المواد المضادة لتجلط الدم Anticoagulants

تستخدم المواد المانعة للتجلط في حالة استعمال عينات من البلازما او الدم الكلي حسب مايقتضيه الاختبار وهذه المواد هي :

1- ايثلين ثنائي الامين رباعي حامض الخليك Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA)

- يفضل استخدامه لاغلب فحوص اختبارات الدم Hematology ، حيث يحافظ على المكونات الخلوية من التلف او يحافظ على شكل وحجم كريات الدم الحمراء والبيضاء والصفيحات الدموية ، يستخدم بشكل املاح ثنائي الصوديوم او ثنائي وثلاثي البوتاسيوم بتركيز 1-2 ملغم / مل من الدم وتعزى فعالية هذا الملح كمضاد للتخثر الى قابليته للارتباط مع كالسيوم الدم وعزله كليا عن القيام بدوره في عملية التخثر .
- يزيل معادن اخرى غير الكالسيوم بعد ارتباطه بها مثل المغنيسوم والحديد والزنك وغيرها
- عند مضاعفة كمية EDTA يسبب خطأ في القراءة .
- مثبط لبعض الانزيمات اذ يتداخل مع التفاعلات الكيميائية ، يستخدم عادة في تقدير CBC ، فصائل الدم Blood group ، Blood smear ، Reticulocyte count ، السكر التراكمي Hb1Ac.

1- ثلاثي سترات الصوديوم Trisodium citrate

- يستخدم بشكل سائل liquid بتركيز 3.8 %
- يرتبط بالكالسيوم ويمنع عملية التخثر
- يستخدم في اختبار PT بنسبة 1:9
- يستخدم في تقدير سرعة ترسيب كريات الدم الحمراء ESR بنسبة 1:4 (0.4 مل من ثلاثي سترات الصوديوم بتركيز 3.8 % الى 1.6 مل من الدم)
- لايحافظ على الشكل الخارجي للخلية .
- يستخدم ايضا في اختبارات PTT ، D- dimer ، fibrinogen وغيرها
- لايستخدم في CBC لانه يعمل على تخفيف العينة بالتالي النتائج تكون غير صحيحة .

2- الهيبارين Heparin

- يوجد في الجسم بصورة طبيعية اذ يحافظ على سيولة الدم ، ينتج من الخلايا القاعدية Basophil والخلايا البدينة Mast cell ، يستخدم في التحاليل الكيمياوية وغالبا مايضاف معه الليثيوم موجب الشحنة لتقليل الشحنة السالبة على سطح او جدران الانابيب المختبرية .
- الية عمل الهيبارين تختلف عن الية عمل مضادات تجلط الدم الاخرى اذ يرتبط الهيبارين مع Antithrombin III ليعمل على تثبيط بعض عوامل الدم (IX , X , XI , XII) ، كذلك الغاء تاثير او نشاط الثرومبين ، لذلك يفضل استخدامه في تقدير الكالسيوم

- يستخدم بكميات صغيرة جداً لمنع تجلط الدم ، ويستخدم في تحاليل الغازات بصورة حصرية حيث يعتبر الوحيد من بين مضات التخثر الذي يحافظ على الاس الهيدروجيبي.
- من عيوبه انه غالي الثمن ولا يمكن استخدامه في اختبارCBC لانه يعمل على تجمع الصفيحات الدموية وتكتل خلايا الدم البيض ، ويحفظ عينة الدم لفترة قصيرة حوالي 8 ساعات فقط .

3- الاوكزالات Oxalate

يرتبط الاوكزالات مع الكالسيوم ليكون اوكزالات الكالسيوم غير الذائبة لذلك يمنع تخثر الدم عن طريق ازالة الكالسيوم من الدم ، انواعه :

- اوكزالات الامونيوم Ammonium oxalate

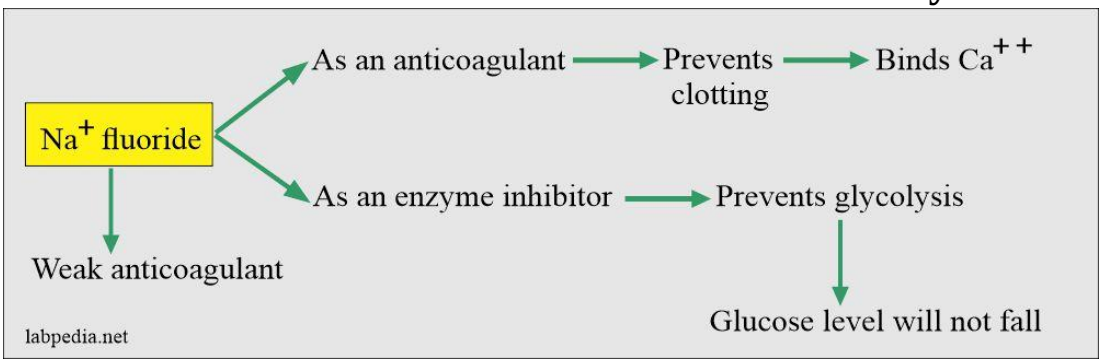
يستخدم بتركيز 2 ملغم / 1 مل من الدم ، يسبب انتفاخ swelling كريات الدم الحمر RBC

