5,5) από το ACD (5,0). Τελευταία στο διάλυμα ACD ή CPD προστίθεται αδενίνη. Η προσθήκη της αδενίνης επιβραδύνει τη μείωση του ATP· έτσι επιτυγχάνεται συντήρηση των ερυθρών από 21 σε 35 ημέρες. Ωστόσο, η συγκέντρωση του 2,3DPG δεν επηρεάζεται ευνοϊκά από την παρουσία της αδενίνης· αντίθετα αυτή πολλές φορές επιταχύνει τη μείωσή του.

Η αποθήκευση του συντηρημένου αίματος πρέπει να γίνεται σε ειδικά ψυγεία όπου φυλάσσονται αποκλειστικά φιάλες ή ασκοί αίματος σε θερμοκρασία +4°C. Τα ψυγεία αυτά έχουν σύστημα ανακινήσεως του αέρος, ώστε σε όλα τα σημεία τους να υπάρχει η αυτή θερμοκρασία. Η θερμοκρασία μπορεί να κυμαίνεται από +1° μέχρι +6°C, είναι δε απαραίτητο να υπάρχει ακουστικό ή και οπτικό σύστημα συναγερμού, για να επισημαίνει κάθε σημαντική και επικίνδυνη απόκλιση. Επίσης πρέπει να καταβάλλεται προσπάθεια, ώστε οι φιάλες ή οι ασκοί με το αίμα να παραμένουν εκτός ψυγείου τον ελάχιστο δυνατό χρόνο.

4.4.7 Εργαστηριακοί έλεγχοι και σήμανση φιάλης αίματος.

Από τα συνοδά σωληνάρια κάθε φιάλης γίνεται πάντα καθορισμός της ομάδας ABO και του συστήματος Rhesus καθώς επίσης και έλεγχος του ορού για σύφιλη και για ηπατίτιδα εξ ομολόγου ορού (HB_s Ag). Οι τεχνικές για τον καθορισμό των ομάδων θα περιγραφούν στο Κεφάλαιο 5.

Όταν ο έλεγχος συμπληρωθεί γίνεται **σήμανση** της φιάλης ή του ασκού με την επικόλληση τυπωμένης ετικέττας, η οποία αναφέρει τις ομάδες ABO και Rhesus του αίματος. Αναγράφεται επίσης η ημερομηνία λήξεως του αίματος (μετά από την οποία η χορήγησή του απαγορεύεται)(Υπόδειγμα B). Κατά τη σήμανση της φιάλης απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή γιατί κάθε λάθος μπορεί να είναι ολέθριο.

Όπως είναι ευνόητο, στις μεταγγίσεις χορηγείται αιματορητικό για σύφιλη και ηπατίτιδα (HB_s Ag). Τα θετικά αίματα αχρηστεύονται ενώ οι αιμοδότες ενημερώνονται με τη σύσταση να προβουν σε συμπληρωματικό έλεγχο.

Ομάς



Κ-330

Rh αρνητικόν
ως προς CDE

Α' ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΟΝ ΚΕΝΤΡΟΝ
ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

Ομάς



Κ-327

Rh ΘΕΤΙΚΟΝ

'Οριον χρήσεως :

Α' ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΟΝ ΚΕΝΤΡΟΝ
ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

Ομάς



Κ-328

Rh ΘΕΤΙΚΟΝ

'Οριον χρήσεως :

Α' ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΟΝ ΚΕΝΤΡΟΝ
ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

Ομάς



Κ-329

Rh ΘΕΤΙΚΟΝ

'Οριον χρήσεως :

Α' ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΟΝ ΚΕΝΤΡΟΝ
ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ Β

Ετικέτες που χρησιμοποιούνται για τη σήμανση των φιαλών αίματος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

ΤΡΑΠΕΖΑ ΑΙΜΑΤΟΣ – ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ

5.1 Γενικά.

Οι δοκιμασίες συμβατότητας περιλαμβάνουν μια σειρά εξετάσεων οι οποίες γίνονται στην Τράπεζα Αίματος πριν από τη μετάγγιση και αποσκοπούν στην πρόληψη επικινδύνων για τη ζωή του δέκτη αντιδράσεων και την εξασφάλιση από τη μετάγγιση της μεγαλύτερης δυνατής αφέλειας για τον ασθενή.

Ο έλεγχος της συμβατότητας περιλαμβάνει τις παρακάτω ενέργειες:

- **Άγτηση και αποστολή** στο Εργαστήριο δείγματος **αίματος του δέκτη για τον οποίο ζητείται η μετάγγιση**.
- **Καθορισμός ομάδας ABO** στο δείγμα αίματος του δέκτη.
- **Καθορισμός ομάδας Rhesus** στο δείγμα αίματος του δέκτη.
- **Επλογή αίματος δότη της ίδιας ομάδας ABO** και Rhesus με το δέκτη και **διασταύρωση**, δηλαδή έλεγχος για την παρουσία πλήρων ή ατελών αντισωμάτων στον ορό του δέκτη έναντι των ερυθρών αιμοσφαιρίων του δότη. Αυτός ο έλεγχος ονομάζεται και «μείζων διασταύρωση».

5.1.1 Έντυπο δελτίο αιτήσεως αίματος.

Το έντυπο πρέπει να περιλαμβάνει το ονοματεπώνυμο του ασθενή, την κλινική όπου νοσηλεύεται, τον αριθμό των μονάδων αίματος ή των παραγώγων που ζητούνται, τον επιθυμητό χρόνο μεταγγίσεως, τη νόσο του ασθενή, και την πληροφορία αν προηγήθηκαν άλλες μεταγγίσεις και αντιδράσεις. Τέλος πρέπει να αναγράφεται το όνομα του γιατρού ο οποίος ζητεί τη μετάγγιση (Υπόδειγμα Γ). Τα στοιχεία που αναγράφονται στο έντυπο και την ετικέτα του σωληναρίου που περιέχει το δείγμα αίματος του ασθενή πρέπει να είναι όμοια. Σε περίπτωση αμφιβολιών πρέπει να λαμβάνεται νέο δείγμα αίματος.

5.1.2 Αίμα ασθενή (δέκτη) στον οποίο θα γίνει η μετάγγιση.

