



الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي
جامعة دمشق
كلية الطب البشري
قسم الطب المخبري

دراسة تأثير مشعر الحساسية العالمية ISI (القيم المنخفضة) على
نتائج اختبار زمن البروترومبين PT في الممارسة السريرية
والمخبرية

**Study the Influence of International Sensitivity Index ISI
(Low Values) on Results of Prothrombin Time Test PT in
Clinical and In-laboratory Practice**

بحث علمي أُعدَّ لنيل درجة الماجستير في الطب المخبري

إعداد طالب الدراسات

ملهم فياض

بإشراف

أ.د. عبد الرحمن رومية

برئاسة

أ.د. تهاني العلي

كلمة شكر وتقدير

أسمى آيات الشكر والتقدير والعرفان بالجميل إلى أساتذتي في قسم الطب المخبري
بجامعة دمشق وأخص بالذكر:

الأستاذ الدكتور عبد الرحمن رومية الذي تفضل بالإشراف على هذا البحث وأُناّر لي
الطريق بخبرته العظيمة ومعرفته الوقادة

الأستاذة الدكتورة تهاني العلي ذلت لي بخبرتها ومجهودها العقبات التي اعترضت سير
هذا البحث ووضعت في المسار الصحيح.

كما وأتقدم بالشكر الجزيل للأساتذة في لجنة الحكم على تفضلهم بقبول مناقشة هذا البحث
وإثرائه بالنصائح والتوجيهات التي تساعد بإخراجه بأفضل صورة

الإهداء

إلى من حمل معي أعباء الدرب وكان همّي هو همّه

أمي وأبي وإخوتي

إلى رفاق المشوار رفاقي في كل اللحظات

أصدقائي

فهرس المحتويات

القسم النظري

8	1 - الكيمياء الحيوية للإرقاء
8	1-1- الإرقاء الأولي
9	1-1-1- النظام الوعائي
9	1-1-2- النظام الصفيحي
10	1-1-3- عامل فون ويلبيراند
10	1-1-4- الفيبيرينوجين
10	1-2- التخثر أو تشكل الخثرة الدموية
11	1-2-1- عوامل التخثر في البلازما
13	1-2-2- سبل تفعيل عوامل التخثر في البلازما
15	1-3- انحلال الفيبيرين والآلية المضادة للتخثر
16	2- المعالجة المضادة للتخثر
16	2-1- مثبطات تكس الصفائح
17	2-1-1- الأسبرين
17	2-1-2- ثينوبيريدينات
17	2-1-3- مضادات GPIIb/IIIa
18	2-2- الهيبارين
18	2-3- مضادات التخثر الفموية
20	2-3-1- استطبابات مضادات الفيتامين K

20	2-3-2- مضادات استقلاب مضادات الفيتامين K
21	3-3 - المراقبة المخبرية للمعالجة بمضادات التخثر
21	3-1- المراقبة المخبرية للمعالجة بالهبارين - اختبار زمن الترومبوبلاستين الجزئي (PTT)
22	3-2- المراقبة المخبرية للمعالجة بمضادات الفيتامين K (زمن البروترومبين)
22	3-2-1- الاختبار
22	3-2-2- الكواشف
23	3-2-3- طرق إعطاء نتائج زمن البروترومبين
24	3-2-4- مشعر الحساسية العالمي (ISI)
25	3-2-5- أسباب تطاول زمن البروترومبين
25	4-4 - الترمبوبلاستين والبلازما المستخدمة في مراقبة المعالجة بمضادات الفيتامين K
25	4-1- المحضرات المرجعية العالمية للترمبوبلاستين
27	4-2- معايرة أنظمة زمن البروترومبين
28	4-3- إجراء المعايرة
28	4-3-1- عينات الدم
28	4-3-2- الترمبوبلاستينات المرجعية
28	4-3-3- التقييم الإحصائي
29	4-4- توصيات منظمة الصحة العالمية لإجراء اختبار زمن البروترومبين
30	5- الدراسة العملية
30	5-1- هدف الدراسة
30	5-2- مكان وزمان إجراء الدراسة
30	5-3- عينة البحث

31	4-5- مواد البحث
31	1-4-5- الكواشف المستخدمة
31	2-4-5- الجهاز المستخدم للقياس
31	5-5- الطرق
31	1-5-5- توثيق بيانات مجموعتي الدراسة
32	2-5-5- اعتيان الدم
32	3-5-5- طريقة القياس
32	4-5-5- رسم المنحني المعياري
33	5-5-5- دراسة الخطية
33	6-5-5- دراسة التكرارية
34	6-5- التحليل الإحصائي
34	7-5- النتائج
34	1-7-5- توزع العينات المرضية
35	2-7-5- دراسة خطية المنحني المعياري
35	3-7-5- الخطية بين قيم زمن البروترومبين بالثواني (PTs)
36	4-7-5- الخطية بين قيم INR
37	5-7-5- المقارنة بين قيم PTs للمرضى المميعين بالكاشفين اعتماداً على قيم P-VALUE
37	6-7-5- المقارنة بين قيم INR للمرضى المميعين بالكاشفين اعتماداً على قيم P-VALUE
37	7-7-5- دراسة التكرارية
38	8-5- مناقشة النتائج
39	9-5- الدراسات المقارنة

39	5-9-1-دراسة مقارنة 1
39	5-9-2-دراسة مقارنة 2
40	5-9-3-دراسة مقارنة 3
41	5-10-المقترحات والتوصيات
42	6-المراجع

الدراسة النظرية

1 - الكيمياء الحيوية للإرقاء Biochemistry of hemostasis

الإرقاء هو عملية متوازنة يتوقف النزف بواسطتها من الأوعية الدموية المتأذية، دون أن تتأثر سيولة الدم في الأوعية غير المتأذية.

يحدث الإرقاء في ثلاث مراحل:

- الإرقاء الأولي: يغلق الأذية الوعائية بواسطة سدادة صفيحية (خثرة بيضاء).
 - التخثر (coagulation): الذي يشير إلى سلسلة من التفاعلات التي تصلب الخثرة البيضاء مشكلة شبكة من الفيبرين التي تحجز ضمنها الكريات الحمر (الخثرة الحمراء).
 - انحلال الفيبرين وهي عملية انحلال الخثرة أو الحد من امتدادها.
- في الحالات الطبيعية يكون انحلال الفيبرين (الفعالية المضادة للتخثر) كافياً لمنع تشكل الخثرات. لكن عندما يتأذى وعاء دموي ما، يحدث تفعيل لكل من الفعاليات الخثرية والحالة للفيبرين، إلا أن تبديلاً كبيراً في التوازن يميل بشكل موضع لدعم عملية التخثر.⁽¹⁾

1-1 - الإرقاء الأولي

حدثية فيزيولوجية يتم فيها إيقاف النزف على مستوى الأوعية الصغيرة والشعرية. حيث يتم في هذا الدور التداخل بين الجدار الوعائي وبين الصفيحات الدموية وبعض عوامل التخثر كعامل ويلبيراند، مما يؤدي إلى انسداد الجرح بخثرة بيضاء.

لذلك فإن عوامل الإرقاء الأولي هي :

- الجدار الوعائي
- الصفيحات
- عامل ويلبيراند

1-1-1- النظام الوعائي

يتولد في الوعاء الدموي المصاب مباشرة تنبيه يؤدي إلى تقلص جدرانه مما يقلل جريان الدم منه فوراً. ومن المحتمل أن معظم التضيق الوعائي ينتج عن التقلص العضلي المنشأ للأوعية الدموية، والذي يحفز الضرر المباشر لجدرانها. وفي الأوعية الصغيرة تكون الصفائح هي المسؤولة عن معظم التقلص العضلي بتحريرها المادة المضيق للأوعية الترمبوكسان A2. وكلما كان رضح الوعاء أكبر كلما كانت درجة التشنج أكبر، ويمكن أن يدوم هذا التشنج الوعائي الموضعي لعدة دقائق أو حتى لساعات تتم خلالها عمليات غلق الوعاء بالصفائح وتخثر الدم.⁽²⁾

1-1-2- النظام الصفحي

تحتوي الصفائح في هيولاها عوامل فعالة مثل⁽³⁾:

1. بقايا الشبكة الهيولية الباطنة وجهاز غولجي الذي يقوم بتركيب إنزيمات مختلفة ويخزن كميات كبيرة من شوارد الكالسيوم.
 2. أنظمة أنزيمية قادرة على تكوين ATP و ADP.
 3. نظام أنزيمي يركب البروستاغلاندينات وهي هرمونات موضعية تولد العديد من التفاعلات الوعائية والنسيجية الموضعية المختلفة.
 4. عامل تثبيت الفيبرين (العامل الثالث عشر) fibrin stabilizing factor.
 5. عامل النمو الصفحي الذي يمكنه أن يحفز تكاثر الخلايا البطانية وخلايا العضلات الملساء الوعائية والأرومات الليفية ، مما يساعد على ترميم جدران الأوعية المخرية.
- والغشاء الخلوي للصفائح مهم أيضاً، إذ توجد على سطحه غلالة من بروتينات سكرية glycoproteins تجنبها الالتصاق بالبطانة السوية للأوعية، ولكنها تجعلها تلتصق بالمناطق المصابة من بطانة الأوعية. وبالإضافة لذلك يحوي الغشاء كميات كبيرة من الشحومات الفوسفورية التي تقوم بأدوار تنشيطية في مراحل متعددة من عملية تخثر الدم.

يعتمد ترميم الثغرات الوعائية بالصفائح على العديد من وظائف الصفائح المهمة نفسها. فعندما تلامس الصفيحة سطحاً وعائياً مخرّباً مثل ألياف الكولاجين في جدار الوعاء أو حتى الخلايا البطانية

المخرية، فإنها تغير صفاتها لدرجة كبيرة جداً، حيث تبدأ بالانتفاخ وتكتسب شكلاً غير منتظم مع بروز نتوءات متشعبة عديدة من سطوحها. وتتقلص بروتيناتها القلوصة بشدة مسببة تحرير الحبيبات التي تحوي عوامل فعالة عديدة، وتلتصق بالألياف الكولاجينية وتفرز كميات كبيرة من ADP ، وتكون أنزيماتها مادة الترمبوكسان A_2 الذي يفرز إلى الدم أيضاً. ويعمل ADP والترمبوكسان على الصفائح القريبة لتفعيلها. ويؤدي تفعيل هذه الصفائح الإضافية إلى التصاقها بالصفائح المفعلة أولاً. ولذلك يثير تخريب جدران الأوعية والأنسجة المحيطة، بمنطقة صدع الوعاء، حلقة مفرغة من تنشيط أعداد متزايدة من الصفائح التي تتجمع لتولد سداة صفيحية. وبالرغم من أن هذه السداة تكون رخوة إلا أنها تتجح في منع فقدان الدم إذا كان الثقب صغيراً. ولكن إذا ما كانت الفتحة كبيرة فلا بد من تكوين خثرة دموية بالإضافة للسداة الصفيحية لإيقاف النزف.

