

الأهمية التشخيصية للتنميط المناعي في الاضطرابات الوظيفية للصفيحات

إلهام حرفوش*

عثمان حمدان**

الملخص

خلفية البحث وهدفه: يستقبل مشفى الأطفال أعداداً مهمة من الأطفال الذين يأتون بشكاية نزفية تعود إلى عيب في الإرقاء الأولي. ونظراً إلى عدم وجود استقصاءات نوعية لوظائف الصفيحات في السابق، فقد هدفتنا إلى تقييم أهمية دور تقنية الجريان الخلوي مع استخدام الواسمات المناعية في تشخيص اضطراب وظائف الصفيحات الوراثي لدى المرضى المصابين باضطراب في الإرقاء الأولي .

المرضى: أجريت الدراسة في مشفى الأطفال الجامعي و تضمنت 37 طفلاً اختيروا من أجل شك لديهم بوجود عيب وظيفي في الصفيحات بعد نفي الأسباب الأخرى لاضطراب الإرقاء الأولي، وتراوحت أعمارهم بين شهر واحد و 12 سنة.

الطرائق: أُجريت الدراسة على عينات من الدم المحيطي مأخوذة من المرضى، و ذلك اعتماداً على تقنية التنميط المناعي للصفيحات باستخدام أضداد وحيدة النسيلة نوعية للمستضدات الصفيحية الآتية: CD41, CD61, CD42 a .

النتائج: عُنيت متلازمة برنارد سوليبه في 5/37 حالة (13% من الحالات المدروسة)، ومتلازمة غلانزمان في 37/19 حالة (51% من الحالات المدروسة) في حين بقيت 13 حالة غير محددة السبب. لم يكن هناك فرق في المعطيات السريرية

* مخبر البحوث والاستشارات الوراثية- كلية الطب البشري

** شعبة أمراض الدم- مشفى الأطفال الجامعي

بين مجموعات المرضى الثلاث. كان قد اتخذ في السابق تشخيص نقص صفائح مناعي ذاتي في حالتين من حالات برنارد سوليه اللتين عولجتا بالستيروئيدات القشرية، ومن ثم استئصال الطحال.

الخلاصة: تؤدي تقنية الجريان الخلوي دوراً مهماً في تشخيص اعتلال الصفائح الناجم عن عيوب في المستقبلات الصفحية، كما يمثل اعتلال الصفائح من نوع غلانزمان و برنارد سوليه نسبة مهمة من حالات اضطراب وظائف الصفائح (نحو 64%) على الرغم من اعتبار هذين المرضين من الأمراض النادرة.

الكلمات المفتاحية:

Glanzmann`s Thrombasthenia (GT), Bernard Soulier syndrome (BSS), Hereditary Platelet disorders, Flow cytometry

Role of Immunophenotyping in the Diagnosis of Inherited Platelet Disorders

Elham Harfoush*

Osman Hamdan

Abstract

Background: University Children Hospital receives important number of children with bleeding syndrome resulting from primary coagulation abnormalities, but no specific tests have been set up yet to explore platelets functions.

Objective: therefore, we aimed to evaluate the role of the immunologic method using flow cytometry technique in the diagnosis of functional platelets disorders.

Patients and methods: 37 children aged 1 month -12 years with bleeding symptoms were studied at the Children University Hospital. Patients were selected for a suspected platelet disorder after excluding the other causes of the primary coagulation. Using labeled monoclonal antibodies, CD41, CD61 and CD42a markers were explored on platelet surface by flow cytometry.

Results: We identified 5 cases with Bernard Soulier Syndrome (BSS) (8% of all cases) and 19 cases with Glanzman's thrombasthenia (GT) (51% of all cases), whereas 13 cases remained without defined pathology (36%). There was no differences in the clinical features between the above three patients groups. Misdiagnosis has been taken in three of BSS cases which have been treated as ITP and so corticosteroid therapy and splenectomy were applied in those patients.

Conclusion: flow cytometry represents a powerful method for revealing defects in platelets receptors expression and although they are known to be rare diseases, BSS and GT represent about 64% of bleeding syndrome resulting within platelets disorders in our patients.

* Department of Laboratory, Faculty of Medicine, Damascus University.

