

asist. mag. Tadej Pajič

1. Osnovne preiskave v hematologiji

Pri vaji boste spoznali, kako določamo parametre rdeče, bele in trombocitne krvne slike. Naučili se boste pripraviti krvni razmaz in v njem prepoznati posamezne krvne celice ter določiti diferencialno krvno sliko. Določili boste tudi hitrost sedimentacije eritrocitov ter spoznali teste za oceno hemostaze.

1.1 Krvna slika

Izsledke kvantitativnih in kvalitativnih preiskav celic v periferni krvi imenujemo krvna slika.

Delimo jo na:

- rdečo (eritrocitno) krvno sliko,
- belo (levkocitno) krvno sliko,
- trombocitno krvno sliko.

1.1.1 Rdeča krvna slika

V rdečo krvno sliko sodi določanje naslednjih parametrov:

- število eritrocitov,
- volumen stisnjenih eritrocitov (hematokrit),
- koncentracija hemoglobina,
- število retikulocitov,
- eritrocitni indeksi,
- opis kvalitativnih sprememb eritrocitov v krvnem razmazu.

A. Določanje število eritrocitov

Število eritrocitov lahko preštejemo v komori z mikroskopom ali pa jih prešteje elektronski števec-hematološki analizator. Število eritrocitov izrazimo s številom eritrocitov na liter krvi. Iz števila eritrocitov lahko izračunamo povprečni volumen eritrocitov in druge konstante.

Referenčne vrednosti: moški (m) $4,5 - 6,3 \times 10^{12}/L$
 ženske (ž) $4,2 - 5,4 \times 10^{12}/L$

B. Merjenje koncentracije hemoglobina

Določamo jo z hemiglobincianidno metodo. Z dodatkom kalijevega cianida spremenimo krvni hemoglobin v stabilno spojino hemiglobincianid (cianmethemoglobin) in določimo njegovo koncentracijo fotometrično pri 504 nm. Koncentracijo Hb podamo v gramih na liter krvi (g/L).

Referenčne vrednosti: m 140 - 180 g/L
 ž 120 - 160 g/L

C. Določanje volumna stisnjenih eritrocitov (VSE) ali hematokrit:

Je delež volumna, ki ga eritrociti zajemajo v krvi. Če dodamo krvi sredstvo proti strjevanju krvi in jo določen čas centrifugiramo (mikrocentrifuga), se eritrociti stisnejo v stolpec in je med njimi zelo malo plazme. Razmerje med dolžino stolpca eritrocitov in cele krvi je hematokrit (metoda po Wintrobu). Lahko pa hematokrit izračunamo iz števila eritrocitov in povprečnega volumna eritrocitov. Rezultate izrazimo z delom celote.

Referenčne vrednost: m 0,40 – 0,54
 ž 0,37 – 0,47

D. Določanje eritrocitnih indeksov

Eritrocitni indeksi so številčni podatki za značilnosti eritrocita, kot sta velikost (volumen) in obarvanost, kjer govorimo o količini in koncentraciji hemoglobina v eritrocitu. Te značilnosti eritrocita so pomembne za opredelitev posameznih vrst anemij.

Med eritrocitne indekse spadajo:

Povprečni volumen eritrocitov ali MCV

MCV je angleška kratica in pomeni "Mean Corpuscular Volume". Dobimo ga tako, da volumen stisnjenih eritrocitov (hematokrit) delimo s številčno koncentracijo eritrocitov. Če rezultat pomnožimo s 1000, v račun ni potrebno vnašati enot ampak le številčno vrednost hematokrita in števila eritrocitov. Rezultat se izraža v femtolitrih. MCV meri hematološki števec direktno.

$$\text{PVE (MCV)} = \text{VSE} \times 1000 / \text{št. E}$$

Referenčne vrednosti: 81 -94 fL

Povprečna količina hemoglobina v eritrocitih (PHE) ali MCH

MCH je angleška kratica in pomeni "Mean Corpuscular Haemoglobin". Izračunamo jo sami ali nam ga izračuna hematološki števec. Masno koncentracijo hemoglobina delimo s številom eritrocitov po formuli:

$$\text{PHE (MCH)} = \text{hemoglobin (g/L)} / \text{št. E}$$

Rezultat izrazimo v pikogramih ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$).

Referenčne vrednosti: 26 - 32 pg

Povprečna koncentracija hemoglobina v eritrocitih (PKHE) ali MCHC

MCHC je angleška kratica in pomeni "Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration". Pove nam količino hemoglobina v enem litru krvi. Izračunamo jo sami ali nam jo izračuna hematološki števec. Rezultat se izraža v gramih na liter eritrocitov.

$$\text{PKHE (MCHC)} = \text{hemoglobin (g/L)} / \text{VSE}$$

Referenčne vrednosti: 310 - 350 g/L

E. Določanje koeficienta variacije volumna eritrocitov (KVVE) ali RDW

RDW je angleška kratica za "Red Cell Distribution Width" in nam pokaže razporeditev eritrocitov v krvi glede na velikost njihovega volumna. Hematološki števec izriše krivuljo porazdelitve eritrocitov po njihovih volumnih, izračuna MCV in standardni odklon. Iz teh vrednosti izračuna koeficient variacije, ki se izrazi v odstotkih.

$$\text{KVVE (RDW)} = \sigma / \text{MCV} \times 100; \quad (\sigma = \text{standardni odklon})$$

Referenčne vrednosti: 11,5 % - 14,5 %

F. Določanje števila retikulocitov

Število retikulocitov v krvi je kazalec tvorbe eritrocitov v kostnem mozgu.

