

Krev

červený krevní obraz, krevní skupiny

Praktické cvičení z fyziologie (podzimní semestr: 4. – 6. týden)

Studijní materiály byly vytvořeny za podpory projektu MUNI/FR/1474/2018

Červený krevní obraz

Červená krvinka (erytrocyt, ery)

– bezjaderná buňka, hlavní část formované složky krve

– Tvar:

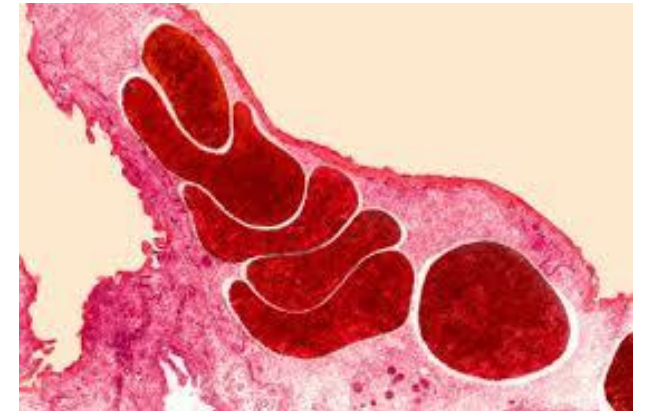
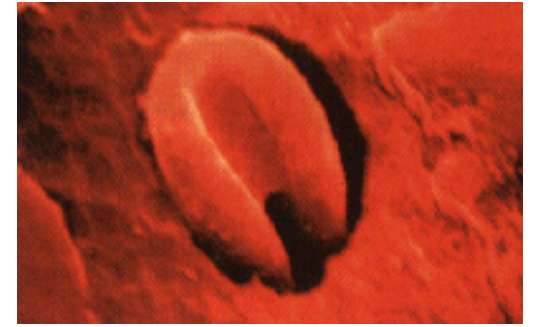
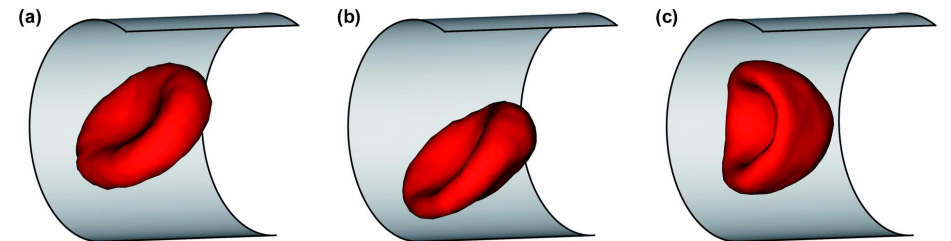
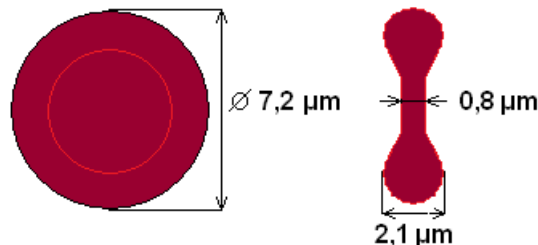
- bikonkávní disk - tvar zvětšuje povrch asi o 30%
- tvar zajišťuje protein spektrin
- **plasticita tvaru** důležitá pro vstup úzkými kapilárami

– Funkce:

- transport kyslíku (vázaného především na hemoglobin) do tkání
- účastní se na udržení acidobazické rovnováhy a transportu CO₂

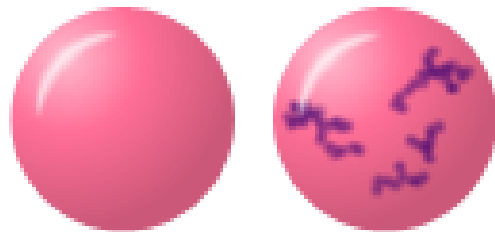
– Velikost:

- Normocyt: 7,5 μm
- Mikrocyt: ≤ 7 μm
- Makrocyt: ≥ 9 μm
- Megalocyt: ≥ 20 μm
- Tloušťka cca 2,5 μm na periferii a cca 1 μm ve středu disku

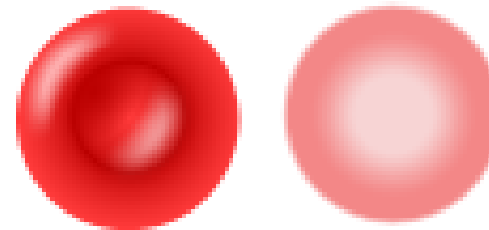


Retikulocyt

- Prekurzor erytrocytů, fyziologicky tvoří retikulocyty $1\% \pm 0,5\%$ všech červených krvinek v krvi
 - retikulocytóza: zvýšení podílu retikulocytů v periferní krvi, nastává po ztrátě krve nebo darování krve
- Již nemá jádro, ale v cytoplasmě nacházíme zbytky organel (substantia granulo-filamentosa)
- Do 48 h dozrává ve zralý erytrocyt



