Blood الدم

مقدمة:

١- المواد المضادة لتجلط الدم (موانع التجلط)Anticoagulants

يتم منع تجلط الدم بوضع العينة في أنبوبة تحتوي علي مادة مضادة للتجلط وتقلب برفق.

أ- إدتا EDTA (ETHYLENE DIAMINE TETRA ACETIC ACID)

تستخدم أملاح الصوديوم أو البوتاسيوم وتعتبر مانع التجلط المفضل لأغلب فحوص أبحاث الدم حيث أنها تحافظ علي شكل وحجم كريات الدم الحمراء والبيضاء.

ب- ثلاثي سترات الصوديوم TRISODIUM CITRATE

يحضر ثلاثي سترات الصوديوم (٣٢ جم سترات / لتر ماء مقطر)

يستخدم لأجراء سرعة الترسيب بإضافة ٤ أحجام دم إلى حجم واحد سترات (١.٦ مل دم + ٠.٤ مل سترات).

يعتبر مانع التجلط المفضل في أبحاث التجلط وذلك بإضافة ٩ أحجام دم إلى حجم واحد سترات الصوديوم وترج جيدا بمجرد وضع الدم.

جـ- هيبارين HEPARIN

يستخدم الهيبارين بكميات صغيرة جداً لمنع تجلط الدم. حيث يستخدم في اختبار هشاشية كرات الدم الحمراء و في عمل صورة الدم حيث انه يؤدي إلى تجمع كريات الدم البيضاء ويعطي خلفية زرقاء للشريحة. يستخدم الهيبارين بتركيز ١٥ – ٢٠ وحدة دولية / مل دم.

د- أوكسالات الصوديوم (٠.١ مولاري) 0.1 M SODIUM OXALATE

يحضر أوكسالات الصوديوم بإذابة ١.٣٤ جم من اوكسالات الصوديوم في ١٠٠ مل ماء مقطر. وتستخدم بنسبة ١ مل لكل ٩ مل من الدم.

هـ- أوكسالات البوتاسيوم (٠.١ مولاري) 0.1 M POTASSIUM OXALATE

يستخدم ٢٠ –٣٠ مجم / ١٠ مل دم يعمل علي ترسيب جزئيات الكالسيوم وبذلك يمنع عملية التجلط.

و- فلوريد الصوديوم SODIUM FLORID

١٠ مجم / مل دم يستخدم مع اوكسالات البوتاسيوم (٣ أجزاء اوكسالات + جزء فلوريد) يمنع التمثيل الغذائي (Metabolism) لكرات الدم الحمراء وتكاثر البكتريا.

٢- الحصول على الدم Collection of Blood

يتم الحصول على عينات الدم غالبا بواسطة محاقن بلاستيكية (Syringe) تستخدم لمرة واحدة (Disposable) بها قسط من الهيبارين أو أي مادة أخرى مانعة للتجلط. وتحفظ عينات الدم في الثلج حتى يتم إجراء عملية الطرد المركزي لها. وينبغي ألا تتأخر عملية الطرد المركزي عن نصف ساعة من جمع عينات الدم.

ويحصل الدم من الفئران بقص نهاية الطرفية للذيل أو بثقب القلب. ومن الأرانب والكلاب والقرود بثقب وريد الأذن بعد حلق الشعر من الأذن. وعند الاحتياج لكميات كبيرة من الدم من هذه الحيوانات فيفضل ثقب القلب. أما الطيور فيحصل على الدم منها بثقب أوردة الأجنحة.