Ostanke ribonukleinske kisline obarvamo z novim metilenskim modrilom. Številčno koncentracijo retikulocitov dobimo s štetjem v mikroskopu ali s hematološkim števcem, ki ima vgrajeno pretočno citometrijo. Tako določimo relativno in absolutno število retikulocitov.

Referenčne vrednosti: $20 - 100 \times 10^9/L$
 $0,2 - 2 \%$

1.1.2 Bela krvna slika

V belo krvno sliko prištevamo število levkocitov, ki jih lahko preštejemo v komori ali pa to opravi elektronski števec oz. hematološki analizator. Rezultat je število levkocitov oz. številčna koncentracija v litru krvi. Nadalje v belo krvno sliko prištevamo deleže posameznih vrst levkocitov, to je diferencialna bela krvna slika, ki jo opravimo z razmazom periferne krvi in oceno pod mikroskopom ali s hematološkim analizatorjem.

Referenčne vrednosti:

število levkocitov $4,0 - 10,0 \times 10^9/L$

deleži posameznih vrst levkocitov

	delež	absolutno št. $10^9/L$
nevtrofilci	0,4 – 0,75	1,6 – 7,5
limfociti	0,2 – 0,50	0,8 – 5,0
monociti	0,02 – 0,10	0,08 – 1,0
eozinofilci	0,01 – 0,06	0,04 – 0,6
bazofilci	0,0 – 0,01	do 0,1

K zrelim nevtrofilcem štejemo tudi paličaste, ki jih je do 0,05. Od vseh limfocitov je 88 % malih limfocitov, 0,6 % velikih limfocitov, 1,7 % prolimfocitov, 6,2 % limfoplazmocitnih celic in 3,5 % reaktivnih limfocitov.

1.1.3 Trombocitna krvna slika

V trombocitno krvno sliko prištevamo število trombocitov, ki ji štejemo v komori ali z električnim števcem. Rezultat štetja v komori in hematološkega analizatorja je število v litru krvi.

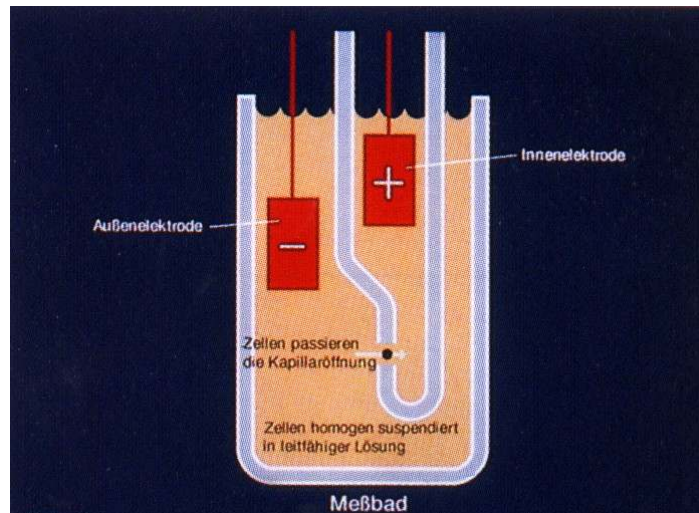
Referenčna vrednost: $150 - 440 \times 10^9/L$

1.2 Avtomatizirana analiza krvnih celic

Avtomatizirano analizo krvnih celic omogočajo hematološki analizatorji. Štetje in ocena lastnosti krvnih celic poteka s pomočjo električnih, optičnih ali kombinacijo obojih načinov detekcije. Po vklopu aparat preizkušamo s tremi kontrolnimi vzorci krvi znanih vrednosti za belo, rdečo in trombocitno krvno sliko. Rezultati kontrolnih vzorcev morajo ustrezati vrednostim, ki jih predpisuje proizvajalec. Krvi, ki jo bomo analizirali odvzamemo v epruvete

z EDTA, premešamo ter pričnemo z meritvijo. Po končani meritvi se vrednosti krvne slike izpišejo skupaj z izrisom grafične predstavitve levkocitov, eritrocitov in trombocitov.

Merjenje prevodnosti temelji na spoznanju, da krvne celice slabo prevajajo električni tok. Celice v raztopini elektrolita potujejo skozi kapilarno določenega premera in dolžine. Ob zunanji in notranji strani kapilare sta pritrjeni elektrodi (slika 1). Celice, ki potujejo med elektrodami, povzročijo povečanje električnega upora. Povečanje električnega upora zazna instrument kot električne impulze, ki se ojačijo. Število električnih impulzov v enoti časa je sorazmerno številu celic. Velikost spremembe upora oziroma jakost impulzov je sorazmerna velikosti oziroma posredno volumnu celice (1947; Wallace H. Coulter).