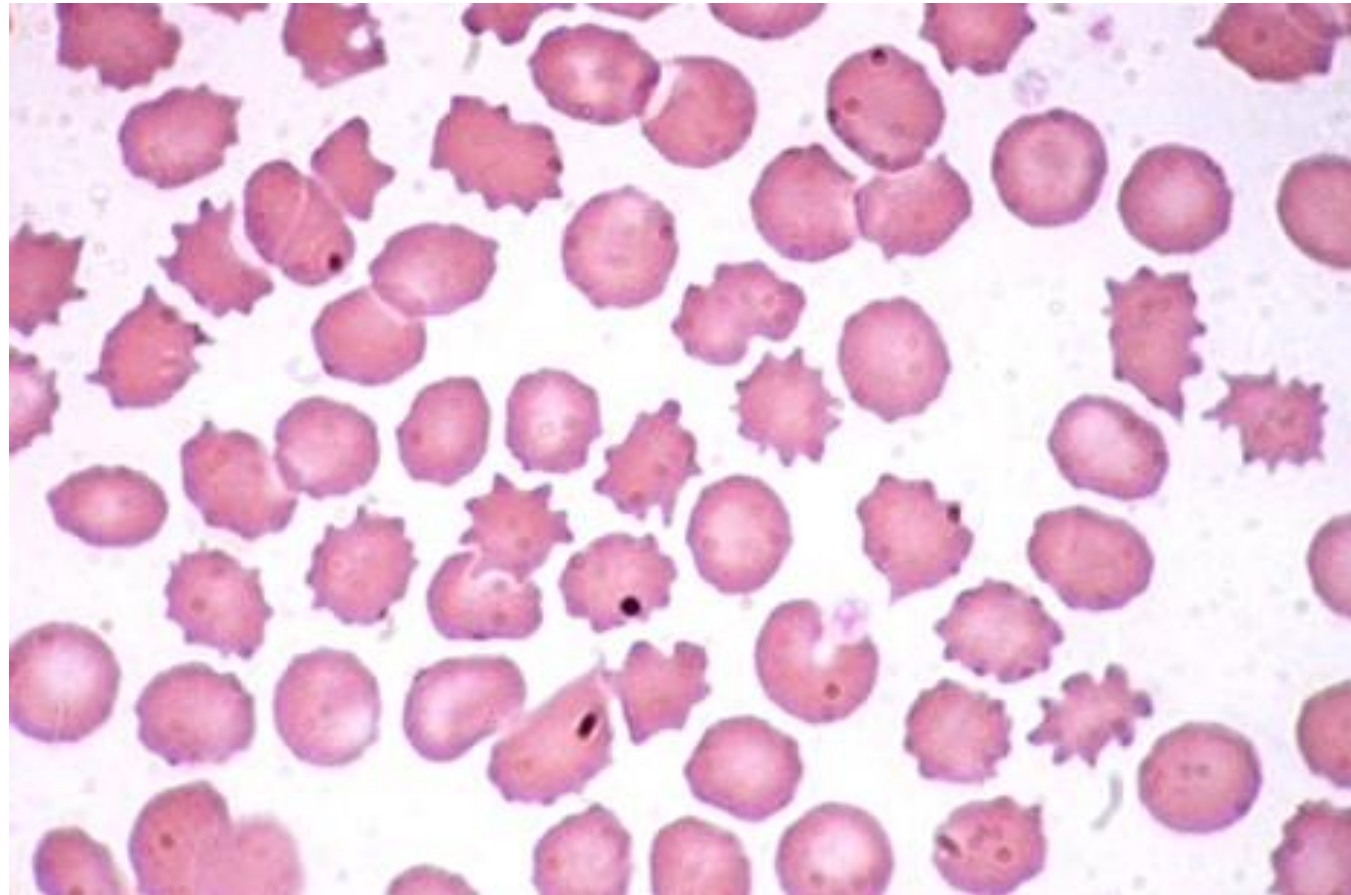
retikulocyt



zralý erytrocyt

Poikilocytosis: nepravidelné tvaru erytrocytů

Přítomná u různých typů anémii



Počet erytrocytů

– Počet ery - RBC (red blood count)

- Muž: $4,3-5,3 * 10^{12} / l$
- Žena: $3,8-4,8 * 10^{12} / l$
- Novorozenec: $4,4-7 * 10^{12} / l$

– Pohlavní rozdíly:

- U mužů: testosteron (mužský pohlavní hormon) stimuluje vyplavení erytropoetinu
- U žen ve fertilním věku: relativní erythrocytopenie způsobená pravidelnou ztrátou krve během menstruace (a nižší hladinou testosteronu)

– polyglobulie – zvýšený počet ery – zvýšená viskozita krve

- Polycytemie vera, dehydratace, adaptace na vyšší nadmořskou výšku

– erythrocytopenie – snížení počtu ery – nižší viskozita krve

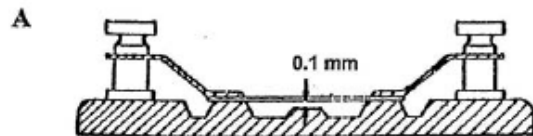
Stanovení počtu červených krvinek

– Automatické metody

- Impedanční – měříme na podkladě nárůstu odporu a poklesu proudu při průchodu kapilárou ze zásobní nádoby do menší nádoby. Ery má nižší vodivost než diluent. Umožňuje nám zjistit i velikost ery, malý = větší proud, velký = nižší proud.
- Fotooptická – při průchodu kapilárou na ery dopadá světelný paprsek, ery způsobí rozptyl světla, který zachycujeme

– Klasická metoda

- Bürkerova komůrka + Hayemův roztok, sloužící k ředění
- 4950 μ l Hayemova roztoku a 25 μ l krve: ředění *198, nebo 4975 μ l Hayemova roztoku a 25 μ l krve: ředění *199)



Hematokrit

– Vyjadřuje procentuální zastoupení objemu erytrocytů v plné krvi

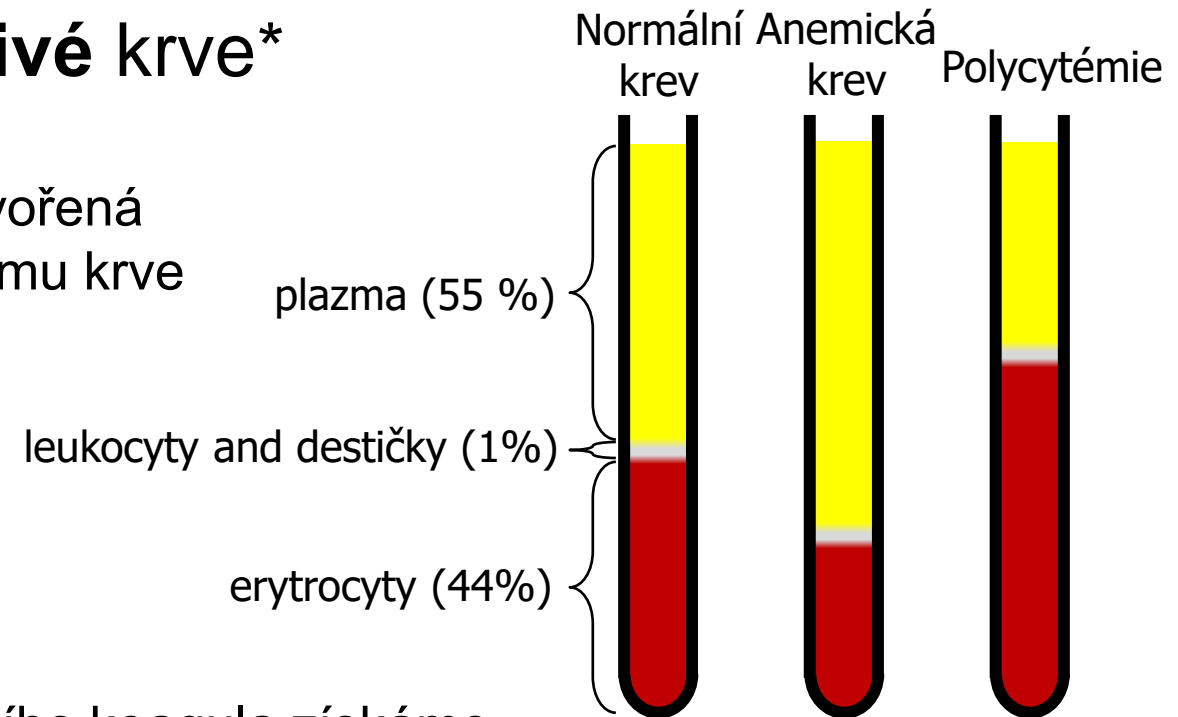
– Zjišťujeme po centrifugaci **nesrážlivé** krve*

- Plasma
- Buffy coat – bílá neprůhledná vrstva nad ery tvořená leukocyty a trombocyty – tvoří pouze 1% objemu krve
- Erytrocyty

– HCT (hematokrit)

