

- (III.) Sedimentace červených krvinek
- (IV.) Stanovení osmotické rezistence  
červených krvinek

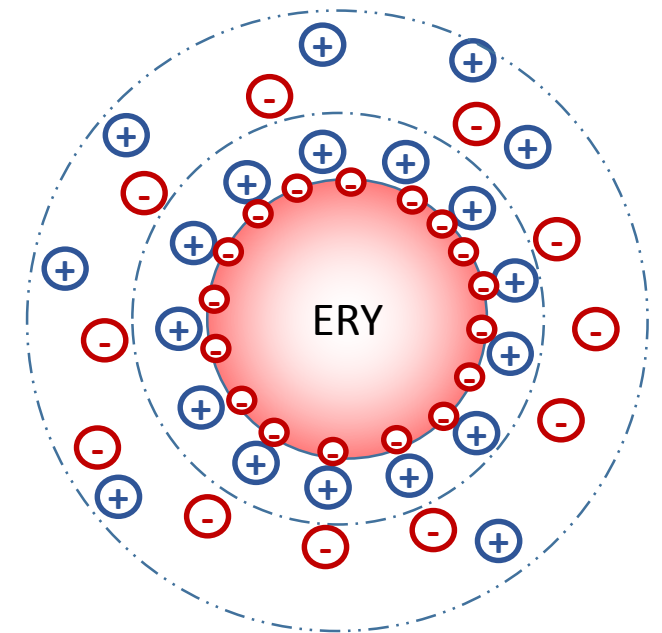
Fyziologie I - cvičení

# Sedimentace erytrocytů

- fyzikální proces usazování erytrocytů (krevních elementů) v neproudící nesrážlivé krvi
- vyšetřuje se **sedimentační rychlost**
  - **nespecifická** laboratorní metoda - říkající nám pouze “něco se děje”
  - měříme rychlost poklesu ery ve sloupci **nesrážlivé** krve (v kapiláře)
- Sedimentační rychlost je nepřímo úměrná **suspenzní stabilitě krve**

# Suspenzní stabilita erytrocytů. Helmholtzova elektrická dvojvrstva

- na vnějším povrchu membrány ery se nachází **záporný náboj**, nesený zejména zbytky sialových kyselin membránových proteinů
- v těsném okolí membrány se elektrostatickými silami udržují **kladně nabitě** ionty (především  $\text{Na}^+$ ) – tvoří 1. vrstvu iontů
- ke kladně nabitě vrstvě jsou přitahovány záporně nabitě ionty, které tvoří převážnou část 2. iontové vrstvy
- ery se díky svému „elektrickému obalu“ vzájemně odpuzují, což zabezpečuje, že neproudící nesrážlivá krev po jistou dobu setrvává jako suspenze krevních elementů v plazmě (**suspenzní stabilita**)



# Mechanismus sedimentace erytrocytů

- gravitace – pod vlivem této síly se erytrocyty v neproudící nesrážlivé krvi postupně usazují (sedimentují)
- při narušení Helmholtzovy elektrické dvojvrstvy dochází ke skládání ery do válečků – penízkovatění (tvorba rouleaux, agregátů) – které mají velký objem, ovšem relativně malý povrch, a proto klesají rychleji
- narušení elektrické dvojvrstvy tak způsobí zvýšení sedimentační rychlosti

# Faktory ovlivňující rychlost sedimentace

- Velikost ery: větší ery rychleji sedimentují
- Počet ery: čím více ery, tím pomaleji sedimentují
- Plazmatické bílkoviny
  - Albumin – má záporný náboj, udržuje suspenzní stabilitu
    - t.j. hypoalbuminémie = zvýšená sedimentační rychlost
  - Immunoglobuliny, fibrinogen – kladný i záporný náboj, narušují suspenzní stabilitu krve
    - t.j. při zvýšené plazmatické koncentraci Ig (např. při zánětu) stoupá rychlost sedimentace ery

