اساس روش آنالایزرهای تجمع پلاکتی

برای اندازه گیری تجمع پلاکتی از روشهای نوری (توربیدومتری) ، امپدانس الکتریکی ، یا بیولومینسانس استفاده می شود. توربیدومترها رنگ سنج هایی هستند که مقدار توربیدیتی را به اندازه گیری در کاهش دانسیته نوری (Optical deusity) ODبین OD 100%-90%) PRP و پلاسمای کم پلاکت 0-Platelet=PPP) (% Poor Plasma) ODبعد از اضافه کردن یک عامل جمع کننده پلاکتی شناخته شده نشان می دهند.

(PRPوقتی که پلاکتها غیر فعال هستند ترانس لونست است و بعد از تجمع شفاف می شود). با سانتریفوژ یک نمونه ضد انعقاد شده (با اضافه کردن محلول رقیق شده سیترات سدیم 3/2 درصد با رقت 0/1 به نمونه کامل خون) در 150-200 gبه مدت 10 دقیقه PRP تهیه می شود . سپس پلاسما توسط پیپت به کووت ریخته شده و اجازه داده می شود تا به دمای اتاق برسد PPP .قسمتی از PRP است که پلاکتهای آن با دوباره سانتریفوژ شدن در g4000 به مدت 10 دقیقه ، جدا شده اند. (بسیار مهم است که در تهیه نمونه از ظروف پلاستیکی استفاده شود زیرا شیشه باعث فعال شدن تجمع شده و نتایج غلط حاصل می گردد).

در حین آزمایش ، نمونه باید بطور مداوم در حرکت باشد تا تمامی پلاکتها در تماس با یکدیگر قرار بگیرند و پلاکتهای آن در حالت سوسپانسیون باقی بمانند. حرکت نباید طوری باشد که به تجمع پلاکتها آسیب برساند. اکثر دستگاهها از یک حرکت دهنده مغناطیسی (Magnaetic Stirbar) استفاده می کنند. جهت جلوگیری از عدم یکنواختی در جریان بوجود آمده بر اثر حرکت در کنار Stirbar ، حفره های سیلندری هم محوری طراحی شده است. (Cuvette System)

در دورهای پائین (40 دور در ثانیهShear rate) ، تجمع پلاکتی بصورت خود بخودی یا اتحاد شده می تواند رخ دهد ، در دورهای بالا (300 دور در ثانیهShear rate) ممکن است تجمع پلاکتی شکل گرفته تخریب شود

به علت جریان یکنواخت در دورهای پائین حداقل ماده تجمع کننده برای القاء تجمع پلاکتی نیازمند است.

درجه حرارت باید نزدیک 37 (c˚ ±0/5) وPH بین 8/5-6/8 ثابت نگهداشته شود. واکنش نیاز به کلسیم هم دارد. یک اشعه مرئی مادون قرمز یا نور لیزر از میان کووت عبور داده می شود. نور عبور کرده از کووت

توسط یک فتودتکتور دریافت شده و تبدیل به ولتاژ الکتریکی می شود که با گذشت زمان ، باعث ایجاد یک منحنی شده که روی صفحه نمایشگر یا روی صفحه کاغذ نشان داده می شود. مقادیر بدست آمده منحنی (مثلا نقطه ماکزیمم، شیب) با مقادیر استاندارد مقایسه می شود.

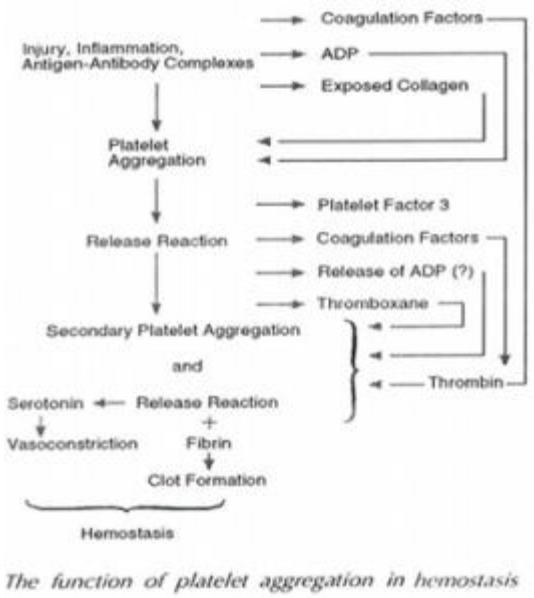
برخری از آنالایزرهای سوزنی دارای توربیدومترهای دو اشعه ای (dual-beam) هستند که نور را شکاف داده و یک اشعه از PRP و یک اشعه از PPP عبور داده می شود.