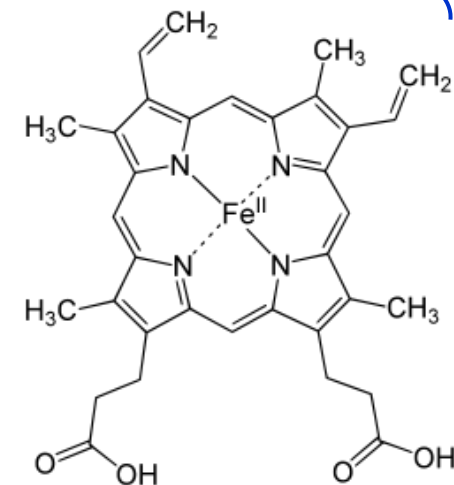
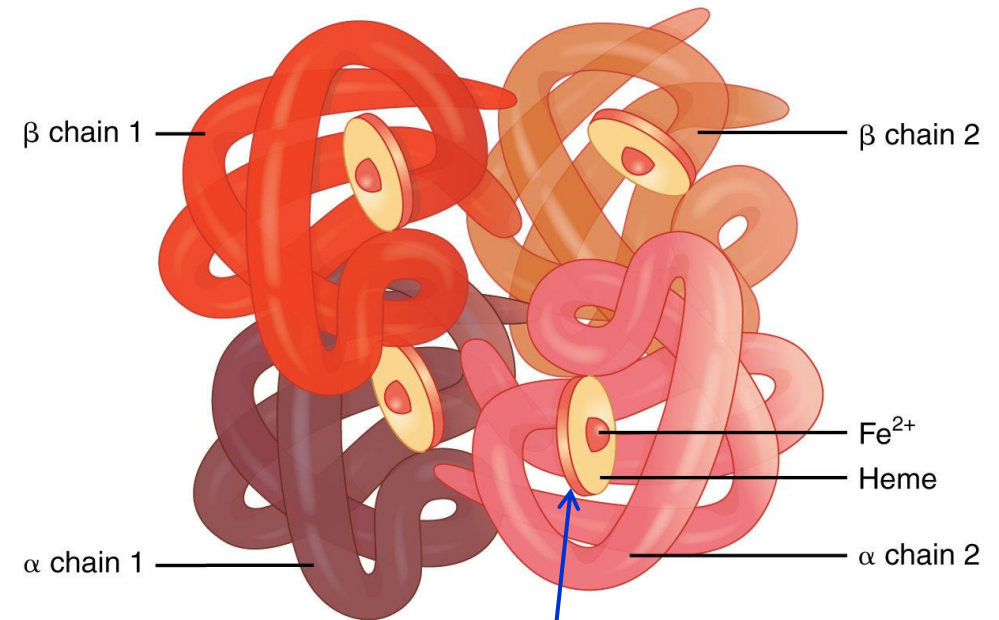
- Muž: 42-52%
- Žena: 37-47%

– *centrifugací srážlivé krve po odstranění krevního koagula získáme **krevní sérum** (od plazmy se liší chyběním koagulačních faktorů)







Hemoglobin (Hb)

- α a β globinové jednotky u dospělého
- α a γ globinové jednotky u fetálního (větší afinita ke kyslíku než mateřský hemoglobin)
- Hem obsahuje železo Fe^{2+} – místo vazby O_2
- HGB (koncentrace hemoglobinu)
 - Muž: 140-180 g/l
 - Žena: 120-160 g/l
 - Novorozenec: 160-240 g/l
- **Spektrofotometrické stanovení:**
Ke krvi přidáme transformační roztok, který způsobí lýzu erytrocytů a uvolnění hemoglobinu, který zároveň přemění na kyanhemoglobin. Stanovujeme absorbanci světla roztokem.



hem

Deriváty hemoglobinu

- **Oxyhemoglobin** (navázaný O_2) 
hemoglobin s navázaným O_2 (jasně světle červený)
- **Karboxyhemoglobin, karbonylhemoglobin** (navázaný CO) 
„karmínově“ červený, od 50% saturace CO nastává porucha vědomí
- **Karbaminohemoglobin** (navázaný CO_2) 
váže se na N konec řetězce na amino skupinu (temně červený), od 5% CO_2 ve vdechovaném vzduchu porucha vědomí – zhoršuje vazbu O_2 na hemoglobin
- **Methemoglobin, metHb** (oxidované železo, Fe^{3+}) 
neváže O_2 , tmavý „čokoládově“ hnědý, 1-3% jsou normální, 70 % smrtelné
- **Glykovaný hemoglobin** – na řetězec se váže glukóza – odráží dlouhodobou hladinu cukru v krvi (glykémii) – norma do 4 mmol/l, zvýšená u nekompenzovaného diabetu

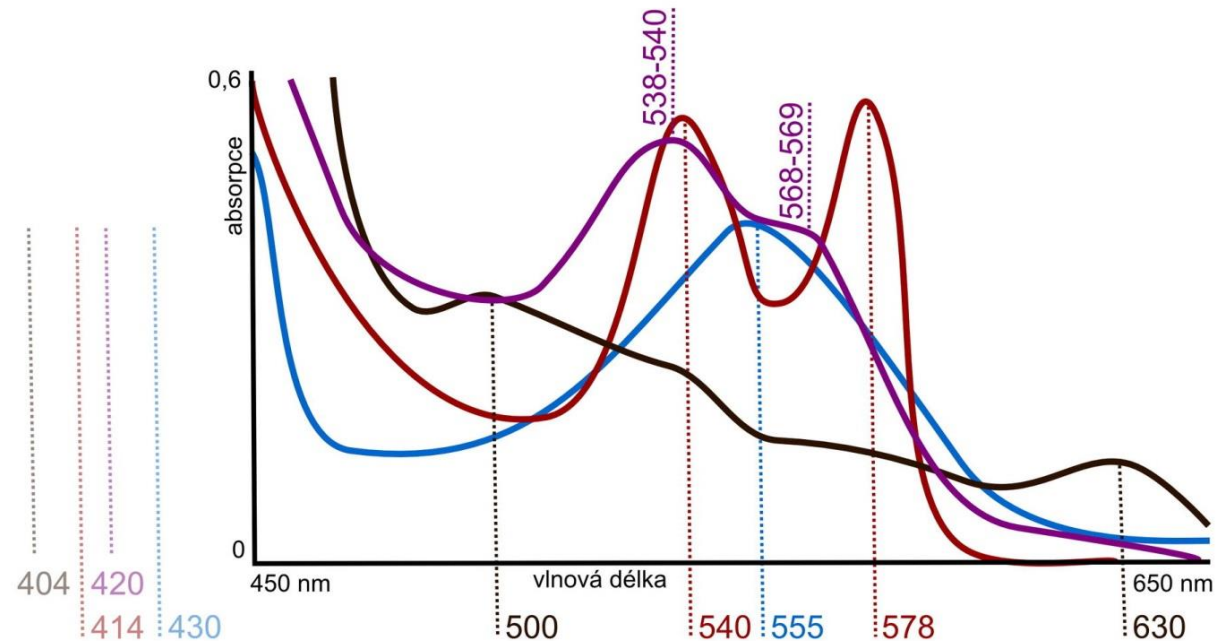
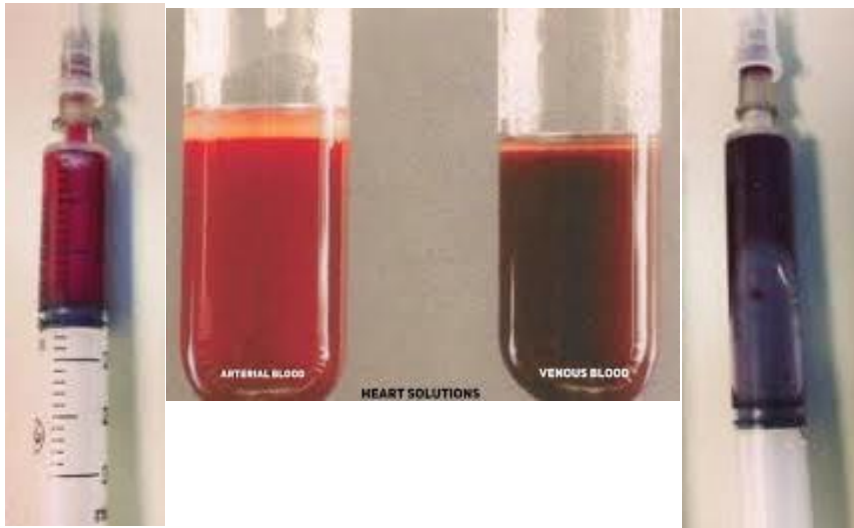
Deriváty hemoglobinu – oxy a deoxyhemoglobin