وآلية توليد السداة الصفيحية مهمة جداً لغلق التمزقات الدقيقة في الأوعية الدموية الصغيرة جداً والتي تحدث مئات المرات يومياً.⁽⁴⁾

1-1-3 عامل فون ويلبراند (Von Willebrand factor)

بروتين سكري موجود في الخلايا البطانية والصفائح الدموية. أثناء الإرقاء الأولي يلعب دوراً أساسياً في التصاق الصفائح على البنية تحت البطانية المعراة عبر مستقبلاته GPIIb. يشارك أيضاً في ظاهرة التخرثر كبروتين حامل للعامل المضاد للناعور A (العامل VIII) حامياً إياه من تفكك بروتيني سريع.⁽⁵⁾

1-1-4 الفيبриноجين

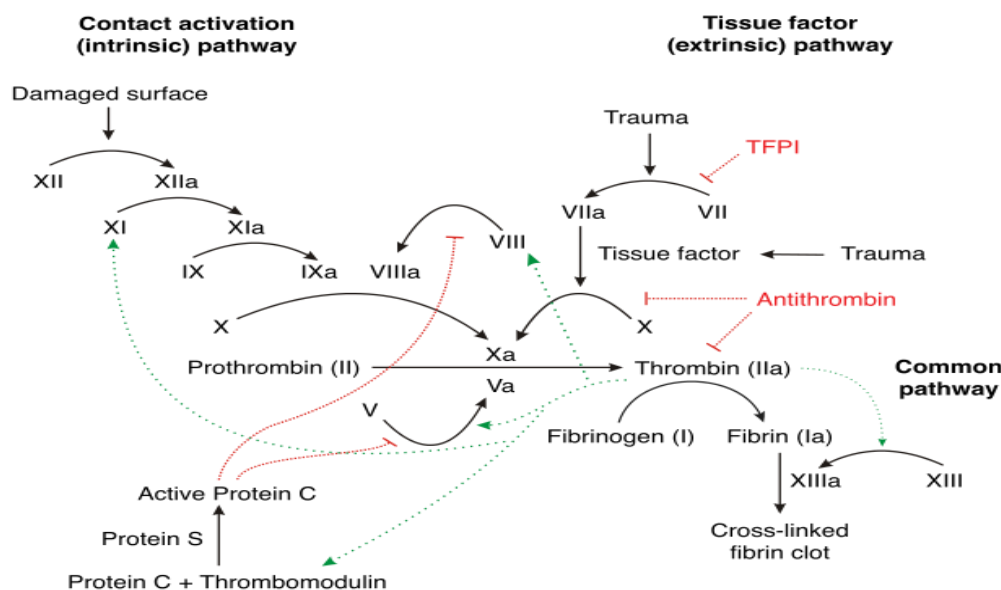
يساهم في التكدس الصفيحي عن طريق تشكيل جسر بين الصفائح عبر مستقبلات GPIIa/IIIb الموجودة على سطح الصفائح المفعلة. بالإضافة إلى دوره في التخرثر.⁽⁶⁾

2-1- التخرثر أو تشكل الخثرة الدموية

تبدأ الخثرة الدموية بالتكون خلال 15 - 20 ثانية بعد الأذية إذا كانت أذية جدار الوعاء شديدة. أما إذا كانت الأذية بسيطة فإنها تبدأ بعد الإصابة بدقيقة أو دقيقتين. وتبدأ المواد المتحررة من جدار الوعاء

المخرب ومن بروتينات البلازما الملتصقة به ومن الصفائح بتوليد عملية التخثر. ويحدث شلال من التفاعلات الأنزيمية تنتهي بتفعيل البروترومبين وتكوثر الفيبرين بواسطة العامل الثالث عشر (XIII) لتشكيل الخثرة الحمراء النهائية.⁽⁷⁾

تم التمييز بين طريقين أساسيين للتخثر: السبيل الخارجي Extrinsic Pathway والسبيل الداخلي للتخثر Intrinsic Pathway.



الشكل (1): السيلان الخارجي والداخلي للتخثر

1-2-1- عوامل التخثر في البلازما

تصنف هذه البروتينات باستثناء الفيبرينوجين والعامل الثامن في مجموعتين:

1 - المجموعة الأولى التي تضم عوامل التخثر (II، VII، IX، X، XI، XII والكاليكرين) هي أنزيمات بروتينية سيرينية. وتجول كل من هذه العوامل باستثناء العامل السابع على شكل طلائع أنزيمية، حيث يؤدي تفعيل هذه الطلائع الأنزيمية بواسطة سلسلة من التفاعلات الأنزيمية إلى بدء عملية التخثر.

2 - المجموعة الثانية تضم العوامل المساعدة: الكينينوجين عالي الوزن الجزيئي، الترمبوبلاستين النسيجي، العامل الخامس والعامل الثامن. تعمل هذه البروتينات على تركيز الأنزيمات والركازات وتنظيمها وتوضعها في موضع تكوين الفيبرين.

الجدول (1): عوامل التخثر الموجودة في البلازما:

العامل	المرادفات	الوزن الجزيئي	الوظيفة	العمر النصف في البلازما مقدراً بالساعات
I	الفيبرينوجين	340000	وحدة بوليمير	90
II	البروترومبين	72000	بروتياز	60
III	العامل النسيجي، الترمبولاستين النسيجي	50000	عامل مساعد	
IV	الكالسيوم			
V	الغلوبولين المسرّع، العامل العطوب، بروأكسيليرين	330000	عامل مساعد	15
VI*				
VII	بروكونفرتين، العامل الثابت	48000	بروتياز	6 - 4
VIII	العامل المضاد للناعور، الغلوبولين المضاد للناعور	330000	عامل مساعد	10
IX	عامل كريسماس، مكون ترمبولاستين البلازما	57500	بروتياز	24
X	عامل ستيوارت، عامل براور ستيوارت	66000	بروتياز	72 - 84
XI	طلبة ترومبولاستين البلازما	160000	بروتياز	45
XII	عامل هاغمان	80000	بروتياز	60
XIII	العامل المثبت للفيبرين	320000	تنشيط الفيبرين	200
.	البريكالكرين (عامل فليتش)	90000	بروتياز	
.	الكينينوجين عالي الوزن الجزيئي (عامل فينترجيرالد)	120000	عامل مساعد	

* العامل السادس VI كان يستخدم قديماً للدلالة إلى العامل الخامس المفعل.

تشكل عوامل التخثر (X-IX-VII-II) مع مضادات التخثر (بروتين C وبروتين S) عائلة بروتينية تمتلك تشابهاً بنوياً كبيراً وتعرف باسم البروتينات المعتمدة على فيتامين K.

تحتوي النهاية الأمينية للأنزيمات البروتينية المعتمدة على فيتامين K على حمض الجلوتاميك وهو خالب ضعيف للكالسيوم الضروري لربط هذه العوامل على سطح الغشاء الفوسفوليبيدي للصفائح

والخلايا البطانية، لذلك يقوم الفيتامين K بدور عامل مساعد لتحويل حمض الغلوتاميك إلى غاما كاربوكسي غلوتاميك وهو خالب أقوى للكالسيوم ويتم ذلك في الكبد، وهكذا تتحول هذه العوامل البروتينية من عوامل غير فعالة إلى عوامل فعالة.⁽⁸⁾

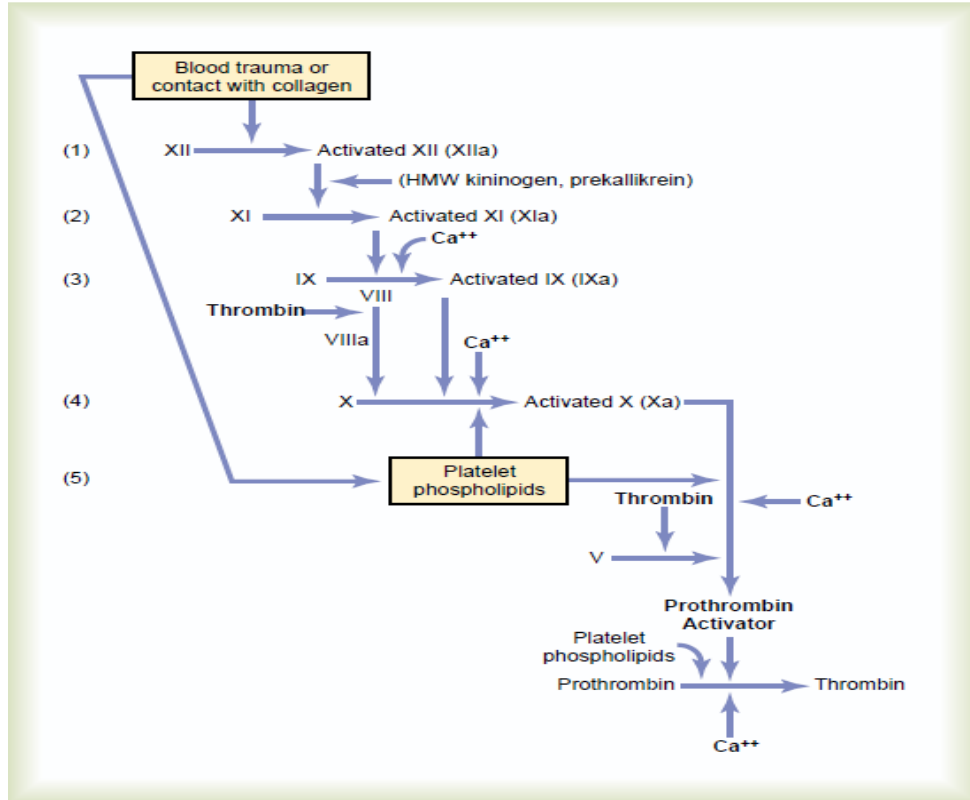
1-2-2- سبل تفعيل عوامل التخثر في البلازما

1-2-2-1- السبيل الداخلي للتخثر⁽⁹⁾

يؤدي تعرض الدم لکولاجين جدار الوعاء المتأذي إلى تفعيل العامل XII. حيث يكتسب العامل XII تشكلاً جديداً يحوله إلى أنزيم حال للبروتين يسمى العامل XII المفعّل (XIIa).

يعمل العامل XIIa على تنشيط العامل الحادي عشر XI أيضاً، ويحتاج هذا التفاعل إلى الكينينوجين عالي الوزن الجزيئي ويُعجّل بالبريكالينين prekallikrein.

إن العامل التاسع IX هو الركيزة الأولية للعامل XIa. يعمل العامل IXa على تفعيل العامل X، ويتطلب هذا التفاعل وجود الكالسيوم والفوسفوليبيد والعامل VIII، وفي الدوران يشكل العامل VIII مع عامل فون ويلبراند. ويوضح الشكل (2) مراحل تفعيل السبيل الداخلي للتخثر.

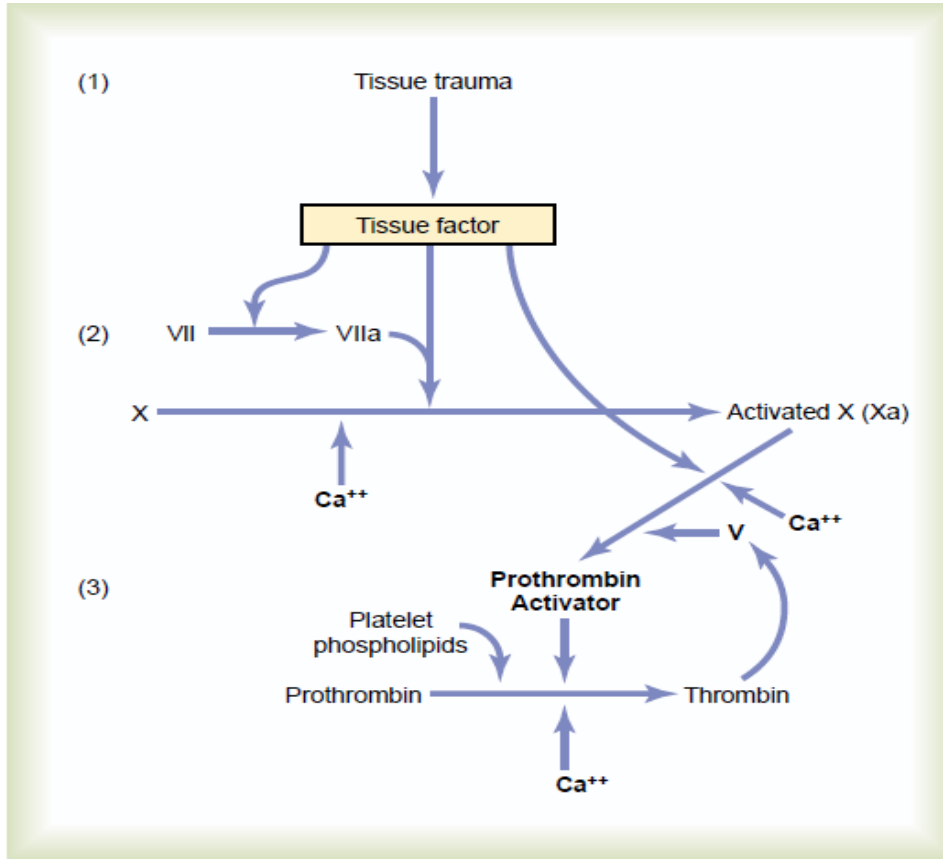


الشكل (2): مراحل تفعيل السبيل الداخلي للتخثر

1-2-2-2- السبيل الخارجي للتخثر

يحرر النسيج المتأذي معقداً من عوامل عديدة يسمى العامل النسيجي tissue factor (TF) أو الترمبوبلاستين النسيجي، الذي يتكون بصورة خاصة من فوسفوليبيدات من أغشية الأنسجة ومن معقد بروتين شحمي يحوي أنزيمياً حالاً للبروتين.