این حالت نه تنها باعث می شود که تغییرات دانسیته نوری در هردو کووت همزمان پایش شوند بلکه باعث می شود که تغییرات در شدت نور که در قرائت نتیجه اثر می گذارد برای هر دو کووت یکسان باشد.

روش دیگر برای ارزیابیی تجمع پلاکتی سیستم امپدانس الکتریکی است که جریان الکتریکی بین دو الکترود و فرو برده شده در خون کامل ضد انعقاد شده یا PRP را اندازه گیری می کند.

بعد از فرو بردن الکترود، یک لایه پلاکتی روی الکترود تشکیل می شود، وقتی که ماده تجمع کننده اضافه می شود پلاکتها به سمت الکترود مهاجرت کرده و باعث افزایش امپدانس (کاهش جریان) بین الکترودها می شوند. این افزایش به مرور زمان توسط یک ثبت کننده ثبت می شود.

اطلاعات بدست آمده از روش امپدانس بخوبی روش نوری است. علاوه بر این توانایی آنالیز دقیق تر نمونه های خون کامل توسط روش امپدانس بیشتر بوده و همچنین نتایجی را که نمی توان با نمونه های PRP بدست آورد می توان از روش ایمپدانس بدست آورد. برای مثال دی پیریدامول (یک گشادکننده عروق کرونر) وقتی که با نمونه خون کامل مورد آزمایش قرار می گیرد اثر گذاری آن روی تجمع پلاکتی مشخص می شود و در آنالیز PRPاینگونه نیست. سلولهای بزرگتر پلاکتی (مگاکاریوسیت) که در حین PRP توسط سانتریفوژ کردن حذف می شوند، در مطالعه نمونه خون کامل اثرگذاری آنها روی تجمع پلاکتی مورد مطالعه قرار می گیرد.



The function of platelet aggregation in hemostasis

Aggregation in hemostasis

برخی از اگریگومترهای پلاکتی (Platelet aggregometers) شامل یک دتکتور لومیناسنس هستند که آزاذ شدن ATP از پلاکتها زا بوسیله اندازه گیری شدن نور تولید شده از واکنشهای شیمیایی شامل ATP ، لوسیفرین، لوسیفراز و Mq پایش می کنند. این لومیناسنس توسط یک تیوب Photomultiplier که در زاویه 90 درجه نسبت به کانال تجمعی قرار داده شده است مشخص می شود. ابزارهای نوری نیز می توانند با استفاده از یک منبع نوری مادون قرمز مجزا و یک فتودتکتور و اندازه گیری تجمع، کار تشخیصی لومیناسنس را انجام دهند.

آزمونهای واکنش- آزادسازی (release-reaction) اندازه گیری های کمی عملکرد پلاکتی را انجام می دهند. وبا ترکیب مقادیر تجمع می توانند تشخیص بیماری های پلاکتی را آسان کنند. برای مثال کاهش رها سازی ATPو اختلال ذر تجمع پلاکتی در Storage Pool disease و سنتز غیر طبیعی پروستاگلاندین مشاهده شده و غالبا برای این حالتها پاتوگنوموتیک هستند.

برخی از تهیه کنندهای دستگاهای نوری معرفی های واکنشهای رنگزار را نیز تهیه می کنند. این واکنشها موادی مانند فاکتور VIII را بوسیله تغییر رنگ بر اثر مرور زمان در محلول را سنجش می کنند.

در حال حاضر آنالایزرهای تجمع پلاکتی بین 1 تا 4 کانال (چاهکهای آنالیزکننده analyzing Wells) برای پایش تجمع دارند. دستگاههای چند کاناله می توانند بطور همزمان چند نمونه را مورد آزمایش قرار دهند. نمونه ها ممکن است از یک بیمار باشند ولی عوامل تجمعی متفاوت به آنها اضافه می شود یا ممکن است نمونه های مختلف با یک ماده تجمعی یا ماده های مختلف بطور همزمان مورد آزمایش قرار گیرند. این دستگاهها هم چنین می توانند بطور همزمان نمونه بیمار و نمونه کنترل را با هم مورد آزمایش قرار دهند.

منبع : سایت پارامد