Λαμβάνονται περίπου 10 ml αίματος σε σωληνάριο χωρίς αντιπηκτικό. Η αιμοληψία πρέπει να γίνεται με άμεση φλεβοκέντηση και όχι από σωληνάριο εγχύσεως υγρών. Το ονοματεπώνυμο του ασθενή και η ημερομηνία λήψεως αναγράφονται καθαρά στην ετικέτα του σωληναρίου. Το δείγμα αίματος του ασθενή φυγοκεντρείται και ο ορός αποχωρίζεται από τα ερυθρά που θα χρησιμοποιηθούν για τον καθορισμό της ομάδας ABO και του συστήματος Rhesus. Ο ορός ο οποίος θα χρησιμοποιηθεί για τή διασταύρωση πρέπει να φυλάσσεται σε ψυγείο 4°C και για 48

40

ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ Γ

ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ

Κλινική
Ημερομηνία Ώρα π.μ.
μ.μ.

ΠΡΟΣ ΤΟ ΚΕΝΤΡΟ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ

Καθορισμός ομάδας αίματος ABO, Rh και εξετάσεις συμβατότητας

Όνομα ασθενή επώνυμο όνομα
Όνομα πατέρα, σύζυγου Ηλικία
Διάγνωση Ημερομηνία εισόδου

Αν προβλέπεται μετάγγιση να συμπληρωθούν τα παρακάτω

Προηγήθηκαν άλλες μεταγγίσεις; Πότε;
Παρατηρήθηκαν αντιδράσεις;
Σε γυναικες: αριθμός τοκετών Αναφέρονται στο αναμνηστικό: γέννηση νεκρού εμβρύου, αυτόματες εκβολές, αιμολυτική νόσος του νεογνού

Σημειώστε την περίπτωση

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Μετάγγιση εξαιρετικά επείγουσα. Σημειώνεται ΜΟΝΟ σε περίπτωση απόλυτης ανάγκης καὶ μὲ ευθύνη του γιατρου που δίνει την εντολή για τη μετάγγιση. | <input type="checkbox"/> Μετάγγιση κατά την έγχειρηση.
Ημερομηνία |
| Κάθε επίσπευση στις εξετάσεις συμβατότητας δημιουργεί σοβαρώτατους κίνδυνους. | <input type="checkbox"/> Εξετάσεις συμβατότητας προληπτικά. |
| <input type="checkbox"/> Μετάγγιση μόλις γίνουν οι εξετάσεις συμβατότητας. | <input type="checkbox"/> Καθορισμός ομάδας ABO, Rh . |
| <input type="checkbox"/> Μετάγγιση που δεν επείγει. | |

Αιτούμενη ποσότητα: Ολικού αίματος, φιάλες Πλάσματος, φιάλες

(Φιάλη αίματος = 350 ml) (Φιάλη πλάσματος = 250 ml)

Συμπυκνωμένων έρυθρών, φιάλες Πλυμένων έρυθρών, φιάλες

Ο ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΙΑΤΡΟΣ

Τα παρακάτω συμπληρώνονται από το Εργαστήριο του Κέντρου

Ομάδα **ABO** **Rh** Φαινότυπος **Rh**

Αριθμοί φιαλών	ABO και Rh	σε Φ	σε λευκωμ.	Βρωμελαινη	Coombs

Ημερομηνία

(Υπογραφή).

ώρες. Όταν πρόκειται να γίνουν διαδοχικές μεταγγίσεις στον ασθενή πρέπει κάθε 48 ώρες να λαμβάνεται νέο δείγμα αίματος.

Όταν μια φιάλη αίματος παρεμείνει αχρησιμοποίητη για πολλές ημέρες μετά τη διασταύρωση **πρέπει να διασταυρωθεί και πάλι** με νέο δείγμα αίματος του δέκτη, πριν από τη μετάγγιση.

Η χρησιμοποίηση αιμολυμένου δείγματος πρέπει να αποφεύγεται για να αποφευχθεί η ενδεχόμενη συγκάλυψη αιμολυσινών στον ορό του δέκτη έναντι των ερυθρών του δότη.

5.2 Τεχνικές καθορισμού ομάδων αίματος συστήματος ABO.

Για τον καθορισμό των ομάδων αίματος του συστήματος ABO είναι απαραίτητο να γίνουν δύο δοκιμασίες:

- Έλεγχος των αντιγόνων των ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος που εξετάζεται με γνωστούς ορούς (tests) αντι-Α, αντι-Β και αντι-AB.
- Έλεγχος των αντισωμάτων του ορού του αίματος που εξετάζεται με ερυθρά αιμοσφαιρία (tests) γνωστής ομάδας Α και Β.

Οι δύο αυτές δοκιμασίες μπορούν να γίνουν σε σωληνάριο ή σε πλάκα.

5.2.1 Έλεγχος των ερυθρών αιμοσφαιρίων (καθορισμός αντιγόνων).

α) Δοκιμασία σε σωληνάριο.

Υλικά.

- Εναιώρημα 2,5% των προς εξέταση ερυθρών σε ισότονο* διάλυμα NaCl. Τα ερυθρά πρέπει να έχουν «πλυσθεί» 3 φορές με ισότονο διάλυμα NaCl. Για το σκοπό αυτό περίπου 1 ml αίματος τοποθετείται μέσα σε μικρό σωληνάριο και φυγοκεντρείται για λίγα λεπτά. Το υπερκείμενο πλάσμα αφαιρείται. Προστίθεται άφθονη ποσότητα ισότονου διαλύματος NaCl και τα ερυθρά επαναιωρούνται μέσα σ' αυτό με ανάδευση. Ακολουθεί φυγοκέντρηση, αφαίρεση του υπερκείμενου κ.ο.κ. τρεις φορές. Το 0,25 ml από τα ερυθρά που μένουν στον πυθμένα του σωληναρίου μετά την τελευταία φυγοκέντρηση (λαμβάνονται με κατάλληλο σιφώνιο) αραιώνονται μέσα σε 10 ml ισότονο χλωριονατριούχο διάλυμα.
- Οροί αντι-Α, αντι-Β και αντι-AB.
- Τρία σωληνάρια διαστάσεων 10 ή 12 × 75 mm που σημαίνονται με τα γράμματα Α, Β και AB.

Μέθοδος.