يغادر العامل السابع FVII الدوران بعد أذية الوعاء الدموي ويصبح على تماس مع العامل النسيجي ليشكلان معقداً مفعلاً (TF - FVIIa) الذي يفعل بدوره العامل التاسع والعامل العاشر.⁽¹⁰⁾



الشكل (3) مراحل تفعيل السبيل الخارجي للتخثر

1-2-2-3- السبيل المشترك

يتم تفعيل البروترومبين عن طريق تفاعل وحيد. حيث أن معقد التفعيل المؤلف من العامل Xa، العامل Va والكالسيوم يشبه إلى حد كبير المعقد المؤلف من العامل IXa، العامل VIII والكالسيوم. وتظهر فعالية هامة سابقة للتخثر بعد شطر العامل V بواسطة العامل Xa أو الترومبين ليتكون الشكل المفعّل منه.

يؤدي معقد التفعيل إلى تحويل البروتروميين إلى تروميين الذي يسبب بدوره تكوثر polymerization جزيئات الفيبرينوجين إلى خيوط الفيبرين خلال 10-15 ثانية. ولهذا فإن العامل المحدد لسرعة التخثر هو تكوين معقد التفعيل وليس التفاعلات اللاحقة التي تتم بعد هذه المرحلة.

التروميين أنزيم حال للبروتين يعمل على الفيبرينوجين ليزيل منه أربعة ببتيدات منخفضة الوزن الجزيئي من كل جزيء فيبرينوجين ليكون جزيء موحود monomer الفيبرين، الذي له المقدرة الذاتية على التكوثر مع جزيئات موحيد فيبرين أخرى. ولذلك تتكوثر العديد من جزيئات موحود الفيبرين خلال ثوان إلى ألياف فيبرين طويلة تشكل شبكة الخثرة.

تتماسك جزيئات موحود الفيبرين مع بعضها في المراحل الأولى للتكوثر بارتباطات ضعيفة. ولذلك تكون الخثرة المتشكلة ضعيفة ويمكن تحطيمها بسهولة. إلا أنه خلال بضعة دقائق تالية تحدث عملية أخرى تقوي شبكة الفيبرين لدرجة كبيرة. وتتضمن هذه العملية مادة تسمى العامل المثبت للفيبرين أو العامل الثالث XIII الذي يولد ارتباطات قوية بين ألياف الفيبرين المتجاورة.

تتكون الخثرة الدموية من شبكة ألياف الفيبرين التي تحصر خلايا دموية وصفائح ويلازما. وتلتصق ألياف الفيبرين بسطح الوعاء الدموي المخرب، ولذلك تلتصق الخثرة بأي فتحة فيه وبهذا تمنع فقدان الدم.

تبدأ الخثرة بالانكماش بعد تكوينها بعدة دقائق، فتعصر إلى خارجها معظم السائل خلال 20-60 دقيقة.⁽¹⁰⁾

1-3- انحلال الفيبرين والآلية المضادة للتخثر

حتى خلال المراحل المبكرة من التخثر، هنالك تحريض لانحلال الفيبرين وفعاليات مضادة للتخثر سوف تقود أخيراً إلى انحلال العلقة.

يقوم البلاسمين وهو أنزيم حال للبروتين بهضم ألياف الفيبرين والمواد الأخرى في الدم المحيط مثل الفيبرينوجين والعامل الخامس والعامل الثامن والبروتروميين والعامل الثاني عشر. وذلك عندما يتشكل البلاسمين في الخثرة الدموية فإنه يقوم بحلها ويدمر العديد من عوامل التخثر، ولذلك فإنه يؤدي إلى التقليل من تخثرية الدم.

عندما تتكون الخثرة تتوضع فيها كمية كبيرة من البلاسمينوجين مع بروتينات بلازمية أخرى. ولكن هذا لن يصبح بلاسمين ولن يحل الخثرة حتى يتم تنشيطه. حيث تقوم الأنسجة المتأذية والبطانة الوعائية بتحرير منشط قوي يسمى منشط البلاسمينوجين النسيجي (t-PA) tissue plasminogen activator الذي يحول البلاسمينوجين إلى بلاسمين يزيل الخثرة. وفي الحقيقة يعاد بهذه الآلية فتح العديد من الأوعية الدموية الصغيرة التي توقف جريان الدم فيها بفعل الخثرات.⁽¹¹⁾

2 - المعالجة المضادة للتخثر Antithrombotic Agents

عندما يتم تأكيد تشخيص الإصابة بخثرة وعائية يجب اللجوء مباشرة إلى تطبيق العلاج بمضادات التخثر. تختلف الخطة العلاجية حسب توضع الخثرة (فيما إذا كانت شريانية أو وريدية)، وحسب الوعاء أو الأوعية المصابة وحسب إمكانية الإصابة بالصمامة الرئوية أو النكس. وتجدر الإشارة هنا إلى وجود أمراض خثرية تستدعي استخدام الأدوية الحالة للخثرات.

لقد بينت الدراسات أن الأدوية المضادة للتخثر فعالة في حالة الإصابة بالخثرات والصمات الوريدية. في حين تكون الأدوية المضادة للصفائح فعالة في معالجة الخثرات الشريانية، إذ أن الخثرة الشريانية تترافق مع استهلاك نوعي للصفائح، ويمكن منع ذلك بمضادات الصفائح (ولا يلعب الهيبارين أي دور هنا). في حين تترافق الخثرة الوريدية باستهلاك الصفائح والفيبرينوجين معاً، ويمكن منع ذلك بالمضادات الخثرية ولا تلعب مضادات الصفائح أي دور هنا.⁽¹²⁾

تعطى مضادات التخثر للوقاية من الحوادث الخثرية أو لمنع انتشار خثرة متشكلة ولها تأثير قليل جداً على الخثرة المتشكلة.

2-1 - مثبطات تكس الصفائح Platelet aggregation inhibitors

تتقص المعالجة بمثبطات تكس الصفائح الوفيات الناتجة عن أمراض الأوعية بنسبة 15% ومن الحوادث الوعائية غير القاتلة بنسبة 30%.⁽¹³⁾

هناك العديد من الأهداف للمعالجة بمضادات الصفائح وتتضمن: سيكلوأكسجيناز (COX)، مستقبلات أدينوزين ثنائي الفوسفات (ADP)، التصاق الصفائح بواسطة غليكوبروتين GPIb، الترومبين المحرض للصفائح.

2-1-1- الأسبرين

يثبط بشكل غير عكوس الخميرة المصنعة لبروستاغلاندين الصفائح (COX-1 and COX-2)، مما يؤدي إلى منع اصطناع الترمبوكسان A_2 وإضعاف إفراز الصفائح وتجمعها.

يحدث تأثير الأسبرين على الصفائح خلال ساعة ويستمر خلال فترة حياة الصفائح المتأثرة (حوالي أسبوع).

أظهر الأسبرين بشكل مقنع أنه فعال في معالجة خناق الصدر المستقر وغير المستقر، الاحتشاء القلبي الحاد، حوادث نقص التروية العابرة (TIA)، النشبة الدماغية غير الكاملة، النشبة التالية للجراحة على الشريان السباتي والرجفان الأذيني.⁽¹⁴⁾

أقل جرعة فعالة للأسبرين في مثل هذه الاستطبانات 75-325 مغ/يوم.

ينقص الأسبرين من معدل الوفيات بعد جراحة مجازات الشرايين السباتية.⁽¹⁵⁾

ينصح بإعطاء الأسبرين بعد إجراء مجازات الشرايين المحيطية، بعد استئصال بطانة الشريان السباتي وعند مرضى العرج المتقطع.

2-1-2 ثينوبيريدينات Thienopyridines

يتشابه ticlopidin و clopidogrel بنويماً حيث إنهما يثبطان بشكل انتقائي تجمع الصفائح المحدث بال ADP، ومن المحتمل أيضاً تثبيط التضخيم لاستجابة الصفائح للمحرضات الأخرى المتواسط بال ADP.⁽¹⁶⁾

2-1-3 مضادات GPIIb/IIIa (GPIIb/IIIa Inhibitors)

تتنمي المستقبلات GPIIb/IIIa لعائلة مستقبلات الدمج، وهي قادرة على تمييز سلسلة الحموض الأمينية المميزة لالتصاق الخلية الموجودة في البروتينات الرابطة مثل الفيبرينوجين.

تمت دراسة ثلاثة من مضادات مستقبلات GPIIb/IIIa غير الفموية بشكل واسع في حالات المداخلات الإكليلية عبر الجلد، خناق الصدر غير المستقر والاحتشاء القلبي بدون موجة Q، وهي abciximab ، eptifibatide و tirofiban.

مضادات GPIIb/IIIa الفموية مخيبة للآمال بشكل عام بعكس المستحضرات الوريدية.⁽¹⁷⁾

2-2- الهيبارين

الهيبارين غير المجزأ (UFH): يتألف من خليط غير متجانس من عديد سكاريد كبريتي (glycosaminoglycan) بوزن جزيئي يتراوح بين 4 - 30 كيلو دالتون.

يرتبط الهيبارين غير المجزأ بالأنثي ترومبين AT، لتتم تقوية التأثير المميع لـ AT مما يؤدي لارتباط متزايد وتنشيط عوامل الطريق المشترك للتخثر: العامل العاشر المفعّل والترومبين. يكون الهيبارين فعالاً عندما يعطى وريدياً أو تحت الجلد، يزداد العمر النصفى للهيبارين بزيادة الجرعة، وتتم مراقبة المعالجة بالهيبارين عن طريق اختبار زمن الترمبوبلاستين الجزئي المفعّل aPTT (Partial Thromboplastin Time).⁽¹⁸⁾

الهيبارينات منخفضة الوزن الجزيئي (LMWHs): تشتق LMWHs من شطر الهيبارين غير المجزأ كيميائياً أو خمائرياً. ترتبط LMWHs بالأنثي ترومبين، ولديها فعالية محدودة مضادة للترومبين مقارنة بالفعالية المضادة للعامل العاشر المفعّل Xa، في حين أن للهيبارين غير المجزأ فعالية مضادة $AT:Xa = 1:1$. تتميز LMWHs بعمر نصفى غير معتمد على الجرعة مما يسهل إعطاءها مرة أو مرتين يومياً تحت الجلد بالاعتماد على الوزن وبدون الحاجة إلى مراقبة مخبرية.