Slika 1: Štetje krvnih celic na principu merjenja prevodnosti.

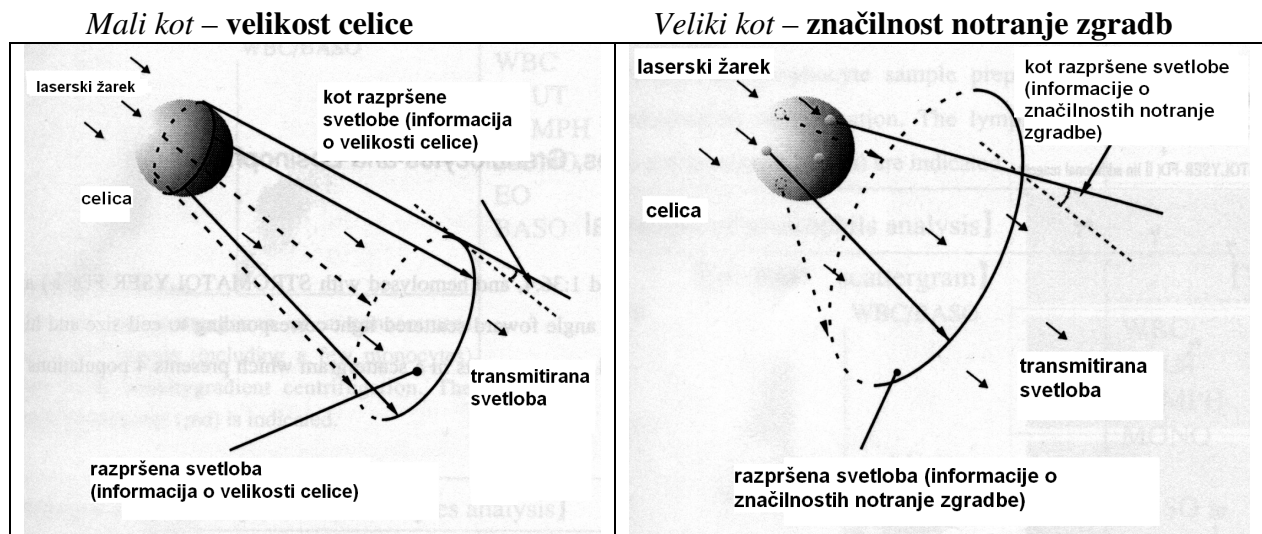
Meritve prevodnosti, kjer gre skozi celico elektromagnetni tok visoke frekvence, dajo informacijo o razmerju jedra in citoplazme, gostoti jedra in zrnih v citoplazmi.

Pri optičnih meritvah vzorec krvi potuje v enakomernem toku skozi polje zaznave, v katerega je usmerjen laserski žarek ali žarek vidne svetlobe. Ko celica prečka polje zaznave, jo žarek zadene. Pri tem se žarek na površini celice lomi in razprši (sipa), prehaja skozi celico ali se razprši znotraj celice. Razpršeno ali lomljeno svetlobo lovijo fotodetektorji in jo pretvarjajo v električne impulze. Jakost sipane svetlobe pod velikimi koti poda značilnosti notranje zgradbe celice, pod malimi koti pa velikost celice. Pri obdelavi podatkov z ustrezno programsko opremo, dobljene lastnosti omogočajo določanje števila, velikosti in ločevanje podvrst levkocitov.

Pri optičnih meritvah se pri nekaterih analizatorjih uporablja reakcija na peroksidazo. V tem primeru z merjenjem sipane svetlobe in absorbance, ki je sorazmerna aktivnosti peroksidaze lahko opredelimo posamezne vrste levkocitov. Reakcija je močno pozitivna v azurofilnih zrnih granulocitov, manj v monocitih in vedno negativna v limfocitih.

Koncentracijo hemoglobina v celici določajo analizatorji fotometrično s hemiglobincianidno metodo.

Izmerijo tudi volumen eritrocitov, medtem ko hematokritno vrednost, povprečno količino hemoglobina v eritrocitih in povprečno koncentracijo hemoglobina v litru eritrocitov izračunajo.

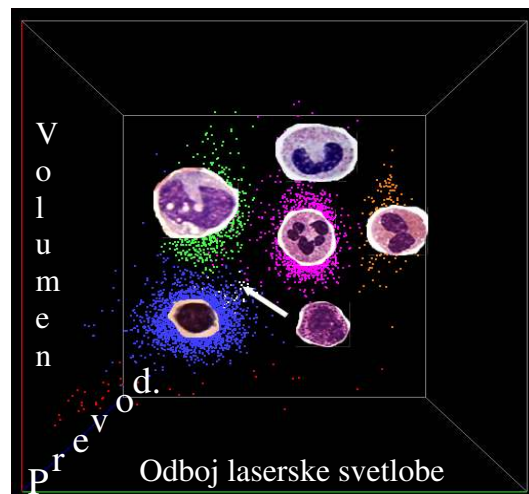


Slika 2: Shematski prikaz optične meritve krvnih celic.

