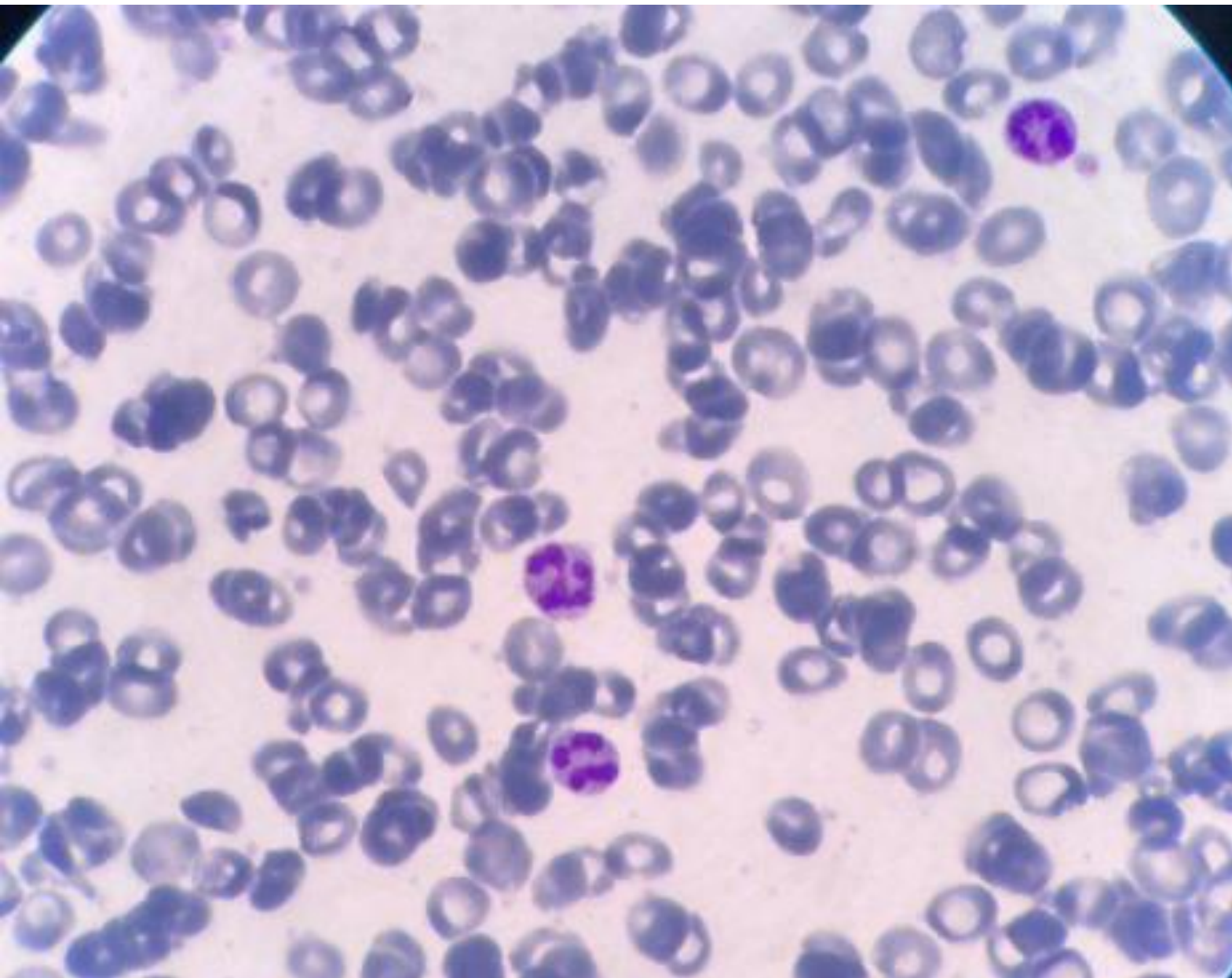




HEMATO-MORPHOLOGY WORKSHOP

Dr. N.V.Shiran

Ph.D of Lab Hematology-SBMU



Phosphate Buffer, Sørensen's

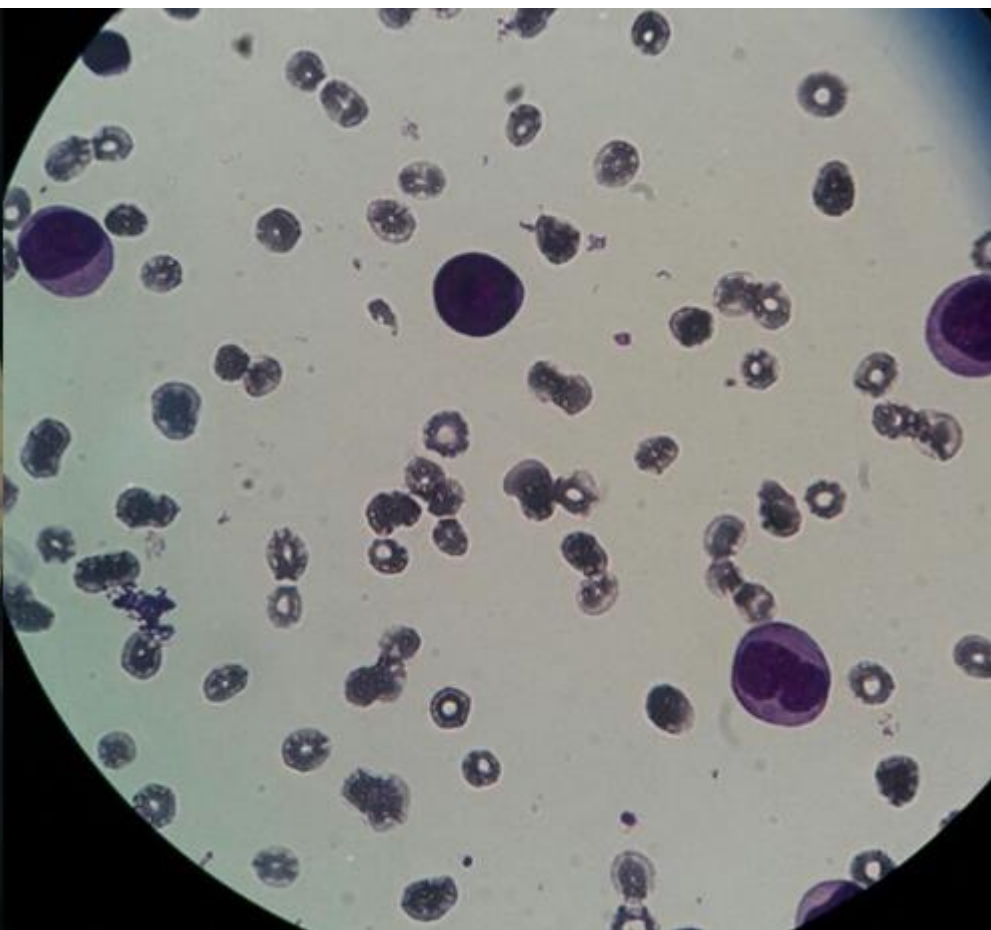
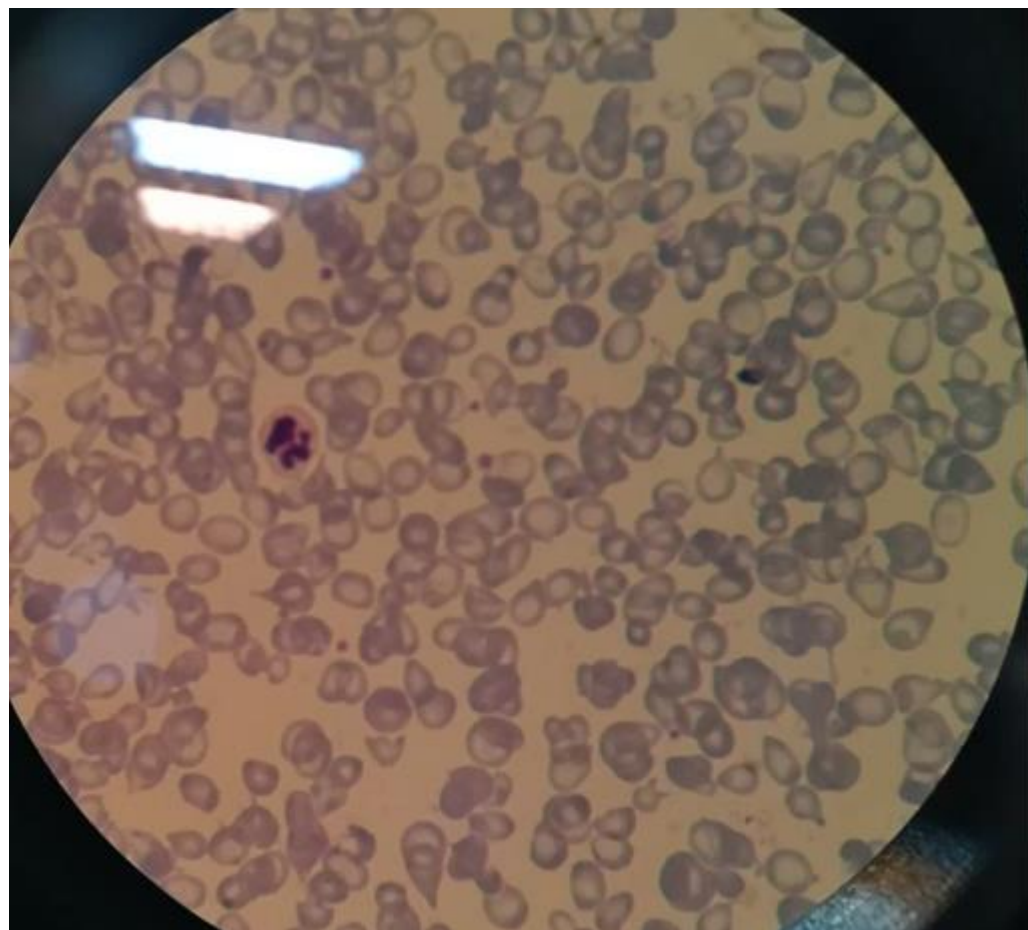
Stock solutions:

	66 mmol/l	100 mmol/l	150 mmol/l
(A) KH_2PO_4	9.1 g/l	13.8 g/l	20.7 g/l
(B) Na_2HPO_4	9.5 g/l	14.4 g/l	21.6 g/l
or $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	11.9 g/l	18.0 g/l	27.1 g/l

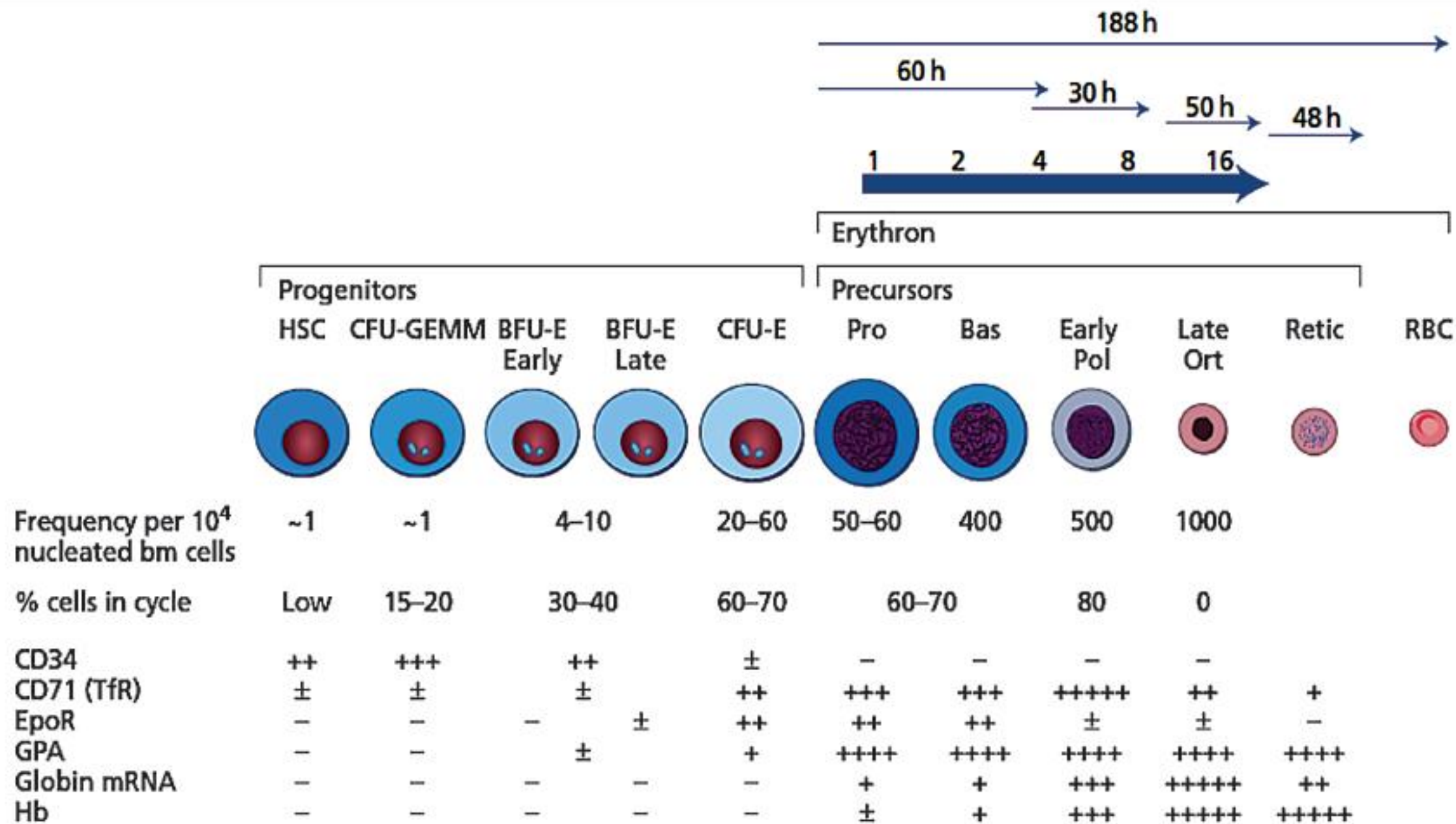
To obtain a solution of the required pH, add A and B in the indicated proportions:

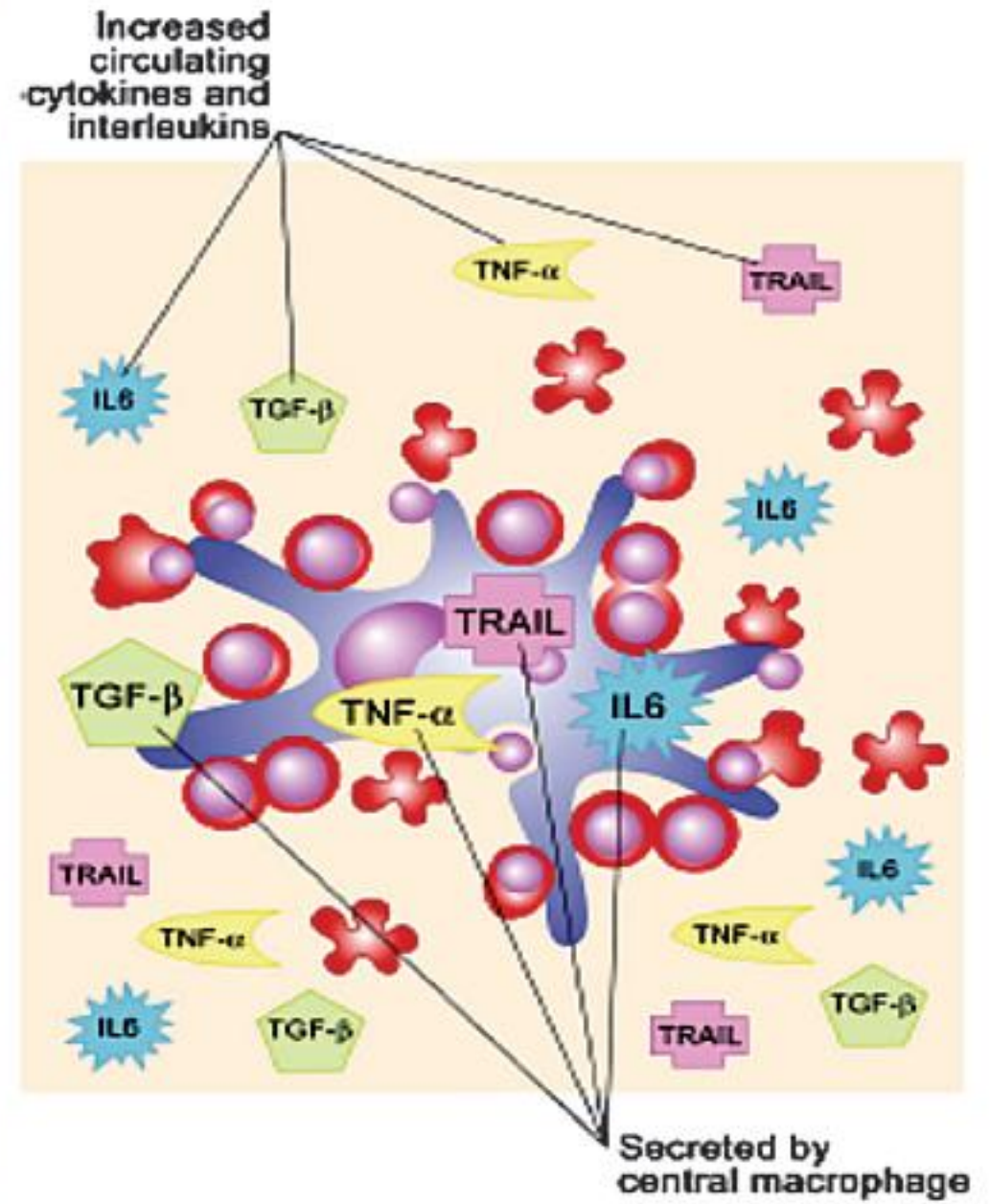
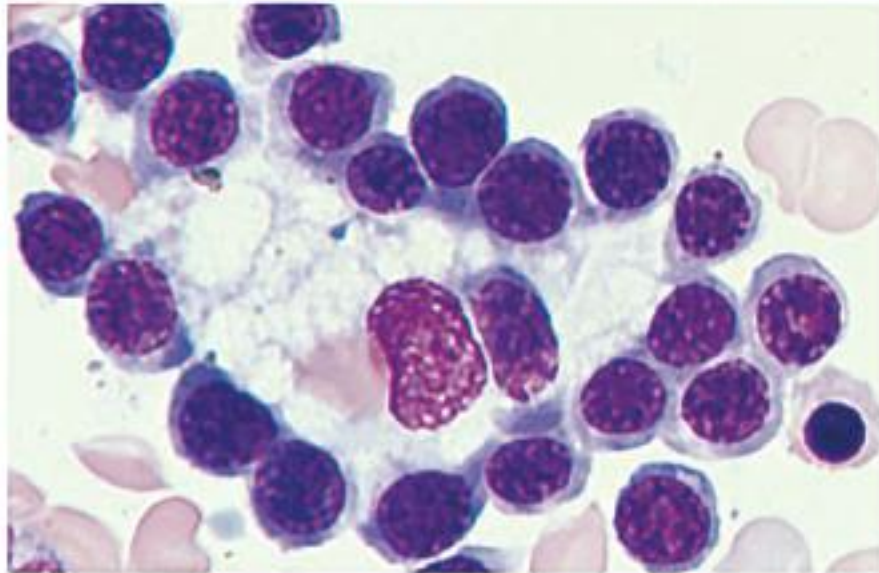
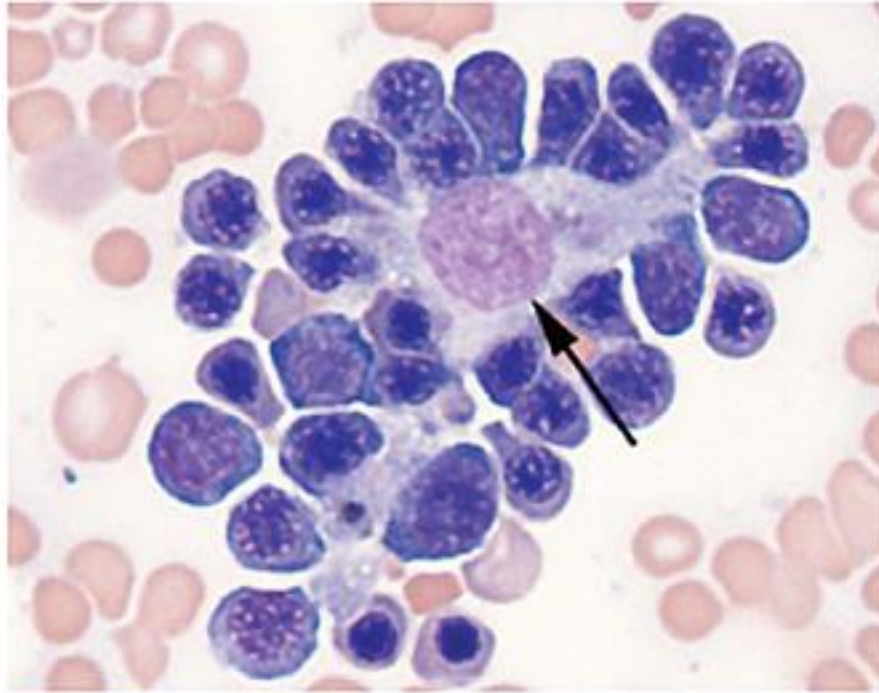
pH	A	B
5.4	97.0	3.0
5.6	95.0	5.0
5.8	92.2	7.8
6.0	88.0	12.0
6.2	81.0	19.0
6.4	73.0	27.0
6.6	63.0	37.0
6.8	50.8	49.2
7.0	38.9	61.1
7.2	28.0	72.0
7.4	19.2	80.8
7.6	13.0	87.0
7.8	8.5	91.5
8.0	5.5	94.5

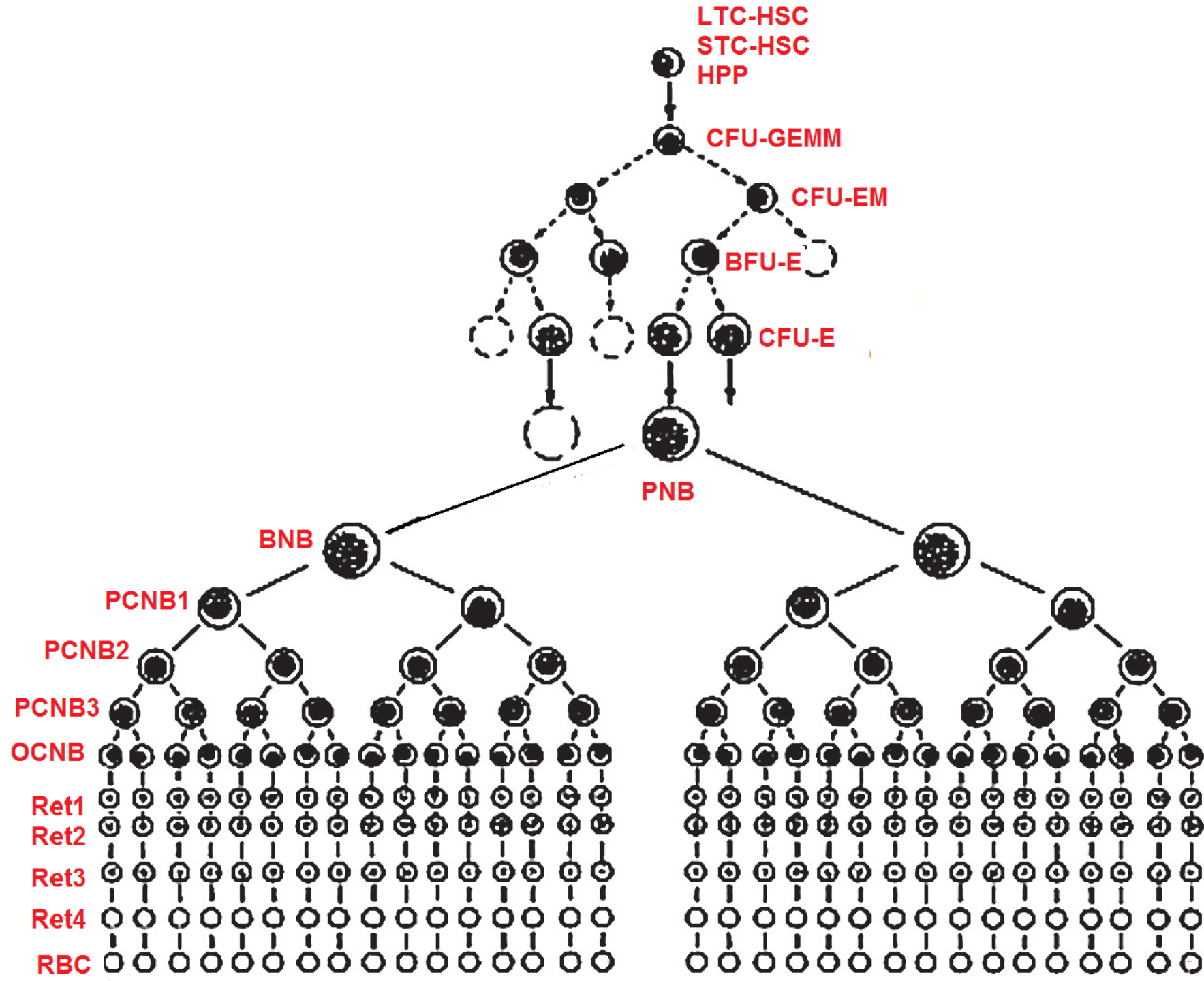
This buffer is not iso-osmotic with normal plasma

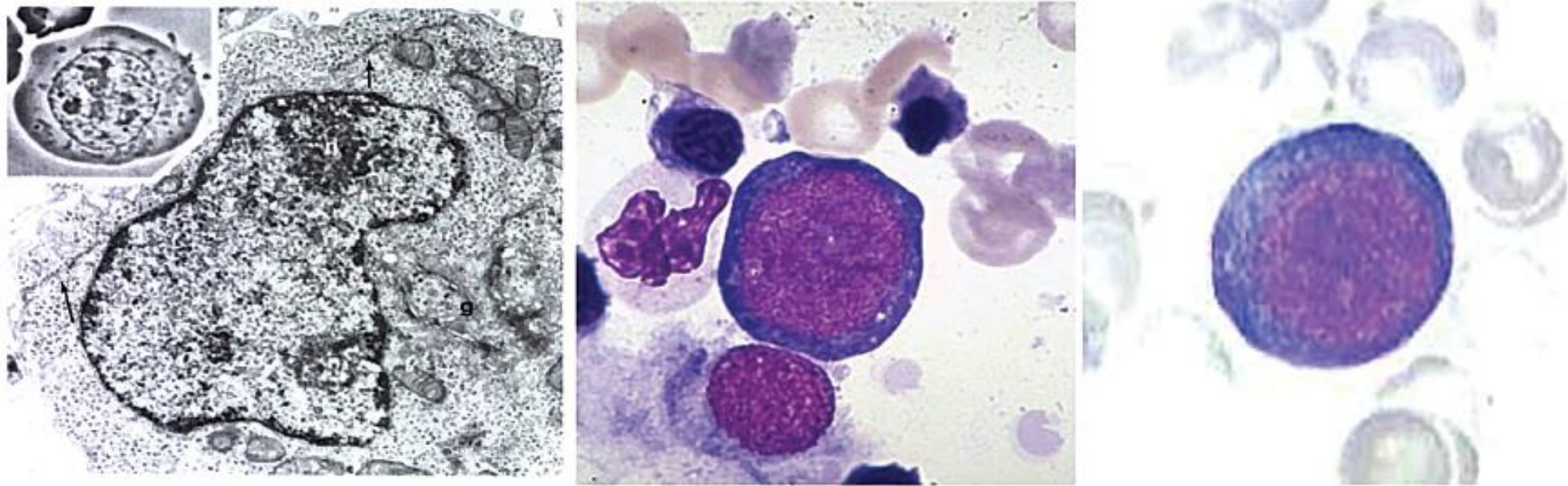


ERYTHROPOIESIS

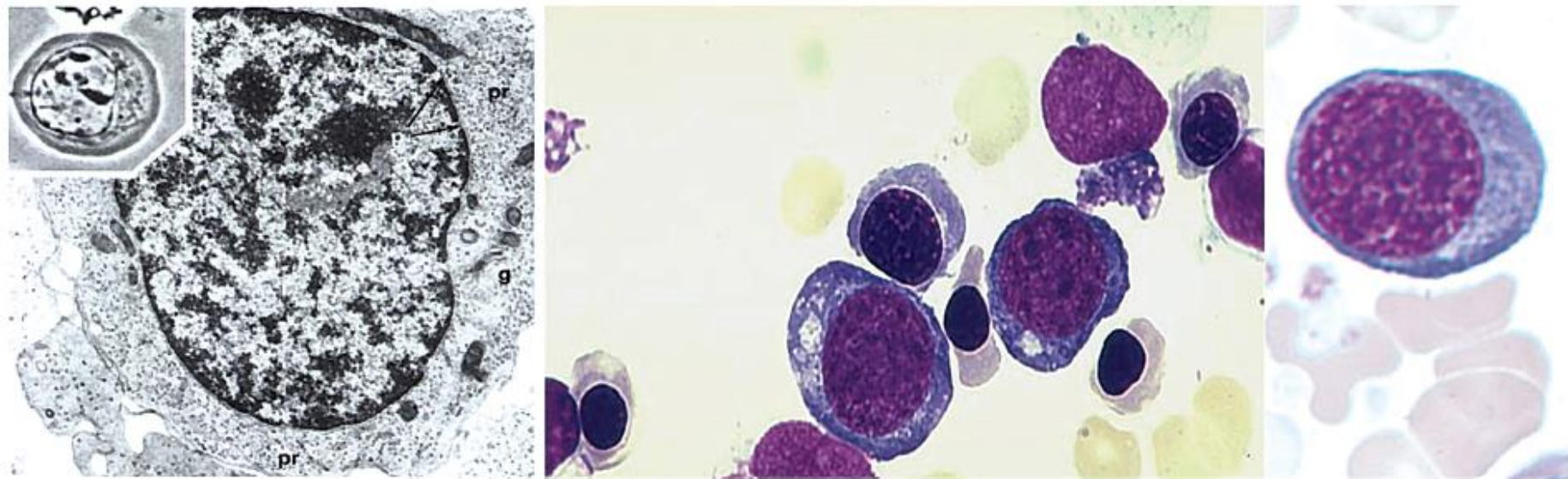




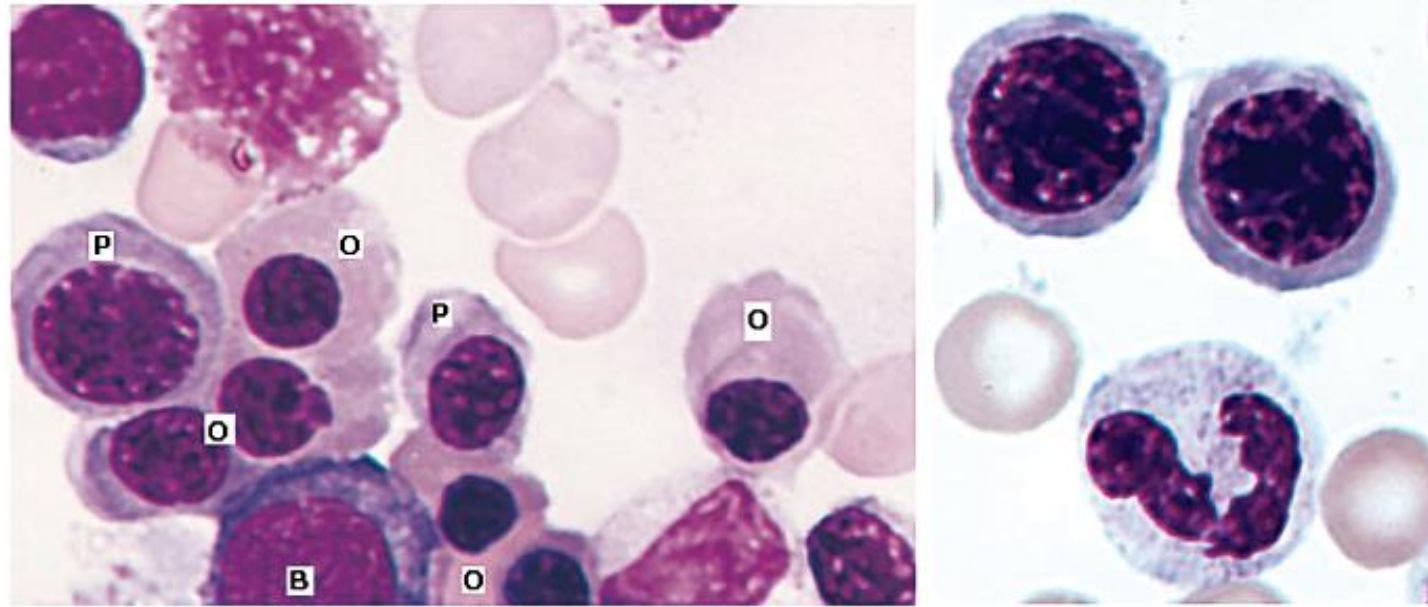




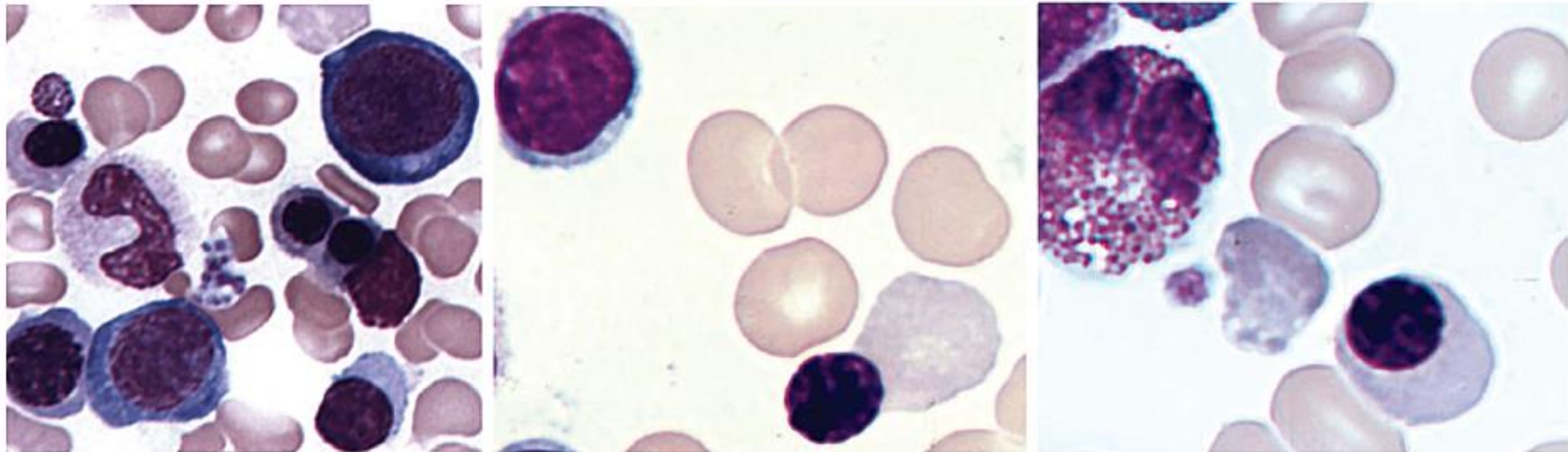
شکل ۴-۲۷: (راست و وسط) تصویر دو نورموبلاست بزرگ با کروماتین باز و ظریف، (چپ): تصویر TEM الکترونی از شبکه اندوپلاسمی وسیع (فلش) و گلژی (g) در اطراف هسته پرونورموبلاست.



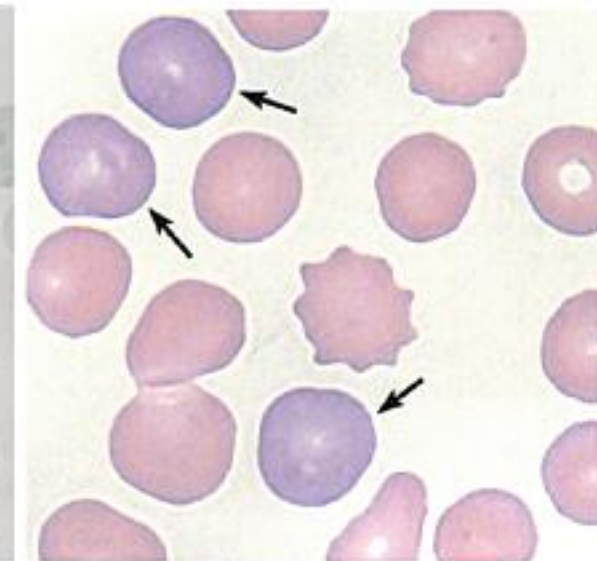
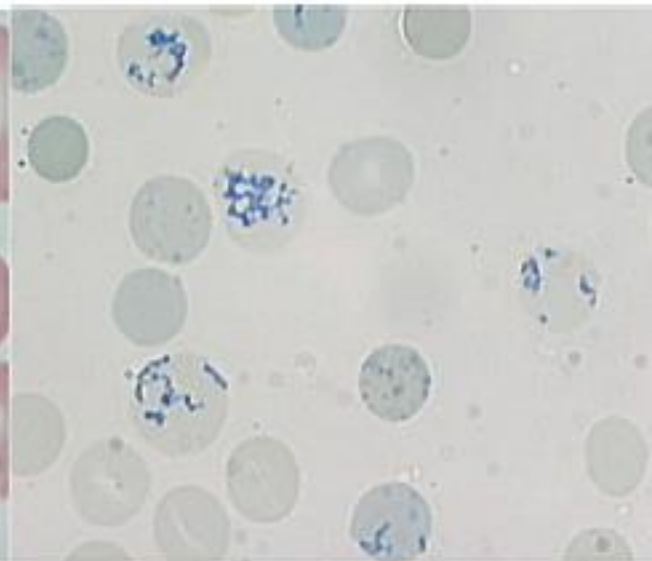
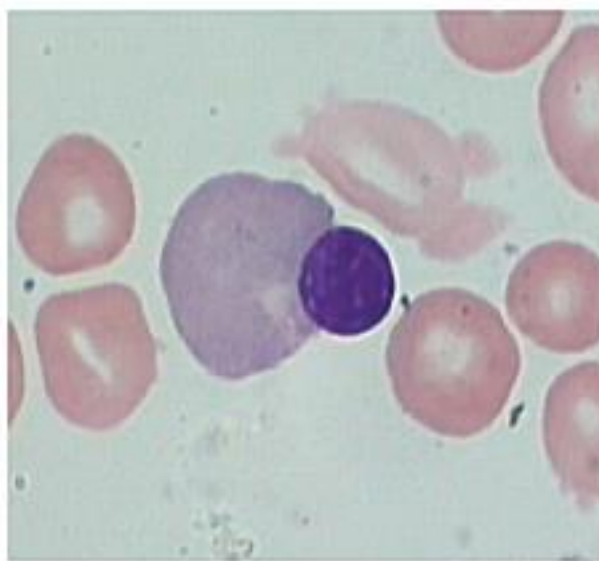
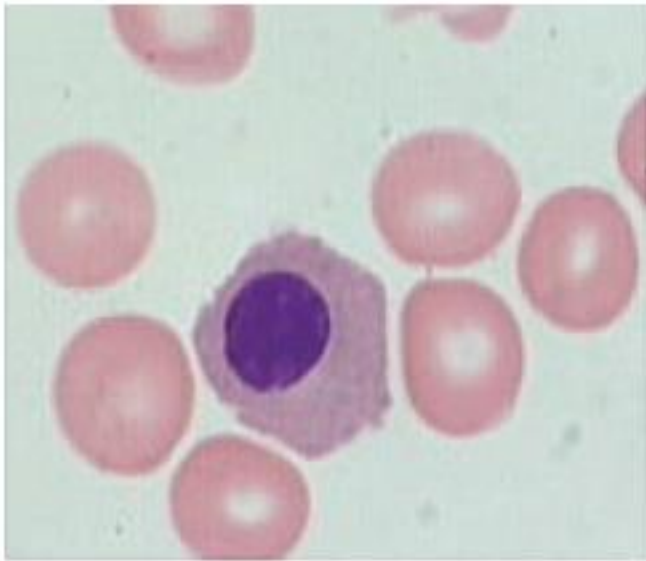
شکل ۵-۲۷: (تصویر راست و وسط): تصویر سه بازوفیلیک نورموبلاست در کنار دو PCN و سه OCN. تصویر سمت چپ: تصویر TEM از سوراخ‌های هسته (P)، پلی‌ریبوزوم (Pr) و دستگاه گلژی (g) و کاهش شبکه اندوپلاسمی [۲۵].



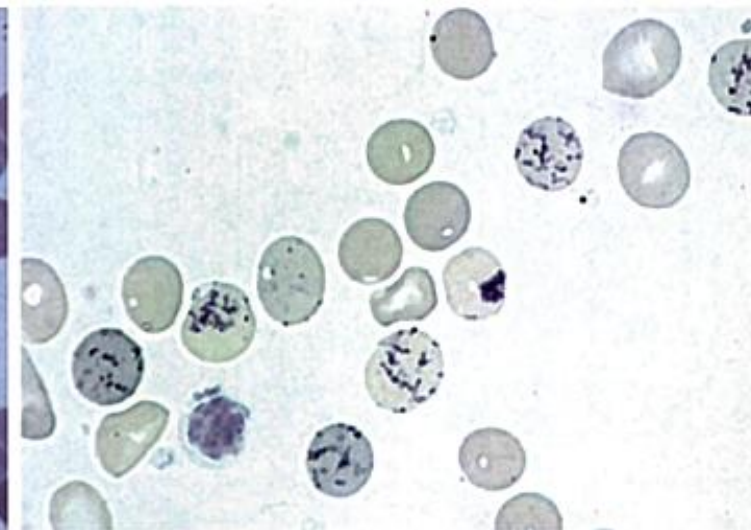
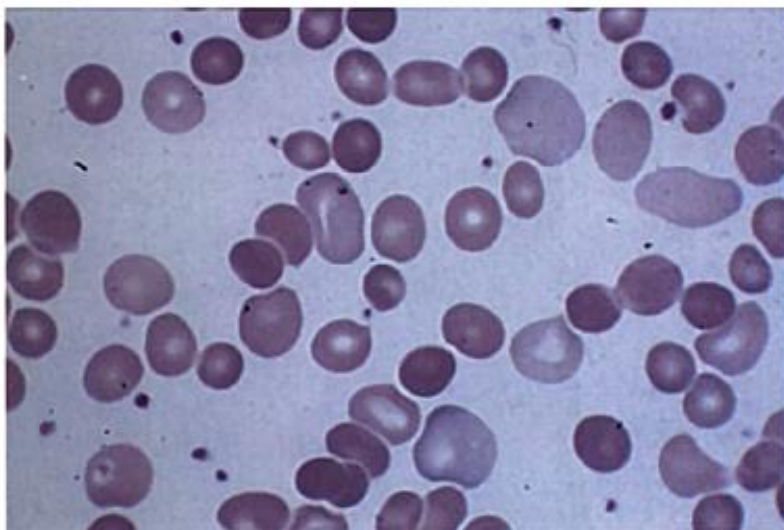
شکل ۶-۲۷: تصویر راست) دو پرونورموبلاست و یک متامیلوسیت نوتروفیلی، چپ)، یک بازوفیلیک نورموبلاست (B) و دو پلی کروماتوفیلیک نورموبلاست (P) و ۶ اورتوکروماتوفیلیک نورموبلاست.



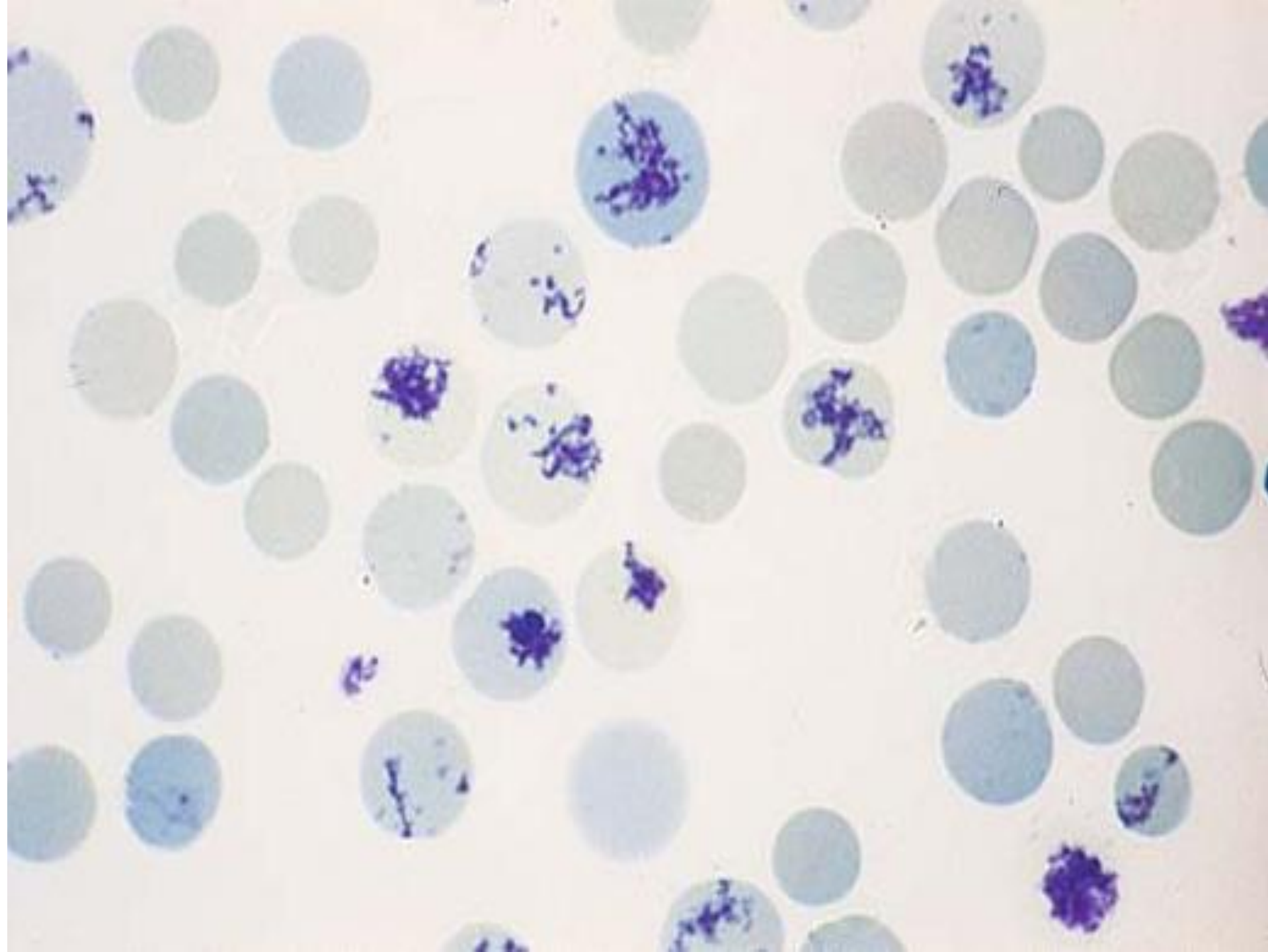
شکل ۷-۲۷: تصویر راست) یک اورتوکروماتیک نورموبلاست و یک انوزینوفیل، تصویر وسط) یک اورتوکروماتیک نورموبلاست در حال خارج کردن هسته و تصویر چپ) یک پرونورموبلاست، یک بازوفیلیک نورموبلاست، یک پلی کروماتوفیلیک نورموبلاست، سه اورتوکروماتیک نورموبلاست در کنار یک پلاسماسل و یک متامیلوسیت.



شکل ۱۱-۲۷: از راست به چپ: (۱) سلول‌های پلی کروماتوفیل (معادل رتیک در خون محیطی)، (۲) رسوب داخل سلولی رتیکولوسیت، (۳) هسته در حال خروج از OCN که به شکل گیری پیرنوسیت ختم می‌شود و (۴) یک RBC هسته‌دار یا N-RBC که معادل OCN در خون محیطی محسوب می‌شود.

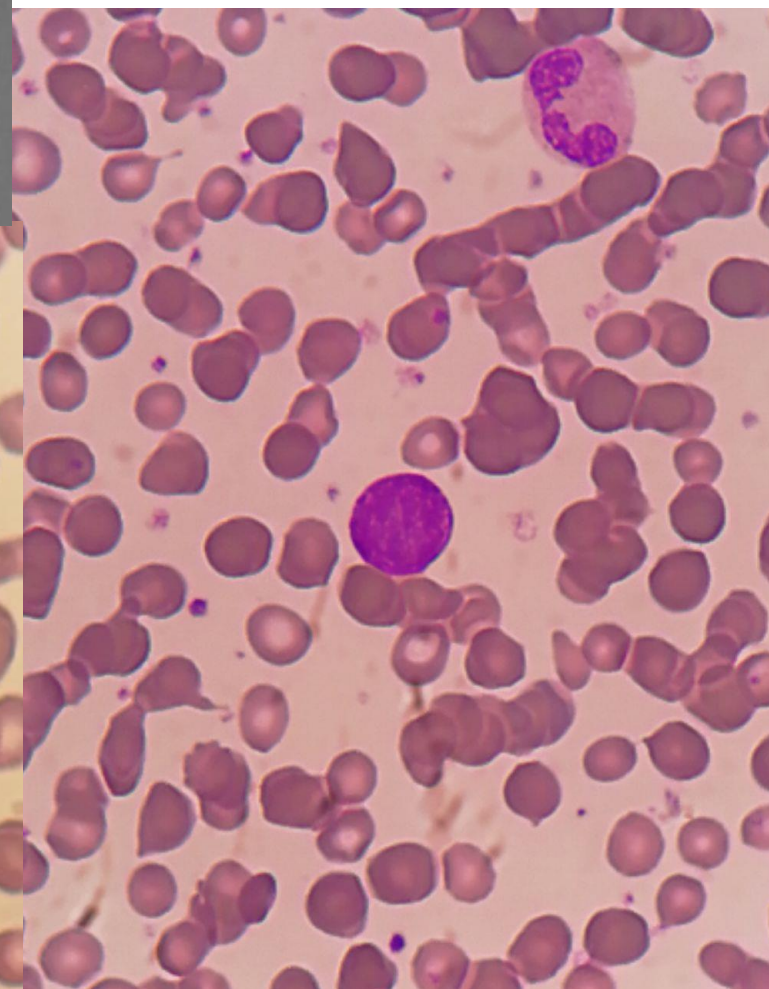
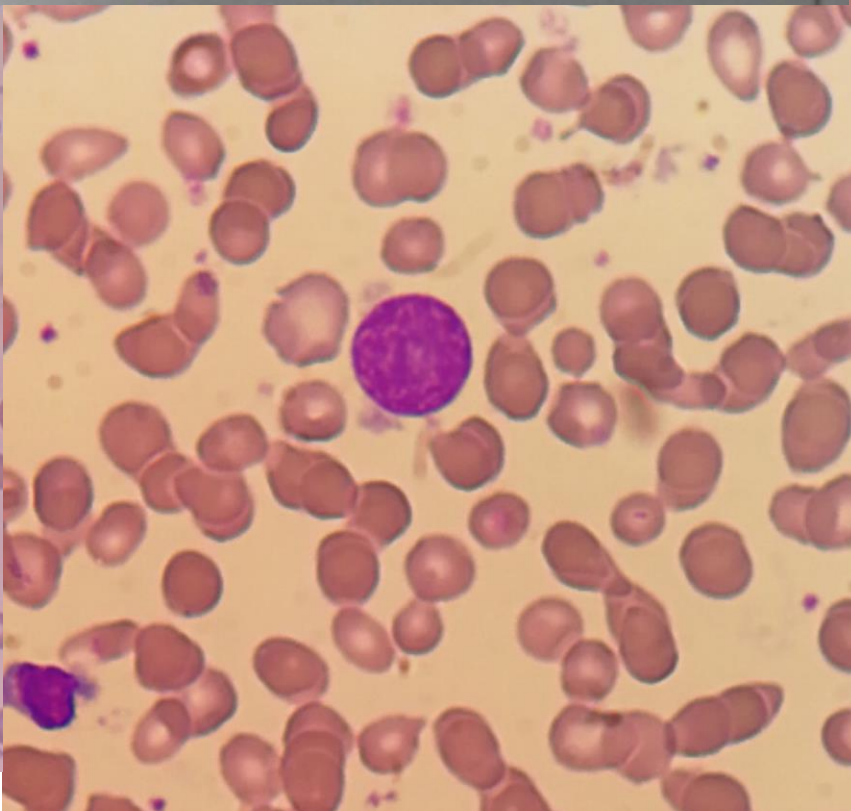
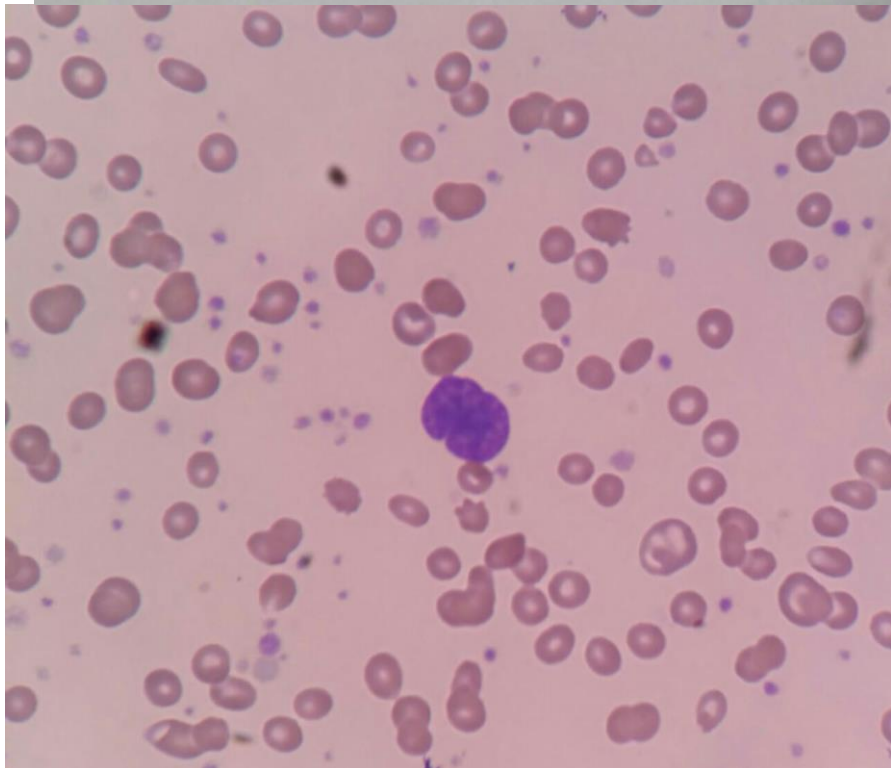


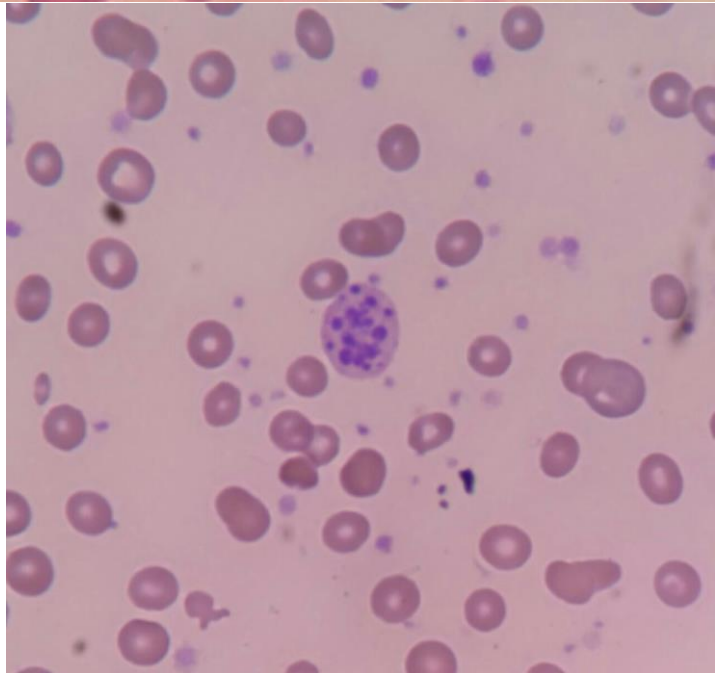
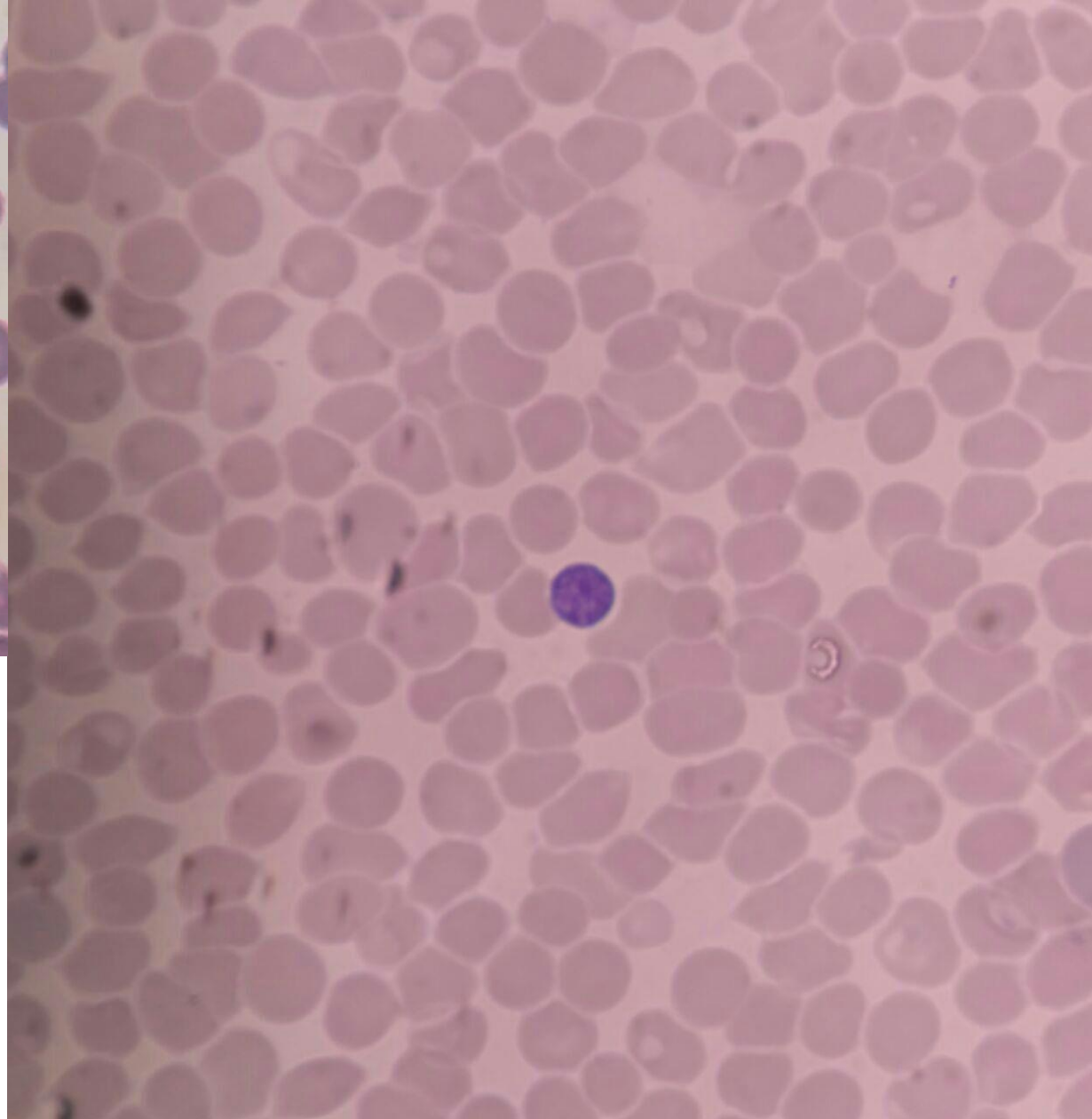
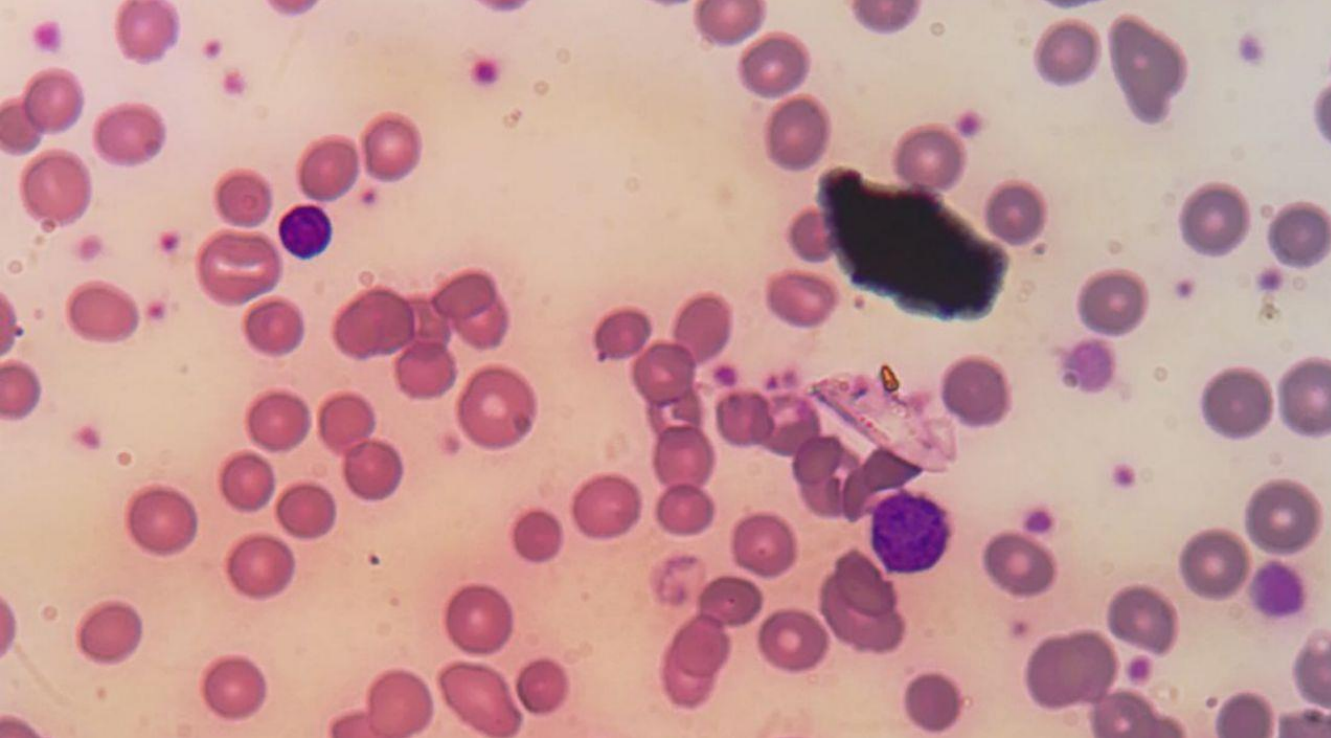
شکل ۱۷-۲۷: منظره پلی کرومازی در خون محیطی رنگ شده با زنگ آمیزی رایت- گیمسا (شکل سمت چپ) و رنگ آمیزی حیاتی BCB از همان بیمار که رتیکولوسیتوز مشخصی را نشان می‌دهد (شکل سمت راست).

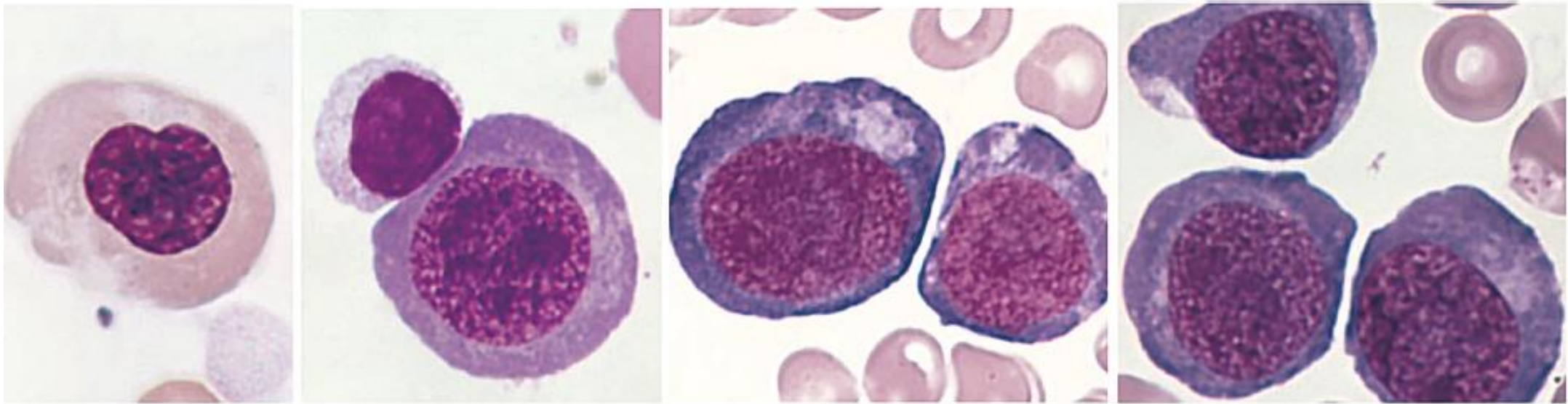


B

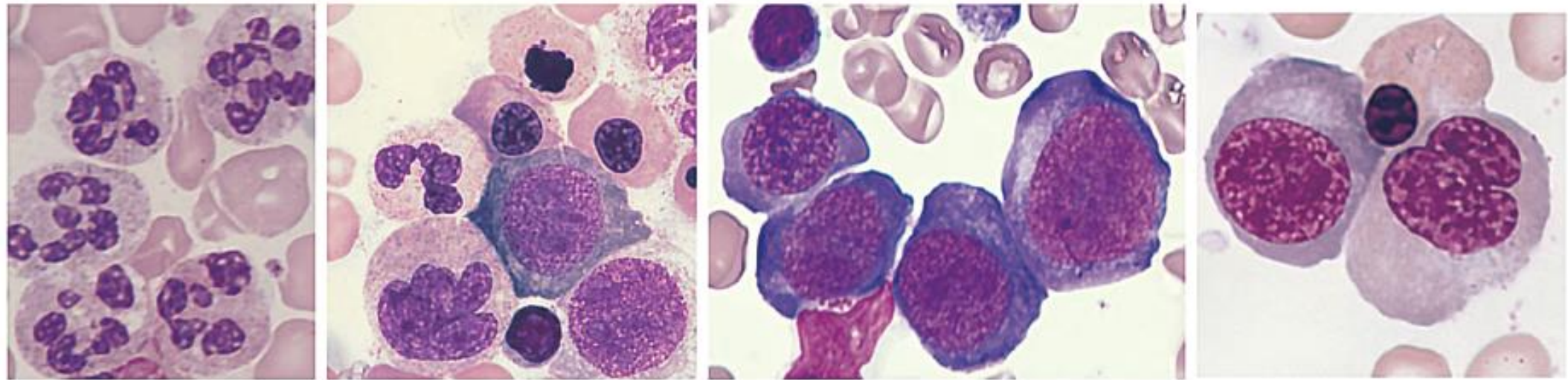
20	PLT	59	RL	$10^9/L$	135 - 440
21	MPV	17.0	RH	fL	6.5 - 12.0
22	PDW	16.3	R		15.0 - 17.0
23	PCT	0.101	RL	%	0.108 - 0.282
24	P-LCC	43	R	$10^9/L$	30 - 90
25	P-LCR	72.9	RH	%	11.0 - 45.0





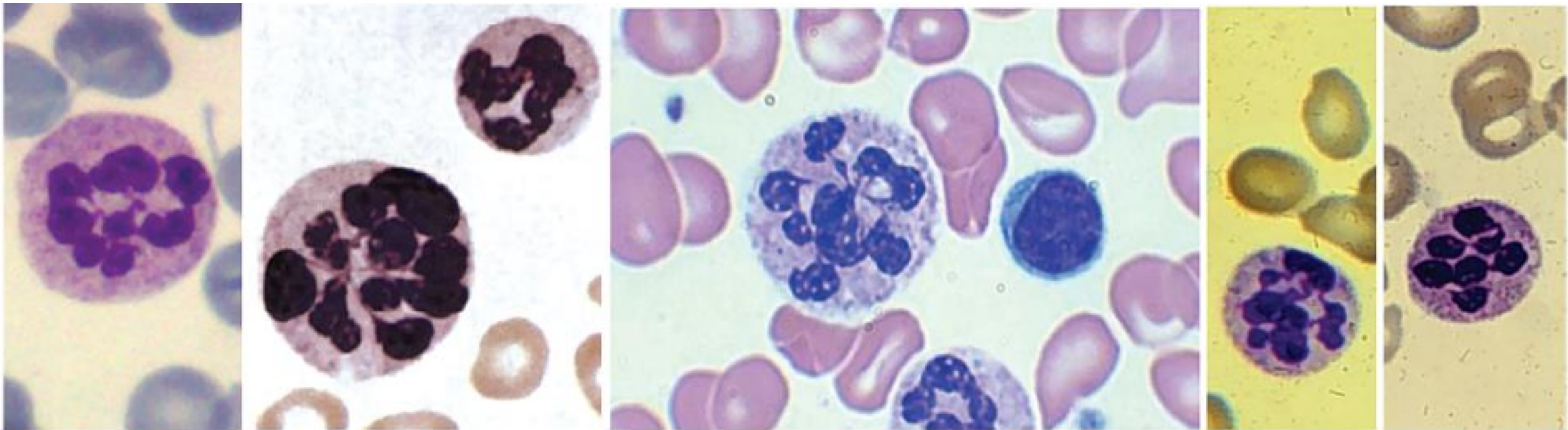


شکل ۱۵-۲۷: از راست به چپ: (۱) پرومگالوبلاست، (۲) بازوفیلیک مگالوبلاست، (۳) پلی کروماتوفیلیک مگالوبلاست و (۴) اورتوکروماتوفیلیک مگالوبلاست [۲۵]

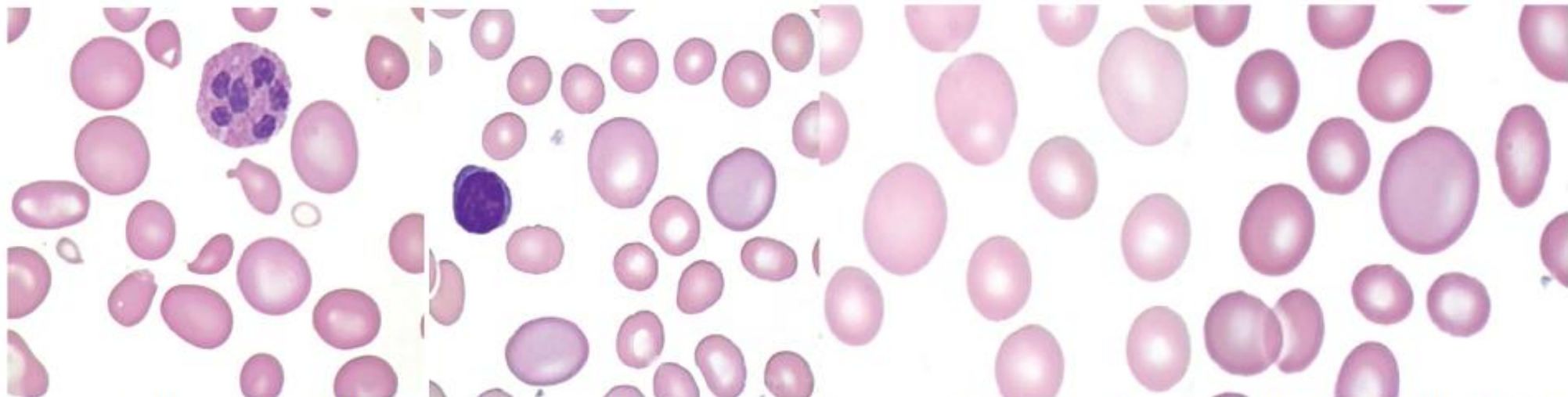


شکل ۱۶-۲۷: از راست به چپ: (۱) بازوفیلیک، پلی کروماتوفیلیک و اورتوکروماتوفیلیک مگالوبلاست در حال خروج هسته، (۲) پرومگالوبلاست، بازوفیلیک مگالوبلاست و پلی کروماتوفیلیک، (۳) جایانت باند، بازوفیلیک و چندین اورتوکروماتوفیلیک مگالوبلاست به همراه یک هسته پیکنوتیک و (۴) نوتروفیل‌های هایپرسمانته و یک انوزینوفیل در آنمی مگالوبلاستیک ناشی از فقر Vit-B12

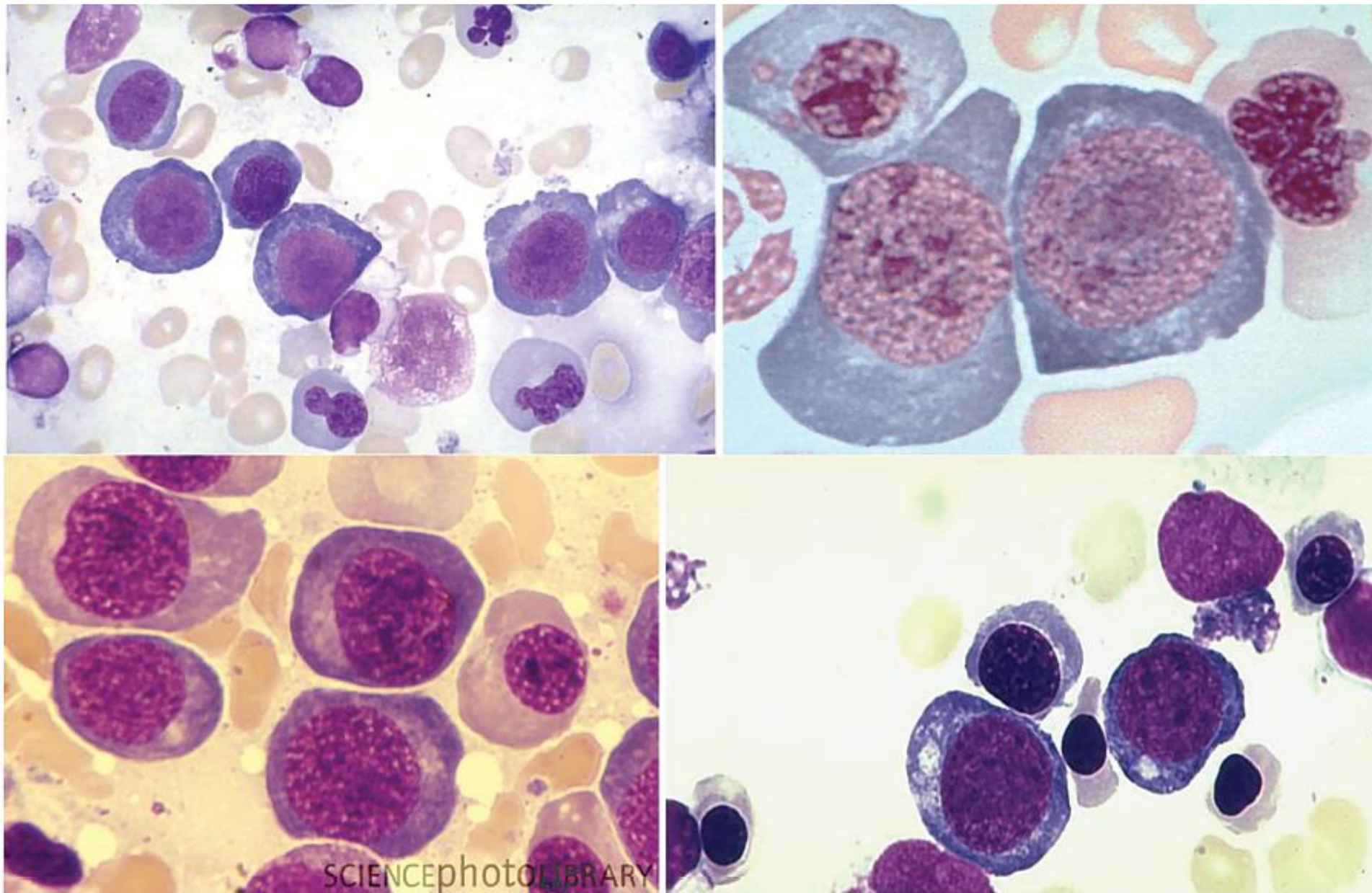
هفته	جدول ۴-۴۲: ترتیب ظهور علائم آزمایشگاهی در آنمی مگالوبلاستیک ناشی از فقر فولات [۶]
هفته ۳	کاهش فولات سرم
هفته ۵	افزایش نوتروفیل هیپرسگمانته در BM
هفته ۷	افزایش نوتروفیل هیپرسگمانته در خون، افزایش سلولهای میتوتیک، افزایش J-BNB در BM
هفته ۱۰	افزایش جایانت متامیلوسیت و J-PcNB در BM
هفته ۱۳	افزایش هموسیستئین و FIGLU
هفته ۱۷	کاهش فولات داخل اریتروسیت
هفته ۱۸	ظهور ماکروواوالوسیت و افزایش شدید جایانت متامیلوسیت
هفته ۱۹	مگالوئید شدن BM در تمامی رده‌های سلولی
هفته ۲۰	آنمی مگالوبلاستیک توأم با پان سیتوپنی و افت هموگلوبین



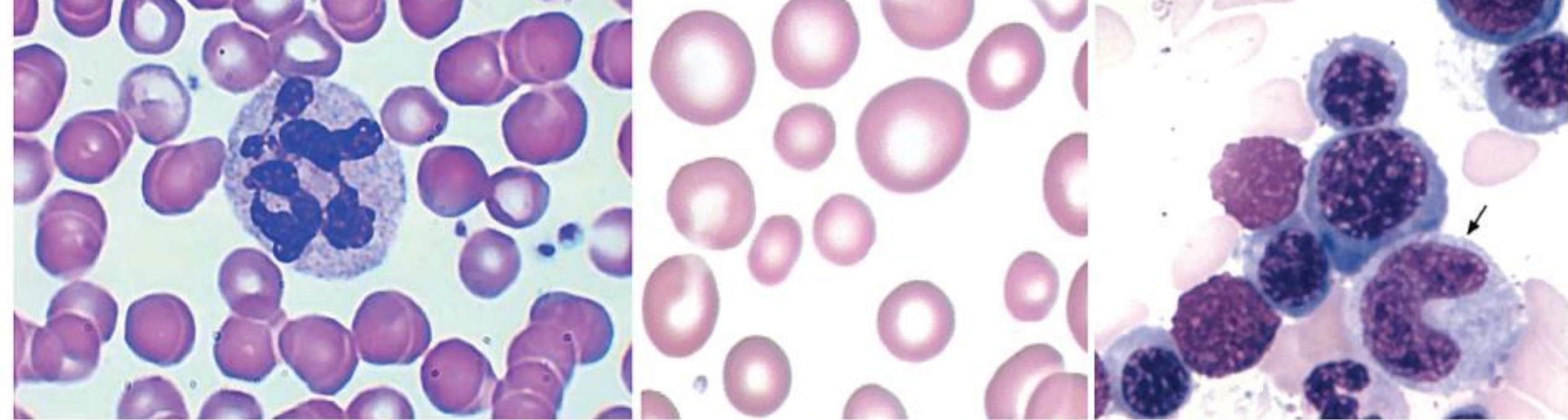
شکل ۴۱-۴۲: نوتروفیل‌های هیپرسگمانته یا ماکروپلیسیت که تعداد بالای ۵٪ نوتروفیل ۵ سگمانته یا حتی یک عدد نوتروفیل ۸-۶ سگمانته دلالت بر نوتروفیل هیپرسگمانته و بروز آنمی مگالوبلاستیک دارد. این منظره در آنمی فقر آهن شدید و چند بیماری دیگر نیز ممکن است مشاهده شود [۲۴].



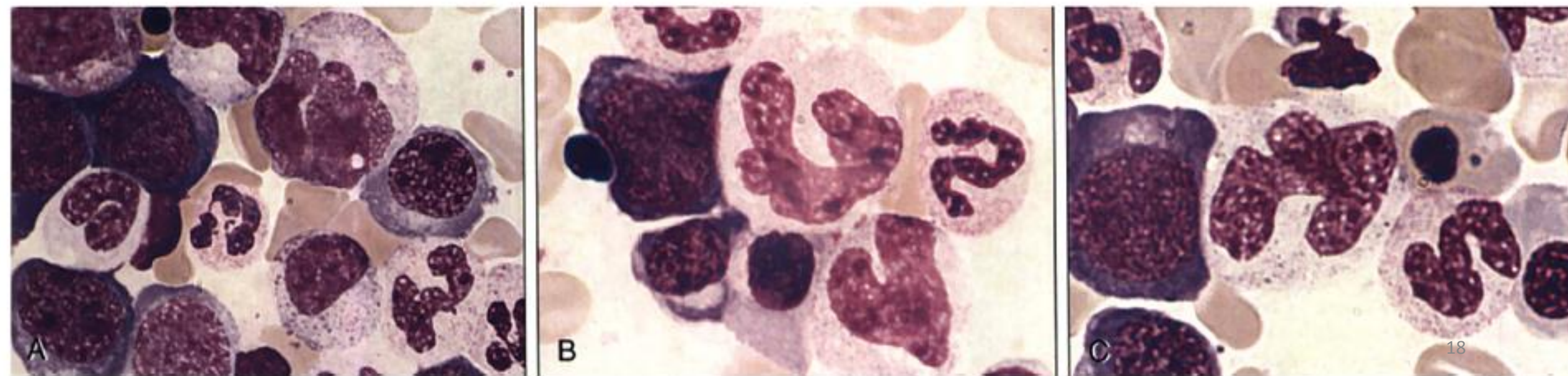
شکل ۴۳-۴۴: ماکروسیتوز محسوس اریتروسیت‌ها که با درجات متوسطی از آنیزوسیتوز، پوئیکیلوسیتوز و حضور ماکروواالوسیت‌ها، میکروسیت‌ها و سلول‌های داکروسیت همراه می‌باشد. برای درک ماکروسیتوز، سلول‌های نرمال را در کنار آنها مقایسه کنید. نکته جالب اینکه علی‌رغم ماکروسیتوز و افزایش MCV، تعداد قابل توجهی میکروسیت نیز رویت می‌شود.

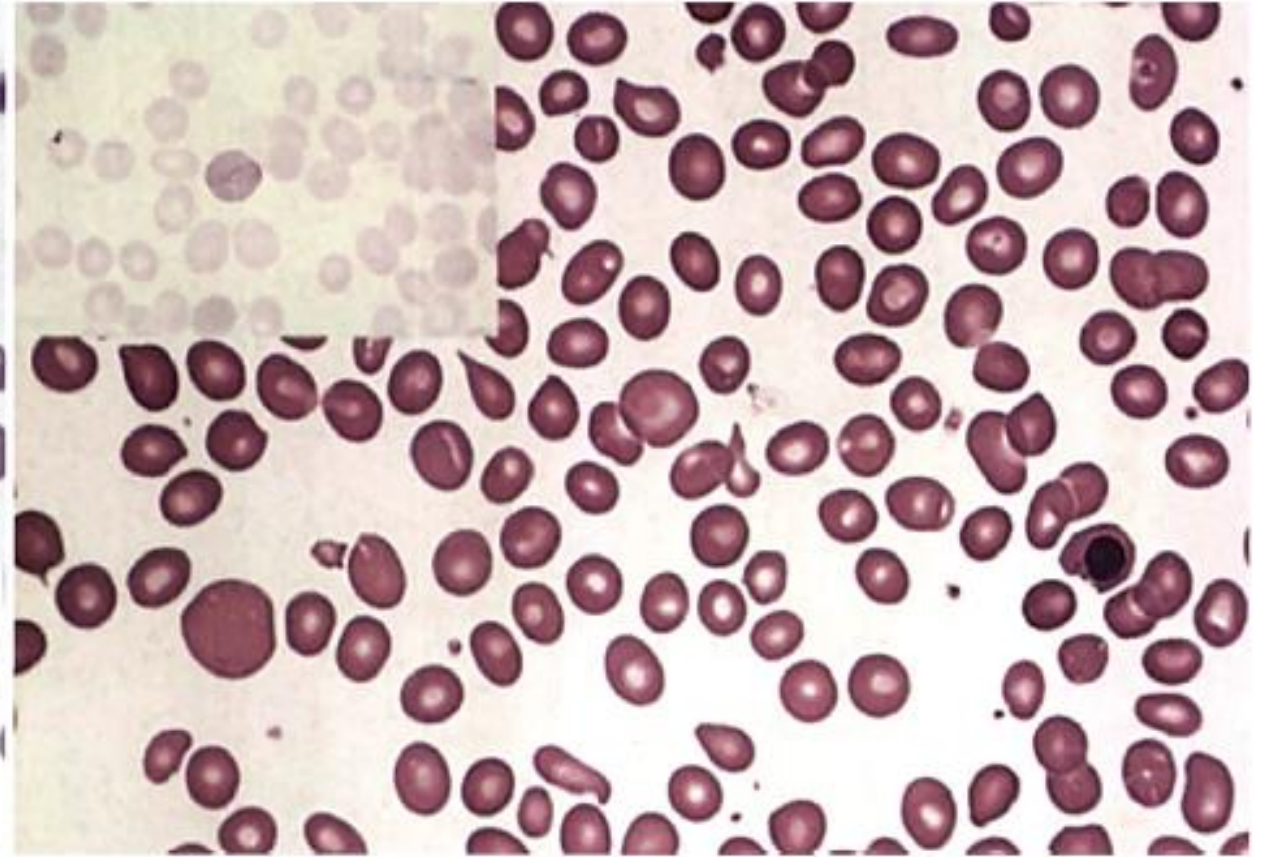
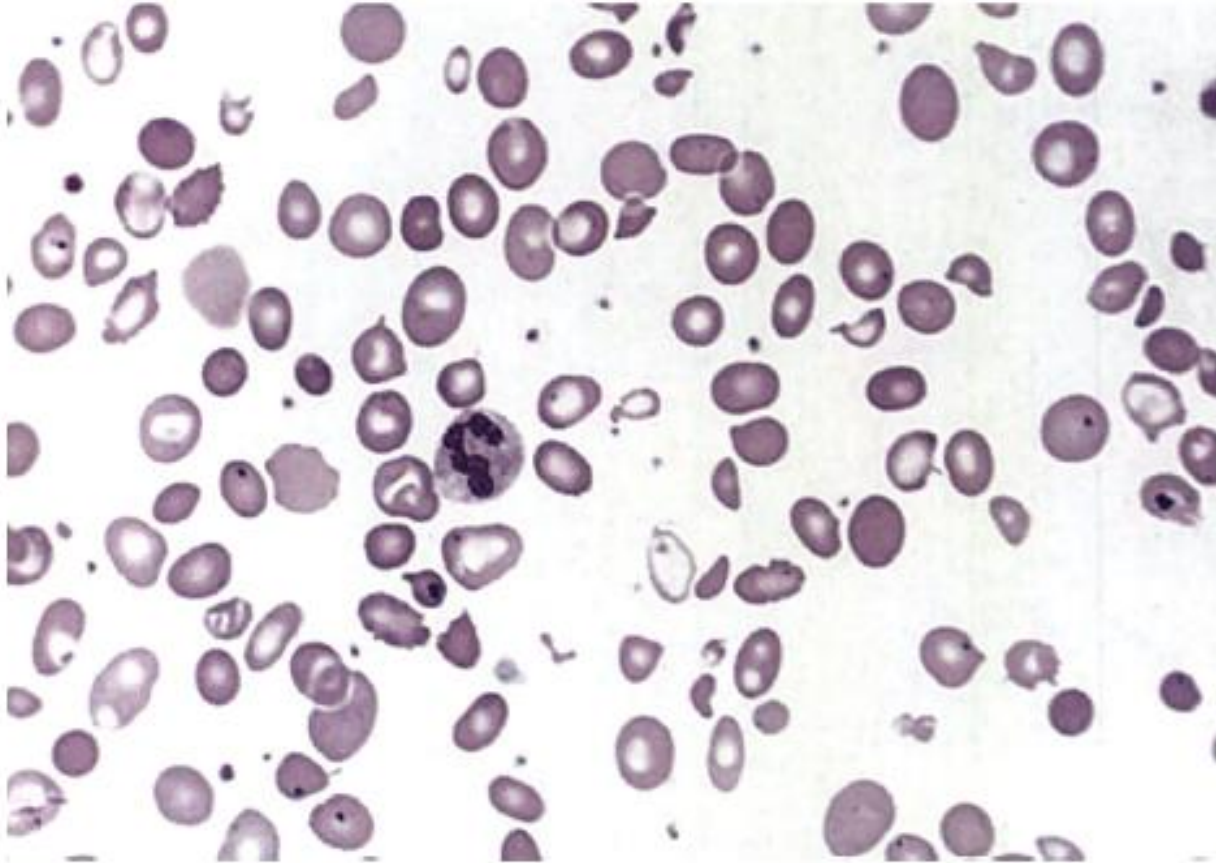


شکل ۴۲-۴۳: نورموبلاست‌های بزرگ و جایانت (به‌ویژه J-BNB و J-PcNB) در آنمی مگالوبلاستیک که با درجات بالایی از دیسپلازی اریتروئیدی و کروماتین لانه زنبوری (حتی در OcNB) همراه می‌باشد.

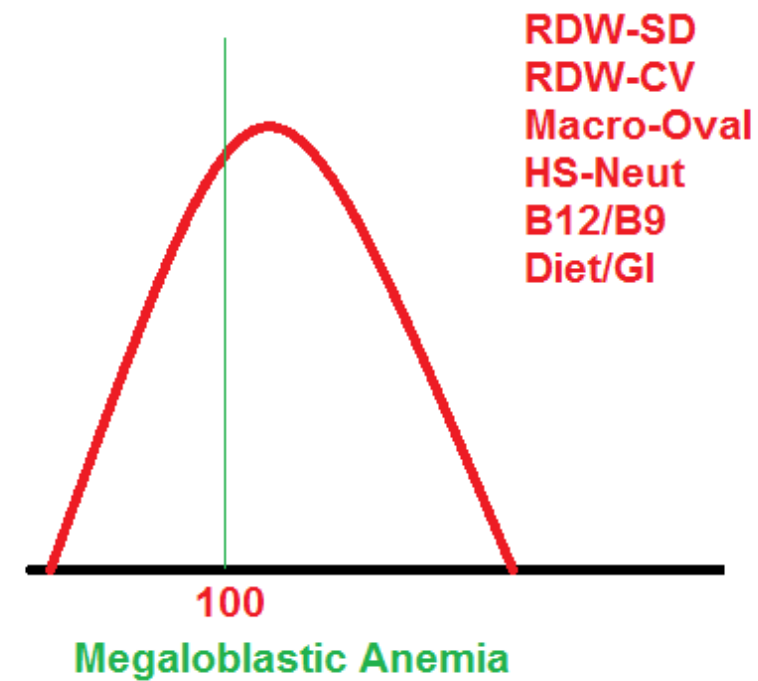
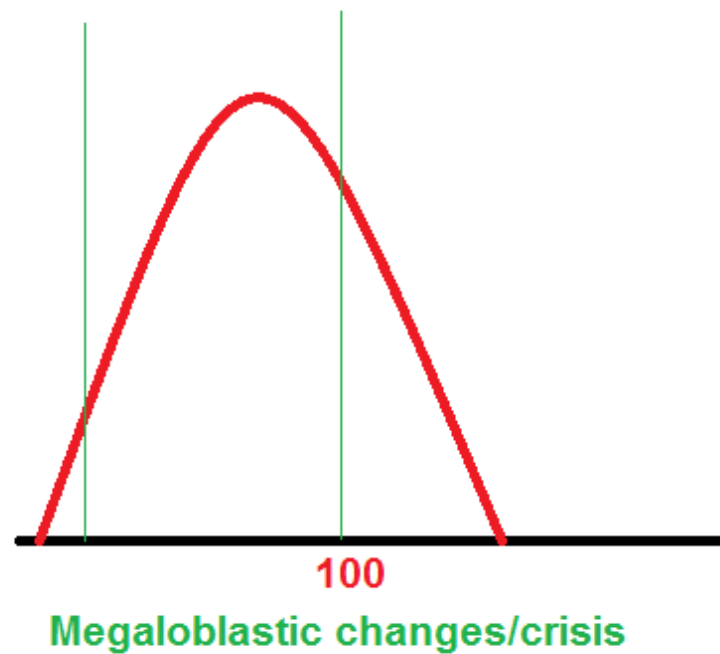
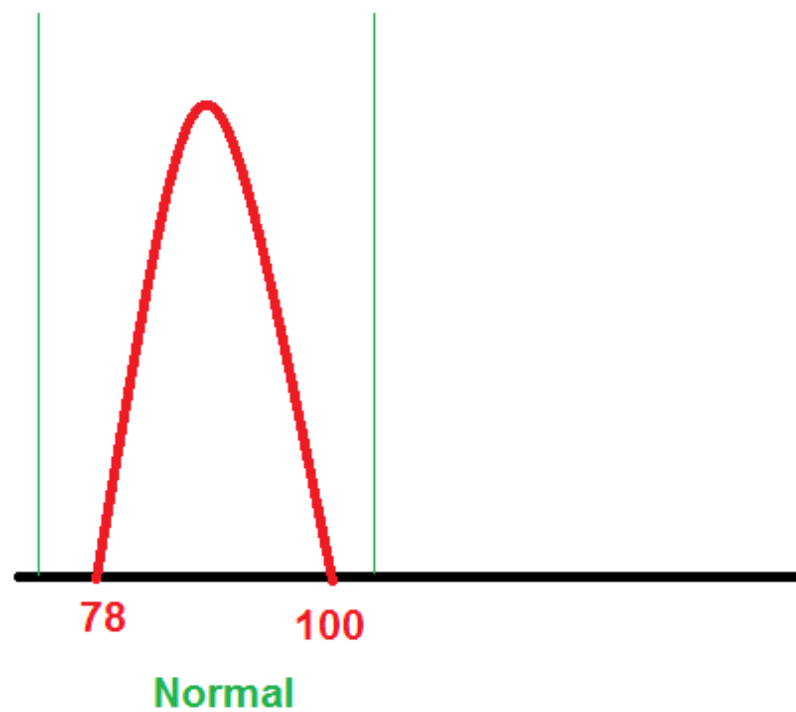


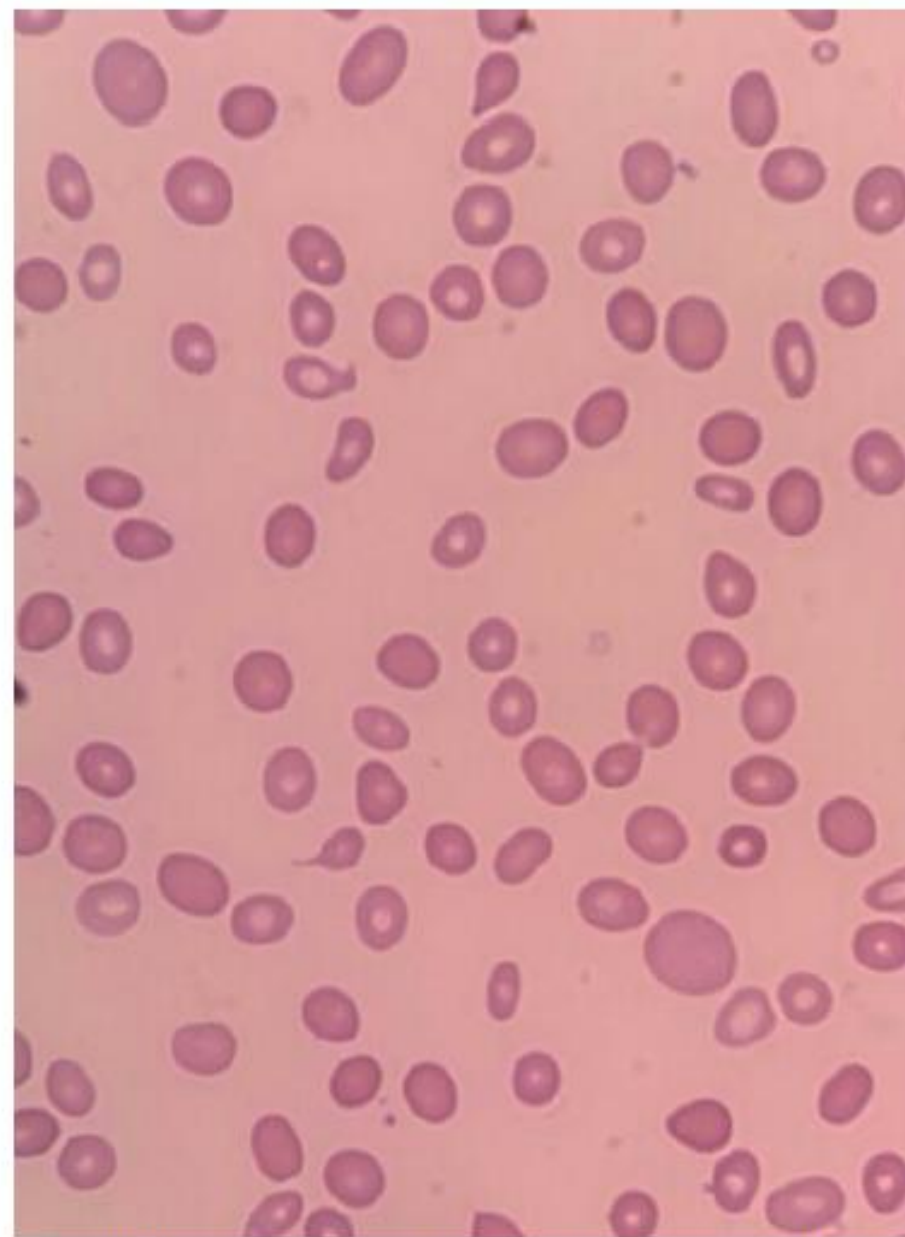
شکل ۴۶-۴۲: راست) جایانت متامیلوسیت، وسط) ماکروسیتوز و چپ) نوتروفیل هیپرسگمانته در آنمی مگالوبلاستیک



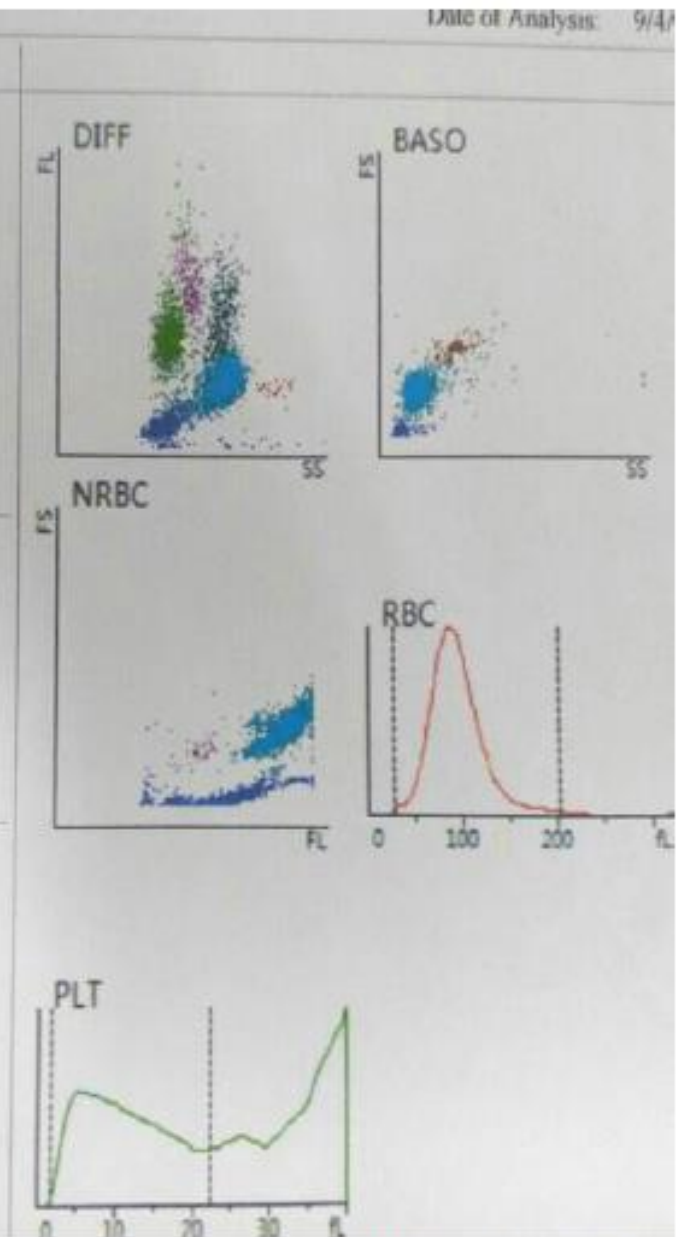


شکل ۴۹-۴۲: آنیزوسیتوز متوسط به همراه کابوت رینگ (تصویر راست-بالا)، داکروسیت، میکروسیت و N-RBC، تصویر چپ) آنیزوسیتوز شدید به همراه اجسام هاول جولی در بیمار مبتلا به آنمی پرئیشیوز و آتروفی طحالی

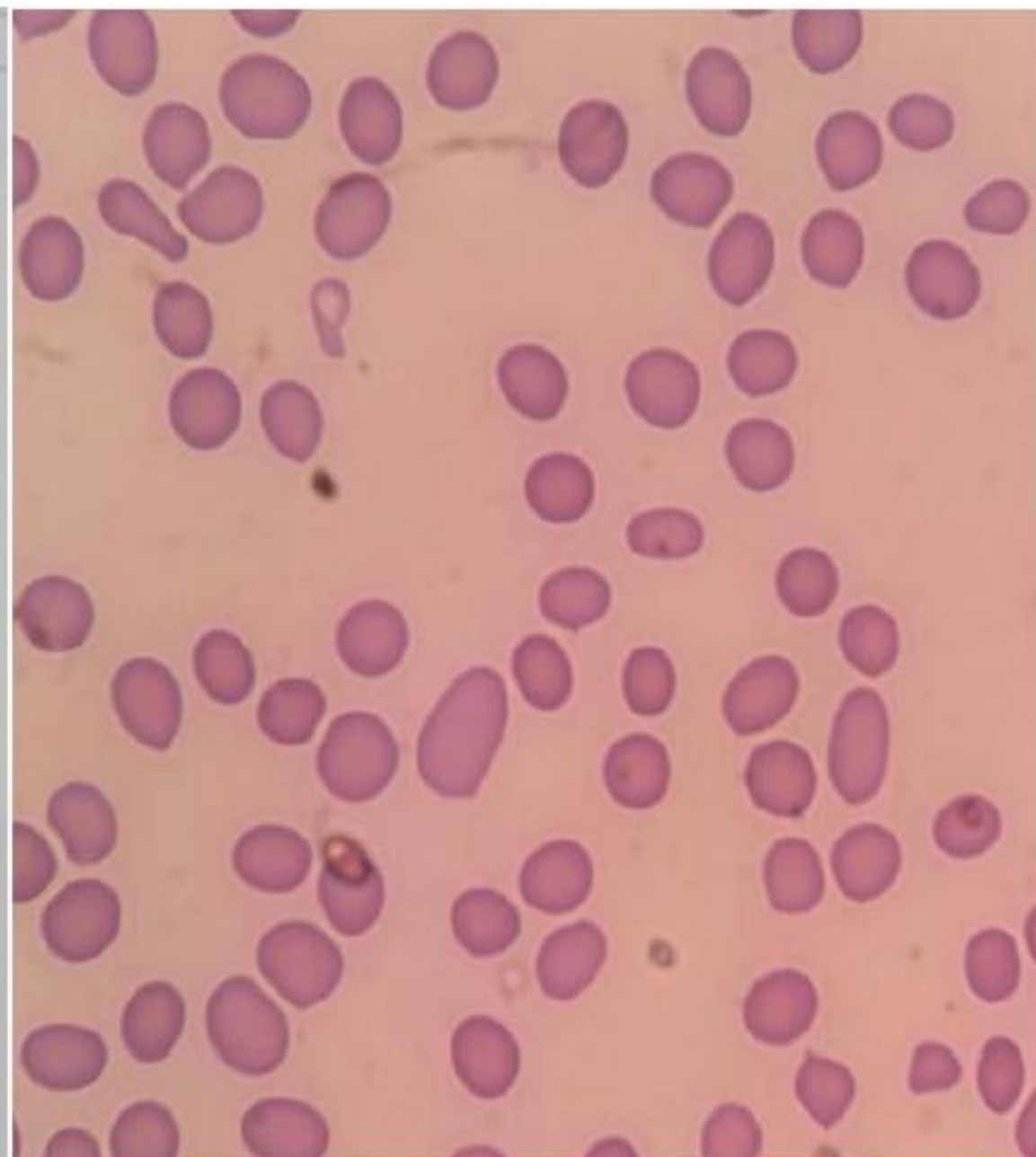
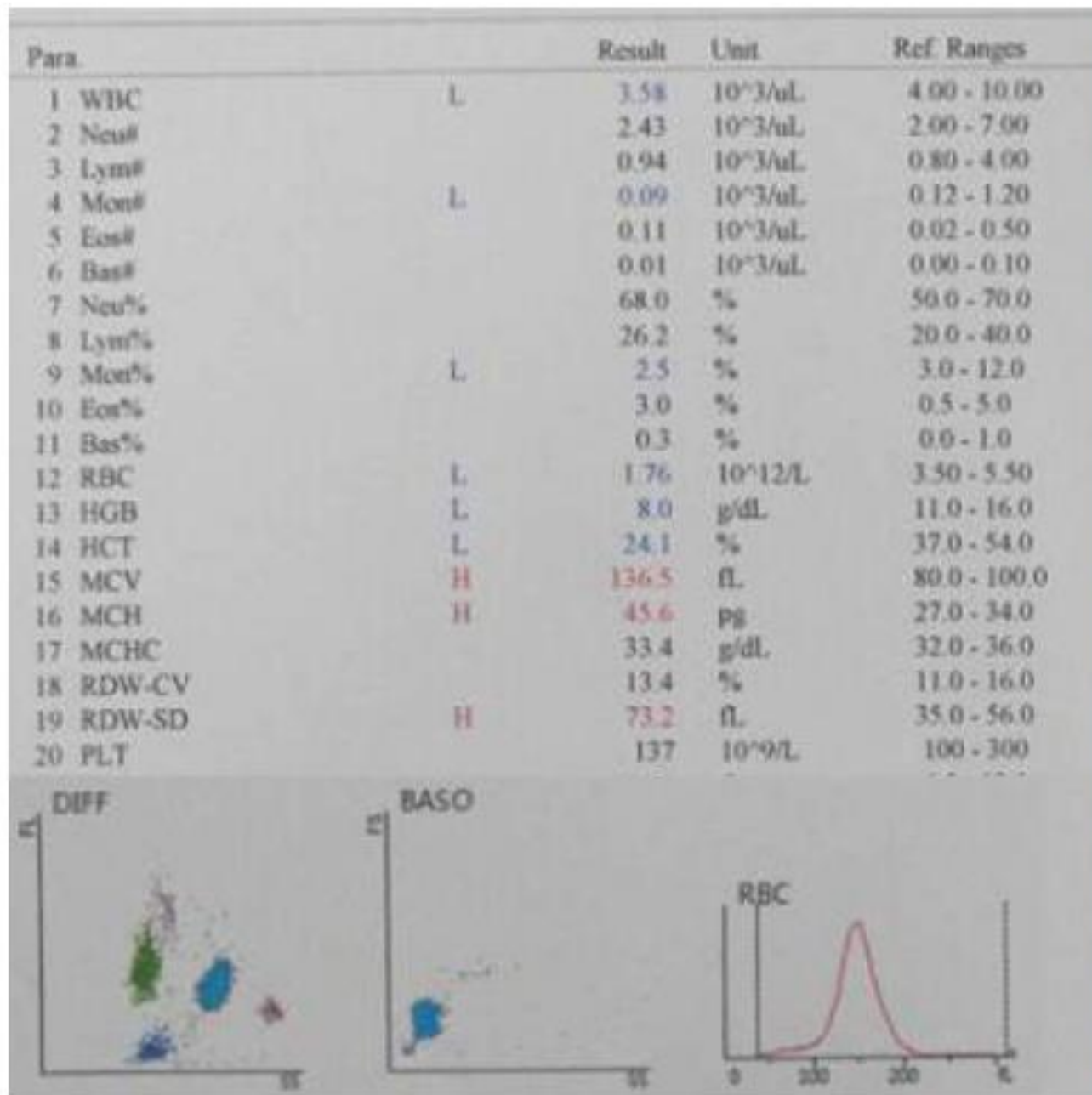




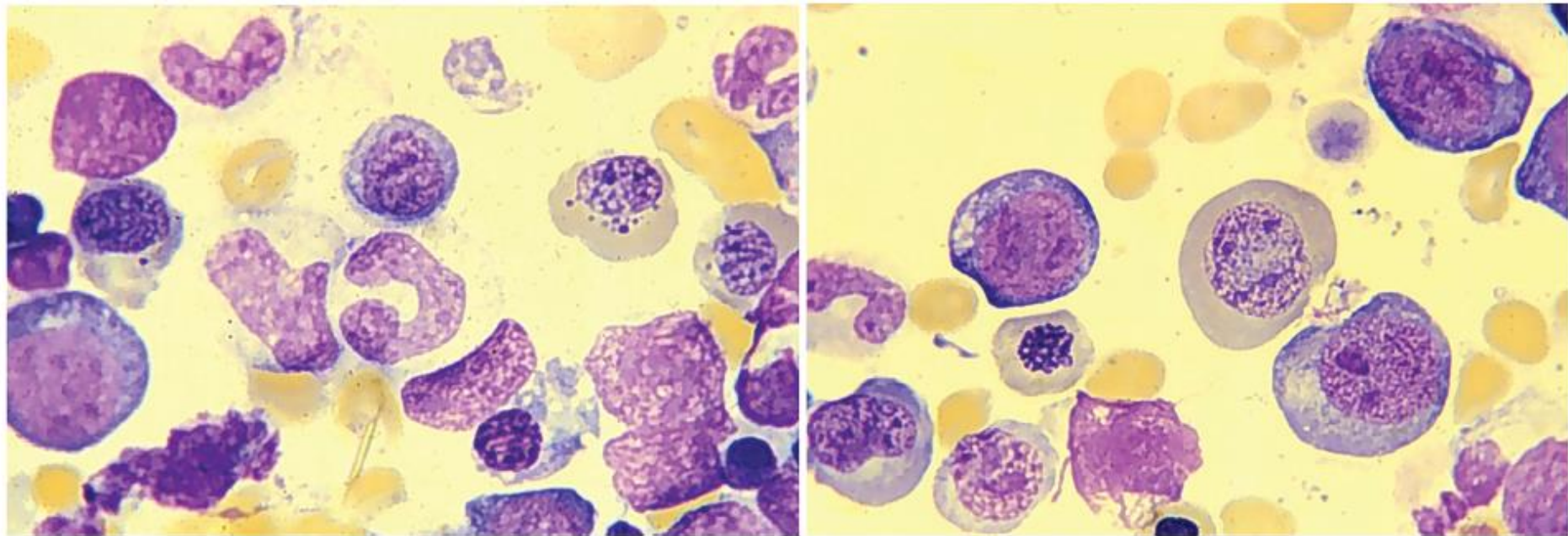
Para.	Result	Unit	Ref. Ranges
1 WBC	5.95	& 10 ³ /uL	5.10 - 21.90
2 Neu#	4.35	&R 10 ³ /uL	1.00 - 8.90
3 Lym#	1.19	& L 10 ³ /uL	2.50 - 16.50
4 Mon#	0.24	10 ³ /uL	0.20 - 1.10
5 Eos#	0.03	RL 10 ³ /uL	0.10 - 0.99
6 Bas#	0.14	R 10 ³ /uL	0.01 - 0.65
7 Neu%	73.2	&RH%	18.0 - 50.0
8 Lym%	19.9	& L %	31.0 - 56.0
9 Mon%	4.0	L %	6.0 - 18.0
10 Eos%	0.5	RL %	2.0 - 7.0
11 Bas%	2.4	RH %	0.0 - 1.0
12 RBC	2.64	L 10 ¹² /L	3.30 - 5.50
13 HGB	7.1	L g/dL	10.5 - 20.2
14 HCT	22.7	L %	31.0 - 55.0
15 MCV	86.1	fL	85.0 - 112.0
16 MCH	26.9	pg	25.0 - 34.0
17 MCHC	31.2	L g/dL	33.9 - 35.3
18 RDW-CV	24.6	H %	15.0 - 17.5
19 RDW-SD	81.3	H fL	35.0 - 56.0
20 PLT	92	RL 10 ⁹ /L	210 - 640
21 MPV	11.4	R fL	6.5 - 12.0
22 PDW	16.6	R	15.0 - 17.0
23 PCT	0.105	RL %	0.108 - 0.282
24 P-LCC	41	R 10 ⁹ /L	30 - 90
25 P-LCR	44.5	R %	11.0 - 45.0
26 NRBC#	0.076	10 ³ /uL	0.000 - 9999.999
27 NRBC%	1.28	/100WBC	0.00 - 9999.99
28 IMG#	0.55	10 ⁹ /L	0.00 - 999.99
29 IMG%	0.092		0.000 - ...