تترافق LMWHs بنسبة أقل بنقص الصفائح المحدث بالهيبارين (HIT) وتخلخل العظام مما هو في UFH.⁽¹⁹⁾

2-3- مضادات التخثر الفموية (Oral anticoagulant)

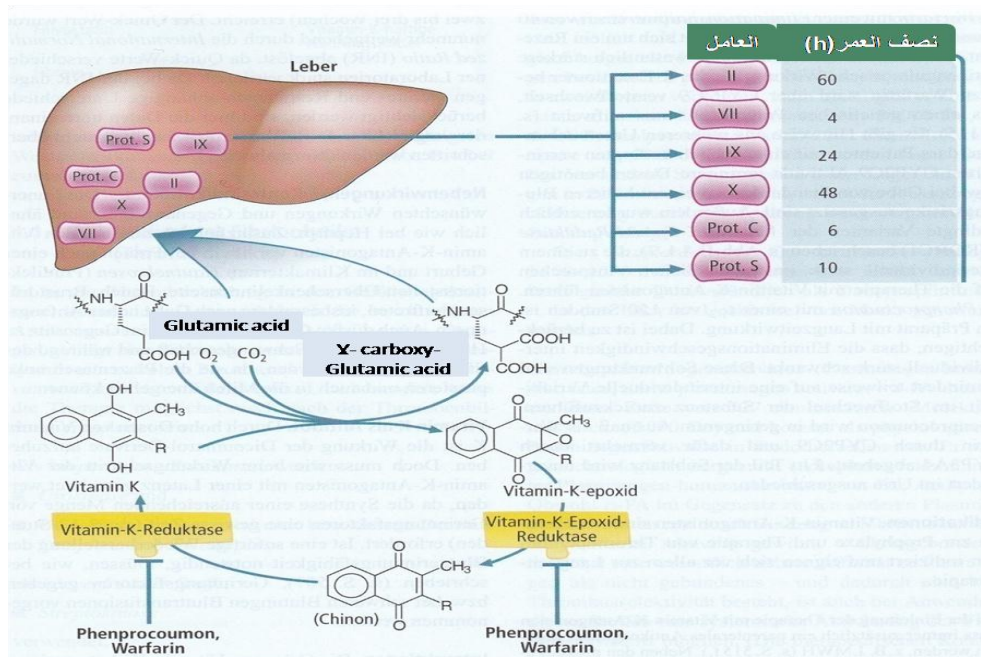
تحتل مضادات الفيتامين K ركناً أساسياً في مجموعة المعالجات المضادة للتخثر. إن المراقبة المخبرية للمرضى الذين يتناولون مضادات فيتامين K ليست سهلة بسبب وجود عدد كبير من المركبات التي تتداخل مع هذه الأدوية مما يؤدي إلى زيادة في جرعة مضادات فيتامين K وحدوث نزوف أو نقص في جرعة مضادات فيتامين K وحدوث خثرات.

يلعب الفيتامين K دوراً هاماً في فعالية عوامل التخثر (العاشر والتاسع والسابع والثاني) بالإضافة إلى فعالية البورتين C والبورتين S التي تصطنع جميعها في الكبد.

بعد اصطناع البروتينات التخثرية في الكبد بدون تداخل الفيتامين K، يتداخل الفيتامين K في عملية أكسدة وإرجاع كتميم لأنزيم الكربوكسيلاز carboxylase ويقوم بإضافة جذر كربوكسيل الكربون غاما في عديد من جزيئات الحمض الغلوتامي الموجودة قرب النهاية N من البروتينات التخثرية. عندما تصبح هذه الحموض ذات جذرين كربوكسيليين تصبح مشحونة بشحنتين سلبيتين، الأمر الذي يسمح لها بالارتباط مع شوارد الكالسيوم Ca^{++} الموجبة المتحدة مع العامل الصفيحي الثالث PF_3 والعامل النسيجي.

تعمل مضادات الفيتامين K على معاكسة هذه الآلية أي تمنع إضافة جذر الكربوكسيل بعد اصطناع البروتينات التخثرية، الأمر الذي يجعل تلك البروتينات غير فعالة.

توضح هذه الآلية لماذا لا يحدث تأثير هذه المركبات فوراً، وإنما يحتاج إلى مرحلة كمون. أول ما يتناقص تركيز عوامل التخثر الموجودة مسبقاً في الدم إلى ما دون القيم الحدية، تتظاهر الأشكال المصنعة حديثاً بشكل مشوه أو بتراكيز قليلة. العمر نصف الحيوي لعوامل التخثر المصنعة هنا مختلف كثيراً. بالإضافة لعوامل التخثر تحتاج العديد من البروتينات إلى الكريكلية لتقوم بوظيفة طبيعية.⁽²⁰⁾



الشكل (4): آلية تأثير مضادات الفيتامين K

2-3-1 - استطببات مضادات الفيتامين K⁽²¹⁾

أهم الحالات المرضية التي تستطب فيها مضادات الفيتامين K:

- 1 - معالجة الخثار الوريدي العميق Deep Vein thrombosis (DVT).
- 2 - الوقاية الثانوية لالتهاب الوريد الخثري الناكس.
- 3 - الوقاية من الحوادث الخثرية في حالة الدسامات القلبية الاصطناعية.
- 4 - الوقاية البدئية من الحوادث الخثرية الوريدية التالية للعمليات الجراحية.
- 5 - احتشاء العضلة القلبية.
- 6 - آفات الدسام التاجي وخاصة المترافقة مع رجفان أذيني.
- 7 - الرجفان الأذيني.
- 8 - الآفات الشريانية المحيطية.

2-3-2 - مضادات استطببات مضادات الفيتامين K⁽²²⁾

1 - مضادات الاستطببات المطلقة:

- أ- الحوادث الوعائية الدماغية النازفة.
- ب- الخثرات الوعائية الدماغية الحديثة (التي عمرها أقل من أسبوع).
- ت- الجراحة العصبية، الرض العصبي الحديث.
- ث- فرط التوتر الشرياني الخطير غير المستقر (الضغط الانبساطي < 120 ملم زئبقي).
- ج- دوالي المري.
- ح- الداء السكري المختلط باعتلالات شبكية.
- خ- القرحة المعدية العفجية غير الملتئمة.
- د- الثلث الأول والثالث الأخير من الحمل.
- ذ- الآفات الكبدية الخطيرة.
- ر- القصور الكلوي الخطير (تصفية الكرياتينين أقل من 20 مل/الدقيقة).

- ز - التناذرات النزفية المختلفة.
- س - الاضطرابات النفسية الخطيرة.
- 2 - مضادات الاستطباب النسبية:
- أ - العمليات الجراحية الحديثة.
- ب - المتقدمون في السن.
- ت - آفات الطرق الصفراوية.
- ث - الإنتانات المعوية المترافقة مع تخرب الزمرة الجرثومية المعوية الطبيعية.
- ج - القصور الكبدي متوسط الشدة.
- ح - القصور الكلوي متوسط الشدة.
- خ - بعض الأدوية.

3 - المراقبة المخبرية للمعالجة بمضادات التخثر

3-1- المراقبة المخبرية للمعالجة بالهيبارين - اختبار زمن الترومبوبلاستين الجزئي

(PTT) Partial Thromboplastin Time

يقيس هذا الاختبار الزمن اللازم لتشكيل الخثرة اعتباراً من تفعيل العامل XII حتى تشكل خثرة الفيبرين، ويستخدم لتقييم فعالية عوامل السبيلين الداخلي والمشارك للتخثر بالإضافة لمراقبة المرضى المعالجين بالهيبارين.

المجال المرجعي النموذجي: 30 - 34 ثانية، ويعتبر قصر PTT قليل الأهمية من الناحية السريرية، ولكن تشير بعض الدراسات إلى أن ذلك ربما يزيد من خطر الانصمام الخثري⁽²³⁾. بينما يشير تطاول PTT إلى⁽²⁴⁾ :

- العوز الوراثي أو المكتسب لأحد عوامل التخثر في السبيلين الداخلي أو المشترك.
- المعالجة بالهيبارين (أو تلوث عينة الدم به).
- الأضداد المضادة للفسفوليبيد (خاصة أضداد التخثر الذئبية).

- داء فون ويلبيراند (von Willebrand's disease)
- التخثر المنتشر داخل الأوعية (Disseminated Intravascular Coagulation) DIC.
- الأمراض الكبدية.

3-2- المراقبة المخبرية للمعالجة بمضادات الفيتامين K (زمن البروترومبين (Prothrombin Time

تتنمي مضادات التخثر الفموية إلى مجموعة صغيرة نسبياً لأدوية ذات خطورة محتملة، تعطى بنظام طويل الأمد، تراقب من قبل الطبيب بواسطة اختبارات مصلية. إن الاختبار الأكثر استعمالاً لمراقبة مضادات التخثر الفموية هو اختبار زمن البروترومبين PT.

وتهدف المراقبة المخبرية إلى تحديد الجرعة المناسبة، وتجرى هذه المراقبة في البداية كل يوم أو بفواصل يوم أو يومين ثم مرة في الأسبوع ثم مرة في الشهر.

إن اختبار PT من الاختبارات القديمة المعروفة، والتي تطورت تدريجياً، ويدعى هذا الاختبار أيضاً زمن كويك Quick وهو اسم الطبيب الأمريكي الذي كان أول من طبق هذا الاختبار عام 1935، وقد زاد الطلب على هذا الاختبار وخاصة لدى المرضى الذين يتناولون الأدوية المضادة للتخثر، وأيضاً لدى المصابين بالنزوف الدموية، ولدى مرضى الآفات الكبدية المزمنة.⁽²⁵⁾

3-2-1- الاختبار

يقيس زمن البروترومبين زمن تخثر البلازما منزوعة الكالسيوم والسيتراتية في الدرجة 37°م، وبوجود الترومبوبلاستين النسيجي والكالسيوم بمقدار كاف.⁽²⁶⁾

3-2-2- الكواشف Reagents

3-2-2-1- الترومبوبلاستين Thromboplastin

هو كاشف يحتوي على العامل النسيجي وفوسفوليبيدات التخثر. ويتوفر العديد من المحضرات التجارية للترومبوبلاستين من أنسجة الثدييات، وتصنف الترومبوبلاستينات تبعاً إلى:

- مصدر النسيج الذي استخلصت منه (الدماغ أو الرئة أو المشيمة)

- النوع الذي أخذت منه (الإنسان أو الأبقار أو الأرانب).

وتصنع الترموبولاستينات حالياً بطريقة التآشيب Recombinant، لتفسير نتائج زمن البروترومبين يجب معايرة كل كاشف تفادياً للاختلافات الحاصلة في تحضير الكواشف مقارنة بالكواشف المرجعية العالمية.⁽²⁷⁾

3-2-2-2- شواهد بلازما طبيعية ومرضيه

بمستويات مختلفة للتأكد من جودة العمل المخبري، وتوجد بشكل مجفد تُذاب عند استخدامها أو يمكن تحضيرها من جميعه من بلازما أشخاص طبيعيين.⁽²⁸⁾

3-2-2-3 كلور الكالسيوم CaCl₂

بتركيز 0.025 مول/ل.

3-2-3 طرق إعطاء نتائج زمن البروترومبين⁽²⁹⁾

1 - بالثواني Seconds: يتراوح المقدار المرجعي ما بين 11 - 14 ثانية. ويختلف من مختبر لآخر ويتعلق بطبيعة العمل (هل هو يدوي أم آلي) وبحساسية الكواشف المستخدمة ونوع الجهاز المستخدم للقياس.

2 - نسبة زمن المريض إلى زمن الشاهد الطبيعي Ratio:

$$\text{Ratio} = \frac{\text{Patient-PT}}{\text{Normal Control-PT}}$$

وتتأثر بنفس العوامل السابقة، وتكون القيمة الطبيعية لهذه النسبة أقل من 1.2 بالنسبة للبالغين وأقل من 1.3 بالنسبة للأطفال.

3 - الفعالية Activity : تمثل تركيزاً نسبياً مئوياً ينسب إلى الشاهد، ويحدد اعتماداً على منحنى معياري يتم رسمه بعد إجراء تمديدات مختلفة لبلازما عيارية وإجراء زمن البروترومبين لكل تمديد.

4 - نسبة التقييس الدولية INR International Normalized Ratio⁽³⁰⁾:

أوصت منظمة الصحة العالمية WHO بهذا الأسلوب التعبيري بعد أن وجدت اختلافات كبيرة في أزمنا البروترومبين للمرضى ونسبتها لزمن الشاهد الطبيعي عند مراقبة المعالجة بمضادات الفيتامين K

للمريض نفسه باختلاف الشركات الصانعة للكواشف (والمفروض أن تكون الفروق دون 15%). ولذلك ومنذ عام 1977 ألزمت منظمة الصحة العالمية الشركات المصنعة للترومبولاستين بوضع رقم يدعى مشعر الحساسية العالمي (ISI) International Sensitivity Index لكل محضر Preparation من الترومبولاستين.

INR هو حاصل قسمة زمن المريض على زمن الشاهد الطبيعي مرفوعاً إلى قوة ISI الخاصة بكل محضر ترومبولاستين:

$$INR = \left\{ \frac{Patient-PT}{Control-PT} \right\}^{ISI}$$

يعاد اختبار INR بعد 2-3 أيام من كل تعديل حصة حتى نصل إلى المجال الهدف ثم كل 15 يوم ثم كل شهر.