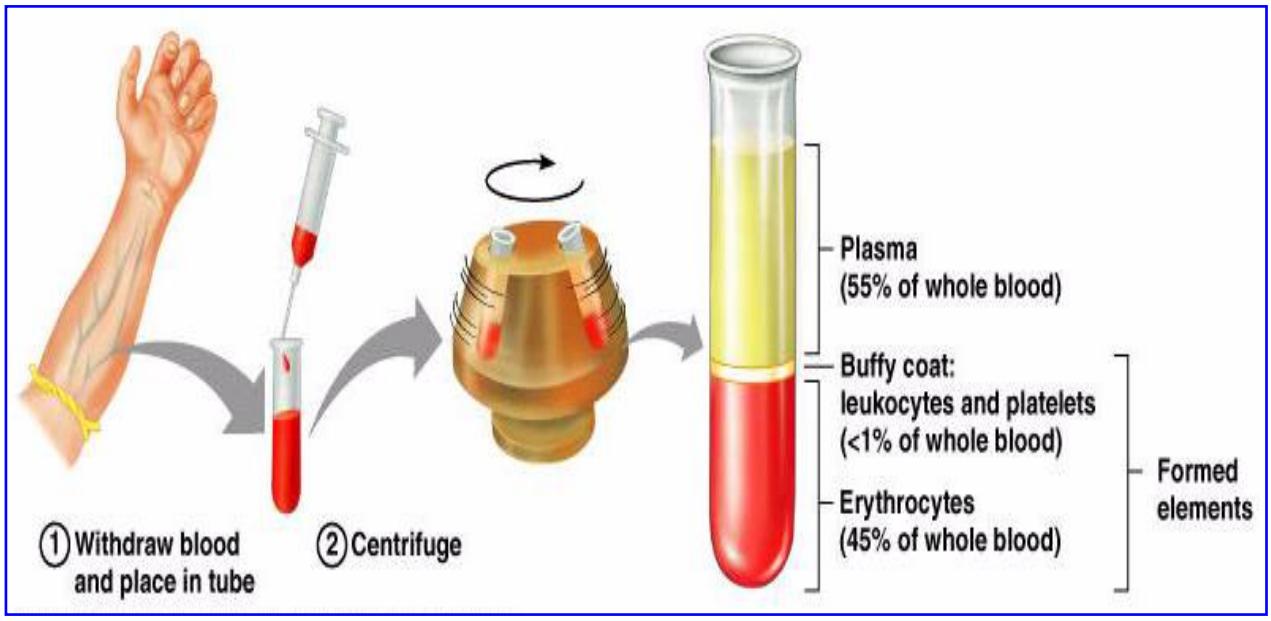
٣- إعداد البلازما

- ❖ لإعداد البلازما تتبع الخطوات الآتية :-

أ - يستقبل الدم في أنابيب زجاجية بها مادة مانعة للتجلط.

ب- تجري لها عملية طرد مركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة خمس دقائق.

جـ- تنقل البلازما وهي الجزء الرائق في الأنابيب التي استقبل بها الدم وأجرى لها طرد مركزي إلى أنابيب أخرى نظيفة. ويتم ذلك بماصة يركب فيها المؤخرة المطاطية لقطارة طبية.



شكل (٢): يوضح مراحل فصل مكونات الدم (البلازما والكريات الدموية).

٤- إعداد المصل

❖ لإعداد المصل تتبع الخطوات الآتية:

أ- يستقبل الدم في أنابيب زجاجية ليس بها مادة مانعة للتجلط.

ب- يترك الدم بها لمدة ١٥ دقيقة في درجة حرارة الغرفة لكي يتجلط.

ت- يجمع المصل الرائق الذي فوقه التجلط مباشرة في أنابيب نظيفة.ومن الممكن أن تكسر الجلطة ميكانيكيا، ثم ترسب بعملية الطرد المركزي ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ١٠ دقائق، ويجمع المصل الرائق الذي فوق الجلطة المترسبة.

٥- تعيين تركيز ايون الهيدروجين للدم

يقاس تركيز ايون الهيدروجين للدم (PH) بواسطة جهاز PH ميتر PHtmeter.

٦- السلوك الاسموزي لخلايا الدم الحمراء The Osmotic behaviour of RBCs

تحاط خلايا الدم الحمراء شأنها شأن باقي خلايا الجسم بغشاء بلازمي plasma membrane . ويتحكم هنا الغشاء بما له من خاصية نفاذ اختيارية في دخول وخروج المواد المختلفة إلى ومن الخلية. فهو شديد النفاذية للماء، وقليل النفاذية للجلوكوز ومنعدم النفاذية لكل الايونات مثل الصوديوم والبوتاسيوم.

ويتغير سلوك خلايا الدم الحمراء في المحاليل المختلفة تبعا لخروج أو دخول الماء من والى هذه الخلايا. فكلما زاد الماء بالمحلول (أي قل تركيز المذاب) دخل الماء إلى الخلايا فانتفخت. ويزداد انتفاخ الخلايا كلما زاد ماء المحلول وقل تركيز المذاب حتى يصل إلى درجة يزيد فيها الضغط الهيدروستاتيكي على جدران الخلايا. ولما كانت هذه الجدران غير مرنة فإنها تنفجر وتتحلل الخلايا وينطلق محتواها من الهيموجلوبين Haemoglobin. ويعرف هذا بالتحلل الدموي Hemolysis، ويحدث عند وضع خلايا الدم الحمراء في محلول مخفف جدا أو في ماء مقطر، ويسمى المحلول الذي يسبب هذا التحلل بالمحلول منخفض التوتر Hypotonic solution.وإذا وضعت خلايا الدم الحمراء في محلول عال التركيز فان الخلايا تفقد قدرا من الماء وتنكمش ويعرف ذلك بالتسنن crenation. ويسمى المحلول الذي يحدث هذا التأثير بالمحلول عال التوتر Hypertonic Solution وبالطبع فأنة يوجد تركيز معين تظل عنده خلايا الدم الحمراء محافظة على أحجامها من التغير لان كمية الماء الخارج تساوي كمية الماء الداخل ويسمى المحلول عند هذا التركيز بالمحلول المتساوي التوتر Isotonic solution. ولاختبار السلوك الاسموزي لخلايا الدم الحمراء يلزم استخدام محلول مادة تكون أغشية الخلايا غير منفذة لها مثل كلوريد الصوديوم أو الجلوكوز لان أيونات الصوديوم والكلور وجزيئات الجلوكوز لا تنفذ من أغشية الخلايا بسهولة.

