

Evolution of Extant Antibody Effect on Natural Platelets and Neutrophils in People with Platelet Satellitism

Akram Moslehi¹, Azam Moslehi^{2*}

¹22 Bahman Polyclinic, Qom Social Security Management, Qom, Iran.

²Department of Physiology & Pharmacology, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

*Corresponding Author:
Azam Moslehi, Department of Physiology & Pharmacology, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

Email:
moslehi2000@gmail.com

Received: 23 Nov, 2015

Accepted: 30 Mar, 2016

Abstract

Background and Objectives: Platelet satellitism (PS), a rosette form of platelets around neutrophils, is observed extensively in CBC samples containing anticoagulant EDTA at room temperature. This study was conducted to investigate the effect of antiplatelet autoantibodies on healthy people's neutrophils and platelets.

Methods: For this case-control study, 10 people with PS were selected. To investigate autoantibody effect, first, blood of the people was taken in EDTA-free test tubes and the serums isolated and gathered. Then, the buffy coat of EDTA-contained blood sample of a healthy person (with blood group O⁺) was isolated. Equal amounts of serum and buffy coat were mixed together, of EDTA added to them, and the solution kept at room temperature for 30 minutes. The blood smears prepared from these solutions were stained and examined microscopically for the presence of PS. Level of significance was considered to be p<0.05.

Results: After mixture of serum and buffy coat, no PS was seen in the prepared smears.

Conclusion: It seems that infusion of serum of people with PS to plasma receivers does not cause fake psoudotromocytopenia in the CBC samples and any complications in the receivers.

Keywords: Blood platelets; Autoantibodies; EDTA; psoudotromocytopenia.

تأثیر اتوآنتی‌بادی موجود در افراد دارای پدیده پلاکت‌های اقماری بر روی پلاکت‌ها و نوتروفیل‌های افراد سالم

اکرم مصلحی^۱، اعظم مصلحی^{۲*}

چکیده

زمینه و هدف: پدیده پلاکت‌های اقماری (Platelet Satellitism, PS)، یک شکل رزت‌مانند از پلاکت‌ها در اطراف نوتروفیل‌ها بوده که به شکل وسیعی در نمونه‌های CBC همراه با ضدانعقاد EDTA در دمای محیط مشاهده می‌شود. در این مطالعه اثر اتوآنتی‌بادی‌های ضدپلاکتی بر روی نوتروفیل‌ها و پلاکت‌های افراد سالم بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه مورد - شاهدی، ۱۰ فرد دارای پدیده پلاکت‌های اقماری انتخاب شدند. برای بررسی اثر این آنتی‌بادی، در ابتدا خون افراد در لوله‌های آزمایش بدون EDTA، تهیه و سرم‌ها جمع‌آوری شد. در مرحله بعد از فردی سالم با گروه خونی O⁺ به همراه ضدانعقاد EDTA، لایه Buffy coat پلاسما جدا شد. سپس مقادیر مساوی از هر سرم با Buffy coat، مخلوط و EDTA به آن اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. اسمیر خونی تهیه‌شده از این مخلوط‌ها پس از رنگ‌آمیزی، در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری تی‌تست تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در مطالعه حاضر، بعد از مخلوط‌شدن سرم با لایه Buffy coat، پدیده پلاکت اقماری در لام‌های آماده‌شده مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تزریق سرم افراد دارای پدیده PS به افراد گیرنده پلاسما باعث ایجاد ترومبوسیتوپنی کاذب در نمونه CBC آنها نخواهد شد و عارضه‌ای نیز برای فرد ایجاد نمی‌کند.

کلید واژه‌ها: پلاکت‌های خون؛ اتوآنتی‌بادی؛ ادیتیک اسید؛ ترومبوسیتوپنی کاذب.

^۱پلی‌کلینیک ۲۲ بهمن، سازمان تأمین اجتماعی، قم، ایران.

^{۲*}گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

اعظم مصلحی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

moslehi2000@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۲

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۱۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Teimourpour R, Aryan E, Meshkat Z. Immune responses involved in *Mycobacterium tuberculosis* infection. Qom Univ Med Sci J 2016;10(7):84-88. [Full Text in Persian]

مقدمه

پدیده پلاکت‌های اقماری (Platelet Satellitism, PS) شامل اتصال پلاکت‌ها به نوتروفیل‌های خون محیطی به شکل رزت است که برای اولین بار در سال ۱۹۶۳ و سپس توسط دیگر محققین گزارش شد (۲،۱). تقریباً ۰/۱٪ از جمعیت دارای پدیده PS هستند (۳). اگرچه پدیده PS در بیماری‌هایی مثل واسکولیت، لوپوس، لنفوم B و بیماری‌های مزمن کبدی دیده شده است (۴،۵)، ولی با هیچ دارو یا بیماری خاصی در ارتباط نبوده و تنها عارضه آن گزارش ترومبوسایتوپنی کاذب در گزارشهای آزمایشگاهی می‌باشد.