مقدمة:

إن أولى الحوادث الفيزيولوجية التي تعقب لدى حصول أذية وعائية، هي التصاق الصفائح الدموية إلى الوعاء الدموي. يعدُّ هذا الالتصاق المرحلة المؤسسة initiation للإرقاء النهائي، ويحدث نتيجة لانكشاف البروتينات الالتصاقية الموجودة في ما تحت البطانة الوعائية (1). تشترك هذه البروتينات في امتلاكها ميزة التآثر مع معقدات من طبيعة بروتينية سكرية توجد على سطوح الصفائح مما يؤدي إلى التصاق الأخيرة إلى الجدار الوعائي المتأذي. يبدأ هذا التآثر بحدوث ارتباط بين المعقد Gp1b-IX على سطح الصفائح وعامل فون ويلبراند vWF المنغرس في النسيج الكائن تحت البطانة الوعائية، مما يؤدي إلى إطلاق العنان لعمليات بيولوجية لاحقة تتجلى بتفعيل الصفائح وتكديسها. تمثل الصفائح المتكدسة نواة الخثرة النهائية المؤدية إلى وقف النزف. يحدث تكديس الصفائح aggregation بفضل جسور من الفيبرينوجين تمتد بين الواحدة والأخرى منها. يحتاج تشكل جسور الفيبرينوجين إلى معقد آخر هو GPIIb-IIIa الذي يؤدي دور مستقبل للفيبرينوجين، ويفعل على سطوح الصفائح نتيجة لالتصاقها على الجدار الوعائي. كما يترافق تفعيل الصفائح بانفراغ مخزونها من الوسائط التي تؤدي دوراً مهماً في امتداد الخثرة extention.

يفسر دور الصفائح المفتاحي في الإرقاء الأولي والحفاظ على سلامة الأوعية، الميل النزفي عند المرضى المصابين بأعوازها، سواء الكمية منها أو الوظيفية.

يمثل الاضطراب الوراثي لوظائف الصفائح مجموعة متغايرة من الأمراض النادرة التي يمكن تصنيفها بحسب المرحلة التي تتأثر من مراحل تشكل الخثرة: التأسيس initiation، الامتداد extention، والالتحام والتكديس cohesion/aggregation. أو بحسب الطبيعة البنيوية والوظيفية للجزيئة التي تبدي عيباً (2). يعدُّ اعتلال الصفائح الوراثي

في متلازمة برنارد سوليهيه Bernard Soulier (BBS) المثال الأبرز على قصور مرحلة التأسيس للخرثرة الذي ينجم عن غياب ولادي للمعقد Gp1b-IX-V على سطح الصفائح (3-4).

أما أكثر الأسباب المؤدية إلى تأثر مرحلة الامتداد فهي اضطرابات التخزين في الصفائح Platelet storage pool defects (5). كما تمثل متلازمة غلانزمان Glanzmann's Thrombasthenia الشكل الكلاسيكي لاضطراب مرحلة الالتحام والتكدس الذي ينجم عن غياب المستقبلة GPIIb- GPIIIa (6).

ينتقل اعتلال الصفائح الوراثي في متلازمتي غلانزمان وبرنارد سوليهيه بصفة جسمية متنحية AR ولكن بعض الدراسات تشير إلى وجود انتقال بصفة جسمية سائدة AD مع اختلاف في التعبير عن الطفرة (7).

تتجم متلازمة برنارد سوليهيه عن طفرة تصيب إحدى المورثات المرزومة للمعقد Gp1b-IX-V. تمل الدراسات على أن وجود عيب في أحد السلاسل البروتينية GPIIb, GPIIa, GPVI, GPIX, يؤدي إلى فشل انضمامها معاً لتشكل المركب السابق. وقد سُجِّلت العشرات من الطفرات المؤدية إلى اضطراب في اصطناع كل من السلاسل الثلاث GPIIb, GPIIa, GPIX, ولم تسجل أية طفرات في مورثة البروتين GPVI (7).

أما متلازمة غلانزمان GT فتتأى عن طفرة تصيب إحدى المورثتين GPIIb المرزمتين للجزيئة GPIIb- GPIIIa (6).

يصعب، من الناحية السريرية، التمييز بين الاضطرابات الوظيفية للصفائح، إذ تتظاهر جميعها بعلامات نزفية تتوضع بشكل رئيسي في الجلد والأغشية المخاطية، كما يمكن لها أن تكون نزوفاً طمئية (3،8). أمّا مخبرياً فيمكن الشك بمسؤولية الصفائح عن مثل هذه النزوف لدى وجود تطاول في زمن النزف، وبعد التأكد من

صحة العوامل الأخرى المسؤولة عن الإرقاء الأولي كعامل فون ويلبراند. كما يعدُّ غياب التجمعات الصفيفية في اللطاخة الدموية دلالة مهمة على وجود اضطراب وظيفي في الصفائح(8).