Spektra jednotlivých derivátů hemoglobinu

oxyhemoglobin deoxyhemoglobin (redukováný Hb) methemoglobin karboxyhemoglobin

arteriální
okysličená
krev

venózní
odkysličená
krev



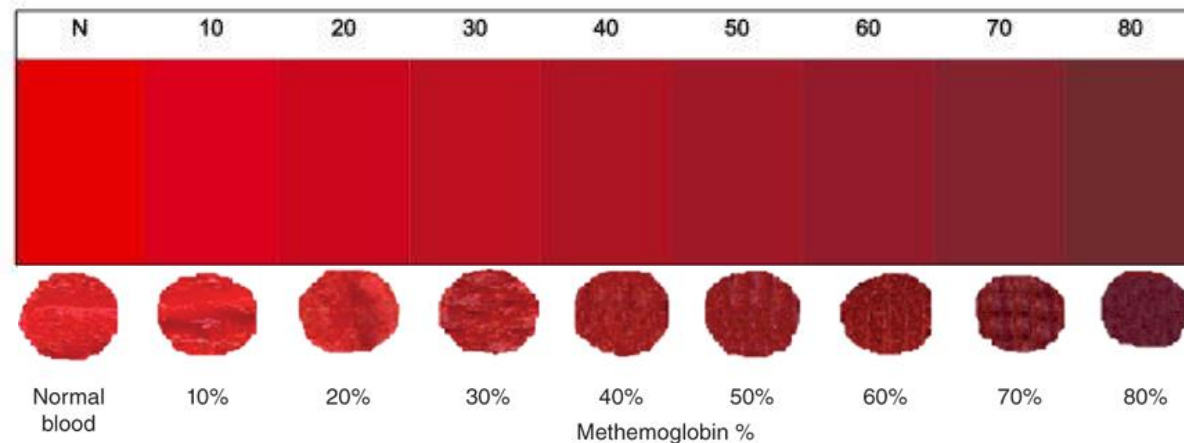
Překreslil Petr Menzel, 2011.

Spektrum oxyhemoglobinu a karboxyhemoglobinu je podobné na vlnové délce, která hodnotí saturaci hemoglobinu kyslíkem → hypoxie způsobená otravou CO se tímto způsobem nedá zjistit, pokud na to není senzor specializovaný

Deriváty hemoglobinu - methemoglobin

Při vysoké methemoglobinémii je arteriální krev tmavší

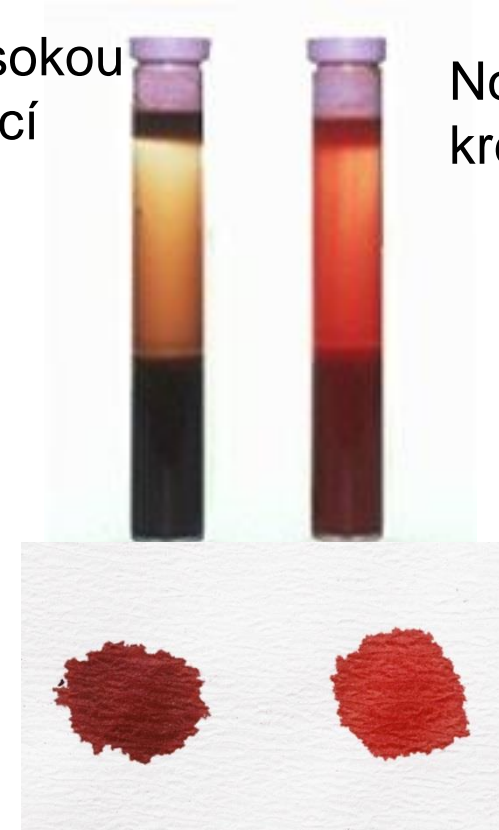
Barevné spektrum pro určení % methemoglobinu v krvi



Test se provádí s okysličenou krví – čím větší je koncentrace metHb, tím tmavší je krev

Krev s vysokou koncentrací metHb

Normální krev



Deriváty hemoglobinu - methemoglobin

- Vznik metHb – oxidace Hb dusitany
- v krvi přítomný enzym methemoglobinreduktáza - redukuje Fe^{+3} zpět na Fe^{2+}
 - Dále neenzymatická redukce pomocí vit. C
- Kojenci mají nedostatečně vyvinuté redukční mechanismy (+ fetální hemoglobin snáze oxiduje)
 - je nutný snížený příjem dusitanů v kojenecké stravě (používání kojenecké vody)
- Methemoglobinémie – vrozené i získané příčiny
- Vrozené – porucha tvorby redukčních enzymů
- Získané
 - zvýšený příjem dusičnanů a dusitanů (hnojiva)
 - otravy (nitrobenzen, anilin)
 - léky (benzokain, dále fenacetin, sulfonamidy)
- Terapie - podávání některých redukčních činidel
 - methylenové modři nebo kyseliny askorbové

