MUNI
MED

Krev

sedimentace, osmotická rezistence

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

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

MUNI
MED

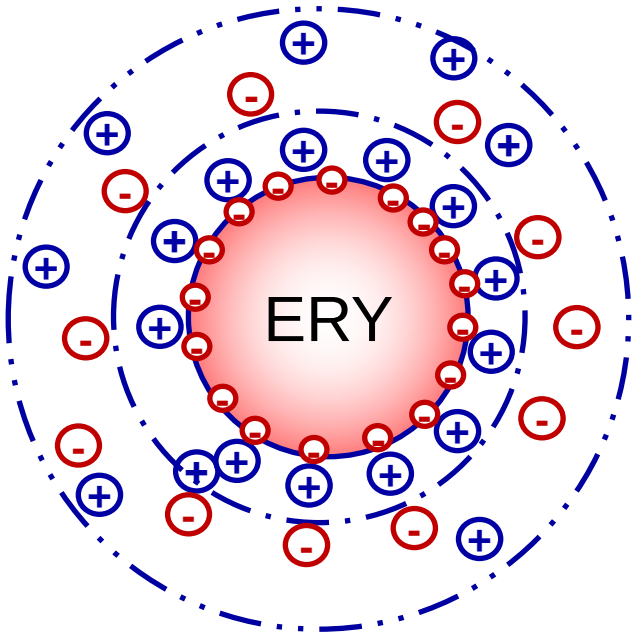
Sedimentace erytrocytů

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**

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 nabité ionty (především Na+) – tvoří 1. vrstvu iontů
- ke kladně nabité vrstvě jsou přitahovány záporně nabité 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**)



MUNI MED

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

- Sedimentace závisí na vlastnostech erytrocytů a složení plazmy

Vliv na rychlost sedimentace	↑ hodnota	↓ hodnota
Erytrocyty		
Počet ery	zpomaluje	zrychluje
Velikost ery	zrychluje	zpomaluje
Plazma		
Albumin	zpomaluje	zrychluje
Imunoglobuliny	zrychluje	zpomaluje
Fibrinogen	zrychluje	zpomaluje
Tuk	zrychluje	zpomaluje

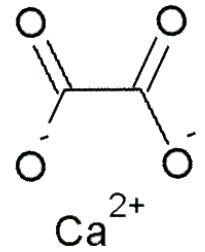
- Albumin má záporný náboj – udržuje suspenzní stabilitu
- Ig a fibrinogen narušují náboj ery – urychlují penízkovatění
- Před odběrem krve na sedimentaci by se neměla jíst tučná jídla
- Sedimentace ovlivněna taky tvarem ery (sférocytóza, srpkovitá anémie)
- S věkem se sedimentace zrychluje

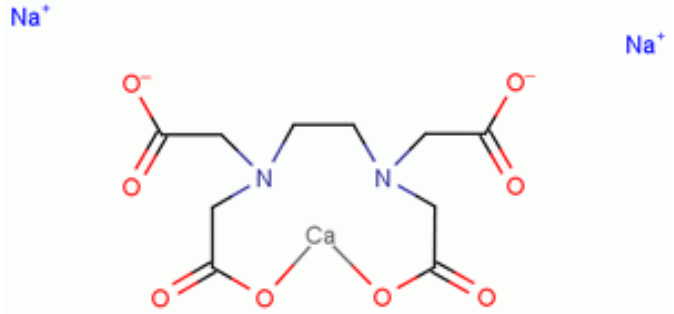
MUNI MED

Metody vyšetření sedimentační rychlosti

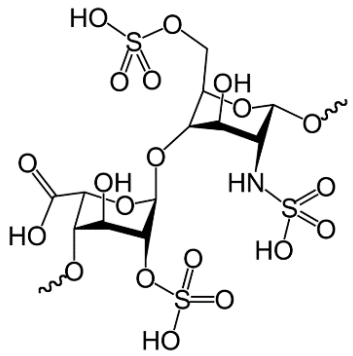
- dle Fahraeus-Westergrena (FW, přímá metoda):
  - kapilára postavená kolmo
  - odečítá se po 1 hodině
- dle Wintroba (šikmá sedimentace):
  - kapilára sešikmená pod úhlem 45°
  - odečítá se po 15 minutách

Nesrážlivá krev





- Krev, ve které zabráníme koagulačnímu systému v jeho funkci
- Možnosti
  - Vyvázáním 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
      (Antitrombin III inaktivuje trombin a některé další koagulační faktory, heparin účinek antitrombinu III zesiluje)