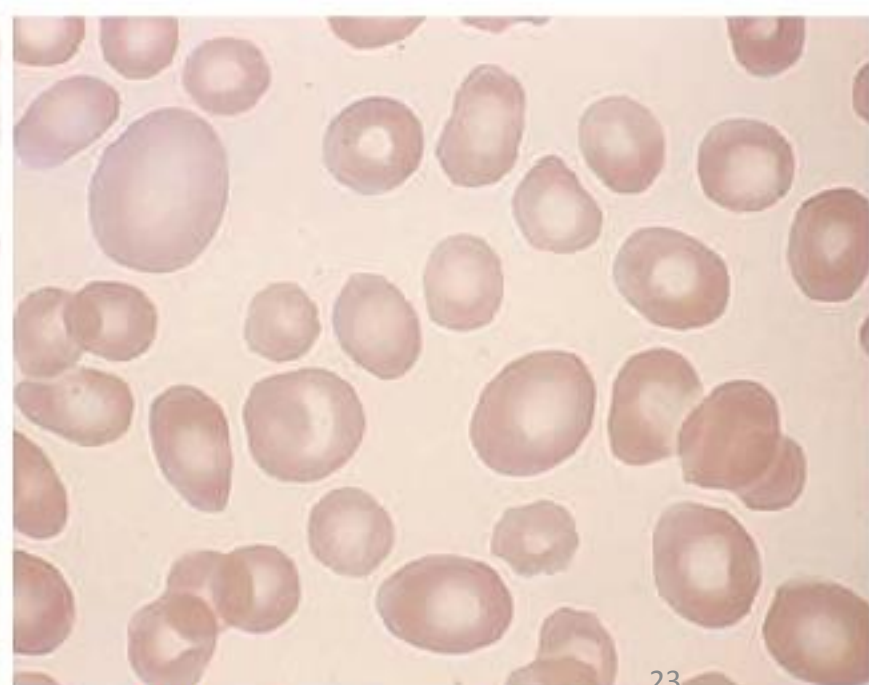
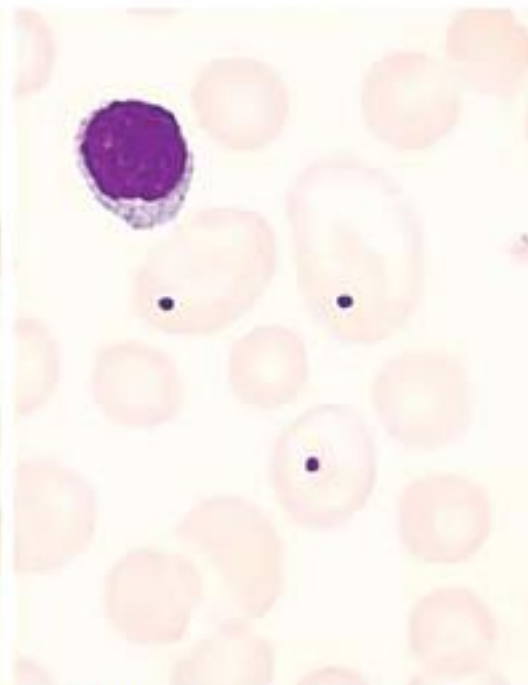
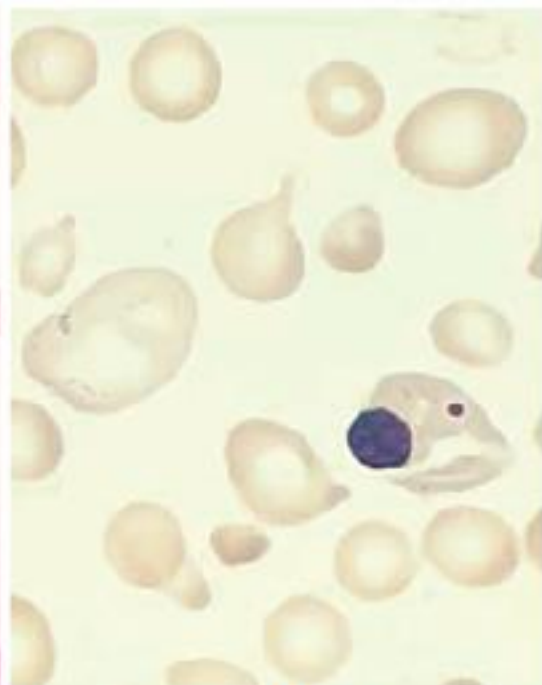
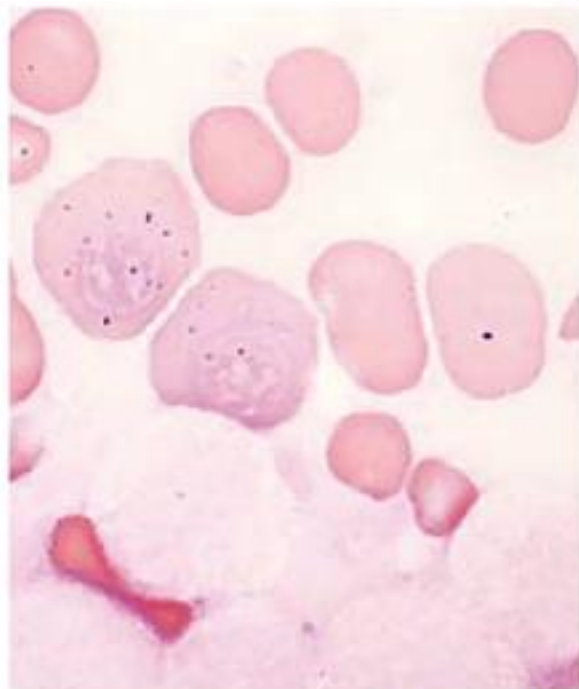
شکل ۶۴-۱۰: کریز مگالوبلاستیک در بیمار مبتلا به آنمی میکروسیتیک-هیوکروم که از یک طرف باعث مخفی شدن MCV پایین شده و از طرفی دیگر باعث افزایش محسوس RDW شده است که وجود مقادیر بالای RDW در چنین مواردی حضور نوعی دی مورفیسم پنهان را آشکار می‌کند. در این بیمار هیستوگرام RBC دو قله‌ای یا Bimodal نبوده ولی PBS حاکی از دو جمعیتی بودن بارز دارد. در آنمی آپلاستیک شدید درجانی از پانسیتوپنی دیده می‌شود که این بیمار آنمی و ترومبوسیتوپنی واضحی را نشان می‌دهد.



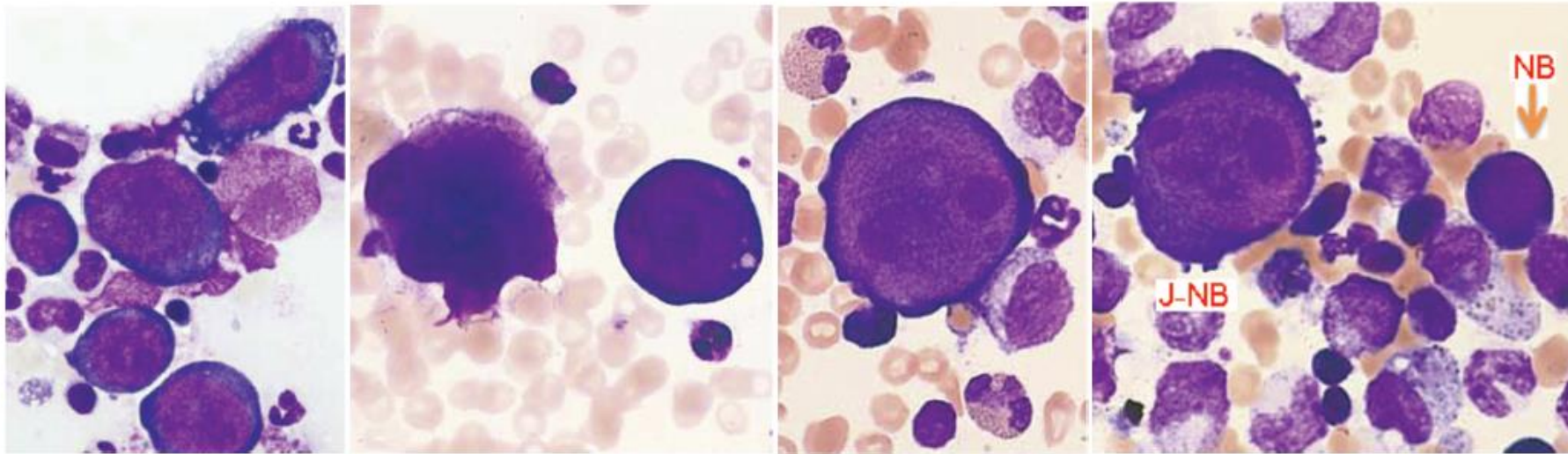
شکل ۱۳۶-۱۰: اثر ماکروسیتوز شدید در کاهش شدید و کاذب RDW-CV علی‌رغم افزایش محسوس و واقعی RDW-SD



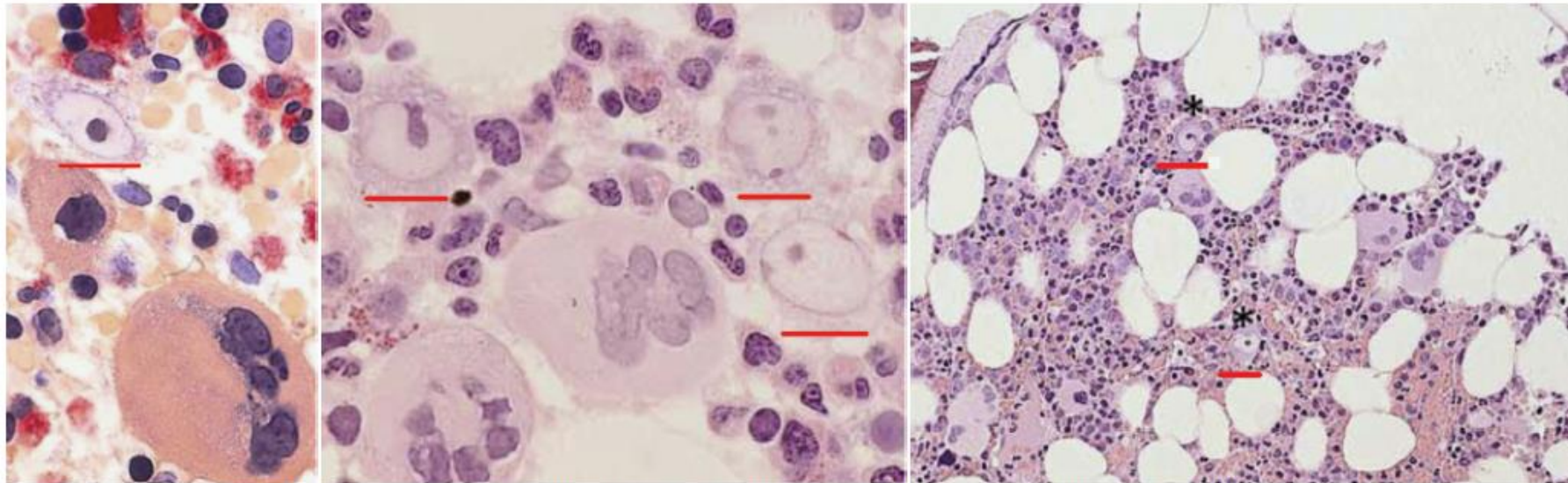
شکل ۵۱-۴۲: انواع مختلف جایانت نورموبلاست و جایانت متامیلوسیت در آنمی مگالوبلاستیک که از هسته نارس و کروماتین لانه زنبوری نیز برخوردار هستند.



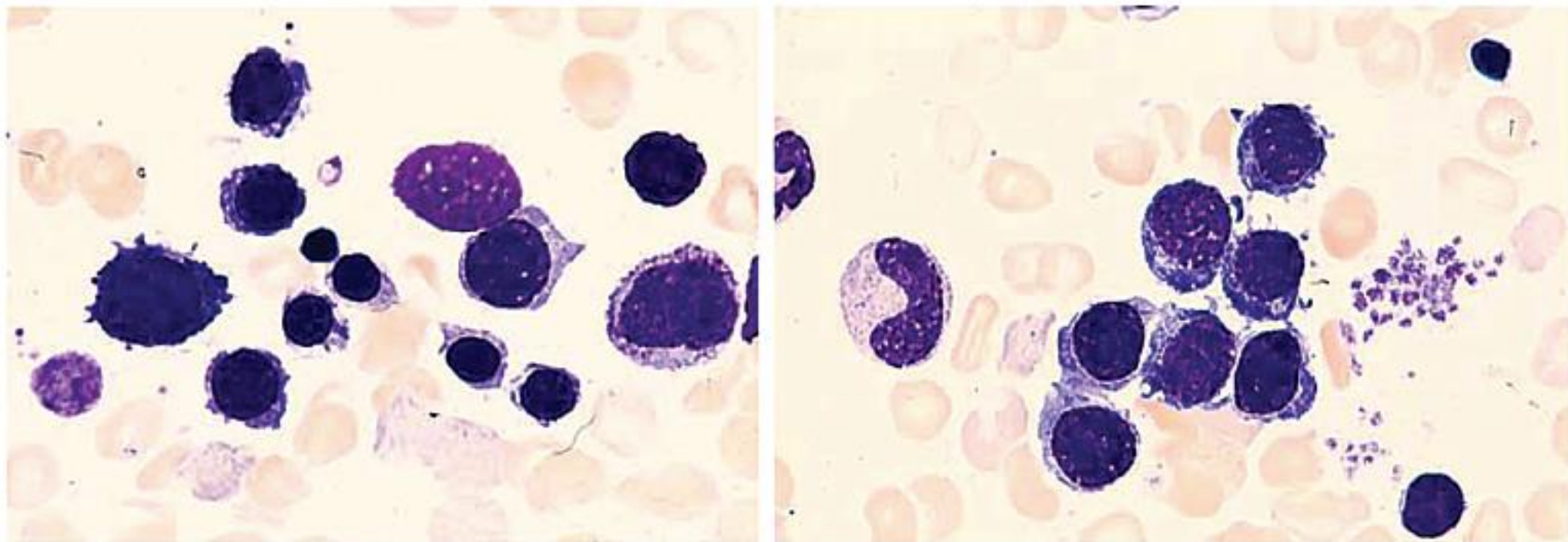
شکل ۵۲-۴۲: (۱) ماکروسیتوز، (۲) هاول جولی، (۳) ماکروسیتوز، هاول جولی و N-RBC (۴) افزایش سیدروزومها در نورموبلاستهای جایانت (رنگ آمیزی پرل)



شکل ۳۹-۲۰: حضور جایانت نورموبلاست (J-NB) در آسپیراسیون BM بیمار مبتلا به اریتروبلاستوپنی ناشی از عفونت با PV-B19: به اندازه J-NB در مقایسه با NB نرمال (شکل ۱)، اتوزینوفیل (شکل ۲)، مگاکاریوسیت (شکل ۳) و یک پرومیلوسیت (شکل ۴) دقت کنید [۲۹].



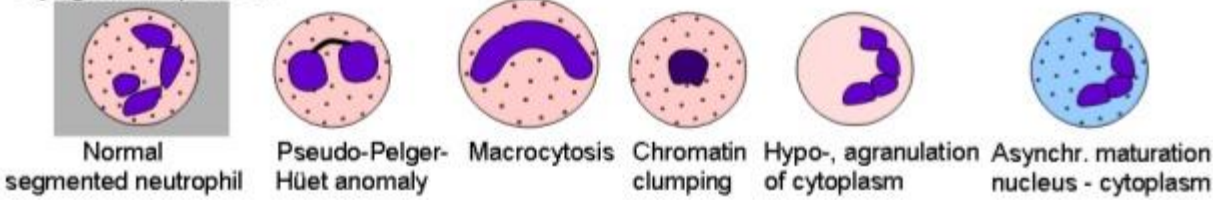
شکل ۴۰-۲۰: حضور جایانت نورموبلاست (J-NB) در بیوپسی از BM بیمار مبتلا به اریتروبلاستوپنی ناشی از عفونت با PV-B19: در برش‌های پاتولوژیکی از BM که با رنگ H&E رنگ آمیزی می‌شوند، هسته سلول‌های J-NB بسیار کم‌رنگ، هسته آنها بسیار مشخص و سیتوپلاسم آنها نیز کم‌رنگ دیده می‌شود. خطوط قرمز در زیر J-NB‌ها جایگاه آنها را در بیوپسی مشخص نموده است. تصویر سوم با رنگ CAE رنگ آمیزی شده است. در هر سه تصویر مگاکاریوسیت‌های بزرگی نیز دیده می‌شوند.



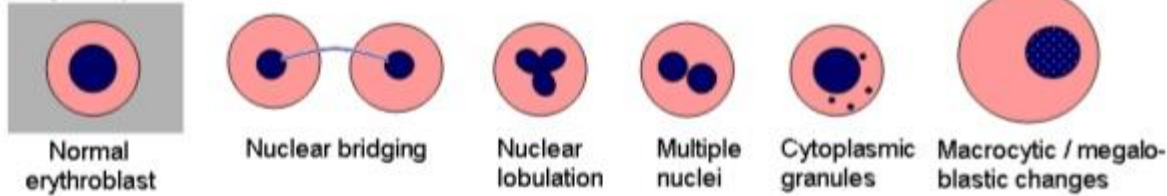
شکل ۳۷-۳۸: بازوفیلیک نورموبلاست‌های پرتعداد، کوچک، نارس با دیواره نامنظم و ریش‌ریش و اورتوکروماتوفیلیک نورموبلاست‌های غیرهموگلوبینه با سیتوپلاسم کوچک و هتروژن. در این نورموبلاست‌ها یک عدم هماهنگی مابین بلوغ هسته با سیتوپلاسم دیده می‌شود، به‌طوری‌که هسته فرمی بالغ داشته ولی سیتوپلاسم نارس، کوچک و بازوفیلیک باقی می‌ماند (اریتروپوئز میکرونورموبلاستیک). همان‌طوری‌که مشهود است هیچ سیدروبلاست یا سیدروسیتی در BM بیماران مشاهده نمی‌شود.

Dysplasia in Myelodysplastic Syndrome

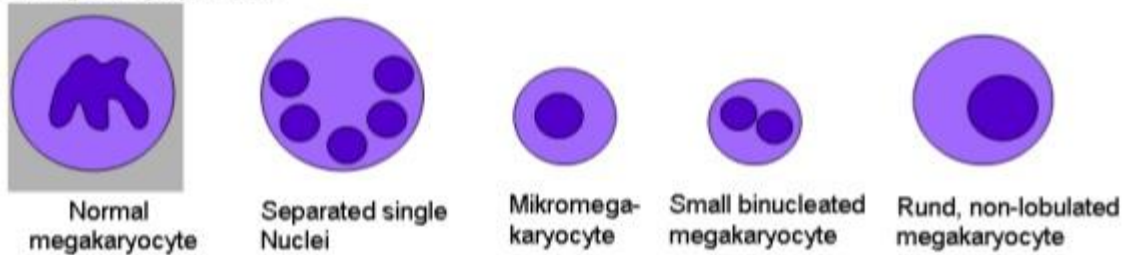
Dysgranulopoiesis



Dyserythropoiesis

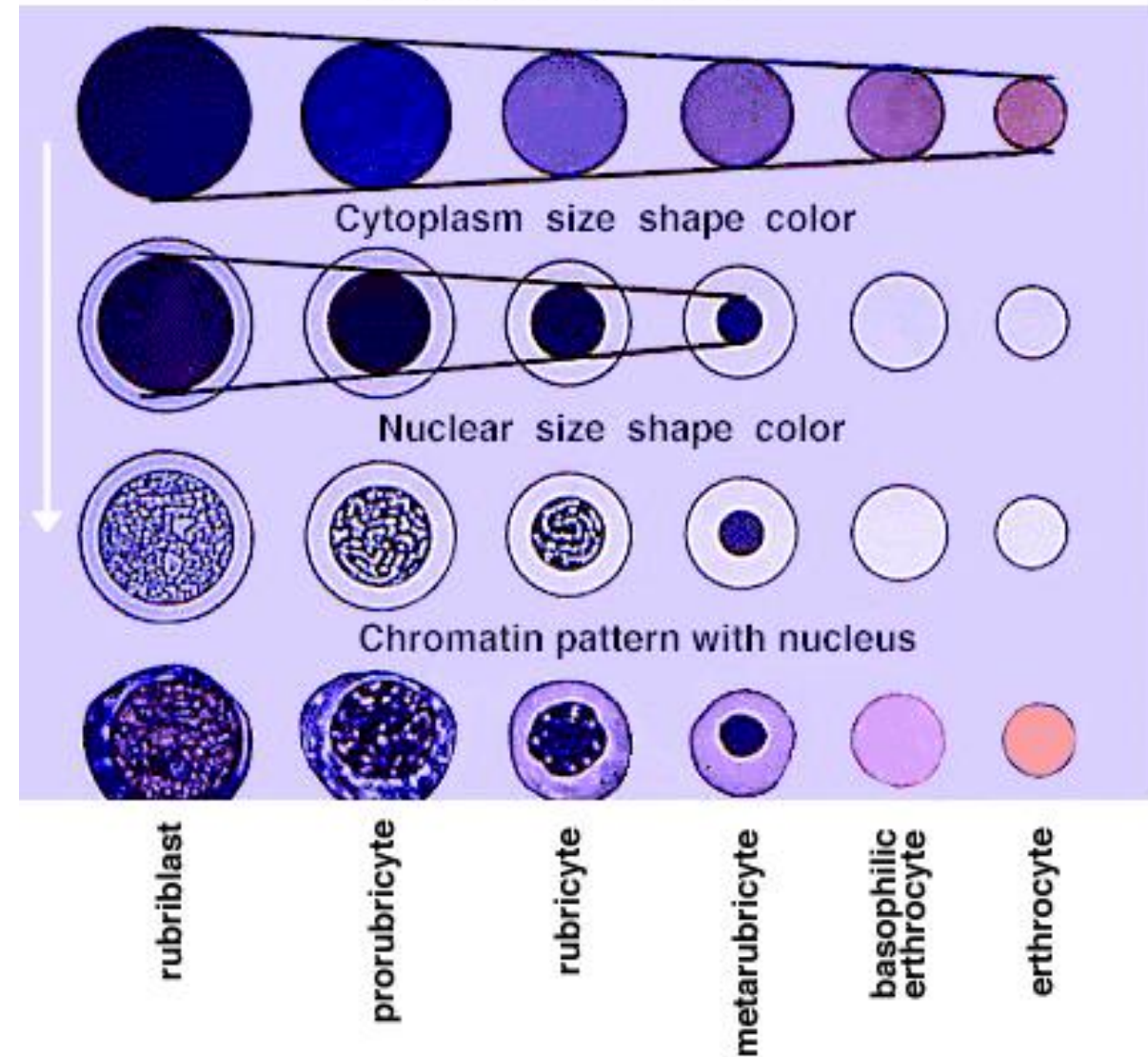


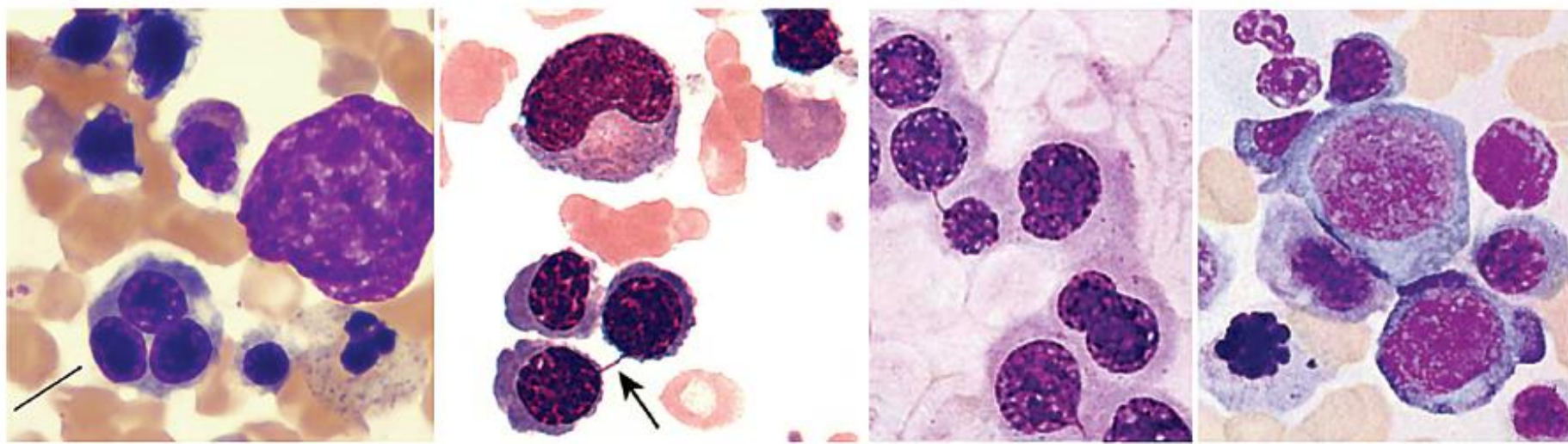
Dysmegakaryopoiesis



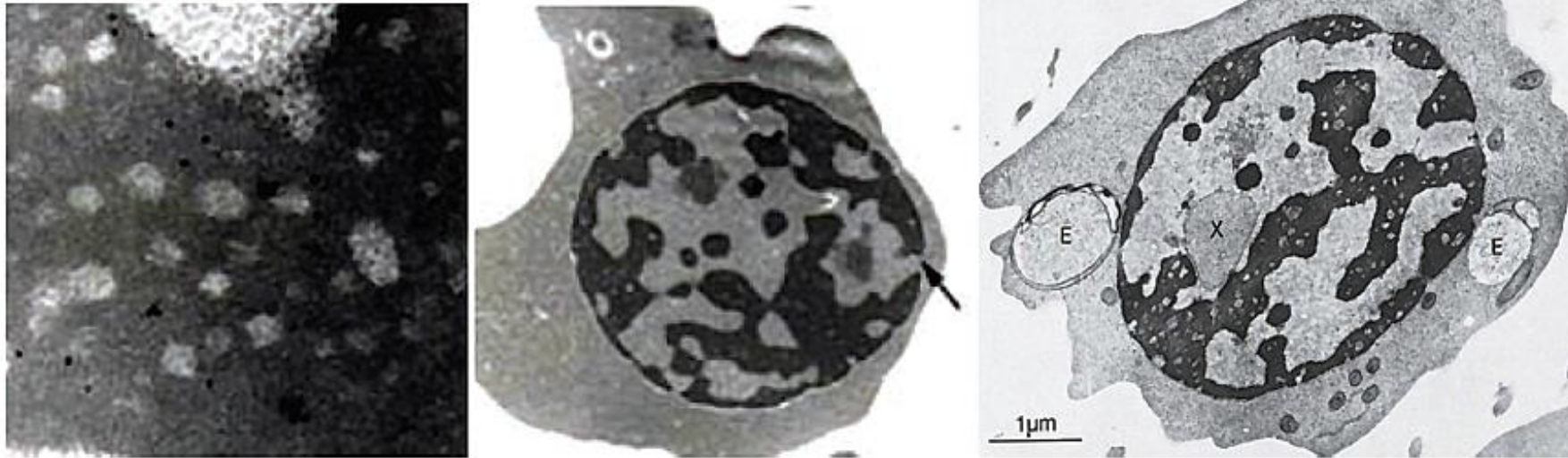
Cantú Rajnoldi et al. Ann Hematol 2005;84:429-33

RBC Maturation Series

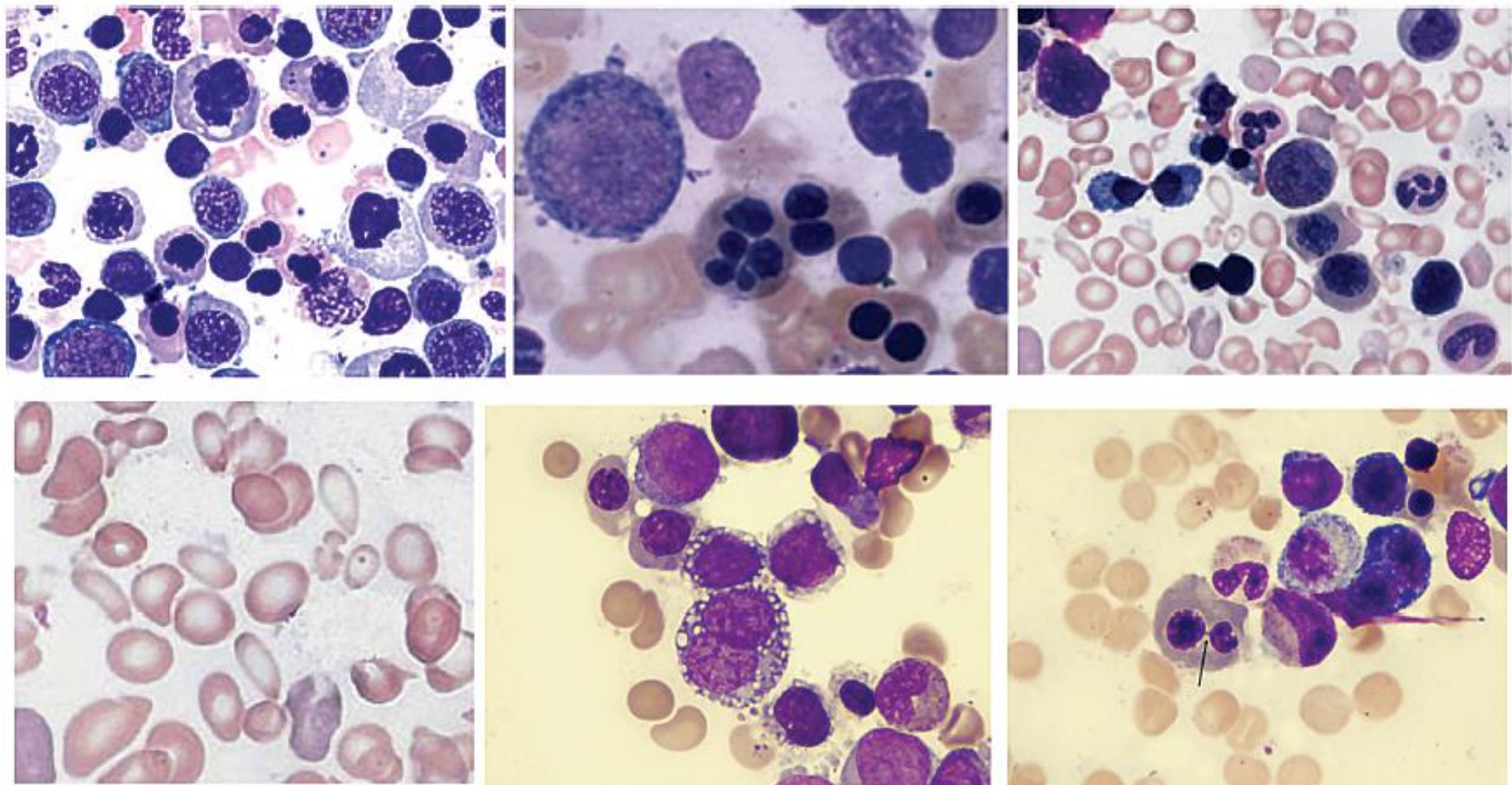




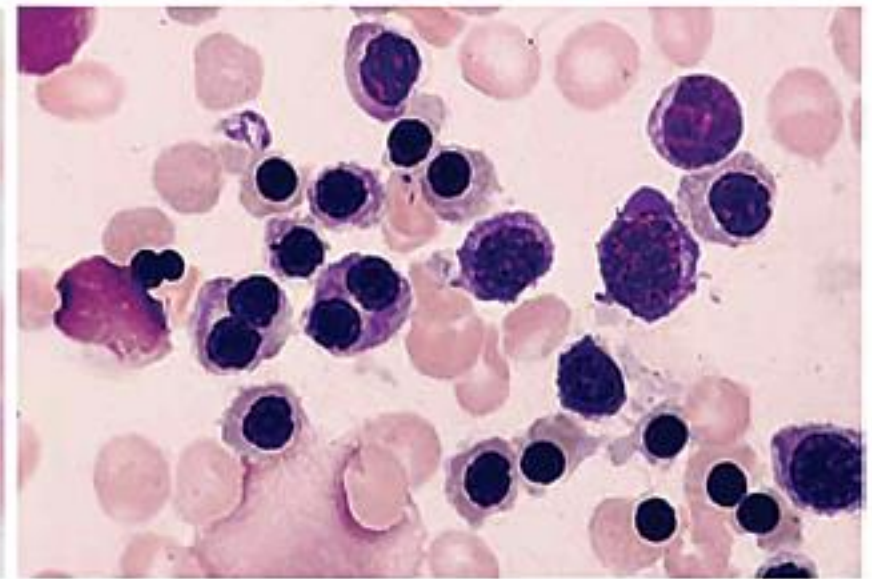
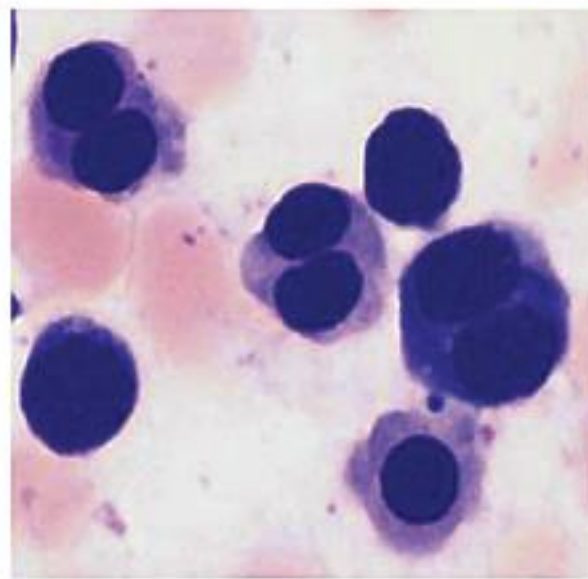
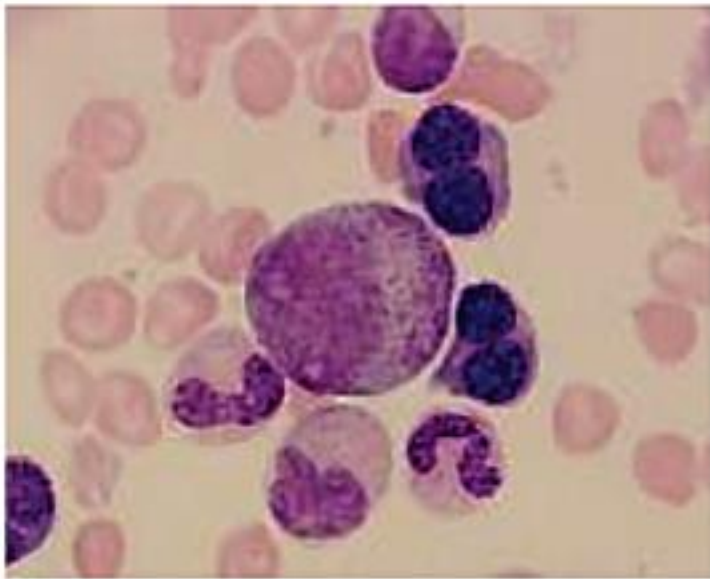
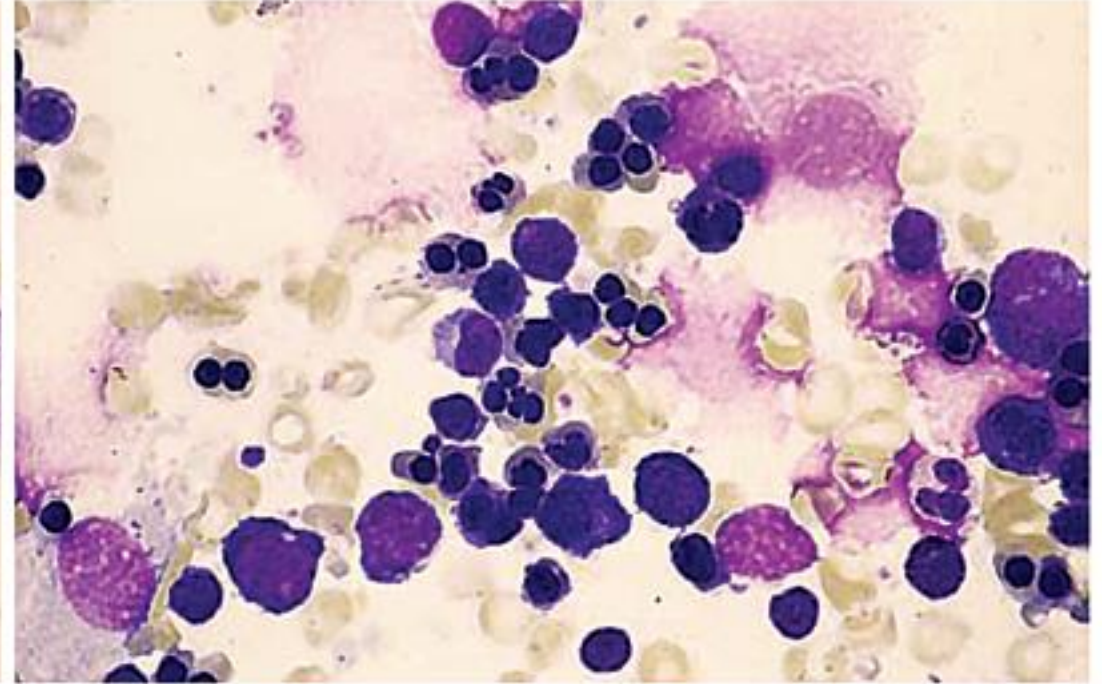
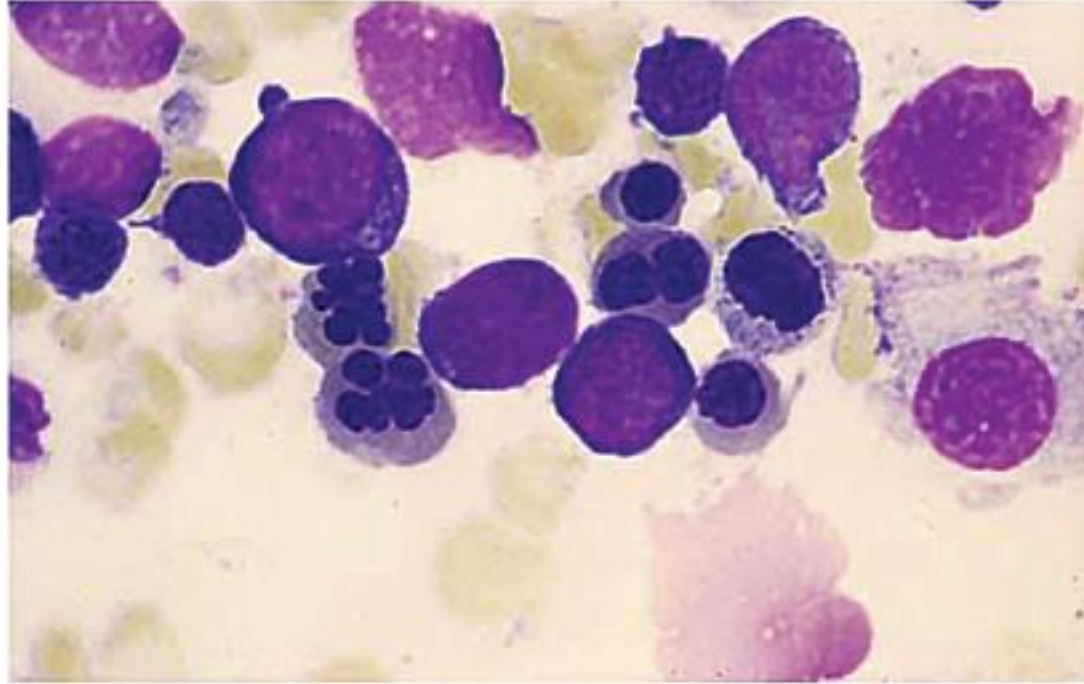
شکل ۳-۳۹: از راست به چپ: (۱) نورموبلاست مگالوبلاست با کروماتین اسفنجی و لانه زنبوری و میتوزهای غیرطبیعی در نورموبلاست‌ها، (۲) پل‌های کروماتینی بین دو هسته نورموبلاست‌ها، توی هم رفتگی و فرو رفتگی غشای هسته و نورموبلاست‌های دو هسته‌ای، (۳) پل کروماتینی بین دو پلی کروماتوفیلیک نورموبلاست (۴) پلی کروماتوفیلیک نورموبلاست سه هسته‌ای [۲۵]



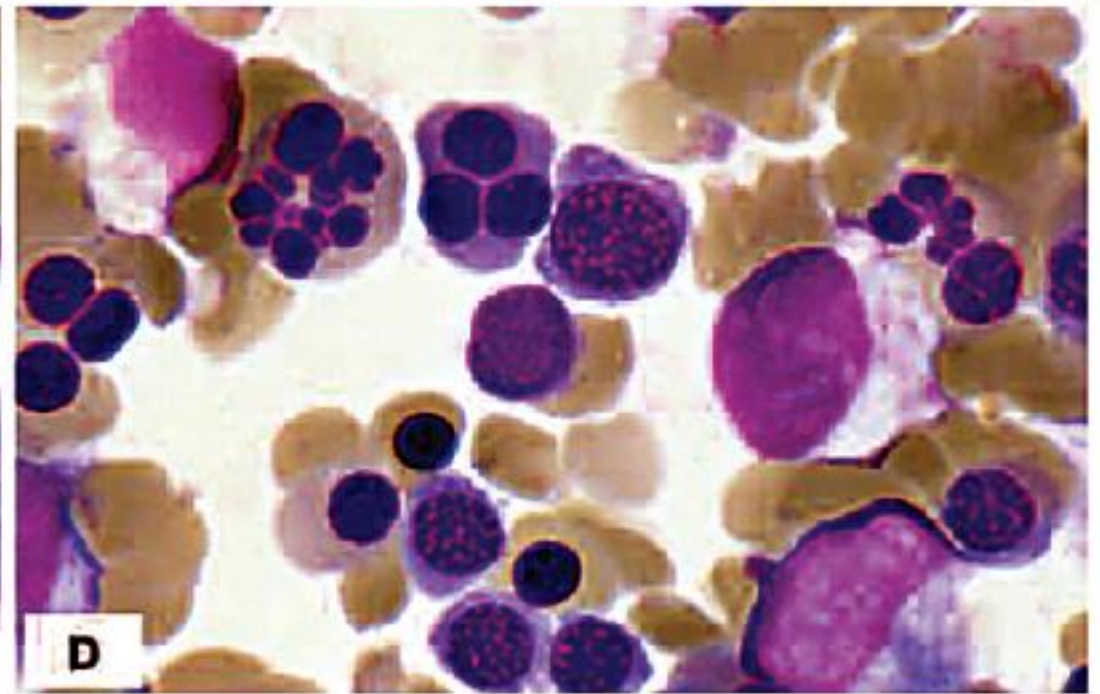
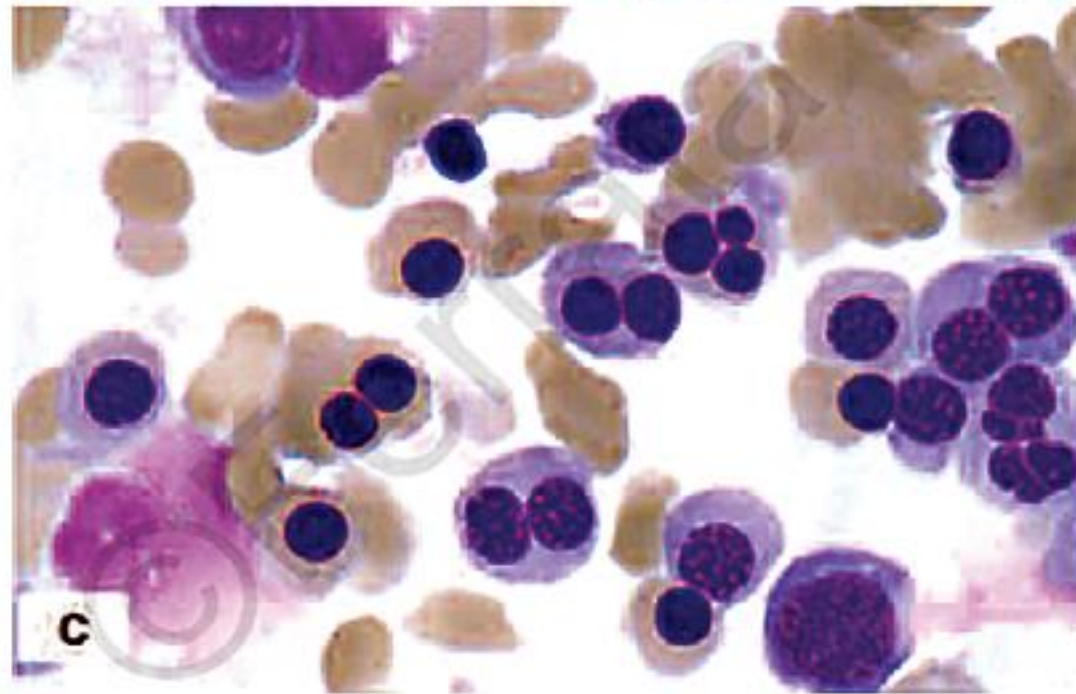
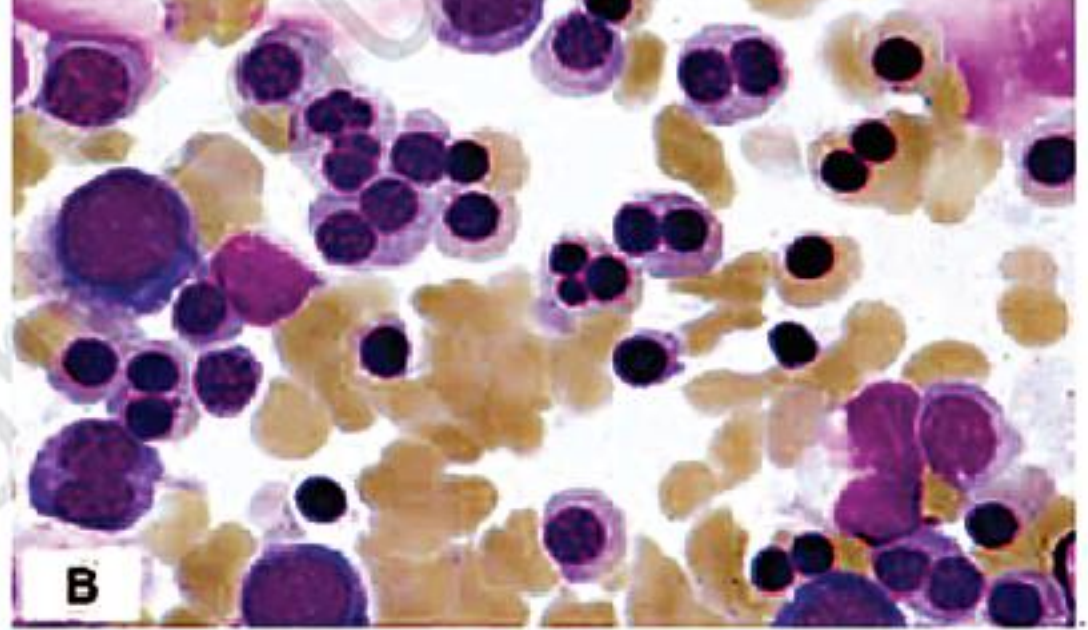
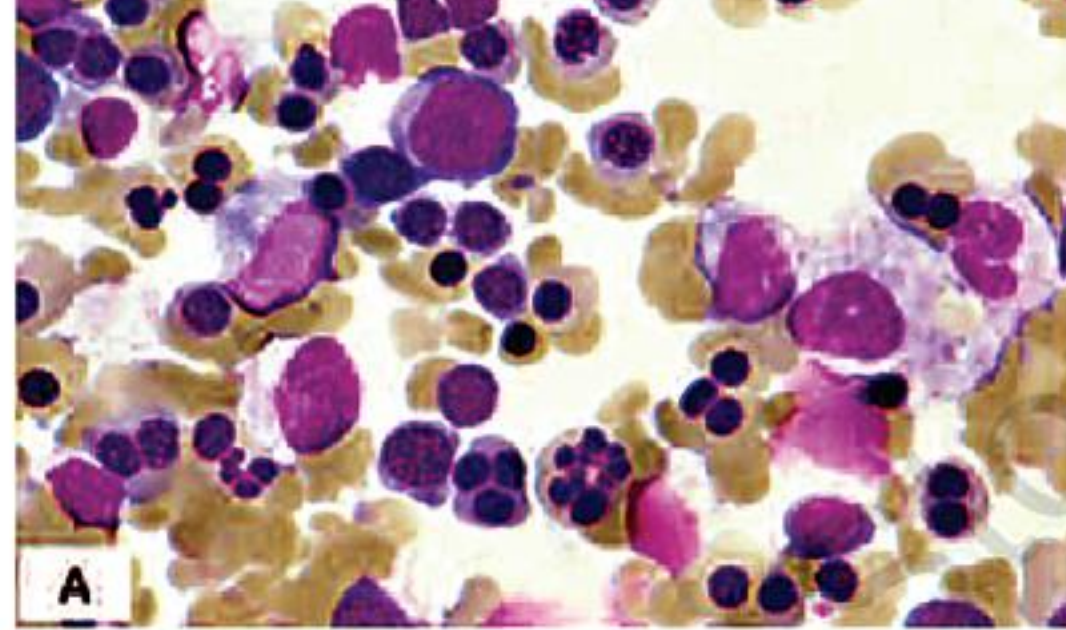
شکل ۴-۳۹: تصویر TEM از نورموبلاست‌های CDA-I که هتروکروماتین غیرطبیعی و اسفنجی شدن هسته (منظره پنیر سوئیسی)، بزرگی و گشاد شدگی شدید سوراخ‌های دیواره هسته (فلش)، اینواژینه شدن سیتوپلاسم در هسته، انتقال اندامک‌های ستوپلاسمیک به داخل هسته (X) و وجود انکلوژیون‌های سیتوپلاسمی (E) در داخل هسته نورموبلاست‌ها را نشان می‌دهد. در هسته‌های اسفنجی، لکه‌های سفیدی به صورت Punched Out نیز مشاهده می‌شود (تصویر سمت چپ) که در نورموبلاست‌های طبیعی دیده نمی‌شود.



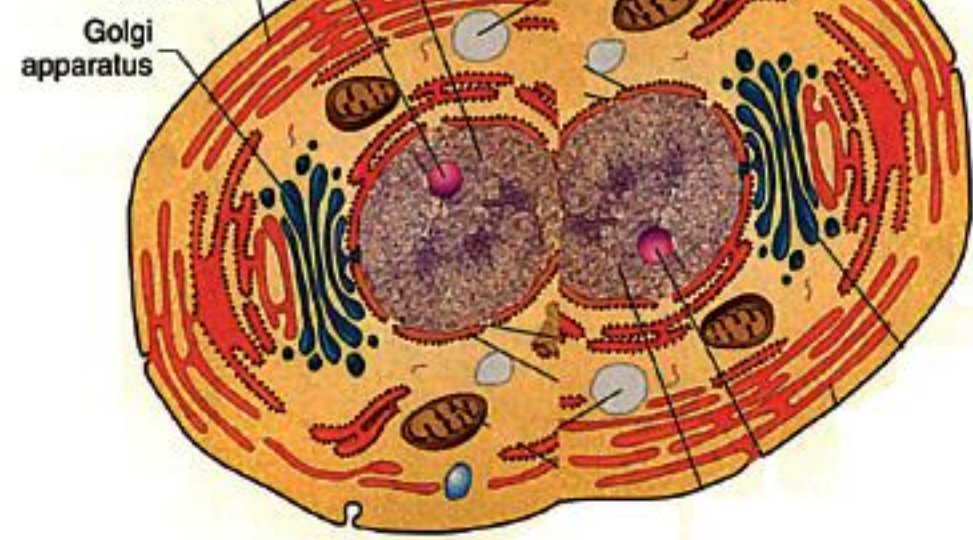
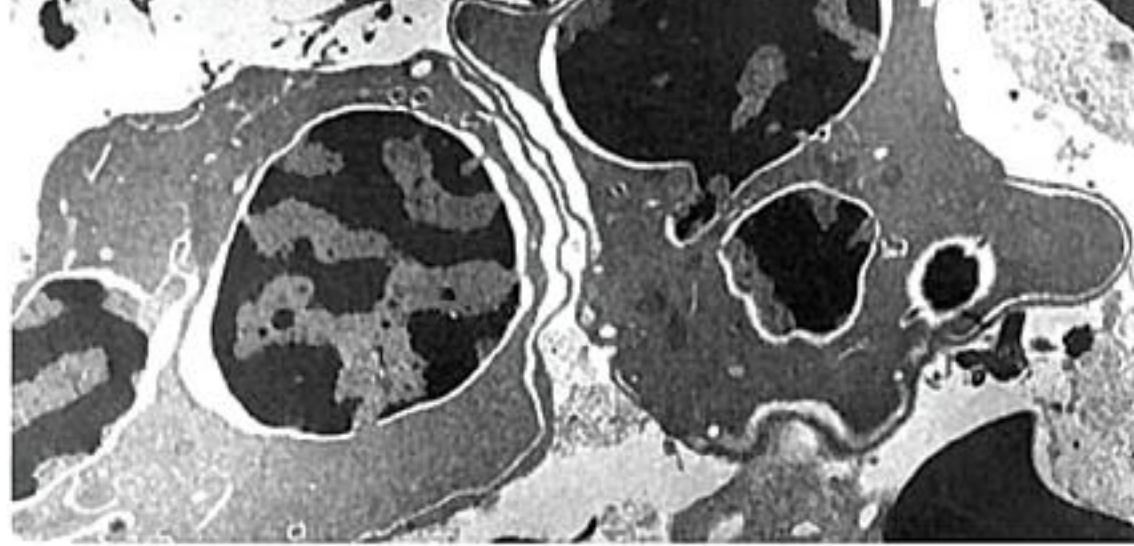
شکل ۷-۳۹: نورموبلاست‌های دو یا چند هسته‌ای، هسته‌های مگالوبلاست و اسفنجی شکل نورموبلاستی و رشته‌های کروماتین بین هسته‌ای در نورموبلاست‌های BM و همچنین، پوئیکیلوسیتوزیس، آنیزوسیتوزیس و ماکروسیتوزیس خفیف در خون محیطی بیمار مبتلا به CDA-I [۲۵].



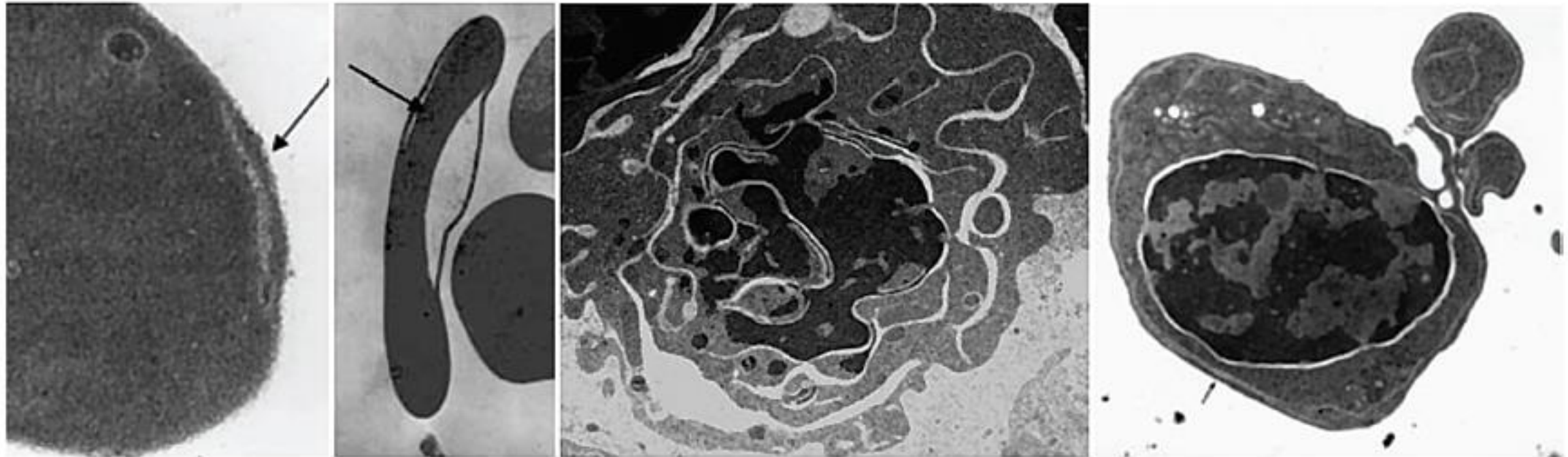
شکل ۲۲-۳۹: مورفولوژی سلول‌های CDA-II که عمدتاً از نورموبلاست‌های دو یا سه هسته‌ای و بدون منظره مگالوئید تشکیل شده‌اند. پل‌های کروماتینی بین هسته‌ای نیز برخلاف CDA-I بسیار نادر و کمیاب هستند. در این نوع CDA برخلاف CDA-III نورموبلاست‌های بیش از ۵ لوبول به ندرت مشاهده می‌شوند. در تمامی اسلایدها هیپرپلازی اریتروئیدی مشهود است.



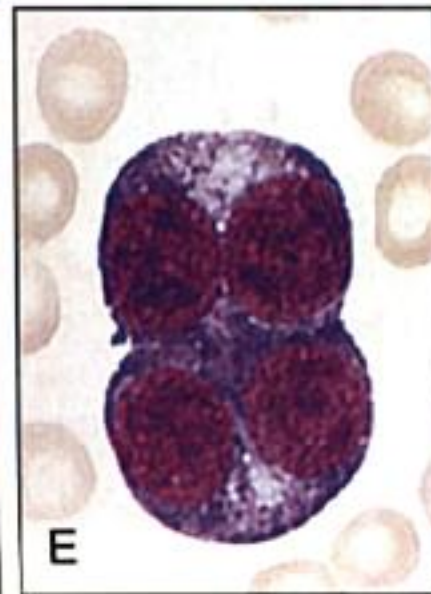
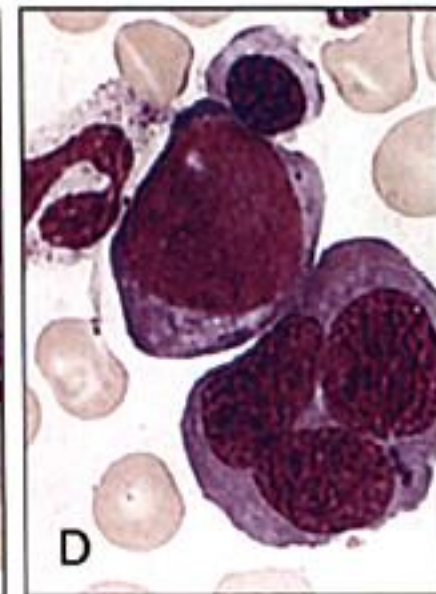
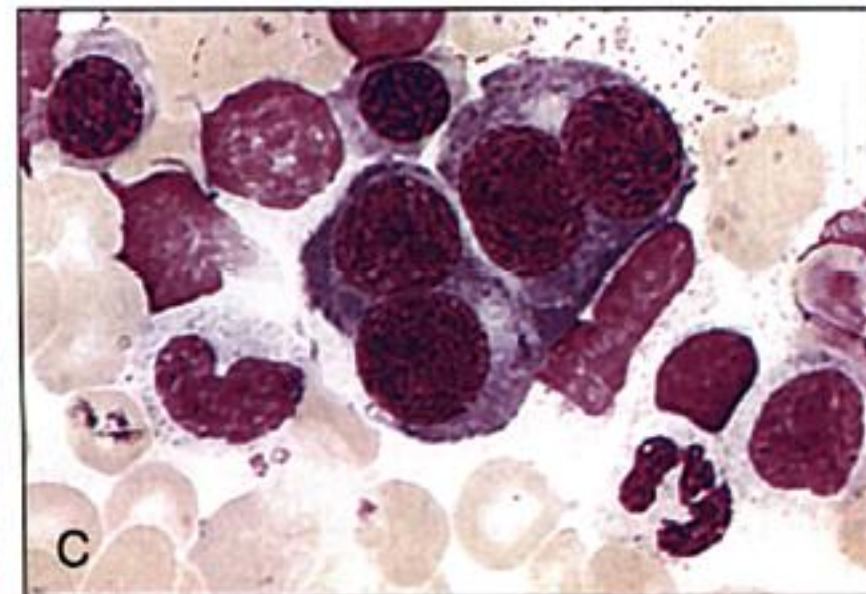
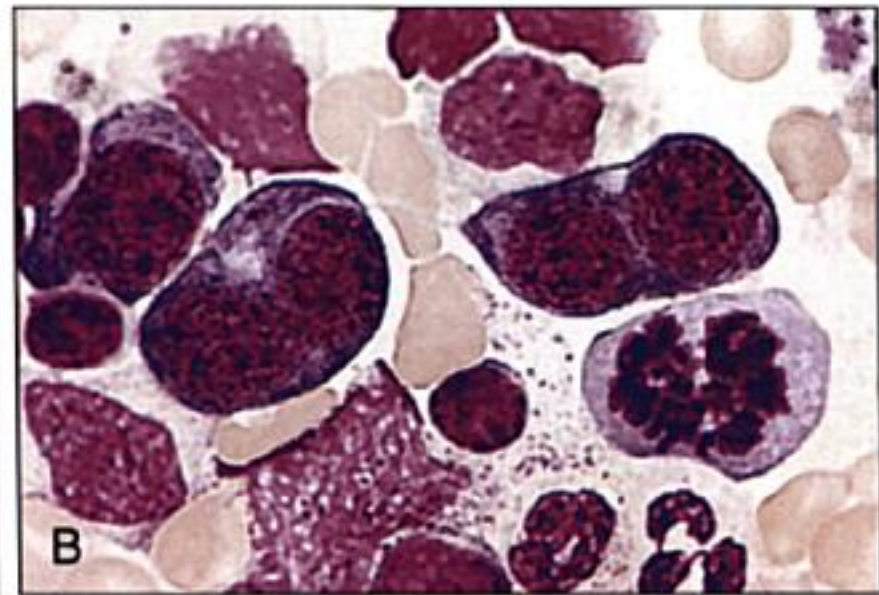
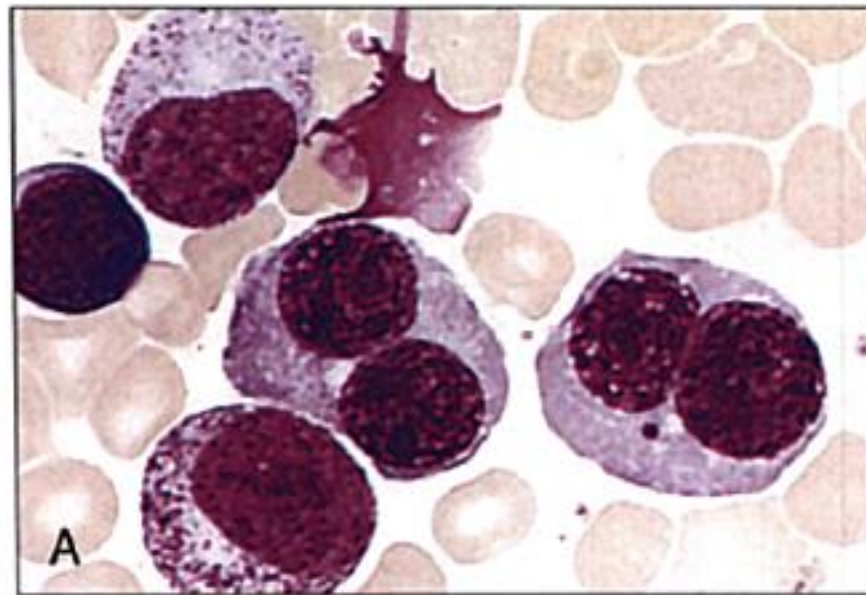
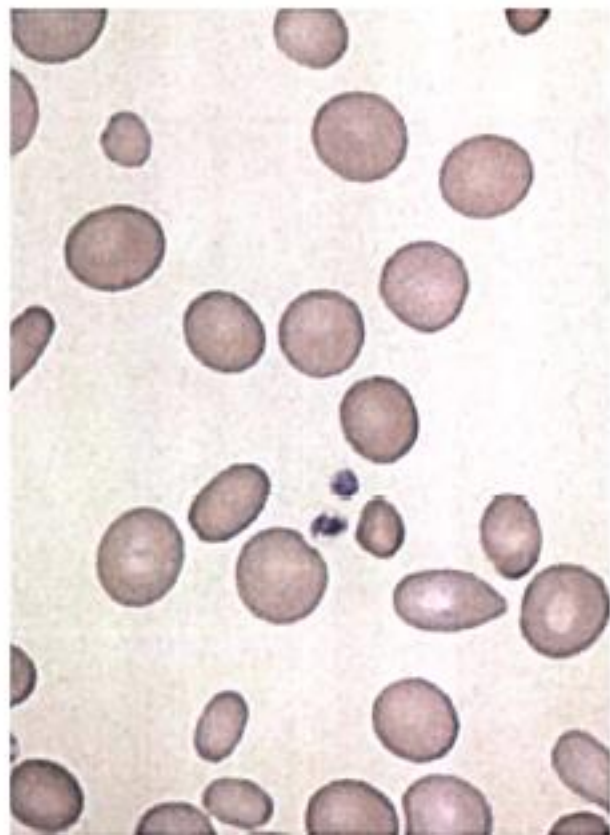
شکل ۲۳-۳۹: چند هستگی و درجانی از کاریورکسی در PcNB و OcNB های CDA-II (میزان دوهسته‌ای بودن نورموبلاست‌ها در CDA-II حدود ۴۰-۱۰٪ در برابر ۷-۵٪ CDA-I می‌باشد).



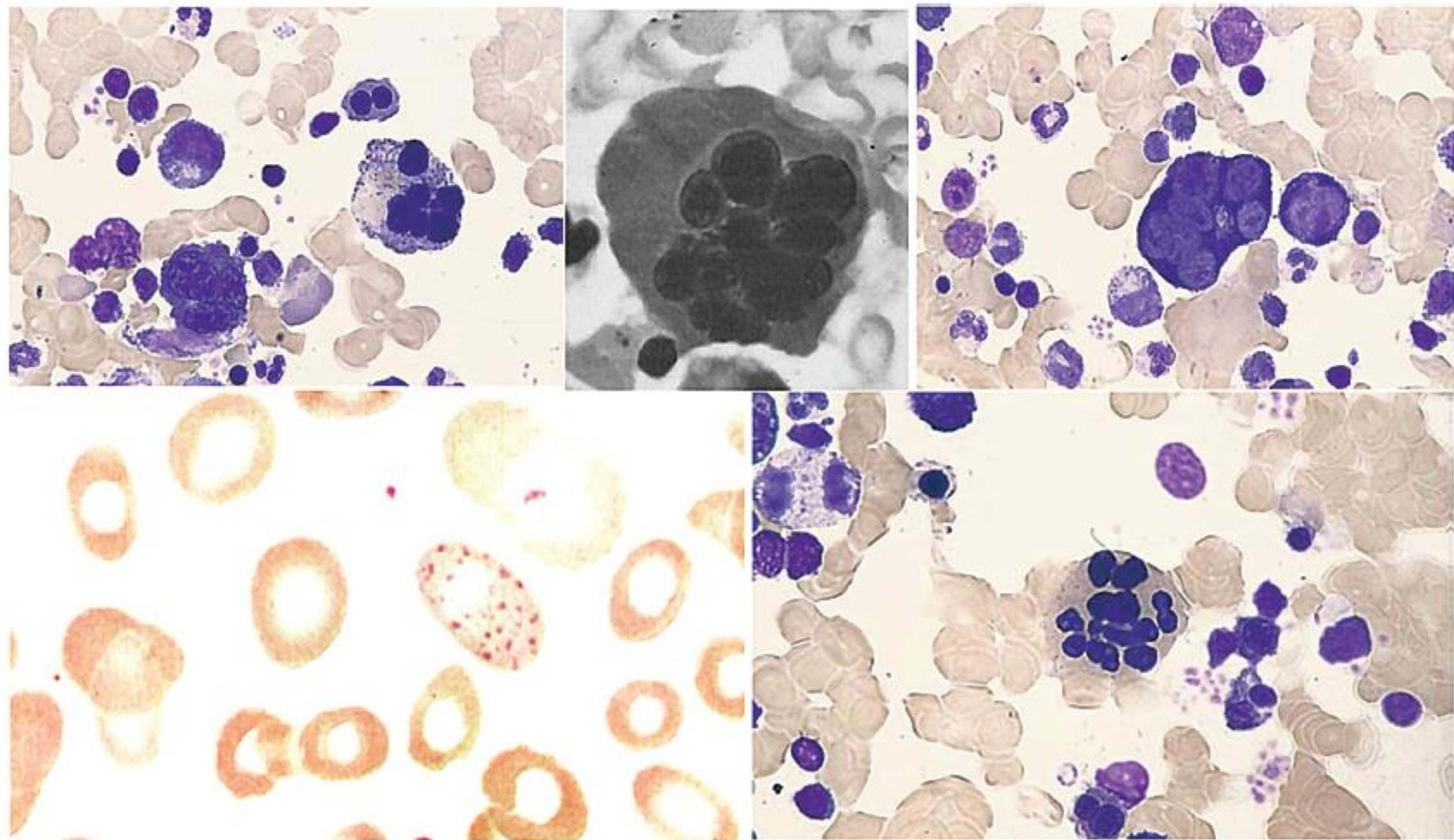
شکل ۲۴-۳۹: گسترش شبکه اندوپلاسمی صاف به زیر غشاء سیتوپلاسمی در سلول‌های رده اریتروئیدی بیماران مبتلا به CDA-II که با دو لایه شدن غشاء خارجی همراه می‌باشد.



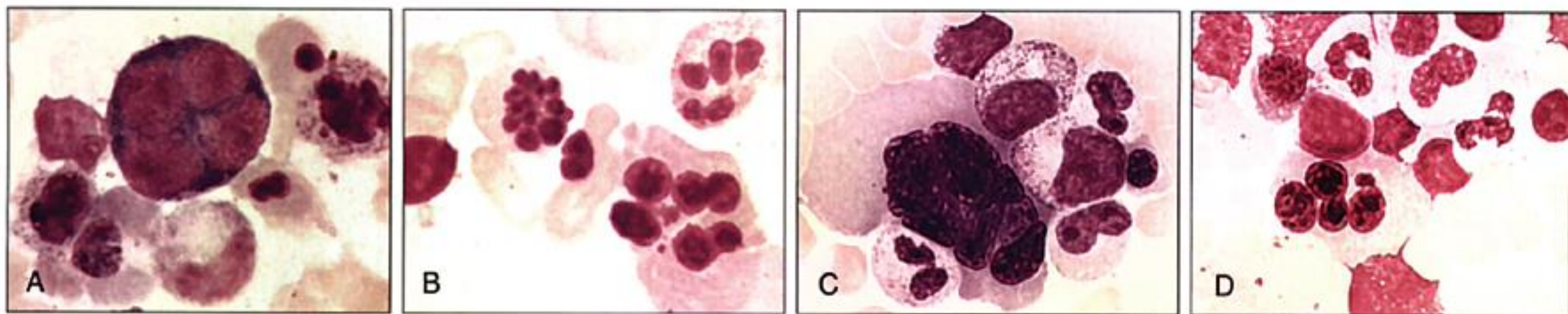
شکل ۲۵-۳۹: دولایه شدن غشاء سیتوپلاسمی (دوبل ممبران) به همراه گشادی فضای بین دو لایه غشاء^۱ در اثر گسترش شبکه ER به زیر غشاء سیتوپلاسمی که هم در نورموبلاست‌های



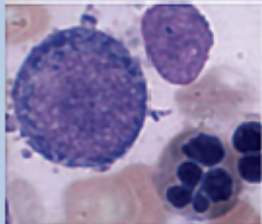
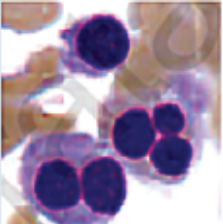
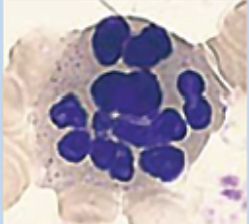
شکل ۲۹-۳۹: نورموبلاست‌های چندهسته‌ای در BM و همچنین آنیزوسیتوز و پوئیکیلوسیتوزیس متوسط در خون محیطی بیمار مبتلا به CDA-II



شکل ۳۰-۳۹: ژیگانتوبلاست‌های چند هسته‌ای بزرگ با بازوفیلیک منقوط و تعداد ۱۲-۷ هسته در BM بیمار مبتلا به CDA-III. خون محیطی بیمار نیز ماکروسیتوزیس، آنیزوسیتوزیس و پوئیکیلوسیتوزیس مشخص و بارزی را نشان می‌دهد.



شکل ۳۱-۳۹: ژیگانتوبلاست‌های چند هسته‌ای بزرگ به همراه کاریورکسی افزایش یافته در بیماری CDA-III

فصوصیات	CDA-I	CDA-II یا HEMPAS	CDA-III
- توارث - مکان ژنی - نام ژن معیوب - نوع نقص - خصوصیات اریتروسیت - خصوصیات نورموبلاست - الف) میکروسکوپ نوری - ب) میکروسکوپ الکترونی - سرولوژی - الف) تست هامز - ب) آگلوتیناسیون با آنتی i - الکتروفورز SDS-PAGE - گستره جغرافیایی - اختلالات ساختاری - وضعیت آهن بدن - نوع خونسازی - مورفولوژی سلولی	- اتوزمال مغلوب 15q15.1-15.3 - ژن کودانین یا CDAN1 - نقص تشکیل هتروکروماتین و اختلال در منافذ هسته و ورود سیتوپلاسم در هسته - ماکروسیتیک - مگالوبلاستیک، پل‌های کروماتینی بین هسته‌ای - نمای پنبه سوئیسی در هتروکروماتن، گشادی منافذ هسته - منفی - واکنش قوی/نرمال - نرمال - نژاد قفقازی، اسرائیلی، لبنانی، ژاپنی - اختلالات صورت و اندام‌های فوقانی، دیس‌تاکتیلی - اضافه بار آهن - غیر موثر 	- اتوزمال مغلوب 20q11.2 در ۹۰٪ موارد - ژن Sec23B یا CDAN2 - نقص در تولید و انتقال وزیکول‌های ترشحی گلژی و اختلال گلیکولیزاسیون - نورموسیت - نورموبلاستیک، غالبیت سلول‌های دوهسته‌ای و چند هسته‌ای - غشاء سیتوپلاسمی دو لایه‌ای و تجمع پروتئین‌های باند III در یک سمت غشاء - مثبت - واکنش قوی - نازک و سریع شدن باند III - نژاد قفقازی، بویژه ایتالیایی - دفرمیتی و زخم انگشتان - اضافه بار آهن - غیر موثر 	- اتوزمال غالب و همچنین مغلوب 15q21-25 - ژن CDAN3 - اختلال در تنظیم لوپولاسیون هسته - نورموبلاست‌ها - ماکروسیت - مگالوبلاستیک، ژیگانتوبلاست‌های چند هسته‌ای اریتروئید (تا ۱۲ هسته) - چند هستگی شدید و بزرگ - منفی - واکنش قوی/نرمال - سریع شدن خفیف باند III - نژاد سوئدی، آمریکایی، آرژانتین - ناهنجاری رتینال چشم و نئوپلاسم - پلاسماسل - اضافه بار آهن - موثر 

در تمامی بیماران CDA درجاتی از آنیزوسیتوزیس، پوئیکیلوسیتوزیس، بازوفیلیک منقوط، سلول‌های داکروسیت (قطره اشکی)، N-RBC، اریتروسیت‌های مچاله شده، پلی کرومازیا،

هموسیدروز و چند هستگی نورموبلاست‌ها مشاهده می‌شود.

روش رنگ آمیزی رتیگولوسیت‌ها:

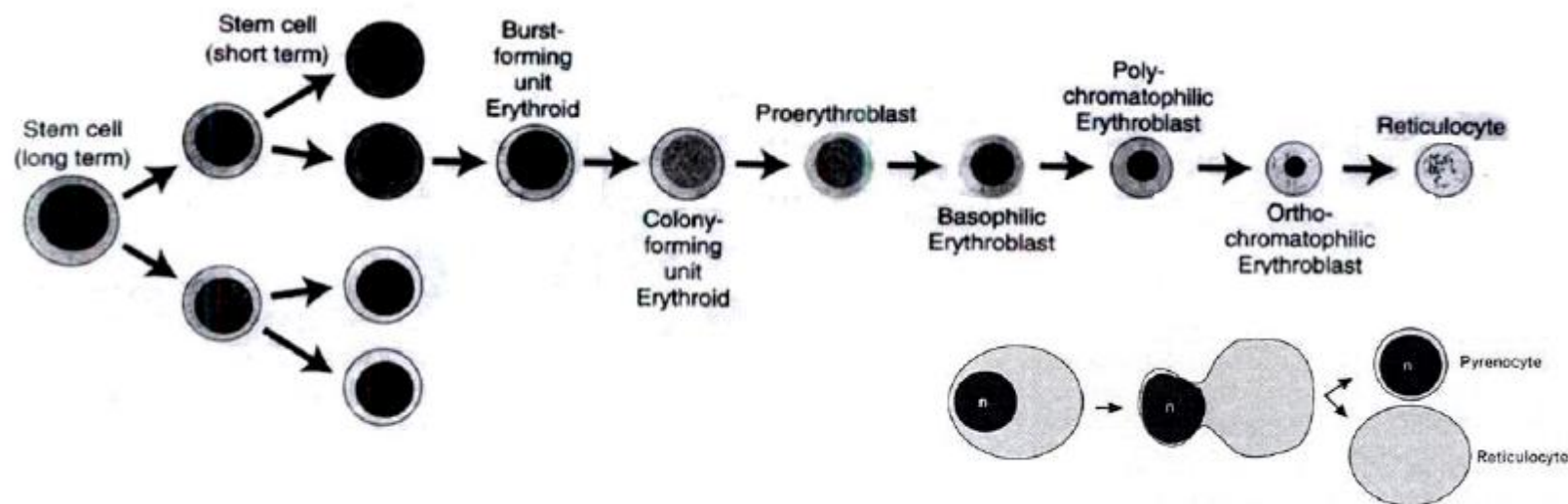
الف) تهیه رنگ نیومتیلن بلو ۱٪ (NMB):

۱ گرم پودر رنگ NMB را در ۱۰۰ ml بافر فسفات ایزواوسموتیک با $\text{PH}=6.5$ یا بافر سیترات سالین حل کرده و بعد از یک ساعت انکوباسیون در دمای RT ، محلول را از کاغذ واتمن شماره ۱ عبور داده تا رسوب رنگ موجود در محلول فیلتر شده و آماده مصرف گردد. بقاء این رنگ در دمای اتاق حدود یک ماه بوده و بعد از آن می‌بایست مجدداً به صورت تازه تهیه شود.

برای تهیه بافر فسفات از دو بافر ابتدایی A و B با نسبت ۶۶ به ۳۴ استفاده شده و بعد از تهیه بافر، PH آن در ۵/۶ تنظیم می‌شود.

$\text{A}=\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (150mmol/L)	23.4 g/l
$\text{B}=\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (150mmol/L)	21.3 g/l
66 ml A + 34 ml B = iso osmotic phosphat buffer	

برای تهیه بافر سیترات سالین نیز یک حجم از محلول سیترات سدیم ۳۰ g/L با چهار حجم از محلول نرمال سالین (کلرور سدیم ۹ g/L) مخلوط می‌شود.

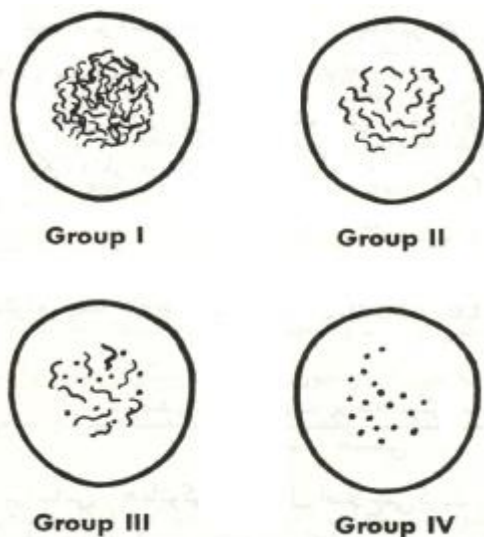


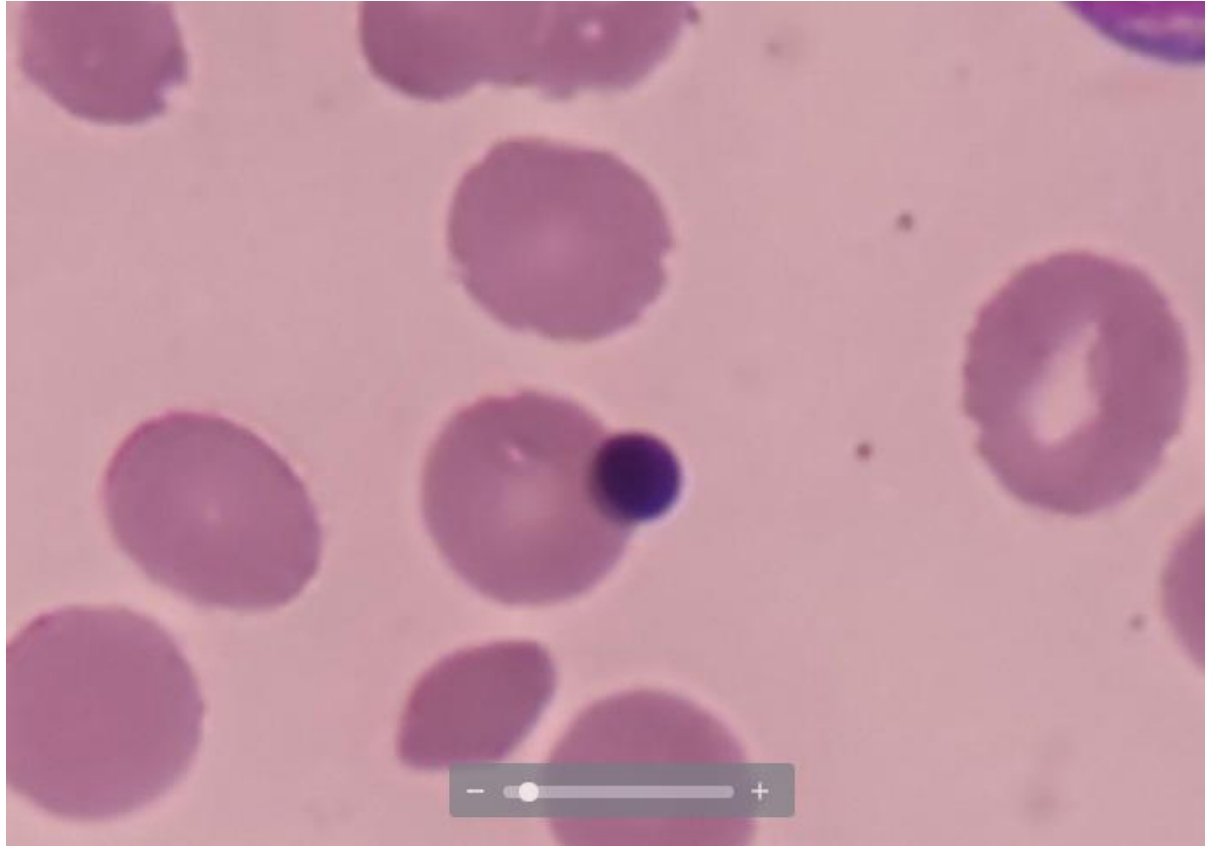
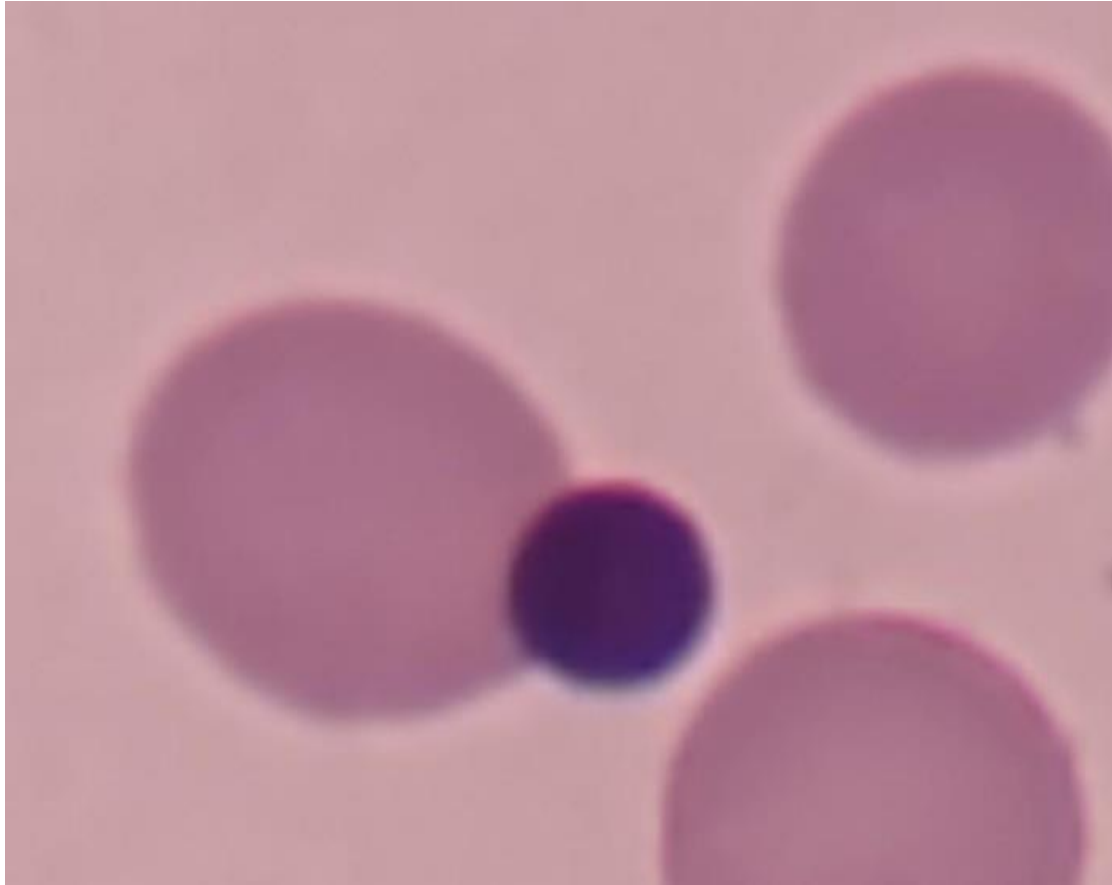
شکل ۱۲-۵: تولید سلول‌های پیرنوسیت و رتیکولوسیت از سلول اورتوکروماتوفیلیک نورموبلاست که با فاگوسیتوز سلول پیرنوسیت و ورود رتیکولوسیت به خون محیطی همراه است.