وحديثاً ومع ظهور تقنية الجريان الخلوي، أصبح بالإمكان تقصي المستقبلات المسؤولة عن التصاق الصفائح وتكديسها عن طريق استخدام أضداد وحيدة النسيلة مضادة لهذه الجزيئات(9-10).

تأتي أهمية تشخيص مثل هذه الحالات من حيث إتاحة وضع خطة علاجية ملائمة، إذ يعطى DDAVP كوسيلة علاجية في الوقاية من النزف في الحالات المتوسطة الشدة (6،11)، أمَّا الحالات الشديدة وحالات العمل الجراحي فتتطلب نقل الصفائح(3)، كما تستفيد هذه الحالات من تطبيق العلاج بركازات العامل السابع المفعّل (rVIIa) Novoseven (12-15).

من أجل ذلك قمنا بهذه الدراسة لتقييم أهمية دور تقنية الجريان الخلوي في تشخيص الاضطرابات النزفية الناشئة عن سبب صفحي.

المواد والطرائق:

أجريت الدراسة في مشفى الأطفال ما بين 2006/5/1 - 2008/9/1، وشملت 37 طفلاً تراوحت أعمارهم بين شهر واحد و12 سنة، 20 منهم ذكوراً و17 إناثاً ممن راجعوا مشفى الأطفال، وكانت معايير اختيار المرضى لهذه الدراسة هي الآتية:

1- وجود شكاية نزفية (كدمات، فرريات، نزف لثوي) مع نقص صفائح أو من دونها.

2- وجود تطاول في زمن النزف بطريقة إيبي.

3- وجود شك باضطراب في الصفائح، بعد نفي الأسباب الأخرى لاضطراب الإرقاء مخبرياً.

وقد توافقت 13 حالة مع نقص صفائح، و 24 حالة مع عدد سوي من الصفائح.

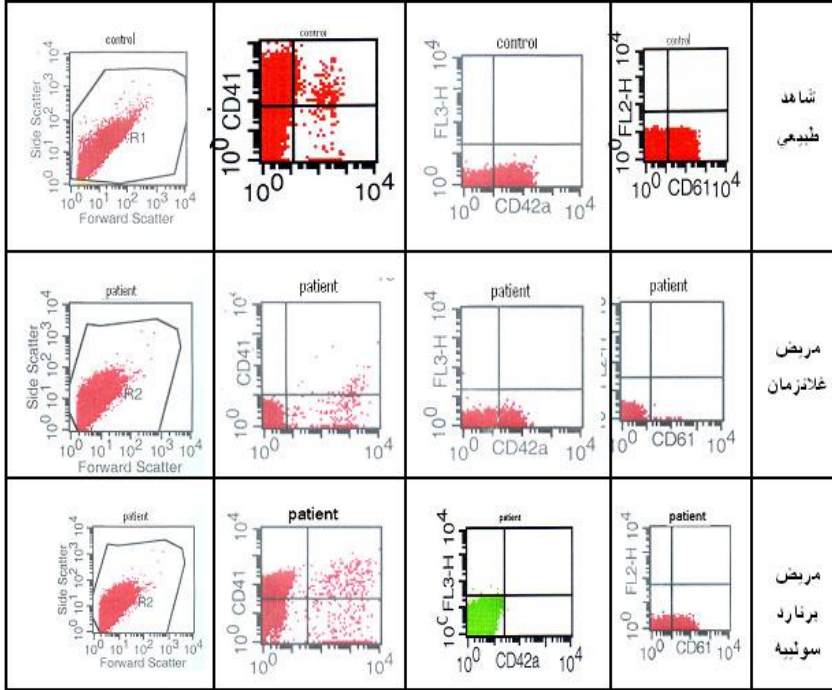
العينات: تم الحصول على عينات المرضى والشواهد الأصحاء من الدم المحيطي المأخوذ على مانع تخثر، حيث كانت كل عينة مريض تعامل وتدرس في آن واحد مع عينة شاهد سليم لا يبدي وليس لديه أية سوابق نزفية أو نقص كمي في الصفائح، ولا سوابق عائلية.

كانت الغاية من الوجود الإلزامي لعينة الشاهد الطبيعي هي الاطمئنان إلى خلو العناصر الداخلة في تقنية الدراسة من أي خلل قد يؤثر في صحة النتائج.