MUNI MED

Fyziologické hodnoty

- Muži: 2-8 mm/h
- Ženy: 7-12 mm/h
- Novorozenci: 2 mm/h
- Kojenci: 4-8 mm/h

- Ženy mají méně ery a více fibrinogenu → rychlejší sedimentace
- S věkem se sedimentace zrychluje

Změněné hodnoty FW

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

Ženy mají méně ery a více fibrinogenu → rychlejší sedimentace
S věkem se sedimentace zrychluje

MUNI MED

Krve v praktickém cvičení

- Plná lidská krev
  - Ery v plazmě (normální hematokrit) – sedimentace by měla být fyziologická
- Lidské erytrocyty + fyziologický roztok
  - Sedimentace bude pomalá – nejsou přítomné plazmatické bílkoviny
- Anemická krev
  - Ery v plazmě (nízký hematokrit) – sedimentace by měla být rychlejší
- Hovězí krev
  - Větší počet ery, menší ery – velmi pomalá sedimentace
- Koňská krev
  - Velké ery, více plazmatických bílkovin – rychlá sedimentace
- Koňské erytrocyty + fyziologický roztok
  - Koňské ery ve fyziologickém roztoku sedimentují pomaleji než v plné koňské krvi

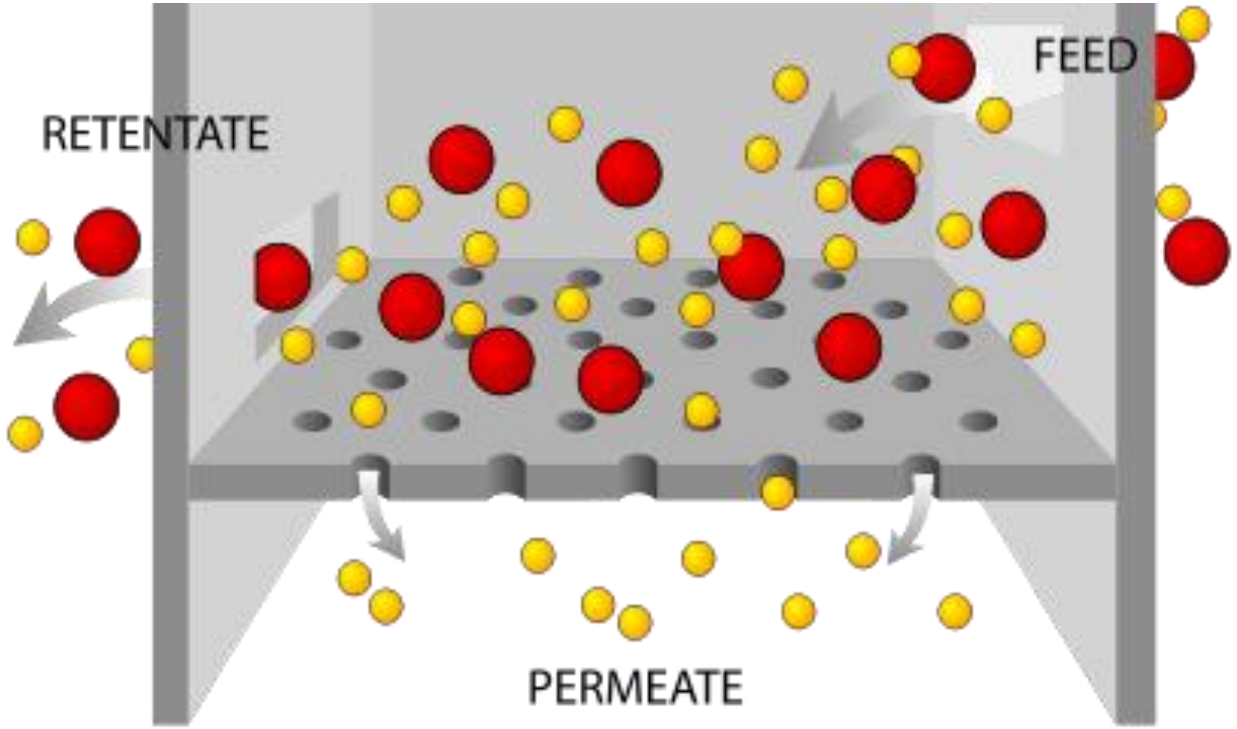
MUNI MED

MUNI
MED

Osmotická rezistence erytrocytů

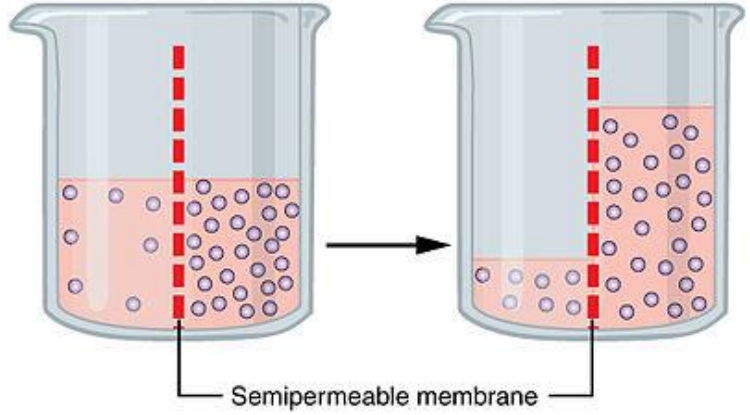
Filtrace

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



MUNI MED

Osmóza



- Proudění rozpouštědla přes semipermeabilní membránu po osmotickém gradientu

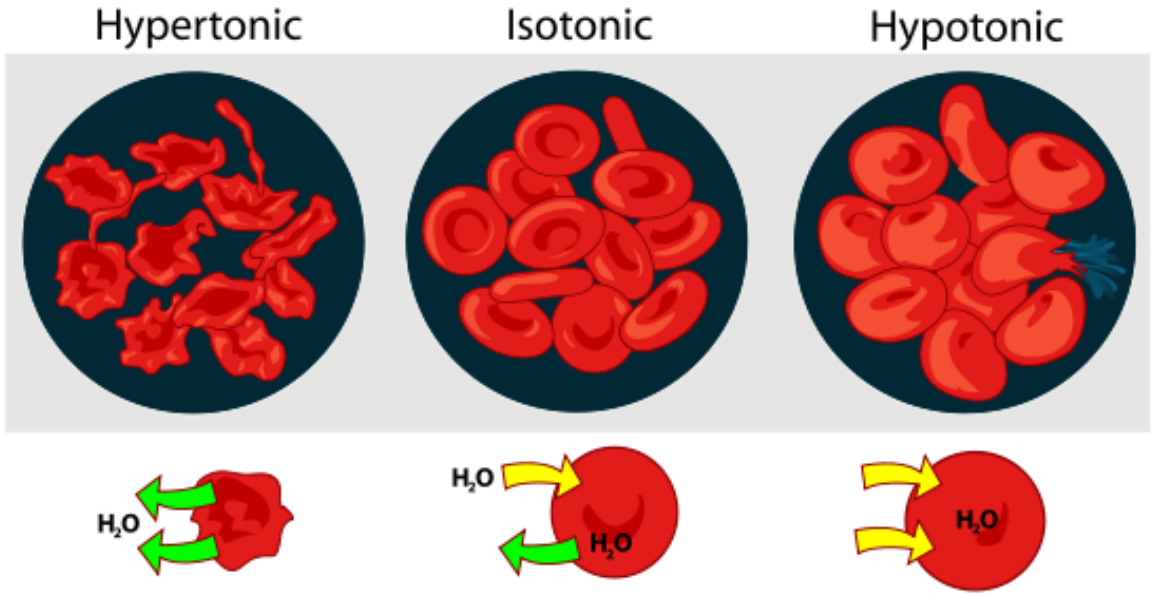
- Osmotický tlak – tlak potřebný k zastavení osmózy
- Osmolarita – udává koncentraci osmoticky aktivních částic na 1l roztoku
- Osmolalita – udává koncentraci osmoticky aktivních částic na 1 kg rozpouštědla

Osmolalita plazmy (orientačně) = 2*[Na+] + [glc] + [urea] = 275-295 mmol/kgH_2O

MUNI MED

Tonicita

- Udává osmolalitu roztoku ve vztahu k buňce
  - Hypotonické prostředí – roztok má nižší osmolalitu – voda jde do buňky
  - Isotonické prostředí – stejná osmolalita roztoku - fyziologický roztok (0,9% roztok NaCl)
  - Hypertonické prostředí – roztok má vyšší osmolalitu – voda jde z buňky



