Krev

vyšetření, krevní obraz, koagulace

**Laboratorní cvičení a seminář z lékařské fyziologie**

Domácí příprava, studijní materiály a výukové cíle

**Výukové cíle**

* Vyjmenovat hematologické parametry a interpretovat jejich hodnoty
* Vysvětlit důsledky jejich změn na ostatní fyziologické parametry
* Osvojit si souhru jednotlivých kroků participujících na hemostáze a rovnováze mezi pro- a antikoagulačním stavem organismu

**Studijní materiály**

* Přednáška Krev
* Učebnice O. Kittnar – Lékařská fyziologie
* kapitoly 4.3.3., 4.3.10., 4.6.
* Učebnice L. Constanzo – Physiology, 6th or 7th edition
  + Strany 222-223
* [**https://www.wikiskripta.eu/w/Erytropoetin**](https://www.wikiskripta.eu/w/Erytropoetin)

**Témata prezentací:**

**Tromboelastografie** (Materiál k prezentaci: <http://pfyziolklin.upol.cz/?p=6553>)

**Krvetvorba, regulace, důsledky pro transport plynů a obecně cirkulaci.**

**Domácí úkol**

**Vyplňte tabulku:**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Parametr** | **Popis** | **Jednotky** | **Hodnota - muži** | **Hodnota - ženy** |
| **RBC** |  |  |  |  |
| **Hgb** |  |  |  |  |
| **Ht** |  |  |  |  |
| **MCV** |  |  |  |  |
| **MCH** |  |  |  |  |
| **MCHC** |  |  |  |  |
| **RDW** |  |  |  |  |
| **RET** |  |  |  |  |
| **WBC** |  |  |  |  |
| **PLT** |  |  |  |  |
| **APTT** |  |  |  |  |
| **Quick** |  |  |  |  |
| **INR** |  |  |  |  |

**Podklady k praktickému cvičení**

**I. Stanovení hematokritu**

Hematokrit vyjadřuje objemové zastoupení erytrocytů z celkového objemu krve. U mužů je hodnota HTK 0,39 – 0,51, u žen 0,33 – 0,47. Stanovení hematokritové hodnoty je důležité z mnoha klinických hledisek, mj. i pro výpočet základních hodnot červené krvinky.

Při určování HTK zjišťujeme objemové procento erytrocytů z celkového objemu centrifugované krve. Po centrifugaci jsou jednotlivé složky krve rozděleny podle hmotnosti. Nejníže je sloupec erytrocytů, nad ním tenká vrstvička leukocytů a trombocytů a nejvýše je sloupec plazmy.

**Odpovězte na otázky:**

Které faktory mohou mít na hodnotu hematokritu vliv? Jmenujte několik fyziologických a několik patologických příčin.

Je vyšší hodnota hematokritu jednoznačně pozitivním jevem? Zdůvodněte.

**II. Srážení krve**

**1. Antikoagulace**

**Inhibice koagulace antitrombinem III:**

Antitrombin tvoří komplexy s faktory IIa,IXa, Xa, XIa a XIIa a tím tlumí jejích enzymatickou aktivitu. Jeho účinek podstatně (řádově) zesiluje jeho kofaktor **heparin**.

**Antikoagulační terapie**

Léčebné podání **heparinu** se využívá k prodloužení koagulačních časů například u pacientů s hlubokou žilní trombózou.

Podání **kumarinů** (preparát Warfarin) rovněž prodlužuje koagulační čas. Brání totiž syntéze faktorů II, VII, IX a X v játrech inhibicí vitaminu K nutného na jejich finální karboxylaci. Kumariny bohužel nezabraňují pouze karboxylaci koagulačních faktorů, ale i faktorů antikoagulačních: proteinu C a proteinu S. To je příčinou rizika navození přechodné zvýšené koagulační pohotovosti v úvodu podávání kumarinů.

**Příprava nesrážlivé krve in vitro**

Srážení krve je často potřeba zabránit i pro laboratorní vyšetření vzorku krve (např.: stanovení počtu krevních elementů, koncentrace hemoglobinu, sedimentační rychlost apod.) K tomu účelu lze použít heparin anebo odstranění vápenatých iontů ze vzorku (dekalcifikace citrátem sodným nebo EDTA, tj. kyselinou ethylendiamintetraoctovou).