بعد عزل الصفائح من البلازما الغنية بالصفائح، كانت تعامل على حدة مع كل من الأضداد وحيدة النسيلة التالية الموسومة بمادة ومضائية: CD42a وهو مضاد للجزئية GPIX، CD61 وهو مضاد للجزئية GPIIIa، و CD41 وهو مضاد للجزئية GPIIb، ثم تمرر في جهاز الجريان الخلوي بعد اختيار المتثابتات الآتية: SSC (Forward Scatter)، الملائمة لحجم الصفائح وبنيتها.

حللت بعد ذلك المعطيات الأولية في صفحة خاصة بالصفائح أُنشئت باستخدام البرنامج الحاسوبي CellQuest (الشكل 1).

اعتمد تشخيص متلازمة برنارد سوليه على ملاحظة غياب في تعبير المستقبلة CD42a (البروتين GPIX)، أما تشخيص متلازمة غلانزمان فاعتمد على غياب كل من المستقبلتين CD41 و CD61.



الشكل (1): صفحة التحليل الحاسوبي لمعطيات التتميط المناعي للصفائح لكل من شاهد طبيعي، مريض غلاتزمان ومريض برنارد سوليه.

الشاهد الطبيعي: ويبدو التعبير الطبيعي لكل من الجزيئات CD42a, CD41, CD61

مريض غلاتزمان: ويبدو غياب كل من الجزيئين CD41, CD61 مع تعبير طبيعي للجزيئة CD42a

مريض برنارد سوليه: ويبدو غياب الجزيئة CD42a مع تعبير طبيعي للجزيئين CD41, CD61.

النتائج:

عُيِّنَتْ خمس حالات اعتلال وظيفية الصفائح من نمط برنارد سولييه، و 19 حالة من نمط غلانزمان وبقيت 13 حالة مجهولة السبب. ويبين الجدول تفصيل نتائج دراسة بعض معالم القصة السريرية في كل من المجموعات الثلاث.

جدول يبين السمات المرافقة لحالات الاضطراب النزفي المدروسة

الحالات الأخرى (13 حالة)	غلانزمان (19 حالة)	برنارد سولييه (5 حالات)	
العمر المتوسط	شهر واحد - 11 سنة 5 سنوات	شهر واحد - 9 5 سنوات	
عمر البدء المتوسط	10 أيام - 4 سنوات 11 شهر	أسبوعين - سنتين 9 أشهر	
نزوف جلدية	11 (84%)	4 (80%)	
رعاف أو نزوف لثوية	10 (76%)	4 (80%)	
نزف مفصلي أو حشوي	0	0	
سوابق نزوف شديدة استدعت نقل دم	2 (15%)	1 (20%)	
علامات أخرى غير نزفية	-	-	
زمن النزف المتوسط	7-15 11 دقيقة	9-18 12 دقيقة	
وجود نقص صفائح	0	5 (100%)	
متوسط عدد الصفائح	30000 (في الحالات ناقصة الصفائح)	180000	28000
حجم الصفائح الوسطي المتوسط	6,5-12 9,5 fL	6,2-9,1 8,4fL	12,2-14,1 13,1fL
وجود صفائح عرطلة	1 (8%)	0	5 (100%)
غياب التجمعات الصفحية على الطاخة الدموية	13	19	5
قصة عائلية لاضطراب نزفي	8 (66%)	13 (68%)	4 (80%)
وفيات عائلية باضطراب نزفي	0	2 (11%)	-
القراءة بين الأبوين	6 (46%)	11 (57%)	2 (40%)
وجود تدبير علاجي سابق على أساس نقص صفائح أساسي	5 (38%)	0	2 (40%)

يتبين ما يلي من دراسة الجدول السابق:

1- **التظاهرات السريرية:** بلغ متوسط عمر البدء 9 أشهر لدى مرضى برنارد سولبييه، وثلاثة أشهر لدى مرضى غلانزمان و11 شهراً لدى المرضى الذين لم يحدد لديهم سبب واضح. تظاهر برنارد سولبييه وغلانزمان بنزوف جلدية أو/و مخاطية في معظم حالات مرضانا، و ينطبق الأمر على مجموعة حالات المرضى التي بقيت دون سبب واضح. ولم تلاحظ أية حالة نزف مفصلي أو حشوي. أما من حيث النزوف الشديدة التي استدعت نقل دم فقد سجلت دراستنا حالة واحدة من حالات برنارد سولبييه (20%)، وست حالات من حالات غلانزمان (31%)، وأخيراً سُجِّلَتْ حالتين (15%) في المجموعة مجهولة السبب.