ويوضح الجدول (2) قيم INR الهدف الموصى بها لدى المرضى المعالجين بمضادات الفيتامين K.⁽³¹⁾

الجدول (2): المجالات العلاجية الهدف للمرضى الموضوعين على مضادات التخثر الفموية:

مستوى العلاج	الاستطبابات	قيمة INR الهدف
الجرعات المعيارية	- الوقاية من الخثار الوريدي (جراحة ذات خطورة عالية) - معالجة الخثار الوريدي - معالجة الصمات الرئوية - منع حدوث الصمات الجهازية - الصمات الجهازية المعادة	3 - 2
الجرعات العالية	- الصمامات الميكانيكية الصناعية - متلازمة أضداد الفوسفوليبيد	3.5 - 2.5

3-2-4- مشعر الحساسية العالمي (ISI) ⁽³²⁾

يمكن تعريفه بأنه قياس كمي مقارنة بالمحضر المرجعي العالمي الأول للترمبولاستين (البشري المركب والذي رمزه 67/40)، ويمثل ميل المستقيم الذي يعطيه التمثيل اللوغاريتمي المضاعف لنتائج

فحص مرضى يعالجون بمضادات تخثر فموية ولأشخاص طبيعيين، وذلك باستخدام طريقة العمل والطريقة المرجعية.

3-2-5 - أسباب تطاول زمن البروترومين⁽³³⁾

الوراثية:

- نقص العامل السابع الوراثي.
- نقص الفيبرينوجين أو العامل الخامس أو الثاني الوراثي.

المكتسبة:

- قصور الخلية الكبدية.
- نقص فيتامين K.
- العلاج بمضادات الفيتامين K.
- التخثر المنتشر داخل الأوعية DIC.

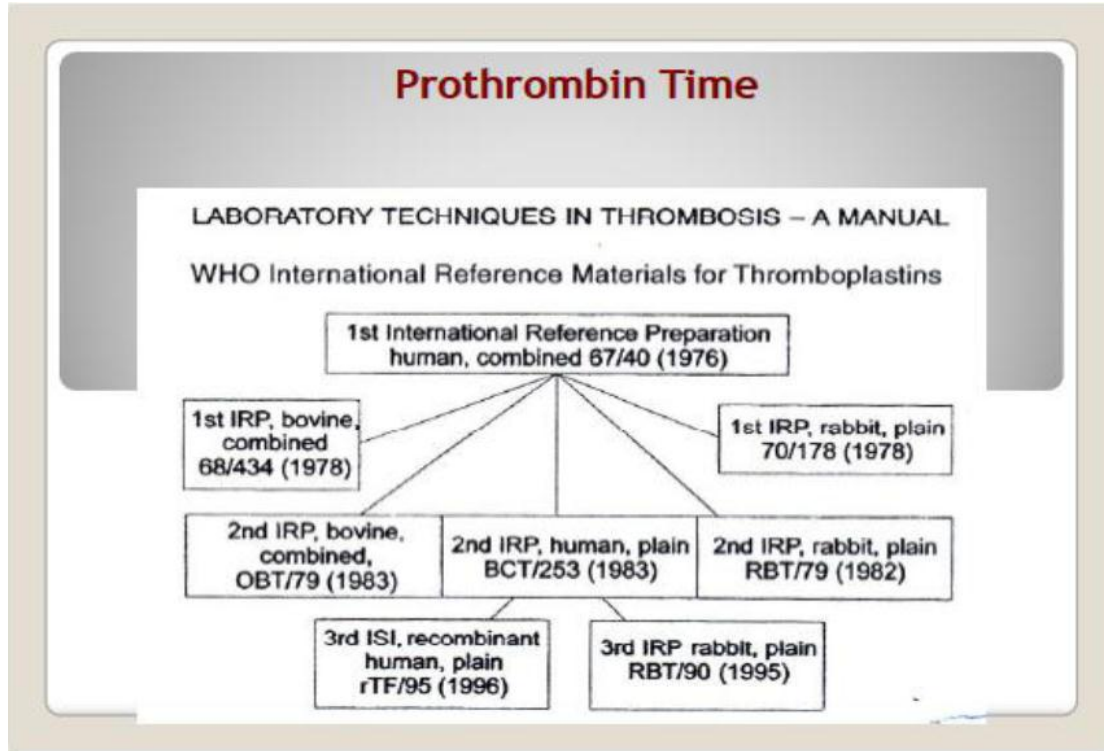
4 - الترمبوبلاستين والبلازما المستخدمة في مراقبة المعالجة بمضادات الفيتامين K

4-1 - المحضرات المرجعية العالمية للترمبوبلاستين

تعتمد أنظمة زمن البروترومين الحالية على استخدام ثلاثة أنواع مختلفة من كواشف الترمبوبلاستين: البشرية، البقرية والأرنبية (الجدول 3). حيث أن نظام زمن البروترومين هو إجراء يتم بواسطته تحديد زمن البروترومين باستخدام كاشف ترمبوبلاستين نوعي وبطريقة معينة قد تكون يدوية، مثل طريقة إمالة الأنبوب، أو آلية باستخدام أداة تسجل نقطة نهاية التخثر تلقائياً. يجب أن توصف الطريقة وأن يتضمن الوصف كل الإجراءات والمعدات المستخدمة مثل الممصات وأنايب الاختبار.⁽³⁴⁾

الجدول (3): المحاضرات المرجعية العالمية للترمبوبلاستين⁽³⁵⁾

الاسم	المصدر	الرمز	التاريخ	ISI
المحضر المرجعي العالمي الأول للترمبوبلاستين البشري	دماغ بشري	40/67	1976	1
المحضر المرجعي العالمي الثاني للترمبوبلاستين البشري	دماغ بشري	BCT/253	1983	1.1
المحضر المرجعي العالمي الثالث للترمبوبلاستين البشري	بشري مأشوب	rTF/95	1996	0.94
المحضر المرجعي العالمي الأول للترمبوبلاستين البقري	دماغ بقري	68/434	1978	
المحضر المرجعي العالمي الثاني للترمبوبلاستين البقري	دماغ بقري	OBT/79	1983	1
المحضر المرجعي العالمي الأول للترمبوبلاستين الأرنب		70/178	1978	
المحضر المرجعي العالمي الثاني للترمبوبلاستين الأرنب		RBT/79	1982	1.4
المحضر المرجعي العالمي الثالث للترمبوبلاستين الأرنب	دماغ الأرنب	RBT/90	1995	1



الشكل (5): المحضرات المرجعية العالمية للترمبوبلاستين

2-4 - معايرة أنظمة زمن البروترومبين Calibration of prothrombin time systems

يجب أن تعالير أنظمة البروترومبين بالنسبة لمحضر الترمبوبلاستين المرجعي العالمي المناسب، كذلك يجب تحديد الاستجابة لاضطرابات التخثر المحرصة بمضادات الفيتامين K باستخدام ISI المستخرج خلال عملية المعايرة. من غير الممكن استخدام المحضرات المرجعية العالمية في الاختبارات الروتينية لمعايرة كل طبخة أو كل دفعة من كواشف الترمبوبلاستين المنتجة من قبل مصنعين مختلفين باعتبار أن الموردين لهذه المحضرات محدودون. يجب إجراء معايرة كل دفعة من الترمبوبلاستين بالمقارنة مع عياري ثانوي. وهذا العياري الثانوي عبارة عن دفعة من نفس الترمبوبلاستين المعالير بالنسبة للمحضر المرجعي العالمي.⁽³⁶⁾

4-3- إءراء المعائرة⁽³⁷⁾

يتطلب إءراء المعائرة ءءءءء سلسة من أؤمنة البروؤرمبءء باءءءءام عءنات بلاؤما طءبعفة وءفر طءبعفة مع الؤرمبوبلاءئء المرءءف وؤرمبوبلاءئء الاؤءبار .

4-3-1- عءنات الدم

ءبب اؤءءار عءنات الدم من الأشءاء الأؤءاء ظاهرفاً ومن المرؤف الموضوعف علف مضاءات الففءامف K. بفنما لا ءبب أن ءءءءم العءنات المأؤوءة من مرؤف ءعالءون بالهفءارفن .

ءبب الءصول علف الدم عن طرفق بؤل الورفء مع ءءنب الانءلال الدموف والءلؤل بالسؤال النسففءة . وءم وضع ءسعة أءام من الدم مع ءم واءء من مءلول السفءرات ءلاؤفة الصوؤفوم 109 ممول/ل . وءبب اسءءءام نفس الإءراء والمواء لكل العءنات فف المعائرة المعطاءة .

ءبب ءءففل العفنة ءلال أقل من ساءئف بعء ءمع الدم . وءبب أن ءءرف ءءففل بءفء نءصل علف بلاؤما فقفرة الصففءاء (على الأقل 2500 g لمءة عشر ءقائق بءرءة ءرارة العرفة) . وءءرف الاؤءبار ءلال ءمس ساءات بعء ءمع الدم .

4-3-2- الؤرمبوبلاءئءات المرءءفة

ءبب أن ءم ءءهفز المءؤر المرءءف العالف المناسب للؤرمبوبلاءئء (بؤرف؁ أرنبف أو بؤرف) ءسب الءعلفماء؁ وأن ءم نقل مءؤواف الأمبولاء ءلف عبوة بءم ءافف لكل الاؤءباراء الءف سؤءرف بءلسة معائرة واءءة .

4-3-3- الؤقففم الإءصافف

ءبب أن ءم اسؤبعاء العءنات ذاء قفم INR ءارء المءال 1.5-4.5 . ءبب أن ءءسب ءط الانءار المءعامء (orthogonal regression line) علف أساس اللوعارفم الطءفعف لؤمن البروؤرمبءء لـ 20 شءص طءفعف بالإؤفاء لـ 60 مرؤف موضوعف علف معالءة طوئلة الأمء بمضاءاء الففءامف K بشكل مسؤقر .

لؤءءء ISI للماءة المرءءفة للءم ءبب إءراء عءء ءاف من الاؤءباراء المنفصلة للءصول علف معاملف الؤبافن (CV) 3% أو أقل .

4-4 - توصيات منظمة الصحة العالمية لإجراء اختبار زمن البروترومبين⁽³¹⁾

- استخدام 109 ممول/ل (3.2%) سيترات كمضاد تخثر مفضل لمنع تخثر الدم في الأنابيب المستخدمة بنسبة تسعة أحجام دم مقابل حجم واحد من مانع التخثر.
- العينات يجب تخزينها بدرجة حرارة 20 - 24 درجة مئوية، ولا بد من إجراء الاختبار عليها خلال أقل من 5 ساعات.
- ينصح باستخدام الترمبوبلاستين مع ISI (0.9 - 1.7) ومن المستحسن استخدام الكاشف الأدنى ضمن هذا النطاق.

الدراسة العملية

5-1- هدف الدراسة

يهدف هذا البحث إلى:

1. دراسة تأثير اختلاف قيم ISI لكواشف اختبار زمن البروتروميين على نتائج زمن البروتروميين بالثواني وبالـ INR.
2. دراسة خطية كاشف ذي ISI منخفض بمقارنته بالكاشف المستخدم في المشافي الجامعية.
3. المقارنة بين تكرارية كاشفين لهما قيمتا ISI مختلفتان.

5-2- مكان وزمان إجراء الدراسة

مكان الدراسة:

تم جمع العينات من مرضى مشفى الموساة الموساة الجامعي في دمشق - مركز جراحة القلب. وأجريت الدراسة في مخبر مشفى التوليد الجامعي في دمشق.

مدة الدراسة :

استمرت الدراسة عاماً كاملاً من آب عام 2013 حتى آب عام 2014.

5-3- عينة البحث

- المجموعة الأولى مجموعة الشاهد : تم أخذ العينات لإجراء المنحني المعياري من 10 أشخاص يحققون الشروط التالية: بالغين، أصحاء ظاهرياً، لا يعانون من مرض مزمن، لا يوجد مرض كبدي ولا يتناولون مميعات.
- المجموعة الثانية مجموعة المرضى: ضمت 40 مريضاً موضوعين على مضادات فيتامين K لأكثر من أسبوع.

5-4- مواد البحث

5-4-1 الكواشف المستخدمة

كاشف الدراسة: QuikCoag لشركة Biomedica وهو ترمبولاستين ذو $ISI = 1.03$.