- Τοποθετείται μία σταγόνα ορού αντι-Α στο σωληνάριο Α, μία σταγόνα ορού

* **Ισότονο διάλυμα:** Όταν τα ερυθροκύτταρα εναιωρηθούν μέσα σε νερό, τότε αυτό θα περάσει μέσα από τη μεμβράνη τους, θα τα διογκώσει και σε ελάχιστο χρόνο θα τα διαρρήξει επιφέροντας **αιμόλυση**. Η κίνηση αυτή γίνεται γιατί η πυκνότητα των διαφόρων διαλυμένων ουσιών μέσα στο ερυθροκύτταρο είναι πολύ μεγαλύτερη από του νερού (οσμωτική πίεση). Το φαινόμενο αναστέλλεται αν μέσα στο νερό προστεθούν ουσίες (π.χ. χλωριούχο νάτριο –NaCl–) που δημιουργούν οσμωτική πίεση παραπλήσια με εκείνη που υπάρχει μέσα στο ερυθροκύτταρο. Τότε το διάλυμα ονομάζεται **ισότονο**. Το ισότονο διάλυμα NaCl περιέχει 9g χλωριούχου νατρίου ανά λίτρο νερού

αντι-Β στο σωληνάριο Β και μία σταγόνα ορού αντι-ΑΒ στο σωληνάριο* που σημάνθηκε ως ΑΒ.

- Προστίθεται μια σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών στο κάθε σωληνάριο. Τα σωληνάρια ανακινούνται για καλή ανάμιξη του εναιωρήματος.
- Τα σωληνάρια αφήνονται στη θερμοκρασία του δωματίου μία ώρα πριν φυγοκεντρηθούν ή φυγοκεντρούνται αμέσως σε 1000-2000 στροφές/1' για δύο λεπτά.
- Η **ανάγνωση** για τη διαπίστωση της συγκολλήσεως γίνεται με το μάτι (μακροσκοπικά) μετά ήπια ανακίνηση των σωληναρίων.

β) Δοκιμασία σε πλάκα.

Χρησιμοποιείται επίπεδη διαφανής πλάκα κατάλληλα διαιρεμένη σε τετράγωνα.

Μέθοδος.

- Μέσα σε κάθε τετράγωνο τοποθετείται από 1 σταγόνα ορού αντι-Β, αντι-Α και αντι-ΑΒ*
- Δίπλα στην κάθε σταγόνα αντιορού τοποθετείται μία σταγόνα ολικού αίματος.
- Αυτό αναμιγνύεται με τους αντιορούς και απλώνεται σε μία έκταση με διάμετρο 2,5 cm περίπου. Η ανάμιξη γίνεται με γυάλινο ή ξύλινο ραβδί.
- Η πλάκα ανακινείται ελαφρά πάνω από διαφανοσκόπιο (μεγάλα αθροίσματα). Η συγκόλληση διαπιστώνεται ως **χροκλίδες** ερυθροκυττάρων και γίνεται μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα. Ο μέγιστος χρόνος για την επίτευξη/συμπλήρωση της συγκολλήσεως είναι περίπου δύο λεπτά.

Σημείωση.

Η πλάκα δεν πρέπει να παραμένει για πολύ χρόνο πάνω στο διαφανοσκόπιο, γιατί η συγκόλληση μπορεί να εξασθενίσει σε θερμοκρασία πάνω από 22°C.

5.2.2 Έλεγχος του ορού (καθορισμός αντισωμάτων).

α) Δοκιμασία σε σωληνάριο.

Υλικά.

- Ορός για εξέταση.
- Εναιώρημα ερυθρών αιμοσφαιρίων ομάδας A, και B 2,5% μέσα σε ισότονο διάλυμα NaCl. Παρασκευάζεται πρόσφατο κάθε μέρα από γνωστά ερυθροκύτταρα πλυμμένα $\times 3$ με το ίδιο διάλυμα.
- Δύο σωληνάρια διαστάσεων 10 ή 12 \times 75 mm που σημαίνονται ως A και B.

Μέθοδος.

- Δύο σταγόνες του ορού που εξετάζεται τοποθετούνται σε κάθε ένα από τα σωληνάρια.

* Με αυτό τον τρόπο επιβεβαιώνεται η ομάδα Ο και εντοπίζονται σπάνιες υποομάδες της ομάδας Α.

- Προστίθεται μία σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών A στο A σωληνάριο και μία σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών B στο B σωληνάριο.
- Η ανάμιξη γίνεται με ανακίνηση. Τα σωληνάρια μπορούν να παράμεινουν μια ώρα σε θερμοκρασία του δωματίου ή να φυγοκεντρηθούν αμέσως, όπως και στη δοκιμασία των ερυθρών.
- Το υπερκείμενο διάλυμα ελέγχεται με το μάτι για πιθανή αιμόδυση (γίνεται κόκκινο) και ακολουθεί ήπια ανακίνηση των σωληναρίων και ανάγνωση για συγκόλληση.

Σημείωση.

Οι ασθενείς συγκολλήσεις επιτείνονται αν τα σωληνάρια παραμείνουν επί μια ώρα στη θερμοκρασία του δωματίου πριν φυγοκεντρηθούν. Υπερβολική ανακίνηση των σωληναρίων κατά τον έλεγχο μπορεί να διαλύσει τις ασθενείς συγκολλήσεις.

Β) Δοκιμασία σε πλάκα.

Μέθοδος.

- Επάνω στην πλάκα τοποθετούνται στη σειρά δύο σταγόνες του ορού που εξετάζεται.
- Δίπλα στην πρώτη σταγόνα τοποθετείται μια σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών αιμοσφαιρίων ομάδας A, και δίπλα στη δεύτερη μία σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών αιμοσφαιρίων ομάδας B.
- Ακελουθεί ανάμιξη και ανάγνωση του αποτελέσματος όπως και στον έλεγχο των ερυθρών.

5.2.3 Έλεγχος υποομάδων των ερυθρών αιμοσφαιρίων A και AB.

Όταν προκύπτουν δυσκολίες κατά τον καθορισμό της ομάδας A, ο έλεγχος επαναλαμβάνεται με ορούς αντί-A₁ που προέρχονται από το εκχύλισμα του φασόλιου Dolichos biflorus ή από ορούς αντί-A που έχουν «προστραφηθεί» με ερυθρά A₂. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο η δοκιμασία στο σωληνάριο όσο και η δοκιμασία πάνω σε πλάκα.

5.2.4 Αίτια λάθους κατά τον καθορισμό του συστήματος ABO.