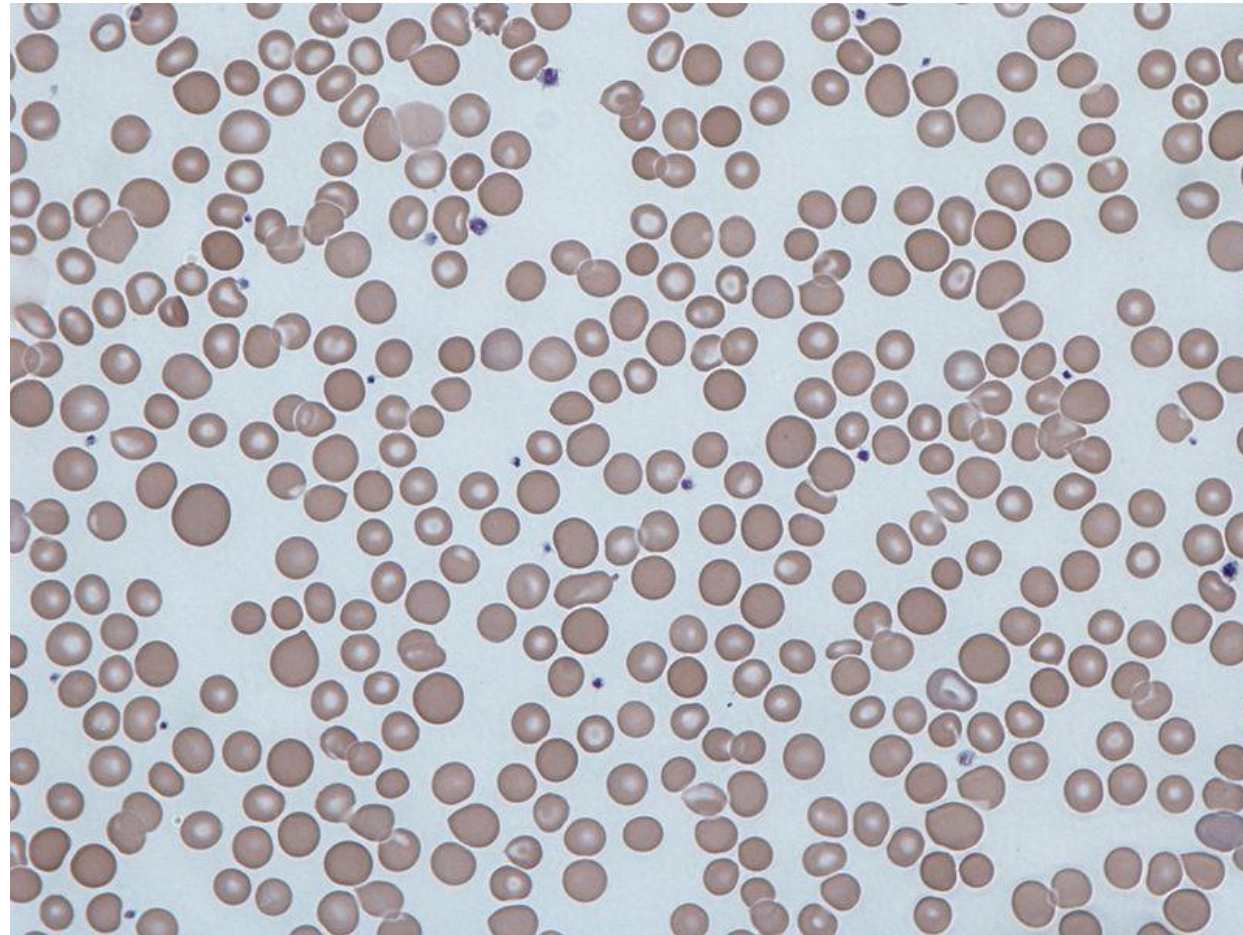
Hodnoty methemoglobinu	Příznaky
0 – 2 %	normální hodnota
< 10 %	cyanóza
< 35 %	cyanóza a další příznaky (bolest hlavy, dušnost)
70 %	smrtelná koncentrace

Vypočítané hodnoty červené složky

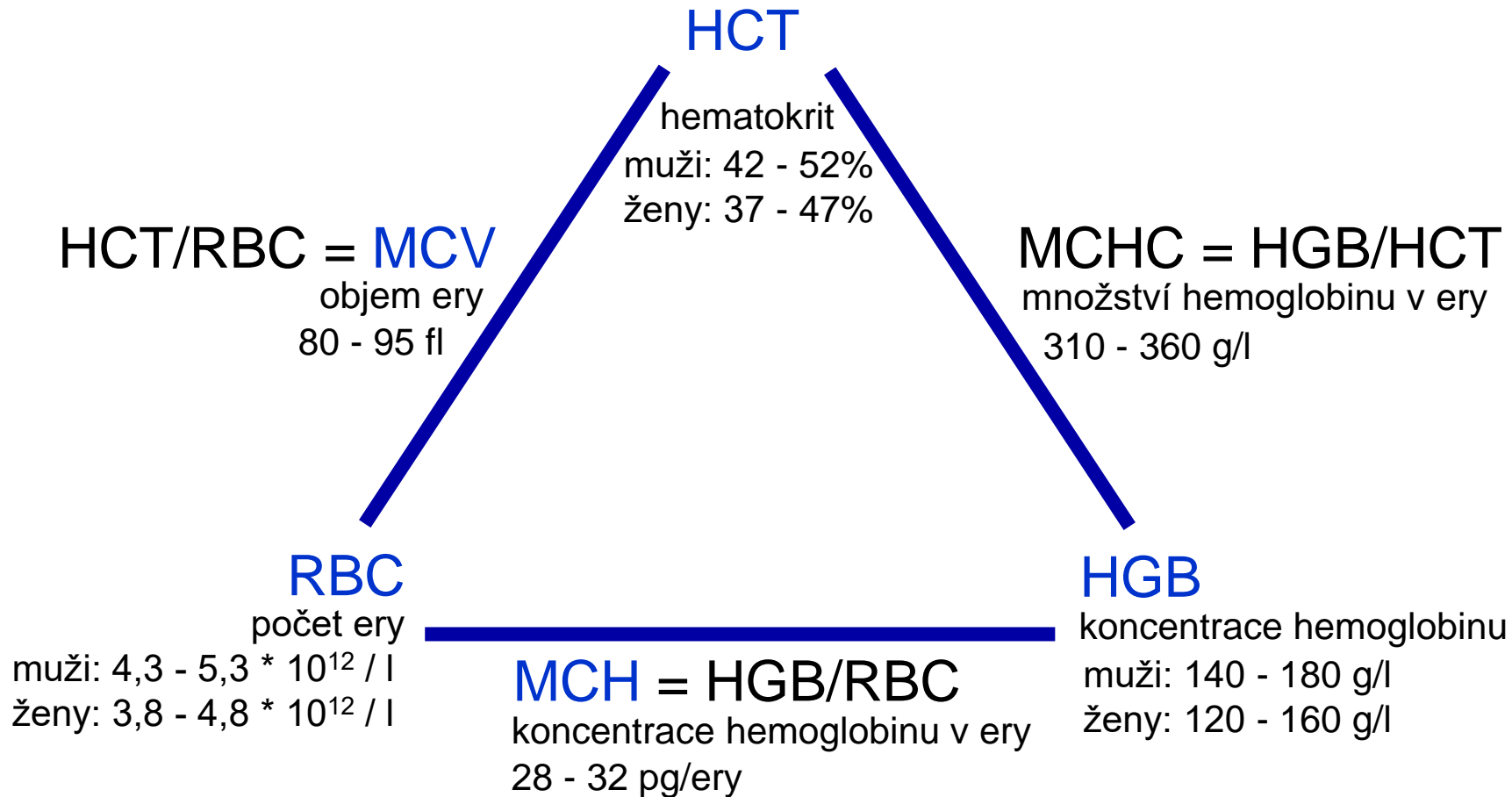
- Objem erytrocytu (MCV, mean corpuscular volume)
 - $MCV = HCT/RBC$ (hematokrit/ red blood count) = 80-95 fl
- Množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH, mean corpuscular hemoglobin)
 - $MCH = HGB/RBC$ (hemoglobin/ red blood count) = 28-32 pg
- Koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration)
 - $MCHC = HGB/HCT$ (hemoglobin/ hematokrit) = 310-360 g/l
- Distribuční šíře ery (RDW) = 11,5-14,5%
 - Informuje o variabilitě ve velikosti erytrocytů
 - ↑RDW – anizocytóza