كاشف المقارنة: QuikCoag لشركة Biomedica وهو ترمبولاستين ذو $ISI = 1.14$.

كلا الكاشفين عبارة عن مستحضر مجفد يتكون من :

- ترمبولاستين دماغ الأرنب
- كلور الكالسيوم
- وقاء
- 0.05% أزيد الصوديوم كمادة حافظة

5-4-2 الجهاز المستخدم للقياس

جهاز نصف آلي (Diamed) في مخبر مشفى التوليد. يحوي قناتين ضوئيتين وليزر أزرق منخفض (LED) على طول الموجة 470 نانومتر، يضمن دقة وضبطاً عاليين. وهو مناسب للفحوص التالية: PT، aPTT، الفيبرينوجين، عوامل التخثر، الهيبارين، البروتين C والأنتي ترومبين III.

5-5- الطرق

5-5-1 توثيق بيانات مجموعتي الدراسة

مجموعة الشاهد : تم جمع المعلومات التالية لكل شاهد:

- الاسم الثلاثي
- الجنس
- التأكد من أن الشاهد يحقق الشروط التالية: بالغ، صحيح ظاهرياً، لا يعاني من مرض مزمن، لا يوجد مرض كبدي و لا يتناول مميعات.

مجموعة المرضى: تم جمع المعلومات التالية لكل مريض:

- الاسم
- الجنس
- العمر
- التشخيص
- جرعة مضادات الفيتامين K
- INR المقترح للتميع

5-5-2- اعتيان الدم

تم اعتيان الدم وفق الخطوات التالية:

- سحب عينات دم وريدي باستخدام محقنة بلاستيكية.
- نقل العينات فوراً إلى أنبوب يحوي محلول سيترات الصوديوم الثلاثية 109 ممول/ل كمانع تخثر بنسبة 9 أحجام دم مقابل حجم واحد مانع تخثر.
- التثليل لمدة 15 دقيقة بسرعة 3500 دورة/دقيقة للحصول على بلازما فقيرة بالصفائح .
- حفظ البلازما في المجمدة بدرجة حرارة -20 لحين إجراء الاختبار.

5-5-3- طريقة القياس

1. تشغيل الجهاز والانتظار حتى الوصول إلى الدرجة 37.
2. حضن الكاشف لمدة ربع ساعة بالدرجة 37 قبل البدء بالاستخدام.
3. وضع 50 ميكرون من بلازما المريض في الكوفيت وحضنها في الجهاز لمدة دقيقتين.
4. وضع الكوفيت في حجرة القياس ثم إضافة 100 ميكرون كاشف،
5. يبدأ الجهاز بالعد حتى تتشكل العلكة ويعطي نتيجة PT.

5-5-4- رسم المنحني المعياري

لرسم المنحني المعياري، تم:

- أخذ أحجام متساوية من بلازما كل شخص من مجموعة الشاهد ومزجها جيداً للحصول على
الجميعة (Pooled plasma).

- ثم إجراء التمديدات كما يوضح الجدول (3).

الجدول (3): التمديدات من أجل إجراء المنحني المعياري

التمديدات	%100	%50	%25	%12.5
نسبة التمديد	1/1	2/1	4/1	8/1
البلازما	0.2 مل	0.2 مل	0.2 مل	0.2 مل
الدائرة	--	0.2 مل	0.6 مل	1.4 مل

- نستطيع حساب الفعالية لكل مريض بعد أخذ قيمة PT بالثواني.

5-5-5- دراسة الخطية

إن الخطية هي جزء هام من معايير تقييم جودة كاشف ما أو جودة العمل المخبري، وحسب تعريف منظمة NCCLS هي مدى قرب منحني نتائج الاختبار من الخط المستقيم، بينما تعرفها منظمة الأدوية والأغذية FDA على أنها قدرة الاختبار على إعطاء تراكيز متناسبة مع التمديدات المختلفة. ويتم تقييم الخطية إما عيانياً أو إحصائياً اعتماداً على قيمة R^2 حيث نقول أن خطية الكاشف جيدة إذا كانت قيمة $R^2 > 0.95$.

تم أخذ 40 عينة للمرضى الموضوعين على مضادات الفيتامين K ثم قياس زمن البروترومبين بالثواني PTs وحساب INR لكل عينة باستخدام كاشف الدراسة ذي $ISI+1.03$ وكاشف المقارنة ذي $ISI=1.14$ وهو المستخدم في المشافي الجامعية.

5-5-6- دراسة التكرارية

التكرارية هي مدى قرب النتائج من بعضها عند تكرار إجراء الاختبار بواسطة نفس الشخص الذي يقوم بالتحليل وباستخدام نفس الأدوات والمعدات المخبرية وذلك خلال فترة قصيرة من الزمن.

تم أخذ ثلاث عينات كان INR للأولى يساوي 1، والثانية يساوي 2 والثالثة يساوي 3. حيث أجري اختبار زمن البروترومبين عشرين مرة لكل عينة باستخدام كاشف الدراسة $ISI=1.03$ ، وعشرين مرة وكاشف المقارنة $ISI=1.14$.

5-6- التحليل الإحصائي

باستخدام البرنامج الإحصائي IBM SPSS Statistics 21 تمت دراسة خطية المنحني المعياري، وخطية كاشف الدراسة بالنسبة لكاشف المقارنة، حيث نقول أن الخطية جيدة إذا كانت قيمة $R^2 < 0.95$. وباستخدام T-test للعينات المرتبطة (Paired samples T-test) تمت دراسة P-value من أجل دراسة الفروق الإحصائية بين نتائج PTs و INR لكلا الكاشفين، حيث نقول أن هنالك فروق هامة من الناحية الإحصائية إذا كانت قيمة $P > 0.05$. ولدراسة التكرارية تم حساب معامل الاختلاف Coefficient of Variation (C.V%) حيث نقول أن تكرارية الكاشف جيدة إذا كان معامل الاختلاف أقل من 5% حسب SKUP (التقييم الاسكندنافي للتجهيزات المخبرية).

5-7- النتائج

5-7-1- توزيع العينات المرضية

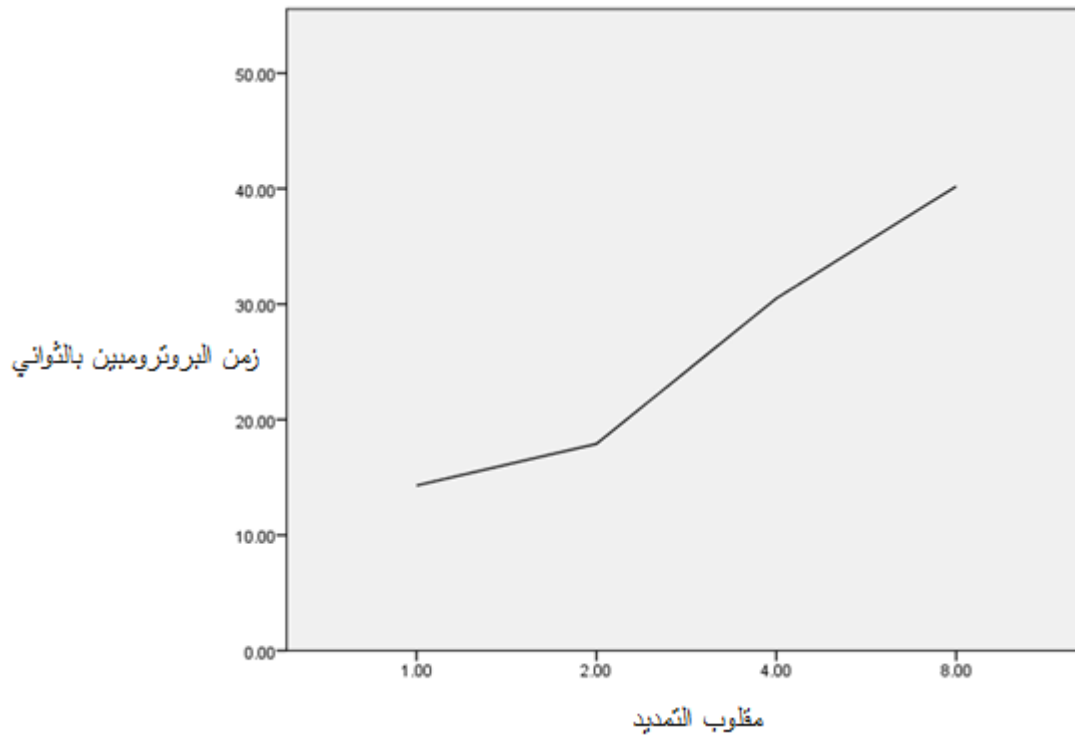
- توزيع العينات المرضية حسب استطباب التميع:
 - 24 عينة لمرضى تبديل الصمام التاجي بنسبة 60%
 - 4 عينات لمرضى تبديل الصمام الأبهري بنسبة 10%
 - 3 عينات لمرضى الصمامات الرئوية بنسبة 7.5%
 - 9 عينات لمرضى الخثار الوريدي العميق بنسبة 22.5%
- توزيع العينات المرضية حسب العمر والجنس:
 - تراوح عمر المرضى بين 16 و 75 سنة وكان متوسط العمر مقدراً بالسنوات ± 13.51 SD :
 - كان عدد العينات 15 عينة للمرضى الذكور بنسبة 37.5% و 25 عينة للمريضات الإناث بنسبة 62.5%.
- توزيع العينات المرضية حسب قيمة INR الهدف:

الجدول (4): توزيع العينات المرضية حسب قيمة INR الهدف

العدد (النسبة المئوية)	قيمة INR الهدف
12 (30%)	3 - 2
28 (70%)	3.5 - 2.5

5-7-2 - دراسة خطية المنحني المعياري

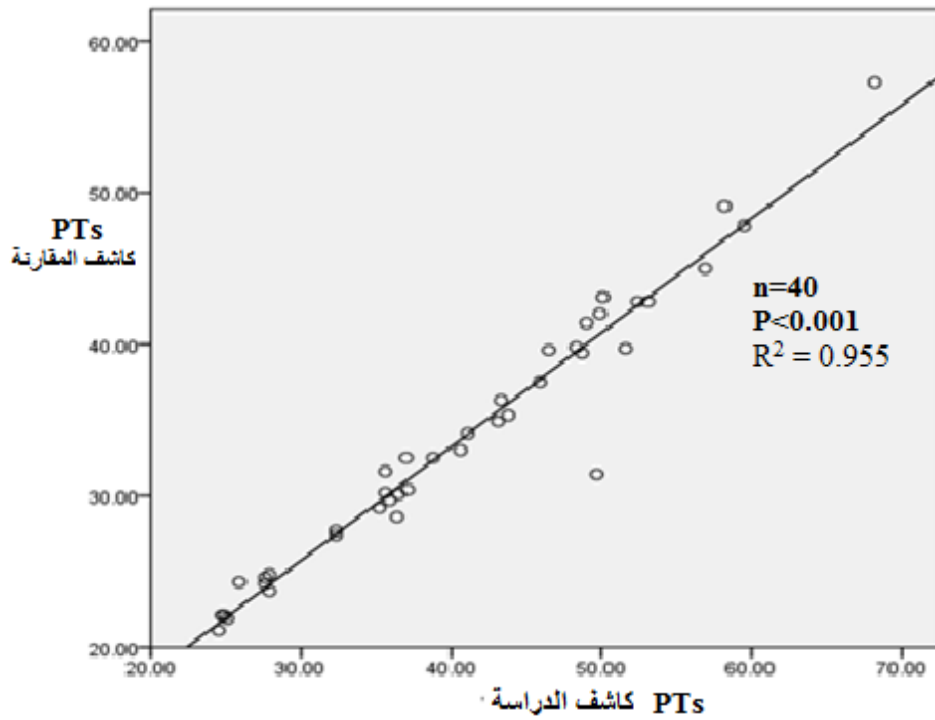
يبين الشكل (6) مخططاً لخطية المنحني المعياري لكاشف الدراسة ذي $ISI = 1.03$ ، حيث يمثل المحور الأفقي مقلوباً للتمديدات المجراة، بينما يمثل المحور العمودي قيم زمن البروترومبين بالثواني لكل تمديد، فكانت قيمة $R^2 = 0.954$ وهي أكبر من 0.95.