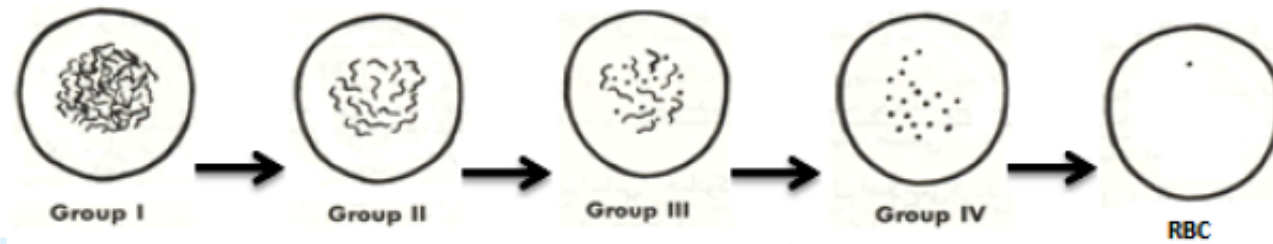
پس از نظر مورفولوژی و شدت نارس بودن سلول، رتیکولوسیت‌ها به چهار درجه طبقه بندی

می‌شوند:

- رتیکولوسیت با فیلامنت یا رشته‌های فراوان و متراکم (رتیکولوسیت تیپ I)
- رتیکولوسیت با فیلامنت‌های فراوان ولی کمتر متراکم (رتیکولوسیت تیپ II)
- رتیکولوسیت با فیلامنت و گرانول‌های متوسط (رتیکولوسیت تیپ III)
- رتیکولوسیت با فیلامنت‌های نادر و گرانول‌های زیاد تا کم (رتیکولوسیت تیپ IV)





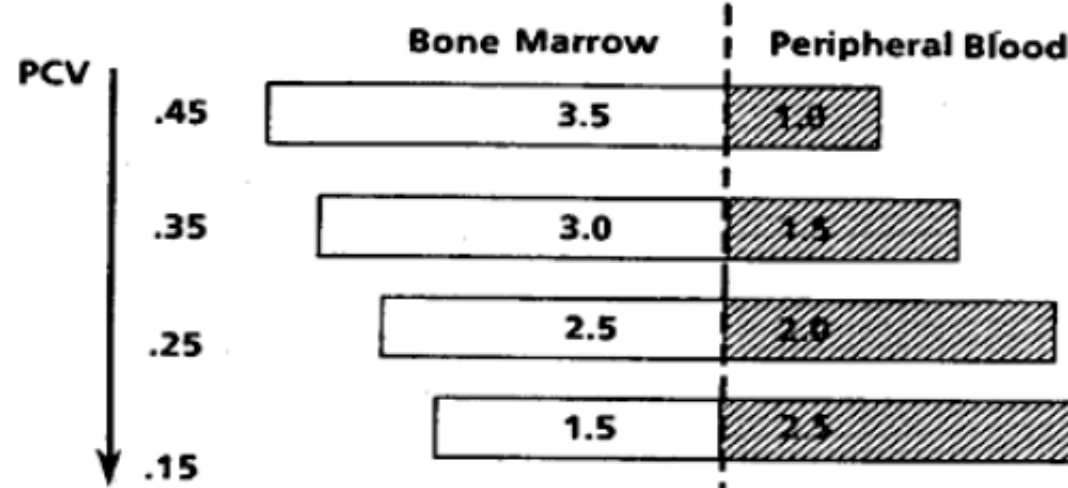


$$RPI = \frac{RET [\%]}{RET \text{ maturation time in blood in days}} \times \frac{HCT [L/L] (\text{patient})}{0.45 (\text{standard HCT})}$$

Example:

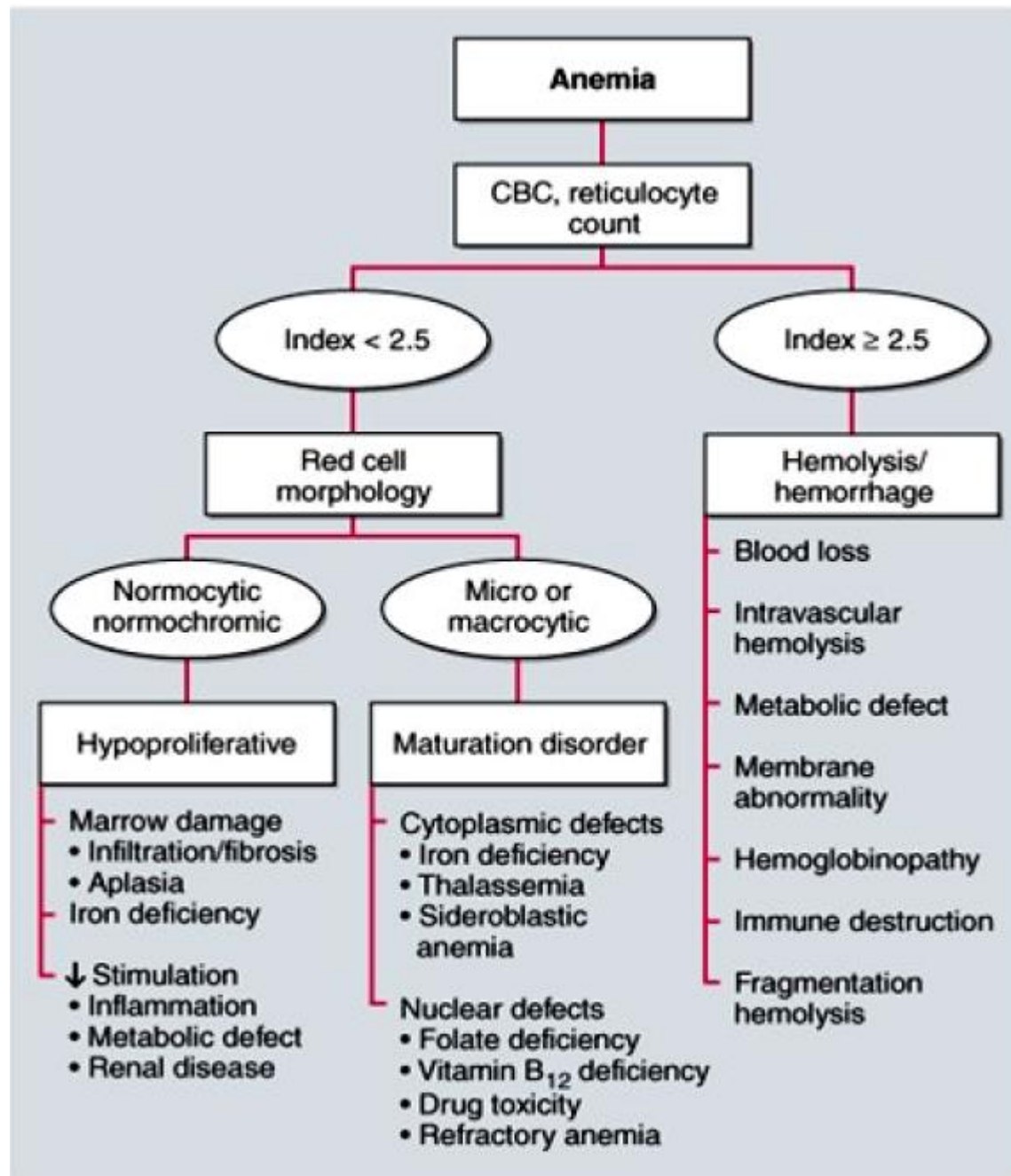
Patient values: HCT= 0.25 L/L, reticulocytes = 20

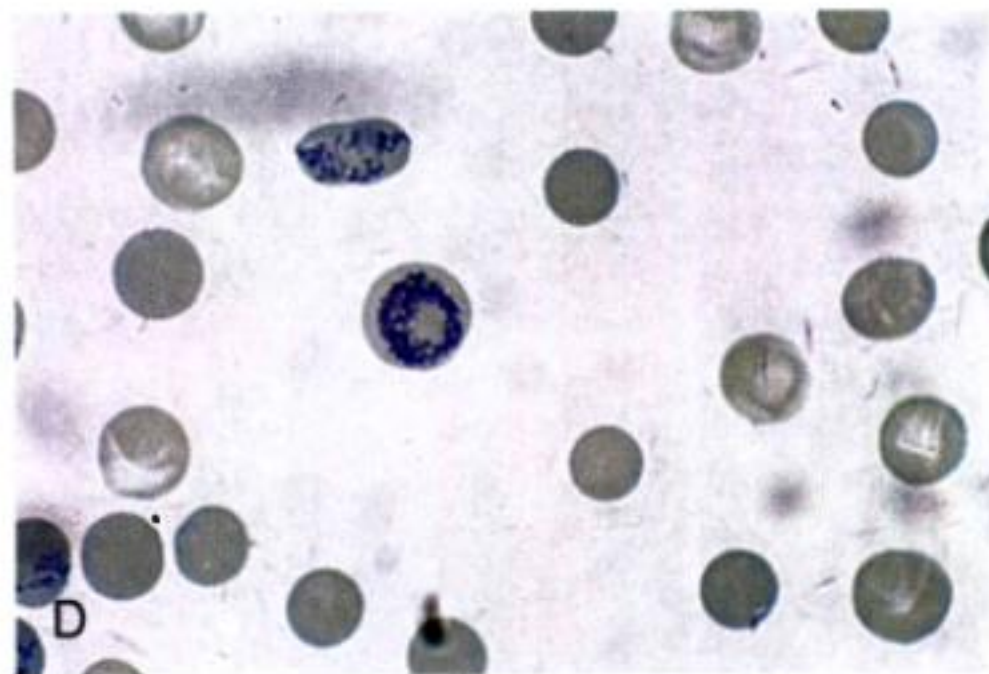
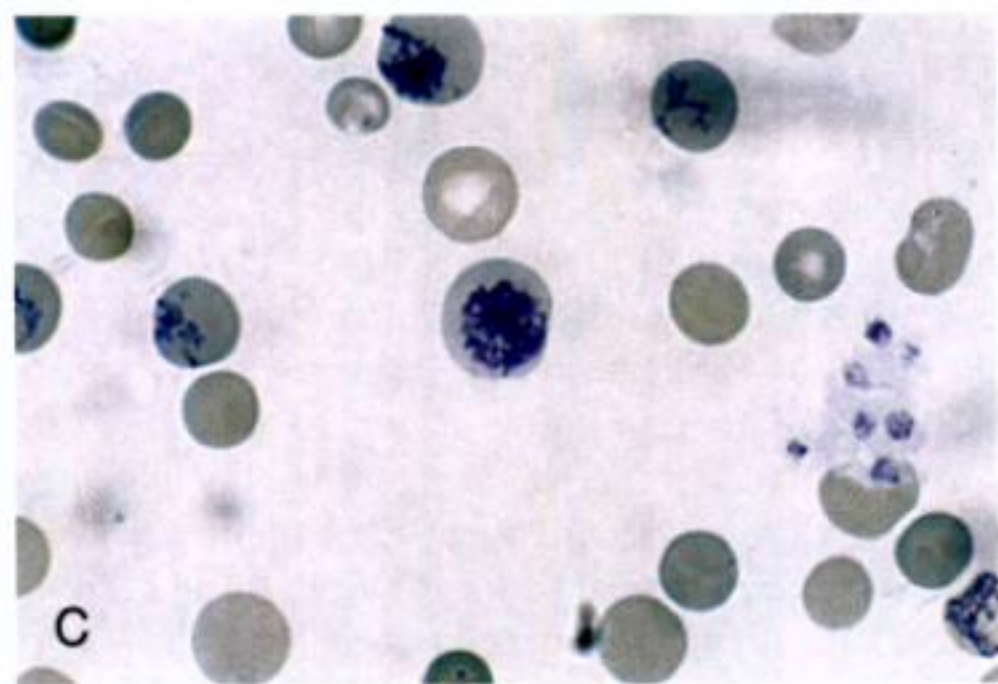
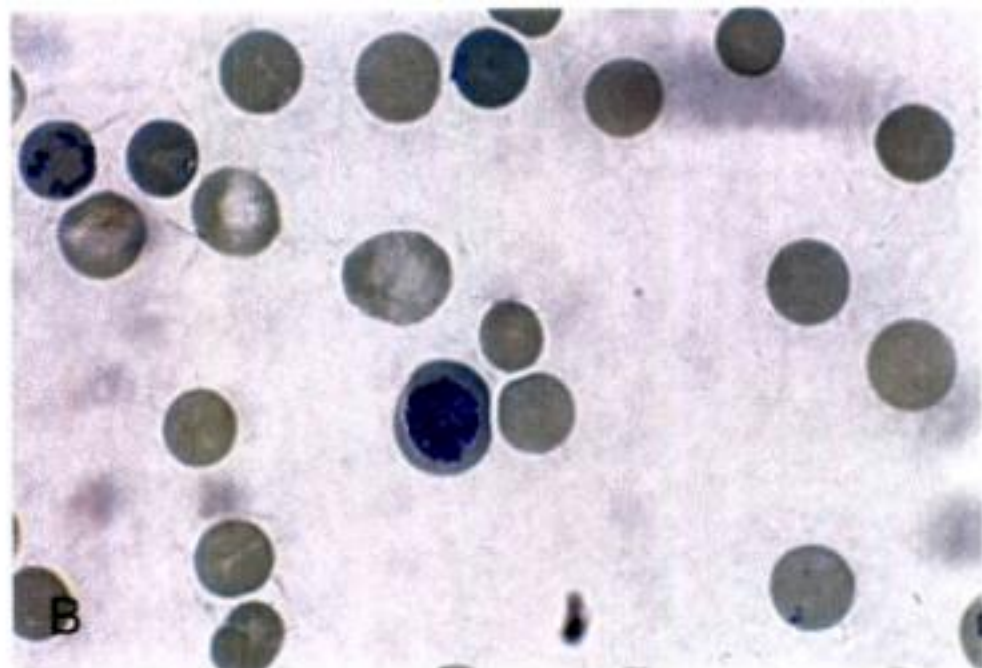
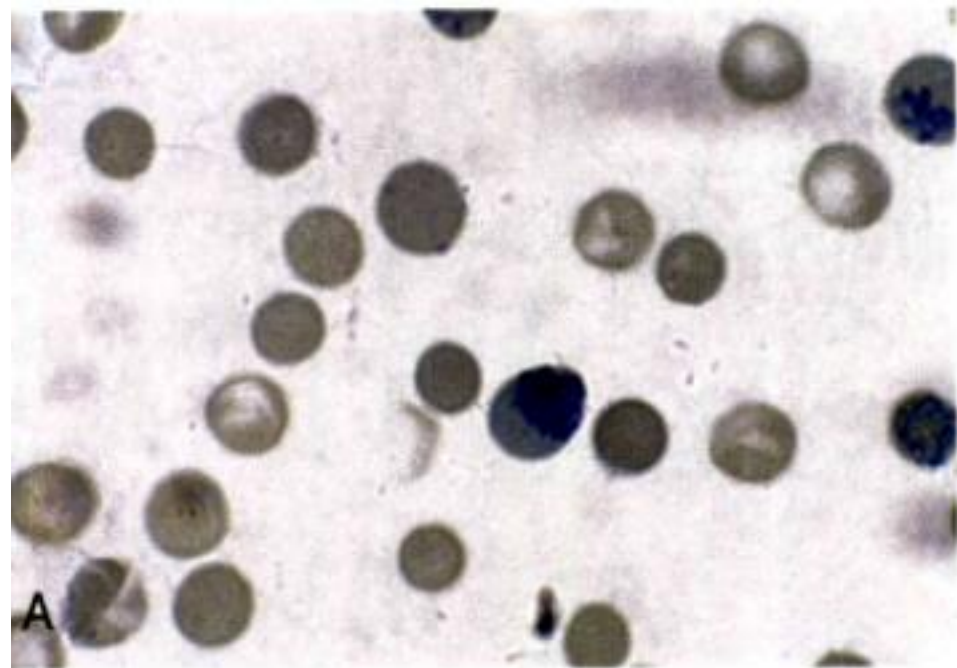
$$RPI = \frac{20 [\%]}{2} \times \frac{0.25}{0.45} = 5.5$$

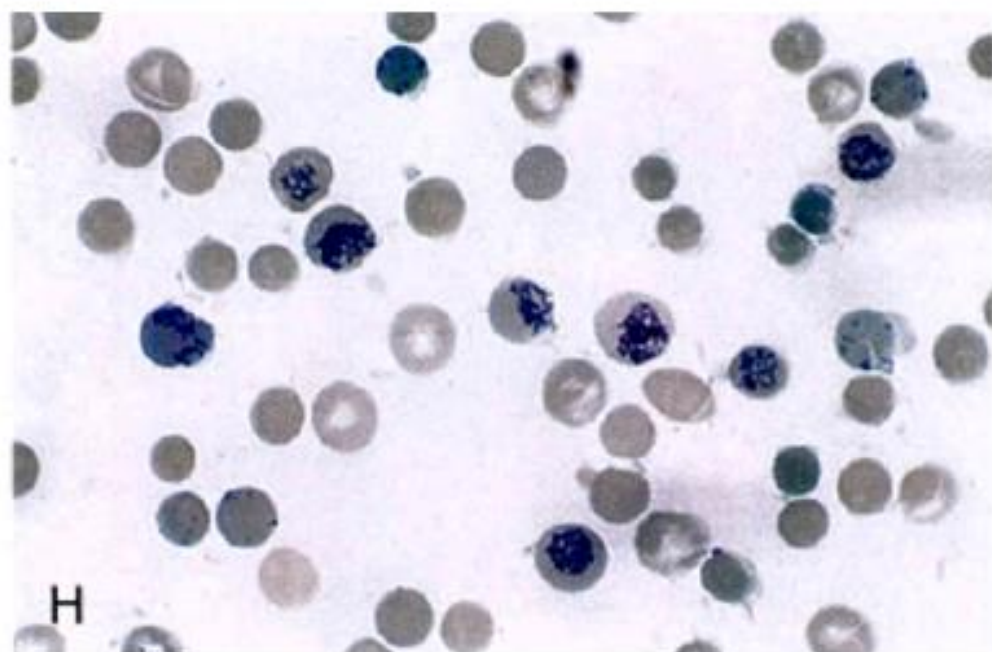
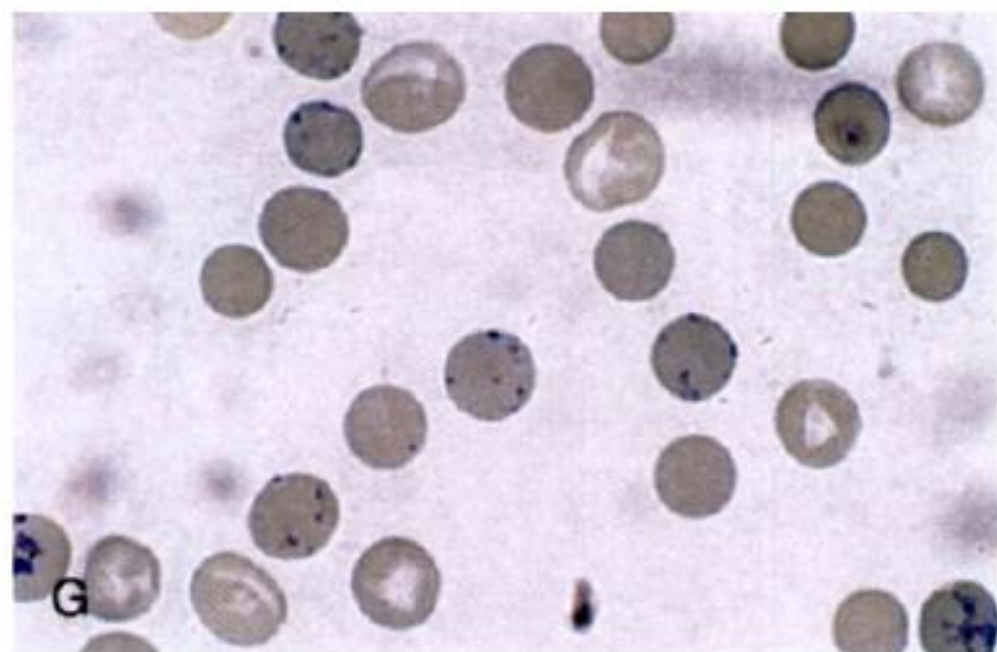
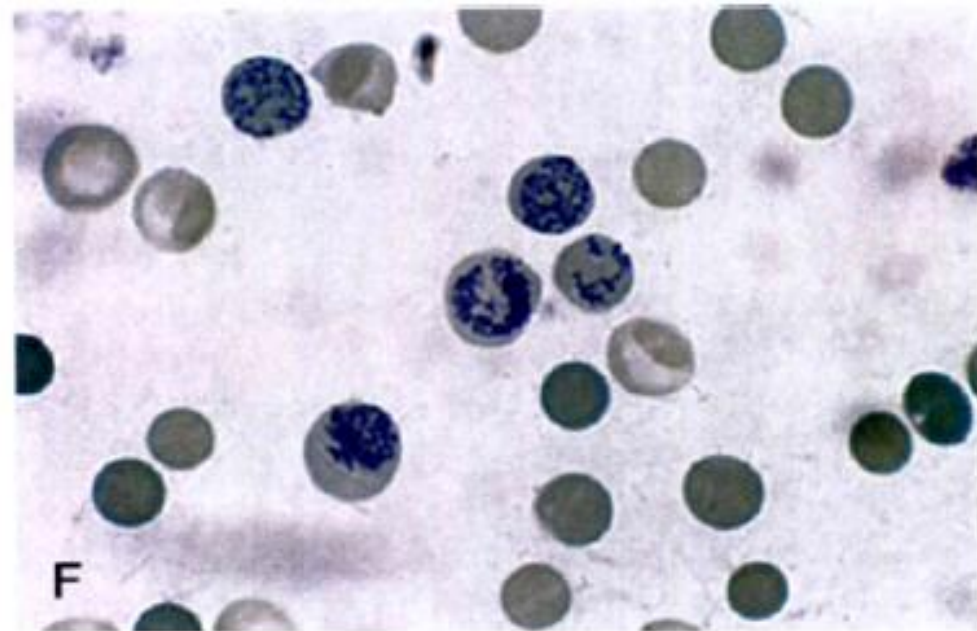
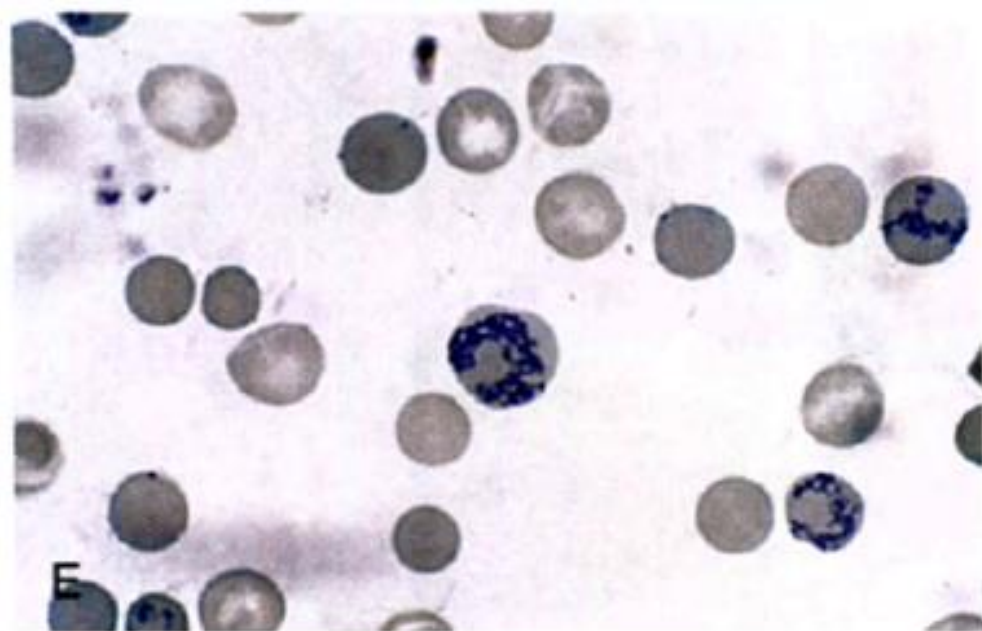


جدول ۱۰-۱۹: مراحل ۴ گانه بلوغ رتیکیلوسیت به همراه فراوانی هر کدام از آنها بر اساس طبقه بندی هیلمایر

Maturation stages according to Heilmeyer	Morphological description	Quantification according to Seip (normal %)
Stage 0	Nucleus	
Stage I	Reticulum consists of dense clots	< 0.1
Stage II	Loosely arranged reticulum	7.0
Stage III	Diffusely arranged reticulum	32.0
Stage IV	Some scattered granulae	61.0







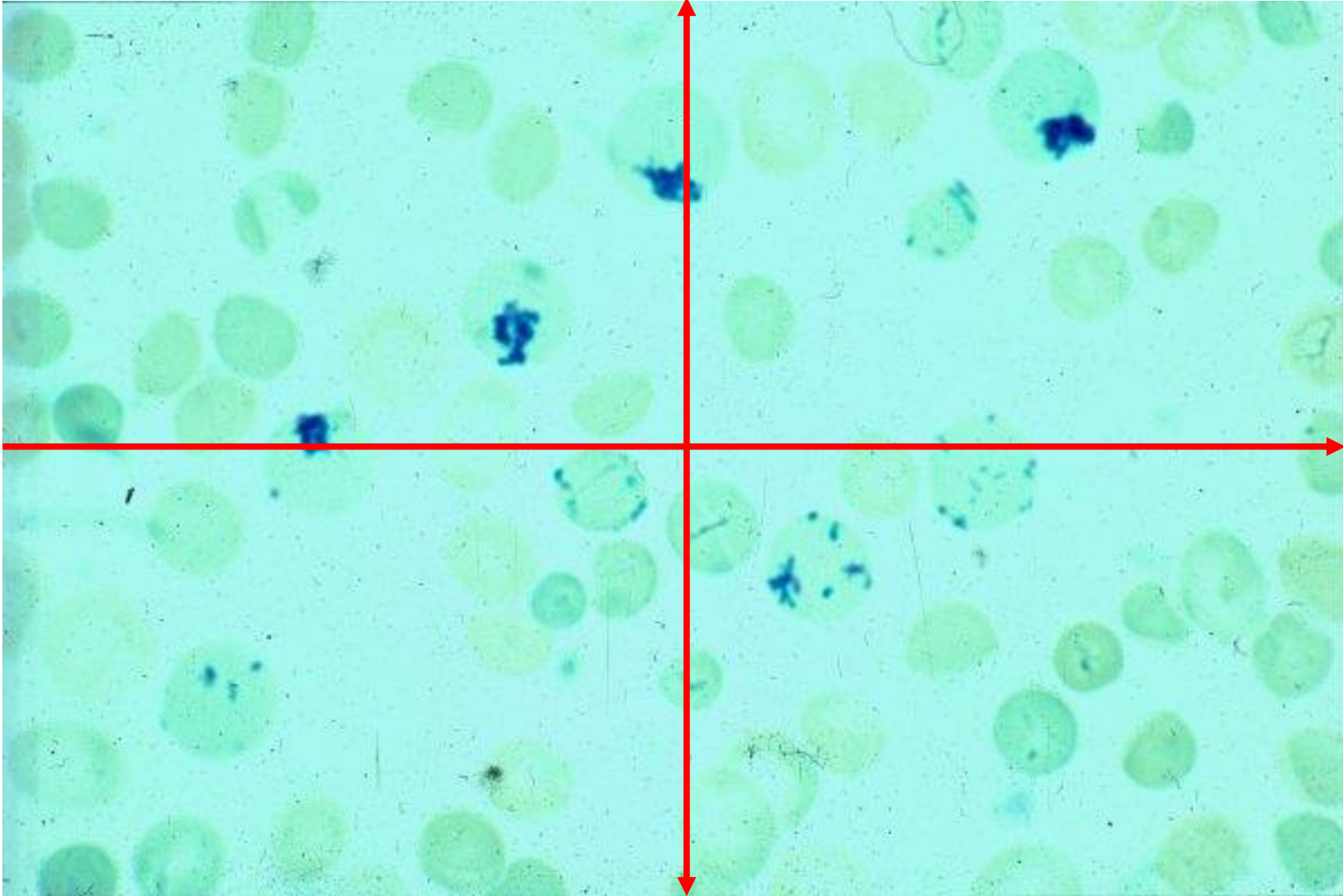
شکل ۱۴-۲۷: درجات مختلف ریکتکولوسیتوز که گروه I نابالغ (A,B)، گروه II با بلوغ کم (C,D)، گروه III با بلوغ متوسط (E,F) و گروه IV با بلوغ بالا (G,H) را نشان می‌دهد [۲۰].

Reticulocyte count in blood (%)	Number of cells to be counted to achieve a CV of 5%
1	39,600
2	19,600
5	7,600
10	3,600
20	1,600
50	400

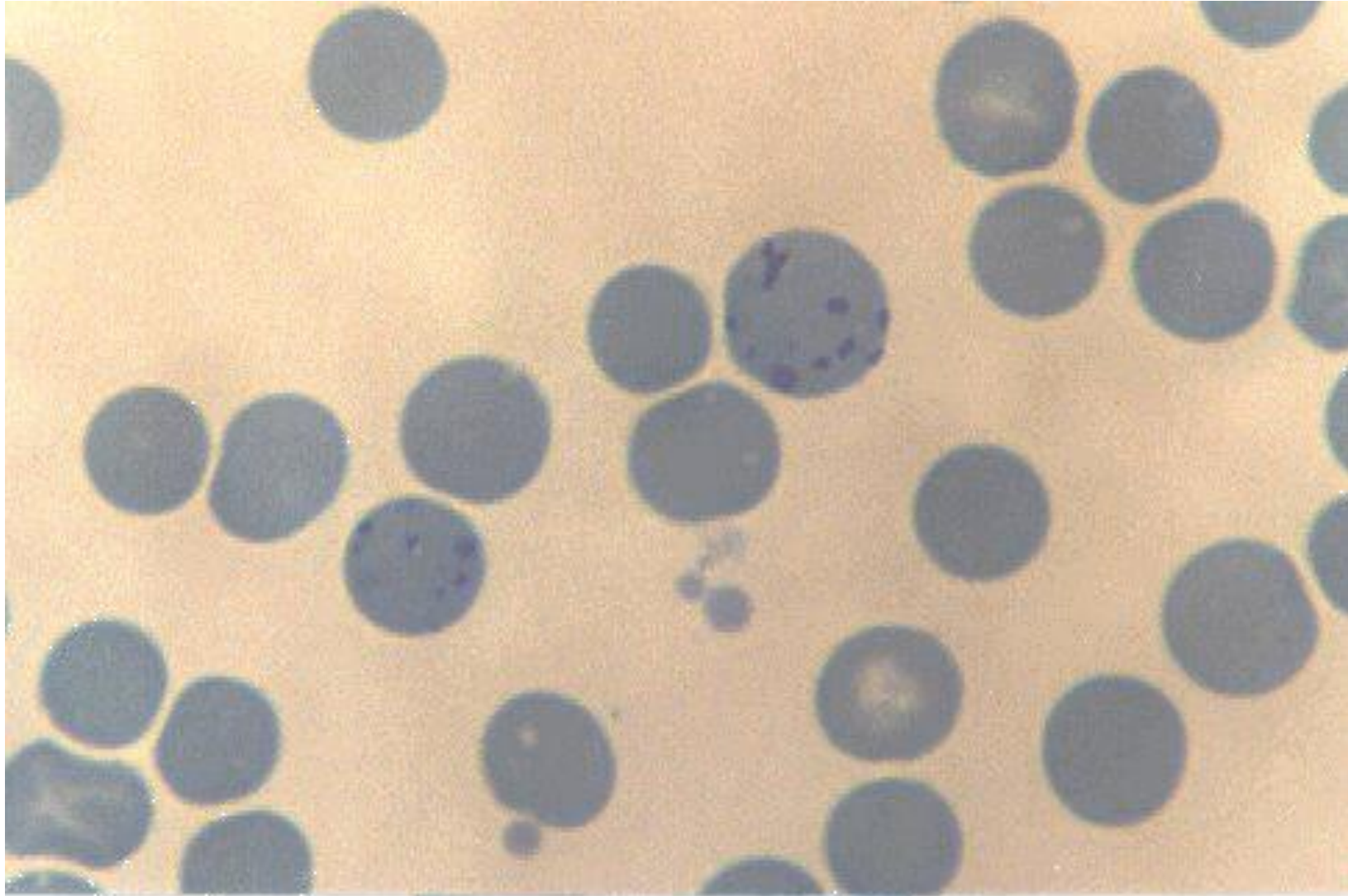
جدول ۴-۲۷: تعداد کلی RBCهایی که می‌بایست در کار یا دیسک میلر و در مربع کوچک، برای رسیدن به ضریب تغییرات مختلف (σ) مثل ۲٪، ۵٪ و ۱۰٪ شمارش شوند [۲۰].

%Retic	ضریب تغییرات ۲٪		ضریب تغییرات ۵٪		ضریب تغییرات ۱۰٪		نسبت
RBC تعداد	شمارش میلر	شمارش کل	شمارش میلر	شمارش کل	شمارش میلر	شمارش کل	-
۱-۲٪	۲۷۸۰۰	۲۵۰۲۰۰	۴۴۰۰	۳۹۶۰۰	۱۱۰۰	۹۹۰۰	0.01-0.02
۳-۵٪	۱۳۶۰۰	۱۲۲۴۰۰	۲۱۸۰	۱۹۶۲۰	۵۵۰	۴۹۵۰	0.03-0.05
۶-۱۰٪	۵۲۸۰	۴۷۵۲۰	۸۴۵	۷۶۰۵	۲۱۰	۱۸۹۰	0.06-0.1
۱۰-۲۰٪	۲۵۰۰	۲۲۵۰۰	۴۰۰	۳۶۰۰	۱۰۰	۹۰۰	0.1-0.2
۲۰-۲۵٪	۸۳۵	۷۵۱۵	۱۳۵	۱۲۱۵	۳۵	۳۱۵	0.2-0.25

Reticulocyte

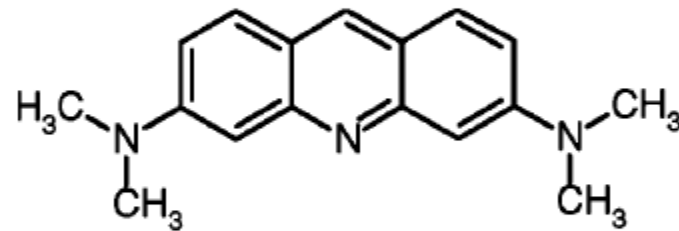


Reticulocyte



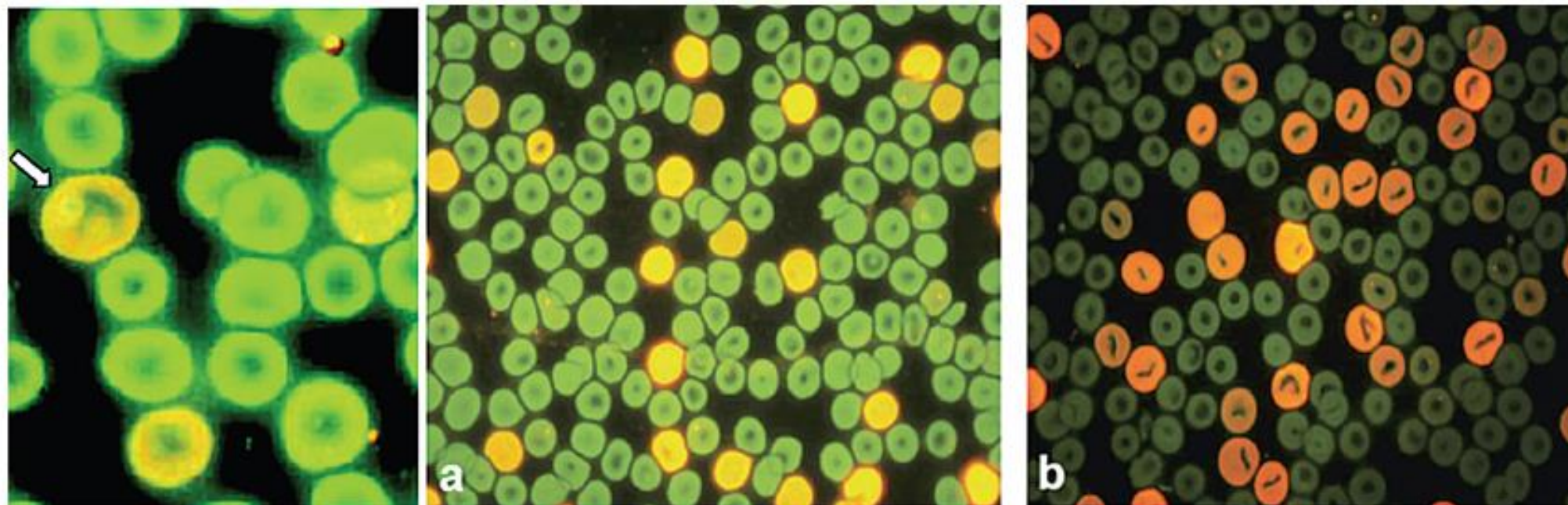
روش فلورسنت برای رنگ آمیزی و شمارش دستی (تیکولوسیت ها):

امروزه می توان از رنگ آکریدین نارنجی^۱ به صورت دستی برای شمارش درصد رتیکولوسیت استفاده کرد. AO رنگ فلورسانت کاتیونیک است که در صورت اتصال به DNA با طول موج ۵۰۲nm تهییج شده و سپس نور فلورسنت سبزی را در طول موج ۵۲۵nm از خود ساطع می کند ولی در صورت اتصال به RNA، با طول موج ۴۰۶nm (آبی) تهییج شده و سپس نور فلورسنت قرمز نارنجی را در طول موج ۶۵۰nm ساطع می کند، در نتیجه رتیکولوسیت می تواند از N-RBC و لوکوسیت ها و رسوب رتیک از اجسام هاول ژولی افتراق داده شوند. AO در صورت فاگوسیت شدن و احتباس در لیزوزوم اسیدی نیز با نور آبی تهییج شده و از خود فلورسانت نارنجی ساطع می کند، از این رو برای شناسایی سلول های آپوپتوتیک از نکروتیک نیز کاربرد دارد.



Acridine Orange

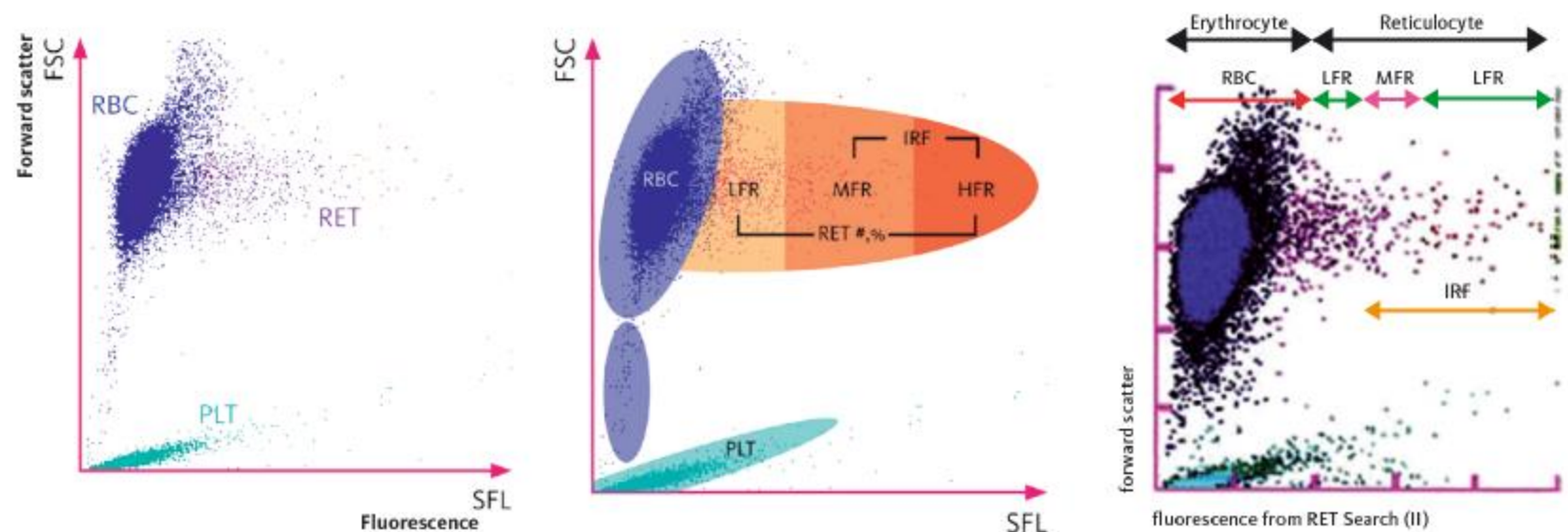
برای رنگ آمیزی و شمارش رتیکولوسیت ها با روش AO به میکروسکوپ های فلورسنت نیاز است که به دلیل قیمت بالای آن چندان به صورت روتین انجام نمی شود. برای این منظور یک حجم از خون را با یک حجم از آکریدین نارنجی 50mg/dl (محلول در نرمال سالین) مخلوط کرده و بعد از ۳ دقیقه میکس آرام شمارش می کنند. در این رنگ آمیزی RNA، گرانول های ریبوزومی و رتیکولوسیت ها به رنگ قرمز-نارنجی ولی DNA، هسته و RBC های بالغ به رنگ سبز فلورسنت در می آیند. در این رنگ آمیزی، هاینزبادی، هموگلوبین H و اجسام پاپن هایمر رنگ نشده و لذا از رتیکولوسیت ها تفکیک داده می شوند.



شکل ۲۰-۲۶: رنگ آمیزی رتیкулوسیت‌ها با آکریدین نارنجی (AO) که در آن RBCها به رنگ سبز و رتیкулوسیت‌ها به رنگ قرمز-نارنجی در آمده و با دقت زیادی از همدیگر افتراق داده می‌شوند.

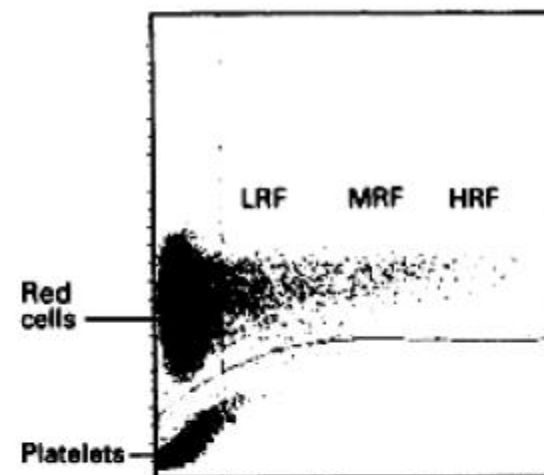
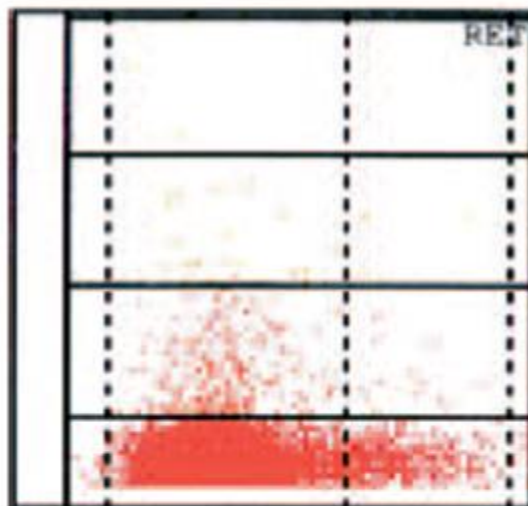
جدول ۲۳-۱۰: مقایسه سه سطح از رتیلولوسیت های LFR، MFR و HFR

LFR	MFR	HFR
Low-Fluorescence Reticulocytes	Medium-Fluorescence Reticulocytes	High-Fluorescence Reticulocytes
Little content of RNA	Medium content of RNA	High content of RNA
Mature reticulocytes	Semi-mature reticulocytes	Immature reticulocytes
Reference range: 86.5 – 98.5 %	Reference range: 1.5 – 11.5 %	Reference range: 0 – 1.4 %



شکل ۲۱۶-۱۰: هرچه رتیلولوسیت ها نابالغ تر باشند، به دلیل داشتن مقادیر بالای RNA رنگ فلورسنت بیشتری جذب کرده و لذا میل بالایی به سمت راست پیدا می کنند که به رتیلولوسیت های نابالغ تیپ I و II عبارت HFR، به رتیلولوسیت های تیپ III عبارت MFR و به رتیلولوسیت های بالغ تر تیپ IV نیز عبارت LFR استفاده می شود. به مجموع رتیلولوسیت های نابالغ I تا III (مقدار ۱۵/۹- ۱/۱ کل رتیلولوسیت ها) نیز فراکسیون رتیلولوسیت های نابالغ یا IRF گفته می شود که اغلب CD71+ نیز می باشند.

Normal Range	
RET	0.5-2
LFR	86.5-98.5
MFR	1.5-11.3
HFR	0-1.4
IRF	1.1-15.9



NO. 596925 15 : 46

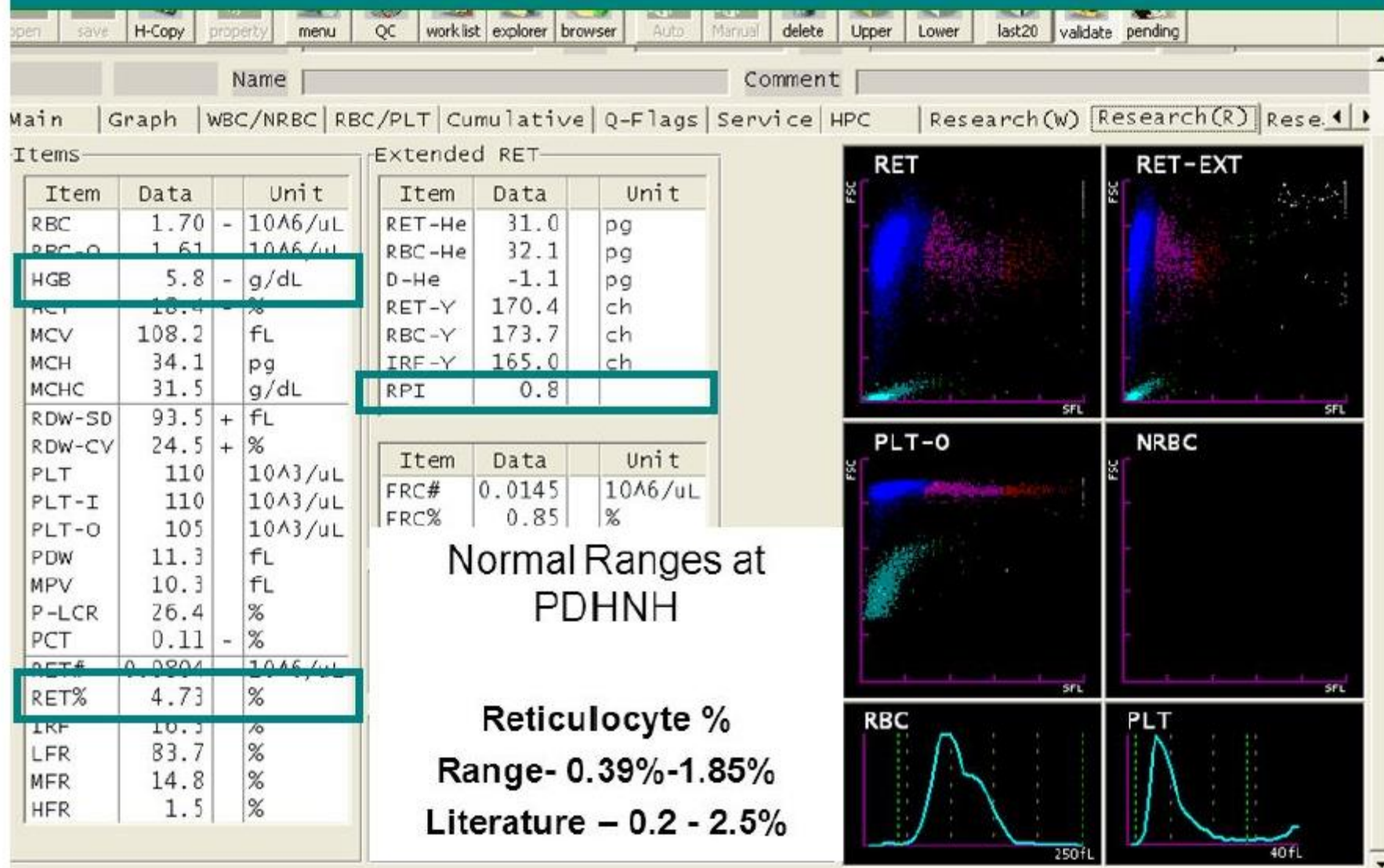
+RET % 11.52 [%]
 +RET # 299.5 [$\times 10^3 / L$]
 -RBC 2.60 [$\times 10^{12} / L$]

-LFR 66.0 [%]
 +MFR 25.7 [%]
 +HFR 8.3 [%]

PLT DISCRIMINATION ERROR

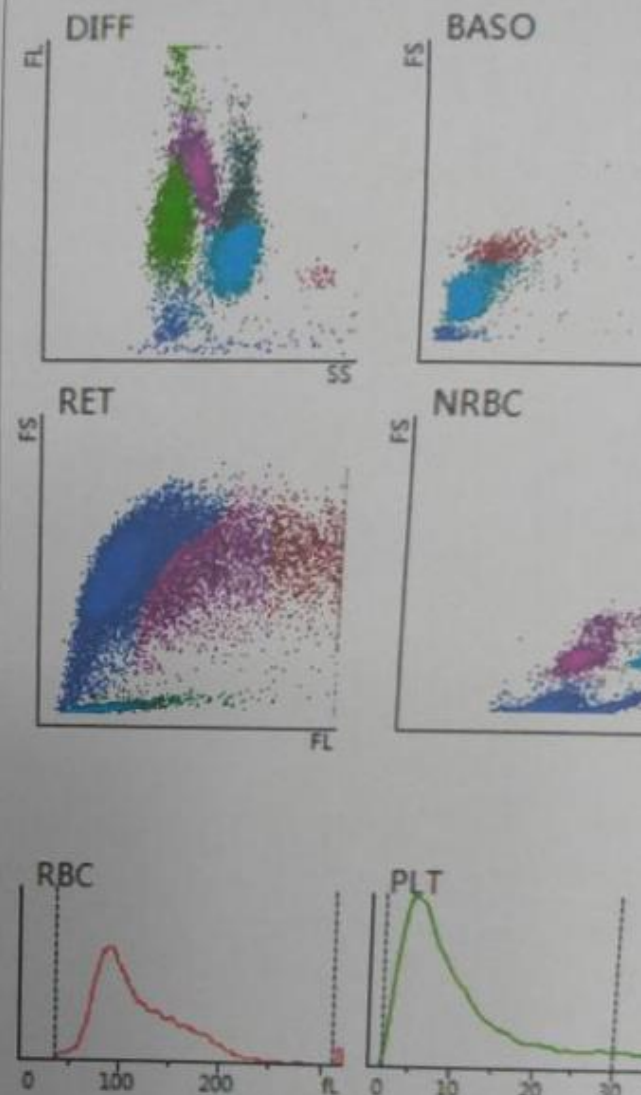
شکل ۲۱۸-۱۰: تصویر سمت راست: سیتوگرام رتیikulوسیت یک سیکسکس R-3000 (تصویر بالا) که در آن رتیikulوسیت‌های بسیار نارس با میزان فلورسنت بالا (HRF)، رتیikulوسیت‌های رسیده و بالغ با میزان فلورسنت پایین (LRF) و موارد حد وسط آنها (MRF) نشان داده شده است. HFRها (سمت راست سیتوگرام) معادل رتیikulوسیت‌های تیپ I و II و LFRها معادل رتیikulوسیت‌های تیپ IV بوده و شمارش آنها می‌تواند برآورد دقیقی از مقدار RPI باشد. تصویر سمت چپ: سیتوگرام رتیikulوسیت در سل کانتر Pentra-120R که سه سطح HRF، MRF و LRF را نشان می‌دهد. رتیikulوسیت‌ها بسته به شدت نارس بودن خود رنگ‌پذیری بیشتری داشته و لذا در سمت بالاتری از سیتوگرام قرار می‌گیرند.

Hb- 5.8 , Retic – 4.73%



شکل ۲۲۳-۱: محاسبه اتوماتیک RPI توسط سل کانترهای سیستم بر اساس HCT و RET%

Para.	Result	Unit	Ref. Ranges
1 WBC	13.50	$\times 10^3/\mu\text{L}$	3.20 - 11.50
2 Neu#	9.85	$\times 10^3/\mu\text{L}$	2.00 - 7.70
3 Lym#	1.67	$\times 10^3/\mu\text{L}$	1.00 - 3.00
4 Mon#	1.55	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.20 - 0.60
5 Eos#	0.07	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.06 - 0.50
6 Bas#	0.36	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.01 - 0.30
7 Neu%	72.9	%	43.0 - 78.0
8 Lym%	12.4	%	15.0 - 45.0
9 Mon%	11.5	%	4.0 - 9.0
10 Eos%	0.5	%	1.0 - 7.0
11 Bas%	2.7	%	0.0 - 1.0
12 RBC	1.32	$\times 10^{12}/\text{L}$	3.40 - 5.40
13 HGB	4.4	g/dL	10.5 - 16.6
14 HCT	14.7	%	31.0 - 48.0
15 MCV	111.9	fL	79.0 - 100.0
16 MCH	33.6	pg	27.6 - 35.0
17 MCHC	30.0	g/dL	31.0 - 36.0
18 RDW-CV	35.3	%	11.5 - 15.5
19 RDW-SD	143.2	fL	40.0 - 61.0
20 PLT	93	$\times 10^9/\text{L}$	145 - 440
21 MPV	****	fL	6.5 - 12.0
22 PDW	****		15.0 - 17.0
23 PCT	****	%	0.108 - 0.282
24 P-LCC	****	$\times 10^9/\text{L}$	30 - 90
25 P-LCR	****	%	11.0 - 45.0
26 RET#	0.2377	$\times 10^{12}/\text{L}$	0.0200 - 0.2000
27 RET%	18.03	%	0.30 - 3.00
28 IRF	35.9	%	0.0 - 25.0
29 LFR	64.1	%	80.0 - 100.0
30 MFR	21.6	%	0.0 - 20.0
31 HFR	14.3	%	0.0 - 5.0
32 NRBC#	1.996	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.000 - 9999.999
33 NRBC%	14.79	/100WBC	0.00 - 9999.99
34 IMG#	1.11	$\times 10^9/\text{L}$	0.00 - ...
35 IMG%	0.082	%	0.000 - 1.000
36 IPF	5.6	%	0.9 - 10.0
37 RHE	28.5	pg	28.0 - 37.0



جدول گزارش دهی مرفولوژی گلبول قرمز

%>25	%16-25	%6-15	%1-5	میانگین درصد سلول در هر میدان روغنی
grossely	marked	moderate	few	نحوه گزارش
++++	+++	++	+	نحوه گزارش

Grading scale

1(+)	2(++)	3(+++)	4(++++)
1-6 per oil imm. field	7-10 per OIF	11-20 per OIF	> 20 per OIF

Hypochromia (correlate with MCHC)

1+ : area of central pallor is $\frac{1}{2}$ of cell diameter

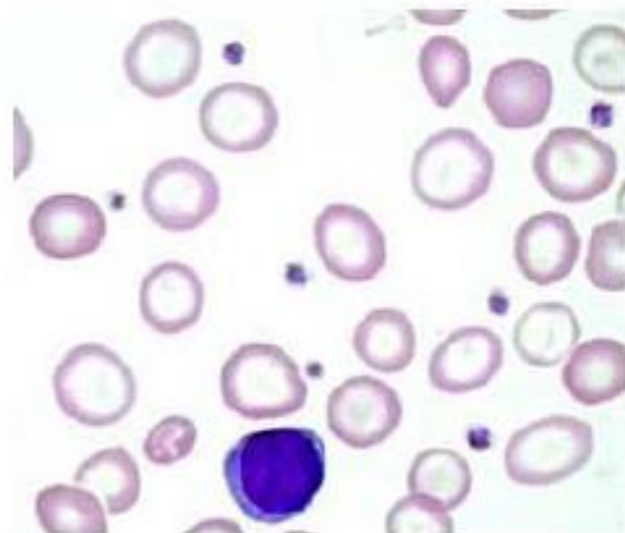
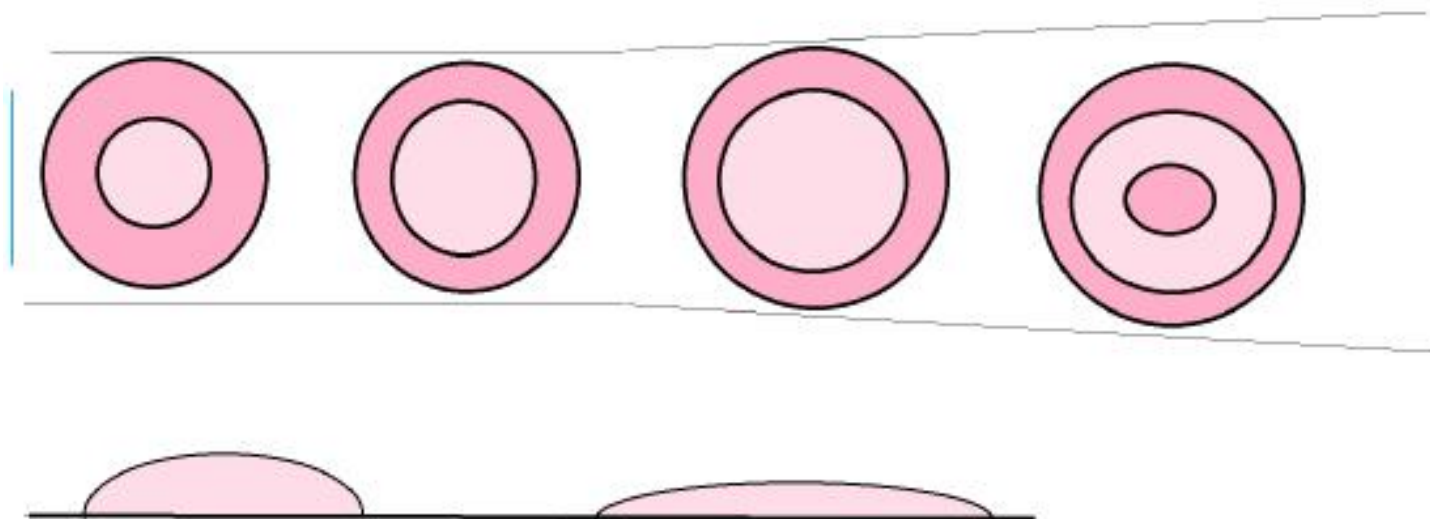
2+ : area of central pallor is $\frac{2}{3}$ of cell diameter

3+ : area of central pallor is $\frac{3}{4}$ of cell diameter

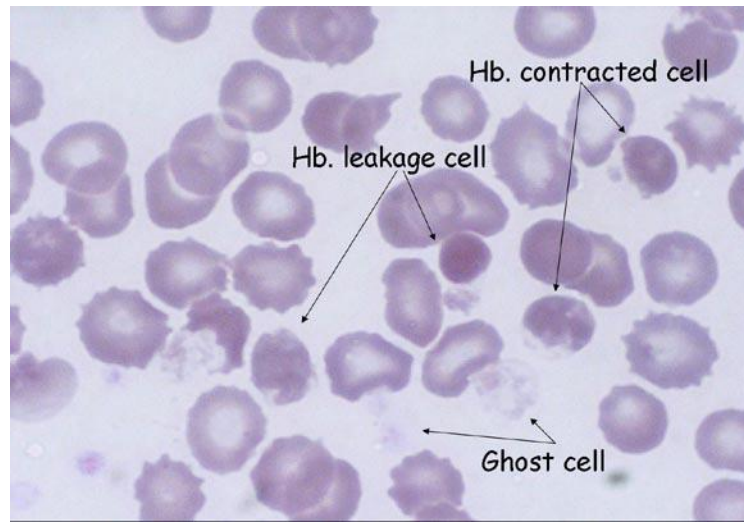
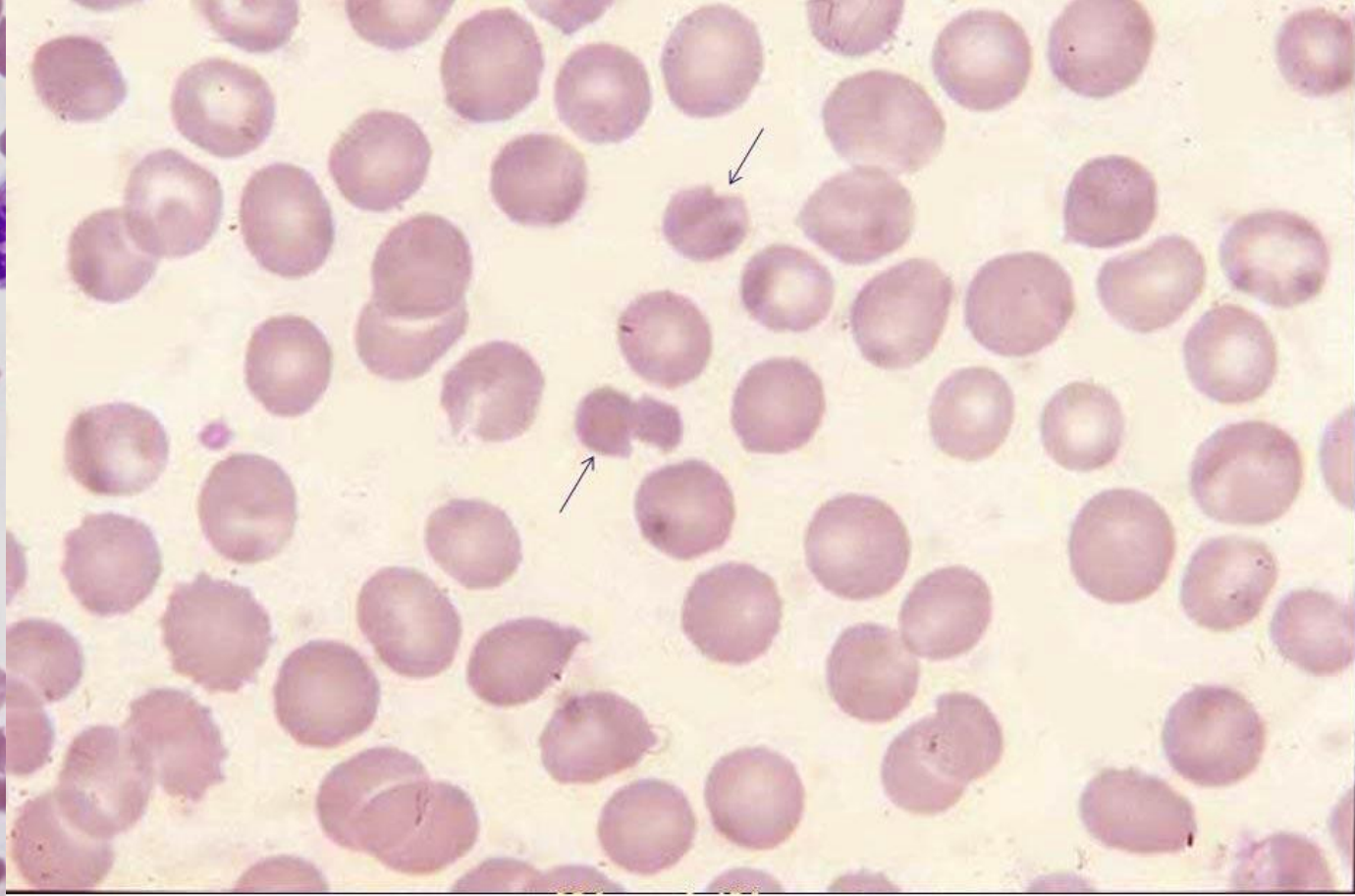
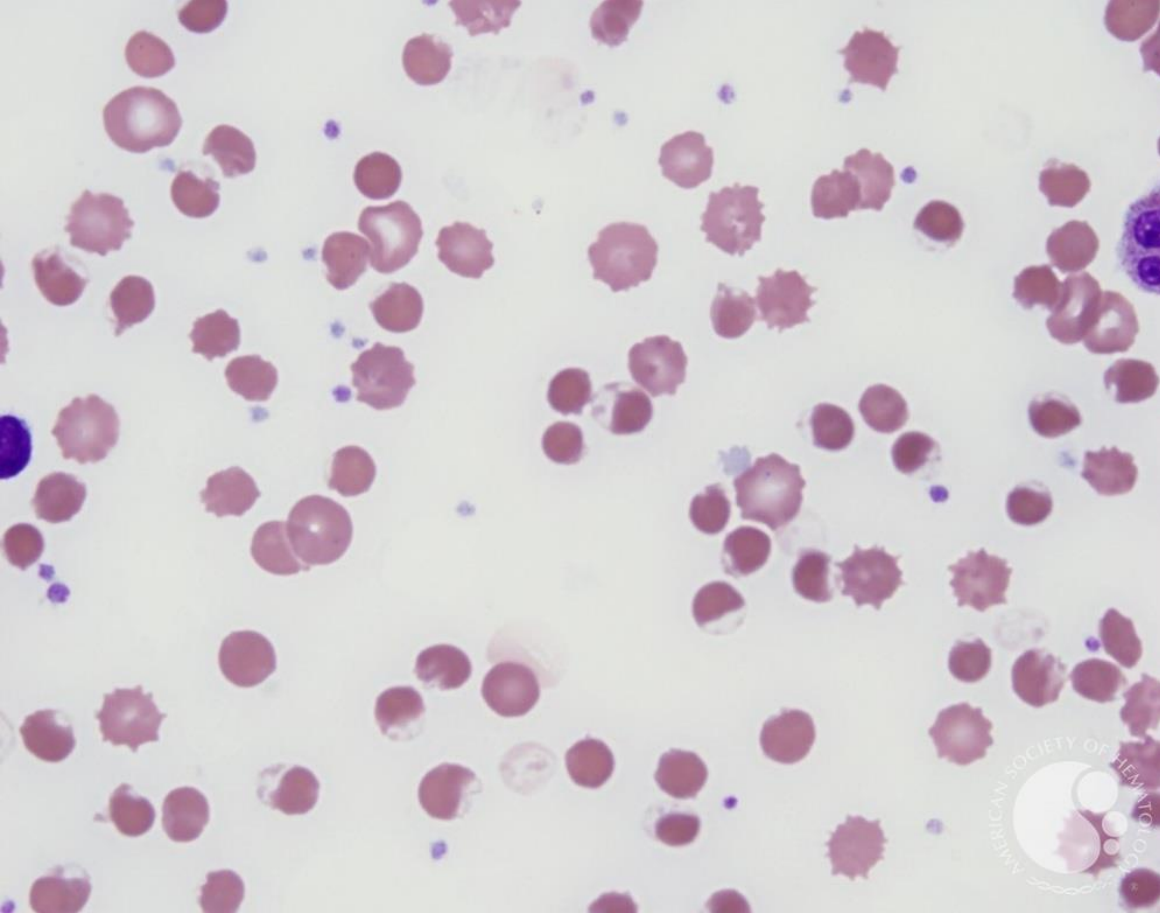
4+ : thin rim of hemoglobin

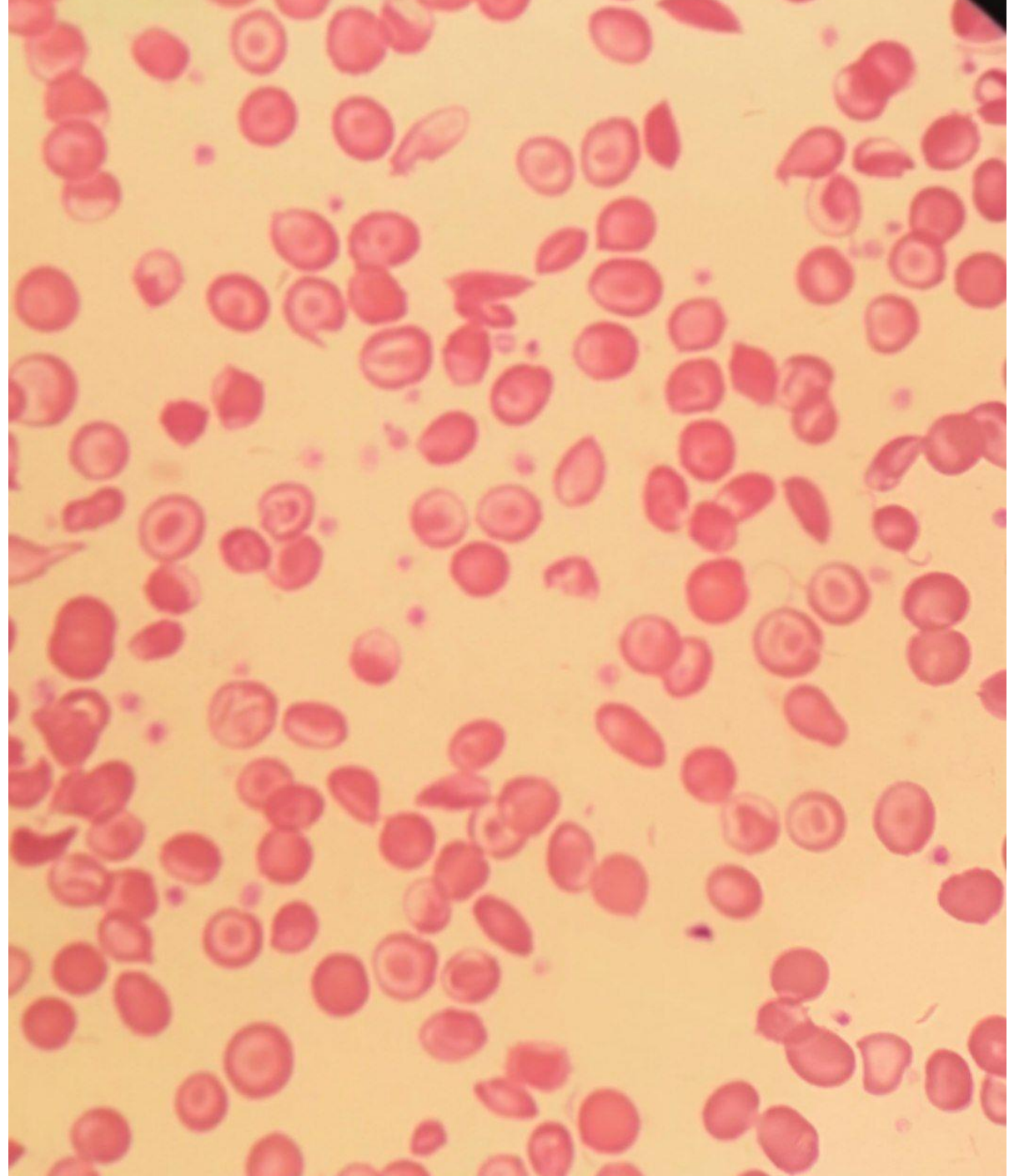
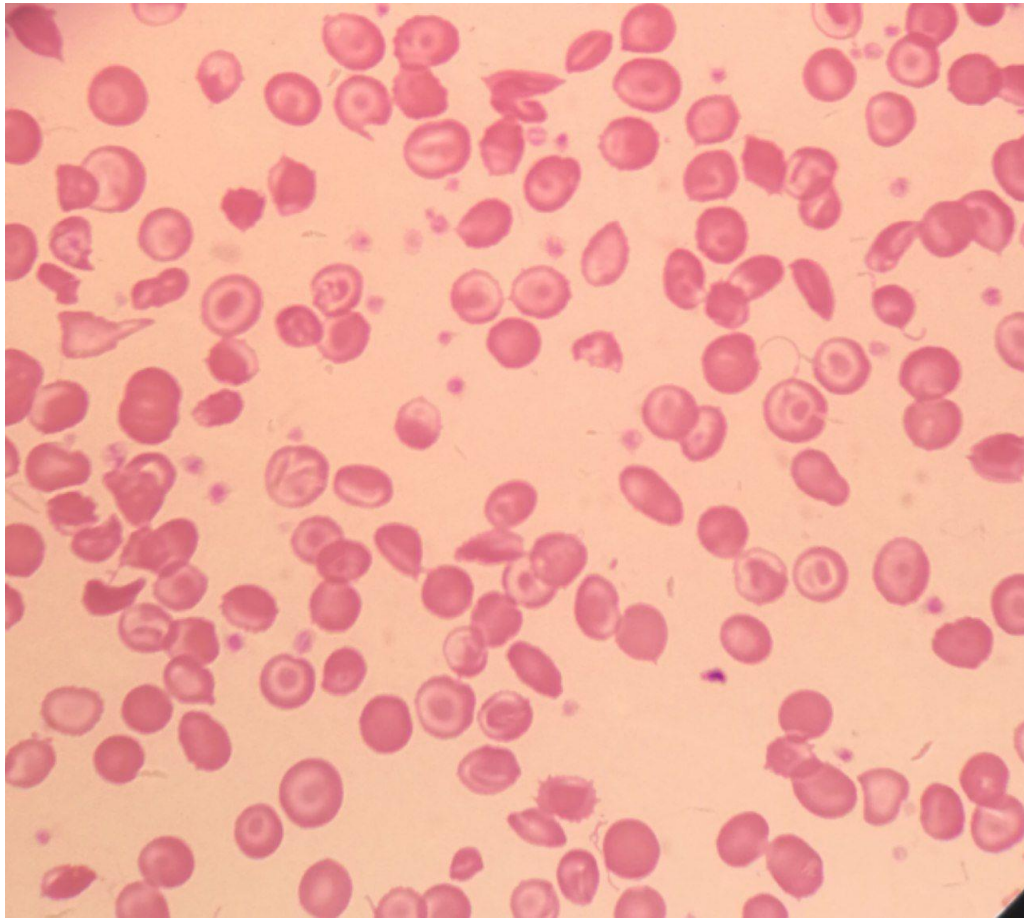
Morphology Grading Table			
Cell Name	Few/1+	Mod/2+	Many/3+
Schistocytes	<1%	1–2	>2
Sickle cells	N/A	1–2	>2
Bite cells	N/A	1–2	>2
Blister cells	N/A	1–2	>2
Irregularly contracted cells	N/A	1–2	>2
Howell-Jolly bodies	N/A	2–3	>3
Pappenheimer bodies	N/A	2–3	>3
Oval macrocytes	N/A	2–5	>5
Polychromasia	N/A	5–20	>20
Acanthocytes	N/A	5–20	>20
Echinocytes	N/A	5–20	>20
Elliptocytes	N/A	5–20	>20
Ovalocytes	N/A	5–20	>20
Spherocytes	N/A	5–20	>20
Stomatocytes	N/A	5–20	>20
Target cells	N/A	5–20	>20
Teardrop cells	N/A	5–20	>20
Basophilic stippling	N/A	5–20	>20
Anisocytosis	N/A	11–20	>20
Macrocytes	N/A	11–20	>20
Microcytes	N/A	11–20	>20
Hypochromic cells	N/A	11–20	>20

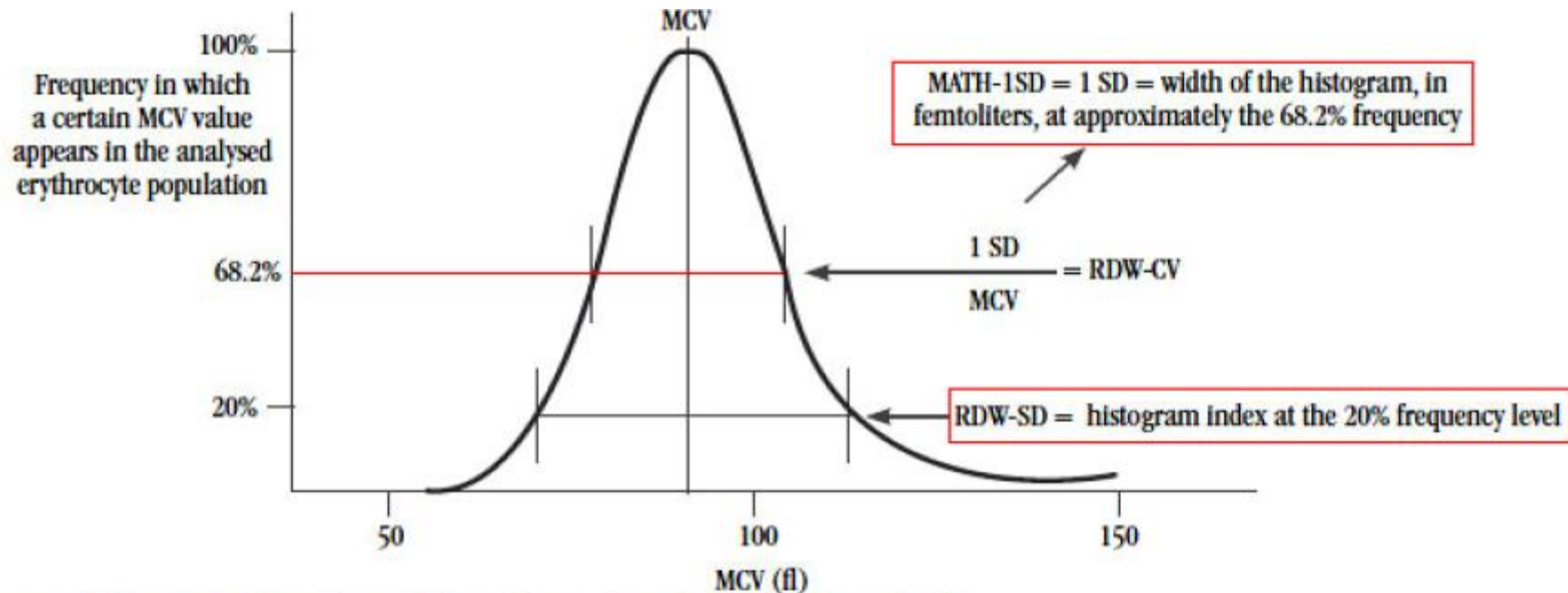
Morphology Grading Table			
Cell Name	Few/1+	Mod/2+	Many/3+
WBC			
Döhle bodies	N/A	2–4	>4
Vacuolation (neutrophil)	N/A	4–8	>8
Hypogranulation (neutrophil)	N/A	4–8	>8
Hypergranulation (neutrophil)	N/A	4–8	>8
Platelets			
Giant Platelets	N/A	11–20	>20



	MCH (fl)	MCHC (pg)	Hb (g/dl)	H-RBC	Anoulocyte	Leptocyte & Target Cell
Hypo 1+	22-28	>32	11-12	5-10%	+	-
Hypo 2+	18-21	29-31	8-10	11-20%	++	+/-
Hypo 3+	<18	<29	<8	>20%	+++	++



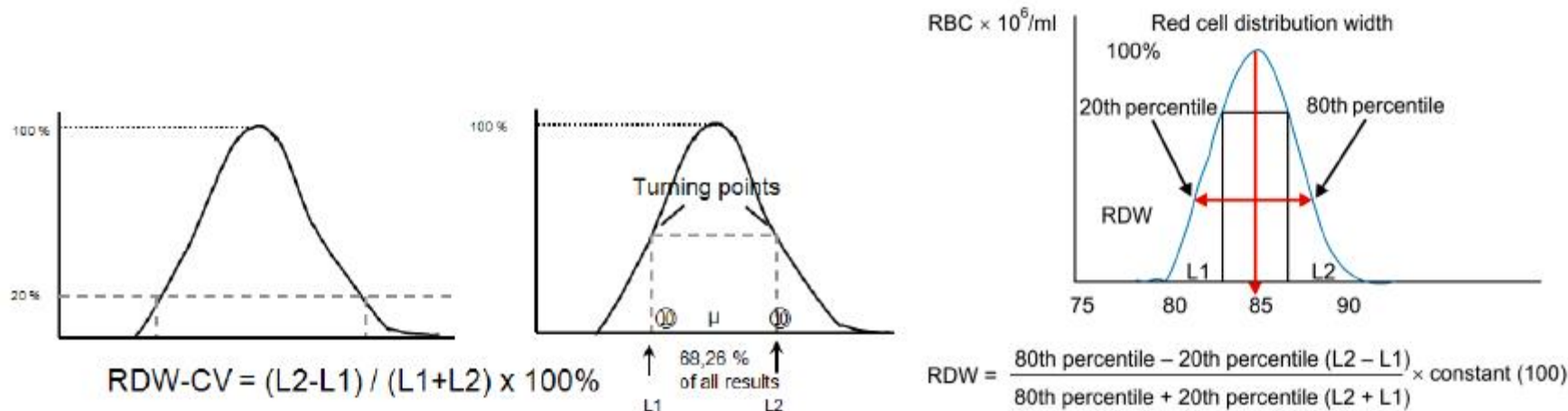




Obtainment of RDW-CV, MATH-1SD and RDW-SD from erythrocyte volume distribution histogram (1 SD)

RDW-CV: coefficient of variation of red cell distribution width; RDW-SD: standard deviation of red cell distribution width; SD: standard deviation; MCV: mean corpuscular volume.

شکل ۵۶-۱: در واقع RDW-SD به نوعی پهنای هیستوگرام RBC در ارتفاع یا فراوانی ۲۰٪ بوده و RDW-CV نسبت پهنای هیستوگرام RBC در فراوانی ۶۸٪ به مقدار MCV می‌باشد.



شکل ۵۷-۱: معرفی فرمولاسیون دوم از طرف شرکت سیسکس برای محاسبه RDW که در واقع در آن CV ۶۸٪ جمعیت (1SD x 100/MCV) و نه کل جمعیت (4SD) محاسبه می‌گردد.

سه نوع خطا در تست دیف وجود دارد: (۱) خطای ناشی از توزیع غیریکنواخت سلول‌ها، (۲) خطای ناشی از شناسایی غلط سلول‌ها (بویژه بین مونوسیت، متامیلوسیت، لنفوسیت آتیپیک/واریانت و برخی لنفوسیت‌های طبیعی) و (۳) خطای ناشی از شمارش پایین سلول‌ها. همان‌طوری‌که می‌دانیم نتایج تست‌های آزمایشگاهی غالباً با ضریب اطمینان ۹۵٪ گزارش می‌شوند که معادل $X \pm 2SD$ می‌باشد. انحراف معیار یا SD نیز به صورت $SD = \sqrt{X(100-X)/n}$ محاسبه می‌شود، لذا هرچه تعداد n بالاتر باشد، SD کمتر شده و محدوده ضریب تغییرات کمتر می‌شود که باعث افزایش دقت، حساسیت و اختصاصیت تست می‌شود.

برای مثال، مونوسیت متوسط ۱۰٪ را با شمارش ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ سلول در نظر بگیرید:

$$n=100 \rightarrow SD = \sqrt{X(100-X)/n} = \sqrt{10(100-10)/100} = 3 \rightarrow 10 \pm 6 = 4-16\%$$

$$n=500 \rightarrow SD = 1.3 \rightarrow 10 \pm 2.62 = 7.4-12.6\%$$

$$n=10000 \rightarrow SD = 0.9 \rightarrow 10 \pm 1.88 = 8.2-11.8\%$$

همان‌طور که مشهود است، ضریب تغییرات و محدوده قابل گزارش مونوسیت ۱۰٪ در شمارش ۱۰۰ سلولی، از ۴ تا ۱۶ درصد متغیر است که دامنه بزرگی بوده و از دقت کمتری برخوردار است و لذا علی‌رغم دقت و مهارت فرد انجام دهنده آزمایش و کیفیت مطلوب رنگ، تنها شمارش پایین سلول‌ها می‌تواند خطای به این بزرگی را ایجاد کند ولی با شمارش ۵۰۰ سلولی، این دامنه باریکتر و محدودتر شده و به ۶/۱۲-۴/۷٪ می‌رسد که از خطای به مراتب کمتری برخوردار است. PMN‌ها و لنفوسیت‌ها به دلیل درصد بالایی که دارند، کمترین خطا را دارند ولی تغییرات و خطای شمارش در سلول‌هایی با درصد پایین مثل ائوزینوفیل، مونوسیت و بویژه بازوفیل و بلاست خیلی زیاد بوده و علاوه بر خطای انتشار و توزیع غیریکنواخت، خطای ناشی از شناسایی غلط و تعداد پایین شمارش نیز به آنها لحاظ می‌شود، لذا در مواقع حساس می‌توان برای این دسته سلول‌ها از دیف ۴۰۰ یا ۵۰۰ تایی استفاده نمود. دستگاه‌های سل‌کانتر با شمارش ۵۰۰۰-۱۰۰۰۰ سلول، این خطا را به حداقل رسانده‌اند، (بعنوان مثال برای مثال مونوسیت ۱۰٪، دامنه تغییرات به ۸/۱۱-۸/۲٪ کاهش می‌یابد). درمقابل، افرادی هم که از روی کم‌کاری دیف را با ۵۰ سلول انجام می‌دهند، در مورد سلول‌های کم درصد و نادر دچار خطای فاحش و جبران ناپذیری می‌شوند. با فرض شمارش ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ سلول و با پیش فرض درصد سلولی ۱۰۰-۱٪، ضریب خطای تمامی حالات محاسبه و بصورت یک جدول آماده ارائه شده است که جدول ۴-۷ نشان داده شده است.

جدول ۴-۷: ضریب اطمینان ۹۵٪ یا در حقیقت ضریب خطای ۵٪ برای شمارش‌های مختلف لکوسیت‌های خون

α	$n = 100$	$n = 200$	$n = 500$	$n = 1000$	$n = 10\,000$
0	0.0–3.6	0.0–1.8	0.0–0.7	0.0–0.4	0.0–0.1
1	0.0–5.4	0.1–3.6	0.3–2.3	0.5–1.8	0.8–1.3
2	0.0–7.0	0.6–5.0	1.0–3.6	1.2–3.1	1.7–2.3
3	0.6–8.5	1.1–6.4	1.7–4.9	2.0–4.3	2.6–3.4
4	1.1–9.9	1.7–7.7	2.5–6.1	2.9–5.4	3.6–4.5
5	1.6–11.3	2.4–9.0	3.3–7.3	3.7–6.5	4.5–5.5
6	2.2–12.6	3.1–10.2	4.1–8.5	4.6–7.7	5.5–6.5
7	2.9–13.9	3.9–11.5	4.9–9.6	5.5–8.8	6.5–7.6
8	3.5–15.2	4.6–12.7	5.8–10.7	6.4–9.9	7.4–8.6
9	4.2–16.4	5.4–13.9	6.6–11.9	7.3–10.9	8.4–9.6
10	4.9–17.6	6.2–15.0	7.5–13.0	8.2–12.0	9.4–10.7
15	8.6–23.5	10.4–20.7	12.0–18.4	12.8–17.4	14.3–15.8
20	12.7–29.2	14.7–26.2	16.6–23.8	17.6–22.6	19.2–20.8
25	16.9–34.7	19.2–31.6	21.3–29.0	22.3–27.8	24.1–25.9
30	21.2–40.0	23.7–36.9	26.0–34.2	27.2–32.9	29.1–31.0
35	25.7–45.2	28.4–42.0	30.8–39.4	32.0–38.0	34.0–36.0
40	30.3–50.3	33.2–47.1	35.7–44.4	36.9–43.1	39.0–41.0
45	35.0–55.3	38.0–52.2	40.6–49.5	41.9–48.1	44.0–46.0
50	39.8–60.2	42.9–57.1	45.5–54.5	46.9–53.1	49.0–51.0
55	44.7–65.0	47.8–62.0	50.5–59.4	51.9–58.1	54.0–56.0
60	49.7–69.7	52.9–66.8	55.6–64.3	56.9–63.1	59.0–61.0
65	54.8–74.3	58.0–71.6	60.6–69.2	62.0–68.0	64.0–66.0
70	60.0–78.8	63.1–76.3	65.8–74.0	67.1–72.8	69.0–70.9
75	65.3–83.1	68.4–80.8	71.0–78.7	72.2–77.7	74.1–75.9
80	70.8–87.3	73.8–85.3	76.2–83.4	77.4–82.4	79.2–80.8
85	76.5–91.4	79.3–89.6	81.6–88.0	82.6–87.2	84.2–85.7
90	82.4–95.1	85.0–93.8	87.0–92.5	88.0–91.8	89.3–90.6
91	83.6–95.8	86.1–94.6	88.1–93.4	89.1–92.7	90.4–91.6
92	84.8–96.5	87.3–95.4	89.3–94.2	90.1–93.6	91.4–92.6
93	86.1–97.1	88.5–96.1	90.4–95.1	91.2–94.5	92.4–93.5
94	87.4–97.8	89.8–96.9	91.5–95.9	92.3–95.4	93.5–94.5
95	88.7–98.4	91.0–97.6	92.7–96.7	93.5–96.3	94.5–95.5
96	90.1–98.9	92.3–98.3	93.9–97.5	94.6–97.1	95.5–96.4
97	91.5–99.4	93.6–98.9	95.1–98.3	95.7–98.0	96.6–97.4
98	93.0–99.9	95.0–99.4	96.4–99.0	96.9–98.8	97.7–98.3
99	94.6–99.9	96.4–99.9	97.7–99.7	98.2–99.5	98.7–99.2
100	96.4–100.0	98.2–100.0	99.3–100.0	99.6–100.0	99.9–100.0

■ هنگام دیف سلولی همواره بین لنفوسیت‌های بزرگ، لنفوسیت‌های واریانت (لنفوسیت‌های آتیپیک) و مونوسیت‌ها اشتباه تشخیصی وجود داشته و افتراق این سه سلول از یکدیگر حائز اهمیت است، چراکه عمده لنفوسیت‌های بزرگ و واریانت بجای مونوسیت شمارش شده و باعث مونوسیتوز کاذب می‌شوند، از طرفی دیگر وجود بیش از ۵٪ لنفوسیت واریانت در خون محیطی ارزش تشخیصی داشته و می‌بایست درصد واقعی آن به پزشک گزارش شود. لنفوسیت‌های واریانت لنفوسیت‌های تحریک شده‌ای هستند که به دلیلی برخورد با آنتی‌ژن یا تمایز به سمت سلول‌های پلاسماسلی تغییرشکل داده و به سه فرم **بلاستوئید** (دائونی I)، **مونوسیتوئید** (دائونی II) و **پلاسماسیتوئید** (دائونی III) در خون محیطی دیده می‌شوند. منشاء عمده این نوع از لنفوسیت‌ها، غدد لنفاوی، طحال و دیگر اندام‌های ثانویه لنفاوی می‌باشد که بسته به شدت و گستره بیماری وارد خون محیطی شده و عمدتاً با مونوسیت و گاهی با بلاست یا پلاسماسل اشتباه گرفته می‌شوند.

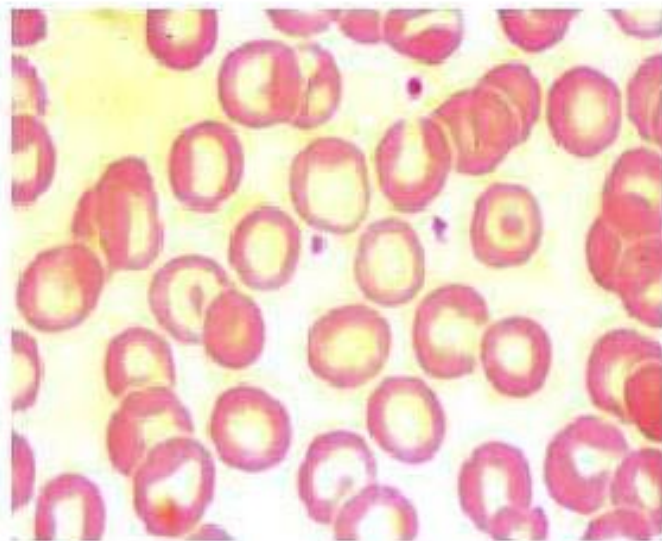
■ برای دیف سلول‌ها از کانترهای دستی مکانیکی یا دیجیتالی استفاده می‌شود که در شمارش ۱۰۰، یک زنگ یا بوق صوتی می‌زند تا فرد دیف زننده سلول بیشتری را مورد شمارش قرار ندهد. در این کانترها برای هر نوع سلولی یک دکمه یا اهرم وجود دارد (حدود ۱۰-۵ دکمه برای PMN, Stab, Meta, Mylo, Lym, Eo, Baso, Mono, Atyp-Lym, Blast تا نه تنها شمارش هر نوع سلول مشخص باشد، بلکه یک شمارش نهایی نیز از کل سلول‌ها به کاربر نشان بدهد. در کانترها می‌توان تعدادهای ۲۰۰، ۴۰۰ یا بیشتر را نیز مورد شمارش قرار داد.

رنگ سلول :

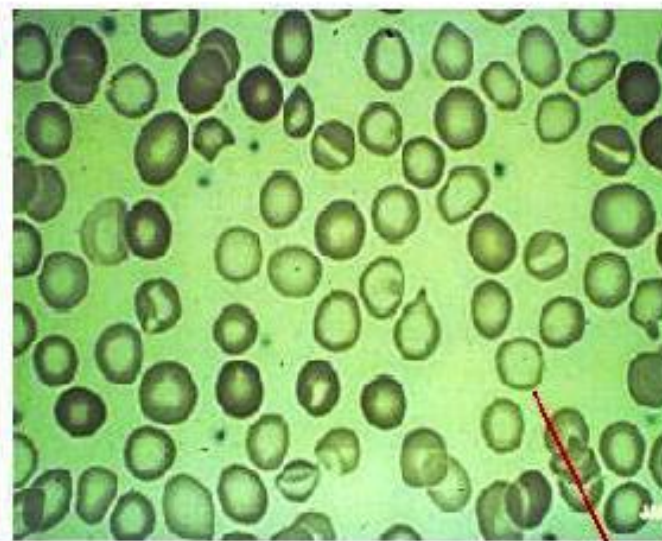
ممتوای هموگلوبین :

شدت رنگ آمیزی اریتروسیت‌ها یک راهنمایی تقریبی از مقدار هموگلوبین درون گلبول‌های قرمز را فراهم می‌سازد، برای توصیف سیمای گلبول‌های قرمز از اصطلاحات نورموکرومیک، هیپوکرومیک، هیپرکرومیک و پلی‌کرومازیا استفاده می‌شود. معادل دستگاهی این حالت‌ها توسط پارامترهای HDW, MCH, MCHC و CHCM (روش اپتیکال) بیان می‌شود. محدوده نرمال برای HDW مقادیر زیر $34/4 \text{ g/dl}$ است که از روی محاسبه SD مقادیر مختلف CHCM هر سلول حاصل می‌شود. شرایط هیپرکرومی و هیپوکرومی نمونه نیز از روی مقادیر MCHC (CHCM) بدست می‌آید که اگر MCHC سلول‌ها حضور همزمان سلول‌های هیپوکرومیک و نورموکرومیک (یا حضور همزمان سلول‌های نورموکرومیک و هیپرکرومیک) در یک گسترش را **آنیزوکرومیا** یا گاهی اوقات در صورت وجود توأم آنیزوسیتوزیس، **آنمی دی‌مورفیک (۲ریختی)** می‌نامند که با افزایش شدید HDW و RDW همراه می‌باشد. این حالت یکی از ویژگی‌های مهم آنمی‌های سیدروبلاستیک (SA) محسوب می‌شود که در آن هم سلول‌های نورموسیت و هم میکروسیت در خون محیطی بیماران مشاهده می‌شوند. حالت دی‌مورفیک بجز در SA، چند هفته بعد از درمان با آهن در آنمی فقر آهن، چند هفته بعد از درمان با فولات/B12 در آنمی مگالوبلاستیک و چند ساعت بعد از تزریق سلول‌های طبیعی به بیماران مبتلا به آنمی هیپوکرومیک شدید نیز یافت می‌شود. هیستوگرام اریتروسیتی این افراد در دستگاه‌های سل‌کانتر حالت دوقله‌ای پیدا می‌کند (فصل سل کانترها).

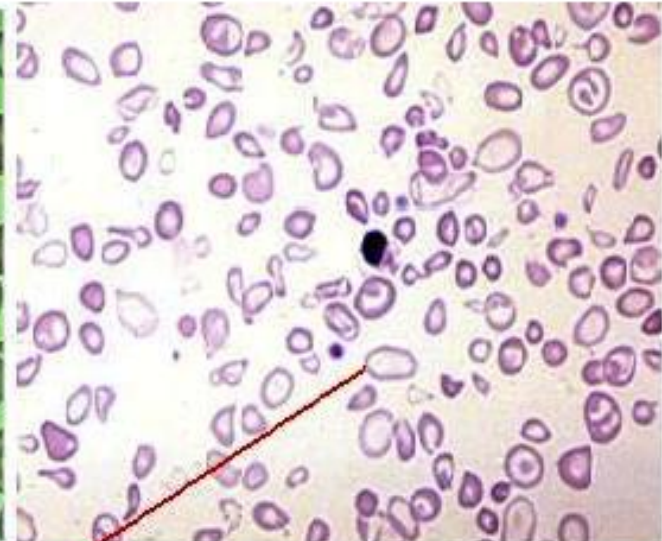
اصطلاح **نورموکرومیک** شدت رنگ‌پذیری طبیعی گلبول‌های قرمز را بیان می‌کند. در آنمی‌های میکروسیتیک - هیپوکرومیک ۴ گانه مثل آنمی فقر آهن، آنمی بیماری‌های مزمن، آنمی سیدروبلاستیک و تالاسمی مینور، هنگامی که مقدار هموگلوبین سنتز شده کاهش یابد، ناحیه کمرنگ مرکزی بزرگتر و کمرنگ‌تر می‌شود که این حالت به **هیپوکرومیا** معروف است و در آن MCH و MCHC معمولاً کاهش و HDW افزایش می‌یابد. سلول‌های هیپوکروم عمدتاً میکروسیت هستند ولی در مواردی مثل تارگت سل و استوماتوسیت می‌توانند ماکروسیت هم باشد. به اریتروسیتی که دچار حداکثر کاهش هموگلوبین داخل سلولی شده باشد، **لپتوسیت** (با قطر نرمال) یا **آنولوسیت** (با قطر افزایش یافته) گفته می‌شود که در آنها هموگلوبین همانند دیواره نازکی در اطراف ناحیه کمرنگ مرکزی بزرگ مشاهده می‌شود. این سلول‌ها به دلیل انعطاف بسیار بالایی که دارند، MCV کمتر از مقدار واقعی را در سل‌کانترها (برعکس اسفروسیت‌ها) و شکنندگی اسمزی بسیار پایینی را نیز در تست OFT (اوسموتیک فراژیلیتی تست) نشان می‌دهند.



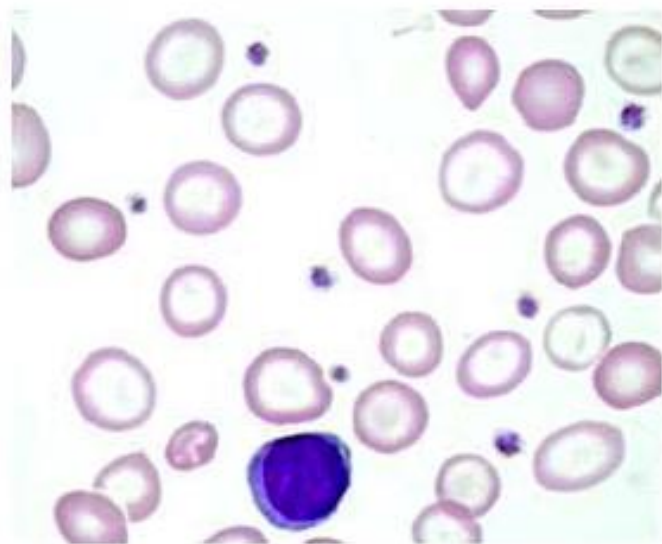
آنمی میکروسیتیک-هیپوکروم خفیف



آنمی میکروسیتیک-هیپوکروم



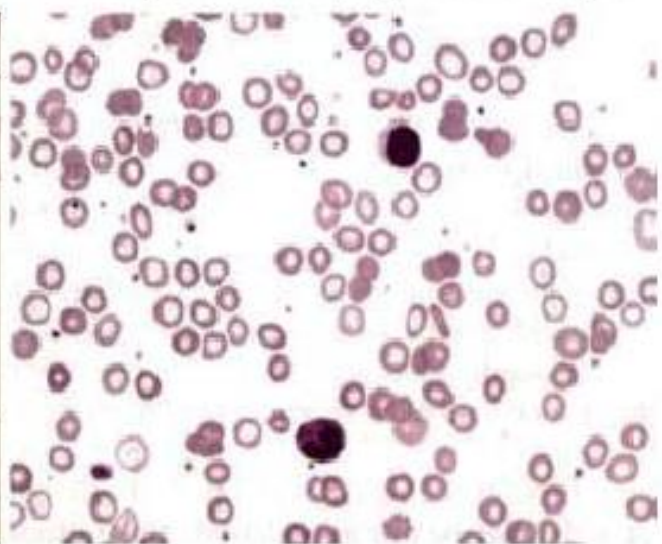
آنمی میکروسیتیک-هیپوکروم شدید
توام با آنیزوسیتوزیس و پوئیکیلوسیتوزیس شدید



آنمی میکروسیتیک-هیپوکروم شدید دی مورفیک

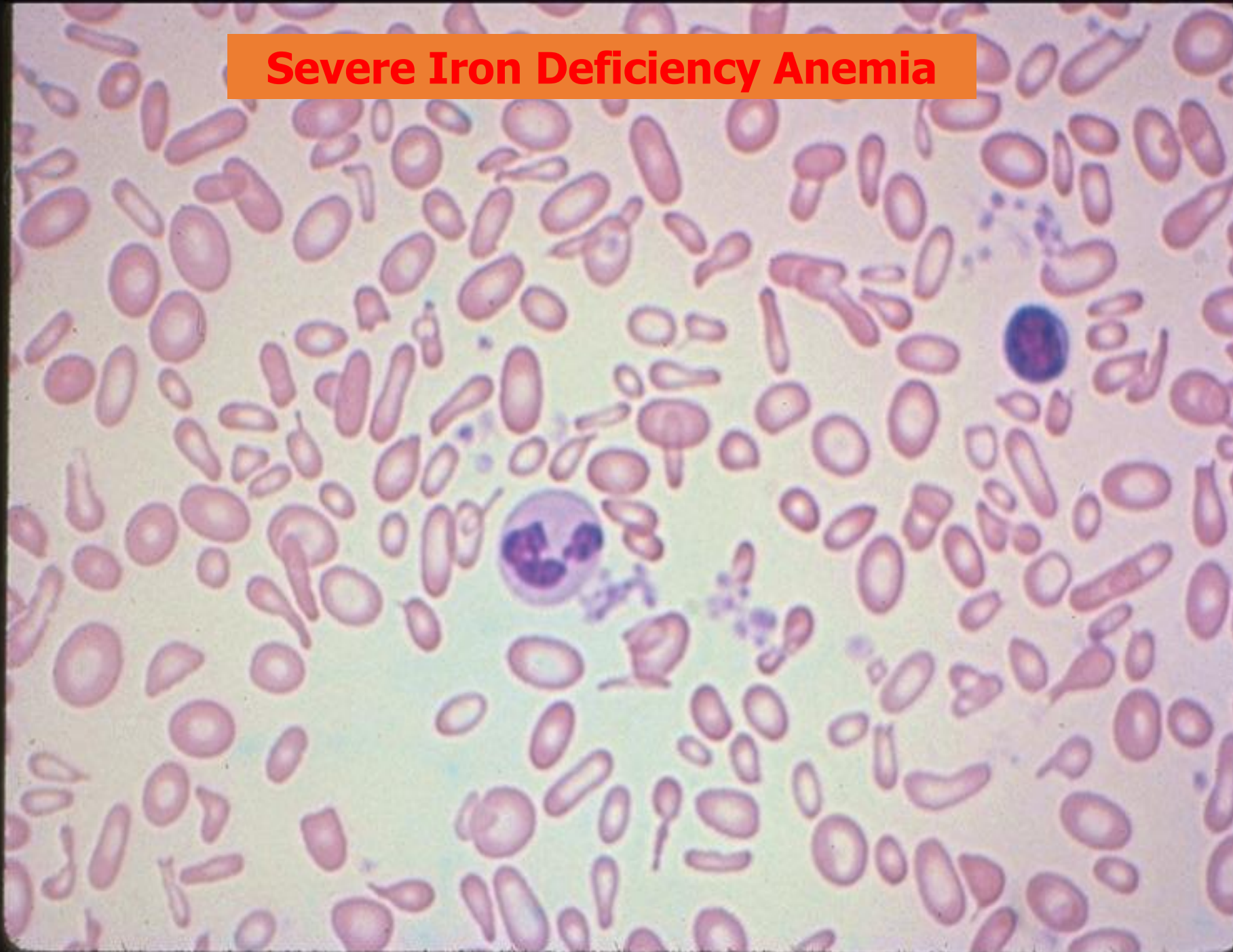


آنمی میکروسیتیک-هیپوکروم شدید
توام با آنیزوسیتوزیس و پوئیکیلوسیتوزیس شدید

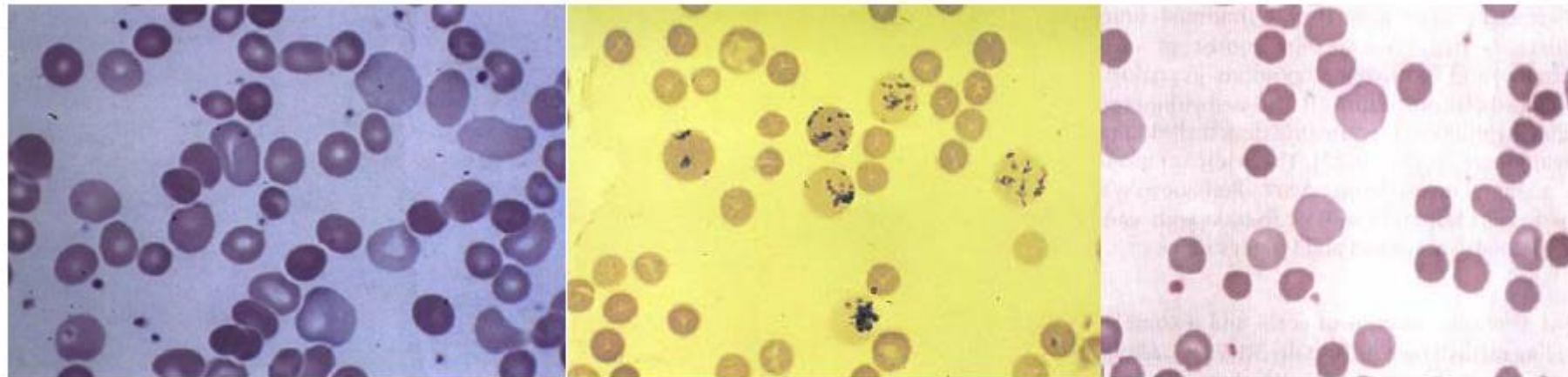


آنمی میکروسیتیک-هیپوکروم شدید

Severe Iron Deficiency Anemia



در گسترش‌های خشک شده در هوا که با رنگ رایت (رومانفسکی) رنگ آمیزی شده‌اند، گلبول‌های قرمز جوان (حاوی بقایای زیادی از RNA و ریبوزوم)، به صورت سلول‌های **پلی کروماتوفیلیک** مشاهده می‌شوند که سلول‌هایی بزرگ (گاهی تا دو برابر یک اریتروسیت) با ته رنگ قرمز-آبی (کبود)، بدون ناحیه کم‌رنگ مرکزی و با چگالی پایین هستند، ولی هنگامی که با رنگ‌های حیاتی **بریلیانت کریزل بلو**، **آزور B خالص** یا **نیومیتیلن بلو** رنگ آمیزی شده باشند، **رتیکولوسیت** نامیده می‌شوند که دارای رسوبات آبی رنگ در سیتوپلاسم خود هستند. افزایش پلی کرومازیا دلالت بر رتیکولوسیتوزیس محسوس از نوع رتیکولوسیت‌های تیپ I و II دارد که در همولیز و اتلاف حاد و شدید خون، به میزان زیادی افزایش می‌یابد. رتیکولوسیت‌هایی را که در چنین شرایطی وارد خون می‌شوند، **رتیکولوسیت‌های استرس** می‌نامند ولی رتیکولوسیت‌هایی که حین پلی سایتمی و افزایش فیزیولوژیک اریتروپوئز در خون دیده می‌شوند، از نوع استرس نیستند. همانطوریکه اشاره شد، رتیکولوسیتوزی که با حضور پلی کرومازیا همراه باشد، اغلب از شدت بیشتری برخوردار بوده و در این افراد، رتیکولوسیت‌های تیپ I و II نیز وارد خون می‌شوند، لذا بهتر است گزارش آنها به صورت RPI باشد (فصل اریتروپوئز). رتیکولوسیت‌های خیلی جوان تیپ I و II به دلیل محتوای بالای RNA که دارند، در رنگ آمیزی فلورسنت دستگاه‌ها بعنوان **HFR (رتیکولوسیت با فلورسانت بالا)** شناسایی می‌شوند که رتیکولوسیت‌های استرس نیز از این دسته هستند. رنگ ته آبی و خاکستری گلبول‌های قرمز (پلی کروماتوفیلی یا پلی کرومازیا) ترکیبی از تمایل هموگلوبین به رنگ‌های اسیدی (سرخ) و تمایل RNA به رنگ‌های قلیایی (آبی) است که در مجموع یک رنگ قرمز ته آبی را به سلول می‌دهد. MCV (حجم) و MCD (قطر) بالا و حضور رسوب RNA در گلبول قرمز حاکی از جوان بودن اریتروسیت می‌باشد که از حضور آن در خون یک تا دو روز می‌گذرد. لازم به ذکر است که رتیکولوسیت‌ها در صورت سانتریفوژ نمونه خونی زیر لایه بافی کوت و بالاتر از اریتروسیت‌های معمولی و پیر قرار می‌گیرند.



شکل ۲۰-۷: پلی کروماتوفیلی (پلی کرومازی) خون محیطی و رنگ آمیزی حیاتی همان بیمار که رتیکولوزیس محسوسی را نشان می‌دهد.

اندازه اریتروسیتی و افتلاف سایز در آنها :

به اختلاف در اندازه اریتروسیت‌ها، آنیزوسیتوزیس گفته می‌شود که بسته به میزان آن، به صورت ۱+ تا ۳+ گزارش می‌شود. ممکن است گلبول‌های قرمز بطور غیرطبیعی کوچک (میکروسیت)، بزرگ (ماکروسیت) یا تنوع غیرطبیعی در اندازه سلولی (آنیزوسیتوزیس) داشته باشند. آنیزوسیتوزیس اریتروسیت‌ها مشخصه بسیاری از آنمی‌ها محسوب می‌شود؛ هنگامی که شدت آنیزوسیتوز زیاد باشد، ممکن است شاهد حضور هر دو نوع ماکروسیت‌ها و میکروسیت‌ها نیز باشیم. در بررسی علل آنمی‌ها، واژه‌های میکروسیتی و ماکروسیتی زمانی بیشترین مفهوم را خواهند داشت که به جای متوسط قطر سلولی (MCD)، اندکس متوسط حجم سلول یا MCV بررسی شود. MCV مستقیم توسط سل کانتر اندازه‌گیری می‌شود اما MCD سلول را از طریق گسترش خون محیطی ارزیابی و تخمین می‌زنند. سلول‌های میکروسیتیک - هیپوکرومیک شدید از حالت طبیعی نازکتر بوده و قطر آنها (نه حجم آنها) به دلیل پهن شدن در سطح لام متناسب با MCV کاهش نمی‌یابد، که به این سلول‌های بسیار نازک و پهن، لپتوسیت یا سلول‌های ویفری شکل^۱ گفته می‌شود ولی اگر به دلیل پهن شدن شدید، قطر آنها بزرگتر از یک اریتروسیت نرمال دیده شود، در این صورت به آن، آنولوسیت گفته می‌شود. این سلول‌ها در تالاسمی، انسداد صفراوی و فقر آهن شدید مشاهده می‌شوند.

معادل دستگاهی آنیزوسیتوزیس از روی هیستوگرام RBC و توسط پارامتر RDW-1 یا RDW-CV تعیین می‌شود که محدوده نرمال آن ۱۶-۹٪ بوده و های میکروسیتیک و ماکروسیتیک افزایش نشان می‌دهد. شرایط ماکروسیتی و میکروسیتی سلول‌ها نیز همان‌طوری که اشاره شد، از روی مقادیر MCV به دست می‌آید که اگر MCV سلول‌ها بین ۱۱۰-۱۰۰ fl باشد، سلول‌ها ماکروسیت، اگر بالای ۱۱۰ fl باشد، مگالوسیت یا ریگانتوسیت و اگر زیر ۸۰ fl باشد، بعنوان سلول‌های میکروسیت در نظر گرفته می‌شوند. دستگاه‌های سل کانتر براساس درصد سلول‌های ماکروسیت یا میکروسیت بیش از ۲/۵٪، شدت ماکروسیتوزیس یا میکروسیتوزیس سلولی را به صورت ۱+ تا ۳+ گزارش می‌کنند. ماکروسیت‌ها در الکلیسم، بیماری‌های کبدی، سیروز کبدی، آنمی مگالوبلاستیک (کمبود فولات یا کوبالامین)، نمونه خون نوزادان، رتیکولوسیتوز، MDS و آنمی‌های همولیتیک غیرایمیون و میکروسیت‌ها در تالاسمی‌ها، هموگلوبینوپاتی‌ها، آنمی فقر آهن، مسمومیت با سرب (پلمبیسم)، مراحل پیشرفته آنمی بیماری‌های مزمن، سوختگی، آنمی سیدروبلاستیک و آنمی‌های همولیتیک ایمیون مشاهده می‌شوند.

شرایط مختلف میکروسیتوزیس، ماکروسیتوزیس و RDW در مقادیر مختلفی از سلول‌های بزرگ، کوچک و غیرهم اندازه

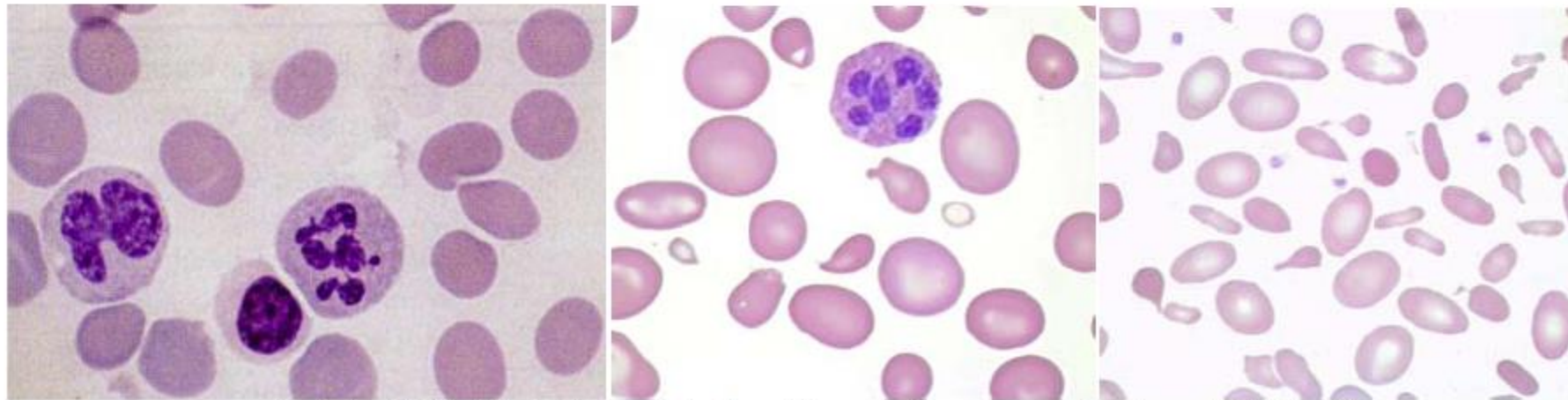
+	%MICRO = 2.5% to 6.4%	+	%MACRO = 2.5% to 6.4%	+	RDW = 16.0% to 17.9%
++	%MICRO = 6.5% to 10.5%	++	%MACRO = 6.5% to 10.5%	++	RDW = 18.0% to 22.0%
+++	%MICRO > 10.5%	+++	%MACRO > 10.5%	+++	RDW > 22.0%

پیکنوسیت (Piknocyte):

اریتروسیت‌های پیکنوسیت سلول‌هایی تکه‌تکه، غلیظ، متراکم و خاردار و شبیه شیزتوسیت‌ها هستند که برخلاف آنها دارای ناحیه کمرنگ مرکزی بوده و سایز بزرگتری نسبت به شیزتوسیت‌ها دارند. این سلول‌ها در ۲-۳ ماه اول نوزادی نیز در خون مشاهده می‌شوند که به آن پیکنوسیتوز نوزادی گفته می‌شود. در آنمی همولیتیک داخل عروقی حاد نیز ممکن است تا ۵۰٪ سلول‌ها با این مورفولوژی مشاهده شوند.