پدیده PS تنها در شرایط *in vitro*، در حضور ضدانعقاد EDTA و دمای محیط دیده می‌شود و در دماهای سردتر، این پدیده حذف می‌گردد (۷،۶). Von dem Borne و همکاران (سال ۱۹۸۶)، نظریه آنتی‌ژن‌های مخفی را بر روی این پلاکت‌ها ارائه کردند (۸). این آنتی‌ژن‌ها روی کمپلکس گلیکوپروتئینی pb/ша پلاکتی قرار دارند، اما تا زمانی که یون کلیسم توسط ضدانعقاد EDTA از محیط حذف نشود و غشا از نظر فضایی تغییر شکل پیدا نکند، این آنتی‌ژن‌ها ظاهر نمی‌شوند (۹). همچنین مطالعات نشان داده‌اند بعضی از پروتئین‌هایی که سبب تغییر در بار الکتریکی غشای پلاکتی می‌شوند مانند آلبومین می‌توانند سبب بروز این آنتی‌ژن‌های مخفی شوند (۱۰). عامل مهم دیگر در ایجاد این پدیده، اتوآنتی‌بادی IgG بوده که هنوز نقش آن به‌خوبی شناخته نشده است. این آنتی‌بادی به‌عنوان یک پل ارتباطی بین پلاکت و نوتروفیل باعث ایجاد شکل رزت‌مانند در اطراف نوتروفیل‌ها می‌شود (۱۱). از آنجایی که تعدادی از افراد جامعه بدون هیچ نشانه خاصی دارای این نوع آنتی‌بادی ضدپلاکتی در خون خود هستند نیاز به بررسی‌های بیشتری در زمینه عوارض احتمالی آن در اهدای خون به‌عنوان دهنده به افراد گیرنده وجود دارد. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر احتمالی اتصال این آنتی‌بادی به آنتی‌ژن‌های روی پلاکت‌های افراد سالم می‌باشد.

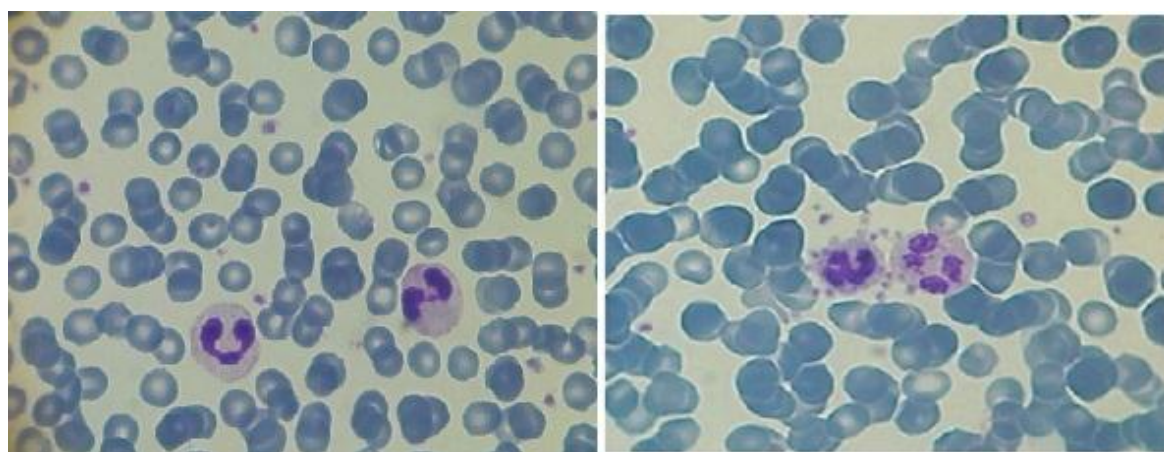
روش بررسی

این مطالعه از نوع مورد - شاهدهی است که در آزمایشگاه تشخیص طبی پلی‌کلینیک ۲۲ بهمن شهر قم انجام شد.