الشكل (6) : خطية المنحني المعياري لكاشف الدراسة

5-7-3 - الخطية بين قيم زمن البروترومبين بالثواني (PTs)

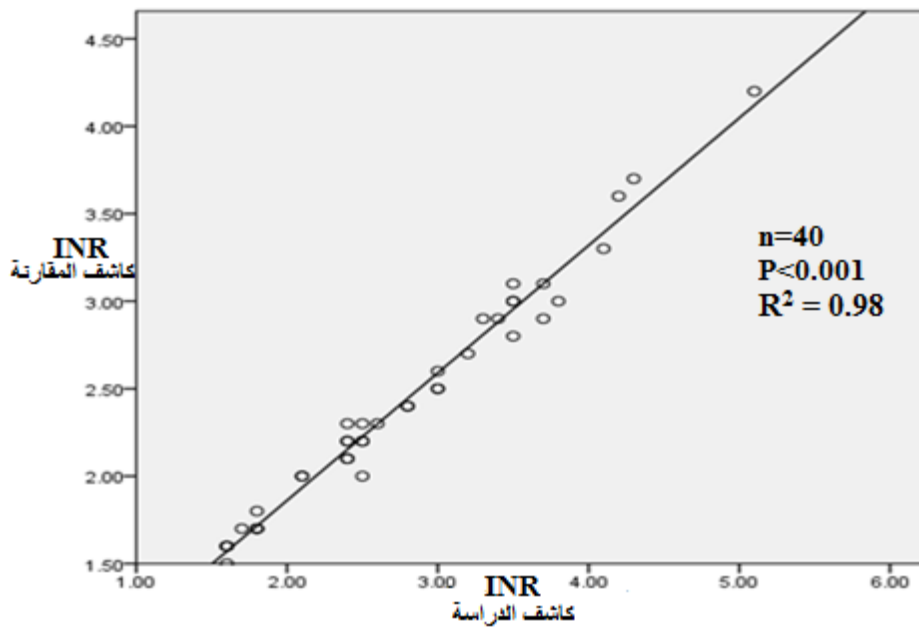
يبين الشكل (7) مخططاً يمثل العلاقة الخطية لقيم زمن البروترومبين بالثواني لكاشف الدراسة بالنسبة لكاشف المقارنة، حيث يمثل المحور الأفقي قيم PTs لكاشف الدراسة، بينما يمثل المحور العمودي قيم PTs لكاشف المقارنة. وباستخدام البرنامج الإحصائي كانت قيمة $R^2 = 0.955$ وهي أكبر من 0.95.



الشكل (7): الخطية بين قيم PTs

5-7-4 - الخطية بين قيم INR

يبين الشكل (8) مخططاً يمثل العلاقة الخطية لقيم INR لكاشف الدراسة بالنسبة لكاشف المقارنة، حيث يمثل المحور الأفقي قيم INR لكاشف الدراسة، بينما يمثل المحور العمودي قيم INR لكاشف المقارنة. وباستخدام البرنامج الإحصائي كانت قيمة $R^2 = 0.98$ وهي أكبر من 0.95.



الشكل (8): الخطية بين قيم INR

5-7-5- المقارنة بين قيم PTs التي حصلنا عليها للمرضى المميعين بالكاشفين

اعتماداً على قيم P-value

يوضح الجدول (5) المتوسط الحسابي لقيم زمن البروترومبين بالثواني التي حصلنا عليها باستخدام كاشف الدراسة وكاشف المقارنة، إضافةً إلى العلاقة بينهما اعتماداً على قيمة P-value.

الجدول (5): المقارنة بين قيم PTs لكاشفي الدراسة والمقارنة ودراسة العلاقة بينهما

الكاشف المستخدم	Mean (PTs) $\pm$ SD	P-Value
ISI=1.03	33.8 $\pm$ 8.6	<0.001
ISI=1.14	40.7 $\pm$ 11.1	

5-7-6- المقارنة بين قيم INR التي حصلنا عليها للمرضى المميعين بالكاشفين

اعتماداً على قيم P-value

يوضح الجدول (6) المتوسط الحسابي لقيم INR التي حصلنا عليها باستخدام كاشف الدراسة وكاشف المقارنة، إضافةً إلى العلاقة بينهما اعتماداً على قيمة P-value.

الجدول (6): المقارنة بين قيم INR لكاشفي الدراسة والمقارنة ودراسة العلاقة بينهما

الكاشف المستخدم	Mean (INR) $\pm$ SD	P-Value
ISI=1.03	2.4 $\pm$ 0.6	<0.001
ISI=1.14	2.8 $\pm$ 0.9	

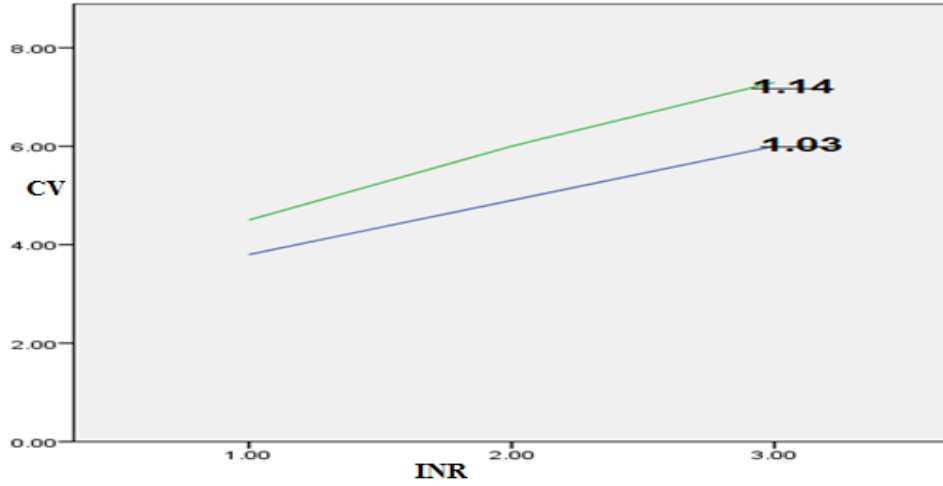
5-7-7- دراسة التكرارية

بعد إجراء PT لكل عينة من العينات الثلاث عشرين مرة باستخدام الكاشفين حصلنا على النتائج الموضحة في الجدول (7).

الجدول (7): قيم معامل التباين لـ PTs و INR باستخدام كاشفي الدراسة والمقارنة

مستوى INR	CV% PTs للكاشف 1.03	CV% PTs للكاشف 1.14	CV% INR للكاشف 1.03	CV% INR للكاشف 1.14
> 2	3.7 %	3.9 %	3.8 %	4.5 %
2 - 3	4.6 %	5.2 %	4.9 %	6 %
< 3	5.8 %	6.4 %	6 %	7.3 %

ويبين الشكل (9) المخطط البياني لقيم INR مقابل قيم C.V% لكلا الكاشفين.



الشكل (9): مخطط يوضح قيمة معامل التباين مقابل قيمة INR للكاشفين المستخدمين اللون الأخضر للكاشف ذي ISI=1.14، اللون الأزرق يمثل للكاشف ذي ISI=1.03

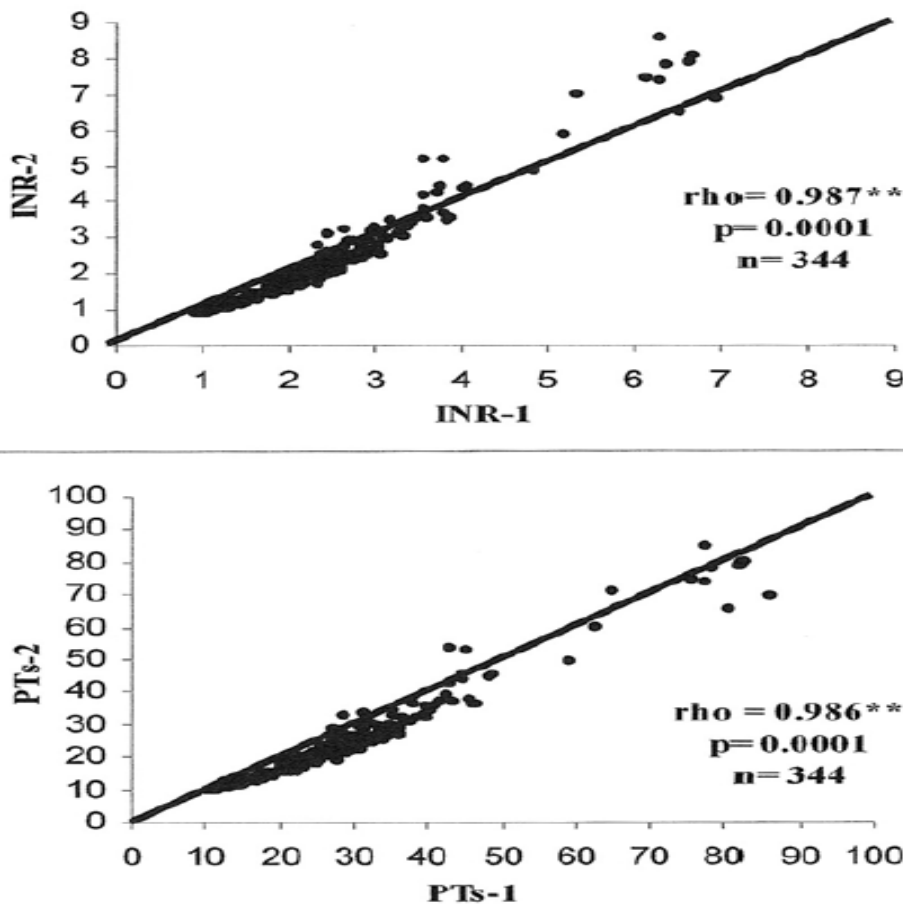
5-8 مناقشة النتائج

- عند دراسة الخطية للمنحني المعياري لكاشف الدراسة ذي ISI=1.03 كانت $R^2 < 0.95$ فالخطية للمنحني المعياري المدروس جيدة.
- بإنشاء (المنحني المعياري) ودراسة الخطية، وبمقارنة قيم INR و PTs لعينات المرضى المميعين بمضادات الفيتامين K باستخدام كاشف الدراسة وكاشف المقارنة ، وجدنا أن $R^2 > 0.95$ وهذا يعني أن العلاقة الخطية بين الكاشفين جيدة.
- بالنسبة لعينات المرضى المميعين كانت قيمة $P < 0.05$ بين الكاشفين في كلا الطريقتين (PTs, INR) فهناك فرق إحصائي هام بين نتائج كاشف الدراسة وكاشف المقارنة.
- نلاحظ أن معامل التباين C.V% لنتائج كاشف الدراسة أقل من 5% وهذا يعني أن تكرارية الكاشف جيدة.
- نلاحظ أن قيم معامل التباين C.V% لكاشف الدراسة (ISI=1.03) هي أقل من كاشف المقارنة (ISI=1.14) ، أي أن تكرارية كاشف الدراسة أفضل من تكرارية كاشف المقارنة، وهذا يعني أنه كلما قلت قيمة ISI الكاشف تكون تكراريته أفضل.

5-9- الدرسات المقارنة

5-9-1 دراسة مقارنة 1⁽³⁸⁾

وهي دراسة أجريت في أنقرة - تركيا عام 2010 حيث أجريت مقارنة بين كاشفين: الكاشف الأول ذو $ISI=0.96$ والكاشف الثاني ذو $ISI=1$ حيث كانت الخطية جيدة بين الكاشفين $R^2 = 0.987$ بين قيم INR، و $R^2 = 0.986$ بين قيم PTs، بينما كانت قيمة $P < 0.001$ في الحالتين (الشكل 10)، وهذا يدل على ان هناك فروق هامة من الناحية الإحصائية بين الكاشفين، وهذا مطابق لدراستنا.