سلول‌های مگالوسیت یا ژیگانتوسیت:

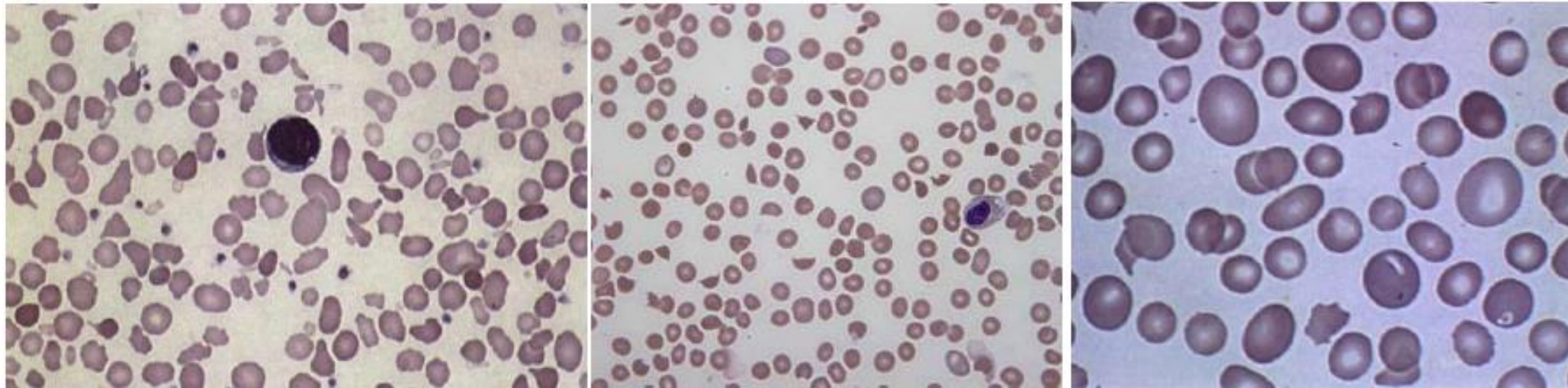
ماکروسیت‌ها سلول‌هایی هستند بزرگتر از نورموسیت‌ها که MCD آنها بین ۱۰-۸ میکرون ($8 < MCD < 10 \mu$) و MCV آنها ($100 < MCV < 110 \text{ fl}$) می‌باشد، مگالوسیت‌ها سلول‌هایی هستند بزرگتر از ماکروسیت‌های معمولی که چون MCV آنها به بالای ۱۱۰ fl و قطر آنها (MCD) به بالای ۱۰ میکرون افزایش می‌یابد و چون در اثر حضور آنمی مگالوبلاستیک یا پریشیوز، در خون محیطی آنها نوتروفیل‌های هیپرسگمانته (ماکروپلی‌سیت) نیز مشاهده می‌شود، لذا به سلول‌های مگالوسیت یا ژیگانتوسیت نیز معروف هستند. سلول‌های مگالوسیت با ماکروسیت‌ها و یا ماکروواووالوسیت‌ها متفاوت هستند.



شکل ۲۱-۷: مگالوسیت‌های بزرگ در حضور نوتروفیل‌های هیپرسگمانته و ماکروواووالوسیت که اثر فقر فولات یا کوبالامین ایجاد می‌شوند.

اشکال و مورفولوژی‌های مختلف اریتروسیتی:

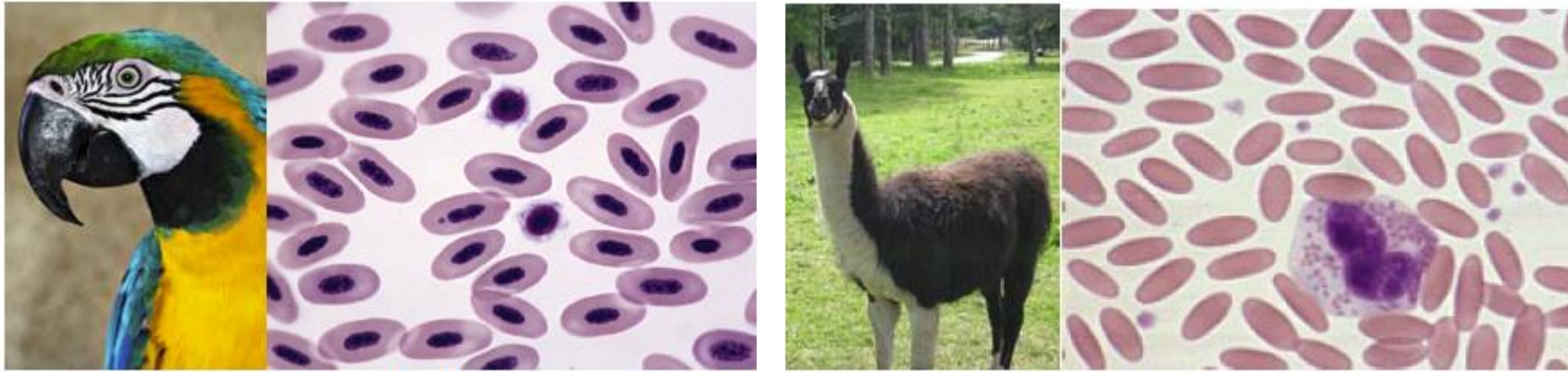
تنوع در اشکال غیرطبیعی اریتروسیت‌ها را **پوئیکیلوسیتوزیس**^۱ می‌گویند. هر سلول دارای شکل غیرطبیعی، یک پوئیکیلوسیت است که اغلب از اسامی لاتین برای نامگذاری آنها استفاده می‌شود. سلول‌های بیضی (الپتوسیت)، تخم مرغی (اووالوسیت)، گلابی یا قطره اشکی شکل (داکروسیت)، داسی شکل (درپانوسیت)، سیبل شکل (کودوسیت)، کلاه‌خودی شکل (هلمت سل) و سلول‌های دارای شکل نامنظم، همگی بجز درپانوسیت که انحصاری آنمی سلول‌های داسی (SCA) می‌باشد، ممکن است تنها در گستره یک آنمی خاص مثل آنمی مگالوبلاستیک یا آنمی فقر آهن مشاهده شوند. شدیدترین میزان آنیزوسیتوزیس و پوئیکیلوسیتوزیس در تالاسمی ماژور، آنمی‌های همولیتیک میکروآنژیوپاتیک (مثل HUS، DIC و TTP)، پیوند دریچه مصنوعی قلب، نارسایی دریچه قلبی، آنمی فقر آهن شدید، هموگلوبینوپاتی‌های شدید، پیروپوئیکیلوسیتوز شدید و در سوختگی شدید مشاهده می‌شود.



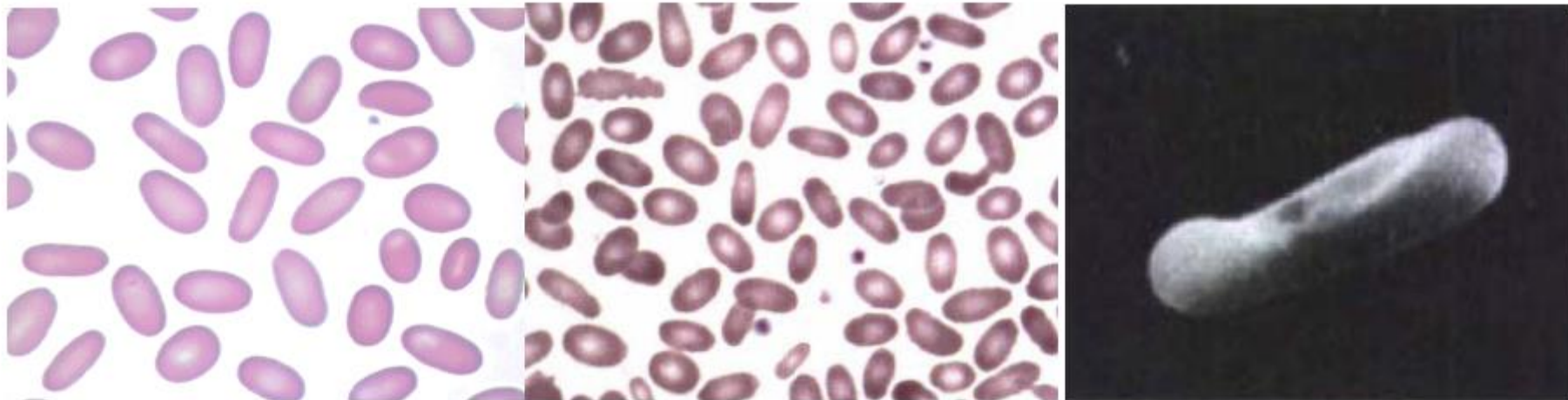
شکل ۲۲-۷: از راست به چپ ۱) ماکروسیتوزیس در آنمی مگالوبلاستیک، ۲) شیسیتوزیس در HUS و ۳) آنیزوسیتوزیس و پوئیکیلوسیتوزیس شدید در پیروپوئیکیلوسیتوز ارثی (HPP)

الپتوسیت یا سلول‌های بیضی شکل (Elliptocyte):

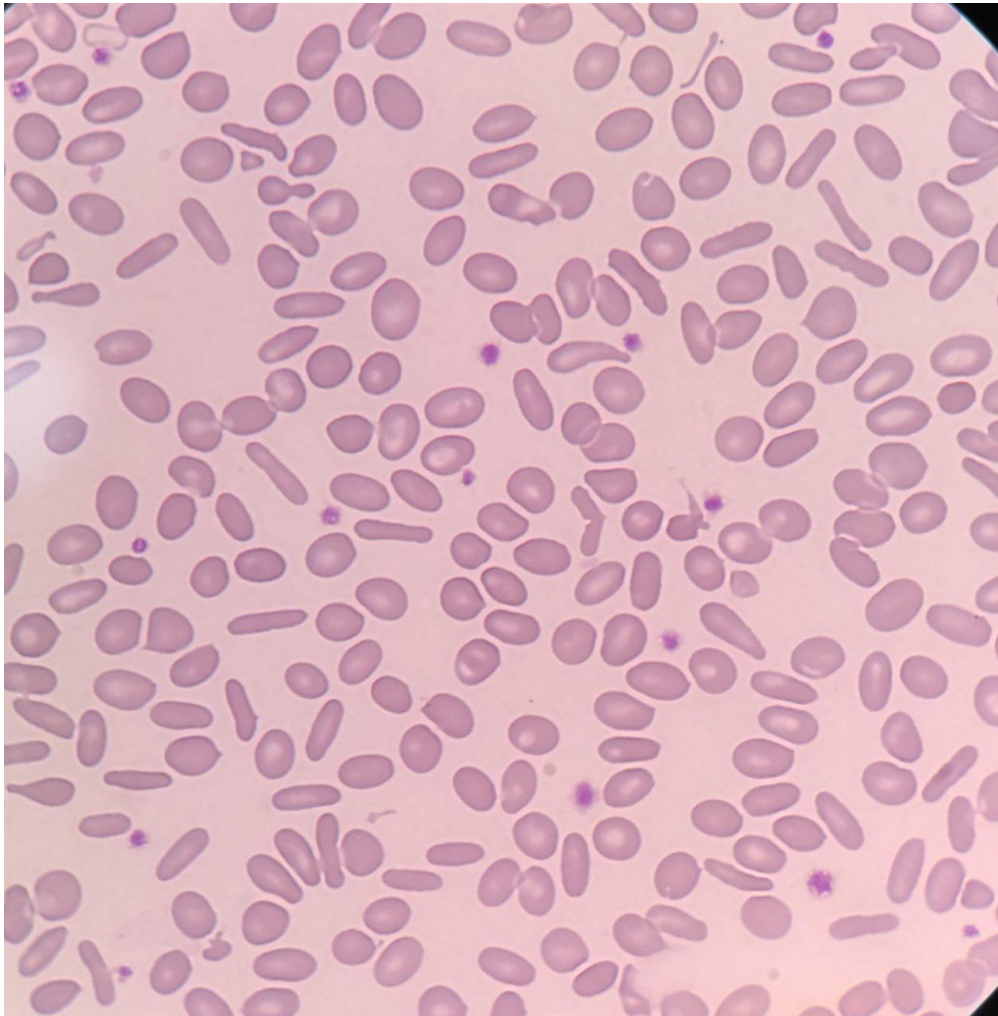
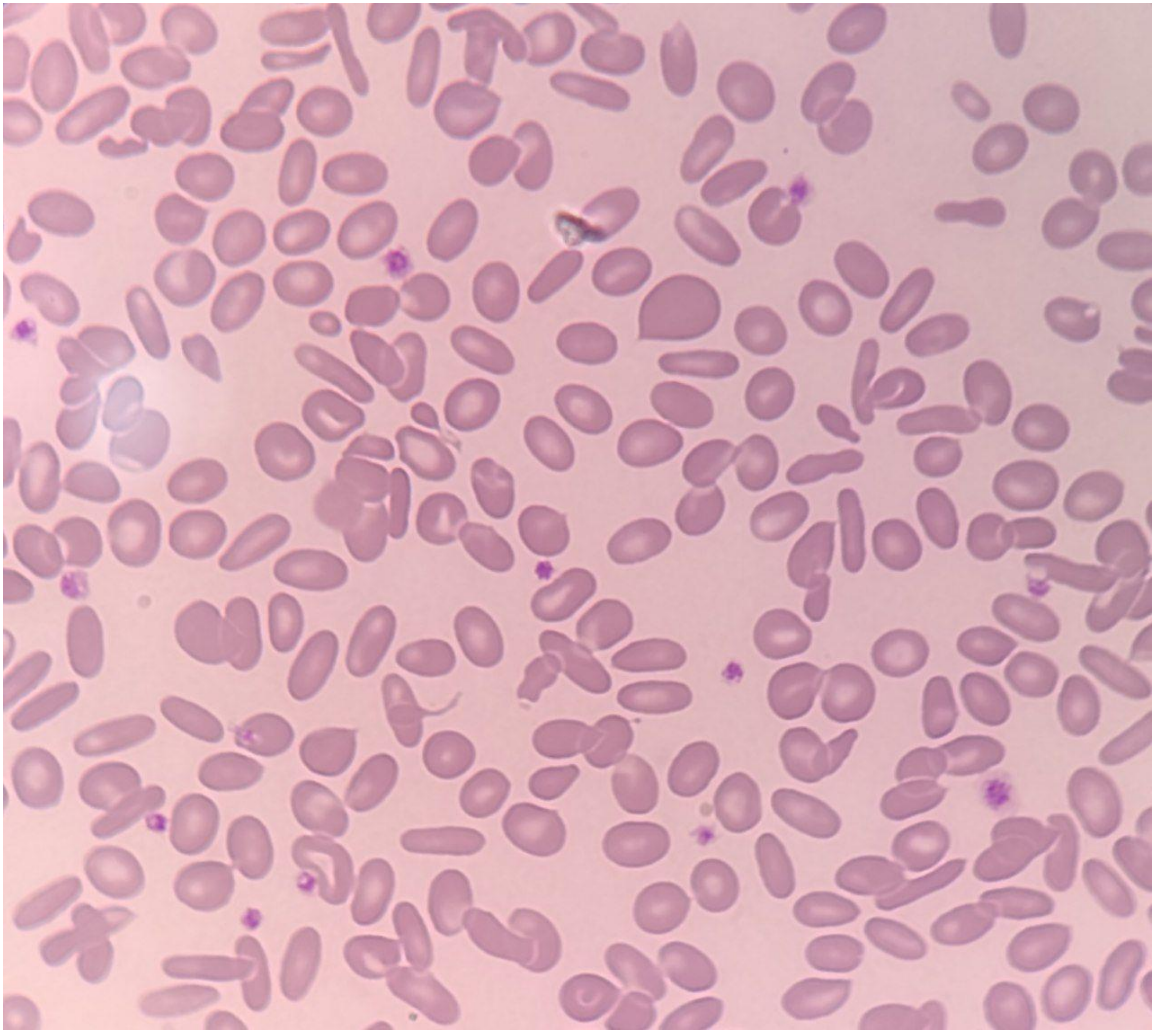
الپتوسیت‌ها سلول‌هایی کشیده با هموگلوبین پلاریزه (قطبی) هستند که هموگلوبین آنها اغلب در دو انتهای قطبی سلول تجمع پیدا کرده است. این نوع از سلول‌ها در الپتوسیتوزیس ارثی (HE) که در آن اکثریت سلول‌ها بیضی هستند، بسیار فراوان مشاهده می‌شود. در الپتوسیتوز ارثی تعداد الپتوسیت‌های خون می‌تواند از ۱۰ تا ۹۸٪ متغییر باشد. HE بیماری اتوزومال غالب با نقص در پروتئین‌های اسکلت غشایی (اسپکترین، پروتئین 4.1 و گلیکوفورین A/B) است که در موارد هموزیگوت با آنمی همولیتیک متوسط تا شدیدی نیز همراه است. الپتوسیت‌ها در خون شخص طبیعی نیز دیده می‌شوند اما تعداد آنها کمتر از ۱٪ اریتروسیت‌ها می‌باشد. الپتوسیت‌ها در تالاسمی، آنمی مگالوبلاستیک (به همراه اووالوسیت‌ها)، آنمی‌های میلوپیتوزیک، در آنمی فقر آهن (IDA)، میلو فیبروزیس با متاپلازی میلوئید (MMM)، آنمی سلول داسی شکل (SCA) و دیس اریتروپوئز (تا ۵۰٪) نیز مشاهده می‌شود. سلول‌های الپتوسیت در آنمی سلول‌های داسی شکل، الپتوسیت‌های حدواسطی به شکل قایق (Boat Cell) هستند که در حال تبدیل به سلول‌های داسی شکل، یا در حال بازگشت از آن هستند و الپتوسیت‌های واقعی محسوب نمی‌شوند. الپتوسیت‌ها را باید از اریتروسیت‌هایی با شکل مداد (Pen Cell) یا سیگار برگ که در آنمی فقر آهن شدید و تالاسمی ماژور مشاهده می‌شوند، همچنین از اووالوسیت‌های تخم مرغی شکل (Ovalocyte) که در آنمی مگالوبلاستیک و اووالوسیتوز آسیای جنوب شرقی (SAO) مشاهده می‌شوند، تفکیک داد. الپتوسیت‌های واقعی در گسترش خون، همگی در یک جهت نبوده و هر کدام در جهت مجزایی قرار می‌گیرند ولی در الپتوسیتوز کاذب (آرتیفکت) ناشی از بد کشیدن لام، اولاً همگی الپتوسیت‌ها رو به یک جهت قرار می‌گیرند و دوم اینکه الپتوسیت‌ها در تمامی قسمت‌های گسترش دیده نمی‌شود و اغلب در انتهای لام متمرکز می‌شوند. برای افرادی که در گسترش خون آنها الپتوسیتوز واقعی مشاهده می‌شود، انجام تست‌های تکمیلی برای رد یا تأیید آنمی/خصیصه سلول‌های داسی نیز توصیه می‌شود که از آن جمله می‌توان به تست حلالیت داسی یا تست سایکلینگ (تست متابولیسم سولفیت یا تست دی‌تیونات) و مطالعه لام مرطوب اشاره نمود. لازم به ذکر است که خون پرندگان (مثل طوطی)، دوزیستان، لاما و شتر نیز ذاتاً بصورت الپتوسیت هستند ولی با این تفاوت که خون پرندگان و دوزیستان هسته‌دار نیز می‌باشند (شکل ۲۴-۷).



شکل ۲۴-۷: الیتوسیت های ساده در لاما (گلاما) و الیتوسیت های هسته دار در خون طوطی و ماکیان



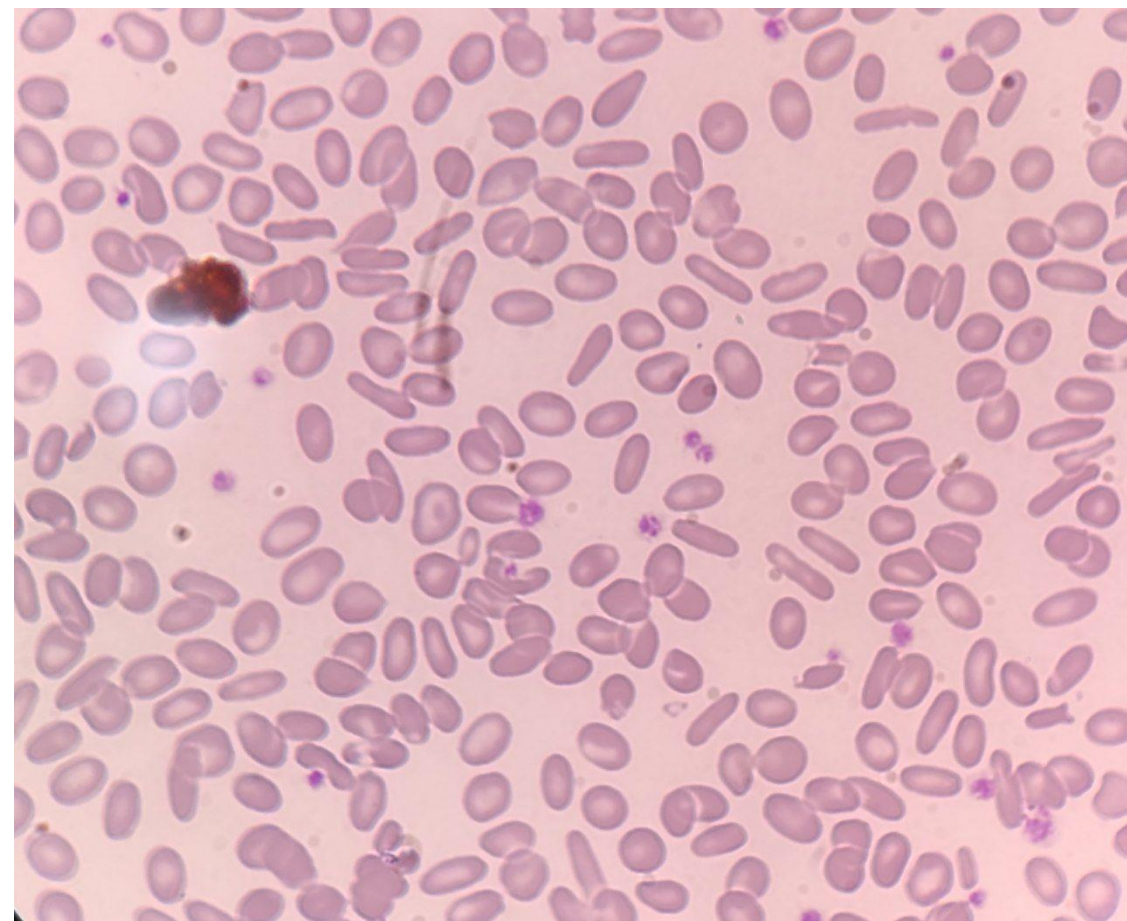
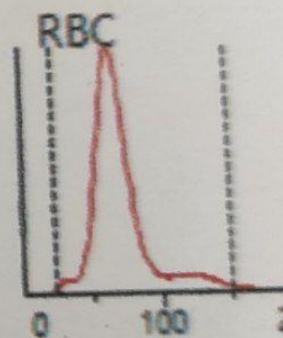
شکل ۲۳-۷: الیتوسیتوزیس شدید و واقعی که در آن سلول های بیضوی در جهات مختلف کشیدگی پیدا کرده اند.



Gender: Male Age: 39 Year(s)

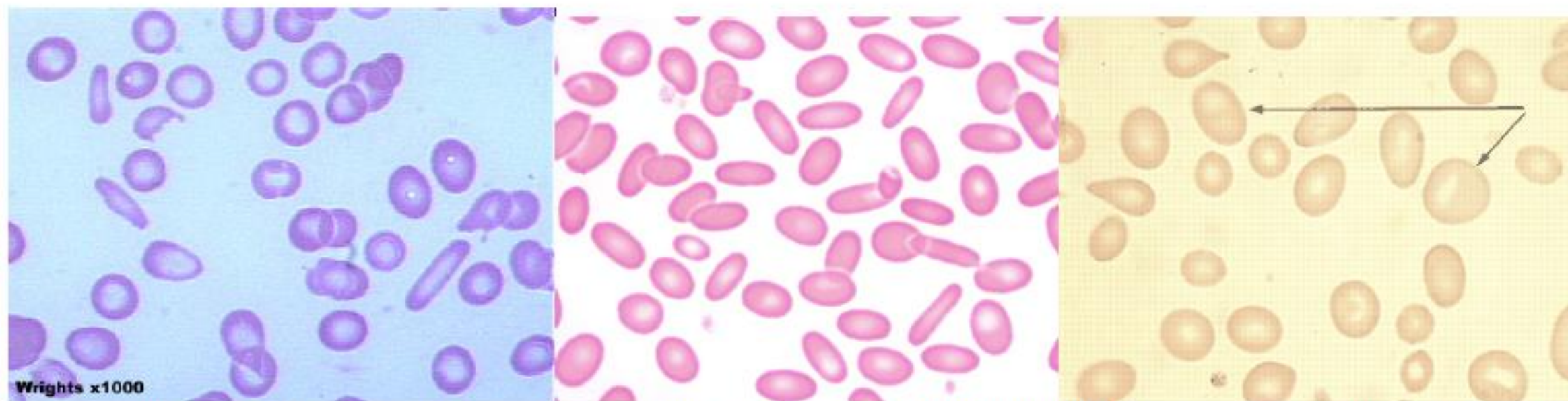
Mode: AL-WB-CD

Para.	Result	Unit	Ref. Ranges
1 WBC	7.10	$10^3/\mu\text{L}$	3.50 - 10.50
2 Neu#	4.00	$10^3/\mu\text{L}$	1.70 - 6.10
3 Lym#	2.48	$10^3/\mu\text{L}$	1.00 - 3.20
4 Mon#	0.47	$10^3/\mu\text{L}$	0.20 - 0.90
5 Eos#	0.13	$10^3/\mu\text{L}$	0.06 - 0.46
6 Bas#	0.02	$10^3/\mu\text{L}$	0.01 - 0.30
7 Neu%	56.4	%	43.0 - 78.0
8 Lym%	34.8	%	15.0 - 45.0
9 Mon%	6.6	%	4.0 - 9.0
10 Eos%	1.9	%	1.0 - 7.0
11 Bas%	0.3	%	0.3 - 1.3
12 RBC	5.93	H $10^6/\mu\text{L}$	4.30 - 5.70
13 HGB	11.6	L g/dL	13.5 - 17.5
14 HCT	35.6	L %	38.0 - 51.0
15 MCV	60.1	L fL	81.0 - 95.0
16 MCH	19.5	L pg	27.0 - 33.0
17 MCHC	32.5	g/dL	32.0 - 36.0
18 RDW-CV	16.0	H %	11.5 - 15.6
19 RDW-SD	38.2	fL	35.0 - 56.0
20 PLT	354	R $10^3/\mu\text{L}$	145 - 420
21 MPV	10.7	R fL	6.5 - 12.0
22 PDW	15.3	R	15.0 - 17.0
23 PCT	0.377	RH %	0.108 - 0.282
24 P-LCC	135	RH $10^3/\mu\text{L}$	30 - 90
25 P-LCR	38.3	R %	11.0 - 45.0

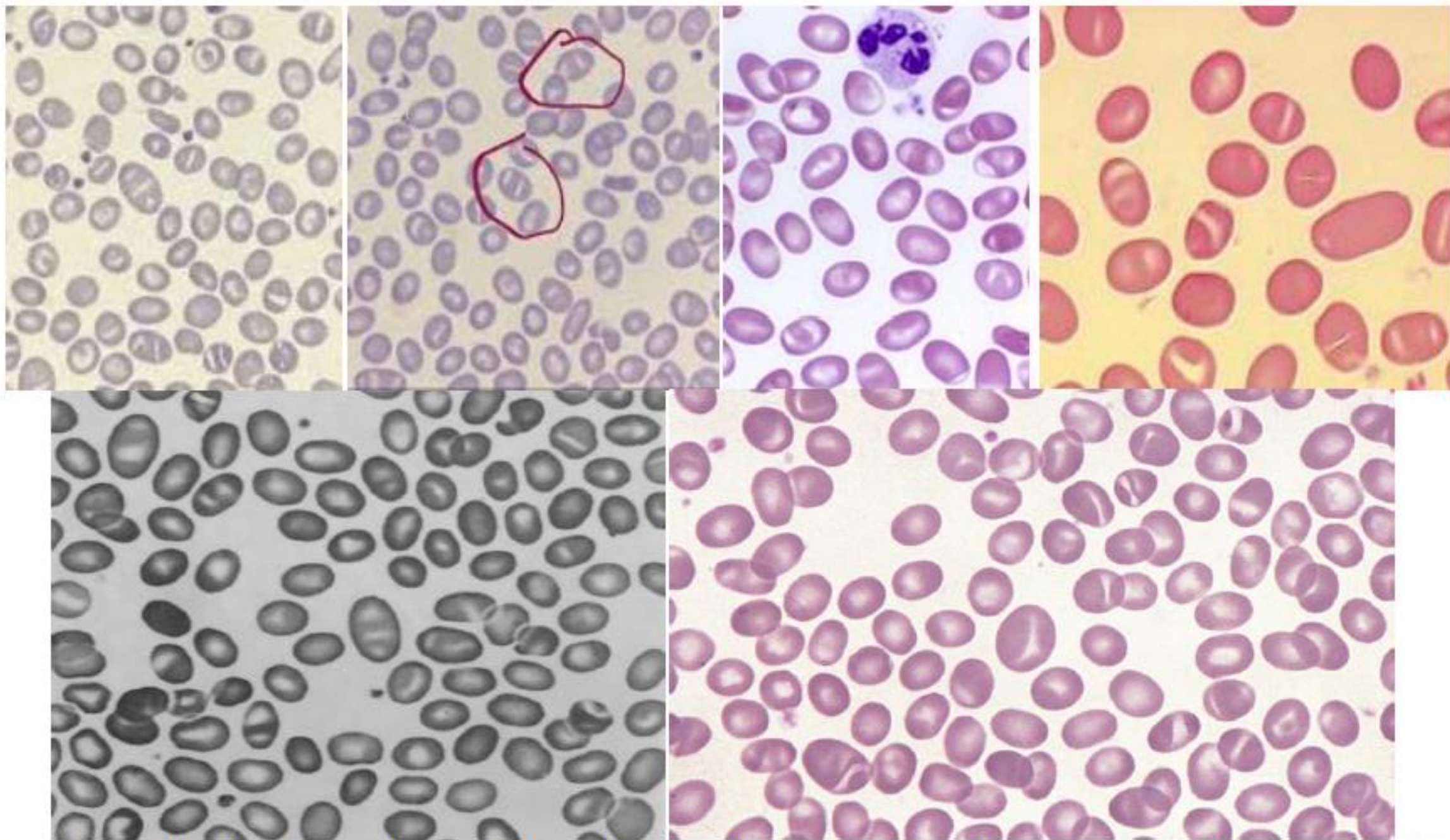


اووالوسیت یا سلول تلم مرغی:

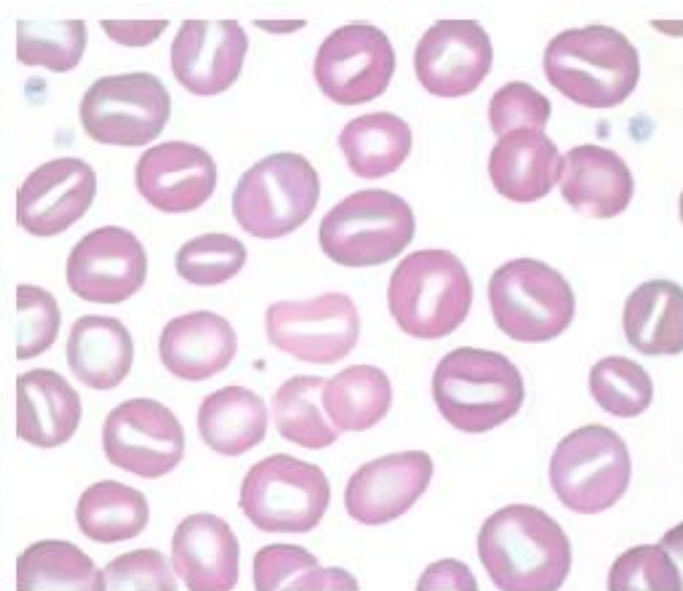
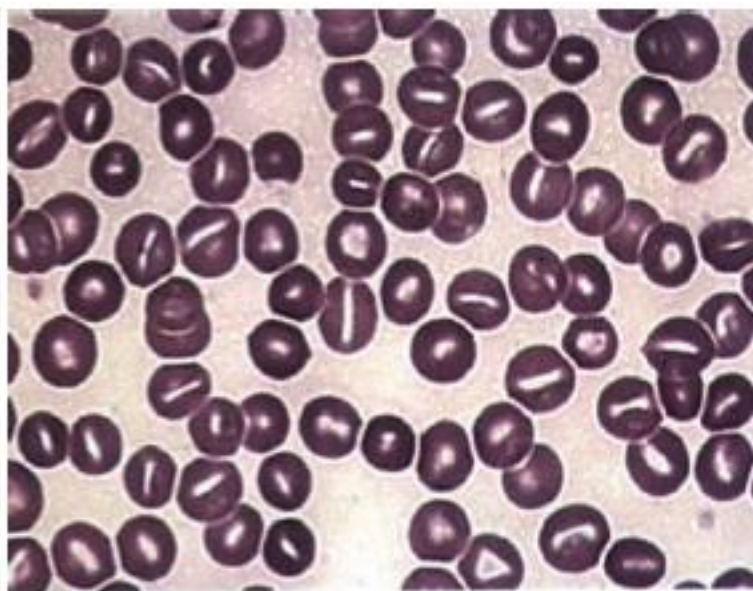
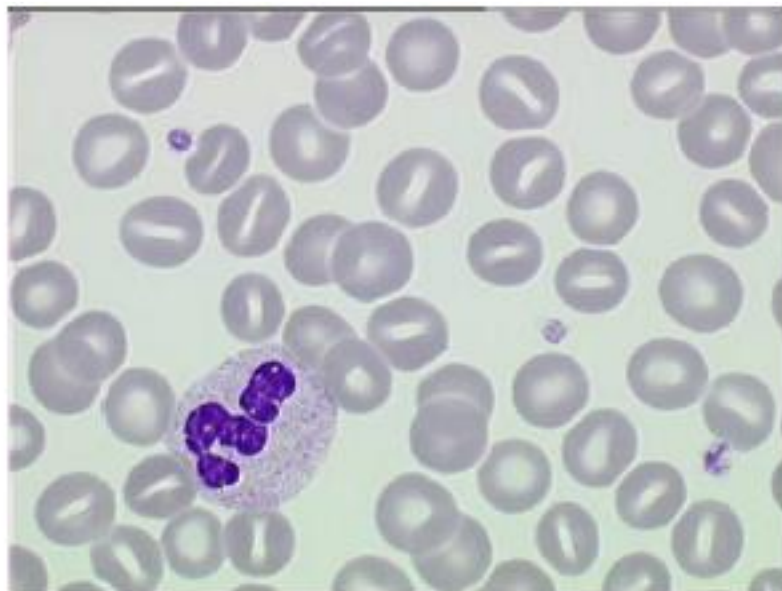
اووالوسیت‌ها حدواسط بین الیپتوسیت و دیسکوسیت‌های نرمال هستند که اغلب در اثر آنمی مگالوبلاستیک (به‌خصوص آنمی پرنیشیوز) و به صورت ماکرواووالوسیت (شکل ۲۱-۷) دیده می‌شوند. اووالوسیتوز تداعی کننده بیماری خاصی نبوده و فقط مورفولوژی سلولی را بیان می‌کند و بجز در آنمی مگالوبلاستیک، در الیپتوسیتوز ارثی، آنمی داسی شکل (SCA)، اووالوسیتوز آسیای جنوب شرقی (SAO)، میلو فیبروز، متاپلازی میلوئیدی توأم با میلو فیبروز (MMM)، آنمی فقر آهن (IDA)، آنمی توأم با بدخیمی‌ها و در عمده آنمی‌های شدید مشاهده می‌شود.



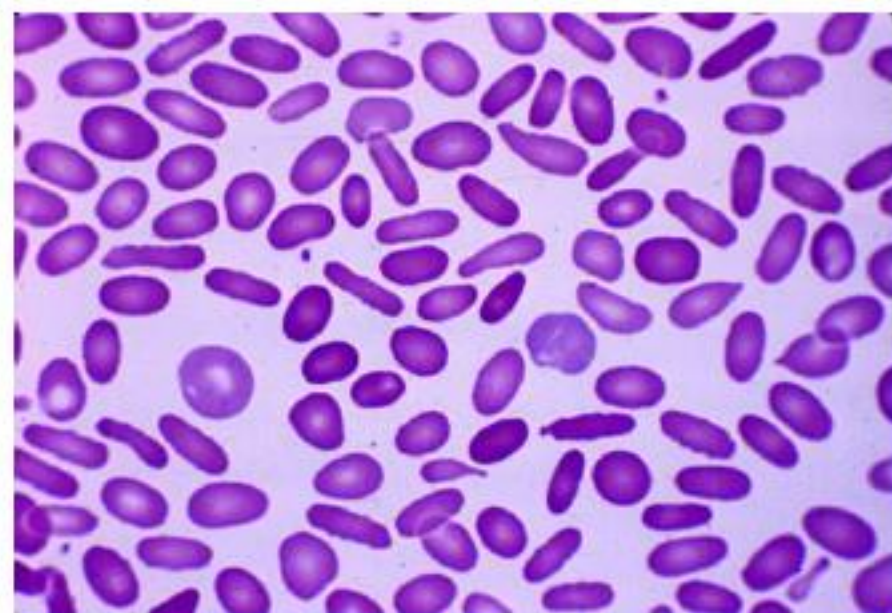
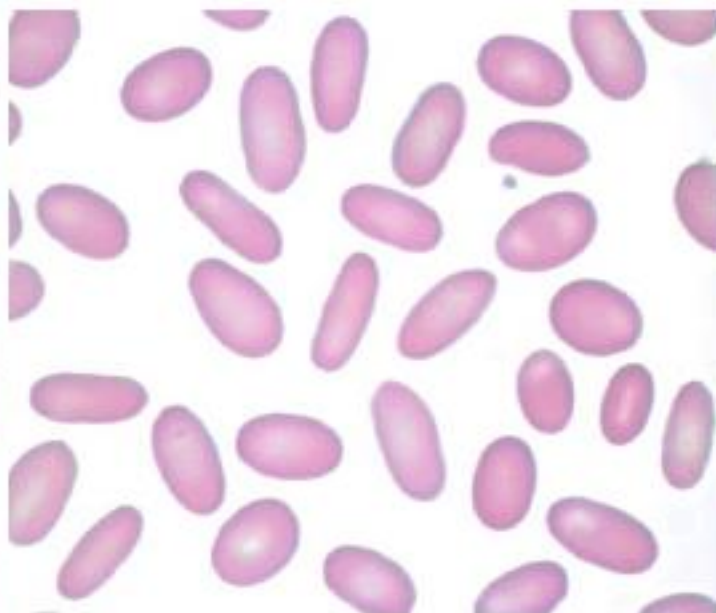
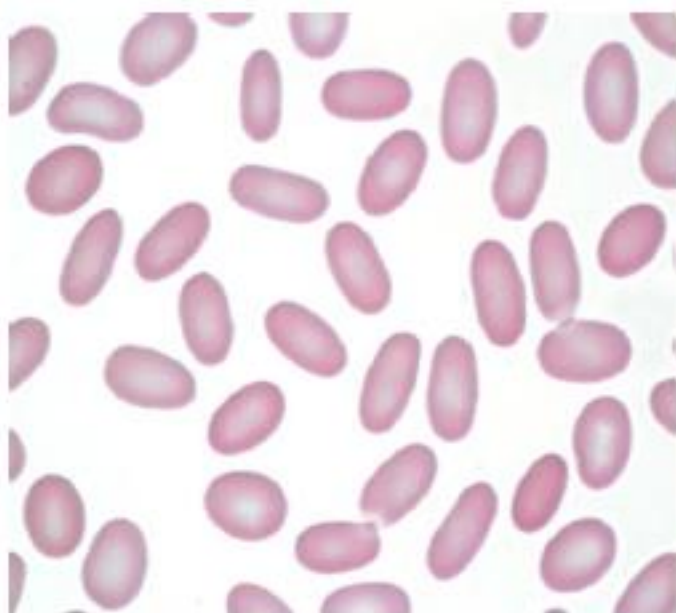
شکل ۲۵-۷: الیپتوسیتوزیس و مواردی از Pen Cell (Cigaret Cell). تصویر سمت راست نیز اووالوسیتی را نشان می‌دهد که با الیپتوسیت تفاوت دارد.



ماکرواستوماتو-والوسیت در SAO که در محور طولی و عرضی آنها خطوطی به شکل V، C، Y، I و گاهی نیزوسیت (Knizocyte) دیده می شود. در این بیماری ناحیه کمرنگ وسط اریتروسیت به صورت طولی، عرضی یا اورپ بوده و برخلاف استوماتوسیت عمود بر محور طولی اریتروسیت دیده می شود و برخلاف الیتوسیتوز، محور طولی اریتروسیت چندبرابر محور عرضی آن نیست.

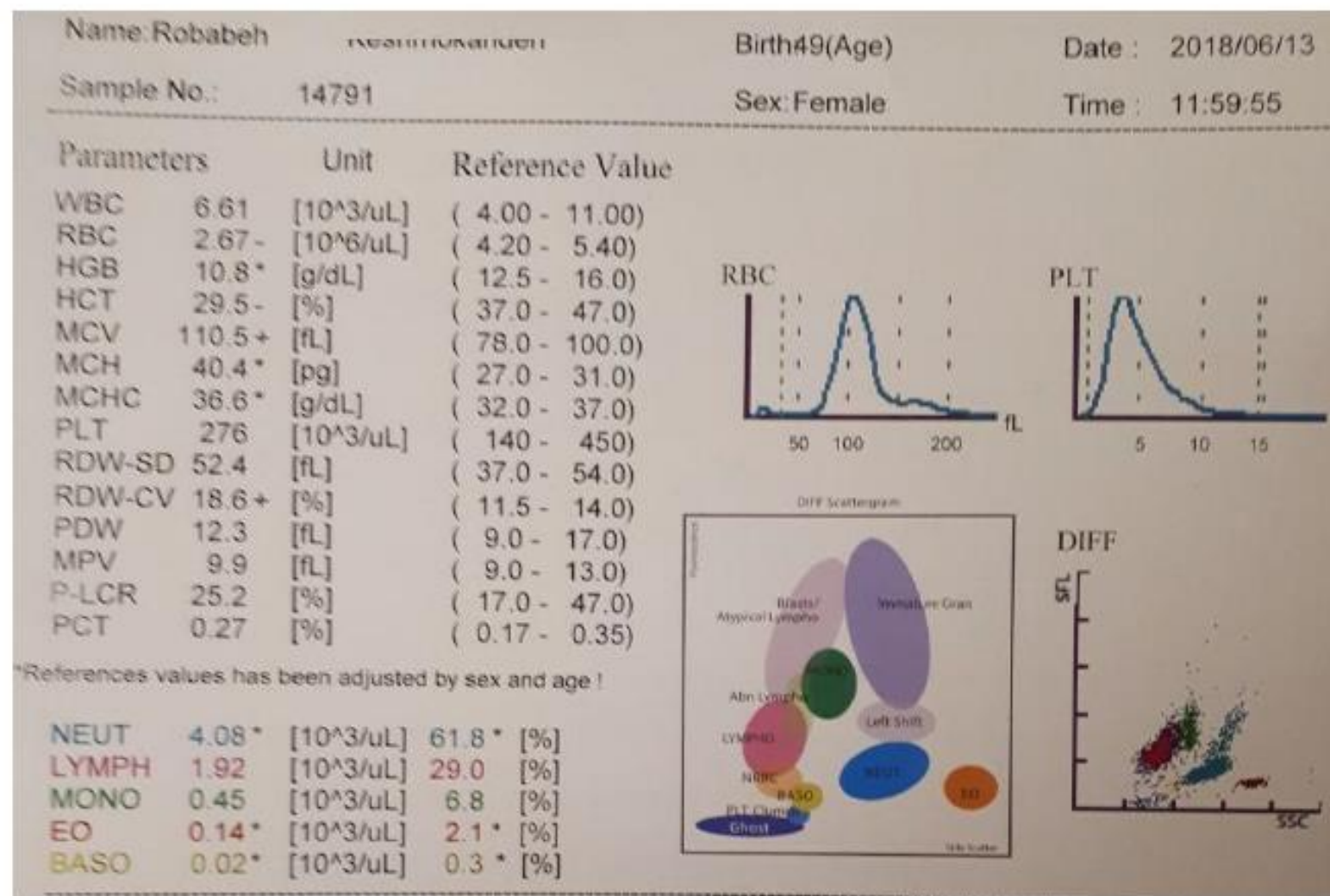


سلول‌های ماکروسیطیک-هیپوکروم استوماتوسیت که به شکل دهان ماهی یا گاهی علامت ورود ممنوع دیده می‌شوند. همان‌طوری که دیده می‌شود در این سلول‌ها برخلاف SAO خطوط پیل همبخت با محور طولی اریتروسیت‌ها بوده و سلول‌ها اغلب گرد با کشیدگی محدود هستند.

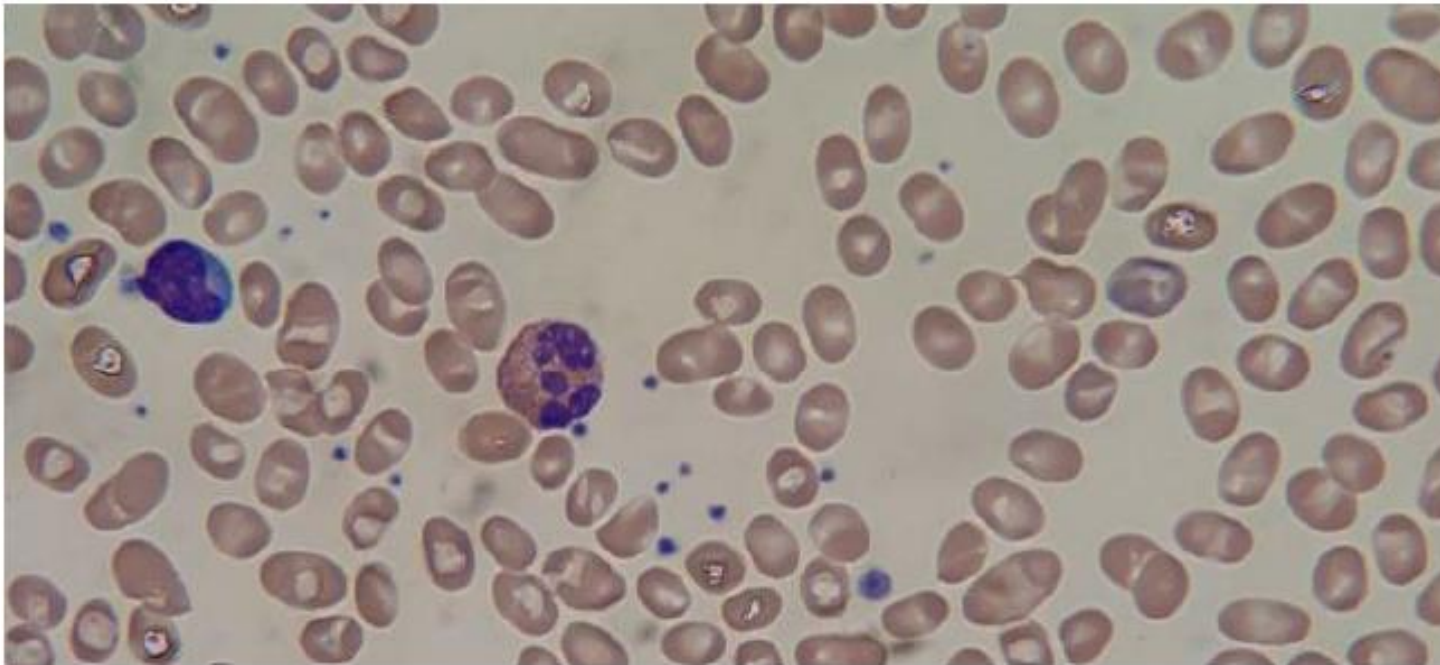
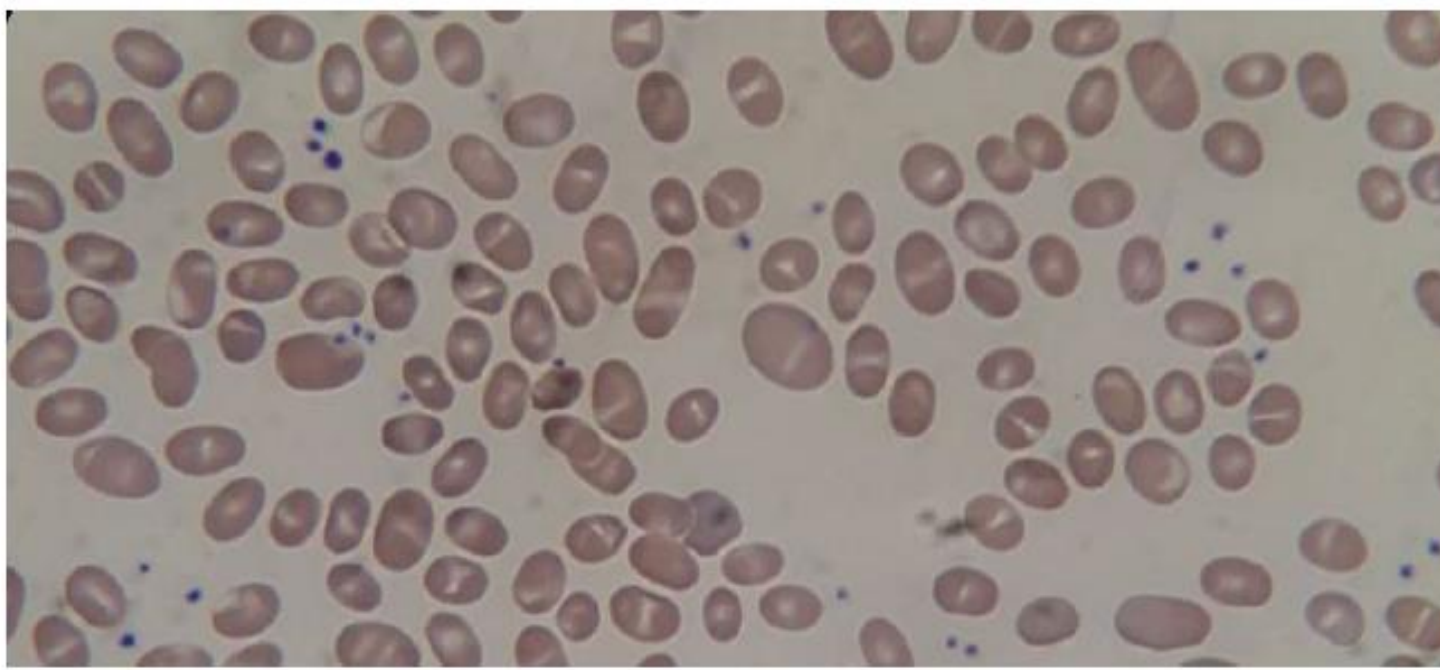


انواع مختلف الیپتوسیتور هموریگوت که در آن محور طولی اریتروسیت‌ها ۲-۳ برابر محور عرضی و در جهات مختلف می‌باشند و برخلاف آرئیفکت، در یک جهت یکسان نیستند.

Bun=10	Bill-T=9.6	Ca=9.3	CRP=2.1	Urin Blood=Neg	PT=14.1"	Anti-tTG=4.9
Urea=22	Bill-D=0.5	Phos=3.5	TSH=5.1	Urin Pro=Neg	PTT=30.2"	Ferritin=339
Cr=0.7	SGOT=15	Protein=6.7	Folic Acid=13.6	Urin Bill=Neg	ESR=1mm	Iron=91
LDH=32	SGPT=16	Alk-P=132	B12=340	Urin PH=6	Vit-D=30.6	TIBC=255



وضعیت CBC بیمار با آنمی ماکروسیتیک



مورفولوژی خون محیطی بیمار که ماکروواالوسیتوز آسیای جنوب شرقی (SAO) را محرز می کند.

لام ۲: گستره شماره ۲- شرح مختصر بیمار: خانمی ۴۹ ساله با احساس خستگی مزمن، درجاتی از زردی و آنمی به آزمایشگاه مراجعه و پزشک از آزمایشگاه، CBC و بخصوص PBS بیمار را درخواست می نماید. نتایج اولیه CBC به قرار زیر است

WBC: 6610/ μ l

RBC: 2.67×10^6 / μ l

Hb: 10.8 g /dl

PLT: 276×10^3 / μ l

HCT: 29.5 %

MCV: 110.5 fl

MCH: 40.4 pg

MCHC: 36.6g/dl

RDW-CV: 18.6%

RDW-SD: 52.4fl

با توجه به رد آنمی مگالوبلاستیک (نرمال بودن فولات، کوبالامین و LDH و فقدان نوتروفیل هیپرسگمانته)، آنمی فقر آهن (نرمال بودن آهن، فریتین، TIBC و بالا بودن MCV و MCH)، آنمی همولیتیک (نرمال بودن LDH و Bill-D)، رد آنمی بیماری مزمن (نرمال بودن CRP و ESR و آهن)، رد یرقان انسدادی (عدم افزایش Bill-D و Alk-P)، رد بیماری کبدی (نرمال بودن OT، PT و Alk-P)، رد بیماری کلیوی (نرمال بودن اوره و کراتینین و عدم اسیدوز ادرار)، رد سوء جذب سلیاک (نرمال بودن Anti-tTG) و در مقابل مشاهده ماکرواواالوسیت و اووالوسیت های با خطوط پیل اوریب، عمودی و ۷ شکل با استحکام غشایی و شکل یک دست می توان تشخیص اووالوسیتوز آسیای جنوب شرقی (SAO) را مدنظر قرار داد.

چنانچه جمع نتیجه آزمایش در این جدول کمتر یا بیش از عدد ۱۰۰ باشد، نتایج آزمایشگاه شما از آنالیزهای آماری حذف خواهد شد

نام سلول	واحد	نتیجه آزمایش
Blasts	%	0
Promyelocytes	%	0
Myelocytes	%	0
Metamyelocytes	%	0
Band Forms	%	2
Neutrophils	%	65±3
Eosinophils	%	3±1
Basophils	%	0.5±0.2
Lymphocytes	%	24±2
Monocytes	%	4.5±1
Lymph. Variant Form	%	3±1
Prolymphocyte	%	0
Plasma cell	%	0
Hairy cell	%	0
Others	%	
Toxic Granulation	Mild ☐ Mod ☐ Many ☐	
Pelger Huet Anomaly	Seen ☐ Not Seen ☒	
Pelgeroid morphology	Seen ☐ Not Seen ☒	
Chediak Higashii Anomaly	Seen ☐ Not Seen ☒	
Smudge cell	Few ☐ Mod ☐ Many ☐	
Cold Autoagglutination	Seen ☐ Not Seen ☒	
Presumptive Diagnosis	SAO	

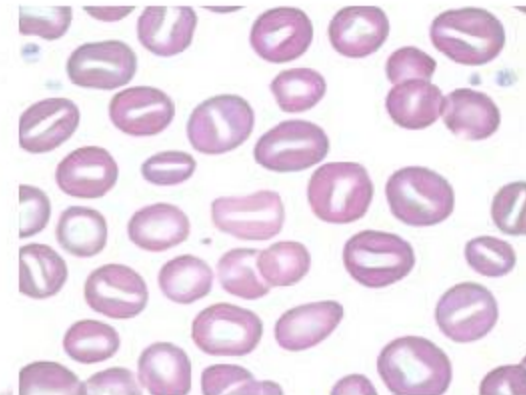
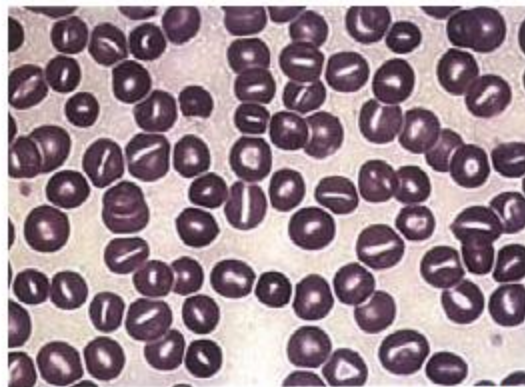
NRBC/100WBC : Not Seen

Cell Name		Grading System		
		Few/1+ %	Mod/2+ %	Many /3+ %
RBC	Anisocytosis 2+		2+	☐
	Macrocytes 3+		☐	3+
	Oval Macrocytes 2+		2+	☐
	Microcytes		☐	☐
	Hypochromic cells		☐	☐
	Polychromasia Few		☐	☐
	Acanthocytes		☐	☐
	Bite cells		☐	☐
	Blister cells		☐	☐
	Echinocytes		☐	☐
	Elliptocytes 1+		☐	☐
	Irregularly Contracted cells		☐	☐
	Ovalocytes 3+		☐	3+
	Schistocytes	☐	☐	☐
	Sickle cells		☐	☐
	Spherocytes		☐	☐
	Stomatocytes FEW		☐	☐
	Target-cells		☐	☐
	Tear drop cells		☐	☐
	Basophilic stippling		☐	☐
	Howell-Jolly bodies		☐	☐
	Pappenheimer bodies		☐	☐

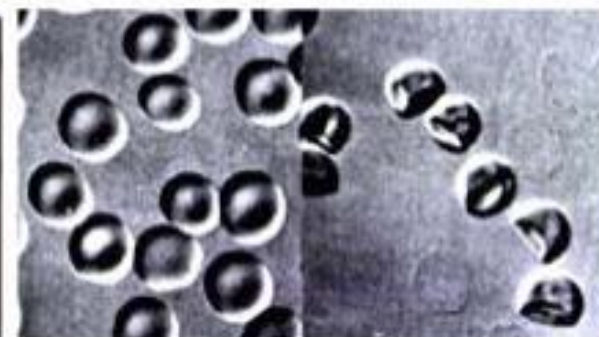
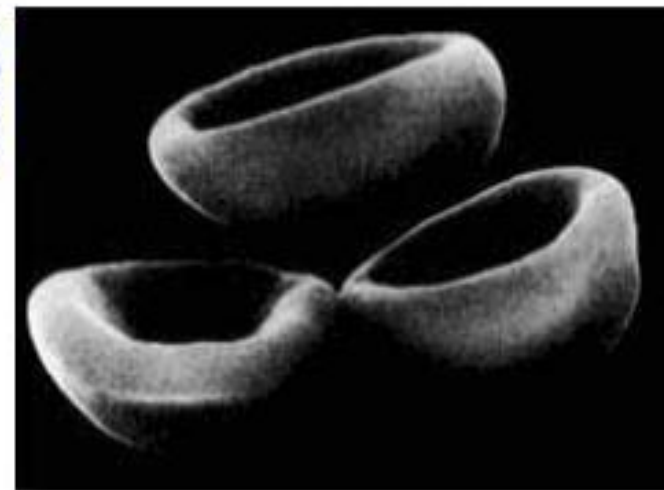
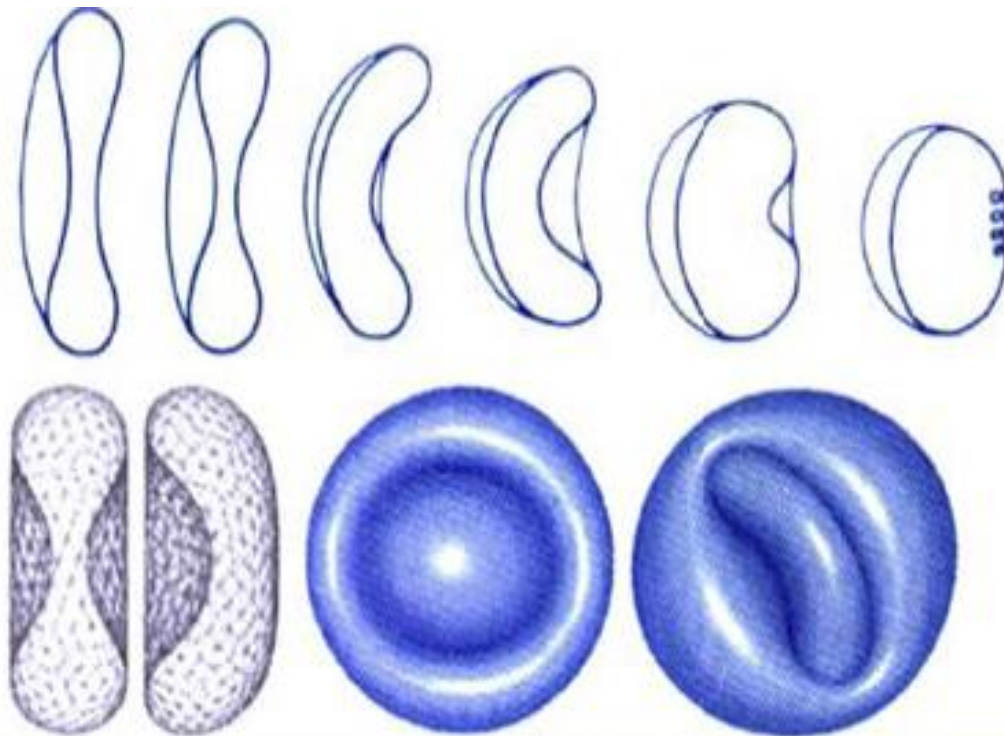
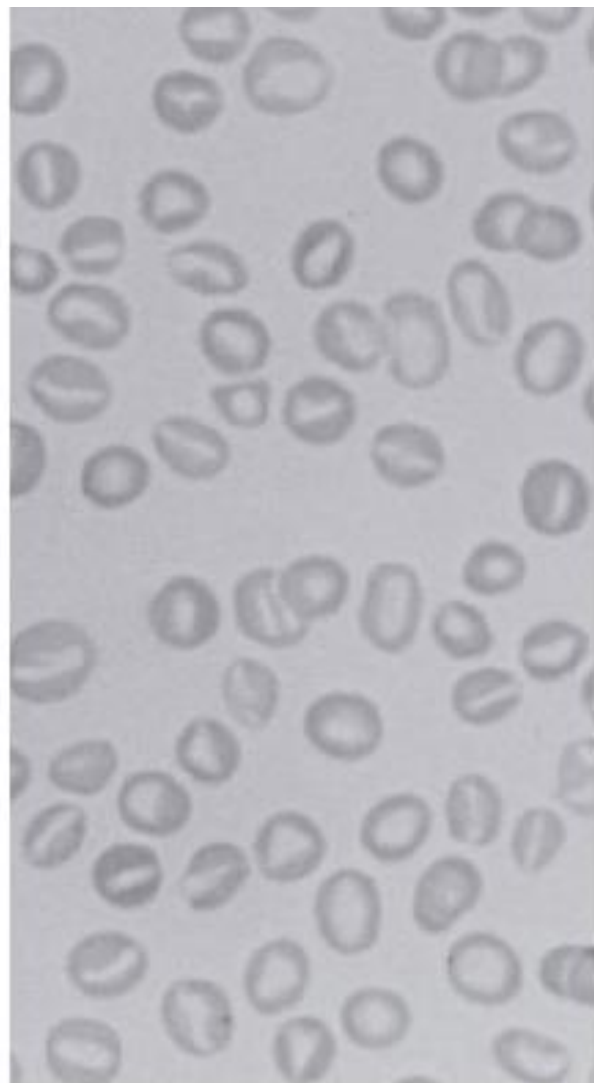
استوماتوسیت (سلول تک تقعری، سلول فنجانی شکل یا کاپ سل) (Stomatocyte or Mouth Cell or Cup Cell):

استوماتوسیت‌ها سلول‌هایی هستند به شکل دهان (در لام خشک) یا فنجان (در لام مرطوب) که مقعرالطرفین نبوده و فرورفتگی آنها فقط در یک سمت آنها دیده می‌شود. استوماتوسیت‌ها سه نوع هستند: ۱) استوماتوسیت‌های کلاسیک با تقعر عمیق در یک سمت (نوع I، ۲) استوماتوسیت‌های با تقعر کم عمق در یک سمت (نوع II و ۳) استوماتوسیت‌های اسفروسیتی یا اسفرواستوماتوسیت (نوع III) که در نهایت اسفروسیت‌های کلاسیک را تشکیل می‌دهند. پس اسفروسیت‌هایی که در کنار استوماتوسیت‌های کلاسیک دیده می‌شوند، درحقیقت استوماتوسیت نوع III هستند. شکنندگی اسمزی یا OF استوماتوسیت‌ها بسیار زیاد بوده و در دمای ۳۷-۴۰ درجه به خودی خود تخریب می‌شوند. افزایش آلبومین، کاهش PH، افزودن کلروپرومازین و مشتقات کاتیونی فنوتیازین باعث بروز استوماتوسیتوز و برعکس، افزایش PH، کاهش آلبومین و مشتقات آنیونی فنوتیازین باعث بروز اکی‌نوسیتوزیس (سلول‌های مضرس) می‌شوند.

در اسفروسیت‌ها و استوماتوسیت‌ها سطح داخل سلولی Na چهار افزایش شده و K کاهش دارد، در نتیجه سلول‌ها آب را از محیط گرفته، هیدراته شده و شکنندگی اسمزی آنها افزایش می‌یابد. با توجه به جذب شدید آب توسط این سلول، به استوماتوسیت، هیدروسیت نیز گفته می‌شود. در استوماتوسیتوز ارثی (HSt) ناشی از فقر پروتئین باند 7 غشایی یا استوماتین (نه استوماتوسیتوز ثانویه به اسفروسیتوز)، نفوذپذیری یونی اریتروسیت‌ها مختل بوده و سلول‌ها به دلیل افزایش محسوس سدیم داخل سلولی و جذب آب، **ماکروسیتیک-هیپوکرومیک** شده و برخلاف بیماری اسفروسیتوز ارثی، کوچک و متراکم دیده نمی‌شوند. این نوع از استوماتوسیت‌ها (موارد ارثی) از نظر Rh نیز نول محسوب می‌شوند. استوماتوسیت‌ها در استوماتوسیتوز ارثی، اسفروسیتوز ارثی، بیماری‌های انسدادی کبدی و سیروز، نقص پمپ سدیم اریتروسیتی، سندرم Rh نول، الکلیسم، مسمومیت با سرب، مونونوکلئوز عفونی، کمبود گلوکاتایون، تالاسمی مینور و بیماری‌های بدخیم مشاهده می‌شود.



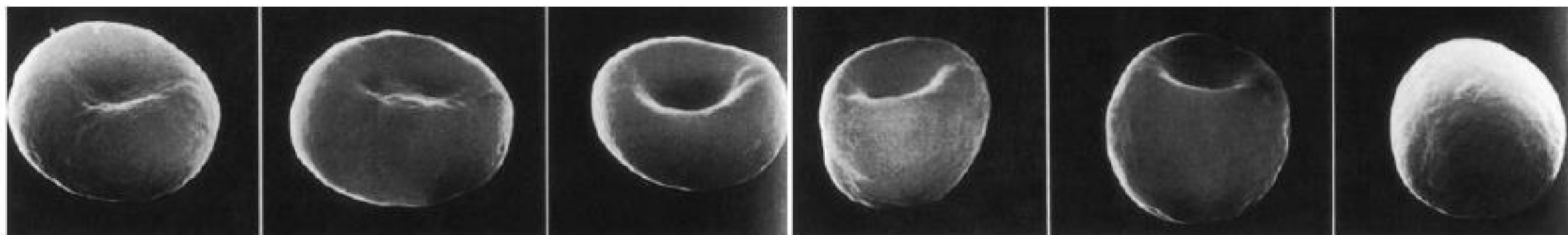
شکل ۲۶-۷: سلول‌های ماکروسیتیک-هیپوکروم استوماتوسیت که به شکل دهان ماهی یا گاهی علامت ورود ممنوع دیده می‌شوند.



شکل ۲۷-۷: تصویر PBS و SEM از سلول‌های استوماتوسیت و اسفرواستوماتوسیت و مراحل تشکیل آن.

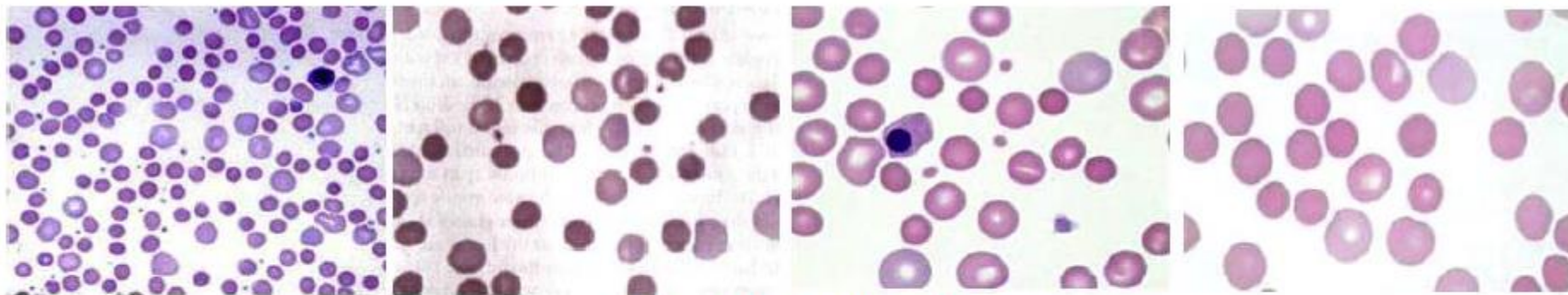
اسفروسیت‌ها یا سلول‌های کروی شکل (Spherocyte or Spherostomatocyte):

اسفروسیت‌ها در مقایسه با اریتروسیت‌های مقعرالطرفین طبیعی، اریتروسیت‌هایی تقریباً کروی شکلی بوده قطر آنها کمتر از حد طبیعی می‌باشد. این سلول‌ها به دلیل ضخامت بالایی که دارند، ناحیه کمرنگ مرکزی را نداشته یا ناحیه کمرنگ کوچکتری دارند که **خارج از مرکز** قرار می‌گیرد (چون سلول ضخیم و کروی است، بجای اینکه در روی لام کاملاً پهن شود، قدری کج قرار می‌گیرد). این سلول‌ها در اسفروسیتوزیس ارثی (نقص پروتئین‌های اسکلتی اسپکتترین، آنکرین و 4.2)، پرکاری شدید طحال، در بعضی از موارد آنمی همولیتیک اتوایمیون یا آلوایمیون (مثل HDN و AHA)، متعاقب تزریق خون نامتجانس یا کهنه، آنمی همولیتیک هاینزبادی (مثل کمبود G6PD یا توارث هموگلوبین‌های ناپایدار)، همولیز ناشی از رقیق شدن خون با آب و در بعضی حالات مانند حرارت و سوختگی که در آنها آسیب مستقیم فیزیکی یا شیمیایی به سلول وارد می‌شود، مشاهده می‌شوند. در شرایط بیماری‌های ایمیون، کوت شدن و اوپسونیزاسیون نسبی اریتروسیت‌ها با آنتی‌بادی یا اجزاء کمپلمان باعث pitting مداوم اریتروسیت توسط ماکروفاژهای طحالی می‌شود که در دراز مدت باعث کاهش S/V، کروی شدن سلول‌ها (اسفروسیتوز) و افزایش شکنندگی اسمزی سلول‌ها می‌شود. مشاهده اسفروسیت در گسترش خون نوزادان می‌تواند عدم تطابق گروه خونی بین مادر و نوزاد را تداعی کند. در هر کدام از علل دیگر اسفروسیتوز نیز تکه‌های کوچکی از غشاء به همراه مقدار بسیار جزئی از هموگلوبین در اثر Pitting طحال یا آسیب فیزیکی از سلول‌های قرمز بالغ کنده شده و حذف می‌شوند و چون مقدار غشاء بیشتری در مقایسه با هموگلوبین از RBC حذف می‌شود، لذا کاهش مساحت سلول در مقایسه با حجم سلول محسوس‌تر بوده و سلولی با نسبت سطح به حجم کاهش یافته به جای می‌ماند که **اسفروسیت** نامیده می‌شود. برخلاف سوختگی بدن و حرارت شدید به خون که باعث تشکیل اسفروسیت‌ها در عروق خونی و حتی در ویال CBC می‌شود، اسفروسیت شدن در بقیه موارد اسفروسیتوز در سیستم رتیکولواندوتلیال اتفاق می‌افتد. در موارد سوختگی یا آسیب حرارتی، قطعات سلولی کنده شده از سلول به قدری ریز هستند که **میکرواسفروسیت** نامیده می‌شوند، میکرواسفروسیت‌ها گاهی در دستگاه‌های سل‌کانتر به اشتباه به‌عنوان پلاکت شمارش شده و باعث افزایش MPV، PDW و کاهش MCV می‌شوند. اسفروسیت‌های کلاسیک طی روند تشکیل خود ابتدا به سلولی با ویژگی اسفروسیت - استوماتوسیت تبدیل می‌شوند که **اسفرواستوماتوسیت** نامیده می‌شود و در واقع همان سلول کروی با ناحیه کمرنگ خارج مرکزی می‌باشد. این سلول در اکثر موارد حتی بیشتر از اسفروسیت کلاسیک در گستره خونی مشاهده می‌شود، درحقیقت اسفروسیت‌ها محصول نهایی استوماتوسیت نیز می‌توانند محسوب شوند و در تصاویر SEM وجود ناحیه فرورفته با تقعر یک طرفه در یک سمت اسفروسیت نشان داده شده است.



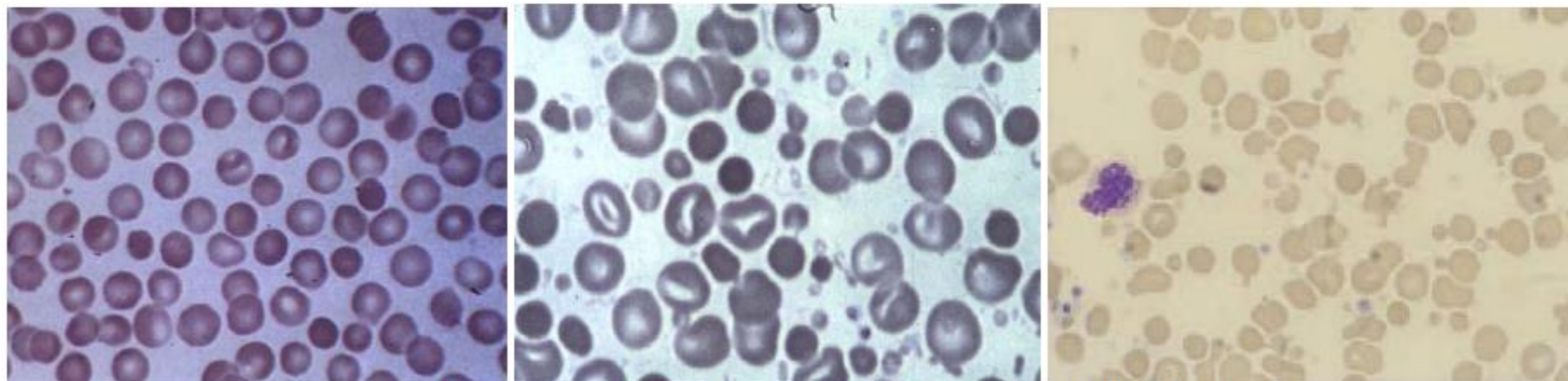
شکل ۲۶-۷: مراحل تبدیل نورموسیت به اسفروسیت که در مراحل میانی به صورت استوماتوسیت نیز دیده می‌شود.

MCV دستگاهی بیماران مبتلا به اسفروسیتوزیس علی رغم کاهش واقعی حجم و قطر سلول، به دلیل عدم انعطاف و ضخیم بودن سلول، حدود $1/5$ برابر بیشتر از مقدار واقعی نشان می‌دهد، لذا در محدوده طبیعی قرار می‌گیرد. در برخی مراجع عنوان می‌شود که به دلیل کاهش قطر اسفروسیت‌ها و در مقابل، افزایش ضخامت سلول، MCV و حجم سلول اسفروسیت، در کل دچار تغییر نمی‌شود. اسفروسیت‌ها به دلیل تراکم بالا و MCHC افزایش یافته و به دلیل فقدان تقعر دو طرفه نسبت به شرایط هیپوتونیک بسیار حساس بوده و سریعاً دچار همولیز می‌شوند، لذا شکنندگی اسمزی (OF) آنها بالا بوده و از این خاصیت در تشخیص اسفروسیتوز ارثی در تست OFT استفاده می‌شود.

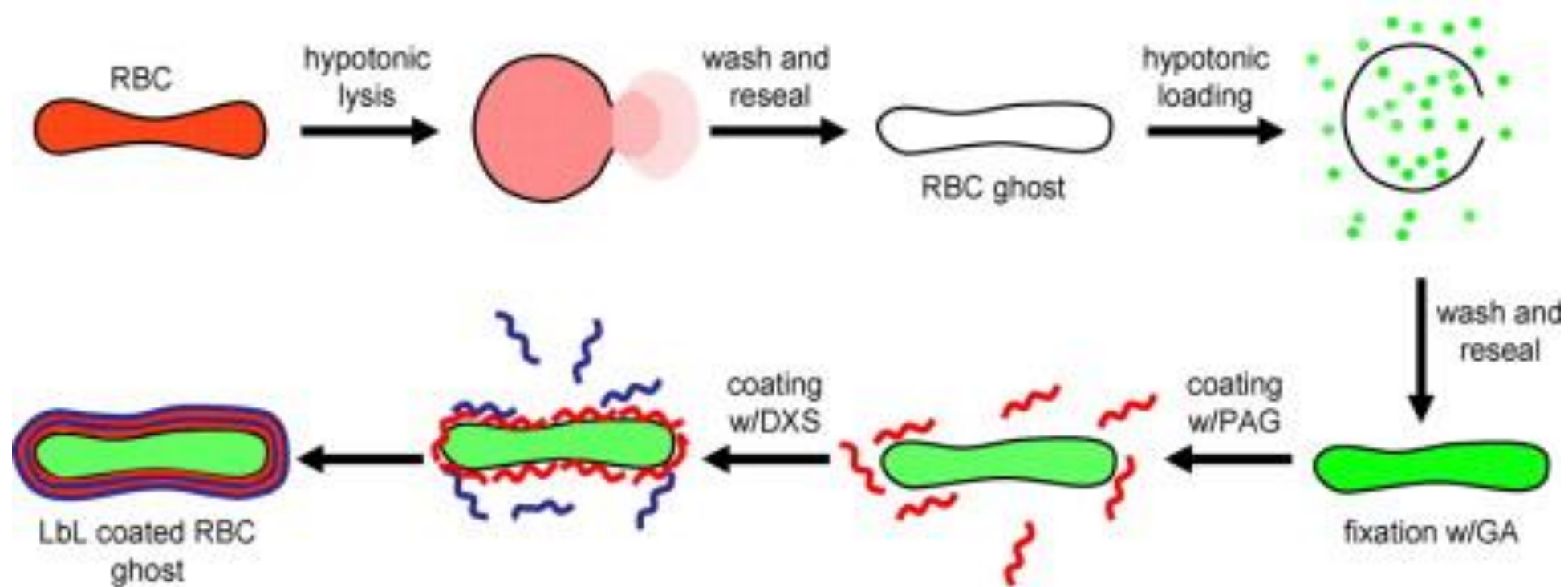


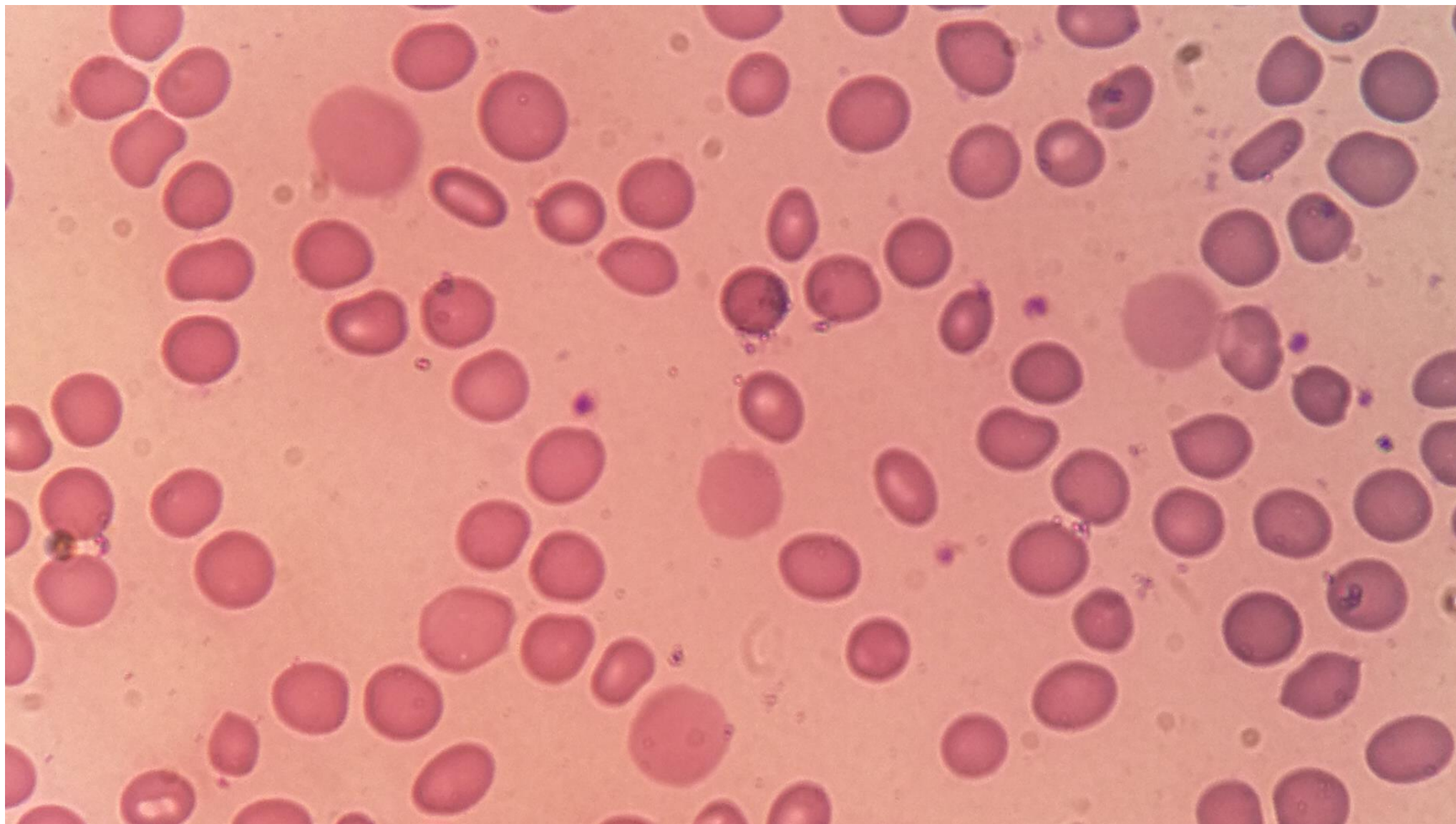
شکل ۲۷-۷: مورفولوژی انواع اسفروسیت‌های خونی

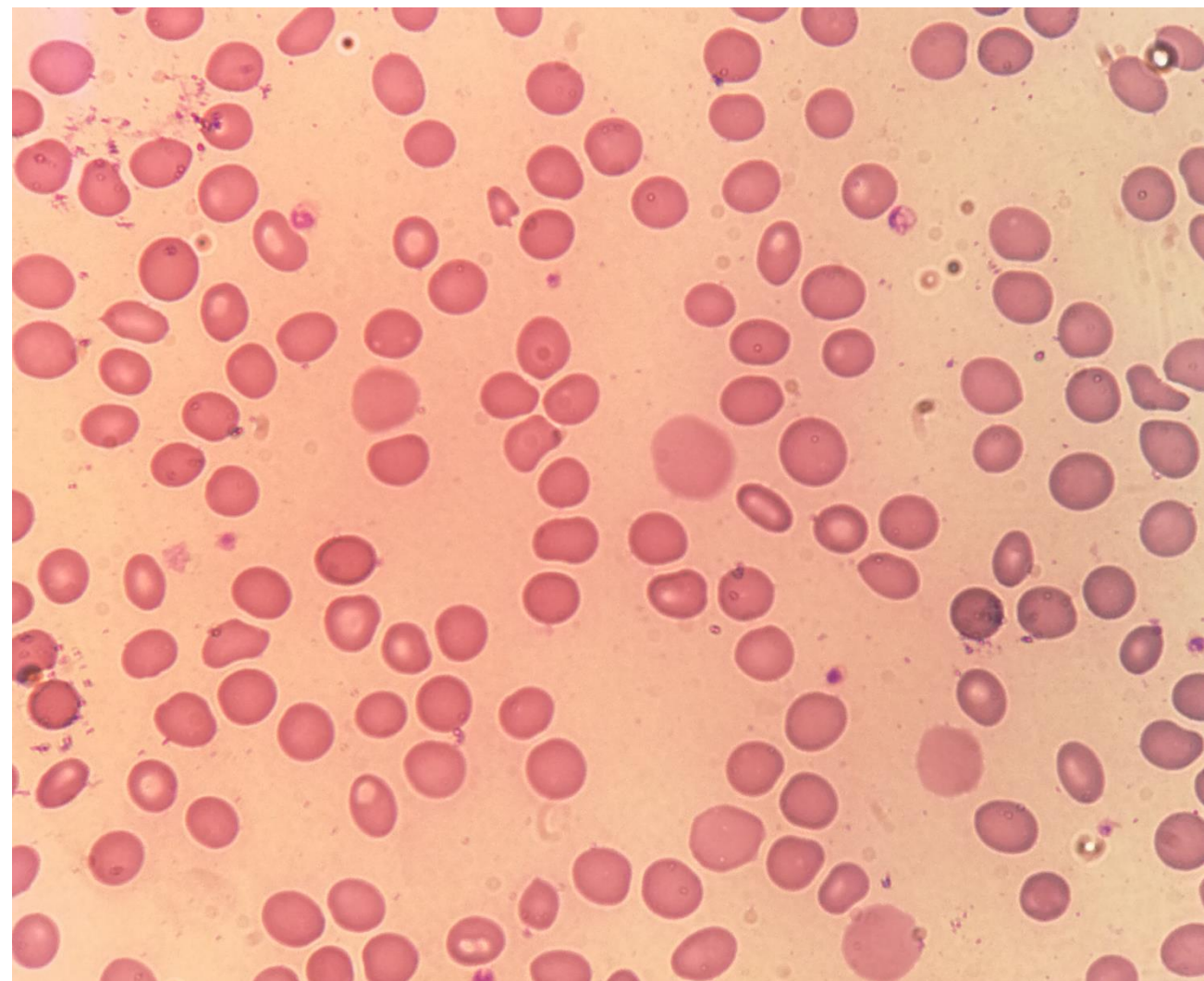
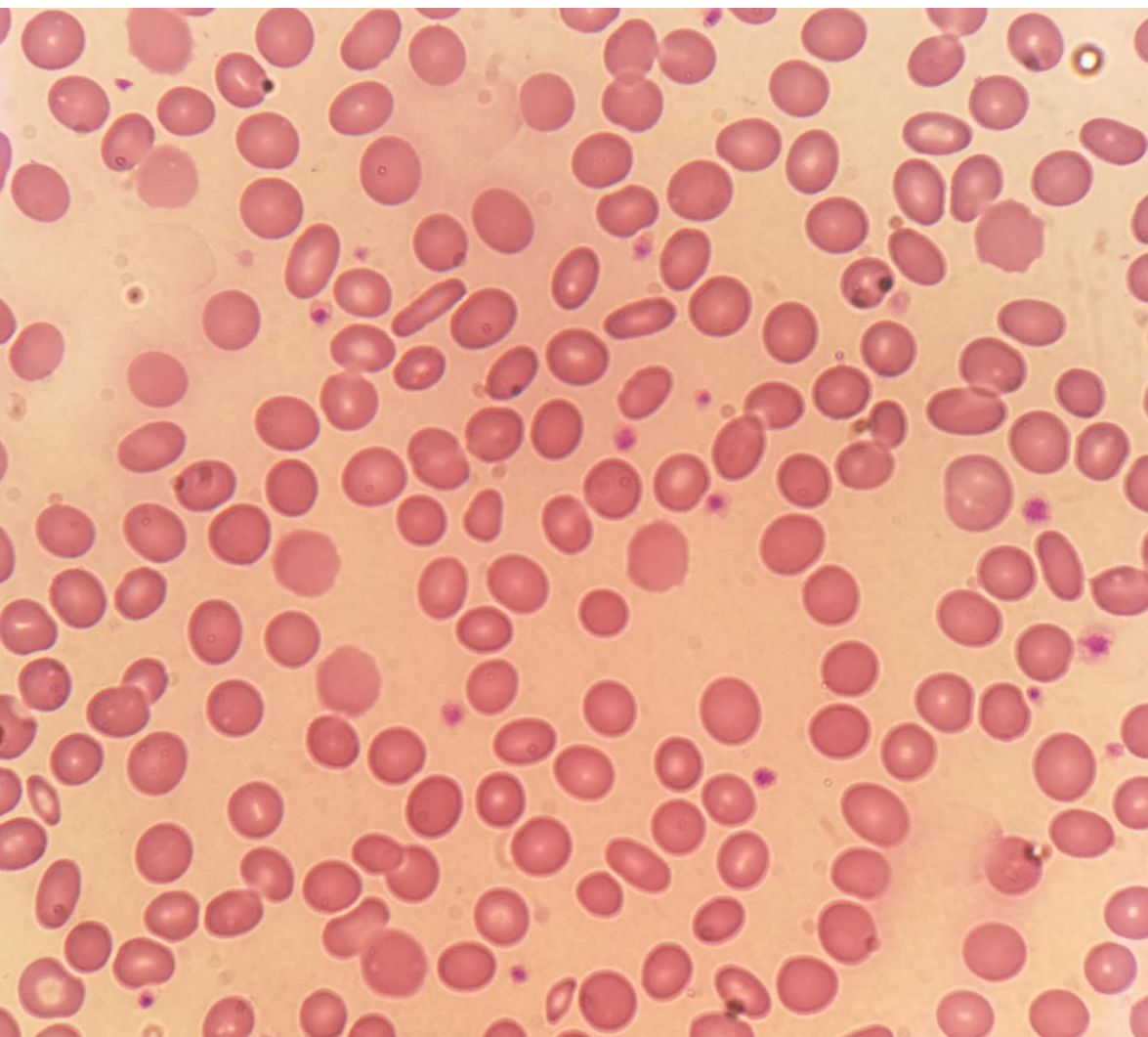
حرارت ۴۹ درجه با دپلمیریزاسیون اسپکترین‌های آلفا و بتا و با اختلال در شبکه سیتواسکلتی اریتروسیت‌ها باعث اتصال دو سطح داخلی ناحیه مقعر اریتروسیت‌ها بهم شده و مورفولوژی اریتروسیت‌ها را شدیداً دگرگون می‌سازد. حرارت شدیدتر می‌تواند حتی باعث جوانه زدن سطح سلول‌ها به قطعات کوچک کروی و اسفرولاسیون واضح (کروی شدن) سلول‌ها شود. این قطعات هنگام عبور از طحال دچار کولینگ شده و از بین می‌روند. حین حمل نمونه خون در شرایط دمایی بالا نیز (مثلاً در مقابل نور شدید، در مقابل بخاری و ...) سلول‌ها تکه تکه شده و جوانه‌های بسیار ریز میکرواسفروسیتی از سلول‌های بزرگ جدا و اشکال شیستوسیتی وسیعی در گسترش خون مشاهده می‌شوند، در نتیجه MCV کاهش و RDW افزایش شدیدی را نشان می‌دهد. در سوختگی‌های وسیع پوستی و پیروپوئیکیلوسیتوز ارثی نیز منظره مشابهی در خون محیطی مشاهده می‌شود که البته آرتیفکت نیستند.



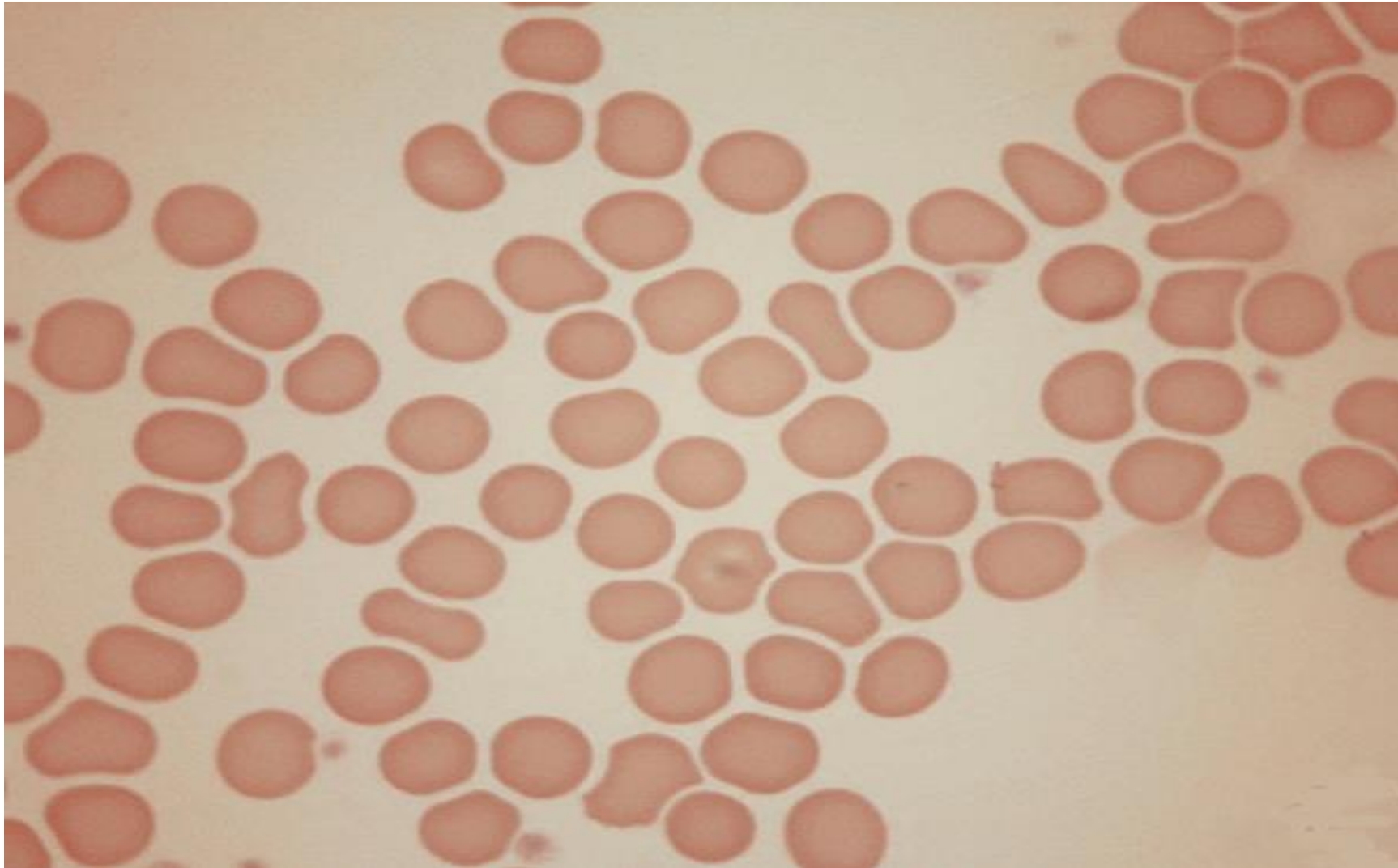
شکل ۲۸-۷: میکرواسفروسیتوز ناشی از سوختگی (تصاویر میانی و راست) و تفاوت آن با اسفروسیتوز ارثی (تصویر چپ)



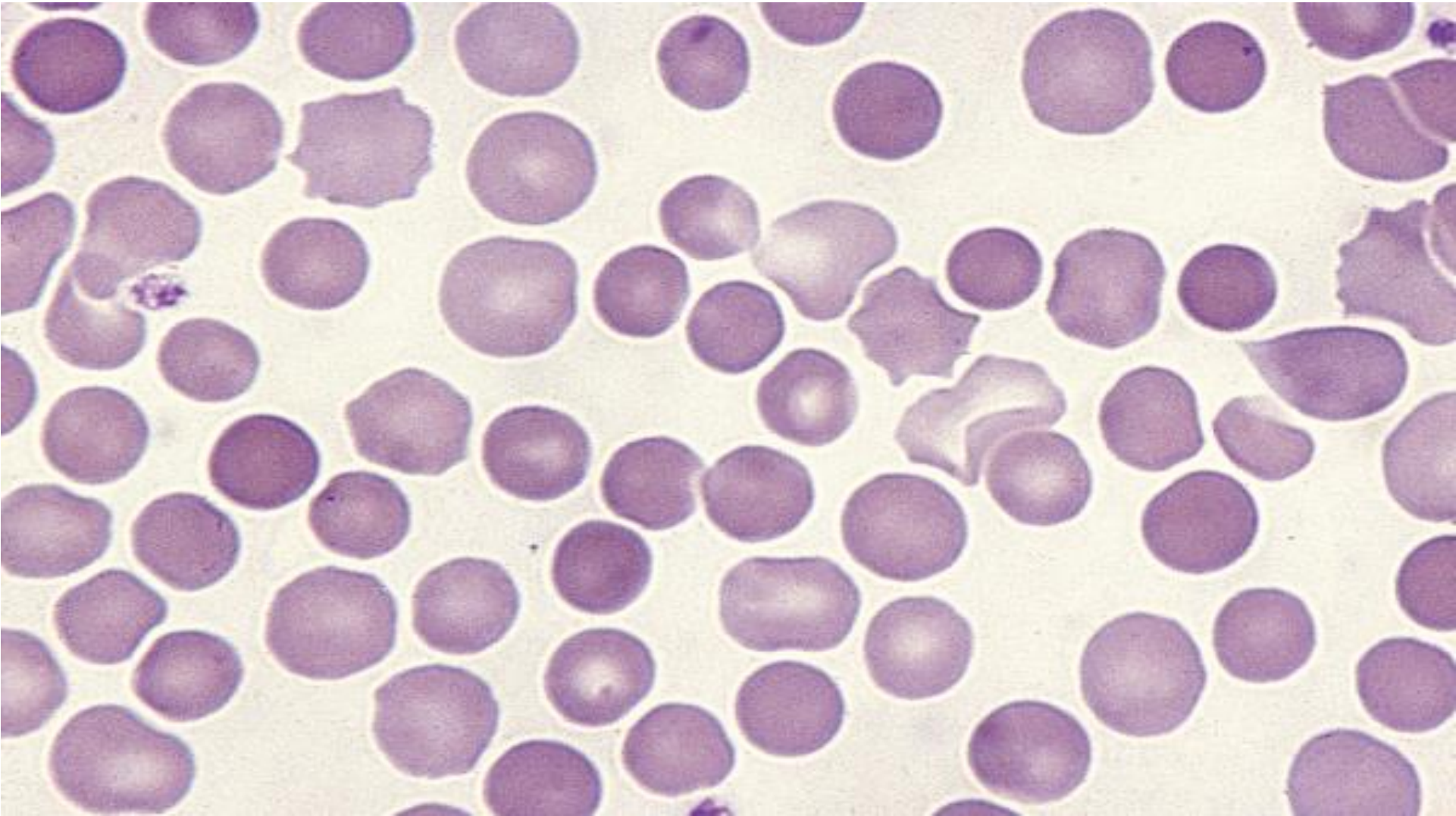




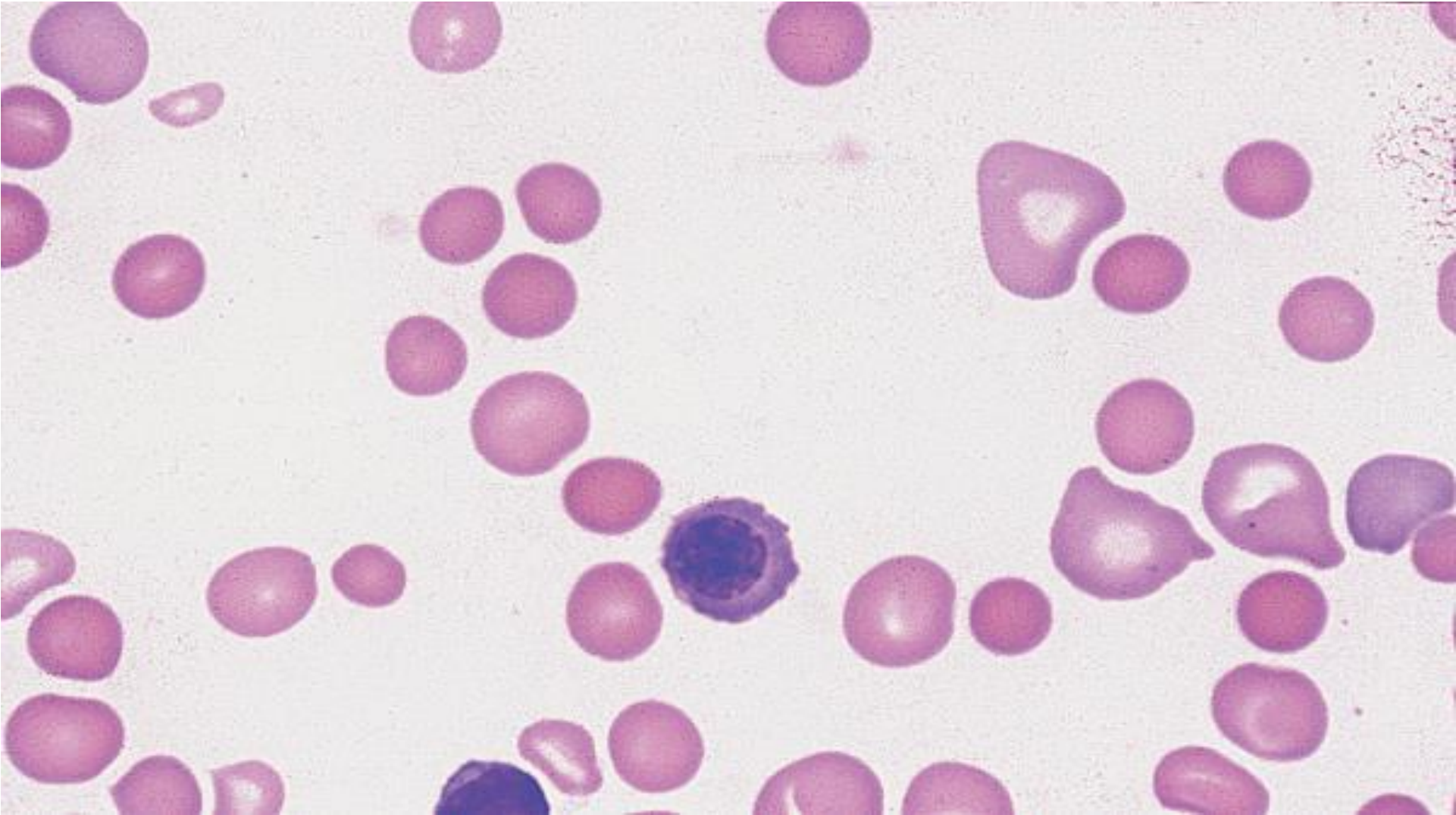
a blood film showing an area that is too thin for examination



Hereditary spherocytosis. Shows a moderate degree of spherocytosis and anisocytosis. Note the round contour of the spherocytes.