Nekateri sodobni hematološki števci uporabljajo za merjenje krvnih celic kombinacijo več načinov merjenja (VCS):

merjenje impedance (električne upornosti)
 merjenje prevodnosti elektromagnetskega toka
 merjenje sipane svetlobe

- V- volumen,
- C - prevodnost (conductivity),
- S – odboj laserske svetlobe (lightscatter)



Slika 3: Kombinacija načinov merjenja (VCS).

Za posamezno krvno celico dobimo tri rezultate, ki jih računalniški program uvrsti v kocko (VCS kocka, slika 3). Celice z podobnimi lastnostmi se združujejo v skupine (slika 3). Dobljene meritve na omogočijo določitev števila celic, velikosti in ločevanje podvrst levkocitov.

1.3 Diferencialna bela krvna slika (DKS)

Število posameznih podvrst belih krvnih celic lahko določimo avtomatsko s pretočno citometrijo ali pa ročno s pregledom krvnega razmaza. Čeprav z analizatorji dobimo izsledke hitro, natančno in poceni, je za nekatere vzorce vseeno potrebno pregledati razmaz krvi (napraviti diferencialno krvno sliko). Zaradi raznolikosti morfologije krvnih celic jih analizator ne more oceniti, če niso normalne. Priporočajo, da pregledamo razmaz periferne krvi, če:

gre za krvno bolezen ali pa sumimo nanjo,
je število levkocitov $>15 \times 10^9/L$ ali $<3 \times 10^9/L$,
je število trombocitov $<100 \times 10^9/L$,
je zvečan delež posameznih levkocitov:
nevtrofilcev $>0,80$, limfocitov $>0,50$, monocitov $>0,15$
eozinofilcev $>0,20$, bazofilcev $>0,20$,
je v izpisu iz hematološkega števca opozorilo za morfološke nepravilnosti,
so spremembe v grafični predstavitvi levkocitov kot so slaba ločitev celičnih
populacij, nepravilna lega ali dodatna populacija celic.

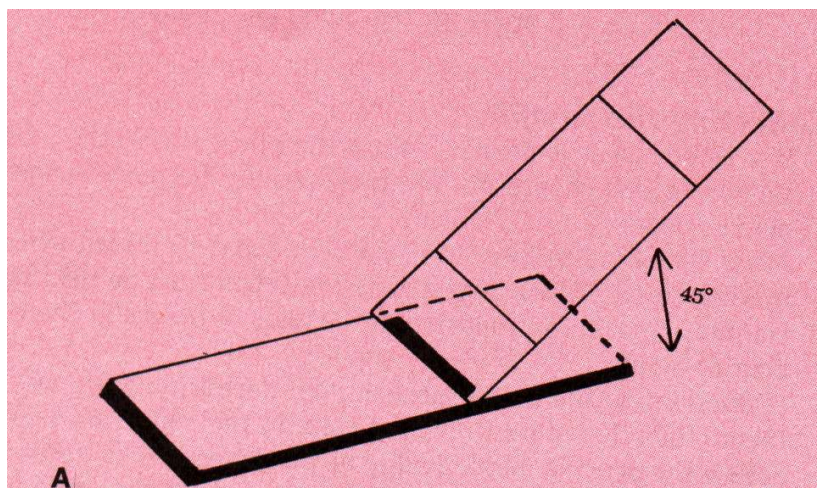
Za pregled razmaza periferne krvi (diferencialna krvna slika) pripravimo razmaz, krvne celice obarvamo in jih morfološko ocenimo. Ocenimo:

delež granulocitov, limfocitov in monocitov,
spremembe eritrocitov in trombocitov

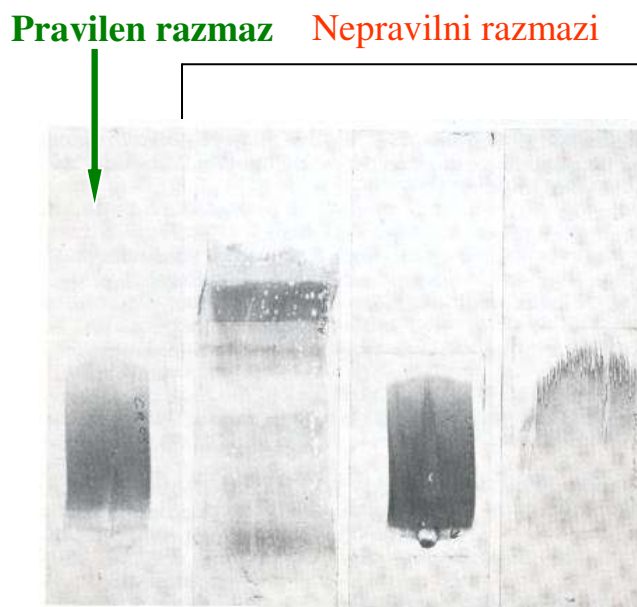
1.3.1 Priprava krvnega razmaza

Za pripravo krvnega razmaza uporabimo čisto objektno steklo, na katerega kanemo majhno kapljico sveže kapilarne krvi ali venske krvi odvzete z EDTA. S palcem in kazalcem desne roke primemo drugo steklo s katerim bomo razmazali kri, in ga pod kotom 25-30 postavimo na objektno steklo, tik pred kapljico krvi. Počasi ga premaknemo v desno, da zajamemo kapljico krvi in z enakomernim pritiskom na površino hitro potegnemo po objektnem steklu. Ob tem ne smemo spreminjati nagiba in pritiska na objektno steklo. Debelina krvnega razmaza je odvisna od pritiska na površino objektnega stekla, od kota in hitrosti potega (slika 4).