- Χρησιμοποίηση ακαταλλήλων αντιορών ή ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- Απρόσεκτη ανάγνωση των αποτελέσμάτων.
- Λάθος κατά την καταγραφή των αποτελεσμάτων.
- Παράληψη τοποθετήσεως ορού.
- Χρησιμοποίηση ακαθάρτων σωληναρίων.
- Βακτηριδιακή μόλυνση του ορού ή των ερυθρών tests.

.5.3 Τεχνικές καθορισμού των αντιγόνων του συστήματος Rhesus.

Στην καθημερινή πράξη γίνεται καθορισμός μόνο του αντιγόνου D του συστήματος Rhesus.

ματος Rhesus. Φια το αντιγόνο αυτό χρησιμοποιείται και το σύμβολο Rh₀. Καθορισμός των, άλλων αντιγόνων γίνεται μόνο όταν υπάρχει ειδική αιτία για λεπτομερές έλεγχο, όπως σε άτομα D-αρνητικά, σε έλεγχο πατρότητας ή άλλες γενετικές μελέτες και όταν πρέπει να καθορισθεί αν τα D-θετικά άτομα είναι ομοζυγώτες ή επεροζυγώτες. Ακόμη, στην περίπτωση πού ένας ασθενής έχει αναπτύξει αντι-Rhesus αντισώματα, τα ερυθροκύτταρα του δότη πρέπει να ελέγχονται λεπτομερώς για τα αντιστοιχα αντιγόνα Rhesus. Δεν πρέπει να βασιζόμαστε μόνο στη συμβατή διασταύρωση.

Όπως έχει ήδη τονισθεί, ο έλεγχος για τον καθορισμό του συστήματος Rhesus γίνεται μόνο στα ερυθρά αιμοσφαίρια (έλεγχος αντιγόνων) και όχι στον ορό, γιατί **φυσικά αντισώματα** στο σύστημα αυτό δεν υπάρχουν.

Ο έλεγχος του αντιγόνου-D γίνεται στην πλάκα ή στο σωληνάριο.

5.3.1 Δοκιμασία σε πλάκα.

Για τη δοκιμασία αυτή απαιτούνται πυκνό εναιώρημα ερυθρών αιμοσφαιρίων, ισχυρά αντιδραστήρια και θερμοκρασία 37°C.

Υλικά.

- Ορός αντι-D (αντιδραστήριο).
- Τα προς εξέταση ερυθρά αιμοσφαίρια σε εναιώρημα 40-50% σε πλάσμα ή ορό.
- Πλάκα διαφανής, επίπεδη, διαιρεμένη σε τετράγωνα.
- Διαφανοσκόπιο.

Μέθοδος.

- Στην πλάκα τοποθετείται 1 σταγόνα εναιωρήματος των ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- Δίπλα τοποθετείται 1 σταγόνα ορού αντι-D. Ακολουθεί:
- Καλή ανάμιξη ερυθρών και ορου και
- Τοποθέτηση της πλάκας στο διαφανοσκόπιο. Συνεχής ήπια ανακίνηση.
- Παρακολούθηση μέχρι 2 λεπτά για συγκόλληση.

Αν επέλθει συγκόλληση το αίμα χαρακτηρίζεται D-θετικό, ενώ αν δεν διαπιστωθεί συγκόλληση θεωρείται ως D αρνητικό και επιβεβαιώνεται με τον έλεγχο για D^u.

Το διαφανοσκόπιο στο οποίο θα γίνει η επισκόπηση πρέπει να είναι αναμμένο έτσι ώστε να έχει ήδη θερμοκρασία 45 ως 50°C. Με αυτό τον τρόπο τα αντιδραστήρια (ερυθρά-αντίσωμα) που είναι στην πλάκα φθάνουν τη θερμοκρασία των 37°C μέσα σε 2 λεπτά από τη στιγμή που η πλάκα τοποθετηθεί πάνω στο διαφανοσκόπιο. Η ανάγνωση του αποτελέσματος δεν πρέπει να καθυστέρει πάνω από 2 λεπτά, γιατί είναι δυνατό το στέγνωμα των αντιδραστηρίων, ιδιαίτερα στην περιφέρεια, να εκληφθεί ψευδώς ως συγκόλληση.

5.3.2 Δοκιμασία σε σωληνάριο.

Οι περισσότεροι οροί αντι-D(Rh₀) που χρησιμοποιούνται για τη δοκιμασία στην πλάκα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και για τη δοκιμασία σε σωληνάριο. Αυτό

πρέπει να επιβεβαιωθεί από τις οδηγίες της παρασκευάστριας εταιρίας.

Υλικά.

- Τα προς εξέταση ερυθρά αιμοσφαίρια σε εναιώρημα 2-5% σε ορό ή ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου.
- Ορός αντι-D.
- Σωληνάρια καθαρά.

Μέθοδος.

- Σε σωληνάριο τίθενται 1 ή 2 σταγόνες εναιωρήματος ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- Προστίθενται 1 ή 2 σταγόνες ορού αντι-D.
- Ανακίνηση ήπια και φυγοκέντρηση αμέσως σε 1000-2000 στροφές/1' για 2 λεπτά.
- Ήπια ανακίνηση του σωληναρίου για να γίνει επαναιώρηση των ερυθροκυττάρων. Μακροσκοπική παρατήρηση για συγκόλληση.

Αν διαπιστωθεί συγκόλληση το αίμα χαρακτηρίζεται ως D-θετικό. Αν δεν υπάρχει συγκόλληση, τότε η δοκιμασία συνεχίζεται για τον έλεγχο παρουσίας ή μη του αντιγόνου D^u.

Σημείωση.

Η ανάγνωση των αποτελεσμάτων δεν πρέπει να καθυστερεί, γιατί μπορεί να γίνει αιτία ψευδών θετικών ή αρνητικών αποτελεσμάτων.

5.3.3 Έλεγχος για αντιγόνο D^u.

Ως D^u χαρακτηρίζονται τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα οποία φέρουν το αντιγόνο D, αλλά δεν συγκολλούνται από μερικούς ή και όλους τους ορούς αντι-D, παρά το γεγονός ότι το αντίσωμα προσκολλάται στην επιφάνεια των ερυθρών. Στις περιπτώσεις αυτές χρειάζεται έλεγχος με αντισφαιρινικό ορό, μετά την επώαση των ερυθρών με τον αντι-D ορό.

Υλικά.