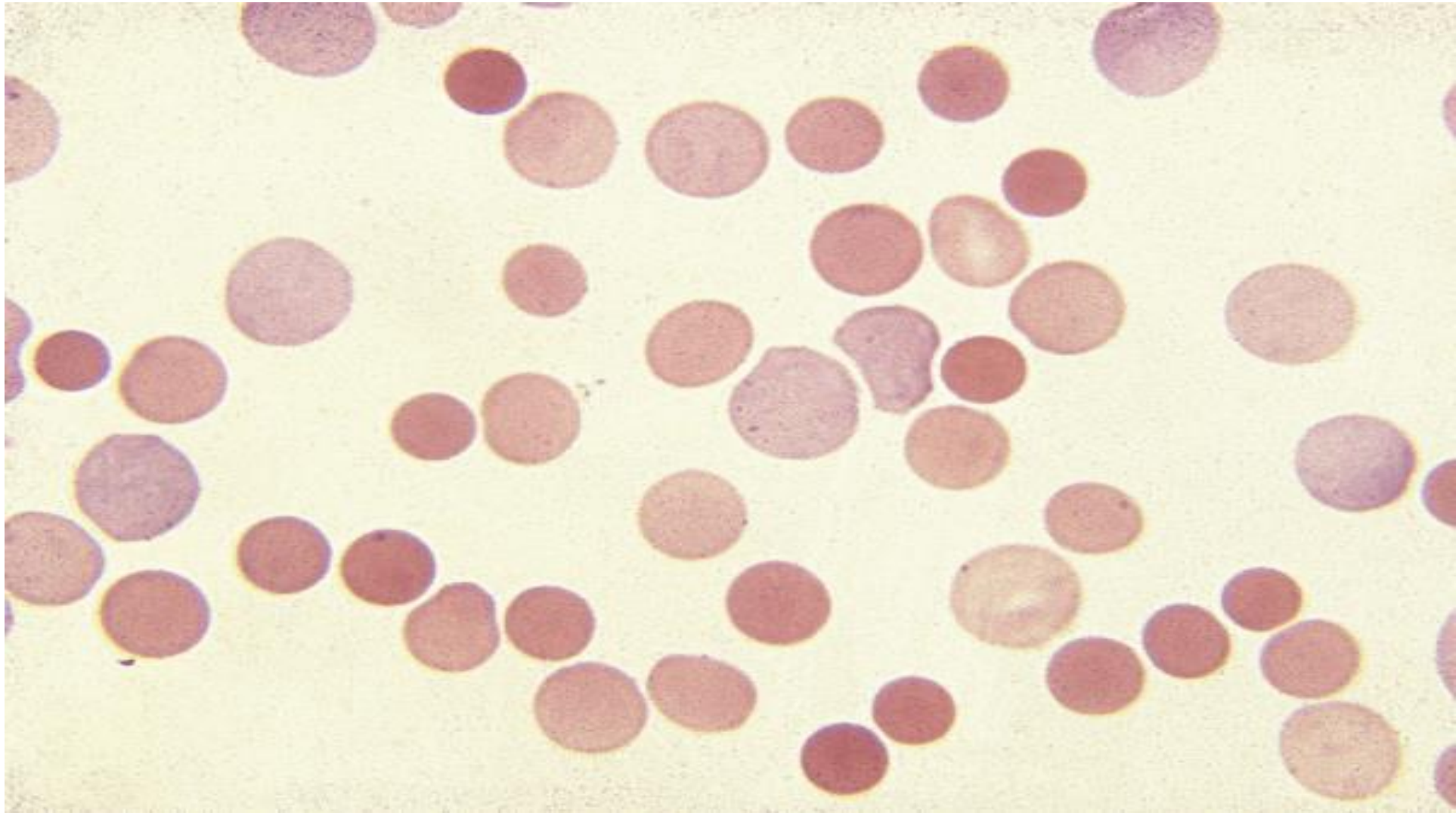


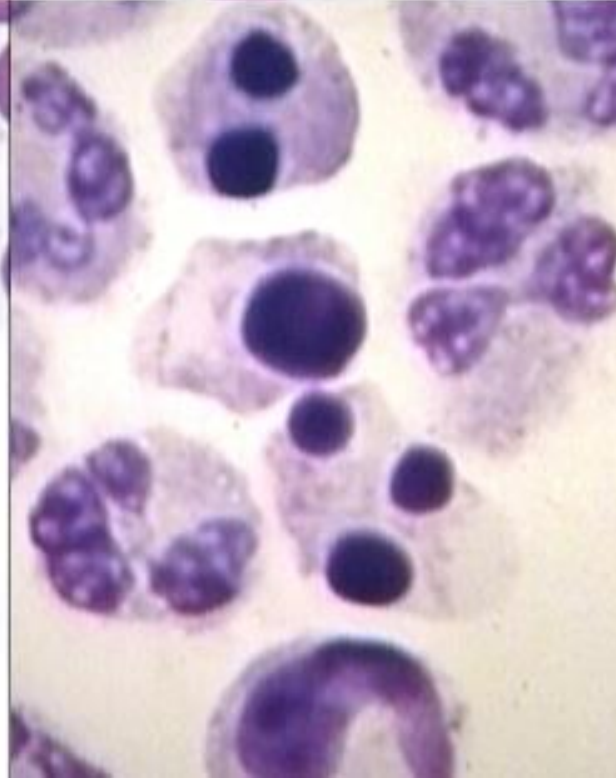
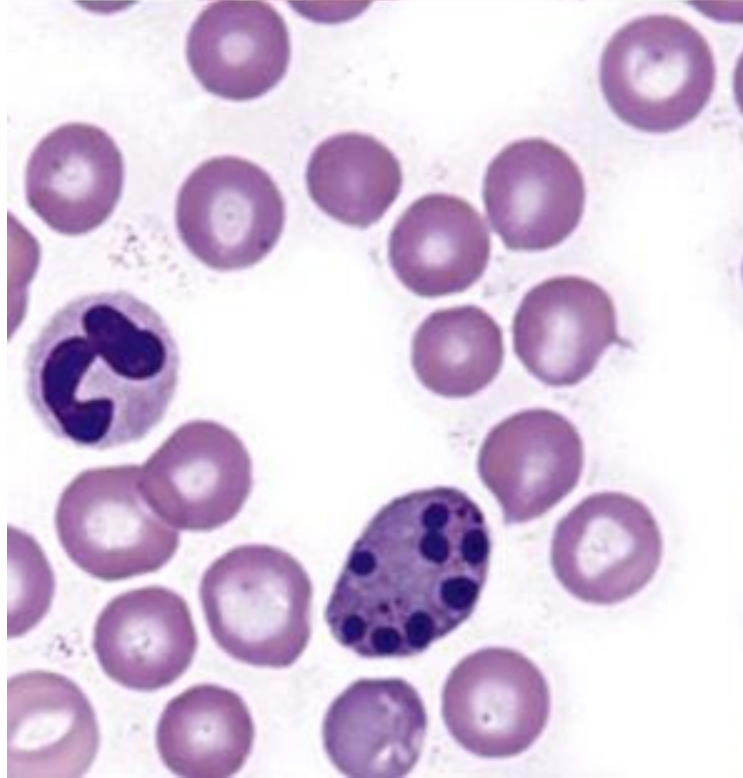
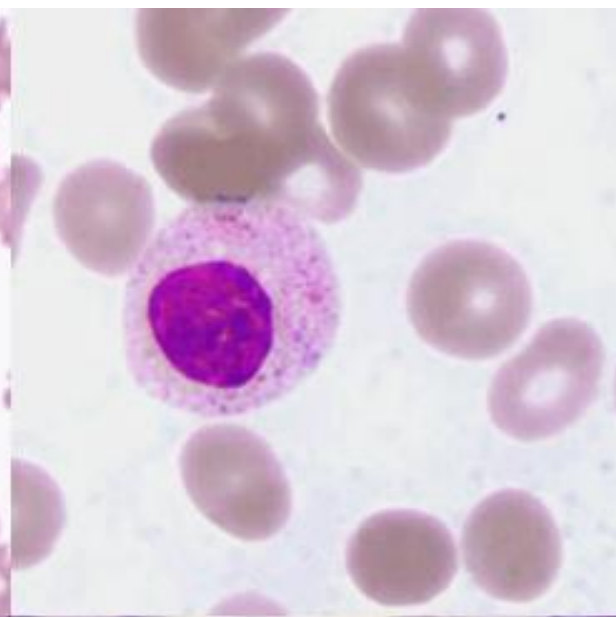
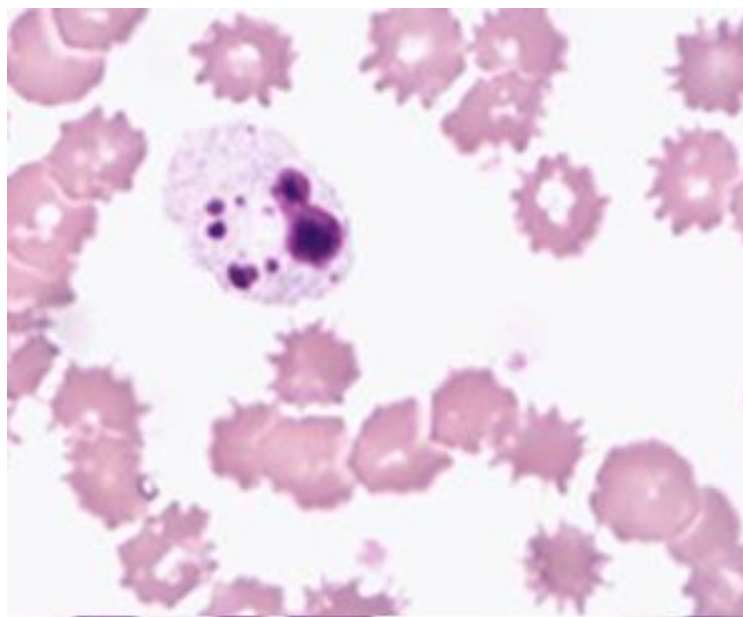
ABO haemolytic disease of the newborn. Spherocytosis is intense, and there are several polychromatic macrocytes.



-

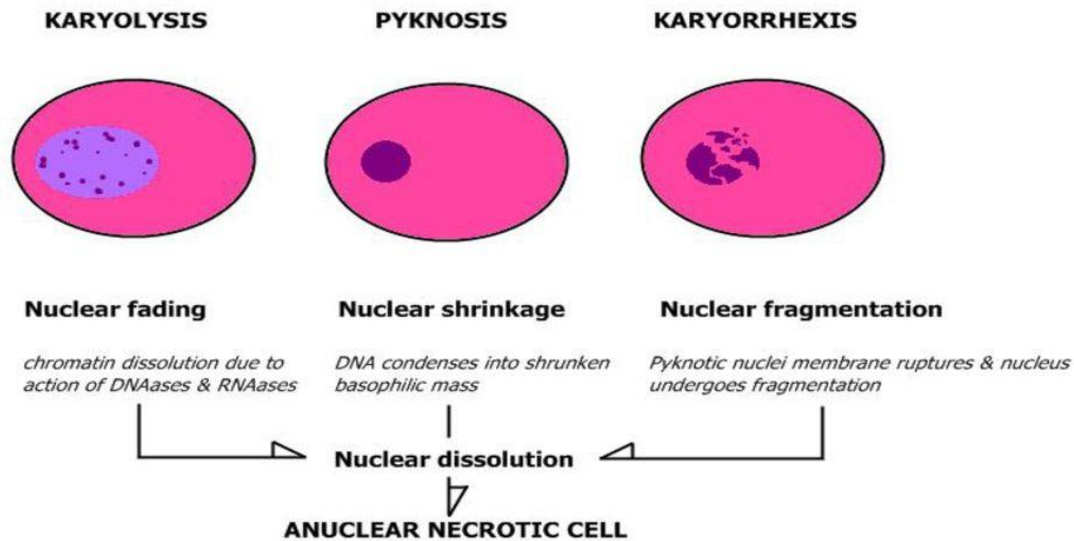
Autoimmune haemolytic anaemia. Shows marked spherocytosis and anisocytosis. There are numerous polychromatic macrocytes



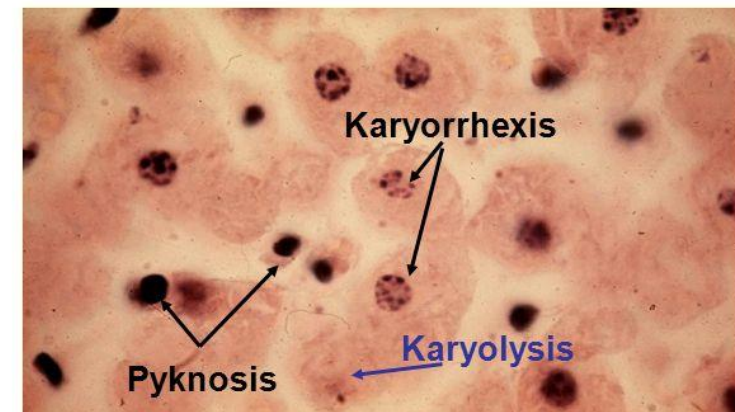
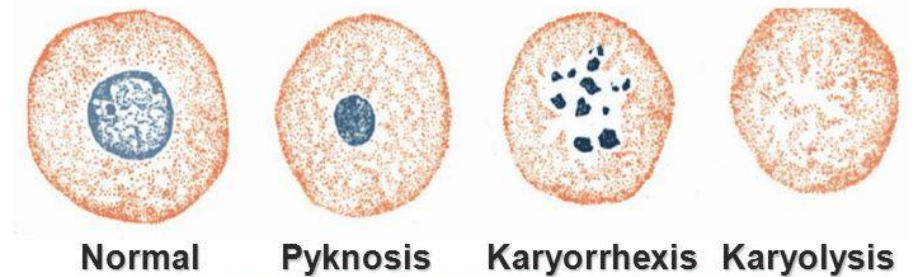


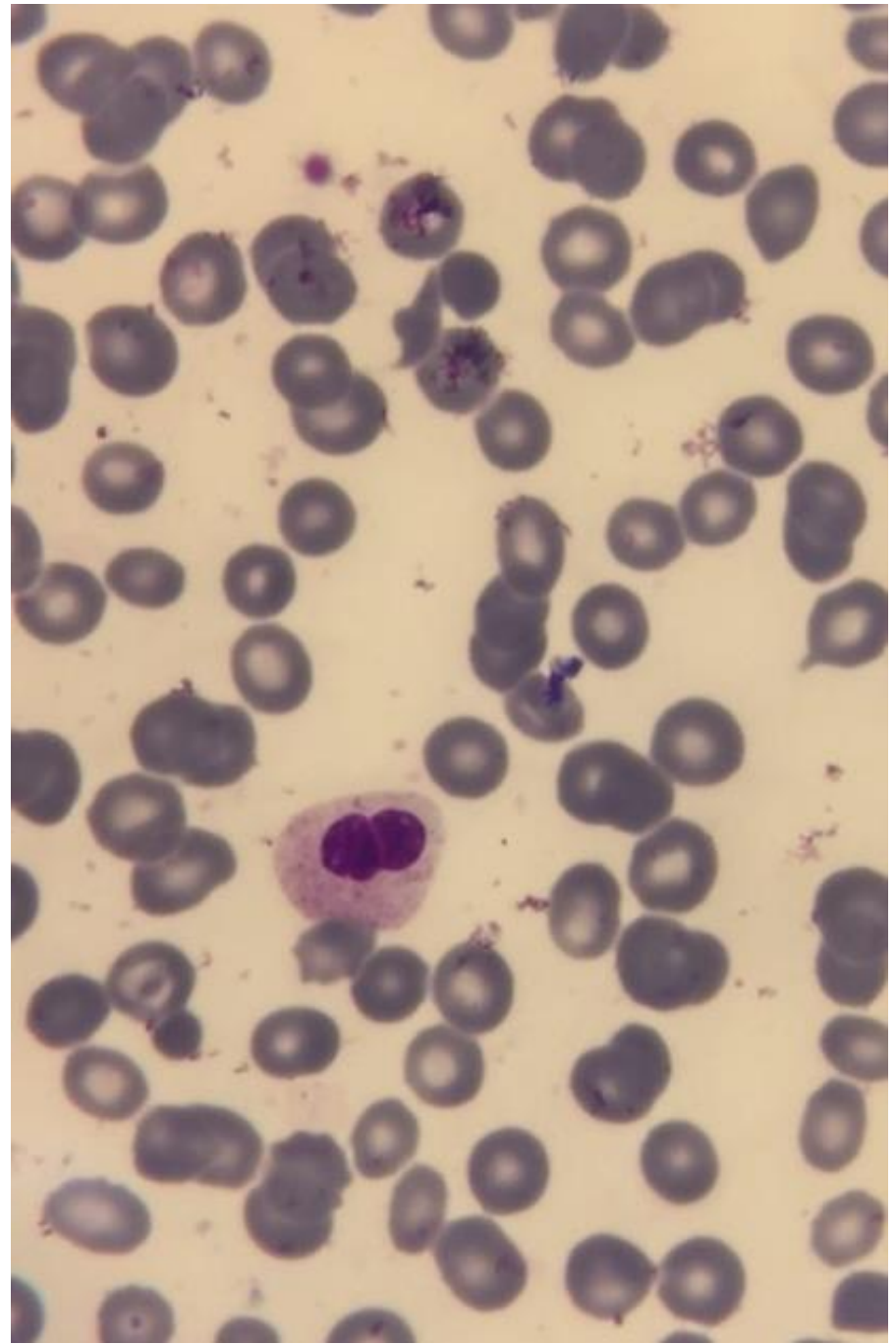
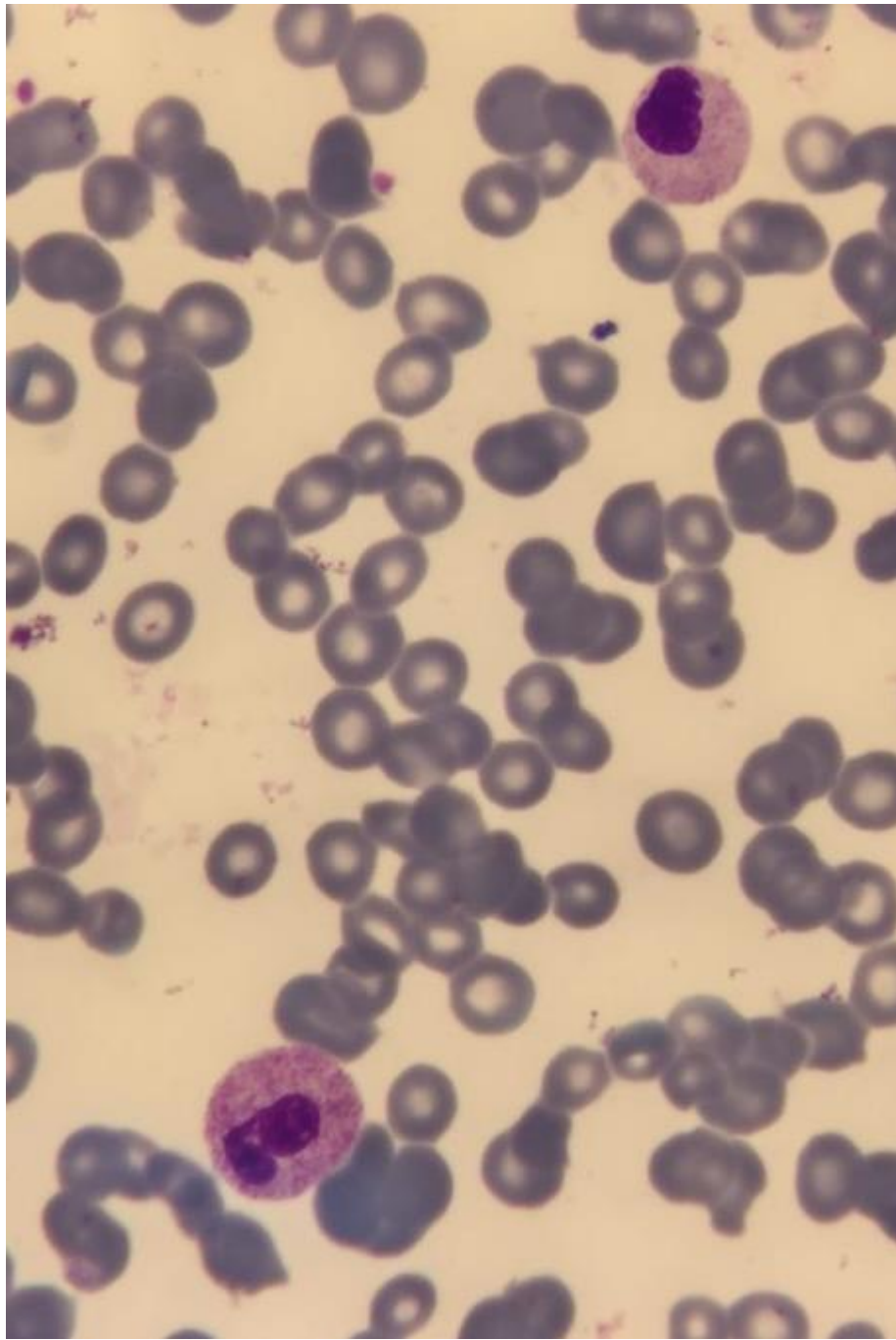
Nuclear changes

- Pyknosis - shrinking & condensation
- Karyorrhexis - rupture of nuclear membrane
- Karyolysis - basophilia gradually fades



Nuclear Changes in Necrosis





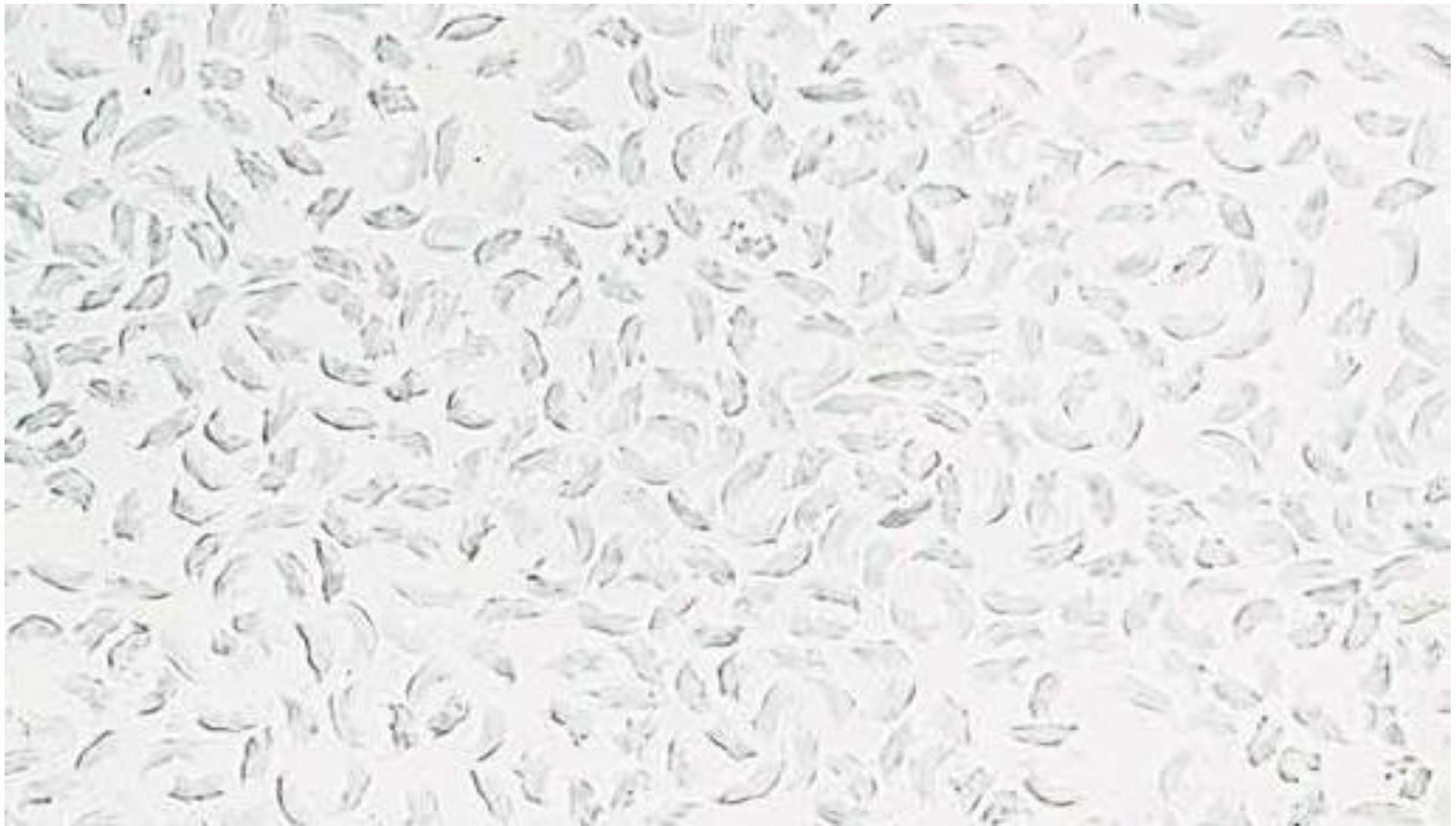
Sickle cells(drepanocytes)

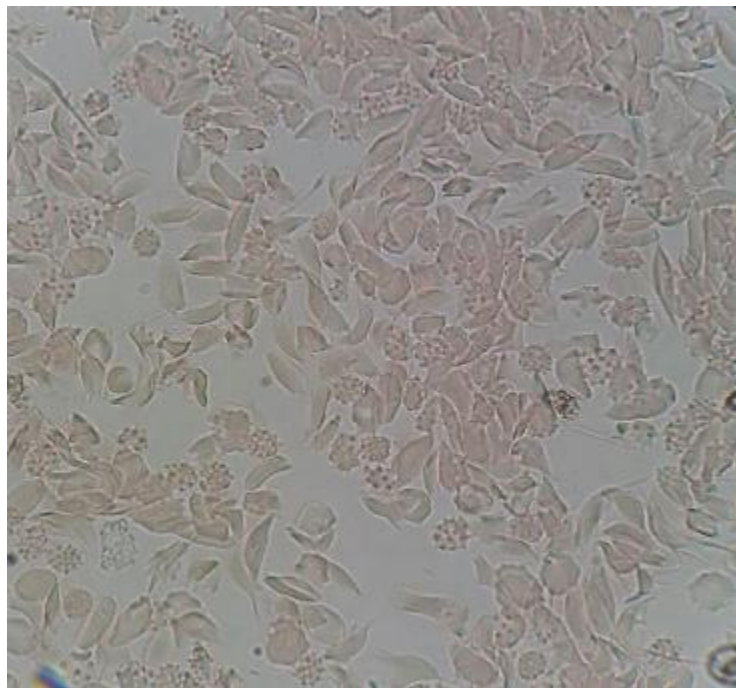
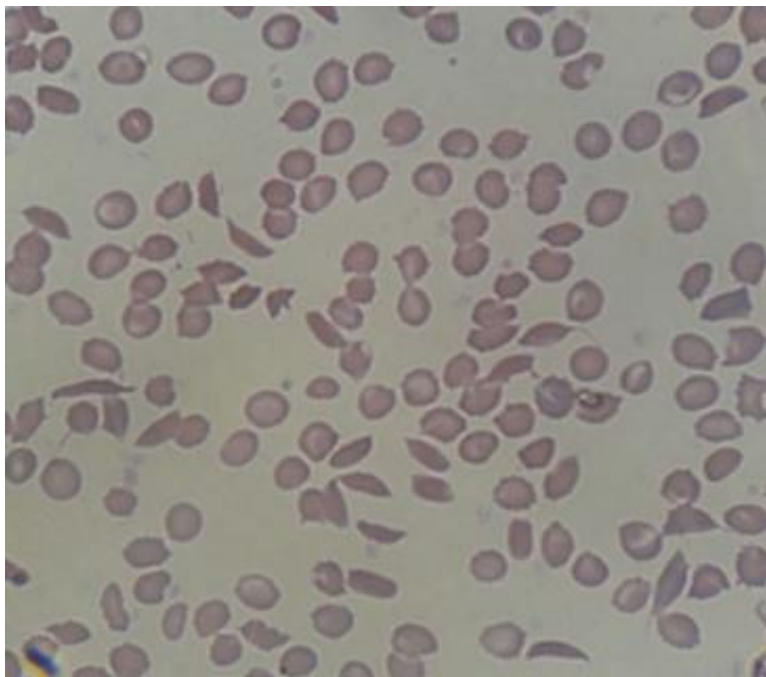
Sickle shaped erythrocytes occasionally form spontaneously, but sickling is consistently induced by oxygen withdrawal in the sickle cell test .

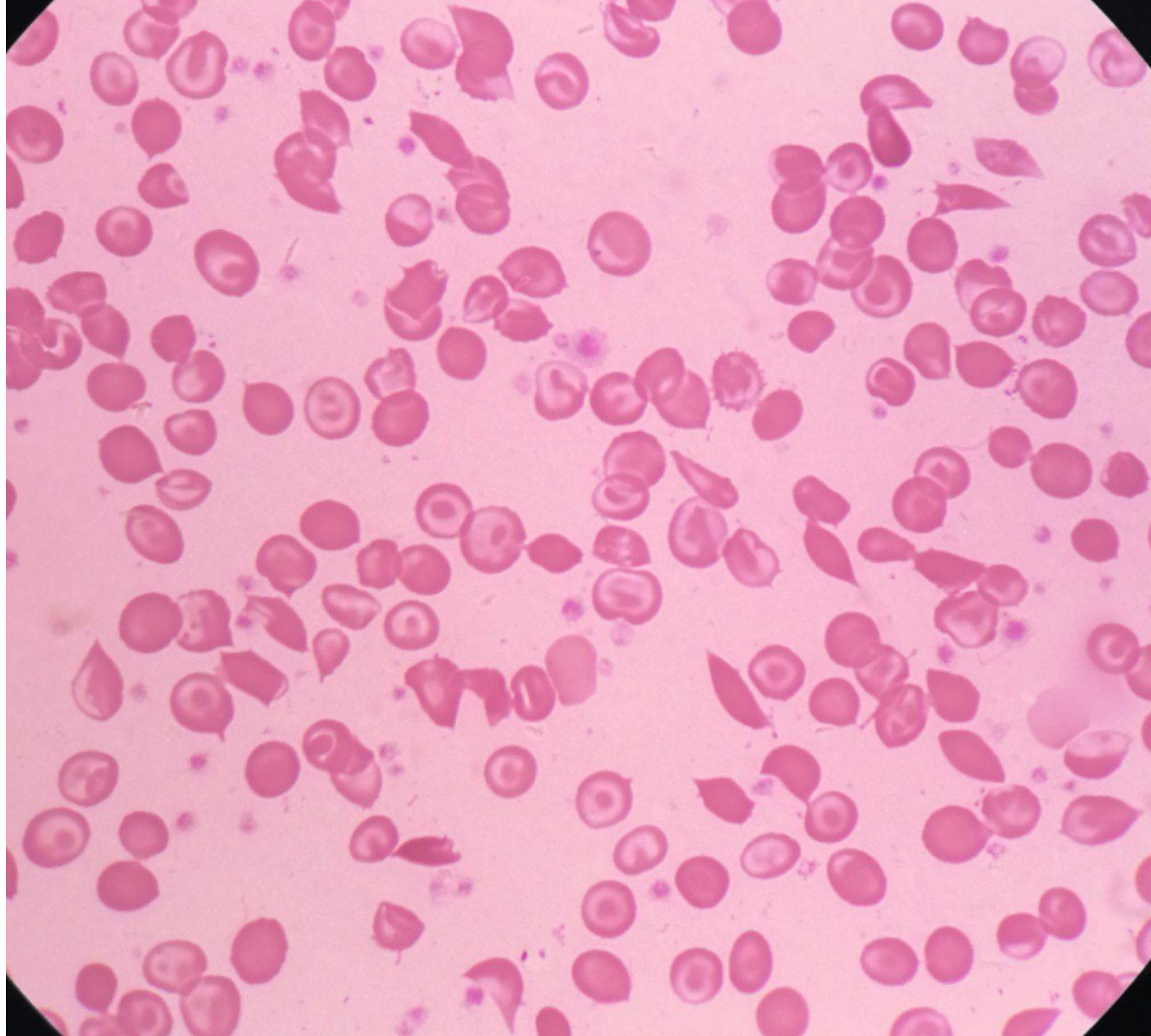
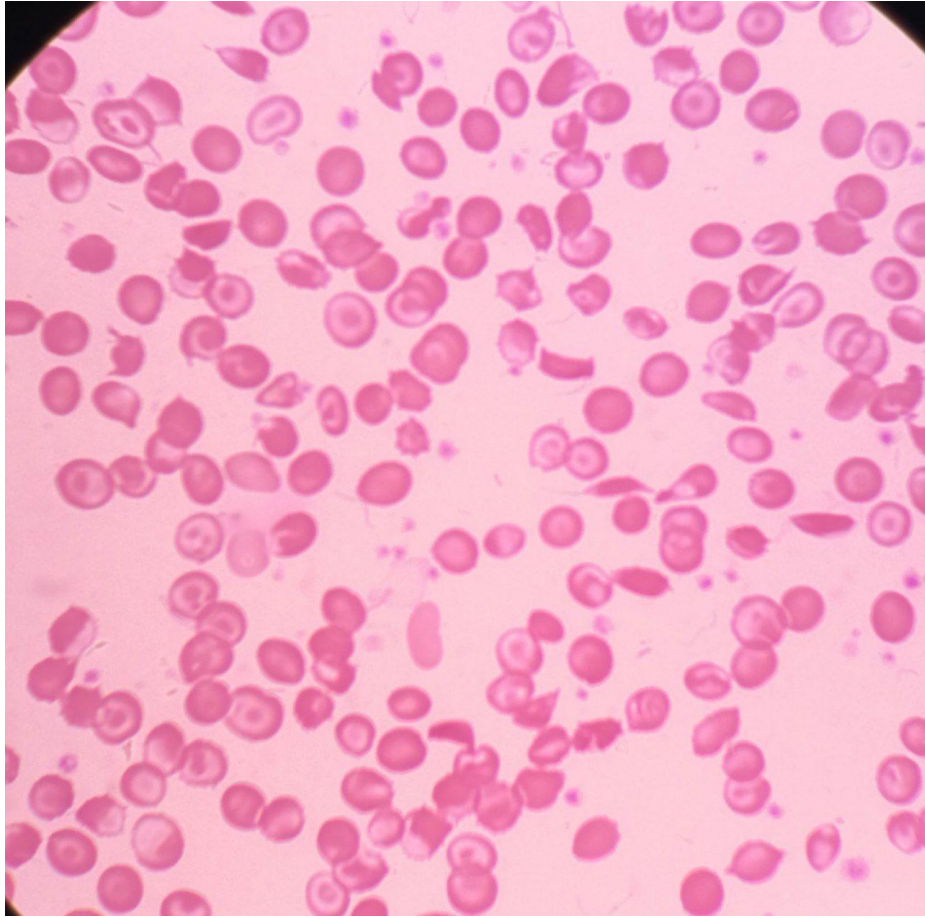
It signifies a common hemoglobinopathy, HbS disease (sickle cell anemia), which affects blacks almost exclusively.

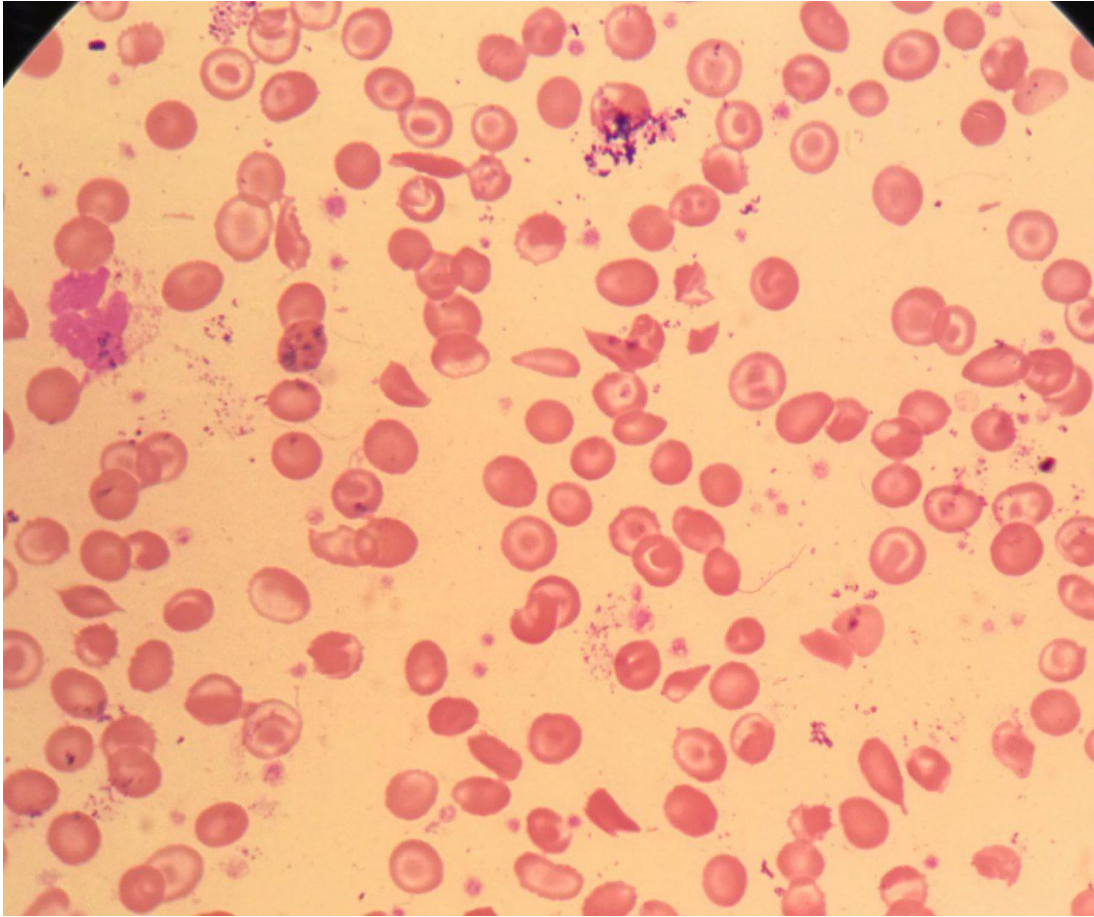
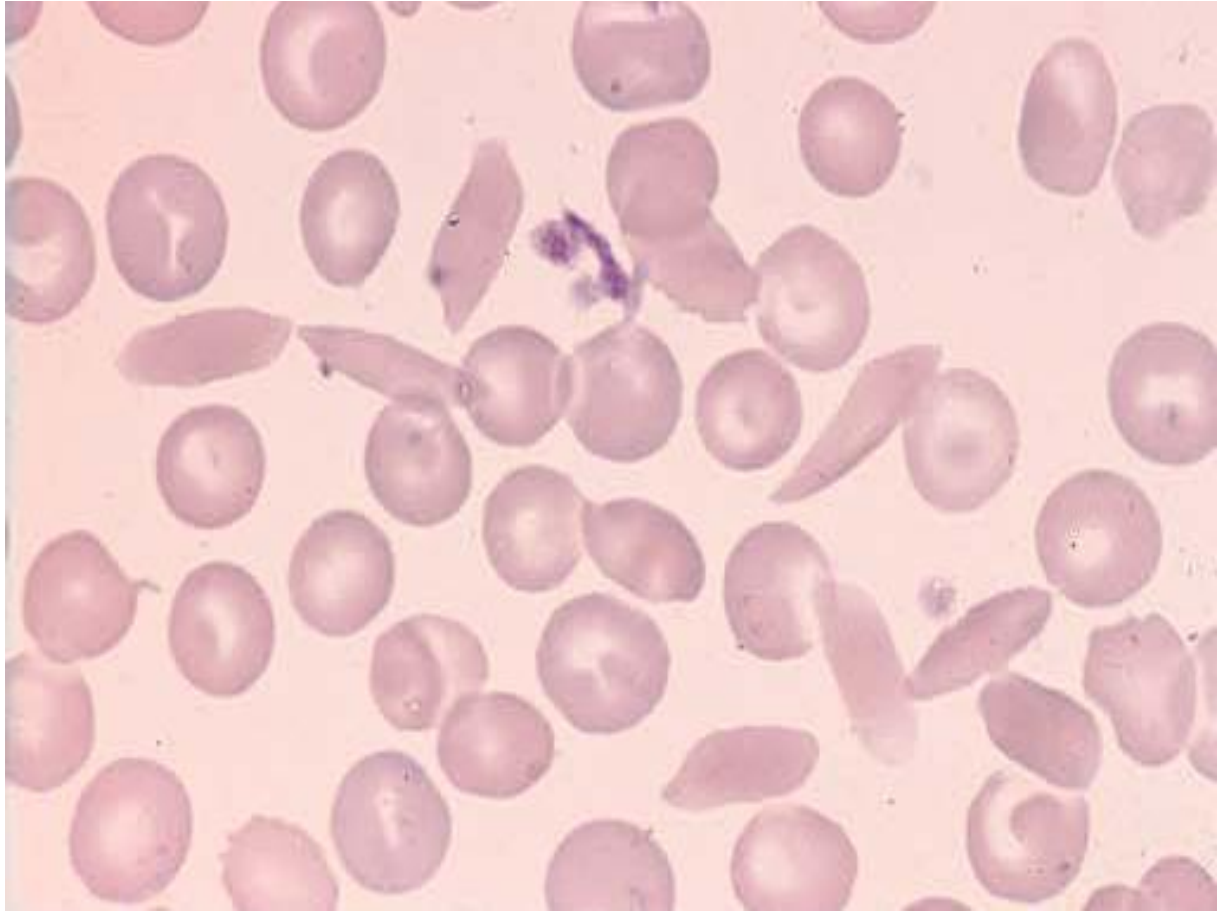
- Red cell sickling also occurs in the less common HbC disease**

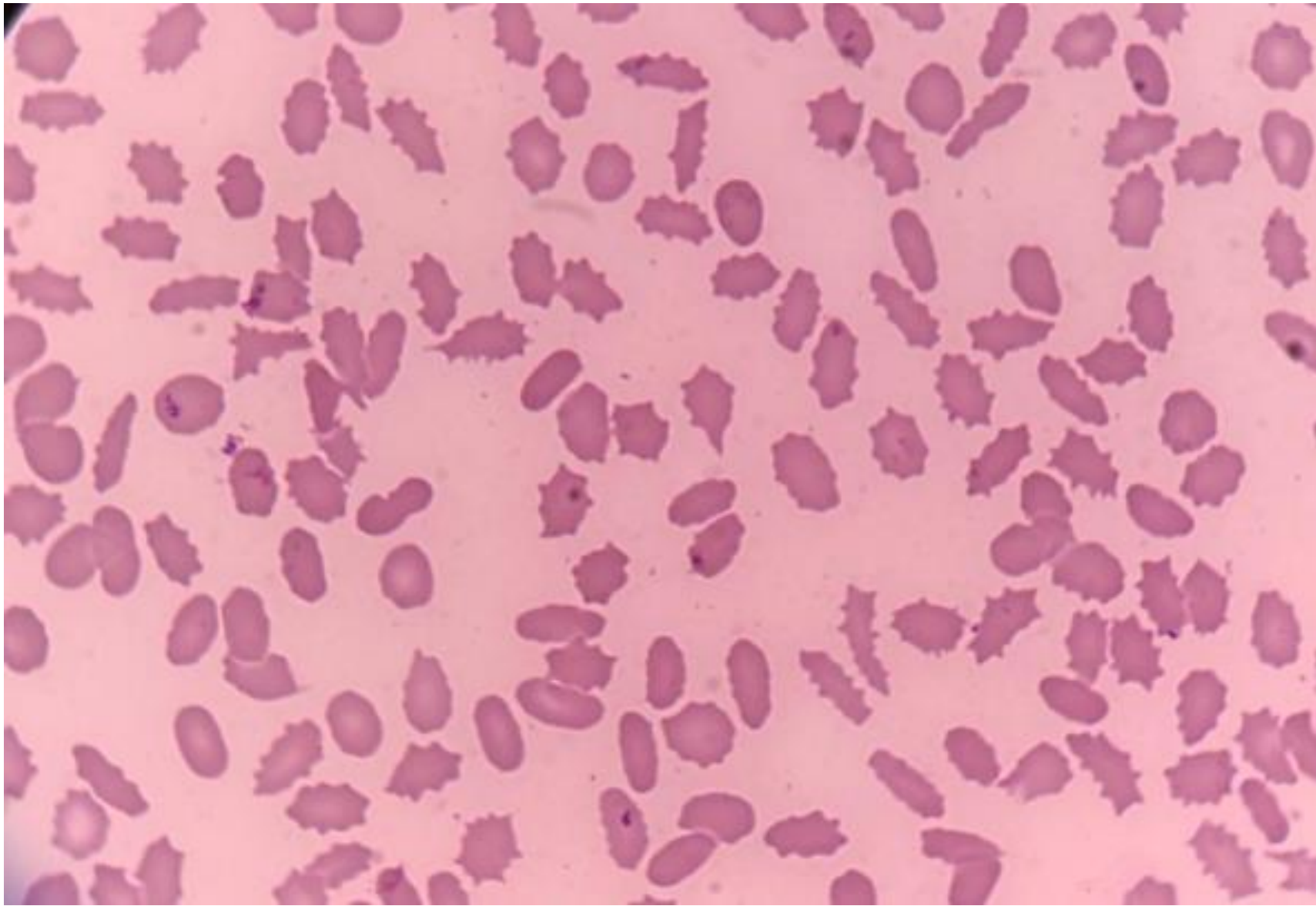
Sickling test with sodium metabisulfite in Hb S disease

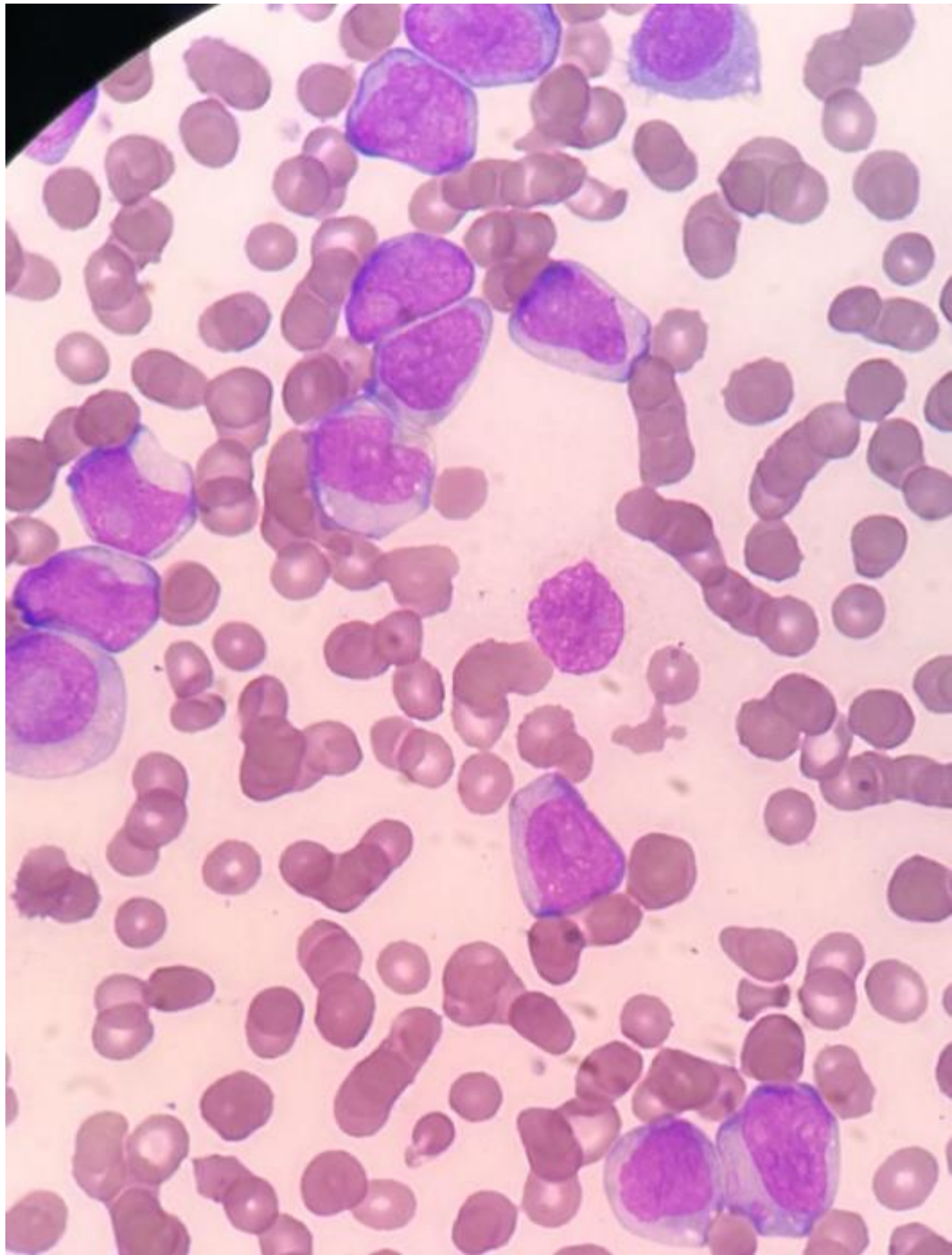






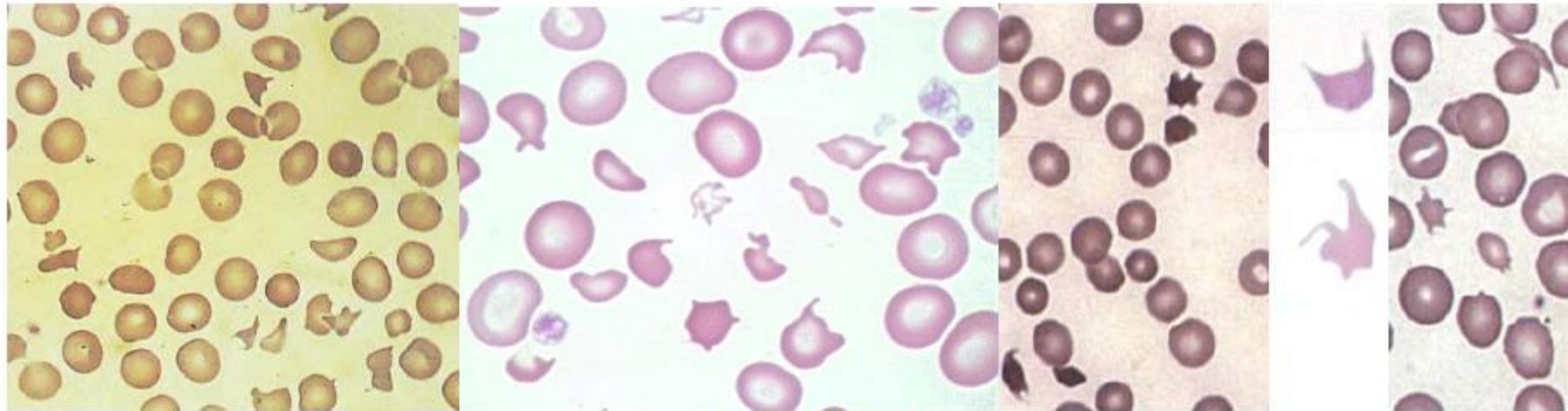






شیستوسیت‌ها یا تکه‌های سلولی (Schistocyte or Schizocyte):

شیستوسیت‌ها یا شیزوسیت‌ها^۱ تکه‌های بزرگ و کوچک از RBC هستند که می‌توانند به اشکال و دلایل مختلف در خون مشاهده شوند. این تکه‌های سلولی می‌توانند در ۳-۴ جهت کشیدگی داشته باشند و به اشکال مختلف مشاهده شوند. مشاهده شیستوسیت دلالت بر وجود همولیز در سوختگی‌های شدید، کارسینوماتوز، هموگلوبینوری ارتشیان (ناشی از رژه نظامی)، ورزش و دویدن طولانی، اختلالات دریچه قلبی یا نصب دریچه مصنوعی و آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک (مثل TTP, DIC, واسکولیت، گلومرولونفریت، رد پیوند کلیه و HUS) دارند. آنمی‌های همولیتیک میکروآنژیوپاتیک (MAHA) با اختلال در مویرگ‌های کوچک خونی یا با وجود فیبرین در رگ‌های خونی همراه است که منجر به تکه تکه شدن سلول‌ها در داخل رگ‌ها می‌شود. رشته‌های فیبرینی در رگ‌های خونی آسیب دیده ممکن است طوری قرار گرفته باشند که RBCها حین عبور از رگ با آنها برخورد کرده و در اثر فشار خون پشت سر خود به تکه‌های نامنظم و متعددی قطعه قطعه شوند. شیستوسیت‌ها می‌توانند به شکل کلاه‌خود (helmet cell)، پنجه مانند، نیمه دیسکوئید، شیپوری شکل (Horn Cell)، مثلثی شکل و غیره مشاهده شوند که این حالت باعث افزایش شدید RDW، آنیزوسیتوزیس و پوئیکیلوسیتوزیس می‌شود. اغلب شیستوسیت‌ها طی چند روز در طحال دچار پاکسازی شده و از خون حذف می‌شوند ولی برخی می‌توانند تا روزها در خون حضور داشته باشند. لازم به ذکر است که گاهی مواقع شیستوسیت‌ها شبیه آکانتوسیت‌ها دیده می‌شوند که آنیزوسیتوزیس شدید و اشکال متنوع می‌تواند در تفکیک این دو سلول از یکدیگر مفید باشد.



شکل ۲۹-۷: انواع مختلف شیستوسیت.

شیستوسیتوز

مورفولوژی فرعی

حرارت و سوختگی

PMF

آنمی مگالوبلاستیک

تالاسمی

HPP

ممبرانوپاتی

CDA

MDS

Severe IDA & SA

مورفولوژی اصلی

TTP

HUS

HELLP

DIC

Post Transplantation

دریچه قلب

رژه و فعالیت شدید

واسکولیت

فشار خون بدخیم و افزایش توربولانس و استرس شار

متاستاز

دیالیز

انواع شistosیت

بایت سیتوئید

کراتوسیت

شبیه بایت سل ولی
دارای زواید انتهایی گرد
و ندرتا تیز و کلف تر از
درپانوسیت

درپانوسیتوئید

هلمت سل

نیم دایره با یک یا ندرتا
یک سطح صاف

اسفروسیتوئید

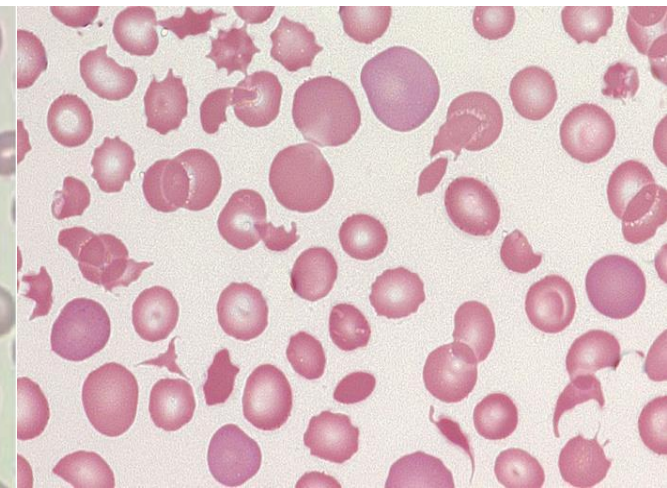
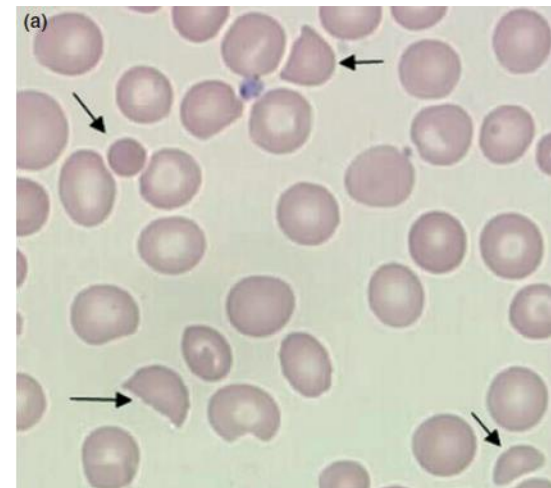
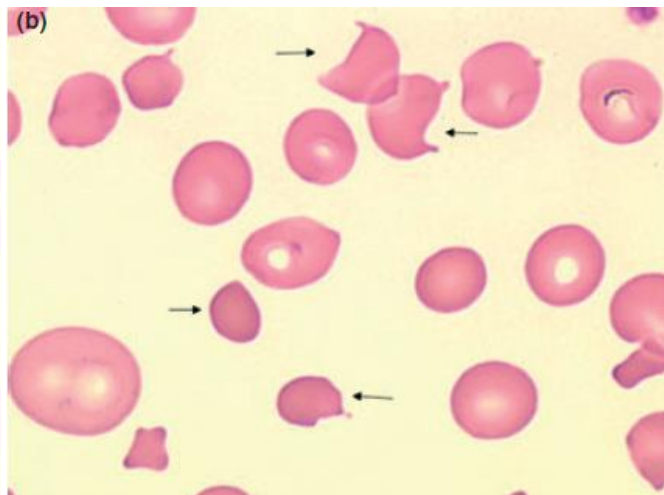
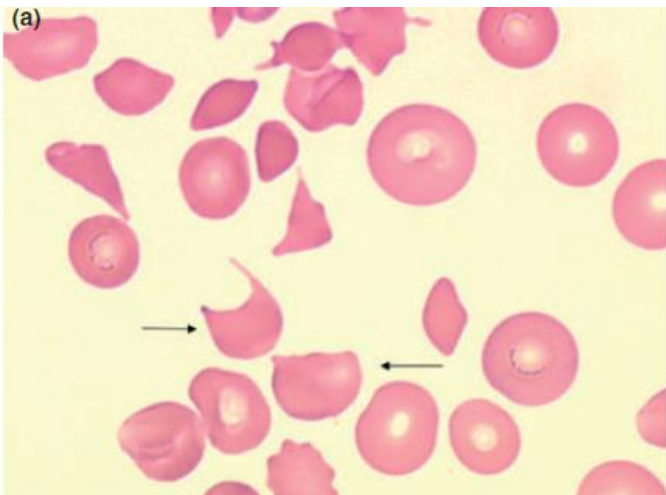
میکرواسفروسیت

شبیه اسفروسیت و ICC
ولی کوچک و پررنگ

آکانتوسیتوئید

شistosیت کلاسیک

چندضلعی و مژرس و بدون
ناحیه پیل و بدون هیپرکرومیا
و



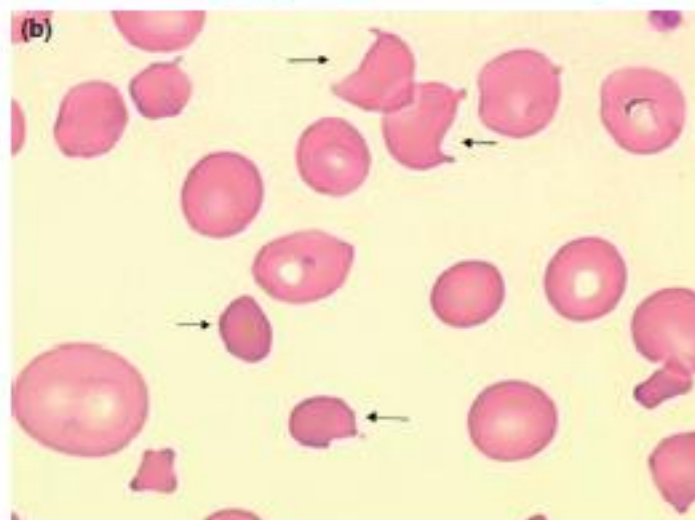
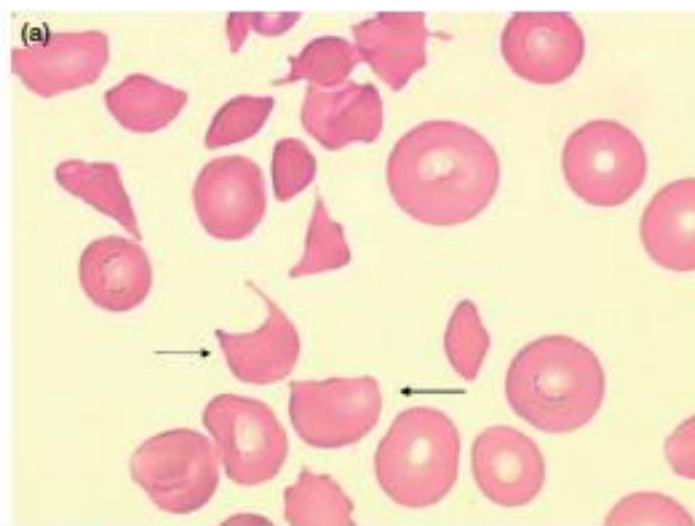


Figure 3. Peripheral blood smear from a case of post-transplant thrombotic microangiopathic anemia. (a) a keratocyte (left arrow), a helmet cell (right arrow), and several hyperchromatic triangular erythrocytes are present; (b) two keratocytes (upper arrow) and two deformed microspherocytes (lower arrow) are present, together with more bizarre red cell fragments.

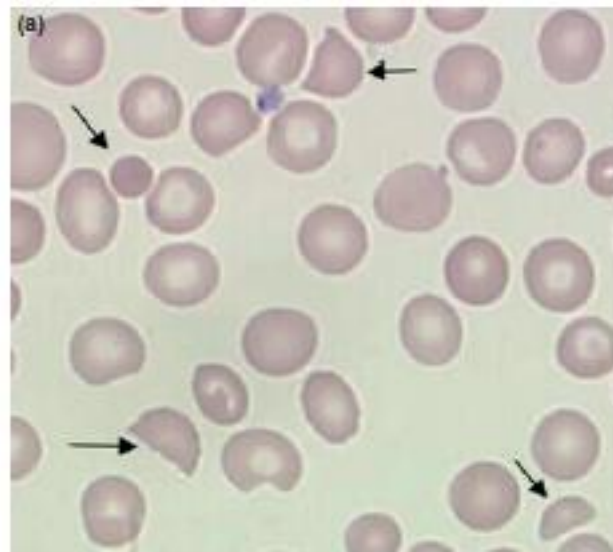


Figure 2. Peripheral blood smear from a case of thrombotic thrombocytopenic purpura. (a) arrows indicate a helmet cells (lower left), a microspherocyte (upper left), a keratocyte (center top), and a microcrescent (lower right angle); (b) morphological abnormalities include microspherocytes, keratocytes, helmet cell, and several crescent and triangular schistocytes.

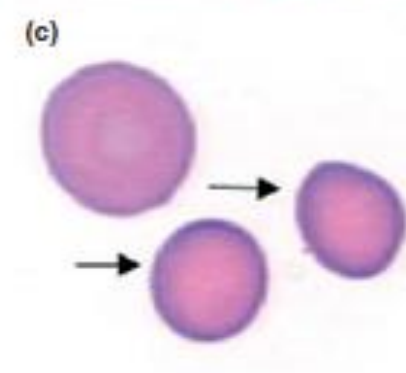
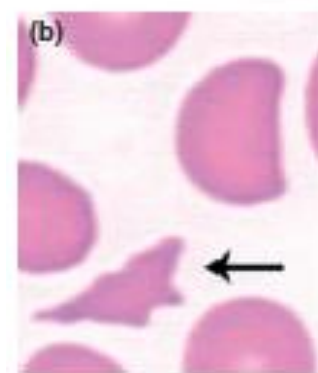
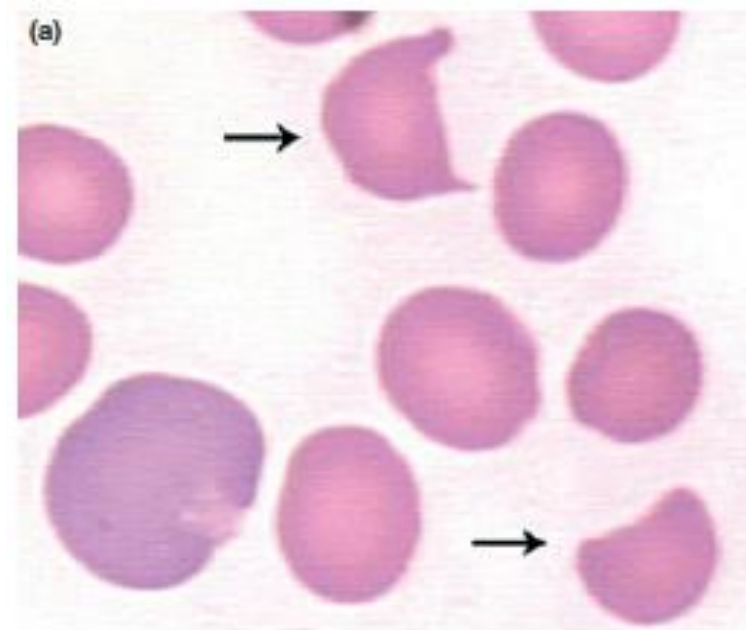


Figure 1. Typical shapes for specific identification of schistocytes. (a) keratocyte (upper arrow) and helmet cell (lower arrow), close to a polychromatophilic erythrocyte in the left lower corner; (b) a triangle schistocyte (arrow) with a helmet cell on the upper right; (c) two microspherocytes (arrows); they are derived, in a context of thrombotic microangiopathic anemia, from schistocytes.

شیستوسیتوز باید ابتدا شناسایی دقیق و افتراقی شود (انواع ۴ گانه)
شیستوسیت با پلیستر سل، ICC، اکینوسیت، آکانتوسیت، درپانوسیت، بایت سل، قطره اشکی،
اسفروسیت، میکرووزیکول، پوئیکیلوسیت‌های کوچک فرق دارد.
شیستوسیت در انتهای لام میل به صاف و کروی شدن دارد.
شیستوشیستوز باید در ۱۰۰۰ سلول و با حداقل دو عدسی ۴۰ و ۱۰۰ صورت بگیرد.
هرچه درصد شیستوسیت کمتر باشد، RBC بیشتری بررسی شود و بالعکس
شیستوسیتوز باید مورفولوژی غالب گستره باشد تا به MAHA و THA مشکوک شد.
شیستوسیتوز باید از رنج نرمال بالاتر باشد.
شیستوسیتوز باید توسط دستگاه هم تایید شود (FRC) و هیستوگرام RBC و PLT و RDW و PDW و
PLT-O و MPV و MCV آن را تایید کنند.
هرچه MCV بیمار بالا باشد، تخمین FRC و تداخلات شیستوسیت به دلیل افزایش سایز شیستوسیتها
کمتر میشود.
موارد نادری از MAHA به دلیل استحکام RBC (مثل SAO) و آنمی مگالو هرگز با شیستوسیتوز همراه
نمیشوند یا با تاخیر همراه میشوند.

Table 2. Confidence limits of an observed percentage of schistocytes when the total number of events varies from 1000 to 10 000 (adapted from Rümke, 1979)

Schistocytes (%)	100 RBC	1000 RBC	10 000 RBC
0	0.0–3.6	0.0–0.4	0.0–0.1
1	0.0–5.4	0.5–1.8	0.8–1.3
2	0.2–7.0	1.2–3.1	1.7–2.3
3	0.6–8.5	2.2–4.3	2.6–3.4
4	1.1–9.9	2.9–5.4	3.6–4.5
5	1.6–11.3	3.7–6.5	4.5–5.5
6	2.2–12.6	4.6–7.7	5.5–6.5
7	2.9–13.9	5.5–8.8	6.5–7.6
8	3.5–15.2	6.4–9.9	7.4–8.6
9	4.2–16.4	7.3–10.9	8.4–9.6
10	4.9–17.6	8.2–12.0	9.4–10.7
15	8.6–23.5	12.8–17.4	14.3–15.8

RBC, red blood cells.

فرد بالغ 0.2 نوزاد ترم: 1.4-1.9 نوزاد پره ترم: 4.9-5.5	نرمال
نارسایی کلیه: 0.6% پره اکلامپسی : 0.45% دریچه مصنوعی خوب: 0.48 % بعد پیوند: 4% MAHA: 1.1-9.4%	غیرنرمال

Table 1. International Council for Standardization in Haematology recommendations for schistocyte counting

1. Schistocytes should be evaluated on peripheral blood smears using an optical microscope at medium magnification and estimated as a percentage after counting at least 1000 red blood cells
2. A schistocyte count should be requested and carried out when a diagnosis of thrombotic microangiopathies caused by red cell mechanical damage is suspected, usually in patients with thrombocytopenia
3. Schistocytes should be identified by specific positive morphological criteria. Schistocytes are always smaller than intact red cells and can have the shape of fragments with sharp angles and straight borders, small crescents, helmet cells, keratocytes, or microspherocytes*
4. A schistocyte count should be considered clinically meaningful if schistocytes represent the main morphological red blood cells abnormality in the smear (other than signs of erythropoietic regeneration)
5. A robust morphological indication for the diagnosis of thrombotic microangiopathic anemia in adults should be recognized when the percentage of schistocytes is above 1%
6. Fragmented red cell enumeration by automated blood cell counters should be considered a useful complement to microscopic evaluation, as it provides rapid results with a high predictive value of negative samples. A microscope check is needed for positive and macrocytic samples†

*Microspherocytes only in the presence of other mentioned RBC shapes.

†Macrocytic samples are at risk of underestimation or absence of flag ('false-negative' test).

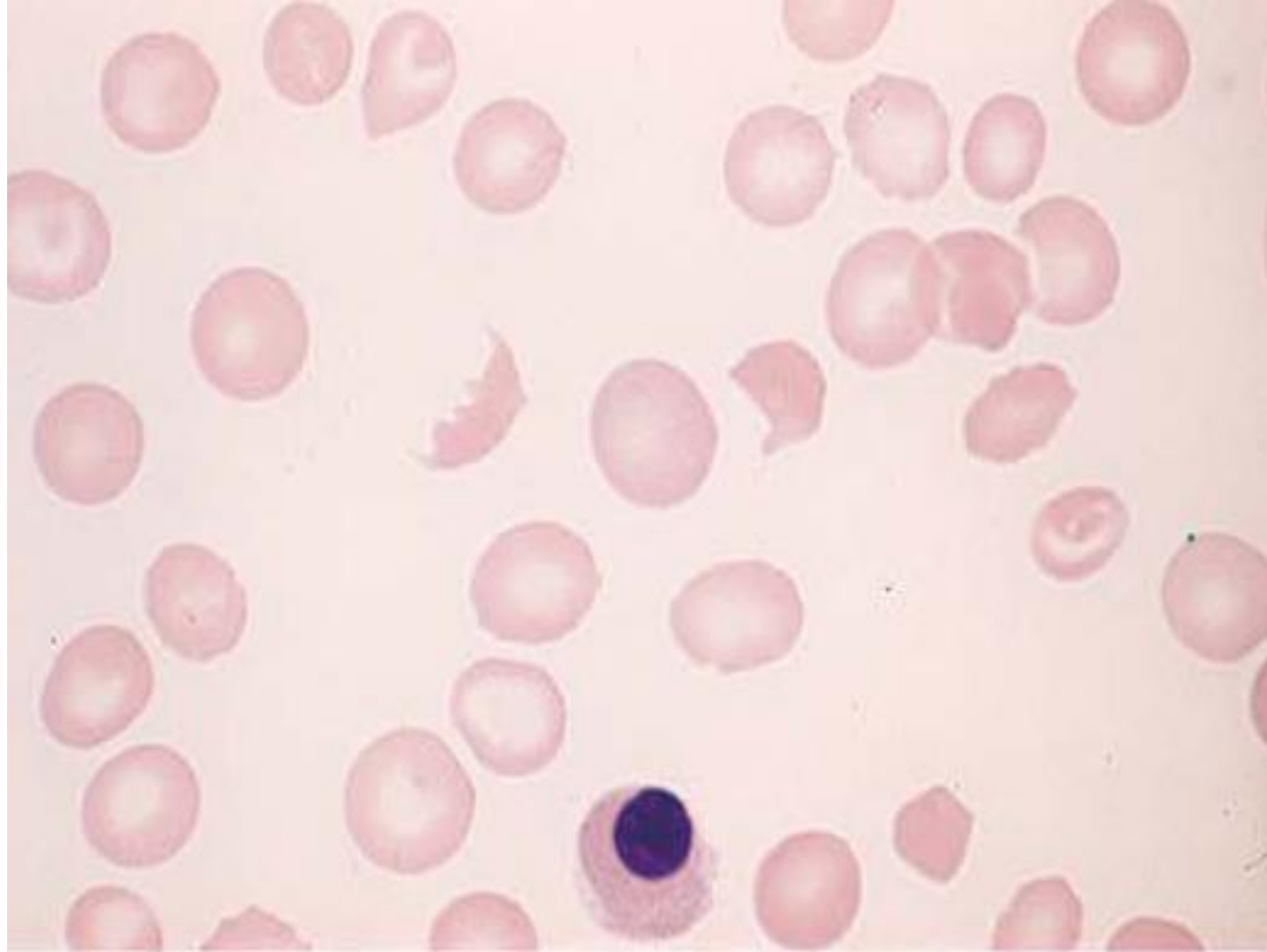
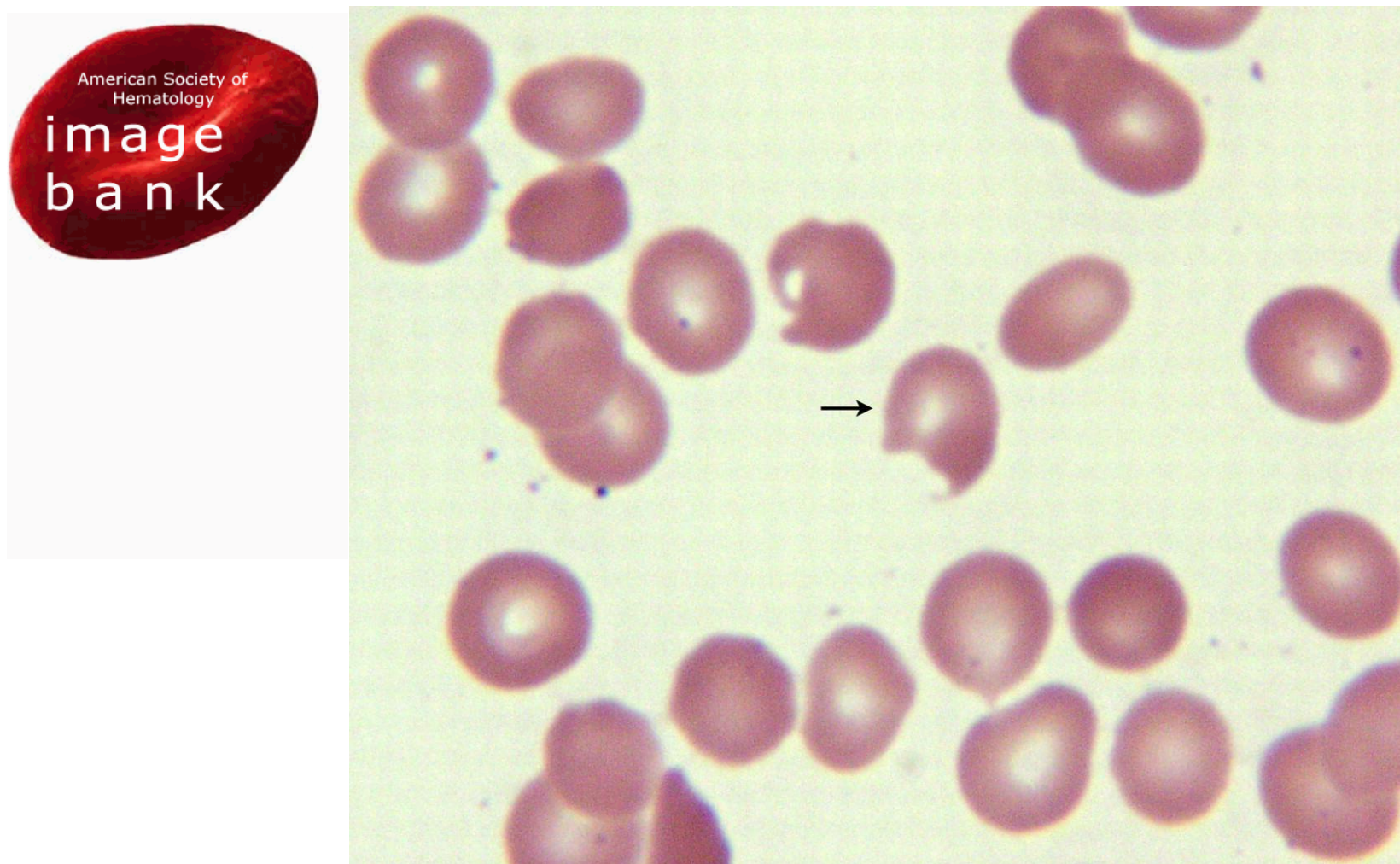


Figure 1. The RBC deformity (arrow) shown in this image is referred to as a "bite" cell



Lazarchick, J. ASH Image Bank 2008;2008:8-00151

Schistocytes

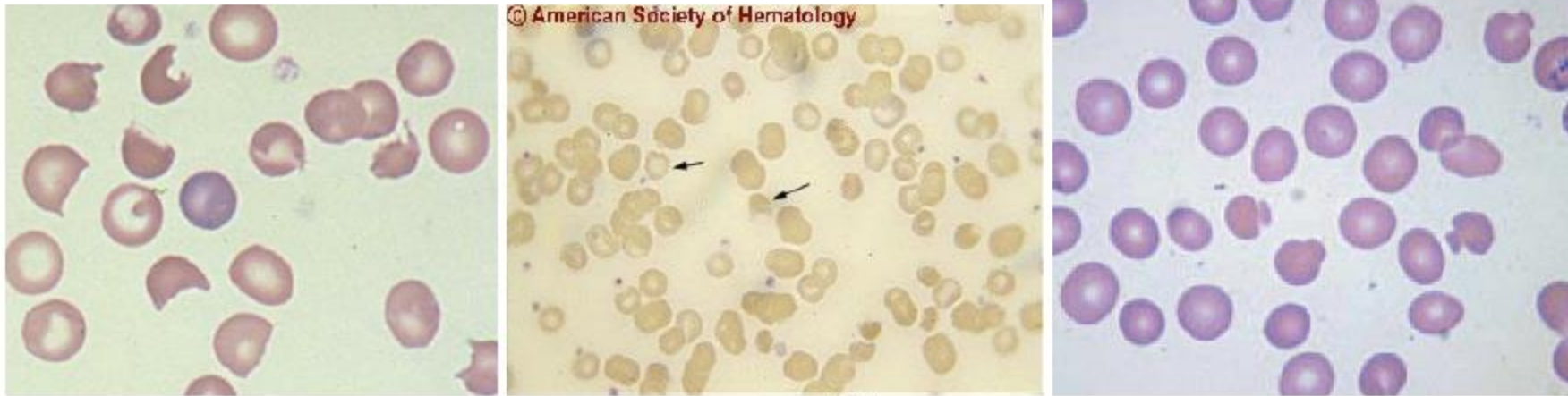


Schizocytes (fragmentocytes)

- Schizocytes (fragmentocytes) result from the fragmentation of erythrocytes, consisting
- either of a fragmented red cell or a fragment
- detached from such a cell.
- They resemble bits of broken egg shell. They may be caused by **increased mechanical hemolysis (turbulence from artificial heart valves)** or by **increased intravascular coagulation (e.g., in hemolytic uremic syndrome)** as fast-flowing red cells are sliced apart by fibrin filaments

سلول قارچی شکل و سلول‌های بایت سل (Bite Cell):

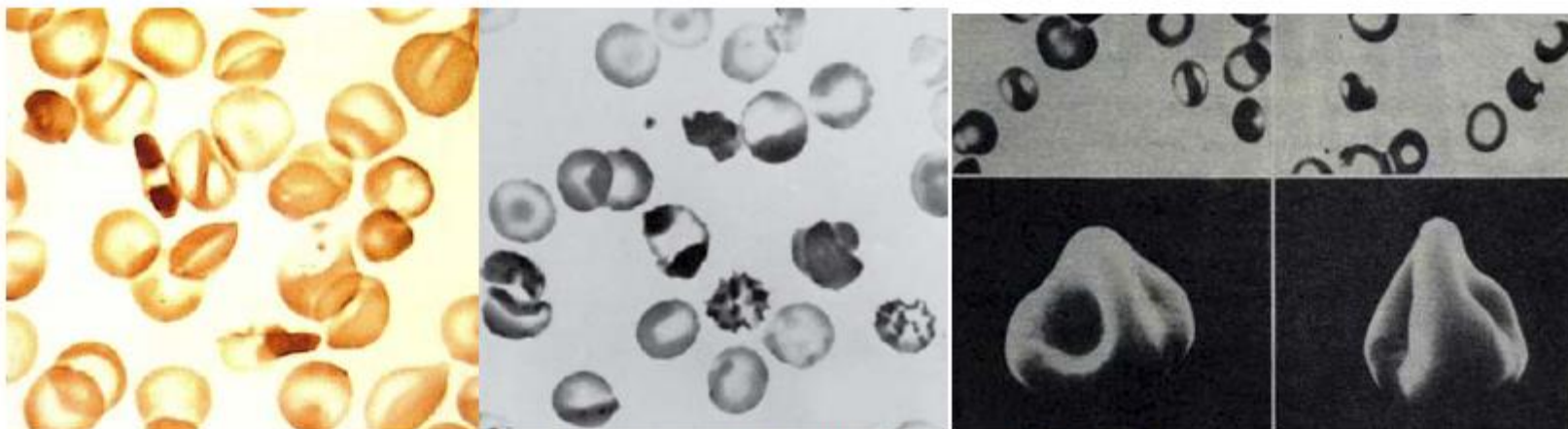
مورفولوژی سلول‌های قارچی شکل^۱ ناشی از جهش یا حذف در ژن سازنده پروتئین باند III بوده و معمولاً در همراهی با اسفروسیتوز ارثی و اوالوسیتوزیس آسیای جنوب شرقی (SAO) دیده می‌شود. در این سلول پلی‌مریزاسیون و تجمع پروتئین‌های باند III در یک ناحیه از غشاء، باعث ایجاد یک برجستگی مربع یا مثلث شکل در یک قسمت از اسفروسیت‌ها می‌شود که در کل به آن منظره قارچ خوراکی را می‌دهد. برعکس این زائده، سلول‌های بایت سل یا سلول‌های گزیده شده‌ای نیز وجود دارند که اغلب در اثر عمل Pitting ماکروفاژهای طحالی تشکیل می‌شوند. بایت سل‌ها در آنمی‌های همولیتیک ناشی از هاینز بادی (مثل کمبود G6PD یا هموگلوبین ناپایدار) و در آنمی‌های همولیتیک اتوایمیون قابل مشاهده هستند. در RBCهای این بیماران وجود هاینز بادی‌های بزرگ و متعدد در یک سمت از غشاء باعث تحریک ماکروفاژهای موجود در سیستم RES برای گزیدن آنها می‌کند، در نتیجه pitting یا گزش یک سمت از غشاء، RBC همانند یک سیب گاز زده شده مشاهده می‌شود که طی گردش‌های بعدی در طحال یا کبد، به‌طور کلی از بین می‌رود ولی گاهی مواقع نیز در خون محیطی بیماران مذکور مشاهده می‌شود. مجاورت فرد با داروهایی مثل داپسون، سولفاسالازین، ضد عفونی کننده‌های مجاری ادراری (مثل فنازوپیریدین) می‌تواند باعث ایجاد بایت سل در افراد مستعد شوند. بایت سل‌ها را نوعی کراتوسیت اولیه نیز می‌توان در نظر گرفته شوند.



شکل ۳۰-۷: تصویر PBS از سلول‌های قارچ شکل و بایت سل

نیزوسیت (Knizocyte) یا زروسیت یا پینچ سل (Pinch Cell):

نیزوسیت‌ها سلول‌های گلدانی شکل و دارای گردن هستند که علاوه بر زروسیتوز ارثی در همولیزهای داخل عروقی و آنمی داسی شکل به همراه سایر اشکال غیرطبیعی مشاهده می‌شوند. به این سلول، **سلول پینچ** یا **بشکون گرفته**، **زروسیت**^۲ و **دسیسوسیت**^۲ نیز گفته می‌شود. در این سلول‌ها برخلاف استوماتوسیت‌ها (هیدروسیت‌ها)^۴ میزان آب داخل سلولی RBC به دلیل افزایش شدید پتاسیم کاهش نشان می‌دهد، از این رو میزان اوسموتیک فراژیلیتی آنها بطور محسوسی کاهش پیدا می‌کند. در یک **RBC نرمال** مقدار سدیم $12-15$ mEq، مقدار پتاسیم $103-90$ mEq، مجموع $N+K$ حدود $110-95$ mEq، مقدار MCV حدود $80-90$ fl و مقدار MCHC حدود 33 mg/dl است، حال آنکه این ارقام در **استوماتوسیت** (هیدروسیت) به صورت: مقدار سدیم $100-60$ mEq (افزایش شدید)، مقدار پتاسیم $55-20$ mEq (کاهش شدید)، مجموع $N+K$ حدود $140-110$ mEq (افزایش)، مقدار MCV حدود $150-110$ fl (ماکروسیتیک) و مقدار MCHC حدود $29-24$ mg/dl (هیپوکروم) و در زروسیت (دسیسوسیت) به صورت: مقدار سدیم $20-10$ mEq (افزایش خفیف)، مقدار پتاسیم $80-60$ mEq (کاهش متوسط)، مجموع $N+K$ حدود $90-75$ mEq (کاهش متوسط)، مقدار MCV حدود $110-100$ fl (ماکروسیتیک) و مقدار MCHC حدود $38-34$ mg/dl (هیپروکروم) می‌باشد. پس در کل استوماتوسیت‌ها ماکروسیتیک-هیپوکروم با OFT افزایش یافته و زروسیت‌ها، ماکروسیتیک-هیپروکروم با OFT کاهش یافته هستند. لذا استوماتوسیت‌ها باعث همولیز شدید و زروسیت‌ها باعث همولیز متوسط می‌شوند. توارث هر دو اتوزومال غالب بوده ولی استوماتوسیتوز ارثی به اسپلنکتومی پاسخ مناسب داده ولی میزان پاسخ زروسیتوز ارثی ناچیز می‌باشد. لازم به ذکر است، سلولهای حد واسطی بنام استوماتوسیتیک زروسیتوز نیز وجود دارند که خصوصیات آنها در جدول زیر نشان داده شده است.



شکل ۳۱-۷: سلول‌های دهیدراته و گلدانی شکل نیزوسیت (زروسیت یا دسیسوسیت)

جدول ۵-۷: خصوصیات، شباهت‌ها و اختلافات بین استوماتوسیت (هیدروسیت) و زروسیت (نیزوسیت)

	Stomatocytosis (Hydrocytosis)	Stomatocytic Xerocytosis	Xerocytosis
Hemolysis	Severe	Mild	Moderate
Anemia	Severe	None	Moderate
Blood film	Stomatocytes	Stomatocytes	Targets, echinocytes
MCV (80–100 fl) ^a	110–150	91–98	100–110
MCHC (32–36%)	24–30	33–39	34–38
Unincubated osmotic fragility	Markedly increased	Decreased	Markedly decreased
RBC Na ⁺ (5–12) ^b	60–100	10–20	10–20
RBC K ⁺ (90–103)	20–55	75–85	60–80
RBC Na ⁺ +K ⁺ (95–110)	110–140	87–103	75–90
Phosphatidylcholine content	Normal	Normal	Normal
Cold autohemolysis	No	No	?
Effect of splenectomy ^c	Good	?	? Poor
Inheritance	Autosomal dominant?, autosomal recessive	Autosomal dominant	Autosomal dominant

^aValues in parentheses are the normal range.

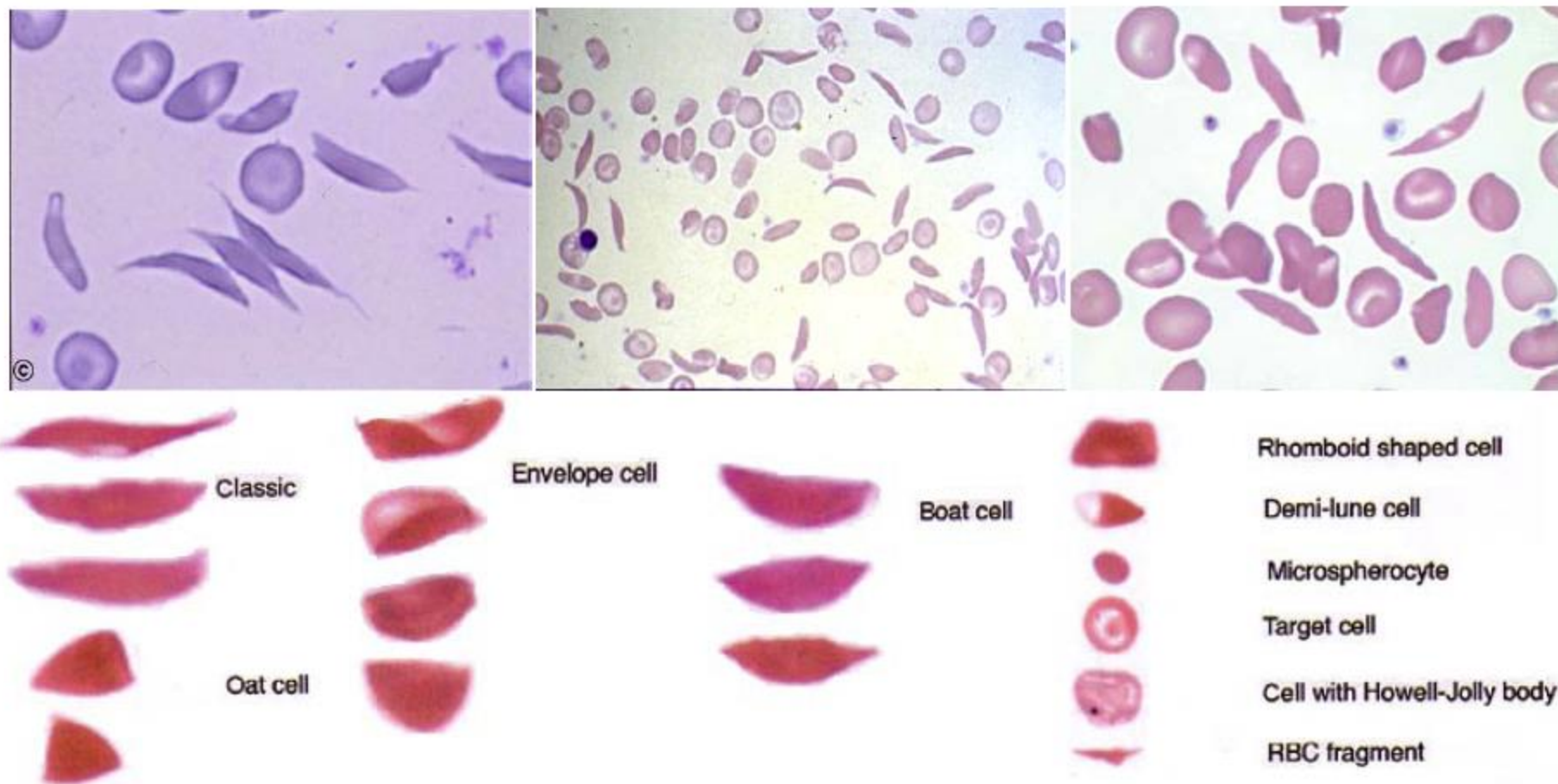
^bValues for sodium, potassium, and sodium + potassium are mEq per liter RBC.

^cSplenectomy may be contraindicated in these syndromes; see text for details.

می‌شوند که شکل سلول را در جهت پلیمریزاسیون خود تغییر داده و سلول را به شکل داسی یا اشکال حدواسط در می‌آورد. لازم به ذکر است که سلول‌های داسی تیپیک (درپانوسیت) عمدتاً در شرایط داکسیژناسیون مزمن، تدریجی و طولانی مدت تشکیل می‌شوند و در حملات شدید هیپوکسی، اغلب اشکال حدواسطی مثل هالی لیف، الیپتوسیت، سلول‌های مثلثی یا قایقی شکل به وجود می‌آیند. ساختارهای میله‌ای و داخل سلولی درپانوسیت‌ها به دلیل آسیب فیزیکی به غشاء اغلب باعث همولیز داخل عروقی نیز می‌شوند. همچنین به دلیل میل اتصال بالایی این سلول‌ها به یکدیگر و دیواره‌های اندوتلیومی، امکان انسداد عروقی و بروز انفارکتوس بافتی بسیار زیاد می‌شود که در فصل مربوط به آنمی سلول‌های داسی به تفصیل شرح داده شده است. سلول‌های داسی هنگامی که هنوز کاملاً به فرم برگشت ناپذیر تبدیل نشده‌اند، در هر بار اکسیژناسیون می‌توانند مجدداً دیسکوسیت شده و به فرم طبیعی تبدیل شوند ولی اغلب طی این مرحله، مقداری از هموگلوبین و غشاء خود را نیز طی میکرواسفرولاسیون و تکه تکه شدن از دست داده و حتی میکروهاینژبادی‌هایی را نیز در سطح داخلی غشاء خود بوجود می‌آورند که طی پیتینگ طحالی از سلول حذف شده و باعث سختی سلول می‌شوند که این مسئله، داسی شدن سلول در مراحل بعد را تشدید می‌کند. در هر بار داسی شدن اریتروسیت و بازگشت مجدد آن به شرایط اولیه، بین سیستئین‌های ۲۸۴ و ۳۷۳ پروتئین β -اکتین غشایی پیوند دی‌سولفیدی ایجاد شده و در نهایت سلول به صورت غیرقابل برگشت (حتی در شرایط اکسیژنه) داسی می‌شود. سلول‌های داسی به دلیل آسیب غشایی و افزایش نشت کاتیونی دچار کاهش پتاسیم و سدیم داخل سلولی شده و همچنین به دلیل ساختارهای سخت داخل خود، دچار کاهش میزان دفرماسیون سلولی می‌شوند ولی با این وجود، به دلیل توانایی بازجذب مقادیر زیادی مایع می‌توانند شرایط هیپرتونیک را تحمل کنند و لذا شکنندگی اسمزی (OFT) آنها کاهش می‌یابد. سلول‌های درپانوسیت می‌توانند به شکل داسی، هلالی با دو انتهای نوک تیز (fusiform)، بیضی، قایقی، دوزنقه-ای (Rhomboid)، مثلثی (Triangular)، جو دوسر (Oat Cell)، برگ درخت راج (Holly Leaf) و به فرم کشیده و حتی زائیده‌دار (با خار چند میکرونی) باشند. خارها شکننده بوده و به راحتی می‌توانند از سلول جدا شوند.



شکل ۲۳-۷: تصویر PBS از سلول‌های داسی با منظره برگ درخت راج (Holly Leaf) و سلول‌های قایقی شکل (Boat Cell).

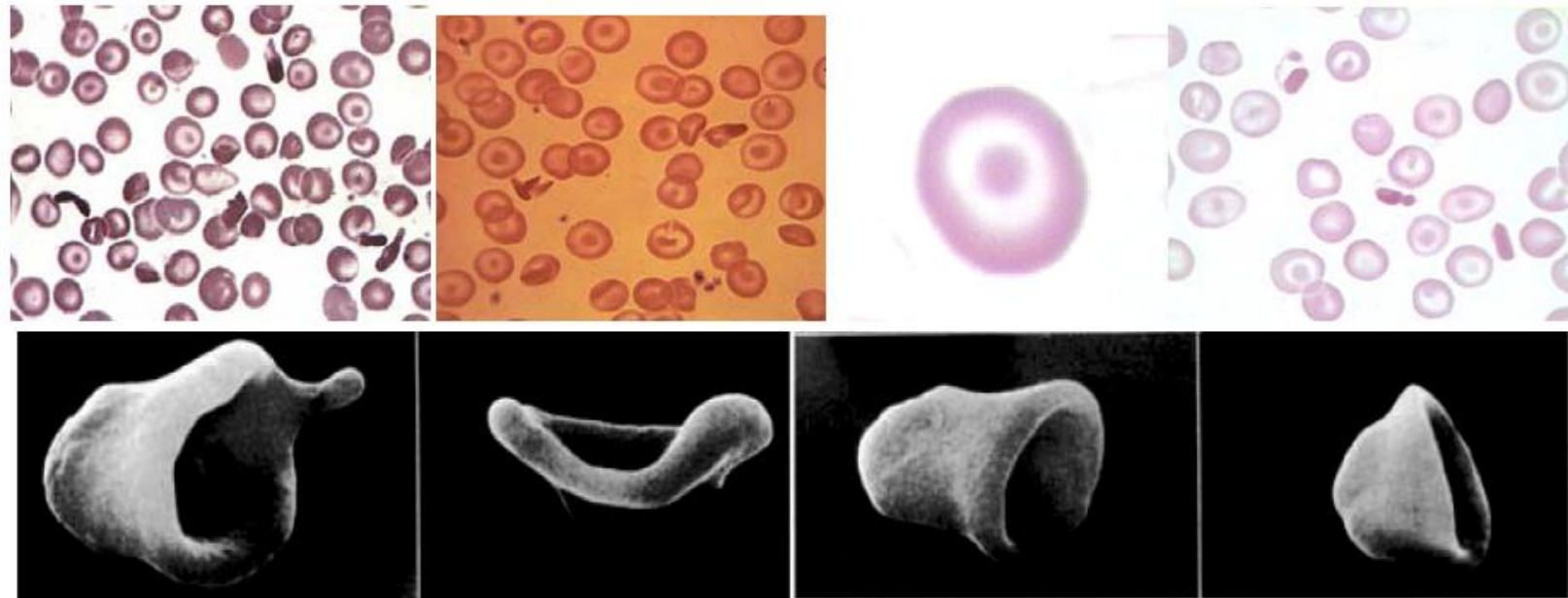


شکل ۳۴-۷: تصویر PBS و SEM از سلول داسی و طیف وسیعی از سلول‌های حدواسط آن.

بجز سلول‌های داسی شکل، مشاهده هاول جولی، شیتوسیت و تارگت سل نیز در این بیماری غیرمعمول نیست. سلول داسی در اختلالات سلول داسی (SS)، خصیصه S، SC، SD و تالاسمی (S/)، Hb-C harlem، هموگلوبین بارتز، Hb-C Georgetown و Hb-I_{Memphis}/S نیز قابل مشاهده است. در خون گاهی سلول‌های سلنوئیدی (Selenoid Body) نیز مشاهده می‌شود که شبیه هلال ماه و سلول‌های داسی شکل دیده می‌شوند ولی علت آن برخلاف SCA، اختلال هموگلوبینی نبوده و به دلیل تغییر در مقادیر لیپوپروتئین‌های پلاسما بوجود می‌آیند.

تارگت سل یا کودوسیت (سلول‌های هدف ، سیبل سل) (Codocyte or Target Cell or Bell Cell):

تارگت سل‌ها اریتروسیت‌هایی هستند با سطح غشایی افزایش یافته و شبیه سیبل تیراندازی یا چشم گاو (Bull's eye) که همانند لپتوسیت‌ها نازکتر از اندازه طبیعی بوده و هنگامی که فیکس و رنگ می‌شوند، یک لبه محیطی با یک ناحیه تیره مرکزی حاوی هموگلوبین را نشان می‌دهند. گاهی گفته می‌شود که لپتوسیت‌ها می‌توانند فرم نهایی تارگت سل‌ها باشند. در میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ (SEM)، تارگت سل‌ها بیشتر به شکل زنگوله دیده می‌شوند، از این رو به آن کودوسیت یا سلول زنگوله‌ای^۱ شکل نیز گفته می‌شود که فرم واقعی آن در خون محیطی می‌باشد. در حقیقت در تارگت سل‌ها به دلیل افزایش سیالیت غشاء یا کاهش هموگلوبین داخل آن و شل شدن سلول، حرکت یک طرفه جریان خون و فشار دائمی آن به ناحیه مقعرالطرفین اریتروسیت، باعث می‌شود تا یک سمت اریتروسیت فرورفتگی بیشتری پیدا کرده و در دراز مدت شبیه زنگوله یا کلاه شود که فرم اصلی تارگت سل در خون محیطی و لام مرطوب می‌باشد ولی هنگام تهیه گستره و هنگام نشستن آن بر سطح لام، ناحیه فرورفته مرکزی آن کمی بالا آمده و باعث پررنگ شدن وسط RBC می‌شود که از آن تحت عنوان سلول هدف یا کلاه مکزیکی یاد می‌شود. در واقع بر روی یک سطح صاف، کودوسیت تمایل دارد که تقعر عمیق خود را به شکل یک زائده یا برجستگی مرکزی که هموگلوبین در آن توزیع می‌شود، برگرداند که نهایتاً باعث مورفولوژی هدف شکل (تارگت سل) می‌شود. تارگت سل سلولی ماکروسیت-هیپوکروم محسوب می‌شود. در این سلول نسبت S/V افزایش داشته و لذا سلول به راحتی می‌تواند شرایط هیپوتونیک، کاهش فشار اسمزی محیط، ورود آب و تورم سلولی را تحمل کند، در نتیجه شکنندگی اسمزی آنها پایین بوده و در تست OFT همولیز تارگت سل‌ها در غلظت‌های نمکی بالاتری شروع می‌شود.



شکل ۳۵-۷: تصویر PBS و SEM از تارگت سل. در شکل‌های بالا تارگت سل در اثر بیماری هموگلوبین C ایجاد شده‌اند و کریستال‌های چندظلعی Hb-C نیز در گستره مشاهده می‌شوند.

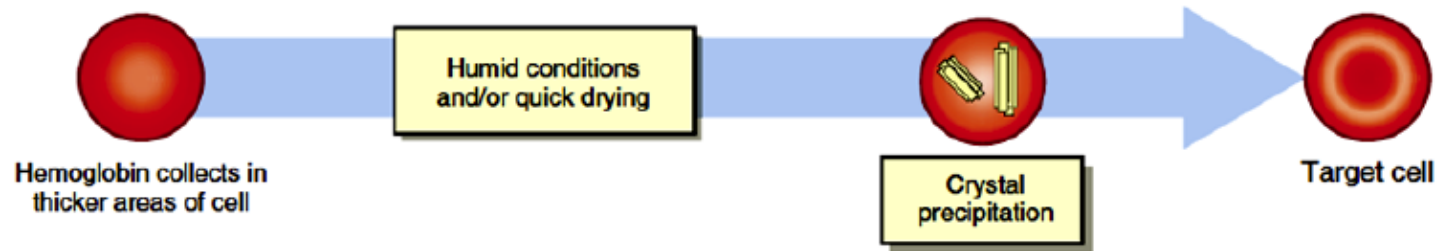
همان‌طوری که اشاره شد، علاوه بر افزایش سطح و سیالیت غشاء، کاهش مقدار هموگلوبین نیز می‌تواند باعث شل شدن اریتروسیت و مورفولوژی تارگت سل شود. در عین حال، تأخیر در خشک شدن لام، رطوبت بالای محیط و وجود کریستال‌های داخل اریتروسیتی نیز قادر هستند به طور آرتیفکت باعث تولید تارگت سل شوند. پس دلایل کلی بروز تارگت سل به ۳ دسته (۱) آرتیفکت، (۲) کاهش هموگلوبین و حجم سلول و (۳) افزایش سطح سلول تقسیم می‌شود. تارگت سل‌ها در بیماری‌های کبدی، پس از طحال‌برداری (اسپلنکتومی) که در آن پیتینگ غشاء اضافی رتیکولوسیت‌ها و حذف کلاسترول اضافی غشاء وجود ندارد، در آنمی‌های هیپوکروم (به خصوص تالاسمی و آنمی فقر آهن)، در آنمی سیدروبلاستیک، فیتواسترولمی ارثی و اکتسابی، هیپوبتالیوپروتئینی، در کاهش آنزیم LCAT (لستین کلاسترول اسیل ترانسفراز) و همچنین در هموگلوبینوپاتی‌هایی مثل هموگلوبین C، D، S، E، O_{Arab} و هتروزیگوت مرکب S/C نیز مشاهده می‌شوند. بیماری‌های کبدی از چندین نظر مهم هستند، کبد مرکز متابولیسم چربی بدن بوده و اختلالات آن باعث بهم خوردن نسبت لیپیدهای پلاسمایی و غشایی می‌شود، مثلاً در بیماری‌های نسج کبدی و تخریب هپاتوسیت‌ها علاوه بر اختلال در متابولیسم لیپیدها، سطح آنزیم LCAT کاهش پیدا می‌کند که همانند موارد ارثی کمبود LCAT، با افزایش نسبت کلاسترول آزاد غیراستریفیه به فسفولیپید، باعث افزایش سیالیت غشاء و بروز تارگت سل می‌شود، همچنین در یرقان انسدادی به دلیل عدم دفع صفراوی کلاسترول، سطح پلاسمایی آن در غشاء و پلازما افزایش یافته و با جذب کلاسترول استریفیه از پلازما به غشاء باعث ایجاد مورفولوژی تارگت سل می‌شود. بروز تارگت سل در هموگلوبینوپاتی‌ها به علت اشکال در ساختمان و توزیع داخل سلولی هموگلوبین بوده و ارتباطی با میزان کلاسترول غیراستریفیه غشاء و پلازما ندارد.

از بیماری‌هایی که با **تعداد بالای تارگت سل** همراه هستند می‌توان به یرقان انسدادی، نقص ارثی LCAT، هیپوبتالیوپروتئینی فامیلیال، بیماری Hb-C، آنمی سلول‌های داسی، بیماری Hb-SC، Hb-D، Hb-O و Hb-E، آنمی سیدروبلاستیک، فیتواسترولمی ارثی، فقر آهن، آنمی سیدروبلاستیک، هتروزیگوت مرکب S/C، هتروزیگوت Hb-S، Hb-Lepore، Hb-E، Hb-C، Hb-H، بیماری Hb-H، فقر آهن، آنمی سیدروبلاستیک، زروسیتوز ارثی، فقدان یا کاهش آلفا لیپوپروتئین‌های خون و افزایش ارثی یا اکتسابی فیتواسترول خون اشاره نمود.