بلغ متوسط زمن النزف بطريقة إيفي 13 دقيقة في حالات غلانزمان، و12 دقيقة في حالات برنارد سولبييه، و11 دقيقة في الحالات مجهولة السبب.

2- **الموجودات المخبرية:** ترافقت حالات برنارد سولبييه جميعها بنقص في عدد الصفائح وبوجود صفائح عرطلة، وقد بلغ متوسط عدد الصفائح 28000 في هذه المجموعة من المرضى، كما بلغ متوسط حجم الصفائح الوسطي 13,1fL، في حين لم تلاحظ أية حالة نقص صفائح أو وجود صفائح كبيرة الحجم ضمن مجموعة غلانزمان. أمّا مجموعة الحالات التي لم تعزَ إلى سبب واضح فقد ترافقت بنقص صفائح في 61% من الحالات وبلغ متوسط عدد الصفائح في الحالات ناقصة الصفائح 30000، كما سجلت حالة واحدة فقط مع صفائح كبيرة الحجم (12,2fL). تكون بذلك نسبة حالات برنارد سولبييه نحو 38% من الحالات المترافقة بنقص في الصفائح، في حين تمثل أدواء غلانزمان نحو 79% من الحالات المترافقة بعدد سوي من الصفائح.

- 3- **السوابق العائلية:** وجدت قصة عائلية توحى باضطراب الإرقاء في 80% من حالات برنارد سولييه، و68% من حالات غلانزمان و60% من الحالات التي بقيت مجهولة السبب. كما وجدت وفيات عائلية بسبب نزفي في حالتين (11%) من حالات غلانزمان، ولم تذكر أية وفيات في المجموعتين الآخرين.
- 4- **القرابة بين الوالدين:** وجدت قرابة من الدرجة الثالثة في حالتين من حالات برنارد سولييه (40%)، و11 حالة من حالات غلانزمان (57%) وست حالات في المجموعة مجهولة السبب (46%).
- 5- **وجود تطبيق علاجي سابق على أساس نقص صفيحات مناعي ذاتي:** طُبِّقَتْ معالجة بالستيروئيدات القشرية وبحقن الغلوبولينات المناعية (IVIG)، ومن ثم استئصال الطحال في حالتين من حالات برنارد سولييه، كما خضع خمسة من مرضى المجموعة التي لم نحدد لها سبباً واضحاً للاضطراب النزفي إلى المعالجة بالكورتيزون، وكانت هذه الحالات معددة على مثل هذه المعالجة.

المناقشة:

قمنا بدراسة 37 طفلاً يعانون من تظاهرات نزفية توجهنا فيها إلى وجود خلل في وظيفة الصفيحات بعد نفي الأسباب الأخرى المؤدية إلى اضطراب في الإرقاء. واستطعنا باستخدام تقنية الجريان الخلوي، أن نعين خمس حالات تعود إلى الغياب الوراثي للمعقد البروتيني Gp1b-1X (متلازمة برنارد سولييه)، و19 حالة تعود إلى فقد المعقد GPIIIa / GPIIb (متلازمة غلانزمان). وبقيت 13 حالة دون أن نستطيع تعيين سبب واضح لها. وبهذا يمثل مجموع الحالات التي تم تحديد سببها وتعود إلى غلانزمان أو برنارد سولييه 64% من مجمل الحالات المدروسة، وهي نسبة مهمة. يمكن القول هنا: إن استخدام تقنية الجريان الخلوي لتشخيص هذه الحالات قد ساعد في تعيين حالات كان يمكن أن تبقى غير محددة السبب، مما يوحي بأن سمة المرض

النادر التي ارتبطت سابقاً بهذه الأمراض إنما تعود إلى عدم توافر الوسائل التشخيصية سابقاً، ففي دراسة إيرانية أمكن استخدام الجريان الخلوي من تشخيص ثلاثين حالة عوز مستقبلات صفيفية كانت قد توبعت سابقاً مدة طويلة دون التوصل إلى تشخيص محدد (16). كما تشير بعض الدراسات المجراة في مناطق مجاورة إلى أن مصادفة اعتلال الصفائح من نمط برنارد سوليه وغلانزمان ليست بالنادرة (17-21). توافقت حالات برنارد سوليه جميعها في دراستنا بنقص مهم في عدد الصفائح، غير أنه يذكر أن برنارد سوليه يمكن أن يترافق بعدد ناقص أو سوي من الصفائح (4). في حين أن حالات غلانزمان جميعها توافقت بأعداد سوية للصفائح.