Krvni razmaz mora biti tanek, enakomeren in mora imeti ravne stranske robove. Pokriva naj približno 2/4 površine v sredini objektnega stekla in ne sme segati do roba objektnega stekla. Na koncu mora biti zaobljen (slika 5). Krvni razmaz označimo in pustimo, da se posuši na zraku.



Slika 4: Priprava razmaza krvi.



Slika 5: Prikaz pravilnega in nepravilnega razmaza krvi.

1.3.2 Barvanje krvnega razmaza

Krvne razmaze barvamo **po Pappenheimu (MGG- May-Grunwald-Giemsu).**

Posušene krvne razmaze potopimo v posodico z barvilom po May-Grunwaldu za 5 minut. Nato razmaze prenesemo v drugo posodico, v kateri je barvilo po May-Grunwaldu razredčeno z pufrom (1:1). Po 1 minuti prenesemo razmaze brez spiranja v tretjo posodico za 15-20 minut v razredčeno raztopino po Giemsi (1:10). Obarvane razmaze speremo s pufrom in pustimo, da se posušijo na zraku.

Uporabljeni barvila in reagenti:

May-Grunwaldov reagent je raztopina eozina in metilenskega modrila v metanolu.

Reagent po Giemsi je raztopina derivatov metilenskega modrila (azur I in azur II) v metanolu.

Sorensenov fosfatni pufer (0.066 M, pH 6.8 - 7). Pred uporabo ga razredčimo z destilirano vodo v razmerju 1:20. Uporablja se za redčenje May-Grunwaldovega reagenta, reagenta po Giemsi in za spiranje razmazov.

1.3.3 Pregled krvnega razmaza

Pregled krvnega razmaza začnemo tako, da z majhno povečavo poiščemo vidno polje. Na tanek zaobljen del razmaza kanemo kapljico imerzijskega olja in s 1000x povečavo ocenimo vse vrste, ki jih vidimo. Zabeležimo vsak levkocit, ki ga vidimo, ga opredelimo. Pozornost posvetimo morebitnim morfološkim spremembam citoplazme in jedra. Ocenimo tudi velikost, obarvanost in obliko eritrocitov ter trombocitov. Za oceno moramo pregledati najmanj 200 celic v krvnem razmazu. Rezultat izrazimo z relativnim številom. Bolj kot delež posameznih vrst levkocitov je pomembno njihovo absolutno število. Dobimo ga tako, da število vseh levkocitov pomnožimo z deležem za posamezno vrsto. Rezultat izrazimo s številom v litru.

Delež posameznih vrst levkocitov ocenimo glede na morfološke značilnosti celice. Opazujemo predvsem obliko in velikost celice, razčlenjenost jedra in zgradbo kromatina, obarvanost citoplazme, granulacije in vključke v citoplazmi ter obarvanost zrn. V pravilno obarvanih razmazih so celična jedra obarvana vijoličasto, celična citoplazma rožnato do modro, nevtrofilne granulacije sivovijoličasto, eozinofilne granulacije oranžno, bazofilne granulacije pa temnovijoličasto.

Paličast nevtrofilec (dodatek I, slika 1) sodi že med zrele granulocite. Po velikosti je enak zrelemu granulocitu. Jedro je paličasto razpotegnjeno in upognjeno (v obliki črke U, S ali zavito v klobčič). Citoplazma je rožnata in vsebuje za celico značilna zrnca.

Z nadaljnjim dozorevanjem nastajajo na jedru zoženja, dokler se ne razvije v **segmentirani ali zrel granulocit** (dodatek I, slika 1). To je končna stopnja granulocitne vrste. Paličast granulocit ločimo od segmentiranega po tem, da ima paličasti granulocit v zoženem delu premer, ki je večji od 1/3 najdebelejšega dela jedra, segmentirani granulocit pa manjši od 1/3. Iz paličastih nevtrofilnih, eozonofilnih in bazofilnih granulocitov, ki se med seboj razlikujejo predvsem po specifičnih granulacijah, se razvijejo zreli segmentirani granulociti: nevtrofilec, eozinofilec in bazofilec.

Nvtrofilec meri od 12 do 15 mikrometrov. Jedro ima 2 do 5 segmentov, v povprečju tri. Segmenti so povezani s tanko nitjo. Citoplazma je kot pri paličastem in vsebuje nevtrofilna zrnca.

Granulociti prehajajo preko sinusoidov kostnega mozga v kri. V periferno kri jih prestopi le manjši del, večina jih ostane v kostnem mozgu in se po potrebi sprostijo v kri. Del granulocitov se v krvnem obtoku drži ob žilni sten (marginalni del), del kroži v krvi (cirkulirajoči del). Nevtrofilci ostanejo v krvi le kratek čas. V tkivih, predvsem v sluznicah, nevtrofilci fagocitirajo bakterije in druge mikrobe, delno pa tudi anorganske snovi in celo nekatere celice. Nevtrofilci se v tkivu aktivno gibljejo, kar jim omogoča, da pridejo do vnetih tkiv.