تعداد ۲۰ نفر فرد سالم (۹) انتخاب شدند که از بین آنها ۱۰ نفر به‌عنوان گروه کنترل و ۱۰ نفر دیگر از افرادی بودند که در آزمایش اولیه آنها با دستگاه اتونالیزر هماتولوژی، کاهش پلاکتی دیده شد و در بررسی‌های بعدی از لام خون محیطی، تعداد پلاکت‌ها طبیعی و پدیده پلاکت‌های اقماری رؤیت شد. تمامی افراد در گروه کنترل و مورد، سالم بودند و هیچ‌گونه بیماری خاصی نداشته و داروی خاصی نیز مصرف نمی‌کردند. همچنین دیگر شاخص‌های خونی آنها از نظر هماتولوژی و بیوشیمی، طبیعی بود. نمونه سرم از خون افراد PS (حاوی آنتی‌بادی ضدپلاکتی و کمپلمان) و افراد گروه کنترل (حاوی کمپلمان) با سانتریفوژ (به مدت ۵ دقیقه و با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه) جداسازی شد. سپس نمونه خون یک فرد سالم O⁺ به همراه ضدانعقاد EDTA، سانتریفوژ گردید و لایه Buffy coat آن به دقت جدا شد. در ادامه، ۵۰ میکرولیتر از سرم افراد دارای پدیده PS و افراد گروه کنترل، در لوله‌های جداگانه ریخته شد و به‌همین میزان نیز Buffy coat به لوله‌ها اضافه گردید. به این مخلوط نیز ۱۰ میکرولیتر ضدانعقاد EDTA افزوده شد و به مدت ۱۵ دقیقه لوله‌ها در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس از این مخلوط اسمیر خون محیطی تهیه و پس از رنگ‌آمیزی با رنگ گیمسا در زیر میکروسکوپ (Nicon-Ys100) مورد مطالعه قرار گرفت. برای بررسی داده‌ها از میانگین (تعداد نمونه‌های دارای پدیده پلاکت‌های اقماری) \pm انحراف معیار استفاده شد. داده‌ها به کمک آزمون آماری تی‌تست تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

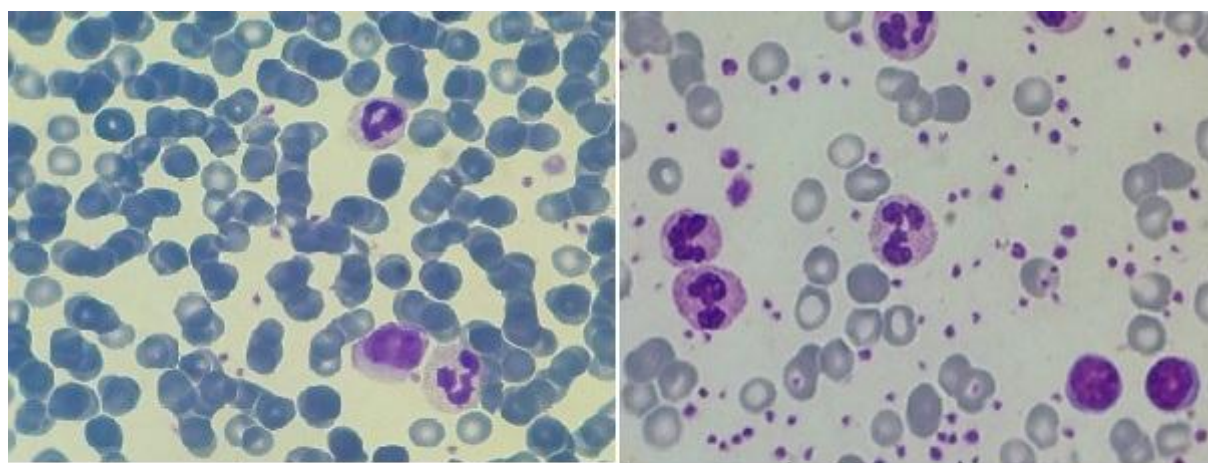
در مطالعات میکروسکوپی بر روی هر ۱۰ نمونه اسمیر اولیه از افراد گروه کنترل، هیچ تجمع پلاکتی یا کاهش کاذب پلاکتی دیده نشد (شکل شماره ۱- الف). در افراد دارای پدیده PS در مطالعات اولیه، تجمع پلاکت‌ها در اطراف نوتروفیل‌ها مشاهده گردید (شکل شماره ۱- ب). در مخلوط سرم افراد گروه کنترل با Buffy coat گروه خونی O⁺، هیچ نشانه‌ای از تجمع پلاکتی دیده نشد (شکل شماره ۲- الف). در مخلوط سرم افراد دارای پدیده PS با گروه خونی O⁺ نیز هیچ نشانه‌ای از پدیده پلاکت‌های اقماری رؤیت نشد (شکل شماره ۲- ب).



الف

ب

شکل شماره ۱: الف) اسمیر خونی از افراد گروه کنترل (عدم تجمع پلاکتی در اطراف نوتروفیل)؛ ب) اسمیر خونی از افراد دارای پدیده PS (تجمع اقماری پلاکت‌ها در اطراف نوتروفیل) با بزرگنمایی $100\times$



الف

ب

شکل شماره ۲: الف) اسمیر خونی از مخلوط سرم افراد کنترل با Buffy coat گروه خونی O^+ (عدم تجمع پلاکتی)؛ ب) اسمیر خونی از مخلوط سرم افراد PS (عدم تجمع پلاکتی) با بزرگنمایی $100\times$

بحث

در مطالعه حاضر، از مخلوط کردن سرم حاوی آنتی‌بادی افراد دارای پدیده پلاکت‌های اقماری با پلاکت‌ها و نوتروفیل‌های فرد فاقد آن در حضور EDTA و دمای محیط، هیچ‌گونه اثری از پدیده پلاکت‌های اقماری مشاهده نشد.