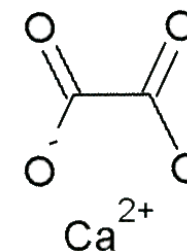
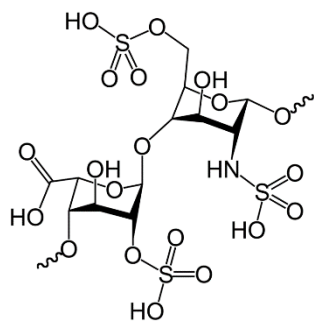
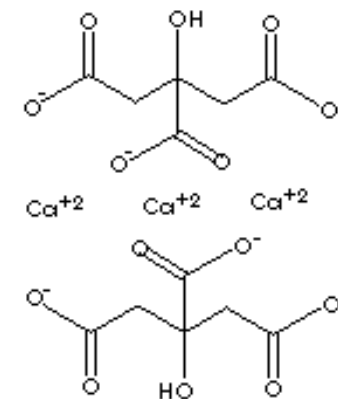
# Metody měření sedimentační rychlosti

- dle Fahraeus-Westergrena (FW, přímá metoda):
  - kapilára postavená kolmo
  - odečítá se po 1 hodině
- dle Wintroba (šikmá sedimentace):
  - kapilára sešikmená pod úhlem  $45^{\circ}$
  - odečítá se po 15 minutách



# Nesrážlivá krev

- Krev, ve které zabráníme koagulačnímu systému v jeho funkci
- Možnosti
  - Vyvázáním  $\text{Ca}^{2+}$  iontů esenciálních pro koagulaci (chelatační antikoagulancia)
    - Citrát sodný
    - EDTA - kyselina ethylendiamintetraoctová
    - Oxalát sodný
  - Stimulací antikoagulačního systému
  - Aktivace antitrombinu III - heparin a jeho nízkomolekulární deriváty



# Fyziologické hodnoty sedimentační rychlosti

- Muži: 2-8 mm/h
  - Ženy: 7-12 mm/h
  - Novorozenci: 2 mm/h
  - Kojenci: 4-8 mm/h
- 
- Mezipohlavní rozdíly jsou způsobené různým počtem ery a odlišnostmi v koncentraci plazmatických proteinů