- Τα προς έλεγχο ερυθρά αιμοσφαίρια σε εναιώρημα 2-5% σε ορό ή ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου.
- Ορός αντι-D.
- Καθαρά σωληνάρια.

Μέθοδος.

- Σε σωληνάριο τίθενται 1 ή 2 σταγόνες εναιωρήματος ερυθρών. Προστίθενται 1 ή 2 σταγόνες ορού αντι-D.
- Ήπια ανάμιξη και επώαση επί 15 ως 30 λεπτά στους 37°C.
- Πλύσιμο των ερυθρών αιμοσφαιρίων 3 φορές με μεγάλο όγκο ισότονου διαλύματος NaCl.
- Μετά το τελευταίο πλύσιμο, προσεκτική απόρριψη όλου του υπερκείμενου υγρού και στέγνωμα των χειλέων του σωληναρίου με χάρτινη πετσέτα.

- Προσθήκη 1 ή 2 σταγόνων αντισφαιρινικού ορου.
- Ήπια ανακίνηση και φυγοκέντρηση στις 2000 στροφές/1' για 2 λεπτά.
- Ήπια επανεναιώρηση των ερυθρών που κατακάθισαν και έλεγχος για συγκόλληση.

Όταν έχομε συγκόλληση τα ερυθρά χαρακτηρίζονται ως D^u. Αν δεν διαπιστώθει συγκόλληση τα ερυθρά χαρακτηρίζονται οριστικά πλέον ως D (Rh_0) αρνητικά.

Έλεγχος του D(Rh_0) στα ερυθρά αιμοσφαίρια νεογνών με αιμολυτική νόσο ή ατόμων με αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία.

Στις περιπτώσεις αυτές τα ερυθρά είναι ήδη καλυμμένα με αντι-D αντισώματα. Για την αποκάλυψη των τελευταίων χρησιμοποιείται ειδικό αντίσωμα αντι-D το οποίο συγκολλά ερυθρά αιμοσφαίρια χωρίς να χρειάζεται και την παρουσία λευκωματίνης, που είναι δυνατόν να δώση ψευδώς θετικές αντιδράσεις.

Υλικά.

- Ορός αντι-D ο οποίος δρα σε περιβάλλον ισότονου διαλύματος χλωριούχου νατρίου.
- Εναιώρημα 2-5% των προς εξέταση ερυθρών σε ισότονο διάλυμα NaCl. Τα ερυθροκύτταρα έχουν ήδη πλυθεί 3-4 φορές με ισότονο διάλυμα NaCl.
- Σωληνάρια.

Μέθοδος.

- Σε σωληνάριο τίθεται 1 σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών.
- Προστίθεται 1 σταγόνα του ειδικού αντι-D ορού. Ακολουθεί ήπια ανάμιξη και επώαση σε 37°C επί 15-60 λεπτά.
- Φυγοκέντρηση για 2 λεπτά σε 2000 στροφές/λεπτό.
- Ήπια επανεναιώρηση των ερυθρών που κατακάθισαν και μακροσκοπική ανάγνωση για συγκόλληση.

Όταν έχομε συγκόλληση τα ερυθρά χαρακτηρίζονται ως D-θετικά.

Σημείωση.

Σε όλες τις παραπάνω δοκιμασίες είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται ως μάρτυρες γνωστά D-θετικά και D-αρνητικά ερυθρά.

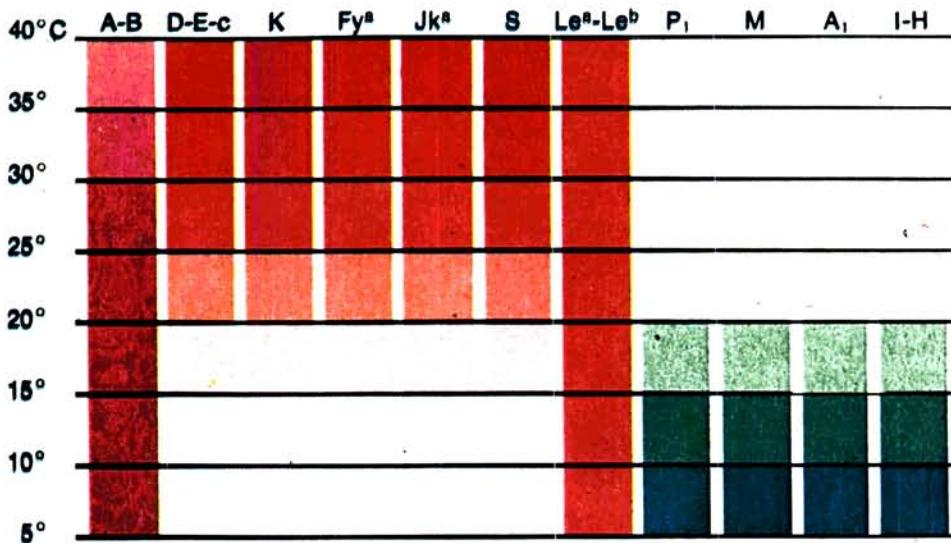
5.3.4 Έλεγχος λοιπών αντιγόνων του συστήματος Rhesus.

Οι δοκιμασίες που αναφέρθηκαν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο των λοιπών τεσσάρων κύριων αντιγόνων του συστήματος Rhesus (C, c, E, e) μετά αντικατάσταση του ορου αντι-D με τους αντιορούς αντι-c, αντι-C, αντι-E, αντι-e.

5.4 Δοκιμασία διασταυρώσεως.

Οι τεχνικές που θα χρησιμοποιηθουν πρέπει να γίνονται σε διάφορες θερμοκρασίες και διάφορα υποστρώματα επωάσεως για να επιτυγχάνεται η ανίχνευση όσο το δυνατόν περισσοτέρων αντισωμάτων. Οι μέθοδοι που θεωρούνται περισσότερο κατάλληλες για την ανίχνευση πλήρων αντισωμάτων (αιμολυσίνες, συγ-

κολλήτινες) χρειάζονται εναιώρημα ερυθρών αιμοσφαιρίων σε ισότονο διάλυμα NaCl . Η επώαση των ερυθροκυττάρων με τον ορό του δέκτη γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου ($18\text{--}25^\circ\text{C}$). Αντίθετα, για την ανίχνευση στελών αντισωμάτων χρειάζεται ισχυροποιητικό στατικό υπόστρωμα, όπως η βόεια λευκωματίνη, επώαση στους 37°C και προσθήκη αντισφαιρινικού ορού (σχ. 5.4α και 5.4β).