تبدي الدراسة أن لا فرق في عمر البدء بين مجموعات المرضى الثلاث، كما أن الأعراض السريرية لكل من متلازمتي غلانزمان وبرنارد سوليه يمكن أن تبدأ في عمر مبكر جداً، وأنه يمكن للنزوف الرضية منها أن تسبب فقر دم شديداً؛ مما يطرح هذه الحالات كمشكلة جدية في مواجهة حياة مثل هؤلاء المرضى ويستدعي تشخيصها.

دلّت المعطيات السريرية لمرضى المجموعات المختلفة في دراستنا أنه من غير الممكن التمييز سريرياً بين الحالات المختلفة لاضطراب الصفائح، مما يطرح مشكلة تشخيصية ولاسيماً حالات برنارد سوليه المترافقة بنقص صفائح، حيث التبتت بعض حالاتها مع نقص الصفائح بسبب مناعي ذاتي فعولت على هذا الأساس؛ مما دفع إلى تطبيق معالجات غير مجدية ذهبت إلى حد استئصال الطحال دون داع، إذ إن استئصال الطحال لا يأتي بأية فائدة سريرية في حالات النقص الوراثي للصفائح إلا في حالة فيسكوت ألدرايت Wiskott Aldrich (7). وفي هذا المضمار أبدت مراجعة الأدب الطبي وجود العديد من الممارسات العلاجية الطبية الخاطئة التي تعود إلى

التباس حالات برنارد سوليه مع نقص الصفائح المناعي الذاتي (25 22). ومن هنا تبدو أهمية الجريان الخلوي كتقنية نوعية لتحديد هوية مثل هذه الحالات.

تبدى الدراسة أيضاً وجود قرابة بين الوالدين في نسبة مهمة من الحالات المدروسة؛ مما يشير إلى الدور الذي يؤديه زواج الأقارب في الظهور السريري لمثل هذه الحالات، وهذا يدعو إلى إيجاد طريقة للكشف عن الحمل. في هذا المضمار نشير إلى أننا ولدى تطبيق الدراسة على بعض العينات مأخوذة من الآباء والأمهات للأطفال الذين أثبت لديهم داء غلانزمان، لاحظنا انخفاضاً في مستوى تعبير المستقبلة GPIIIa / GPIIb. مما يوحي بإمكانية الاعتماد على هذا الاختبار للكشف عن الحمل. غير أن ذلك يستلزم دراسة عدد كبير نسبياً من العوائل المصابة لكي تتوافر لدينا معطيات كافية لتعليل استخدام تقنية الجريان الخلوي في الكشف عن الحمل. وحالياً يبدو تعيين الطفرات الوراثية الطريقة المثلى لكشف الحمل.

تجدر الإشارة هنا إلى أهمية البدء باختبارات سهلة الإجراء لاستقصاء مسؤولية الصفائح عن متلازمة نزفية ما، كتعداد الصفائح واللطاخة الدموية، إذ إن وجود نقص في الصفائح مع ملاحظة كبر في حجمها فضلاً عن غياب في تجمع الصفائح على اللطاخة الدموية يدعو للشك بداء برنارد سوليه خاصة بوجود قصة عائلية، بينما يمكن التوجه إلى داء غلانزمان بوجود صفائح طبيعية شكلاً وعدداً لكن مع غياب تجمعها على اللطاخة الدموية. وفي كلتا الحالتين ينبغي تأكيد التشخيص بالجريان الخلوي، وهنا من الضرورة بمكان أن ندرس تعبير مستضدين على الأقل على سطح الصفائح، على أن يكون أحدهما واقعاً في مستقبلية مسؤولة عن الالتصاق والآخر في مستقبلية مسؤولة عن التكس مما يضمن إمكانية تشخيص أي من حالتين اضطراب هاتين الوظيفيتين. ويضمن جودة الاختبار في الوقت ذاته. وهنا أيضاً لا بد من الإشارة إلى ضرورة إجراء عينة دموية مأخوذة من شخص طبيعي بالتوازي مع عينة المريض، وذلك لنفي وجود أية مشكلة تقنية قد تؤدي إلى نتائج كاذبة. وبشكل