Anisocytosis: erythrocyty rozdílné velikosti

Mírná anisocytóza je fyziologická



Vypočítané hodnoty červené složky



↑MCV → makrocytémie
↓MCV → mikrocytémie

↑MCH → hyperchromní ery
↓MCH → hypochromní ery

Anémie (chudokrevnost)

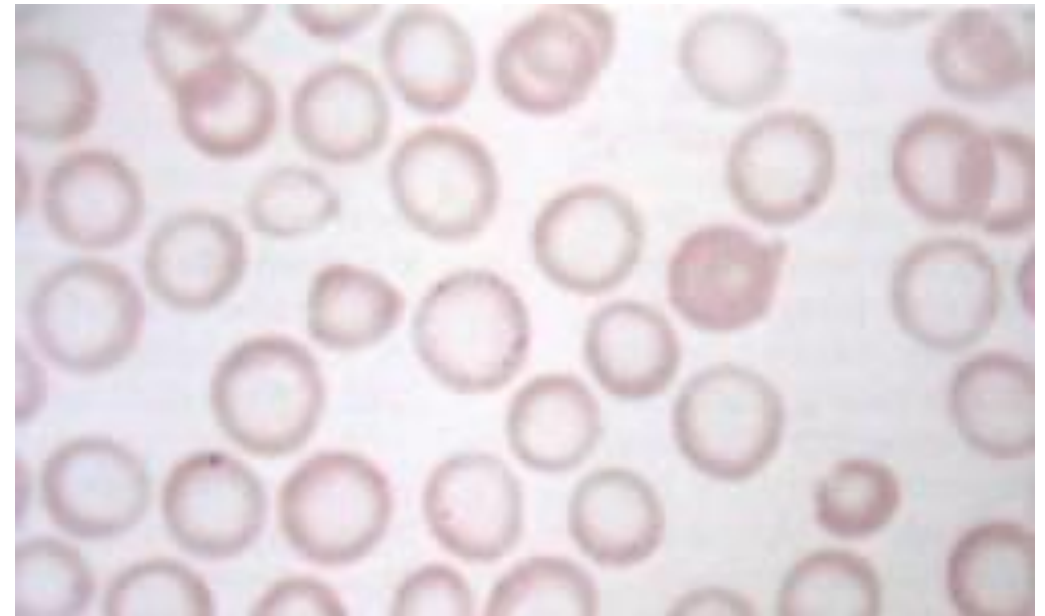
= nedostatek funkčního hemoglobinu v krvi

- Málo ery a/nebo nízký hematokrit a/nebo nefunkční hemoglobin
- Porucha tvorby ery (proliferace, diferenciace), zvýšená destrukce ery, nebo krevní ztráty
- Krvinky patří mezi nejrychleji se množící buňky v těle, a proto v krvi nejrychleji pozorujeme změny při poruše nutriční.
Anémie může mít různé příčiny (získané i vrozené), zde jich uvedeme jen několik.
- **Projevy (anemický syndrom):**
 - Tkáňová hypoxie: Bledost (pozorovatelné na konjunktivě), únava, slabost
 - Tachykardie
 - Zadýchání se při námaze



Sideropenická anémie:

- Způsobená nedostatkem Fe^{2+} → nedostatečná tvorba hemoglobinu → hypoxie tkání stimuluje tvorbu erytropoetinu → zvýšená tvorba erytrocytů s nedostatečným množstvím hemoglobinu
- **Mikrocytární hypochromní anémie**
 - ↓MCV a ↓MCH, RBC vyšší nebo nezměněn
- Erytrocyty jsou malé, světlé, hemoglobin je jen na krajích ery

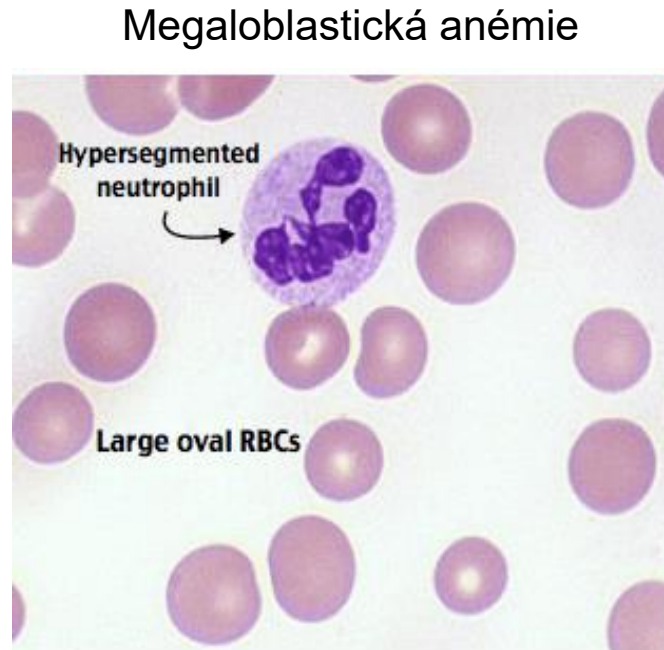
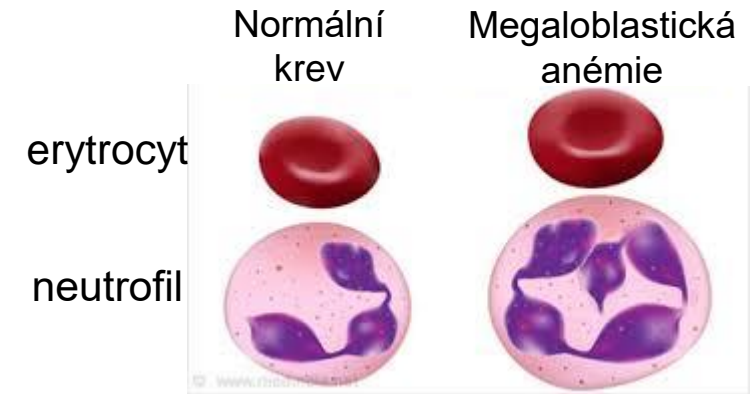
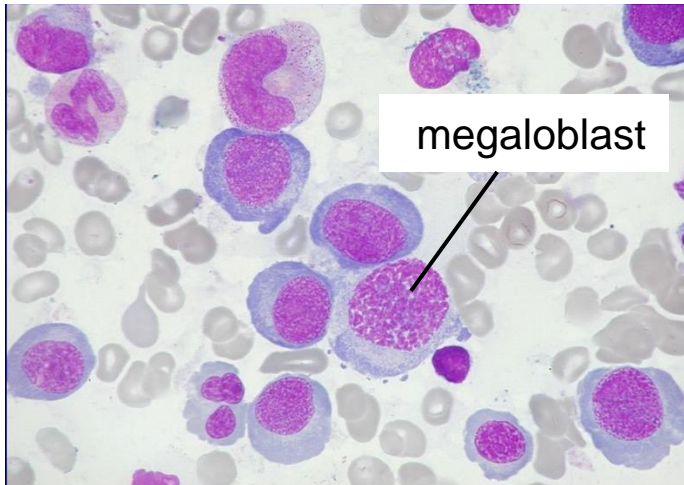