How Target Cells Are Formed

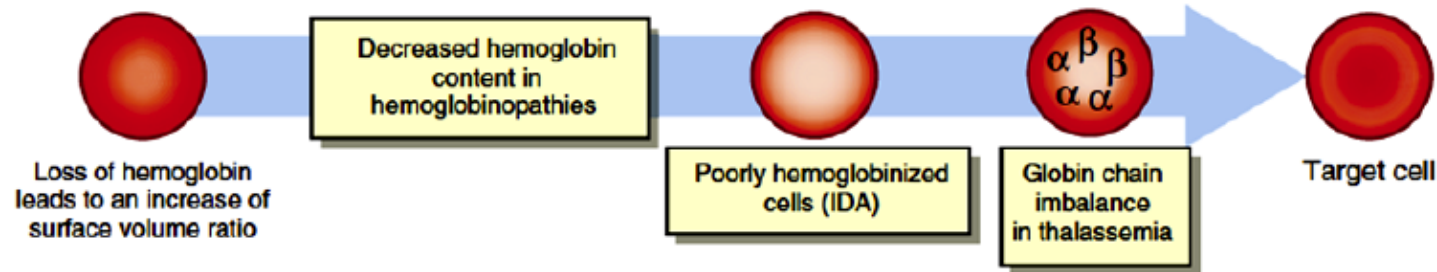
As a result of artifacts, air-drying and hemoglobin precipitation:

Examples: High humidity, slow drying, and hemoglobin C



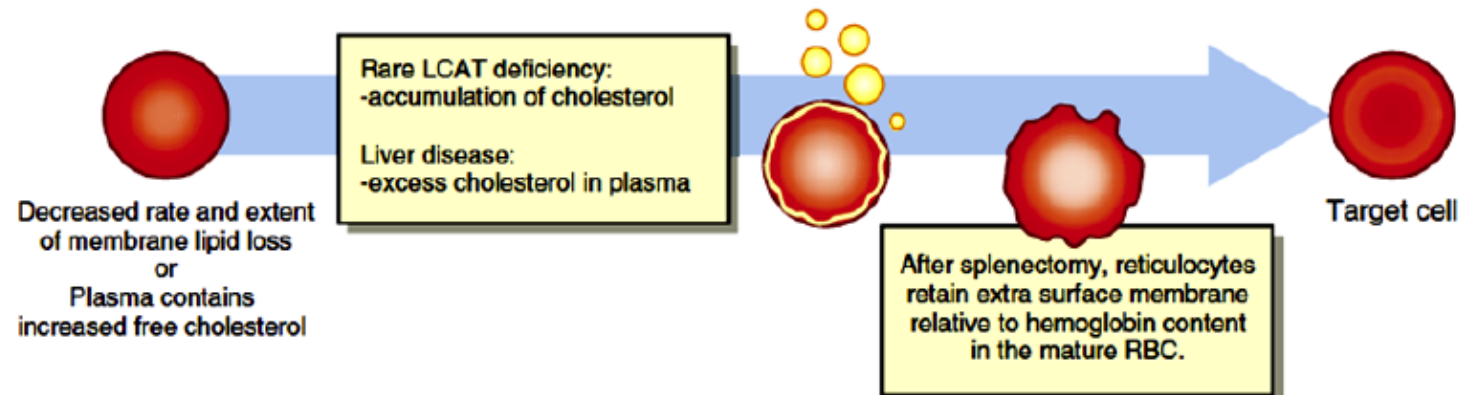
As a result of decreased volume:

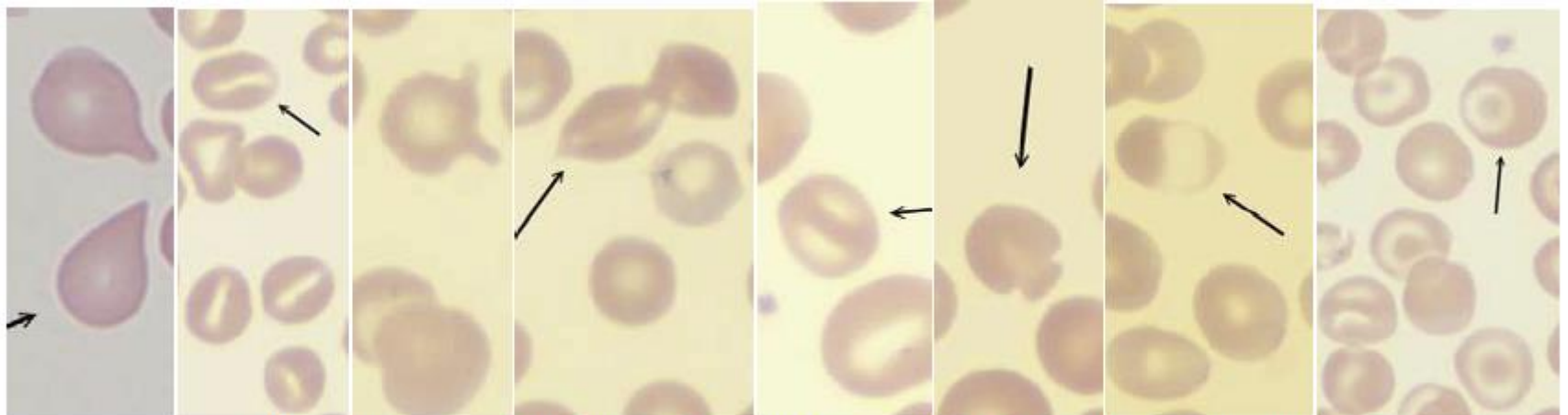
Examples: Iron deficiency, thalassemia, and hemoglobinopathies (Hb S,E)



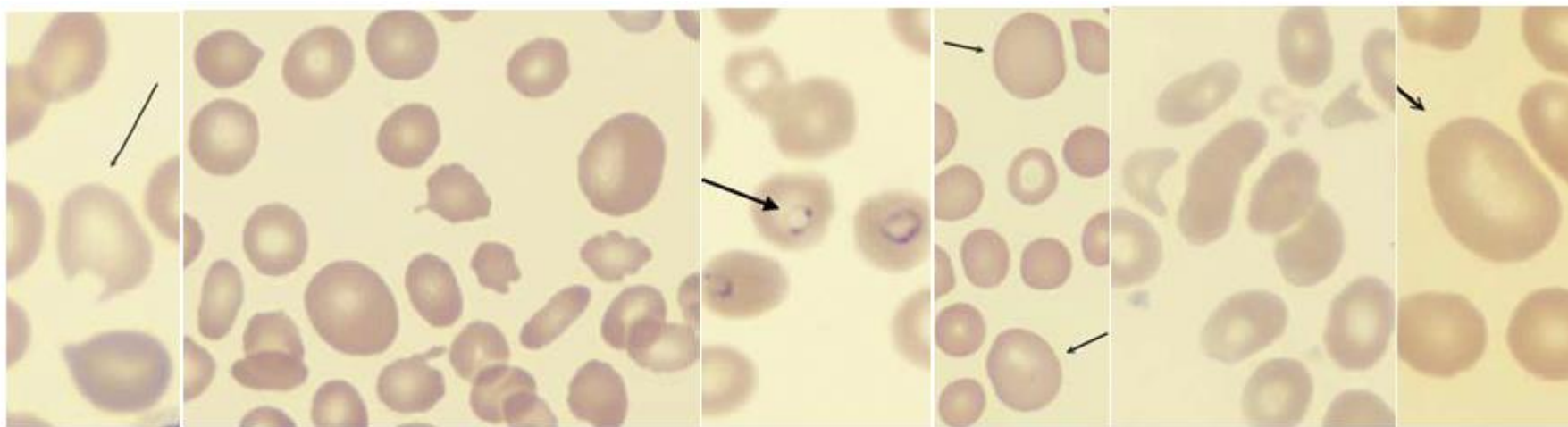
As a result of increased surface membrane:

Examples: Liver disease (obstructive jaundice), LCAT deficiency, and asplenism





شکل ۳۷-۷: از راست به چپ: تارگت سل، پلیسترسل، موشروم سل، نیزوسیت، سلول Pita bread، کراتوسیت، استوماتوسیت و داکروسیت



شکل ۴۶-۷: از راست به چپ: ماکروواوالتوسیت، پیروپوئیکیلوسیتوز، ماکروسیت، سلول آلوده به مالاریا، منظره دی مورفیک آنمی سیدروبلاستیک، کراتوسیت

سلول‌های خاردار یا مضرسی (Crenated Cell) :

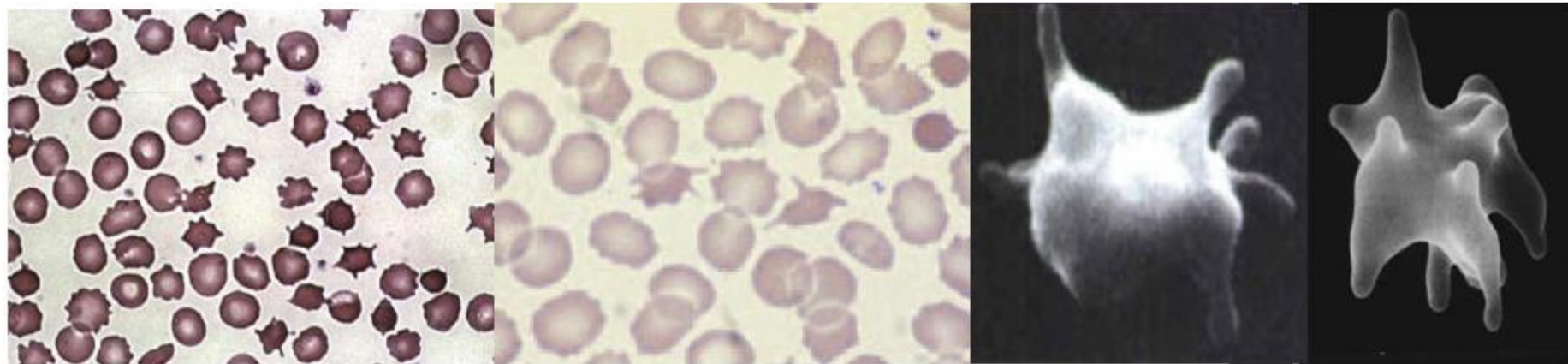
سلول‌های خاردار یا مضرسی اصطلاح عمومی برای گلبول‌های قرمزی است که به طور منظم یا نامنظم چروکیده شده و خارهایی را بر سطح خود نشان می‌دهند. از این موارد می‌توان به سلول‌های اکینوسیت (بور سل)، آکانتوسیت (اسپورسل)، کراتوسیت (سلول شاخدار)، سلول قطره اشکی (داکریوسیت) و سلول‌های قارچی شکل (ماشروم سل) اشاره نمود.

الف) آکانتوسیت‌ها یا اسپورسل‌ها (Acanthocyte):

آکانتوسیت‌ها، اریتروسیت‌هایی منقبض، کروی، هیپرکروم و با خارهای نامنظم هستند که انتهای خارشان خمیده، گرد یا حبابی شکل بوده و اسپیکول نامیده می‌شوند. تعداد اسپیکول‌ها ۱۰-۲ عدد بوده، طول، اندازه و قطر آنها نیز متغیر بوده و از الگوی خاصی تبعیت نمی‌کند (برخلاف اکینوسیت‌ها که اغلب نورموکروم-نورموسیت بوده و زواید منظم و متحدالشکلی دارند). در کنار آکانتوسیت‌ها اغلب اکینوسیت‌ها نیز دیده می‌شوند ولی حالت عکس آن چندان صادق نیست. در افراد نرمال تا ۳٪ اریتروسیت‌ها می‌تواند به نوعی مضرس یا خاردار باشد که این رقم در صورت اسپلنکتومی، کم کاری طحال، الکلیسم، مصرف برخی داروها (مثل ایندومتاسین، سالیسیلات و فورسمید) و در نوزادان نارس می‌تواند تا ۲۵-۵٪ نیز افزایش پیدا کند. این سلول‌ها در

آبتالیوپروتئینی ارثی یا سندرم بازن-کورنزیوچ^۱ (اختلال در نسبت بین کلسترول و لیپوپروتئین و افزایش کلسترول آزاد خون)، در بیماران کبدی ناشی از مصرف الکل، یرقان نوزادی، فنوتیپ مک لود، فنوتیپ لوتران منفی $In(Lu)Lu(a-b-)$ ، برخی ناهنجاری‌های عصبی (سندرم کره-آکانتوسیتوزیس)، همانژیوم کبدی و در موارد خاصی از سوء تغذیه مشاهده می‌شوند. فنوتیپ مک لود، فقدان همزمان آنتی‌ژن‌های KX، CD238 و Kell در سطح اریتروسیت‌ها است که به دلیل بیان ژن KX در سطح کروموزوم X، بیماری وابسته به جنس بوده و با اختلالات ماهیچه‌ای، آنمی همولیتیک، کاهش نوروترانسمیتری و کاهش نفوذپذیری RBCها به آب همراه می‌باشد.

آکانتوسیت‌ها، سلول‌هایی هستند که محتوی لیپیدی غشاء آنها تغییر پیدا کرده است، به‌طوری‌که مقدار گلیسروفسفولیپیدهای غشاء آنها به میزان محسوسی کاهش یافته و باعث افزایش نسبت اسفنگومیلین به لستین (فسفاتیدیل کولین) می‌شود، از طرفی دیگر به دلیل وجود بیماری‌های کبدی و افزایش کلسترول پلاسمایی، کلسترول به‌صورت پاسیو جذب غشاء اریتروسیت می‌شود که به دلیل بزرگی و حجیم بودن و عدم امکان فلیپ-فلیپ غشایی آن، عمدتاً در لایه خارجی غشاء تجمع یافته و باعث افزایش سیالیت آن می‌شود. در ادامه افزایش سیالیت لایه خارجی موجب موج‌دار شدن لایه خارجی در سطح غشاء می‌شود که در عبور از طحال و در اثر پیتینگ یا گزش‌های طحالی (برای اصلاح موج‌های غشایی) به فرم آکانتوسیت تبدیل می‌شوند. بدین ترتیب نسبت کلسترول به لستین غشاء آکانتوسیت‌ها نیز افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند که این خصوصیت ویژگی بارز آبتالیوپروتئینی و بیماری‌های هپاتوسلولار محسوب می‌شود. در فقدان بتالیوپروتئین، ویتامین A ذخیره شده در کبد به رتین چشم حمل نشده و علائم بینایی نیز در این بیماری بروز می‌کند. الگوی آکانتوسیتوز بجز در سندرم مک لود، قابل برگشت بوده و نشانه تخریب دائمی سلول می‌باشد. در این بیماری‌ها، انکوباسیون سلول با فسفاتیدیل سرین یا کلرپرومازین باعث بازگشت آکانتوسیت‌ها به فرم دیسکوسیتی نرمال می‌شود. از نکات مهم در تشخیص این یاخته‌ها طبیعی بودن آزمایش مقاومت گلبولی (OFT) است.



شکل ۳۸-۷: تصویر PBS و SEM از سلول‌های آکانتوسیت

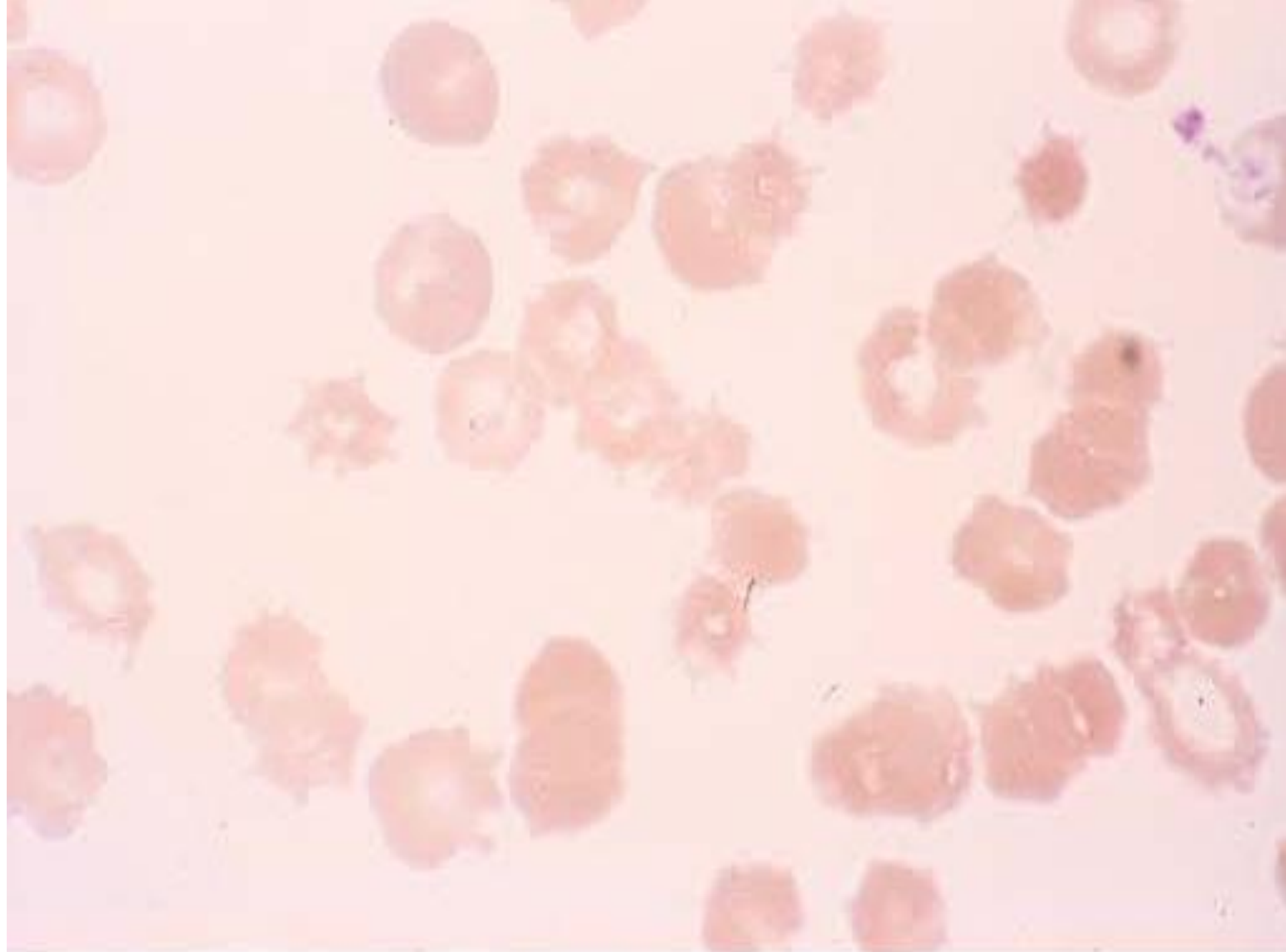
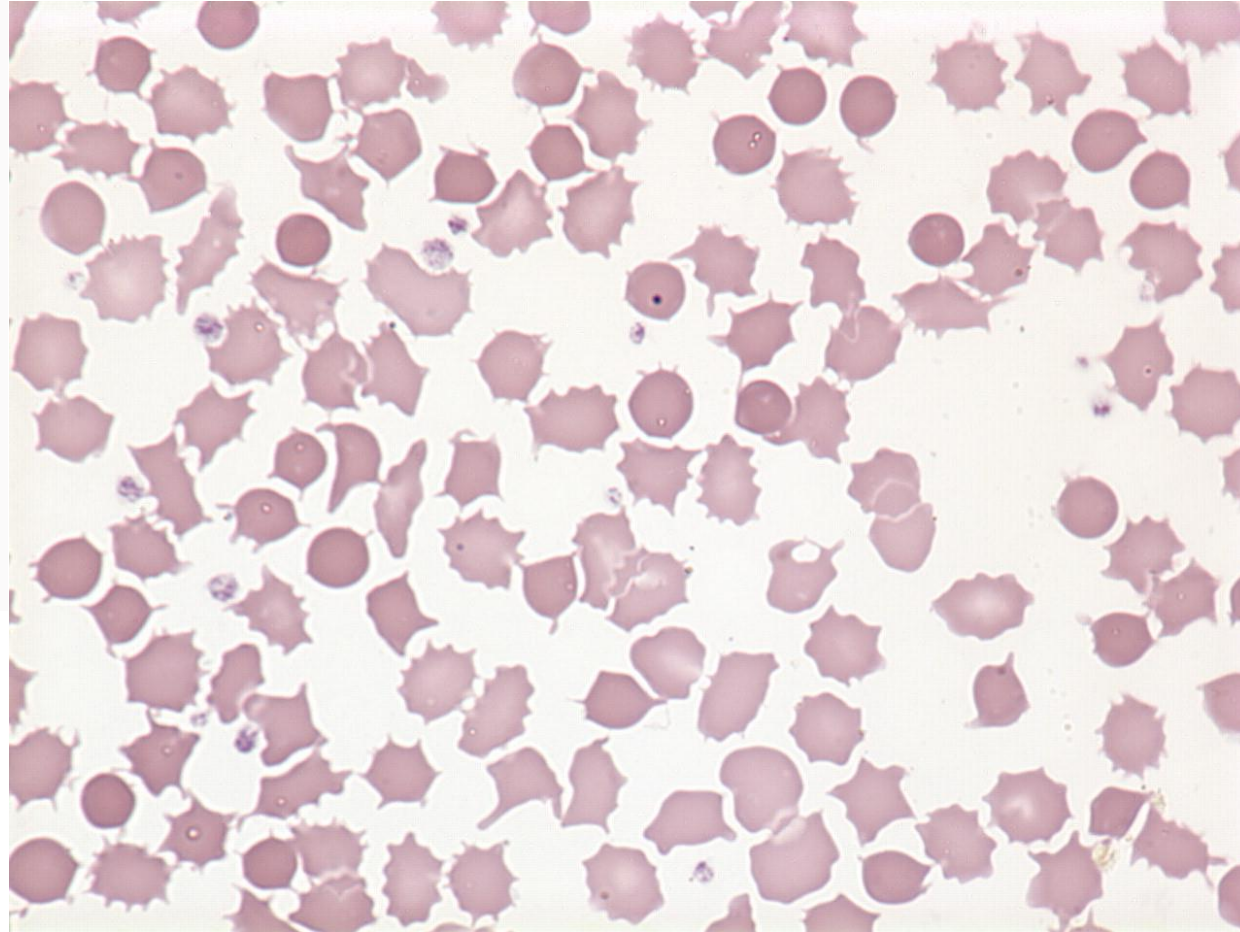


Figure 2. Acanthocytosis may be seen in severe malnutrition or lipid deprivation



Maslak, P. ASH Image Bank 2005;2005:101405

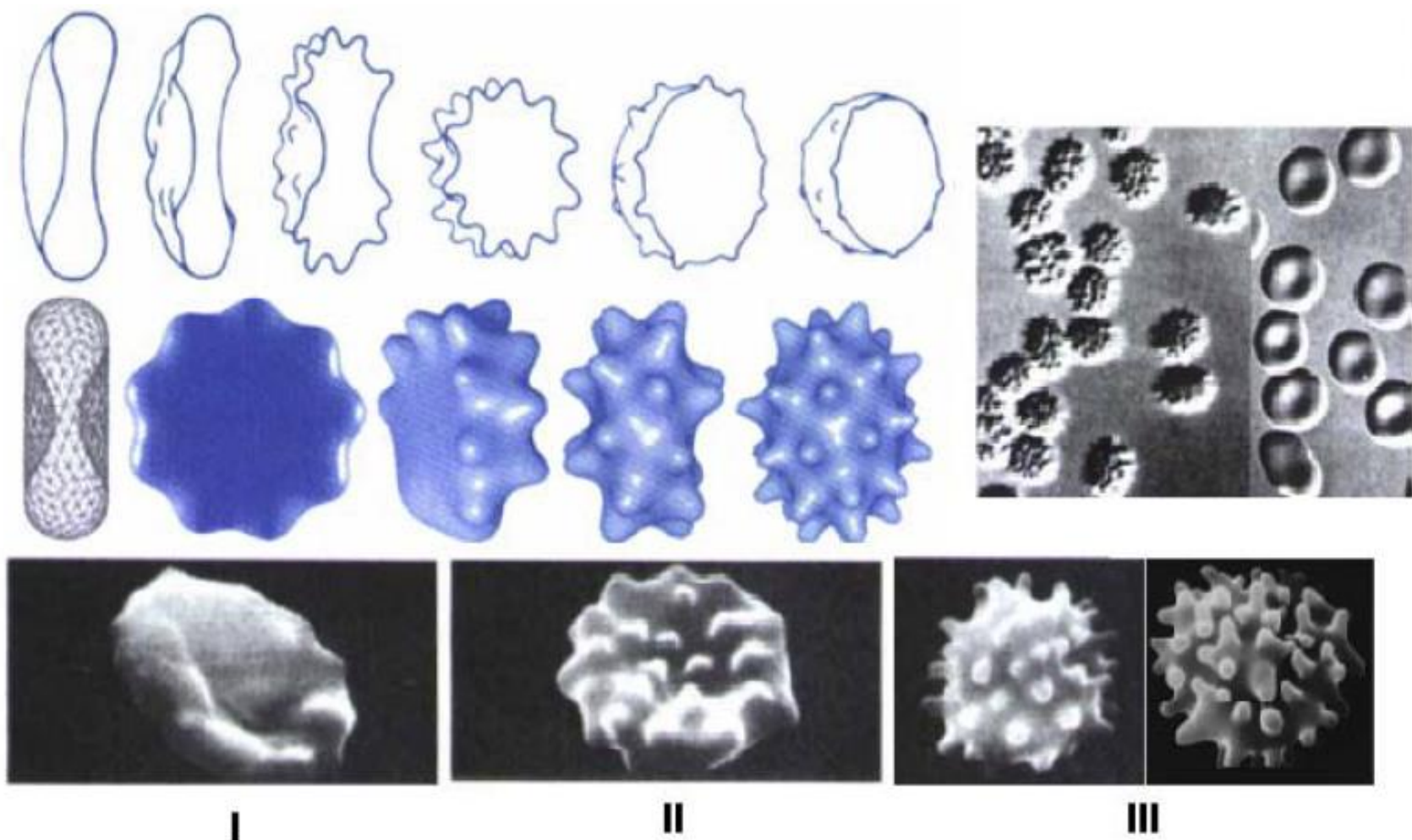
Acanthocytes or “burr cells

- by their jagged surface, which usually is deeply clefted. Acanthocytes are seen in a rare hereditary anomaly, A-b-lipoproteinemia. They are also a feature of uremia and hepatic coma, where large numbers of these cells are considered a poor prognostic sign. Acanthocyte formation has also been linked to the use of alcohol and certain drugs

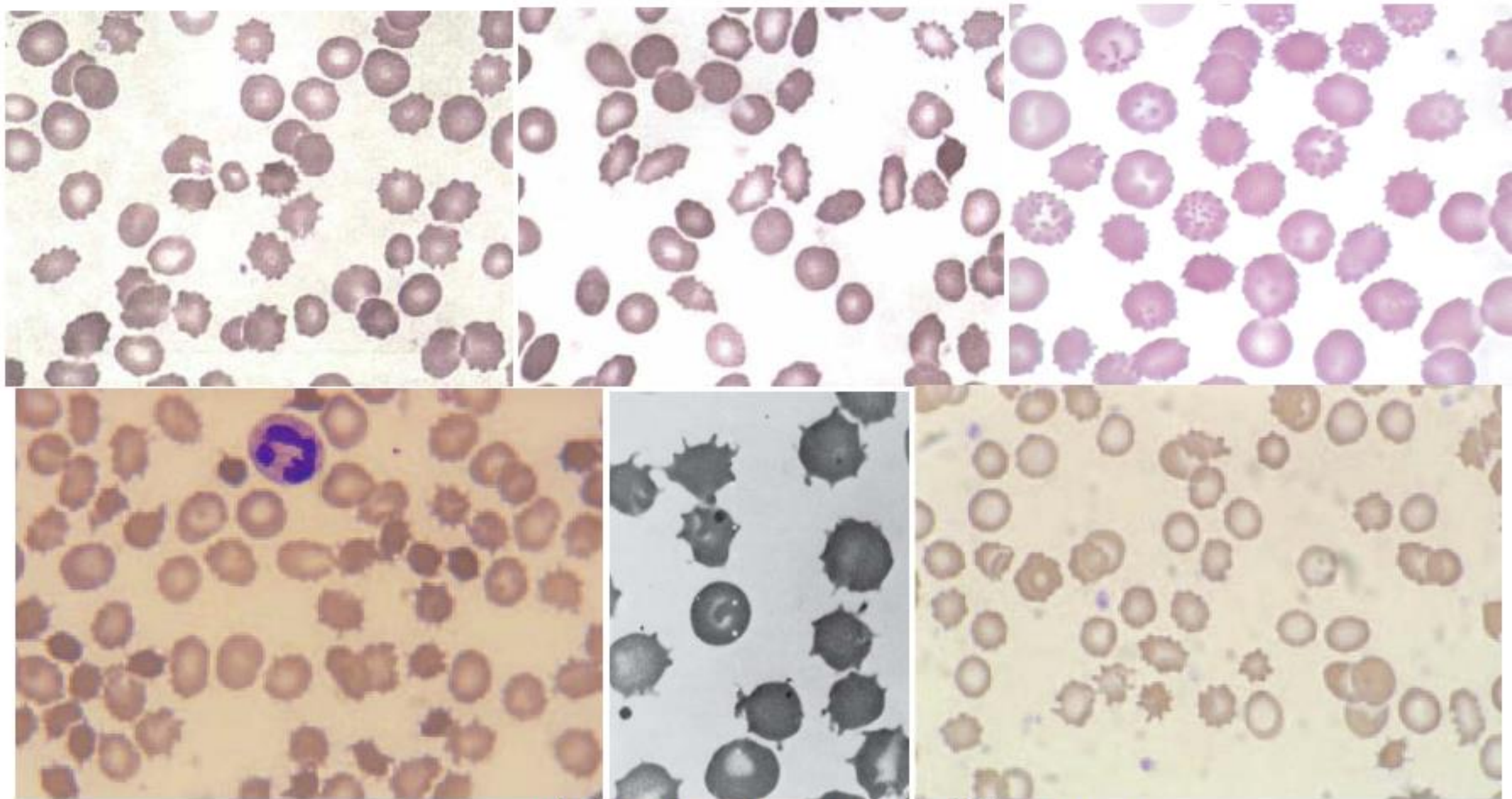
ب) اکینوسیت‌ها (بور سل یا سلول‌های دنداندار) (Echinocyte or Burr Cell):

به اکینوسیت‌ها سلول‌های دنداندار، سلول‌های توت شکل، بورسِل و خارپشت دریایی^۲ نیز گفته می‌شود. اکینوسیت‌ها برخلاف آکانتوسیت‌ها به طور منظم چروکیده شده و خارهایی منظم، کوتاه و هم اندازه به تعداد ۱۰-۳۰ عدد دارند که به صورت یکنواخت در تمام سطح سلول پراکنده شده‌اند. اکینوسیت‌ها معمولاً به صورت آرتیفکت نیز دیده می‌شوند (در اثر تأخیر در خشک شدن گستره و یا وجود رطوبت بالا در محیط) که شایع‌ترین آرتیفکت گستره خون محیطی نیز محسوب می‌شود. در شرایط آرتیفکت، اکینوسیت‌ها در اثر حباب‌های ریز آب که RBCها را دنداندار می‌کنند، به وجود می‌آیند. وجود مقدار اندکی آب در متانول فیکساتیو یا خود رنگ رایت نیز قادر است باعث اکینوسیتوز کاذب شود. اکینوسیت‌ها به ۳ دسته اکینوسیت‌های دیسکوئیدی (نوع I)، اکینوسیت‌های دیسکواسفروسیتی (نوع II)، اکینوسیت‌های اسفروتیک (نوع III) تقسیم بندی می‌شوند، هرچند امروزه نوع IV یا اسفوسیتوز توأم با اکینوسیتوزیس شدید نیز مطرح شده است. اکینوسیت‌ها ممکن است به دلیل اورمی، بیماری کبدی، کاهش پتاسیم داخل سلولی، افزایش PH، کاهش آلبومین، کاهش ATP (مثل کمبود **پروتئین‌ها** و دیگر آنزیم‌های متابولیکی اریتروسیت‌ها)، متعاقب تزریق خون کهنه (در اثر کاهش ATP)، کارسینومای معده، خونریزی زخم معده، افزایش اسمولاریته خون و... مشاهده گردند.

در PH فیزیولوژیک و در حضور مقادیر نرمال پروتئین‌های پلاسمایی (به‌ویژه آلبومین)، RBCها اغلب دیسکوئیدی و مقعرالطرفین هستند ولی با افزایش PH و کاهش میزان اسیدیته خون یا با کاهش آلبومین خون، لبه سلول‌ها مضرس شده و سلول مورفولوژی بورسِل (اکینوسیت) را به خود می‌گیرند (عکس استوماتوسیت). **لیزولکتین** و **یا مشتقات آنیونی فنوتیازین** نیز قادر هستند به صورت مصنوعی باعث بروز اکینوسیت در گسترش خون محیطی شوند. این نوع سلول‌ها اغلب اکینوسیت نوع I هستند که استرس محیطی شدیدتر یا مزمن منجر به تغییر شکل آنها به فرم برگشت ناپذیر II و III می‌شود. علاوه بر PH و آلبومین عوامل دیگری نیز وجود دارند که می‌توانند باعث اکینوسیتوز غیر ارثی شوند که از آن جمله می‌توان به آنتی‌بادی ضد پروتئین‌های اینتگرال غشاء، داروهای آمفیفیلک، دترجنت‌ها و مهارکننده‌های رقابتی پروتئین باند III اشاره نمود.



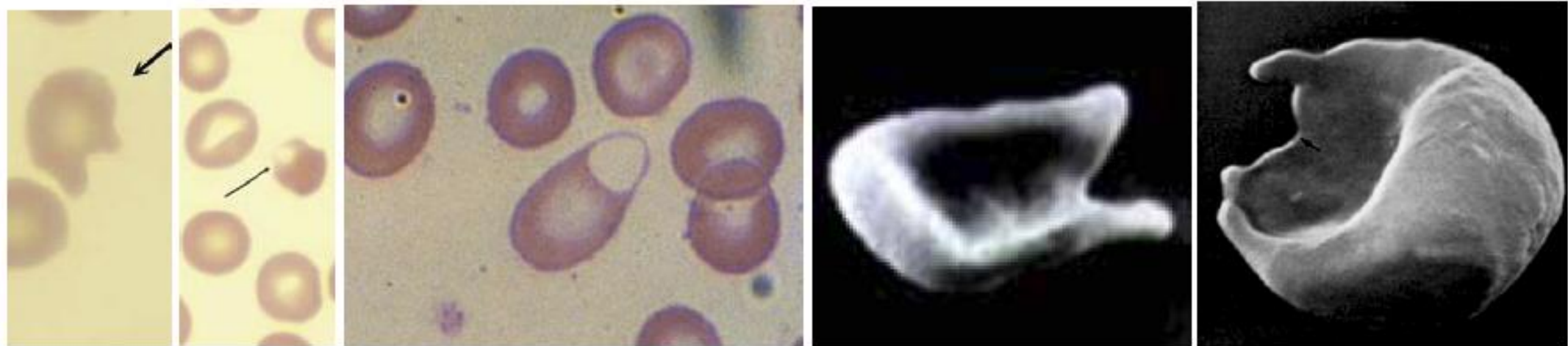
شکل ۳۹-۷: تصویر شماتیک از مراحل تشکیل اکنوسیت‌ها و انواع سه گانه آن. افزایش آلبومین، کاهش PH و مشتقات کاتیونی فنوتیازین باعث بروز استوماتوسیتوز و برعکس، افزایش PH، کاهش آلبومین و مشتقات آنیونی فنوتیازین باعث بروز اکنوسیتوزیس می‌شوند.



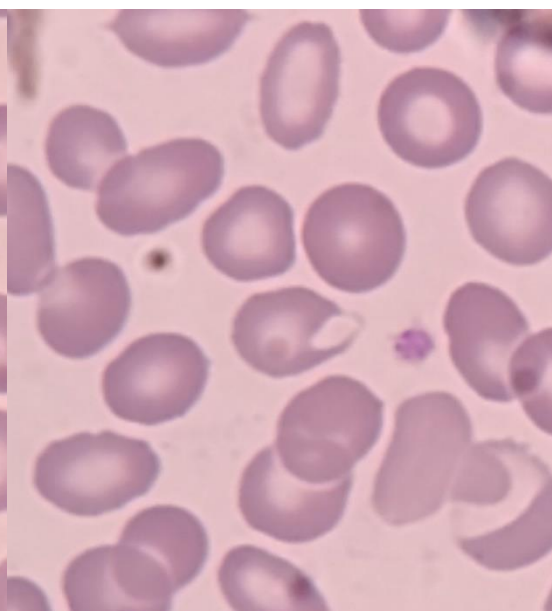
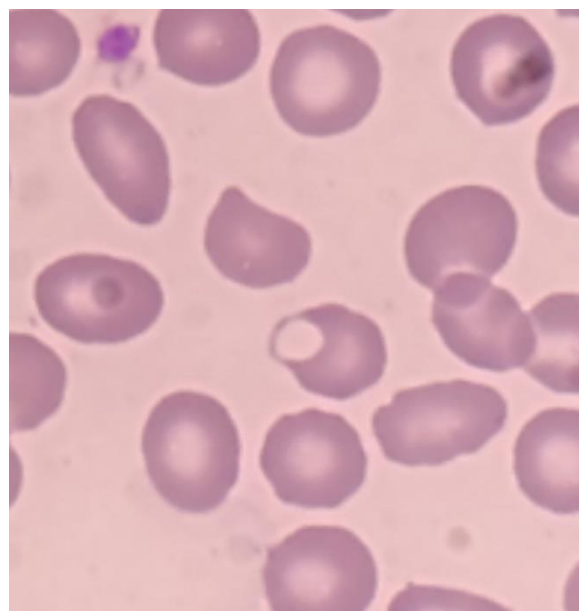
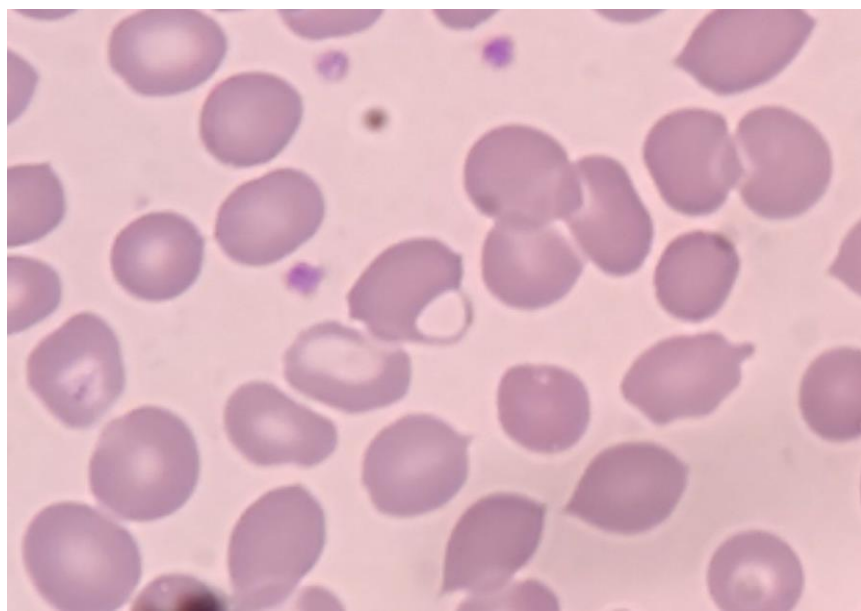
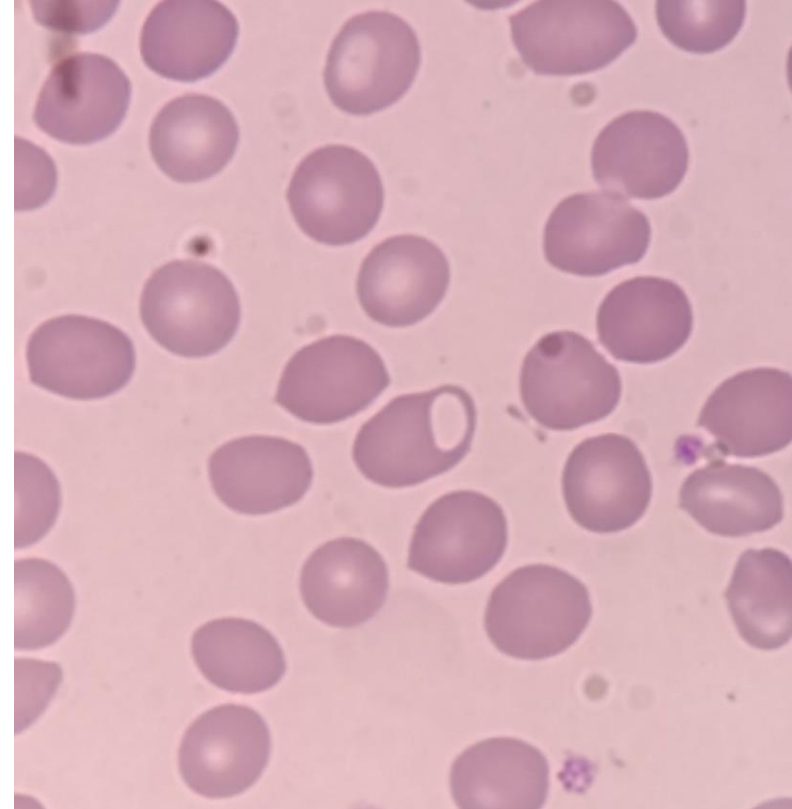
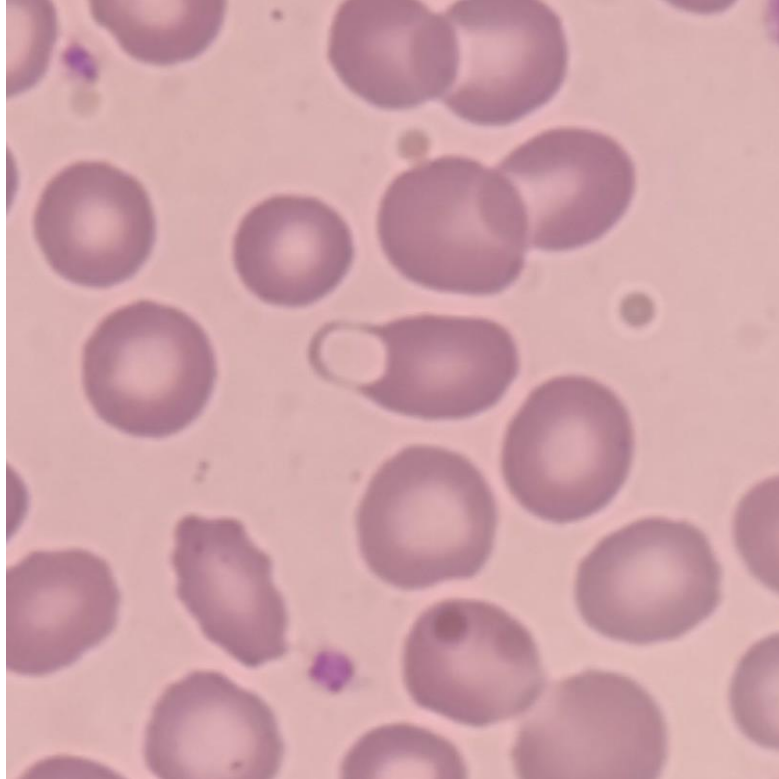
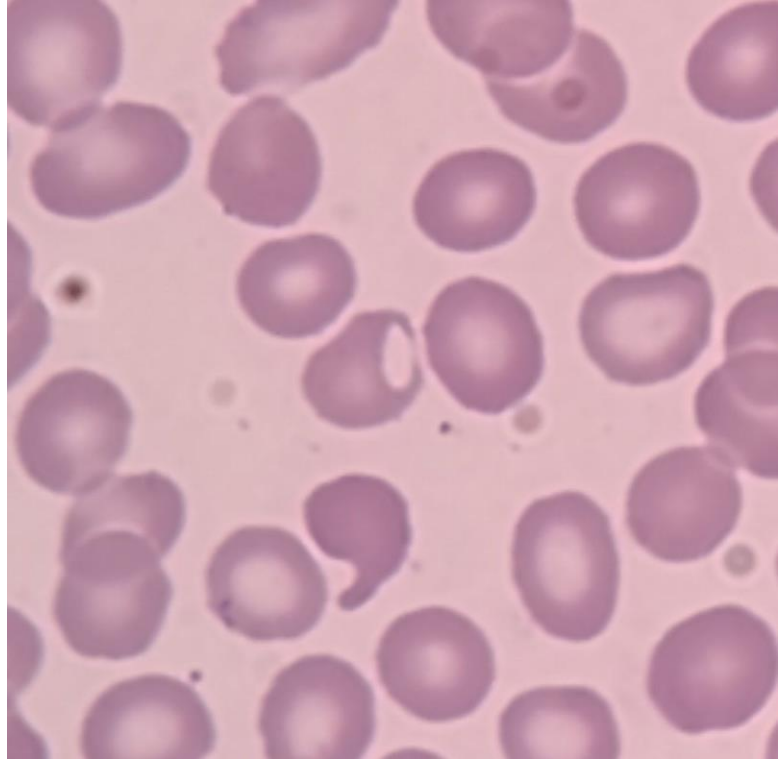
شکل ۴۰-۷: تصویر PBS از سلول‌های اکی‌نوسیت (ردیف بالا) در مقایسه با آکانتوسیت (ردیف پایین).

ه) کراتوسیت یا سلول شاخ دار (Keratocyte):

کراتوسیت‌ها سلول‌هایی هستند که در حلقه اول به صورت حباب‌دار یا تاولی شکل بوده و **بلیسترسل**^۱ نامیده می‌شوند ولی در ادامه حین عبور از عروق و برخورد با رشته‌های فیبرینی یا دیواره عروقی، حباب آنها به دلیل داشتن حاشیه بسیار نازک، پاره شده و ناحیه مربوطه بسته به محل پاره شدن، به صورت دو شاخه یا تک‌شاخه دیده می‌شود. برخلاف شیتوسیت، MCV کراتوسیت در این حالت تقریباً نرمال می‌باشد. افزایش تعداد بایت‌ها (نواحی گزیده شده از سطح غشاء) در یک ناحیه از غشاء نیز می‌تواند باعث مورفولوژی کراتوسیت شود. در این حالت هموگلوبین سلول اندکی کاسته شده و سلول هیپوکروم می‌شود. گاهی در این حالت دو انتهای زواید کراتوسیت به هم وصل شده و بلیسترسل (دارای واکوئل کاذب) موقتی تشکیل می‌شود که ناپایدار بوده و مجدداً در اثر برخورد با دیواره عروق و رشته‌های فیبرینی به کراتوسیت تبدیل می‌شود. با توجه به موارد مذکور، کراتوسیت‌ها را می‌توان در خانواده شیتوسیت‌ها نیز طبقه‌بندی نمود. در شرایط In Vitro مجاورت سلول نرمال با **دیامید** یا **N-اتیل مالایمید** می‌تواند باعث مورفولوژی کراتوسیت شود. انکوباسیون کراتوسیت در دمای ۴۹ درجه نیز می‌تواند باعث تشکیل بلیسترسل شود.

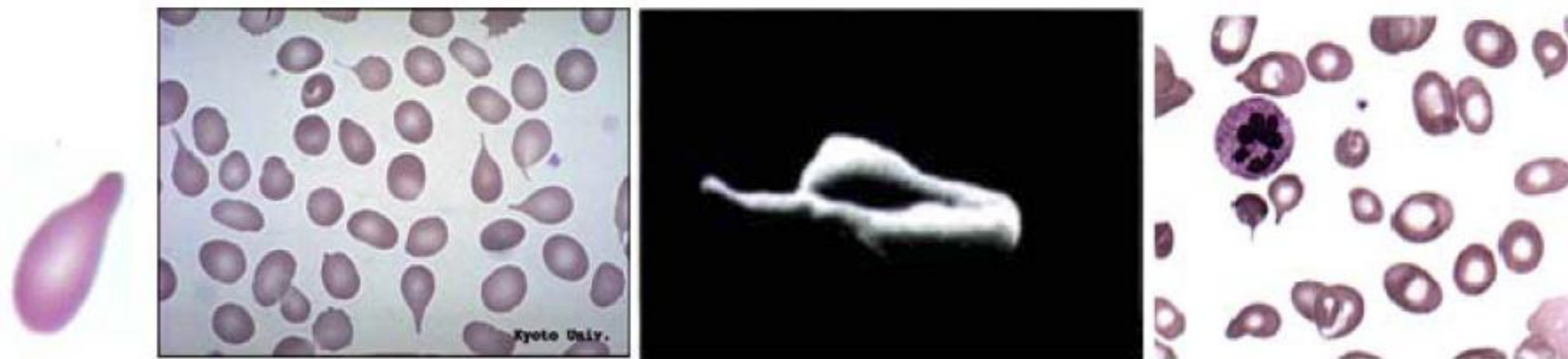


شکل ۴۱-۷: تصویر SEM از سلول‌های کراتوسیت و یک بلیسترسل (سلول تاول دار یا حباب دار) که پیش ساز کراتوسیت می‌باشد.



د) سلول‌های قطره اشکی یا داکریوسیت (Dacryocyte or Tear Drop Cell):

داکریوسیت‌ها سلول‌هایی هستند با یک زائده یا خار تکی که به یک قطب اریتروسیت کشیده شده و منظره قطره اشکی، آینه دستی، راکت و یا لامپ را به خود می‌گیرد. به این سلول **پوئیکیلوسیت دم دار** نیز گفته می‌شود. سلول‌های قطره اشکی در میلو فیبروز اولیه (متاپلازی میلوئیدی توأم با میلو فیبروز MMM)، برخی از تالاسمی‌ها، آنمی‌های میلو فیتزیک، خونسازی اکسترا مدولاری و در موارد شدیدی از آنمی فقر آهن مشاهده می‌شوند. سلول‌های قطره اشکی هیپوکروم نبوده، لذا اگر این سلول‌ها یا سلول‌های اطراف آن هیپوکروم متوسط تا شدیدی داشتند، آنمی فقر آهن ارزش تشخیصی پیدا می‌کند. حضور سلول‌های قطره اشکی در کنار واکنش لکواریترو بلاستیک، پان سیتوپنی و هپاتواسپلنومگالی می‌تواند دلیلی بر ابتلاء به PMF یا MMM باشد. سلول‌های قطره اشکی در مرحله رتیکولوسیتی اریترو پوئز اکسترا مدولاری که اسکلت غشایی هنوز ناقص و در حال تشکیل است، بوجود می‌آیند و این مورفولوژی در خون محیطی غیر قابل برگشت است. اسپلنکتومی و برداشت طحال به عنوان مرکز خونسازی اکسترا مدولاری، باعث کاهش تعداد داکریوسیت‌های خون محیطی می‌شود. در این دسته از بیماران تأخیر در خروج رتیکولوسیت از BM نیز می‌تواند باعث مورفولوژی قطره اشکی خفیف شود.



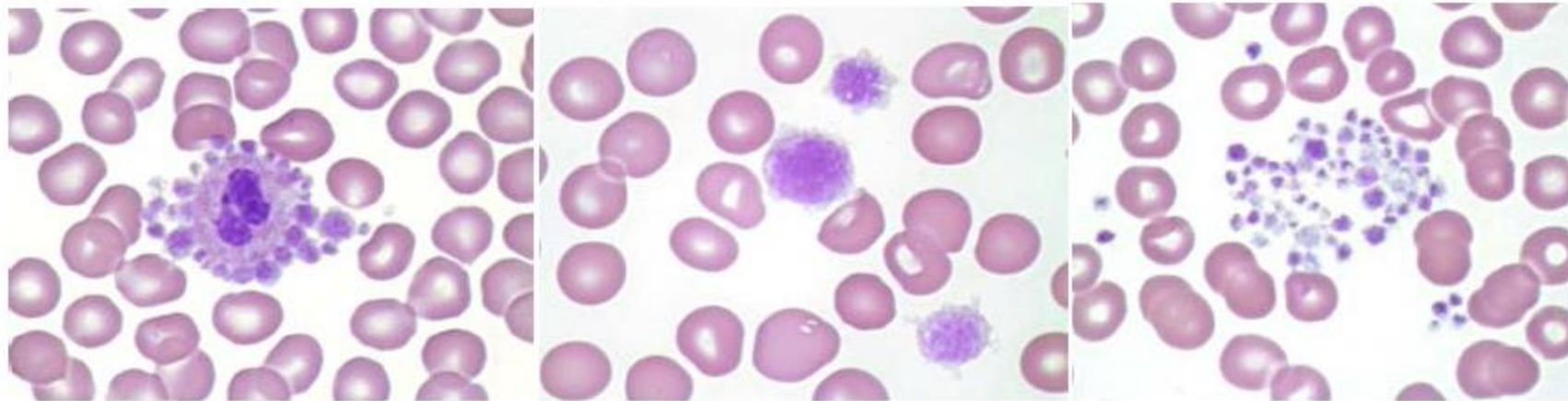
شکل ۴۲-۷: تصویر PBS و SEM از سلول‌های قطره اشکی (داکریوسیت)

میکرواگرگاسیون پلاکتی، جایانت پلاکت‌ها و پدیده پلاکت‌های اقماری:

میکرواگرگاسیون پلاکتی، اختلال اکتسابی ناشی از نمونه‌گیری نادرست یا استفاده از ضدانعقاد نامناسب است که با تکرار نمونه‌گیری اصلاح می‌شود. نمونه خون سرانگشت (بدون ضدانعقاد)، کاهش نسبت ضدانعقاد به خون، مخلوط نکردن کافی خون با ضدانعقاد، موارد نادری مثل بیماری ون ویلبراند نوع IIB و TTP و ضدانعقاد نامناسب از علل ایجاد میکرواگرگاسیون پلاکتی محسوب می‌شوند. در این حالت تعداد پلاکت شمارش شده دستگاهی کاهش یافته و بر تعداد WBC افزوده می‌شود چرا که مجموع پلاکت‌های به هم متصل شده به طور کاذب به عنوان یک لکوسیت شمارش می‌شوند. برای تشخیص این پدیده تهیه گستره خون محیطی و بررسی لام الزامی بوده و برای حل مشکل نیز تنها راه، تکرار نمونه‌گیری می‌باشد.

جایانت پلاکت‌ها معادل رتیکولوسیت در رده اریتروئیدی بوده و هنگام تخریب یا مصرف پلاکت‌ها و افزایش نیاز به آنها (مثل DIC, TTP, ITP و ...) در خون افزایش می‌یابند. بیماری‌های با منشاء پلاکتی مثل سندرم برنارد سولیه (BSS) و ترومبوسایتمی اساسی (ET) نیز وجود دارند که در آنها جایانت پلاکت‌های خون محیطی افزایش می‌یابند.

پدیده پلاکت‌های اقماری یا ستلاتیسم نیز فقط در مصرف EDTA مشاهده می‌شود که در فصل مربوط به ضدانعقادها توضیح داده شده است.



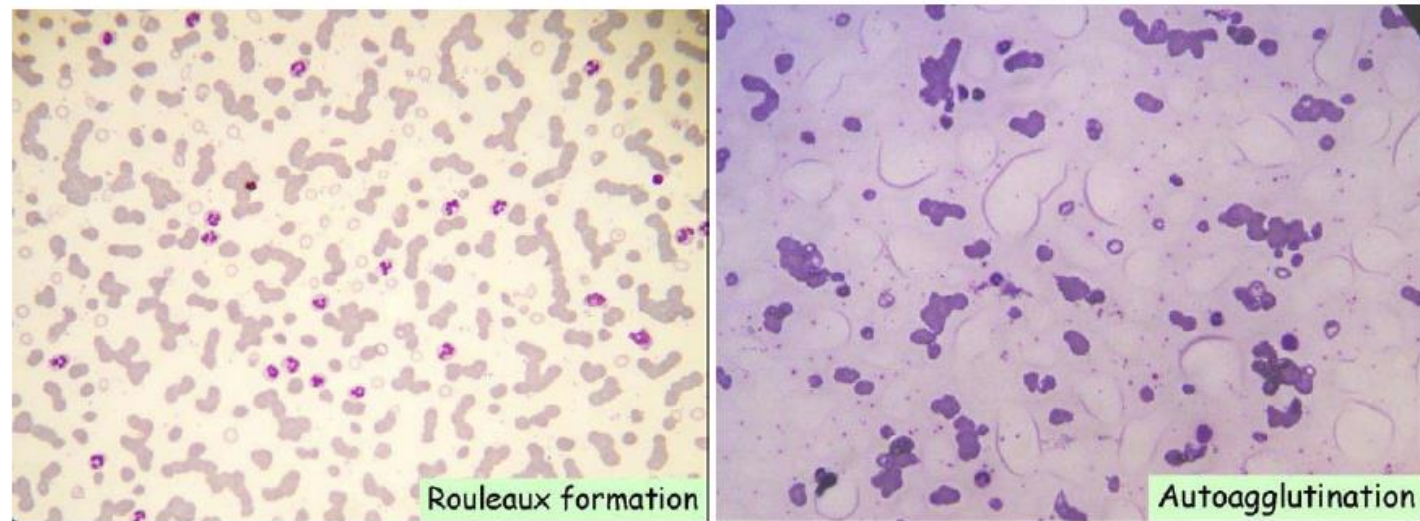
شکل ۴۳-۷: تصویر PBS از میکرواگرگاسیون، جایانت پلاکت و پلاکت اقماری.

تشکیل رولو و اتوآگلوتیناسیون اریتروسیته:

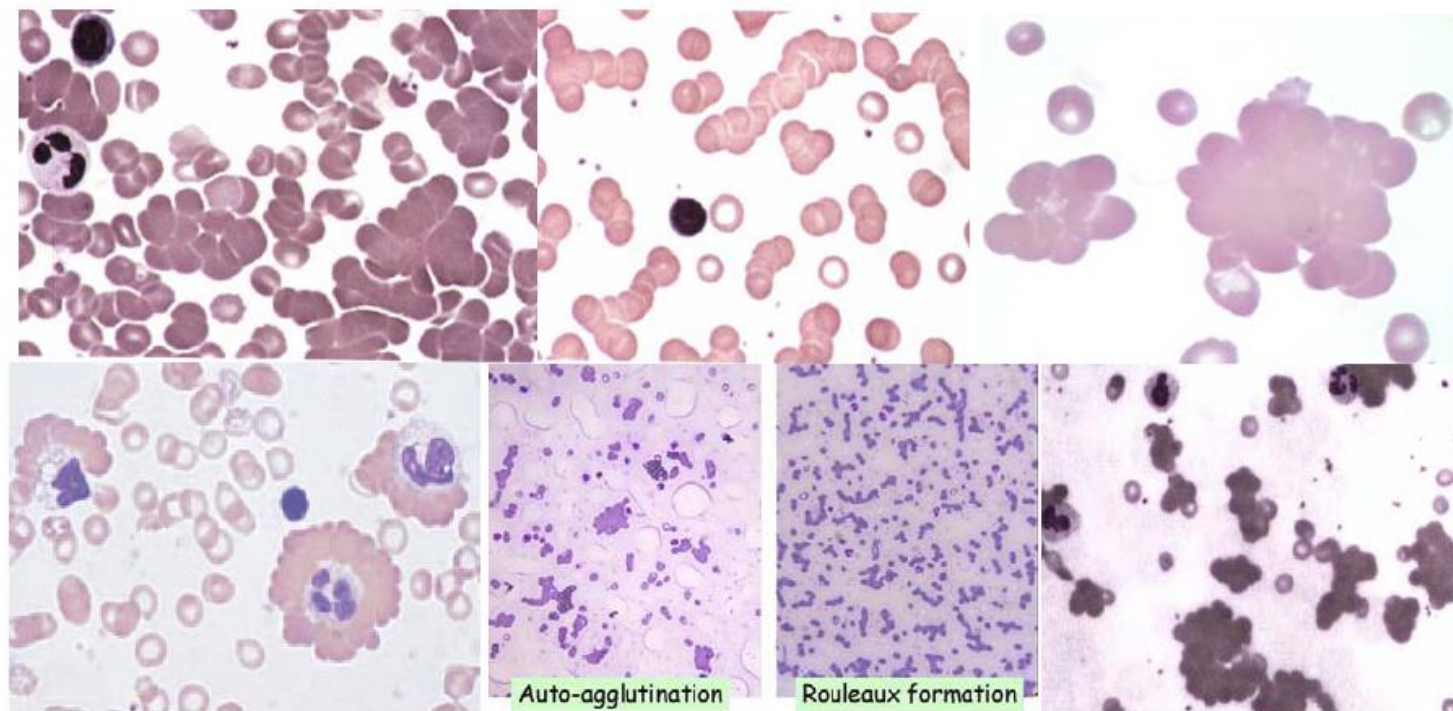
رولو نوعی قرار گرفتن گلبول‌های قرمز بر روی یکدیگر است که در آن اریتروسیته‌ها شبیه سکه‌هایی پشت سر هم قرار می‌گیرند. افزایش فیبرینوژن و گلوبولین‌های پلاسما و یا کاهش آلبومین، از عوامل اصلی تشکیل رولو و افزایش سرعت ESR محسوب می‌شوند، در حقیقت عوامل افزایش دهنده ESR می‌توانند به نوعی باعث تسهیل تشکیل رولو نیز بشوند. تشکیل رولو به‌خصوص در پاراپروتئینمی یا گاموپاتی منوکلونال مثل مالتیپل میلوما، آمیلوئیدوز و ماکروگلوبولینمی والدنشتروم قابل ملاحظه است. در خارج از بدن، رولو ممکن است در اثر توقف یا کاهش جریان خون تشکیل شود. درمقابل، رولو در خون در اثر فشار بالای عروقی ازهم می‌پاشند. لازم به ذکر است، آلودگی خون بند ناف با ژله وارتون نیز می‌تواند باعث تشکیل رولو شود.

اتوآگلوتیناسیون به توده شدن یا تجمع نامنظم گلبول‌های قرمز گفته می‌شود که در بیماری‌های اتوایمیون، اختلالات لنفوپرولیفراتیو، بیماری‌های هماگلوتینین سرد و ندرتاً به‌صورت کاذب در نواحی ضخیم گستره دیده می‌شوند. در گسترش‌های مرطوب آگلوتیناسیون را با اطمینان بیشتری می‌توان از رولو تفکیک داد، چراکه اریتروسیته‌ها در گسترش‌های خشک شده در هوا تمایل دارند توده‌های نامنظم‌تر و گردتری نسبت به توده‌های خطی رولو تشکیل بدهند. IgM ها پلی‌کلونال یا آگلوتینین‌های سرد موجود در آنمی‌های همولیتیک ایمیون سرد مثل i) هموگلوبینوری حمله‌ای سرد (PCH) ناشی از ابتلاء به سیفلیس و بیماری‌های ویروسی و ii) بیماری هماگلوتینین سرد (CHAD) ناشی از ابتلاء به مایکوپلاسما پنومونی و مونونوکلئوز عفونی مسئول تشکیل این منظره هستند. فشار شار عروقی و دمای ۳۷ درجه بدن می‌تواند مانع تشکیل آگلوتیناسیون اریتروسیته نیز بشود.

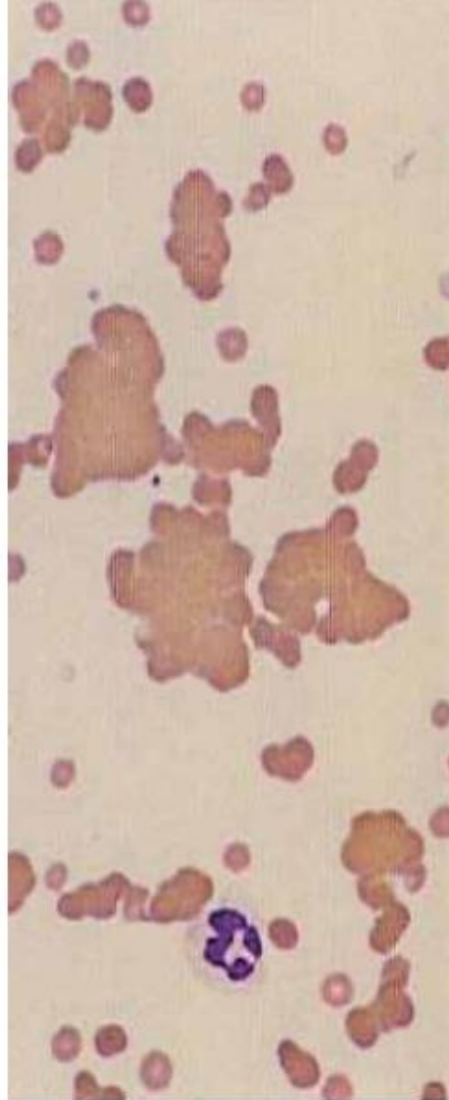
سلول‌های رولو و آگلوتیناسیون سرد با منظره روزت ناشی از برخورد گلبول‌های قرمز گوسفند (S-RBC) با لنفوسیت‌های T انسانی فرق می‌کند. CD2 روی T سل‌ها قادر است به گلبول‌های قرمز گوسفندی در دورتادور خود متصل شده و منظره‌ای شبیه به گلبرگ‌های اطراف کلاله گل را تقلید کند، لذا به این حالت Roset Form گفته می‌شود. این منظره به صورت آرتیفت در اطراف نوتروفیل‌ها نیز قابل تشکیل است که در شکل زیر ملاحظه می‌فرمایید.



شکل ۴۴-۷: تصویر PBS از رولو و اتواگلوتیناسیون



شکل ۴۵-۷: تصویر PBS از رولو و آگلوتیناسیون. در ردیف پایین و سمت چپ منظره روزت اطراف نوتروفیل نیز مشاهده می‌شود.

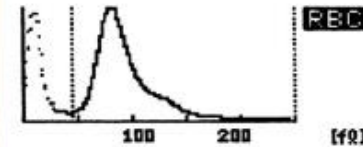


No. 5
DATE: 83/ 1/25 18:42
MODE: WHOLE BLOOD

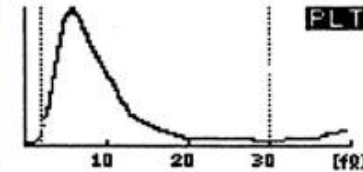
WBC	WL+ 17.4x10 ³ /μl
RBC	- 1.06x10 ⁶ /μl
HGB	- 8.6 g/dl
HCT	- 10.2 %
MCV	96.2 fl
MCH	+ 81.1 pg
MCHC	+ 84.3 g/dl
PLT	331x10 ³ /μl



LYMPH%	WL	---	---	%
MXD %	WL	---	---	%
NEUT%	WL	---	---	%
LYMPH#	WL	---	---	x10 ³ /μl
MXD #	WL	---	---	x10 ³ /μl
NEUT#	WL	---	---	x10 ³ /μl



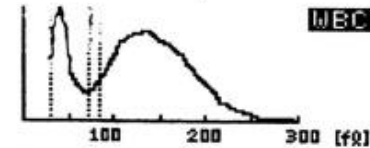
RDW-CV 13.7 %



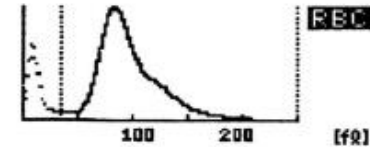
PDW	10.7	fl
MPV	9.3	fl
P-LCR	21.1	%

No. 6
DATE: 83/ 1/25 19:00
MODE: WHOLE BLOOD

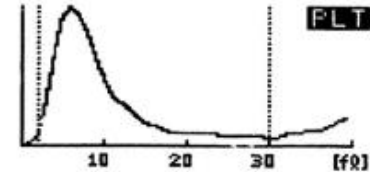
WBC	WL 6.7x10 ³ /μl
RBC	- 2.67x10 ⁶ /μl
HGB	- 8.4 g/dl
HCT	- 25.3 %
MCV	94.8 fl
MCH	31.5 pg
MCHC	33.2 g/dl
PLT	360x10 ³ /μl



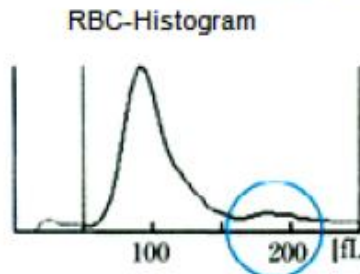
LYMPH%	WL	22.0	%
MXD %	WL	3.2	%
NEUT%	WL	74.8	%
LYMPH#	WL	1.5x10 ³ /μl	
MXD #	WL	0.2x10 ³ /μl	
NEUT#	WL	5.0x10 ³ /μl	



RDW-CV + 15.0 %



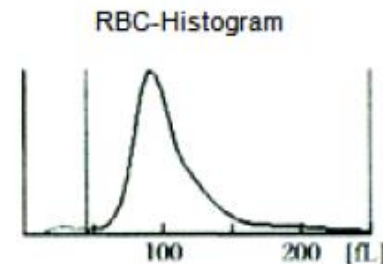
PDW	11.3	fl
MPV	9.9	fl
P-LCR	25.2	%



Results

RBC	RU*	2.23x10 ¹² /L
HGB		14.4g/dl
HCT	RU*	24.9%
MCV	RU*	111.7fl
MCH	RU*	64.6pg
MCHC	RU*	57.8g/dl
RDW	*	25.4fl

Incubation 30 min

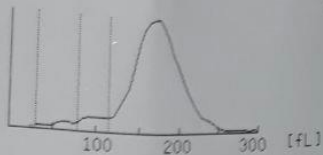


Results

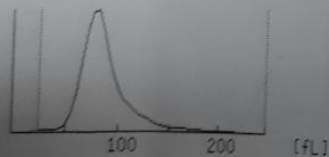
RBC		4.35x10 ¹² /L
HGB		14.5g/dl
HCT		43.5%
MCV		100.0fl
MCH		33.3pg
MCHC		33.3g/dl
RDW		14.7fl

No. 0
Date 2018/04/18
Time 08:33
Mode WB

WBC $13.7 \times 10^3/\mu\text{L}$
RBC $3.87 \times 10^6/\mu\text{L}$
HGB 10.8g/dL
HCT 32.1%
MCV 82.9fL
MCH 27.9pg
MCHC 33.6g/dL
PLT $275 \times 10^3/\mu\text{L}$



LYM% 3.2%
MXD% 5.8%
NEUT% 91.0%
LYM# $0.4 \times 10^3/\mu\text{L}$
MXD# $0.8 \times 10^3/\mu\text{L}$
NEUT# $12.5 \times 10^3/\mu\text{L}$



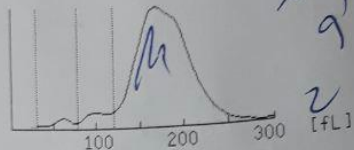
RDW_SD 46.3fL
RDW_CV 15.2%



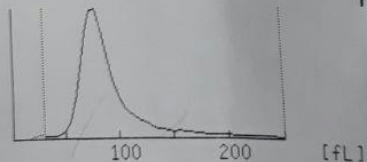
PDW 9.8fL
MPV 9.2fL
P_LCR 19.9%

No. 161402
Date 2018/04/18
Time 06:58
Mode WB

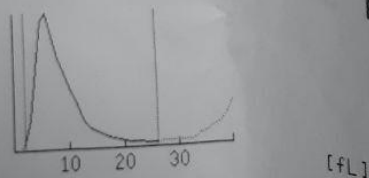
WBC $+ 13.0 \times 10^3/\mu\text{L}$
RBC $- 2.97 \times 10^6/\mu\text{L}$
HGB $- 10.8\text{g/dL}$
HCT $- 26.4\%$
MCV 88.9fL
MCH $+ 36.4\text{pg}$
MCHC $+ 40.9\text{g/dL}$
PLT $272 \times 10^3/\mu\text{L}$



LYM% - 3.2%
MXD% 6.3%
NEUT% + 90.5%
LYM# $0.4 \times 10^3/\mu\text{L}$
MXD# $0.8 \times 10^3/\mu\text{L}$
NEUT# $11.8 \times 10^3/\mu\text{L}$



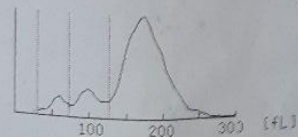
RDW_SD 42.2fL
RDW_CV + 17.0%



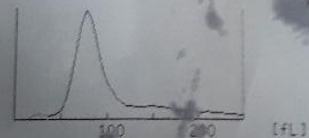
PDW 10.3fL
MPV - 8.5fL

No. 160931
Date 2018/04/17
Time 09:36
Mode WB

WBC $6.5 \times 10^3/\mu\text{L}$
RBC $- 1.58 \times 10^6/\mu\text{L}$
HGB $- 8.4\text{g/dL}$
HCT $- 15.7\%$
MCV 99.4fL
MCH $+ 53.2\text{pg}$
MCHC $+ 53.5\text{g/dL}$
PLT $274 \times 10^3/\mu\text{L}$



LYM% 6.0%
MXD% 13.2%
NEUT% 80.8%
LYM# $0.4 \times 10^3/\mu\text{L}$
MXD# $0.9 \times 10^3/\mu\text{L}$
NEUT# $5.2 \times 10^3/\mu\text{L}$



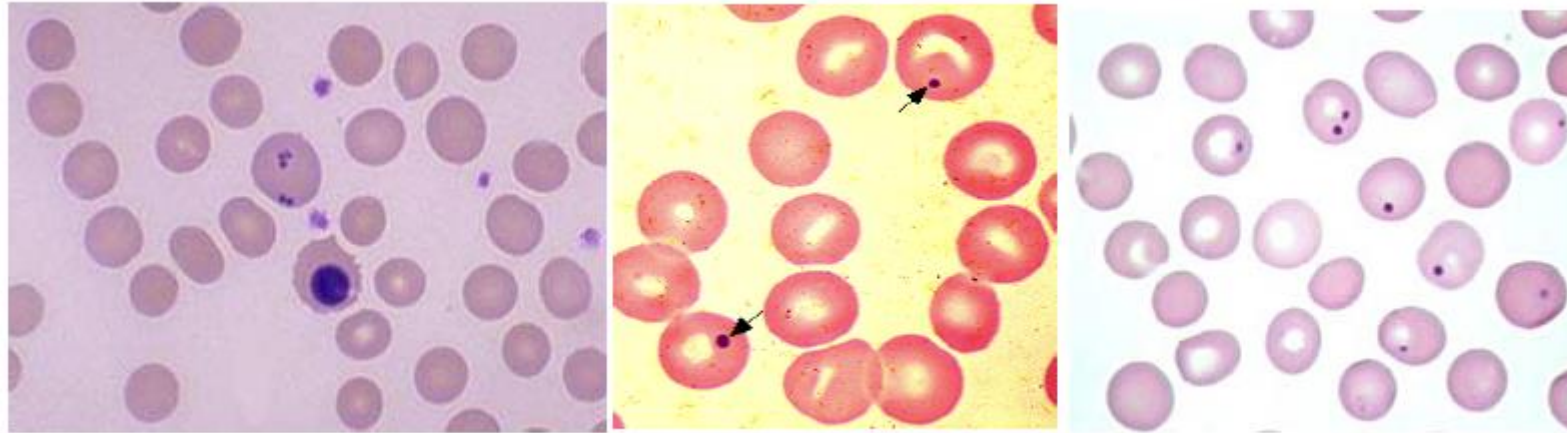
RDW_SD 41.9fL
RDW_CV + 30.4%



PDW 10.8fL
MPV 9.1fL
P_LCR 19.1%

اجسام هاول - جولی (Howell-Jolly Bodies):

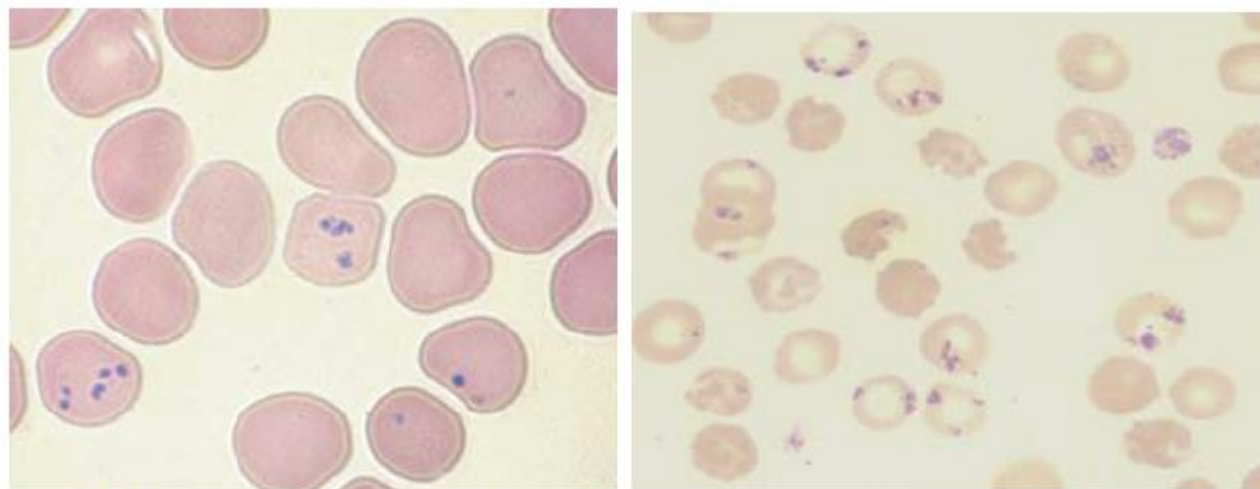
این اجسام بقایای صاف و گرد کروماتین هسته‌ای هستند که می‌توانند به صورت تکی (Single) یا چندتایی (Multiple) مشاهده شوند. در حالت طبیعی این اجسام توسط طحال دچار پیتینگ شده و حذف می‌شوند. اجسام هاول - جولی منفرد ممکن است در آنمی مگالوبلاستیک، آنمی همولیتیک، پرکاری BM و بعد از طحال‌برداری (چه اسپلنکتومی جراحی و چه اتواسپلنکتومی ناشی از آنمی سلولهای داسی) دیده شوند ولی اجسام هاولی جولی متعدد معمولاً دلالت بر آنمی مگالوبلاستیک یا برخی دیگر از اشکال دیس اریتروپوئیز غیرطبیعی مثل بیماری CDA و MDS دارند. مشاهده N-RBC به همراه افزایش هاول جولی ولی بدون افزایش رتیکولوسیت‌ها نیز می‌تواند دلالت بر آنمی مگالوبلاستیک داشته باشد. اجسام هاول جولی را در سلول‌های رنگ نشده در لام مرطوب نیز می‌توان مشاهده نمود. این اجسام برخلاف هاینزبادی اغلب منفرد، گرد و منظم، غیرمتصل به غشاء و آبی تیره هستند و در هر دو سلول رتیکولوسیت و اریتروسیت قابل مشاهده هستند. اندازه هاول جولی‌ها بزرگتر از اجسام پاپن‌هایمر بوده و حدود ۱ میکرون قطر دارند. اجسام هاول جولی از آنجایی که از جنس هسته و کروماتین هستند، لذا در رنگ‌آمیزی با رنگ فولگن (Fulgen) نیز مثبت می‌شوند.



شکل ۴۷-۷: مشاهده هاول-جولی در خون محیطی رنگ شده با رنگ رایت (رومانفسکی)

اجسام پاپن هایمر (سیدروزوم) (Pappenheimer bodies):

نورموبلاست‌ها و گلبول‌های قرمز جوان مستقر در BM اغلب حاوی گرانول‌های آهن غیرآلی از جنس هموسیدرین هستند که در رنگ‌آمیزی مخصوص آهن (مثل آبی پروس یا رنگ آمیزی پرل)^۱ به صورت یک سایه ته آبی تیره قابل مشاهده هستند. هموسیدرین‌های داخل اریتروسیتهای در شرایط نرمال و فیزیولوژیک در داخل گرانول‌های سیتوپلاسمی به صورت ذخیره مستقر می‌شوند که به این گرانول‌ها **سیدروزوم**، به اریتروسیت حاوی سیدروزوم، **سیدروسیت** و به نورموبلاست‌های حاوی سیدروزوم **سیدروبلاست** گفته می‌شوند. البته سیدروزوم‌های موجود در رتیکولوسیت‌های جوان طی پیتینگ طحالی از RBC‌ها حذف می‌شوند و لذا در RBC‌های بالغ مشاهده نمی‌شوند ولی در شرایطی مثل آنمی سیدروبلاستیک، هموکروماتوزیس (هموسیدروز)، اسپلنکتومی یا کم‌کاری طحال و تزریق مکرر خون (مثل تالاسمی ماژور) که بدن دچار اضافه بار آهن (IOL) می‌شود، سیدروسیت‌ها ممکن است در خون محیطی نیز مشاهده شوند. در چنین شرایطی گرانول‌های سیدروزومی با رنگ رایت و دیگر رنگ‌های رومانفسکی نیز رنگ‌آمیزی می‌شوند که در این صورت به آنها **اجسام پاپن هایمر** گفته می‌شود که بصورت یک سایه ته آبی تیره نشان می‌دهند. برخلاف بازوفیلیک استیپلینگ، تعداد اجسام پاپن هایمر در یک گلبول قرمز کمتر بوده (۱-۳ گرانول) و در خون محیطی به ندرت دیده می‌شوند. لازم به ذکر است، در شرایط غیرنرمال و پاتولوژیک، آهن علاوه بر سیدروزوم در **میتوکندری‌های** اطراف هسته نورموبلاست نیز تجمع می‌یابد که به این سلول‌ها، **نورموبلاست حلقوی** یا **نورموبلاست تیپ III** گفته می‌شود.



شکل ۵۸-۷: سیدروزوم‌های حاوی فریتین و هموسیدرین در داخل اریتروسیتهای یا سیدروسیت‌های خون محیطی و BM

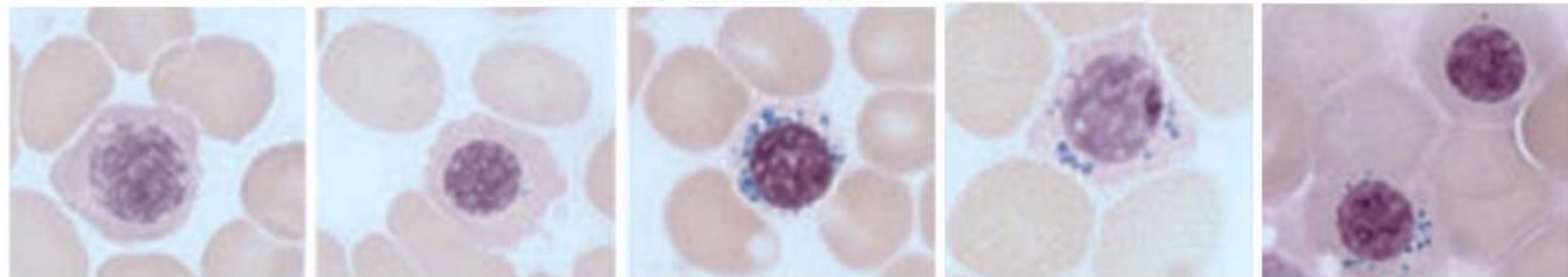
در حالت نرمال حدود ۶۰-۳۰٪ اریترو بلاست‌های BM دارای ۵-۱ گرانول سیدرو تیک هستند که به صورت رندوم در سطح سیتوپلاسم سلول قرار می

گیرند. در شرایط غیرطبیعی (مثل آنمی سیدرو بلاستیک، MDS:RCMD-RS و MDS:RARS) درصد سیدرو بلاست‌ها به بیش از ۶۰٪ و تعداد سیدروزوم‌ها به بیش از ۵ گرانول افزایش یافته، مصرف آهن در میتوکندری‌ها مختل و آهن در داخل میتوکندری‌های اطراف هسته به صورت حلقوی رسوب می‌کند که همان‌طوری که اشاره شد، به این نوع از سیدرو بلاست‌ها، سیدرو بلاست‌های حلقوی (Ring Sideroblast) گفته می‌شود. طبق تعریف استاندارد، سه نوع سیدرو بلاست وجود دارد:

سیدرو بلاست نوع I: سیدرو بلاست‌هایی هستند که کمتر از ۵ گرانول سیدروزومی دارند.

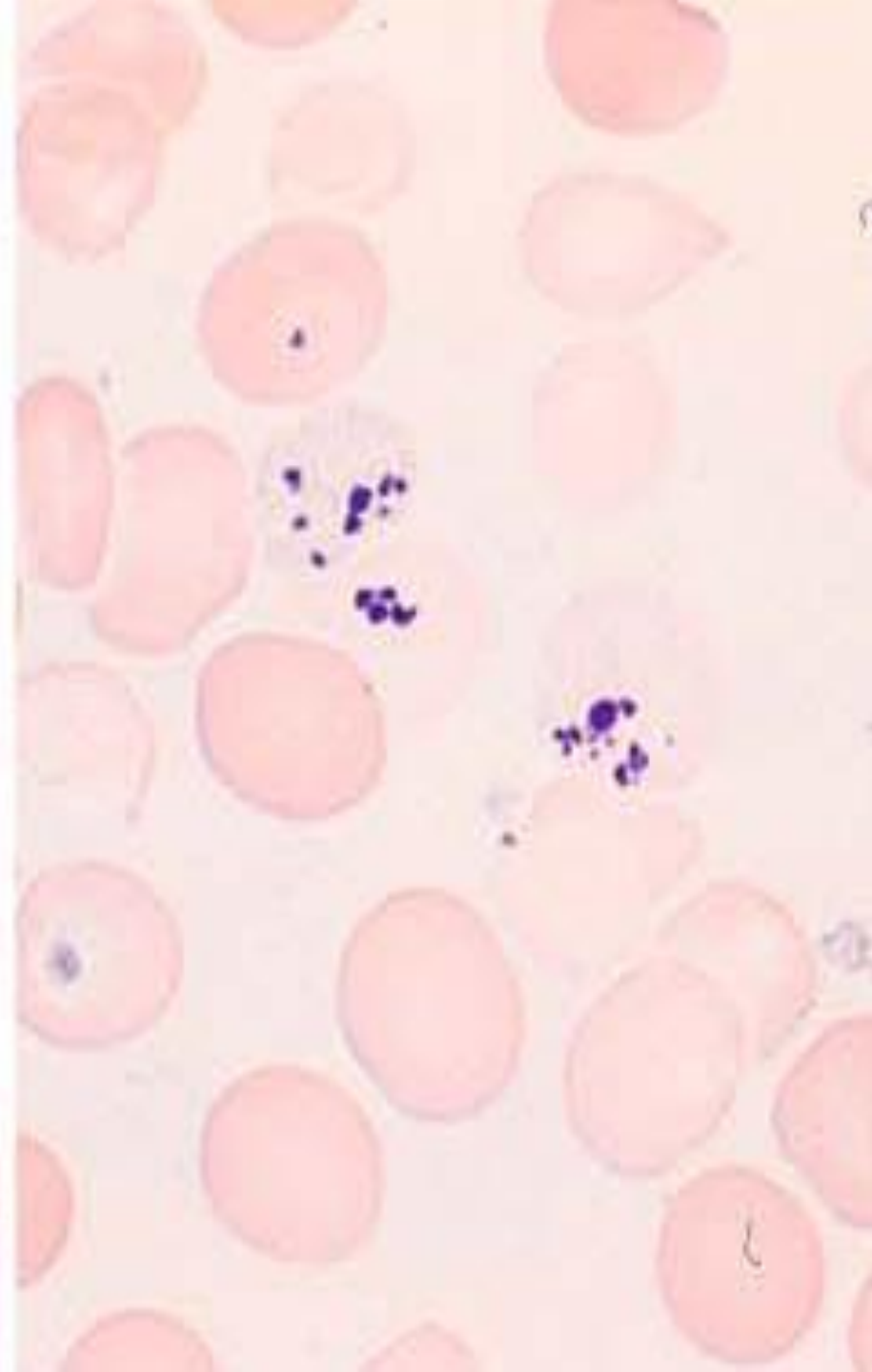
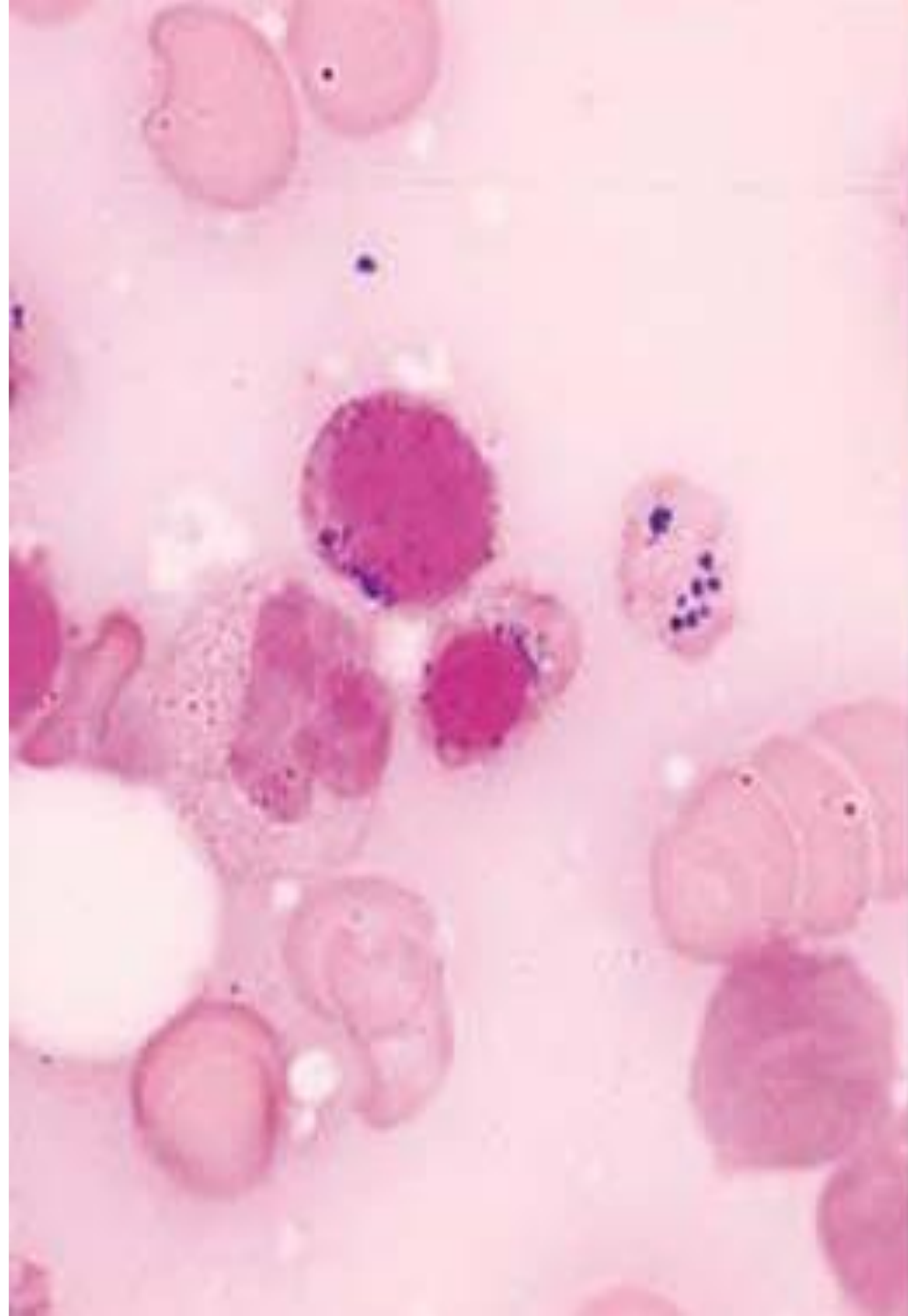
سیدرو بلاست نوع II: سیدرو بلاست‌هایی هستند که بیشتر یا مساوی ۵ گرانول سیدروزومی دارند ولی پراکندگی آنها در داخل سلول، رندوم بوده و گرانول‌ها در اطراف هسته مستقر نمی‌شوند.

سیدرو بلاست نوع III یا سیدرو بلاست‌های حلقوی: سیدرو بلاست‌هایی هستند که حداقل دارای ۵ گرانول سیدروزومی هستند که این ۵ گرانول می‌توانند دورتادور هسته، در یک ناحیه از اطراف هسته و یا در یک سوم از اطراف هسته مستقر شوند و پراکندگی رندومی ندارند.

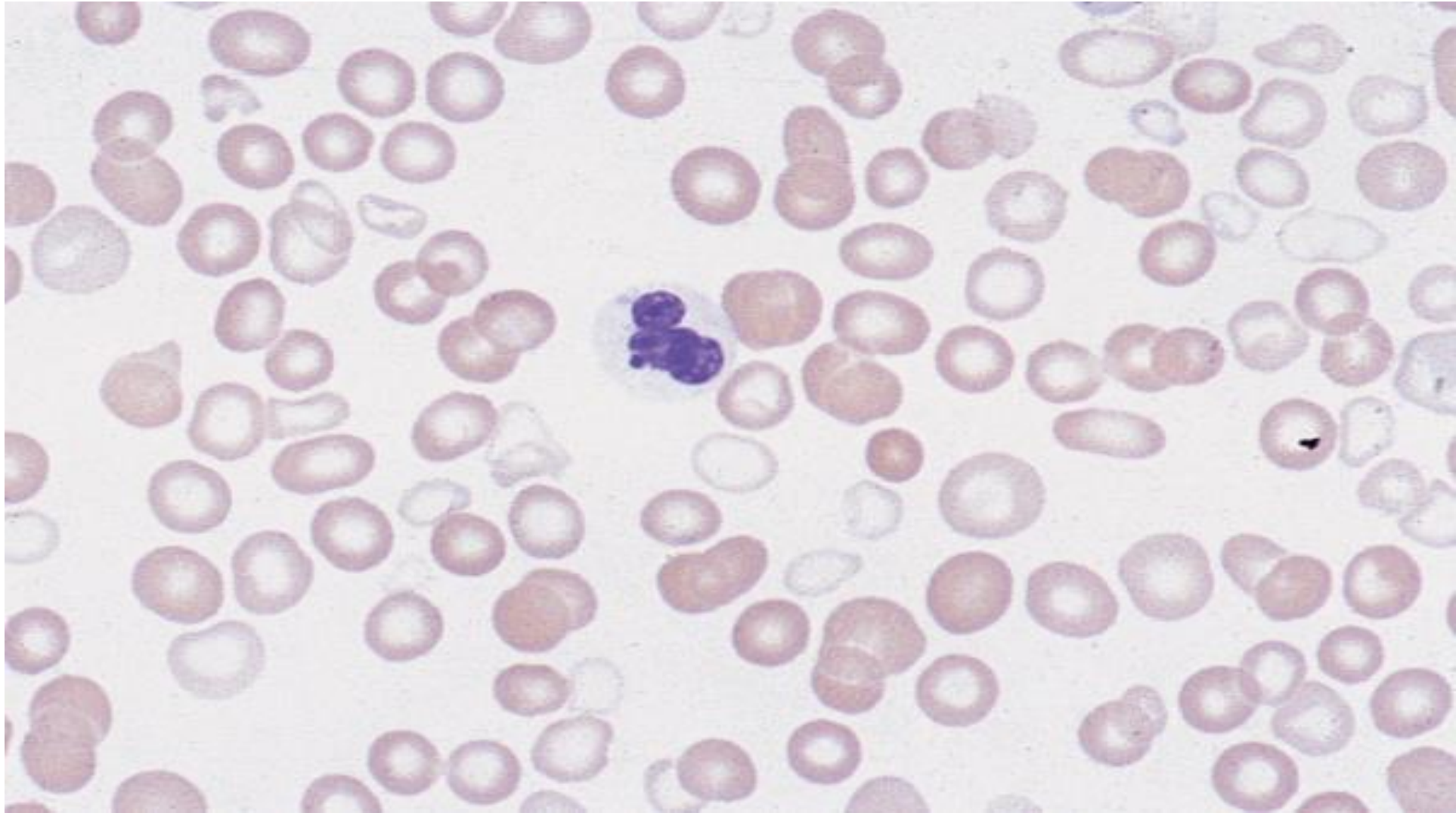


No siderotic granules type 1 sideroblast (1 granule)

type 3 sideroblast (numerous granules)



Acquired sideroblastic anaemia (refractory anaemia with ring sideroblasts). Shows a dimorphic blood film with a mixture of normochromic normocytic cells and hypochromic microcytes; there are also several polychromatic macrocytes

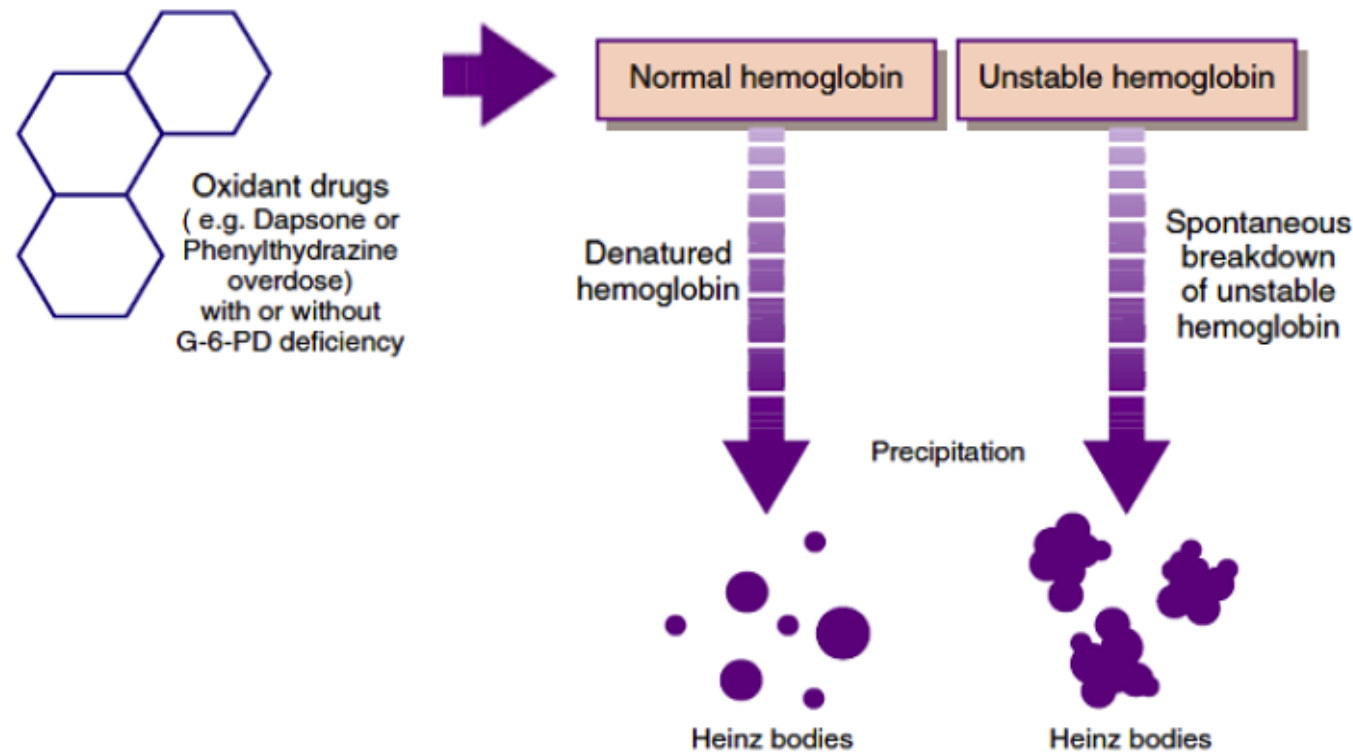


Siderocytes

- Siderocytes are erythrocytes that contain iron granules detectable with iron staining.
- They are a common feature of severe hemolytic anemias, lead poisoning, and pernicious anemia.
- Siderocytes containing coarse iron granules, which may encircle the nucleus are pathognomonic for sideroachrestic anemias.
- Normal blood contains 0.5–1 siderocyte per 1000 red cells.
- **Left:** At the center is a siderocyte containing several
 - large iron granules and two sideroblasts also
 - containing coarse iron granules, which normally
 - are very small and difficult to see.
- **Right:** At the center are three erythrocytes with
 - numerous gray-violet granules that contain
 - iron (Pappenheimer bodies). This is a clear-cut
 - pathologic finding that is rarely observed

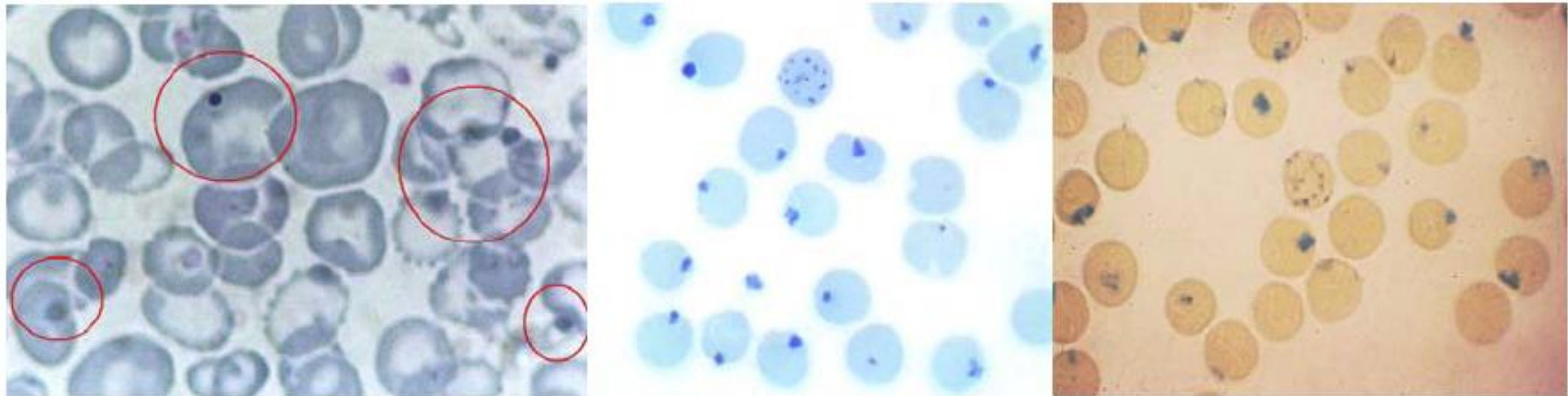
اجسام هاینز (Heinz Body):

اجسام هاینز بقایای دناتوره هموگلوبین هستند که در اثر اکسیداسیون، سولفوراسیون، هموگلوبینوپاتی‌ها و اختلالات سنتز گلوبین به وجود می‌آیند و در هر دوی اریتروسیت‌ها و گاهی رتیکولوسیت‌ها نیز قابل رویت هستند ولی برای مشاهده آن نیاز به استفاده از رنگ‌آمیزی حیاتی (مثل نیومتیلن بلو، بریلیانت کریزل بلو و آبی نایل) بوده و با رنگ‌های معمولی رومانفسکی چندان قابل مشاهده نیستند. البته به ندرت و در برخی موارد شدید مثل آلفا تالاسمی، بیماری Hb-H و فاویسم شدید نیز می‌توان هاینز بادی را در رنگ‌آمیزی رایت مورد مشاهده قرار داد. هاینز بادی‌ها اجسامی هستند نامنظم، بزرگتر از هاول جولی و با سایه سبز-آبی تیره که اغلب متصل به پروتئین باند III غشاء بوده و در محل اتصال به غشاء باعث یک برجستگی به سمت بیرون غشاء می‌شوند. تعداد هاینز بادی‌ها در هر اریتروسیت بسته به اتیولوژی آن می‌تواند منفرد یا متعدد باشد. میزان هاینز بادی در کمبود آنزیم G6PD (فاویسم)، کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی RBCها، مصرف داروهای اکسیدان (مثل داپسون و فیل تیدرازین)، متعاقب اسپلنکتومی، تالاسمی‌ها و در هموگلوبینوپاتی‌ها (مثل هموگلوبین‌های ناپایدار و هموگلوبین بارتز) مشاهده می‌شود و کمبود ATP داخل سلولی مثل فقر پیرووات کیناز قادر به ایجاد هاینز بادی نیست.