الشكل (10): العلاقة بين قيم PTs و INR لكاشفين: الأول له قيمة $ISI=0.96$ والثاني له قيمة $ISI=1$

5-9-2 دراسة مقارنة 2⁽³⁹⁾

وهي دراسة أجريت في مشفى الكندي التعليمي - بغداد 2014. حيث تمت دراسة مقارنة بين كاشف ذي $ISI=1.7$ وكاشف ذي $ISI=1.05$ ، وذلك على مجموعة شاهد مكونة من 33 شخصاً، ومجموعة

مرضى (125 مريض) موضوعين على مضادات الفيتامين K منذ أكثر من أسبوع اعتماداً على P-Value، فكانت النتائج كما يلي:

1 - $P\text{-Value} = 0.001 > 0.05$ بالنسبة لقيم PTs لمجموعة المرضى أي أن هناك فروق هامة من الناحية الإحصائية بين الكاشفين.

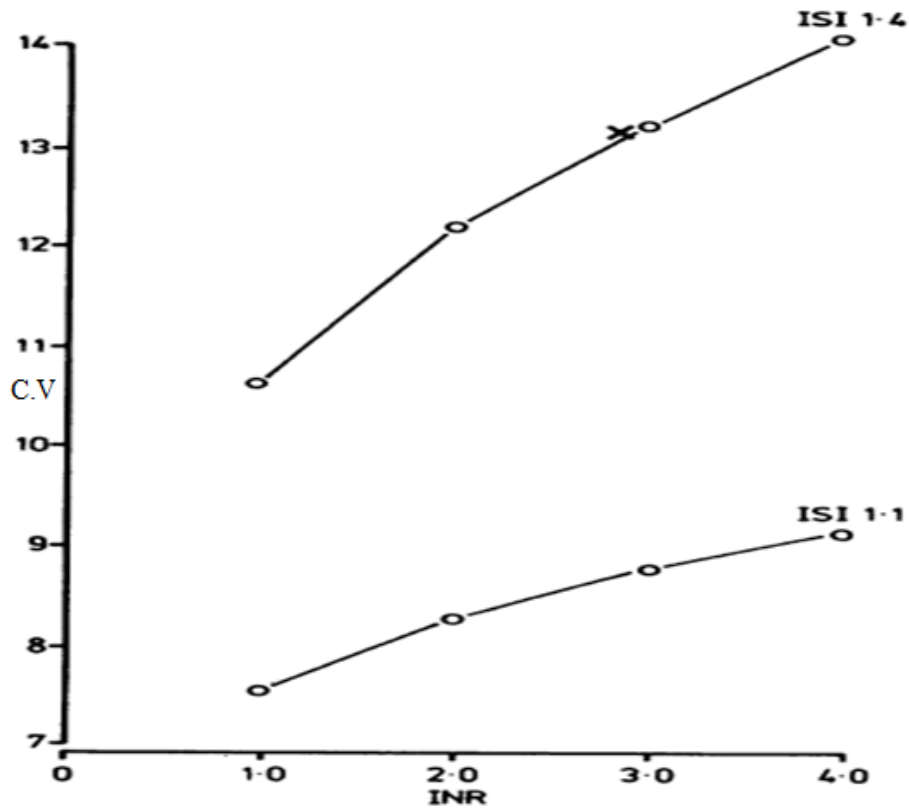
2 - بينما كان $P\text{-Value} = 0.049 > 0.05$ بالنسبة لقيم INR ، أي أن هناك فرقاً إحصائياً هاماً بالنسبة لقيم INR بين الكاشفين ولكن هذا الفرق أقل مما هو عليه بالنسبة لـ PTs.

النتائج متوافقة مع دراستنا بمقارنة كاشفين: الأول ذو $ISI=1.03$ ، والثاني ذو $ISI=1.14$ ، حيث كانت هناك فروق هامة بين النتائج باستخدام الكاشفين.

5-9-3 - دراسة مقارنة⁽⁴⁰⁾

وهي دراسة أجريت في مشفى Withington في مانشستر عام 1989 لدراسة تأثير قيمة ISI على مضبوطة INR.

حيث تمت مقارنة كاشفين مستخلصين من دماغ أرنب لهما قيمة ISI 1.1 و 1.4 فكان الكاشف ذي ISI الأقل له تكرارية أفضل من أجل جميع قيم INR (الشكل 11) وهذا مطابق لدراستنا.



الشكل (11): العلاقة التجريبية بين CV و INR لدراسة أجريت في مشفى Withington في مانشستر.

10-5 - المقترحات والتوصيات

- تعتمد صحة نتائج زمن البروترومبين المرجوة بشكل رئيسي على جودة الكواشف المستخدمة مخبرياً ومدى حساسيتها لتأثيرات مضادات الفيتامين K، مما يجعل انتقاء الكاشف ذا أهمية كبيرة في دقة النتائج.
- لا بد من إجراء مجال مرجعي لزمن البروترومبين خاص بكل مخبر بسبب اختلاف نتائج زمن البروترومبين عند استخدام كواشف مختلفة.
- إن الكواشف ذات ISI منخفض لها خطية جيدة وتكرارية أفضل من الكواشف ذات ISI الأعلى.

المراجع

1. Marieb, E. N. and Hoehn, K. (2010). "Human Anatomy & Physiology" (8th ed.). San Francisco: Benjamin Cummings. pp. 649–650.
2. Harmening D.M. (1997) "Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis". (3rd ed). Philadelphia: F.D. Davis:481-508.
3. Matarrese P, Straface E, Palumbo G, Anselmi M, Gambardella L, Ascione B, Del Principe D. and Malorni W. (2009). "Mitochondria regulate platelet metamorphosis induced by opsonized zymosan A—activation and long-term commitment to cell death". FEBS Journal. 276 (3): 845–856.
4. Triplett D.A. (2000) "Coagulation and bleeding disorders: Review and update". Clin Chem. 46:1260-1269.
5. Sadler J.E. (1998). "Biochemistry and genetics of von Willebrand factor". Annu. Rev. Biochem. 67: 395–424.
6. Hermans J. and McDonagh J. (1982). "Fibrin: structure and interactions". Semin. Thromb. Hemost. 8 (1): 11–24.
7. Schmaier, Alvin H.; Lazarus and Hillard M. (2011). "Concise guide to hematology". Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell. p. 91.
8. Giangrande P.L. (2003). "Six characters in search of an author: the history of the nomenclature of coagulation factors". Br. J. Haematol. 121 (5): 703-712.
9. Hoffbrand, A. V. (2002). "Essential haematology". Oxford: Blackwell Science. pp. 241–243.
10. Pallister C.J. and Watson M.S. (2010). "Haematology". Scion Publishing. pp. 336–347.
11. Hoffbrand, A. V. (2002). "Essential haematology". Oxford: Blackwell Science. pp. 243–245.
12. Douketis JD, Spyropoulos AC and Spencer FA.(2012). "Perioperative management of antithrombotic therapy: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis", (9th ed): American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest:1129-1141.
13. Stone GW, McLaurin BT, Cox DA, Bertrand ME, Lincoff AM and Moses JW. (2006) "Bivalirudin for patients with acute coronary syndromes". N Engl J Med. 355: 2203-2216.
14. "Aspirin for Reducing Your Risk of Heart Attack and Stroke: Know the Facts". U.S. Food and Drug Administration. Retrieved 2012.
15. Bhatt DL, Fox KA and Hacke W. (2006) "CHARISMA Investigators Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events". N Engl J Med. 354(16):1706-1717.
16. Sharis PJ, Cannon CP and Loscalzo J. (1998). "The antiplatelet effects of ticlopidine and clopidogrel". Ann Intern Med. 129 (5): 394-405.

17. Collier BS. (1997) "Platelet GPIIb/IIIa antagonists: the first anti-integrin receptor therapeutics". *J Clin Invest.* 100(suppl 11):S57–S60.
18. Nader, H.B. ; Chavante, S.F.; Dos-Santos, E.A.; Oliveira, F.W.; De-Paiva, J.F.; Jerônimo, S.M.B.; Medeiros, G.F. and De-Abreu, L.R.D. (1999). "Heparan sulfates and heparins: similar compounds performing the same functions in vertebrates and invertebrates". *Braz. J. Med. Biol. Res.* 32 (5): 529–538.
19. Weitz JI; Weitz, Jeffrey I. (1997). "Low-molecular-weight heparins". *N Engl J Med.* 337 (10): 688–698.
20. Holford NH. (1986). "Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin. Understanding the dose-effect relationship". *Clin Pharmacokinet.* 11: 483–504.
21. Hirsh J, Fuster V, Ansell J and Halperin JL (2003). "American Heart Association/American College of Cardiology Foundation guide to warfarin therapy". *J. Am. Coll. Cardiol.* 41 (9): 1633–52.
22. Macina, Orest T., Schardein, James L. (2007). "Warfarin". *Human Developmental Toxicants*. Boca Raton: CRC Taylor & Francis. pp. 193-194.
23. Korte, Wolfgang; Clarke, Susan; Lefkowitz and Jerry B. (2000). "Short activated partial thromboplastin times are related to increased thrombin generation and an increased risk for thromboembolism". *American journal of clinical pathology* 113 (1): 123–127.
24. Chopin, N. (2006) "Activated partial thromboplastin time waveform analysis: a new tool to detect infection". *Crit Care Med*, 34(6):1654-1660.
25. Fritsma and George A. (2002). "Evaluation of Hemostasis." *Hematology: Clinical Principles and Applications* . Ed. Bernadette Rodak. W.B. Saunders Company: Philadelphia: 719-753.
26. WHO Expert Committee on Biologic Standardization. 33rd Report. Technical Report Series No 687. Geneva: World Health Organization. 1983.
27. Adcock DM and Kressin DC. (1998). "Minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing: dependence on citrate concentration". *Am J ClinPathol.* 109(5): 595-599.
28. Miller GJ, Seghatchian MJ and Walter SJ. (1986). "An association between the factor VII coagulant activity and thrombin activity induced by surface/cold exposure of normal human plasma". *British Journal of Haematology.* 62:379-384
29. Kamal AH, Tefferi A and Pruthi RK. (2007). "How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults". *Mayo Clin Proc.* 82(7):864-873.
30. Riley RS, Rowe D and Fisher LM. (2000). "Clinical utilization of the international normalized ratio (INR). *J Clin Lab Anal.* 14(3):101-114.

31. Ansell J, Hirsh J, Hylek E, Jacobson A, (2008). "Pharmacology and Management of the Vitamin K Antagonists". American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest. (suppl 6);133:160s-198s.
32. Tripodi A. (1995). "Aproposed scheme for calibration of international reference preparation of thromboplastin for the prothrombin time" . thrombosis and haemostasis ,74:1368-1369
33. Rohrer MJ and Natale AM. (1992). "Effect of hypothermia on the coagulation cascade". *Crit Care Med*;20(10):1402-5
34. WHO Expert Committee on Biological Standardization, Twenty-eighth report. Geneva, World Health Organization, 1977:14 (WHO Technical Report Series, No. 610).
35. WHO Expert Committee on Biological Standardization, Thirty-fourth report. Geneva, World Health Organization, 1984:19 (WHO Technical Report Series, No. 700).
36. van der Velde EA. Orthogonal regression equation. In: van den Besselaar AMHP, Lewis SM and Granick HR. (1984). "Thromboplastin calibration and oral anticoagulant control Boston". Martinus Nijhoff,:25-39.
37. Tomenson JA. (1984). "A statistician's independent evaluation". In: van den Besselaar AMPH, , Lewis SM and Granick HR. Thromboplastin calibration and oral anticoagulant control Boston, Martinus Nijhoff: 87-108.
38. Vavas S, Ayaz S, Catav Z and Ulus AT. (2010). "The effects of different reagents on coagulation tests: Innovin versus Thromborel-s". *bidder tip bilimlari dergisi*:4-5.
39. Khaleel GA, Mahmood KA and Jasem MA. (2014). "The effects of thromboplastin reagents with different types (lyophilized vs. liquid) on the international normalized ratio (INR)". *World Journal of Pharmaceutical Research*: 3689-3691.
40. Taberner DA, Poller L, Thomson JM and Darby KV. (1989). "Effect of international sensitivity index (ISI) of thromboplastins on precision of international normalized ratios (INR)". The United Kingdom Reference Laboratory for Anticoagulant Reagents and Control, Withington Hospital, Manchester: 93-96.