Limfociti (dodatek I, slika 2) so lahko različnih velikosti. Veliki ima običajno premer od 12 do 20 mikrometrov. Jedro je nekoliko ovalno, temno modro, z grudasto kromatinsko strukturo, ki vsebuje eno ali dve jedrci. Citoplazma je svetlo sivomodra, obilna in lahko vsebuje azurofilna zrnca ali celo vakuole. **Mali limfocit** je najmanjši levkocit in ima premer

od 9 do 12 mikrometrov. Približno 90 ali več odstotkov celice zavzema jedro, ki je okroglo ali ovalno. Kromatin jedra je grobo grudast in temno modre barve. Jedrc pri običajnem barvanju ne vidimo. Citoplazma je pičla, sivomodra in v večini primerov omejena na ozek rob okoli jedra.

Monociti (dodatek I, slika 3) so različnih velikosti. Mali merijo od 20 do 30 mikrometrov, večji so največje celice v periferni krvi, merijo do 40 mikrometrov. Jedro je veliko, njegova oblika pa je lahko različna. Redko je okroglo ali ovalno, pogosto je ledvičasto ali podkvasto, lahko pa je paličasto, nepravilne oblike, ima tudi več režnjev. Kromatinska struktura je rahlejša v obliki nitk in je zato videti mrežasto, čipkasto ali počesano. Jedro ne vsebuje grud kromatina. Citoplazma je veliko in je svetlo sivomodre barve. Vsebuje dokaj številna drobna azurofilna zrnca (azurofilen prah), zaradi česar ima rahlo rožnat videz. Pogosto vsebuje vakuole. Monociti iz krvi prehajajo v tkiva, kjer se preobrazijo makrofage-histiocite.

Eozinofilci (dodatek I, slika 4) so nekoliko večji od nevtrofilcev. Merijo od 12 do 17 mikrometrov. Jedro ima običajno le dva segmenta, režnji kromatina so nekoliko širši kot pri nevtrofilcih. Citoplazma vsebuje le eozinofilne granulacije. Pri nevtralnem pH so granulacije oranžne, v kislem okolju se obarvajo rdeče. Eozinofilci so uskladiščeni v kostnem mozgu, le manjši del prehaja v kri. Eozinofilci enako kot nevtrofilci prestopajo iz krvi v tkiva in so predvsem v podkožju in sluznicah (sluznice respiratornega ter prebavnega trakta). Glavna vloga eozinofilcev je obramba pred paraziti. Sodelujejo tudi pri preobčutljivostni reakciji zgodnjega tipa. Če je njihovo število v periferni krvi povečano, potem pomislimo na parazite ali alergično reakcijo.

Bazofilci (dodatek I, slika 5) so najmanjši granulociti. Jedro ima le dva segmenta, ki ju prekrivajo debela, groba temno vijoličasta zrnca. V periferni krvi jih je zelo malo. Nahajajo se predvsem v tkivih. Sodelujejo pri preobčutljivostnih reakcijah (zgodnji in pozni preobčutljivosti). Tkivni bazofilci ali pitanke (mastociti) so celice, ki jih najdemo predvsem v limfatičnem tkivu, sluznicah in v kostnem mozgu. Morfološko in po funkciji so podobni krvnim bazofilcem. Zelo verjetno imajo skupno matično celico v kostnem mozgu, čeprav se ne razvijejo iz krvnih bazofilcev, kot npr. makrofagi iz monocitov.

1.4 Določanje hitrosti sedimentacije eritrocitov (HSE)

Če krvi dodamo sredstvo proti strjevanju, se bodo čez čas celice zaradi lastne teže začele posedati na dno navpično postavljene steklene cevke (sedimentacija). Ker je od vseh celic največ eritrocitov, govorimo o sesedanju eritrocitov. Sedimentacija je spontano sesedanje eritrocitov. Najprej nastanejo reverzibilne oblike, imenovane "rouleaux", nato se eritrociti sesedejo na dno.

Ugotavljanje hitrosti sedimentacije eritrocitov je ena najstarejših laboratorijskih preiskav. Običajno jo vedno določimo skupaj s krvno sliko. Prvi jo je uvedel Westergreen. Mednarodno združenje ICSH priporoča, da preiskavo izvajamo pod standardnimi pogoji po načinu, ki jo je uvedel Westergreen. Kri odvzamemo v epruvete z natrijevim citratom v razmerju 1:5 (en del antikoagulantna natrijev citrat in štirje deli krvi, slika 6). Preiskavo izvajamo pri sobni temperaturi (idealna 20°C; priporočena 18-24°C). Eritrociti sedimentirajo v graduirani stekleni cevki dolžine 300 mm in notranjim premerom 2,55 mm v navpičnem položaju. Po eni uri odčitamo mejo med eritrociti in plazmo in rezultat podamo v milimetrih na uro.