ويعتمد الضغط الاسموزي لأي محلول على عدد الايونات أو الجزيئات الذائبة فيه وليس على أحجامها لذا فإن الضغط الاسموزي لمحلول المادة ذات الوزن الجزئي العالي كالبروتين مثلا يكون اقل بكثير من الضغط الاسموزي لمحلول مادة ذات وزن جزئي منخفض بشرط تساوي تركيز المحلولين.

ألأدوات المستخدمة في التجربة:

١- عينة دم غير متجلط.

٢- ٤ أنابيب زجاجية نظيفة.

٣- محلول كلوريد الصوديوم ذي التركيز (٠.٦ % - ٠.٩ %- ٥ %).

٤- ماء مقطر

٥- ماصة

خطوات إجراء التجربة

١- رقم أربعة أنابيب اختبار نظيفة بالأحرف (ا ، ب ، ج ، د) وضع في كل منها ما يلي:

الأنبوبة (ا) ٤ مل من الماء المقطر.

الأنبوبة (ب) ٤ مل من محلول كلوريد الصوديوم ذي التركيز ٠.٦ %.

الأنبوبة (ج) ٤ مل من محلول كلوريد الصوديوم ذي التركيز ٠.٩ %.

الأنبوبة (د) ٤ مل من محلول كلوريد الصوديوم ذي التركيز ٥ %.

٢- أضف قطرة من دم غير متجلط إلى كل من الأنابيب المذكورة، وانتظر لمدة ٣- ٥ دقائق.

٣- خذ قطرة من كل أنبوبة بواسطة ماصة نظيفة وضعها على شريحة زجاجية نظيفة، افردها بواسطة شريحة أخرى.ثم افحصها تحت المجهر.

المشاهدة والاستنتاج

.....

.....

.....

.....

.....

Solutions المحاليل

١- محلول متعادل التوتر Isotonic Solution

محاليل لها نفس التركيز الاسموزي لسيتوبلازم الخلايا (شكل 2a).

مثال: المحلول الملحي (0.9% NaCl saline solution).

٢- محلول منخفض التوتر Hypotonic Solution

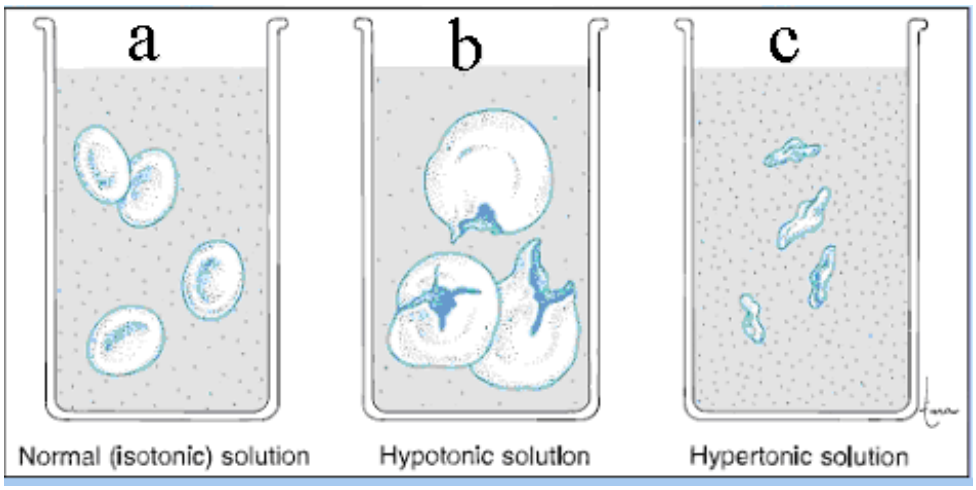
محاليل تركيزها اقل من سيتوبلازم الخلايا وتسبب انتفاخ الخلايا (شكل 2b).

مثال: ماء مقطر (0% salt- Dist. Water).

٣- محلول عالي التوتر Hypertonic Solution

محاليل تركيزها مرتفع عن سيتوبلازم الخلايا وتسبب ذبول الخلايا (شكل 2c).

مثال : ماء البحر (3% salt- Sea Water).



0.9% NaCl **dist. H_2O (0% Salt)** **Sea water (3% salt)**

محلول ملحي **ماء مقطر** **ماء بحر**

Figure 2. Red blood cells in different solutions and the effect of osmosis in each.

شكل ٢. يبين كرات دم حمراء موضوعة في محاليل مختلفة التركيز وتأثير الاسموزيه عليها.

في المحلول (a) لاتتاثر كرات الدم الحمراء.

في المحلول (b) يحدث انتفاخ لكرات الدم الحمراء.

في المحلول (c) يحدث انكماش لكرات الدم الحمراء.

Hematological Parameters المعايير الهيماتولوجية

للدم عدة معايير هامة تعد قيمها ذات دلالات هامة ومؤشرات أساسية لسلامة الكائن الحي. وتمثل هذه المعايير كالأتي :