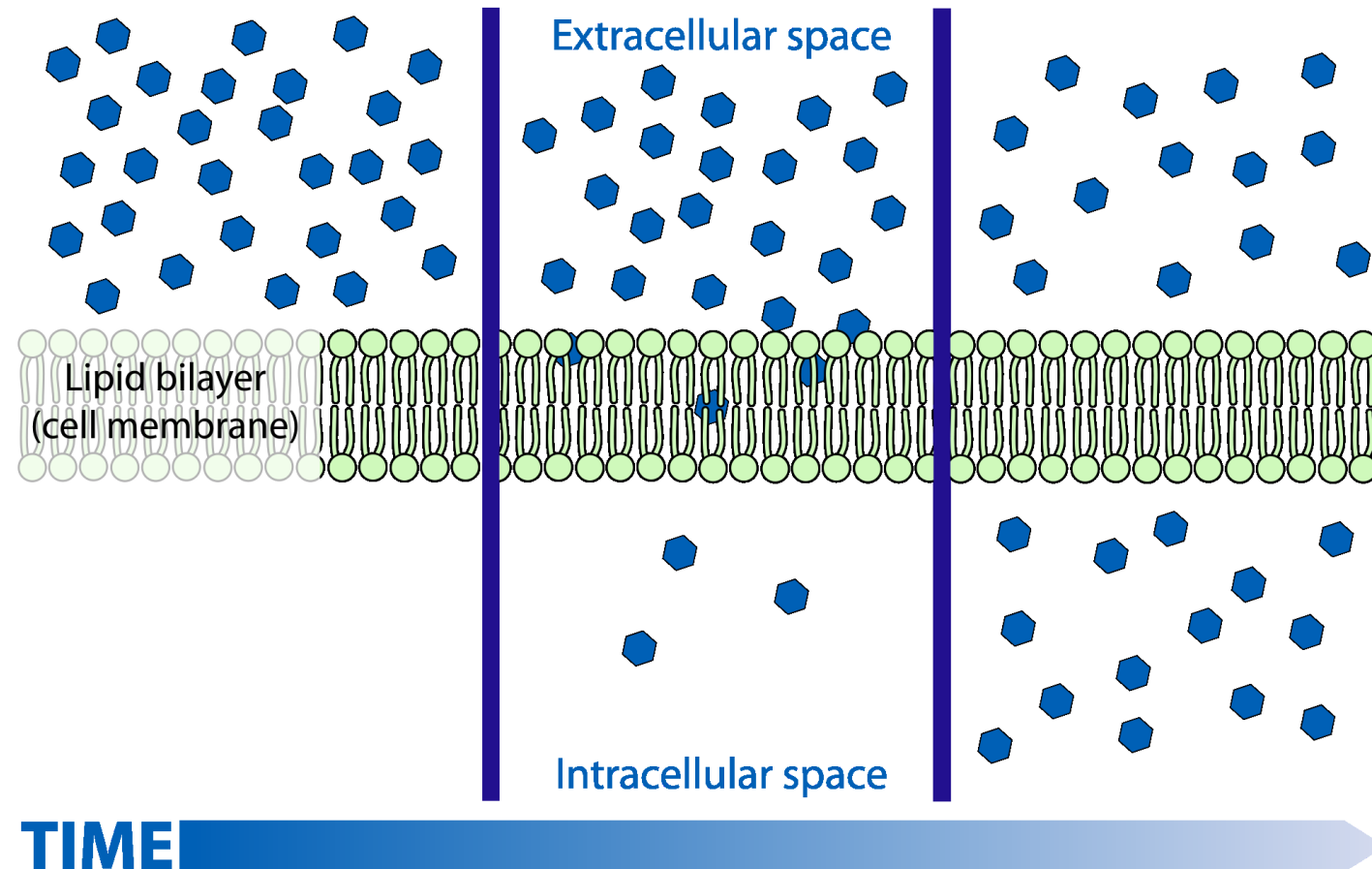


# Změněné hodnoty FW

- Zvýšené FW:
  - **Těhotenství, menstruace**
  - Makrocytémie
  - Infekce
  - Nádory
  - Záněty
  - Nekrózy tkání (infarkt, trauma)
  - Relativní/ absolutní ztráty albuminu (nefrotický syndrom)
- Snížené FW:
  - Nepravidelný tvar ery – sférocytóza
  - Polycytemia vera
  - Leukocytóza
  - Dysproteinémie – hypofibrinogémie, hypogamaglobulinémie
  - Dehydratace