Σχ. 5.4α.

Δραστικότητα των συνηθισμένων αντισωμάτων στις διάφορες θερμοκρασίες.

Η διασταύρωση **δεν εξασφαλίζει**.

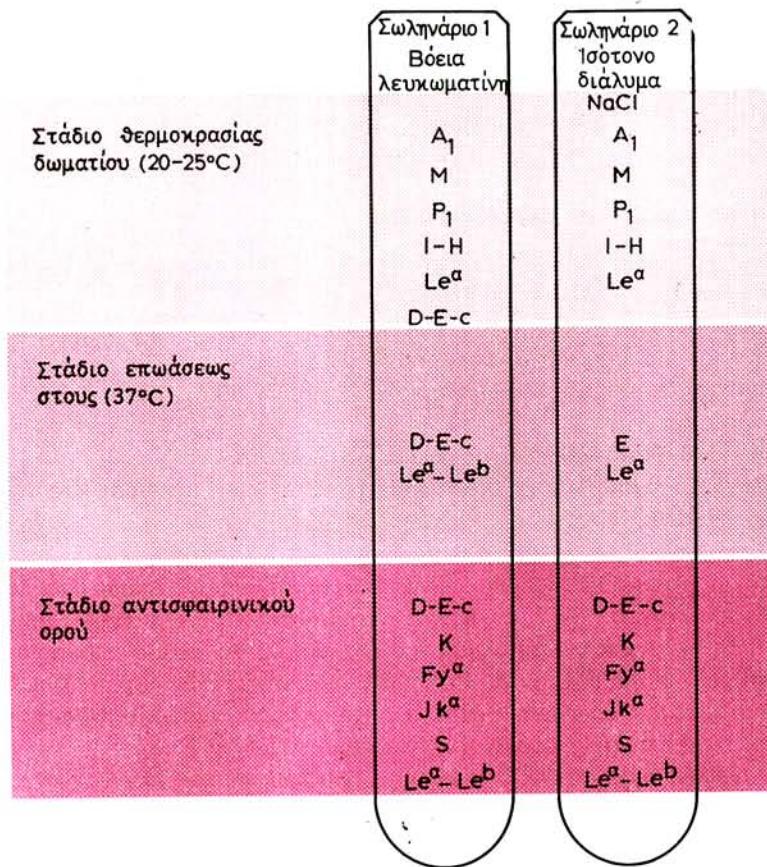
- Τη φυσιολογική επιβίωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων του δότη στην κυκλοφορία του δέκτη.
- Την πρόληψη ανοσοποιήσεως του δέκτη.
- Την αποκάλυψη όλων των λαθών στον καθορισμό του συστήματος ABO και Rhesus.
- Την ανίχνευση όλων των αντισωμάτων του ορού του δέκτη έναντι των ερυθρών του δότη.

5.4.1 Υλικά και τεχνικές απαιτήσεις.

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια του δότη τα οποία θα χρησιμοποιηθούν για τη διασταύρωση πρέπει να προέρχονται από το αίμα του φιαλίδιου ή του σωληναρίου που έχει ληφθεί κατά το χρόνο της αιμοληψίας και συνοδεύει πάντα τη φιάλη ή τον ασκό αίματος.

Πριν από την εξέταση τα ερυθρά αιμοσφαίρια πλένονται 3 φορές με ισότονο διάλυμα NaCl και εναιωρούνται μέσα σ' αυτό σε αραίωση 2-3%.

Τα σωληνάρια της συμβατότητας έχουν διαστάσεις $10 \text{--} 12 \times 75 \text{ mm}$ και πρέπει να έχουν σημάνθεί πριν από την έναρξη της εξετάσεως. Αιμόλυση ή συγκόλληση σε οποιοδήποτε στάδιο της διασταυρώσεως υποδηλώνει ασυμβατότητα.



Σχ. 5.4β.

Η επίδραση της θερμοκρασίας και του υποστρώματος στην ανίχνευση αντισωμάτων στη δοκιμασία της διασταύρωσεως.

5.4.2 Διασταύρωση με ένα σωληνάριο.

- Δύο σταγόνες ορού του δέκτη τίθενται σε σημασμένο σωληνάριο.
- Προστίθεται μία σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών αιμοσφαιρίων του δότη.
- Ακολουθεί επώαση για 15-30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και
- Φυγοκέντρηση σε 2000 στροφές/1' για 2 λεπτά. Ο έλεγχος για αιμόλυση ή συγκόλληση γίνεται όπως περιγράφηκε στον καθορισμό των ομάδων αίματος.

Στη συνέχεια.

- Προσθήκη 2-3 σταγόνων διαλύματος βόειας λευκωματίνης 22 ή 30%, ανάμιξη, άμεση φυγοκέντρηση και ανάγνωση για αιμόλυση ή συγκόλληση.
- Αν η εξέταση είναι αρνητική, το σωληνάριο επωάζεται για 15-30 λεπτά σε 37°C.
- Φυγοκέντρηση και ανάγνωση για αιμόλυση ή συγκόλληση.

Στο τέλος:

- Τα ερυθροκύτταρα πλένονται τρεις φορές με φυσιολογικό ορό. Μετά το τε-

λευταίο πλύσιμο στο ίζημα των ερυθρών προστίθενται 1-2 σταγόνες αντισφαιρινικού ορού, γίνεται καλή ανάμιξη, φυγοκέντρηση και έλεγχος για συγκόλληση.

- Αν δεν παρατηρηθεί αιμόλυση ή συγκόλληση σε κάποια φάση της εξετάσεως η διασταύρωση θεωρείται συμβατή.

5.4.3 Διασταύρωση με δύο σωληνάρια.

- Δυό σταγόνες ορού του δέκτη τίθενται σε κάθε ένα από τα δύο σωληνάρια, που έχουν ήδη κατάλληλα σημανθεί.
- Μια σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών αιμοσφαιρίων του δότη προστίθεται σε κάθε σωληνάριο και ανακινείται.
- Επώαση του πρώτου σωληναρίου (1) για 15-30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και
- Φυγοκέντρηση 2000 στροφές/1' για 2 λεπτά.

Ο έλεγχος για αιμόλυση ή συγκόλληση γίνεται όπως περιγράφηκε στον καθορισμό των ομάδων αίματος.