**2. Fibrinolýza**

**Fibrinolýza, rekanalizace řečiště a regenerace endotelu** jsou důležitou součástí hemostázy. To dokládá i skutečnost, že jeden z prvních hráčů aktivace koagulace, kalikrein, aktivuje fibrinolýzu hned v úvodu kaskádové reakce.

Za štěpení fibrinu je zodpovědný proteolytický enzym plazmin. Jeho prekursor plazminogen je součástí plazmy. Aktivátor plazminogenu se uvolňuje z poškozené tkáně. K reparaci je dále důležitá činnost destiček (retrakce koagula) a obsah jejich granulí (růstové faktory pro endotel, PDGF – platelet derived growth factor ) i reakce okolních tkání.

**Odpovězte na otázky:**

U kterých vyšetření se používá srážlivá a u kterých nesrážlivá krev, zdůvodněte.

Jaké látky byste použili pro přípravu nesrážlivé krve? Vysvětlete mechanismus jejich působení.

Jaký je rozdíl mezi antikoagulační a fibrinolytickou terapií?

V jakých situacích byste ji použili?

Jaká jsou rizika neúměrné antikoagulační a fibrinolytické terapie?

Kdy je vhodné lokální a kdy celkové použití těchto látek?

**III. Koagulační testy**

**Stanovení tromboplastinového (používá se též protrombinového) času (Quickův test)**

**Úvod**

Určení protrombinového času testuje zevní koagulační systém zastoupený faktorem VII, vápenatými ionty a aktivovaný tkáňovým tromboplastinem. In vivo je aktivátorem VII. faktoru tkáňový faktor v subendotelu a fosfolipidy z poškozené tkáně, in vitro jej podáváme v nadbytku jako kompletní tromboplastin, což je proteinolipidový komplex získaný z lidské mozkové tkáně. K testu potřebujeme dekalcifikovanou plazmu vyšetřovaného, kterou získáme vysycením vápenatých iontů citrátem sodným, přidaným k žilní krvi v poměru 1:9 (0,5 ml citrátu sodného a 4,5 ml krve) a následným odstředěním 10 min při 2000 ot./min. Protormbinový čas zjistíme sledováním doby potřebné k vytvoření prvního fibrinového vlákna po smíchání dekalcifikované plazmy, kompletního tromboplastinu a vápenatých iontů v roztoku chloridu vápenatého, a to při teplotě 37 °C. Výsledný čas závisí na koncentraci jednotlivých koagulačních faktorů zevního i společného systému (VII, V, X, II a I ).

**Rozmezí fyziologických hodnot protrombinového času je 12–15 s**. Pro standardizaci výsledku testu se používá mezinárodní normalizační poměr **INR (International Normalized Ratio) jehož fyziologické rozmezí je 0,9–1,2**. Je to poměr hodnoty protrombinového času sledovaného vzorku a protrombinového času standardní (fyziologické) plazmy. Podle hodnot INR se koriguje a monitoruje antikoagulační terapie.

**Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT)**

Test aktivovaného částečného tromboplastinového času sleduje účinnost vnitřního koagulačního systému. Set připravený pro tento test obsahuje kaolin-kefalinový komplex, v němž kaolin zastupuje záporný povrch, a kefalin obsahuje tkáňový faktor a nahrazuje destičkový fosfolipid, nutný k aktivaci faktoru X. Plazma připravená k tomuto vyšetření musí být proto nejen dekalcifikovaná, ale zbavená i destiček (odstředění aspoň 10 min při 2 000 ot./min).

Parciální tromboplastinový čas je závislý především na počátečních dějích hemokoagulace ve vnitřním systému, a to na faktorech XII, XI, IX a VIII. Teprve v druhé řadě zachycuje účinnost faktorů společného systému, tj. X, V, II a I.

**Normální doba testu je 28–40 s**. Čas se opět srovnává s hodnotou času standardní plazmy a jejich poměr má mít fyziologickou hodnotu 0,83–1,3 (APTTR).

**Odpovězte na otázky:**

Jaký bude výsledek Quickova testu a APTT při hemofilii A?

Jaký bude výsledek APTT při nedostatku f. VII?

Může dojít ke krvácivým projevům při porušení střevní flóry?

Má porucha resorpce tuků v tenkém střevě vliv na hemokoagulaci?

Co je krevní sérum?

*Zpracováno s využitím materiálu Ústavu fyziologie 1.LF UK.*