- اوكزالات البوتاسيوم Potassium oxalate

يستخدم ايضا بتركيز 2 ملغم / 1 مل من الدم ، يسبب انكماش او تقلص كريات الدم الحمر RBC ، لذلك يخلط مزيج من اوكزالات الامونيوم والبوتاسيوم لعمل توازن و تقليل تاثيرهما على RBC وبنسبة 3 اوكزالات الامونيوم : 2 اوكزالات البوتاسيوم .

4- فلوريد الصوديوم Sodium Fluoride

يستعمل كمانع للتجلط كونه يمنع تكون الخثرة من خلال ارتباطه بالكالسيوم ويستخدم من اجل تقدير الكلوكوز في الدم كونه مثبط انزيمي يمنع عملية التحلل Glycolysis لسكر الكلوكوزداخل كرية الدم الحمراء، الا انه مضاد للتجلط (ضعيف) لذلك يخلط مع اوكزالات البوتاسيوم (3 اجزاء اوكزالات + جزء فلوريد) ، من عيوبه انه سام ويتداخل مع بعض التفاعلات الكيميائية مثل Phosphatase Alkaline و Amylase وغيرها .



العلاقات الازموزية Osmotic Relations

يحيط بالخلية الحية غشاء رقيق جداً (حوالي 100 انكستروم) يدعى الغشاء البلازمي Plasma membrane يتحكم في دخول وخروج المواد المختلفة من والى الخلية . للغشاء البلازمي خواص نضوحية مختلفة فهو شديد النضوحية لجزيئات الماء والكلسيرين وقليل النضوحية للكلوكوز والاحماض

الامينية وعديم النضوحية تقريباً لمعظم الايونات كالصوديوم والبوتاسيوم (لانها لا تستطيع ان تخترق اغشية الكريات الا بصعوبة بالغة) ، تخترق جزيئات المواد المختلفة الغشاء البلازمي بطريقة الانتشار Diffusion (انتقال جزيئات المادة المذابة من منطقة ذات تركيز عالي الى منطقة اقل تركيز دون صرف طاقة)

ولكن في معظم الاحيان يلعب الغشاء نفسه دوراً فعالاً في عبور جزيئات المواد من خارج الخلية الى داخلها وبالعكس وهذه العملية تحتاج الى صرف طاقة وتدعى الظاهرة الاخيرة بالنقل الفعال Active transport ، يمكن دراسة بعض مظاهر نضوحية الغشاء البلازمي باستخدام كريات الدم الحمر حيث ان الغشاء الذي يحيط بها هو الغشاء البلازمي مع طبقة رقيقة جداً من السايتوبلازم المحيط به من الجهة الداخلية .

التنافذ او التناضح : osmosis

هي حركة او انتقال جزيئات المذيب solvent اوالسائل كالماء دون السماح لجزيئات المذاب بالمرورعبر غشاء نصف ناضح semipermeable membrane او اختياري النفاذية من المنطقة التي يكون فيها تركيز المذاب (مثل الملح) واطئ solute الى المنطقة التي يكون فيها تركيز المذاب عالياً دون استهلاك طاقة .

الضغط الازموزي Osmotic pressure هو القوة التي تمنع او تقاوم دخول المزيد من جزيئات المذيب (الماء) من الوسط الاقل تركيز الى الوسط الاكثر تركيز(بالنسبة للمذاب مثلا ملح كلوريد الصوديوم) عبر غشاء نصف ناضح

يعتمد الضغط التناضحي على عدد الجزيئات او الايونات المذابة فيه وليس على حجم هذه الدقائق لذا فان الضغط التناضحي لمحلول مادة معينة ذات وزن جزيئي عالي كالبروتينات يكون أوطأ بكثير من الضغط التناضحي لمادة اخرى ذات وزن جزيئي واطئ ، وكلما زاد تركيز المذاب زاد الضغط الازموزي

وعند وضع كريات الدم الحمر في محاليل ذات تراكيز مختلفة تخضع هذه الكريات لظاهرة التنافذ ، فعند في الماء المقطر او محلول مخفف جداً تدخل جزيئات الماء الى داخل الكريات وبذلك تنتفخ وقد تنفجر وتدعى هذه الظاهرة بالتحلل الدموي hemolysis ويدعى المحلول الذي يسبب تحلل الكريات الحمراء او يسبب انتفاخ الانواع الاخرى من الخلايا الحية بالمحلول واطئ التوتر Hypotonic Solution .