- Στο δεύτερο σωληνάριο (2) προστίθενται 2-3 σταγόνες διαλύματος βόειας λευκωματίνης 22 ή 30% και γίνεται καλή ανάμιξη. Ακολουθεί επώαση επί 15-30 λεπτά σε 37°C και φυγοκέντρηση σε 2000 στροφές/1' επί 2 λεπτά.
- Γίνεται έλεγχος για αιμόλυση ή συγκόλληση. Αν αυτός είναι αρνητικός τα ερυθροκύτταρα πλέονται 3 ή 4 φορές με ισότονο διάλυμα NaCl. Μετά το τελευταίο πλύσιμο προστίθενται στο ίζημα 1-2 σταγόνες αντισφαιρινικού ορού και το σωληνάριο ανακινείται για καλή ανάμιξη.
- Φυγοκέντρηση σε 2000 στροφές/1' για 2 λεπτά και έλεγχος για συγκόλληση.

Αν δεν παρατηρηθεί αιμόλυση ή συγκόλληση σε κάποια φάση, η διασταύρωση θεωρείται συμβατή.

Σημείωση.

Τα αντισώματα τα οποία ελέγχονται με την άμεση φυγοκέντρηση δεν είναι πολλά. Ωστόσο, σε επείγουσες (κυρίως) περιπώσεις η χρησιμότητα της άμεση φυγοκέντρησεως είναι μεγάλη, γιατί ελέγχει τυχόν λάθη στον καθορισμό του συστήματος ABO και διαπιστώνει χωρίς καθυστέρηση την παρουσία ισχυρών αντισωμάτων άλλων συστημάτων, έτσι ώστε να αποφεύγεται ο πρόσθετος χρόνος των 15-30 λεπτών.

5.4.4 Σήμανση της διασταυρωμένης φιάλης αίματος.

Μετά το τέλος της δοκιμασίας συμβατότητας επικολλάται στη συμβατή φιάλη αίματος ετικέτα η οποία πρέπει να υπάρχει μέχρι το τέλος της μεταγγίσεως (Υπόδειγμα Δ). Στην ετικέτα αναγράφεται το ονοματεπώνυμο, η ομάδα αίματος του δέκτη, η ημερομηνία εκτελέσεως της διασταυρώσεως, καθώς και το όνομα του απόμου που εκτέλεσε τη διασταύρωση. Η ημερομηνία λήξεως της μονάδας του αίματος πρέπει να ελέγχεται πάντα πριν το αίμα απομακρυνθεί από την Τράπεζα. Ακόμη πρέπει να ελέγχεται σχολαστικά πάντοτε πριν από την εφαρμογή της μεταγγίσεως, ότι το ονοματεπώνυμο του ασθενούς είναι ίδιο με εκείνο που αναγράφεται στη φιάλη.

ΕΘΝΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ Α'. ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΟΝ ΚΕΝΤΡΟΝ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΝ ΓΕΝ. ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΝ	
<p>Το αίμα της υπ' αριθμ..... φιάλης ομάδος..... Rh..... ευρέθη ΣΥΜΒΑΤΟΝ προς το αίμα του ασθενούς</p> <p>..... ομάδος..... Rh..... Ημερομ..... υπογραφή.....</p>	
	Κ-320

5.4.5 Διαφύλαξη των δειγμάτων αίματος.

Τα δείγματα αίματος του δέκτη και του δότη πρέπει να διατηρούνται σε θερμοκρασία 1-6°C τουλάχιστον για 7 ημέρες μετά τη μετάγγιση.

5.4.6 Μετάγγιση αίματος σε επείγουσες καταστάσεις.

Ο κλινικός ιατρός θα σταθμίσει τους κινδύνους από τη μετάγγιση αίματος χωρίς διασταύρωση σε εξαιρετικά επείγοντα περιστατικά και θα σημειώσει το επείγον της καταστάσεως και την αποδοχή της πρόσθετης ευθύνης στο έντυπο με το οποίο ζητεί αίμα χωρίς συμβατότητα.

Αυτό βέβαια δεν απαλλάσσει την Τράπεζα Αίματος από την ευθύνη να χορηγήσει στον ασθενή αίμα με σωστό καθορισμό ομάδας και σωστά σημασμένο. Κατά συνέπεια:

- Αν δεν υπάρχει χρόνος για τον καθορισμό της ομάδας του ασθενή, θα χορηγηθεί αίμα (O) Rh-αρνητικό από το οποίο έχουν αφαιρεθεί τα 70% του πλάσματος. (O) Rhesus-θετικό αίμα θα χορηγηθεί **μόνο** αν δεν υπάρχει αίμα (O) Rhesus αρνητικό.
- Αν υπάρχει χρόνος για καθορισμό της ομάδας θα χορηγηθεί αίμα της ομάδας του ασθενή. Ωστόσο, ποτέ δεν πρέπει να στηριχθεί σε παλαιότερο καθορισμό των ομάδων αίματος (tautότητα, στρατιωτικό βιβλιάριο κλπ) για τον κίνδυνο λάθους.
- Σε επείγοντα περιστατικά όπου υπάρχει ανάγκη άμεσης χορηγήσεως αίματος χωρίς διασταύρωση, είναι σκόπιμο να αρχίζει πάντοτε και η διαδικασία της διασταυρώσεως, έστω και αν προβλέπεται ότι αυτή θα τελειώσει μετά την έναρξη της μεταγγίσεως.



ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

Αιματολογία

Εισαγωγή	1
0.1 Λειτουργία και σύνθεση του αίματος	1
0.2 Εισαγωγικές γνώσεις στις τεχνικές της αιματολογίας	1

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

Το πλάσμα

3

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

Το ερυθρό αιμοσφαίριο

2.1 Μορφολογικές παρατηρήσεις	5
2.2 Μετρήσεις	12
2.3 Αξιολόγηση των μετρήσεων	16
2.4 Αιμοσφαιρίνη	19
2.5 Παθολογία της αιμοσφαιρίνης	20
2.6 Μέθοδοι μελέτης των παθήσεων της αιμοσφαιρίνης	26
2.7 Ανασκόπηση της φυσιοπαθολογίας του ερυθροκυντάρου	34
2.8 Ταχύτητα καθίζησεως των ερυθρών (ΤΚΕ)	36

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

Τα λευκά αιμοσφαίρια

3.1 Γενικά	38
3.2 Κοκκιούτταρα ή πολυμορφοπύρηνα	38
3.3 Λεμφοκύτταρα	40
3.4 Μεγάλα μονοπύρηνα ή μονοκύτταρα	40
3.5 Λευκοκυτταρικός τύπος	42
3.6 Λευχαλμίες	42
3.7 Μετρήσεις που αφορούν τα λευκά αιμοσφαίρια	42

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

Πήξη του αίματος

4.1 Γενικά	49
4.2 Μετρήσεις	50

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΑΙΓΑΙΟΝ ΗΡΩΑΙ

ΤΡΑΠΕΖΑ ΑΙΜΑΤΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

TO AIMA

0.1 Ανασκόπηση συστάσεως και λειτουργιών

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

1.1 Η σημασία της συμβατότητας	5
1.2 Ερυθροκυτταρικά αντιγόνα	6
1.3 Αντι-ερυθροκυτταρικά αντισώματα	8
1.4 Η αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος στην κυκλοφορία (in vivo)	9
1.5 Η αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος στο σωληνάριο (in vitro)	10

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ANTIGONA

2.1 Σύστημα ABO	13
2.2 Αντιγόνα ABO	13
2.3 Άλλοσυγκολλητίνες ABO	15
2.3.1 Η συγκέντρωσή τους στον ορό	15
2.3.2 Ουσίες που αναγνωρίζουν αντιγόνα ABO φυτικής ή ζωικής προελεύσεως	16
2.3.3 Συγκολλητίνες αντι-Α, και αντι-Η στον ορό	16
2.4 Άλλες ιδιότητες των αντιγόνων ABO	17
2.4.1 Υποομάδες του αντιγόνου Α	17
2.4.2 Υποομάδες του αντιγόνου Β	17
2.4.3 Διαικυμάσεις των αντιγόνων Α και Β στα ερυθροκύτταρα	17
2.4.4 Κληρονομικότητα των αντιγόνων ABO	18
2.4.5 Κατανομή των αντιγόνων ABO στον πληθυσμό	19
2.4.6 Δομή και σύνθεση των αντιγόνων ABO	20
2.5 Το σύστημα H/h. Ο τύπος «Βομβάρι»	21
2.6. Διαλυτές ουσίες Α, Β και Η στον ορό και τις εκκρίσεις	21
2.7 Σχέση των αντιγόνων ABO με άλλα αντιγονικά συστήματα	22
2.7.1 Το σύστημα Lewis	22
2.7.2 Σύστημα Ii	22

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ RHESUS KAI ΆΛΛΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

3.1 Τα αντιγόνα Rhesus	24
3.1.1 Οι γόνοι του συστήματος Rhesus. Κληρονομικότητα	26
3.1.2 Φαινότυπος και Γονότυπος	26
3.1.3 Ποικιλίες του αντιγόνου D. Το αντιγόνο D^u	27
3.1.4 Υποομάδες D	27
3.1.5 Συνδυασμοί αντιγόνων Rhesus	27



3.1.6 Απουσία των αντιγόνων Rhesus	28
3.1.7 Το σύνδρομο Rh-null (Rhesus-μηδέν)	28
3.1.8 Το αντιγόνο LW	28
3.2 Αντισώματα Rhesus	28
3.2.1 Μηχανισμοί εναισθητοποίησεως	28
3.2.2 Ιδιότητες των αντισωμάτων Rhesus	29
3.3 *Άλλα Συστήματα ομάδων αίματος	32
3.3.1 Σύστημα Kell	34
3.3.2 Σύστημα P	35
3.3.3 Σύστημα Duffy	35
3.3.4 Σύστημα Kidd	35
3.3.5 Σύστημα MNSS	35
3.3.6 Σύστημα Lutheran	35

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΑΙΜΟΔΟΣΙΑ

4.1 Γενικά	36
4.2 Αιθουσα αιμοληψίας	36
4.3 Επιλογή αιμοδότη	36
4.3.1 Προϋποθέσεις για προσφορά αίματος (Πίνακας 4.3.1)	36
4.3.2 Κλινική εξέταση αιμοδότη	39
4.4 Τεχνικές αιμοδοσίας	40
4.4.1 Διαδικασία αιμοληψίας	40
4.4.2 Φιάλες συλλογής αίματος	40
4.4.3 Φλεβοκέντηση. Συλλογή αίματος	43
4.4.4 Φροντίδα για τον αιμοδότη	44
4.4.5 Ανεπιθύμητες αντιδράσεις του αιμοδότη	45
4.4.6 Συντήρηση του αίματος	45
4.4.7 Εργαστηριακοί έλεγχοι και σήμανση φάλης αίματος	46

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ

5.1 Γενικά	48
5.1.1 Έντυπο δελτίο αίματος	48
5.1.2 Αίμα ασθενή (δέκτη) στον οποίον θα γίνει η μετάγγιση	48
5.2 Τεχνικές καθορισμού ομάδων αίματος συστήματος ABO	50
5.2.1 Έλεγχος των ερυθρών αιμοσφαιρίων (καθορισμός αντιγόνων)	50
5.2.2 Έλεγχος του ορού (καθορισμός αντισωμάτων)	51
5.2.3 Έλεγχος υποομάδων των ερυθρών αιμοσφαιρίων A και AB	52
5.2.4 Αίτια λάθους κατά τον καθορισμό του συστήματος ABO	52
5.3 Τεχνικές καθορισμού των αντιγόνων του συστήματος Rhesus	52
5.3.1 Δοκιμασία σε πλάκα	53
5.3.2 Δοκιμασία σε σωληνάριο	53
5.3.3 Έλεγχος για αντιγόνο D ^u	54
5.3.4 Έλεγχος ληκτών αντιγόνων του συστήματος Rhesus	55
5.4 Δοκιμασία διασταύρωσεως	55
5.4.1 Υλικό και τεχνικές απαιτήσεις	56
5.4.2 Διασταύρωση με ένα σωληνάριο	57
5.4.3 Διασταύρωση με δύο σωληνάρια	58
5.4.4 Σήμανση της διασταύρωσεως φάλης αίματος	58
5.4.5 Διαφύλαξη των δειγμάτων αίματος	59
5.4.6 Μετάγγιση αίματος σε επείγουσες καταστάσεις	59



COPYRIGHT ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