عام يمكن القول: إنَّ استخدام أكثر من نوعية مستضدية لدراسة المستقبلية الواحدة سوف يكشف عن غياب كل مكونات هذه المستقبلية. فعلى سبيل المثال، استخدمنا في هذه الدراسة واسميتين مناعيتين لدراسة المستقبلية GPIIIa / GPIIb، وتبين لنا أن كلاً من الجزيئتين GPIIIa و GPIIb قد غابتا في الغالبية العظمى من حالات غلانزمان، وفي حالتين فقط من حالات غلانزمان لوحظ غياب منفرد للجزيئة GPIIIa. وإذا أخذنا بالحسبان أن أياً من الجزيئتين السابقتين لا يمكن له أن يبرز على سطح الصفائح إلا مرتبطاً مع الأخرى، أمكننا إسناد غياب تثبت الضد النوعي إلى إحدى الجزيئتين في الحالتين السابقتين إلى تبدل مستضدي طراً على الجزيئة المستهدفة؛ مما أدى إلى فقد الضد المستخدم نوعيته لها وليس إلى غياب كمي لهذه الجزيئة.

في استقصاء المستقبلية Gp1b-IX-V المسؤولة عن داء برنارد سوليه قمنا باستخدام ضد نوعي للجزيئة Gp1X (CD42a)، و يمكن استخدام أضداد أخرى لاستقصاء المستقبلية نفسها مثل CD42b, CD42c, النوعية للجزيئات GPIIb α , GPIIb β على التوالي.

على الرغم من أننا لم نبادر إلى إجراء اختبار قياس تكندس الصفائح agregometry جواباً على المحفزات الفيزيولوجية كالأدرينالين والترومبين، يمكننا القول: إنَّ تقنية الجريان الخلوي تعدُّ الأسهل، والأسرع، والأقل كلفة والأكثر دقة وقدرة على إعطاء نتائج واضحة، وهي تغني عن اختبار تكندس الصفائح حين الوصول إلى تشخيص واضح، كما هي الحال في أدواء برنارد سوليه وغلانزمان التي تجلت في دراستنا هذه. إلا أن الحالات التي لا تحل لغزها تقنية الجريان الخلوي كما الحالات الثلاث عشرة حالة التي بقيت دون تعيين في دراستنا فهي تستدعي إجراء الاختبار المشار إليه الذي يمكن له أن يؤكد أو ينفي وجود خلل في وظائف الصفائح التي يحتمل غالباً أنها تنضوي تحت مجموعة أدواء التخزين والانفراغ.

الاستنتاجات والتوصيات:

- 1- تؤدي تقنية الجريان الخلوي دوراً مهماً في تشخيص غياب المستقبلات الصفيحية.
- 2- على الرغم من أن متلازمة برنارد سوليه نادرة الحدوث إلا أن دراستنا تبين أنه يمكن مصادفتها في نحو 38% من حالات اضطراب الإرقاء الأولي المترافقة بنقص صفيحات.
- 3- كما يمكن مصادفة متلازمة غلانزمان في نحو 79% من حالات اضطراب الإرقاء الأولي المترافقة بعدد سوي من الصفيحات.
- 4- ينصح باستقصاء المستقبلات الصفيحية أمام كل حالة اضطراب في الإرقاء الأولي بعد نفي الأسباب الأخرى غير المتعلقة بالصفيحات، وعدم المبادرة إلى إعطاء علاج مثبت للمناعة، أو استئصال الطحال قبل نفي وجود اضطراب في هذه المستقبلات.
- 5- ينصح بإدراج اختبار تكس الصفيحات لاستكمال استقصاء الحالات التي لا تكشفها تقنية الجريان الخلوي.
- 6- تبدي دراستنا أن زواج الأقارب يسهم بشكل مهم في وقوع مثل هذه الأمراض الوراثية.