MUNI MED

Hemolýza

- Zánik červené krvinky porušením její membrány – vede k vylití obsahu cytoplasmy erytrocytů
  - Staré fragilní ery jsou zachytány a zpracovány v červené pulpě sleziny
  - Při hemolýze v oběhu je hemoglobin navázán na haptoglobin, který zabrání filtraci hemoglobinu ledvinami
  - Při nadměrné intravasální hemolýze haptoglobin nestačí a dochází k filtraci hemoglobinu ledvinami a jeho ztrátě močí (hemoglobinurie), ztrátě železa, ucpávání tubulů a poškození ledvin (hemoglobinurická nefróza)
- Hemolyzovaná krev –plazma je obarvena hemoglobinem

Sedimentovaná krev s různými stupni hemolýzy

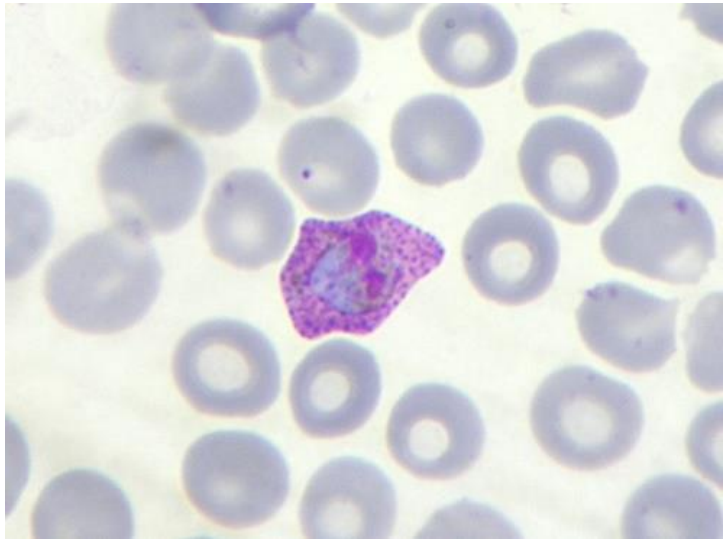
Moč s různými stupni hemoglobinurie

MUNI MED

Typy hemolýz

- Fyzikální
  - Mechanické poškození membrány, třepání, ultrazvuk, extrémní změny teplot, UV záření
- Osmotická
  - Ery v hypotonickém roztoku nasává vodu a praská
- Chemická
  - Chemická reakce lipidů v membráně s chemickou látkou – silné kyseliny a zásady, tuková rozpouštědla, povrchově aktivní látky (detergenty)
- Toxická
  - Bakteriální toxiny, jedy (rostlinné, hadí, hmyzí, pavoučí,…), paraziti (*Plasmodium spp*. - malárie)
- Imunologická
  - Transfuze nekompatibilní krve - imunitní systém hemolyzuje erytrocyty (komplementem)

Malárie
(Plasmodium spp.)



MUNI MED

Hemolytické jedy

Chřestýšovec běloretý
(Cryptelytrops albolabris)

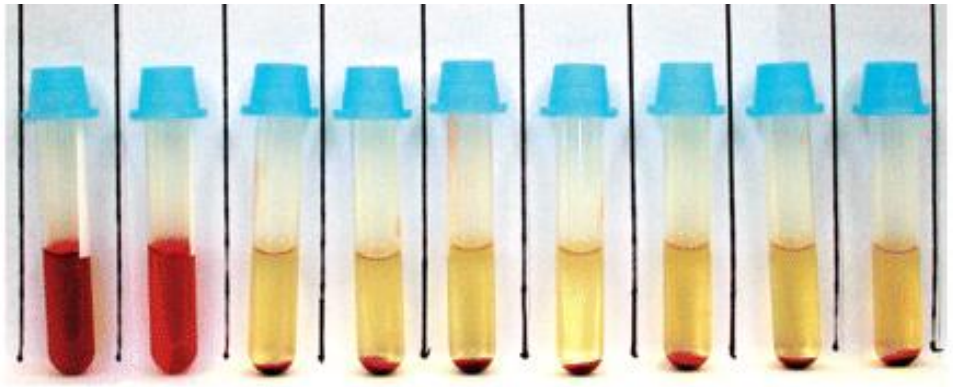
Hemolytické jedy mají i zmije a chřestýšovci. Česká zmije obecná má kombinaci hemolytického a neurotoxického jedu. Nebezpečná je pro oslabené jedince, hlavně v důsledku alergické reakce.