Referenčne vrednosti so odvisne od starosti.

Za moške pod 50 letom starosti so referenčne vrednosti 0 - 15 mm/h, za ženske 0 - 20 mm/h.
Za moške nad 50 letom starosti so referenčne vrednosti 0 - 20 mm/h, za ženske 0 - 28 mm/h.



Slika 12: Epruveta z natrijevim citratom za preiskavo HSE.



Slika 13: Aparatura za odčitek meje med eritrociti in plazmo pri preiskavi HSE.

Hitrost sedimentacije krvi je odvisna od:

- sestave krvi,
- zunanje temperature,
- časa,
- kota, pod katerim kri sedimentira,
- razmerja med krvjo in antikoagulantom.

Spremembe v sestavi krvi, ki vplivajo na HSE so: število, masa in oblika eritrocitov ter spremembe v sestavi krvne plazme, predvsem beljakovin.

Tako znižana številčna koncentracija eritrocitov, nekatere patološke oblike eritrocitov, povečana koncentracija fibrinogena in imunoglobulinov pospešijo HSE. Nekatere patološke oblike eritrocitov zavirajo HSE (npr. sferociti).

HSE je odvisna od številnih dejavnikov, zato je njen diagnostični pomen omejen. Kadar je pospešena, gre zelo verjetno za neko bolezensko stanje, ne pa za določeno bolezen. Pospešena HSE je nespecifičen znak bolezni. Včasih je lahko kljub bolezni normalna in tako ne

izključuje bolezenskega stanja. Bolezenska stanja pri katerih je HSE pospešena so infekcijske bolezni, anemije, revmatična obolenja, maligna obolenja in druga stanja. Med nosečnostjo, pri menstruacijah in v starosti je lahko pospešena HSE fiziološka.

Na napačno določitev HSE vplivajo (možne laboratorijske napake pri preiskavi HSE):

koncentracija antikoagulanta,
hemoliza,
čistoča, položaj in polnjenje cevk,
temperatura,
čas od odvzema krvi do pričetka preiskave (največ ena ura),
dolžina in notranji premer cevk in
točen čas.

1.5 Testi za oceno hemostaze

A. Merjenje protrombinskega časa (PČ)

Protrombinski čas meri aktivnost v ekstrinzični koagulaciji (FII, FV, FX, FVII). Prvi ga je opisal Quick leta 1935 in domneval, da meri aktivnost protrombina. Izsledke je izrazil v odstotkih aktivnosti plazme zdravega. V tem času še niso poznali F V, F VII in F X.

Danes je PČ presejalna preiskava za oceno pridobljenih in prirojenih motenj aktivnosti protrombina, faktorjev V, VII, X in fibrinogena. Primeren je tudi za spremljanje antikoagulacijskega zdravljenja s kumarini. Citratni plazmi dodamo zmes popolnega tromboplastina in kalcijevega klorida. Merimo čas, ki je potreben za nastanek strdka.

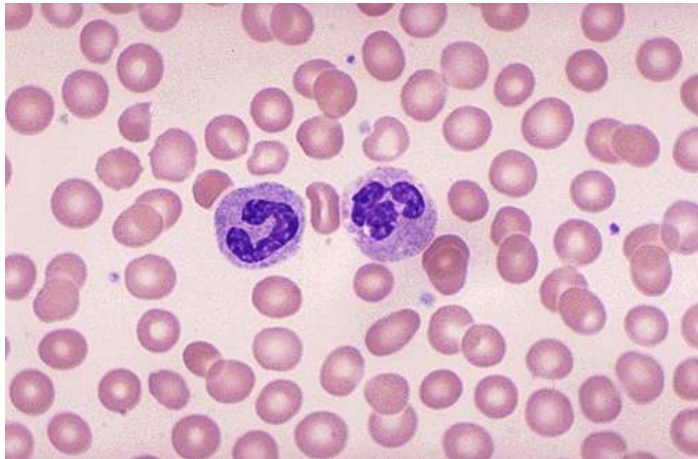
B. Ocena aktivnosti tkivnega tromboplastina

Tromboplastini, ki jih uporabljamo za določitev PČ, so komercialno pripravljene iz možganov, pljuč, placentalnega tkiva različnih živali ali človeka. Njihova občutljivost na zmanjšano aktivnost posameznih koagulacijskih faktorjev je odvisna od vira in vsebine fosfolipida ter načina priprave. Zaradi tega so izsledki neprimerljivi, če so izraženi v časovnih enotah ali v odstotkih. Da bi poenotili izsledke PČ so leta 1977 pripravili referenčni tromboplastin (first international reference preparation lot 67/40) iz človeških možganov in mu določili 1 indeks občutljivosti (ISI = International Sensitivity Index). Danes so na voljo samo tromboplastini z ugotovljenim indeksom občutljivosti v primerjavi z referenčnim tromboplastinom. Tromboplastini z naraščajočo vrednostjo ISI imajo vse manjšo občutljivost. Priporočajo uporabo tromboplastina z občutljivostjo med 0,9 - 1,7 ISI.