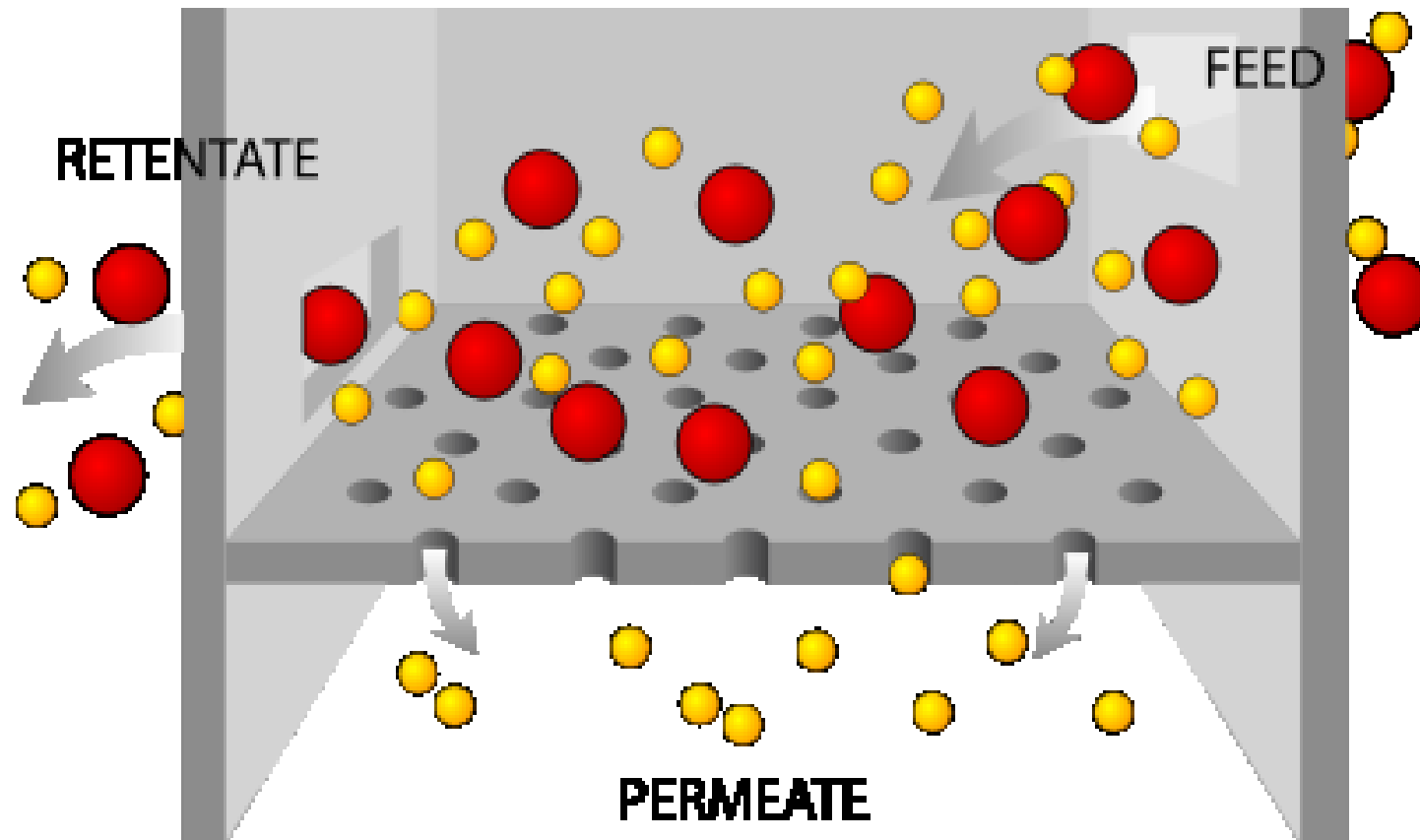
# Difuze

- Samovolný proces proudění částic po koncentračním gradientu



# Filtrace

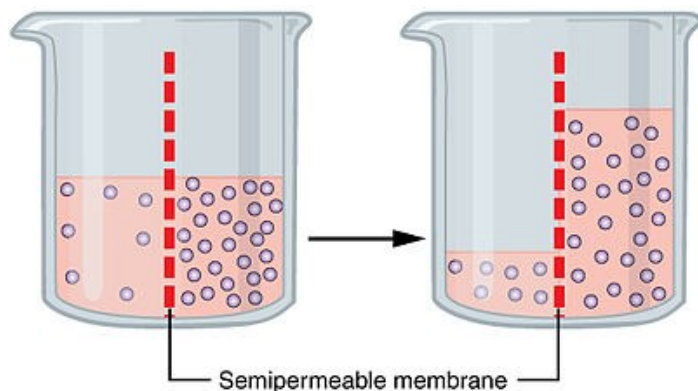
- Fyzikální separace rozpouštědla od „rozpuštěných“ částic přes membránu poháněná tlakovým gradientem