Koutník jedovatý *(Loxosceles reclusa)*
Americký pavouk, v Evropě se téměř nevyskytuje…
…zatím

Klíííííd, skoro všichni čeští pavouci jsou jedovatí, ale jen někteří dokáží prokousnout lidskou kůži.
U nás: stepník moravský, snovačka moravská, zápřednice jedovatá, vzácně snovačka jedovatá (černá vdova). Kromě černé vdovy jsou to ale vzácní, venkovní, stydliví pavouci. Kousnutí obvykle vyvolá lokální alergickou reakci, která do dvou dnů odezní.

Osmotická rezistence

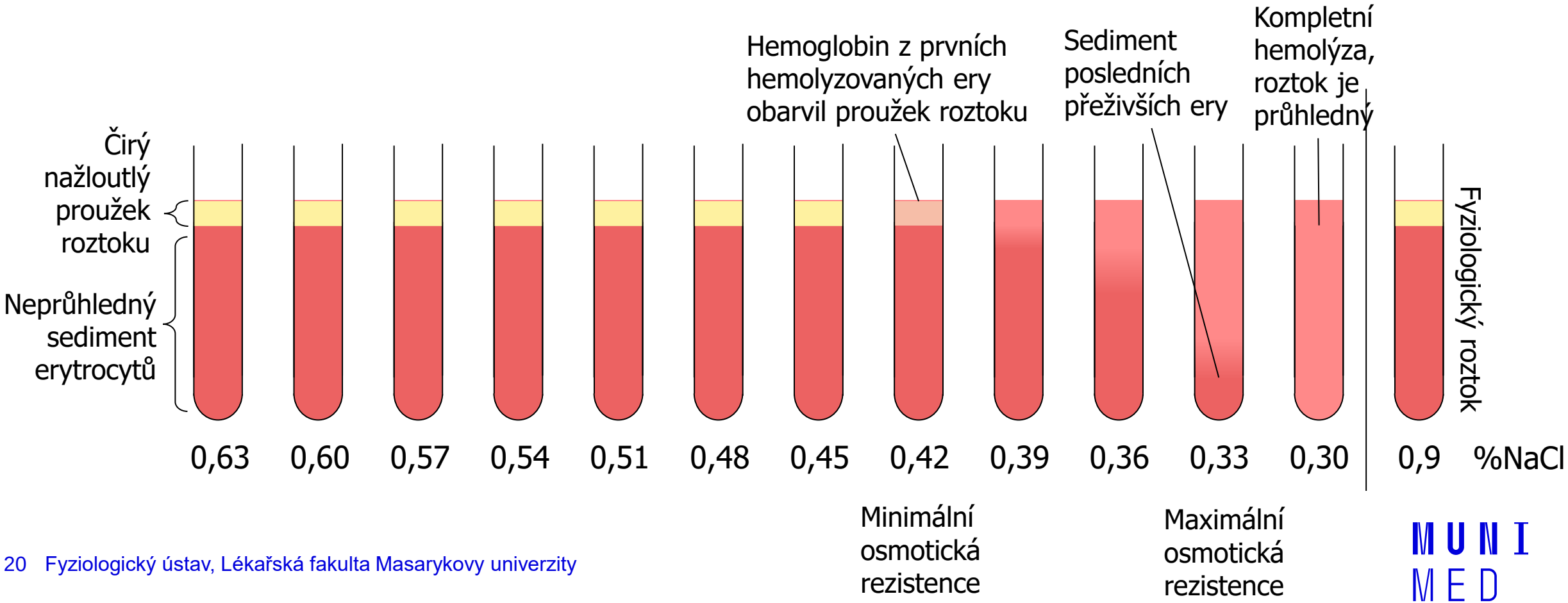
- Testování rezistence ery vůči hypotonickému prostředí
  - specifická metoda užívající se v diferenciální diagnostice hemolytických anémii
- Minimální osmotická rezistence (0,4-0,44%)
  - udává koncentraci hypotonického roztoku NaCl, při které dochází k hemolýze prvních ery – nad sedimentem pozorujeme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



MUNI MED

Osmotická rezistence - cvičení

- gradient roztoku od slabě hypotonického k silně hypotonickému
- Každá zkumavka: 10 ml roztok NaCl + 2 kapky krve



MUNI MED

Patologické hodnoty osmotické rezistence

- Vyšší hodnoty minimální osmotické rezistence
  - Vrozené hemolytické anémie
- Nižší hodnoty maximální osmotické rezistence
  - Polycytemia vera
  - Thalasemia
  - Srpková anemie
  - Nedostatek Fe2+
  - Stav po splenektomii

Izotonická hemolýza

- v *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