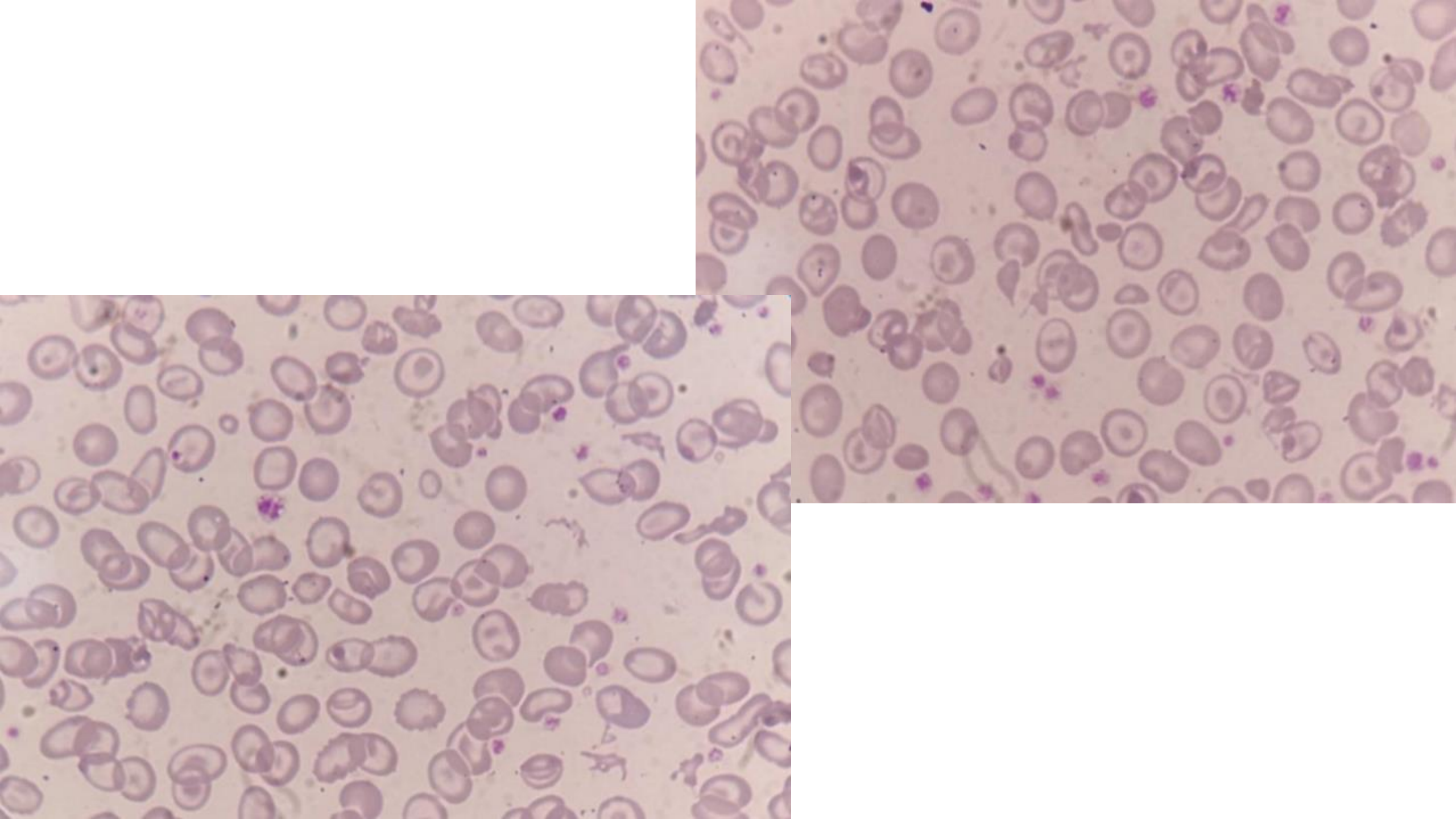


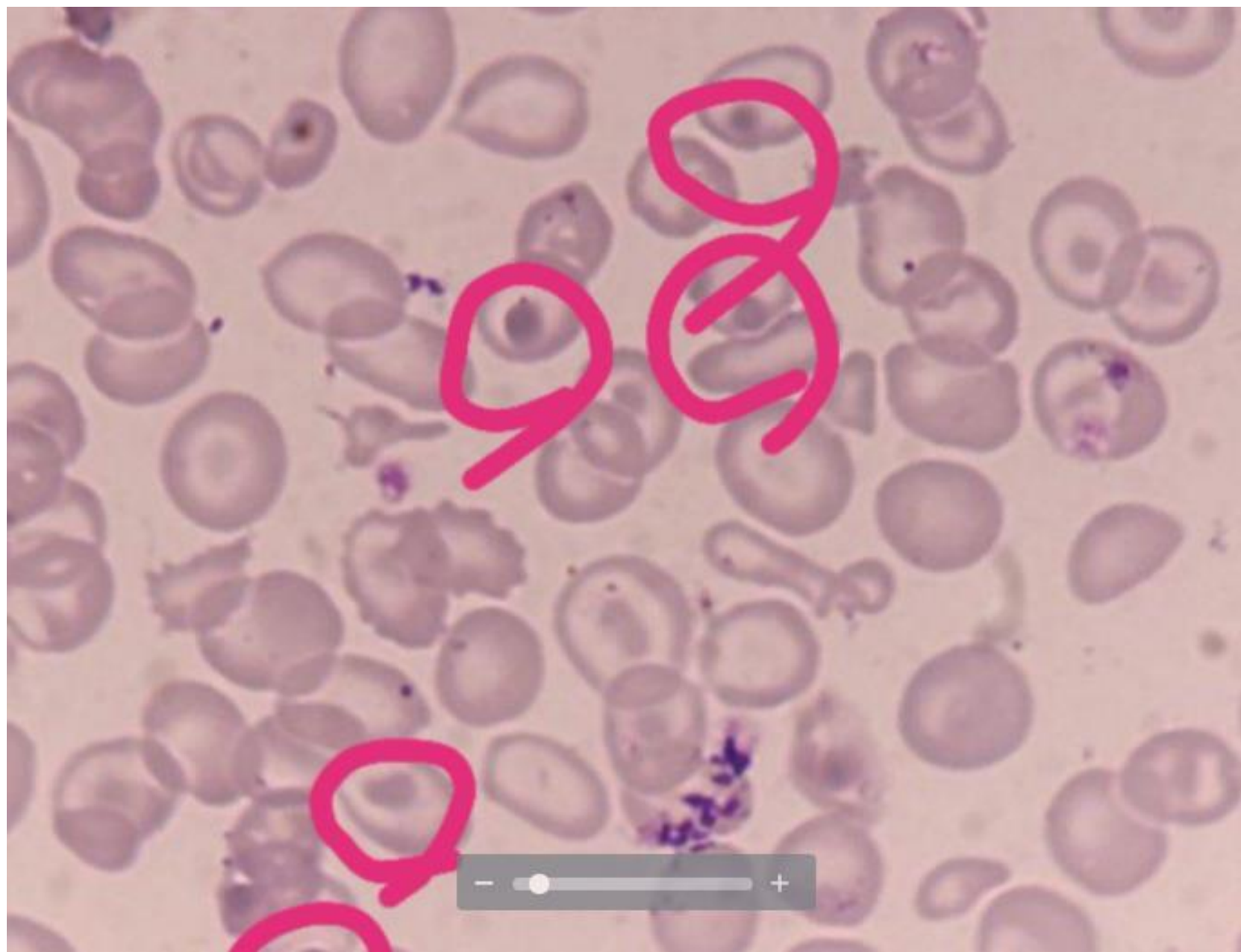
فیکساسیون با متانول یا رنگ آمیزی پس زمینه گسترش خون رنگ شده با رنگ آمیزی حیاتی توسط رنگ های رومانفسکی قادر است باعث کمرنگ یا مح شدن اجسام هاینز شود و از آنجایی که رتیکولوسیت ها و هاینزبادی ها هر دو طی رنگ آمیزی حیاتی قابل رویت بوده و ممکن است باهم تداخل داشته باشند لذا از این روش ممکن است برای تفکیک آنها استفاده شود، به طوری که بعد از شمارش رتیکولوسیت ها، گسترش را با متانول فیکس کرده و مجدداً مورد بررسی قرار می دهند تا هاینزبادی های احتمالی از گرانول ها یا فیلامنت های رتیکولوسیتی تفکیک داده شوند. البته در این شرایط رتیکولوسیت ها نیز اندکی کمرنگ می شوند ولی مثل هاینزبادی ها محو نمی شوند.

برای رنگ آمیزی اختصاصی اجسام هاینز از رنگ **بریلیانت سبز (Brilliant Green)** استفاده می شود. برای این منظور ابتدا ۵۰ لاند خون را با ۵۰ لاند رنگ قرمز خنثی (Neutral Red) ۰/۵٪ مخلوط و بعد از ۵ دقیقه انکوباسیون، ۵۰ لاند بریلیانت سبز ۰/۵٪ به آن افزوده (رنگ پس زمینه) و تا ۱۰ دقیقه انکوبه می کنیم. سپس چندین گسترش ضخیم از آن تهیه نموده و در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار می دهیم که در این رنگ آمیزی هاینزبادی ها به رنگ **سبز** و گرانول های رتیکولوسیتی و اجسام هاول جولی به رنگ **قرمز تیره** مشاهده می شوند.



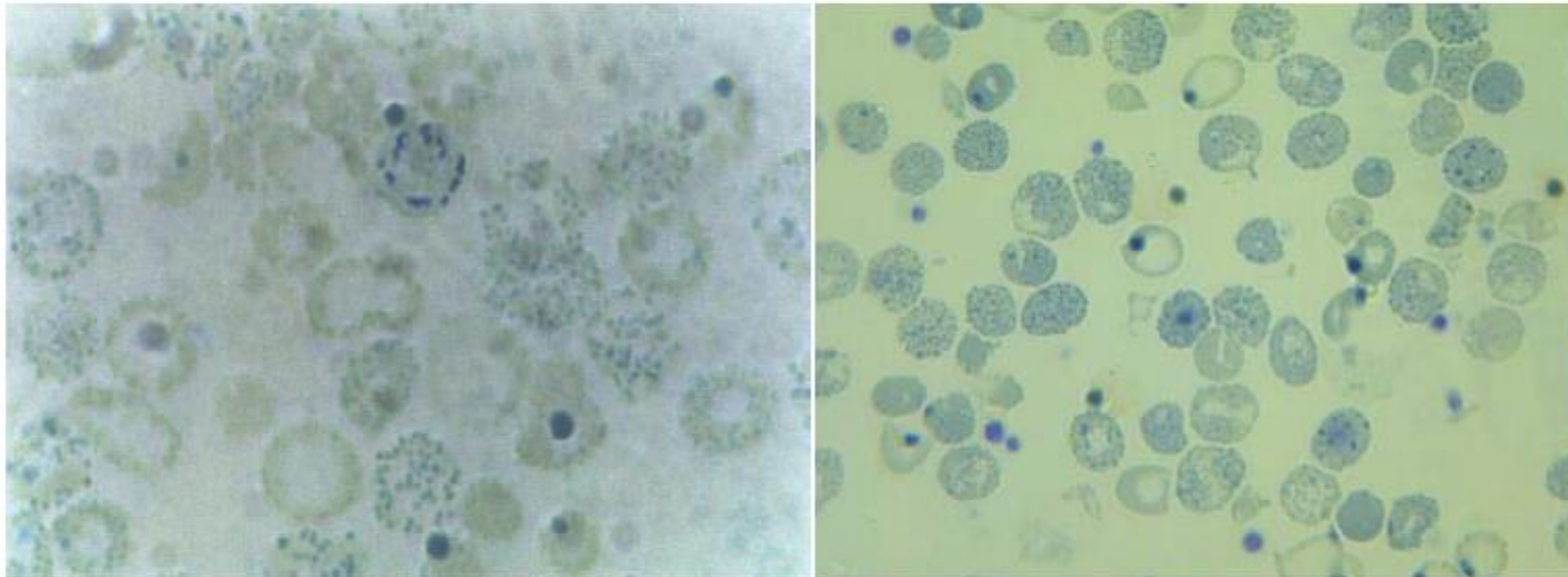
شکل ۶۱-۷: مشاهده اجسام هاینز در رنگ آمیزی حیاتی (تصویر راست و وسط) و رنگ رومانفسکی گیمسا (تصویر چپ)





در هموگلوبین زوریخ ($\beta 93: \text{His} \rightarrow \text{Arg}$) جهش هیستیدین متصل شونده به حلقه Hb-H به اسید آمینه آرژنین باعث یک نوع هموگلوبینوپاتی ناپایدار می شود که سلول های آنها در برخورد با برخی داروها یا عفونت ها، گرانولهای را در داخل خود نشان می دهند که شبیه هاینzbادی ولی بزرگتر از آن بوده و باعث کاهش عمر اریتروسیت ها می شوند. به این اجسام، **گرانول های زوریخ** نیز گفته می شود.

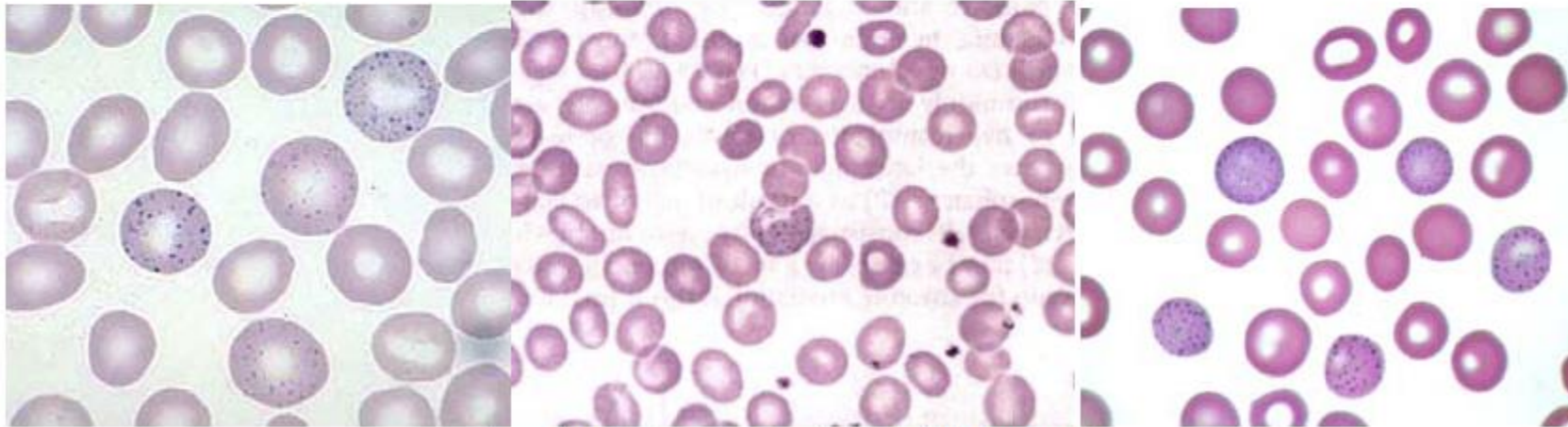
بجز هاینzbادی، اجسام رتیک و گرانول های زوریخ، گرانول های Hb-H نیز وجود دارند که با رنگ آمیزی حیاتی رنگ می شوند. این گرانول ها نه در رنگ آمیزی رومانفسکی و نه در گسترش رنگ نشده قابل رویت نبوده و برای رنگ آمیزی با رنگ حیاتی نیز به دمای 37°C درجه و زمان طولانی نیاز دارند تا گرانول ها به خوبی رنگ شوند. تعداد این گرانول ها بسیار زیاد بوده و گاهی کل سطح سلول را پوشانده و به آن منظره **توپ گلف**^۱ را می دهد (شکل ۶۲-۷). بیماری هموگلوبین H نوعی تالاسمی آلفا است که در آن کاهش شدید زنجیره آلفا باعث تترا میرزه شدن زنجیره های بتا شده ($\alpha_2\beta_2$) و تترا مرهای β_4 باعث تشکیل گرانول های Hb-H به اندازه $0/4 - 0/2$ میکرون می شوند. هموگلوبین H و گرانول های ناشی از آن، ناپایدار بوده و سریعاً در داخل سلول رسوب می کنند که در رنگ حیاتی قابل رویت خواهند بود. در دوران نوزادی این بیماران که هنوز زنجیره بتا بطور کامل سنتز نمی شود، زنجیره گامای جنینی بجای زنجیره بتا تترا میرزه شده و تشکیل **هموگلوبین بارتز** (γ_4) را می دهند که برخلاف Hb-H توانایی ایجاد منظره گلف بال را ندارد.



شکل ۶۲-۷: مشاهده همزمان فیلامنت های رتیکولوسیت، اجسام هاینز و منظره توپ گلف در رنگ آمیزی حیاتی

بازوفیلیک استیپلینگ یا بازوفیلی منقوبه (Basophilic Stippling):

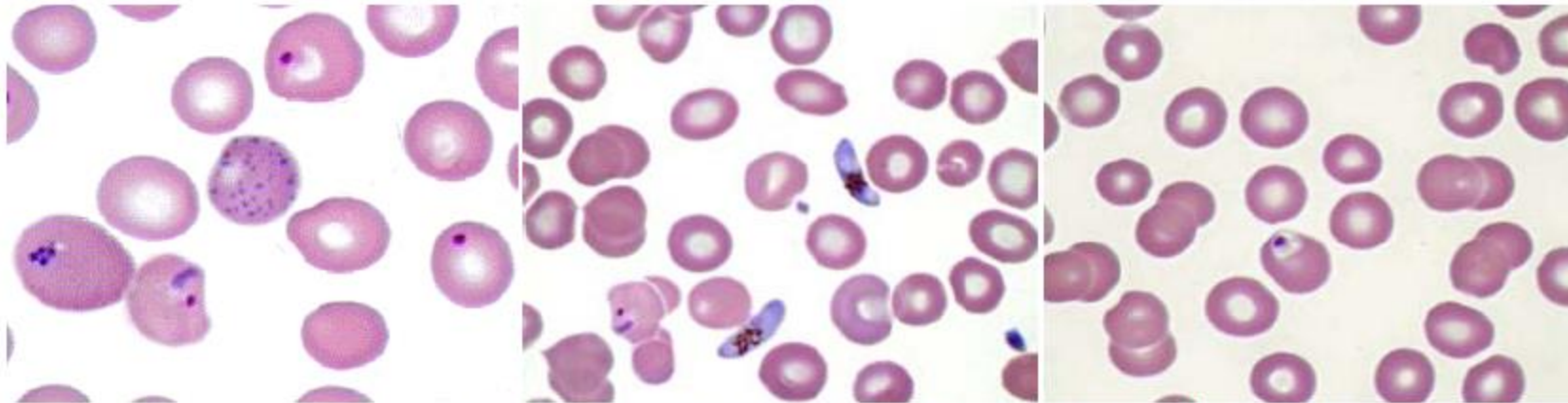
این مورد با حضور گرانول‌های بازوفیلیک (آبی رنگ) نامنظم که از ظریف (fine) تا خشن (coarse) متغیر هستند، مشخص می‌شود. این گرانول‌ها رسوبات پاتولوژیک از جنس RNA و ریبوزوم‌های سیتوپلاسمی هستند که با رنگ رایت (رومانفسکی) به صورت دانه‌های کوچک آبی پررنگ دیده می‌شوند. اریتروسیت‌هایی که حاوی BS هستند ممکن است یا رنگ طبیعی داشته باشند و یا اینکه همانند رتیکولوسیت، رنگ پلی‌کروماتوفیلی را نشان دهند. فرم ظریف بازوفیلیک استیپلینگ هنگام پرکاری BM و بروز پلی‌کروماتوفیلی (رتیکولوسیتوز) و توأم با افزایش تولید گلبول‌های قرمز مشاهده شده ولی فرم خشن آن در مسمومیت با سرب (پلومبیسزم)، نقص در سنتز هموگلوبین، نقص آنزیم پریمیدین 5' نوکلوتیداز، در آنمی مگالوبلاستیک، ابتلاء به مالاریا و دیگر اشکال آنمی شدید مشاهده می‌شود و بطور کلی نشانه ناپایداری غیرطبیعی RNA در گلبول‌های قرمز جوان است. بیشترین میزان BS را می‌توان در نقص ارثی آنزیم پریمیدین 5' نوکلوتیداز مشاهده نمود. این آنزیم بعد از خروج هسته از اورتوکروماتوفیلیک نورموبلاست با تجزیه ریبوزوم‌ها و RNAهای باقی مانده در رتیکولوسیت باعث تبدیل رتیک به RBC بالغ می‌شود که در نقص آن، این فرآیند ناقص مانده و بقایای ریبوزومی بصورت BS مشاهده می‌شوند. البته BS در رنگ‌آمیزی حیاتی نیز قابل مشاهده است.



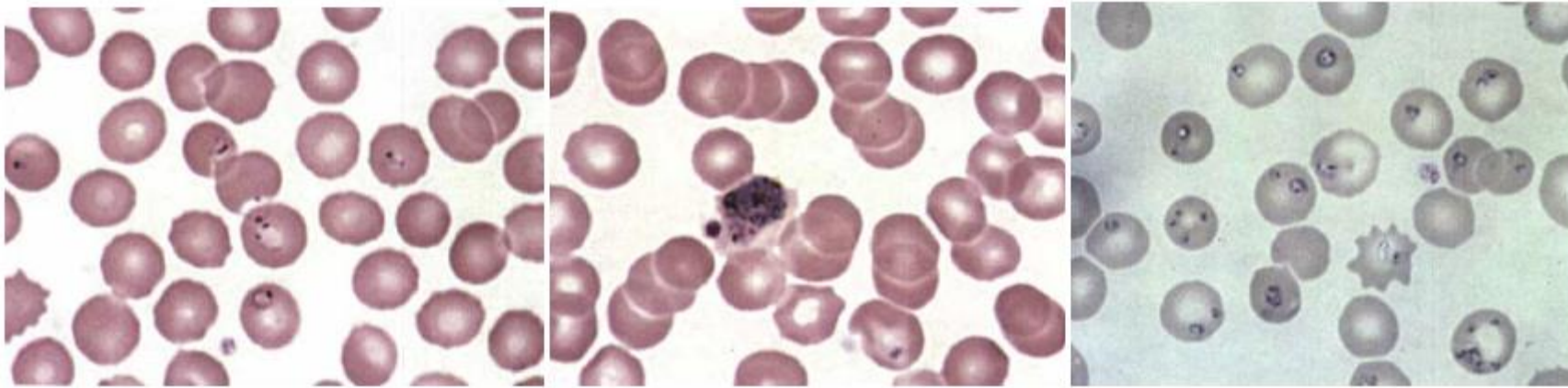
شکل ۶۳-۷: بازوفیلیک استیپلینگ در اریتروسیت‌های قرمز و کبود رنگ

نقطه نقطه شدن مالاریایی (دانه‌های هماتین یا هموزئین مالاریایی):

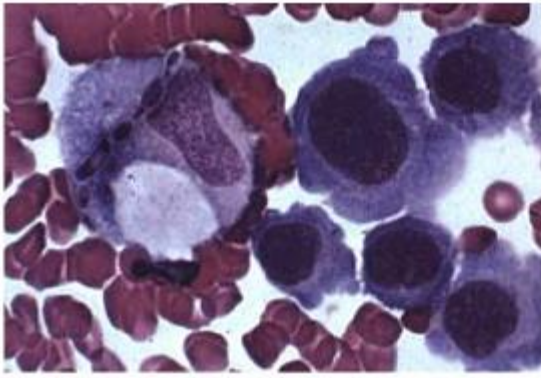
گرانول‌های منقوط ظریف یا خشن ممکن است در اریتروسیت‌هایی که پناهگاه پلاسمودیوم ویواکس یا دیگر پلاسمودیوم‌ها (فالسیپاروم، مالاریه و اوواله) هستند نیز ظاهر شوند. در آلودگی با پلاسمودیوم‌های ویواکس و اوواله، گرانول‌ها یا دانه‌های **شوفر**^۱ در رنگ‌آمیزی با رنگ رایت، به رنگ قرمز ارغوانی درمی‌آیند. این نقاط ممکن است آن قدر زیاد باشند که تقریباً روی انگل‌ها را هم بپوشانند. برخلاف دانه‌های شوفر، دانه‌های **مورر**^۲ ناشی از پلاسمودیوم فالسیپاروم ضخیم، خشن و بنفش تیره دیده می‌شوند. دانه‌های **زیمن**^۳ ناشی از پلاسمودیوم مالاریه نیز همانند دانه‌های شوفر به صورت ریز، ظریف و به رنگ قرمز مایل به بنفش دیده می‌شوند. به دلیل تمایل پلاسمودیوم ویواکس برای حمله به رتیکولوسیت‌ها، این سلول‌ها قاعدتاً بزرگتر از اندازه طبیعی خواهند بود، برعکس پلاسمودیوم مالاریه تمایل به حمله به اریتروسیت‌های پیر و کوچک دارد. شیزونت‌های مالاریایی به دلیل خاصیت دپلاریزاسیونی که دارند، اغلب در دستگاه‌های سل کانتر بعنوان لکوسیت و بیشتر بعنوان ائوزینوفیل شمارش می‌شوند. از این رو در این بیماران ائوزینوفیلی کاذب نیز مشاهده می‌شود. گاهی نیز جدای از شیزونت‌ها و تروفوزوئیت‌ها، گامت‌های انگل طی مرحله گامتوگونی وارد خون می‌شوند که اغلب در شمارش دستگاهی به عنوان پلاکت شمارش می‌شوند. مشاهده سایر انگل‌های خونی مثل تریپانوزوما، لیشمانیا، وشریا، میکروفیلرها و برولیا نیز در خون امکان پذیر است که بسته به شیوع آن در منطقه می‌تواند کم یا زیاد باشد. بررسی انگل‌های خونی در فصل مربوط به انگل‌های خونی به تفصیل شرح داده شده است.



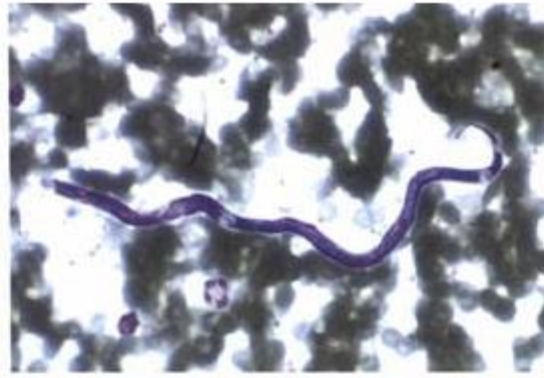
شکل ۶۴-۷: رینگ، گامت و دانه‌های هماتین مالاریایی که مشابه بازوفیلیک منقوط در داخل و خارج گلبول‌های قرمز مشاهده می‌شوند.



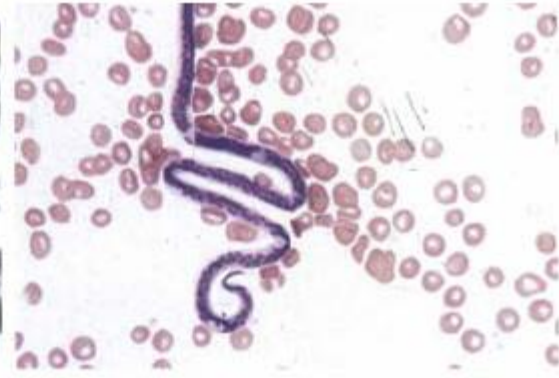
شکل ۶۵-۷: شیزونت و رینگ‌های مالاریایی



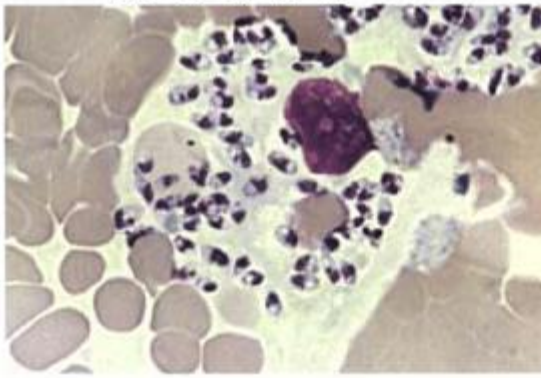
کاندیدیا آلبیکنس داخل ماکروفاژ



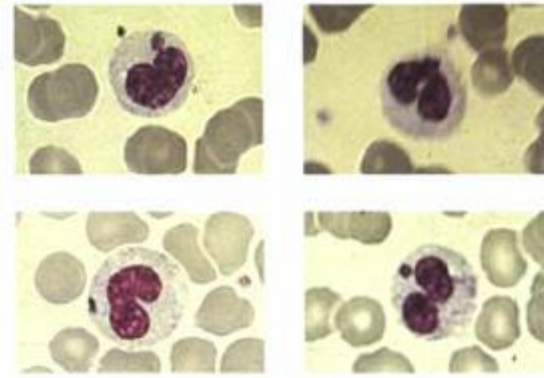
میکروفیلار لوآلوا



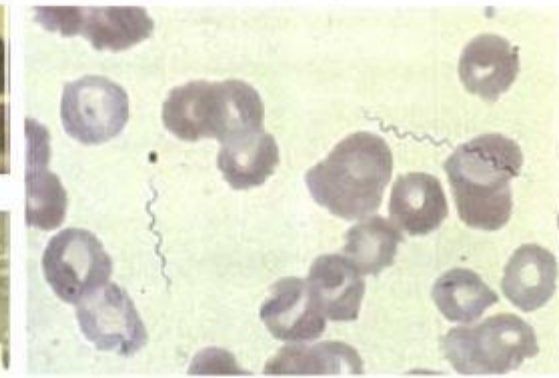
وشریا بانکر وفعی



لیشمن بادی داخل ماکروفاژ



اولیشیوز داخل سلولی



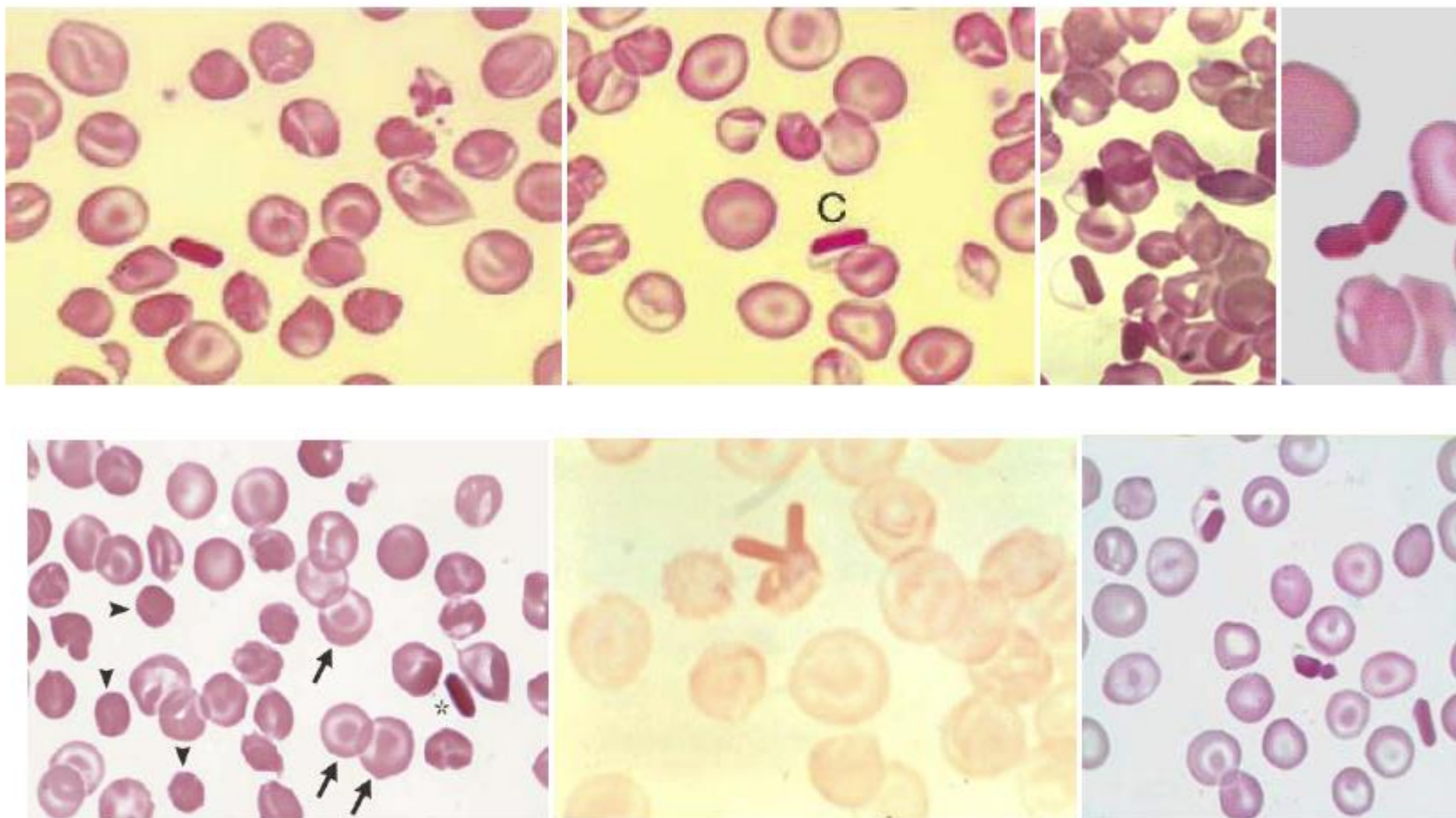
برولیا

شکل ۶۶-۷: تعدادی از انگل‌های خونی نادر در گستره خون محیطی و BM

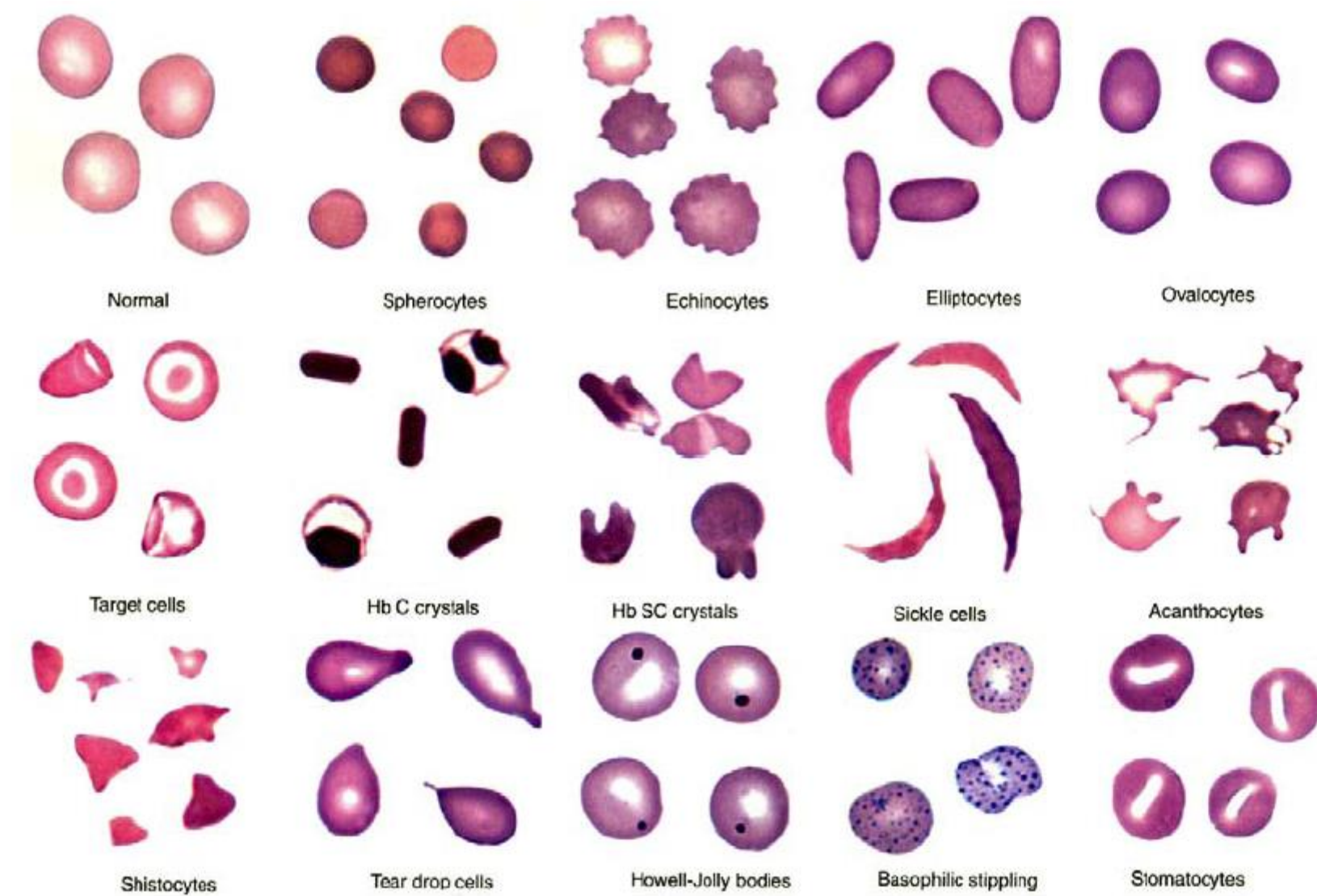
کریستال‌های هموگلوبینی داخل و خارج از گلبول‌های قرمز:

این ساختارها کریستال‌های ۴-۶ ضلعی (تتراگونال یا هگزاگونال) یا باسیلی فرم به رنگ قرمز مایل به قهوه‌ای مات هستند که در افراد دچار بیماری Hb-C و بخصوص در شرایط توأم با اسپلنکتومی دیده می‌شوند. این کریستال‌ها می‌توانند در داخل یا خارج از RBC ها قرار بگیرند و اغلب حدود ۱۰٪ از اریتروسیت‌ها را درگیر می‌سازد. در افرادی که طحال طبیعی دارند، این کریستال‌ها به ندرت مشاهده می‌شوند، چرا که قرارگیری کریستال‌ها در شرایط هیپوکسیک طحال باعث حل شدن و حذف مجدد کریستال C می‌شود (برخلاف S). کریستال‌های مربوطه در شرایط ترکیبی Hb-SC انحناء پیدا کرده و اندکی داسی شکل می‌شوند.

در شرایط In Vitro دهیدراتاسیون سلول‌های اریتروئیدی بیماران Hb-C برای مدت ۲۴ ساعت یا قرارگیری سلول‌ها در یک محیط هیپرتونیک (بافر ۳٪ NaCl) به مدت ۴-۱۲ ساعت می‌تواند باعث تشکیل کریستال هموگلوبینی شود. در بیماری Hb-C هموزیگوت، ۷۵٪ بیماران ممکن است بجز کریستال، اریتروسیت‌های مچاله‌شده‌ای را نیز نشان بدهند. درصدهای پایین‌تر کریستال نیز در بیماری‌های Hb-CS و سایر واریانت‌های Hb-C مشاهده می‌شوند. البته بجز Hb-C، در هموگلوبین Hb-Setif نیز شرایط هیپرتونیک می‌تواند باعث تشکیل کریستال شود. سلول‌ها وقتی در شرایط هیپرتونیک قرار می‌گیرند، چروکیده شده و قسمت‌های مقعرالطرفین داخلی RBC به یکدیگر متصل می‌شوند و سلول کاملاً کوچک و مشابه کریستال می‌شود. درمقابل، قرارگیری سلول در شرایط هیپوتونیک (هیپواسمولار) باعث ایجاد حفرات 10 nm ($100\text{ \AA}$) و خروج مقداری هموگلوبین می‌شود که با خروج هموگلوبین و بروز همولیز مجدداً حفرات مسدود می‌شوند.



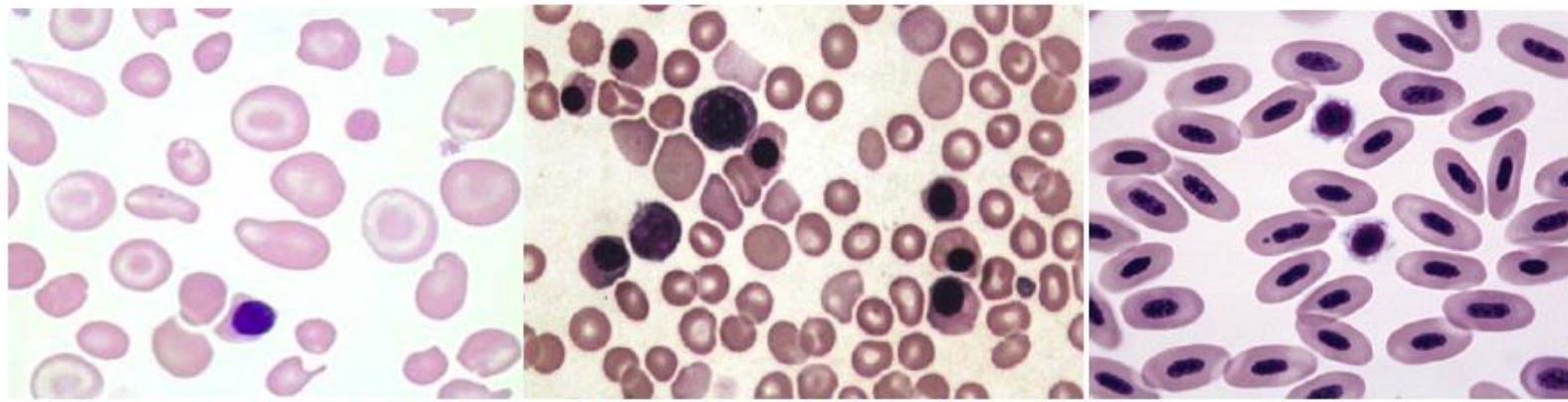
شکل ۶۷-۷: تصاویر مختلفی از کریستال‌های ۶ و ۴ وجهی داخل و خارج سلولی که در فرم هموزیگوت بیماری Hb-C مشاهده می‌شوند. برخلاف کریستال C، تارگت‌سل‌ها و سلول‌های مچاله شده به وفور در این بیماری مشاهده می‌شوند. در این بیماری RDW تا ۲۸٪ هم بالا می‌رود.



شکل ۶۹-۷: انواع مختلف پوئیکیلوسیتوز در خون محیطی

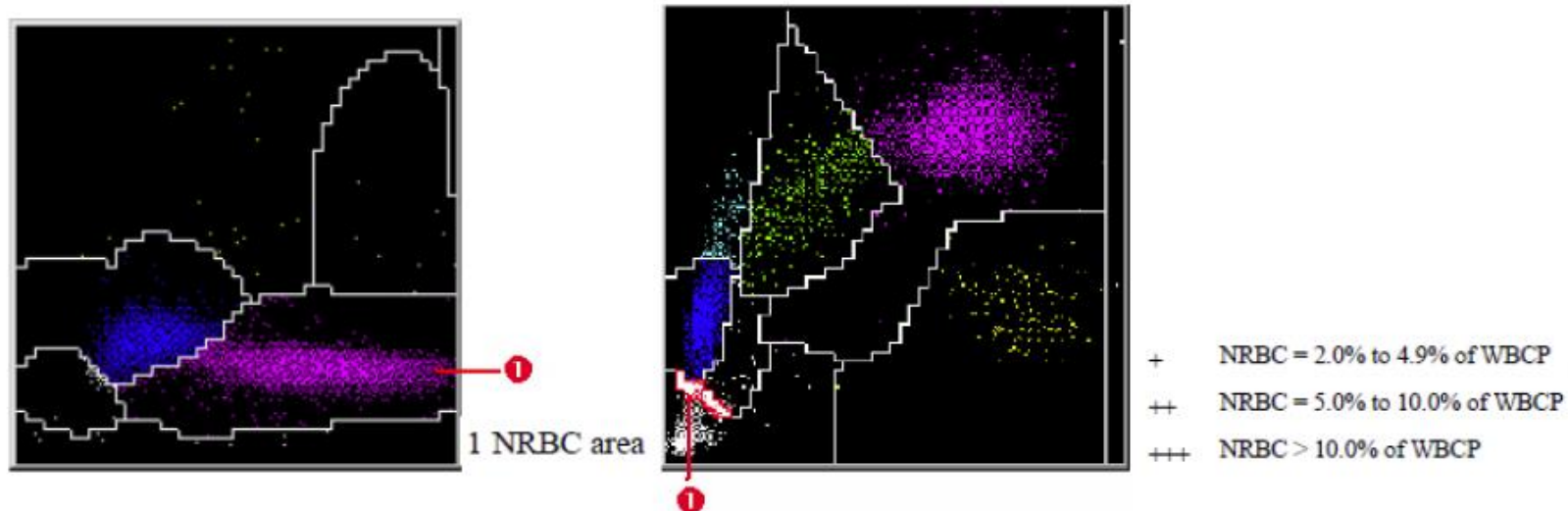
گلبول‌های قرمز هسته‌دار:

برخلاف اریتروسیت‌های مهره‌داران پست (مثل ماکیان یا پرندگان) و برخلاف بیشتر سلول‌های بدن پستانداران، اریتروسیت‌های بالغ فاقد هسته هستند. پلاکت‌ها و سلول‌های عدسی چشم نیز از جمله سلول‌های فاقد هسته بدن محسوب می‌شوند. گلبول‌های قرمز هسته‌دار در حقیقت مرحله پره‌کورسوری (پیش‌سازی) از تمایز اریتروئیدی است که دوره قبل از رتیکولوسیت را شامل می‌شود. گلبول‌های قرمز هسته‌دار نوعی نورموبلاست هستند که در آن سیتوپلاسم به رنگ قرمز اریتروئیدی تبدیل شده است، لذا عمدتاً اورتوکروماتوفیلیک نورموبلاست و گاهی پلی کروماتوفیلیک نورموبلاست را شامل شده و کمتر به نورموبلاست‌های با سیتوپلاسم آبی (پرو نورموبلاست و بازوفیلیک نورموبلاست) اطلاق می‌شوند، لذا به آنها **N-RBC** نیز گفته می‌شود. نورموبلاست‌ها به طور طبیعی تنها در خون جنین و شیرخواران بسیار کوچک حضور داشته و در خون محیطی افراد بالغ طبیعی مشاهده نمی‌شوند. در انسان بالغ، نورموبلاست‌ها به طور طبیعی، فقط در مغز استخوان یافت می‌شوند و در خون محیطی، مگر در دوران خونسازی شدید (مثل هموگلوبینوپاتی‌ها و آنمی همولیتیک) یا خونسازی اکسترامدولاری (مثل میلو فیبروز، MDS، آنمی‌های میلو فیتزیک و نئوپلاسم‌های خونی) مشاهده نمی‌شوند. تعداد بالای N-RBC نیز به‌طور خاص در بیماری همولیتیک نوزادان (اریترو بلاستوز جنینی)، هموگلوبینوپاتی‌ها و تالاسمی ماژور یافت می‌شوند. N-RBC ها اغلب با لنفوسیت‌ها اشتباه می‌شوند، اشتباهی که معمولاً با مشاهده دقیق تراکم هسته می‌توان از آن جلوگیری نمود. **مگالوبلاست** سلول اریتروئیدی هسته‌دار و تمایز یافته‌ای است که نه فقط با اندازه و حجم بزرگتر، بلکه با الگوی کروماتین باز غیرطبیعی خود شناخته می‌شود. مگالوسیت‌ها در مغز استخوان طبیعی یافت نمی‌شوند، اما به طور مشخص در مغز استخوان و گاهی خون بیماران مبتلا به آنمی پرنیسیوز یا دیگر آنمی‌های مگالوبلاستیک مشاهده می‌شوند.



شکل ۷۰-۷: (راست) گلبول‌های قرمز یک پرند (طوطی) که ذاتاً هسته دار و الیتوسیت هستند و مقایسه آن با N-RBCهای غیرطبیعی انسانی (شکل میانی و چپ).

N-RBCها در دستگاه‌های سل‌کانتر سری تکنیکون و Advia دارای پنجره خاصی در هر دو کانال بازوفیل (در منتهی الیه سمت راست) و کانال پراکسیداز (در پنجره بین لنفوسیت و نويز) هستند که در کانال بازوفیل براساس تراکم بالای هسته تک لوبه خود و در کانال پراکسیداز براساس سایز کوچک و فقدان آنزیم MPOX تشخیص داده می‌شوند. البته شمارش سلول‌های موجود در پنجره N-RBC کانال پراکسیداز، جزء شمارش نهایی WBC محسوب نشده و لذا لکوسیتوز کاذب ناشی از شمارش غلط N-RBCها ایجاد نمی‌شود. دستگاه‌های سل‌کانتر معمولاً در مقادیر $N-RBC > 2\%$ اعلام هشدار یا فلاگ می‌کنند.

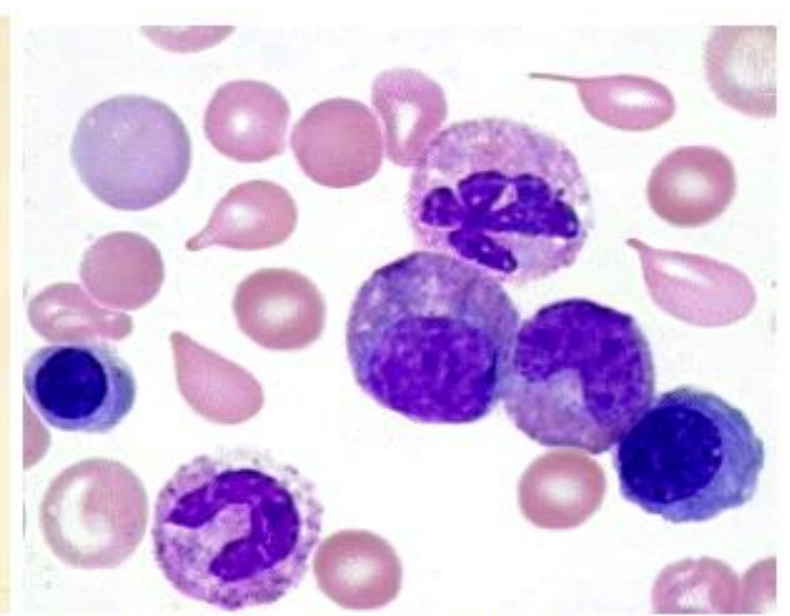
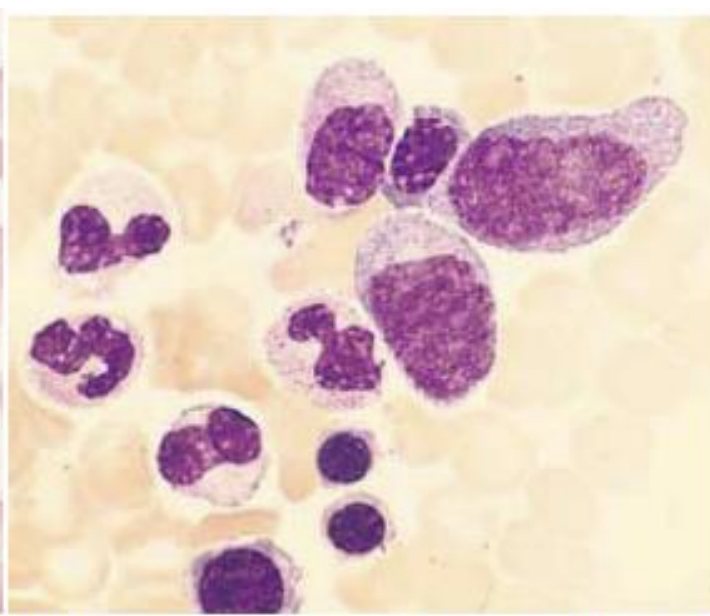
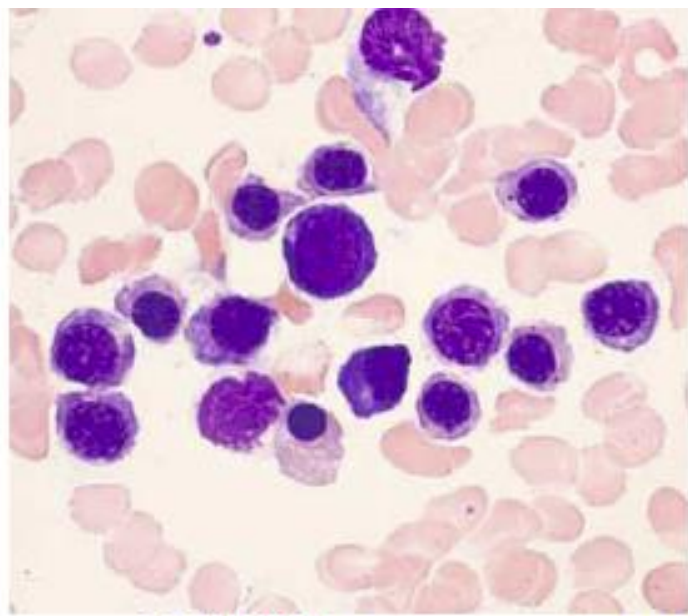


شکل ۷۱-۷: N-RBCهای غیرطبیعی انسانی در دو کانال پراکسیداز و کانال بازوفیل Advia-2120

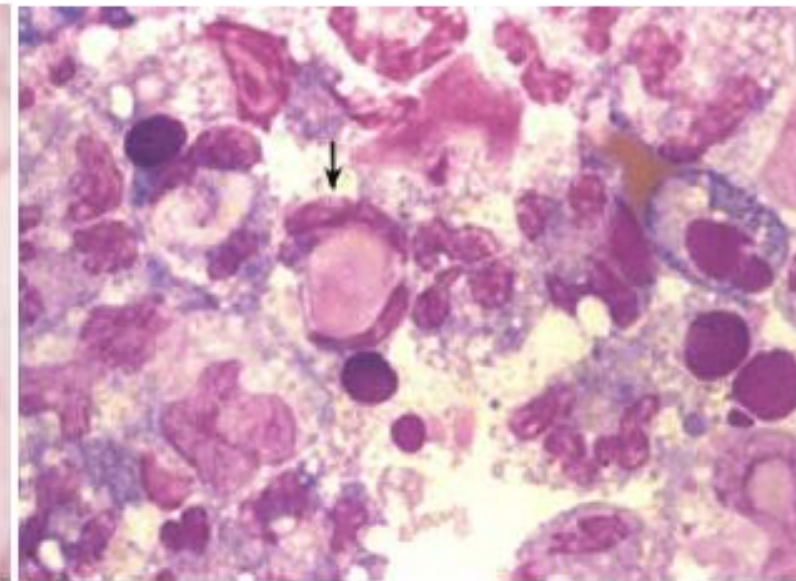
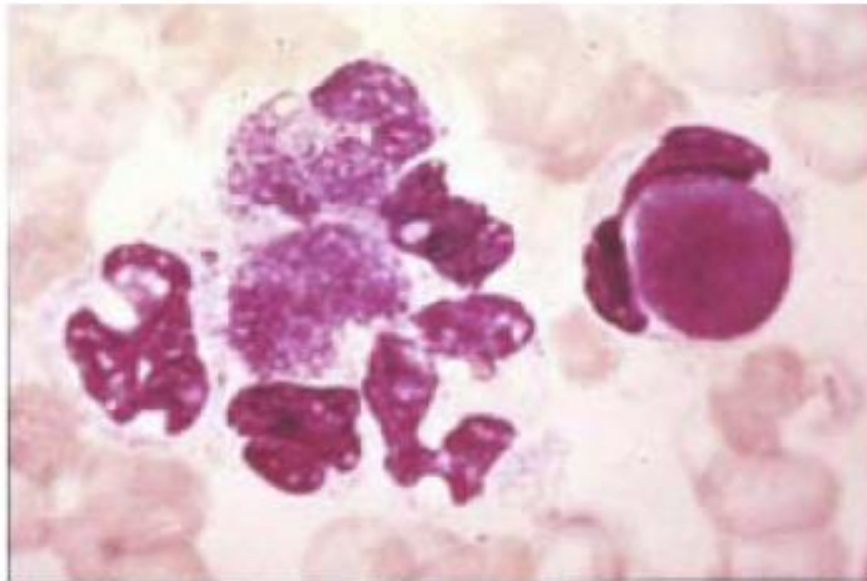
واکنش لکواریتروبلاستیک:

حضور توأم نورموبلاست‌ها (اریتروبلاستوز) و سلول‌های نابالغ رده نوتروفیلی (شیفت به چپ نوتروفیلی یا باندمی) در خون محیطی را واکنش لکواریتروبلاستیک می‌نامند. این پدیده اغلب نشان دهنده ضایعات فضاگیر مغز استخوان (آنمی‌های میلوپیتزیک) از قبیل میلوپیبروز توأم با متاپلازی میلوئید (MMM)، بیماری گوشه یا نیم‌پیک و دیگر اختلالات مشابه است. با این وجود بیش از یک سوم بیماران مبتلا به واکنش لکواریتروبلاستیک ممکن است بیماری‌های بدخیم یا بالقوه بدخیم نداشته باشند. بطور کلی این واکنش در ارتشاح BM، لنفوم (هوچکین و غیرهوچکین)، میلوم، کالآزار، اختلالات میلوپرولیفراتیو (به‌خصوص در PMF)، ALL، AML، MDS، گرانولوماتوز BM در توبرکلوزیس، بیماری‌های ذخیره‌ای گوشه و نیم‌پیک، همولیز حاد، اریتروبلاستوز جنینی، عفونت شدید، تالاسمی ماژور، لوپوس (SLE)، آنمی مگالوبلاستیک شدید، اوستئوپتروزیس (بیماری ماربل)، انفارکتوس BM، کریز آنمی داسی شکل، عفونت شدید، خونریزی شدید و در دوره نقاهت ناشی از سرکوب BM دیده می‌شود. در بیماران با بدخیمی متاستاتیک، واکنش لکواریتروبلاستیک، دلیل خوبی برای درگیری مغز استخوان با سلول‌های تومور است.

لازم به ذکر است که در بیماری لوپوس اتوآنتی بادی ضد هسته باعث اوپسونیزاسیون هسته‌های دژنره موجود در خون شده و در نتیجه فاگوسیتوز این هسته‌ها توسط نوتروفیل باعث ظهور سلول‌هایی به نام LE در خون محیطی می‌شوند که هسته فاگوسیت شده در داخل آنها بصورت یک جسم گرد و یکنواخت (بدون مشاهده هتروکروماتین و پاراکروماتین) مشاهده می‌شود. مشاهده این سلول کمک زیادی به تشخیص بیماری SLE می‌کند.



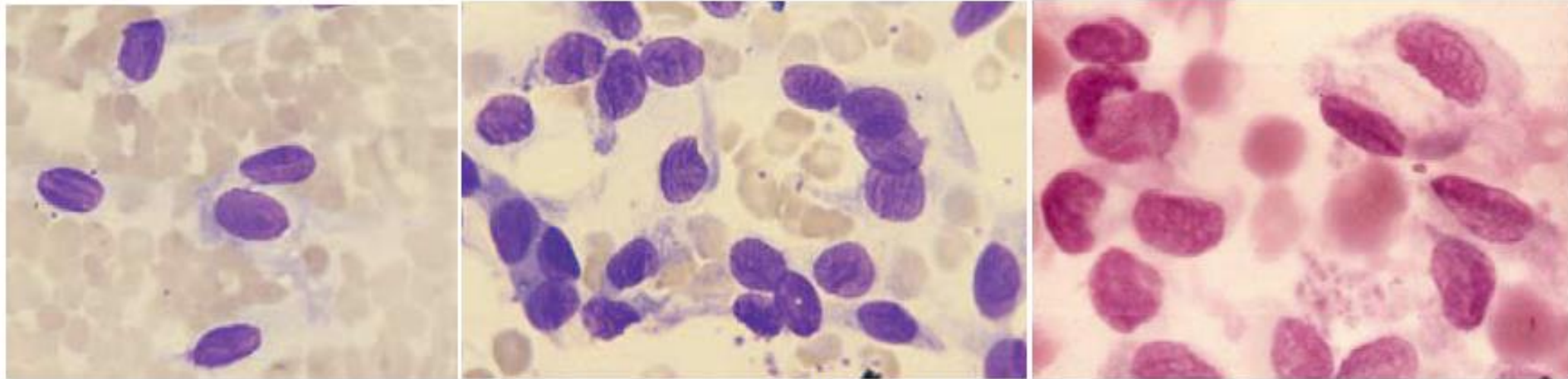
شکل ۷۲-۷: واکنش لکواریتروبلاستیک به همراه شیفت به چپ اریتروئیدی و میلوئیدی و حضور داکروسیت‌های قطره اشکی در خون بیمار مبتلا به PMF/MMM



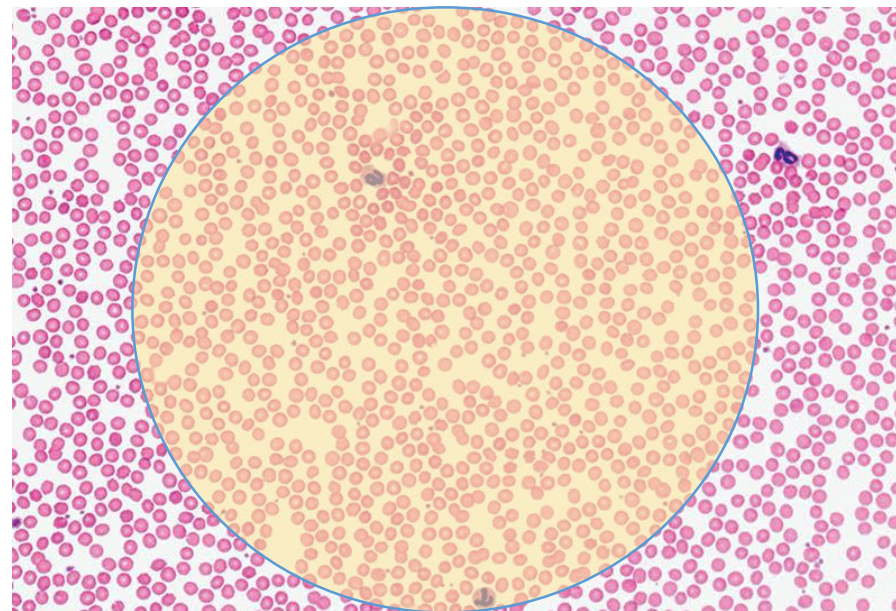
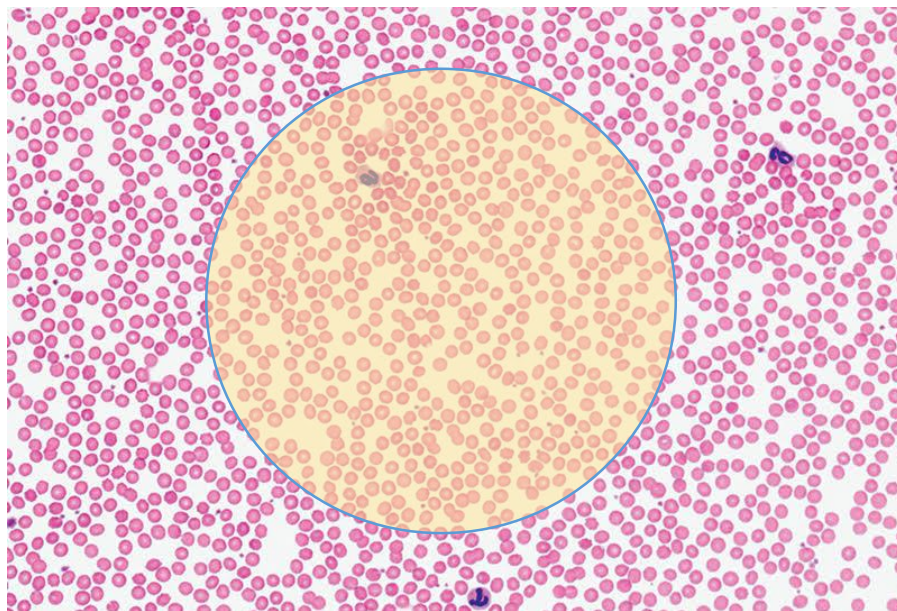
شکل ۷۳-۷: سلول‌های LE (نوتروفیلی با یک هسته گرد، بزرگ و یکنواخت در داخل سیتوپلاسم آن) در خون محیطی

سلول‌های اندوتلیال:

سلول‌های اندوتلیال رگ‌های خونی ممکن است در اولین قطره خونی که از نمونه نوک انگشت یا بندرت از خون وریدی گرفته می‌شود، مشاهده شوند. در این سلول‌های نابالغ الگوی کروماتین به صورت رتیکولار (مشبک) بوده و ممکن است با هیستوسیت‌ها یا سلول‌های توموری اشتباه شوند. در جراحی عروق و واسکولیت‌ها نیز احتمال مشاهده اندوتلیوم در عروق وجود دارد. ندرتاً سلول‌های اپیتلیال پوست نیز ممکن است حین خونگیری از سطح پوست در خون مشاهده شوند.



شکل ۷۴-۷: سلول‌های اندوتلیوم در خون محیطی





INTERNATIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY

[HOME](#)[ABOUT](#)[MEETINGS](#)[PARTICIPATION](#)[GUIDELINES](#)[IMAGEBANK](#)[ARCHIVES](#)[AWARDS](#)[GALLERY](#)[CONTACT](#)

The International Council for Standardization in Haematology (ICSH) was initiated as a standardization committee by the European Society of Haematology (ESH) in 1963 and officially constituted by the International Society of Hematology ([ISH](#)) and the ESH in Stockholm in 1964. The ICSH is recognised as a Non-Governmental Organisation with official relations to the World Health Organisation ([WHO](#)).

The ICSH is a not-for-profit organisation that aims to achieve reliable and reproducible results in laboratory analysis in the field of diagnostic haematology.

The ICSH coordinates Working Groups of experts to examine laboratory methods and instruments for haematological analyses, to deliberate on issues of standardization and to stimulate and coordinate scientific work as necessary towards the development of international standardization materials and guidelines.

NEWS & ANNOUNCEMENTS

[Applications](#) are invited for the Carol Briggs-Smalley

RECENT PUBLICATIONS

[Recommendations](#): Laboratory measurement of direct oral anticoagulants

[Recommendations](#) for measuring the ESR

RECENT PUBLICATIONS

[Recommendations](#): Laboratory measurement of direct oral anticoagulants

[Recommendations](#) for measuring the ESR

[Recommendation](#): Haematology reporting units used in the blood count

[Standardization](#) of haematology critical results management

[Recommendations](#) for assessing equipment for HbA2 quantitation

[Guidelines](#): Bone marrow immunohistochemistry

[Guidelines](#): Hereditary red cell membrane disorders

[Recommendations](#): Nomenclature and grading of blood cell morphology

	Publication	File
	Date	Download
ICSH recommendations for laboratory measurement of direct oral anticoagulants	2018	Download
ICSH recommendations for modified and alternate methods measuring the erythrocyte sedimentation rate	2017	Download
Recommendation for standardization of haematology reporting units used in the extended blood count	2016	Download
Standardization of haematology critical results management in adults: an ICSH survey and recommendations	2016	Download
ICSH recommendations for assessing equipment for the quantitation of HbA2	2015	Download
ICSH guidelines for the standardization of bone marrow immunohistochemistry	2015	Download
ICSH guidelines for the laboratory diagnosis of nonimmune hereditary red cell membrane disorders.	2015	Download
Supporting Information		Download
ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features.	2015	Download
Supporting Information		Download
ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting	2014	Download
ICSH guidelines for the verification and performance of automated cell counters for body fluids	2014	Download
Validation of cell-based fluorescence assays: Practice guidelines from the ICSH and ICCS – part V – assay performance criteria	2013	Download
Validation of cell-based fluorescence assays: Practice guidelines from the ICSH and ICCS – part IV – postanalytic considerations	2013	Download
Validation of cell-based fluorescence assays: Practice guidelines from the ICSH and ICCS – part III – analytical issues	2013	Download
Validation of cell-based fluorescence assays: practice guidelines from the ICSH and ICCS – part II – preanalytical issues	2013	Download
Validation of cell-based fluorescence assays: Practice guidelines from the ICSH and ICCS – part I – rationale and aims	2013	Download
ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes	2012	Download



ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features

L. PALMER*, C. BRIGGS[†], S. MCFADDEN[‡], G. ZINI[§], J. BURTHEM[¶], G. ROZENBERG^{**},
M. PROYTCHIEVA^{††}, S. J. MACHIN[†]

*Haematology Laboratory,
Middlemore Hospital, Auckland,
New Zealand

[†]University College London
Hospitals, London, UK

[‡]McFadden Consulting,
Columbus, OH, USA

[§]Università Cattolica del Sacro
Cuore, Rome, Italy

[¶]Institute of Cancer Sciences,
University of Manchester,
Manchester, UK

^{**}SEALS Randwick, Prince of
Wales Hospital, Randwick,
NSW, Australia

^{††}University of Arizona Medical
Center, Tucson, AZ, USA

SUMMARY

These guidelines provide information on how to reliably and consistently report abnormal red blood cells, white blood cells and platelets using manual microscopy. Grading of abnormal cells, nomenclature and a brief description of the cells are provided. It is important that all countries in the world use consistent reporting of blood cells. An international group of morphology experts have decided on these guidelines using consensus opinion. For some red blood cell abnormalities, it was decided that parameters produced by the automated haematology analyser might be more accurate and less subjective than grading using microscopy or automated image analysis and laboratories might like to investigate this further. A link is provided to show examples of many of the cells discussed in this guideline.

Correspondence:

Lynn Palmer, Haematology

Table 1. Morphology Grading Table

Cell Name	Grading System		
	Few/1+	Mod/2+, %	Many/3+, %
RBC			
Anisocytosis	N/A	11–20	>20
Macrocytes	N/A	11–20	>20
Oval macrocytes	N/A	2–5	>5
Microcytes	N/A	11–20	>20
Hypochromic cells	N/A	11–20	>20
Polychromasia	N/A	5–20	>20
Acanthocytes	N/A	5–20	>20
Bite cells	N/A	1–2	>2
Blister cells	N/A	1–2	>2
Echinocytes	N/A	5–20	>20
Elliptocytes	N/A	5–20	>20
Irregularly contracted cells	N/A	1–2	>2
Ovalocytes	N/A	5–20	>20
Schistocytes	<1%	1–2	>2
Sickle cells	N/A	1–2	>2
Spherocytes	N/A	5–20	>20
Stomatocytes	N/A	5–20	>20
Target cells	N/A	5–20	>20
Teardrop cells	N/A	5–20	>20
Basophilic stippling	N/A	5–20	>20
Howell-Jolly bodies	N/A	2–3	>3
Pappenheimer bodies	N/A	2–3	>3
WBC			
Döhle bodies	N/A	2–4	>4
Vacuolation (neutrophil)	N/A	4–8	>8
Hypogranulation (neutrophil)	N/A	4–8	>8
Hypergranulation (neutrophil)	N/A	4–8	>8
Platelets			
Giant Platelets	N/A	11–20	>20

جدول ۶-۷: معیارهای مورد نیاز برای گزارش مورفولوژی اریتروسیت‌ها بر اساس گستره خون محیطی (هماتولوژی اشتینینگر)

Morphologic Characteristic	WNL†	1+	2+	3+	4+
Macrocytes > 9 μm diameter	0–5	5–10	10–20	20–50	>50
Microcytes <6 μm diameter	0–5	5–10	10–20	20–50	>50
Hypochromia	0–2	3–10	10–50	50–75	>75
Poikilocytosis (generalized variations in shape)	0–2	3–10	10–20	20–50	>50
Burr cells	0–2	3–10	10–20	20–50	>50
Acanthocytes	<1	2–5	5–10	10–20	>20
Schistocytes	<1	2–5	5–10	10–20	>20
Teardrop poikilocytes (dacryocytes)	0–2	2–5	5–10	10–20	>20
Target cells (codocytes)	0–2	2–10	10–20	20–50	>50
Spherocytes	0–2	2–10	10–20	20–50	>50
Ovalocytes	0–2	2–10	10–20	20–50	>50
Stomatocytes	0–2	2–10	10–20	20–50	>50
Sickle cells (drepanocytes)	Absent	Report as 1+ to indicate presence; do not quantitate			
Polychromatophilia					
Adult	<1	2–5	5–10	10–20	>20
Newborn	1–6	7–15	15–20	20–50	>50
Basophilic stippling	0–1	1–5	5–10	10–20	>20
Howell-Jolly bodies	Absent	1–2	3–5	5–10	>10
Siderocytes (Pappenheimer bodies)	Absent	1–2	3–5	5–10	>10

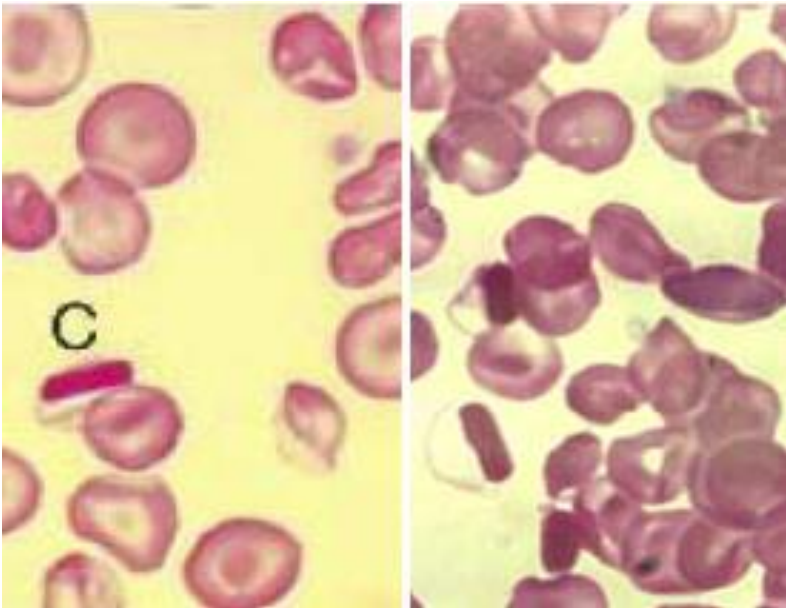
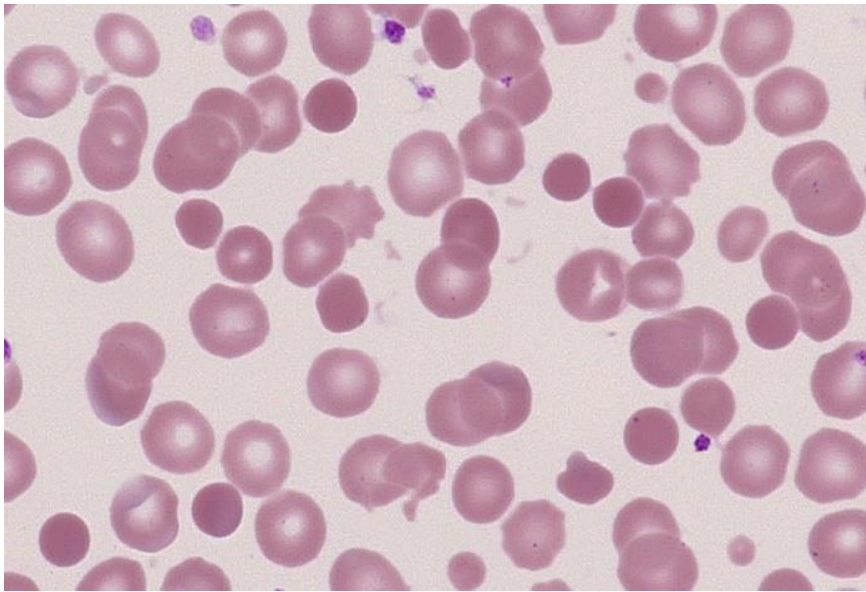
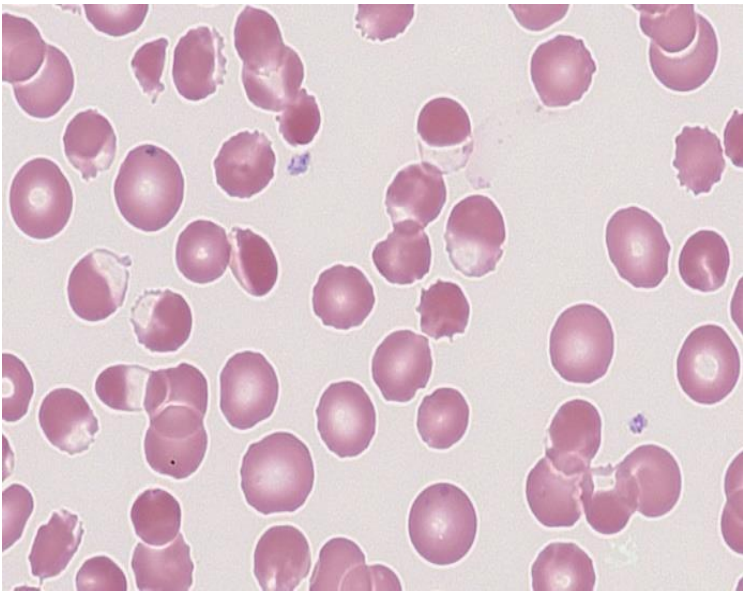
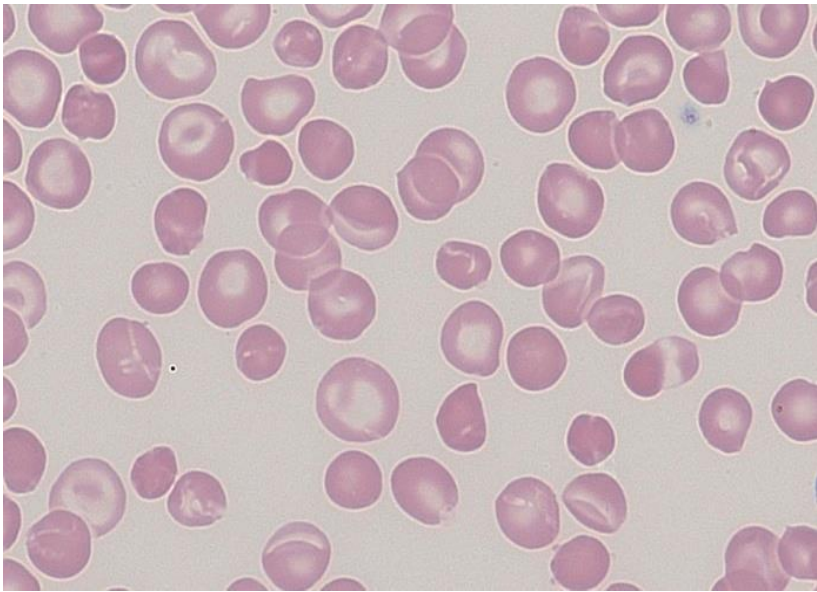
Table 1. Abnormal samples and potential interfering substances that should be included in the evaluation of the haematology analyser

WBC	RBC	Platelets	Interfering substances
Extreme leucocytosis	Sickle cells	Giant platelets	Haemolysis
Extreme leucopenia	Target cells	Platelet clumps	Cryoglobulins
Neutrophilia			
Lymphocytosis			
Monocytosis			
Eosinophilia			
Basophilia			
Blast cells	Fragmented cells	Immature Platelets	Paraproteins
Atypical lymphocytes	Microcytic cells	CD61 labelled platelets	High bilirubin
Smear/smudge cells	Macrocytic cells		Lipaemia
Immature granulocytes	Spherocytes		
Left shift/band neutrophils	Extreme polycythaemia		
CD3/CD4/CD8 Lymphocytes	Extreme anaemia		
	Nucleated red blood cells		
	Reticulocytosis		
	IRF		
	Low Retic Hb Conc/Content		
	Howell–Jolly bodies		
	Heinz bodies		
	Pappenheimer bodies		
	Malarial parasites		

WBC, white blood cell count; RBC, red blood cell count; IRF, immature reticulocyte fraction; Hb, haemoglobin; Retic, reticulocytes; Conc, concentration.

Table 2. Common red cell synonyms

Recommended Nomenclature	Synonym	Common clinical conditions associated with
Acanthocyte	acanthoid cell, astrocyte, burr cell, prickle cell, pyknocyte, star cell, spur cell, thorn cell	Liver disease, vitamin E deficiency, postsplenectomy, abetalipoproteinaemia, McLeod RBC phenotype
Basophilic stippling	punctate basophilia	Lead poisoning, haemoglobinopathies, thalassaemia, abnormal haem synthesis
Bite cell	keratocytes	G6PD deficiency
Blister cell	puddle cell, eccentrocyte	Oxidative haemolysis, G6PD deficiency
Echinocyte	berry cell, burr cell, crenated cell, mulberry cell, poikilocyte, pyknocyte, spiculated cell, spur cell, sputnik cell, star cell	Liver and renal disease, pyruvate kinase deficiency, storage artefact
Elliptocyte	bacillary cell, cigar or rod shaped cell, ovalocyte, pencil cell	Hereditary elliptocytosis, iron deficiency
Howell-Jolly body		Hyposplenism, postsplenectomy, haemolytic anaemia, megaloblastic anaemia
Hypochromic cell	anulocyte, pessary form, ring form	Iron deficiency, thalassaemia
Irregularly contracted cell		G6PD deficiency, haemoglobinopathies
Macrocyte	macronormocyte, megalocyte	B12/folate deficiency, liver disease, MDS
Microcyte	micronormocyte	Iron deficiency, thalassaemia
Ovalocyte	bacillary cell, cigar or rod shaped cell, elliptocyte	Hereditary elliptocytosis, iron deficiency
Pappenheimer bodies		Sideroblastic anaemia, haemoglobinopathies,, hyposplenism
Poikilocyte	burr cell, irregular shaped cell, irregularly contracted cell, pyknocyte, spur cell	
Polychromatic cell RBC	polychromatophilic cell erythrocyte, normocyte, discocyte	Haemolytic anaemia, haematinic treatment
Schistocyte	burr cell, helmet cell, horn cell, keratoschistocyte, pincer cell, poikilocyte, prickle cell, red cell fragment, schizocyte, thorn cell, triangular cell	Microangiopathic haemolytic anaemia, TTP, HUS, DIC, renal disease
Sickle cell	drepanocyte, holly leaf cell	Sickle cell anaemia and other sickle cell diseases
Spherocyte	spherical cell	Hereditary spherocytosis, ABO and warm AIHA, Clostridium perfringens sepsis, burns
Stomatocyte	cup cell, knizocyte, slit cell	Alcoholic liver disease, hereditary stomatocytosis
Target cell	codocyte, leptocyte	Liver disease, haemoglobinopathies, thalassaemia
Teardrop cell	dacrocyte, pear-shaped cell	myelofibrosis



جدول آرتیفکت های هماتولوژی

سلول واقعی	سلول آرتیفکت	علت ایجاد	تشخیص افتراقی
Burr cell	Crenated cell / speculated cell	خشک شدن آرام گسترش / مجاورت طولانی خون با ضد انعقاد (EDTA)	در حالت آرتی فکت کلیه گلبول ها درگیر می شوند
RBC Hypochrom	Torocyte (donought cell)	ضخیم بودن اسمیر / وجود آب در متائل و رنگ / ورود بخار آب ناشی از رطوبت محیط به متائل و رنگ	دور ناحیه کمرنگ ناشی از آرتیفکت (توروسیت) را میتوان با مداد خط کشید / عمق در ناحیه ضخیم دیده میشوند

جدول آرتیفکت های هماتولوژی

سلول واقعی	سلول آرتیفکت	علت ایجاد	تشخیص افتراقی
sphrocyte	Sphroid form	مجاورت طولانی خون با ضدانعقاد (EDTA) ضربه مکانیکی حین کشیدن اسمیر	اسفروئید فرم ها در انتهای گسترش دیده می شود و کوچکتر و زاویه دار میباشند .
Sickle cell	Selenoid body or crescent cell	ضربه مکانیکی حین کشیدن اسمیر	کرسنت سل یا سلنوئید بادی در انتهای گسترش دیده می شوند و نسبتا هیپوکروم می باشند .

جدول آرتیفکت های هماتولوژی

سلول واقعی	سلول آرتیفکت	علت ایجاد	تشخیص افتراقی
Eliptocyte	Pseudoeliptocyte	ضربه مکانیکی حین کشیدن اسمیر	دارای انتهای ناصاف و همگی در یک جهت کشیده شده اند و معمولاً در انتهای گسترش دیده می شوند
Normal platelet	Crenated & giant plat & micro plat	مجاورت طولانی خون با ضدانعقاد (EDTA)	تنظیم زمان مناسب جهت تهیه اسمیر و زمان نگاه داری خون

جدول آرتیفکت های هماتولوژی

سلول واقعی	سلول آرتیفکت	علت ایجاد	تشخیص افتراقی
Normal WBC	Disrupted cell	مجاورت طولانی خون با ضدانعقاد (EDTA) عدم تناسب خون با ضدانعقاد (EDTA)	از هم پاشیدگی هسته سلول سفید و لوبوله و واکوئیلیزه شدن سلول سفید ویژگی سلول تخریب شده سفید است
Apoptotic neutrophil	Pycnotic cell	مجاورت طولانی خون با ضدانعقاد (EDTA) چند ساعت پس از تزریق خون	این سلول ها در هر دو حالت شبیه هم بوده و هسته پیکنوزه دارای 1-10 توده هموژن می باشد

جدول آرتیفکت های هماتولوژی

سلول واقعی	سلول آرتیفکت	علت ایجاد	تشخیص افتراقی
Target cell	Psudo Target	تعجیل در خشک کردن اسمیر (فوت کردن یا حرارت) ضربه مکانیکی حین کشیدن اسمیر	سودو تارگت حالتی است که انگار یک تکه از سلول قرمز را کنده و در مرکز سلول قرار داده اند
Tear drop	Psudo tear drop	بد کشیدن اسمیر	تیر دراپ کاذب در یک جهت دیده می شوند
Stomatocyte	Stomatocyt oid cell	دیر خشک شدن گسترش	تعداد سلول استوماتوسیتوئید ارتیفکت معمولا بسیار کم و محدود می باشد

Reference range

age	NRBC	age	Retic	age	Band cell
birth	500/ mm ³ 10%	birth	3-7%	1 day	15%
1 day	200/ mm ³ 4%	upto 1 week	1-3%	mature	<4%
2 day	25/ mm ³ 0.5%	mature	0.5 -1.5%		
3 day	0.5/ mm ³ 0.1%				
1 week	rare				

نکات مهم در گزارش دهی مرفولوژی گلبول قرمز

تمایز میکروسیت و ماکروسیت

- تمایز میکروسیت و ماکروسیت بایستی بر اساس حجم سلول باشد نه بر اساس قطر سلول ولی چون در روی گسترش بایستی تعیین نمائیم از قطر استفاده می کنیم .
- معیار سنجش میکروسیت و ماکروسیت هسته لنف کوچک است اگر از هسته لنف کوچک بزرگتر باشد ماکروسیت و اگر کوچکتر باشد میکروسیت می نامیم. منتها در یک نوزاد وجود ماکروسیت فیزیولوژیک بوده و ارزش گزارش ندارد.

نکات مهم در گزارش دهی مرفولوژی گلبول قرمز

- گلبول های قرمز فاقد کم رنگی مرکزی شامل: اسفروسیت / تارگت / پلی کروماتوفیلیک / آکانتوسیت / الیپتوسیت / سیکل سل
- سلول داسی شکل حداقل بایستی دارای یک انتهای نوک تیز باشد
- اسفروسیت هایپرکروم کاذب بوده و در نوع اسفروسیتوز ارثی هموزیگوس بالای 50% گلبول ها را شامل می شود .
- انکلوژیون های گلبول قرمز نظیر هاول جولی و هاینز بادی و هموگلوبین سی عمدتاً پس از طحال برداری دیده می شوند .
- گزارش رولو در ناحیه ضخیم فاقد ارزش است) در رولو واقعی بایستی حداقل 4 سلول قرمز روی هم باشد و توده ها در جهات مختلف در ناحیه میانی لام مشاهده شوند/ افتراق گلبول رولو و آگلوتینه شده در لام مرطوب عملی تر است)
- نکات بررسی انکلوژیون توپ گلفی Hb H مدت زمان رنگ حیاتی (یک ساعت) و یکسان بودن توزیع انکلوژیون اچ در گلبول قرمز می باشد(تشخیص افتراقی با بازوفیلینگ استیپلینگ عدم مشاهده هموگلوبین اچ در رنگ آمیزی ساده و عدم توزیع یکنواخت).
- انکلوژیون هینز بادی در رنگ آمیزی حیاتی در حاشیه سلول دیده می شود .

نکات مهم در گزارش دهی مرفولوژی گلبول قرمز

- اشکال مرفولوژیک که تا 5% در خون محیطی نرمال تلقی شده و بایستی گزارش شوند شامل : (هیپو کروم / میکروسیت / ماکروسیت / الیپتوسیت / پویکیلوسیتوزیس / انیزوسیتوزیس)
- اشکال مرفولوژیک که حتی با درصد کمتر از 5% پاتولوژیک می باشند و بایستی به آن توجه گردد: (سلول داسی شکل / بایت سل / سلول قطعه شده یا شیزوسیت)
- درصد گلبول قرمز حاوی بازوفیلیک استیپلینگ (با درصد بالا) بایستی در محاسبه نهائی درصد رتیک منظور و از درصد رتیک کسر گردد.

نکات مهم در گزارش دهی مرفولوژی گلبول قرمز

slight/few/mod/many/ rare
1+4+

• سائز :

- نورموسیت : 6-8 میکرون
- ماکروسیت : >8 میکرون (عمدتا ماکرو اوالوسیت): انمی پرنی سیوز و مگالوبلاستیک /رتیکولوسیتوزیس / درمان کم خونی تغذیه ای / سیروز کبدی و هیپاتیت (همراه با تارگت) /
- ژیگانتوسیت : >10 میکرون
- رنگ: کمتر از یک سوم قطر گلبول رنگ پریده و کم رنگ باشد هیپوکروم اطلاق می گردد که عمدتا با میکروسیت همراه است /انولوسیت: هیپوکروم شدید به صورت یک حلقه نازک اطراف گلبول قرمز (همگلوبین ناچیز)

نکات مهم در گزارش دهی مرفولوژی گلبول سفید

- 1- افتراق توکسیک گرانولیشن با توکسیک گرانولیشن کاذب (ارتیفکت ناشی از رسوب رنگ) کنترل سایر لام های رنگ آمیزی شده است اگر توکسیک در سایر لام ها نیز مشاهده گردید احتمال توکسیک ارتی فکت ناشی از رسوب رنگ بسیار بالا است و بایستی لام مجدد با رنگ تازه و فاقد رسوب تهیه نمود.
- 2- اگر خون مدت طولانی در مجاورت ضد انعقاد دباشد و با تاخیر زیاد لام کشیده شود واکوئلیزاسیون کاذب سلول های سفید رخ می دهد که به دلیل بلع ذرات EDTA توسط سلول های سفید خون می باشد .
- 3- گزارش قطعی سلول LE Cell مستلزم مشاهده حداقل دو سلول LE یا یک سلول LE و یک روزت rossete LE در دو نمونه پیاپی از بیمار می باشد (مشاهده صرف جسم لوپوس LE Body ضرورت تکرار تست را فراهم می کند)بهترین عدسی برای جستجوی لوپوس عدسی 40 می باشد.

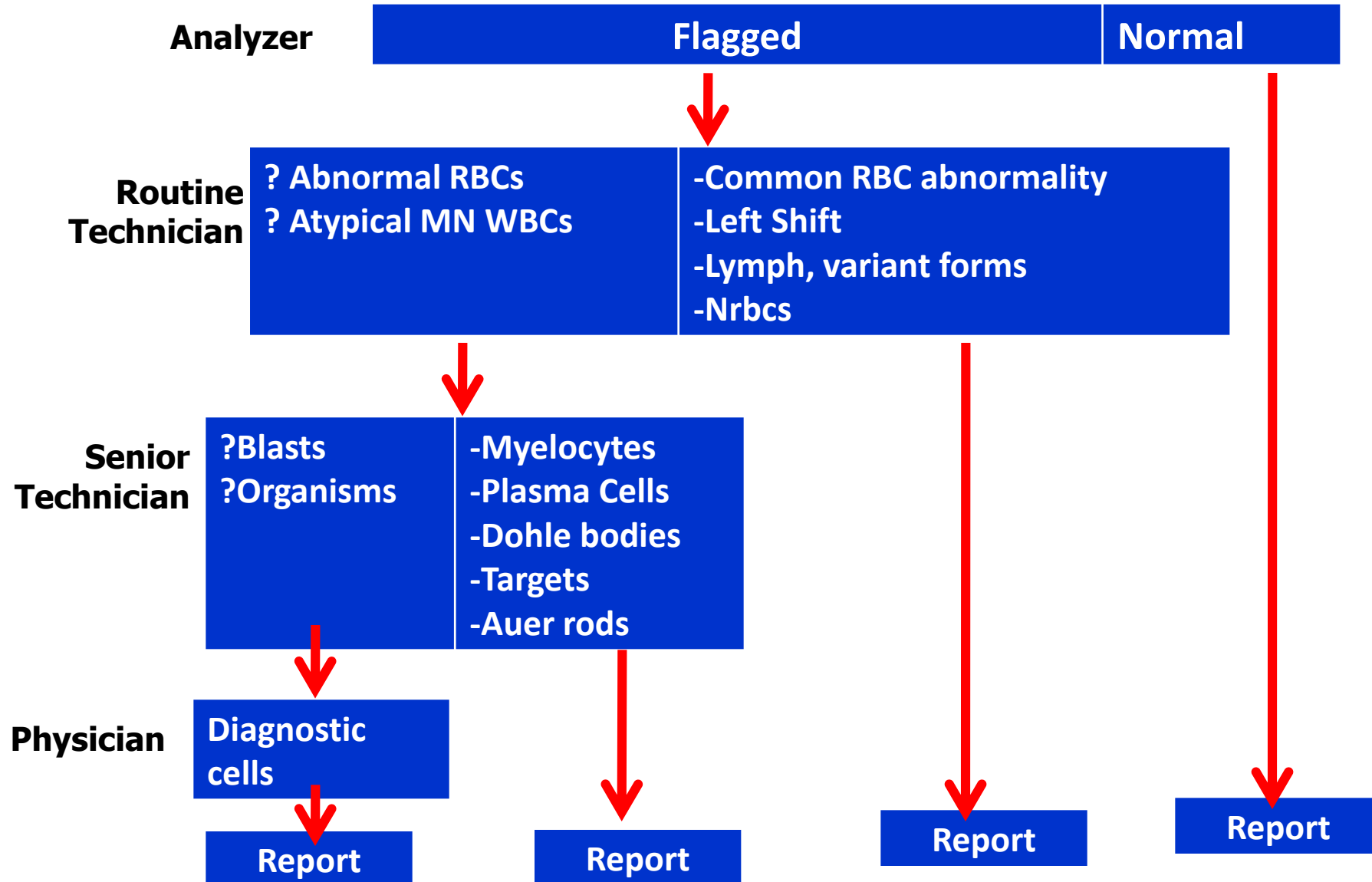
نکات مهم در دیف سلولی

- دو روش دیف
- 1- روش نواری از نازک به ضخیم
- 2- روش زیگزاگی در قسمت نزدیک به انتهائی با ضخامت مناسب
- اگر در روش نواری تعداد سلول سفید دیف شده قبل از پایان نوار به عدد 100 برسد بایستی تعداد بیشتری دیف کرد تا نوار کامل به انتها برسد و نهایتاً با تناسب دیف در 100 سلول را محاسبه نمود. **دلیل** آن توزیع غیر یکنواخت گلبول های سفید در سطح لام است لئوسیت عمدتاً در ناحیه ضخیم لام و نوتروفیل ها و منوسیت ها عمدتاً در ناحیه نازک و انتهائی لام حضور دارند.

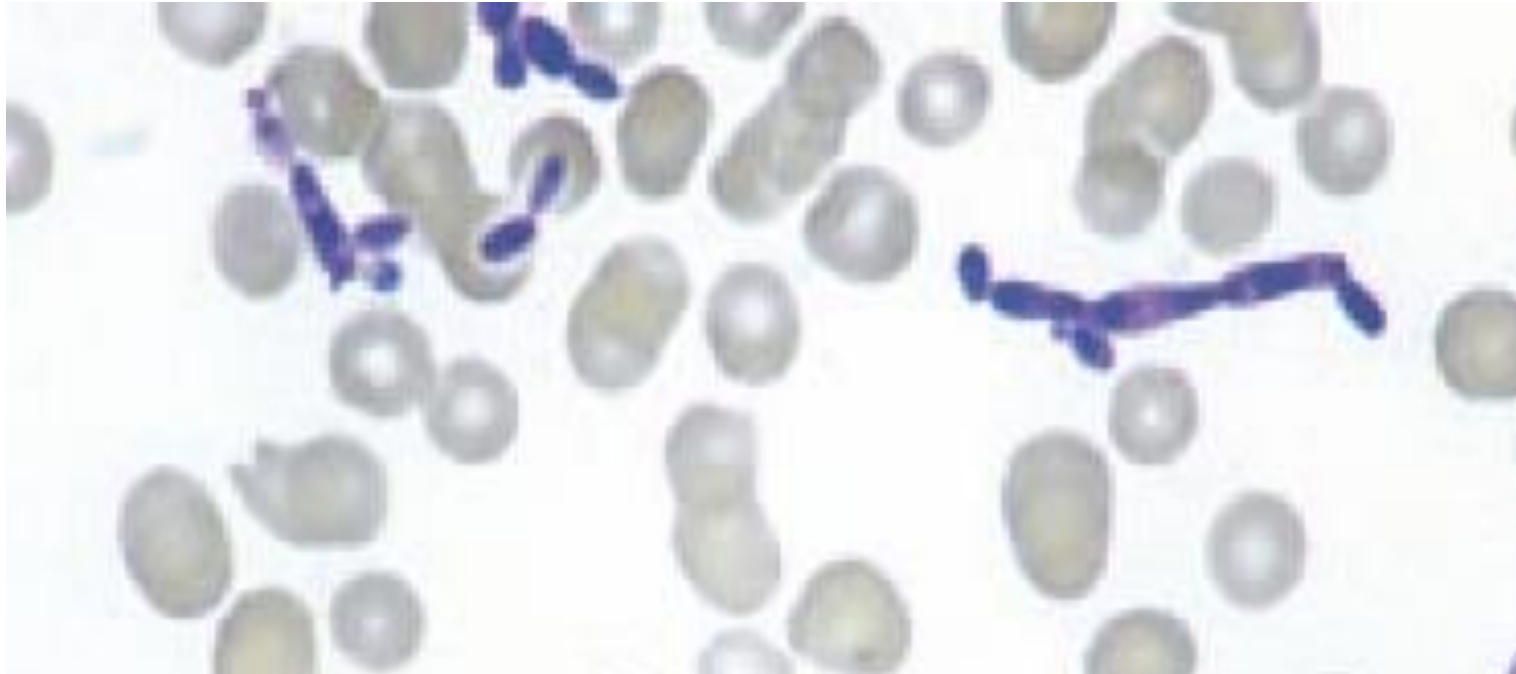
Hierarchical Blood Film Evaluation

Examiner

Differentiation

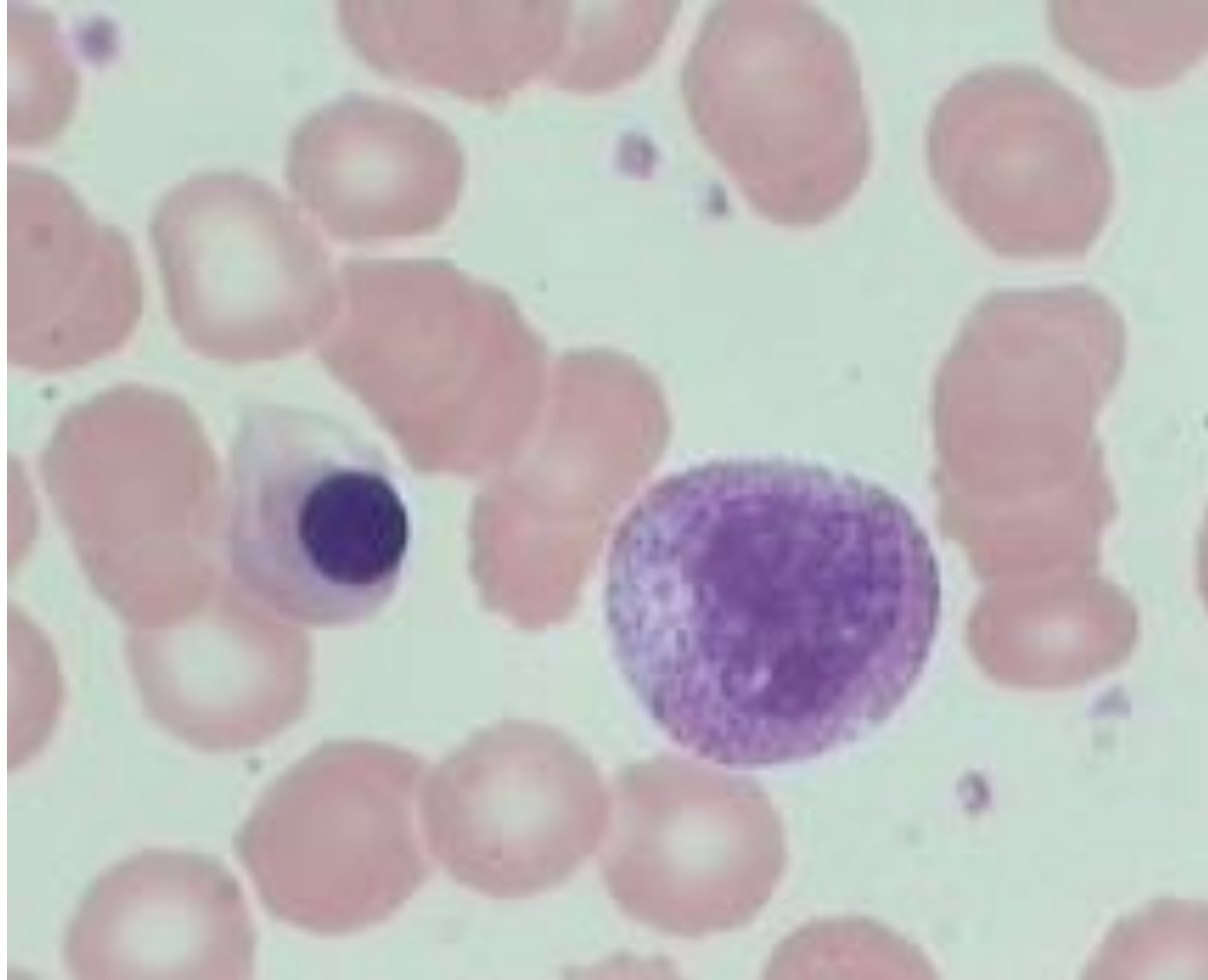


What is your diagnosis?

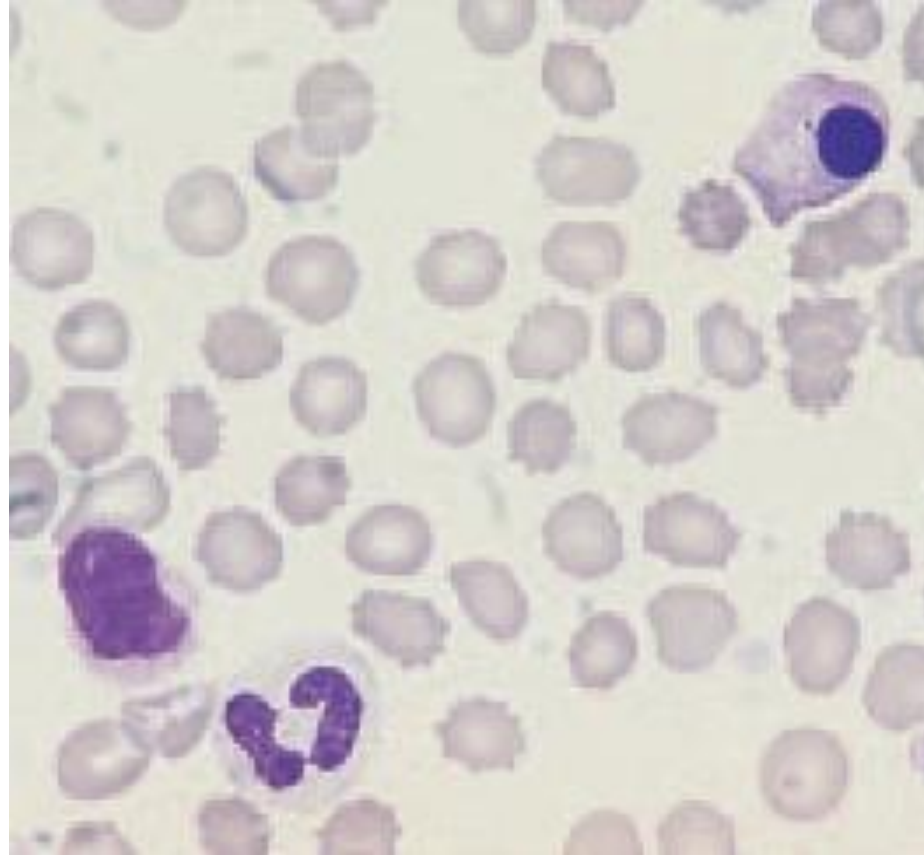


PBS of a patient with persistent **pancytopenia** after intensive chemotherapy for AML. After many weeks of platelet dependency the 'platelet' count suddenly rose. Inspection of the film showed that platelets continued to be very sparse; the particles that were counted as platelets were **fungi**, subsequently identified as ***Candida glabrata***, originating from the patients indwelling central intravenous line

Leukoerythroblastic reaction

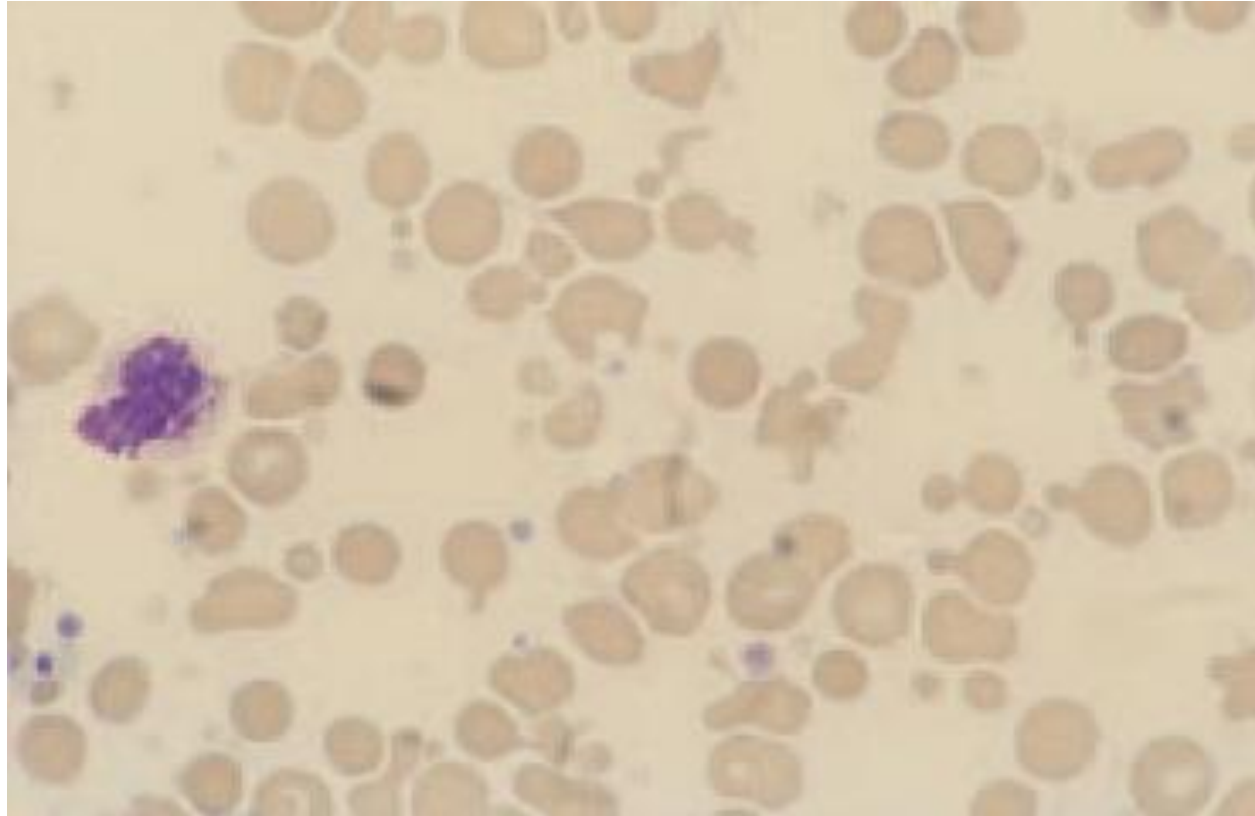


What is your interpretation?