# Osmóza

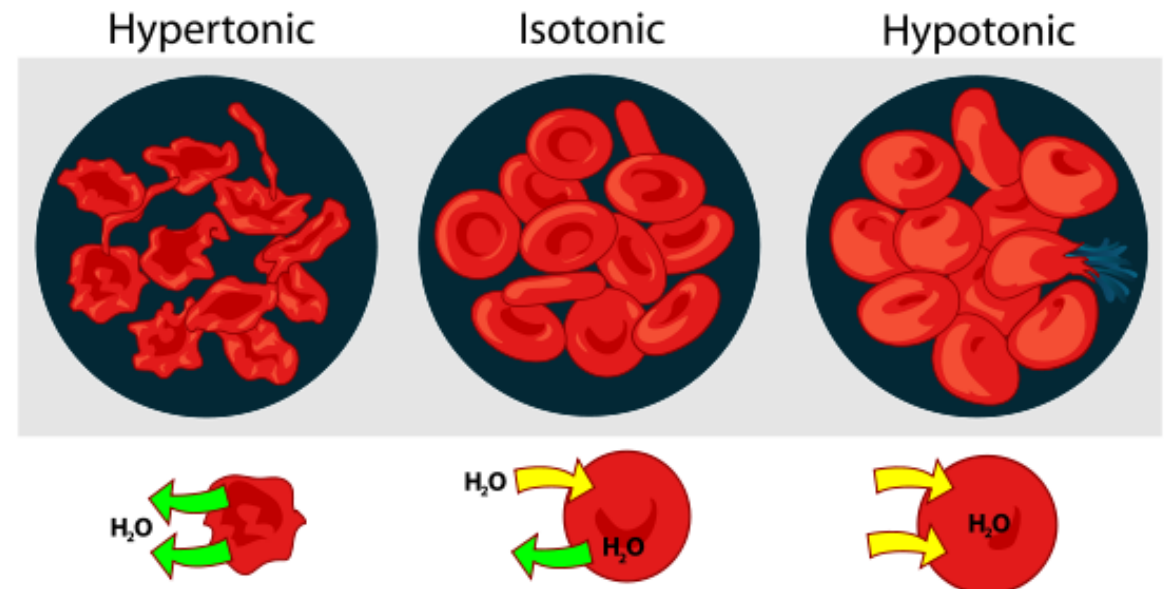
- proudění rozpouštědla přes semipermeabilní membránu po osmotickém gradientu
- **Osmotický tlak** – tlak potřebný k zastavení osmózy
- **Osmolarita** – udává koncentraci osmoticky aktivních částic na 1l roztoku
- **Osmolalita** – udává koncentraci osmoticky aktivních částic na 1 kg rozpouštědla
- Osmolalita plazmy (orientačně) =  $2 * [\text{Na}^+] + [\text{glc}] + [\text{urea}]$

$$= 275-295 \text{ mmol/kgH}_2\text{O}$$



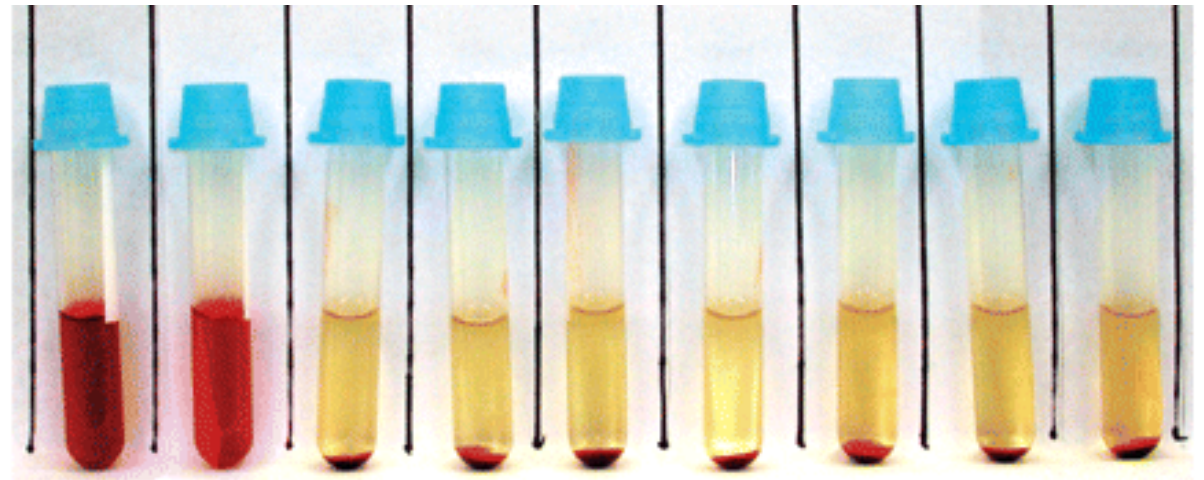
# Tonicita

- Udává osmolalitu roztoku ve vztahu k buňce
- **Hypotonické** prostředí
- **Isotonické** prostředí
  - 0,9% roztok NaCl = fyziologický roztok
- **Hypertonické** prostředí