اما اذا وضعت الكريات في محلول شديد التركيز فانها تفقد كمية من الماء وتصاب بالانكماش Crenation ، ويدعى مثل هذا المحلول بالمحلول عالي التوتر Hypertonic solution .

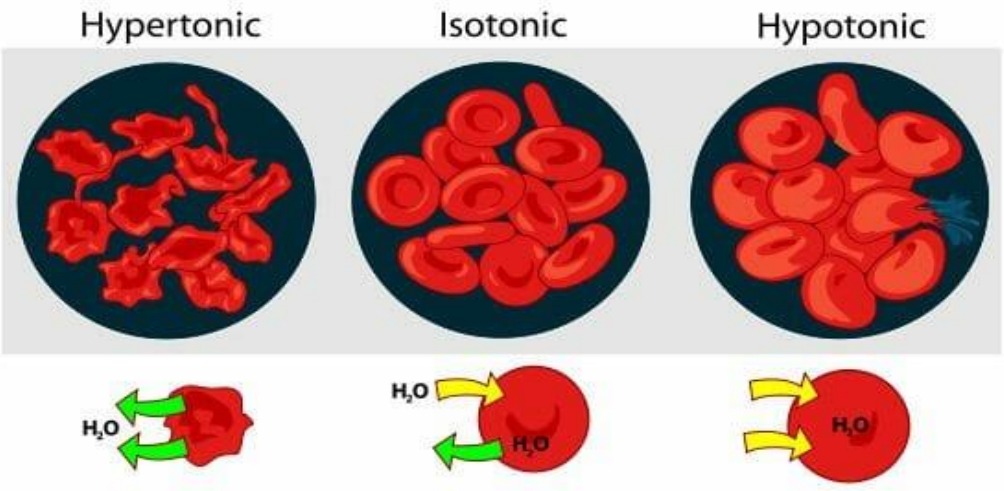
كذلك فان المحلول الذي تبقى فيه الكريات اوالخلايا محافظة على حجمها يدعى بالمحلول متساوي التوتر Isotonic solution وفيه كمية الماء المفقود تساوي كمية الماء المكتسب .

ولدراسة ظاهرة التنافذ في الكريات الحمراء او اي نوع اخر من الخلايا يفضل استخدام محلول مادة تكون اغشية الكريات او الخلايا غير ناضحة لها ، ويمكن استخدام محلول الكلوكوز او محلول ملح الطعام لهذا

الغرض لان جزيئات الكلوكوز او ايونات الصوديوم والكلور لا تستطيع ان تخترق اغشية الكريات الا بصعوبة بالغة .

تجربة : حضر 3 شرائح زجاجية نظيفة وضع على كل منها المقادير الاتية :

1- قطرة دم + قطرتين من محلول كلوريد الصوديوم 3 %
2- قطرة دم + قطرتين من محلول كلوريد الصوديوم 0.9 %
3- قطرة دم + قطرتين من محلول كلوريد الصوديوم 0.2 % او ماء مقطر
ضع على الشريحة غطاء الشريحة وافحصها تحت المجهر (القوة 40 x) .



تفسير النتائج :

1- Hypertonic عند وضع الكريات الحمر في محلول كلوريد الصوديوم بنسبة 3% يلاحظ انكماش الكريات الحمر وسبب ذلك ان المحلول الملحي المستخدم اكثر تركيزا من تركيز المواد داخل الكريات الحمر مما يسبب خروج الماء منها وحدوث حالة الانكماش.
2- Isotonic عند وضع كريات الدم في محلول كلوريد الصوديوم (0.9 %) تبقى الكريات محافظة على شكلها دون تغير في حجمها نتيجة تساوي الضغط الاسموزي لان التركيز داخل خلاياالدم مساو لتركيز المحلول الملحي المتعادل
3- Hypertonic عند وضع الكريات الحمر في محلول كلوريد الصوديوم بنسبة0.02 يلاحظ انكماش الكريات الحمر وسبب ذلك ان المحلول الملحي المستخدم اكثر تركيزا من تركيز المواد داخل الكريات الحمر مما يسبب خروج الماء منها وحدوث حالة الانكماش