Megaloblastická anémie

- Přítomnost megaloblastů (nadměrně velkých nezralých erytrocytů) v kostní dřeni a snížený počet retikulocytů v periferní krvi
- **Makrocytární hyperchromní anémie** (\uparrow MCV, \uparrow MCH, \downarrow RBC)
 - Malý počet velkých erytrocytů se zvýšeným obsahem hemoglobinu
 - Vzniká v důsledku nedostatku vitamínů B12 a kys. listové - důležité pro metylaci uracilu na tymin
 - \downarrow B12 a kys. listová \rightarrow \downarrow tvorba DNA, zatímco syntéza RNA a bílkovin je neporušena
 - Zásoba B12 – roky; kys. listové – měsíce \rightarrow projevy hypovitaminózy se zpožděním
- **Perniciózní anémie - nejčastější typ megaloblastické anémie**
 - Autoimunitní onemocnění narušující vstřebávání B12
 - Autoimunitně poškozené parietální buňky žaludeční sliznice tvoří vnitřní faktor, který je nezbytný pro vstřebání B12 (porucha tvorby faktoru může být i důsledek operace žaludku)

Megaloblastická anémie

Přítomnost nadměrně velkých nezralých erytrocytů (megaloblastů) v kostní dřeni



Ery jsou větší, hyperchromní, nemají tak výrazný světlý střed jako normální ery a je jich málo (+přítomnost hypersegmentovaných neutrofilů)

Krevní skupiny

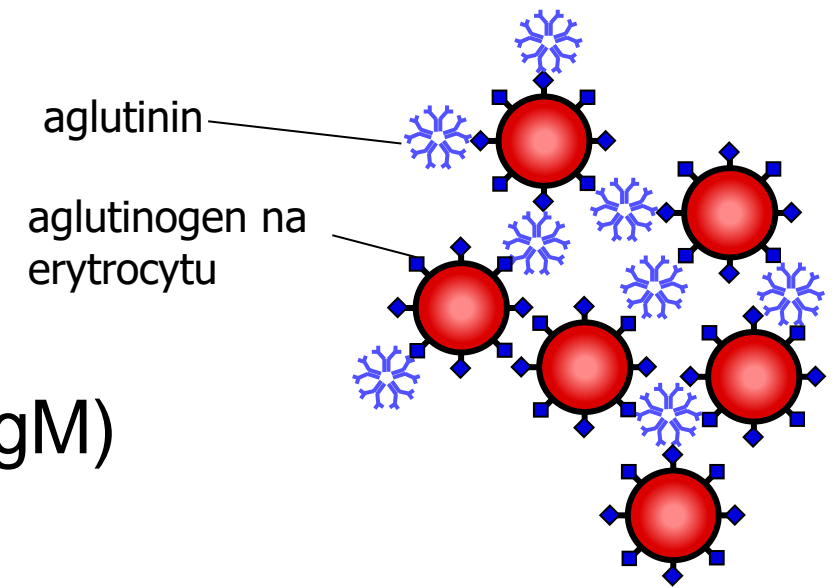
Antigeny a protilátky krevních skupin

- Krevní skupiny se určují podle antigenů na membráně erytrocytu
 - Tyto krevní znaky se dědí a jsou neměnné během celého života
 - *Lehký úvod do obecných principů imunizace*
 - *Antigen je „rozpoznávací značka“, podle které imunitní systém určí, zda se jedná o buňku vlastní či cizí*
 - *Pokud se imunitní systém poprvé setká s cizorodým erytrocytem v krvi, začne si vytvářet protilátky proti cizím antigenům na erytrocytu (ale ne proti těm antigenům, které jsou stejné, jako ty na vlastních ery).* Cizí antigen si zapamatuje a při dalším setkání protilátky vytvoří rychleji.
 - *Pokud jsou v krvi protilátky proti určité krevní skupině, erytrocyt této krevní skupiny spustí imunitní reakci → destrukce cizorodé krvinky (hemolýza)*
- **Nejdůležitější krevní skupiny jsou AB0 a Rh**
 - Protilátky AB0 systému jsou v krvi od prvních měsíců života
 - Protilátky proti Rh faktoru a jiným skupinám s tvoří až po imunizaci nekompatibilní krví - nežádoucí imunitní odpověď při opakovaných transfuzích ne plně kompatibilní krve
 - Existují desítky dalších systémů, na které je potřeba brát ohled z imunologického hlediska (systémy MNS, Kell, Lewis, Kidd,...)

System AB0

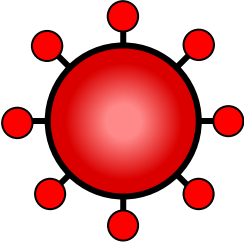
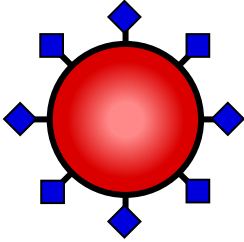
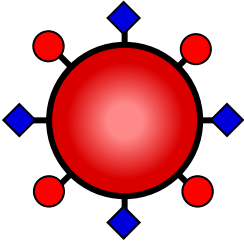
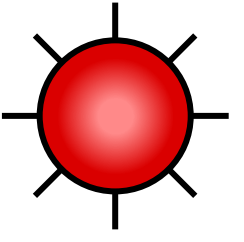






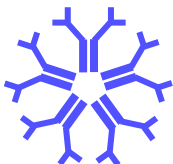

- Antigen na povrchu ery (aglutinogen): A, B
- Protilátka v krvi (aglutinin): anti-A, anti-B (IgM)
 - Neprochází placentou
- Aglutinace (shlukování):
 - anti-A reaguje s A, anti-B reaguje s B
 - Erythrocyty jsou pospojované aglutinogeny – vytváří se shluky
 - Spustí se imunitní odpověď (aktivace komplementu), která zničí cizí erythrocyty (hemolyzuje)
- imunizace proti A a B je v průběhu prvních měsíců života (tyto antigeny jsou přítomné ve stravě) – aglutininy pak jsou přítomné v krvi po zbytek života

- Při podání nekompatibilní krve – silná aktivace imunitního systému, hemolýza, anémie, hemoglobinurie (hemoglobin v moči), selhání ledvin, ...smrt



System AB0

- Antigen na povrchu erytrocytu (aglutinogen): A, B
- Protilátka v krvi (aglutinin): anti-A, anti-B (IgM)

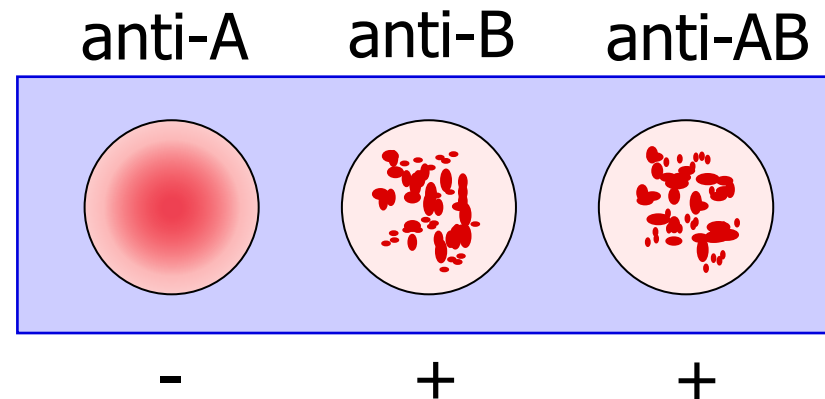
Krevní skupiny	Skupina A	Skupina B	Skupina AB	Skupina 0
Zastoupení v ČR	41%	18%	9%	32%
Erytrocyty				
Antigeny na erytrocytech	A 	B 	A a B  	žádné
Protilátky v krvi	anti-B 	anti-A 	žádné	anti-A a anti-B  