References

- 1- Ramasamy I; Inherited bleeding disorders: disorders of platelet adhesion and aggregation. Crit Rev Oncol Hematol. 2004 Jan;49(1):1-35.
- 2- Simon D, Kunicki T, Nugent D; Platelet function defects. Haemophilia. 2008 Nov;14(6):1240-9.
- 3- Nurden P, Nurden AT; Congenital disorders associated with platelet dysfunctions. Thromb Haemost. 2008 Feb;99(2):253-63.
- 4- José A. López, Robert K. Andrews, Bernard-Soulier Syndrome .blood 1998, 91: 4397-4418 .
- 5- Nurden AT; Qualitative disorders of platelets and megakaryocytes. J Thromb Haemost. 2005 Aug;3(8):1773-82.
- 6- Nurden AT ; Glanzmann thrombasthenia; Orphanet J Rare Dis. 2006, Apr 6;1:10.
- 7- CL Balduini, A Iolascon, and A Savoia , Inherited thrombocytopenias: from genes to therapy ; Haematologica, Vol 87, Issue 8, 860-880 .
- 8- Nair S, Ghosh K, Kulkarni B; Glanzmann's thrombasthenia: updated. Platelets. 2002 Nov;13(7):387-93.
- 9 - Linden MD, Frelinger AL , Barnard MR, Przyklenk K, Michelson AD; Application of flow cytometry to platelet disorders. Semin Thromb Hemost 2004 Oct;30(5):501-11.
- 10- Philippe Nguyen, Nathalie Hezard, Sylvie Daliphhard,, Platelet function testing by flow cytometry. Hematologie 2003. 9, (5): 367-78.
- 11- Noris P, Arbustini E, Spedini P. A new variant of Bernard-Soulier syndrome characterized by dysfunctional glycoprotein (GP) Ib and severely reduced amounts of GPIX and GPV. Br J . Haematol. 1998 Dec;103(4):1004-13.
- 12- Poon MC ,Clinical use of recombinant human activated factor VII (rFVIIa) in the prevention and treatment of bleeding episodes in patients with Glanzmann's thrombasthenia. Vasc Health Risk Manag. 2007;3(5):655-64.
- 13- Poon MC, Zotz R, Di Minno G, Glanzmann's thrombasthenia treatment: a prospective observational registry on the use of recombinant human activated factor VII and other hemostatic agents. Semin Hematol. 2006 Jan;43(1 Suppl 1):S33-6.
- 14- Poon MC , The evidence for the use of recombinant human activated factor VII in the treatment of bleeding patients with quantitative and qualitative platelet disorders. Transfus Med Rev. 2007 Jul;21(3):223-36
- 15- van Buuren HR, Wielenga JJ ,Successful surgery using recombinant factor VIIa for recurrent, idiopathic nonulcer duodenal bleeding in a patient with Glanzmann's thrombasthenia. Dig Dis Sci. 2002 Sep;47(9):2134-6.

- 16- Afrasiabi A, Artoni A, Karimi M, Glanzmann thrombasthenia and Bernard-Soulier syndrome in south Iran ; Clin Lab Haematol. 2006 Aug;28(4):290.
- 17- Ahmed MA, Al-Sohaibani MO, Al-Mohaya SA, Inherited bleeding disorders in the Eastern Province of Saudi Arabia. Acta Haematol. 1988;79(4):202-6.
- 18- Awidi AS ; Increased incidence of Glanzmann's thrombasthenia in Jordan as compared with Scandinavia ; Scand J Haematol. 1983 Mar;30(3):218-22
- 19- Mor-Cohen R, Rosenberg N, Peretz H, Disulfide bond disruption by a beta 3-Cys549Arg mutation in six Jordanian families with Glanzmann thrombasthenia causes diminished production of constitutively active alpha IIb beta 3. Thromb Haemost. 2007 Dec;98(6):1257-65.
- 20- Seligsohn U, Rososhansky S, A Glanzmann's thrombasthenia cluster among Iraqi Jews in Israel; Thromb Haemost. 1984 Dec 29;52(3):230-1.
- 21- Cohn RJ, Sherman GG, Glencross DK, Flow cytometric analysis of platelet surface glycoproteins in the diagnosis of Bernard-Soulier syndrome, Pediatr Hematol Oncol. 1997 Jan-Feb;14(1):43-50 .
- 22- Bader-Meunier B, Proulle V, Misdiagnosis of chronic thrombocytopenia in childhood ; J Pediatr Hematol Oncol. 2003 Jul;25(7):548-52.
- 23- Jonathan G. Drachman ,Inherited thrombocytopenia: when a low platelet count does not mean ITP; blood 2004 103: 390-398.
- 24- Greinacher A, Zellner A, Brangenberg R, Bernard – Soulier syndrome. An important differential diagnosis in chronic thrombocytopenia with bleeding complications. Monatsschr Kinderheilkd. 1993 Jun, 141 (6): 483-6
- 25- Okan V, Araz M, Camci C, Bernard-Soulier syndrome in a Turkish family; Int J Clin Pract. 2002 Sep;56(7):546-8 .

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق: 2009/6/9

تاريخ قبوله للنشر: 2009/8/18.