# Hemolýza

- zánik červené krvinky porušením její membrány
- vede k vylití obsahu cytoplasmy erytrocytů
- mechanismy:
  - Fyzikální
  - Osmotická
  - Chemická
  - Imunologická
  - Toxická



# Osmotická rezistence

- testování rezistence ery vůči hypotonickému prostředí
- specifická metoda užívající se v diferenciální diagnostice hemolytických anémii
- **Minimální osmotická rezistence** – udává koncentraci hypotonického roztoku NaCl, při které dochází k hemolýze prvních ery – nad sedimentem pozorujeme růžové zakalení, zanikají nejméně odolné ery
  - 0,4-0,44%
- **Maximální osmotická rezistence** - udává koncentraci hypotonického roztoku NaCl, při které ještě nedochází k úplné hemolýze ery – poslední zkumavka obsahující sedimentované ery, ty nejvíce odolné
  - 0,3-0,33%
- **Osmotická rezistenční šíře** – rozdíl min. a max. osmotické rezistence
  - 10-14%

# Patologické hodnoty osmotické rezistence

- Vyšší hodnoty minimální osmotické rezistence
  - Vrozené hemolytické anémie
- Nižší hodnoty maximální osmotické rezistence
  - Polycytemia vera
  - Thalasemia
  - Srpková anemie
  - Nedostatek  $\text{Fe}^{2+}$
  - Stav po splenektomii



# Izotonická hemolýza

- *in vitro* podmínkách
- izotonický roztok glukózy: ery přijímají a metabolizují glc, roztok se stává hypotonický, dochází k osmotické hemolýze
- izotonický roztok močoviny: močovina volně prostupuje přes membránu do ery (difuzí po svém koncentračním gradientu) a okolní roztok se stává hypotonický

# Zdroje obrázků

- Slide 6 - <http://www.medipos.cz/odberove-nadoby-pomucky/pipeta-zkumcitrat-jednorazph-dispette.html> [cited 30.8.2015]
- Slide 7 - <http://www.chemicaland21.com/lifescience/foco/CALCIUM%20CITRATE.htm> + [https://cs.wikipedia.org/wiki/%C5%A0%C5%A5avelan\\_v%C3%A1penat%C3%BD#/media/File:Calcium\\_oxalate.png](https://cs.wikipedia.org/wiki/%C5%A0%C5%A5avelan_v%C3%A1penat%C3%BD#/media/File:Calcium_oxalate.png) + <https://cs.wikipedia.org/wiki/Heparin#/media/File:Heparin-2D-skeletal.png> [cited 30.8.2015]
- Slide 10 - [https://en.wikipedia.org/wiki/Passive\\_transport#/media/File:Scheme\\_simple\\_diffusion\\_in\\_cell\\_membrane-en.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Passive_transport#/media/File:Scheme_simple_diffusion_in_cell_membrane-en.svg) [cited 30.8.2015]
- Slide 11 - [https://en.wikipedia.org/wiki/Passive\\_transport#/media/File:Filtration\\_diagram.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Passive_transport#/media/File:Filtration_diagram.svg) [cited 30.8.2015]
- Slide 12 - [https://en.wikipedia.org/wiki/Osmosis#/media/File:0307\\_Osmosis.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Osmosis#/media/File:0307_Osmosis.jpg) [cited 30.8.2015]
- Slide 13 - [https://en.wikipedia.org/wiki/Passive\\_transport#/media/File:Osmotic\\_pressure\\_on\\_blood\\_cells\\_diagram.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Passive_transport#/media/File:Osmotic_pressure_on_blood_cells_diagram.svg) [cited 30.8.2015]
- Slide 14 - <http://labmed.ascpjournals.org/content/41/4/209/F2.expansion.html> [cited 30.8.2015]