Rh faktor

- Antigeny D, d (také C,c, E, e, které jsou slabší) - přítomné jen na erytrocytech
 - Nejsilnější je D – je-li přítomno → krevní skupina Rh+
 - V případě recesivních homozygotů (dd) → krevní skupina Rh- (17% v Evropě, jinde <1%)
- u Rh- krve vznikají protilátky (anti-D, IgG) až po imunizaci
 - Krev Rh- se musí setkat s krví Rh+
 - První reakce je slabší, další setkání s Rh+ vyvolá silnější imunitní odpověď → hemolýza
- Možnosti imunizace:
 - Transfuze nekompatibilní krve – Rh- příjemce dostane Rh+ krev
 - Porod (potrat, interrupce, krvácení z placenty, invazivní zákroky), kde matka je Rh- a plod Rh+
 - Imunizace se projeví až během dalších těhotenství této kombinace – IgG protilátky procházejí přes placentu a napadají krev plodu → hemolýza krve → anémie → zvýšená krevetvorba → **fetální erythroblastóza** (více erythroblastů - nezralých ery)
 - nekonjugovaná hyperbilirubinemie (ikterus), anémie, hydrops (otok tkání kvůli hypoxii), smrt
 - Prevence – po porodu (či jiné události) podání anti-D – zajistí Rh- ery dřív, než si jich všimne imunitní systém matky

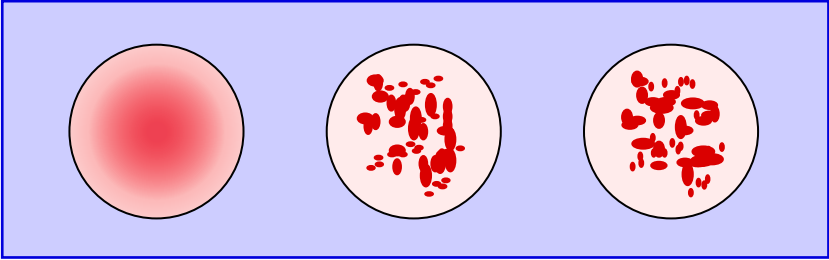
Určení krevních skupin sklíčkovou metodou

- Na podložní sklíčko kápneme protilátky anti-A, anti-B a kombinaci anti-A a anti-B
 - Nebo se použijí séra krevních skupin A (obsahuje anti-B), B (anti-A) a 0 (anti-A, anti-B) – sérum je krevní plazma bez koagulačních faktorů, obsahuje příslušné aglutininy
- protilátky smícháme s kapkou krve (séra mezi sebou se nesmí promíchat)
- Pozitivní výsledek je v séru, kde došlo k aglutinaci (shlukování)

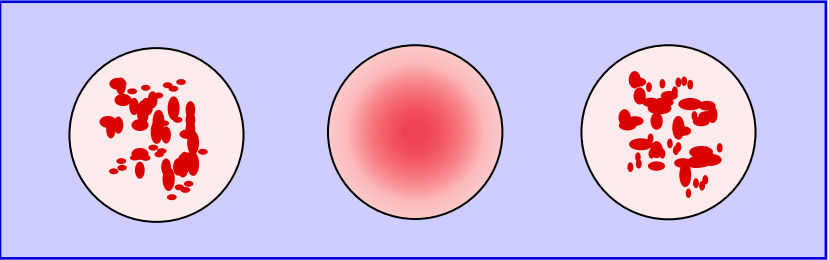


Přiřadte krevní skupiny k výsledkům testu

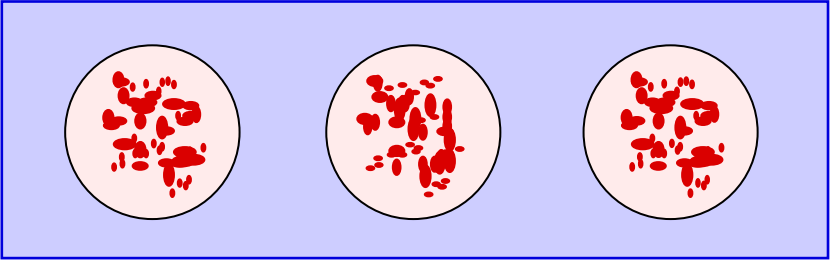
1 anti-A anti-B anti-AB



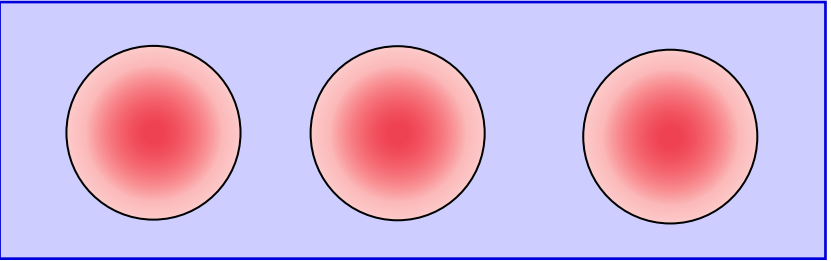
2 anti-A anti-B anti-AB



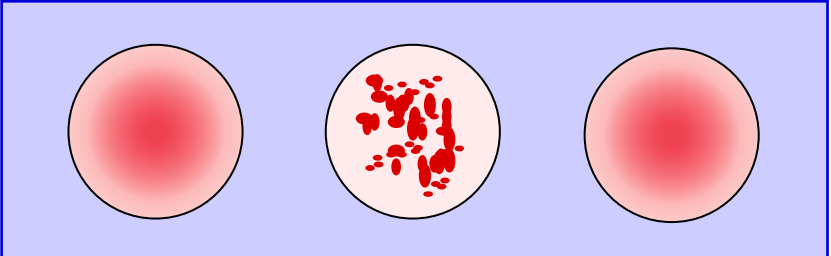
3 anti-A anti-B anti-AB



4 anti-A anti-B anti-AB



5 anti-A anti-B anti-AB



Detailed description: The image displays five numbered test panels (1-5) for blood typing. Each panel contains three circular wells labeled 'anti-A', 'anti-B', and 'anti-AB'. The results are as follows: Panel 1: anti-A (no agglutination), anti-B (agglutination), anti-AB (agglutination). Panel 2: anti-A (agglutination), anti-B (no agglutination), anti-AB (agglutination). Panel 3: anti-A (agglutination), anti-B (agglutination), anti-AB (agglutination). Panel 4: anti-A (no agglutination), anti-B (no agglutination), anti-AB (no agglutination). Panel 5: anti-A (no agglutination), anti-B (agglutination), anti-AB (no agglutination).

Výsledky sklíčkové metody