C. Izražanje PČ in njegov klinični pomen

V primerih, ko PČ uporabljamo za diagnostične namene, zadošča izražanje izsledkov v časovnih enotah ali v deležu enote 1. V primerih, ko PČ uporabljamo za oceno učinka zdravljenja s kumarini, izsledke PČ poenotimo tako, da jih izražamo z mednarodno umerjenim razmerjem (INR = International Normalised Ratio). INR je pravzaprav razmerje protrombinskih časov, ki bi ga dobili, če bi uporabili referenčni tromboplastin namesto uporabljenega. Priporočeni INR za antikoagulacijsko profilakso s kumarini, npr. za preprečevanje globoke venske tromboze in pljučne embolije, embolij pri srčnih hibah, atrijski fibrilaciji in miokardnem infarktu je 2,0 do 3,0; za preprečevanje embolizmov pri mehaničnih srčnih zaklopkah pa je 2,5 do 3,5.

Dodatek I: Slike hematoloških preparatov.



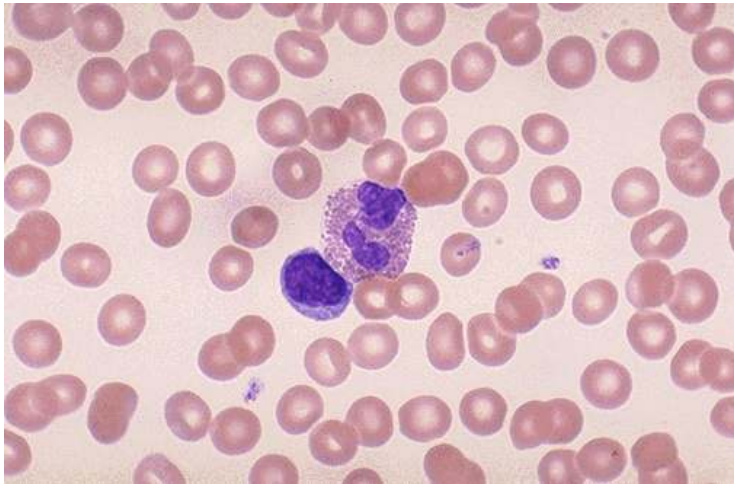
Slika 1: Paličasti nevtrofilec (levo) in segmentirani granulocit (desno) v krvnem razmazu.



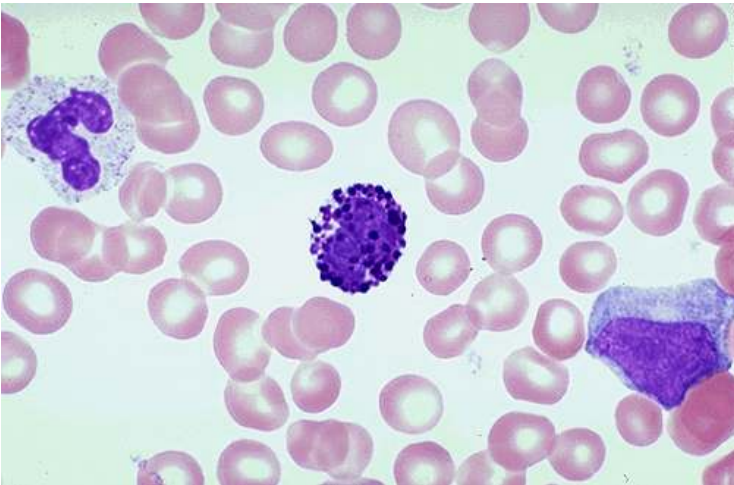
Slika 2: Označena celica je limfocit (levo) v krvnem razmazu.



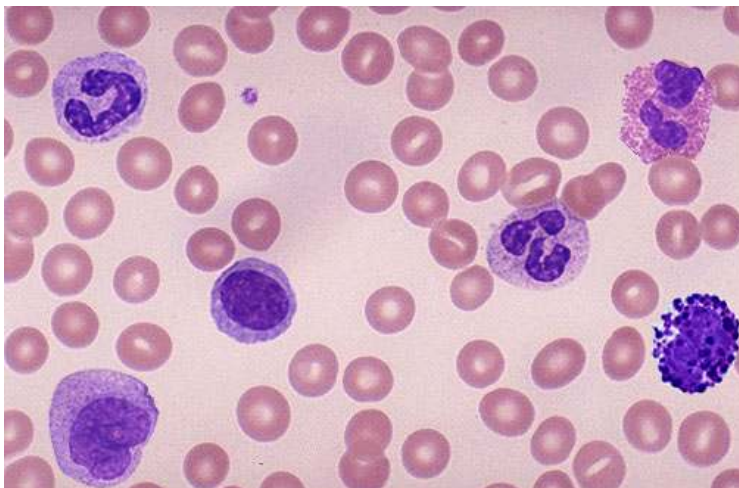
Slika 3: Monocit (sredina) v krvnem razmazu.



Slika 4: Eozinofilec (sredina) v krvnem razmazu.



Slika 5: Bazofilec (sredina) v krvnem razmazu.



Slika 6: Paličasti nevtrofilec, nevtrofilec, eozinofilec, bazofilec, monocit in limfocit v krvnem razmazu. Vidni so tudi eritrociti in trombocit.