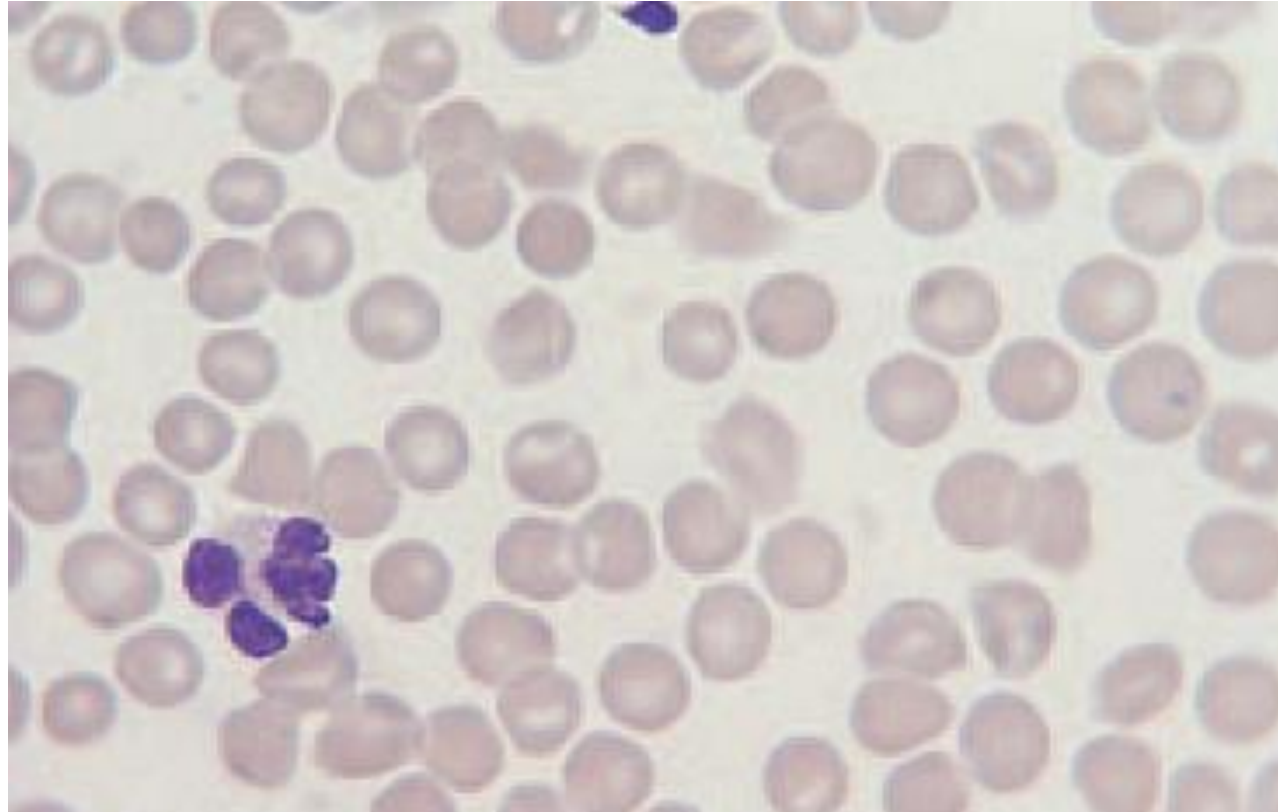
Peripheral blood film showing storage artefact *a crenation (echinocytosis)*, *a disintegrated cell* and a **neutrophil** with a **rounded pyknotic nucleus**.

What is your interpretation?



*Peripheral blood film from a blood specimen that has been transported in a **hot motor vehicle**, showing **red cell budding and fragmentation**.*

What is your interpretation?



Peripheral blood film from a patient with **hyperlipidaemia** showing **misshapen red cells** with **fuzzy outlines** and blurring of the outline of the lobes of a neutrophil consequent on the high concentration of lipids.

What do you do *misshapen red cells with fuzzy outlines* ?

- Erroneous results from hyperlipidaemia may be suspected
- This error can be confirmed by examining the plasma, after either centrifugation or red cell sedimentation, and noting the **milky appearance**.
- The problem can be dealt with by performing a **microhaematocrit** and a **blank'** measurement using the patient's plasma
- A correction is then as follows:

$$\text{True Hb} = \text{measured Hb} - [\text{'Hb' of lipaemic plasma} \times (1 - \text{Hct})]$$

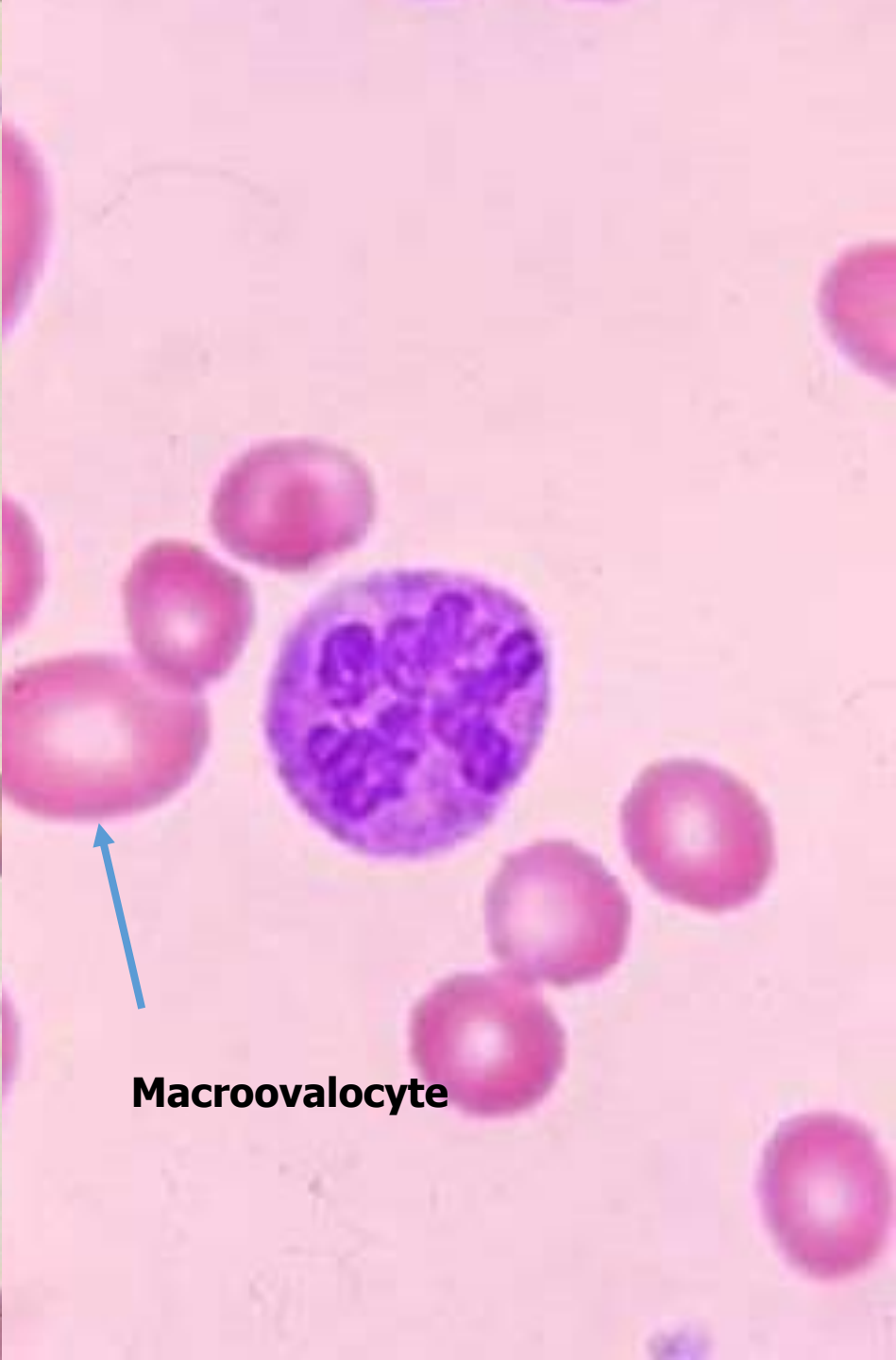
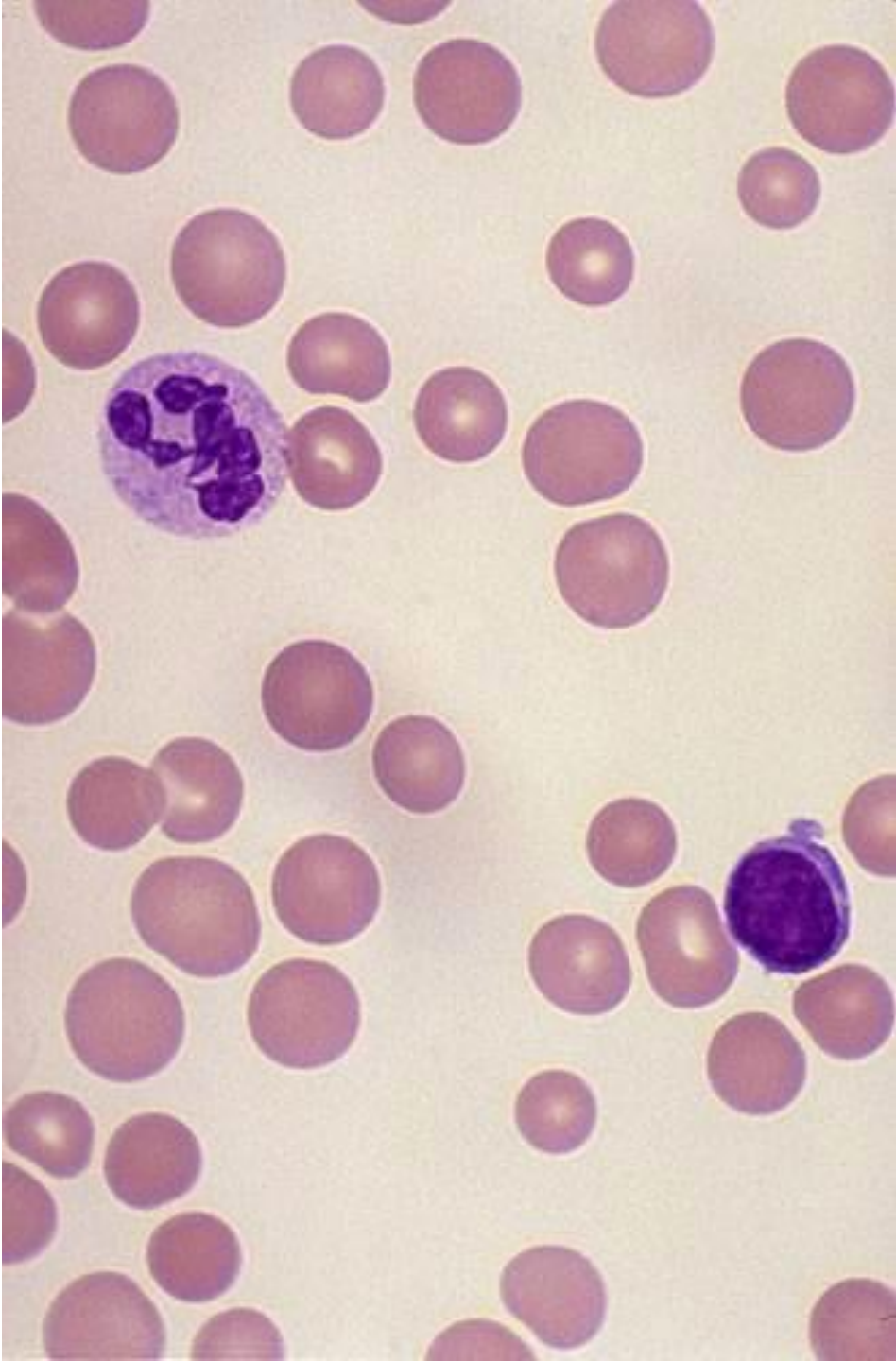
Hypersegmented Neutrophils

Hypersegmentation

1 PMN with six lobes or >3% with 5 lobes

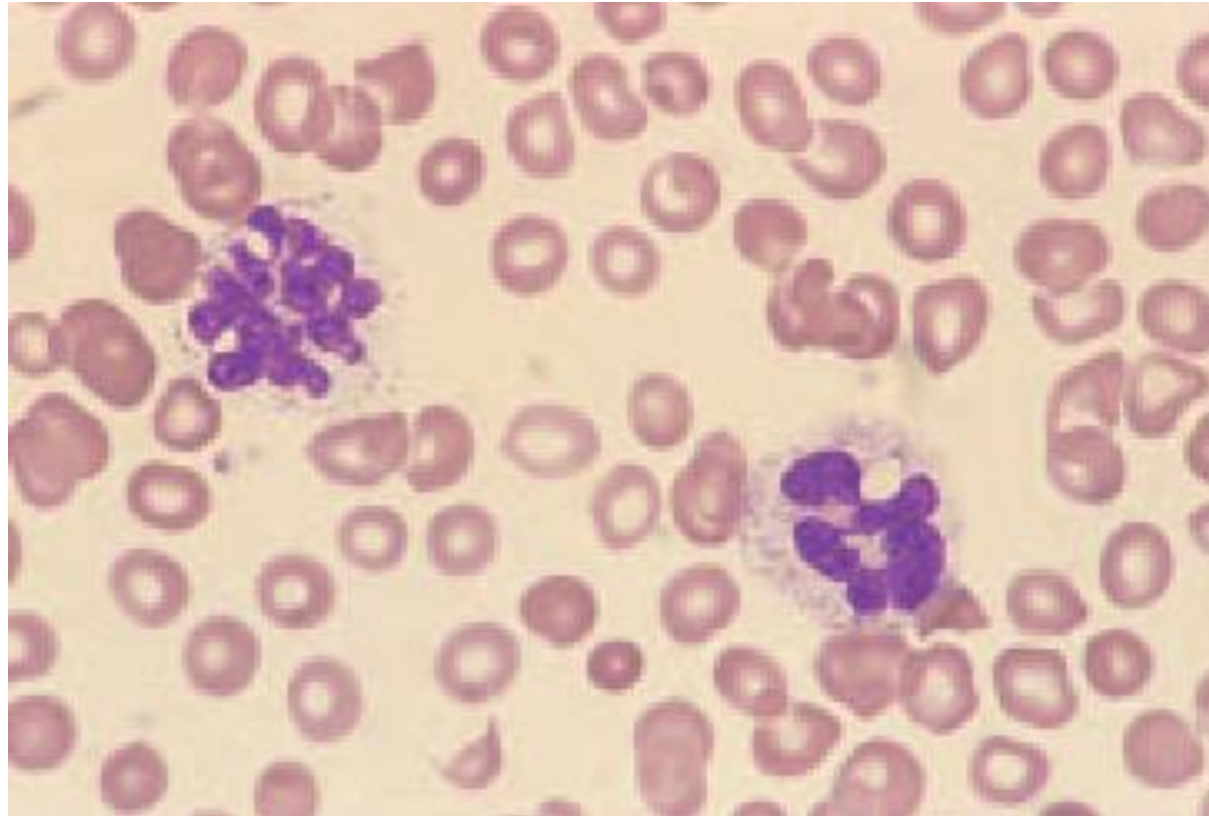


More than **3** cells having 5 lobes or a single cell with 6 lobes found in the course of a 100 cell differential is evidence of hypersegmentation. Hypersegmentation is sometimes referred to as a **myeloid "right shift"**.



Macroovalocyte

Peripheral blood film of a patient with a MDS showing two neutrophils. Both are macropolycytes and one shows a defect of nuclear segmentation resembling myelokathexis. The size of the cells and the amount of nuclear material suggests that they are *tetraploid cells*.

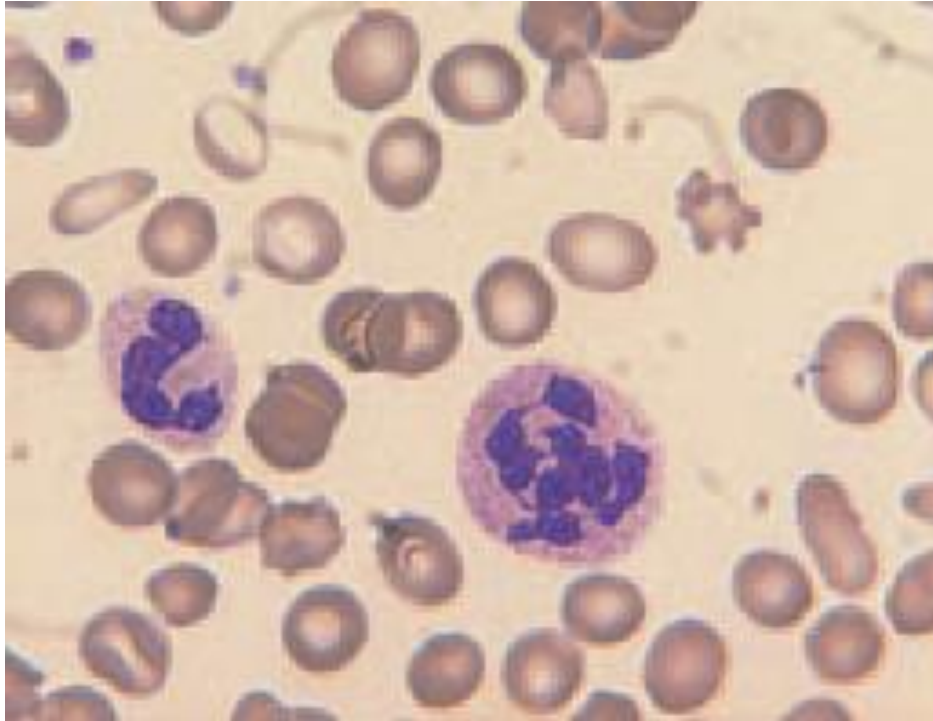


Macropolycytes

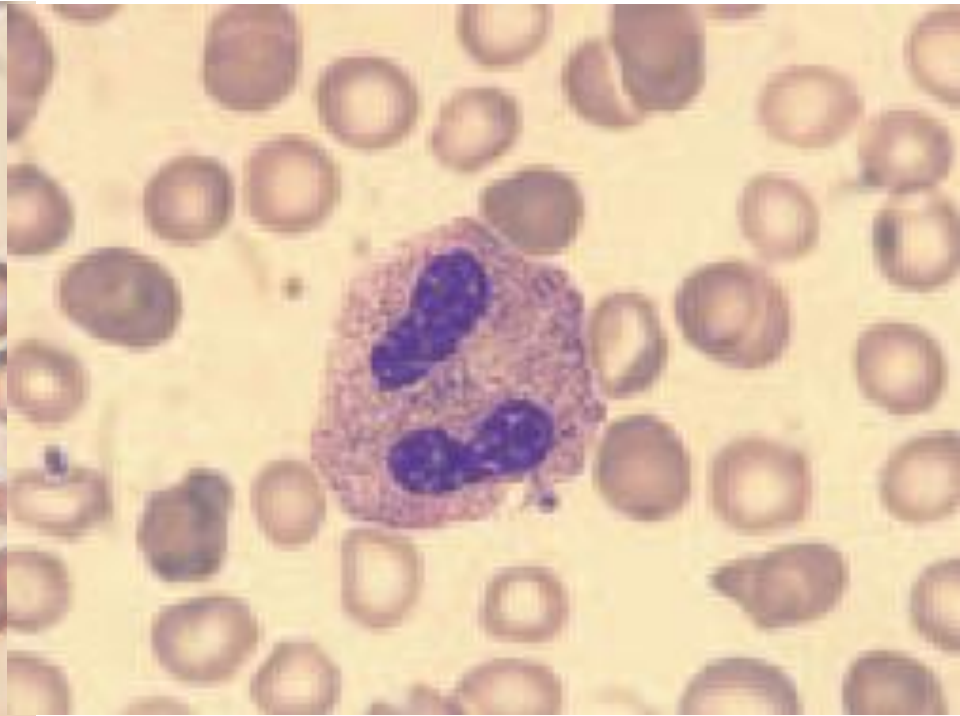
- Is about **twice** the size of a normal neutrophil , **15–25 μm**
- Analysis of its DNA content shows that it is **tetraploid** rather than diploid, the number of lobes present being increased proportionately.
- ***Some macropolycytes are binucleated .***
- Occasionally seen in the blood of healthy subjects.
- Increased numbers are seen in an inherited (***autosomal dominant***) condition in which **1–2%** of neutrophils are giant with ***six- to 10-lobed nuclei***, or with **twin mirror-image nuclei** .
- Increased numbers, together with rather non-specific dysplastic features, have been described in **DiGeorge's syndrome**

Macropolycytes

- Macropolycytes, including binucleated cells, have been observed following the **administration of G-CSF** and are present in increased numbers in **megaloblastic anaemia**.
- In megaloblastic anaemia they have a DNA content varying between diploid and tetraploid
- ***In contrast to hypersegmented neutrophils, they are derived from giant metamyelocytes.***
- They have also been reported in **chronic infection, CML and other myeloproliferative disorders**, and following the administration of **cytotoxic drugs** and **antimetabolites**.

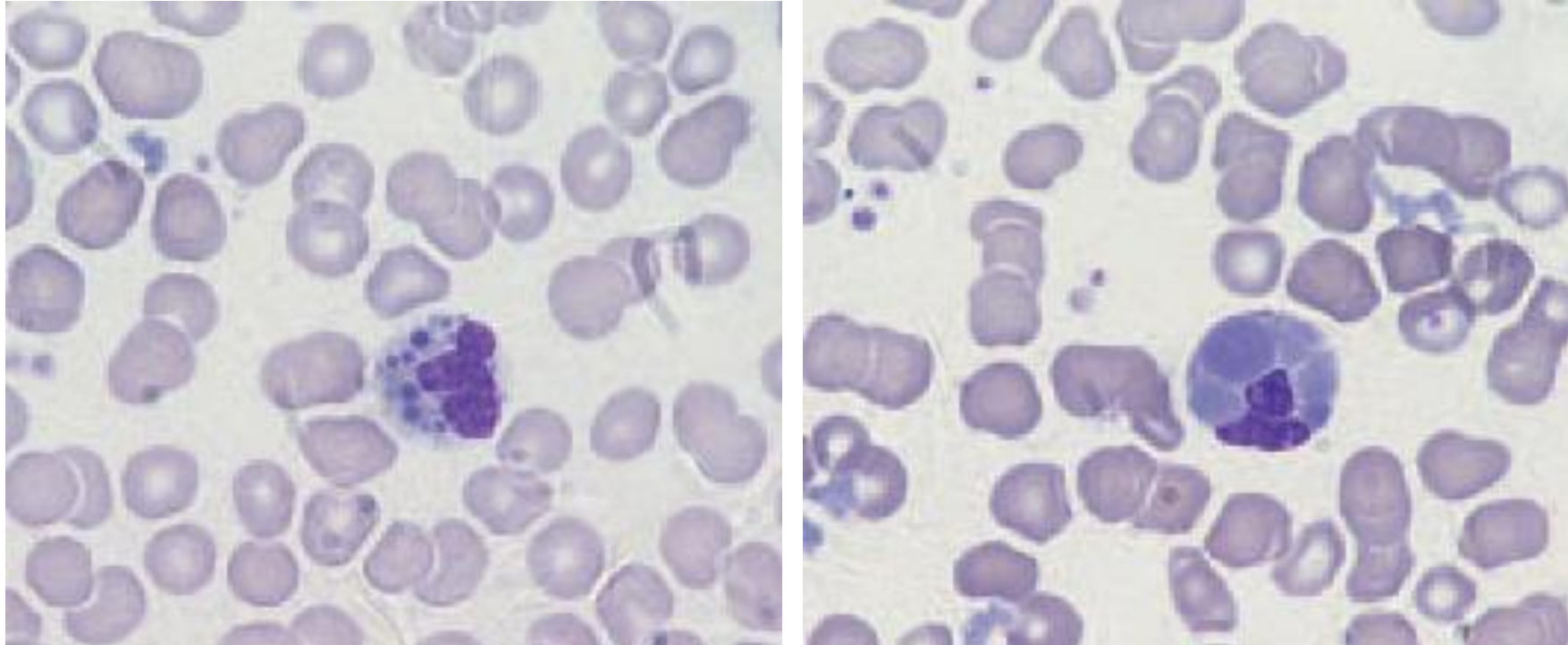


Peripheral blood film of a patient with a MDS showing a **macropolycyte**, which is twice the size of the adjacent normal, neutrophil. The nucleus is also twice normal size and shows increased nuclear segmentation; it is likely that this is a tetraploid cell. In addition the film shows **anisochromasia**.



Peripheral blood film of a patient with **CLL** and **reversible chlorambucil-induced myelodysplasia** showing a **binucleated tetraploid neutrophil**.

Cryoglobulinaemia



Peripheral blood film of a patient with **cryoglobulinaemia** showing cryoglobulin that has been ingested by neutrophils and appears as: (a) **small round inclusions**; and (b) **large masses** filling the cytoplasm and displacing the nucleus. Some extracellular cryoglobulin is also present.



Peripheral blood film of a patient with cryoglobulinaemia showing cryoglobulin within a monocyte.

PBS, wright giemsa ,100x

Giant Platelets

**Dohle like
inclusion body**

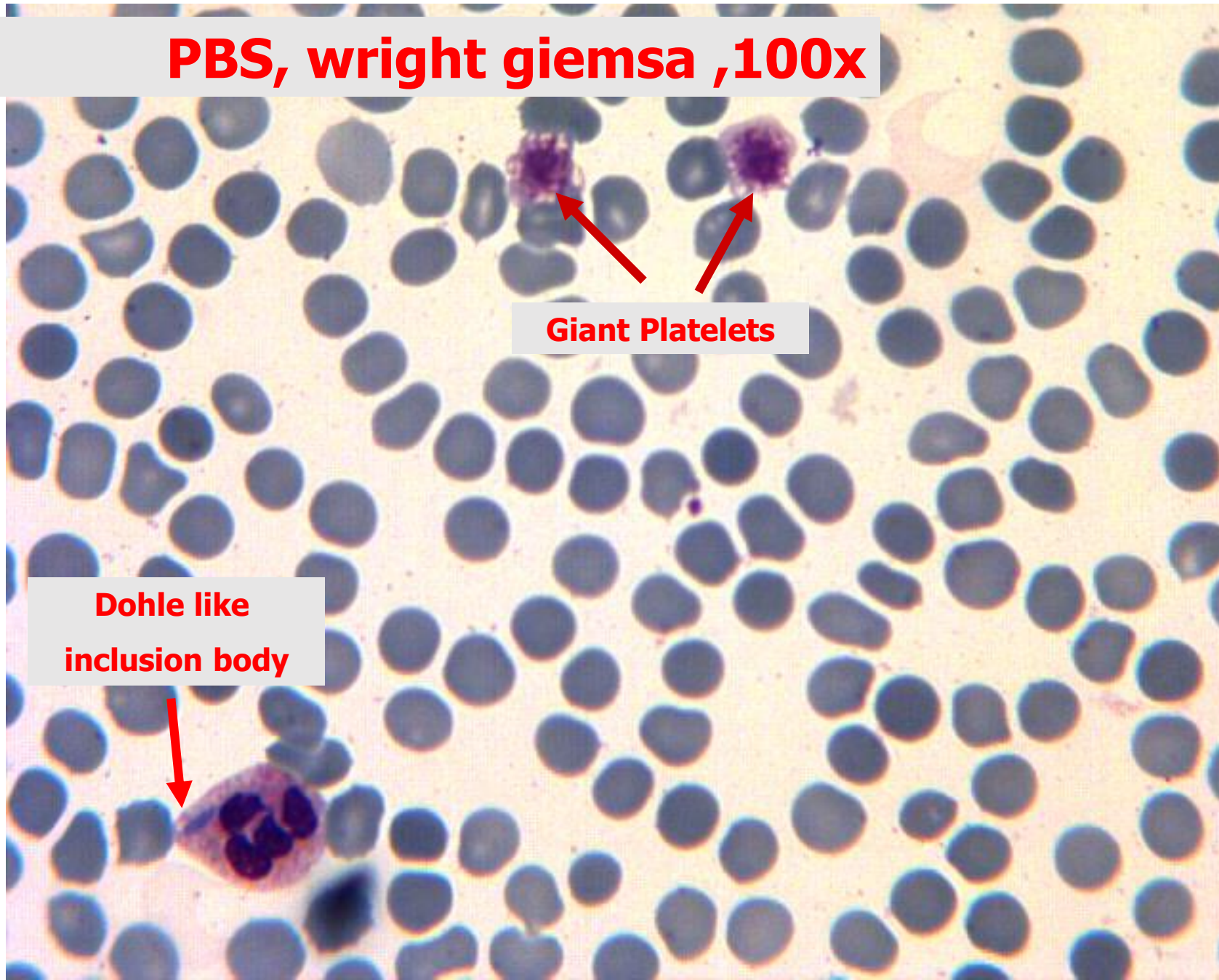
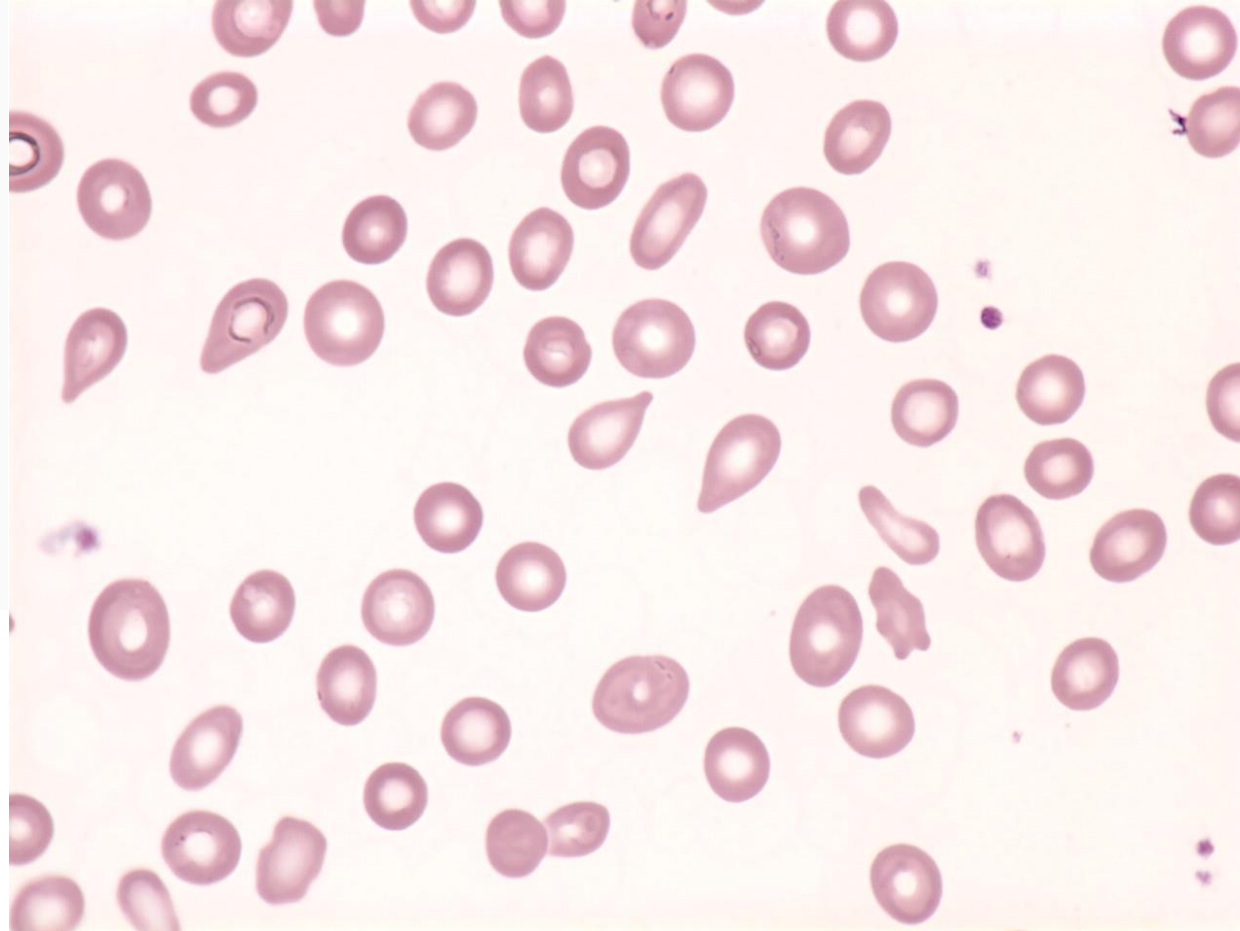
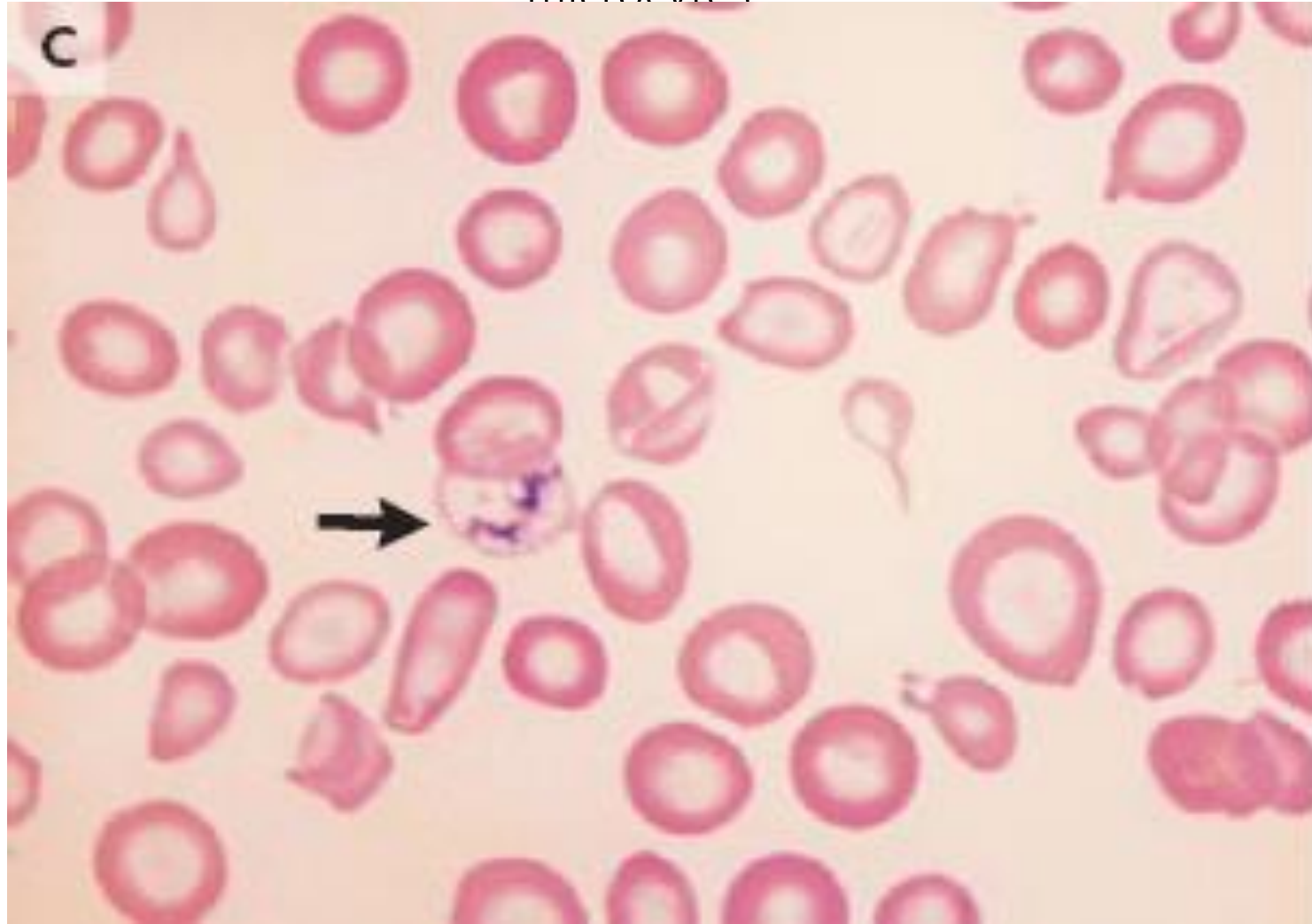


Figure 1. Dacryocytes (tear drop poikilocytes) are seen in the peripheral blood of a patient with idiopathic myelofibrosis



Maslak, P. ASH Image Bank 2002;2002:100453

shows *MDS* with anisocytosis, poikilocytosis, macrocytes, stomatocytes, and an erythrocyte with prominent Pappenheimer bodies (arrow); the smear is also *dimorphic*, showing both well-hemoglobinized macrocytes and hypochromic microcytes



Specimen storage

At room temperature, reticulocyte counting should be done within **six hours** after blood collection.

Apparent **in vitro maturation** and subsequent disappearance of some of the reticulocytes.

Maturation is both **time** and **temperature** dependent

This loss can be **up to 20%** per 24 hours at room temperature

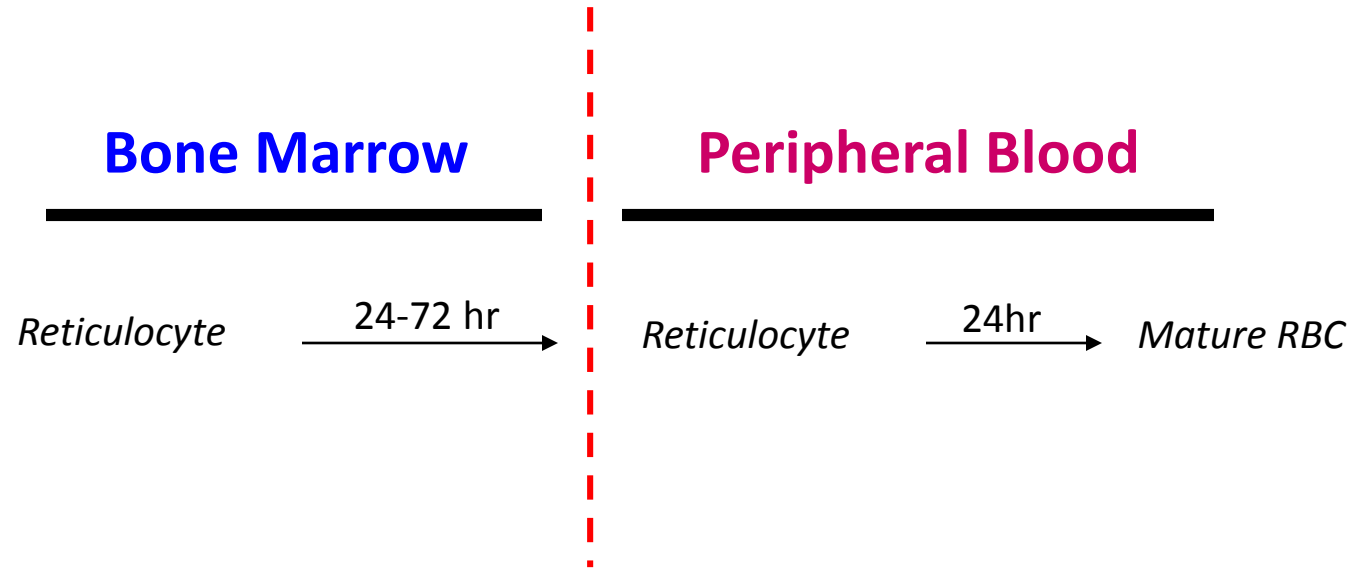
Specimens stored at 2 to 6 °C may be stable for **up to 72 hours**

Retic. count

- The film is examined with an oil immersion lens moving from field to field in a *battlement pattern*.
- **Normally ,500 erythrocytes will be counted on each of two slides.**
- If the number of reticulocytes on these two slides do not agree within **20%**, a third slide of 500 rbc must be counted.

Retic. Count

- **If no retics are seen in 500 cells**, both slides should be scanned for retics.
- **If a retic is found on scan report retic count as <0.1%.**
- **If no retics are seen, set it up again, and if no retics. are seen on the new slides then report as *no retics seen on smear.***



So Retic. count is a simple, low cost & reliable test for evaluation of effective erythropoiesis.

Reticulocyte Counts

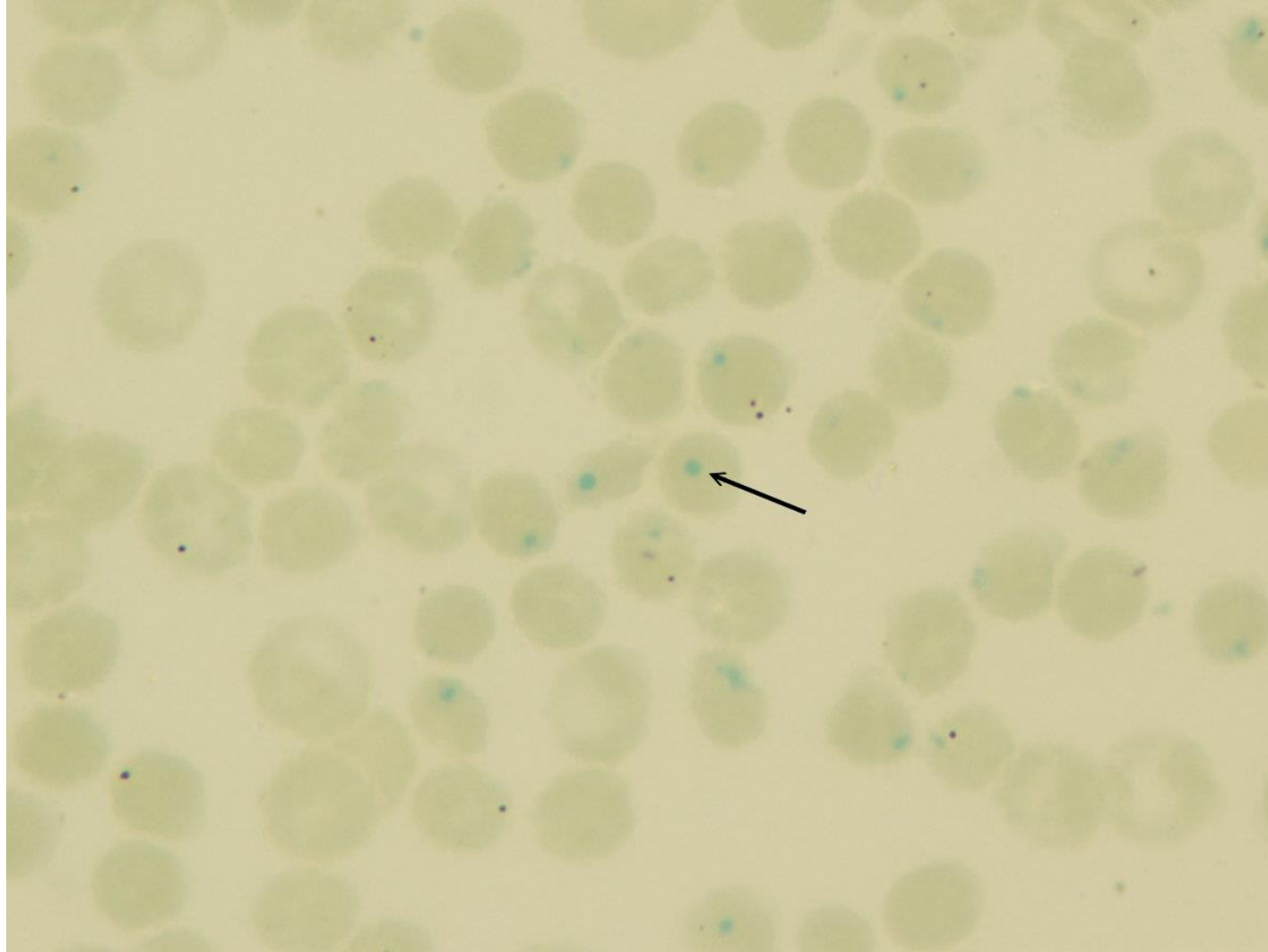
Rule of thumb: ***uncorrected reticulocyte count > 5%
suspect hemolysis; > 10% hemolysis very likely***

Differential diagnosis:

blood loss and recent treatment of a megaloblastic anemia

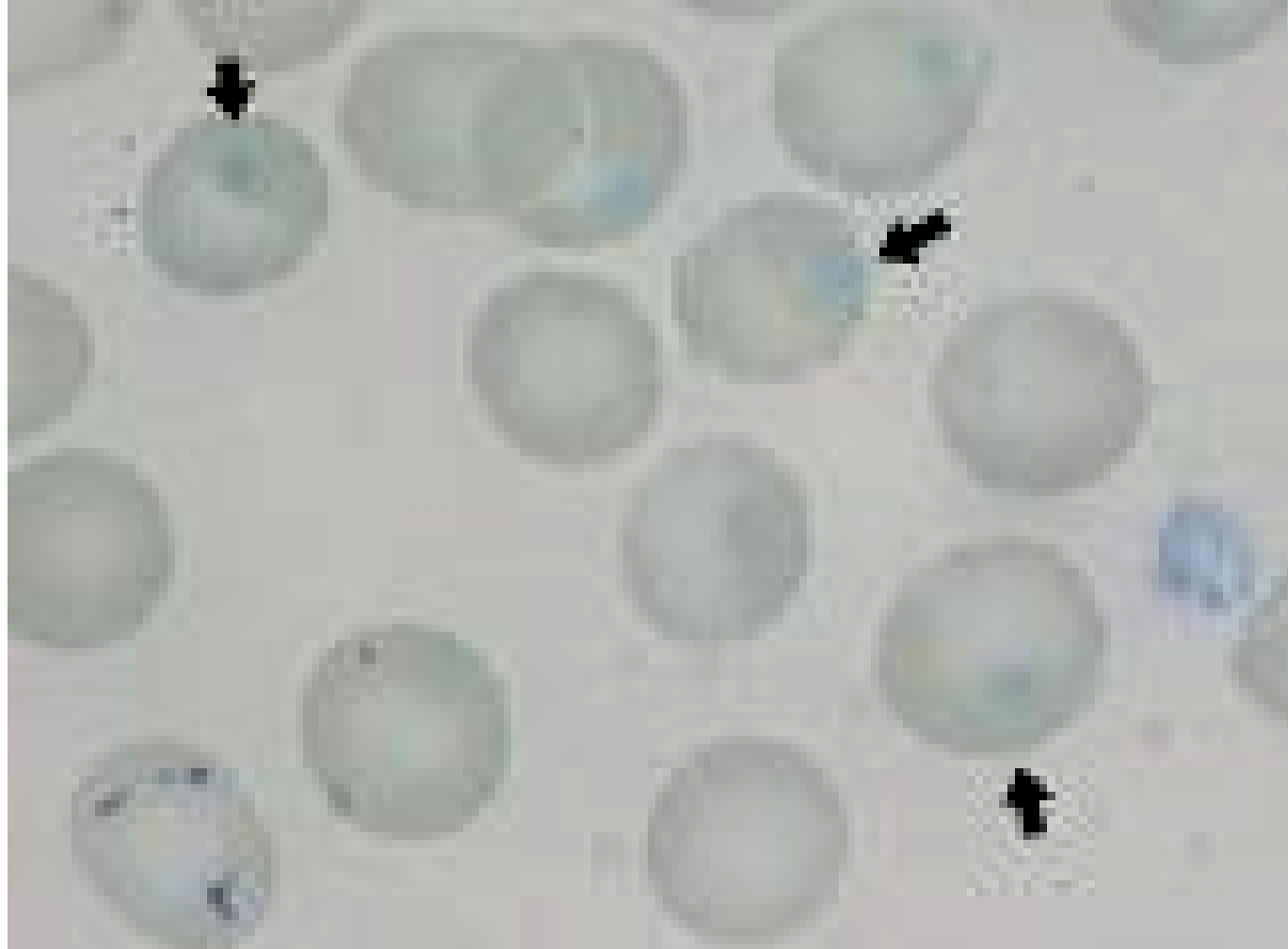
Heinz Body

Peripheral blood smear, BCB stain, 1000x

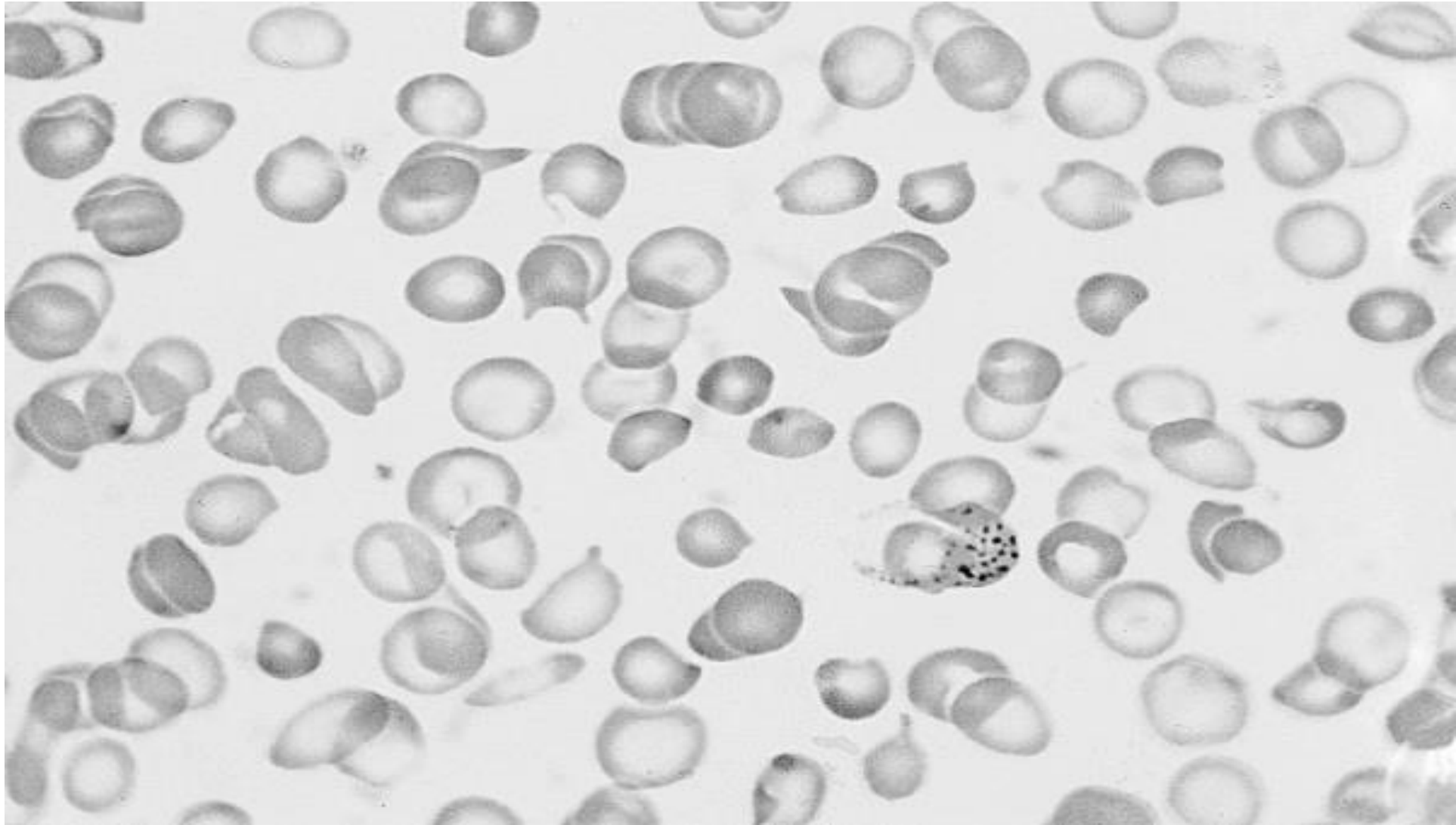


Heinz Body

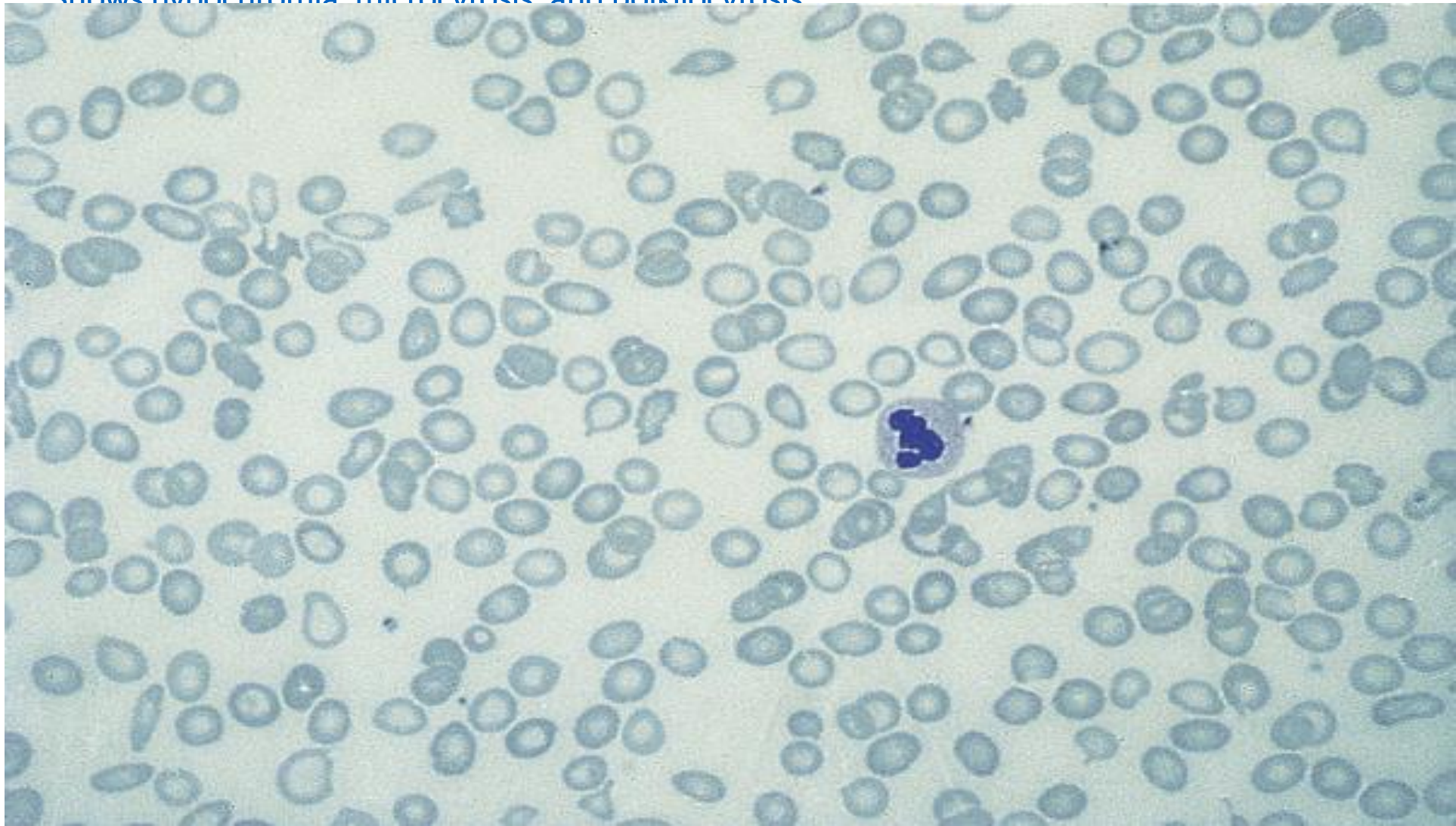
Peripheral blood smear, 1000x



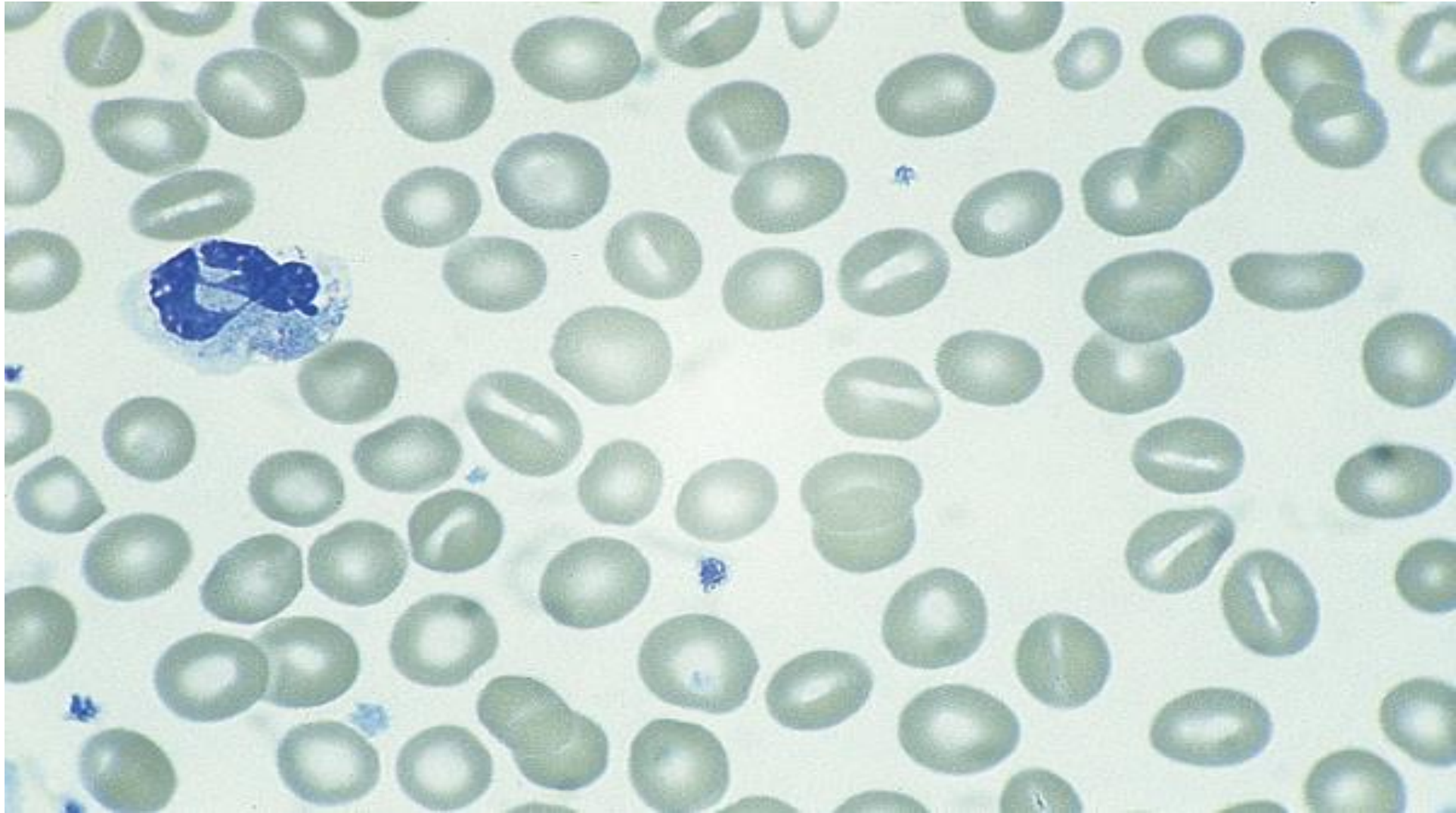
Heterozygous Hb D-Punjab/ β thalassaemia. Shows anisocytosis, poikilocytosis, hypochromia, microcytosis, and basophilic stippling.



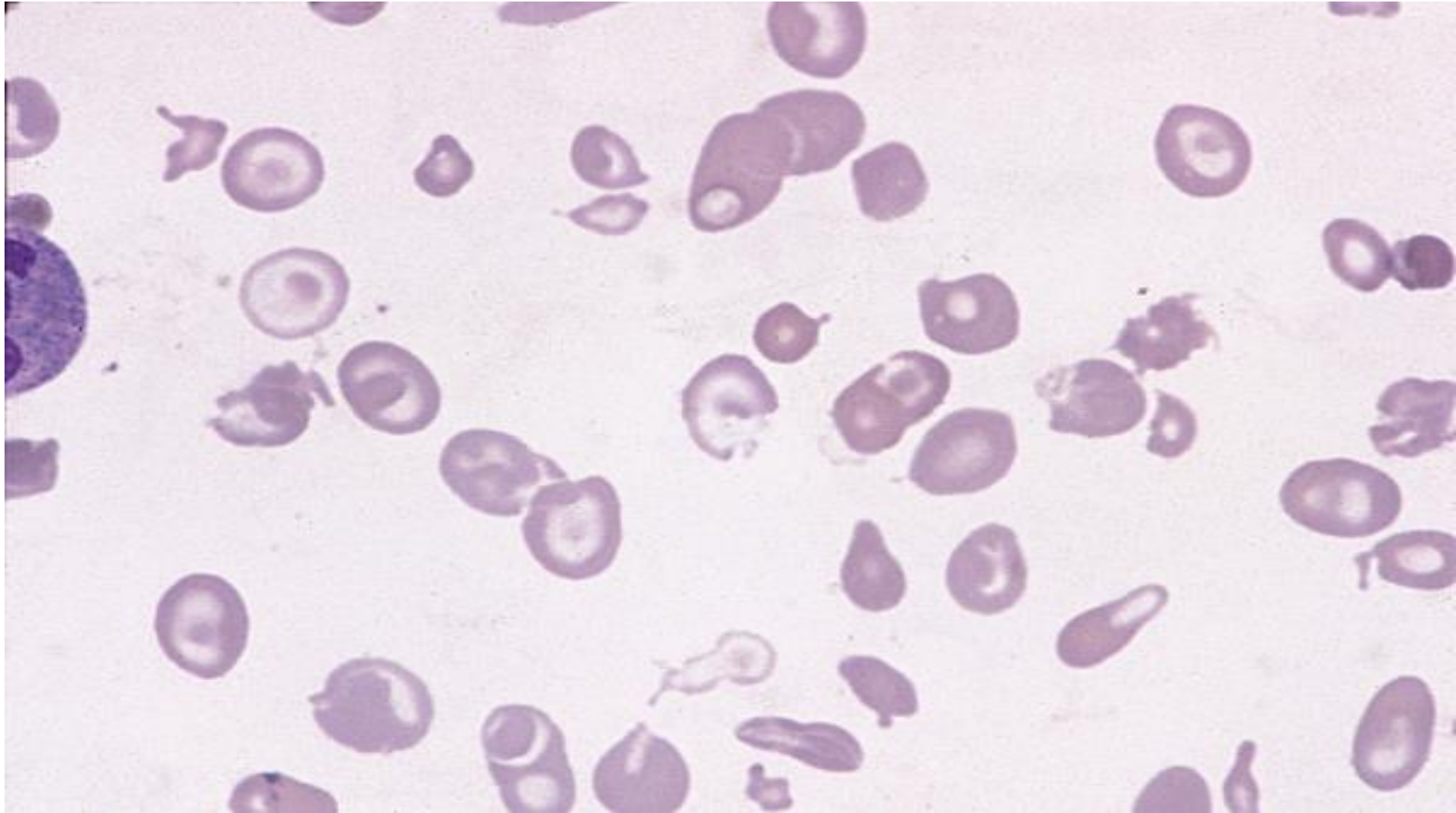
Photomicrograph of a blood film. Iron deficiency anaemia.
Shows hypochromia, microcytosis, and poikilocytosis



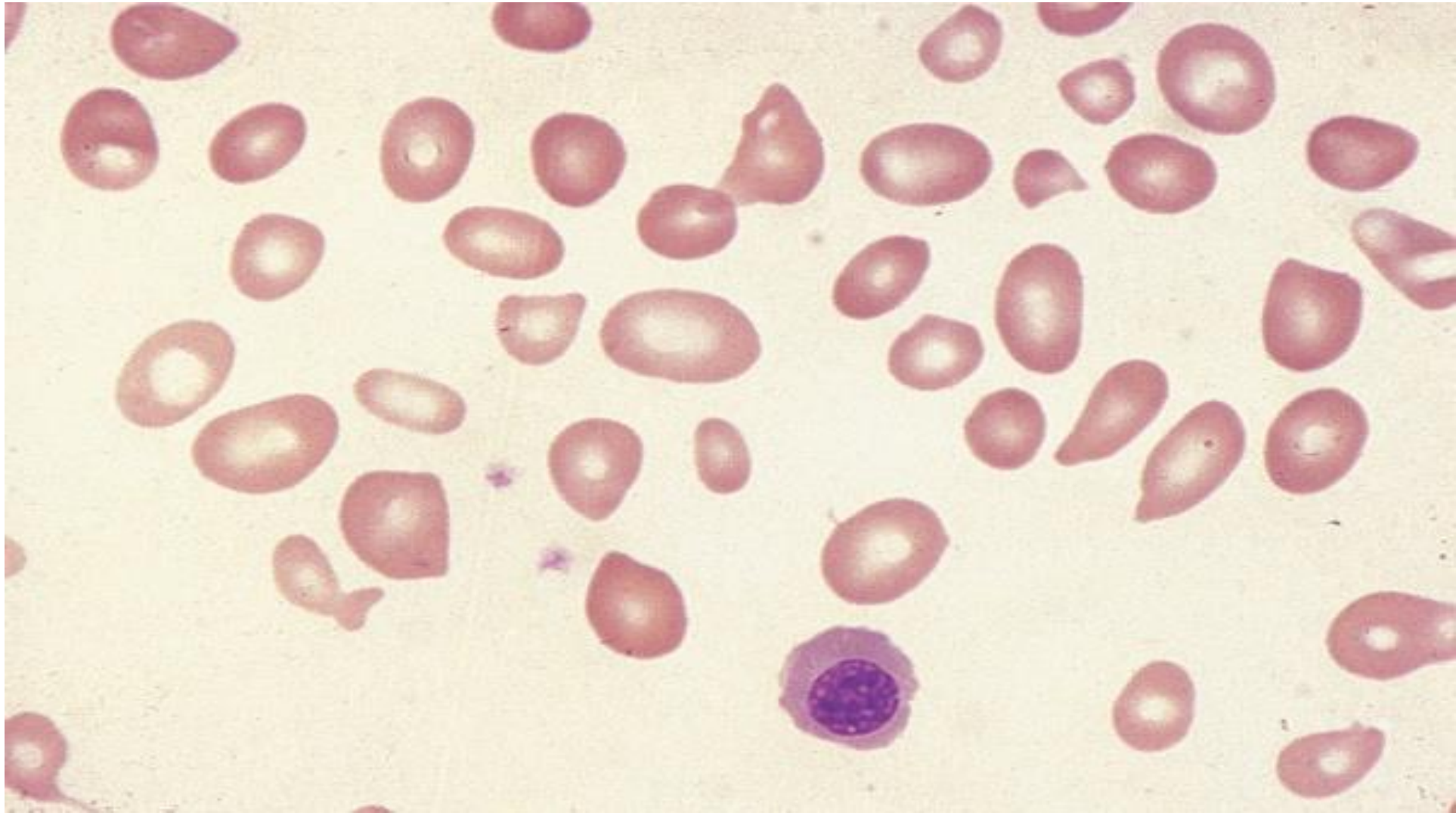
Liver disease. Shows macrocytosis and stomatocytosis.



patient with compound heterozygosity for haemoglobin E and β^0 thalassaemia.
Shows marked anisocytosis and poikilocytosis.

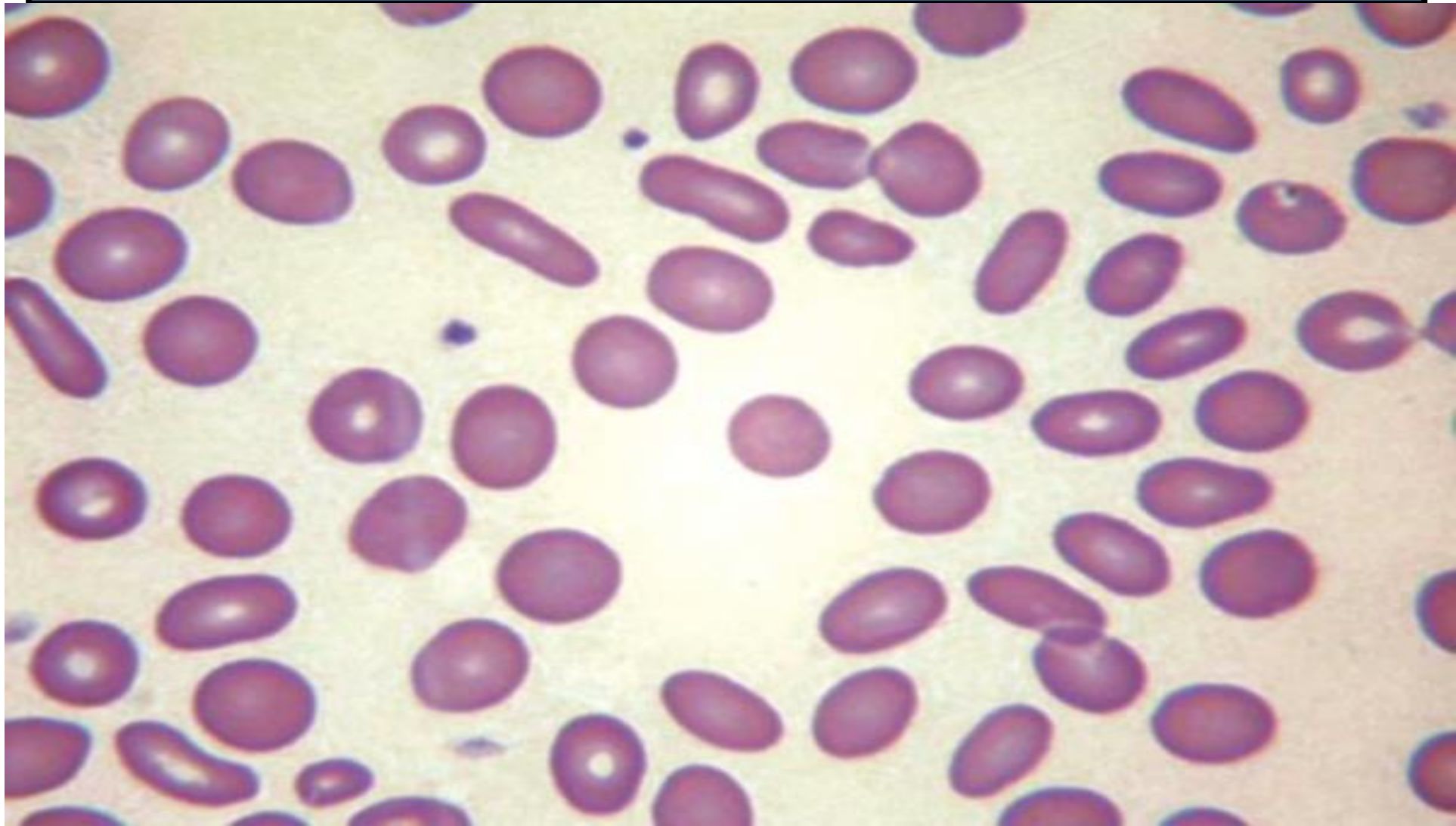


Pernicious anaemia. Shows marked anisocytosis, moderate poikilocytosis (including oval macrocytes and teardrop cells), and a megaloblast.



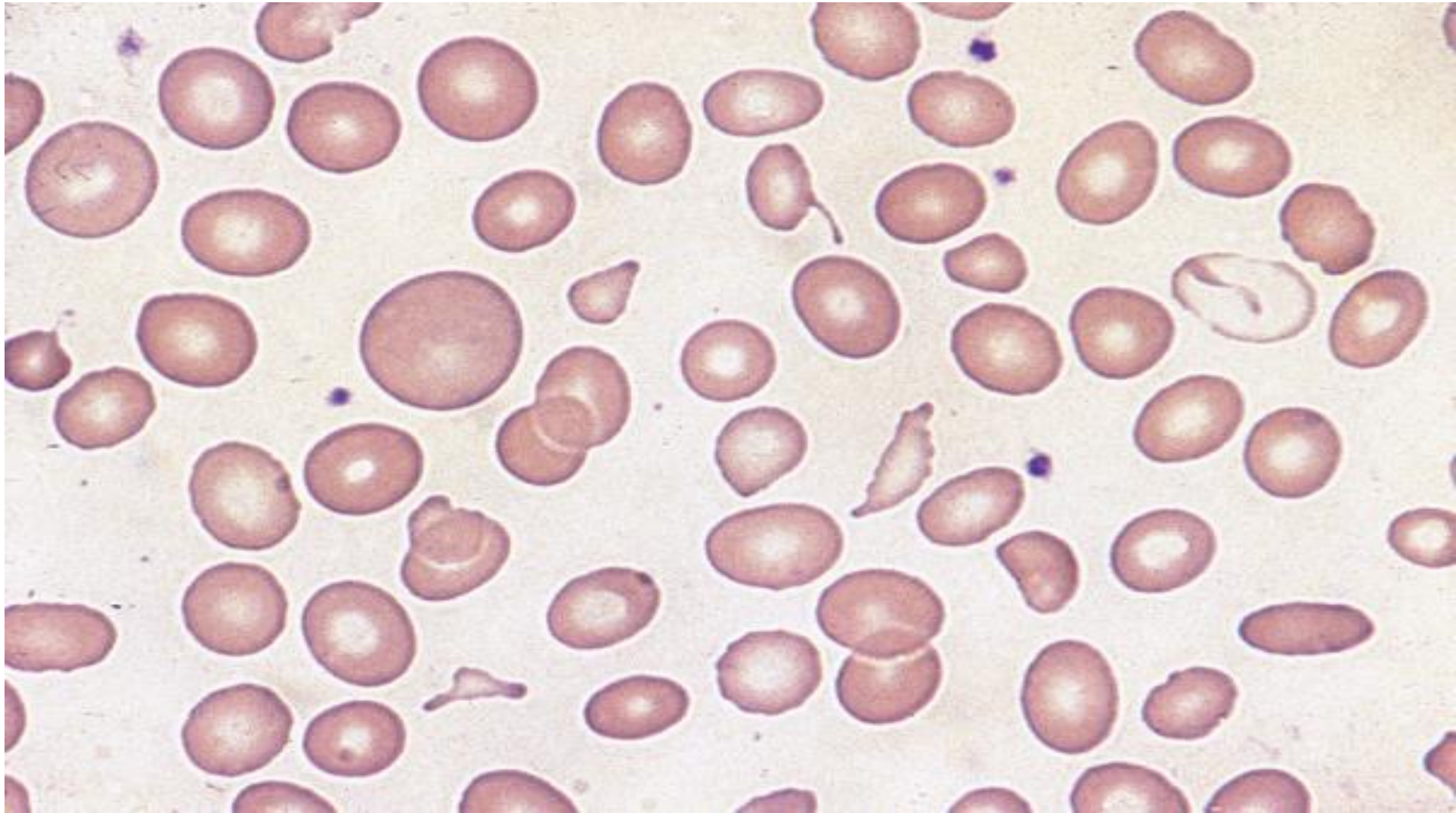
Idiopathic myelofibrosis.
erythrocytes are elliptical or oval

Many of the

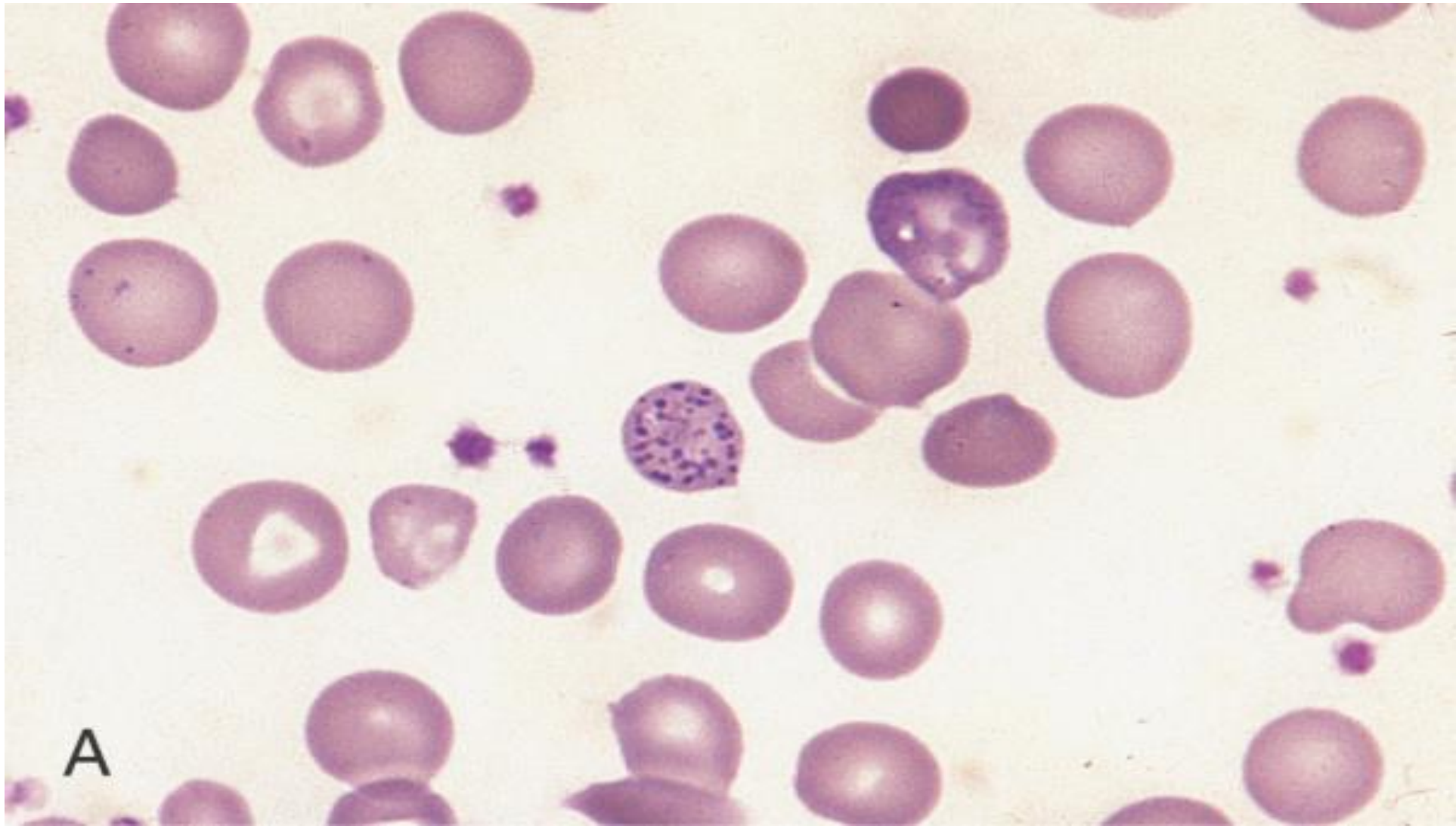


Congenital dyserythropoietic anaemia type II.

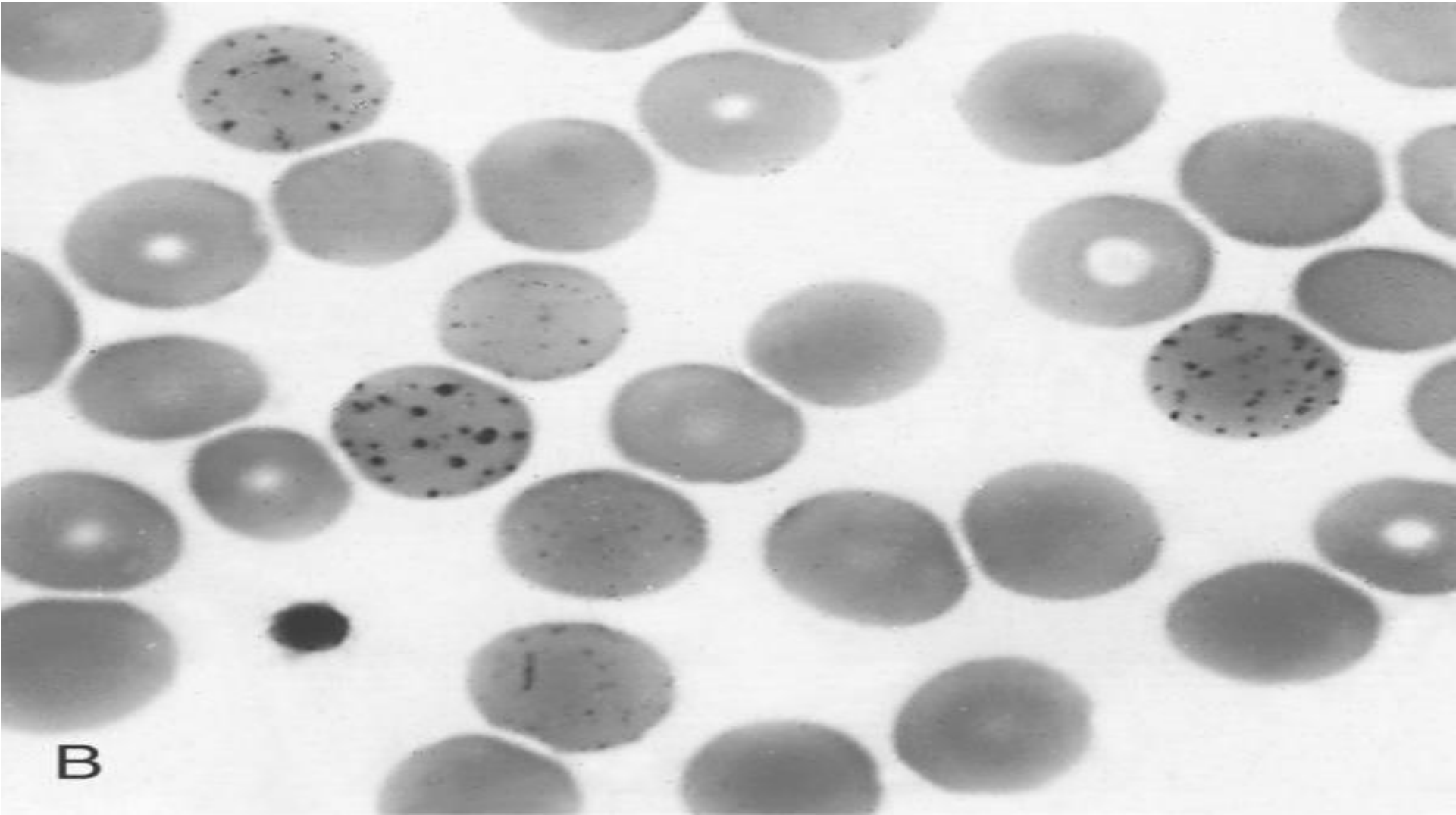
Shows marked anisocytosis, marked poikilocytosis, one unusually large macrocyte, and one severely hypochromic cell.



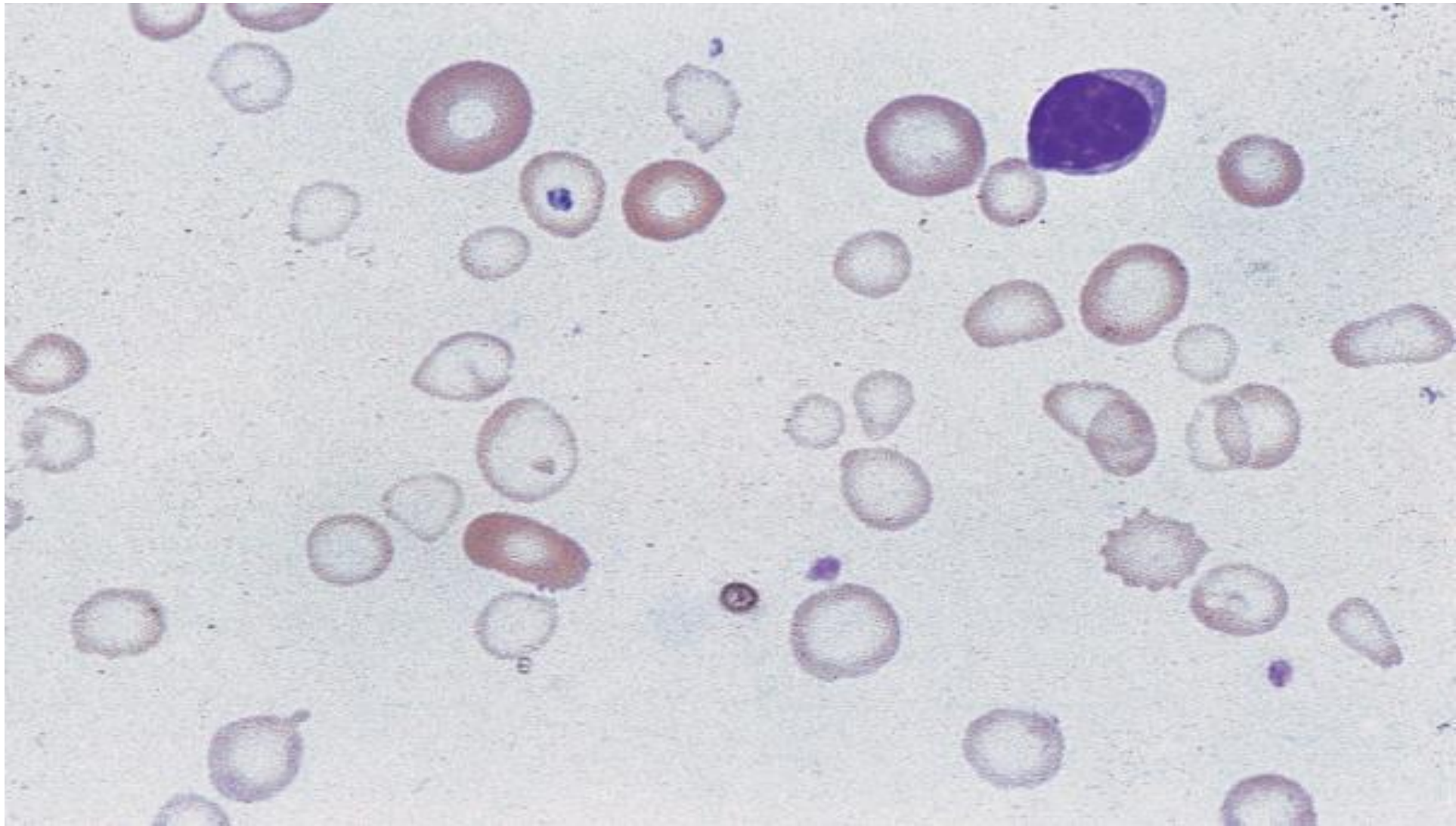
β Thalassemia trait shows hypochromia, microcytosis, and basophilic stippling. B: Erythropoietic porphyria. Shows prominent basophilic stippling.



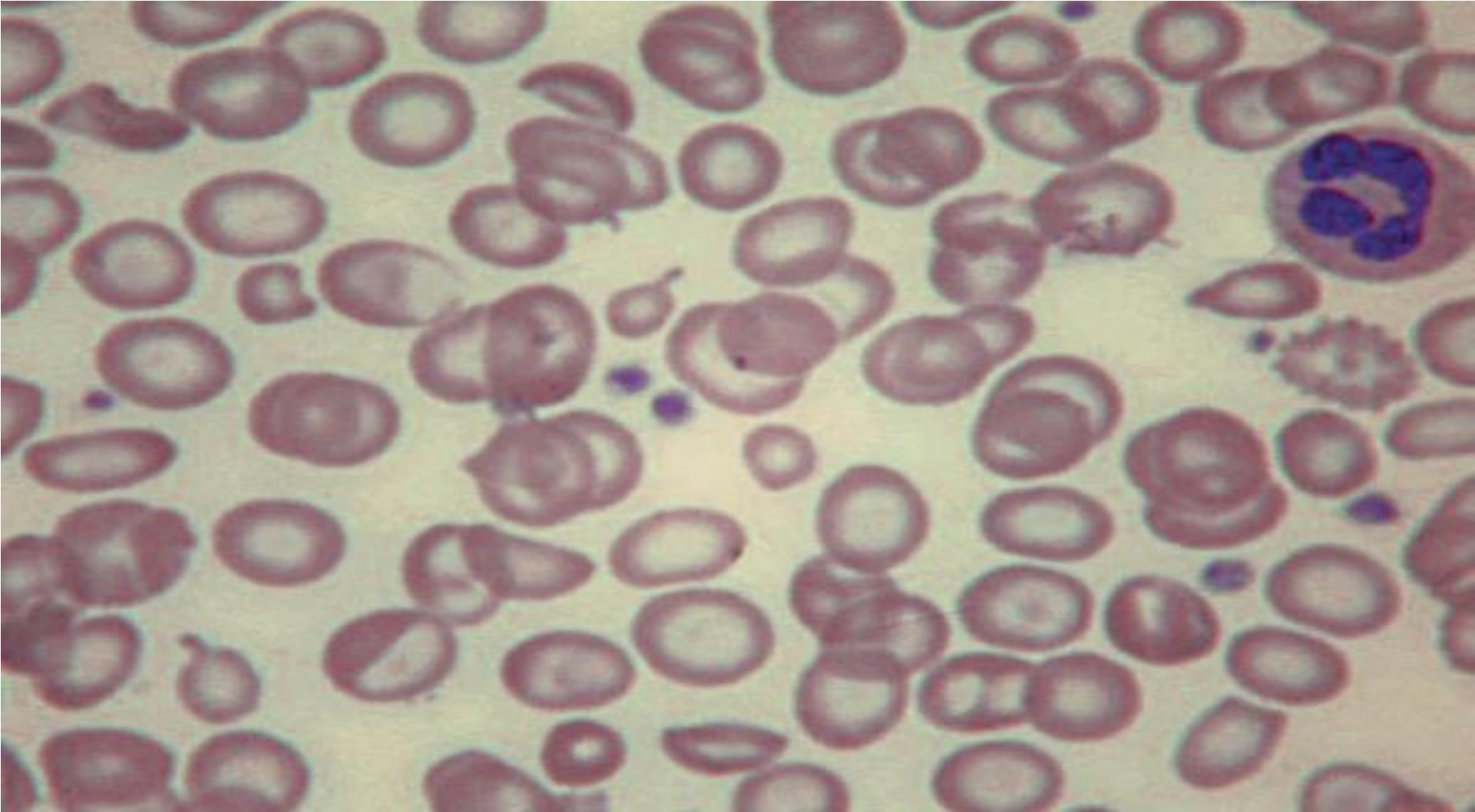
Shows prominent basophilic stippling



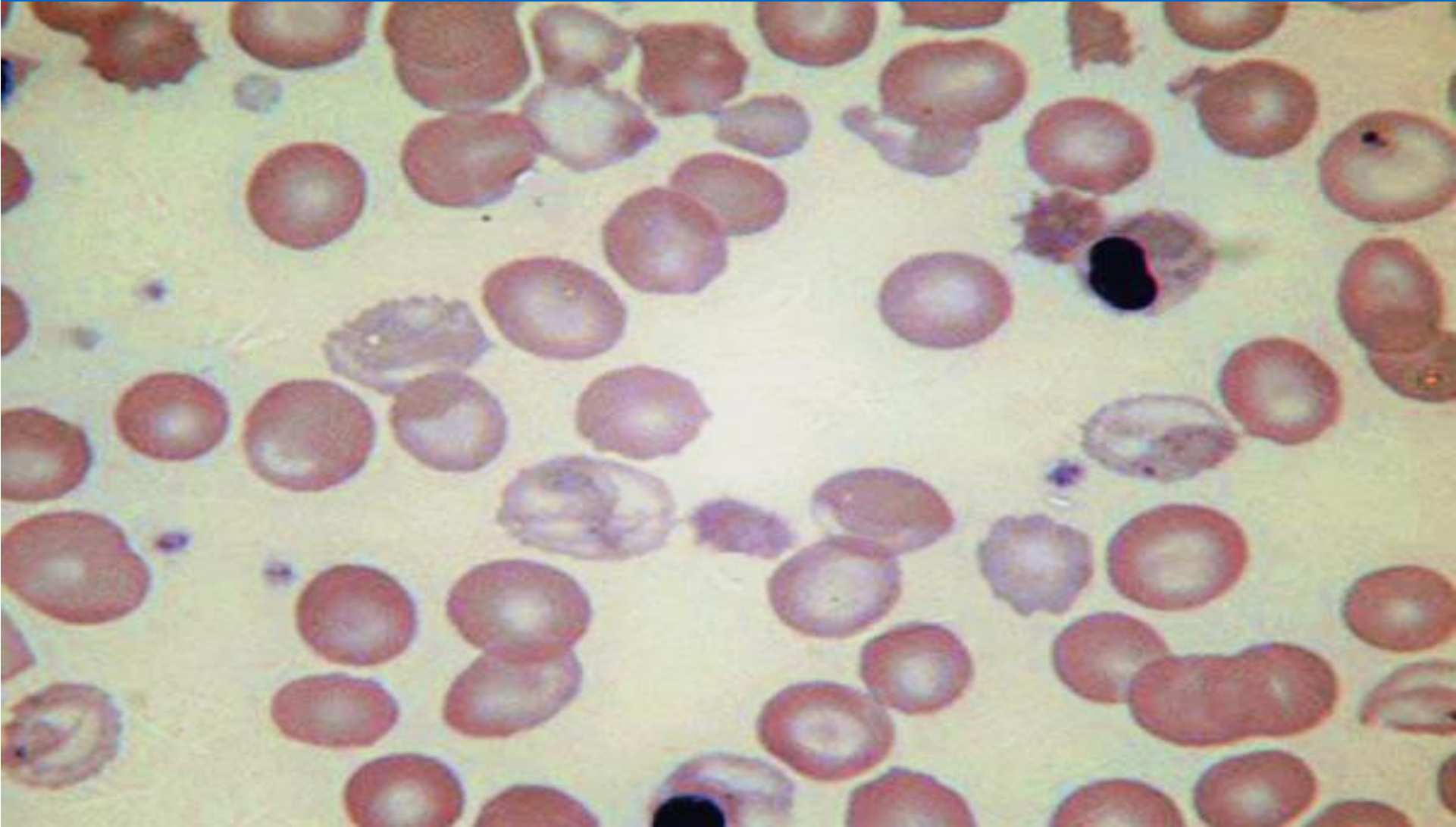
Iron deficiency anaemia. Shows a marked degree of hypochromia, microcytosis, marked anisocytosis, and mild poikilocytosis; there are some normally haemoglobinized cells.

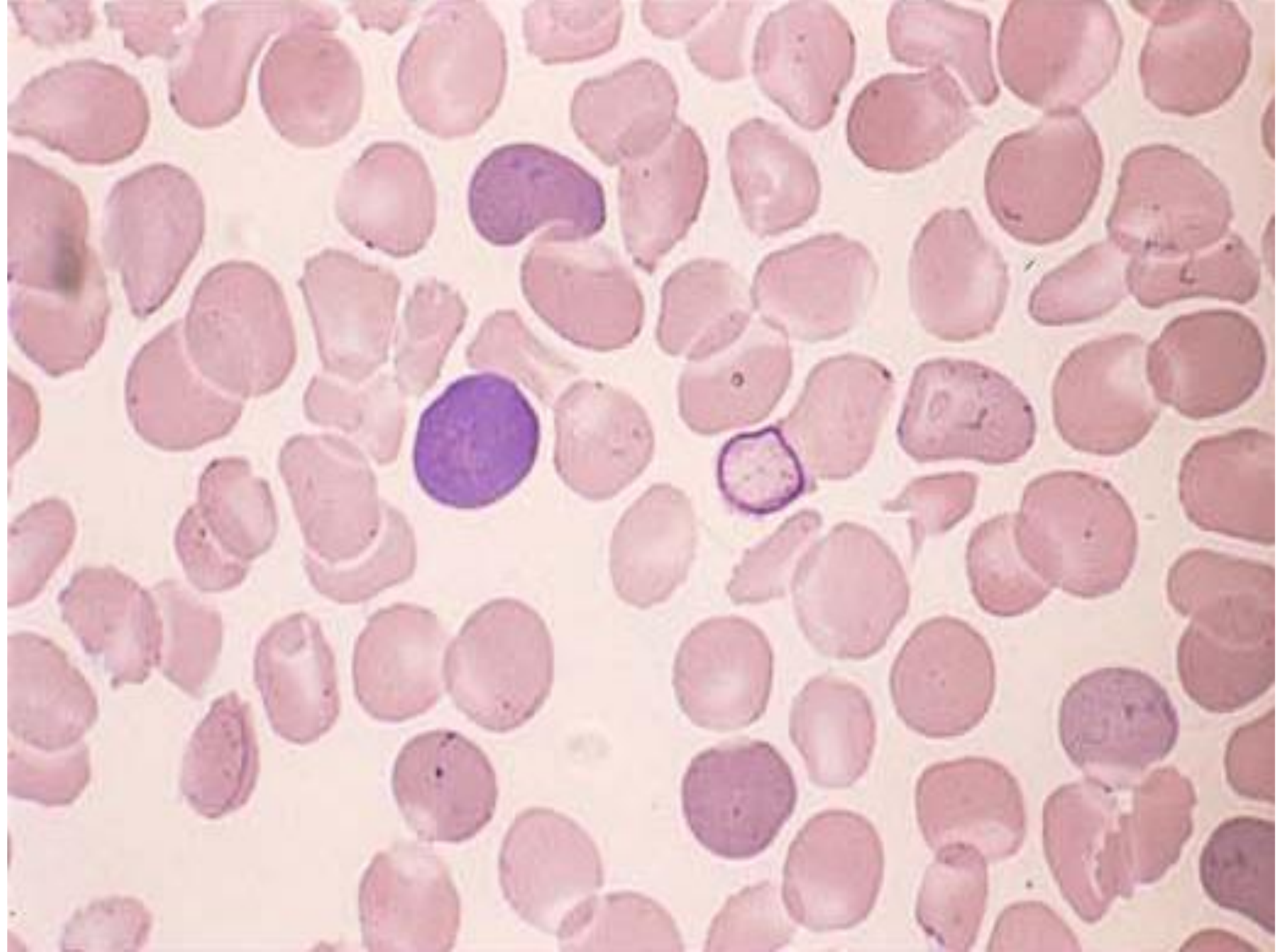


Haemoglobin H disease. Shows microcytosis, moderate hypochromia, moderate anisocytosis, and some poikilocytes (including teardrop poikilocytes and red cell fragments).



β Thalassaemia major. Shows a dimorphic blood film. The normal cells are transfused cells. The patient's own cells show severe hypochromia. There are three nucleated red blood cells.





Polychromatic erythrocytes

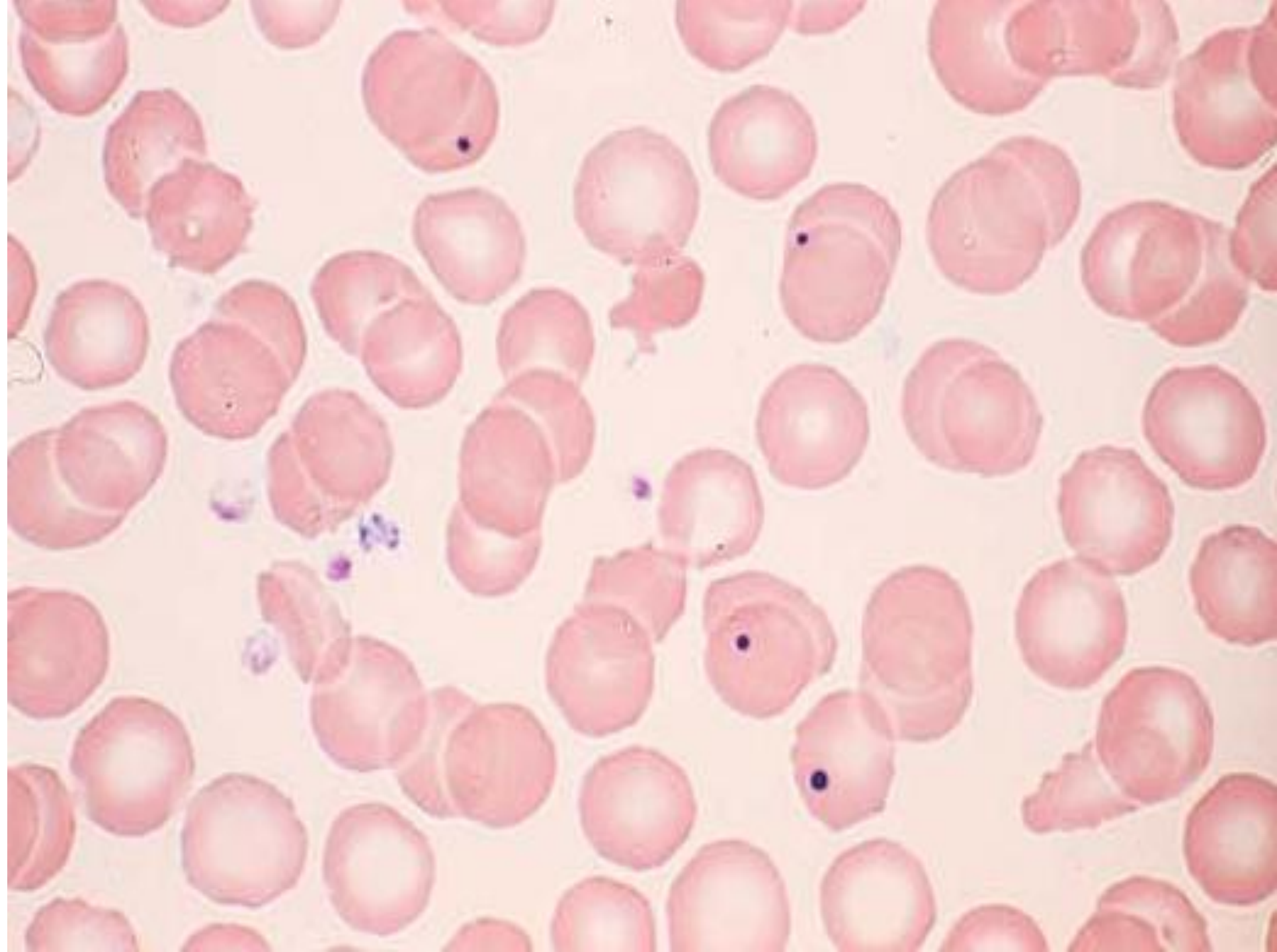
Cabot rings

Polychromatic erythrocytes Cabot rings. Polychromasia occurs when mature erythrocytes show increased staining with basic dyes (violet stain) in addition to hemoglobin staining. It is usually associated with reticulocytosis.

Polychromasia occurs in red cells that still have a relatively **high RNA content** and in which hemoglobin synthesis is not yet Complete

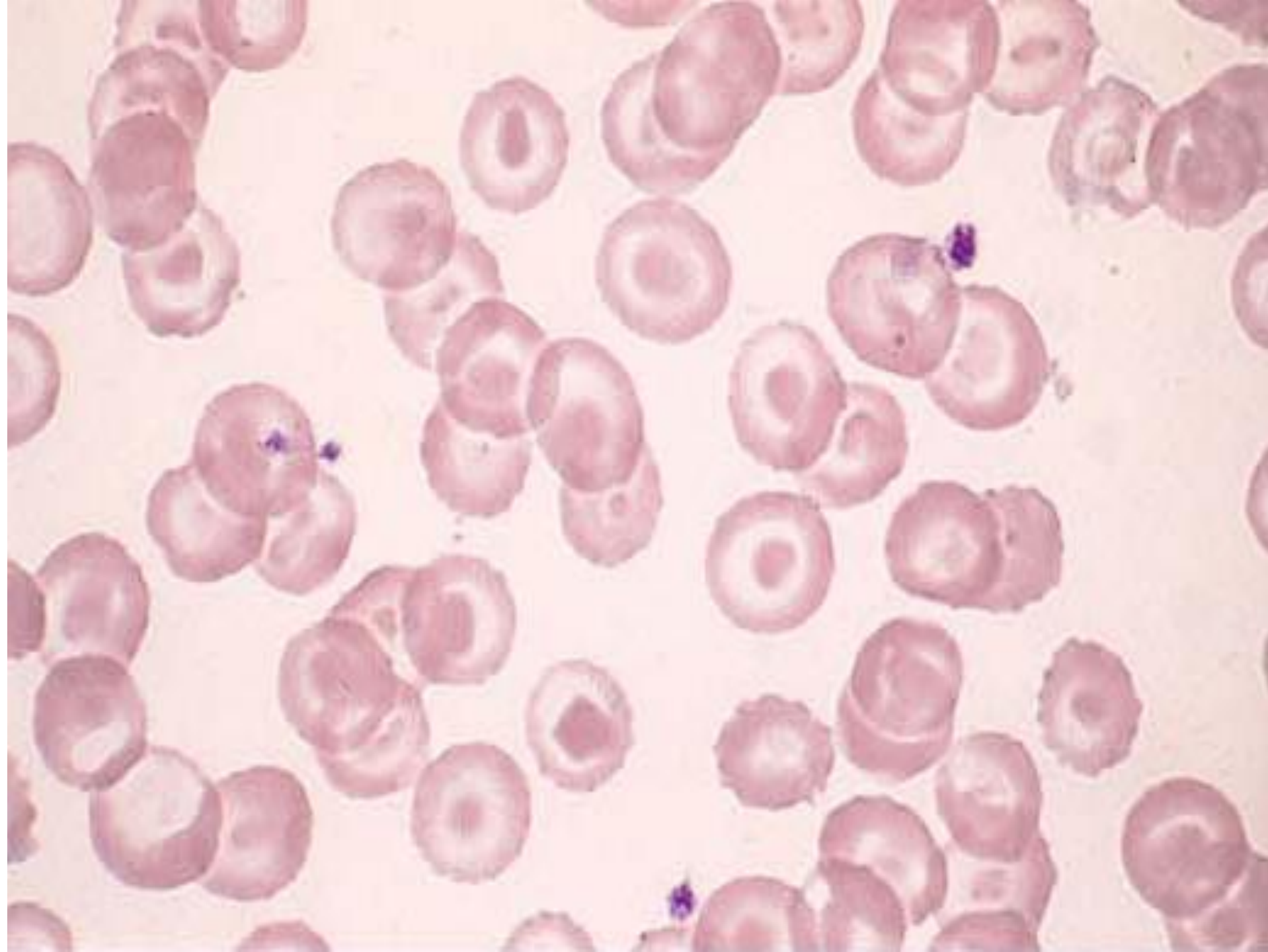
It is especially common in **chronic hemolytic anemias**. The variable staining of the erythrocytes is also termed **anisochromia**.

Cabot rings are remnants of spindle fibers and are a product of abnormal regeneration



Howell-Jolly bodies

- **nuclear remnants in the form of Howell-Jolly bodies**, which are **observed after splenectomy** and in cases of splenic atrophy. Chromatin dust, like the Howell-Jolly bodies, consist of nuclear remnants



Target cells (Mexican hat cells)

- Target cells (Mexican hat cells) are distinguished from **anulocytes** by the deeper staining of their central zone and peripheral rim.
- They are particularly common in hemoglobin abnormalities, occurring also in other **hemolytic anemias, severe iron deficiency, and after splenectomy**