در پدیده پلاکت‌های اقماری، پلاکت‌ها تنها به نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها متصل می‌شوند و هیچ گزارشی در اتصال پلاکت‌ها به ائوزینوفیل‌ها و بازوفیل‌ها دیده نشده است. در یک مطالعه، در ۵ فرد با پدیده PS که دارای کرایوفیبروژنمیا نیز بودند، پس از

انتقال سرم این افراد به اشخاص نرمال، تنها در دو نمونه پدیده PS القا شد و در سه نمونه دیگر اثری از PS دیده نشد. در ادامه این آزمایش با افزودن Anti-human دارای Anti-IgM، آنتی‌آلبومین یا آنتی‌فیبرینوژن؛ پدیده PS مشاهده گردید (۱۰). این آزمایش نشان می‌دهد حضور آنتی‌بادی‌ها به دلیل یک بیماری زمینه‌ای در خون شخص تولید می‌شوند که با اتوآنتی‌بادی ضدپلاکتی در PS متفاوت است، ولی می‌تواند سبب PS گردد. در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد پدیده PS با سرم دارای کمپلمان یا بدون آن، قابلیت القا به نمونه خون نرمال را دارد.

اتوآنتی‌بادی‌های سرم کاملاً از دسترس پلاکت‌ها خارج شده‌اند (۹).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد احتمالاً انتقال سرم از افراد دارای پدیده PS به افراد سالم، هیچ‌گونه عارضه‌ای برای شخص گیرنده سرم به همراه نخواهد داشت و کاهشی نیز در پلاکت‌های خونی افراد گیرنده سرم ایجاد نمی‌شود.

در این مطالعه فرد دارای یک اختلال ارثی در پلاکت‌های خون خود بوده است، این آزمایش نشان می‌دهد اختلال در ساختار پلاکت‌ها سبب PS شده؛ زیرا این اختلال سبب بروز آنتی‌ژن‌های مخفی غشای پلاکتی نیز شده است (۱۲،۱۱). علاوه بر این، Bizzaro و همکاران نشان دادند زمانی که سرم فرد دارای پدیده PS جذب پلاکت‌های نرمال می‌شود، فعالیت ضدنوتروفیلی آن کاملاً از دست می‌رود، در این صورت با تزریق دوباره سرم به پلاکت‌های غیرنرمال، پدیده PS دیگر مشاهده نخواهد شد؛ زیرا

References:

- Field EJ, MacLeod I. Platelet adherence to polymorphs. *Br Med J* 1963;2(5353):388-9.
- Kjeldsberg CR, Swanson J. Platelet satellitism. *Blood* 1974;43(6):831-6.
- Garcia-Suarez J, Calero MA, Ricard MP, Krsnik I, Rus GP, Perera F, et al. EDT-Dependent pseudo thrombocytopenia in ambulatory patients: Clinical characteristics and role of new automated cell counting in its detection. *Am J Hematol* 1992;39(2):146-8.
- Sultan S, Irfan SM. Platelet satellitism: A spurious cause of thrombocytopenia in chronic liver disease. *Eur J Haematol* 2015;94(1):90-1.
- Bobba RK, Doll DC. Platelet satellitism as a cause of spurious thrombocytopenia. *Blood* 2012;119(18):4100.
- Onder O, Weinstein A, Hoyer LW. Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agent. *Blood* 1980;56(2):177-82.
- Watkins SP Jr, Shulman NR. Platelet cold agglutinins. *Blood* 1970;36(2):153-8.
- Von dem Borne AE, van der Lelie H, Vos JJ, van der Plas-van Dalen CM, Risseuw-Bogaert NJ, Ticheler MD, et al. Antibodies against crypt antigens of platelets: Characterization and significance for the serologist. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 1986;52(2):33-46.
- Bizzaro N, Goldschmeding R, von dem Borne AE. Platelet satellitism is Fc gamma RIII (CD16) receptor-mediated. *Am J Clin Pathol* 1995;103(6):740-4.
- McGregor DH, Davis JW, Liu PI, Gates E, Poindexter AR. Platelet satellitism: Experimental studies. *Lab Invest* 1980;42(3):343-55.
- Payne CM. Platelet satellitism: An ultrastructural study. *Am J Pathol* 1981;103(1):116-28.
- Yoo D, Weems H, Lessin LS. Platelet to leukocyte adherence phenomena. (Platelet satellitism) and phagocytosis by neutrophils associated with in vitro platelet dysfunction. *Acta Haematol* 1982;68(2):142-8.